

AMINOACIZI

Aminoacizii sunt unitățile constituente ale proteinelor și cuprind în molecula lor două grupări funcționale: carboxil și amino. Există 20 de aminoacizi proteinogeni specificați prin codul genetic, prezenți în toate organismele vii.

Aminoacizii naturali au formula generală:



În care gruparea aminică se află la carbonul α față de carboxil. Excepție face prolina al cărui azot, deși tot în poziția α față de carboxil, face parte dintr-un inel pirolidinic, fiind o grupă aminică secundară.

Diversitatea aminoacizilor naturali este dată de natura lui R care poate fi o catenă hidrocarbonată alifatică sau aromatică, un heterociclu sau care poate să cuprindă o funcție adițională.

CLASIFICARE

Aminoacizii pot fi clasificați:

- după natura catenei: alifatică, aromatică, heterociclică;
- după numărul grupărilor $-\text{COOH}$ și $-\text{NH}_2$: monoamino-monocarboxilici, diaminomonocarboxilici;
- după poziția relativă pe care o au grupărilor funcționale în moleculă: α , β , γ -aminoacizi.
- după prezența în cuprinsul catenei a altor grupări funcționale.

Cea mai interesantă clasificare ni se pare a fi cea bazată pe polaritatea catenei și cuprinde patru grupe :

1.) cu radical nepolar (hidrofob) : glicina, alanina, valina, leucina, izoleucina, prolina, fenilalanina, triptofanul și metionina. Toți sunt mai puțin solubili în apă decât aminoacizii polari;

2.) cu radical polar neîncărcat electric (la $\text{pH}=6$): serina, treonina, cisteina, tirozina, asparagina, glutamina. Acești aminoacizi sunt mai solubili în apă decât cei nepolari, deoarece catena poate stabili legături de hidrogen cu apa, datorită grupărilor $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ amidice și $-\text{SH}$ pe care le conține;

3.) cu radical polar încărcat negativ (la $\text{pH}=6$): acidul aspartic și acidul glutamic;

4.) cu radical polar încărcat pozitiv (la $\text{pH}=6$): lisina, arginina, histidina.

În afara acestor 20 de aminoacizi uzuali s-au izolat un număr de aminoacizi noi din hidrolizatul unor proteine foarte specializate, toți derivând din aminoacizii uzuali. Astfel, 4-hidroxiprolina a fost găsită într-o proteină fibroasă, collagen și unele proteine vegetale; 5-hidroxilisina în collagen; desmosina și izodesmosina în elastină. (Structurile acestor ultimi doi aminoacizi pot fi considerate ca fiind formate din 4 molecule de lizină, cu catenele laterale unite într-un nucleu de piridiniu substituit. Această structură permite desmosinei și izodesmosinei să lege patru lanțuri peptidice în structuri radiare. Elastina diferă de alte proteine fibroase prin capacitatea sa de a suporta tensiuni în două direcții). În anumite proteine musculare s-au găsit unii derivați metilați ai

aminoacizii uzuali cum sunt : ϵ -N-metilisina, ϵ -N-trimetilisina și metilhistidina. Recent s-a descoperit prezența în protrombină a acidului γ -carboxiglutamic, cu importanță biologică considerabilă. Se mai pot găsi și alți aminoacizi în hidrolizatele proteice, dar numărul lor trebuie să fie mic, ținând seama de cunoștințele genetice actuale, iar distribuția lor se va limita la o proteină dată. Aminoacizii rari din proteine se disting de cei uzuali prin faptul că nu au o codificare prin triplet de baze (codon). În toate cazurile cunoscute ei sunt derivați ai celor uzuali și se formează după ce aceștia au fost deja inserați în lanțul polipeptidic, în procesul de biosinteză a proteinelor.

În diferite celule și țesuturi s-au pus în evidență încă circa 150 de aminoacizi în formă liberă sau combinații, care nu se găsesc în proteine. Majoritatea dintre ei sunt derivați ai α -aminoacizilor din proteine; unii au însă gruparea amino la carbonul β , γ sau δ față de carboxil. Importanță biochimică ca intermediari metabolici sau precursori au următorii: sarcozina și betaina, proveniți prin N-metilarea (mono și respectiv trimetilarea) glicinei; β -alanina care intră în constituția unor dipeptide (carnozina și anserina), a acidului pantotenic și a coenzimei A; acidul γ -aminobutiric cu rol de transmisie a influxului nervos; ornitina și citrulina care se găsesc în special în ficat și iau parte la circuitul urogenetic, fiind intermediari în sinteza argininei; homoserina și homocisteina, intermediari în metabolismul unor aminoacizi; acidul D-glutamic izolat din peretele celular al bacteriilor; D-alanina în larvele sau crisalidele anumitor insecte; D-serina din unii viermi. O varietate mare de aminoacizi ale căror funcții metabolice nu sunt definite încă, se găsesc în ciuperci și plantele superioare; unii dintre aceștia, cum sunt canavanina, acidul djencolic și β -cianoalanina sunt toxici pentru alte viețuitoare !5!.

Aminoacizii esențiali

Cei 20 de aminoacizi naturali constituie alfabetul proteinelor. Distribuția lor calitativă și cantitativă într-o proteină determină caracteristicile chimice, valoarea ei nutritivă și funcțiile metabolice în organism. Dintre cei 20 de aminoacizi uzuali, organismul uman și al vertebratelor superioare poate sintetiza un număr limitat, restul trebuie să fie furnizați zilnic prin hrană și se numesc aminoacizi esențiali !9!. Cei mai mulți autori, consideră drept aminoacizi esențiali următorii: valina, fenilalanina, metionina, lisina, triptofanul; alții, includ și leucina, izoleucina, treonina și histidina !1,3,5,6,7,8,9,12!.

Nomenclatură:

În general, pentru aminoacizi se folosesc denumiri uzuale precum și prescurtările acestora, acceptate de IUPAC, care nu dau nici o indicație asupra structurii. În paralel se folosesc și

denumirile științifice care respectă logica secvențială: acid, poziția grupării -NH₂, prefixul amino urmat de numele acidului carboxilic.

Tabelul nr. 1

Aminoacizii uzuali /3,5/

Nr. Crt.	Formula de structură	Denumire uzuală Prescurtări IUPAC	Denumire rațională
1	2	3	4
Aminoacizi cu radical nepolar (hidrofob)			
1.	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Glicina Gly, G	acid α -aminoacetic
2.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Alanină Ala, A	acid α - aminopropionic
3.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH-CH-COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Valină Val, V	acid α - aminoizovalerianic
4.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Leucină Leu, L	Acid α - aminoizocapronic
5.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH-CH-COOH} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Izoleucină Ile, I	Acid α -amino-β - metil valerianic
6.	$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Fenilalanină Phe, F	Acid β -fenil-α -amino propionic
1	2	3	4
9.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Metionină Met, M	Acid α -amino γ - metiltiobutiric
Aminoacizi cu radical polar, neîncărcat electric la pH= 6			
10.	$\begin{array}{c} \text{HO-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Serină Ser, S	Acid α -amino β - hidroxipropionic
11.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH-CH-COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Treonină Thr, T	Acid α -amino β - hidroxibutiric
12.	$\begin{array}{c} \text{HS-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Cisteina Cys, C	Acid α -amino β - tiopropionic
13.	$\begin{array}{c} \text{HO-C}_6\text{H}_4\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Tirosină Tyr, Y	p-hidroxfenil alanină
14.	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{NOC-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Asparagină Asn, N	Acid α -amino β - amidosuccinic
15.	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{NOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \quad \quad \quad \end{array}$	Glutamină	Acid α -amino γ -

	NH ₂	Gln, Q	amidoglutaric
Aminoacizi cu radical polar, încărcat negativ la pH= 6			
16.	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Acid aspartic (asparagic), Asp,D	Acid aminosuccinic
17.	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Acid glutamic Glu, E	Acid α -amino glutaric
Aminoacizi cu radical polar, încărcat pozitiv la pH=6			
18.	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \qquad \qquad \\ \text{NH}_2 \qquad \qquad \text{NH}_2 \end{array}$	Lisina Lys,K	Acid α ,ε -diamino caproic
19.	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N-C-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \qquad \qquad \qquad \\ \text{NH} \qquad \qquad \qquad \text{NH}_2 \end{array}$	Arginina Arg,R	Acid α -amino δ -guanidinovalerianic
20.	$\begin{array}{c} \text{N-C-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \quad \quad \\ \text{CH} \quad \text{CH} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \quad \text{NH} \end{array}$	Histidina His, H	Acid α -amino β -imidazolil propionic

Tabelul nr. 2

Aminoacizi neproteinogeni /5/

Nr. crt.	Formula de structură	Denumire uzuală Prescurtări IUPAC	Denumire rațională
1	2	3	4
1.	$\text{H}_2\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$	β -alanina	Acid β -amino propionic
2.	$\text{H}_2\text{N-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$	Acid γ -aminobutiric	
3.	$\text{H}_2\text{N-CH}_2\text{-CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$	Acid aminolevulinic	
4.	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N-CO-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Citrulina	Acid α -amino δ -amidinovalerianic
5.	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Ornitina	Acid α ,δ -diamino valerianic
6.	$\begin{array}{c} \text{HS-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Homocistina	Acid α -amino γ -tiobutiric
7.	$\begin{array}{c} \text{HO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Homoserina	Acid α -amino γ -hidroxibutiric
8.	$\text{H}_2\text{N-C}_6\text{H}_4\text{-COOH}$	Acid p-aminobenzoic	
9.	$\text{CH}_3\text{-NH-CH}_2\text{-COOH}$	Sarcozina	N-metil glicina
10.	$(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{-CH}_2\text{-COOH}$	Betaina	
11.	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N-C-NH-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \quad \quad \quad \\ \text{NH} \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Canavanina	
12.	$\text{HOOC-CH-(CH}_2\text{)}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH-COOH}$	Acid djencolic	

	NH ₂ NH ₂		
13.	$\begin{array}{c} \text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	β -cianoalanina	

Caracteristici generale :

Aminoacizii îndeplinesc mai multe roluri biologice, fiind în același timp:

- ioni dipolari cu un moment de dipol mare, care determină o creștere considerabilă a mediului în care se dizolvă;
- electroliți amfoteri solubili în apă, cu capacitatea de a acționa ca substanțe tampon în diferite domenii de pH;
- sunt optic activi, datorită faptului că posedă unul sau mai mulți atomi de carbon asimetrici, cu excepția glicinei;
- sunt compuși cu grupe reactive capabile să participe la reacții chimice având ca rezultat o mare gamă de produse sintetice;
- sunt liganzi ai multor metale;
- sunt participanți în reacții metabolice cruciale, de care depinde viața și sunt substanțe in vitro pentru o gamă mare de enzime;
- sunt constituenți esențiali ai moleculelor proteice ale căror caractere specifice, biologice și chimice sunt determinate în mare parte de numărul, distribuția și interrelațiile aminoacizilor din care se compun.

Ei prezintă unitate și diversitate în același timp: unitate, deoarece sunt α -aminoacizi cu toate consecințele fizice care decurg din aceasta și pentru că cei care sunt componenți uzuali ai proteinelor au aceeași configurație optică a atomului de carbon din poziția α , și diversitate, deoarece fiecare din ei posedă o catenă diferită, care-i conferă proprietăți unice, deosebindu-l fizic, chimic și biologic de ceilalți.

Proprietăți fizice

Toți aminoacizii sunt substanțe solide, incolor, cristalizate. Forma cristalelor este caracteristică pentru fiecare aminoacid [11]. Se topesc la temperaturi ridicate (peste 200 °C), cu descompunere; nu pot fi distilate nici chiar în vid. P.t. al cristalelor nu constituie un criteriu de diferențiere între ei.

