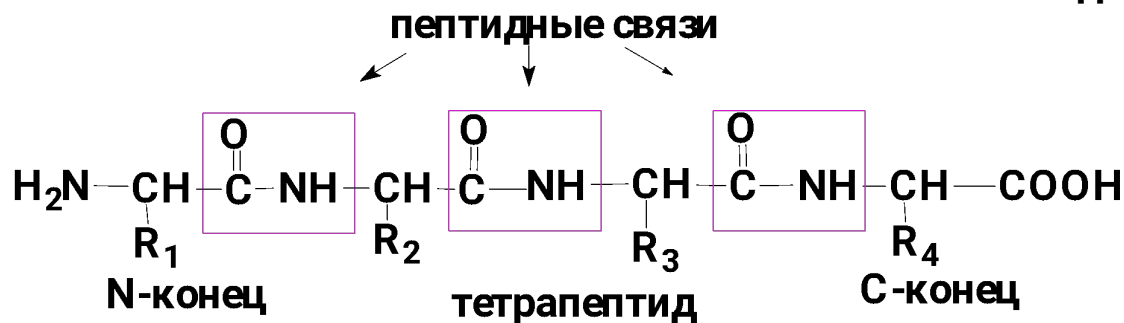
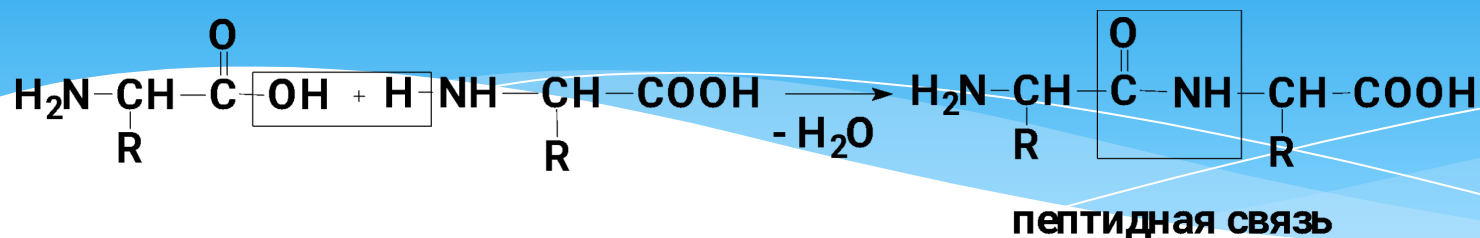


Пептиды

Номенклатура и классификация пептидов.
Особенности строения пептидной связи. Физические и
химические свойства пептидов. Изоэлектрическая
точка. Группы пептидов, биороль. Синтез пептидов.

ПЕПТИДЫ – это природные или синтетические соединения, молекулы которых построены из остатков α-аминокислот, соединенных между собой пептидными (амидными) связями $-C(O)NH-$.



Могут содержать в молекуле также неаминокислотную компоненту (например, остаток углевода, НК).

По числу аминокислотных остатков, входящих в молекулы пептидов, различают **дипептиды, трипептиды, тетрапептиды** и т.д. Пептиды, содержащие до 10 аминокислотных остатков, называются **олигопептидами**, содержащие более 10 аминокислотных остатков **полипептидами**. Природные полипептиды с молекулярной массой более 6 000 Да называются **белками**.

Историческая справка

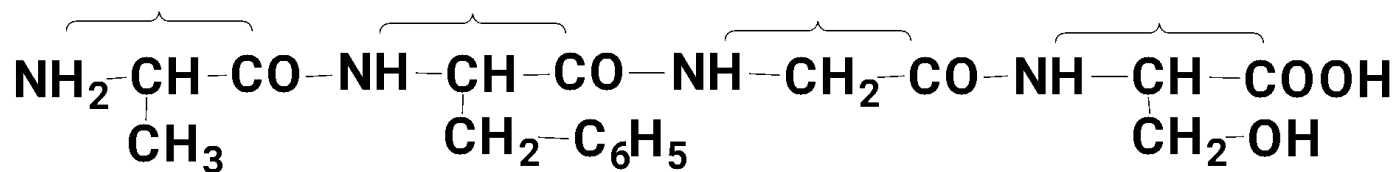
- ❑ Впервые пептиды были выделены из ферментативных гидролизатов белков.
- ❑ Термин «пептиды» предложен Э. Фишером.
- ❑ **Первый синтетический пептид** получил Т. Курциус в 1881
- ❑ Э. Фишер к 1905 разработал первый общий **метод синтеза пептидов** и синтезировал ряд олигопептидов различного строения.
- ❑ Существенный вклад в развитие химии пептидов внесли ученики Э. Фишера: Э. Абдергальден, Г. Лейке и М. Бергман. В 1932 М Бергман и Л. Зервас использовали в синтезе пептидов бензилоксикарбонильную группу (**карбобензоксигруппу**) для защиты α -аминогрупп аминокислот, что ознаменовало новый этап в развитии синтеза пептидов. Полученные N-защищенные аминокислоты (N-карбобензоксиаминокислоты) широко использовали для получения различных пептидов, которые успешно применяли для изучения ряда ключевых проблем химии и биохимии, например, для исследования субстратной специфичности протеолитических ферментов. С применением N-карбобензоксиаминокислот были впервые синтезированы природные пептиды (**глутатион, карнозин** и др.).

Историческая справка

- ❑ Важное достижение в этой области - разработанный в начале 50-х гг. Р. Воганом и др. синтез пептидов **методом смешанных ангидридов**.
- ❑ В 1953 В. Дю Виньо синтезировал первый пептидный гормон - **ОКСИТОЦИН**.
- ❑ На основе разработанной Р. Меррифилдом в 1963 концепции твердофазного пептидного синтеза были созданы автоматические синтезаторы пептидов. Получили интенсивное развитие методы контролируемого ферментативного синтеза пептидов. Использование новых методов позволило осуществить **синтез гормона инсулина** и др.
- ❑ Успехи синтетической химии пептидов были подготовлены достижениями в области разработки таких методов разделения, очистки и анализа пептидов, как ионообменная хроматография, электрофорез на различных носителях, гель-фильтрация, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), иммунохимический анализ и др. Получили большое развитие также методы анализа концевых групп и методы ступенчатого расщепления пептидов. Были, в частности, созданы **автоматические аминокислотные анализаторы** и автоматические приборы для определения первичной структуры пептидов - **секвенаторы**.

