Oligo- és polipeptidek:

1) Amid kötés hidrolízise és szintézise

2) Amid kötés kialakítása: preparatív lehetőségek

2.1) savkloridok

2.2) savanhidridek

2.3) aktívészterek

3) Aminosavak összekapcsolása

4) Polipeptidek szintézise

4.1) *N*- és *C*-terminális védőcsoportok

4.1.1) Az *N*-terminális (az aminocsoport) védelme:

4.1.2) A *C*-terminális (a karboxilcsoport) védelme:

4.1.3) Védett aminosavak aktiválása:

4.2) Az oldatfázisú peptidszintézis:

4.3) Az szilárdfázisú peptidszintézis:

4.4) A peptidszintézis biotechnológiai útja:

5) **Peptid analitika**

5.1) az aminosavösszetétel meghatározása:

5.2) az aminosavsorrend meghatározása: a szekvenálás

6) **Peptidek NMR jellemzése**

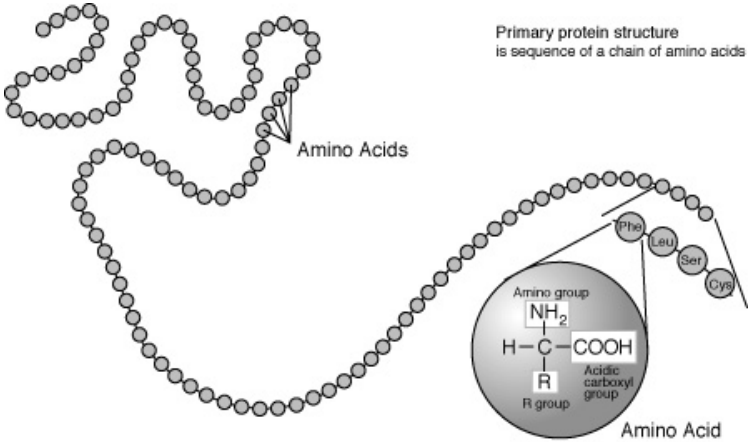
7) **Néhány érdekes oligo- és polipeptid**

7.1) A glutation

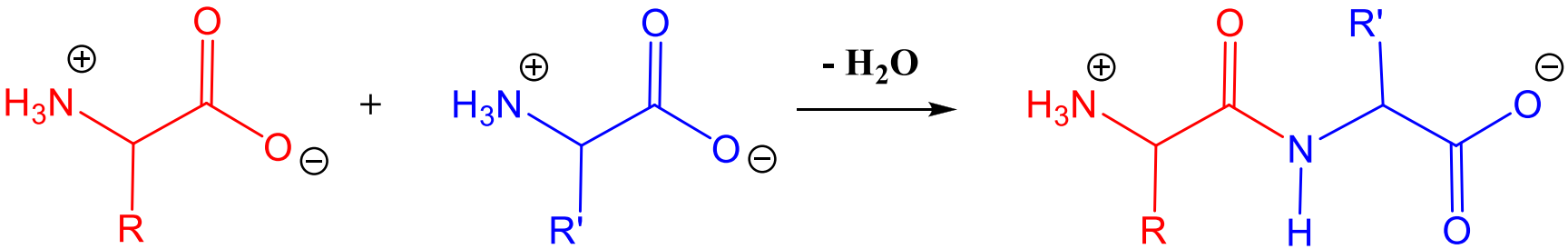
7.2) Három oligopeptid-hormon

7.3) Az inzulin

1) Amid kötés hidrolízise és szintézise

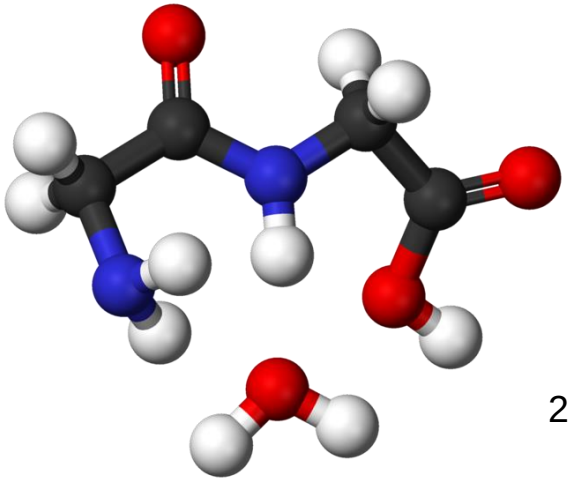


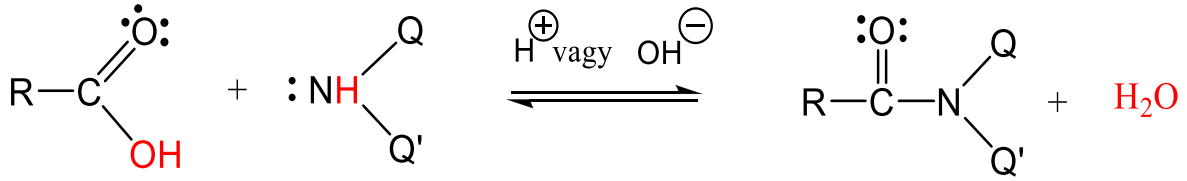
cél: az alifás karbonsav és alifás aminok kondenzációs reakciójához hasonlóan, a peptidszintézis során is egy mol víz eltávolítása a cél, addiciós elimináció ($Ad_N + E$) reakciólépések során.



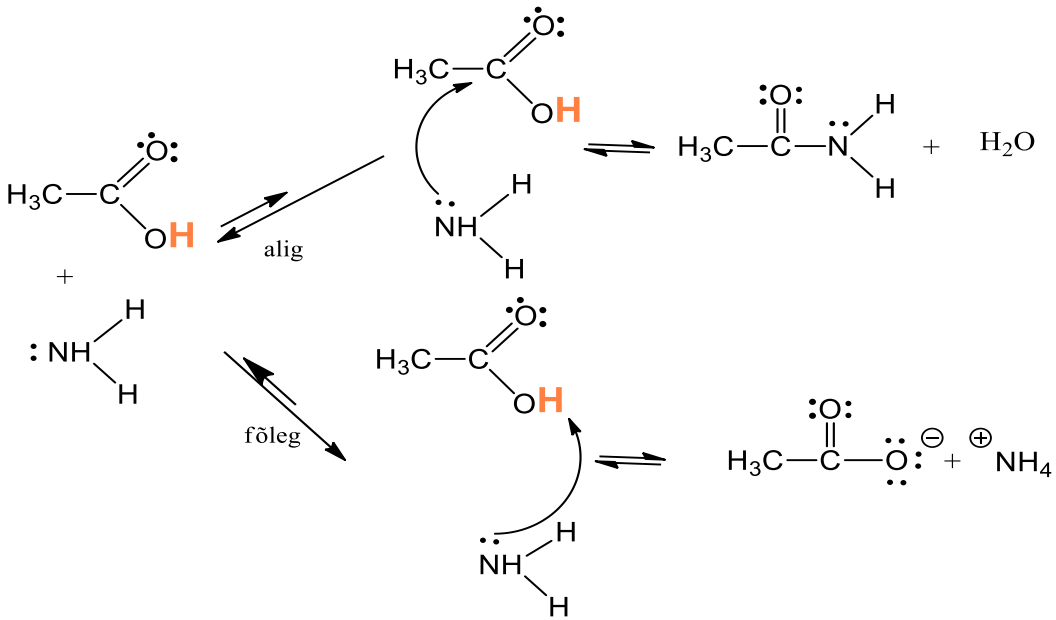
aminosav aminosav dipeptid

megjegyzés: valóban az oligo- és polipeptidek szintézise során amid-kötésenként 1 mól vizet vonunk el, ám ennek megvalósítása **nem triviális**: „az ördög a részletekben rejlik”.





ahol R, Q, Q' lehet H vagy alkilcsoport

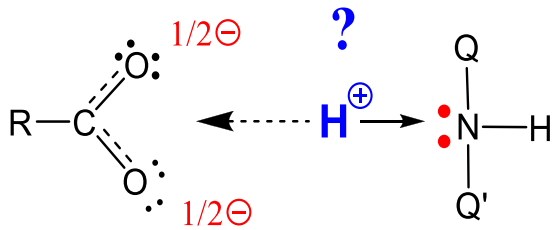


megfigyelés: A reakció nem megy, ha **szoba hőmérsékleten** és **pH ~7** –en próbálkozunk, ugyanis ilyen körülmények között nem acilezés, hanem **sóképzés** megy csupán végbe:

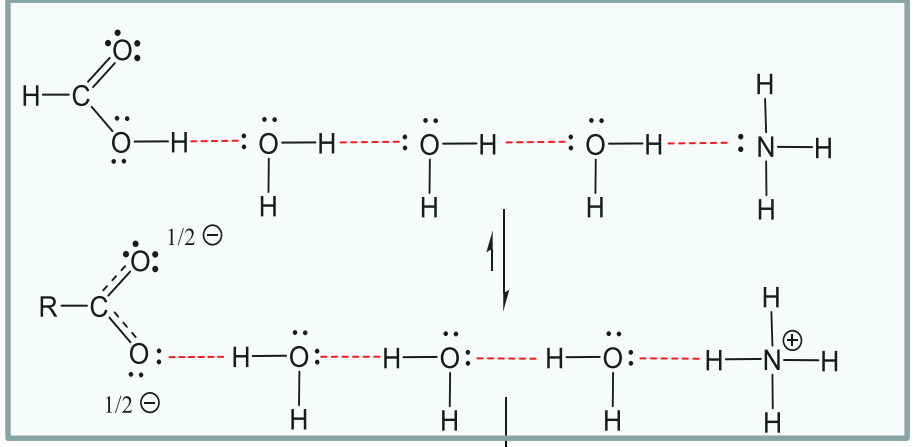
kérdés: hol van a disszociábilis **proton**?

- az ½ és ½ negatív töltésű O-atomokon, vagy
- a *N*-atom nem-kötő elektronpárján?

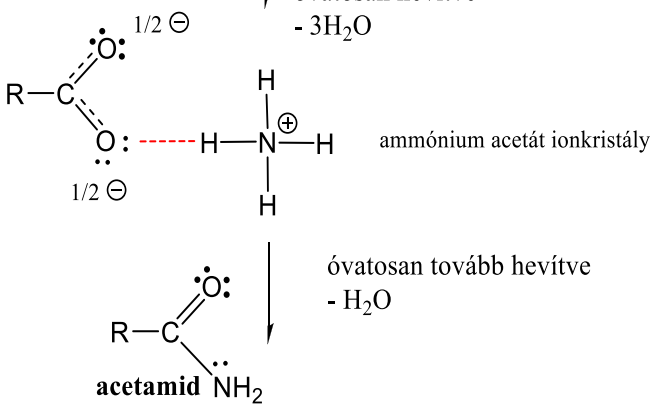
válasz: kvázi kvantitatív módon a *N*-atomra megy a proton.



magyarázat: a nagyobb „e” vonzó oxigén atomtörzs a saját nemkötő 2 „e”-párját jobban vonzza, mint teszi azt a semleges N-atom. Viszont a **protonált N** már **nem nukleofil** és ezért nem lesz A_N reakció, s végeredményben nem lesz acilezés. *(Kajtár 384)*



óvatosan hevítve
- $3H_2O$



óvatosan tovább hevítve
- H_2O

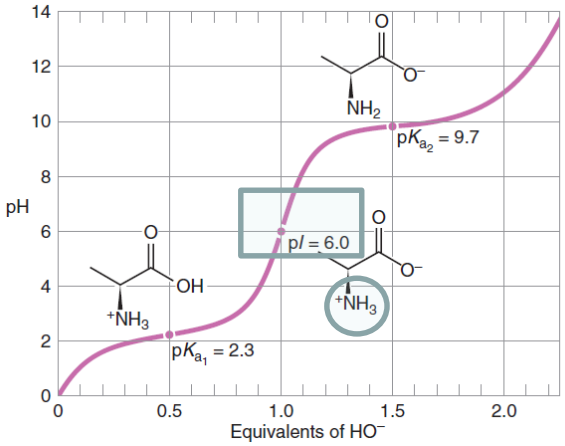
memo: vizes közegben a sok proton csak egy kicsit vándorol, s a kapott új „rendszer” (acetát plusz ónium só) összességében nem csak a protonnak, de az összes további komponensnek (H_2O) is **kedvező állapot**, **nincs „hajtóereje”** az amidképzésnek.

(Kajtár 397)

memo: persze óvatos hevítés mellett lehet ugyan amid-kötést létrehozni, de ez nem egy szintetikusan járható út!

memo1: tudjuk hogy sok fehérjeépítő aminosavnak 5<pI<6 körül van az pI értéke, tehát ha 4,5<pH<6,5 között van a közeg, akkor az NH_2 csoportok zöme valójában NH_3^+, („±2” szabály) **tehát nincs nukleofil a rendszerben**!

memo2: a peptid-szintézis laborban leggyakrabban nem-vizes közegben történik.



kérdés: mért „jó” ez a „*no-reaction*” helyzet?
válasz: mert **se** „tiszta” vizes oldatban, 5,5<pH< 7,5, **se** sejtes körülmények között (pH~7) az aminosavak **nem fognak spontán** kondenzálódni!

A kondenzáció mellett **a hidrolízis (**vízkilépés) sem spontán folyamat fiziológiás körülmények között **(pH ~7)**, tehát a peptidek (és fehérjék) stabil rendszerek lehetnek akár egy sejtekben, vagy akár vizes oldatban.

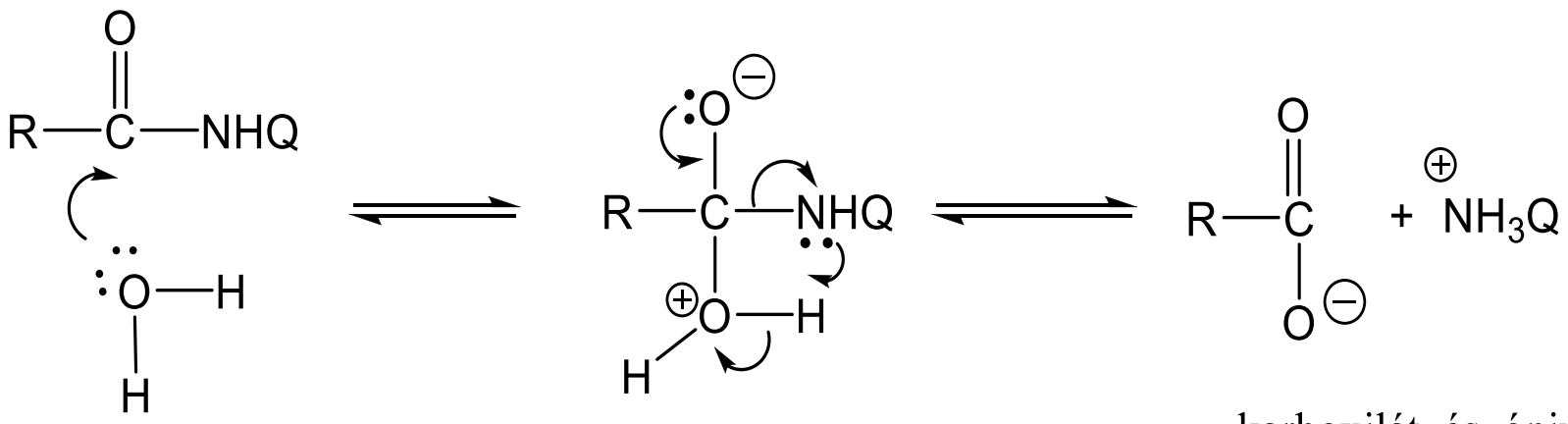
megfigyelés: vízzel az amidok **(pH ~7) alig hidrolizálnak**:, sokkal lassabban mint a hasonló észterek

tapasztalat: Az -F-F-F-G- peptid esetében pl. a Gly 25°C–on **7 éves** felezési idővel hidrolizál le. (3.10^{-9} s^{-1}). *JACS, 1988, 110, 7530*

Lehetséges mechanizmus amikor

1) nincs (**se H^+ se OH^-**) katalízis

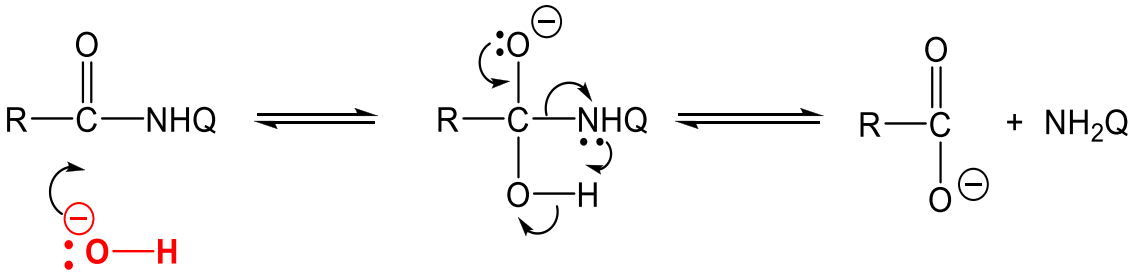
Amidok **hidrolízise** semleges pH-n (**alig megy**); vázlatos mechanizmus:



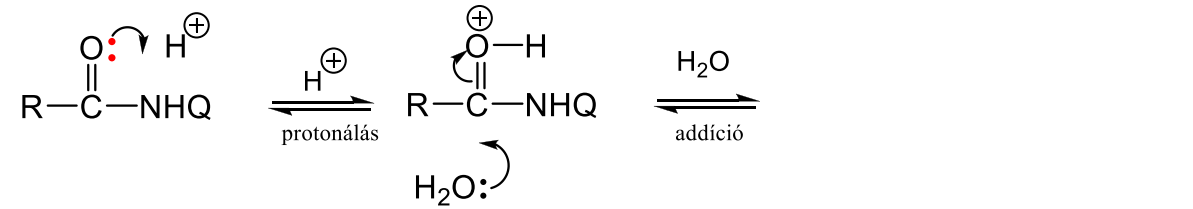
amid és víz

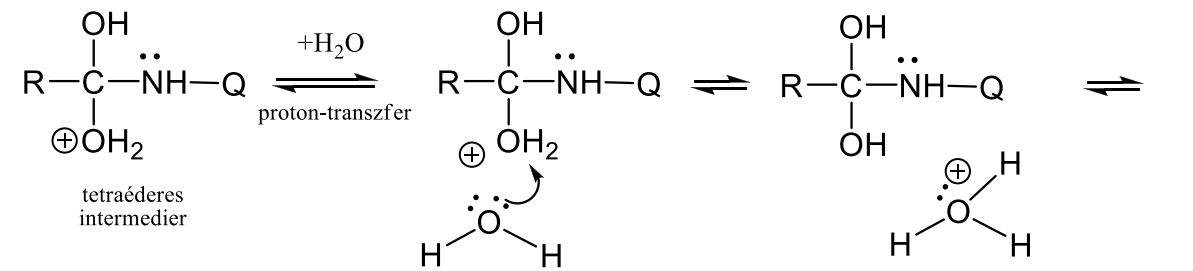
karboxilát és ónium

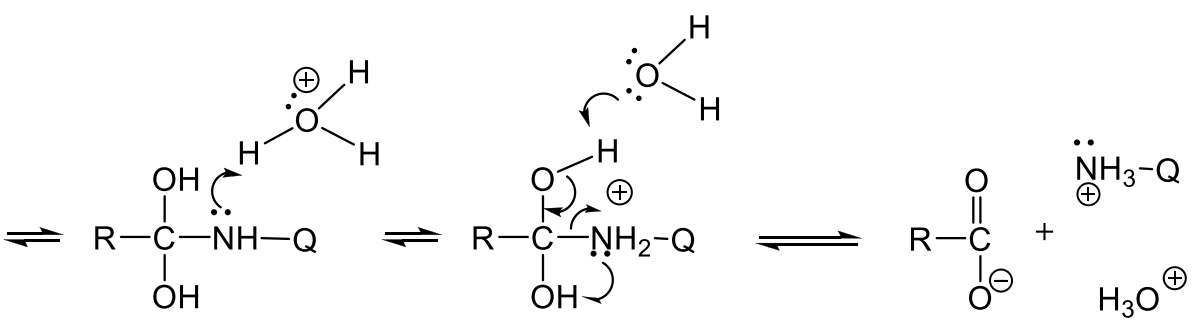
2) Amidok **lúgos hidrolízise** **(kiválóan megy)**; vázlatos mechanizmus:



3) Amidok **savas hidrolízise** **(kiválóan megy);** vázlatos mechanizmus:

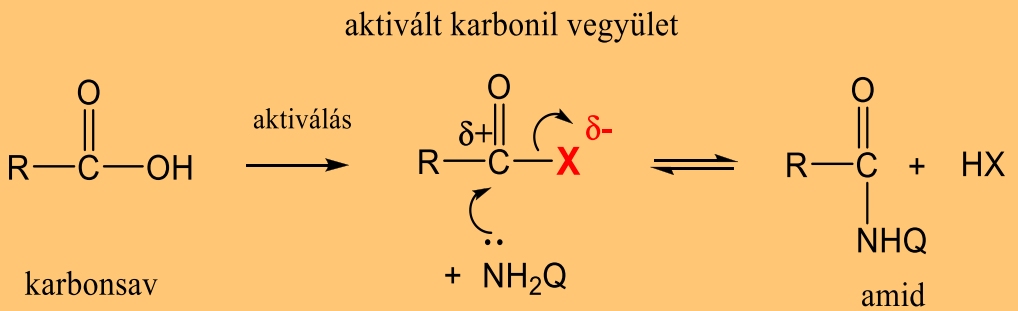






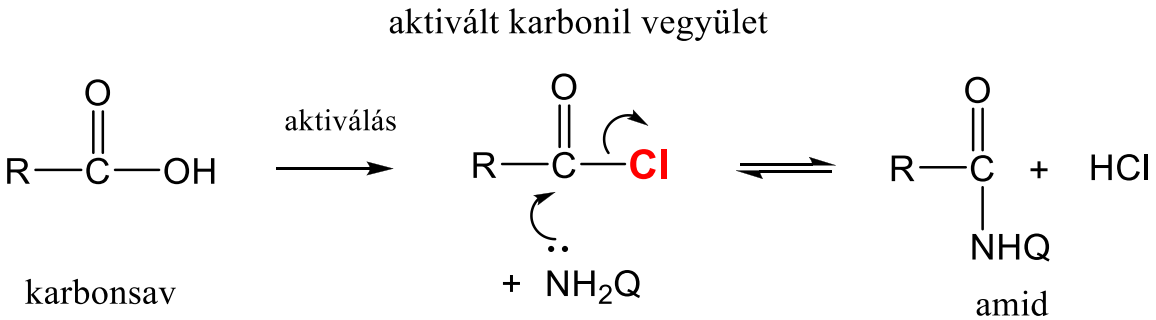
memo: tehát a hidrolízis eredményes ha a pH nem neutrális!

2) Amid kötés kialakítása: preparatív lehetőségek

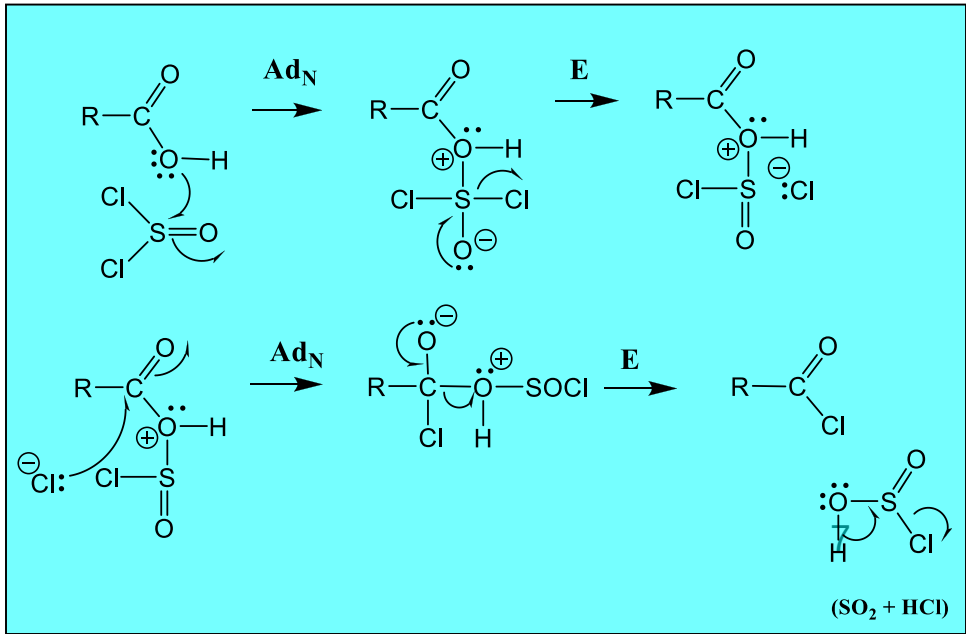


Az eredményes szintézis nem a karbonsavon, hanem egy aktivált karbonil vegyületen keresztül történik, ahol **X** elektronszívó és jó távozó csoport! (cél: δ+ fokozása)

2.1) savkloridok:

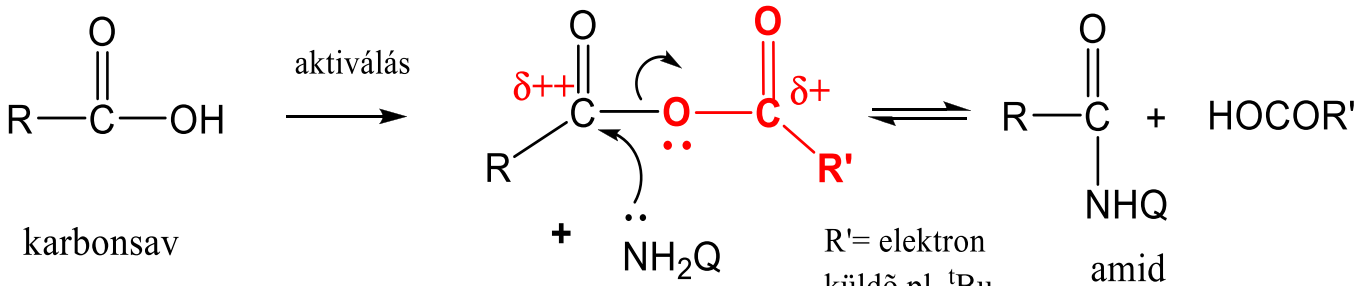


memo: a savklorid előállításának vázlatos mechanizmusa (Ad_N + E):



2.2) savanhidridek:

aktivált karbonil vegyület



karbonsav

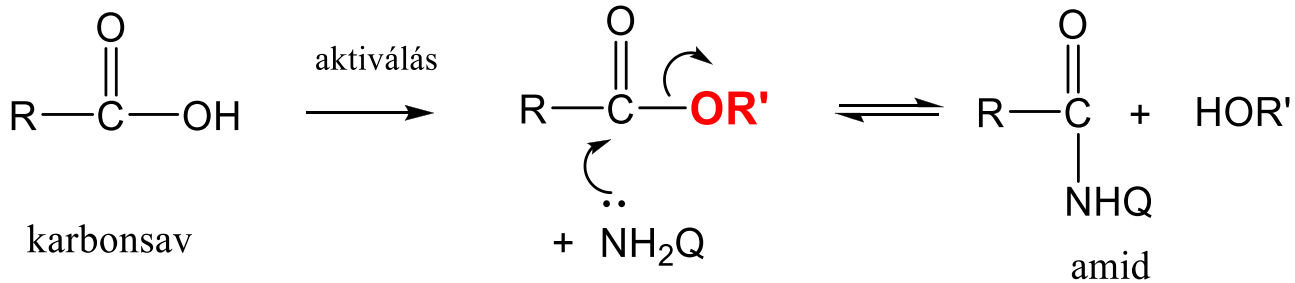
R'= elektron küldõ pl. ^{t}Bu

amid

memo: A két karbonilnak legyen jelentősen eltérő a pozitív polározottsága

2.3) aktívészterek:

