

Osnove kemije prirodnih organskih spojeva

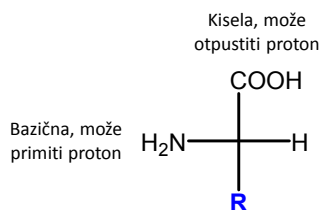
3. Aminokiseline i proteini

Kiselo-bazna svojstva i stereokemija aminokiselina. Reakcije aminokiselina *in vivo* i *in vitro*. Sinteze aminokiselina. Resolucija racemične smjese aminokiselina. Enantioselektivne sinteze aminokiseline.

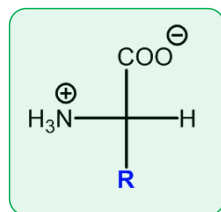
Peptidi i proteini. Sinteze peptida i proteina. N-zaštitne skupine. C-zaštitne skupine. Aktiviranje i spajanje-sinteza peptida na krutoj fazi. Neki specifični linearni i ciklički peptidi i proteini.

doc. dr. sc. Đani Škalamera

Aminokiseline

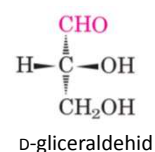
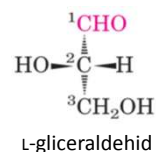


Fischerova projekcija



unutarnja sol, zwitterion

Prikaz klinastim formulama



- L-aminokiseline su prirodne aminokiseline koje grade peptide i proteine
- D-aminokiseline nađene kod nekih bakterija
- aminokiseline razlikujemo po **R** skupinama koje imaju – za svaku aminokiselinu možemo reći je li:
 - polarna ili nepolarna
 - kisela, neutralna ili bazična
 - negativno, pozitivno nabijena ili neutralna
 - alifatska ili aromatska

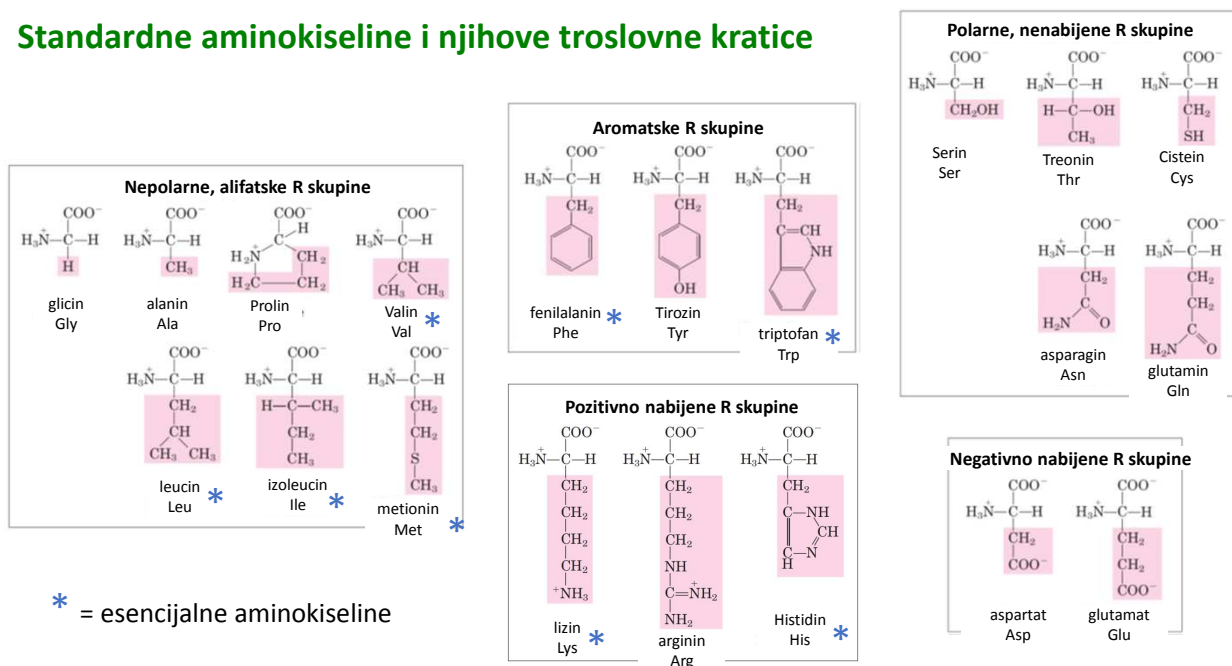
L- = lijeve aminokiseline, relativna konfiguracija prema gliceraldehidu

D,L- konfiguracije ne treba miješati s R,S-
Nešto što je D, nije nužno R!
→ CIP pravila

Kao što im govori ime, aminokiseline u svojoj strukturi sadrže amino i karboksilnu skupinu. Iz osnovne organske kemije znamo da amino skupina ima bazična svojstva (pK oko 10), a karboksilna kisela svojstva (pK oko 4.5). Iz tog razloga u neutralnoj molekuli aminokiseline ove skupine neće biti prisutne kao R-NH₂ i R-COOH, već karboksilna kiselina disocira, dajući svoj proton amino skupini, koja je iz tog razloga protonirana. U zelenom kvadratu prikazana je jedna takva struktura, koju još nazivamo i unutarnja sol ili zwitterion. Zbog tog svojstva aminokiseline mogu tvoriti vrlo jake interakcije u krutom stanju (+ i – se privlače) pa su njihova tališta izuzetno visoka, 200-300 °C. 20 standardnih aminokiselina su pri sobnoj temperaturi i normalnim uvjetima bijele do blago žućkaste kristalinične krutine.

Aminokiseline koje tvore živi svijet su lijeve, L-aminokiseline. L u nazivu označava relativnu konfiguraciju prema gliceraldehidu. Korelacija strukture jednostavne aminokiseline – alanina, sa strukturom L i D-gliceraldehida pokazana je na slajdu. Aminokiseline koje tvore peptide/proteine su alfa-aminokiseline. Ugljikov atom koji je susjedni do karbonilne skupine (iz **COOH**) nazivamo alfa-C-atom. Sljedeći bi bio beta itd.

Standardne aminokiseline i njihove troslovne kratice



Standardne aminokiseline su one koje nalazimo u proteinima i peptidima prirodno prisutnim u živom svijetu. Kao što ćemo vidjeti kasnije, postoje i primjeri nestandardnih aminokiselina.

/ 20 standardnih aminokiselina trebate znati nacrtati.

Na slajdu je prikazano 20 standardnih aminokiselina podijeljenih po skupinama, ovisno o tome što je skupina R. Zvezdicom su označene esencijalne aminokiseline, njih moramo uzimati hranom jer naš metabolizam ne može provesti njihovu biosintezu.

Nepolarne aminokiseline imaju u bočnom lancu alkilne skupine. Metionin u lancu sadrži i atom sumpora.

Aromatske aminokiseline u R skupini sadrže aromatski dio – benzenski, fenolni prsten ili indol.

Polarne, nenabijene R skupine – u bočnom lancu sadrže heteroatome ili skupine koje su polarne (OH, SH, amid). Ove skupine pri fiziološkom pH nisu disocirane.

Pozitivno nabijene R skupine – ove aminokiseline u bočnom lancu sadrže dušikove atome koji se mogu protonirati, zbog čega će imati pozitivan naboj.

Negativno nabijene R skupine – aminokiseline sadrže karboksilnu skupinu u bočnom lancu, koja disocijacijom daje negativno nabijeni karboksilatni anion.

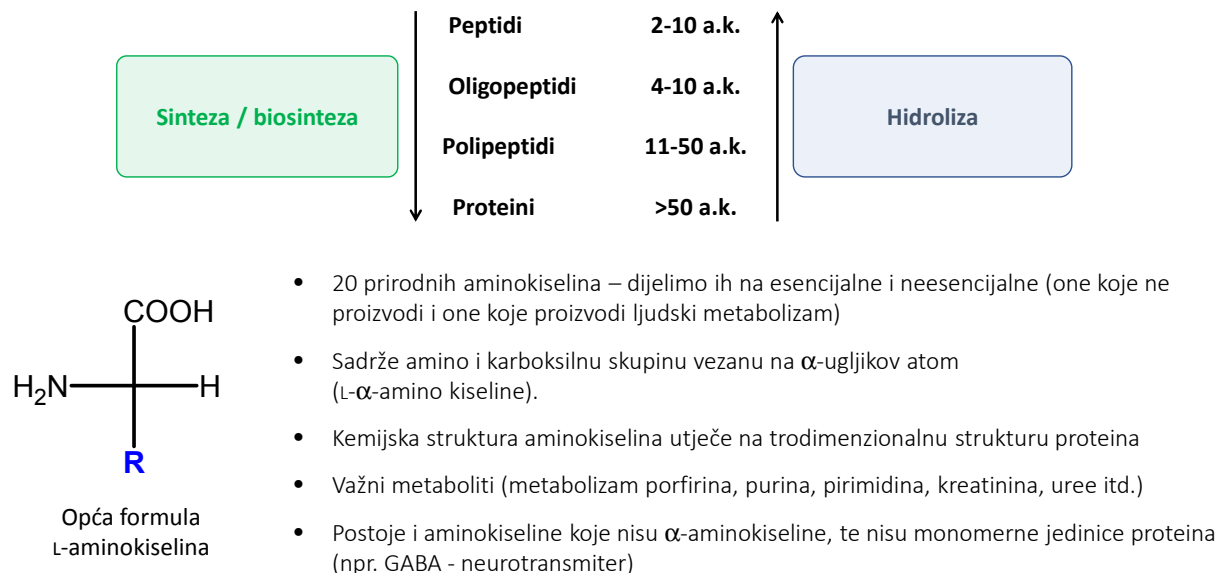
Bočni ogranci aminokiselina izuzetno su važni pri ostvarivanju interakcija u peptidnim lancima ili proteinima (npr. vodikove veze, solni mostovi, Van der Waalsove interakcije).

ZADATAK

Fischerovom projekcijskom formulom nacrtajte aminokiseline:

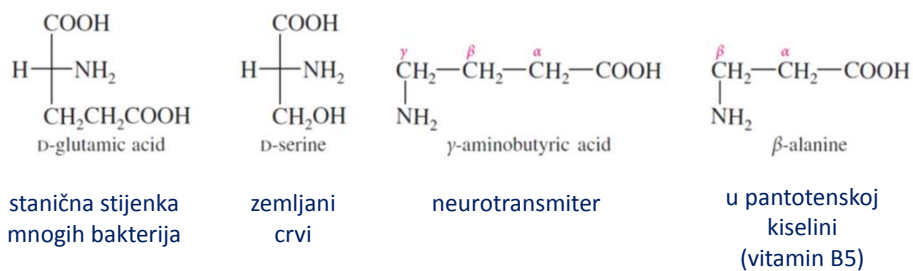
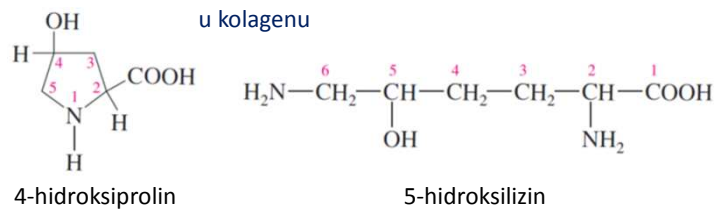
L-fenilalanin, L-cistein, D-glutaminsku kiselinu

Aminokiseline – gradivni blokovi peptida i proteina



Gradivne jedinice peptida i proteina su aminokiseline. One se mogu povezati **peptidnom vezom** tvoreći lance različite duljine. Ovisno o broju aminokiselina u tim lancima razlikujemo peptide, oligopeptide, polipeptide i proteine. Biosinteza se lanac produljuje pa iz aminokiselina – gradivnih blokova možemo stići sve do proteina. Moguć je i obrnut put – razgradnja proteina, npr. pomoću probavnih enzima (pepsin, tripsin, kimotripsin). Naravno, hidrolizu proteina moguće je provesti i u laboratorijskim uvjetima, npr. kuhanjem proteina u jakoj kiselini. Amidna veza je prilično stabilna veza. Često za hidrolizu amida u laboratoriju moramo koristiti prilično žestoke uvjete (vrlo visoke temperature, dugo vrijeme trajanja reakcije). Enzimi to sve obavljaju pri vrlo blagim, fiziološkim uvjetima. Enzimi su biokatalizatori, sjetite se da djeluju tako da snižavaju energiju aktivacije za određenu reakciju i na taj način je znatno ubrzavaju.

Nestandardne aminokiseline



Osim standardnih aminokiselina, pokazano je da u živom svijetu postoji cijeli niz rjeđih, nestandardnih, od kojih su neke pokazane na slajdu. Hidroksiprolin i hidroksilizin su aminokiseline koje nastaju posttranslacijskom modifikacijom (nakon što je protein već sintetiziran. Npr. protein sadrži prolinske jedinice koje su tek naknadno oksidirane u hidroksiprolin). Ova dva primjera hidroksiliranih aminokiselina izuzetno su važna za strukturu i funkciju kolagena.

U nekim bakterijama susrećemo D-aminokiseline.

Gama-aminobutanska kiselina je izuzetno važan neurotransmiter (GABA).

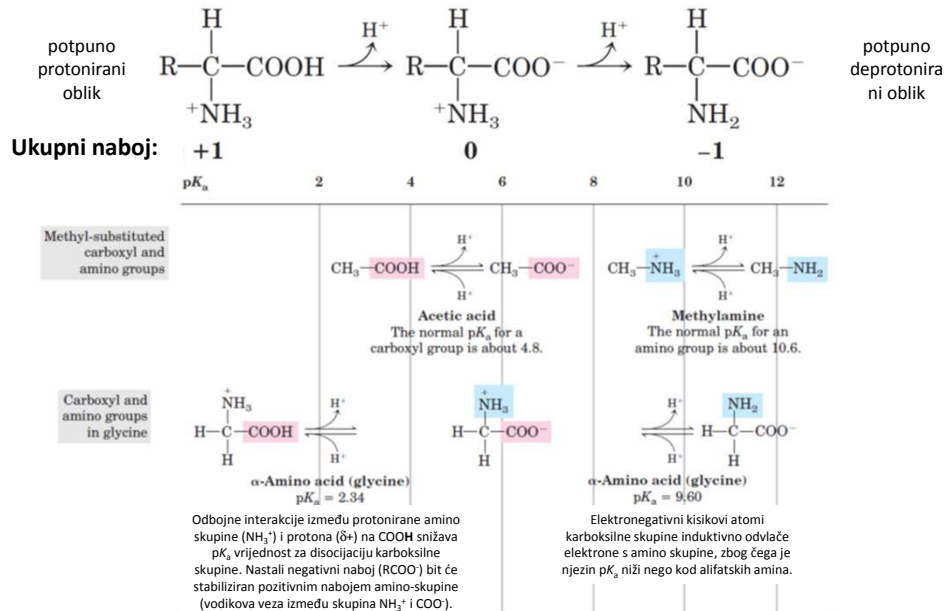
Primjetite kod beta-alanina da je molekulska formula identična kao kod standardnog alanina, jedina je razlika u tome što je amino skupina odmaknuta jedan atom dalje.