Номенклатура пептидов

Ала~~н~~и~~л~~фенилала~~н~~и~~л~~гли~~ц~~и~~л~~серин



Ala-Phe-Gly-Ser или AFGS

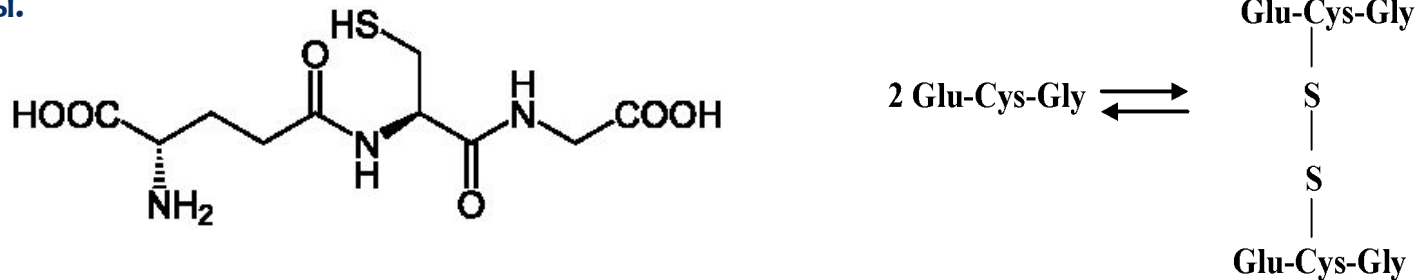
Классификация пептидов



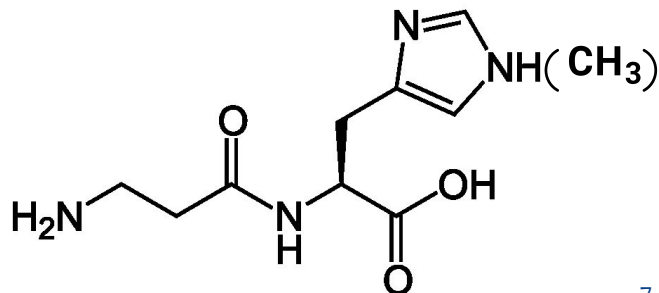
Гомомерные пептиды при гидролизе образуют только аминокислоты, **гетеромерные** наряду с аминокислотами соединения др. классов. В зависимости от структуры неаминокислотной компоненты, гетеромерные пептиды делятся на **глико-, липо-, нуклео-, фосфопептиды** и др. Гомомерные и гетеромерные пептиды могут быть **линейными и циклическими**. Аминокислотные остатки в них могут быть соединены между собой только пептидными связями (**гомодетные пептиды**) или не только пептидными, а сложноэфирными, дисульфидными и др. (**гетеродетные пептиды**). Гетеродетные пептиды со встроенными в цепь гидроксикаминокислотами называются **пептолидами**. Пептиды, содержащие в молекуле остатки только одной аминокислоты, называются **гомополиаминокислотами**, а содержащие одинаковые повторяющиеся участки (из одной или нескольких аминокислотных остатков) **регулярными** пептидами. **Депсипептиды** содержат одну или несколько сложноэфирных групп.

Примеры пептидов различного строения

Глутатион - трипептид γ -глутамилцистеинилглицин. Важность глутатиона в клетке определяется его антиоксидантными свойствами. Фактически глутатион не только защищает клетку от таких токсичных агентов, как свободные радикалы, но и в целом определяет редокс-статус внутриклеточной среды.



Карнозин (бета-аланил-L-гистидин) и ансерин (метилкарнозин) — дипептиды, состоящие из остатков аминокислот бета-аланина и гистидина (метилгистидина). Обнаружены в высоких концентрациях в мышцах и тканях мозга. Они увеличивают амплитуду мышечного сокращения, предварительно сниженную утомлением.



Примеры пептидов различного строения

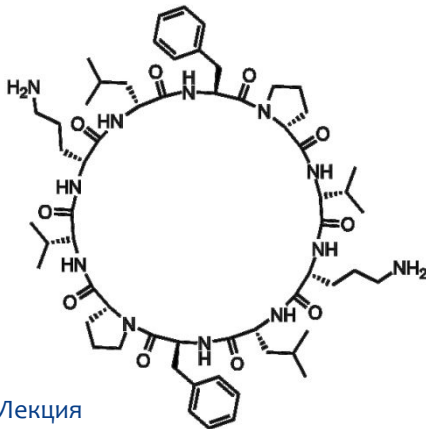
Tyr-Gly-Gly-Phe-**Met** **Met**- энкефалин

Tyr-Gly-Gly-Phe-**Leu** **Leu**- энкефалин

Энкефалины – нейропептиды с морфиноподобным действием, вырабатываемые центральной нервной системой позвоночных. Уменьшают двигательную активность, участвуют в обезболивании и др. Являются олигопептидами – состоят из 5 аминокислот, образуются в результате посттрансляционного преобразования полипротеина.