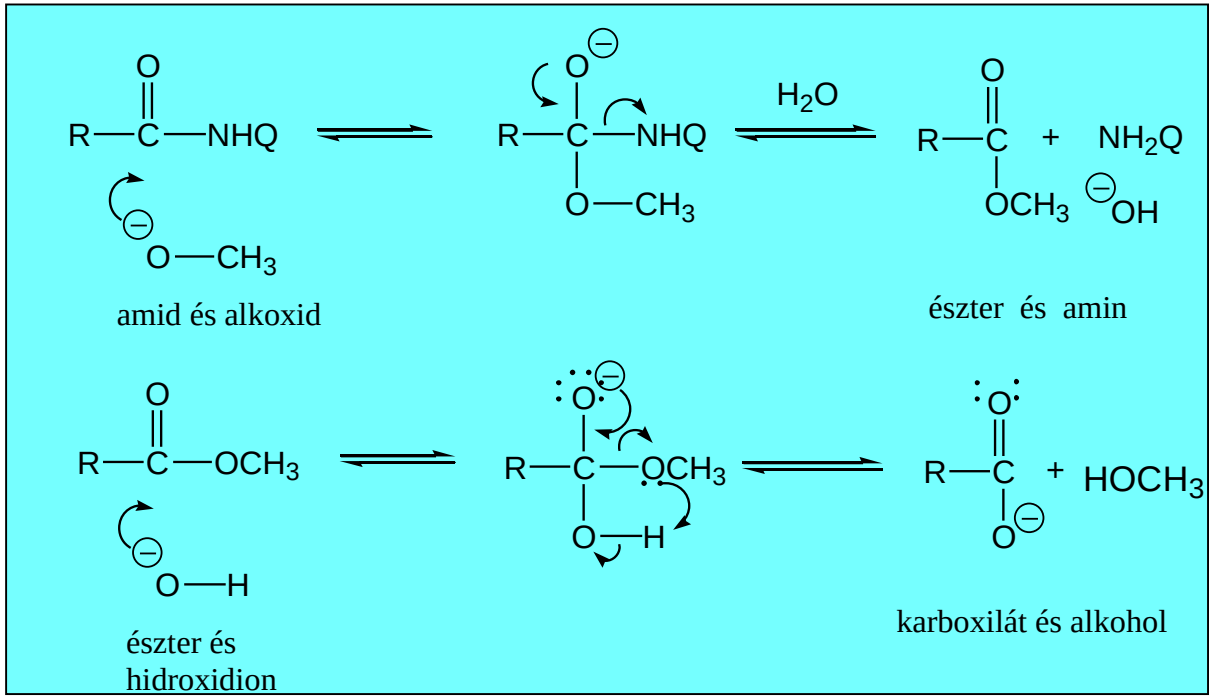
aktivált karbonil vegyület



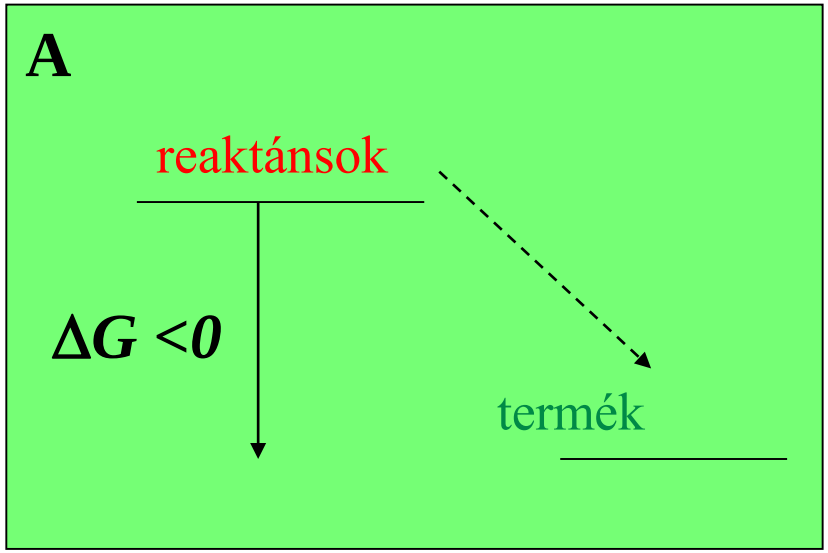
karbonsav

amid

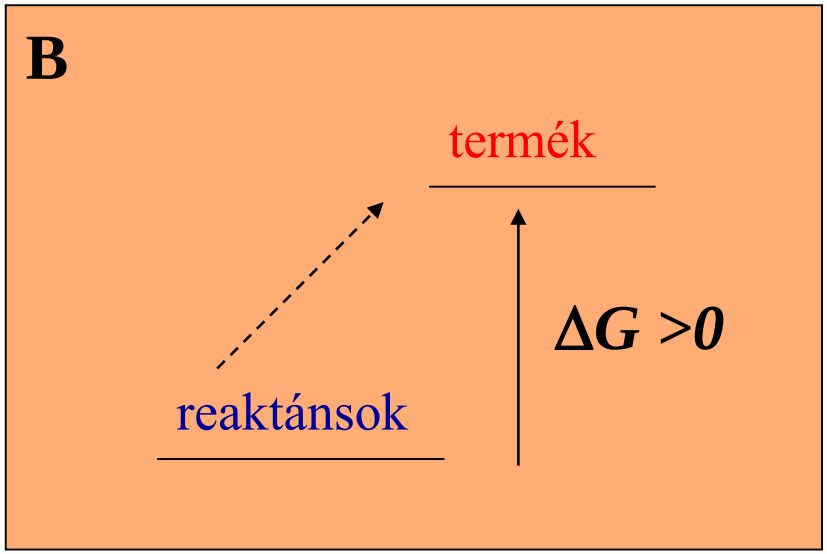
memo: a fentiekkel analóg fordított reakció az amidok alkoxidon (MeO^-, EtO^-) mint bázison keresztüli hidrolízise, észter köztiterméken át.



Minden szintézis termodinamikai „lejt-menet”: $\Delta G<0$ kell legyen

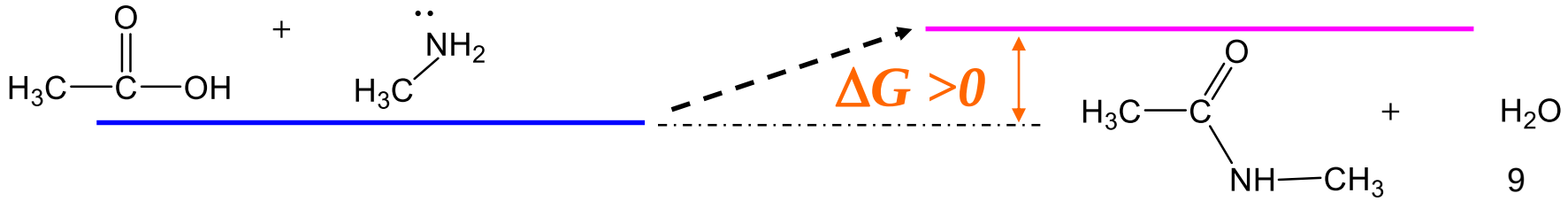


Termodinamikai szempontból a szintézis „végbemehet”

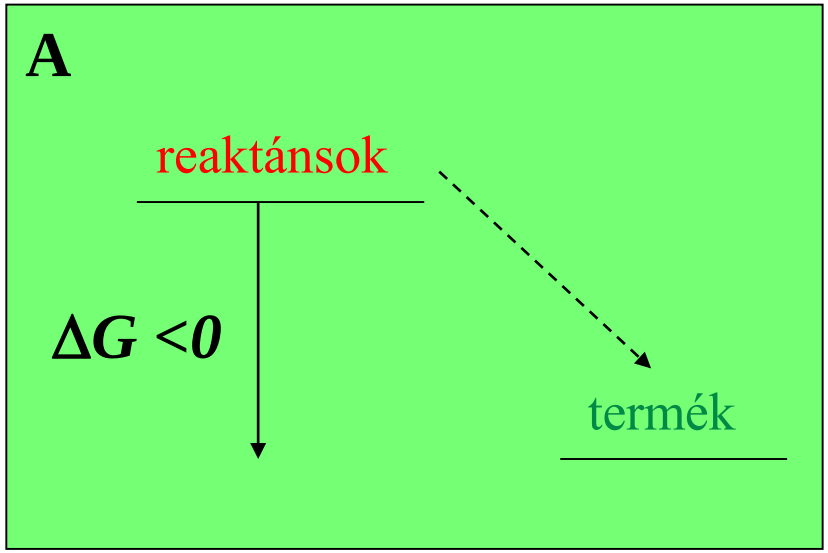


Termodinamikai szempontból a szintézis nem mehet végbe

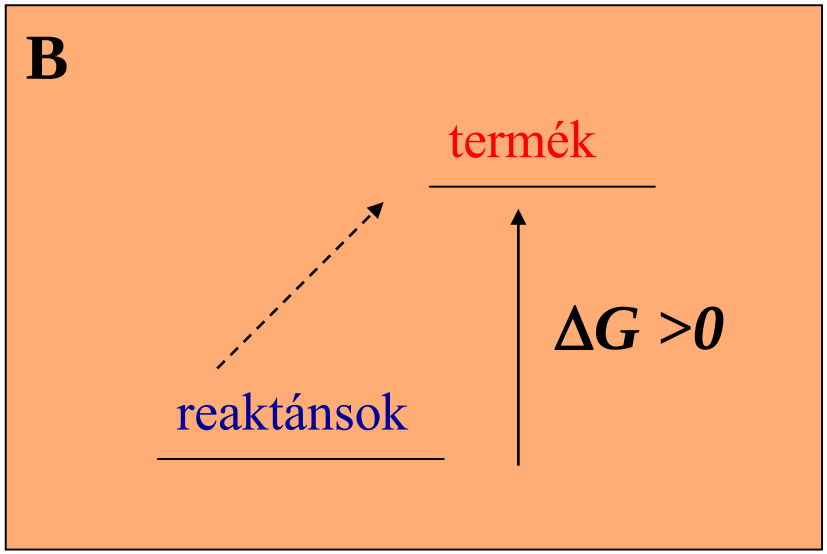
Karbonsav + amin : B-eset, a reakció nem mehet végbe!



Minden szintézis termodinamikai „lejt-menet”:$\Delta G<0$ kell legyen

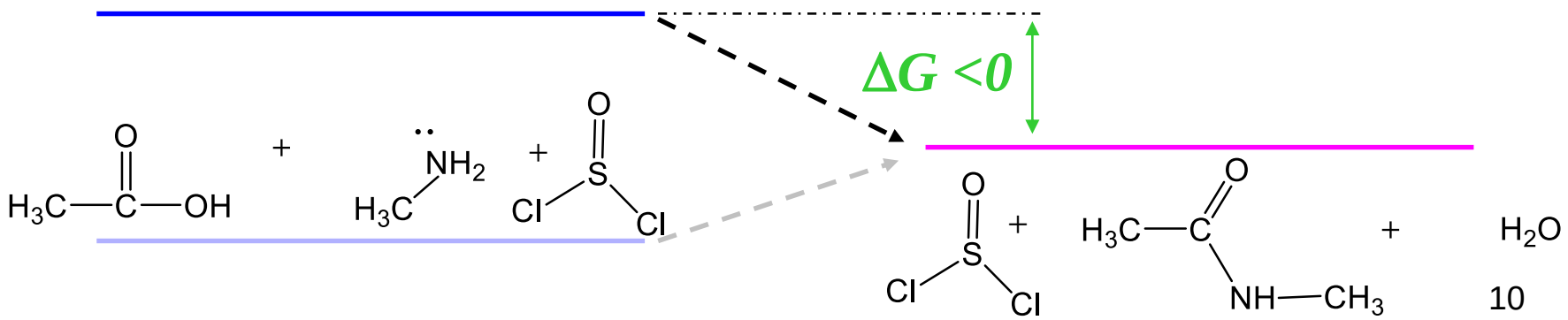


Termodinamikai szempontból a szintézis „végbemehet”



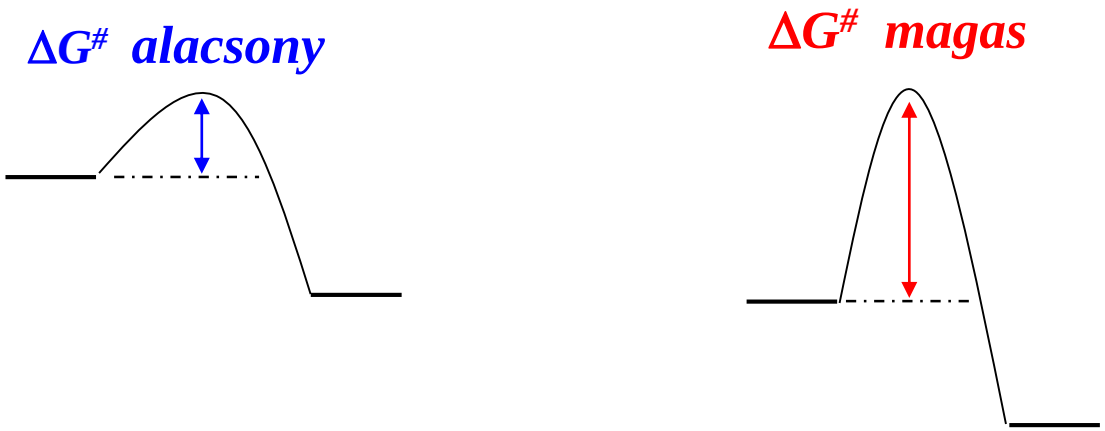
Termodinamikai szempontból a szintézis nem mehet végbe

Karbonsav + amin + $SOCl_2$: A-eset, a reakció végbemegy!

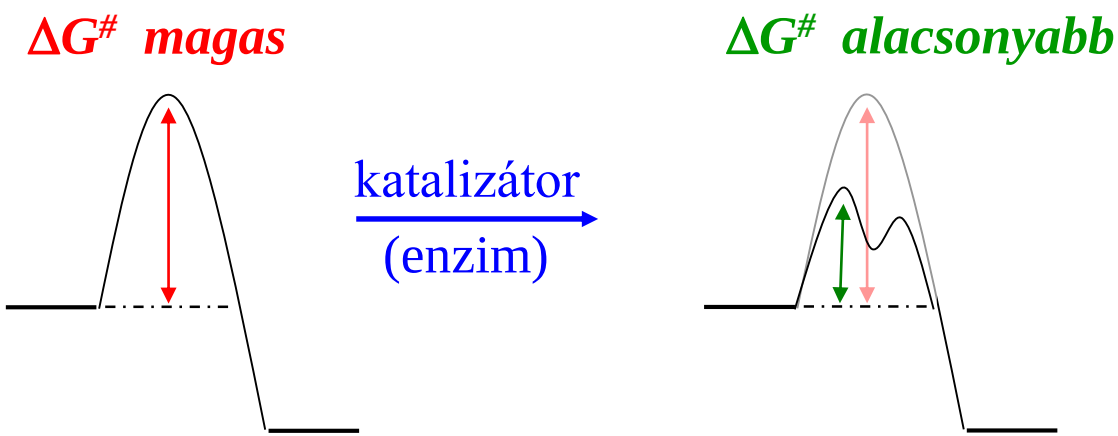


A termodinamikai „lejt-menet” szükséges, de nem elégséges feltétele a reakció bekövetkeztének!

A reakciógát magassága is fontos!

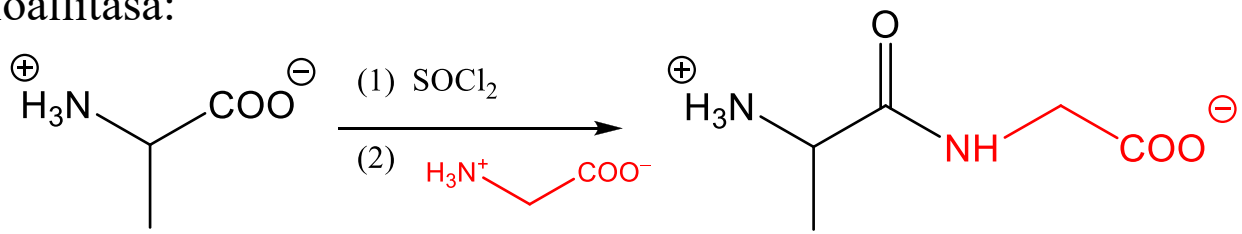


Ha magas a gát, alklamas katalizátor segítségével csökkenthetjük azt!



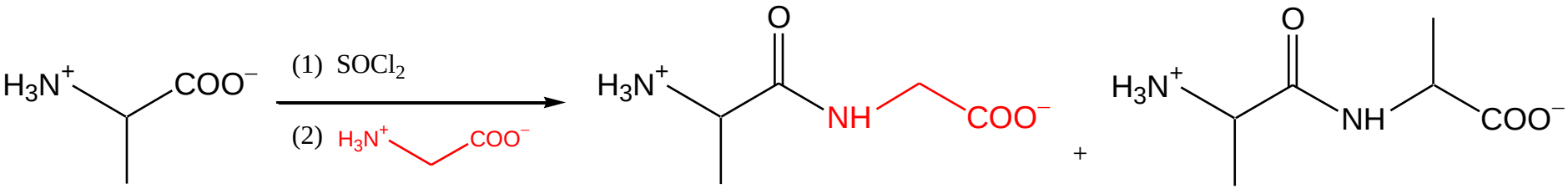
3) Aminosavak összekapcsolása: egy eredményes, de rossz stratégia

cél: az -Ala-Gly- dipeptidet előállítása:

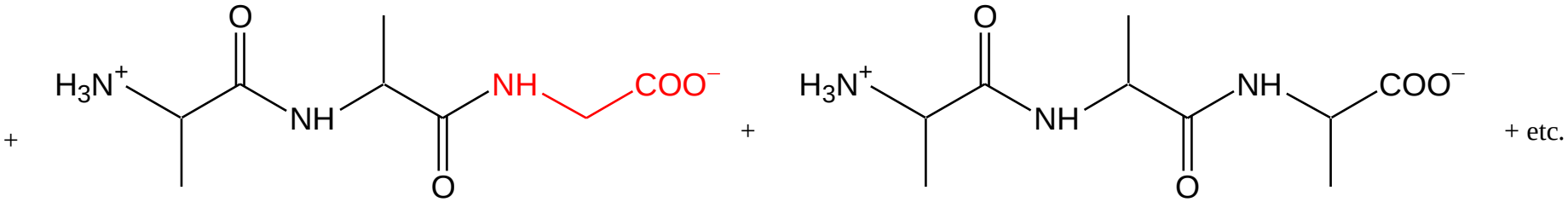


H-Ala-OH H-Ala-Gly-OH

memo: ténylegesen a terméklista sokkal bővebb; az Ala-Gly dipeptid mellett további peptideket kapunk még: **H-Ala-Ala-OH, H-Ala-Ala-Gly-OH, H-Ala-Ala-Ala-OH,** stb..



A G AG AA



AAG AAA

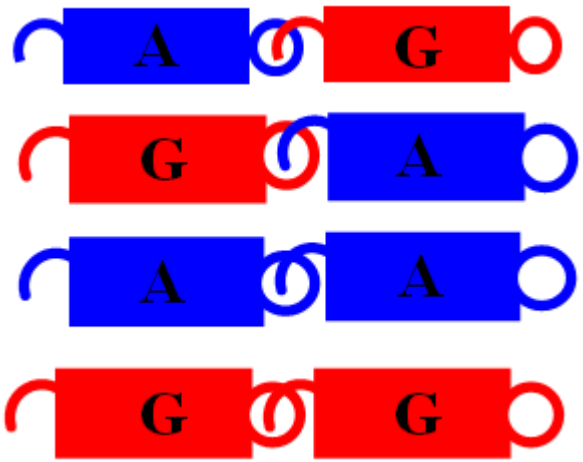
magyarázat: az acilezőszer a H-Ala-Cl , nem csak a Gly-t de önmagát is acilezi, és így megjelenik az oldatban a H-Ala-Ala-Cl acilezőszer ami tovább acilez és így…..
megoldás: a *C*-terminális **aktíválása** és az *N*-terminális **védeleme**.

cél: elvben az -Ala- és a -Gly- összekapcsolása **4 di-** és **8 tri**peptidet eredményezhet

memo: ha „egy üstben” aktiváljuk $SOCl_2$-vel mind az Ala mind a Gly komponenseket akkor még több a lehetséges termékek száma:

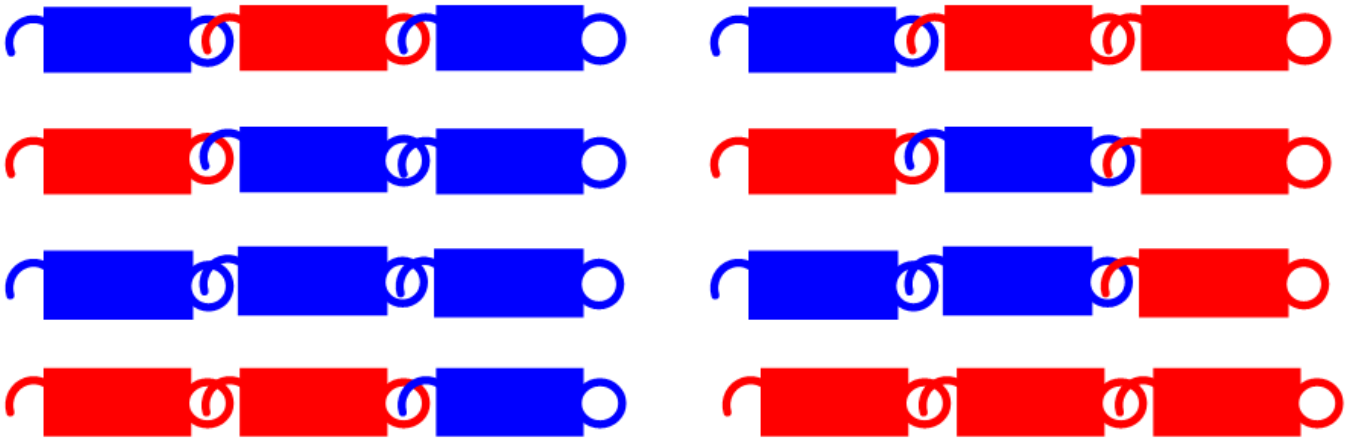
memo: *N*-term.: és valamint

aktivált C-term.: és

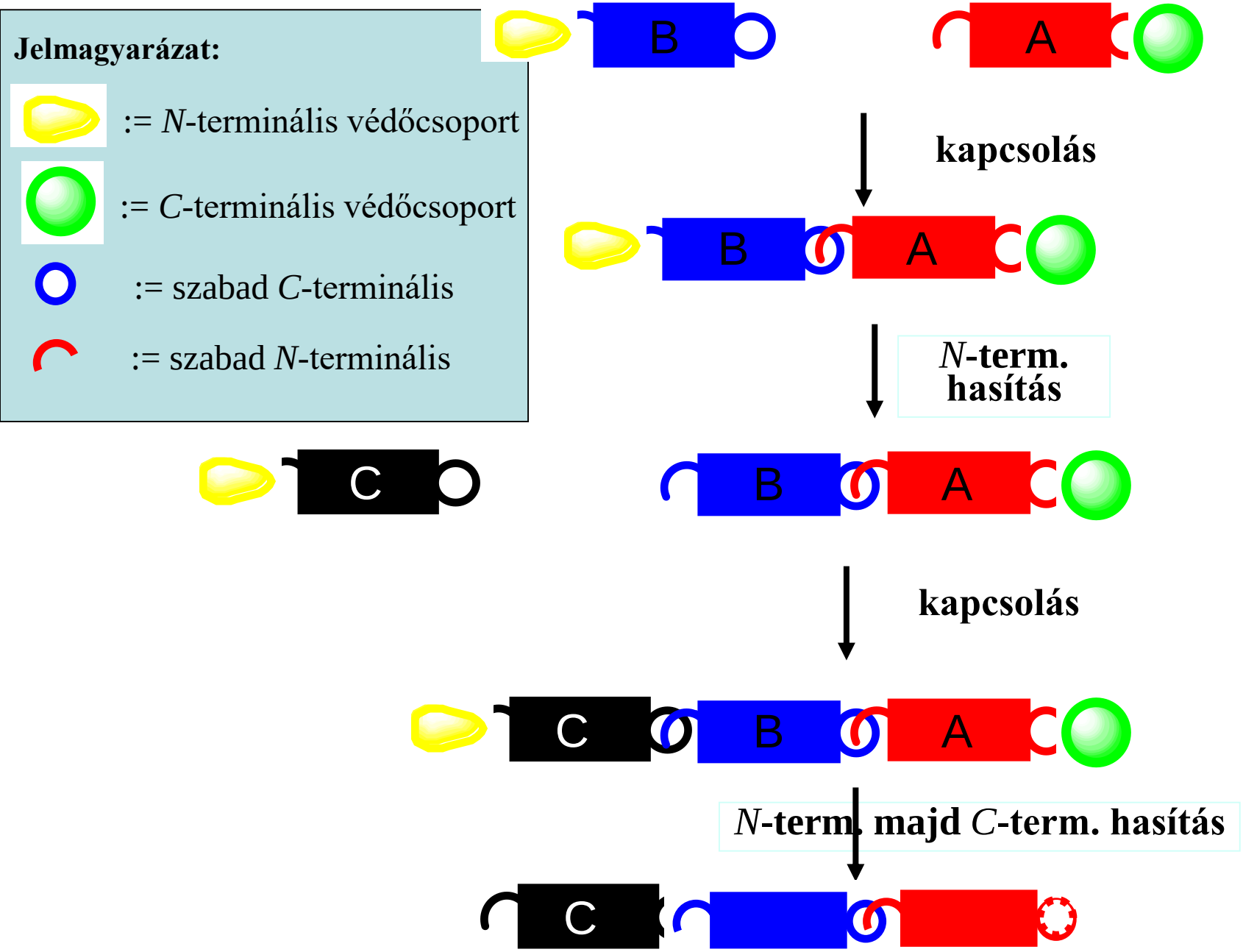


A lehetséges dipeptidek száma: 2^2= **4**:

A lehetséges tripeptidek száma: 2^3= **8**:

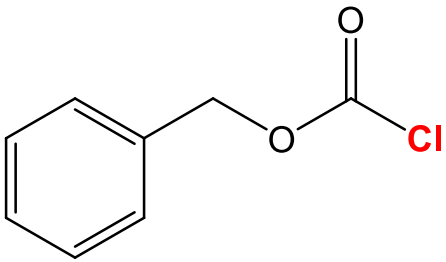


4) Polipeptidek elvi szintézismenete: a -C-B-A- tripeptid szintézismenete:



4.1) *N*- és *C*-terminális védőcsoportok

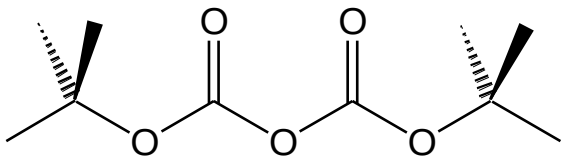
4.1.1) Az *N*-terminális (az aminocsoport) **védelme:**