* Jesu li obje aminokiseline kiralne?

* Koliko kiralnih centara ima svaka od prikazanih aminokiselina?

/ Nije potrebno znati prikazati strukture nestandardnih aminokiselina.

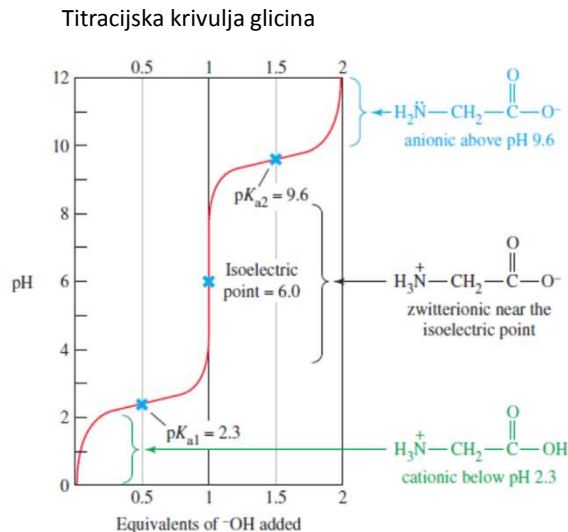
Kiselo-bazna svojstva aminokiselina



Spomenuli smo bazičnost amino skupine i kiselost karboksilne skupine. Sad ćemo se malo detaljnije osvrnuti na ova svojstva, jer su od izuzetne važnosti, npr. kod proteina. Svaku aminokiselinu mogli bi napisati kao potpuno protonirani oblik (protoniramo sve skupine koje se daju protonirati) i onda postupno disociirati jedan po jedan proton dok ne dođemo do potpuno deprotoniranog oblika. Pitanje je kojim će redoslijedom disociirati protoni – hoće li prvo disociirati $\text{R}-\text{COOH}$ ili će se otpustiti H^+ s protonirane amino skupine ($\text{R}-\text{NH}_3^+$). To je u potpunosti određeno konstantama disocijacije za te skupine. Kako se red veličina vrijednosti konstanti disocijacije proteže na puno redova veličine, nezgodno je baratati takvim brojevima i uspoređivati ih (npr. usporedite 4.5×10^{-8} , 7.2×10^{-6} i 8×10^{-10}). Stoga koristimo logaritamsku skalu vrijednosti, gdje konstantu disocijacije izražavamo kao $pK_a = -\log(K_a)$. Na taj način dobivamo jednoznačenkaste i male dvoznačenkaste brojeve koje je zgodno uspoređivati. Upamtite: manja pK_a = jača kiselina.

Prikazana je disocijacija octene kiseline, čija je $pK_a = 4.8$. Također je prikazana i disocijacija najjednostavnijeg alifatskog amina – metilamina, čija pK_a iznosi 10.6. Ako raspišete Henderson-Hasselbalchovu jednadžbu, možete uočiti da vrijedi $pK_a = \text{pH}$ kad su ravnotežne koncentracije kiseline i njezine konjugirane baze jednake (jer je $\log 1 = 0$). To će nam biti važno pri crtanju titracijskih krivulja.

Kiselo-bazna svojstva aminokiselina



IZOELEKTRIČNA TOČKA

➤ pH pri kojem je ukupan naboj molekule jednak nuli, tj. u otopini je prisutna jednaka količina jednostruko pozitivno i jednostruko negativno nabijenog oblika. Prevladava zwitterionski oblik.

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

Kad se određuje pK_a vrijednost za neku skupinu, provodi se kiselo-bazna titracija. Na slajdu je pokazana takva titracija glicina. Polazišna točka je otopina koja sadrži potpuno protonirani oblik glicina (glicin-hidroklorid, $\text{Cl}^- \text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{COOH}$). U malim alikvotima se dodaje baza (npr. otopina NaOH) te se nakon svakog dodatka izmjeri pH. Krivulja koja se pritom dobije prikazana je crvenom bojom (zapravo se dobiju točke, koje se mogu spojiti u ovakvu krivulju). Količinu dodanog NaOH najzgodnije je prikazivati u ekvivalentima. Potpuno protonirani glicin možemo promatrati kao diprotonsku kiselinu (H_2A), što bi značilo da trebamo dva ekvivalenta baze da bismo ju potpuno deprotonirali (neutralizirali).

/ Trebate znati nacrtati titracijsku krivulju za bilo koju aminokiselinu i znati reći koje vrste prevladavaju u pojedinom području pH. Vrijednosti pK_a će uvijek biti zadane.

Kako nacrtati titracijsku krivulju? Na ordinatu se prikazuje pH vrijednost (vrijednosti 0-14). Na apscisi se prikazu ekvivalenti dodane baze (ili kiseline, titracija može ići i obrnuto, od potpuno deprotoniranog prema potpuno protoniranom obliku). Prikažu se i polovice tih vrijednosti (0.5, 1.5, 2.5). U graf se ucrtaju pK_a vrijednosti. Sjetimo se kad je $pK_a = \text{pH}$, tada su koncentracije protoniranog i deprotoniranog oblika jednake, a to je upravo na mjestu gdje je dodano pola ekvivalenta baze (dakle, pola količine kiseline je neutralizirano, tj. koncentracije preostale kiseline i njezine nastale soli su jednake). Na graf treba ucrtati i pI, izoelektričnu točku (objašnjeno na slajdu). Krivulja ima sigmoidalni

oblik. Kad smo u području pH vrijednosti koje su slične vrijednosti pK_a tada se dodatkom baze pH sporo mijenja (pufersko područje). Velike promjene pH, tj. nagli skokovi događaju se kad je neutralizirana gotovo sva količina kiseline. /Podsjetite se pufera i njihovih svojstava.

Ovakve krivulje moguće je prikazivati i za peptide / proteine.

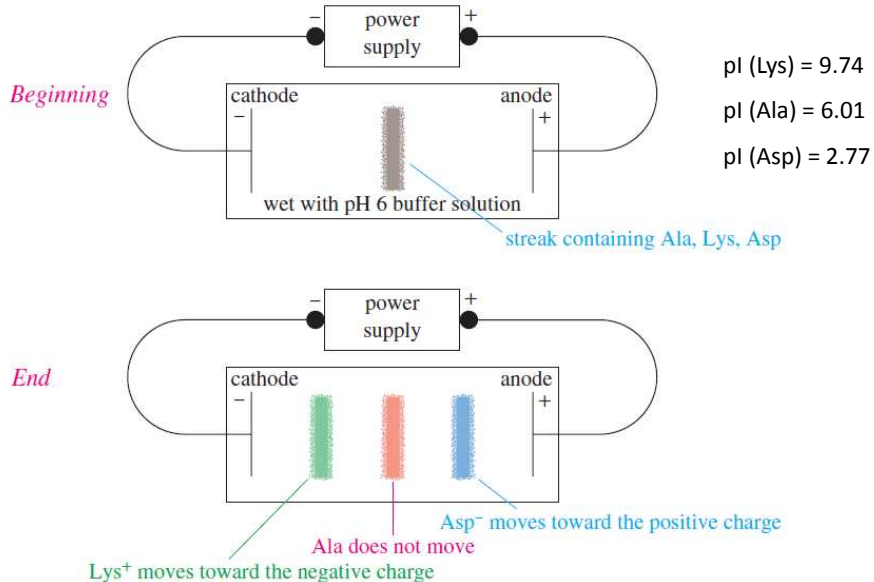
Kiselo-bazna svojstva aminokiselina

| Amino acid | Abbreviation/ symbol | M_r | pK_a values | | | pI | Hydropathy index* | Occurrence in proteins (%) [†] |
|-------------------------------------|-------------------------|-------|------------------------------|--------------------------------|---------------------|-------|----------------------|--|
| | | | pK_1 ($-\text{COOH}$) | pK_2 ($-\text{NH}_3^+$) | pK_R (R group) | | | |
| Nonpolar, aliphatic R groups | | | | | | | | |
| Glycine | Gly G | 75 | 2.34 | 9.60 | | 5.97 | -0.4 | 7.2 |
| Alanine | Ala A | 89 | 2.34 | 9.69 | | 6.01 | 1.8 | 7.8 |
| Proline | Pro P | 115 | 1.99 | 10.96 | | 6.48 | 1.6 | 5.2 |
| Valine | Val V | 117 | 2.32 | 9.62 | | 5.97 | 4.2 | 6.6 |
| Leucine | Leu L | 131 | 2.36 | 9.60 | | 5.98 | 3.8 | 9.1 |
| Isoleucine | Ile I | 131 | 2.36 | 9.68 | | 6.02 | 4.5 | 5.3 |
| Methionine | Met M | 149 | 2.28 | 9.21 | | 5.74 | 1.9 | 2.3 |
| Aromatic R groups | | | | | | | | |
| Phenylalanine | Phe F | 165 | 1.83 | 9.13 | | 5.48 | 2.8 | 3.9 |
| Tyrosine | Tyr Y | 181 | 2.20 | 9.11 | 10.07 | 5.66 | -1.3 | 3.2 |
| Tryptophan | Trp W | 204 | 2.38 | 9.39 | | 5.89 | -0.9 | 1.4 |
| Polar, uncharged R groups | | | | | | | | |
| Serine | Ser S | 105 | 2.21 | 9.15 | | 5.68 | -0.8 | 6.8 |
| Threonine | Thr T | 119 | 2.11 | 9.62 | | 5.87 | -0.7 | 5.9 |
| Cysteine | Cys C | 121 | 1.96 | 10.28 | 8.18 | 5.07 | 2.5 | 1.9 |
| Asparagine | Asn N | 132 | 2.02 | 8.80 | | 5.41 | -3.5 | 4.3 |
| Glutamine | Gln Q | 146 | 2.17 | 9.13 | | 5.65 | -3.5 | 4.2 |
| Positively charged R groups | | | | | | | | |
| Lysine | Lys K | 146 | 2.18 | 8.95 | 10.53 | 9.74 | -3.9 | 5.9 |
| Histidine | His H | 155 | 1.82 | 9.17 | 6.00 | 7.59 | -3.2 | 2.3 |
| Arginine | Arg R | 174 | 2.17 | 9.04 | 12.48 | 10.76 | -4.5 | 5.1 |
| Negatively charged R groups | | | | | | | | |
| Aspartate | Asp D | 133 | 1.88 | 9.60 | 3.65 | 2.77 | -3.5 | 5.3 |
| Glutamate | Glu E | 147 | 2.19 | 9.67 | 4.25 | 3.22 | -3.5 | 6.3 |

U tablici su prikazane su pK_a vrijednosti za 20 standardnih aminokiselina. Na prošlom slajdu imali smo glicin kao primjer. Neke aminokiseline imaju u bočnom lancu skupine koje mogu disociirati pa i to treba uzeti u obzir. Prikazane su i pI vrijednosti za pojedinu aminokiselinu. pI vrijednosti zapravo odražavaju ukupnu kiselost/bazičnost određene aminokiseline. Tako je npr. asparaginska kiselina najkiselija s $pI = 2.77$, a arginin najbazičnija aminokislina, s $pI = 10.76$.

Tablica također sadrži i podatak o zastupljenosti pojedinih aminokiselina u humanim proteinima. Najmanje je zastupljen triptofan, a najzastupljeniji je leucin.

Kiselo-bazna svojstva aminokiselina, izoelektrična točka Primjena u odvajanju aminokiselina, peptida i proteina - ELEKTROFOREZA



pI vrijednost aminokiselina/peptida/proteina je izuzetno važan podatak. To je pH pri kojem je ukupni naboj molekule jednak nuli i pri tom pH je aminokiselina najmanje topljiva u vodi. Svojstvo da su različite aminokiseline različito nabijene pri istoj pH vrijednosti koristi se u svrhu njihovog odvajanja.

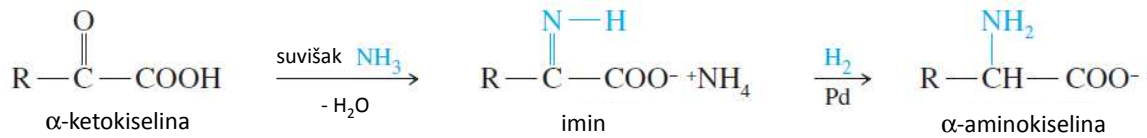
Na slajdu je prikazan primjer smjese 3 aminokiseline – lizina, alanina i asparaginske kiseline. Pri pH = 6 su različito nabijene – lizin pozitivno, alanin nenabijen, a asparaginska kiselina negativno. Ukoliko ovu smjesu stavimo u gel za elektroforezu, na koji onda primijenimo električno polje, nabijene aminokiseline će se početi gibati prema elektrodi suprotnoga naboja. Na ovaj način smo početnu smjesu odlijelili na njezine komponente. Takva odvajanja su od izuzetno velike koristi kod pročišćavanja ili analize proteina.

Kiselo-bazna svojstva aminokiselina - ZADATAK

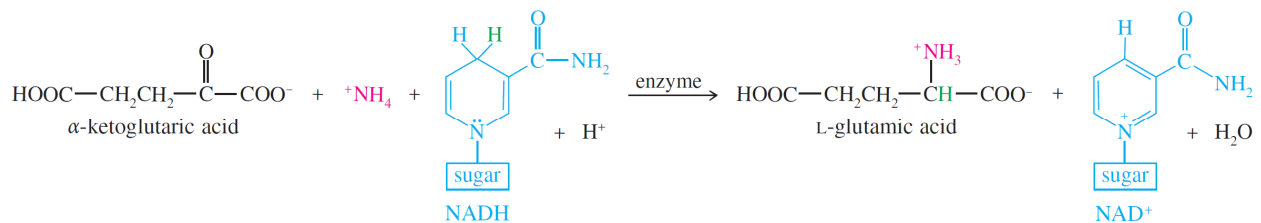
Napišite jednađbu postupne disocijacije glutaminske kiseline od potpuno protoniranog oblika do potpuno deprotoniranog oblika te izračunajte njezinu izoelektričnu točku. Skicirajte titracijsku krivulju i označite koje su vrste prisutne u kojem području.