цикло-(D-Hyd-L-Ser)₂

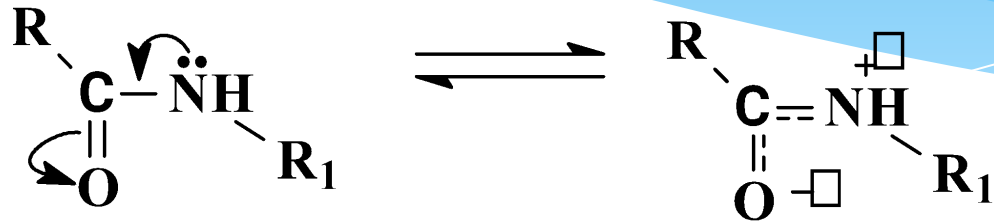
Мембранно-активный антибиотик **серратомолид** — тетрапептид с повторяющимися остатками D-8-гидроксидекановой кислоты (D-Hyd) и L-серина является депсипепдом.



(D-Phe – L-Pro – L-Val – L-Orn – L-Leu)₂

Грамицидин S — антибиотик тиротрициновой группы. Продуцируется споровой палочкой *Bacillus brevis* var. G.- B. В промышленности получают синтетическим путём. Первый советский антибиотик, был выделен Г. Ф. Гаузе и М. Г. Бражниковой в 1942 г. Сыграл важную роль в спасении многих тысяч жизней на фронтах Великой Отечественной войны

Особенности строения пептидной связи



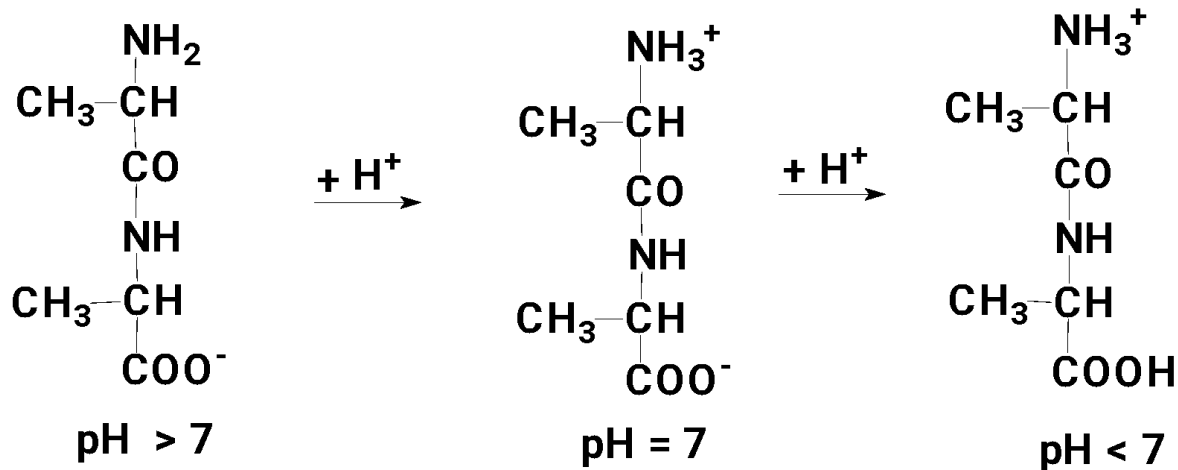
Пептидная связь имеет свойства частично двойной связи. Это проявляется в уменьшении длины этой связи (0,132 нм) по сравнению с длиной простой связи C-N (0,147 нм).

Следствия:

- ✓ к -NH- в -CONH- не может присоединиться или отщепляться H при pH 0-14
- ✓ свободное вращение вокруг связи C-N отсутствует

Свойства пептидов

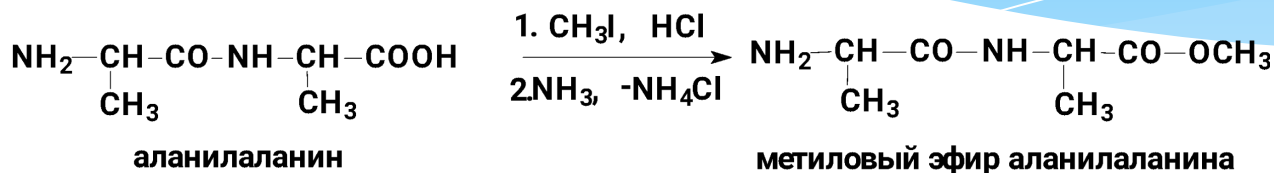
- Олигопептиды по свойствам близки к аминокислотам, полипептиды подобны белкам. Олигопептиды представляют собой, как правило, кристаллические вещества, разлагающиеся при t 200-300 °С. Пептиды хорошо растворимы в воде, разбавленных кислотах и щелочах, почти не растворимы в органических растворителях. Исключение: олигопептиды, построенные из остатков гидрофобных аминокислот.
- Олигопептиды обладают амфотерными свойствами и, в зависимости от кислотности среды, могут существовать в форме катионов, анионов или цвиттер-ионов.



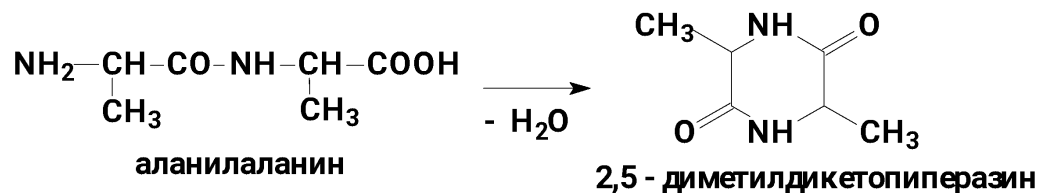
- Изоэлектрическая точка (pI) пептидов колеблется в широких пределах и зависит от состава аминокислотных остатков в молекуле.
- Основные полосы поглощения в ИК спектре для группы $-\text{NH}-$ 3300 и 3080 см^{-1} , для группы $\text{C}=\text{O}$ 1660 см^{-1} . В УФ спектре полоса поглощения пептидной группы находится в области 180-230 нм.