Z-Cl

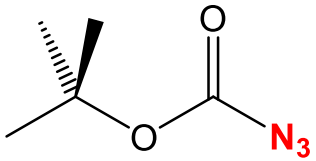
benziloxikarbonil-klorid

régies neve:
klórhangyasav-benzil-észter



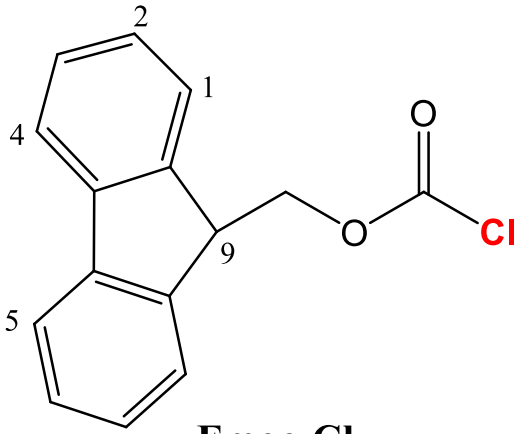
Boc_2O

di-*terc*-butil-dikarbonát



Boc-N_3

terc-butoxi-karbonil-azid

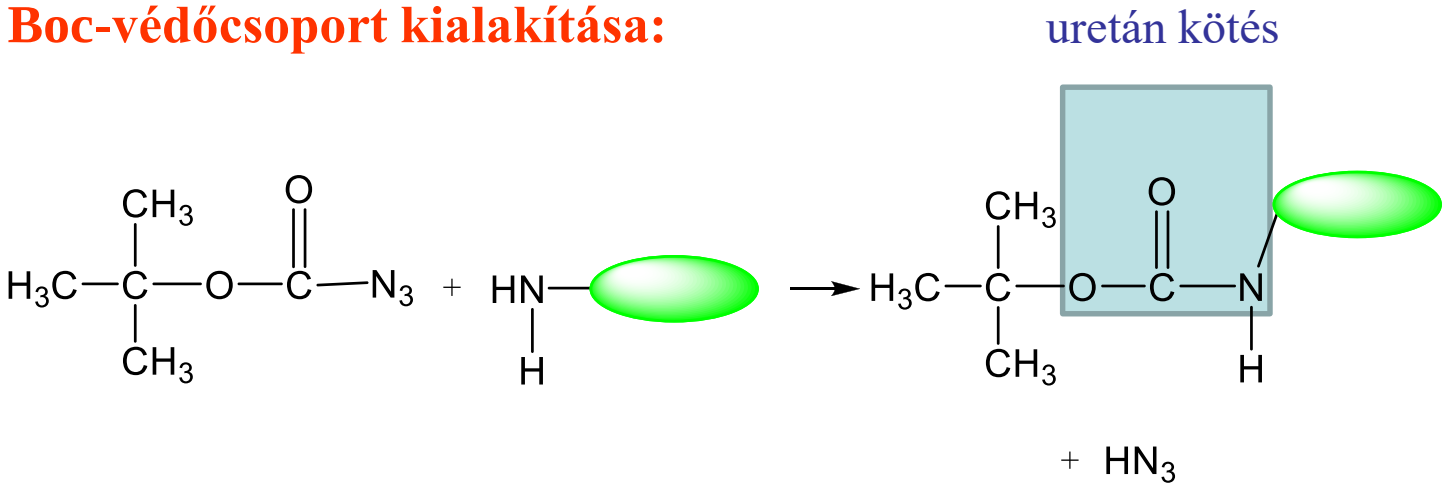


Fmoc-Cl

9-fluorenil-metil-oxikarbonil-klorid

4.1.1) Az *N*-terminális (az aminocsoport) védelme:

A Boc-védőcsoport kialakítása:



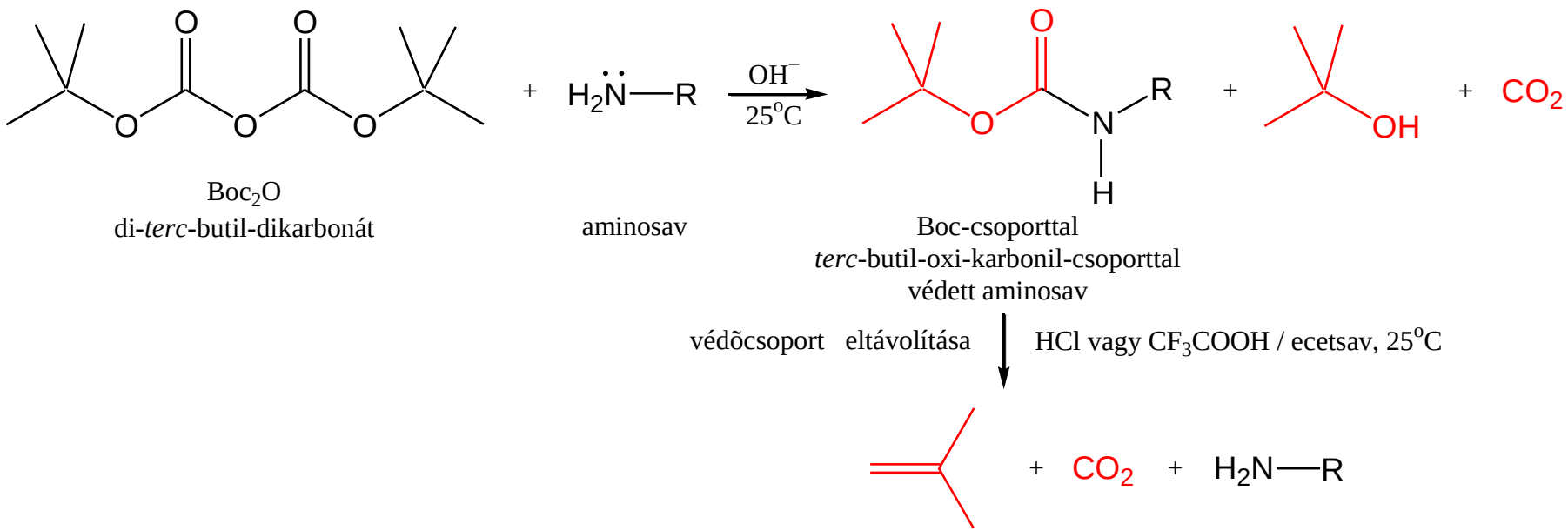
pH ~8-10

memo:

-Boc-Cl, nem igazán jó mert bomlik

- Boc-N_3 igen jól használható ám robbanékony

- Boc_2O (Boc-anhidrid) bár drágább és „pazarló” mégis igen kedvelt.



A Boc-védőcsoport eltávolítása:

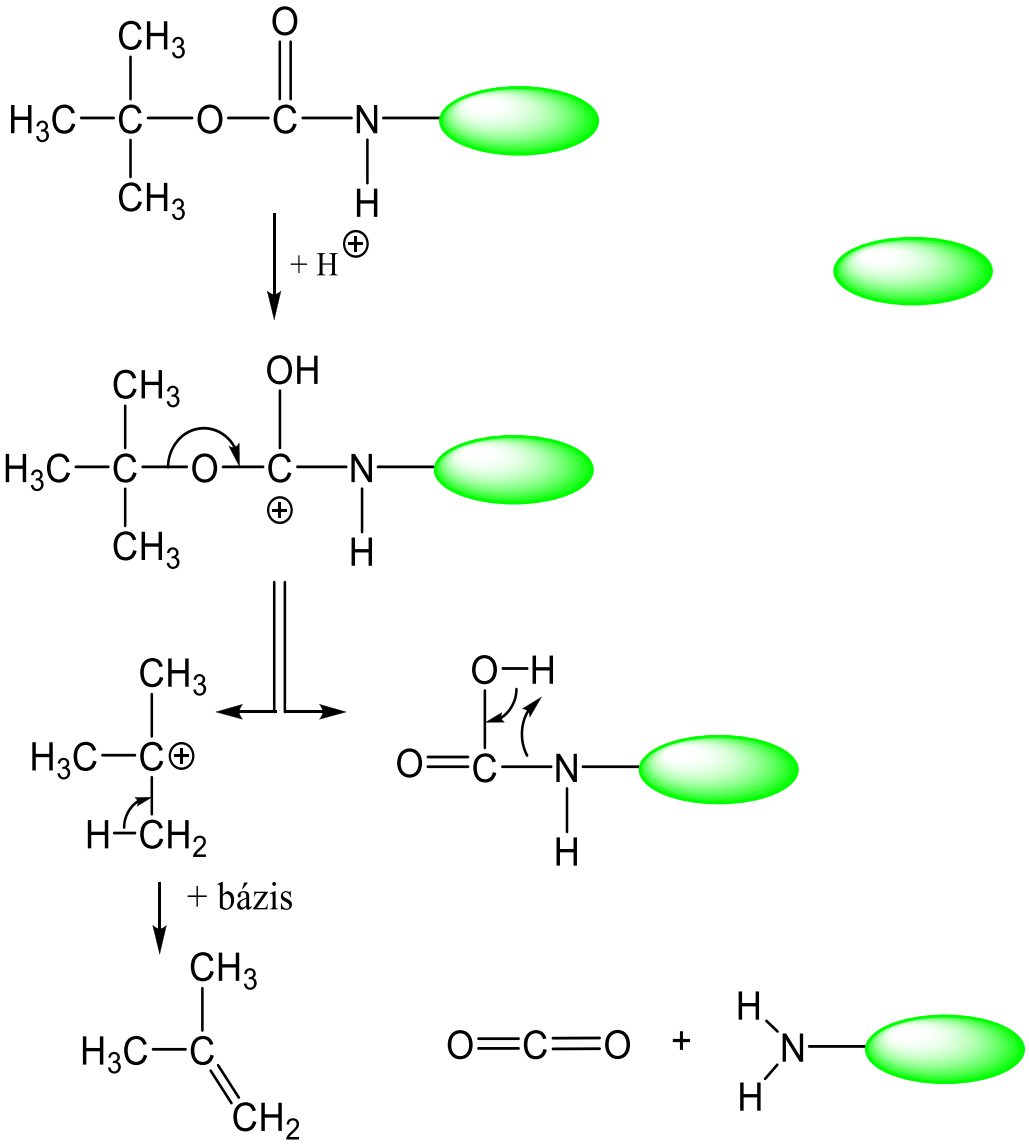
- savas hidrolízissel

- **H_2**-nek (Pd/C) **ellenáll** (tehát a Z- védelemre ortogonális)

- **bázis**oknak is **ellenáll** (tehát a Fmoc- védelemre ortogonális)

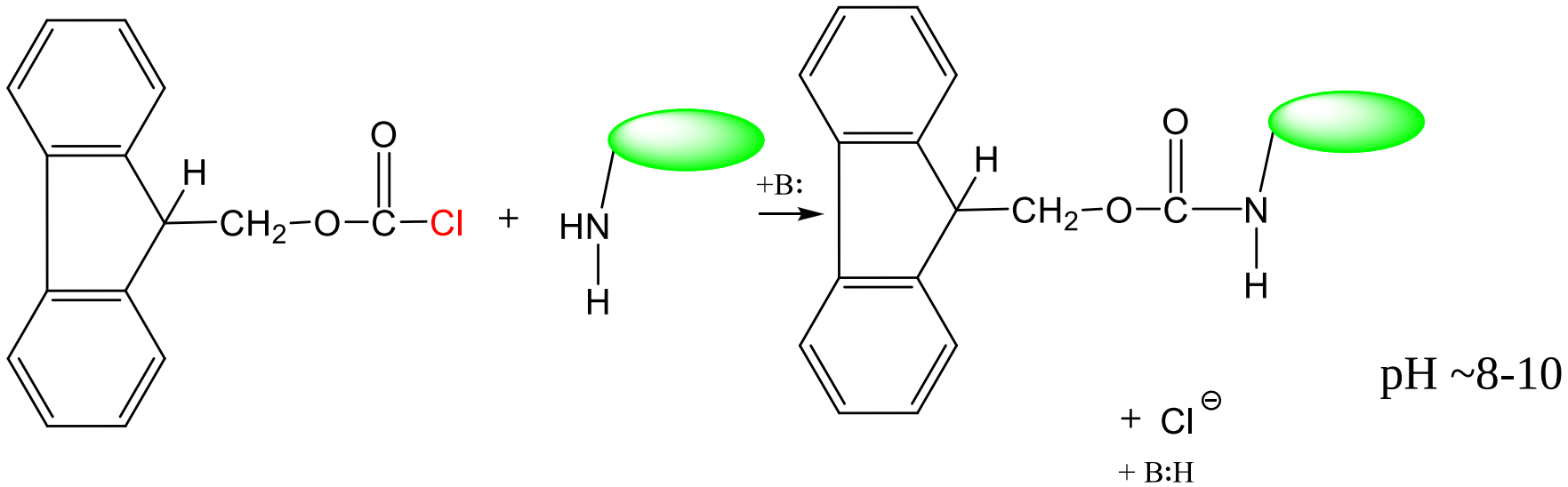
A Boc-védőcsoport eltávolításának (a hasításának) mechanizmusa:

(savval-kiváltott (vagy elektrofil) elimináció)



: peptid

Az Fmoc-védőcsoport kialakítása:

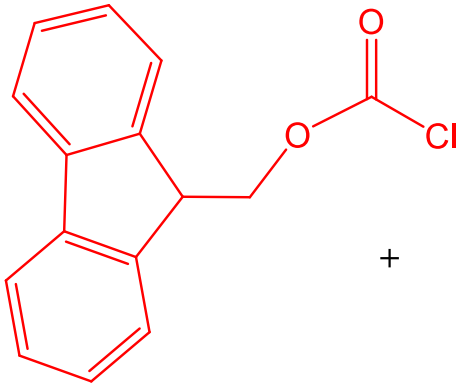


Az Fmoc-védőcsoport eltávolítása:

- 20% piperidin (szerves sec. aminok) /DMF eltávolítható

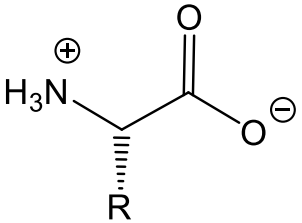
- savas közegben stabil, tehát a Fmoc- és a Boc- védelem „ortogonálisak”

Összefoglalás: az Fmos-védőcsoport bevitele és eltávolítása:



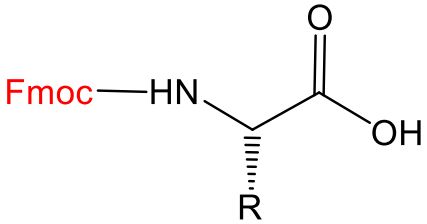
Fmoc-Cl
9-fluorenil-metil-oxikarbionil-klorid

+

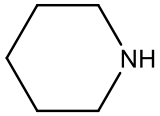


aminosav
szükség esetén oldalláncon védve

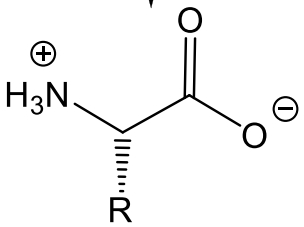
(1) Na_2CO_3 / dioxán
0°C
(2) H_3O^+



védõcsoport eltávolítása

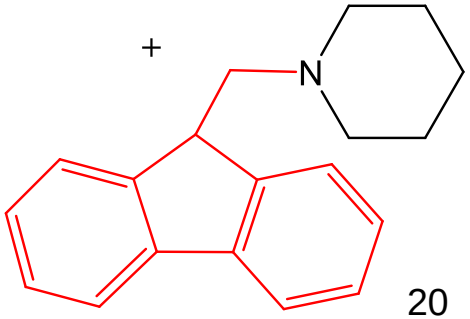


, DMF



+ CO_2

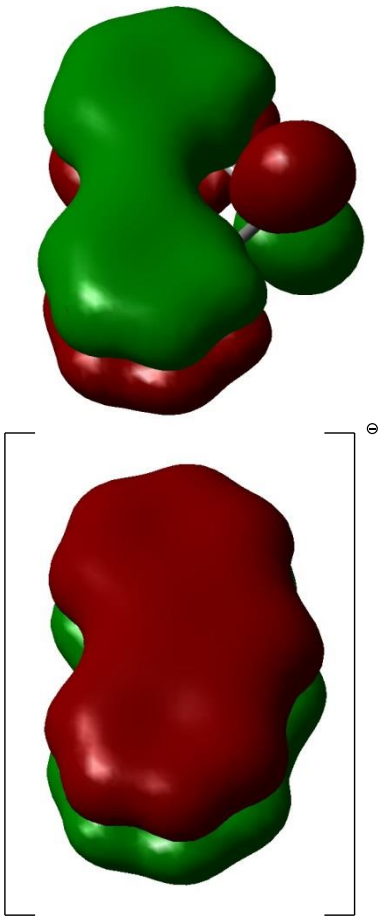
+

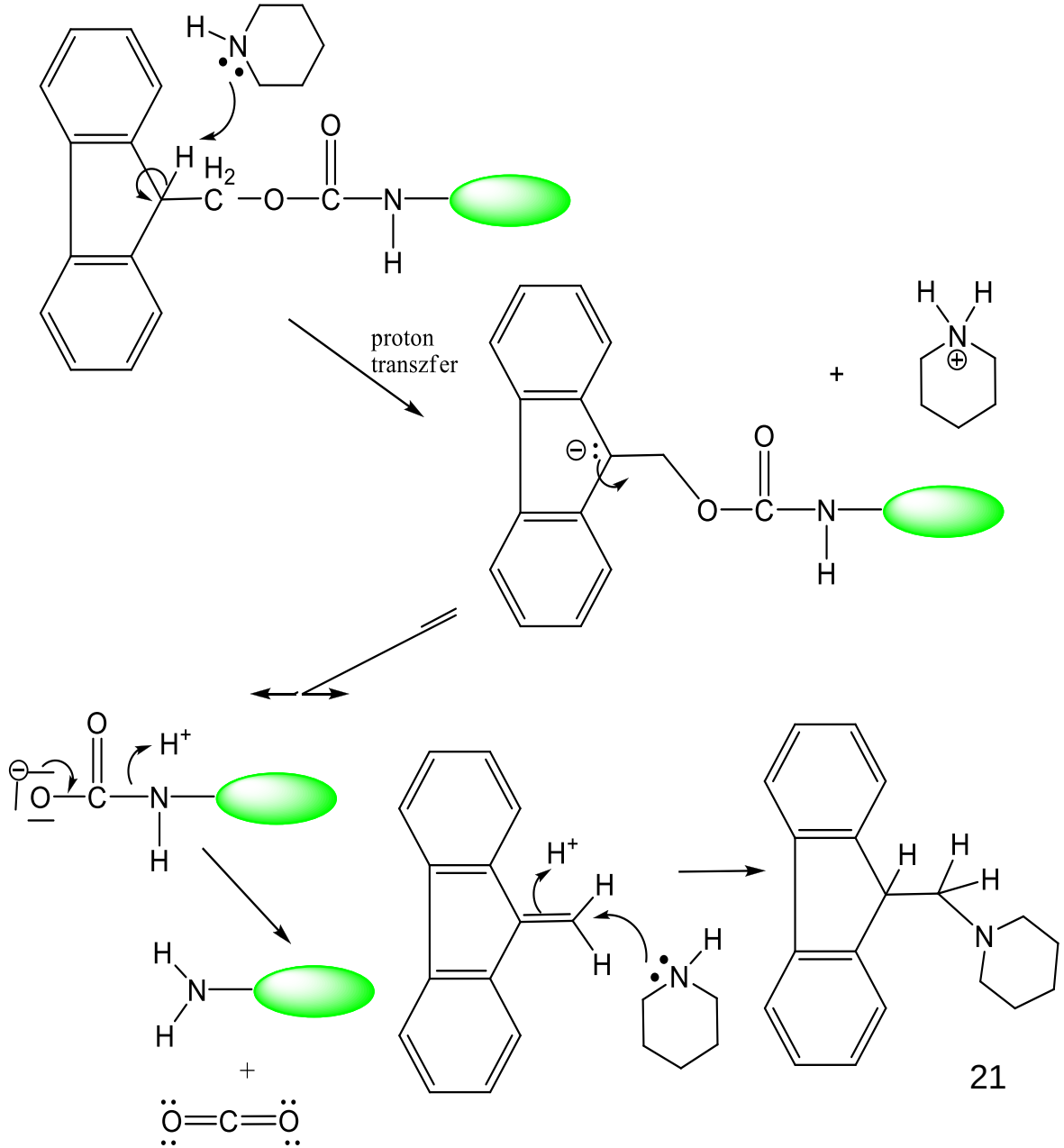


Az Fmoc-védőcsoport hasításának mechanizmusa:

(bázissal- (nukleofillal) kiváltott elimináció):

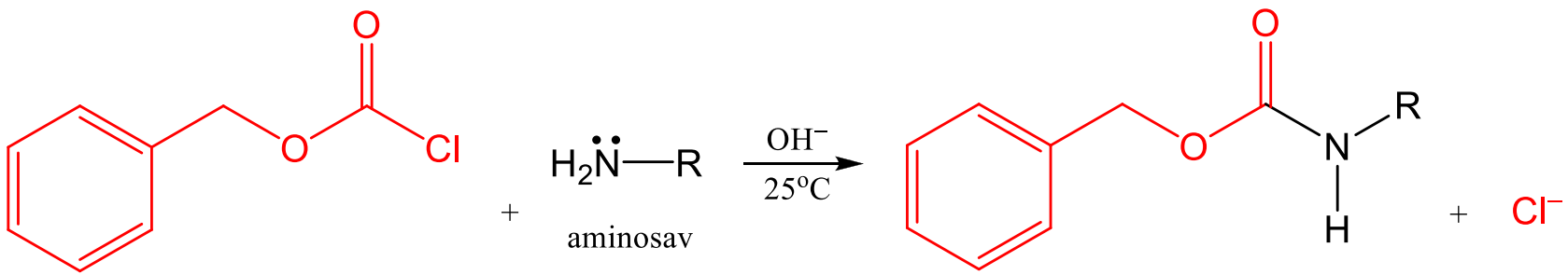
: peptid





memo: a hajtóerő oka, hogy a kialakuló anion esetében az aromacitás kiterjed a mol. egészére

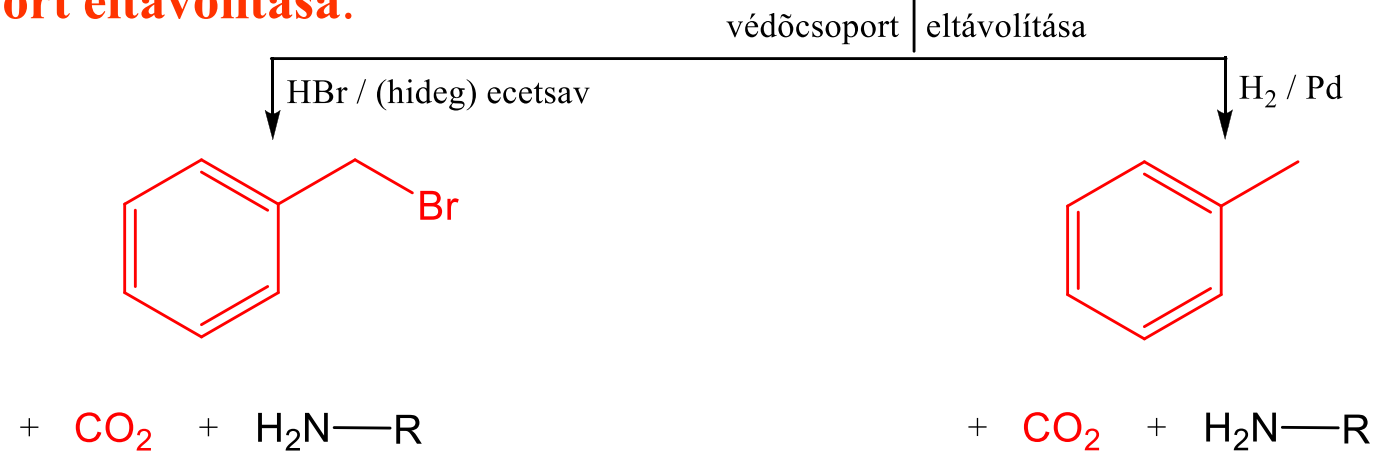
A Z-védőcsoport kialakítása:



Z-Cl
benzil-oxi-karbonil-klorid

Z-csoporttal
benzil-oxi-karbonil-csoporttal
védett aminosav

A Z-védőcsoport eltávolítása:



4.1.2) A *C*-terminális (a karboxilcsoport) **védelme:**

Metil- etilészter

kialakítása és használata:

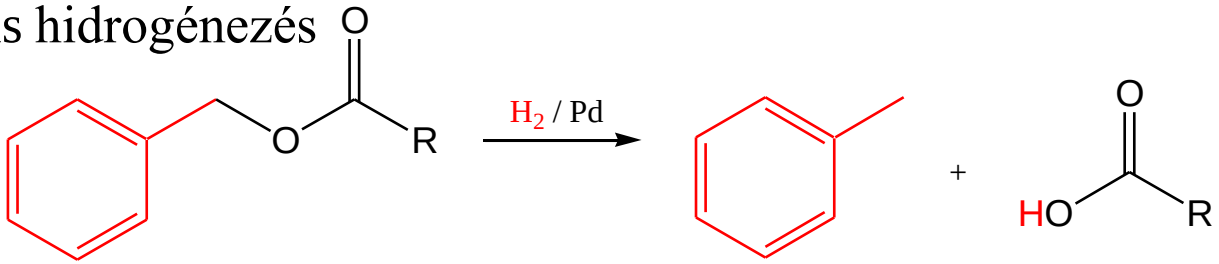
- reakció sósavas metanollal (etanollal),
  s kapjuk az aminosav metil(etil) észter hidroklorid sóját
  (tipikusan kristályos vegyület)
- $SOCl_2$ + alkohol jó alternatíva

eltávolítása: - nem hasítja: HBr/AcOH, TFA, katalitikus hidrogénezés, ...
- elszappanosítással (veszélye a racemizáció)

Benzilészter kialakítása és használata:

- Tos-OH (para-toluolszulfonsav) és benzilalkohol

eltávolítása: - HBr/AcOH vagy HF, TFMSA (trifluor-metánszulfonsav) vagy
- katalitikus hidrogénezés



benzil-észter

Terc-butilészter kialakítása és használata:

reakció izobutilén (cseppfolyósítva) savkatalízis (H_2SO_4) mellett

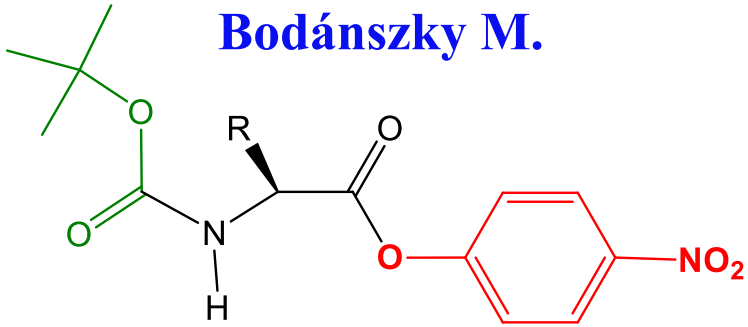
eltávolítása: : TFA

4.1.3) Védett aminosavak aktiválása:

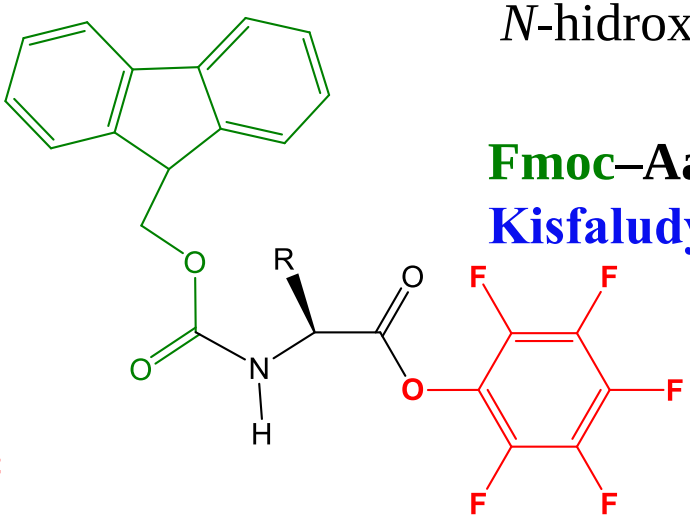
pl. **X=** *p*-nitrofenil-észter
pentafluorfenil-észter
pentaklórfenil-észter
N-hidroxiszukcinimid-észter

- aktívészterrel:

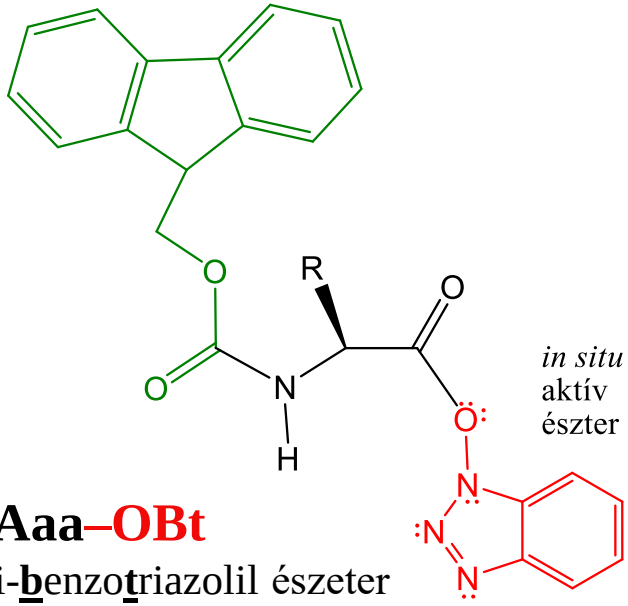
Boc–Aaa–ONp
Bodánszky M.