Aminoacizii sunt, în general, solubili în apă, însă gradul de solubilitate este diferit de la un aminoacid la altul. Solubilitatea este determinată de caracterul mai mult sau mai puțin polar al

catenei și de pH, fiind minimă la punctul izoelectric. Sunt în general insolubili în solvenți organici, cu excepția prolinei, care este relativ solubilă în etanol. Solubilitatea aminoacizilor ca și cea a proteinelor, este influențată de prezența sărurilor.

Termenii inferiori din seria aminoacizilor alifatici au gust dulceag, cei cu masă moleculară mare au gust amar.

Tabelul nr.3

Proprietăți fizice ale aminoacizilor /1,3,9,11/

Nr. crt.	Aminoacidul	Forma de Prezentare	p.t.	pH _i	Rotația optică	M _D	Solubilitatea În apă la pH _i
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Glicocol	Monolitic	233d	6,1	-	-	22,5
2.	Alanină	Rombic	297d	6,1	+3,5	+1,6	15,8
3.	Valină	Foite	315	6	+13,9	+6,6	6,8
4.	Leucină	Foite	293	6	-	-14,4	2,4
1	2	3	4	5	6	7	8
5.	Izoleucină	Plăcuțe	280d	5,8	+12,8	+16,3	2,1
6.	Serină	Plăcuțe	228d	5,7	-6,83	-7,9	4,3
7.	Treonină	Cristale	225	6,53	-28,3	-	-
8.	Tirosină	Ace	314d	5,7	-12,3	-33,9	1,6
9.	Fenilalanina	Foite	283d	5,98	-35,14	-57	2,7
10.	Triptofan	Plăcuțe	293d	5,88	-30	-68,6	1,1
11.	Acid aspartic	Foite rombice	270	3	+4,36	+6,7	0,4
12.	Acid glutamic	Rombic	206	3,2	+	+17,7	0,7
13.	Glutamină	Ace	256	-	-	-	-
14.	Asparagină	Cristale	225	-	-6,7	-	-
15.	Lisină	Ace sau plăci	224d	9,7	+14,6	+19,7	f. solubil
16.	Arginină	Foite, prisme	238d	10,8	+12,1	+21,8	f. solubil
17.	Histidină	Foite	277	7,5	-38,1	-59,8	4
18.	Cisteină	Pulbere cristalină	260	5,1	-	-20	f. solubil
19.	Metionină	Plăcuțe hexagonal	280	5,75	-7,2	-14,9	3
20.	Cistină	Plăcuțe	259d	5,0	-222,4	50,9	0,009
21.	Prolină	Ace	214	6,3	-84,9	-99,2	154,5
22.	Hidroxi-prolină	Plăcuțe	270	5,7	-	-99,6	34,5

Stereochimia aminoacizilor

Toți aminoacizii proteinogeni (cu excepția glicocolului) au un atom de carbon asimetric și deci pot exista sub forma a doi antipozii optici. Treonina și izoleucina au doi centri asimetrici și deci au patru stereoizomeri.

Prin sinteză chimică se obțin în general formele racemice. Scindarea acestora nu poate fi efectuată prin metoda chimică obișnuită, cu ajutorul bazelor și acizilor optic activi, fiindcă aminoacizii sunt acizi, respectiv baze prea slabe pentru a forma săruri stabile, cristalizabile cu acești compuși. Singurul aminoacid suficient de puternic pentru a putea fi scindat prin intermediul sării sale cu chinina, este acidul glutamic. Restul aminoacizilor se transformă întâi în derivați acilați, care blochează gruparea amino și permite reacția cu baze optic active. Mai avantajoase s-au dovedit metodele biochimice pentru scindarea racemicilor, folosind marea specificitate a enzimelor pentru stereoizomerii naturali. /1,3/.

Activitatea optică este exprimată cantitativ prin rotația specifică $[\alpha]_D$, la temperatura de 20 sau 25 °C, iar D fiind lungimea de undă – de obicei linia D a sodiului, 589.3 nm. Activitatea optică depinde de natura solventului, iar în cazul soluțiilor apoase, de pH. În general, rotația optică specifică a unui aminoacid monoaminic sau monocarboxilic este maximă la punctul izoelectric. Rotația specifică depinde de natura catenei aminoacidului.

S-a stabilit că toți aminoacizii din proteinele naturale se înrudesc cu L-glicerinaldehida, și deci fac parte din seria L. În peretele celular al unor microorganisme sau în unele antibiotice se găsesc și aminoacizi din seria D. (În notația modernă, literele D și L se înlocuiesc cu R, respectiv S). /5,8/.



Proprietăți spectrale

Aminoacizii uzuali nu absorb lumina în vizibil. Dintre aceștia, numai tirozina, fenilalanina și triptofanul dau spectre de absorbție la lungimi de undă mai mari de 250nm, datorită nucleului aromatic din catenă. Fenilalanina prezintă un maxim de absorbție la 260nm, tirozina la 275nm și triptofanul la 280nm. Întrucât majoritatea proteinelor conțin tirozină, măsurarea absorbției luminii la 280nm la spectrofotometru poate constitui o metodă satisfăcătoare de dozare a concentrației

proteinei într-o soluție. Cistina absoarbe la 240nm, datorită grupării –S-S-. Toți aminoacizii absorb în U.V. îndepărtat.

Datorită comportării diferite în soluție a aminoacizilor, în funcție de condiții, spectrele IR diferă și ele în funcție de condițiile experimentale.

În mediu acid se află următoarele grupări la care corespund benzi caracteristice:

-COOH	ν OH	3570-3500 cm ⁻¹
-NH ₃ ⁺	3130-3030cm ⁻¹ ,	-NH ₂ ⁺ 2700-2250cm ⁻¹ , NH ⁺ 2450cm ⁻¹
-COOH	ν C=O	1790-1760cm ⁻¹ (neasoc.), 1710cm ⁻¹ .

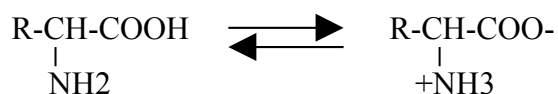
În mediu bazic:

-COO ⁻	ν C=O	1600-1550cm ⁻¹
-NH ₂	3500-3300cm ⁻¹ (neasoc.),	3000-2000cm ⁻¹ două benzi
-NH	o bandă	

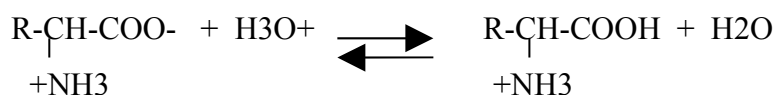
În spectrul RMN, protonul α din aminoacizi are o deplasare chimică (δ) cuprinsă între 4.30 și 4.80 ppm./1,7,9/.

Proprietăți electrochimice

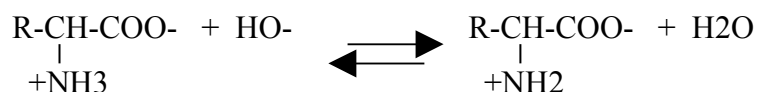
Datorită prezenței în moleculă atât a unei grupări funcționale acide (-COOH), cât și a uneia bazice (-NH₂), aminoacizii sunt substanțe cu caracter amfoter. Atât în cristale cât și în soluție apoasă, moleculele lor apar sub formă de ioni dipolari (amfioni). Dovada acestui fapt s-a făcut prin difracția razelor X, determinarea constantelor de bazicitate și aciditate, a momentelor dielectrice, precum și pe baza interpretării spectrelor Raman. Structura care reprezintă caracterul lor dipolar rezultă prin reacția protolitică intramoleculară:



În prezența acizilor sau bazelor, soluțiile aminoacizilor funcționează ca soluții tampon. Dacă se adaugă soluției de aminoacid un acid tare (HCl), protonii săi sunt consumați, dând un acid slab:



În prezența unei baze tari, ionii HO⁻ sunt consumați, formându-se o bază slabă:



Amfionul dipolar nu migrează în câmp electric; în mediu acid însă, aminoacidul se află sub formă de cation și va migra către anod, iar în mediu bazic se află sub formă de anion și va migra către catod. Toți aminoacizii pot fi neutri în soluție, deoarece grupările amino și carboxil se neutralizează reciproc; predomină forma amfionică a cărei concentrație maximă este condiționată de o anumită valoare a pH-ului, numită punct izoelectric, notat pHi. Punctul izoelectric este pH-ul la care soluția apoasă conține anioni și cationi ai aminoacidului în proporție egală:

$$pH_i = (pK_1 + pK_2) / 2$$

Valoarea punctului izoelectric depinde de valoarea constantelor de ionizare: K1 pentru funcțiunea carboxil și K2 pentru funcțiunea amină; pK1 și pK2 se determină titrimetric. /1,2,5,8,9,11/.

Pentru aminoacizii monoamino-monocarboxilici pHi se găsește situat în domeniul de pH=4.8-6.3, deoarece grupa -COOH este mai puternic ionizată decât gruparea -NH2, variațiile fiind determinate de efectul exercitat de radicalul R de la C α asupra celor două funcțiuni, amino și carboxil.

Aminoacizii monoamino-dicarboxilici au pHi situat la valori mai mici ale pH-ului (domeniu acid) ca o consecință a faptului că în moleculă există încă o grupare carboxil, care nu participă la salifierea internă și pentru a nu fi disociată este firesc ca valoarea pH-ului soluției să se găsească situată în domeniul acid.

Aminoacizii diaamino-monocarboxilici, din aceleași considerente, au puncte izoelectrice situate la valori mari ale pH-ului, respectiv în domeniul bazic.

La punctul izoelectric solubilitatea aminoacidului respectiv este minimă, deoarece momentul de dipol mare al amfionului duce la o puternică atracție între moleculele din cristal. Această proprietate prezintă importanță pentru separarea unor aminoacizi din amestecuri. /5,9/.

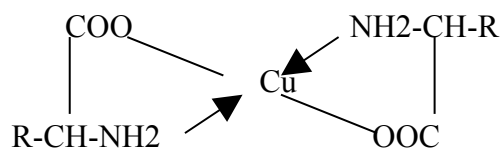
Pe baza celor menționate, se poate explica și comportarea soluțiilor de aminoacizi la trecerea unui curent electric, conductibilitatea acestora fiind determinată de valorile pH-ului.

Din punct de vedere structural, sub aspect funcțional, electronic și steric, α -aminoacizii se prezintă ca specii moleculare cu caracteristici bine determinate.

Proprietăți chimice

Prezența grupelor amino și carboxil conferă aminoacizilor caracter acid și caracter bazic, precum și capacitatea de a da reacțiile generale caracteristice acizilor carboxilici și aminelor, ținând seama totodată și de efectele reciproce pe care le exercită aceste grupări.

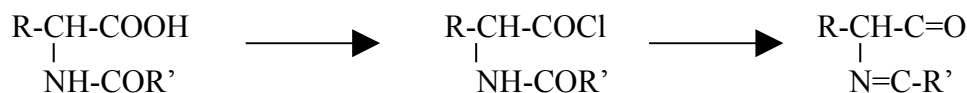
Aminoacizii dau cu ionii cuprici și ai altor metale tranzitionale săruri complexe interne sau chelați, colorați, greu solubili, stabili. Aceștia au structuri ciclice fără tensiune, în care aminoacidul ocupă două poziții coordinative ale metalului, una prin oxigen, alta prin perechea de electroni neparticipanți ai grupei amino, de tipul /2,3,9/:



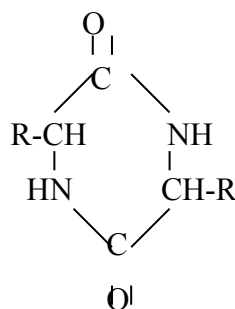
Proprietăți determinate de gruparea carboxil

Aminoacizii formează derivați normali ai acestei funcțiuni: esteri, amide, anhidride, nitrili, cloruri acide etc.