Sinteza aminokiselina

1. Reduktivna aminacija



- reduktivna aminacija je **biomimetička** metoda, jako nalikuje biosintezi aminokiselina:



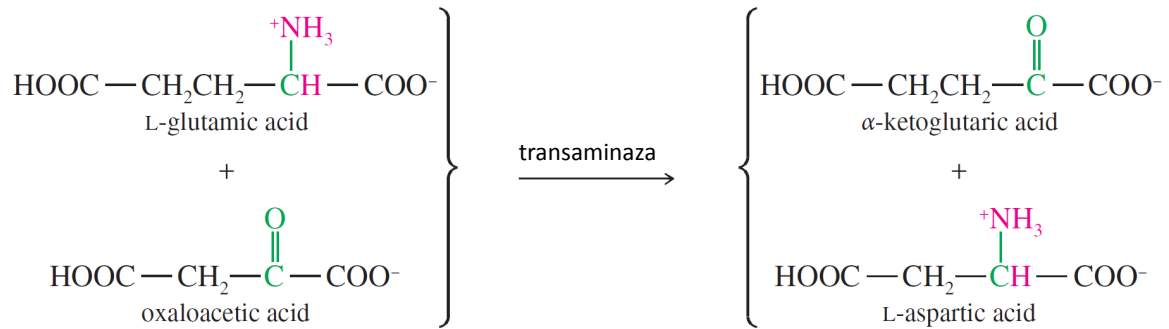
Razmotriti ćemo najvažnije metode **kemijske sinteze** aminokiselina.

1. Reduktivna aminacija je reakcija u kojoj aldehide ili ketone prevodimo u amine. U prvom koraku nastaje imin (uz izlazak vode), a potom se dvostruka veza C=N reducira, npr. katalitičkim hidrogeniranjem. Metoda je biomimetička, ima sličnosti s reakcijom koja se inače događa u metabolizmu.

Sinteza aminokiselina

1. Reduktivna aminacija *in vivo*

- biosinteza ostalih aminokiselina koristi L-glutaminsku kiselinu kao izvor amino skupine

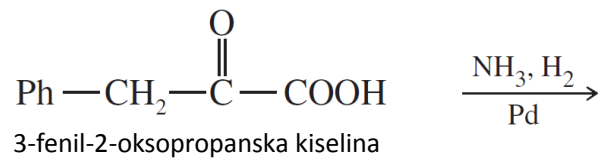


Na prethodnom slajdu vidjeli smo kako u metabolizmu nastaje glutaminska kiselina. Upravo nju metabolizam koristi u sintezi ostalih aminokiselina, gdje služi kao prijenosnik amino skupine. Naravno, to je u metabolizmu katalizirano enzimom, transaminazom.

Sinteza aminokiselina

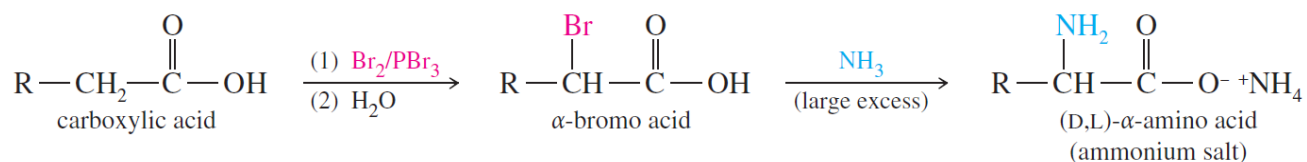
1. Reduktivna aminacija - ZADATAK

Napišite produkt(e) sljedeće reakcije:



Sinteza aminokiselina

2. Aminacija α -halokiselina

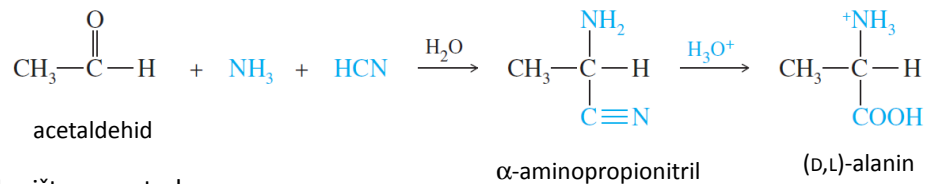


- iskorištenja su obično niska pa se vrlo rijetko primjenjuje

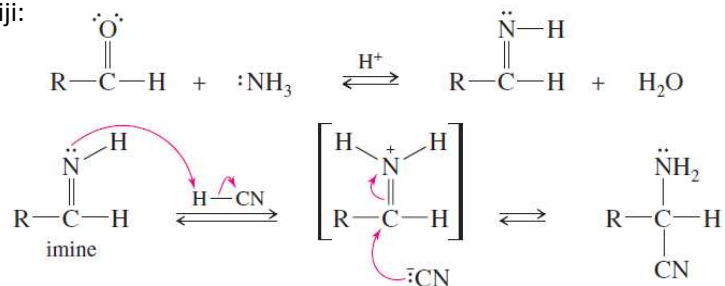
Karboksilne kiseline mogu se na alfa-ugljkovom atomu halogenirati, tj. vodik se može zamijeniti s halogenom, obično Br. Tako dobivamo alfa-halogenokiseline. U reakciji s amonijakom dolazi do zamjene halogenida amino-skupinom (nukleofilna supstitucija na zasićenom ugljikovom atomu).

Sinteza aminokiselina

3. Streckerova sinteza



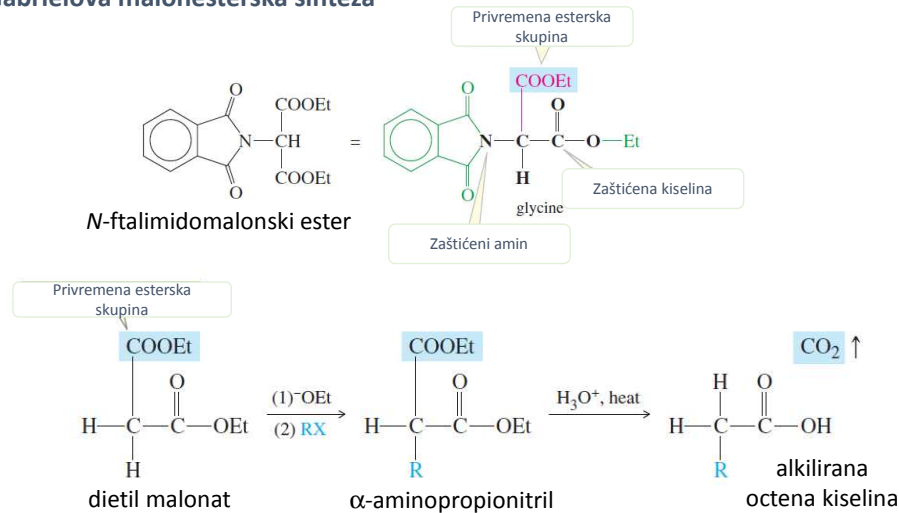
- puno korištena metoda
- mehanizam reakcije uključuje nastanak imina (iz aldehida i amonijaka), koji podliježe cijanhidrinskoj reakciji:



Streckerova sinteza aminokiselina važna je metoda njihove pripreme. Na slajdu je prikazan njezin mehanizam. Radi se o reakciji koja je vrlo slična običnoj cijanhidrinskoj reakciji na karbonilnim spojevima.

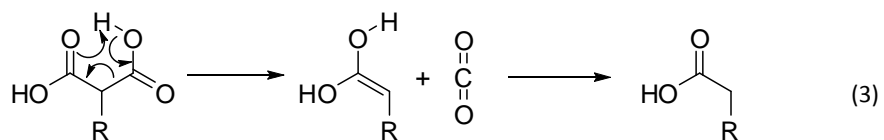
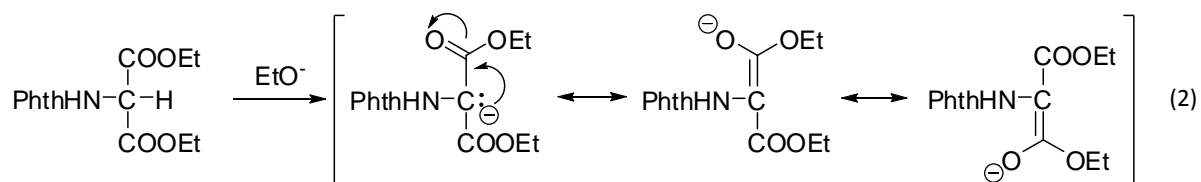
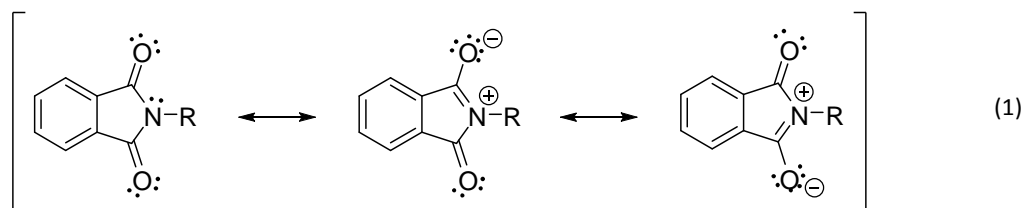
Sinteza aminokiselina

4. Gabrielova malonesterska sinteza



- *N*-ftalimidomalonski ester – molekula glicina s amino-skupinom zaštićenom u obliku imida, kako bi se spriječilo da bude nukleofil

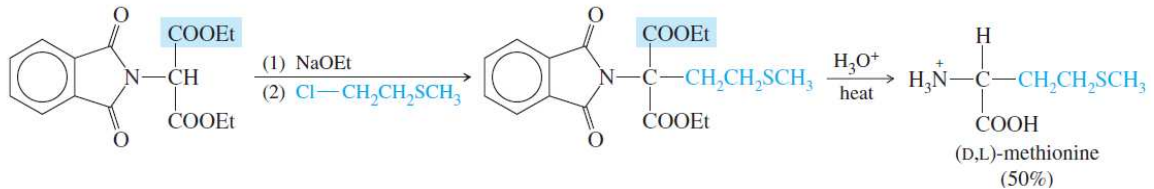
Još jedna važna metoda sinteze aminokiselina je Gabrielova malonesterska sinteza. Ona kreće iz *N*-ftalimidomalonskih estera. U takvim esterima amino-skupina je zaštićena prevođenjem u ftalimid – to vrlo efikasno suzbija nukleofilnost amina (rezonancijske strukture koje to objašnjavaju prikazane su na sljedećem slajdu pod 1). Prisutnost dviju karboksilnih skupina omogućuje relativno laku deprotonaciju središnjeg ugljikovog atoma, pri čemu nastaje karbanion, koji se može rezonancijski stabilizirati delokalizacijom u obje karboksilne skupine (sljedeći slajd pod 2). Nastali karbanion može sudjelovati u kemijskoj reakciji, gdje će napadom na alkil-halogenid (npr. CH_3I) doći do nukleofilne supstitucije. Upravo zbog ove reakcije dušik je zaštićen u obliku ftalimida – kako ne bi vršio nukleofilni napad na alkil-halogenid R-X . Nakon toga treba ukloniti jednu karboksilnu skupinu, a to se postiže vrlo lako – zagrijavanjem u kiselini. Najprije dolazi do hidrolize estera, potom do dekarboksilacije. Mehanizam dekarboksilacije prikazan je na sljedećem slajdu pod 3.



Phth = ftalimid

Sinteza aminokiselina

4. Gabrielova malonesterska sinteza



➤ Sve prikazane kemijske sinteze aminokiselina daju **racemične produkte**. U većini slučajeva, samo su L-aminokiseline biološki aktivne, dok D-aminokiseline mogu čak biti i toksične. Postoje metode kojima možemo odijeliti racemičnu smjesu aminokiselina na enantiomere.

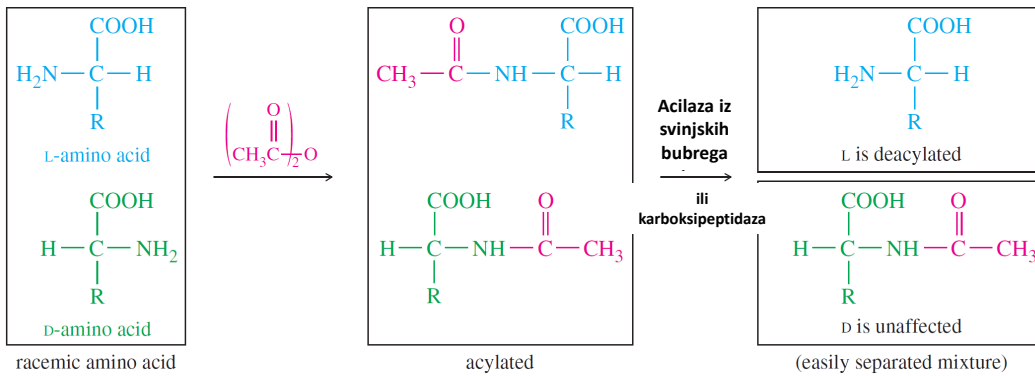
➤ **Kemijske metode** odvajanja enantiomera – npr. tvorbom soli s kiralnim kiselinama (vinska kiselina) ili aminima (strijnin, brucin) → odvajanje kristalizacijom ili kromatografskim metodama.

➤ **Enzimska rezolucija**

Enantiomeri su jednaki po svim svojim fizikalno-kemijskim svojstvima. Prema tome, topljivost u nekom otapalu im je jednaka. Da bismo tome doskočili provodimo kristalizaciju uz dodatak nekog spoja definirane kiralnosti (npr. vinske kiseline). Tako ćemo dobiti parove S-enantiomer-L-vinska kiselina i R-enantiomer-L-vinska kiselina, koji su zapravo diastereomeri, pa će se razlikovati u fizikalno-kemijskim svojstvima, npr. topljivosti u nekom otapalu, na temelju čega ih možemo razdvojiti.