Fmoc–Aaa–OPfp
Kisfaludy L. (Schőn I.)



Bodánszky Miklós
(GYOKI)
Case Western Reserve
Uviversity, Columbus, OH



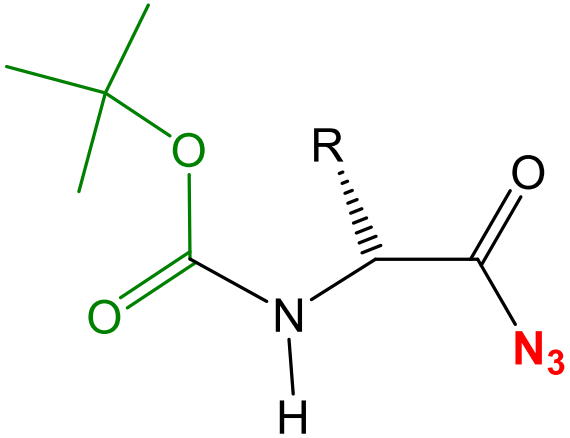
in situ
aktív
észter

Fmoc–Aaa–OBt

HOBt *N*-**h**idr**o**xi-**b**enzo**t**riazolil észeter

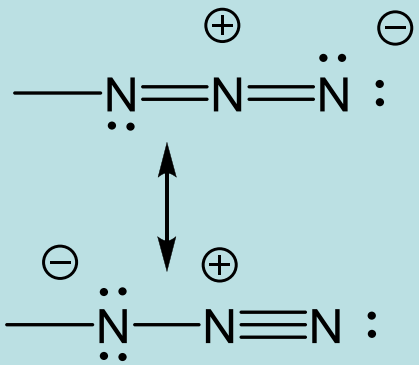
- karbonsavaziddal:

Boc–Aaa–N_3



memo: metil- vagy etilészterből hidrazidon át készítjük a savazidot. Az első lépés tehát bázikus körülmények között megy, amely körülmények között viszont nem stabil az Fmoc-védőcsoport, s ezért használunk Boc- védelmet az *N*-terminálison.

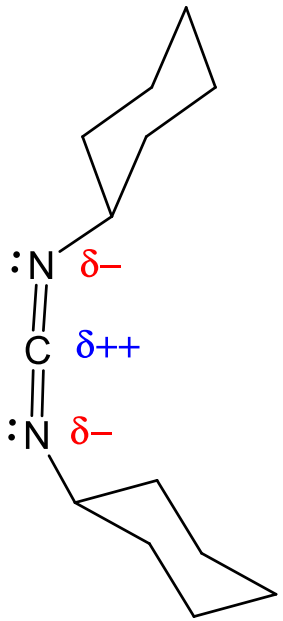
memo: az azidcsoport 2 fontos hatátárszerkezete:

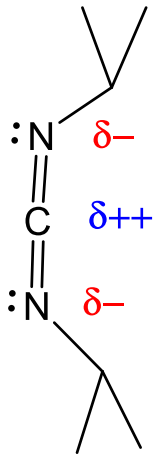


- karbodiimiddel:

vagy más „vízelvonó” szerrel:

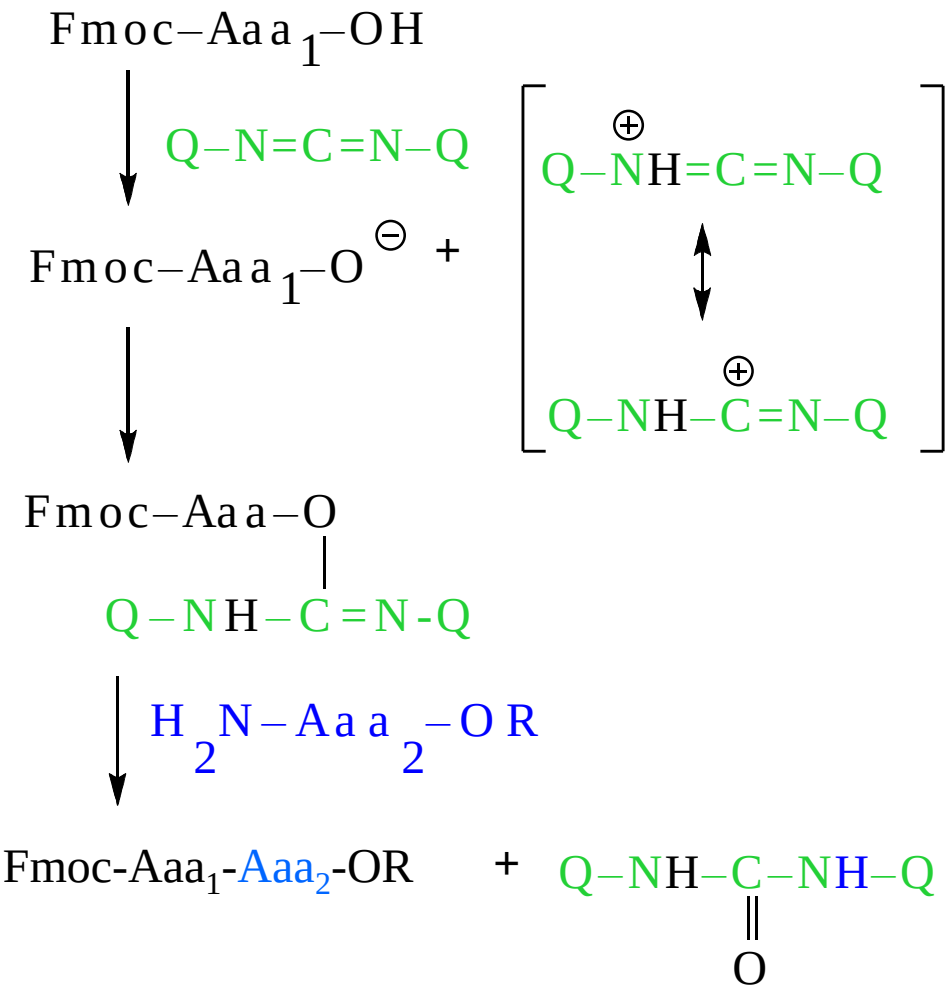
DCC: Diciklohexil-karbodiimid



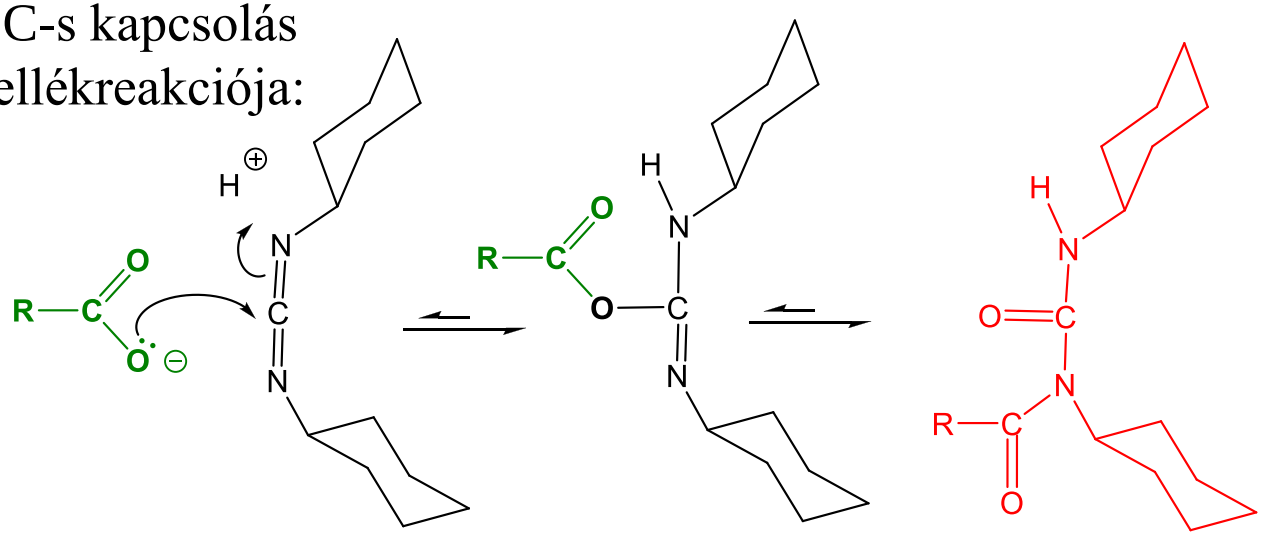


DIC: Diizopropil-karbodiimid

A peptidkapcsolás menete:

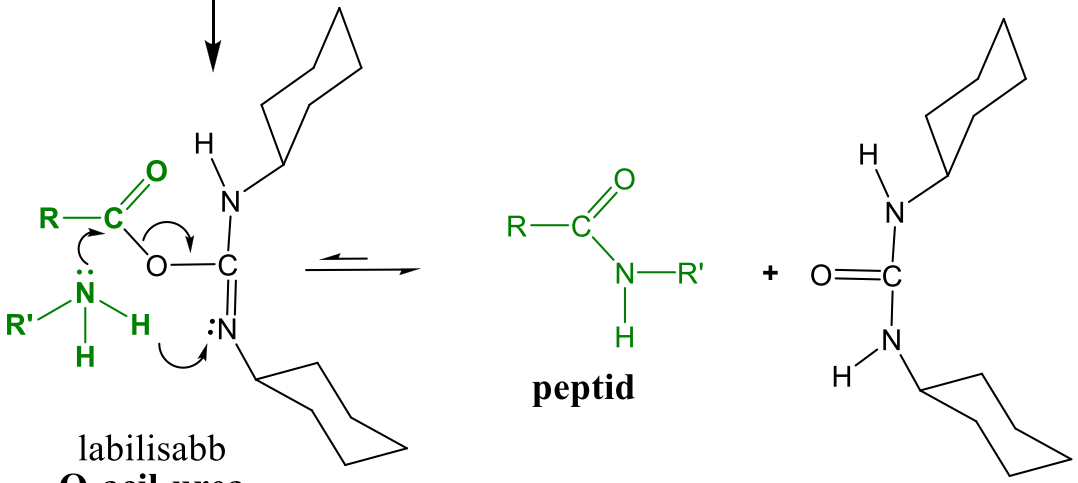


A DCC-s kapcsolás és mellékreakciója:



O-acil-urea
labilis, ezért
továbbalakítható

N-acil-urea
stabillabb, ezért
inaktív
(melléktermék)

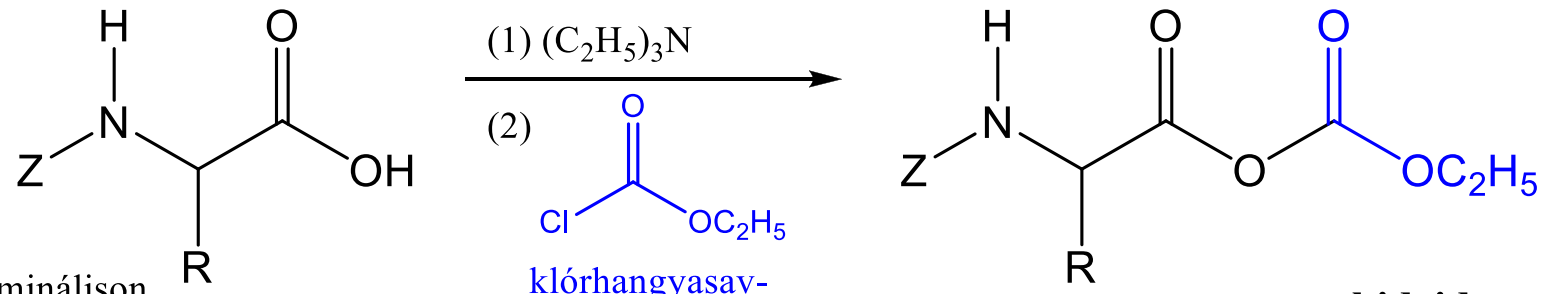


labilisabb
O-acil-urea
egy aminnal reagál

peptid

4.2) Az oldatfázisú peptidszintézis:

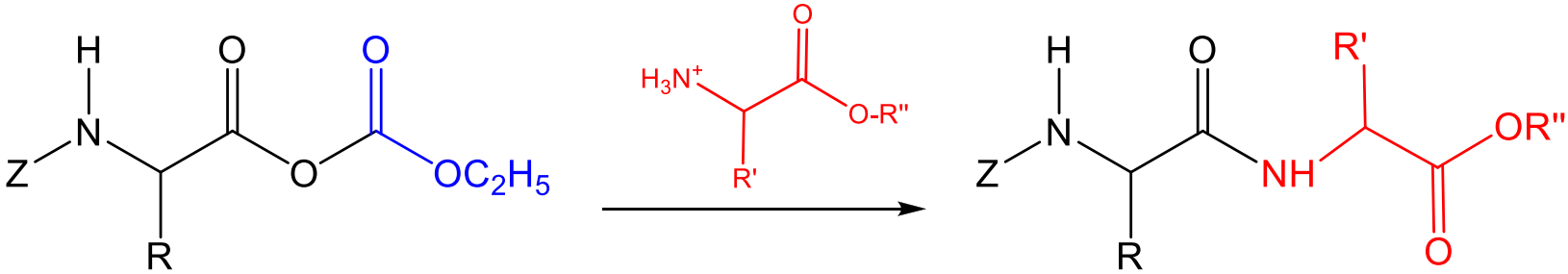
- A karboxilcsoport aktiválása majd „kapcsolás” vegyesanhidriden át,



N-terminálison védett aminosav

klórhangyasav-etilészter

vegyes anhidrid

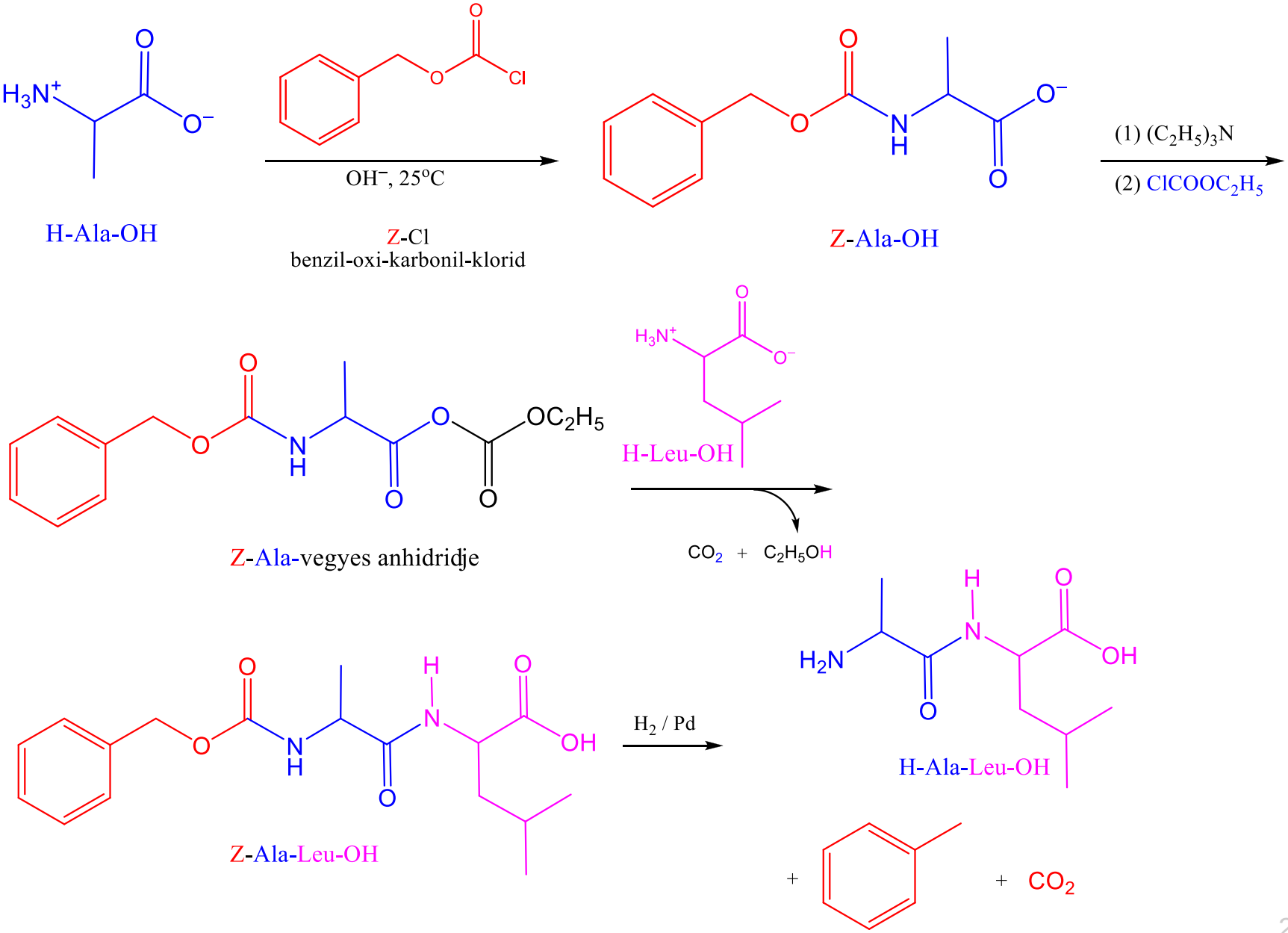


N-terminálison védett, *C*-terminálison aktivált aminosav

N- és *C*-terminálison védett dipeptid

+ CO_2 + C_2H_5OH

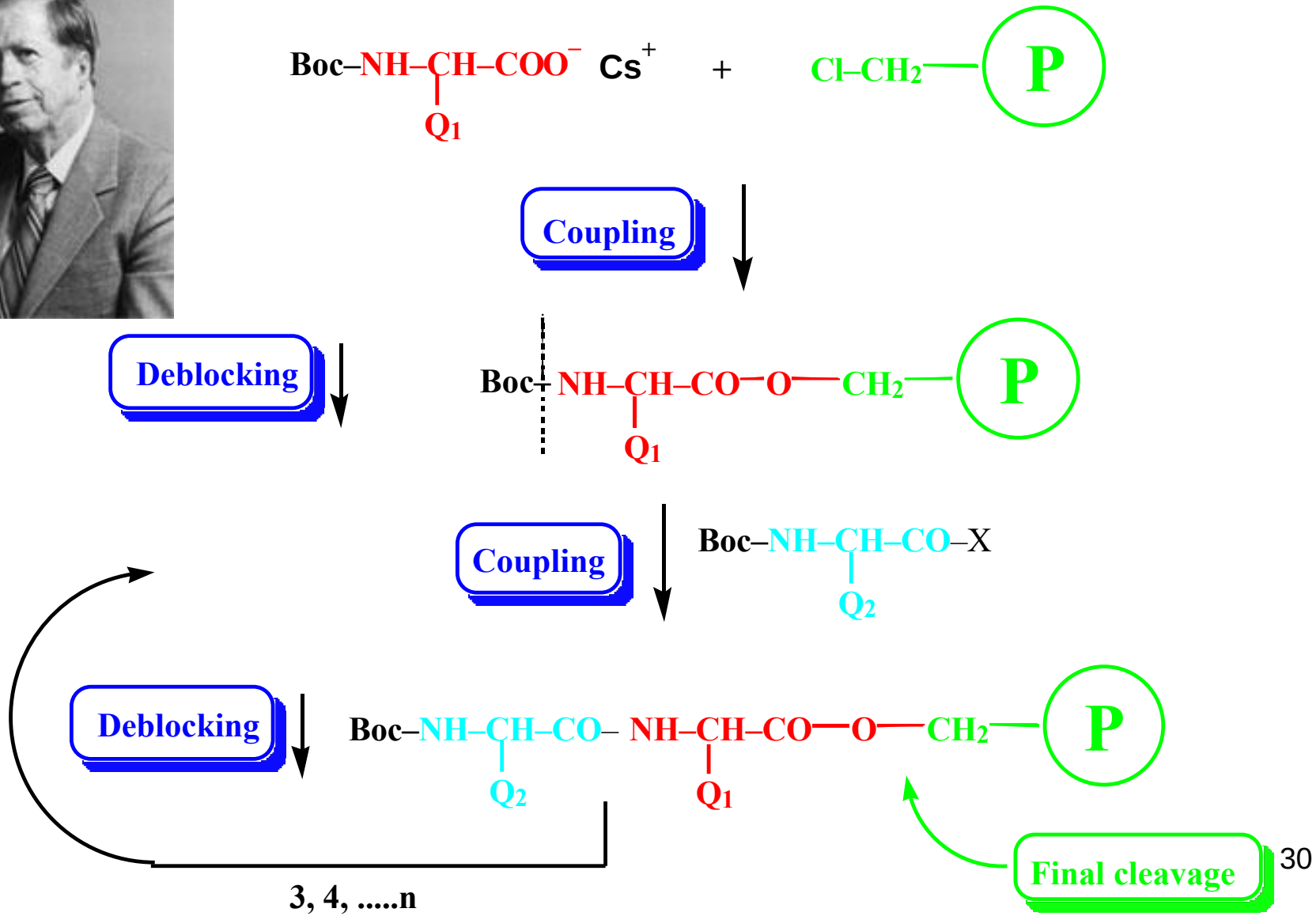
- A **H-Ala-Leu-OH** dipeptid oldatfázisú szintézise:



memo: a módszer jó, a kapcsolások szelektívek, de a totál szint. lassú (2-3 nap).

4.3) Az szilárdfázisú peptidszintézis:

Robert B. Merrifield
(Nobel-díj: 1984)
a szilárdfázisú peptidszintézis kidolgozója (1963)



- A Szilárdfázisú peptidszintézis:

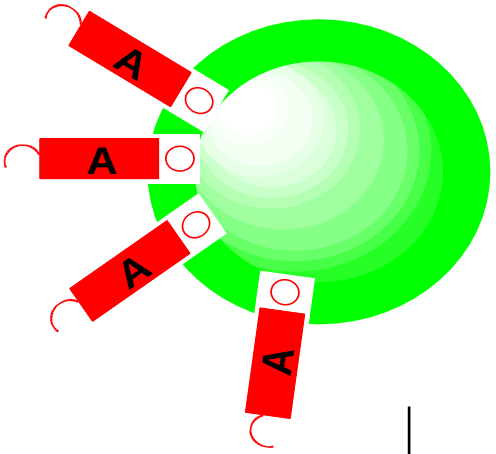
Jelmagyarázat:

:= *N*-terminális védőcsoport

:= hordozó gyanta + linker

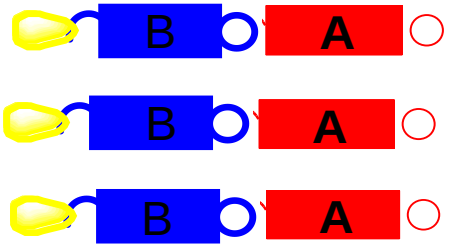
:= szabad *C*-terminális

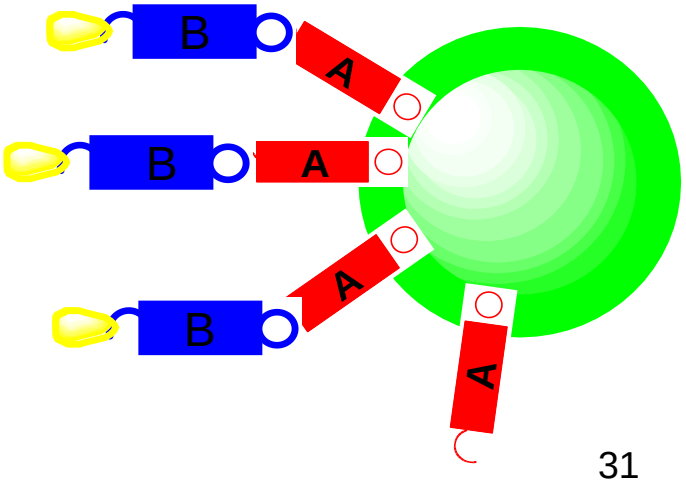
:= szabad *N*-terminális



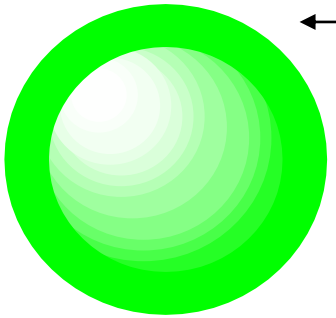
[B]$_n$ **kapcsolás**

helyes szekvencia (jó peptid)





hasítás

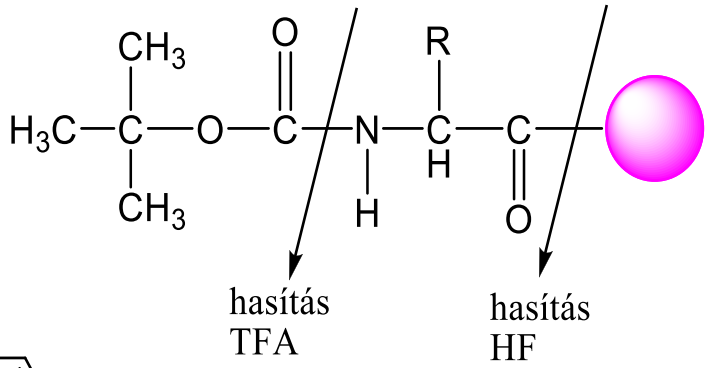


hibás szekvencia

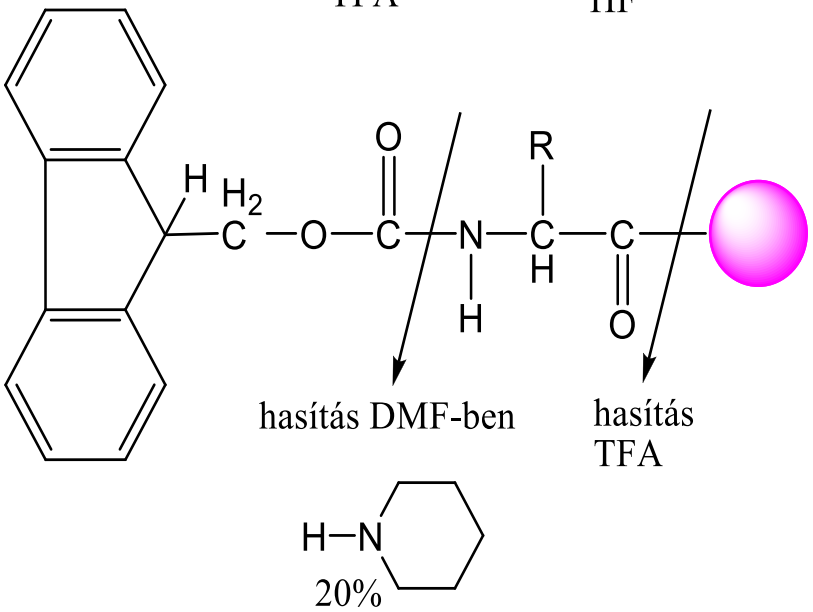
- A Szilárdfázisú peptidszintézis:

N-terminális védőcsoportok:

Boc-stratégia
(Bzl-típusú oldallánc védelemmel)



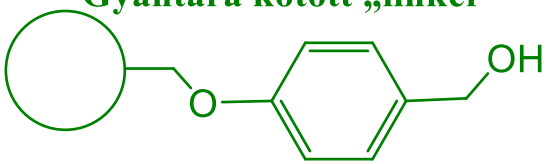
Fmoc-stratégia
(terc-butil oldallánc védelemmel)

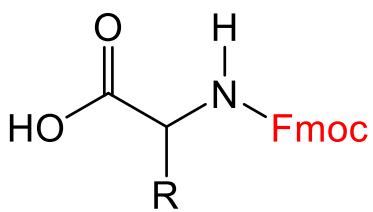


N-term. Boc védelme azért kellemetlen mert a hasítás során újra meg újra keletkeznek *terc*-butil-karbokationok, amik alkileznek itt is ott is, valamint a savas pH-ra az oxidábilis aminosavak (pl. Trp, Met) érzékenyek . Ezért alakították ki az alternatív Fmoc stratégiát.

