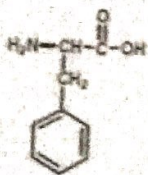


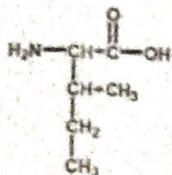
## Задача 1.

Пептиды заданного строения не удается получить прямой конденсацией  $\alpha$ -аминокарбоновых кислот, так как уже при реакции двух разных  $\alpha$ -аминокислот могут быть получены четыре различных дипептида.

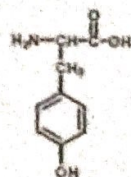
1. Ниже приведены названия, структурные формулы и обозначения трех аминокислот. Изобразите трипептиды (слева изображается  $\text{NH}_2$ -группа, а справа  $\text{COOH}$ ), которые получатся при прямой конденсации эквимольной смеси этих трех аминокислот и содержат все три разные аминокислоты. Какие группы полученных пептидов могут быть заряженными в водных растворах при нейтральных значениях pH?



Фенилаланин (Phe)



Изолейцин (Ile)



Тирозин (Tyr)

Чтобы получить пептиды заданного строения, аминогруппу одной  $\alpha$ -аминокислоты и карбоксильную группу другой аминокислоты необходимо временно блокировать защитными группами. Кроме того, требуется активация карбоксильной группы, которая должна вступить в образование пептидной связи, так как карбоновые кислоты обычно реагируют с аминами только с образованием солей.

Изящный метод синтеза пептидов был разработан Брюсом Меррифилдом (1962 г., Нобелевская премия по химии 1984 г) с использованием твердофазных носителей (схема). Для этого сополимер стирола и дивинилбензола, содержащий хлорметильные группы, помещают в колонку, и через колонку пропускают раствор соли  $N$ -(*трет*-бутилоксикарбонил)- $\alpha$ -аминокислоты, которая при этом ковалентно связывается с поверхностью носителя. После снятия защитной группы проводят конденсацию со второй  $N$ -защищенной аминокислотой с помощью диметилдипептидилкарбодипимидата (ДМДП). Многократное повторение отдельных стадий пептидного синтеза позволяет получить пептид за-



данного строения, фиксированный на поверхности носителя. В заключение полученный пептид отщепляют от полимерной матрицы с помощью раствора бромоводорода в трифторуксусной кислоте.

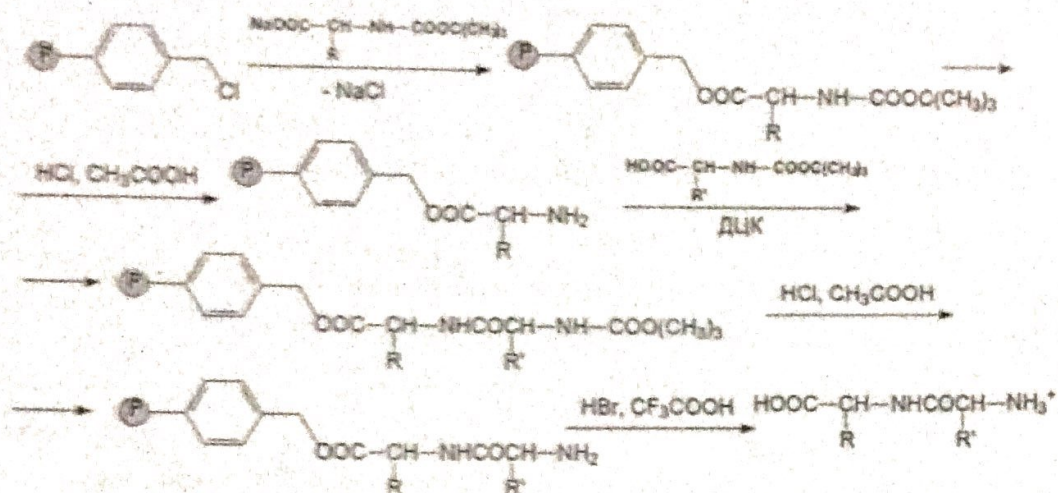


Схема твердофазного синтеза пептидов по Меррифилду.

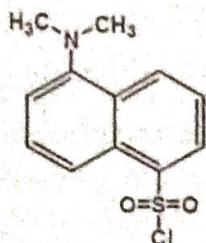
#### Определение последовательности аминокислот.