Rezolucija racemične smjese aminokiselina

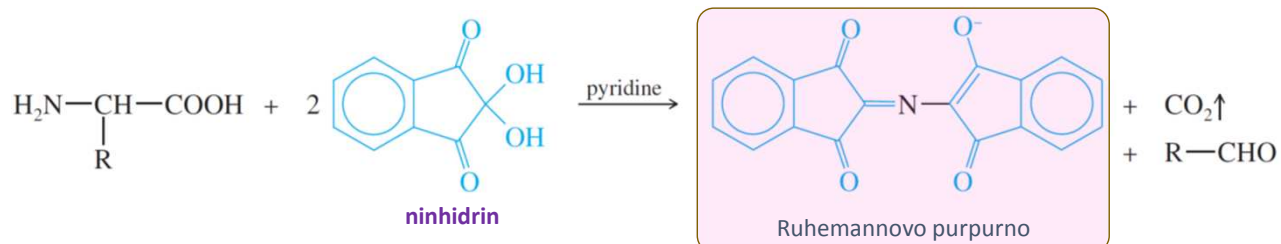
Enzimska rezolucija



- enzim prepoznaje samo ester aminokiseline L-konfiguracije (dobro sjeda u njegovo aktivno mjesto) pa ga hidrolizira
- ester aminokiseline D-konfiguracije hidrolizira puno sporije ili ne hidrolizira jer loše sjeda u aktivno mjesto enzima

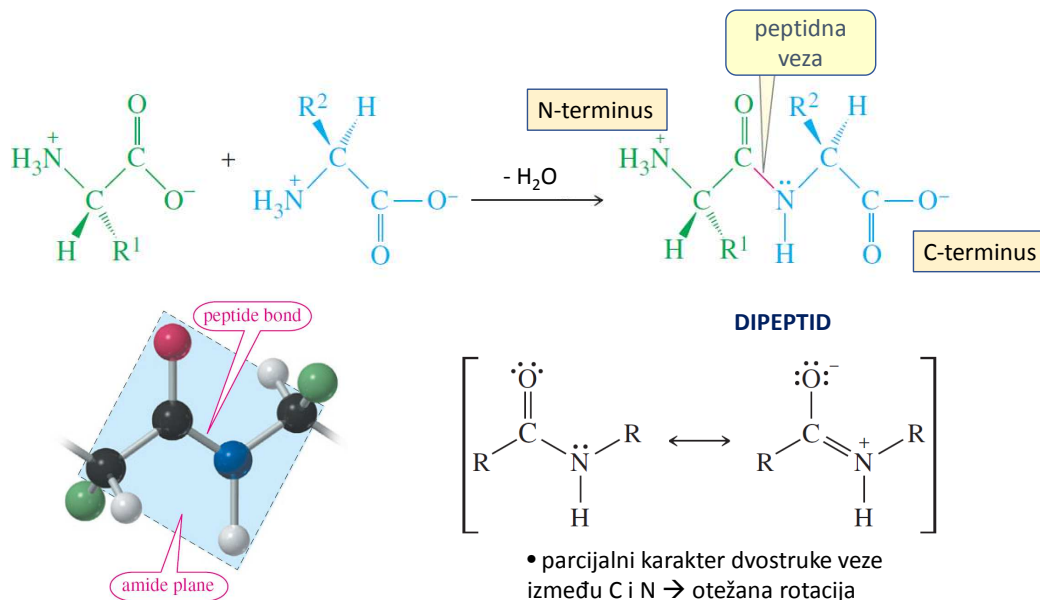
Reakcija aminokiselina s ninhidrinom

- ninhidrin je reagens koji nam služi za vizualizaciju mrlja ili vrpca aminokiselina odvojenih kromatografijom ili elektroforezom



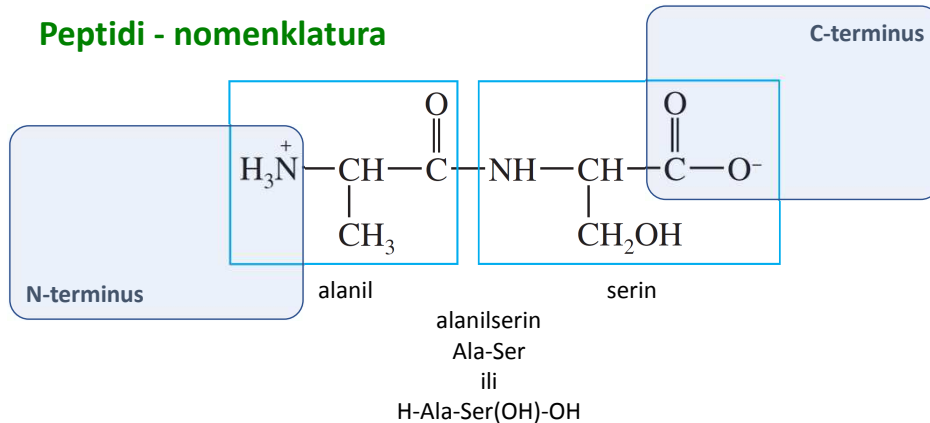
Sve aminokiseline daju ovaj produkt, bez obzira na to kakav im je bočni lanac.

Povezivanje aminokiselina – peptidi



Već smo spomenuli da se aminokiseline mogu međusobno povezivati tvoreći kraće lance (peptide) ili lance koji mogu biti dugi i po 20-30 tisuća aminokiselinskih jedinica (proteini). Amidna veza nastaje povezivanjem karboksilne i amino skupine. Iako vezu između dušika i ugljika u amidima crtamo kao jednostruku vezu, ona zapravo ima parcijalni karakter dvostruke veze, što se može objasniti prikazanim rezonancijskim strukturama. Iz tog razloga rotacija oko amidne C-N veze je otežana (nije nemoguća, samo je otežana).

Peptidi - nomenklatura



Bradikinin: arginilprolilproliilglicilfenilalanilserilproliifeniilalanilarginin

→ vrlo nezgrapno

Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg

troslovne
kratice

RPPGFSPFR

jednoslovne
kratice

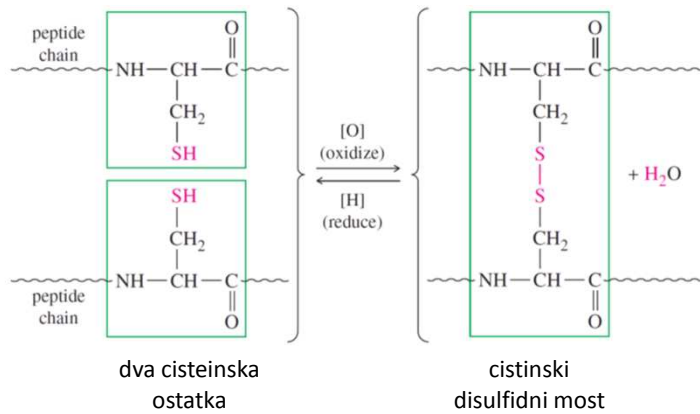
Nešto kratko o nomenklaturi peptida. Zgodna nomenklatura je troslovná, gdje se na početak i kraj kratice mogu dodati skupine vezane za dušik, odnosno karboksilnu skupinu. Tako u H-Ala-Ser(OH)-OH, H na početku znači da je amino skupina slobodna, tj. u NH₂ obliku. Kad bi na taj dušik bila vezana acetatna skupina (AcNH-, što znači CH₃C(O)NH-) to bismo u imenu bilježili kao Ac-Ala-...

OH na kraju znači da je karboksilna skupina u obliku COOH. Kad bismo imali metilni ester, tada bismo pisali Ser(OH)-OMe.

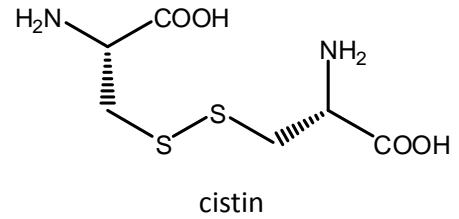
Ako aminokiselina ima bočni ogranak, kao što u spomenutom primjeru serin ima OH skupinu, tada tu skupinu bilježimo u zagrade odmah do kratice aminokiseline, Ser(OH). Kod asparaginske kiseline to bi pisali ovako: Asp(COOH)-OH.

Peptidi - povezivanje

- osim peptidnom vezom, aminokiseline se u peptidnom lancu mogu povezivati i disulfidnim vezama (iako peptidnom vezom u pravom smislu te riječi nazivamo samo amidnu vezu između dvije aminokiseline)

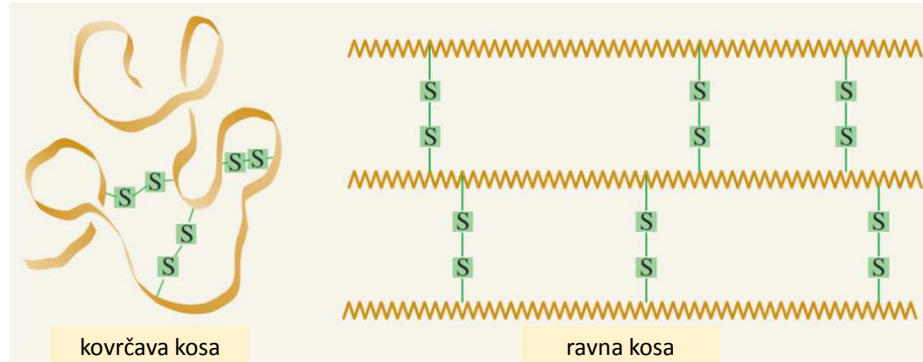


Najjednostavniji peptid s disulfidnom vezom – dimer aminokiseline cisteina



- Kosa i nokti sadrže 10-15% cistina
- može se naći i u rogovima i kopitima životinja
- može biti sastojak bubrežnih kamenaca

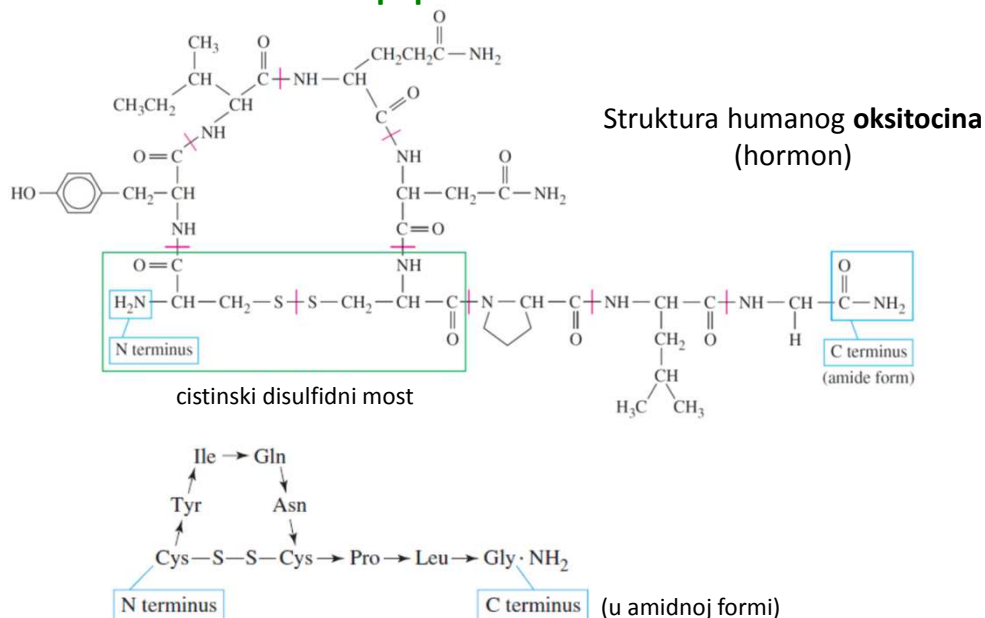
Povezivanje - umreženje peptidnih lanaca disulfidnim mostovima



- disulfidni mostovi prežive istežanje ostatka proteina i nakon toga ga vraćaju u prvotni oblik → elastičnost i čvrstoća kose
- stupanj umreženja (broj disulfidnih veza) je puno veći u proteinima koji tvore nokte, pandže, kopita i papke pa su oni čvršće strukture od kose

Disulfidni mostovi mogu nastati među vrlo udaljenim dijelovima proteina → na taj način će ih dovesti prostorno blizu u nekakvoj konačnoj strukturi proteina

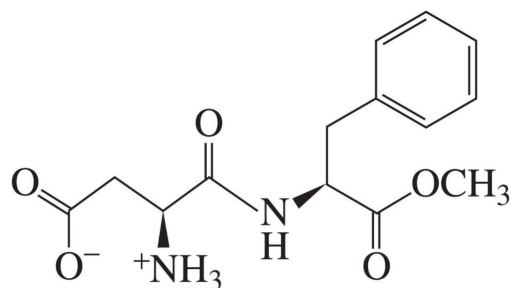
Neki specifični linearni i ciklički peptidi



Oksitocin je zapravo ciklički peptid jer udaljene dijelove povezuje disulfidna veza. Na slajdu su pokazana dva načina kako se može prikazati oksitocin. U oba slučaja struktura je nedvojbeno prikazana (naravno, sve aminokiseline su L-konfiguracije).

Gly•NH₂ znači da na kraju imamo karboksilnu skupinu prevedenu u amid (prikazano na većoj strukturi). Strelice u donjoj strukturi označavaju smjer od N-kraja prema C-kraju. Svaki peptidni lanac ima svoj N-kraj (prvu aminokiselinu u lancu) i C-kraj (zadnju aminokiselinu u lancu). Bočni ogranci mogu imati amino ili karboksilne skupine, ali njih ne zovemo N ili C kraj. Dakle, N ili C kraj mogu biti samo amino ili karboksilna skupina vezana za alfa-ugljikov atom aminokiseline.

Neki specifični linearni i ciklički peptidi



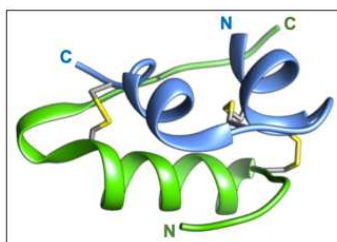
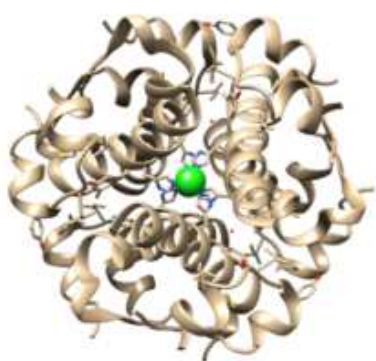
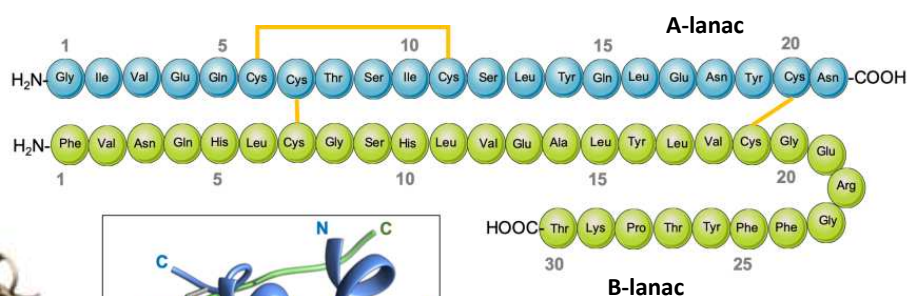
aspartam

H-Asp-Phe-OCH₃

Aspartam je često korišteni zaslađivač, nalazi se u brojnim pićima i drugim proizvodima. Oko 200 puta je slađi od saharoze. Po strukturi je dipeptid.

* Gdje je N, a gdje C kraj u aspartamu?

