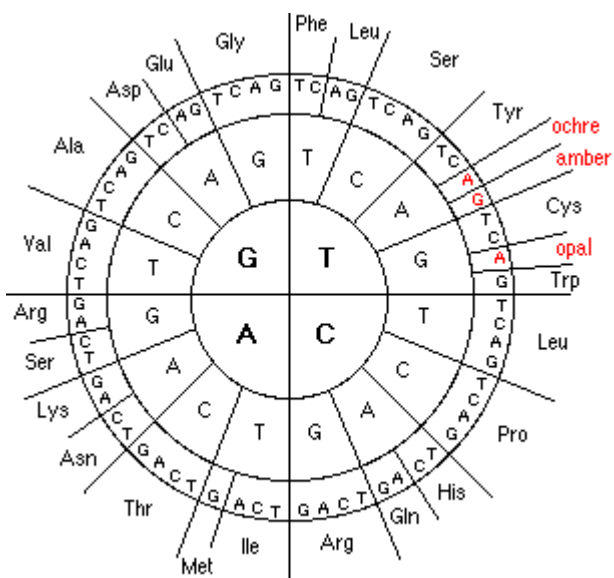


Кафедра біофізики та біохімії

АМІНОКИСЛОТИ



Наведені відомості за темою АМІНОКИСЛОТИ для вивчення та закріплення матеріалу з курсу біологічної хімії та для самоконтролю засвоєних знань. Посібник вміщує матеріал із статичної біохімії рослин та людини.

Призначений для студентів біологічних спеціальностей національного університету. Можуть бути також корисними для студентів, що навчаються за медичними спеціальностями.

Темплан 1999, поз. 50

Навчальне видання

Укладачі:
д-р біол.наук, проф. Н.І. Штеменко
канд.біол.наук, доц. О.О.Сорочан

Редактор О.І. Березовська
Техредактор Л.В. Куценко
Коректор Л.В. Куценко

Дніпропетровськ
ДНУ
2003

Підписано до друку Формат 60x84/16. Папір друкарський
Друк плоский. Ум. друк.арк. Обл.-вид. арк. Тираж 200 пр.
Замовлення №

Редакційно-видавничий відділ ДНУ, 320625, МСП, м. Дніпропетровськ-10,
пр. Гагаріна, 72.

Ротапринт ДНУ, 320050, м. Дніпропетровськ, вул. Козакова, 46

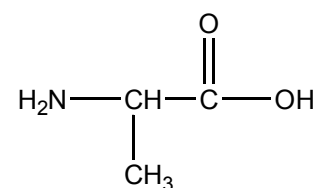
ЗМІСТ

Вступ	3
1. Класифікація амінокислот за хімічною будовою	4
2. Характеристика класів і окремих амінокислот	5
2.1. Моноамінокарбонові кислоти	5
2.2. Моноамінодікарбонові кислоти	9
2.3. Діамінокарбонові кислоти	11
2.4. Ароматичні амінокислоти	12
2.5. Гетероциклічні амінокислоти	13
3. Класифікація амінокислот за гідрофобністю радикалу	16
4. Фізичні властивості амінокислот	18
5. Оптична ізомерія амінокислот	19
6. Кислотно-основні властивості амінокислот	26
7. Хімічні властивості	33
7.1. Реакції карбоксильної групи	33
7.2. Реакції аміногруп	35
8. Амінокислотний аналіз	42
9. Використання амінокислотного аналізу в діагностиці захворювань	52
10.Список рекомендованої літератури	53

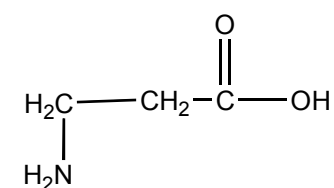
ВСТУП

Амінокислоти - це карбонові кислоти, в яких один або декілька атомів гідрогену в радикалі заміщені на аміногрупи. Вони відносяться до гетерофункціональних сполук.

В залежності від положення аміногрупи відрізняють: α -, β -, γ -амінокислоти та ін.:



α -амінопропіонова
кислота (аланін)



β -амінопропіонова
кислота (β -аланін)

Найбільш поширені в природі α -амінокислоти, з яких побудовані білки і протеїни. Їх називають протеїногенними. Протеїногенних амінокислот лише 20. Решта амінокислот входить до складу фізіологічно активних речовин (гормонів, коферментів, антибіотиків), або знаходяться в тканинах та органах живих істот у вільному стані.

Послідовність амінокислот у білках зашифрована у специфічному кодоні ДНК, тобто синтез білкових речовин є генетично регульованим. Частота, з якою різні амінокислоти зустрічаються у білках, неоднакова. Наприклад, гліцин

зустрічається у 10 разів частіше ніж триптофан: з кожної тисячі амінокислотних залишків у білках на долю гліцину приходиться приблизно 70, а на долю триптофану - приблизно 7. Інші амінокислоти за поширеністю займають середнє положення, утворюючи такий ряд: (аланін = валін = лейцин =серин) > (глутамінова кислота =глутамін = лізин = аргінін = пролін) > (аспарагінова кислота = аспарагін = ізолейцин = треонін = фенілаланін) > (тирозін = цистеїн = метионін = гістидин).

На практиці широко використовуються тривіальні назви амінокислот, які найчастіше пов'язані з джерелами їх виділення. В біохімії застосовують трьохлітерні або однолітерні коди, які складаються з трьох або однієї букви: аланін - Ала (А), гліцин - Глі (G).

1 Класифікація амінокислот за хімічною будовою

За хімічною будовою радикалу амінокислоти розділяють на аліфатичні (моноамінокарбонові, діаміномонокарбонові, дикарбонові амінокислоти) і циклічні (ароматичні і гетероциклічні). Маючи на увазі загальноприйняту систему класифікації органічних сполук, яка враховує будову карбогенового скелету та наявність функціональних груп, можна дотримуватись такої класифікаційної схеми:

АМІНОКИСЛОТИ

АЛІФАТИЧНІ

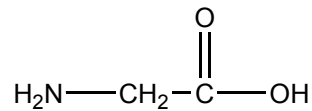
ЦИКЛІЧНІ

<i>Моноаміно- монокарбонові</i>	<i>Моноаміно- дикарбонові</i>	<i>Діаміномоно- карбонові</i>	<i>Арома- тичні</i>	<i>Гетеро- Циклічні</i>
Гліцин	Аспарагінова кислота	Лізин	Феніл- аланін	Триптофан
Аланін	Глутамінова кислота	Аргінін	Тирозін	Гістидин
Валін				Пролін
Лейцин				
Ізолейцин				
Серин				
Треонін				
Цистеїн				
Метионін				

2. Характеристика класів і окремих амінокислот

2.1. Моноамінокарбонові кислоти

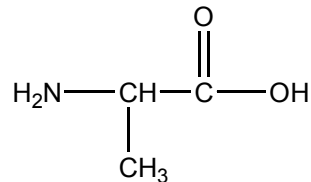
1. Гліцин (Глі, Gly, G) - амінооцтова кислота, глікокол (від грецьк.glicos - солодкий).



Оптично не активна, білі призми з Т.пл. 233⁰ С, М 62,99.

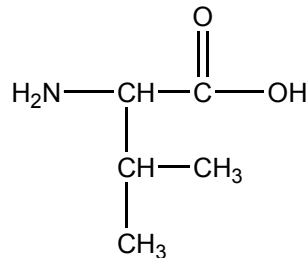
В білках натурального шовку міститься до 36%, багато його в тваринному клеї - желатині. Гліцин бере участь в утворенні гемоглобіну, пуринів, холіну та ін.