Метод определения первичной структуры белков и пептидов предложенный П. Эдманом в 1950 году основан на последовательном расщеплении пептидных связей (начиная с N-конца молекулы) действием фенилизотиоцианата (ФИТЦ, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-N=C=S).

Реакция протекает в несколько стадий: сначала при pH 9 и температуре 40°C ФИТЦ реагирует с пептидом, образуя фенилтиокарбамильное производное, затем при добавлении трифторуксусной кислоты происходит образование двух продуктов: производного 2-амилино-5-тиазолинона и пептида, укороченного на один остаток аминокислоты. Относительно неустойчивое производное (2-амилино-5-тиазолинон) непригодно для идентификации аминокислоты. Оно может быть превращено в изомерный 1-фенилимидазолидин (тиогидантоин) при слабом нагревании в кислой среде.

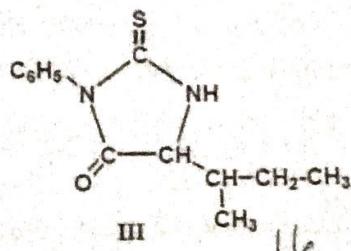
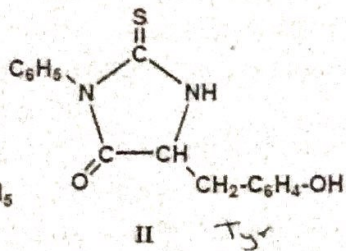
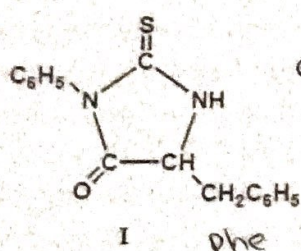
Анализ аминокислотной последовательности пептидов и белков этим методом проводят как вручную, так и в автоматическом режиме с помощью секвенатора. При работе вручную используют метод прямой идентификации тиогидантоиновых производных при помощи хроматографии, или метод Эдмана в сочетании с дансильрованием. Суть этого метода состоит в том, что после каждого цикла отщепления N-концевой аминокислоты в виде тиогидантоинового производного, вновь открывшуюся аминокислоту определяют при помощи реакции аликвоты пептида с избытком дансильхлорида (1-диметиламинонафталин-5-сульфохлорида) в щелочной среде (с последующим гидролизом

этого модифицированного пептида до аминокислот), затем оставшуюся часть пептида подвергают дальнейшему расщеплению по методу Эдмана.



Дансилхлорид

2. Напишите формулу трипептида и назовите его, если при его деградации по Эдману получены фенилтиогидантоиновые производные в следующей последовательности:



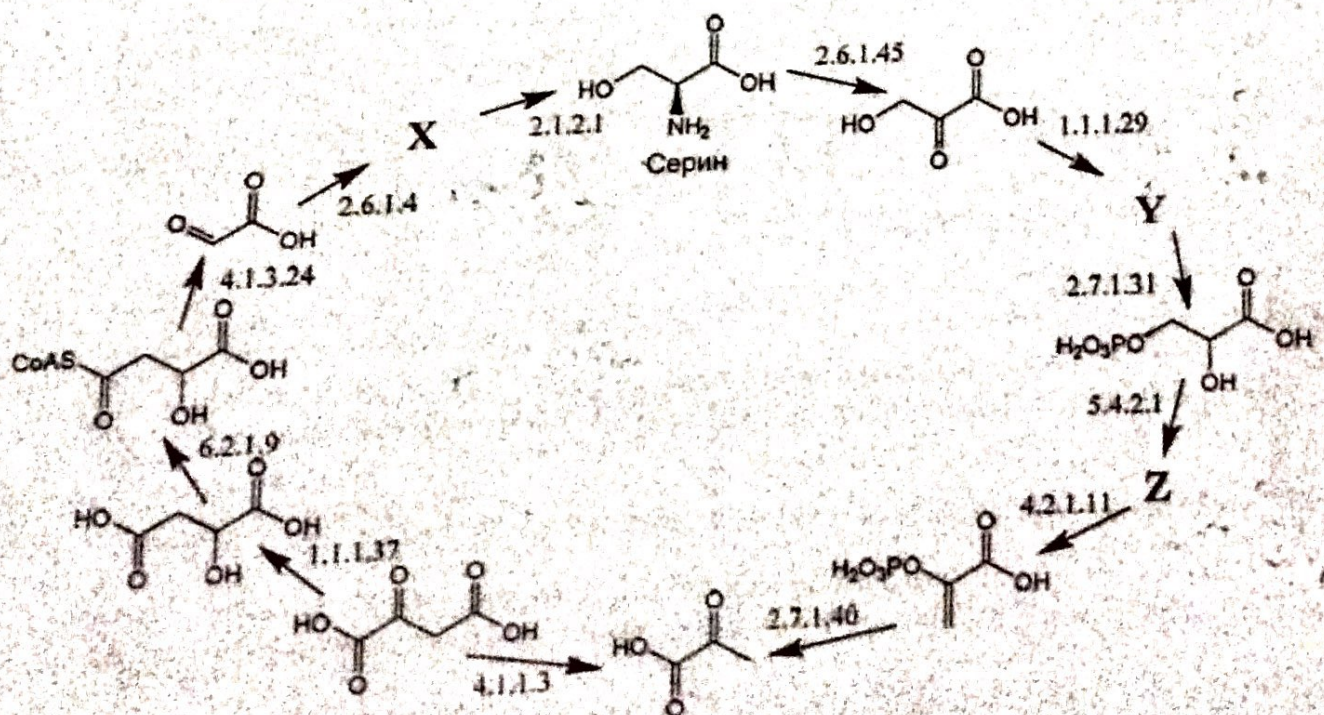
3. Приведите схему твердофазного синтеза (по методу Меррифилда) трипептида, определенного в задании 2, из соответствующих защищенных аминокислот и необходимых реагентов.
4. Напишите уравнения реакций, протекающие при последовательной деградации по Эдману трипептида, определенного в задании 2.
5. Каковы будут химические структуры веществ, получающихся после реакций:
- трипептида, определенного в задании 2 с избытком дансилхлорида;
  - дипептида, определенного в задании 4 с избытком дансилхлорида;
  - аминокислоты, полученной на второй стадии деградации по Эдману (см. задание 4) с дансилхлоридом.

## Задача 2

### Биохимическая нумерология

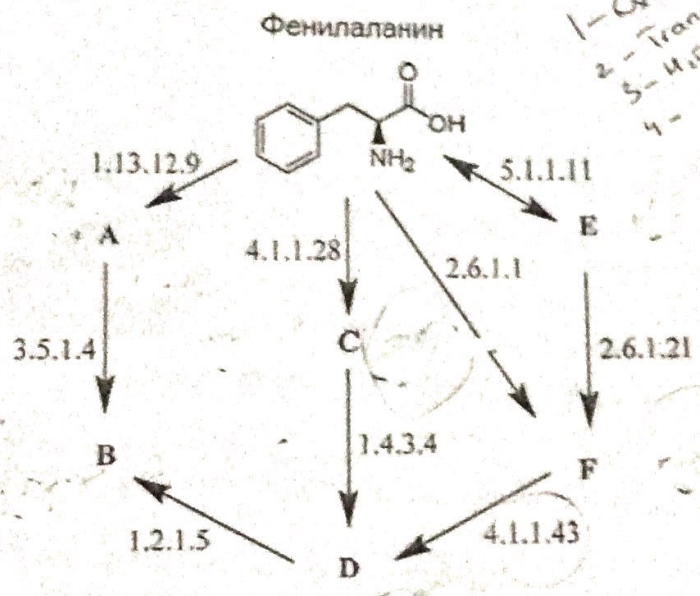
В биохимии всем изученным ферментам присваивается классификационный номер, состоящий из четырех чисел, разделенных точками. Первое число указывает на тип реакции, ускоряемой ферментом: 1 – окислительно-восстановительные процессы, 2 – перенос функциональных групп от одной молекулы к другой, 3 – гидролиз, 4 – разрыв связей или образование кратных связей с отщеплением низкомолекулярных соединений (например вода, аммиак и др), либо обратная реакция присоединения небольших групп по кратным связям, 5 – изомеризация, 6 – термодинамически невыгодное образование связей с одновременным гидролизом АТФ. Второе число обозначает тип связей или групп, участвующих в реакции. Так, все ферменты, классификационные номера которых начинаются с 2.1., катализируют перенос групп с одним атомом углерода. Третье число отвечает еще более узкой классификации реакций, например, ферменты с номерами, начинающимися с 2.1.1., переносят метильную группу. Четвертое число обеспечивает уникальность классификационного номера для каждого фермента.