- A Szilárdfázisú peptidszintézis:

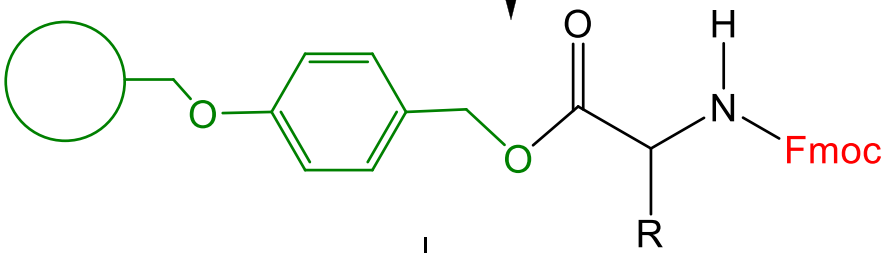
Gyantára kötött „linker”





diizopropilkarbodiimid
+ dimetilamino-piridin;DMAP (10%)

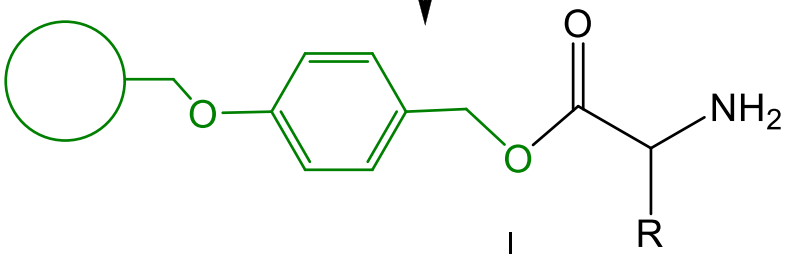
1. lépés C-terminális (Fmoc-csoporttal védett) aminosav kapcsolása a gyantához



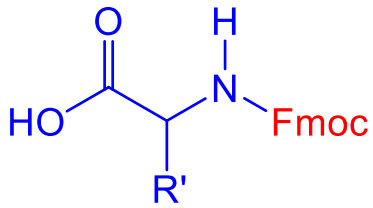
2. lépés Mosás

piperidin / DMF

3. lépés Védõcsoport eltávolítása

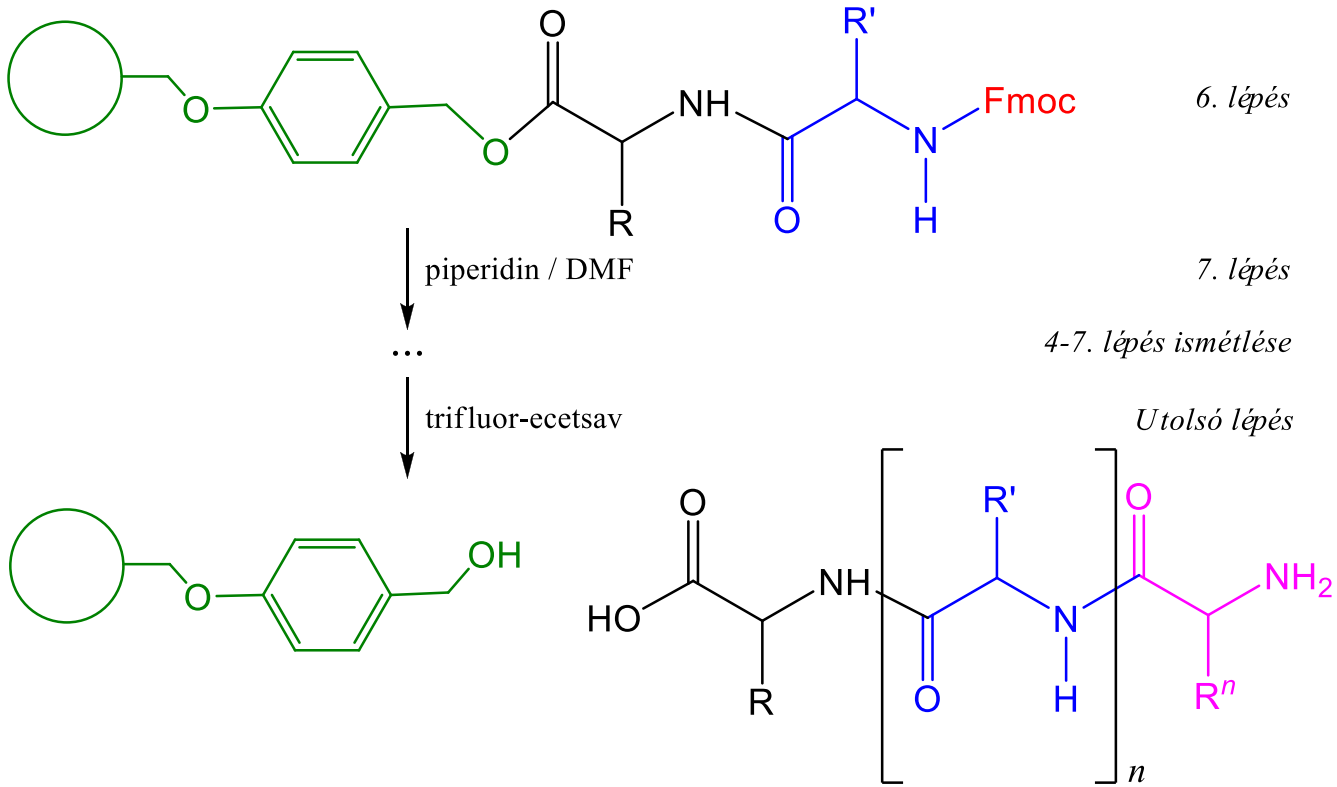


4. lépés Mosás



diizopropilkarbodiimid
+ HOBt

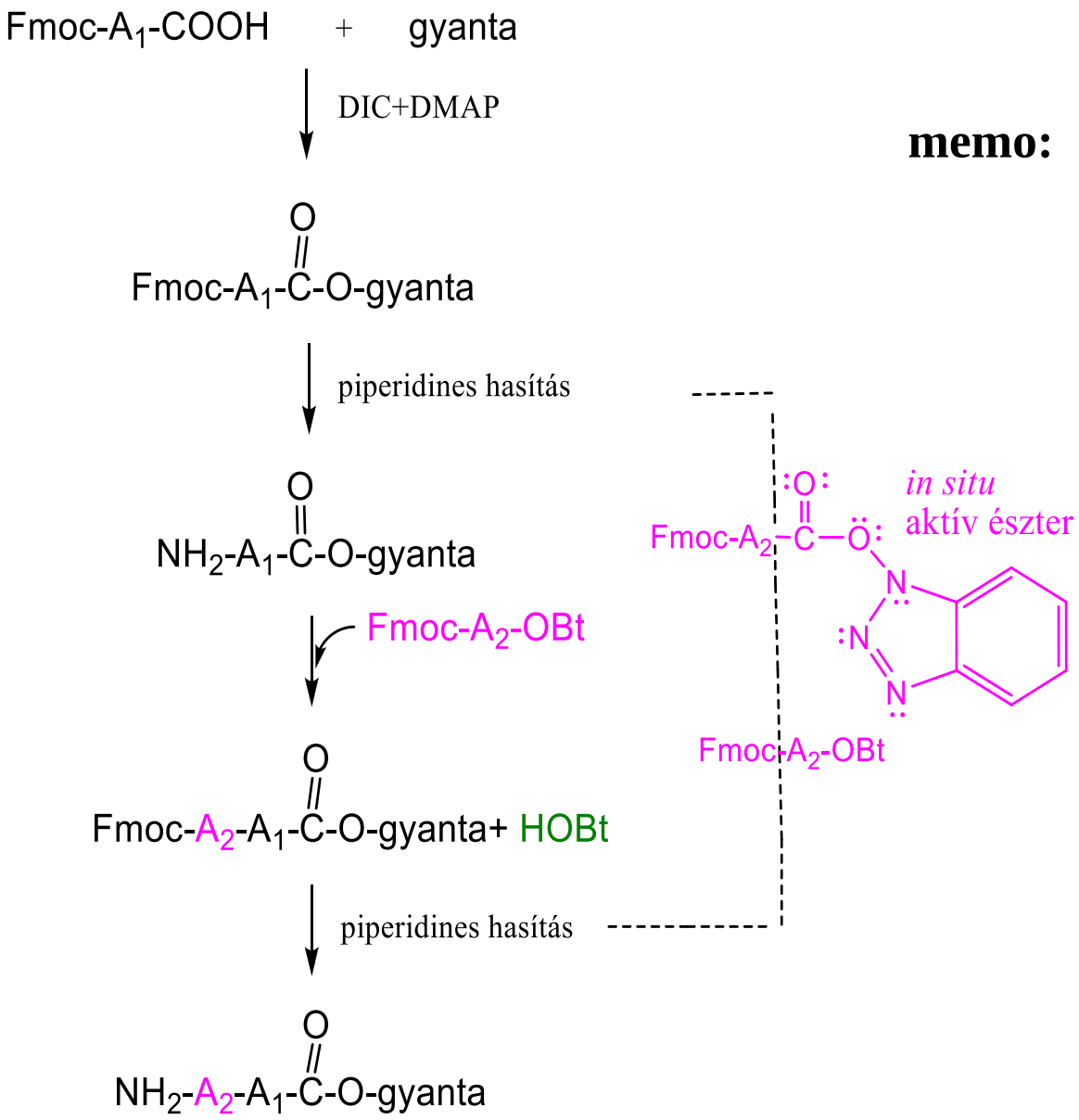
5. lépés A következõ (védett) aminosav kapcsolása



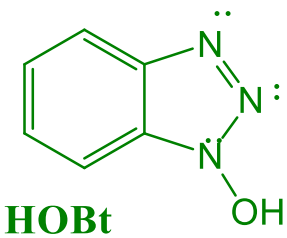
6. lépés	Mosás
7. lépés	Védõcsoport eltávolítása
4-7. lépés ismétlése	További aminosavak kapcsolása
Utolsó lépés	A polipeptid hasítása a gyantáról

memo: a módszer jó, a kapcsolás szelektív, az eljárás gyors (2 óra /ciklus).

- A Szilárdfázisú peptidszintézis: Összefoglalás

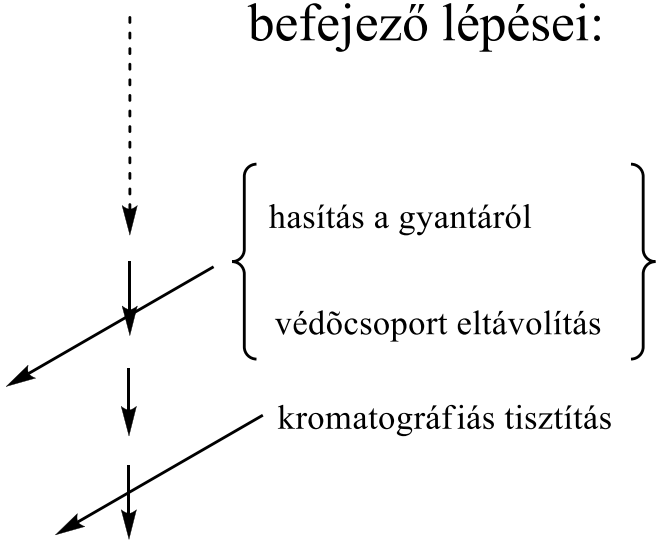


memo:



HOBt
N-hidroxi-benztriazol

A szintézis befejező lépései:



- A Szilárdfázisú peptidszintézis előnyei és hátrányai:

Makropórusú gélmátrix

Heterogén fázisú reakció elvben lassú

Nagy reagens felesleg (3–7x) miatt drága, de végül is gyorsabb mint az oldatfázisú

Könnyű feldolgozás

Automata szintetizáló készülék

Ribonukleáz (124)

20-25 lépés/ aminosavanként, hozam: 17%

HPLC

Kitermelés (>99,9%)

- A Szilárdfázisú peptidszintézis előnyei és hátrányai:

Elméleti hozamok egymást követő reakciólépések után:

„kapcsolások” száma

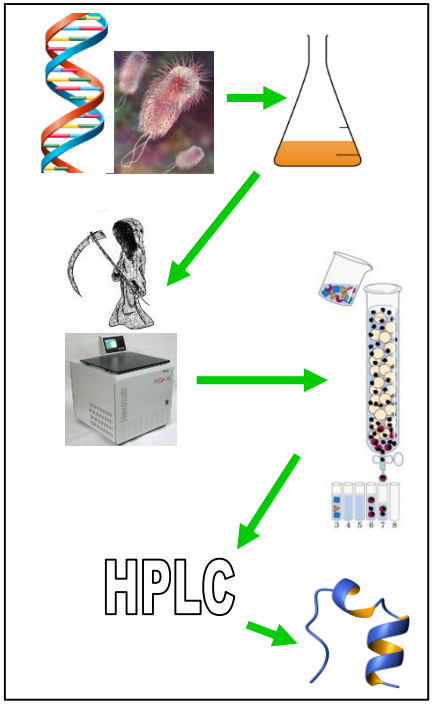
Kitermelés (%) egy- egy lépés esetén

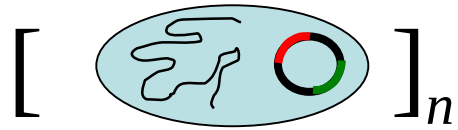
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30
99,9	100	100	100	100	99	99	99	99	99,0	98,0	97,0
99,0	98,0	97,0	96	95	94	93	92	91	90	81,2	74,0
95,0	90	86	82	77	74	70	66	63,0	60	35,8	21,5
90,0	81,0	73	66	59,0	53	48	43,0	39	35	12,1	4,23
85,0	72	61	52	44	38	32,0	27	23	20	3,88	0,76
80,0	64,0	51	41,0	33	26	21,0	17	13	11	1,15	0,12
75,0	56	42	32	24	18	13	10,0	7,51	5,63	0,32	0,02
70,0	49,0	34	24,0	17	12	8,23	5,76	4,03	2,82	0,08	
65,0	42	28	18	12	7,54	4,90	3,19	2,07	1,35	0,02	
60,0	36,0	22	13,0	7,80	4,70	2,80	1,70	1,10	0,60		
55,0	30	17	9,20	5,00	2,80	1,50	0,8	0,5	0,3		
50,0	25,0	13	6,30	3,10	1,50	0,78	0,4	0,20	0,10		

4.4) A peptidszintézis biotechnológiai útja:

IPTG: **I**so**p**ropyl β-D-1-**t**hio**g**alactopyranoside

Az *E.coli* sejtben történő fehérje-kifejezés áttekintése:

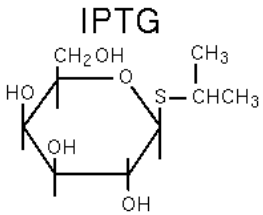




$[\ \ ]_n$

felszaporítás minimál táptalajon 0,8 OD -ig (**NH_4Cl** és **D-Glu**) kb. 8 óra

Indukálás IPTG-vel, beindul a klónozott gén 3óra

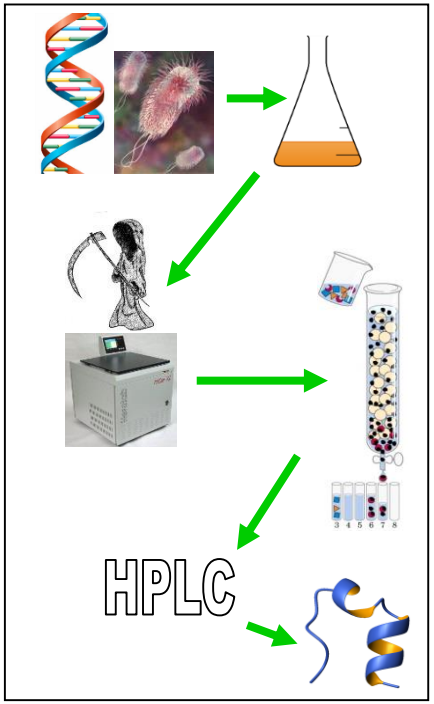


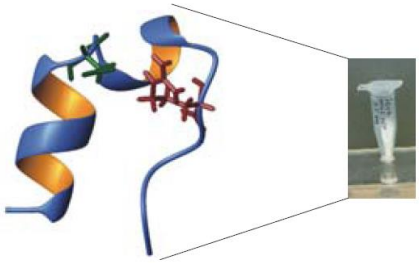
centrifugálás, sejtfeltárás

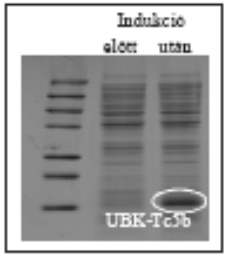
(fagyasztás, ultrahang, reagensek)

Lizozim, Streptomycin-szulfát

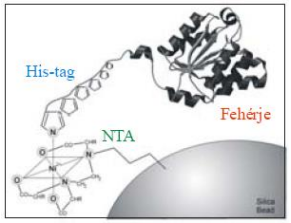
Az *E.coli* sejtben történő fehérje-kifejezés áttekintése:





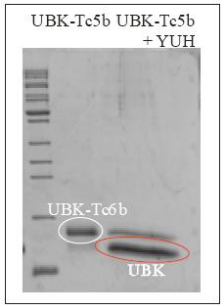


His-tag alapon tisztítás (Ni^{2+} oszlop, majd imidazol)

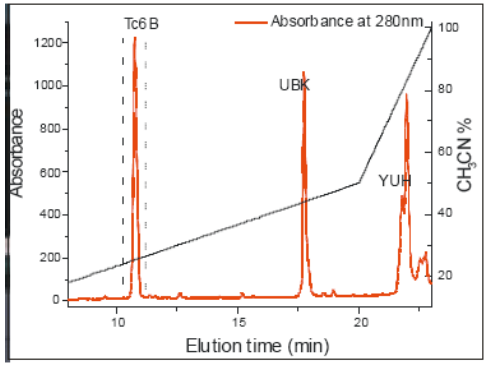


dializálás

hasítás



HPLC tisztítás

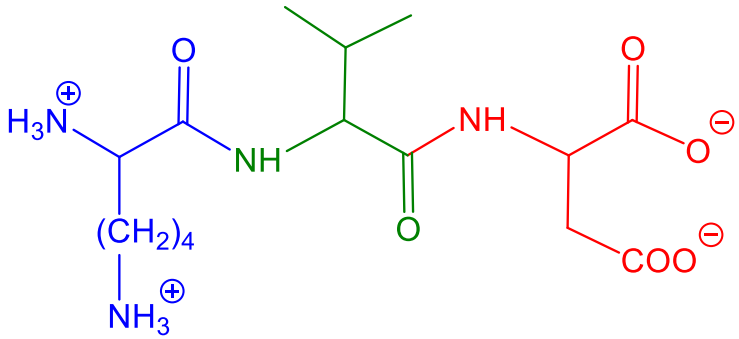


memo: az eljárással hosszabb peptideket és fehérjéket is gyorsan elő tudunk állítani (3-5 nap).

5) Peptid analitika

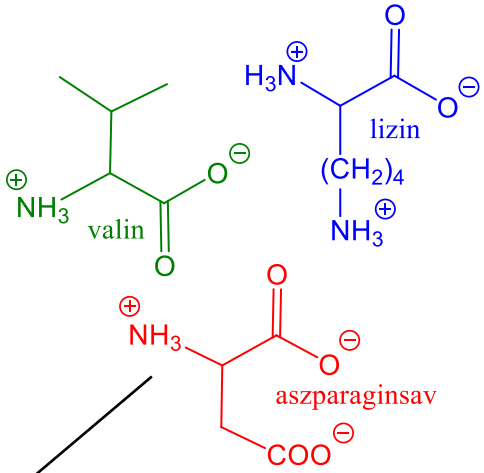
5.1) az aminosavösszetétel meghatározása:

Pl:



lizil-valil-aszparaginsav
H-Lys-Val-Asp-OH

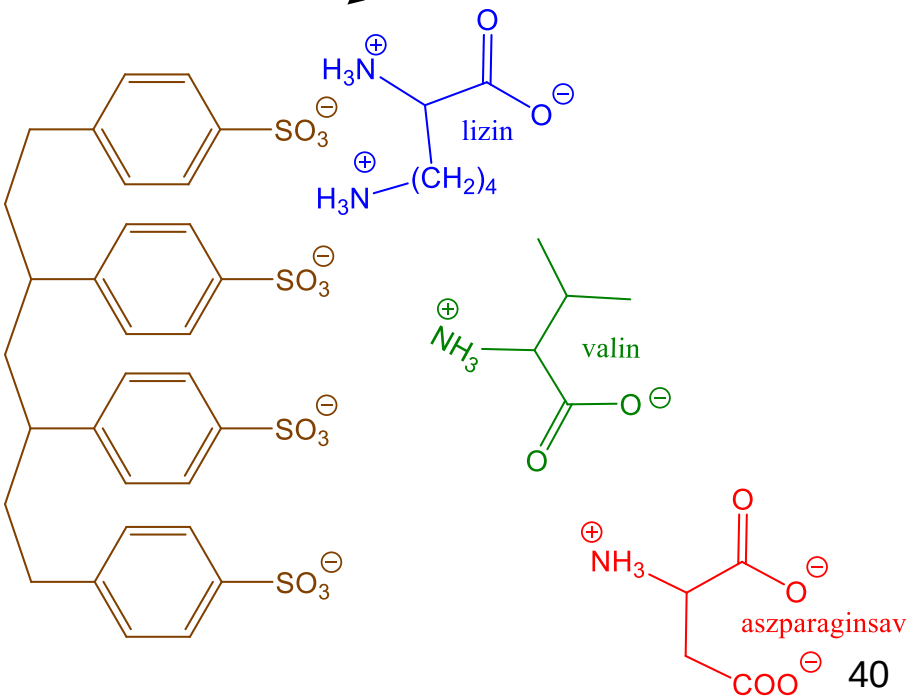
hidrolízis →



oszlop-kromatográfia ↓

A peptid hidrolízisét (**6N HCl/24 óra**) követően az aminosavakat **kationcserélő gyantát** tartalmazó oszlopon folyatjuk át. Az aminosavak itt a bázikus karakterük szerint kötődnek meg (**adszorbeálódnak**). A legbázikusabbak tartózkodnak az oszlopon a legtovább, azaz érkeznek le a legkésőbb.

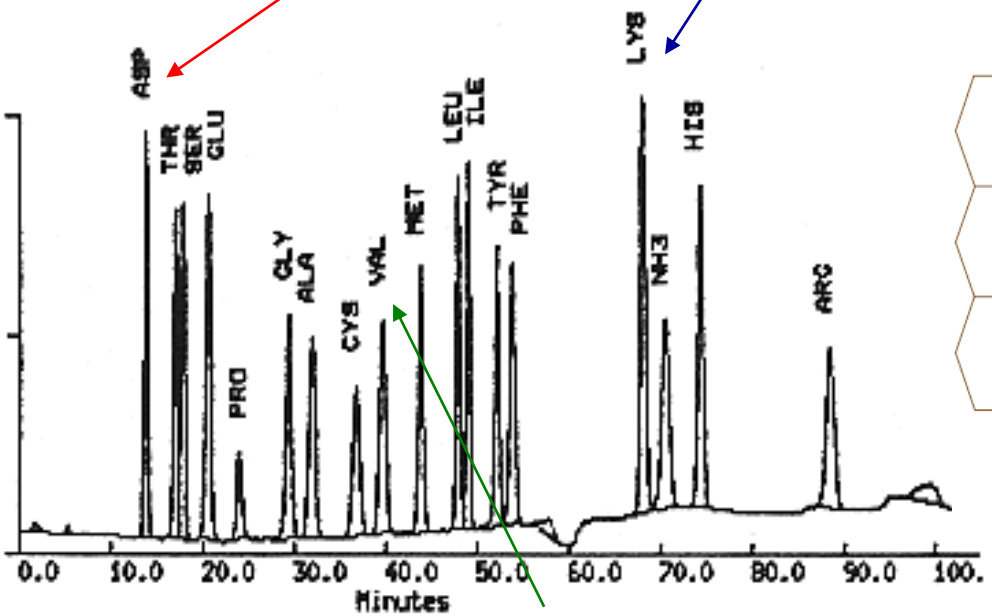
(pl. **Dovex-50 gyanta**)

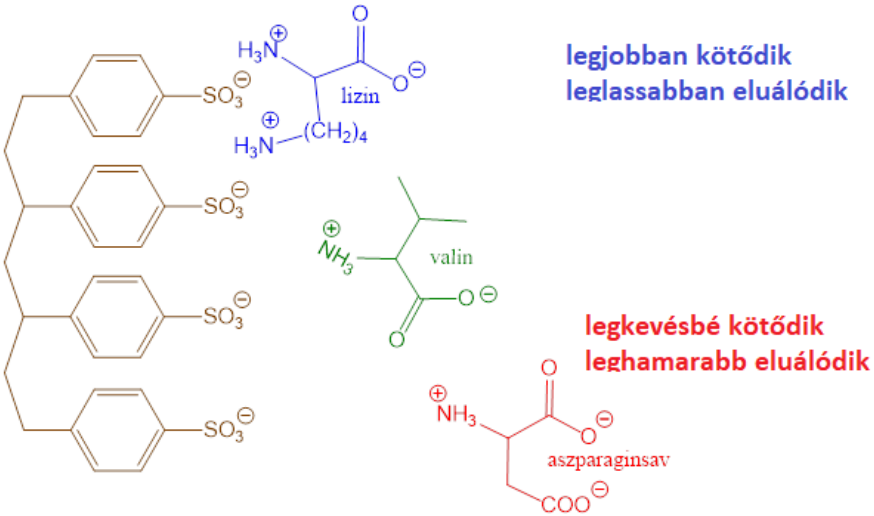


Egy **kationcserélő abszorbensen** az oszlopozás után az aminosavak elúciós profilja:

Asp (pK_{a2}= 3,9 és pK_{a3}= 9,8) ezért **pH=7**-nél sok **anion**os, sőt már kevés dianion forma is jelen van az oldatban (H&H szabály)

Lys (pK_{a1}= 9,0 pK_{a2}= 10,5) ezért **pH=7**-nél zömmel a **kation**os forma van jelen az oldatban (H&H szabály)





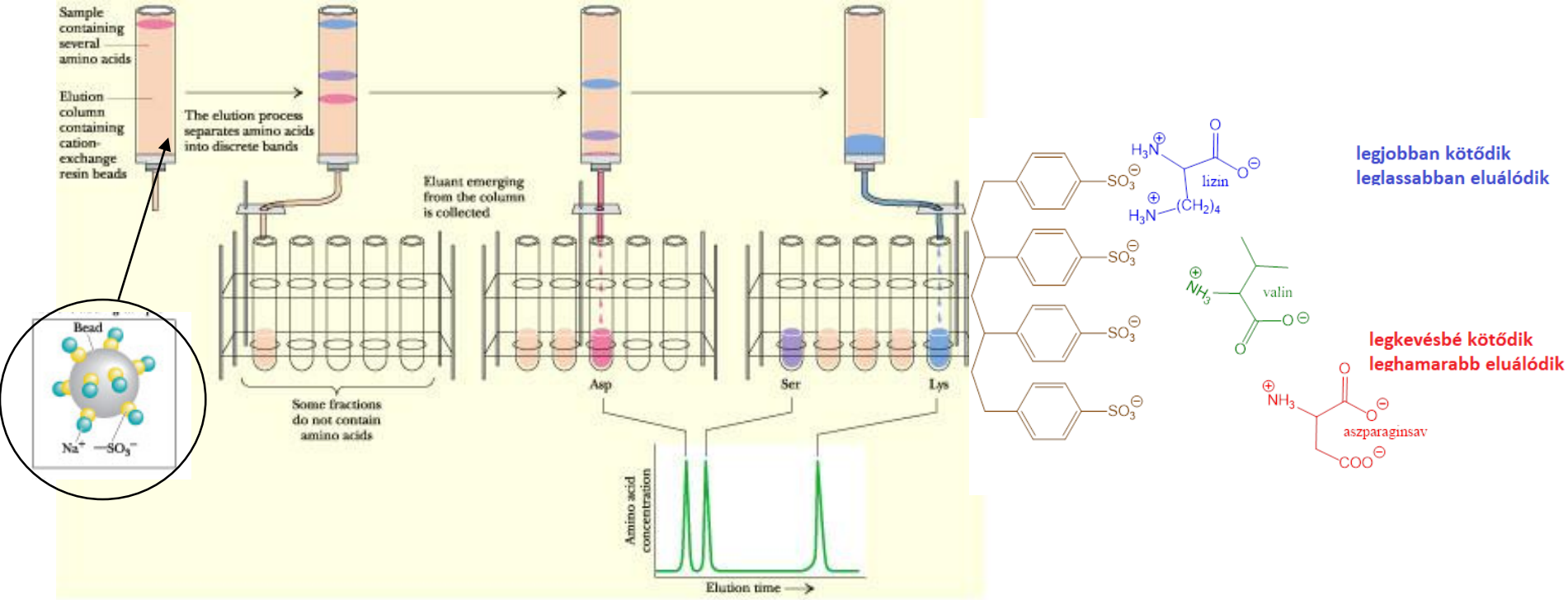
legjobban kötődik
leglassabban eluálódik

legkevésbé kötődik
leghamarabb eluálódik

Val (pK_{a1}= 2,3 pK_{a2}= 9,6) ezért **pH=7**-nél zömmel az **ikerion**os, s egy csipetnyi anionos forma van jelen az oldatban (H&H szabály)