2. Аланін (Ала, Ala, А) - α-амінопропіонова кислота



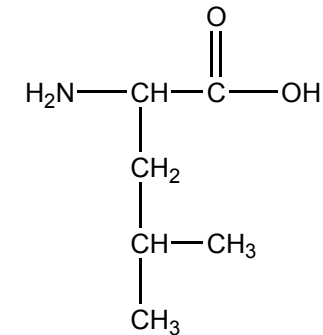
Містить хіральний центр, L(+)-аланін входить до складу багатьох білкових речовин. Кристалічна речовина, добре розчинна у воді, Т.пл. 297⁰ С, М 89,09. В фіброїні шовку міститься від 2 до 8%. D(-)-аланін було знайдено в злоякісних пухлинах.

3. Валін (Вал, Val, V) α-аміноізовалеріанова кислота, Т.пл. 315⁰ С, М 116,99.



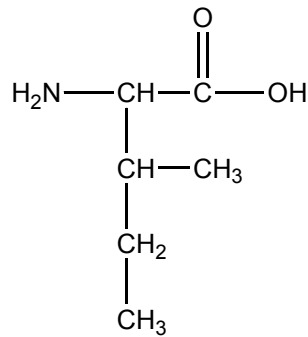
Валін виділено з білків підшлункової залози, в організмі людини і тварин не утворюється. Під впливом дріжджів при спиртовому бродінні перетворюється на ізобутиловий спирт, який є складовою частиною сивушних масел. Незамінна амінокислота.

4. Лейцин (Лей, Leu, L) α-аміноізокапронова (2-аміно-4-метилпентанова кислота).



Білі блискучі кристали (від грецьк.лейкос - білий) Т.пл. 337⁰ С, М 130,99. Міститься в казеїні, альбуміні яйця; у гемоглобіні крові вміст його досягає 29%. Незамінна амінокислота.

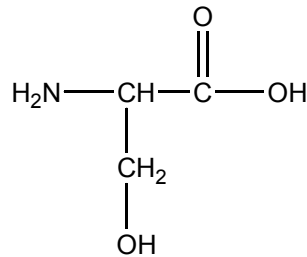
5. Ізолейцин (Ілей, Іе, I) α-аміно-β-метилвалеріанова (2-аміно-3-метилпентанова) кислота, Т.пл. 284⁰ С, М 130,99. Належить, як і лейцин, до незамінних амінокислот. L(+)-ізолейцин знайдено в буряковій мелясі; при спиртовому бродінні перетворюється в ізоаміловий спирт і разом з ізобутиловим є основною складовою частиною сивушних масел.



Лейцин і ізолейцин синтезуються в рослинах, застосовуються в медицині при токсикозах, анемії, психічних розладах.

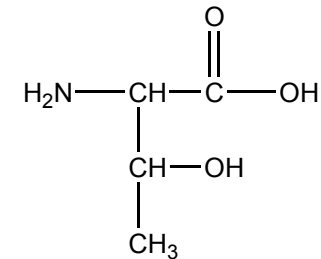
До класу моноаміномонокарбонових кислот також відносяться гідрокси-амінокислоти (серин, треонін) та сірковмісні (метионін, цистеїн).

5. Серин (Сер, Ser, S) α -аміно- β -гідроксипропіонова (2-аміно-3-оксипропіонова) кислота, Т.пл. 228 °С, М 104,99.



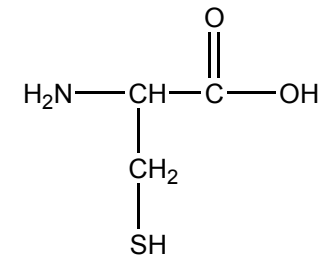
Серин входить до складу фіброїна шовку (від лат. sericeus - шовковистий) і других білків. Міститься в казеїні молока, в жовтках яєць і відіграє важливу роль в обміні речовин. Серин є структурним елементом фосфатидів мозку і попередником холіну і коламіну.

6. Треонін (Тре, Thr, T) α -аміно- β -оксимасляна (2-аміно-3-гідроксибутанова) кислота, Т.пл. 253 °С, М 118,99.

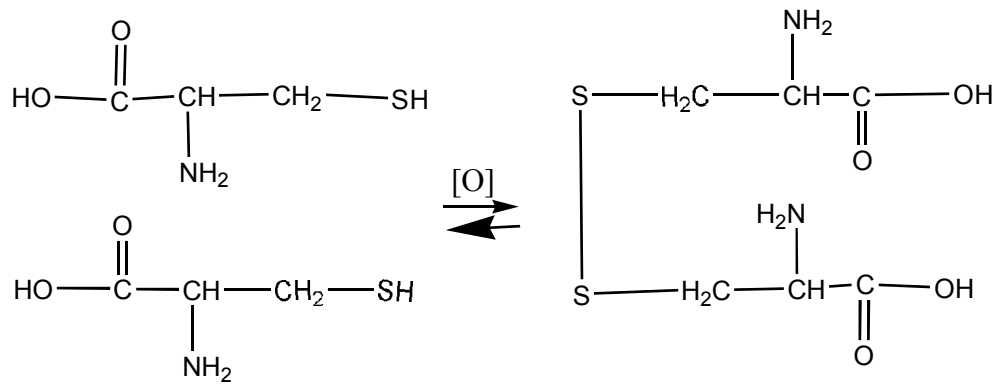


Вперше була виділена із кератину гусячого пір'я. Міститься також в мікроорганізмах і рослинах: цибулі, цвітній капусті, огірках, малині, тощо. Незамінна амінокислота.

7. Цистеїн (Цис, Cys, C, C-SH) α -аміно- β -меркаптопропіонова (2-аміно-3-меркаптопропанова) кислота, Т.пл. 178 °С, М 120,99



У живому організмі цистеїн легко окислюється в цистеїн-ди-сульфід:

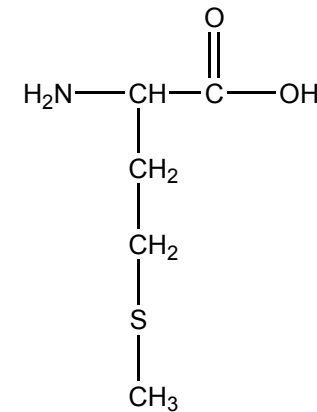


цистин

9. Цистин (Цист, Cyst, Ct), димер цистеїну, Т.пл. 258 °С (розкл), М 240,98.

В клітинах легко перетворюється в цистеїн внаслідок відповідного відновного процесу. Обидві амінокислоти входять до складу кератину вовни, волосся, рогів, копит. Волосся людини містить 13-14 % цистину. Тіоамінокислоти використовуються для попередження і лікування променевиx захворювань.

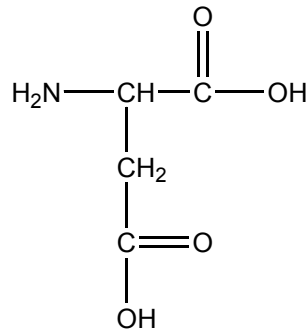
10. Метионін (Мет, Met, М) α-аміно-γ-метилмеркаптомасляна (2-аміно-4-метилтіобутанова) кислота, Т.пл. 283 °С, М 148,99.



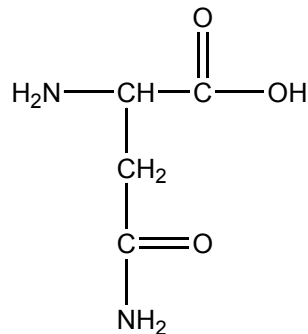
В живих організмах метионін є складовою важливого метилюючого агента, бере участь в утворенні вітаміну В₁₂, фолієвої кислоти, гормонів. В разі нестачі метионіну в організмі збільшується кількість холестерину і жиру, тому використовується для лікування атеросклерозу і захворювань печінки. Незамінна амінокислота.