Химические свойства пептидов

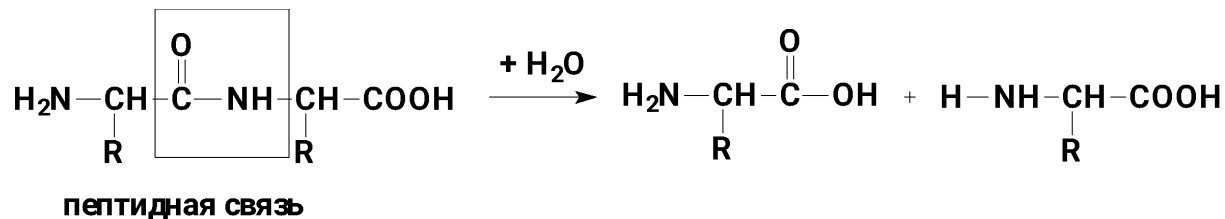
- ✓ Химические свойства олигопептидов определяются содержащимися в них функциональными группами, а также особенностями пептидной связи. Их химические превращения в значительной мере аналогичны соответствующим реакциям аминокислот. Они дают положительную биуретовую реакцию и нингидриновую реакцию.



- ✓ Дипептиды и их производные (особенно эфиры) легко циклизуются, превращаясь в дикетопиперазины:



- ✓ Под действием 5,7 N соляной кислоты пептиды гидролизуются до аминокислот в течение 24 ч при 105 °C:



Синтез пептидов

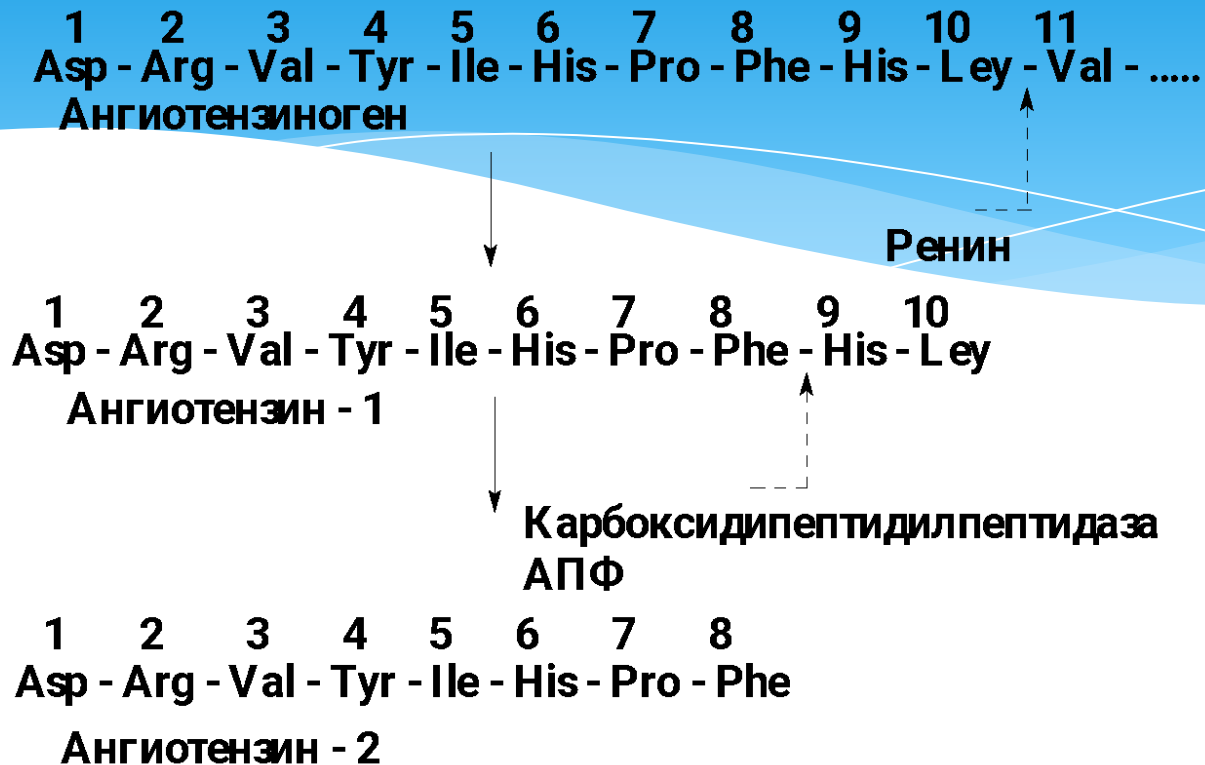
В организме:

- каскадные процессы
- рибосомальный синтез
- нерибосомальный синтез (пантотеновая к-та и фосфопантотеин) – у микроорганизмов

Вне организма:

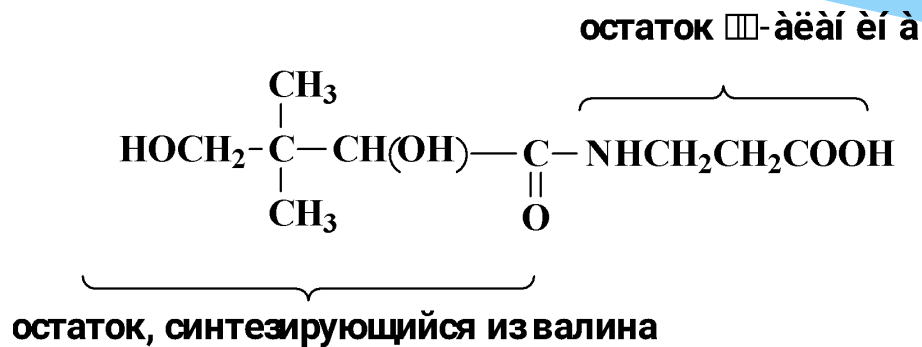
- химический синтез

Регуляция кровяного давления:



Ангиотензин-2 — олигопептидный гормон, который вызывает вазоконстрикцию (сужение сосудов), повышение кровяного давления и высвобождение другого гормона альдостерона из коры надпочечников в кровоток. Ангиотензин образуется из белка-предшественника ангиотензиногена, сывороточного глобулина, который продуцируется в основном печенью. Ангиотензин играет важную роль в т. н. ренин-ангиотензиновой системе.