Inzulin



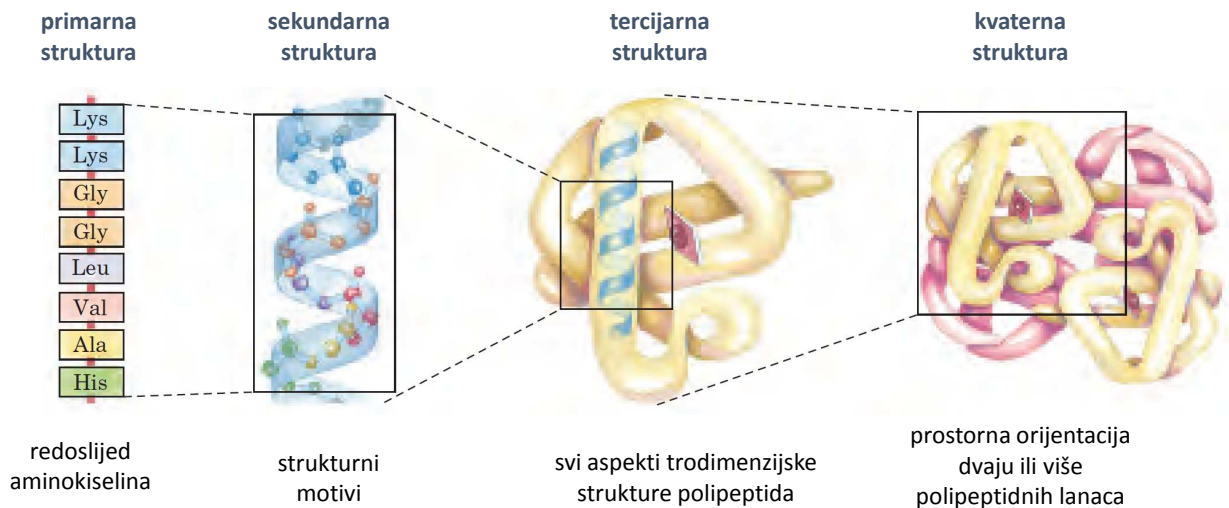
Struktura humanog inzulina. Žuto su prikazani disulfidni mostovi (-S-S-)

Monomeri se pomoću međumolekulskih interakcija udružuju u heksamer. U sredini je ion cinka (Zn²⁺).

Jedan od najpoznatijih proteina je inzulin. On se sastoji od dva polipeptidna lanca (A i B), koji su međusobno povezani s dvije disulfidne veze. Unutar samog A-lanca postoji disulfidna veza između cisteina 6 i 11. Disulfidne veze vrlo su važne za prostornu strukturu inzulina, a na taj način i za njegovu funkciju. Na strukturi na sredini pokazana je 3D struktura monomera inzulina te su naznačeni N i C krajevi polipeptidnih lanaca koji ga čine.

Inzulin se u organizmu skladišti u obliku heksamera (prikazan na slajdu), jer je to stabilniji oblik. Međutim, aktivni oblik ovog važnog hormona je monomer. Uloga inzulina u organizmu je regulacija metabolizma – prvenstveno metabolizma ugljikohidrata, ali i masti i proteina.

Razine strukture u peptidima i proteinima



Vidjeli smo kod inzulina da za aktivnost važna prostorna struktura, tj. kako se lanci orijentiraju u prostoru i kako su povezani. Različite razine uređenosti strukture kod peptida i proteina nazivamo primarna, sekundarna, tercijarna i kvaterna struktura.

Primarna struktura je slijed aminokiselina u lancu.

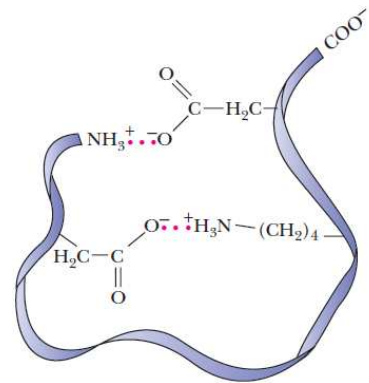
Sekundarna struktura su strukturni motivi koje lanci poprimaju na dijelu proteina. Najčešći su alfa-zavojnica i beta-ploča.

Tercijarna struktura je način na koji su strukturni motivi međusobno orijentirani u prostoru.

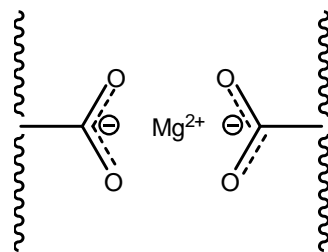
Kvaternu strukturu imaju samo oni proteini koji se sastoje od polipeptidnih lanaca / proteina čiji lanci međusobno nisu povezani kemijskom vezom, već se međusobno udružuju zbog ostvarivanja povoljnih međumolekulskih interakcija. Drugim riječima, kvaterna struktura nam govori na koji je način više tercijarnih struktura udruženo u jednu cjelinu.

Proteini

- Struktura peptida i proteina određena je kemijskom strukturom i kemijskim (kovalentnim) vezama, ali veliki utjecaj na strukturu imaju i međumolekulske interakcije, u prvom redu **vodikove veze**
- **solni mostovi** – interakcije između nabijenih udaljenih dijelova peptidnog lanca



Vodikove veze između slobodnih karboksilatnih i amino skupina

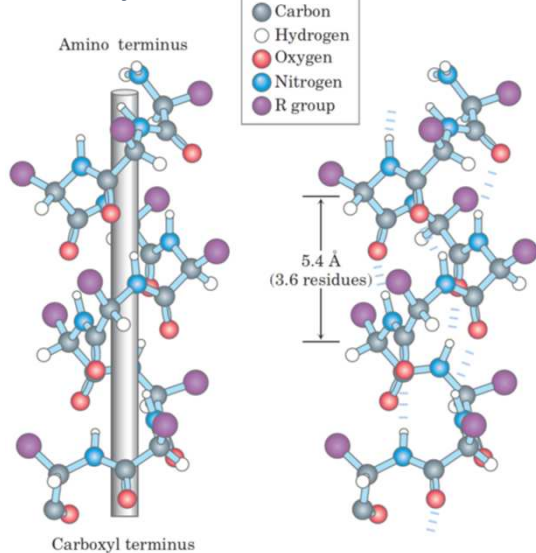


Dva aspartatna ili glutamatna ostatka u interakciji preko magnezijevog kationa

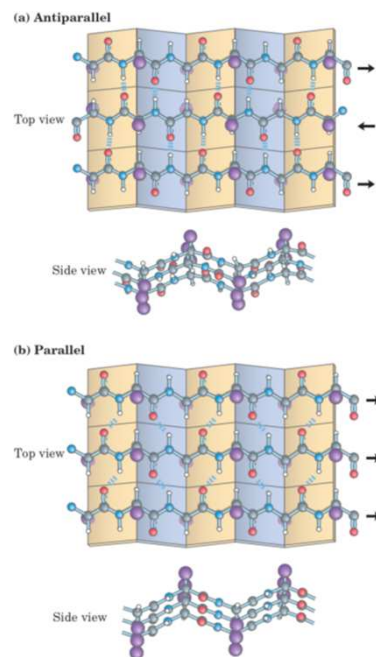
Na slajdu su prikazane neke od interakcija koje su vrlo važne za stabilnost tercijarne i kvaterne strukture. To su najčešće solni mostovi i vodikove veze. Zbog ovih interakcija udaljeni dijelovi polipeptidnog lanca međusobno se približe, te to dovodi do smatanja proteina u odgovarajuću, nativnu strukturu. Vrijedi i obrnuto, ukoliko ove interakcije na neki način poremetimo, poremetit će se struktura proteina, a time i njegova funkcija.

Strukturni motivi u peptidima i proteinima (sekundarna struktura)

α -zavojnica



β -nabrana ploča

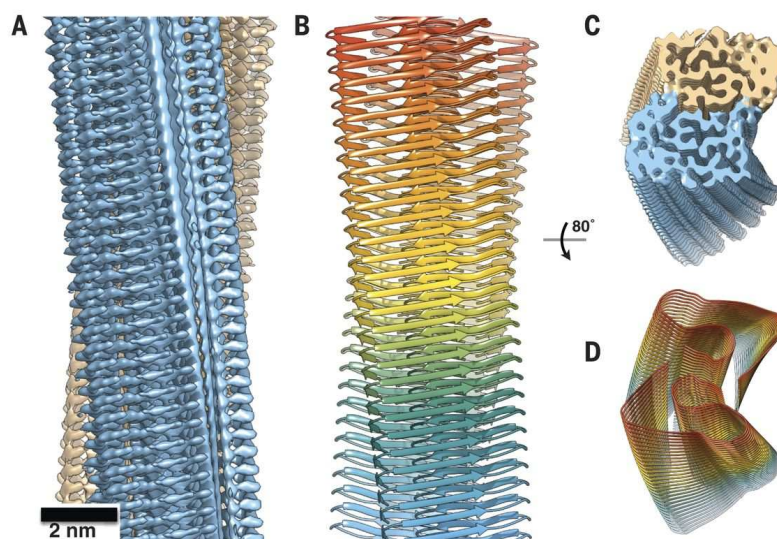


Sekundarna struktura proteina.

Prikazana je alfa-zavojnica. To je desna zavojnica, sadrži 3.6 aminokiseline po okretu, a visina jednog okreta iznosi 5.4 Å. Prikazane su i vodikove veze između aminokiselina u zavojnici. Ove aminokiseline u primarnoj strukturi nisu susjedne, ali u alfa zavojnici ostvaruju interakcije koje su presudne za postojanje alfa-zavojnice kao stabilnog oblika. Beta-ploče ili beta-nabrane ploče nastaju interakcijom između lanaca koji s obzirom na N i C-krajeve mogu ići u istom ili različitom smjeru, pa razlikujemo paralelne, odnosno antiparalelne beta-ploče. Ove strukture izgledaju kao ploče s cik-cak naborima pa im od tuda dolazi i ime.

β -nabrane ploče – amiloidni plakovi

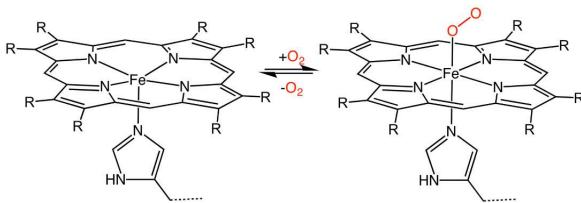
Vlaknasta struktura
amiloida- β (1–42), ključnog
patološkog čimbenika
Alzheimerove bolesti.



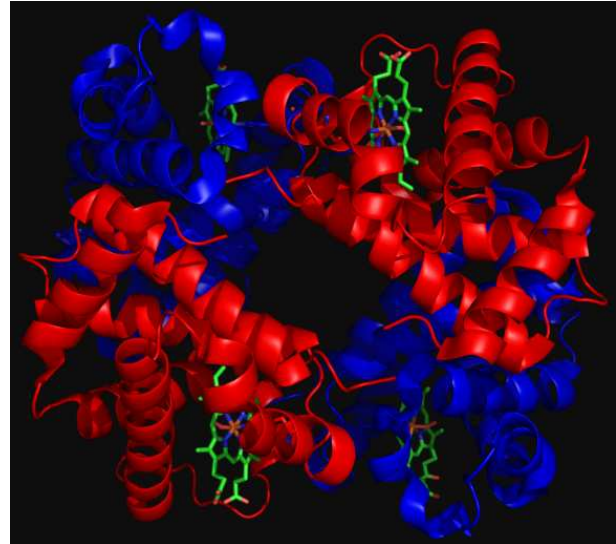
Beta-ploče su prisutne u većini proteina, no možda su najpoznatiji primjer amiloidni plakovi, koji nastaju u mozgu osoba oboljelih od Alzheimerove bolesti. S obzirom da su u ovakvim proteinima beta-ploče naslagane vrlo blizu jedne drugima (zbog maksimizacije broja interakcija), voda ne može prodrijeti u strukturu pa su ovakvi proteini netopljivi. Iz tog razloga se talože u stanicama, što uzrokuje Alzheimerovu bolest. Postoji cijeli niz ovakvih bolesti (npr. kralje ludilo, ili kod ljudi Creutzfeldt–Jakobova boles). Patološka stanja i bolesti uzrokovane „neispravnim” proteinima nazivaju se proteinopatije.

Proteini

- >50 aminokiselina
- 1 ili više peptidnih lanaca
- nekad sadrže i neproteinske skupine, npr. hem u hemoglobinu. Takve skupine se nazivaju **prostetičke skupine**
- **hemoglobin** sadrži po dvije α i β podjedinice (ukupno 4 polipeptidna lanca) i 4 hem skupine



Struktura hema i vezanje kisika



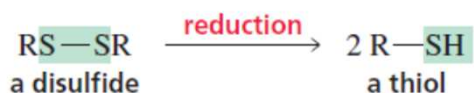
Struktura hemoglobina (PDB: 1GZX)

Na slajdu je prikazana struktura hemoglobina. Ono što možemo odmah uočiti je da sadrži puno alfa-zavojnica. Sastoji se od 4 podjedinice, od kojih su po dvije jednake. Dakle, radi se o proteinu s kvaternom strukturom.

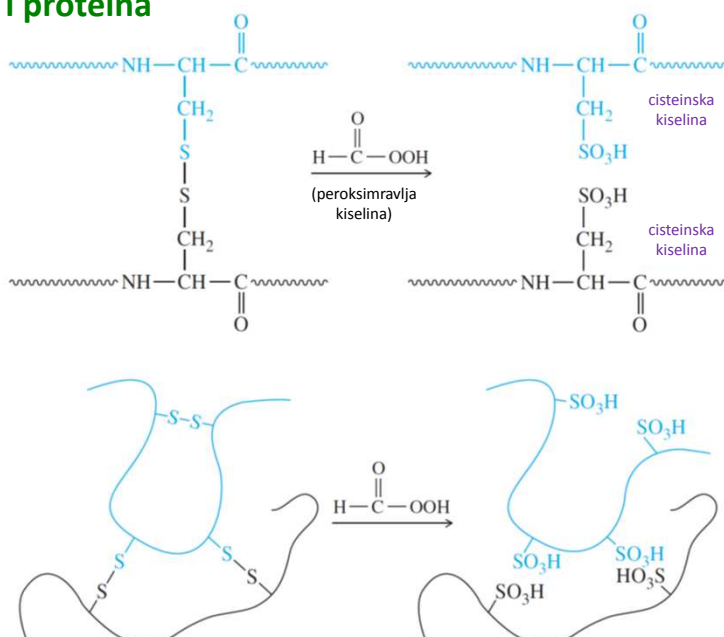
Vidimo da hemoglobin osim peptidnih lanaca, sadrži i dodatne skupine koje su po strukturi porfirini (označene zeleno u strukturi). Njih nazivamo hem i izuzetno su važne za funkciju hemoglobina, jer se na njima događa vezanje kisika. Proteinski dio izuzetno je važan jer regulira vezanje i otpuštanje kisika, ovisno o uvjetima u kojima se protein nađe. Proteinski dio također ima ulogu vezanja i prenošenja CO_2 (u obliku karbamata na N-krajevima proteinskih lanaca, R-NH-COO^-)

Skupine koje nisu peptidne strukture, ali tvore strukturu proteina, nazivaju se prostetičke skupine. Kod hemoglobina je to hem, kod nekih drugih proteina nalazimo Fe-S centre, a nekad struktura prostetičke skupine jako podsjeća na strukturu vitamina, iz čega proizlazi da bez unosa vitamina neki proteini ne bi mogli obavljati svoju normalnu funkciju.