2.2 Моноамінодикарбонові кислоти

11. Аспарагінова кислота (Асп, Asp, N) α-аміноянтарна (2-амінобутандіова) кислота, Т.пл. 270 °С, М 132,98.



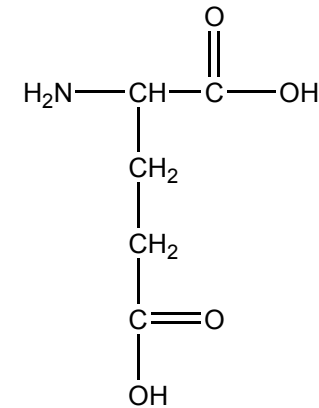
В рослинах дуже поширений її неповний амід - L-(-)-аспарагін (Asn, Asn, N), Т.пл. 238⁰С, М 131,99, який вперше було виділено з проростків спаржі (від лат. asparagus - спаржа).



Разом з D-(+)-аспарагіном він міститься у проростках вікі (до 28%). Особливо багато його в проростках рослин, пророщених у темряві, тобто тоді, коли фотосинтез у рослин відсутній.

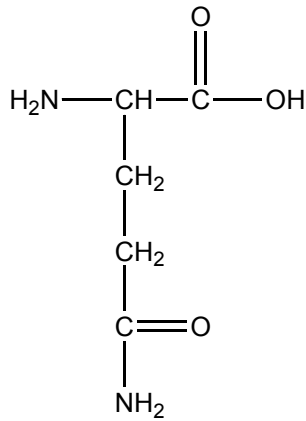
Д.М.Прянишников встановив, що аміак, який утворюється при обміні білків в рослинах, знешкоджується аспарагіною кислотою, яка при цьому перетворюється в аспарагін.

12. Глутамінова кислота (Глу, Glu, E) α-аміноглутарова (2-амінопентандіова) кислота, безбарвні кристали з Т.пл. 249⁰С, М 146,98.



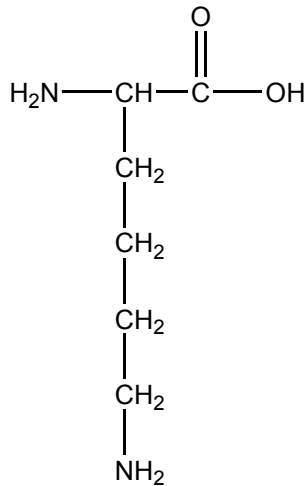
L-глутамінова кислота вперше була виділена з клейковини злаків (від лат. gluten - клей). Вона міститься у великих кількостях у білках пшениці, кукурудзи, молока, яєць, м'яса. Вона також зв'язує аміак в процесі обміну речовин і перетворює його в амід - глутамін (Глн, Gln, Q), Т.пл. 185⁰С, М 145,99. Глутамінова кислота приймає участь в процесах трансамінування амінокислот.

У вільному стані, а також у вигляді солей (глутамінати кальцію і магнію) вона широко застосовується в медицині для лікування нервових захворювань, поліомієліту, епілепсії, менінгіту, тощо.



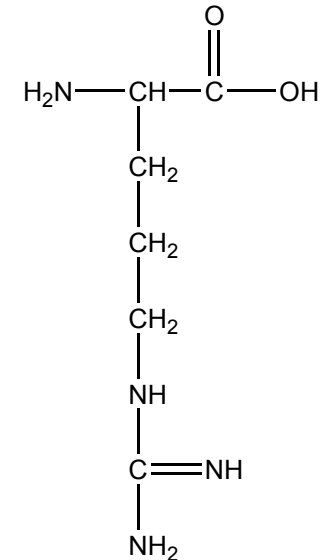
2.3. Діаміномонокарбонові кислоти

13. Лізин (Ліз, Lys, L) α,ϵ -діамінокапронова, (2,6-діаміногексанова) кислота, Т.пл. 224 °С, М 145,99.



Міститься у значних кількостях у цибулі, шпинаті, горосі, малині, не синтезується в організмі людини. Незамінна амінокислота.

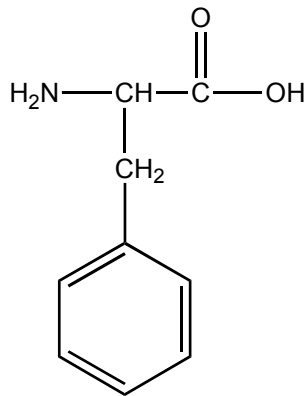
14. Аргінін (Арг, Arg, R) α -аміно- δ -гуанідиновалеріанова (2-аміно-4-гуанідинобутанова) кислота, Т.пл. 238 °С, М 173,99.



Зустрічається в рослинах у вільному та зв'язаному стані, найбільше у капусті, цибулі, малині, яблуках та ін.

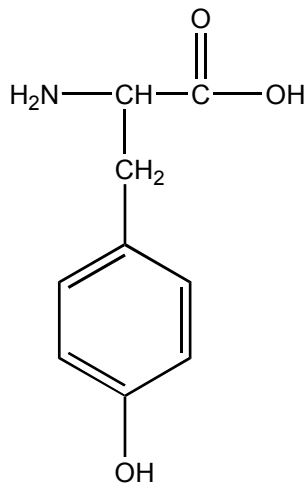
2.4. Ароматичні амінокислоти

15. Фенілаланін (Фен, Phe, F) α -аміно- β -фенілпропіонова (2-аміно-3-фенілпропанова) кислота, Т.пл. 275 °С, М 164,99.



Виділена з білків люпину. В живому організмі є біологічним попередником тирозину і катехоламінів. Незамінна амінокислота.

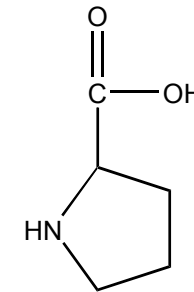
16. Тирозин (Тир, Туг, Y) α -аміно- β -(*p*-гідроксифеніл)пропіонова кислота [β (*p*-гідроксифеніл)-аланін], Т.пл. 344 °С, М 196,98.



Бере участь в утворенні біогенних амінів (катехоламінів). Застосовується при лікуванні нервових захворювань, менінгіту. Тирозін бере участь у синтезі тироксину - гормону щитовидної залози, адреналіну і норадреналіну, тощо.

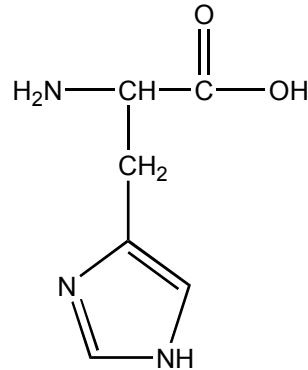
2.5. Гетероциклічні амінокислоти

17. Пролін (Про, Pro, P) α -піримідинкарбонова кислота, Т.пл. 299 °С, М 114,99. Відноситься до імінокислот. Знайдена в казеїні у великих кількостях.



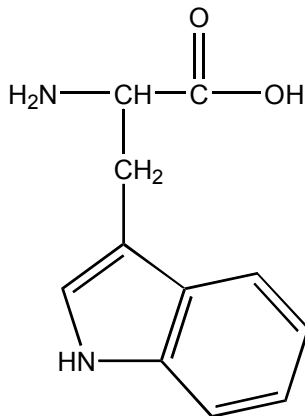
Накопичується в інтенсивних точках росту рослин. Акумулюється в якості висококалорійного субстрату, є джерелом азоту і фізико-хімічним медіатором метаболізму, спроможним брати участь в репараційних процесах клітини. Пролін накопичується при зневодненні, сольовому, холодовому та інших видах стресів. Вважається “захисною” амінокислотою.

18. Гістидин (Гіс, His, H) α -аміно- β -(β -імідазоліл)пропіонова кислота, (β -(β -імідазоліл)аланін), Т.пл. 277°C , М 154,99.