Строение пантотеновой кислоты

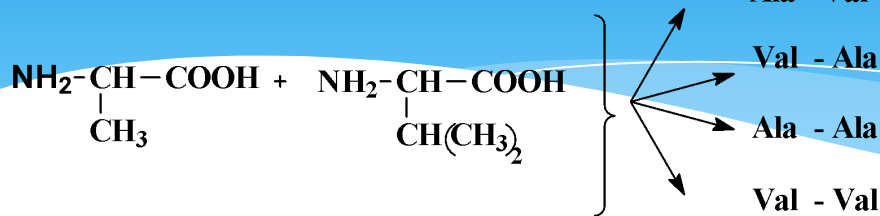


Пантотеновая кислота (Витамин B5) - белый мелкокристаллический порошок, хорошо растворимый в воде. Она синтезируется растениями и микроорганизмами, содержится во многих продуктах животного и растительного происхождения (яйцо, печень, мясо, рыба, молоко, дрожжи, картофель, морковь, пшеница, яблоки). В кишечнике человека пантотеновая кислота в небольших количествах продуцируется кишечной палочкой. Пантотеновая кислота - универсальный витамин, в ней или её производных нуждаются человек, животные, растения и микроорганизмы.

Химический синтез пептидов

N - конец

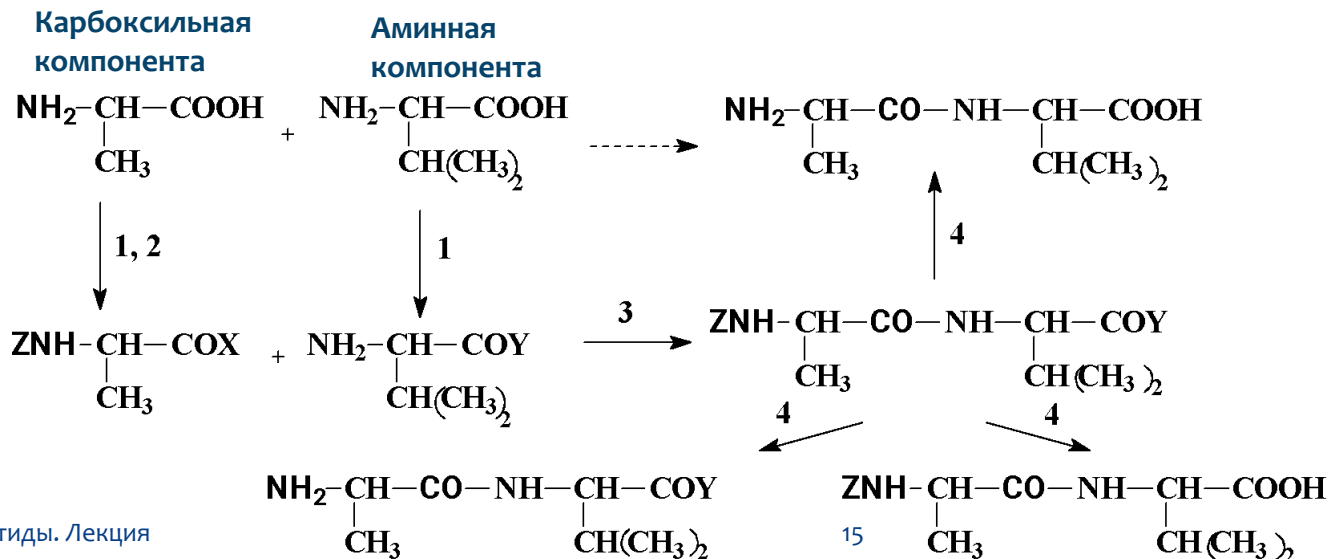
C - конец



Три аминокислотных остатка могут дать 6 трипептидов с различными аминокислотами в составе, четыре – 20 тетрапептидов, двадцать – 10^{14} и т.д.

Стратегия химического синтеза пептидов:

1. Защита амино- и карбоксильной групп, не участвующих в образовании пептидной связи
2. Активация карбоксильной группы, участвующей в образовании пептидной связи
3. Образование пептидной связи
4. Снятие защиты



Защитные группы

Все защитные группы делят на **N-защитные** (для временной защиты группы NH_2), **C-защитные** (для временной защиты карбоксильных групп COOH) и **R-защитные** (для временной защиты других функциональных групп в боковой цепи аминокислот).

Среди **N-защитных** групп наиболее важными являются ацильные защитные группы [в т.ч. типа ROC(O)], а также алкильные и аралкильные защитные группы.

Примеры **N-защитных групп типа ROC(O)** :

бензилоксикарбонильная группа (карбобензоксигруппа) $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO}$

трет-бутоксикарбонильная группа $(\text{CH}_3)_3\text{COCO}$.

К ацильным N-защитным группам относят:

формильную HCO , трифторацетильную CF_3CO и др.

Представители **N-защитных групп алкильной и аралкильной** природы:

триметилсилильная $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$ и трифенилметильная (тритильная) $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}$.

Среди **C-защитных** групп важными являются **сложно-эфирные и замещенные гидразидные** группы. К первым относят, например, метокси-, этокси- и трет-бутоксигруппы. C-защитные группы гидразидного типа - бензилоксикарбонил-, трет-бутилоксикарбонил-, тритил- и фенил-гидразиды.

В качестве **R-защитных** групп широко используют **ацильные группы**, в т. ч. типа ROC(O) (для защиты аминогрупп и гуанидиногрупп в боковых цепях лизина и аргинина соответственно), **сложноэфирные группировки** (для защиты карбоксилов в боковых цепях аспарагиновой и глутаминовой к-т), а также **алкильные и аралкильные группы** (для защиты групп OH и SH в боковых цепях гидроксикаминокислот и цистеина соответственно).