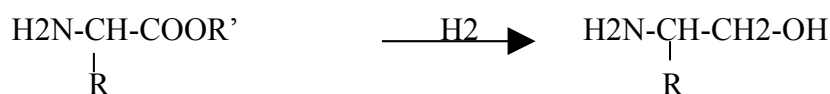
Clorurile acide (obținute prin tratare cu PCl_5) ale aminoacizilor suspendați în clorură de acetyl se obțin numai sub formă de clorhidrați și sunt foarte reactive. Derivații N-acilați ai aminoacizilor, în aceleași condiții, formează și ei cloruri acide care elimină însă HCl și dau azlactone:



Esterii se obțin sub formă de cristalohidrați, prin tratare directă cu metanol sau etanol saturați cu acid clorhidric gazos. Esterii aminoacizilor inferiori se pot distila la presiune redusă. Ei au caracter bazic, dat de gruparea $-\text{NH}_2$, gruparea $-\text{COOH}$ fiind blocată. La conservare sau la încălzire, esterii aminoacizilor se transformă în polipeptide și în 2,5-dicetopiperazine-1,4-disubstituite:



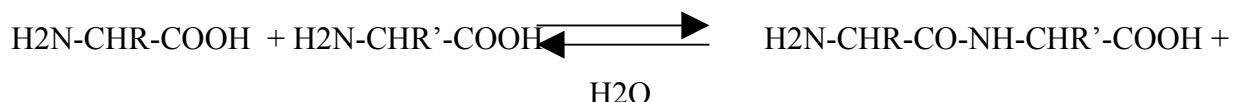
Esterii se pot reduce prin hidrogenare catalitică sau cu sodiu și alcool, cu hidrură de litiu și aluminiu, cu borohidru de sodiu etc, dând α -aminoalcooli:



Esterificarea cu etanol sau alcool benzilic este adesea utilizată pentru a proteja gruparea carboxil în cursul sintezei chimice a peptidelor.

Sub acțiunea amoniacului sau a aminelor, aminoacizii și esterii lor dau naștere la aminoamide $H_2N-CHR-CONH_2$.

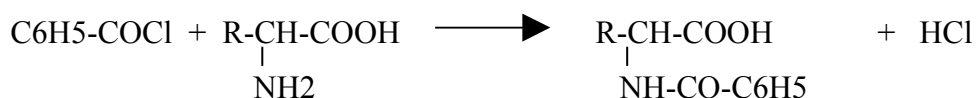
Atunci când gruparea $-COOH$ reacționează cu gruparea $-NH_2$ din altă moleculă de aminoacid se obține o legătură amidică de tip special, legătura peptidică:



Pot reacționa mai multe molecule de aminoacid în acest fel, obținându-se un lanț sau o catenă polipeptidică. Compușii cu număr mare de resturi de aminoacizi sunt proteine. Această proprietate de a se combina între ei dând naștere polipeptidelor și proteinelor este una din cele mai importante caracteristici ale aminoacizilor. /1,2,4,5,8,9/.

Proprietăți determinate de gruparea $-NH_2$

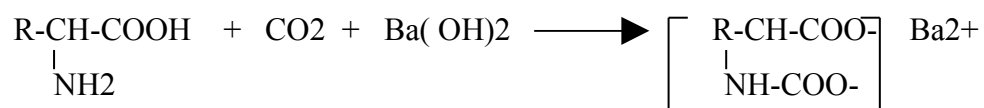
Funcțiunea $-NH_2$ din aminoacizi poate lua parte la alte tipuri de reacții. Astfel, prin tratare cu cloruri acide sau anhidride, se obțin derivați acilați. Acest procedeu se folosește de obicei pentru a proteja funcțiunea aminică în timpul sintezei chimice a peptidelor:



(R=H- acid hipuric)

Se mai pot folosi sulfoclorurile aromatice, cloroformiații de alchil, în special cei de t-butil, sau chiar acidul formic. Derivatul benziloxycarboxilic $Ph-CH_2-O-CO-NH-CHR-COOH$, corespunzător aminoacidului (numit și derivat carbobenzoxi) sau t-butiloxycarbonilic (t-BOC-derivatul) $Me_3C-OOC-NH-CHR-COOH$, sunt cei mai comuni derivați protejați ai α -aminoacizilor. Când prepararea lor se efectuează în condiții suficient de blânde, configurația atomului de carbon este conservată, dar în condiții mai energice are loc o racemizare.

Prin acilare, grupa $-NH_2$ pierde caracterul ei bazic, iar aminoacizii acilați, de tipul acidului hipuric, sunt acizi de tăria acizilor carboxilici obișnuți. În prezența hidroxizilor, aminoacizii se combină cu CO_2 , dând derivați ai acidului carbonic.



Reacțiile de acest tip au loc probabil în cazul transportului dioxidului de carbon de către hemoglobină. Aminoacizii se pot alchila la grupa $-NH_2$ prin metodele uzuale (cu iodură sau sulfat de metil în prezența unui hidroxid alcalin). Derivații metilați cuaternari ai aminoacizilor sunt

denumiți betaine. Reprezentantul cel mai cunoscut, betaina, este derivatul trimetilic al glicinei și se obține din acid cloracetic și trimetilamină:



Betaina este mult răspândită în plante, de exemplu în sfeclă (*Beta vulgaris*), acumulându-se în melasă în timpul extracției și purificării zahărului. Se găsește și în mușchii multor nevertebrate. Betainele, fiind săruri cuaternare de amoniu, suferă prin încălzire transpoziție de tip degradare Hofmann; reacția este reversibilă /1,3,5,8,9/.



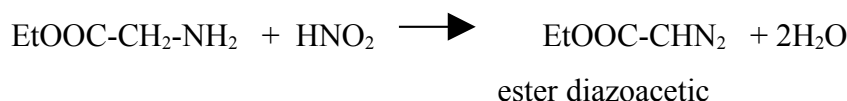
O reacție mult folosită a aminoacizilor este cea cu bromură de nitrozil sau cu acid azotos în soluție acidă, obținându-se hidroxiacizii corespunzători și degajându-se azot :



Această reacție se folosește în chimia analitică pentru dozarea cantitativă a grupării libere

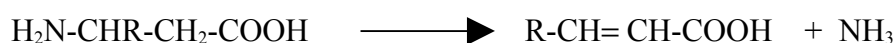
-NH₂ din aminoacizi și proteine, măsurând volumul de azot degajat (metoda Van Slyke). În soluție de HCl sau HBr se formează prin această reacție acizii clorurați sau bromurați respectivi.

Esterii α -aminoacizilor dau cu acid azotos diazoesteri /3,8,9/:

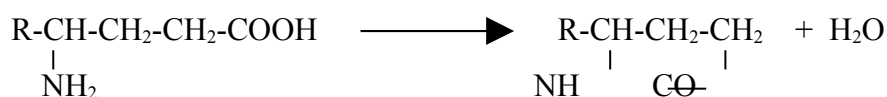


Prin tratamente termice, aminoacizii se descompun , dând diferiți compuși , în funcție de poziția grupării -NH₂ față de -COOH. Astfel α -aminoacizii dau 2,5-dicetopiperazine;

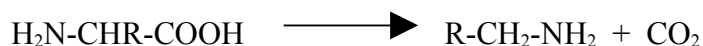
β -aminoacizii duc la acizi nesaturați prin eliminare de NH₃:



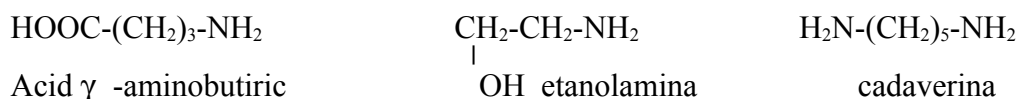
γ și δ -aminoacizii elimină ușor apa intramolecular dând lactame /1,5,8/:

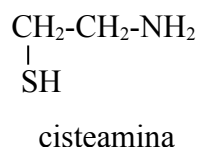
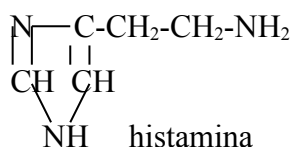


Prin distilare uscată, în prezența hidroxidului de bariu ori sub acțiunea enzimelor de putrefacție, aminoacizii se decarboxilează, conducând la amine:



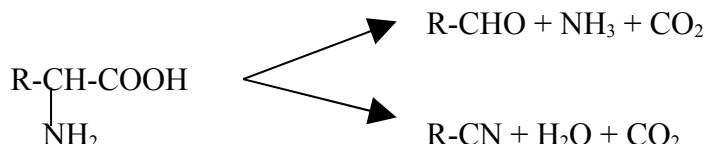
Multe dintre acestea sunt substanțe cu proprietăți fiziologice și farmacologice remarcabile (amine biogene) /1,2,5,8,9/:





Prin topire cu hidroxidul de potasiu, aminoacizii suferă descompuneri adânci, ducând la acizi grași și amoniac sau amine.

Cu anumiți agenți oxidanți, aminoacizii suferă degradări, dând aldehidele imediat inferioare sau nitrilii corespunzători /3,5,8/:



O reacție caracteristică a aminoacizilor este cea cu ninhidrina (hidratul tricetohidrindenului). Se formează compuși colorați în albastru cu majoritatea α -aminoacizilor; excepție fac prolina și hidroxiprolina care formează compuși galbeni. În prima fază se produce o degraare oxidativă a aminoacizilor la aldehide.

Prin condensarea cetoalcoolului cu o nouă moleculă de ninhidrină și cu amoniac se formează produsul colorat. Una din structurile posibile ale acestuia este următoarea.

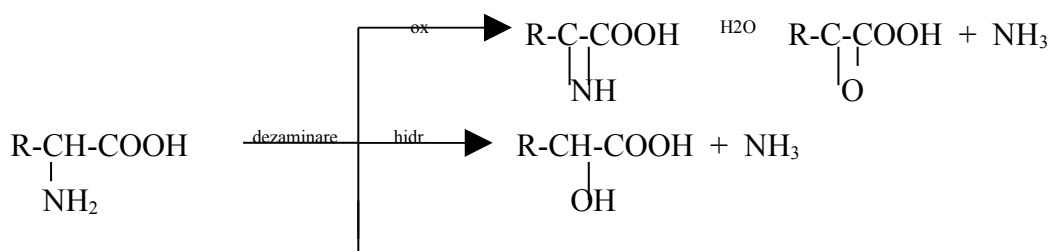
Reacția cu ninhidrină are o mare importanță în chimia analitică, servind la recunoașterea și dozarea aminoacizilor /1,2,3,5,9,11/.

Transformări biochimice

Transformările pe care le suferă α -aminoacizii în organismele vii sunt reacții catalizate de enzime specifice. Biochimia aminoacizilor include toate transformările chimice pe care le suferă α -aminoacizii în organismele vii. Analiza acestor transformări evidențiază faptul că în ele sunt implicate direct grupele funcționale amino și carboxil și chiar radicalul pe care sunt grefate aceste grupări.

Grupa amino poate fi eliminată din moleculele α -aminoacizilor, formându-se în final amoniac, care la rândul său este supus altor transformări biochimice, conducând la uree sau acid uric care se elimină din organism.

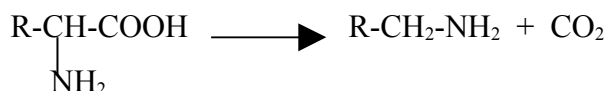
Dezaminarea poate fi: oxidativă, hidrolitică sau reductivă, enzimele respective fiind, în funcție de tipul de reacție, o oxidază, hidrolază și respectiv reductază.