Міститься в м'язах тварин, в значних кількостях в гемоглобіні крові. Знайдена в цибулі, шпинаті, яблуках, смородині у вільному стані. Застосовується при лікуванні виразкової хвороби шлунку та дванадцятиперстної кишки. Незамінна амінокислота.

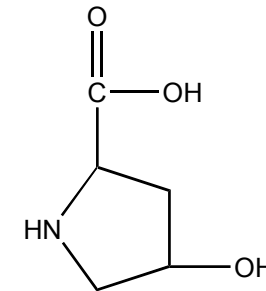
19. Триптофан (Трп, Trp, W) α -аміно- β -(β -індоліл)пропіонова кислота (β -(β -індоліл)аланін, Т.пл. 382°C , М 203,99.



В тваринних організмах не синтезується. Незамінна амінокислота. Бере участь в утворенні вітаміну РР.

Важливими амінокислотами, що не входять до складу білків або зустрічаються у їх складі дуже рідко, є :

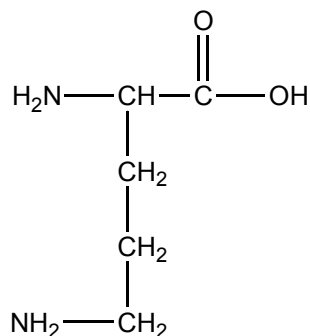
Гідроксипролін 4-гідроксипіримідинкарбонова кислота, Т.пл. 270°C .



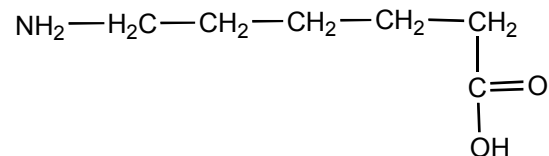
Була виділена з желатину.

В колагені - білку сполучної тканини зустрічається також 5-гідроксилізин (2,6-діаміно-5-оксікапронова кислота).

Орнітин α,δ -діаміновалеріанова (2,5-діамінопентанова) кислота, Т.пл. 140°C , М 131,99. Ферментативне розщеплення аргініну призводить до утворення орнітину і сечовини - $(\text{H}_2\text{N})_2\text{C}=\text{O}$ (цикл сечовини). Аргінін і орнітин перетворюють кінцевий продукт обміну азотовмістних речовин - аміак в сечовину. Сам аміак - клітинна отрута.



ε-Амінокапронова кислота є сировиною для цінного волокна - капрону. Її добувають із циклогексанону, через його оксім, який при нагріванні у сірчаній кислоті зазнає бекманівського перегрупування у внутрішній ациламід - ε-амінокапронової кислоти – капролактаму.

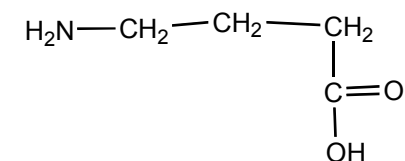


ε-амінокапронова кислота

Полімеризацією капролактаму або поліконденсацією ε-амінокапронової кислоти одержують полікапролактаму, із якого готують поліамідне капронове волокно.

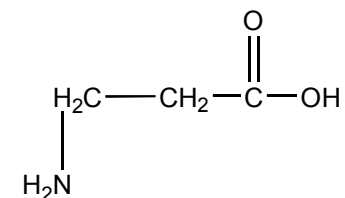
1
3

γ-Аміномасляна кислота, M 102,99



Приймає участь в процесах обміну головного мозку і є нейромедіатором. Її похідні - гідрохлорид γ-аміно-β-фенілмасляної кислоти та ін. застосовуються в медицині як психотропні заспокійливі препарати (транквілізатори). Є компонентом антиоксидантного захисту клітин.

β-Аланін - β-амінопропіонова кислота

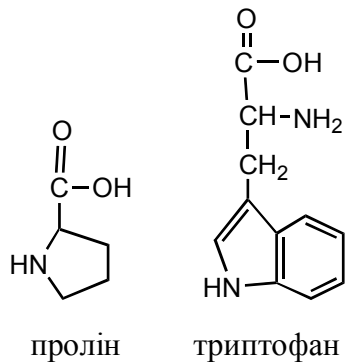
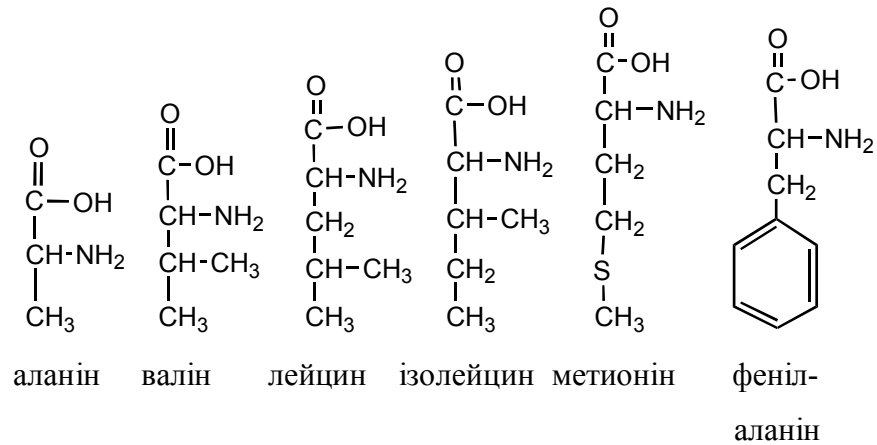


Вперше була виявлена у складі дипептиду м'язів. Вона є структурним компонентом вітаміну В₃ - пантотенової кислоти, ансерину, карнозину. До складу білків вона не входить.

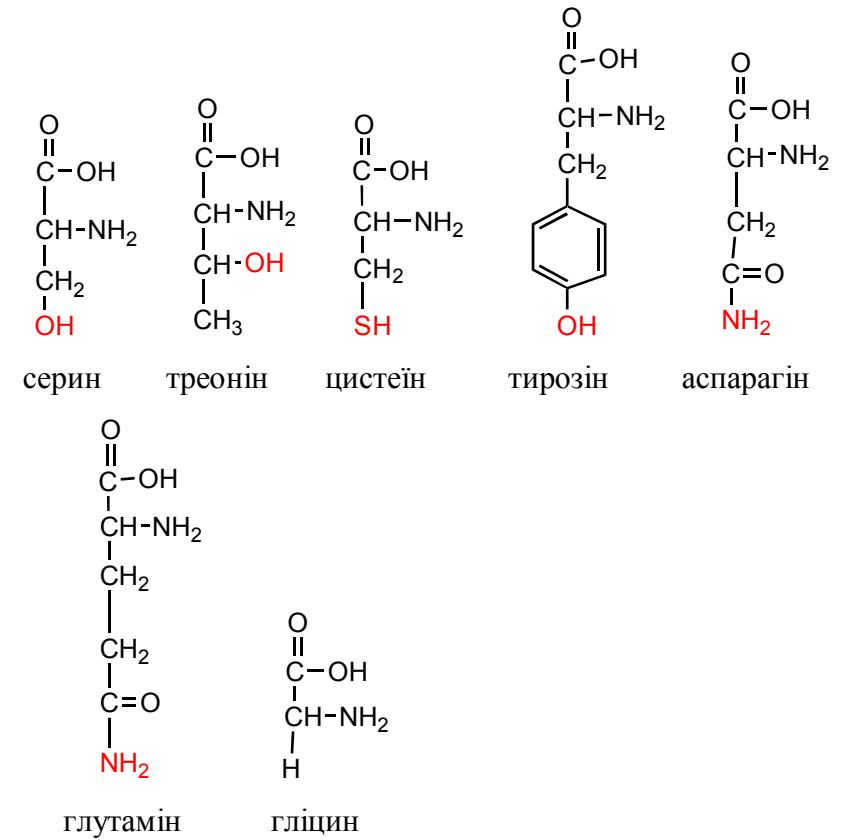
3. Класифікація амінокислот за гідрофобністю радикалу