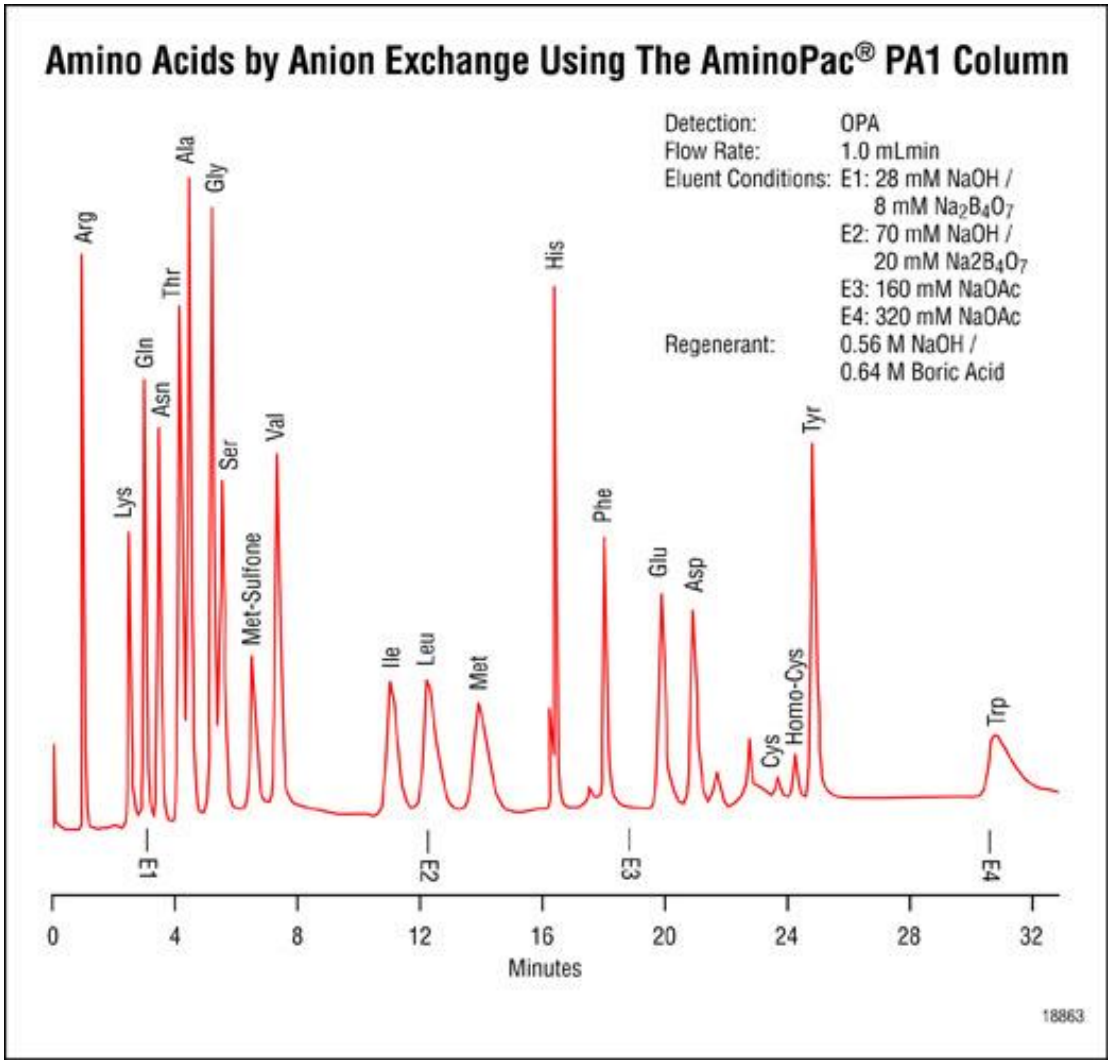
az aminosavak elválnak egymástól, a savasak a legkorábban, a neutrálisak középen, míg a bázikusak a legvégén „jönnek le” az oszlopról.

Kationcserélő abszorbensen növekvő Na^+ konc. mellett eluálódó **Asp^-**, **Ser** és **Lys^+**

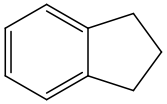


(a) (b) (c) Asp, the least positively charged amino acid, is eluted first (d) Serine is eluted next (e) Lysine, the most positively charged amino acid, is eluted last

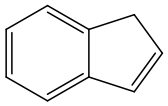
Az aminosavak szétválása egy **anioncserélő gyantán:** s a savasak később, a neutrálisak középen, míg a bázikusak „jönnek le” az oszlopról a legkorábban.



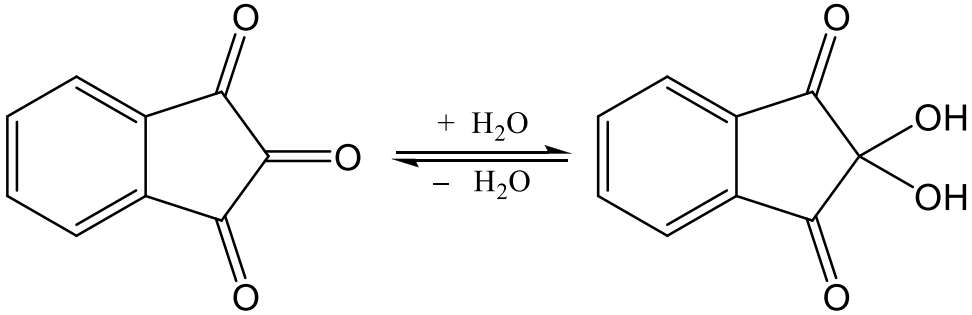
Az aminoterminális jellegzetes reakciója; a ninhidrin teszt



indán

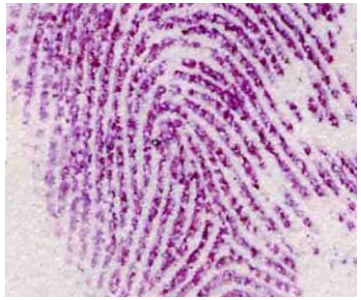


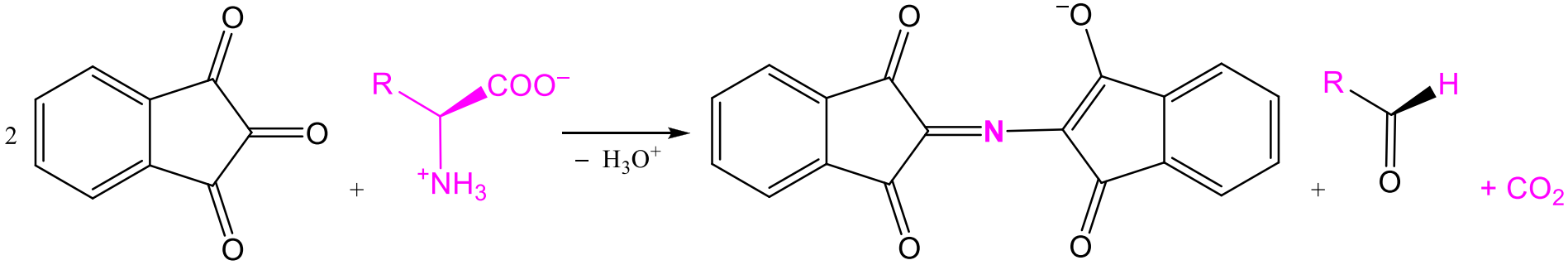
indén



indán-1,2,3-trion

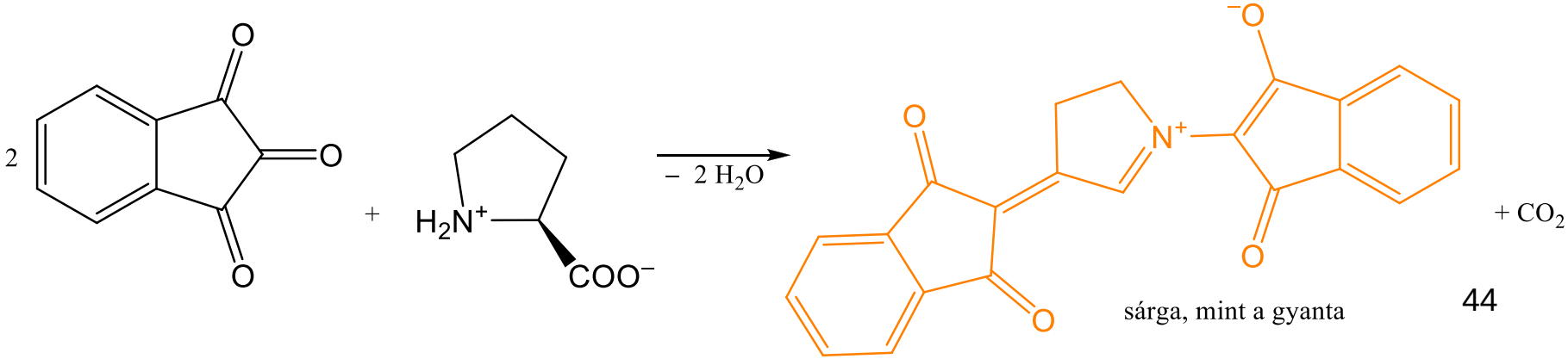
ninhidrin hidrát





λ_{max} = 570nm

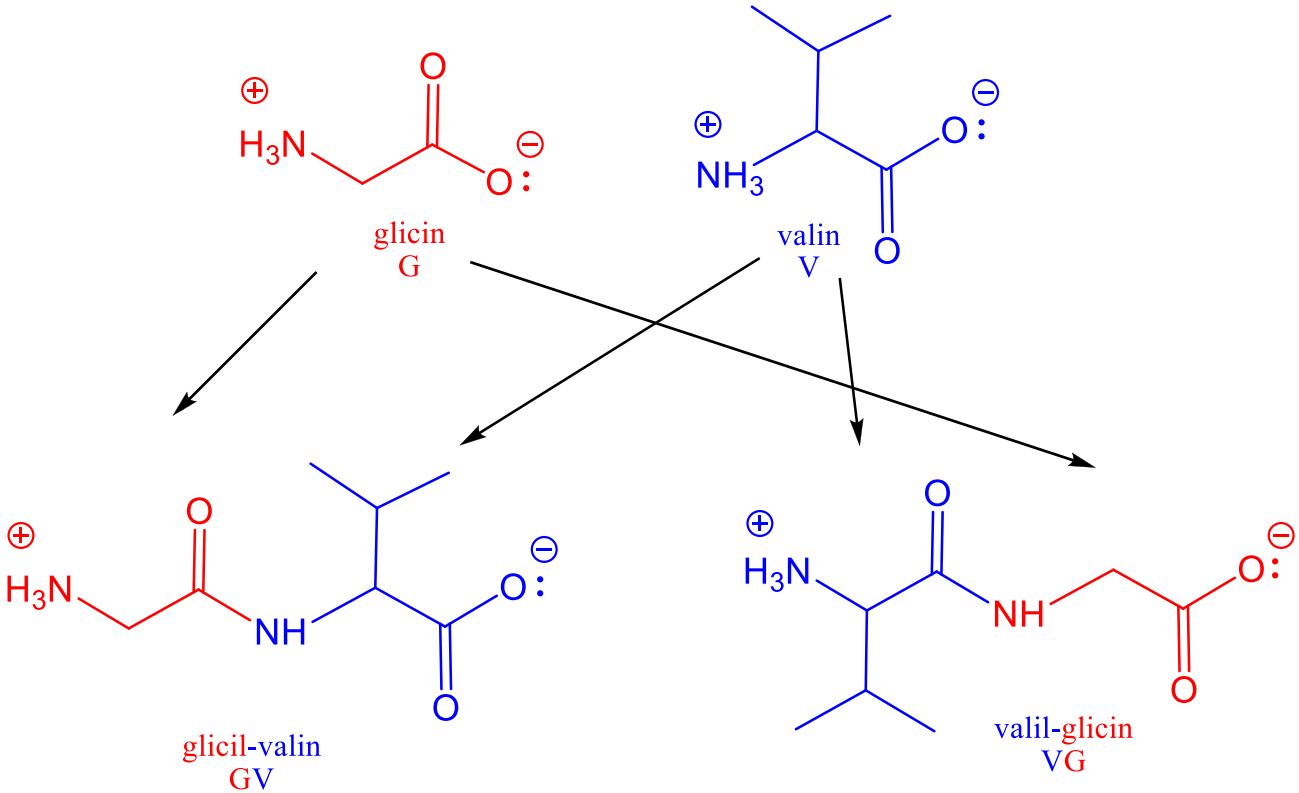
memo: Pro és Hyp másként reagál a ninhidrinnel; a kapott termék máshol abszorbeál:



sárga, mint a gyanta

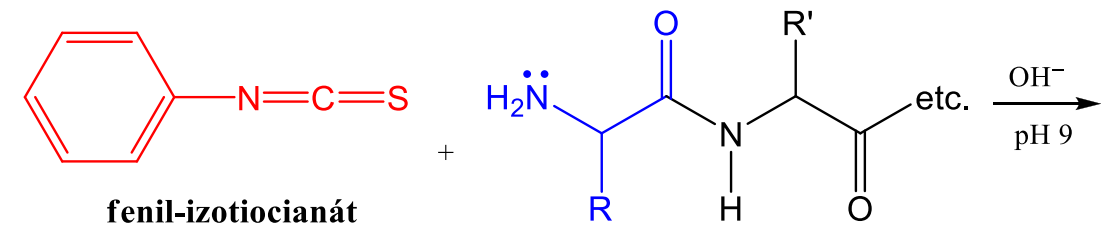
5.2) az aminosavsorrend meghatározása: a szekvenálás

cél: a peptidekben az aminosavak sorrendjének meghatározása.
memo: már egy dipeptid 2 aminosavja is kétféle sorrendben szerepelhet; pl. a Gly és a Val alkothatják a Gly-Val és a Val-Gly variációkat.
(egy aminosav-sorrend képez egy **variáció**t)

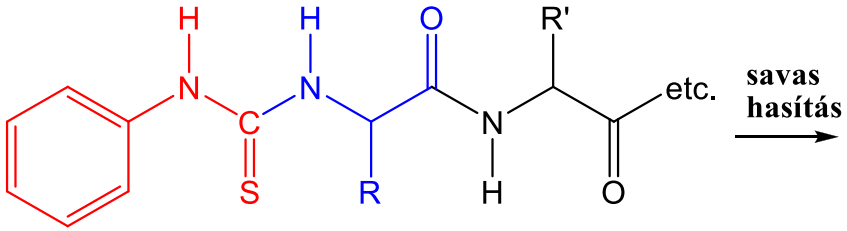


n elem *k*-ad osztályú ismétléses variációinak száma: $V_n^{k,i} = n^k$

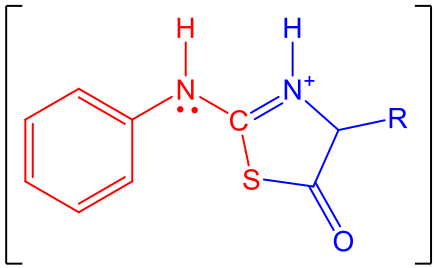
- Az Edman-lebontás:



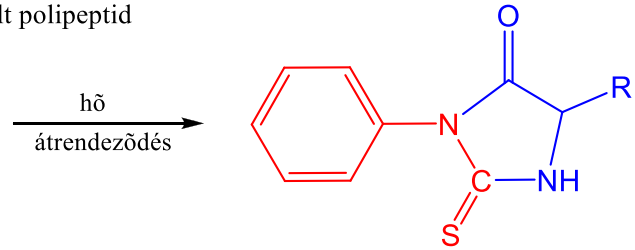
fenil-izotiocianát



jelölt polipeptid

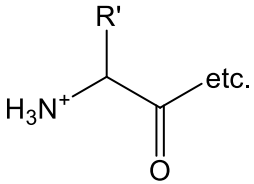


instabil intermedier



fenil<u>tio</u><u>h</u>idantoin (**PTH**)
HPLC-vel azonosítható

+

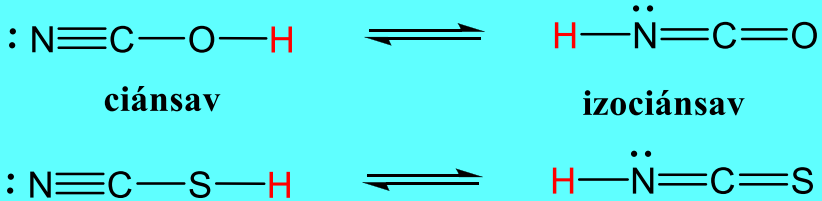


egy aminosavval
rövidebb polipeptid

memo: akár egy 60-as peptidet is meg lehet így szekvenálni, fragmensein keresztül.

Pehr Victor Edman
(1916 - 1977)

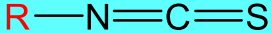
tautomerek



ciánsav — **izociánsav**

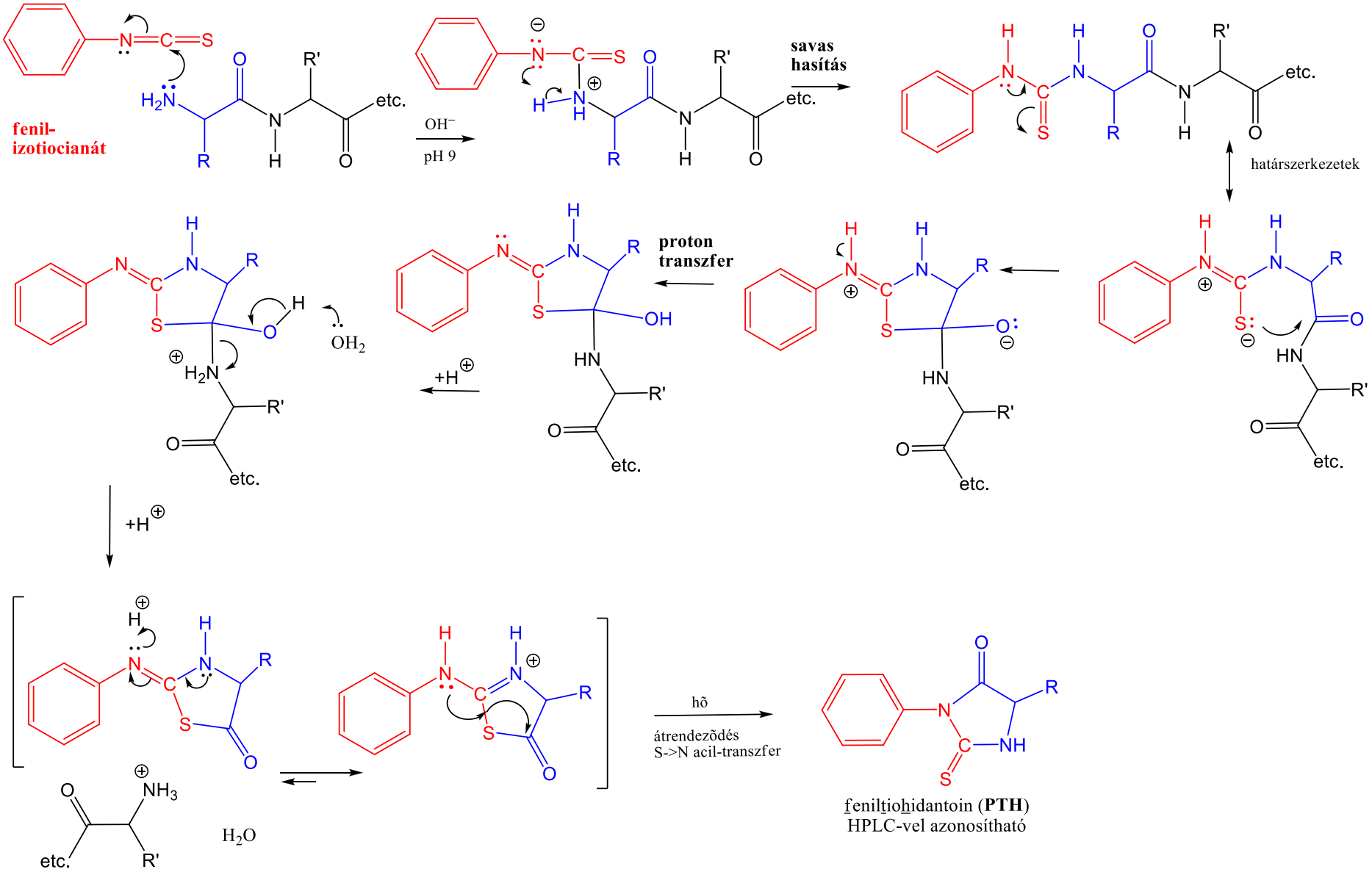
tiociánsav — **izotiociánsav**
(szab savként nem, de sói formájában stail vegyület)

izotiociánsav-észterek
alkil- és arilizotiocianátok
(mustárolajok)



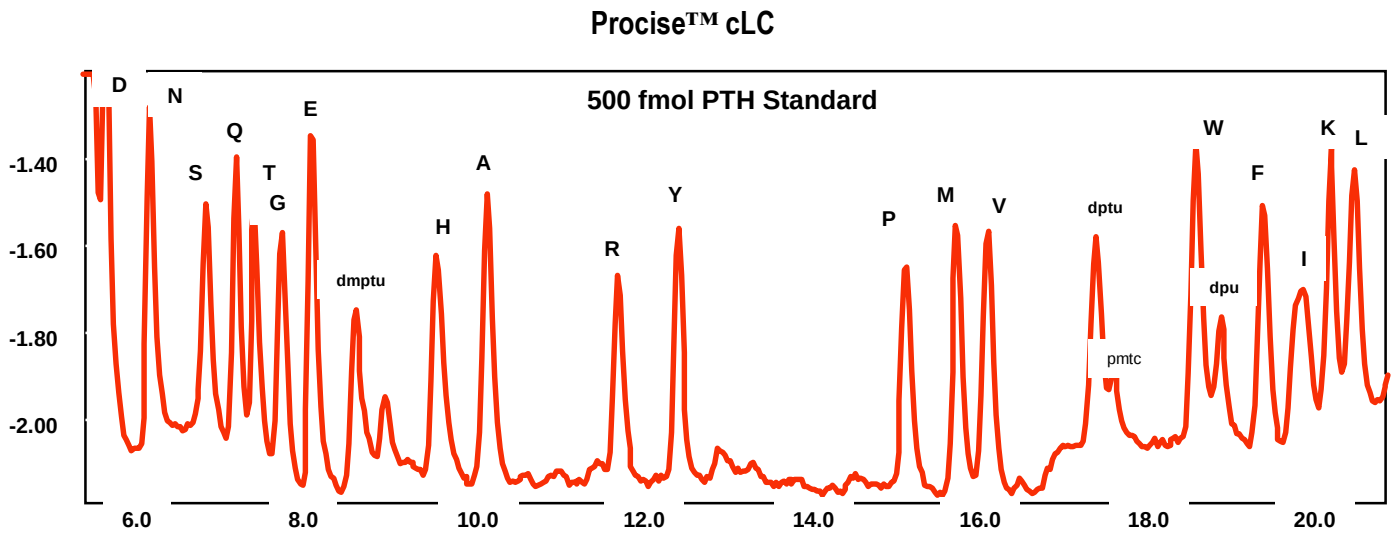
R= Me, Et, Ph

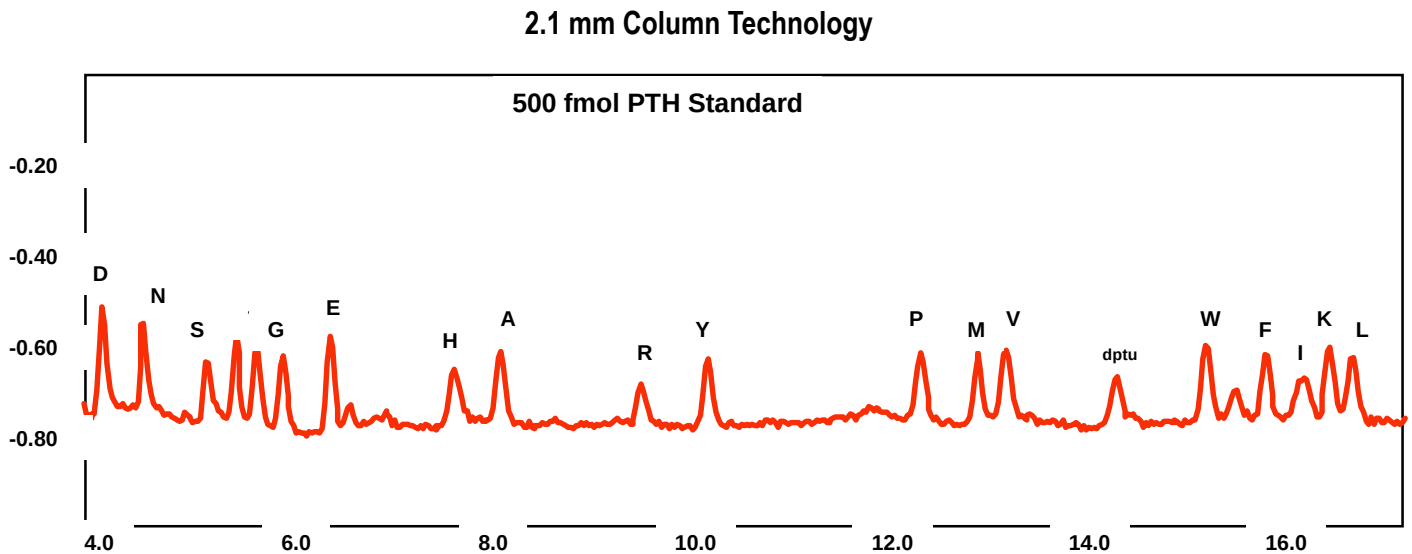
Az Edman-lebontás javasolt kémiai mechanizmusa:



További részletek: „www.chem.wisc.edu”