Способы образования пептидной связи

□ Метод активированных эфиров:

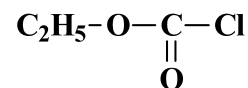
основан на предварительном образовании сложноэфирного производного карбоксильной компоненты путем введения в нее спиртового остатка, содержащего сильный электроноакцепторный заместитель. В качестве активированных эфиров широко используют **пентафтор-, пентахлор-, трихлор- и п-нитрофениловые** эфиры защищенных аминокислот и пептидов;

□ Карбодиимидный метод:

предусматривает использование различных замещенных карбодиимидов, таких как **дициклогексилкарбодиимид (ДЦГ)**: $\text{C}_6\text{H}_{11}-\text{N}=\text{C}=\text{N}-\text{C}_6\text{H}_{11}$

□ Метод смешанных ангидридов:

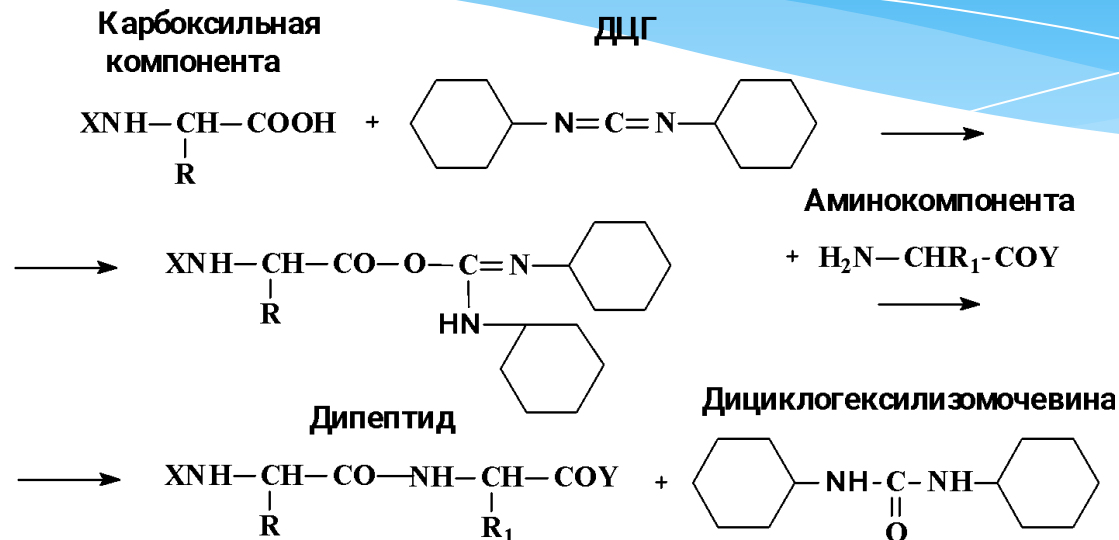
основан на предварительной активации карбоксильной компоненты пептидного синтеза путем образования смешанного ангидрида с карбоновой или неорганической кислотой. Наиболее часто используют **алкиловые эфиры хлормуравьиной (хлоругольной) к-ты, особенно этиловый и изобутиловый эфиры:**



□ Азидный метод:

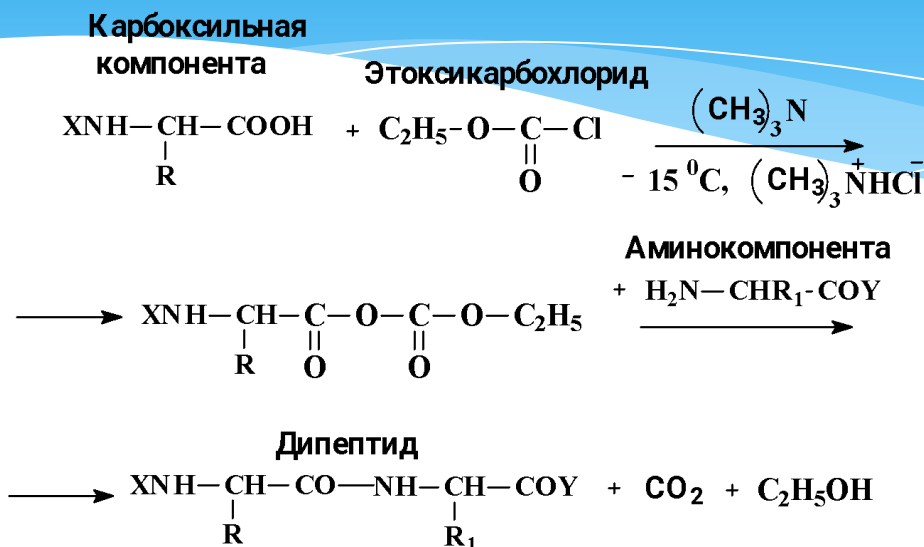
предусматривает активацию карбоксильной компоненты предварительным превращением ее в азид N-замещенной аминокислоты или пептида.

Карбодиимидный метод:



Использование ДЦГ в качестве конденсирующего реагента позволяет осуществлять синтез пептидов и в водных средах, т. к. скорости реакций гидролиза и аминолитического распада промежуточно образующейся О-ацилизомочевины существенно различаются. При синтезе пептидов этим методом находят также применение различные водорастворимые карбодиимиды (например, N-диметиламинопропил-N'-этилкарбодиимид).