В залежності від будови і властивостей радикалу, його полярності всі амінокислоти поділяють на 4 групи:

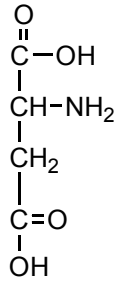
1. Амінокислоти, що містять неполярні або гідрофобні (відштовхуючі воду) радикали (8 амінокислот):



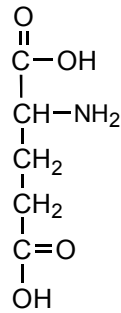
2. Амінокислоти, що містять в радикалі полярні, але не заряджені групи (7 амінокислот):



3. Амінокислоти з негативно зарядженими полярними групами:

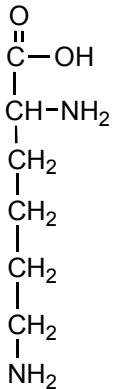


аспарагінова
кислота

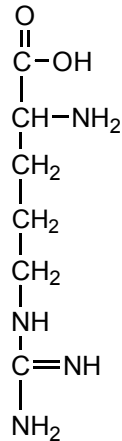


глутамінова
кислота

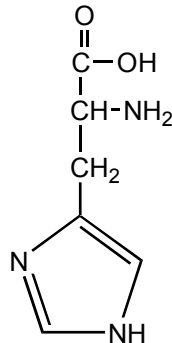
4. Амінокислоти з позитивно зарядженими полярними групами:



лізин



аргінін



гістидин

Головним джерелом α -амінокислот для живих організмів є харчові білки. Деякі амінокислоти синтезуються в організмі людини (замінні амінокислоти).

Але ряд амінокислот організм людини синтезувати не може, вони повинні потрапляти в організм з їжею. Такі амінокислоти називають незамінними. До них належать: валін, лейцин, ізолейцин, лізин, треонін, метіонін, фенілаланін, триптофан. До напівзамінних амінокислот, які синтезуються в організмі, але в недостатній кількості, належать аргінін, тирозин і гістидин.

4. Фізичні властивості амінокислот

Амінокислоти - безбарвні кристалічні речовини, з високими температурами плавлення, як було приведено вище. При плавленні частково розкладаються, тому для ідентифікації визначення температури плавлення недостатньо. Для цієї мети користуються хроматографічними методами, які дозволяють розділити, ідентифікувати і кількісно визначити до 40 амінокислот в суміші.

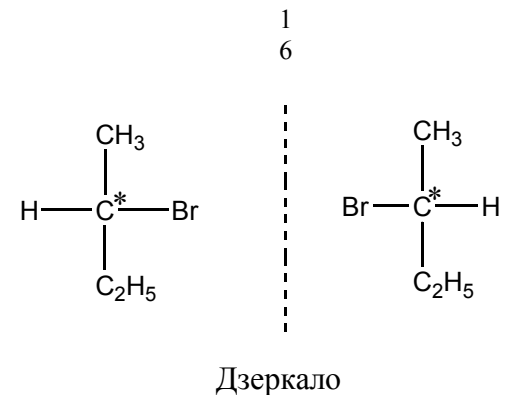
Амінокислоти добре розчиняються у воді, погано у спирті і зовсім не розчиняються в ефірі. α -Амінокислоти L-ряду, що входять до складу білків, гіркі на смак або без смаку, а D-ізomeri солодкі на смак.

В ІЧ-спектрах амінокислот валентні коливання карбоксильної групи і аміногрупи відсутні. Якщо підкислити розчин амінокислоти, в ІЧ-спектрі з'являється лінія, характерна для COOH, а в лужному середовищі – лінія NH₂-групи.

5. Оптична ізомерія амінокислот

Оптична ізомерія має місце в тому випадку, коли один ізомер є дзеркальним відображенням іншого, і ці ізомери не суміщаються один з одним. Такі молекули не мають площини симетрії. Ця властивість молекули називається хіральністю, а самі молекули хіральними (від грецьк. хігос - рука). Права та ліва руки, ступні ніг, пара рукавичок, пара черевиків - все це хіральні об'єкти.

Центром хіральності в молекулах можуть бути атоми карбона, нітрогена, сіліцію та інші, що мають чотири або три різних замісника. Для органічних сполук найбільше значення мають сполуки з хіральним атомом карбону. В зв'язку з тим, що у атома відсутні елементи симетрії, його називають асиметричним і позначають C*. Такий атом міститься, наприклад, в 2-бромбутані: він має два ізомери, які є дзеркальним відображенням один одного:



Оптичні ізомери мають однакові фізичні та хімічні властивості, але відрізняються своїм відношенням до дії плоскополяризованого світла.

Плоскополяризований промінь або світло, є сума лівого та правого циркулярнополяризованих променей. Швидкість розповсюдження цих складових частин променя в хіральному середовищі буде різною, тому в особливих приладах поляриметрах - можна спостерігати і виміряти відхилення площини поляризації світла: по часовій стрілці годинника - речовина вважається правоповоротною або правообертаючою, і позначається (+), або d; проти часової стрілки - лівоповоротною або лівообертаючою, позначається (-), або l. Числовим визначенням оптичної активності є величина питомого кута обертання $[\alpha]_D^{20}$, яка характеризує оптичну активність одного граму речовини в 1 мл розчину при довжині поляриметричної трубки 1 дм. Для

вимірювання цієї константи застосовують монохроматичний промінь з довжиною хвилі Д-лінії натрію (589 нм при 20⁰С).

Оптичні ізомери молочної кислоти мають рівне за абсолютною величиною, але протилежне за знаком питоме обертання:

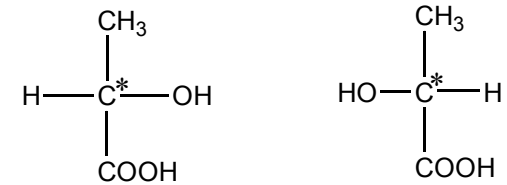
$$[\alpha]_D^{20} = +2,6^0 \quad [\alpha]_D^{20} = -2,6^0$$

Такі речовини називаються оптичними антиподами або енантіомерами (від грецьк. enantos - протилежний).

Еквімолярна суміш лівих і правих антиподів утворює рацемат. Рацемат оптично неактивний, що позначають буквами г- або і- перед назвою сполуки (і - інактивний). Перетворення молекул енантіомерів в рацемічну суміш обох форм називають рацемізацією. Щоб перетворити один енантіомер в другий, треба витратити певну енергію. В природі цей процес проходить завдяки певним ферментам - рацемазам або повільно, з часом. Наприклад, перетворення одного з енантіомерів аспарагінової кислоти в білку дентіні, який знаходиться в зубній емалі, проходить самоповільно з певною швидкістю - 0,10% на рік. Вимірення питомої активності цієї амінокислоти лежить в основі одного з найточніших способів визначення віку людини.

Зміну величини оптичного обертання при зміні довжини світлової хвилі називають дисперсією оптичного обертання і застосовують для встановлення конфігурації оптичних ізомерів.