α -ceto, α -hidroxi și respectiv acidul organic, care se formează în urma dezaminării, devin în organism o sursă de formare a glucidelor sau grăsimilor /2,3,5,7,8/.

Pierderea CO₂ în prezența unor enzime specifice fiecărui aminoacid conduce la formarea de amine biogene.



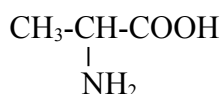
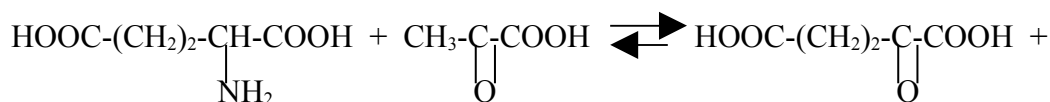
Dezaminarea și decarboxilarea prin reacții enzimatică pot avea loc și simultan sub influența unor microorganisme. Astfel se explică, de exemplu, prezența alcoolului izoamilic, a alcoolului amilic optic activ și a alcoolului izobutilic în "coada" de distilare care se obține la fabricarea alcoolului etilic /1,2,5,8,9,11/.

α -cetoacizii și α -aminoacizii prezenți în organism, pot participa la reacții, în urma cărora prin mai multe etape, acizii α -cetonici se transformă în α -aminoacizi și invers.

Enzimele care catalizează reacțiile de transaminare se numesc transaminaze. În organismele vii poate fi sintetizat orice α -aminoacid dacă este prezent acidul α -cetonc corespunzător /1,2,3,7,12/.

Acidul glutamic joacă un rol important în reacțiile de transaminare, fiind donorul de grupă -NH₂, iar pe de altă parte acidul α -cetoglutaric este capabil să accepte grupa -NH₂ de la aproape toți

L-aminoacizii naturali, transformându-se în acid glutamic:



Transformările catalizate de enzime, care au loc în cursul transferului grupei amino fără formare de amoniac, de la acidul L-glutamic la acidul piruvic, sunt complexe. Acidul L-glutamic, la rândul său, poate reface acidul α -ceto glutaric și prin desaminare oxidativă.

Organismul animal nu-și poate sintetiza unii α -aminoacizi (aminoacizii esențiali) datorită faptului că nu posedă α -cetoacizii corespunzători.

În prezența unor microorganisme au loc și degradări mai profunde, scindări de legături carbon-carbon, concomitente cu reacții de oxidare, esterificare ș.a. explicându-se, astfel, diversitatea de compuși organici identificați în organism sau compuși care se elimină /1,2,5,7,8,9,11/.

Identificarea și dozarea aminoacizilor

Se realizează prin mai multe metode și anume:

1. Reacții de culoare: cea mai importantă este reacția α -aminoacizilor cu ninhidrina. Compușii de culoare albastră au un maxim de absorbție la 570nm. Prolina și hidroxiprolina dau cu ninhidrina compuși galbeni cu maxim de absorbție la 440nm. Adăosul de compuși de cadmiu stabilizează culoarea /1,2,5,8,9/.

2. Măsurarea absorbției în u.v. se poate folosi pentru dozarea aminoacizilor aromatici, în amestec cu alți aminoacizi. Citirea se face la 260nm pentru fenilalanină și 280nm pentru tirozină și triptofan /5,8/.

3. Metode cromatografice. Se folosesc toate variantele acestei tehnici: CH, CSS, CSI, GC, HPLC.

În cromatografia pe hârtie (CH) și în strat subțire (CSS) există o strânsă dependență între constituția catenei unui aminoacid și viteza sa de migrare. Cei cu catene hidrofobe mari (valina, leucina, izoleucina, fenilalanina, tirozina, triptofanul, metionina) migrează mai repede decât cei cu catene hidrofobe mai scurte (alanina, glicina, prolina) și decât cei cu catene hidrofile (cisteină, serină, treonină, acid aspartic, acid glutamic, lizină, arginină, histidină). Migrarea diferențiată a aminoacizilor este determinată de afinitatea mai mare pe care o au aminoacizii cu catene hidrofile pentru faza staționară (apoasă) și cei cu catene hidrofobe pentru faza mobilă (solvent organic). În cazul amestecurilor complexe de aminoacizi se folosește cromatografia bidimensională, folosindu-se un amestec de solvenți organici cu migrare într-un sens și un alt amestec de solvenți pentru sensul perpendicular pe primul. Aminoacizii se dozează prin tratare cu o soluție de ninhidrină, la cald, eluția fiecărui spot colorat într-un solvent al compusului cu ninhidrină, stabilizarea acestuia prin combinații cu săruri de cadmiu și citirea absorbției la o lungime de undă de 570nm la un spectrofotometru.

Separarea cromatografică pe schimbători de ioni are loc datorită afinității diferite a aminoacizilor pentru aceștia, în funcție de constantele de disociere a grupărilor -COOH și NH_2 . Eluția aminoacizilor reținuți în coloană se face cu solvenți cu valori de pH crescânde (în gradient de pH); eluția aminoacizilor se va face în ordinea inversă afinității lor pentru schimbătorul de ioni folosit. S-au elaborat două tehnici: una folosind un colector automat de fracțiuni și a doua, folosind un analizor automat de aminoacizi.

În cazul cromatografiei de difuzie pe gel, aminoacizii cu moleculă mai mică și mai hidrofilă difuzează în gel și sunt mai puternic reținuți; cei cu molecule mai mari rămân în apa dintre particulele de gel și ies mai repede de pe coloană.

În electroforeză sau ionoforeză, separarea are loc sub acțiunea unui câmp electric. Aminoacizii se separă în funcție de valoarea constantei lor de disociere la un anumit pH dat. Se folosește de obicei pH-ul 4,0 la care separarea este netă pentru toți aminoacizii (în condițiile unei tensiuni electrice mari, 70 V/cm).

Indiferent de metoda de separare, prelucrarea probelor cu ninhidrină și citirea absorbției la 570nm este procedura finală comună.

Pentru dozări exacte, în special pentru stabilirea unor mecanisme de reacție sau a unor căi de metabolizare sau de biosinteză se aplică metoda diluției izotopice /1,3,5,8,9/.

Prezența unor anumiți aminoacizi este indicată după poziția maximelor, iar raportul în care se găsesc, după intensitatea maximelor de absorbție:

Asp:Thr:Ser:Glu:Pro:Gly:Ala= 15:10:15:12:4:3:12

4. Determinări microbiologice. Există două tipuri de metode microbiologice folosite la dozarea aminoacizilor. Prima metodă se bazează pe compararea gradului de dezvoltare a unui microorganism dependent de aminoacidul ce urmează să fie dozat, cu o curbă de dezvoltare prestabilită în funcție de concentrația aminoacidului. A doua metodă de dozare microbiologică se bazează pe faptul că unele microorganisme conțin enzime specifice de degradare pentru anumiți aminoacizi, de exemplu decarboxilaze care catalizează decarboxilarea aminoacidului cu degajare de CO₂. Se măsoară cantitatea de CO₂ degajată în condiții de lucru stabilite, care este proporțională cu concentrația aminoacidului în probă /2,3,5,8,9,11/.

Metode de preparare

Importanța deosebită a aminoacizilor atât pentru cercetările biochimice, nutriționale și microbiologice, cât și pentru utilizarea lor în preparate farmaceutice, alimente și furaje a determinat elaborarea unei multitudini de metode de preparare în laborator și în industrie. Astfel, aminoacizii pot fi obținuți prin izolarea lor din hidrolizatele acide, bazice sau enzimatică ale proteinelor, prin sinteze chimice și prin biosinteză.

I. Izolarea din hidrolizatele proteice

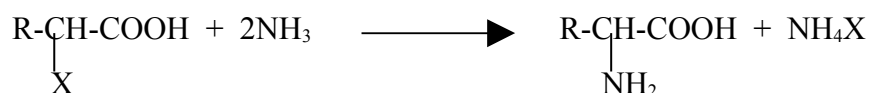
Izolarea aminoacizilor se poate realiza folosind adsorbția pe cărbune activ, pământuri adsorbante, schimbători de ioni, cromatografie de repartiție, electroforeză, coprecipitare cu reactivi specifici. În timpul hidrolizei acide, triptofanul este degradat aproape complet; el se separă din hidrolizatele alcaline. Serina și treonina sunt și ele distruse parțial în condițiile hidrolizei acide. De asemenea, în timpul hidrolizei acide și alcaline, aminoacizii se racemizează parțial. Prin hidroliză enzimatică se obțin aminoacizi optic activi, cu configurația L. Izolarea din hidrolizatele proteice

servește la prepararea industrială a multor aminoacizi, cum sunt: acidul glutamic, lisina, cisteina, arginina, triptofanul, tirozina.

II. Sinteze chimice de aminoacizi

1. Aminarea acizilor α -halogenați

Prin tratarea unui acid α -clorurat sau α -bromurat cu amoniac sau hexametilentetramină se obține aminoacidul corespunzător:



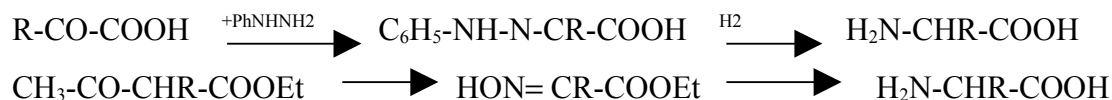
Metoda se aplică la toți α -bromacizii accesibili prin bromurarea acizilor, folosind metoda Hell-Volhard-Zelinski. Se utilizează un exces mare de amoniac, pentru evitarea formării de amine secundare și terțiare. Cu HMTA se formează un aduct care se descompune prin încălzire cu HCl, dând aminoacidul cu randament mare.

2. Aminarea reductivă

Prin reducerea catalitică (cu Pd și H_2) a unui α -cetoacid în prezența amoniacului se obține aminoacidul corespunzător:

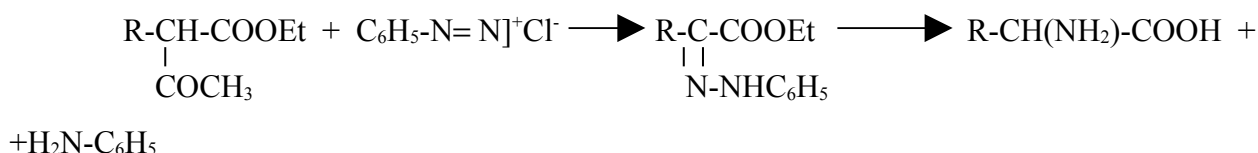


α -cetoacidul sau esterul acetilacetic substituit pot fi transformați în oxime, hidrazone sau fenilhidrazone, care formează aminoacidul respectiv, prin reducere chimică sau catalitică:



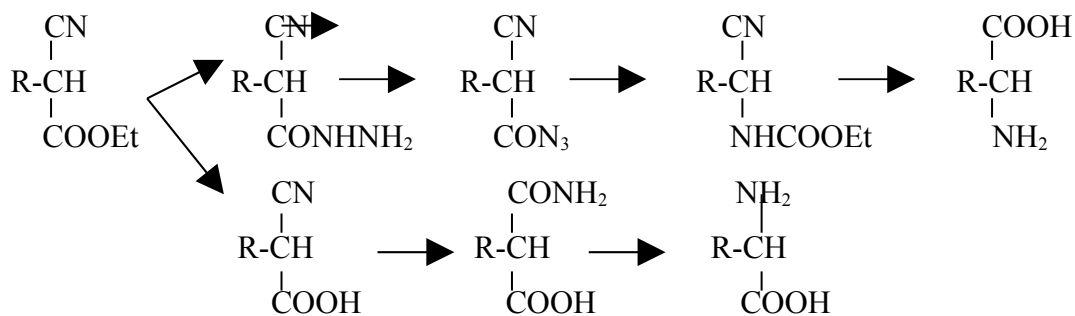
Reducerea se poate efectua cu Sn și HCl sau Zn și $\text{CH}_3\text{-COOH}$, cu amalgam de sodiu sau de Al, catalitic (cu Ni Raney) sau electrolitic.