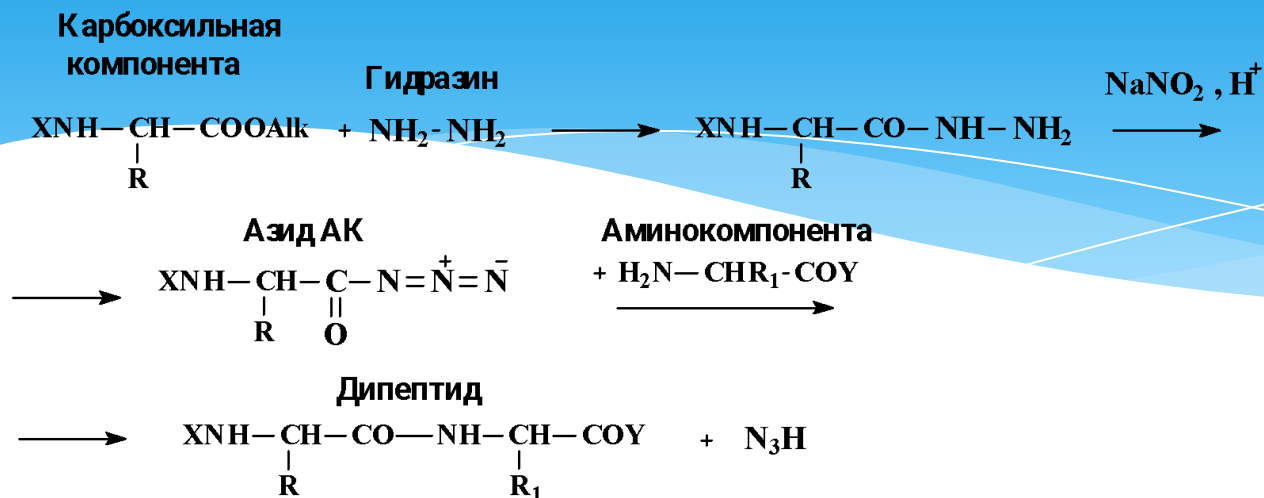
Метод смешанных ангидридов:



В одном из вариантов метода смешанных ангидридов в качестве конденсирующего агента применяют **1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохиолин**. Это соединение легко образует с карбоксильной компонентой промежуточный смешанный ангидрид, быстро вступающий в реакцию конденсации, причем полностью исключается нежелательная побочная реакция.

Частный случай метода смешанных ангидридов - метод симметричных ангидридов, в котором используют ангидриды аминокислот **$[\text{XNHCH(R)C(O)}]_2\text{O}$** . Их применение исключает возможность диспропорционирования или неправильного аминолиза.

Азидный метод:

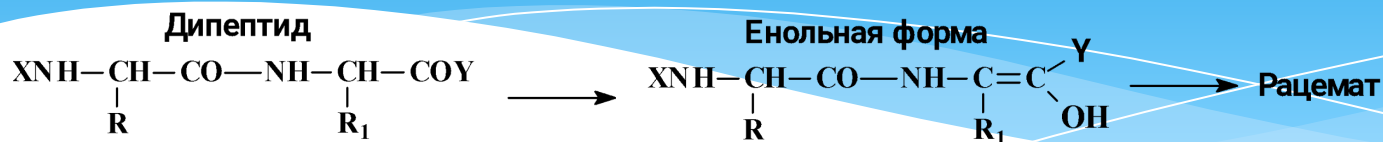


Ввиду нестойкости азидов их в свободном виде из раствора, как правило, не выделяют. Если вместо нитритов щелочных металлов для реакции с гидразидом использовать алкиловые эфиры азотистой кислоты (например, трет-бутилнитрит), то азидную конденсацию можно проводить в органическом растворителе; образующуюся HN_3 связывают третичными аминами.

Нередко азидная конденсация осложняется нежелательными побочными реакциями (превращение гидразида не в азид, а в амид; реакция гидразида с азидом, ведущая к образованию 1,2-диацил-гидразида; промежуточное образование изоцианата, который в результате перегруппировки Курциуса может приводить к производному мочевины или соответствующему уретану и др.).

Преимущества азидного метода - малая степень рацемизации, возможность применения серина и треонина без защиты гидроксильных групп.

Рацемизация при синтезе пептидов:



Наиболее важные способы исключения рацемизации:

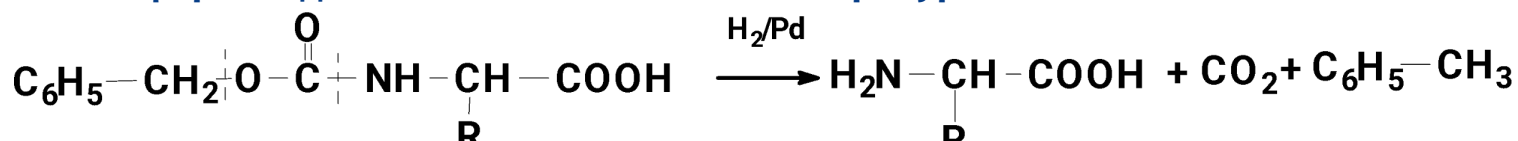
- 1) Нарастивание пептидной цепи в направлении от С-конца к N-концу с применением N-защитных групп типа ROC(O).
- 2) Активация N-защищенных пептидных фрагментов с С-концевыми остатками пролина или глицина.
- 3) Использование азидного метода (при отсутствии избытка третичного основания и поддержании низких температур в реакционной среде).
- 4) Применение активированных эфиров аминокислот, аминолиз которых протекает через переходное состояние, стабилизирующееся водородными связями (например, эфиров, образованных с N-гидроксипиперидином и 8-гидроксихинолином).
- 5) Использование карбодиимидного метода с добавками N-гидроксисоединений или кислот Льюиса.

Методы деблокирования

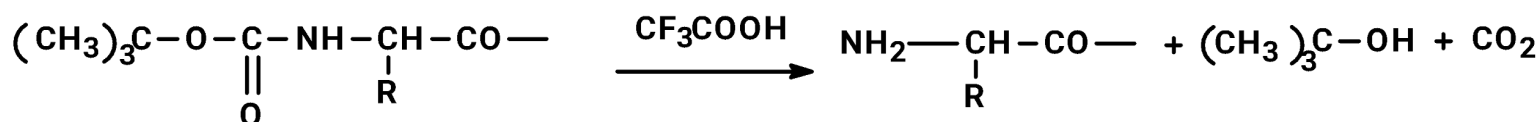
Для превращения защищенных пептидов в свободные используют специальные методы деблокирования, которые основаны на реакциях, обеспечивающих отщепление различных защитных групп, гарантирующих сохранение всех пептидных связей в молекуле.