Для зображення енантіомерів на площині використовують проєкційні формули Фішера, наприклад:



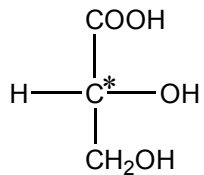
D (-) молочна кислота L (+) молочна кислота

Існують певні правила зображення енантіомерів на площині:

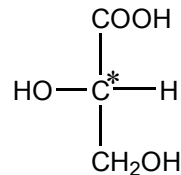
- 1.Зв'язки, що позначають верикальними лініями, лежать під площиною листа, а зв'язки, що позначають горизонтальними лініями - над площиною листа.
- 2.Хіральний атом вуглецю, що знаходиться в центрі тетраедра, переноситься в точку перетину горизонтальної та вертикальної лінії і не позначається символом.
- 3.Молекулу розташовують таким чином, щоб водень і гетероатом у асиметричного С*-центра знаходився в горизонтальній площині.
- 4."Вертикальні" групи розташовують так, щоб більш окислена група знаходилась зверху.
- 5.Зміна місцями будь-яких замісників у С*-центрі змінює конфігурацію молекули на протилежну.

6.Зміна місцями трьох замісників у С*-центрі не призводить до зміни конфігурації.

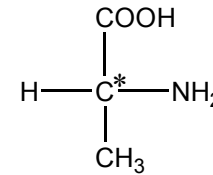
За допомогою рентгеноструктурного аналізу можна визначити абсолютну конфігурацію енантіомера, тобто істинне взаємне розміщення чотирьох замісників, які знаходяться в вершинах тетраедру, навколо локалізованого в центрі асиметричного атому вуглецю. Але цей процес надзвичайно трудомісткий, тому визначають абсолютну конфігурацію енантіомера шляхом - порівняння з абсолютною конфігурацією еталонної (ключової) речовини або стандартом. Таким стандартом є D(+) і L(-) гліцериновий альдегід - найпростіший з вуглеводів, який має асиметричний центр. Нижче приводяться абсолютні конфігурації стереоізомерів гліцеральдегіду, визначені за допомогою рентгеноструктурного аналізу:



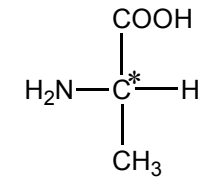
D(+)-гліцериновий альдегід



L(-)-гліцериновий альдегід



D(-)-аланін



L(+)-аланін

Безпосередньо під зображенням стереоізомерів гліцерина приведено конфігурації відповідних стереоізомерів амінокислоти аланіна. Для порівняння конфігурацій еталона і амінокислоти обирають найбільш окислений атом вуглецю коло хірального центру і розташовують його зверху. Такими атомами в молекулі гліцеральдегіду є вуглець альдегідної групи, а аланіну - карбоксильної групи. Аміногрупі аланіну буде відповідати гідроксильна група гліцеральдегіду, а метильна група - відповідно CH₂OH. Така відповідність характерна для D- і L-ізомерів обох сполук. Стереоізомери хіральних сполук, які відповідають за конфігурацією D-гліцериновому альдегіду, позначаються буквою D, а стереоізомери, які відповідають L-гліцеральдегіду, - буквою L, незалежно від напрямку обертання площини поляризації плоскополяризованого світла. Таким чином, букви D і L означають абсолютну конфігурацію чотирьох замісників навколо хірального атому вуглецю, а не напрямок обертання площини поляризації. Природні білкові

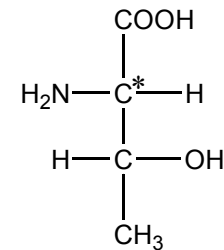
амінокислоти мають L-абсолютну конфігурацію і більшість з них, як і аланін, d-, тобто правообертаючі (аргінін, глутамінова кислота, ізолейцин, лізин і інш.).

Останнім часом широко застосовується стереохімічна номенклатура ІЮПАК - R,S-система, яка дозволяє однозначно визначити абсолютну конфігурацію речовин, що мають більше ніж один хіральный центр, і для яких D,L-система не дає однозначної назви. Щоб визначити R- або S-конфігурацію сполуки, уважно розглядають замісники і розташовують їх у порядку зменшення старшинства, яке розглянуте вище, так, щоб група найменшого старшинства була направлена в протилежну від спостерігача сторону. Спостерігач начебто дивиться зверху вниз на колесо з трьома спицями, причому зв'язок між наймолодшою групою і асиметричним атомом вуглецю направлено перпендикулярно площині колеса за колесом. Якщо останні замісники розташовані при цьому в порядку зменшення пріоритету за часовою стрілкою, конфігурація молекули відносно хірального центру позначається буквою R (від лат. *rectus* - правий), якщо проти часової стрілки, - позначається буквою S (*sinister* - лівий). Таким способом визначають конфігурацію для всіх хіральных центрів.

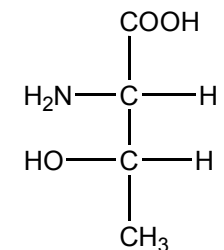
Якщо в сполуці знаходиться два або більше (n) хіральных центрів, вона може мати 2^n стереоізомерів. Всі стереоізомери є або енантіомерами, або діастереомерами. Діастереомери - це

стереомери, що не є енантіомерами. Так, цис- і транс- ізомери відносяться до діастереомерів.

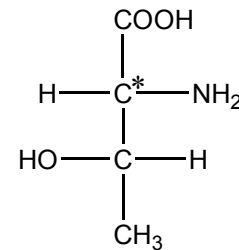
Наприклад, L-треонін - природна амінокислота, має два асиметричних центри, тобто чотири стереоізомери: її енантіомер - D-треонін та два діастереомери L-алло-треонін і D-алло-треонін:



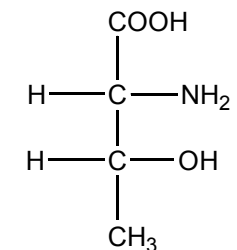
L-треонін



L-алло-треонін



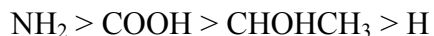
D-треонін



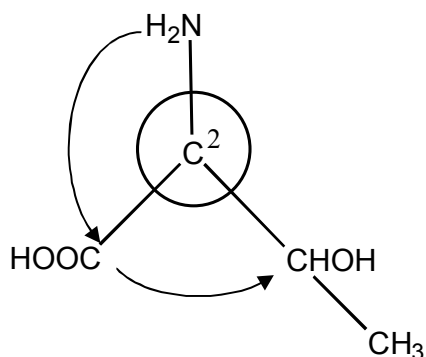
D-алло-треонін

Алло (грецьк.- *allos* - другий) - префікс емпіричної назви, яка виникла раніше, і застосовується відносно атома вуглецю в третьому положенні.

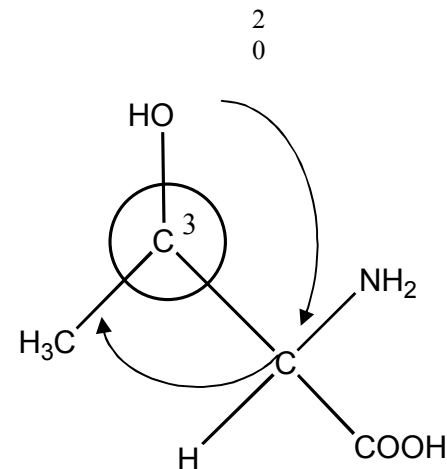
Розглянемо, як L-треонін визначають за допомогою R,S-системи. Почнемо з атому вуглецю в другому положенні. Розташуємо замісники згідно правила:



Тепер помістимо атом водню за площиною малюнку, і останні групи розташуються таким чином:



Видно, що напрям, в якому відбувається зменшення пріоритету відповідає напрямку проти часової стрілки. Таким чином, вуглець-2 має конфігурацію S. Таку ж стеричну діаграму можна привести для атомів вуглецю в третьому положенні:



В цьому випадку всі замісники розташовуються в напрямку ходу часової стрілки, тобто ми маємо R-конфігурацію. Таким чином, із застосуванням стереономенклатури L-треонін визначається як (2S,3R)-треонін.