Importanța preparativă a metodei reductive este mult mărită prin obținerea compușilor azotați intermediari pe căi mai simple decât cele de la acizii α -cetonici. O astfel de cale este cuplarea esterilor β -cetonici α -substituiți cu săruri de diazoniu aromatice (Feofilaktov, 1938).



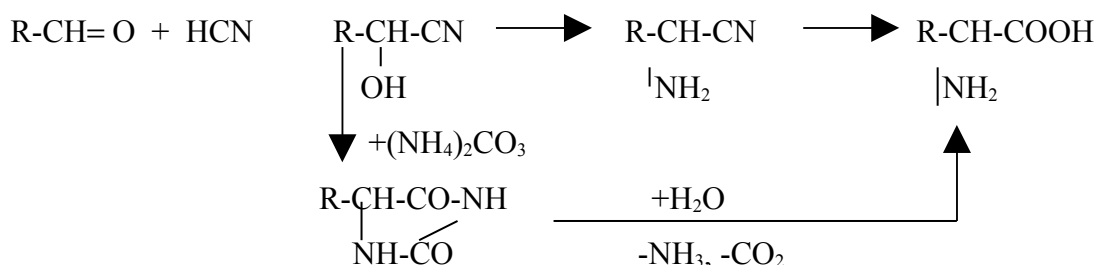
3. Aminarea prin transpoziție intramoleculară

Această metodă implică transformarea unui derivat al acidului cianoacetic într-o azidă sau amidă și apoi în aminoacidul dorit, folosind transpozițiile (degradările) Schmidt, Curtius sau Hofmann:



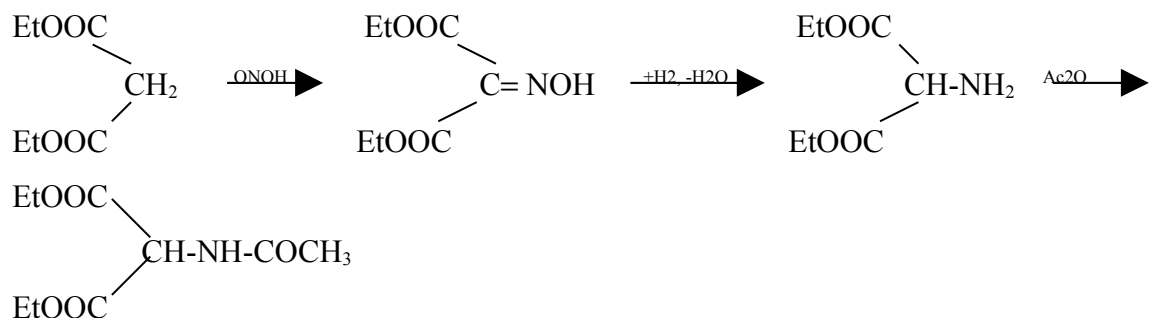
4.Reacția cianhidrină (sinteza Strecker, 1858)

Această metodă implică interacțiunea unei aldehide cu ionul cianură, în prezența amoniacului sau a carbonatului de amoniu.Se formează aminonitrilul, respectiv hidantoina substituită, care prin hidroliză cu acizi sau baze, se transformă în aminoacidul respectiv:



5.Condensarea cu esteri N-acilați ai acidului aminomalonic

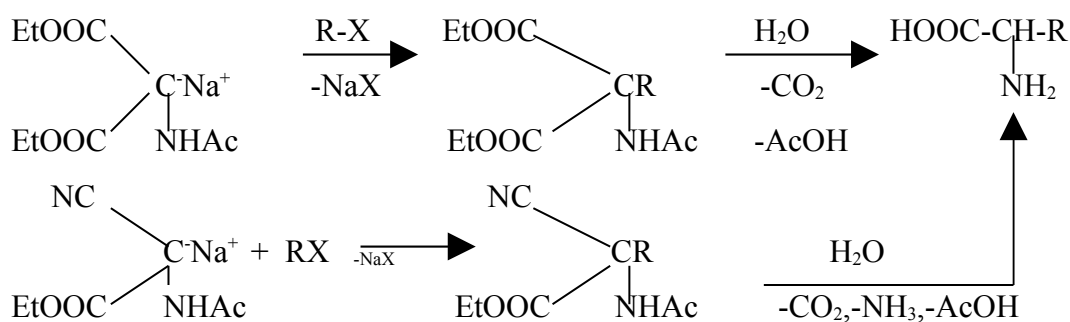
Esterul aminomalonic se obține prin reducerea esterului izonitrozomalonic.Derivații N-acilați formează combinații sodate, care reacționează în același mod ca esterul malonic sodat.Se utilizează de obicei derivatul N-acetilat sau N-formilat.



Se pot folosi și esteri aminocianoacetici N-acilați:

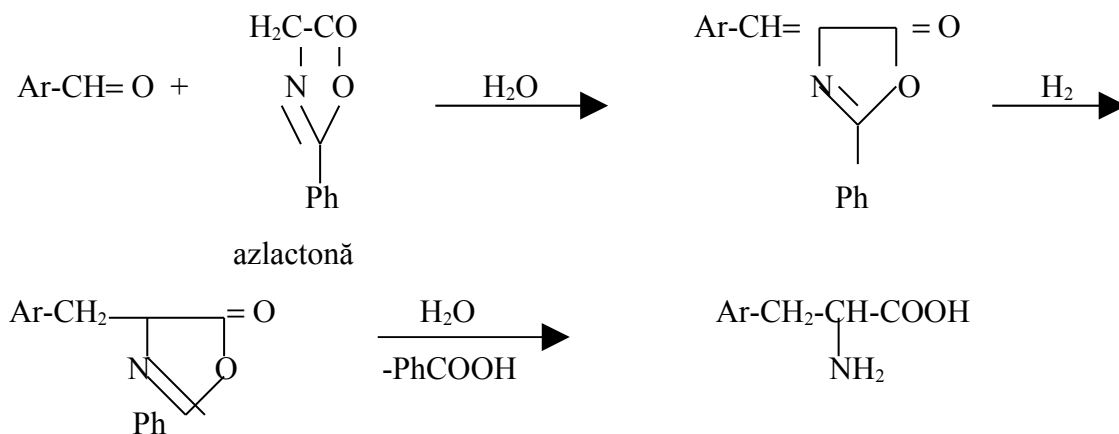
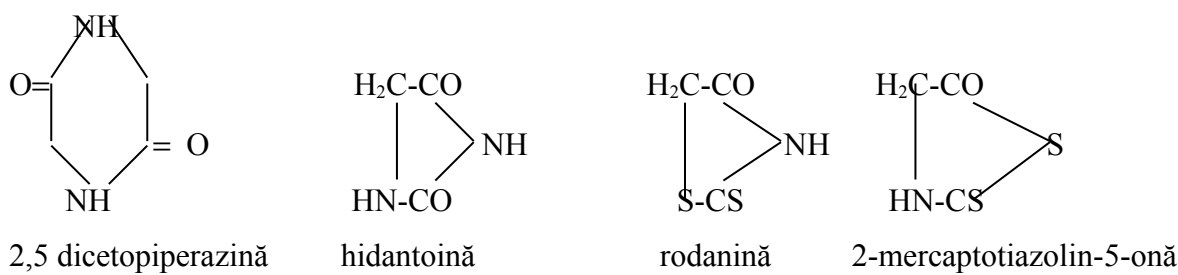


Derivații esterilor acidului aminomalonic se transformă în combinații sodate (cu etoxid de sodiu) care, prin condensare cu halogenuri de alchil sau acil și hidroliză ulterioară, formează aminoacizii corespunzători.



6. Condensarea unei aldehide cu un compus având o grupă metilen activ

Această metodă se folosește pentru obținerea aminoacizilor aromatici sau heterociclici și se realizează pornind de la o aldehydă aromatică, care se condensează cu o azlactonă (de exemplu 2,5 dicetopiperazină, hidantoină, rodanină sau 2-mercaptotiazolin-5-onă). După reducere cu amalgam de sodiu sau zinc și acid acetic și hidroliză se obține aminoacidul corespunzător. Această metodă este o aplicare a condensării Perkin.

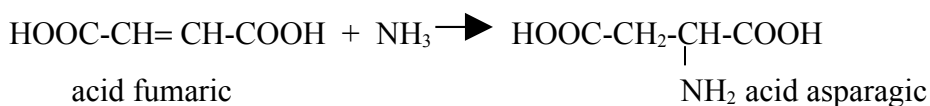


7. Oxidarea aminoalcoolorilor

Metoda este limitată la aminoalcoolii accesibili.



8. Se cunosc o serie de metode chimice de sinteză specifice unor aminoacizi, deci cu aplicabilitate limitată; de exemplu, adiția amoniacului la dubla legătură a acizilor nesaturați:



Obținerea formelor optice active

Metodele chimice de sinteză conduc de obicei la aminoacizi racemici. Dedublarea formelor racemice ale aminoacizilor se poate realiza, în principiu, prin următoarele metode :

a.) Cristalizarea selectivă a unuia din enantiomeri din soluția saturată a acestuia.

b.) Formarea de săruri diastereoizomere cu baze sau acizi chirali. Se folosesc de obicei aminoacizi N-acilați, pentru a le intensifica caracterul acid și a forma săruri cu baze optic active. Se pot utiliza și esterii ai aminoacizilor, care au caracter bazic mai pronunțat decât aminoacizii și formează săruri cu acizi optic activi. Aminoacizii bazici reacționează ca atare cu acizii optic activi (acid D-camforic). Sărurile diastereoizomere se separă prin diferența de solubilitate. După separare, prin hidroliză se obțin aminoacizi liberi.

c.) Tratarea racemicului cu preparate enzimatică. Această metodă este înalt selectivă datorită marii specificități a enzimelor și posedă avantajul că permite obținerea unor izomeri cu configurație cunoscută. Procedeele constau în:

- introducerea amestecului racemic, prin ingerare (furaj) sau prin injectare, într-un animal, ale cărui enzime metabolizează numai forma L. Din urină se separă apoi enantiomerul D rămas netransformat;

- oxidarea sau decarboxilarea cu ajutorul unor microorganisme specifice sau țesuturi, ale unuia din izomeri, celălalt rămânând neatat.

- hidroliza asimetrică sub acțiunea unor enzime (amidaze, esteraze, acilaze) ale derivaților aminoacizilor racemici substituiți în mod adecvat, prin care se eliberează numai antipodul L, care se separă de enantiomerul D rămas nehidrolizat.

III. Metode de biosinteză a aminoacizilor /2,5,7,8,9,10,12/

Aceste metode se bazează pe capacitatea de biosinteză a microorganismelor și au avantajul că se obțin aminoacizi din seria L, având configurația aminoacizilor naturali din proteine. Mecanisme foarte precise de reglare mențin concentrația aminoacizilor în celule în limite foarte strânse. Prin mutageneză, celulele microbiene suferă modificări genetice, cu implicații asupra mecanismelor de reglare. Ele pot suferi o mutație sau deleție a genelor operatoare sau reglatoare ale unora din enzime sau prin mutație genetică se pot codifica enzime modificate astfel încât să nu mai fie sensibile la metabolitul care le reglează în mod normal. Acest fel de microorganisme cu mecanisme de reglare modificate, cu permeabilitatea membranei celulare schimbată sau cu deficiențe metabolice, pot fi întrebuințate industrial pentru producerea unor metaboliți importanți pentru om, printre care și aminoacizii.