Примеры деблокирования:

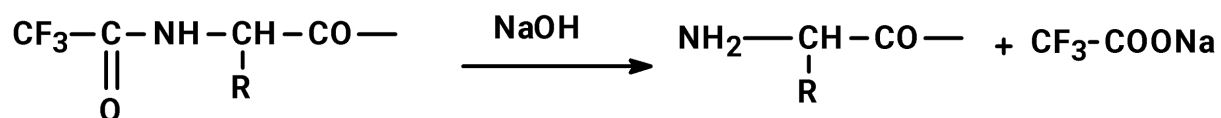
- ✓ удаление бензилоксикарбонильной группы каталитическим гидрогенолизом при атмосферном давлении и комнатной температуре:



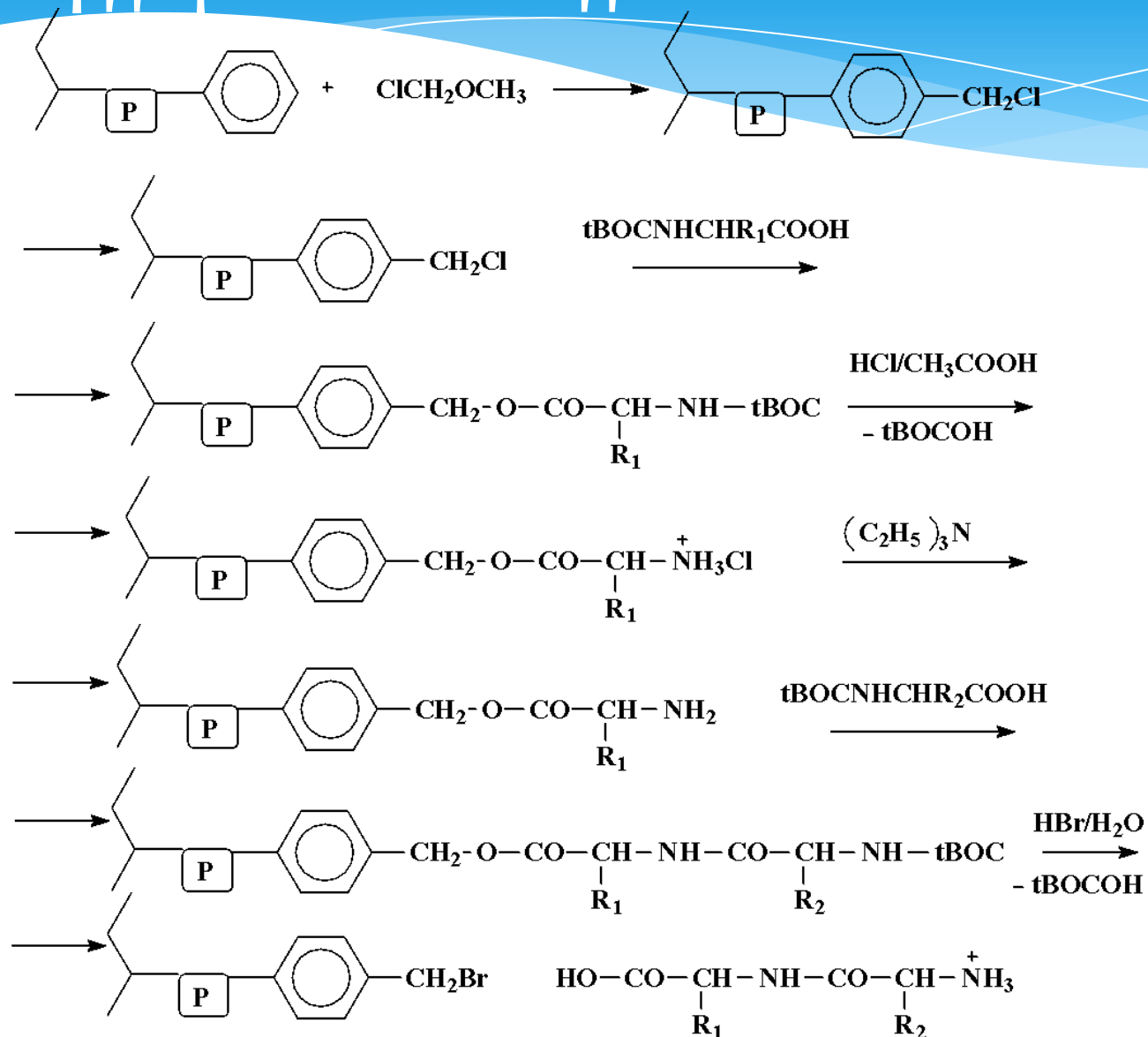
- ✓ отщепление трет-бутилоксикарбонильной группы мягким ацидолизом:



- ✓ гидролитическое отщепление трифторацетильной группы под действием разбавленных растворов оснований:



Твердофазный пептидный синтез:



Биологическая роль пептидов, группы пептидов:

- -гормоны (окситоцин, инсулин, и др.)
- - регуляторы иммунитета (тафтсин: Thr—Lys—Pro—Arg)
- -участвующие в пищеварении (гастрин)
- - регулирующие тонус сосудов (ангиотензин-2, брадикинин)
- - обезболивающие (энкефалины, эндорфины)
- - регулирующие аппетит (лептин, нейропептид Y)
- - участвующие в высшей нервной деятельности (сон, память, страх и т.д.)
- - токсины (токсины ос, пчел, амфибий, конусов)
- - антибиотики (валиномицин, грамицидин S) и т.д.