Одержані методом синтезу органічні сполуки, як правило, оптично неактивні, тому що внаслідок хімічної реакції утворюється рівна кількість енантіомерів, тобто рацемат. Більшість звичайних синтетичних реакцій не є стереоселективними. Реакції, при яких утворюються виключно або переважно один з можливих стереоізомерів, називаються стереоселективними. Навпаки, більшість біохімічних реакцій, які відбуваються в живих організмах, є стереоселективними. Природні сполуки з цієї причини існують переважно у вигляді одного стереоізомера, як, наприклад, L-амінокислоти, L-(+)-молочна кислота і т.д. Реакції *in vivo* каталізуються ферментами - каталізаторами білкової

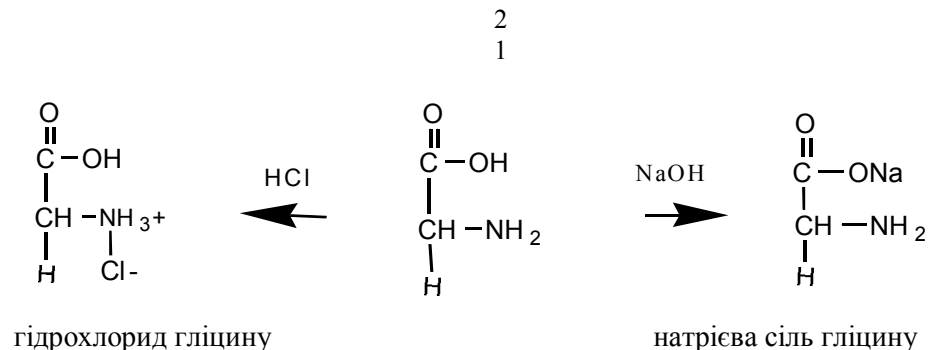
природи, які надзвичайно чутливі до структури молекули - субстрату.

Оптична або дзеркальна ізомерія дуже поширена серед природніх органічних сполук (амінокислоти, гідроксикислоти, вуглеводи, нуклеїнові кислоти), і має великий науковий та практичний інтерес.

Енантіомери відрізняються фізіологічною активністю. Так, d-нікотин втричі сильніша отрута ніж l-нікотин. Гормональну активність проявляє лише l-адреналін. Протипухлинну активність проявляє лише лівообертаючий сарколізин, d-сарколізин зовсім не проявляє активність. Ці і безліч інших прикладів пояснюються тим, що оптично активні несиметричні сполуки взаємодіють з рецепторами організму, які в свою чергу мають асиметричну будову.

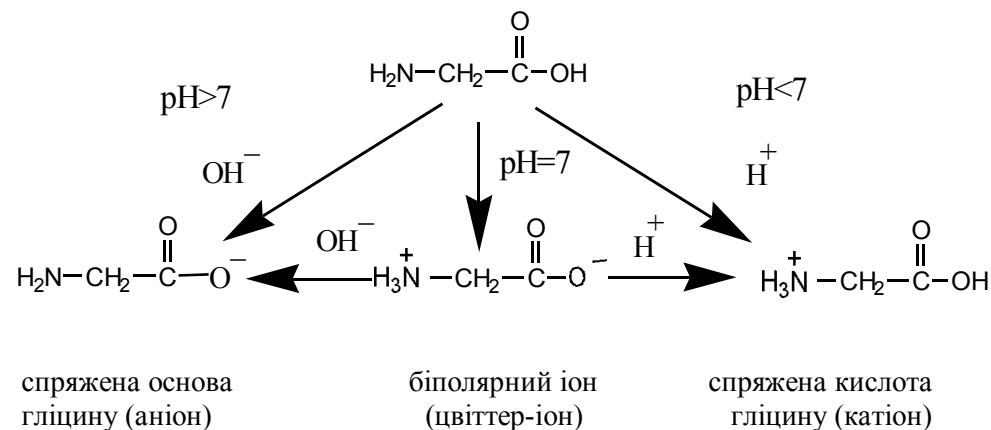
6. Кислотно-основні властивості амінокислот

В молекулі амінокислоти є дві функціональні групи протилежного характеру: карбоксильна - кислотна і аміногрупа - основна. Тому амінокислоти - амфотерні сполуки, і утворюють солі з кислотами і основами:



Водні розчини моноаміномонокарбоновних кислот мають майже нейтральну реакцію (pH ~ 6,8), тому вони не забарвлюють лакмус. Високі температури плавлення (200 - 250⁰C), низька розчинність в органічних розчинниках, відсутність в ІЧ-спектрах полос поглинання NH₂ і OH-груп говорять про те, що ці сполуки полярні і вільні групи NH₂ і COOH в молекулі відсутні.

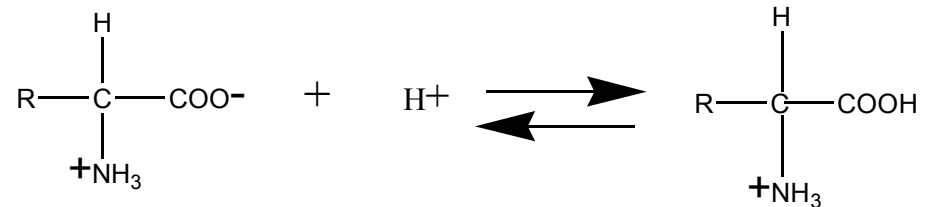
Амінокислоти у розчині існують у вигляді внутрішніх солей (біполярні іони), у яких аміно- і карбоксильна групи іонізовані. Так, для гліцину при різних значеннях pH:



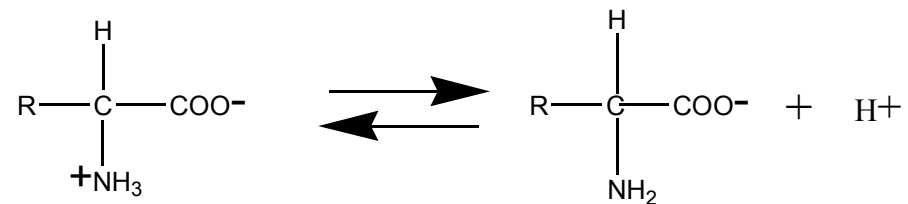
Амінокислоти - амфотерні електроліти (амфоліти): в електричному полі в кислому середовищі мігрують до катода, а у лужному - до анода. Якщо цей процес проводять на хроматографічному папері або гелях, то він називається електрофорезом. Електрофорез часто застосовують для ідентифікації і розділення амінокислот.

6.1. Тітрування моноаміномонокарбонових кислот

У водному розчині амінокислоти у вигляді біполярних іонів функціонують як кислоти (донори протонів):

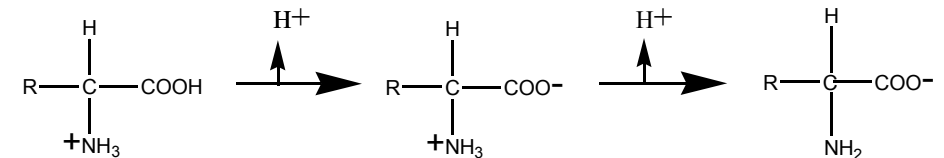


або як основи (акцептори протонів):



Таким чином, звичайна моноаміномонокарбонова кислота, така як гліцин або аланін, представляє собою двухосновну кислоту,

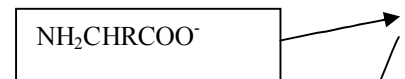
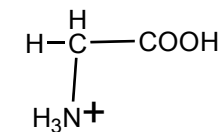
коли вона знаходиться у повністю протонованій формі, тобто, коли протони приєднані як до аміно-, так і до карбоксильної групи. В цій формі вона має дві групи, від яких в процесі дисоціації відщеплюється два протона відповідно наступному рівнянню:



На рисунку 1 зображено криву тітрування гліцина.