Pentru obținerea aminoacizilor se folosesc mutații de *Brevibacterium* sau *Corymbacterium*, dependenți de alți aminoacizi ce fac parte din schema de biosinteză a

aminoacidului în cauză (de exemplu pentru producerea lisinei se folosesc mutanți dependenți de homoserină) sau mutanți rezistenți la analogi ai respectivului aminoacid.

Drept materii prime se folosesc hidrați de carbon, alcooli, hidrocarburi alifatică cu cel puțin 10 atomi de carbon, compuși cu azot (proteine, peptide, uree, săruri de amoniu), săruri minerale (ce conțin K, Mg, Ca, P, Fe, Mn, Zn etc) și factori de creștere. Aceste substanțe sunt folosite de microorganisme pentru a se dezvolta și pentru a efectua biosinteza propriu-zisă a aminoacidului.

În timpul biosintezei se introduce aer sub presiune, steril, care furnizează oxigen diferitelor procese metabolice. În funcție de aminoacid, concentrația acestuia în mediile fermentate este cuprinsă între câteva grame și până la 90-100 g/l. Aminoacizii astfel sintetizați sunt izolați și purificați cu ajutorul schimbătorilor de ioni, cristalizării fracționate, adsorbției pe diferiți adsorbanti.

IV. Metode mixte

Aceste metode se folosesc de avatajele metodelor chimice și biochimice, deopotrivă. Astfel, se produc în cantități mari intermediari prin sinteză chimică și apoi sunt supuși transformărilor stereospecifice, cu obținerea directă a L-aminoacidului.

Utilizările aminoacizilor

Aminoacizii se folosesc în medicină pentru prepararea unor medicamente și pentru alimentația artificială în anumite îmbolnăviri ale sistemului digestiv, în caz de intervenții chirurgicale etc. Se folosesc în alimentație, pentru suplimentarea unor produse deficitare în aminoacizi esențiali, pentru accentuarea aromelor, pentru prepararea supelor concentrate, a alimentelor pentru copii, alimentația dietetică pentru cosmonauți, ca antioxidanți la prepararea conservelor și băuturilor etc /5,10/.

Cantități mari de aminoacizi se folosesc în zootehnie, pentru obținerea concentratelor furajere și pentru a mări digestibilitatea furajelor bogate în hidrați de carbon și sărace în proteine complete. Se folosesc, de asemenea, pentru prepararea unor medii bacteriologice necesare depistării unor boli /5,10/.

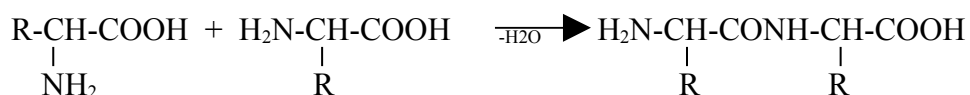
Din punct de vedere fiziologic aminoacizii au un rol deosebit. Astfel, acidul glutamic are un rol major în dezintoxicarea organismului, glutamina obținută prin aminarea lui fiind recomandată împotriva oboselii, depresiei și impotenței. Glicina intervine în sinteza hemoglobinei; ca precursor al glutatationului, glicina se combină cu acidul colic și formează glucocolați (săruri biliare) cu rol deosebit în digestie. Serina participă la sinteza cefalinei și stingomielinei. Arginina trece în ornitină care permite sinteza spermidinei și sperminei, prolamine considerate principali factori de creștere. Tirosina este precursorul a doi hormoni tiroidieni și anume: triiodotironina și tiroxina. De aceea, tirosina este deosebit de importantă în eliminarea dereglajelor tiroidiene. De remarcat că tirosina este precursor al adrenalinei și noradrenalinei, substanțe cu rol important în

referat.clopotel.ro

păstrarea echilibrului psihic. Triptofanul conduce la formarea serotoninei care este un vasoconstrictor puternic, un bun stimulator al contracției mușchilor netezi, un excelent neurotransmițător al sistemului nervos central. Am menționat o parte din aminoacizi, în special cei a căror activitate fiziologică este remarcabilă și care nu se găsesc întotdeauna cât ar trebui în alimentația zilnică /1,3,7,12/.

PEPTIDE

Peptidele sunt combinații de tip amidic rezultate prin condensarea a două sau mai multor molecule de aminoacizi.

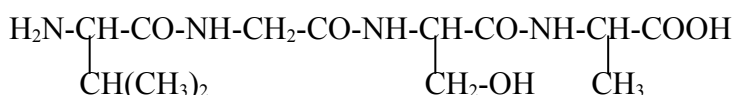


Peptidele pot rezulta din două, trei sau "n" molecule de aminoacizi. Pentru sistematizarea acestor compuși, convențional ei se clasifică în /3/:

- peptide (oligopeptide) - compuși formați dintr-un număr relativ mic de α -aminoacizi;
- polipeptide - compuși formați dintr-un număr mai mare de α -aminoacizi, dar cu masa moleculară mai mică de 10000;
- proteine (poliprotide superioare, holoproteide) - compuși cu masa moleculară mai mare de 10000;
- heteroproteide - compuși care pe lângă un lanț proteic, mai conțin și o grupare neproteică numită grupare prostetică.

Deci, fiecare moleculă de peptidă, polipeptidă sau proteină va conține: "n" resturi de α - aminoacizi; (n-1) legături peptidice (de tip amidă substituită); un N-acid (aminoacidul N terminal), rest de α -aminoacid de la capătul lanțului, care posedă grupa amino liberă și un C-acid (aminoacidul C-terminal), rest de α -aminoacid, de la celălalt capăt al lanțului, care posedă grupa carboxil liberă /3/.

Denumirile peptidelor se construiesc socotindu-le derivați acilați ai aminoacidului C-terminal. Se citesc succesiv radicalii aminoacizilor începând cu capătul N-terminal până la restul C-terminal /1,3,8/. De exemplu:



valil-glicil-seril-alanina sau Val-Gli-Ser-Ala

Datorită posibilității de legare a acelorași aminoacizi în secvențe diferite, peptidele pot prezenta fenomenul de izomerie de structură, de poziție. Doi aminoacizi diferiți pot da naștere la două dipeptide izomere după cum unul sau altul ocupă poziția N- sau C-terminală.

În organismele vii se întâlnesc numeroase peptide (oligopeptide sau peptide mai mari) cu funcții particulare. Unele din aceste peptide au legături peptidice atipice, cuprind resturi de aminoacizi modificați, structuri ciclice, altele cuprind D-aminoacizi /1,3,4,8,9/.

Peptidele se deosebesc de proteine prin aceea că dializează prin membrane de celofan. Spre deosebire de peptide, proteinele sunt precipitate din soluție cu acid tricloracetic /4/.

PROPRIETĂȚI

Cele mai multe peptide sunt cristaline, incolore, solubile în apă și insolubile în alcool absolut, solubilitatea lor fiind condiționată de mărimea moleculelor. La fel ca aminoacizii, au caracter amfoter, formând săruri solubile cu acizii și cu bazele.

Peptidele arată unele proprietăți ale proteinelor. Cele compuse din mai mult de 3-4 aminoacizi dau reacția biuretelui. Unele dintre ele se precipită din soluție, prin adăugare de electroliți, și se redizolvă după îndepărtarea lor.

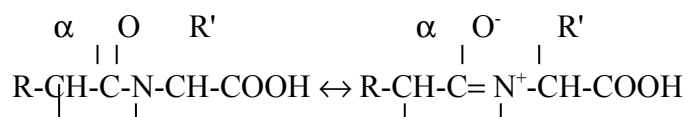
Prin hidroliză eliberează aminoacizii componenți. Peptidele în a căror componență intră aminoacizii optic activi naturali, pot fi hidrolizate de enzime proteolitice (peptidaze).

Unele peptide apar ca produși intermediari la hidroliza proteinelor cu acizi sau cu enzime și servesc la stabilirea structurii proteinelor din care provin /3,4/.

STRUCTURĂ

Comportarea generală a peptidelor poate fi explicată pe baza structurii lor, problemele de structură fiind complexe, un exemplu de corelație între efecte electronice și sterice, între aspecte calitative și cantitative. Elementul central îl constituie gruparea peptidică.

Examinarea geometriei și dimensiunilor legăturii peptidice pe structuri cristaline ale unor oligopeptide, confirmă cunoștințele generale asupra legăturii amidice. Distanța C-N este cu 10% mai scurtă decât în amine iar dubla legătură C=O este cu 0,02Å mai lungă decât cea cunoscută pentru aldehide și cetone. Aceste efecte sunt puse pe seama conjugării p-Π din gruparea amidică, reprezentată ca o structură de rezonanță între structurile limită I și II /3,4,8/.





Din lungimile de legătură și din spectre RMN s-a calculat că structura hibrid conține aproximativ 60% I și 40% II, electronii π fiind delocalizați pe legăturile C-O și C-N. Datorită acestei conjugări grupa C=O din amide și peptide nu dă reacțiile caracteristice cetonelor, iar electronii neparticipanți ai azotului nu sunt disponibili pentru legarea protonului și ele sunt baze foarte slabe. De asemenea, conjugarea face ca legătura carbon-azot din gruparea peptidică să aibă caracter parțial de dublă legătură. Structura sterică a grupării peptidice este condiționată de distribuția electronică din această grupare, care are ca efect o anumită orientare în spațiu a substituenților legați de atomii implicați în legătura peptidică și anume, aceștia sunt orientați în același plan. Rotirea în jurul legăturii carbon-azot este frânată, fapt care creează condiția necesară existenței unor aranjamente geometrice temporare, a izomerilor conformaționali de tip S-trans (transoid) și S-cis (cisoid); dintre aceștia, izomerul S-trans fiind cel mai stabil /4/.

Studiul peptidelor cu ajutorul difracției razelor X, a evidențiat faptul că acestea adoptă preferențial structura corespunzătoare formei S-trans, în timp ce structura corespunzătoare formei S-cis se regăsește în sisteme ciclice de tipul 1,4-dicetopiperazinelor substituie.

Având lungimile legăturilor și unghiurile relativ rigide, legătura peptidică în ansamblu este și ea rigidă, deși o ușoară deformare este totuși posibilă. Fiecare unitate peptidică este relativ voluminoasă și datorită rigidității legăturii peptidice, flexibilitatea de ansamblu a lanțului polipeptidic este apreciabil restrânsă /3,4,9/.

SINTEZE DE PEPTIDE

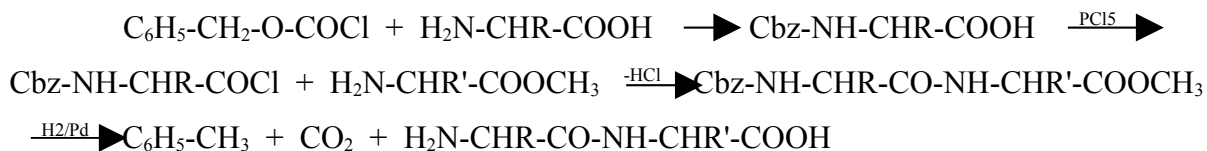
O trăsătură caracteristică a stadiului actual de cercetare a peptidelor o reprezintă interferența și condiționarea strânsă dintre metodele de studiu și sinteza de peptide sau de analogi structurali.

Construirea unei catene polipeptidice formate dintr-o succesiune de aminoacizi diferiți are loc în etape. Deoarece aminoacizii au două grupe funcționale reactive care pot reacționa între ele intrând în competiție cu grupări echivalente dintr-un nou aminoacid cu care se face condensarea, în sintezele de peptide se pornește întodeauna de la un aminoacid cu una din grupările funcționale blocate. Alegerea agenților de blocare se face în așa fel ca îndepărtarea lor, la sfârșitul sintezei să se facă în condiții care nu afectează legătura peptidică creată /1,3,4,8,9,11/.