Standard PTH-aminosavak; azonosítás RP-HPLC



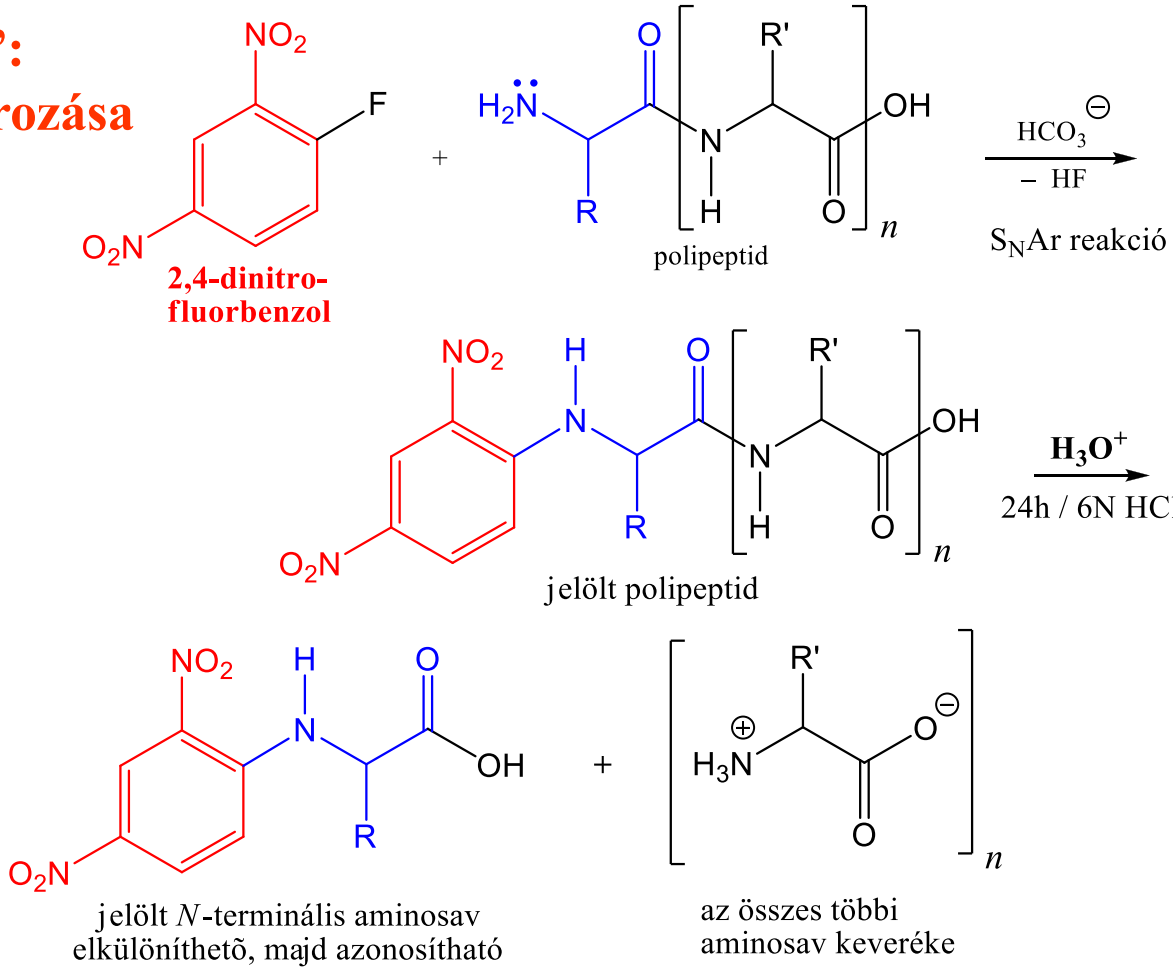


RP-HPLC: reverse phase high performance liquid chromatography

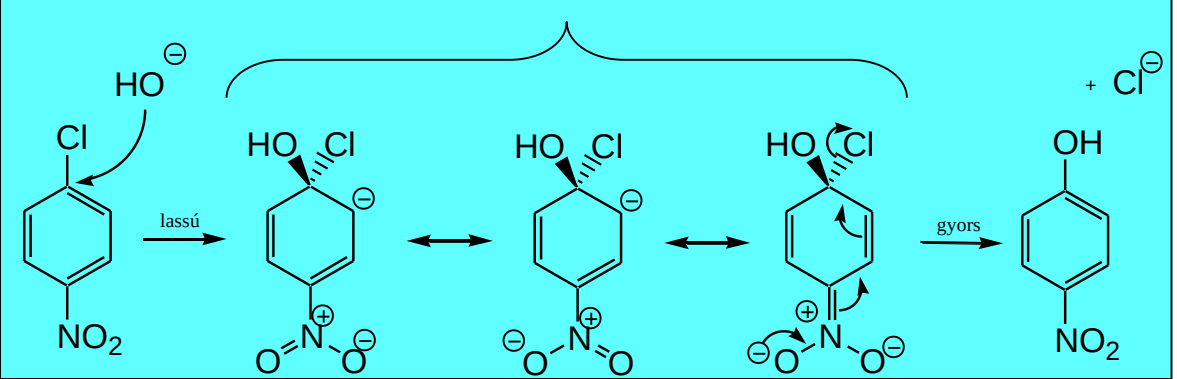
- A Sanger-féle „szekvenálás”: az *N*-terminális as. meghatározása

Frederick Sanger

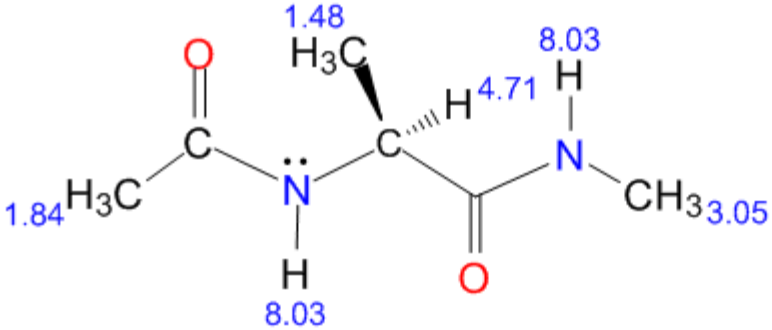
1958 Nobel-díj
Az inzulin szekvenálása



memo: S_N2 aromás



6) Peptidek NMR jellemzése:

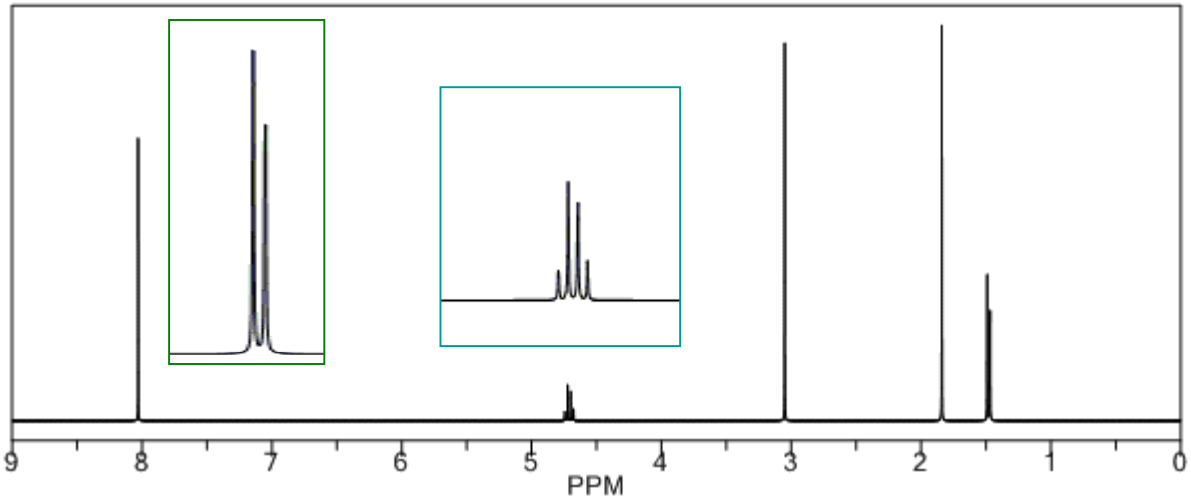


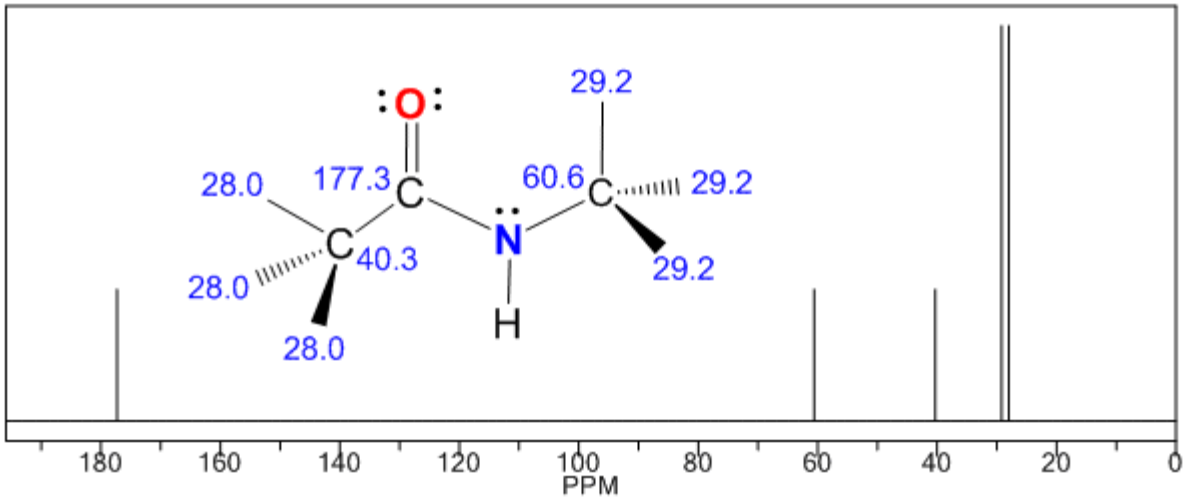
Egy diamid becsült

^{1}H

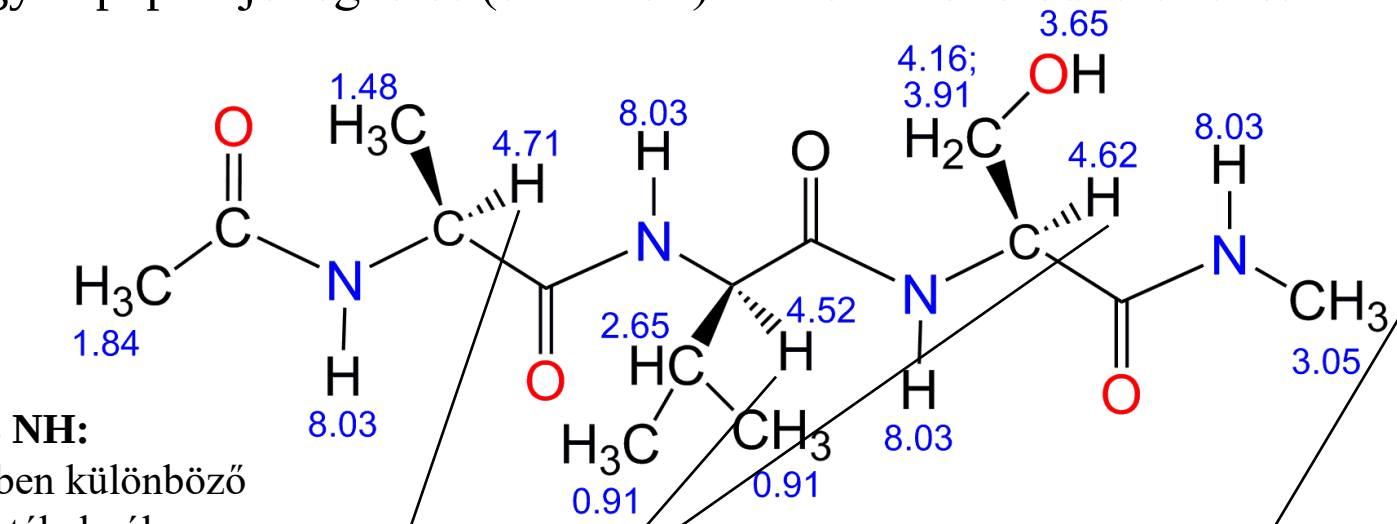
és

^{13}C kémiaieltolódás-értéke:





Egy tripeptid jellegzetes (számított) ^{1}H kémiaieltolódás-értéke:



A 3 NH: elvben különböző δ-értékeknél

Vla Hβ, elvben szeptett a 6 db. Hγ miatt

3 db. **Ala Hβ**, rendre dublett a Hα miatt

6 db. **Val Hγ**, rendre dublett a Hβ miatt

Hα-k nem csatolnak az NH-kal, ezért kvartett, triplet és dublett a jel

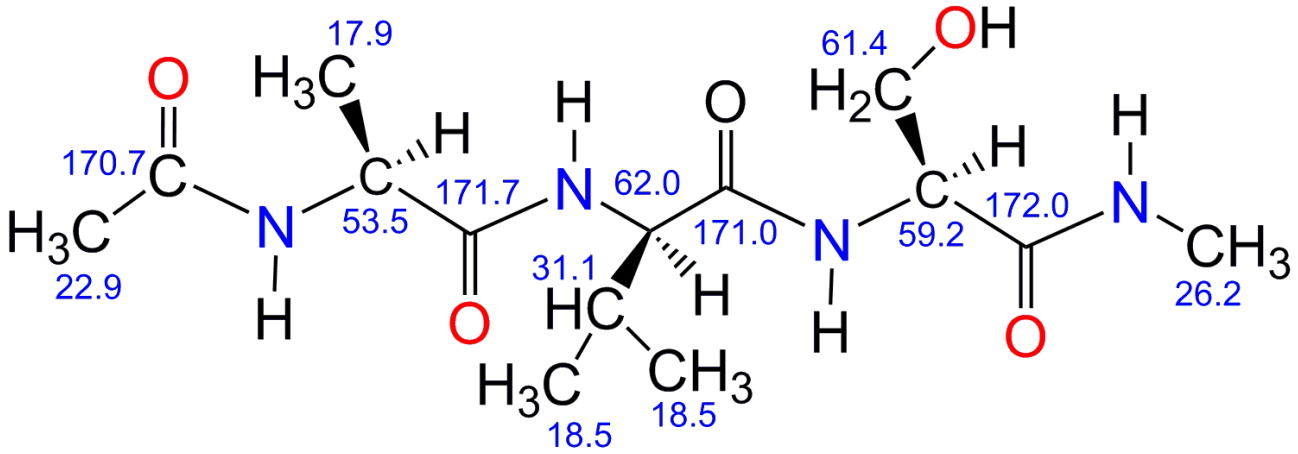
9 8 7 6 5 4 3 2 1 0

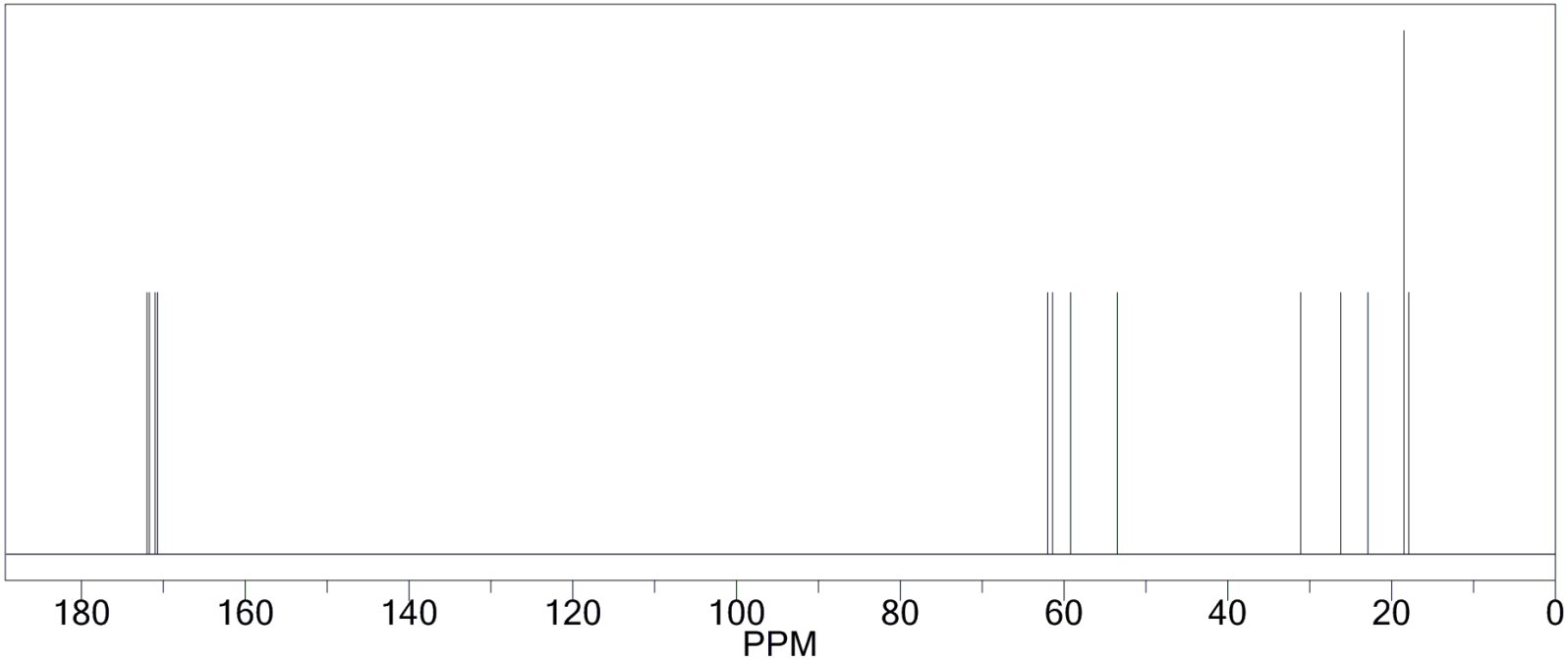
PPM

Ser-CH$_2$ dublett dublettje (Hα és OH-k miatt)

Ser-OH várhatóan cserél a H_2O-val

Egy tripeptid jellegzetes ^{13}C kémiaieltolódás-értéke:





7) Néhány érdekes oligo- és polipeptid:

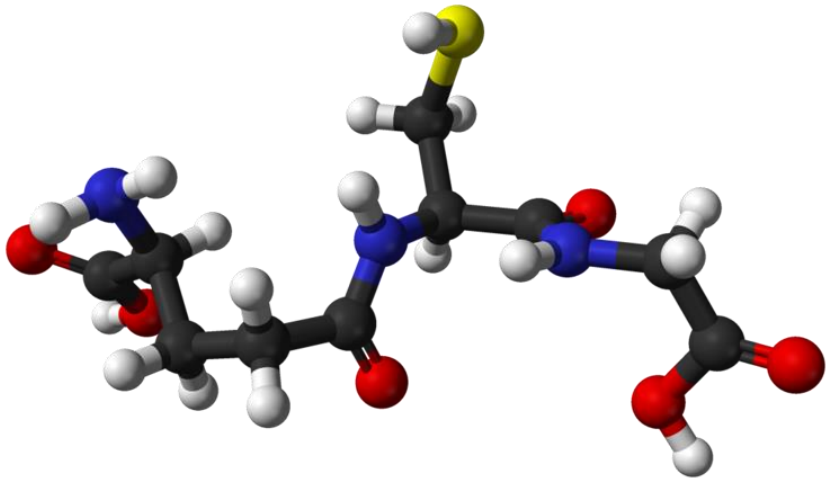
7.1) A glutation (G*SH*):

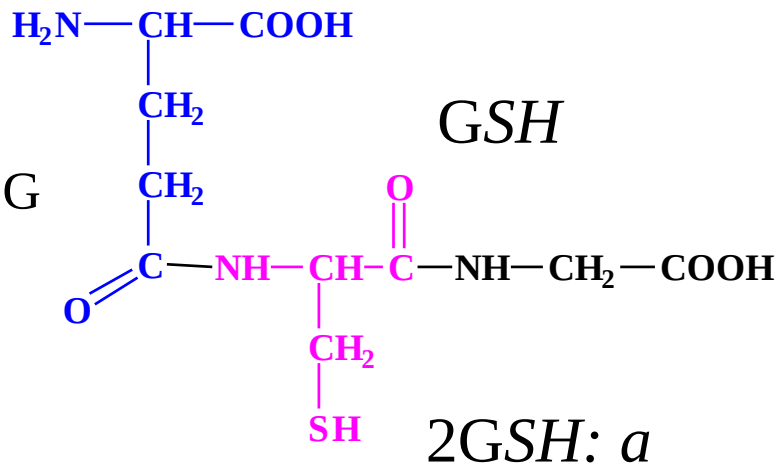
- tripeptid
  - **izo**peptidkötés
  - redox rendszer: 2 GSH $\rightleftarrows$ 1 GSSG

H–Glu(Cys–Gly-OH)–OH

H–Glu–OH
└**Cys–Gly–OH**

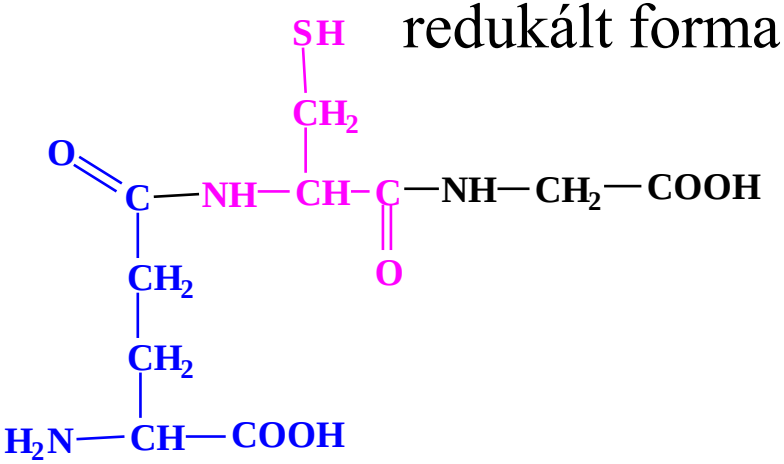
:= GSH





G*SH*

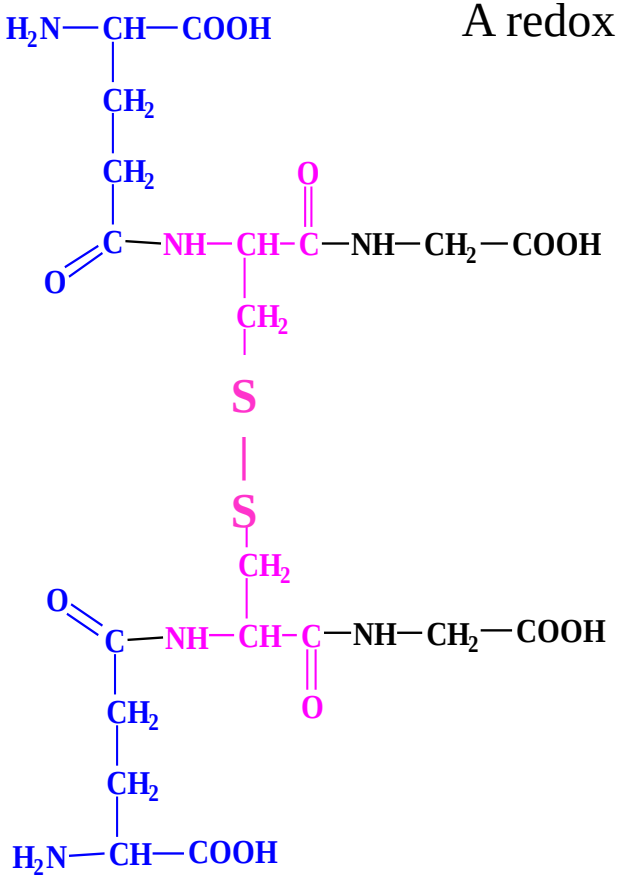
2G*SH*: *a* redukált forma



G*SH*

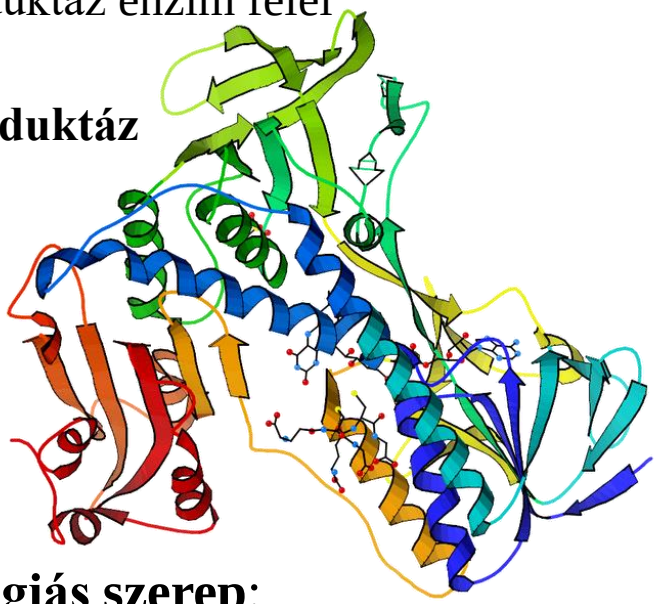
GSSG: az oxidált forma

A redox folyamatért a glutation reduktáz enzim felel



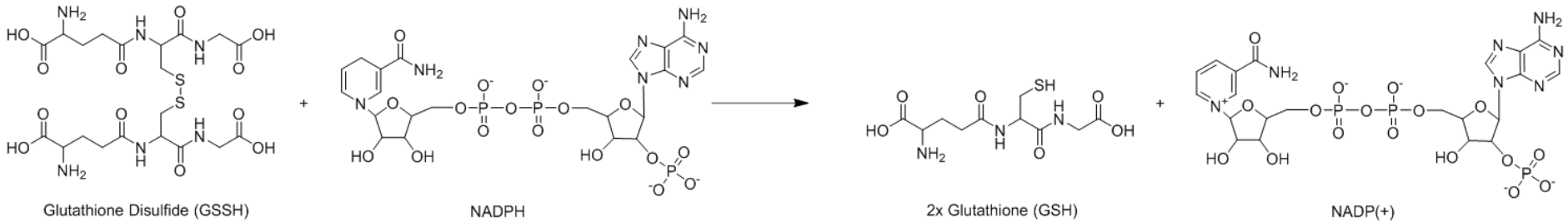
GSSG

Glutation reduktáz



GSH fiziológiás szerep:

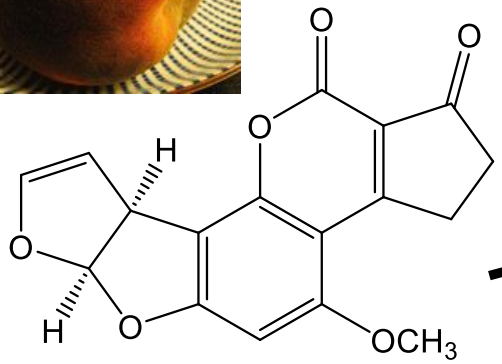
- aminosav-transzport a sejtmembránon át
- scavenger/ gyökfogó
- Fe^{2+}/hemoglobin
- redukálószer



A Glutation biológiai szerepe: a méregtelenítő metabolizmus része

Az oxidálódott aflatoxin nukleofil szubsztitúciós reakció során kapcsolódik a glutationhoz, s így jóval polárisabbá válik az alapmolekula. A már vízoldható tioéter kiürül a szervezetből.

glutation
(γ-glutamil-ciszteinil-glicin)



aflatoxin B1
gombából származó metabolit

enzimes epoxidálás
("aktiválás")

S_N reakció

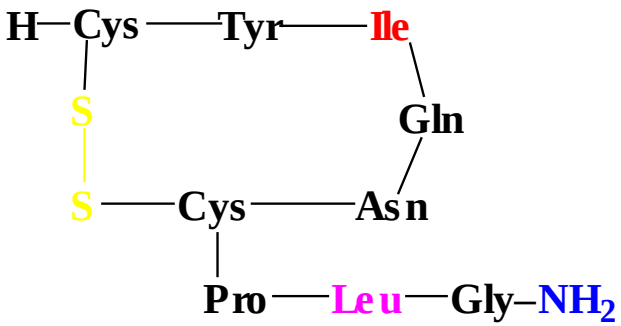
a glutation felnyitja az epoxid gyûrût

aflatoxin B1-glutation adduktum

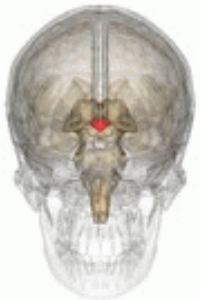
7.2) Három oligopeptid-hormon:

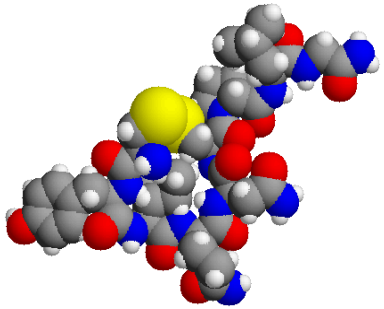
2.1) Az Oxytocin

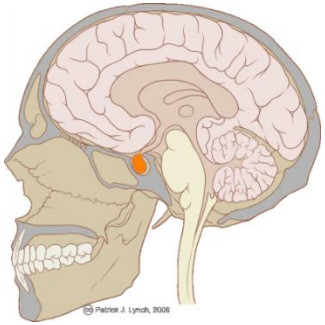
görög eredetű szó, jelentése *gyors szülés*



- méhizom-összehúzódás
- tejkiáramlás az emlőmirigyből



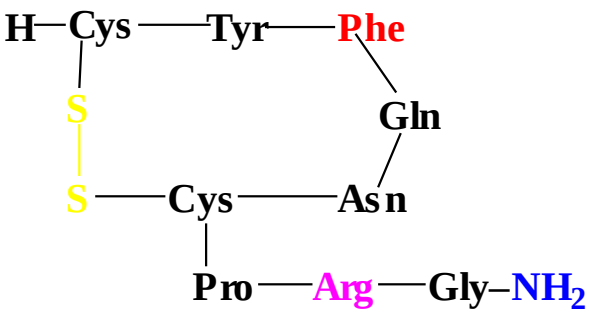




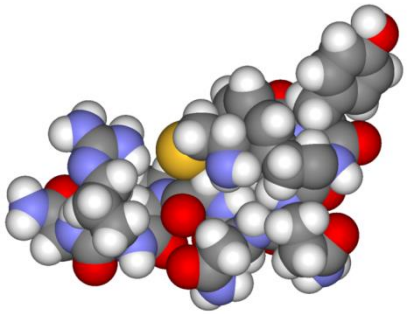
- az agyalapi mirigy hátulsó lebenyében tárolódó,
- a hipotalamuszból érkező hormon.
- regulálja a simaizmok működését,
- felhasználás: szülés megindításában (ma is napi rutin).