Određivanje strukture peptida i proteina



- prvi korak u određivanju strukture proteina je najčešće cijepanje svih disulfidnih veza. Npr. kod inzulina se tako dobivaju dva individualna peptidna lanca koja se mogu odijeliti i dalje svaki zasebno analizirati.

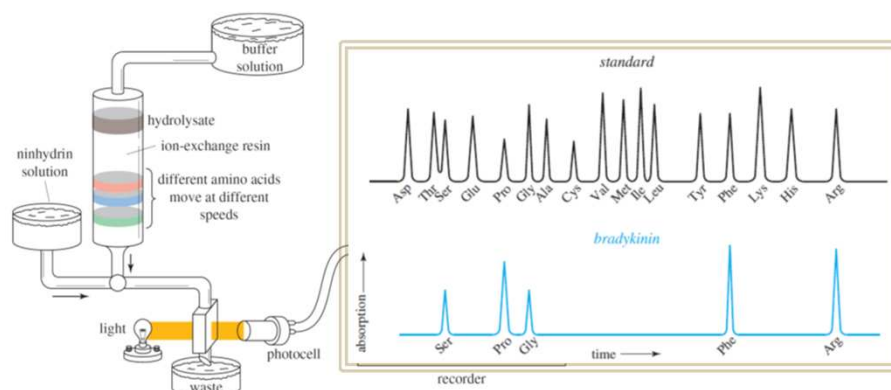


Do sad smo raspravljali o strukturi proteina, sad ćemo reći nešto o tome na koji način određujemo primarnu strukturu proteina (slijed aminokiselina).

Tiolne skupine, R-SH, nisu odviše stabilne, lako se oksidiraju, već i s kisikom iz zraka. Stoga je zgodnije tu oksidaciju napraviti kontrolirano i u potpunosti, npr. upotrebom peroksimravljive kiseline kako je prikazano na slajdu.

Određivanje strukture peptida i proteina

- peptidne veze u proteinu mogu se potpuno razoriti kuhanjem 24h u 6M HCl
- rezultat je smjesa aminokiselina, koja se može analizirati → nema informacije o redosljedju njihovog povezivanja, već samo o sastavu proteina
- ako nas zanima redosljed kojim su povezane aminokiseline u peptidnom lancu, koristimo **metode postupne odgradnje** gdje se lanac skraćuje za jednu po jednu aminokiselinu (sekvenciranje; Edmanova ili Sangerova metoda)

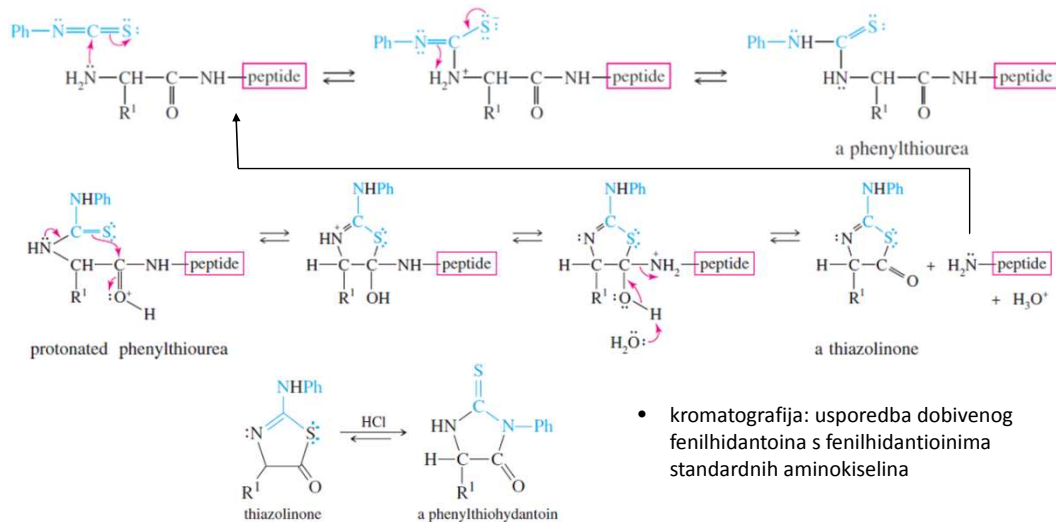


Svaki protein hidrolizirati će ako ga kuhamo 1 dan u 6M HCl. 6M HCl je koncentrirana kiselina razrijeđena na pola s vodom (otprilike).

Crtežom je shematski prikazano kako se provodi analiza smjese aminokiselina nastale hidrolizom proteina. Sastojci smjese mogu se odvojiti na odgovarajućoj kromatografskoj koloni uz eluiranje puferom. Po izlasku iz kolone, dodaje se ninhidrin, za kojeg znamo da tvori obojeni produkt u reakciji s aminokiselinama. Obojeni produkt lakše je analizirati od samih aminokiselina, koje su bezbojne. Poznato je vrijeme zadržavanja na koloni za sve standardne aminokiseline (gornji graf) te se kromatogram dobiven analizom smjese hidroliziranog peptida/proteina može s njim usporediti. Pikovi istih aminokiselina uvijek su na istom mjestu (pri istom retencijskom vremenu), a površina ispod pikova biti će proporcionalna količini odgovarajuće aminokiseline. Naravno, cijelu ovu analizu provodi uređaj (HPLC), ne moramo raditi kolonsku kromatografiju, već je kolona priključena na uređaj te on sam miješa i pumpa otapalo (pufer) kroz nju.

Određivanje strukture proteina - sekvenciranje

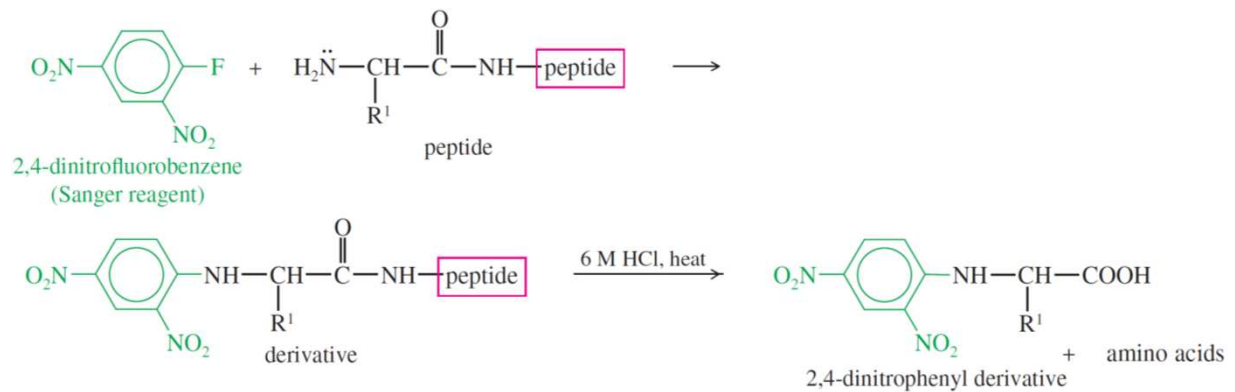
- najčešće korištena metoda je **Edmanova odgradnja**
- odgradnja od N-kraja prema C-kraju, jedna po jedna aminokiselina



Određivanje strukture proteina (ili DNA) još nazivamo i sekvenciranje. Na slajdu je prikazana metoda Edmanove odgradnje i njezin mehanizam. Provođi se u ciklusima dok se ne odgrade sve aminokiseline iz lanca. Nakon svakog ciklusa provodi se analiza, kako bi se utvrdilo koja se aminokiselina odgradila.

Određivanje strukture proteina - sekvenciranje

- rjeđe korištena metoda je **Sangerova metoda**
- može se odrediti koja je aminokiselina na N kraju peptida/proteina

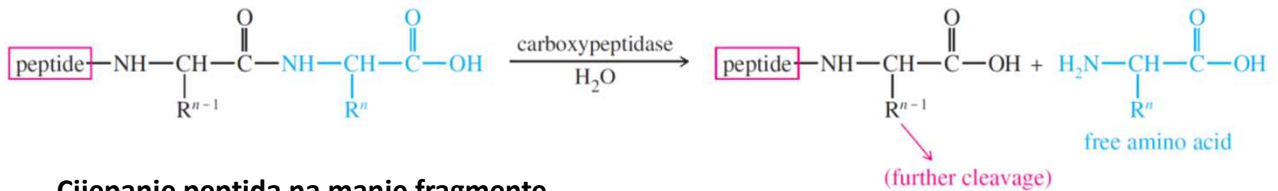


Sangerovom metodom obilježimo N-kraj pomoću Sangerovog reagensa. Nakon potpune hidrolize proteina, može se utvrditi koja aminokiselina ima na N-kraju vezan Sangerov reagens (fluorescira).

Određivanje strukture proteina - sekvenciranje

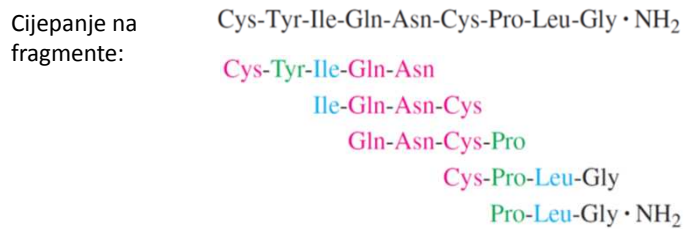
Analiza C-terminusa

- Enzimatsko cijepanje pomoću enzima karboksipeptidaze



Cijepanje peptida na manje fragmente

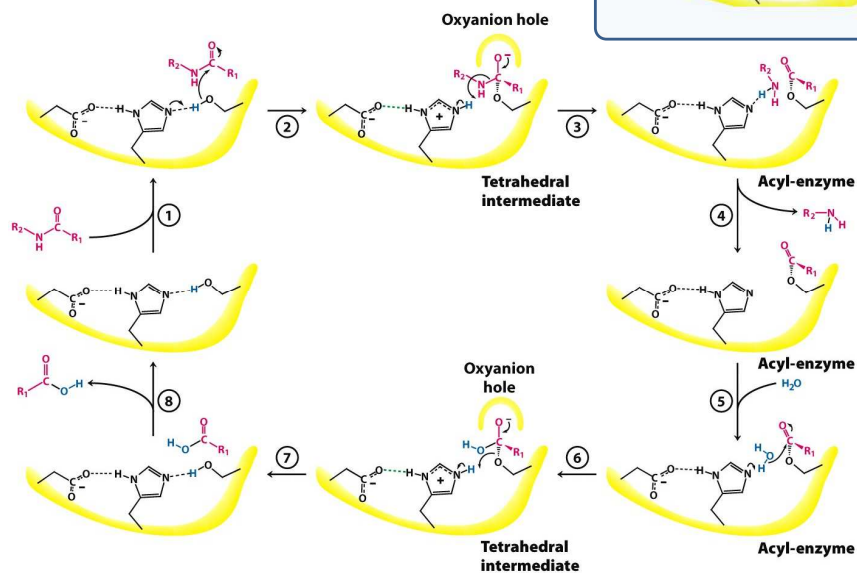
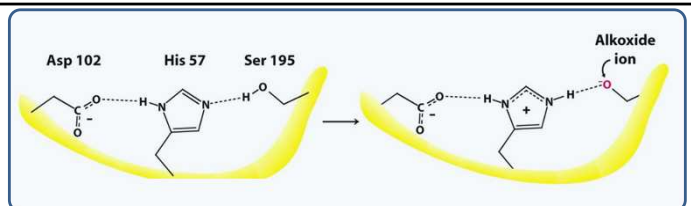
- enzimatski pomoću enzima: tripsin, kimotripsin



Analiza manjih fragmenata jednostavnija je od analize dugih polipeptidnih lanaca.

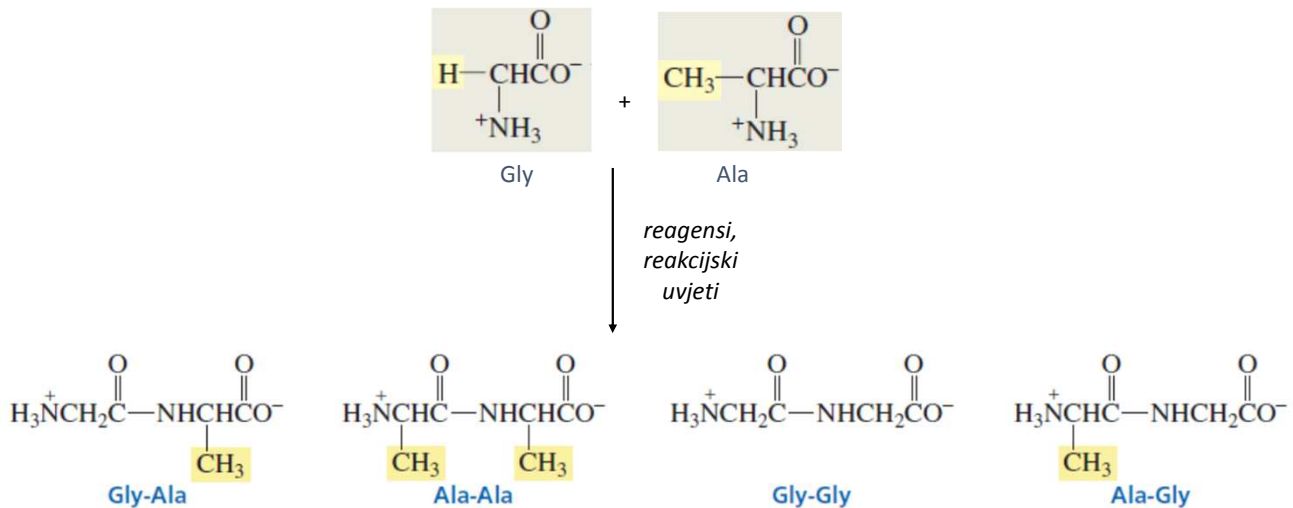
Katalitička trijada

- npr. kod enzima kimotripsina



Prikazan je mehanizam kojim dolazi do enzimskog cijepanja peptidne veze. Proteolitički enzimi sadrže tzv. katalitičku trijadu u svom aktivnom mjestu. Zbog serije vodikovih veza, OH skupina serina postaje nukleofilnija (H kao da je odvučen s kisika pa kisik ima veći parcijalni negativni naboj). To je od presudne važnosti za cijepanje peptidne veze, jer u toj reakciji upravo OH skupina serina služi kao nukleofil.