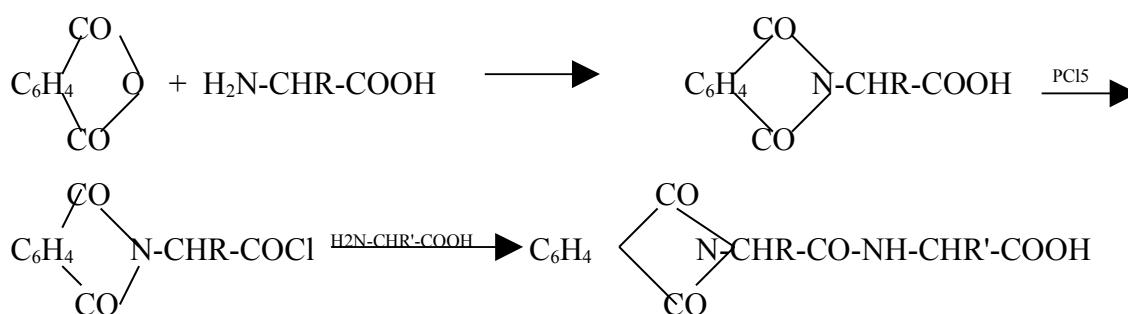
Metode de blocare și activare a grupărilor amino și carboxil

Pentru blocarea grupării aminice se utilizează mai ales cloroformiați și anhidride.

1.) Protejarea grupării aminice prin carbobenzozilare constă în acilarea aminoacidului cu cloroformat de benzil (Cbz); produsul obținut se transformă într-un derivat funcțional reactiv care reacționează cu gruparea aminică (neblocată) a aminoacidului cu care se face condensarea. Eliminarea grupării protectoare se face prin hidrogenare catalitică în prezență de paladiu /1,9/.

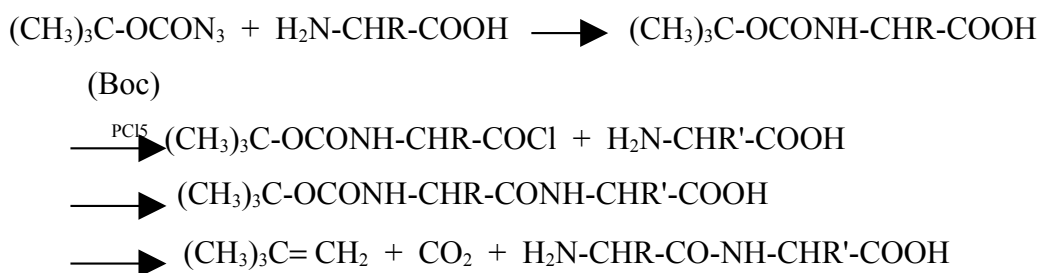


2.) Protejarea grupării aminice prin ftalilare se bazează pe observația că gruparea ftalil se elimină foarte ușor prin tratare cu hidrat de hidrazină /1,8,9/.



Ca și metoda carbobenzozilării, metoda aceasta nu provoacă racemizarea aminoacizilor.

3.) Protejarea grupării aminice prin butoxicarbonilare se bazează pe observația că eliminarea grupării terțbutoxicarbonil are loc deosebit de ușor, la tratarea cu acid trifluor acetic în acid acetic sau în clorură de metilen, marele avantaj constând în faptul că, în afară de peptidă rezultă numai compuși gazoși /1,8,9/.



4.) Blocarea grupărilor carboxil se realizează prin esterificare cu alcool benzilic, terțbutanol ș.a./1,3,8,9/.

5.) Activarea grupării COOH se realizează prin transformarea ei în cloruri acide, esteri și prin utilizarea unor reactivi ca diciohexilcarbodiimida (DDC) sau carbonildiimidazolul.

Clorurile acide ale aminoacizilor care conțin și alte grupări funcționale în moleculă sunt greu de obținut. Utilizarea esterilor obișnuiți este limitată de reactivitatea redusă a acestora; se

folosește mult esterul p-nitrofenilic, ("ester activat") obținut prin tratarea aminoacidului (protejat) cu p-nitrofenol, în prezența DDC.

N,N'-carbonildiimidazolul reacționează cu gruparea carboxil din aminoacizi sau peptide protejate, dând N-acil-imidazol care în reacție cu o amină sau un aminoacid conduce la o amidă, respectiv o peptidă /1,3,8,9/.

6.) Sinteza peptidelor în fază solidă (metoda Merrifield)

Această metodă utilizează ca agent de blocare al grupării carboxil, polistiren clorometilat. Polimerul clorometilat este tratat cu o soluție a sării de sodiu a aminoacidului care se fixează, sub formă de ester benzilic, pe polimerul solid:

Avantajul metodei constă în faptul că peptida intermediară atașată de polimer este insolubilă și poate fi ușor izolată prin simplă filtrare și spălare. Se evită izolarea și purificarea, după adăugarea fiecărui aminoacid.

Desprinderea polipeptidei de pe polimer se poate face prin tratare cu HF anhidru care nu scindează legăturile peptidice. Prin această metodă s-au sintetizat, cu rezultate bune, insulina și unii hormoni hipofizari /1,3,4,8,9/.

Reprezentanți

Carnozina (β -alanilhistidina) și **anserina** (β -alanil-N-metilhistidina) sunt dipeptide prezente în mușchi, care intervin în schimburile energetice din organism.

L-aspartil- β -fenil-L-alanil metil eterul (aspartam) este o dipeptidă de 152 de ori mai dulce decât zaharoza; dacă radicalul fenil este înlocuit cu un radical ciclohexil, compusul rezultat este de 225 ori mai dulce decât zaharoza. Acest compus este folosit ca edulcorant artificial, cu slab aport caloric, de către diabetici și pentru controlul greutateii corporale începând din anul 1983.

Glutationul (γ -glutamil-cisteinil-glicina) - prima tripeptidă naturală cunoscută și izolată din drojdia de bere, prezentă în toate celulele, joacă un rol important în procesele de oxido-reducere, datorită prezenței în moleculă a grupării -SH, care are caracter reducător conducând la disulfura corespunzătoare. Glutationul funcționează ca și coenzimă a unor enzime.

Oxitocina și vasopresina sunt nonapeptide cu structură ciclică, datorită formării unei punți disulfurice între grupările -SH, care provin de la două resturi de cisteină, prezente în lanțul polipeptidic. În structura acestor peptide s-a constatat prezența a trei grupări amidice, formate la grupările carboxil libere, care provin de la aminoacizii monoaminodicarboxilici prezenți în moleculă. Diferențele structurale între aceste peptide sunt mici, dar acțiunea fiziologică este diferită. Aceste peptide sunt hormoni hipofizari. Oxitocina acționează asupra musculaturii netede, în

special a uterului, provocând contracții. Vasopresina are o acțiune similară dar mult mai redusă, provocând creșterea tensiunii arteriale prin inhibarea diurezei.

Insulina este de asemenea un hormon de natură proteică, secretat de pancreas. Masa moleculară a insulinei este de aproximativ 6000, dar moleculele sunt asociate formând agregate cu mase moleculare de 12000, 48000 care în anumite condiții disociază.

Insulina reglează metabolismul glucidic și indirect influențează și asupra metabolismului altor compuși organici. Hipofuncția pancreasului conduce la diabet zaharat, boală care se caracterizează prin hiperglicemie și glicozurie, apărând totodată și modificări în metabolismul proteinelor și lipidelor. Hiposecreția de insulină poate fi compensată prin administrare periodică de insulină, care influențează direct asupra sintezei glicogenului hepatic și asupra oxidării glucozei în mușchi /1,3,4,8,9,11/.

PROTEINE

Proteinele sunt compuși organici naturali, considerați ca fiind suportul material al tuturor fenomenelor vieții. Acești compuși sunt principalii constituenți cu structură macromoleculară ai protoplasmei tuturor celulelor vegetale și animale. Denumirea lor derivă de la cuvântul "protos" care înseamnă de prim rang, cel dintâi, fundamental /2,3/.

Proteinele sunt substanțe macromoleculare de natură polipeptidică, la construcția cărora participă 20 de aminoacizi fundamentali. Proteinele sunt macromolecule informaționale, cu secvențe specifice de aminoacizi, sunt expresia epigenetică a genomului celular.

Chimia proteinelor este deosebit de complexă, ea presupunând, mai întâi, înțelegerea principiilor generale de construcție a moleculelor proteice, a modului în care dintr-un număr limitat de unități structurale se pot forma infinite de multe proteine și ce factori intervin în realizarea arhitecturii lor. În al doilea rând, studiul proteinelor necesită abordarea fiecărui tip de proteină în parte, stabilirea pentru fiecare specie moleculară a constituției chimice, a arhitecturii ei spațiale și a funcției sau a funcțiilor pe care le exercită /1,3,8,9/.

Structură

Cu cât numărul de α -aminoacizi, care formează molecula unui compus de natură proteică este mai mare, cu atât problemele pe care le ridică structura acestor compuși sunt mai complexe. Cercetările efectuate în acest domeniu, au condus la rezultate experimentale pe baza cărora se disting patru grade structurale sau niveluri de organizare, deosebindu-se prin complexitatea lor. Acestea au fost numite structuri primare, secundare, terțiare și cuaternare /2,8,9/.

Structura primară a unei proteine este determinată prin felul aminoacizilor, numărul lor și succesiunea lor specifică, respectiv secvența lor. Structura primară redă totalitatea legăturilor covalente din moleculă, fiind denumită și structură covalentă. Distanțele interatomice și unghiurile de valență calculate sunt cele precizate pe peptide /1,2,3,8,9/.

Cunoașterea structurii primare are o importanță deosebită pentru înțelegerea rolurilor proteinelor. Prin studii de secvențialitate s-a stabilit că o proteină dată are o structură unică, nu este un amestec de specii moleculare diferite, cum este cazul polimerilor de sinteză. S-a constatat că nu există regularitate în înălțuirea aminoacizilor, nu există anumite secvențe preferate față de altele, astfel că dacă la o proteină cu 100 de resturi de aminoacizi se cunoaște natura și secvența a 99 dintre ei, nu există nici o regulă care să permită prevederea celui de al 100-lea.

Structurile primare ale proteinelor constituie baza înțelegerii la nivel molecular a activităților lor biologice. Prin compararea structurilor primare ale proteinelor care îndeplinesc funcții omoloage la organisme diferite se poate stabili gradul de varietate structurală compatibilă cu o anumită funcție. Secvența aminoacizilor într-o proteină este veriga între mesajul geneti înscris în ADN și expresia acestui mesaj. S-au descoperit specii de proteine anormale (mutante) ca expresie a unor modificări la nivelul genomului. Aceste proteine anormale se pot manifesta sub forma unor boli-moleculare.

Structura secundară este determinată de aranjarea în spațiu a catenei polipeptidice și de legăturile care se stabilesc între catene. Legăturile de hidrogen, între grupările NH- și C=O, joacă un rol esențial la acest nivel de organizare /2/.

Prin studii de difracție cu raze X pe cristale pure de polipeptide sintetice și naturale, Pauling și Corey au indicat modalitățile de realizare a structurii secundare: atomii implicați în legătura peptidică sunt coplanari; atomii de carbon din lanțul peptidic sunt poziționați trans unul față de altul, făcând să scadă forțele de respingere; distanțele interatomice și unghiurile de valență au aceleași valori indiferent de dimensiunile catenei; numărul legăturilor de hidrogen care se stabilesc între oxigenul carbonilic și azotul amidic este maxim posibil, hidrogenul fiind plasat pe linia imaginară care ar uni oxigenul de azot. Legătura de hidrogen poate fi intramoleculară, rezultând o structură α -elicoidală, formată printr-o răsucire în spirală a catenei polipeptidice, și intermoleculară, obținându-se o structură pliată, prin simpla pliere a catenei. S-a dovedit că aceste structuri sunt concordante cu proprietățile fizico-chimice și biologice /2,3/.