2.2) Antidiuretikus hormon (ADH)

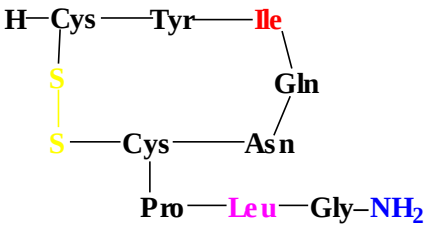
régi nevén **Vazopresszin**



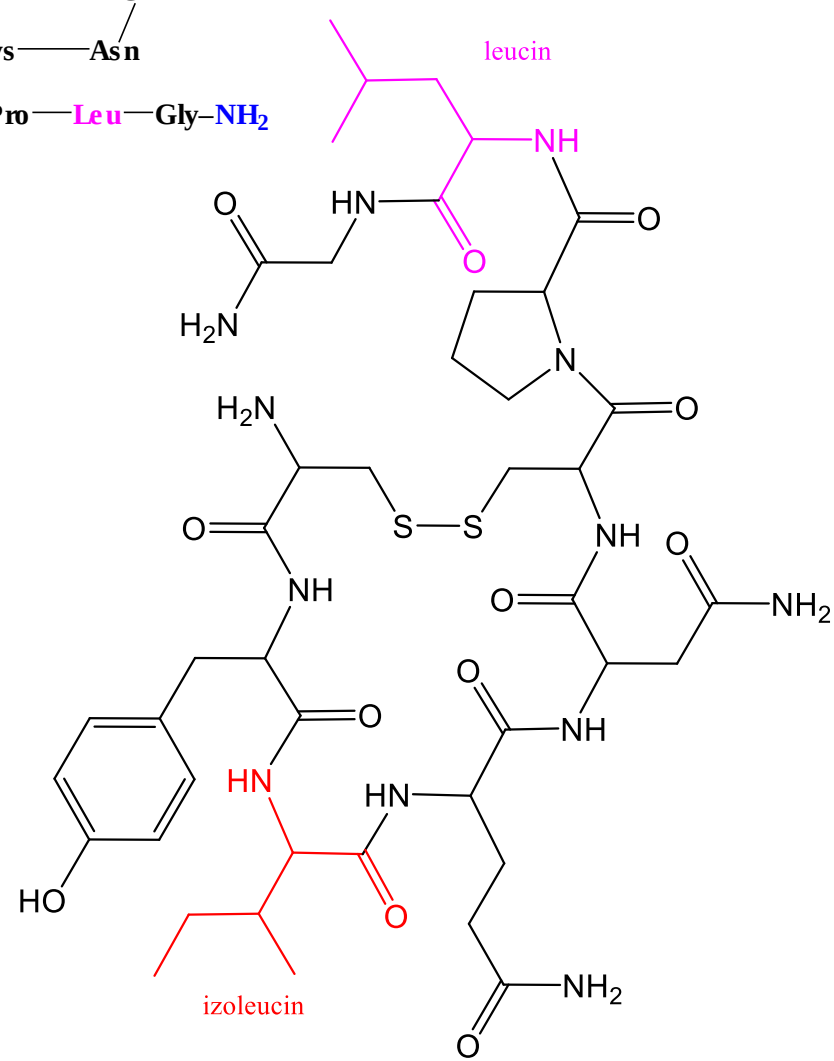
- antidiuretikus hatás víz-újrafelvétel a vesébe
- vérerek összehúzódás vérnyomás-szabályozás

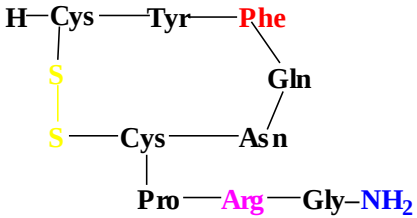


Az oxitocin és a vazopresszin elsődleges szerkezete:

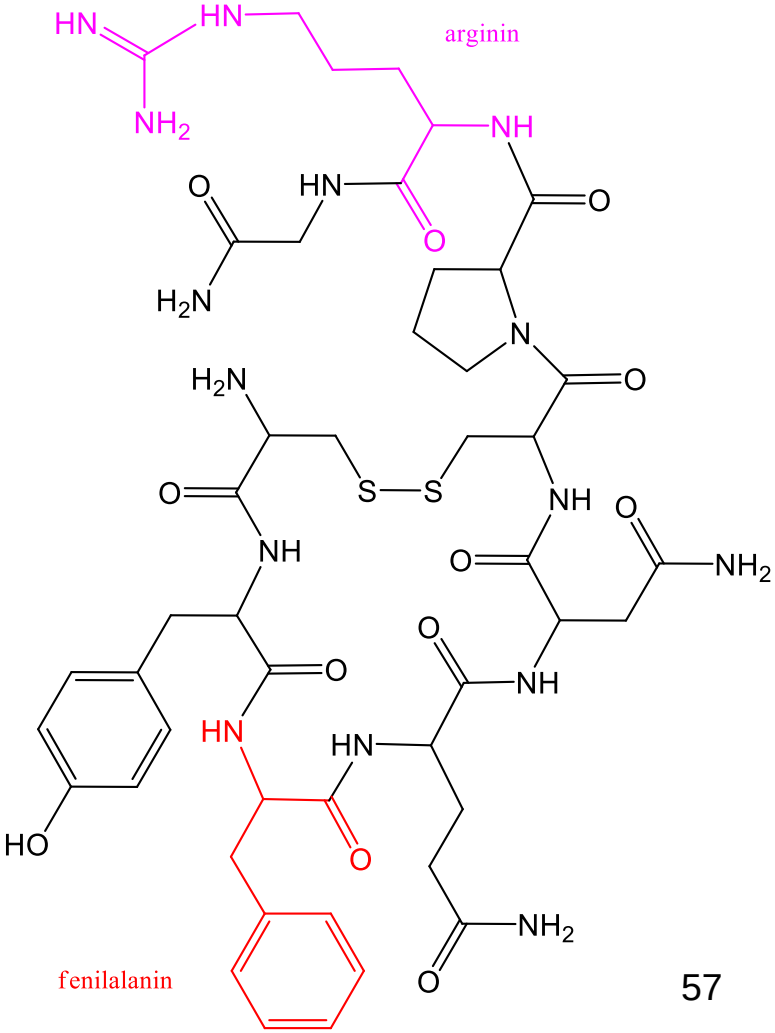


oxitocin

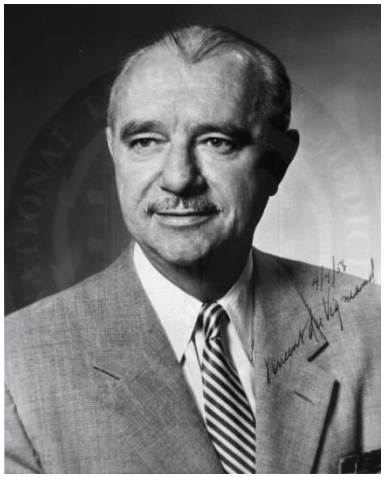




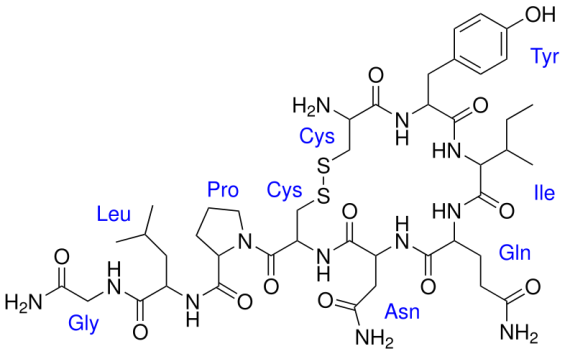
vazopresszin

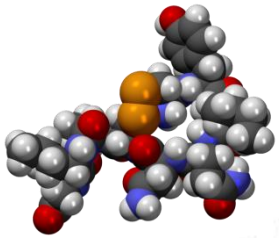


Az oxitocin



Vincent du Vigneaud
1953 izolálta és szintetizálta az oxitocint, amiért 1955 Nobel-díjjal ismerték el

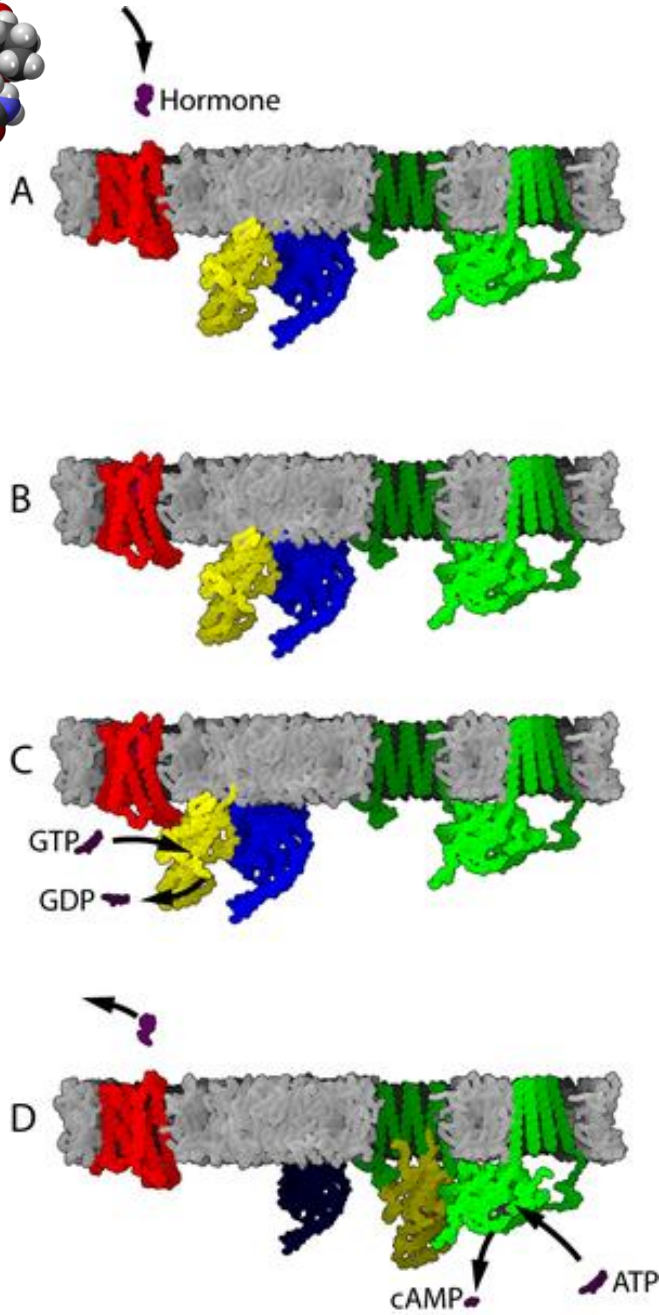




A neurophisin I-hez kapcsolt oxitocin „szállítás” közben.

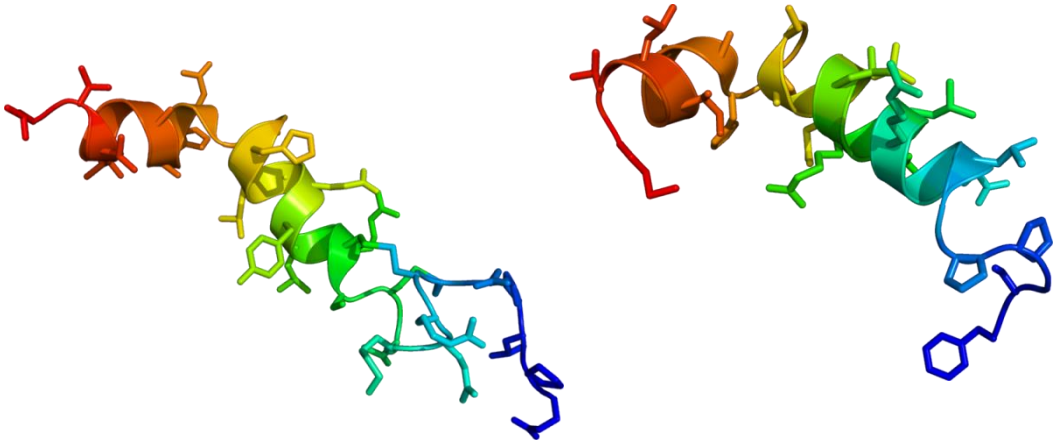
Bioszintézis, szállítás és kapcslódás

Az oxitocin inaktív formában szintetizálódik az őt szállító neurophisin I a ***OXT* génről**. Az inaktív **prekurzor** fehérje több enzimatikus hasítás során hidrolizálódik kisebb darabbokra; így az **aktív** oxitocin nonapetiddé. Az oxitocin receptorhoz, amely egy GPCR-hez (G-fehérje kapcsolt receptorhoz) kötődve fejti ki hatását.



2.3) Orexin A (33 a.s. 2 SS-kötés) **és B** (28 a.s.) **izoformák)**

görög eredetű szó, jelentése *étvágy* (az „anorexia” is ebből a szótőből ered)

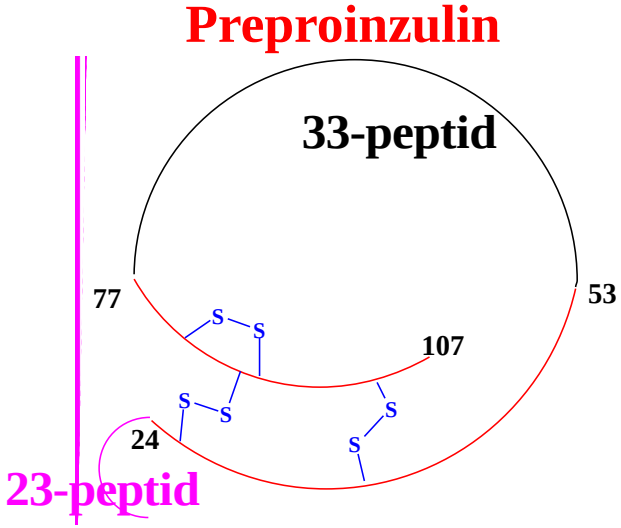


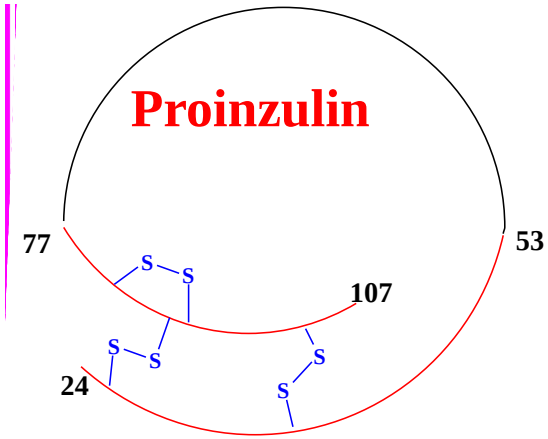
***Orexin**, also called **hypocretin**, is a **neurotransmitter** that regulates arousal, wakefulness, and appetite. The most common form of narcolepsy, in which the sufferer briefly loses muscle tone (cataplexy), is caused by a lack of orexin in the brain due to destruction of the cells that produce it.*

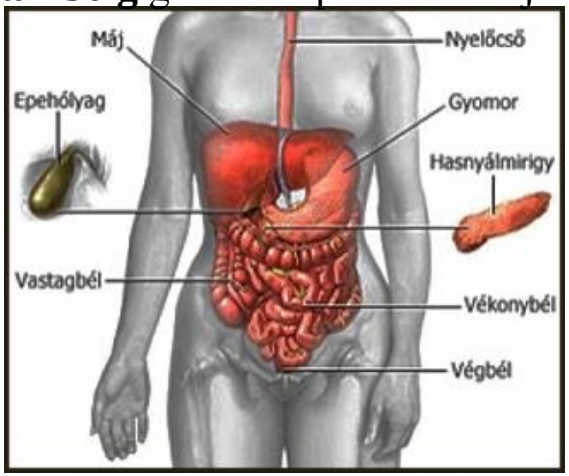
7.3) Az inzulin: - a hasnyálmirigy hormonja,
- a cukor metabolizmus szabályozója

vércukorszint optimális értéke: 4-6 mM
(5*180 mg/1000 ml) ~ **1 g/1 l**

memo: normális körülmények között naponta **250 g** glükóz képződik a májban

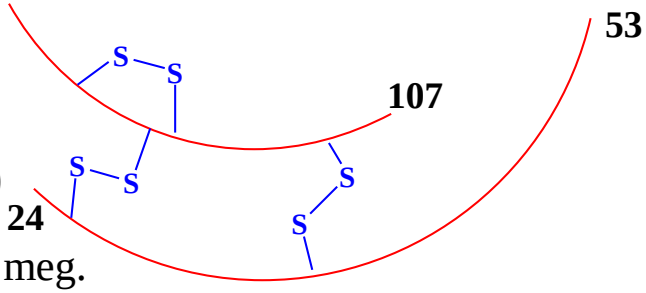






inzulin: 51 as. peptid hormon (glükózból glikogént állít elő a máj és izomsejtekben, az inzulinhiány következtében a vércukorszint megemelkedik.) (proinzulinból hasad ki, a pankreász β-sejtjei termelik)

Sanger (1953) 10 év munkával elsőnek a marha inzulint szekvenálta meg.



Inzulin:
- A és B láncok
- Az as. összetétel és a hossz fajfüggő

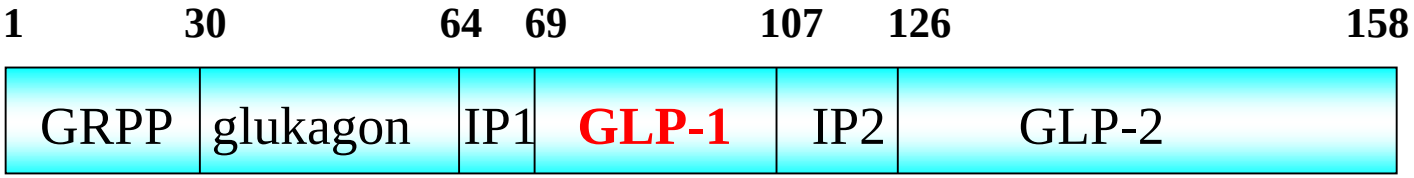
a szarvasmarha inzulin:

A-lánc H_2N-GIVEQCCASVCSLYQLENYCN-COOH

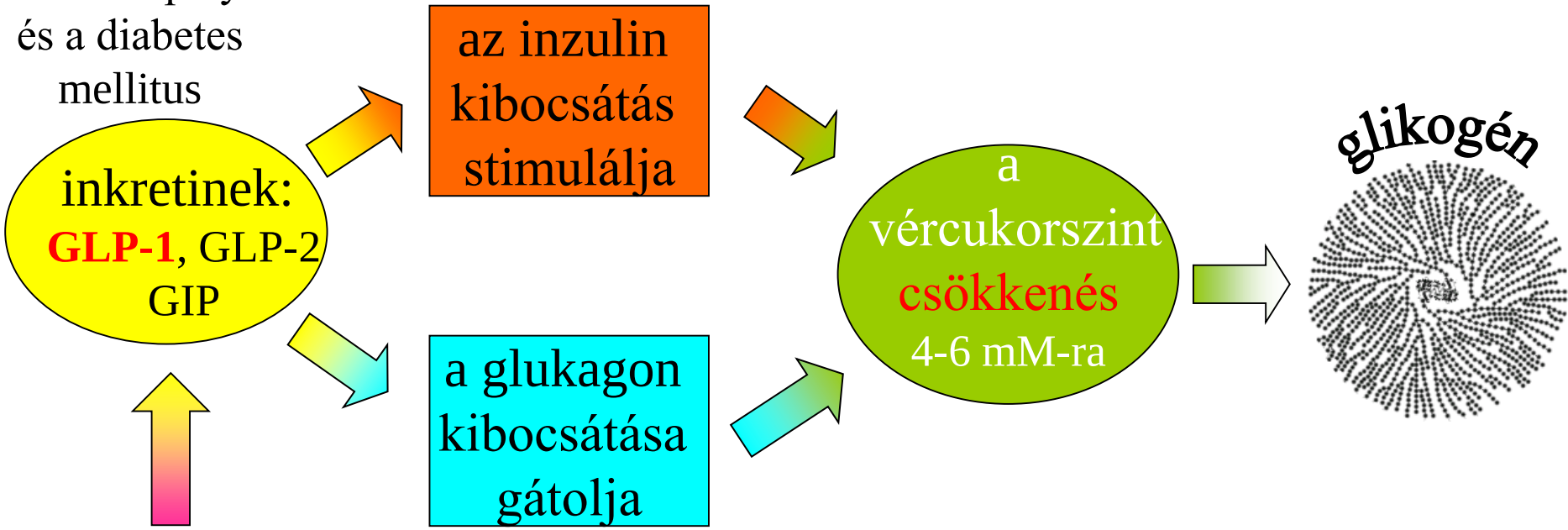
B-lánc H_2N-FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA-COOH

A vércukorszintet szabályzó polipeptidek

Proglukagon gén



Az inzulin jelátviteli pályái és a diabetes mellitus



inzulin: 51 as. peptid hormon (glükózból glikogén [máj és izomsejt], vér-zsírokból triglicerid [zsírsejt]) (proinzulinból hasad le, pankreász β-sejtek)

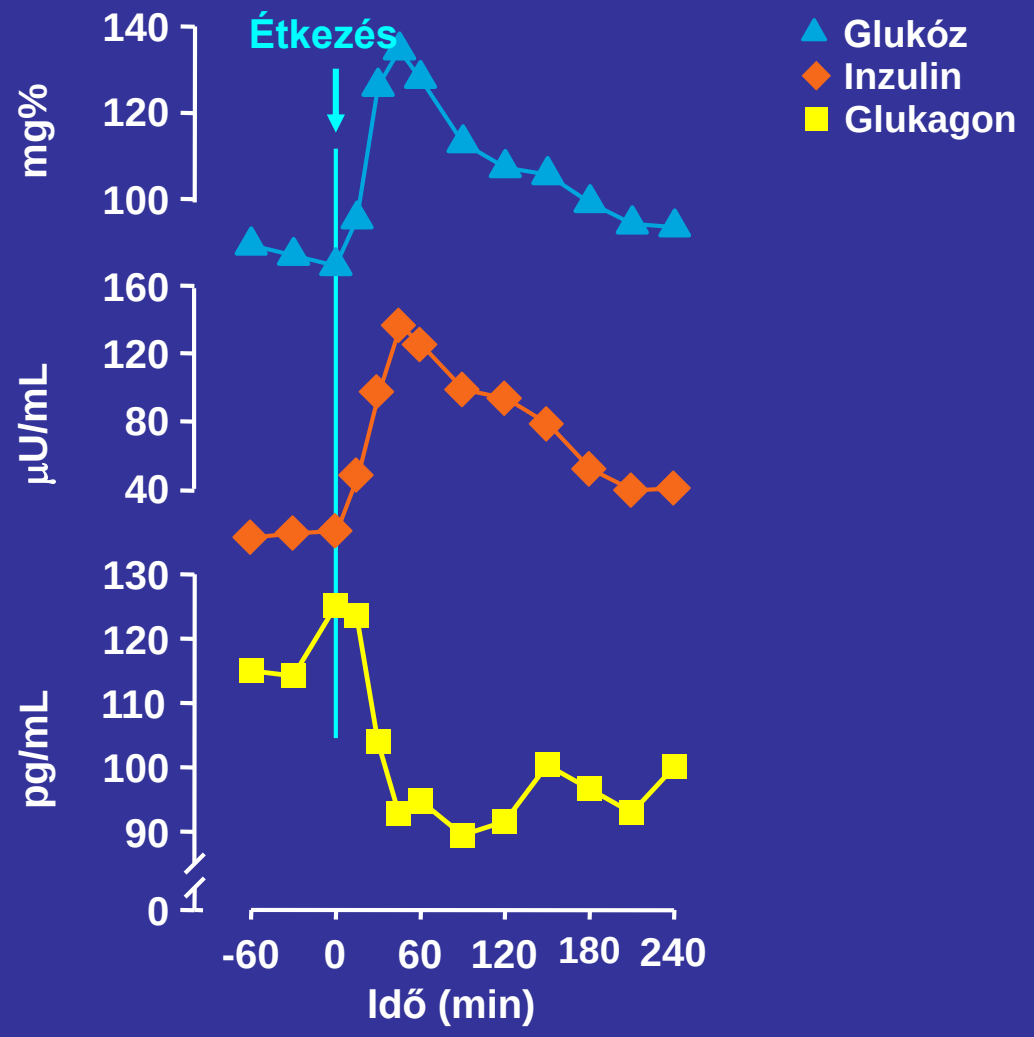
glukagon: 29 as. peptid hormon (glikogénből glükóz [máj és izomsejt] (proglukagonből (158as) hasad le, pankreász α-sejtek)

inkretinek: inzulin kibocsátó hatású gasztrointesztinális hormonok (pl. GLP-1, GLP-2 és GIP)

GLP-1: Glucagon-like peptide-1: 38 as. pept. horm. proglukagonból hasad le

GIP: Gastric inhibitory polypeptide

A vércukorszint szabályozása



Étkezést követően:

↑ inzulin

↓ glukagon

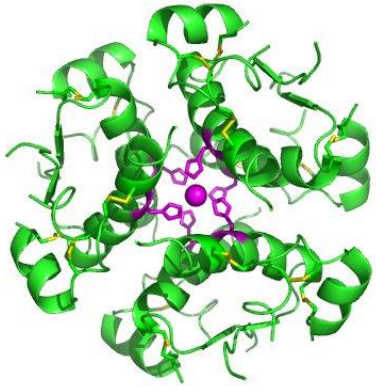
Plazma glukóz β-sejt ↑
Nerualis tényezők (?)
Incretinek

Unger RH. *N Eng J Med* 285 : 443-449. 1971. nyomán

- Az Inzulin felfedezői:

Frederick Grant Banting **John James Richard Macleod**

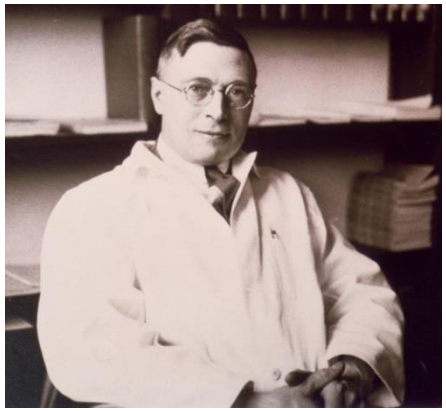
1923 megosztott orvosi Nobel-díj az inzulin felfedezéséért



A monomer formában aktív inzulint szervezetünk hexamerként tárolja. (6 His imidazol gyűrűje koordinálódik a Zn-ion köré, három-fogású szimmetriával.

memo: Banting sértőnek és igazságtalannak találta, hogy asszisztensét Charles Best-et mellőzték, s ezért a díjat és az elismerést megosztotta vele. Ennek hatására Macleod is megosztotta az elismerést James Collip-pal. Az inzulinra vonatkozó szabadalmukat pedig - 1 dollár ellenében - átadták a Torontói Egyetemnek.

Charles Best



James Collip