Kemijske sinteze peptida



➤ Rezultat je smjesa 4 različita dipeptida

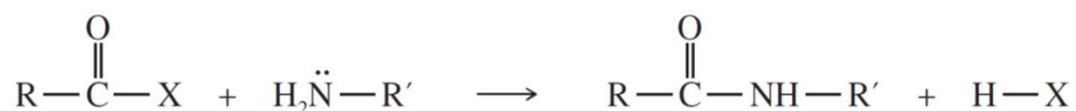
U laboratoriju peptide možemo sintetizirati metodama organske kemije, a moguće je sintetizirati čak i neke manje proteine.

Pogledajmo primjer na slajdu. Ako kombiniramo glicin i alanin, možemo dobiti 4 različita produkta. Kad bismo kombinirali 3 aminokiseline, tada bi rezultat bio smjesa 9 različitih dipeptida. U sintezi uvijek želimo izbjeći nastanak smjese, zato jer to zahtijeva pročišćavanje kojim se komponente odvajaju. Odvajanje spojeva sličnih svojstava može biti prilično zahtjevno, a također košta materijala i vremena. Stoga nam je cilj postići selektivnost u reagiranju, kako bi rezultat sinteze bio čim jednoznačniji.

Npr. recimo da nam je cilj dipeptid Ala-Gly. U tom slučaju, jedina poželjna reakcija je ona između COOH skupine alanina i amino skupine glicina. Da bismo spriječili preostale dvije skupine da reagiraju (amino skupinu alanina i karboksilnu skupinu glicina), moramo ih na neki način blokirati. U tu svrhu koristimo **zaštitne skupine**. Već smo sreli neke od zaštitnih skupina kod kemije ugljikohidrata i nukleinskih kiselina.

Kemijske sinteze peptida

- za reakciju nastanka amidne veze, karboksilna skupina koja reagira treba biti aktivirana, a aminoskupina koja reagira slobodna



- amino-skupina i karboksilna skupina koje ne trebaju stupiti u reakciju moraju biti zaštićene → **zaštitne skupine**
- skupine iz bočnog lanca mogu također stupiti u reakciju → i njih treba zaštititi

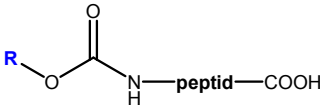
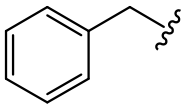
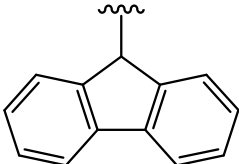
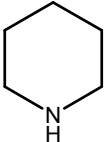
Zaštitna skupina – skupina kojom se derivatizira neka funkcionalna skupina, kako bi se onemogućila njezina kemijska transformacija u uvjetima reakcije koju treba provesti. Nakon što je reakcija provedena, zaštitna skupina se uklanja.

Na ovaj način smanjuje se broj nastalih nusprodukata, a time povećava iskorištenje i smanjuje potreba za pročišćavanjem.

Amino skupina i karboksilna skupina neće lako izreagirati dajući amid. To je moguće u nekim slučajevima, ali uz grijanje na visoku temperaturu, što kod aminokiselina ne dolazi u obzir. Amino skupina je sama po sebi dosta dobar nukleofil. Nereaktivni dio je dakle karboksilna skupina. Nju je na neki način potrebno aktivirati za sudjelovanje u reakciji. To obično radimo tako da je prevodimo u aktivirani ester. U aktiviranom esteru, R-COOR', je OR' zapravo dobra izlazeća skupina.

Kemijske sinteze peptida

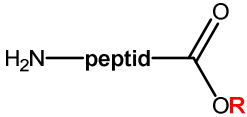
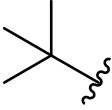
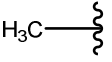
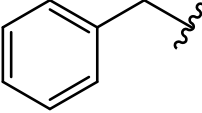
Zaštitne skupine za **amino skupinu** – karbamati

| R = | Stabilnost pri uvjetima | kiselno bazno | | Uvjeti za uklanjanje |
|--|----------------------------|---------------|-------|---|
| | | kiselo | bazno | |
|  <chem>R-O-C(=O)-NH-peptid-COOH</chem> | Boc | - | + | CF ₃ COOH |
|  <chem>R-O-C(=O)-NH-peptid-COOH</chem> | Cbz, Z | + | + | H ₂ / Pd-C |
|  <chem>R-O-C(=O)-NH-peptid-COOH</chem> | Fmoc | + | - |  |

Na slajdu su pokazane neke od često korištenih zaštitnih skupina za amino-skupinu, njihova stabilnost pri različitim uvjetima i uvjeti pri kojima se uklanjaju. Pri odabiru zaštitne skupine, moramo voditi računa o tome da ta skupina bude stabilna u reakcijskim uvjetima koji će uslijediti u nekom od sljedećih stupnjeva. Također, moramo voditi računa da uvjeti za uklanjanje zaštitne skupine ne interferiraju s nekom drugom skupinom u molekuli (npr. ako smo u nekom koraku uveli dvostruku vezu u molekulu, tada uvjeti koji koriste hidrogeniranje nisu primjenjivi).

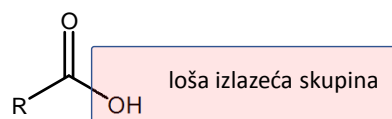
Kemijske sinteze peptida

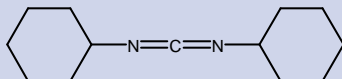
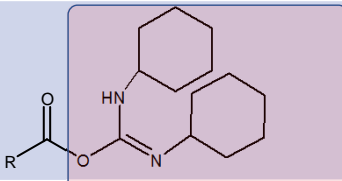
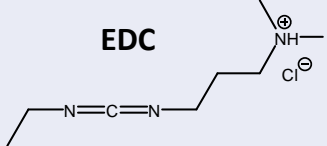
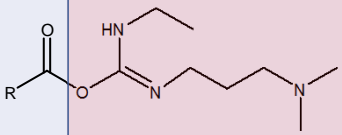
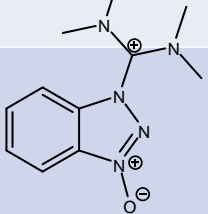
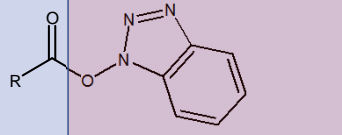
Zaštitne skupine za **karboksilnu skupinu** – esteri

|  | R = |  | tBu | Stabilnost pri uvjetima | | Uvjeti za uklanjanje |
|---|-----|---|-----|-------------------------|-------|------------------------------------|
| | | | | kiselo | bazno | |
| | |  | Me | + | - | OH ⁻ / H ₂ O |
| | |  | Bn | + | + | H ₂ / Pd-C |

Pokazane su najčešće korištenih zaštitnih skupina za karboksilnu skupinu i uvjeti njihovog uklanjanja.

Kemijske sinteze peptida

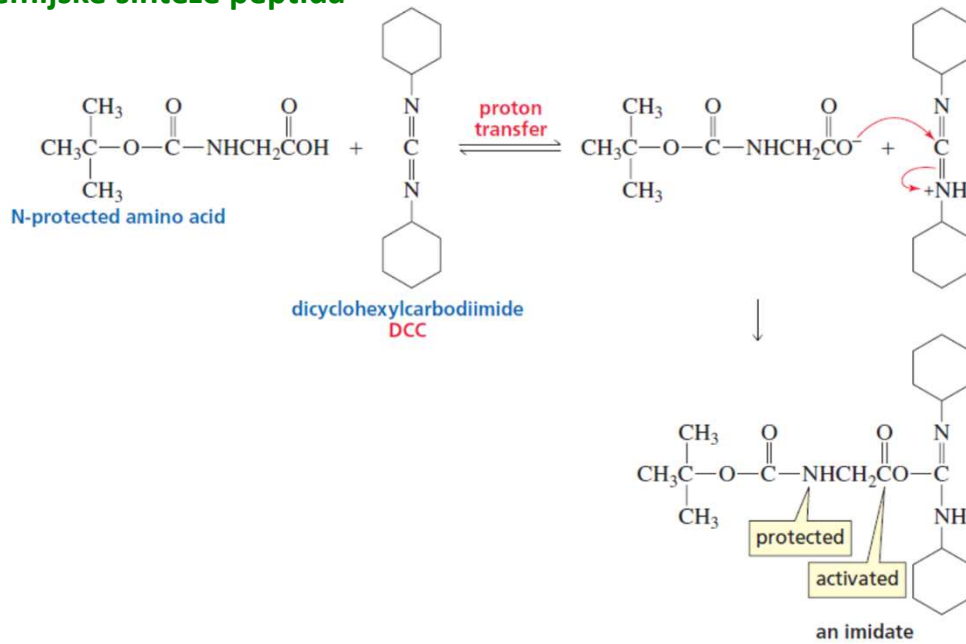


| Reagensi za tvorbu aktiviranog estera | Aktivirani ester |
|---|--|
|  <p>DCC</p> |  |
|  <p>EDC</p> |  |
|  <p>HBTU</p> |  <p>dobra izlazeća skupina</p> |

DCC, EDC, HBTU, TATU, HATU, ... su reagensi koje često koristimo u sintetskom organskom laboratoriju. Njihov cilj je prevođenje OH skupine iz karboksilne skupine u dobru odlazeću skupinu.

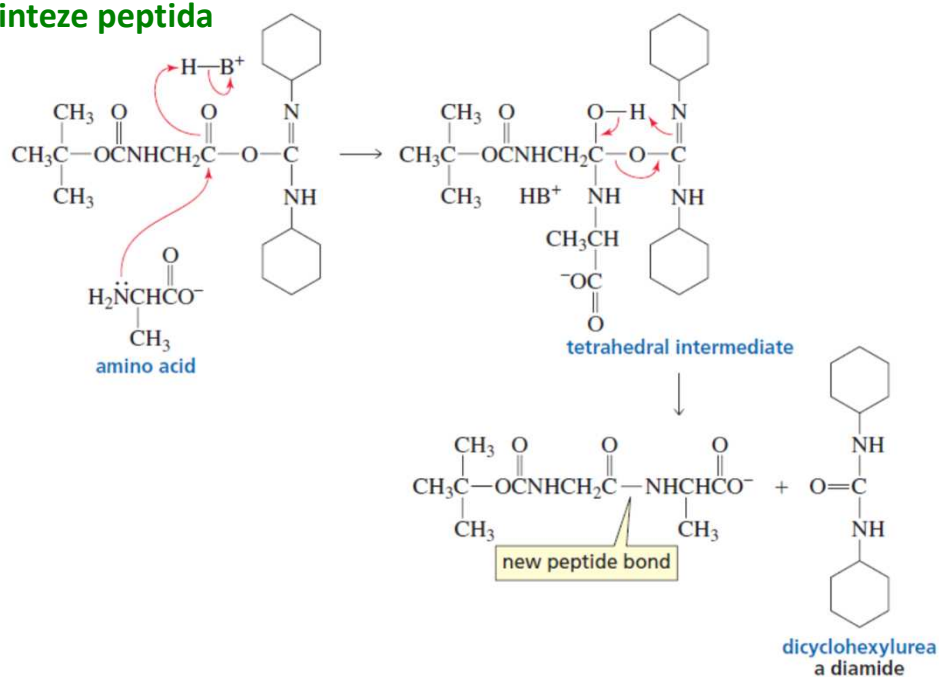
*Ne bi li bilo puno jednostavnije karboksilnu kiselinu prevesti u kiselinski klorid u reakciji sa SOCl_2 ? Bi, ali je utvrđeno da u toj reakciji dolazi do racemizacije kiralnog središta na alfa-C-atomu i do još nekih nusreakcija pa ova metoda nije primjenjiva. Svejedno, reakcija aktiviranog estera s amino skupinom druge aminokiseline je ekvivalentna reakciji pripreme amida u kojoj sudjeluju kiselinski klorid i amin. / Ponovite iz osnovne organske kemije nukleofilnu supstituciju na nezasićenom ugljikovom atomu.

Kemijske sinteze peptida



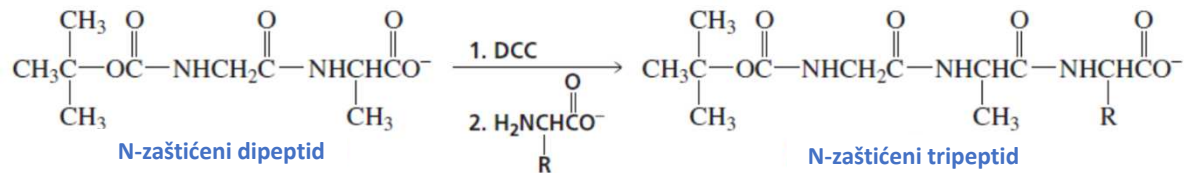
Mehanizam aktivacije karboksilne skupine s DCC-om. Primijetite kako je zaštićena amino-skupina! Ovu zaštitnu skupinu skraćeno pišemo kao Boc pa je početna aminokiselina: Boc-Gly-OH.

Kemijske sinteze peptida



Mehanizam reakcije aktiviranog estera s amino-skupinom druge aminokiseline pri čemu nastaje dipeptid. Ako želimo pripremiti tripeptid, cijeli postupak trebamo ponoviti na pripremljenom dipeptidu (aktivacija karboksilne skupine, reakcija). Dikloheksilurea nam vrlo često zadaje probleme jer ju je teško u potpunosti ukloniti iz smjese. Stoga se sve više koriste drugi reagensi, koje je puno lakše ukloniti nakon što je provedena reakcija. Npr. ureu nastalu iz EDC je moguće ukloniti jednostavnom ekstrakcijom, iz razloga što sadrži amino skupinu, koju je moguće protonirati i tako nastalu ureu prevesti u vodeni sloj (zaštićeni peptid od interesa ostane nam u organskom sloju).