Structura de α -helix

Lanțul polipeptidic se răsucește la nivelul legăturilor simple, pentru ca grupările C=O și NH să devină adiacente stereochemic pentru a forma punți de hidrogen. Se obține astfel o structură repetitivă elicoidală în care toate unitățile se află în raporturi spațiale identice cu unitățile vecine. O grupare NH formează legătura de hidrogen cu gruparea C=O a celui de-al patrulea rest de aminoacid din secvența liniară. În acest fel toate grupările C=O și NH sunt unite prin punți de hidrogen.

Stereochimia grupării peptidice, unghiurile de legătură, distanțele interatomice, colinearitatea legăturilor de hidrogen, apartenența tuturor aminoacizilor la aceeași serie optică (seria L) determină o anumită geometrie a elicei α :

- cu fiecare rest de aminoacid se avansează pe verticală cu 1,47Å;
- pasul elicei, distanța între două puncte echivalente pe verticală, este de 5,21 Å și cuprinde 3,6 resturi de aminoacizi;
- diametrul elicei, diametrul suprafeței cilindrice în care se află atomii $C\alpha$, este de 10,1Å;
- sensul răsucirii lanțului polipeptidic este de la stânga la dreapta;
- radicalii R ai tuturor aminoacizilor sunt orientați spre exteriorul elicei, configurația atomilor $C\alpha$ fiind aceeași pentru toți aminoacizii;
- toate grupările NH și C=O formează punți de hidrogen.

Un lanț polipeptidic sub formă de α -elice se prezintă ca un bastonaș cu diametrul de 10,1Å, pentru 300 de resturi de aminoacid, lungimea fiind 450Å /1,2,3,9,11/.

Structura β

O altă structură secundară a lanțurilor polipeptidice în care se realizează potențialul maxim de legare prin punți de hidrogen a grupărilor C=O și NH este structura β sau structura pliată. În acest caz punțile de hidrogen sunt intercatenare, lanțurile polipeptidice așezându-se în straturi. Cea mai stabilă structură se obține dacă lanțurile evoluează unul de la capătul N-terminal și celălalt în sens invers (structura β cu lanțuri antiparalele). Datorită rigidității legăturii peptidice și coplanarității grupării -CH-NH-CO-CH- se realizează structuri asemănătoare unei foi pliate. Radicalii R sunt orientați, alternativ, de-o parte și de alta. Structura β este întâlnită în proporție de 100% în fibroină, proteina din mătase, și în proporții variabile în alte proteine fibrilare. Structura β se întâlnește însă și la proteine globulare, fie între segmente aparținând la lanțuri diferite, fie într-un același lanț polipeptidic.

β -keratina este compusă din straturi formate din catene polipeptidice orientate paralel, în același sens și unite prin legături de hidrogen. Fiecare catenă este legată astfel de cele două catene vecine, prin legături de hidrogen între grupările CO și NH ale lor /1,2,3,8,9/.

Structura terțiară

Acest nivel de organizare înglobează structura secundară și definește raporturile dintre segmentele de α -elice și structură β , modul de împachetare a lanțului polipeptidic. Factorii determinanți ai structurii terțiare ai unei proteine sunt interacțiunile necovalente între radicalii R de la $C\alpha$, fie că aceștia se află în regiuni cu structură α sau β , fie că sunt cuprinși în segmente neorganizate. La acest nivel de organizare terțiar, molecula proteică dobândește forma sa specifică /2/.

Între diverșii radicali ai aminoacizilor se pot stabili următoarele tipuri de legături necovalente:

1. punți de hidrogen între radicalii cu grupări alcoolice (din resturi seril, treonil), fenolice (din resturi tirozil), amidice (din resturi glutaminil și asparaginil).

2. legături ionice, saline, între radicalii cu sarcini electrice sau interacțiuni polare între radicalii polari, fără sarcini.

3. interacțiuni hidrofobe între resturile aminoacizilor nepolari ca: valină, leucină, izoleucină, fenilalanină, alanină.

Resturile cisteinil din multe proteine formează legături disulfurice care leagă covalent regiuni mai îndepărtate ale lanțurilor polipeptidice /3/.

Un lanț polipeptidic adoptă, în măsura în care îi permite structura sa primară, configurații de α -elice sau de structură β și prin pliere, împachetarea lanțului caută să satisfacă și afinitățile radicalilor R. Rezultanta tuturor acestor interacțiuni determină conformația moleculei proteice. Factorul ultim care determină conformația unei proteine este structura sa primară. Informația genetică tradusă în secvențe de aminoacizi, prin jocul forțelor fizico-chimice, se transformă spontan în edificii tridimensionale specifice /1,2,3,9/.

Prima proteină a cărei structură tridimensională a fost stabilită în cele mai mici detalii, precizându-se poziția în spațiu a tuturor atomilor componenți este mioglobina.

Numărul proteinelor cu structură terțiară cunoscută este în continuă creștere și analiza acestor structuri dovedește păstrarea trăsăturilor calitative dar cu o mare plasticitate în detalii. Structura terțiară, spre deosebire de cea secundară, este determinată de elemente nerepetitive; totuși și la acest nivel au fost recunoscute câteva scheme de organizare spațială. Aceasta a permis clasificarea proteinelor globulare în câteva clase /2/:

- a.) proteine all- α -lanțul polipeptidic are structură secundară de α -elice în proporție de aproape 100% și elicele sunt împachetate într-o formă compactă, globulară;
- b.) proteine all- β -lanțul polipeptidic prin îndoire formează structuri β cu lanțuri antiparalele, așezate unele lângă altele;

- c.) proteine $\alpha+\beta$ -segmentele cu organizare secundară α și β sunt segregate în structura terțiară;
- d.) proteine α/β -segmentele α și β alternează în structura terțiară;
- e.) proteine fără organizare secundară α sau β , plierea lanțului fiind hotărâtă numai de interacțiunile între R; în general sunt proteine mici ce cuprind un număr relativ mare de punți disulfurice

Organizarea pe domenii a proteinelor /2,3/

După recunoașterea unor scheme structurale la nivelul organizării terțiare a moleculelor proteice, un concept nou, care permite o mai bună înțelegere a raporturilor dintre structura și funcțiile unei proteine este conceptul organizării proteinelor mai complexe, pe domenii structurale.

Prin domenii structurale ale unei proteine se înțelege regiunile compacte cu organizare terțiară specifică, relativ rigide, separate între ele de segmente mai puțin organizate, care permit mișcarea unui domeniu în raport cu altul (dinamica domeniilor). Fiecare domeniu structural al unei proteine este răspunzător de o anumită funcție. Gradul de flexibilitate al domeniilor variază de la mișcări mai ample la altele restrânse, depinzând de natura segmentelor interdomenii.

Un aspect de cea mai mare importanță care a rezultat din dezvoltarea conceptului de organizare pe domenii a proteinelor este acela că domenii cu structuri și proprietăți asociative similare sunt prezente în proteine diferite. Complexitatea structurilor și funcțiilor proteinelor poate rezulta prin asocierea de domenii structurale diferite (construcție modulară).

Construcția proteinelor complexe din module funcționale independente conferă proteinelor potențialități noi. Organizarea pe domenii este întâlnită la unele enzime solubile, fiecare domeniu catalizând o etapă dintr-o secvență metabolică. Eficiența crește foarte mult deoarece este împiedicată pierderea intermediarilor în reacții colaterale, procesul desfășurându-se în flux continuu /2/.

Structura cuaternară a proteinelor

Multe proteine sunt alcătuite din mai multe lanțuri polipeptidice, de regulă un număr mic și pereche (proteine oligomere). Lanțurile individuale sunt denumite protomeri. La aceste proteine, pe lângă structurile primară, secundară și terțiară ale fiecărui protomer, apare un nivel superior de organizare-structura cuaternară. Aceasta definește natura, numărul și modul de asociere a protomerilor /1,2,3,8,9/.

Funcția specifică a unei proteine oligomere se manifestă numai la nivelul structurii cuaternare, protomerii separați fiind inactivi.

Asocierea protomerilor, structura cuaternară, se realizează numai prin forțe slabe, necovalente și devine stabilă, permanentă, numai dacă suprafețele de contact sunt complementare și

un număr cât mai mare de atomi se apropie până la nivelul razelor por van der Waals. Complementaritatea suprafețelor de contact asigură un grad foarte înalt de exactitate și de specificitate a structurilor cuaternare. Protomerii unor proteine omoloage de la specii diferite nu se asociază.

Interacțiunile prin suprafețe complementare prezintă fenomenul de cooperare, adică primele interacțiuni favorizează formarea celorlalte. La început moleculele se juxtapun prin câteva puncte, după care celelalte grupări își găsesc mai ușor partenerii.

Capacitatea de interacțiune a moleculelor prin suprafețe complementare explică nu numai formarea proteinelor oligomere, a unor structuri supramoleculare, dar și modul în care proteinele își îndeplinesc funcțiile caracteristice.

Structurile cuaternare permit funcționarea unor mecanisme fine de reglare a activității proteinelor. O perturbație care are loc la nivelul unui protomer poate fi transmisă în restul moleculei, fiind resimțită la nivelul contactului dintre protomeri; structura cuaternară este alterată și totodată și funcția proteinei. Acest mecanism de reglare este denumit reglare alosterică.

Un exemplu de structură cuaternară este aceea a hemoglobinei, studiată prin analiză cristalografică cu raze X. În acest caz, lanțurile polipeptidice, în număr de patru, sunt legate între ele prin legături de hidrogen, forțe van der Waals, legături polare, formând o legătură tetrameră, care sub acțiunea unor factori din mediu, se desface în protomeri, iar sub acțiunea condițiilor inițiale, se restructurează din nou cuaternar /2,9,11/.

METODE DE DETERMINARE A STRUCTURII

Pentru a fi studiate, proteinele trebuie izolate din diverse organe și apoi purificate. De obicei, proteinele se separă din materiale biologice cu o soluție salină sau cu solvenți organici diluați cu apă. În principiu, proteinele se separă de substanțele cu care se găsesc în amestec în soluție, fie prin dializă prin membrane semipermeabile, fie prin electroforeză; apoi se cristalizează prin precipitare cu etanol sau săruri neutre /9/.

Analiza elementară calitativă și cantitativă a proteinelor a pus în evidență prezența elementelor: C (50-52%); H(6,8-7,7%); O(20-25%); N(15-18%) și S(0,5-2%). În unele cazuri s-au identificat și elementele: P, Fe, Cu, I, Cl, Br /8,9/.

Pentru stabilirea structurii peptidelor, polipeptidelor și proteinelor se utilizează metodele fizico-chimice, problemele de structură fiind deosebit de complexe.

Pentru determinarea structurii primare a substanțelor proteice este necesară cunoașterea felului și numărului α -aminoacizilor din care este format compusul proteic analizat (adică identificarea și dozarea α -aminoacizilor) precum și stabilirea secvenței α -aminoacizilor, adică stabilirea ordinii în care aceștia se succed în moleculă /3/.

Identificarea și dozarea aminoacizilor

Extractele proteice sunt supuse unor operații de separare și purificare laborioase, obținându-se în final polipeptide sau proteine în stare pură. Acestea sunt hidrolizate, pe cale chimică sau enzimatică, conducând la hidrolizate proteice.

Din hidrolizatele proteice, aminoacizii se identifică folosind mai ales metodele cromatografice (vezi aminoacizi). Apoi se determină cantitativ aminoacizii, mai ales prin metode spectrofotometrice. Se cunosc aparate bazate pe separarea cromatografică a aminoacizilor și dozarea spectrofotometrică a acestora, cu funcționare automată /3,9/.