С помощью приведенной ниже схемы превращений с участием аминокислоты серина под действием различных ферментов можно понять, какие реакции ускоряют те или иные классы ферментов. Классификационный номер фермента, осуществляющего каждое превращение на схеме, подписан рядом со стрелкой.



1. Напишите структурные формулы соединений X, Y, Z. Помните, что фермент может ускорять как прямую, так и обратную реакцию!

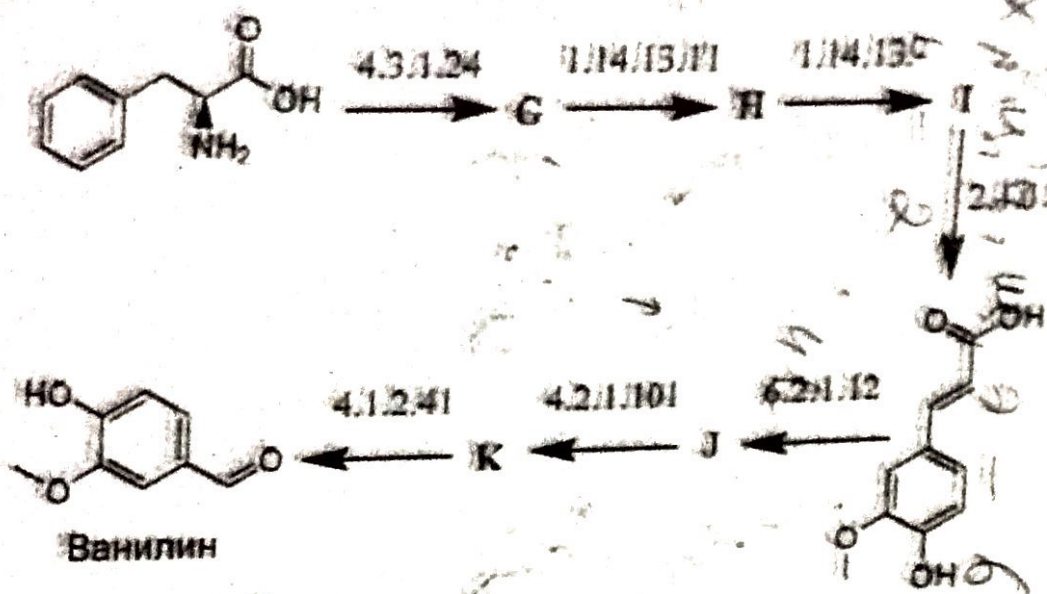
В организме здорового человека L-фенилаланин из белков в пище под действием фермента фенилаланин-4-гидроксилазы (1.14.16.1) практически полностью превращается в тирозин (4-гидроксифенилаланин). Однако у больных фенилкетонурией из-за генетического нарушения этот фермент отсутствует, поэтому метаболизм фенилаланина протекает по путям, указанным на схеме ниже. Продукты этих превращений токсичны и приводят к постепенному снижению интеллекта.



Известно, что при превращении L-фенилаланина в А поглощается кислород и выделяются углекислый газ и 1 молекула воды.

2. Расшифруйте структурные формулы соединений А-Е.
3. В какую сторону сместится равновесие между L-фенилаланином и веществом Е в растворе, содержащем фермент 5.1.1.11, при нагревании?

Для растений характерны совершенно другие метаболические пути превращения фенилаланина. Например, в ванильных стручках фенилаланин подвергается цепочки ферментативных превращений с конечным образованием ванилина.



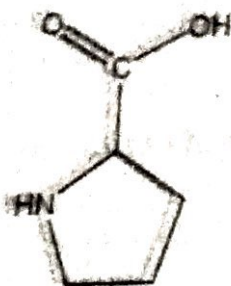
(Прочерк вместо четвертого числа означает, что номер этому ферменту еще не присвоен.)