Kemijske sinteze peptida



- ako pretpostavimo da je iskorištenje svake reakcije dodavanja nove aminokiseline 80%, što je prilično dobro, ukupno iskorištenje ipak jako opada s porastom broja reakcija:

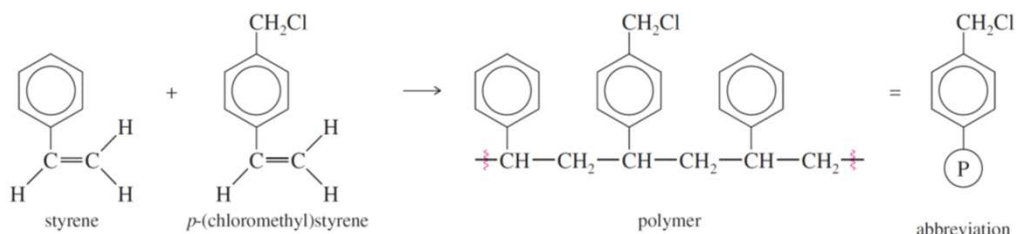
| Broj aminokiselina | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|---------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Ukupno iskorištenje | 80% | 64% | 51% | 41% | 33% | 26% | 21% | 17% |

- sinteza u otopini** obično se koristi za peptide do 5 aminokiselina. Oduzima puno vremena i zahtijeva pročišćavanje između svakog koraka. Za peptide duljeg lanca koristimo metode **sinteze na čvrstom nosaču**. Njima je moguće sintetizirati i manje proteine.

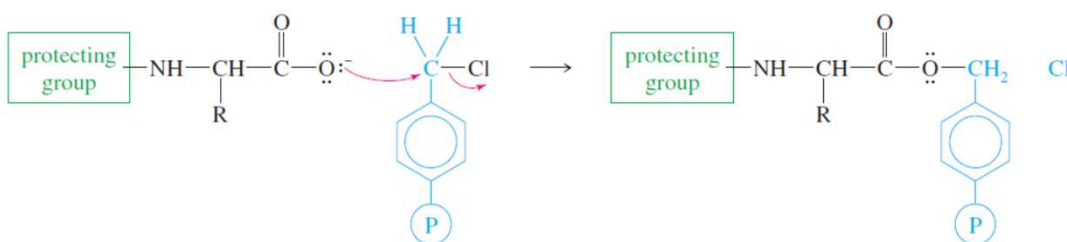
Kemijske sinteze peptida - ZADATAK

Često se peptidi pripremaju spajanjem dvaju kraćih peptidnih lanaca, umjesto da se struktura dograđuje jednu po jednu jedinicu. Primjerice, heksapeptid se može sintetizirati prethodnom pripravom dvaju tripeptida da bi ih se zatim spojilo – to je tzv. konvergentna sinteza. Pretpostavimo da se pojedinačne peptidne veze stvaraju s iskorištenjem od 90%. Izračunajte ukupna iskorištenja u primjeru kada se šest aminokiselina postupno dograđuje, u usporedbi s iskorištenjem tvorbe istog heksapeptida iz prethodno pripremljenih tripeptida.

Kemijske sinteze peptida – sinteza na krutom nosaču



Bruce Merrifield
(1921.-2006.)
Nobelova nagrada
za kemiju
1984. godine

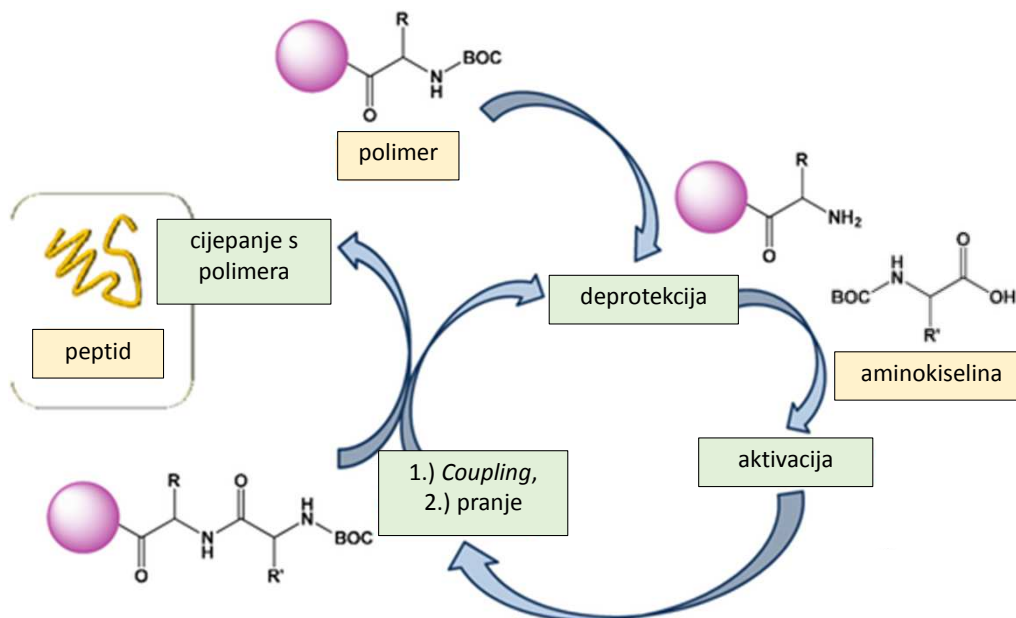


- sinteza od C prema N terminusu
- nonapeptid bradikinin je na ovaj način sintetiziran u ukupnom iskorištenju od 85% u svega 27 sati
- peptid od 100 aminokiselina može se sintetizirati unutar par dana
- proces se može potpuno automatizirati, postoje uređaji koji automatizirano vrše proces

Sinteza peptida na krutom nosaču otvorila je brojne mogućnosti i uvelike olakšala sintezu peptida duljih od 5 aminokiselina. Kao kruti nosač koristi se modificirani polistiren, koji ima benzenske prstenove modificirane klorometilnim skupinama. To omogućuje vezanje aminokiselina reakcijom nukleofilne supstitucije (prikazano na slajdu). Na taj način rastući lanac je imobiliziran, dok su sve ostale komponente koje dodajemo (reagensi) u otopini, pa ćemo ih moći isprati nakon provedene reakcije. Na taj način izbjegavamo korak pročišćavanja.

Bruce Merrifield je za ovo otkriće, koje je našlo izuzetno veliku primjenu, dobio Nobelovu nagradu.

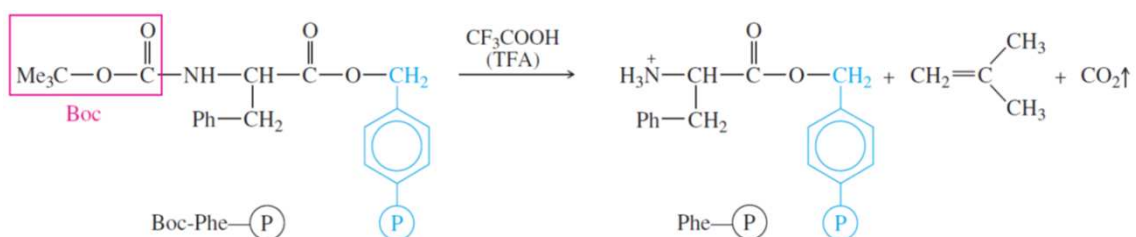
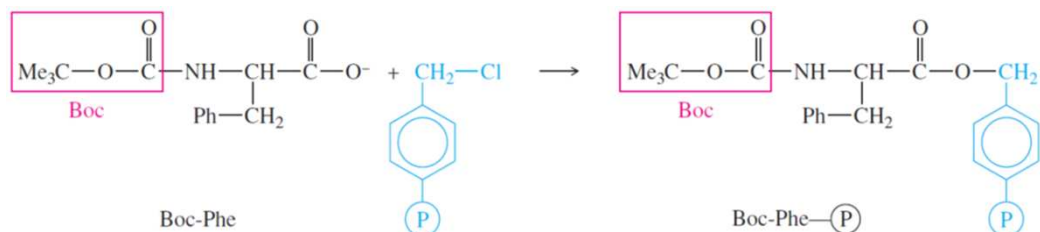
Kemijske sinteze peptida – sinteza na krutom nosaču



Ciklus sinteze peptida na čvrstom nosaču. U prvom koraku ukloni se zaštitna skupina s N-kraja aminokiseline kako bi se mogla provesti reakcija s aktiviranim esterom kojeg ćemo dodati. Najčešće dodajemo aminokiselinu sa zaštićenom amino skupinom i slobodnom karboksilnom skupinom, te reagens koji će u reakciji s karboksilnom skupinom *in situ* stvoriti aktivirani ester (npr. EDC). Taj se korak naziva aktivacija. Nakon toga slijedi spajanje amino i karboksilne skupine u amid, nakon čega se višak svih reagensa te nusprodukti isperu s polimera. Ciklus se može ponavljati dok se ne dobije peptid željenog sastava i duljine, nakon čega se cijepa s polimera dodatkom odgovarajućeg reagensa (obično HF).

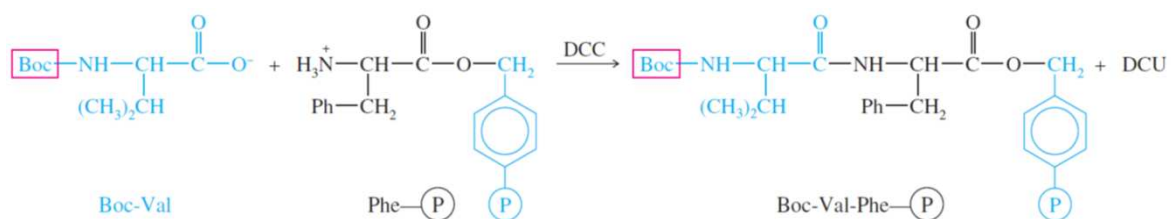
Kemijske sinteze peptida – sinteza na krutom nosaču

Primjer: Sinteza tripeptida Ala-Val-Phe

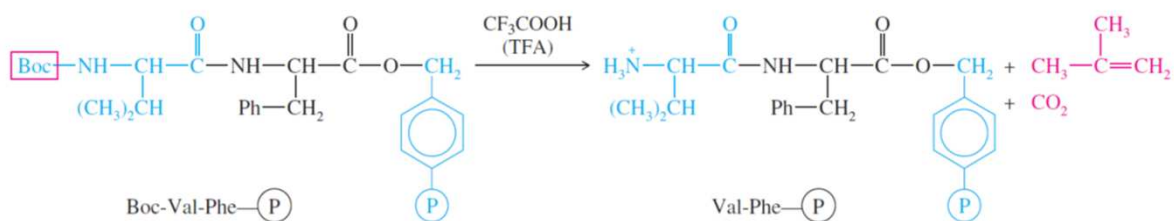


Kemijske sinteze peptida – sinteza na krutom nosaču

Primjer: Sinteza tripeptida Ala-Val-Phe



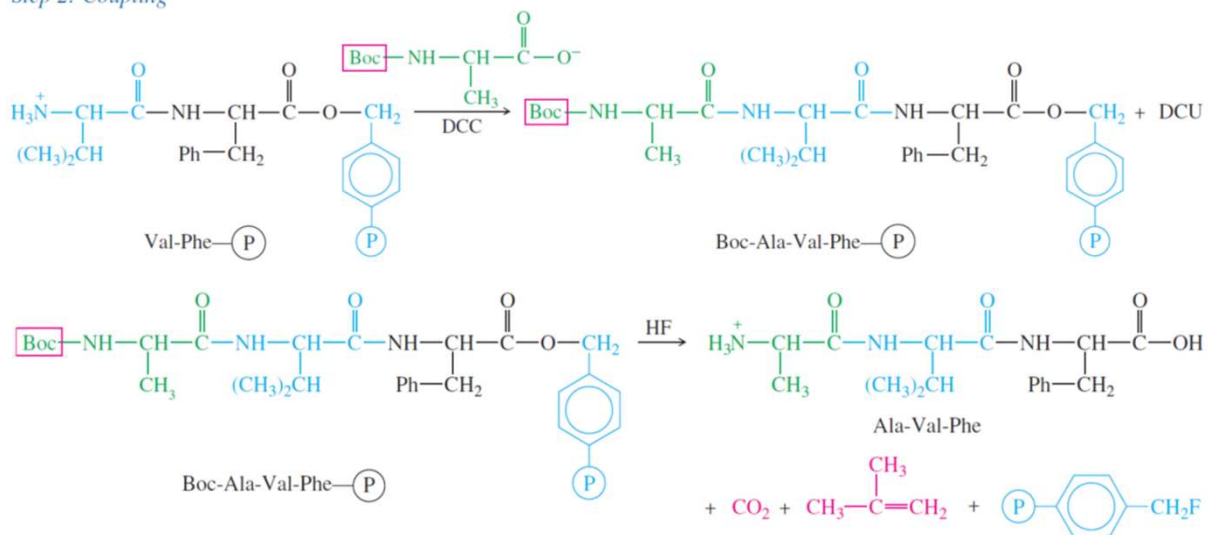
Step 1: Deprotection



Kemijske sinteze peptida – sinteza na krutom nosaču

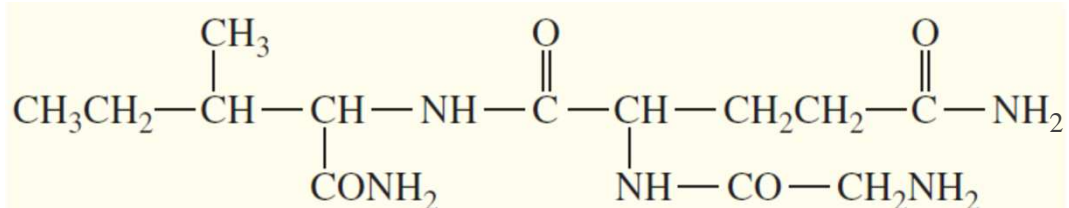
Primjer: Sinteza tripeptida Ala-Val-Phe

Step 2: Coupling



Zadaci

1. Nacrtajte strukturu peptida čiji je slijed aminokiselina: Ser-Gln-Met·NH₂. Sve aminokiseline su L-konfiguracije.
2. Sljedeća struktura prikazana je na neuobičajen način.



- (a) Označite N i C terminus.
- (b) Označite peptidne veze.
- (c) Odredite koje su aminokiseline prisutne.
- (d) Napišite skraćeno ime peptida.

Zadaci

3. Nacrtajte Fischerove projekcijske formule L-treonina i L-izoleucina te odredite apsolutnu konfiguraciju svih kiralnih centara.
4. Ako je iskorištenje svakog koraka u sintezi oktapeptida A-B-C-D-E-F-G-H 90%, izračunajte iskorištenje najduljeg linearnog slijeda ako se sinteza provodi:
 - a) građenjem lanca dodavanjem jedne po jedne aminokiseline
 - b) građenjem fragmenata A-B, C-D, E-F, G-H i njihovim međusobnim povezivanjem u A-B-C-D i E-F-G-H te povezivanjem nastalih dvaju tetrapeptida u oktapeptid.
5. Napišite kako bi kemijskim putem (sinteza u otopini) sintetizirali dipeptid valilfenilalanin. Krenite iz odgovarajućih Boc i Bn zaštićenih aminokiselina.