4. Расшифруйте структурные формулы соединений G-K

### Задача 3

#### Пролин. Внесите и свойства

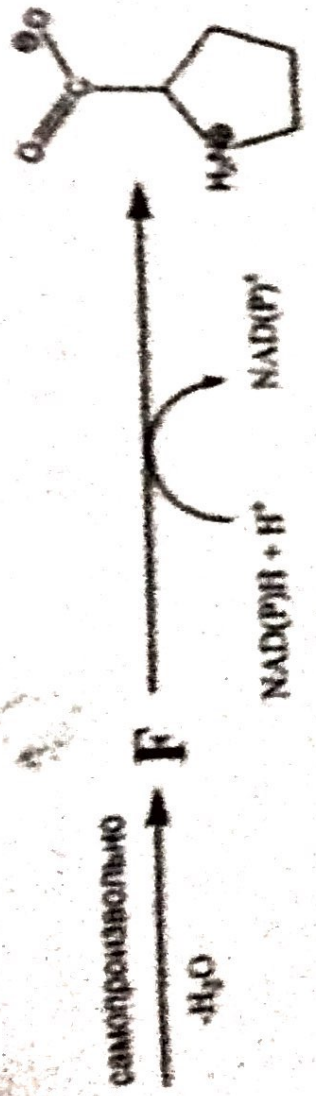
Пролин — одна из 20 кодируемых альфа-аминокислот. Она уникальна тем, что у нее, строго говоря, нет первичной аминогруппы, так как атом азота входит в состав цикла.



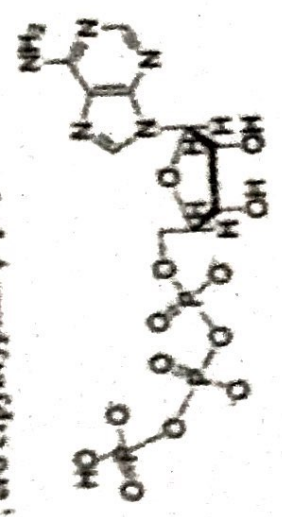
Структурная формула пролина

1. Рассчитайте изoeлектрическую точку (значение pH, при котором общий заряд молекулы равен нулю), если  $pK_a(-COOH) = 1,99$ ,  $pK_a(-NH) = 10,96$ . Изобразите структуру молекулы при этом значении pH.
2. Пролин — гибкая или жесткая молекула?
3. В организме некоторых многоклеточных животных пролин синтезируется по следующей схеме:

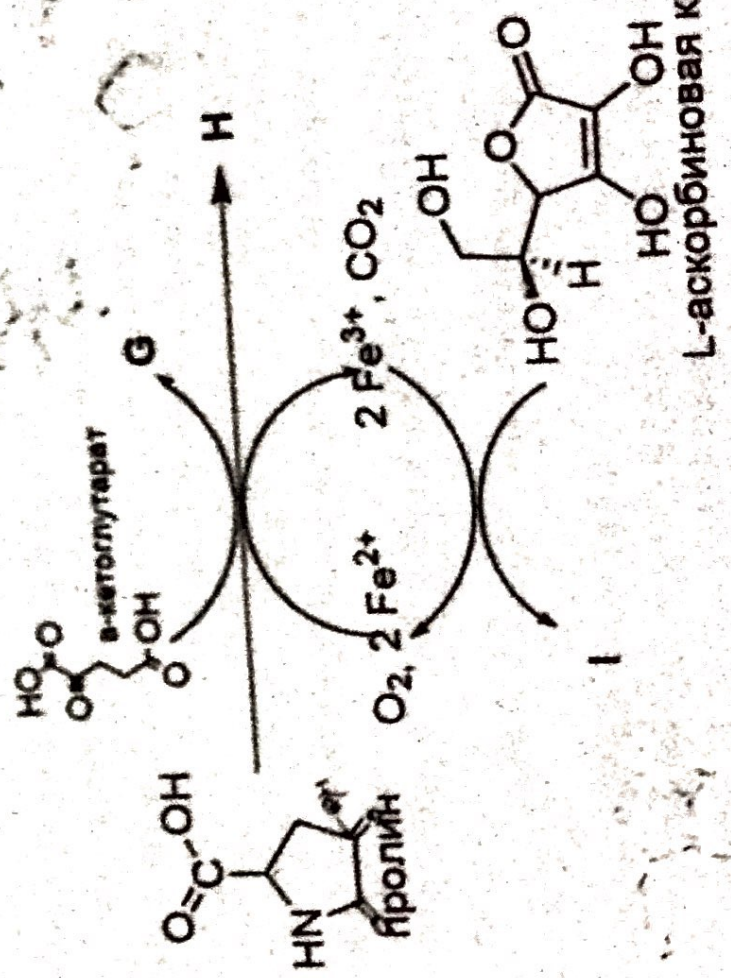




Изобразите структурные формулы веществ D, E и F, если Pi - это фосфат-ион.  
 ATP - это аденозинтрифосфат, его структурная формула:



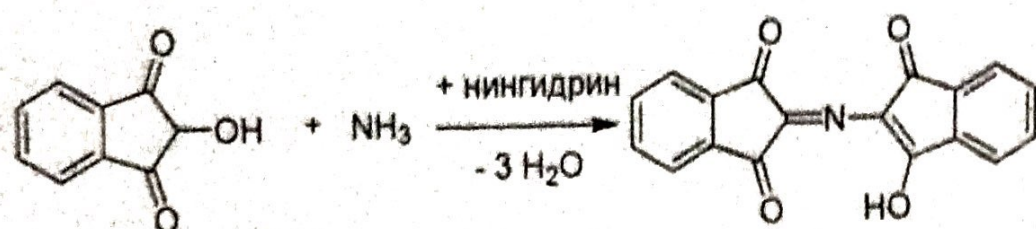
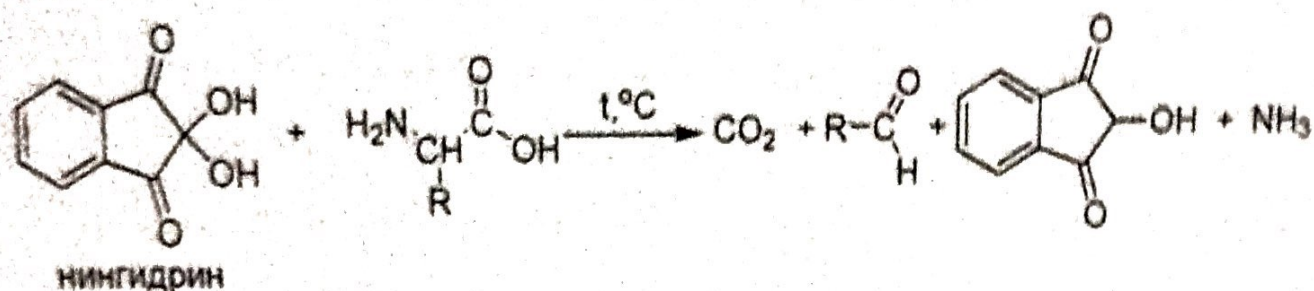
в ADP - это аденозиндифосфат. В результате взаимодействия исходного вещества с ATP образуется смешанный ангидрид.  
 5. После включения в структуру фибриллярного белка коллагена пролин подвергается пост-трансляционной модификации. Превращение протекает как три сопряженных процесса по следующей схеме:





Расшифруйте структуры веществ G, H и I, если модификация пролина происходит по  $\gamma$ -атому углерода, G – дикарбоновая кислота, и превращение L-аскорбиновой кислоты – это двухэлектронный процесс.

6. Для качественного и количественного определения аминокислот используют реакцию с нингидрином, которая обычно протекает по следующей схеме:



Получающийся продукт окрашен в фиолетовый цвет (максимум поглощения при 570 нм) и носит название фиолетовый Руеманна. В случае пролина, у которого нет аминогруппы, такое вещество не получается, и реакция протекает по-другому пути, давая продукт, окрашенный в желтый цвет. Изобразите структуру продукта взаимодействия пролина с нингидрином, если брутто-формула продукта  $C_{13}N^+O_2H_{12}$ .

7. В результате модификации пролина, описанной в вопросе 5, между различными цепями белка возникают поперечные связи, невозможные до модификации. Укажите, какой тип межцепочечных взаимодействий реализуется после модификации пролина.

а) ионные; б) гидрофобные; в) водородные; г) дисульфидные S-S связи; д) ковалентные.

#### Задача 4

$\gamma$ -Аминомасляная кислота в организме выполняет роль ингибитора нервных импульсов. Из какой  $\alpha$ -аминокислоты путем декарбоксилирования образуется  $\gamma$ -аминомасляная кислота? Опишите химическую основу действия кофермента пиридоксальфосфата в ходе декарбоксилирования.

#### Задача 5

Приведите строение Leu-энкефалина – нейропептида головного мозга с аминокислотной последовательностью Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu. Какие продукты образуются в результате полного гидролиза этого пептида в среде хлороводородной кислоты?