Тітрування проходить через дві стадії, кожна з яких відповідає відщепленню одного протона. Криві на кожній з двох стадій нагадують за своєю формою криву тітрування слабкої органічної кислоти, наприклад, оцтової. Розглянемо більш детально процес тітрування гліцину.

1. На самому початку тітрування молекули гліцина знаходяться у повністю протонованій формі і в розчині превалюють іони:



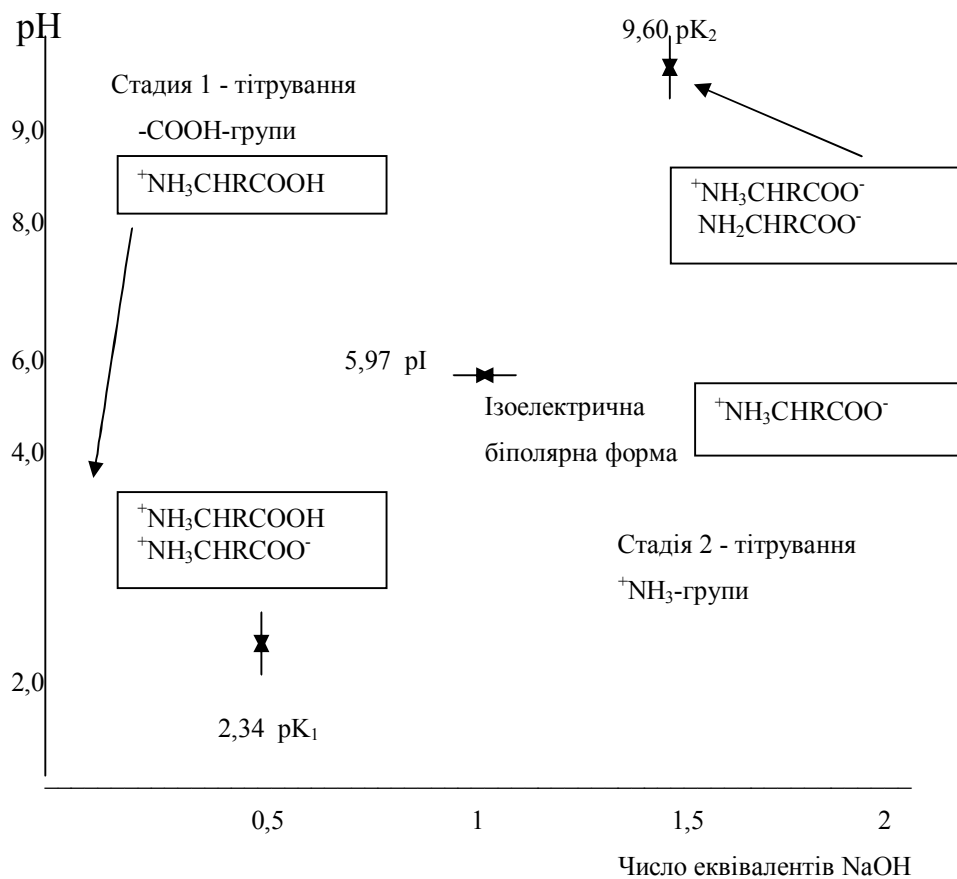
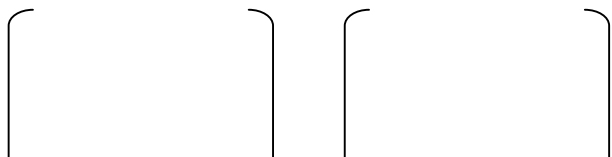


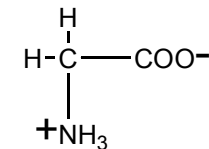
Рис.1 Крива титрування гліцину

2. При додаванні 0,5 еквівалентів лугу ми досягаємо такої рівноваги, де концентрація повністю протонуваних іонів буде дорівнювати концентрації іонів із відтитрованою карбоксильною групою:



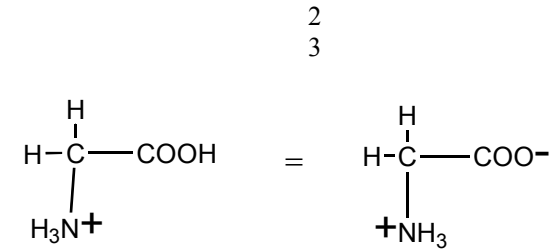
Ця рівновага буде спостерігатися при значеннях рН, які дорівнюють pK_{COOH} гліцину, тобто при $\text{pH} = 2,34$.

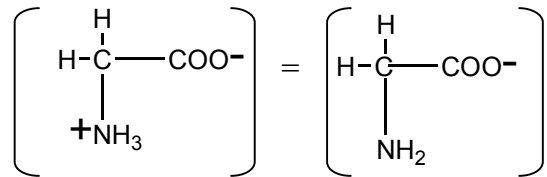
3. Продовжуючи титрування, ми зсуваємо рівновагу у напрямку утворення іонів з відтитрованою карбоксильною групою і досягаємо такого стану, де буде повністю превалювати в розчині іон:



Саме в цій точці закінчується перша стадія титрування – відщеплення протону від карбоксильної групи амінокислоти. Ця точка має назву ізоіонна, або ізоелектрична точка.

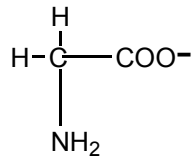
4. Друга стадія титрування починається з відщеплення протону від амонійної групи і при додаванні 1,5 еквівалента лугу ми будемо спостерігати таку рівновагу, де концентрації таких іонів будуть рівні:





Така рівновага буде спостерігатись при значеннях рН, які дорівнюють pK^+NH_3 в гліцині, тобто при $pH = 9,6$.

5. Титрування завершується приблизно при $pH = 12$, коли в розчині буде превалювати повністю депротонувана форма гліцину:



Крива титрування гліцину свідчить про те, що гліцин проявляє буферні властивості в двох областях рН. Одна з них визначається плоскою ділянкою кривої по обидві сторони від точки $pK_{a1} = 2,34$, звідки витікає, що розчин гліцину може бути добрим буфером в області $pH = 2,34 \pm 1$, а друга буферна зона знаходиться в області $pH = 9,69 \pm 1$. Отже, для міжклітиної рідини і крові, де $pH = 7,4$ гліцин є поганою буферною речовиною.

Використовуючи рівняння Гендерсона-Хассельбальха:

$$pH = pK_{HA} + \lg \frac{[A^-]}{[HA]},$$

яке пов'язує рН середовища з константою дисоціації слабкої кислоти НА, можна розрахувати, в якому співвідношенні можна взяти протонодонорні і протонакцепторні форми гліцину, щоб приготувати буферний розчин з певним значенням рН. Це рівняння дозволяє також вирішувати інші задачі, пов'язані з буферними властивостями амінокислот.

Буферні властивості амінокислот відіграють важливу роль у властивостях білкових макромолекул і лежать в основі одного з унікальних захисних механізмів живих систем.

Побудувавши криву титрування, можна визначити, який електричний заряд несе амінокислота при певному значенні рН.

При низьких значеннях рН переважає іонна форма гліцину, яка несе позитивний заряд (+1) і іони гліцину будуть пересуватись у напрямку катода в електричному полі. При додаванні основи у кількості, яка дорівнює половині молекул гліцину присутніх в розчині, буде титруватись β -COOH група $[COO^-]/[COOH]=1$. Після додавання 0,5 еквіваленту основи, рН розчину буде мати значення $pK_{a1} = 2,34$. При додаванні 1 еквіваленту основи закінчується титрування β -COOH групи і загальний заряд буде дорівнювати 0, тому що β -COOH група буде мати негативний заряд і β -NH₃⁺ група позитивний заряд. Подібна форма молекули не буде рухатись у напрямку катода або анода в електричному полі.

Використовуючи рівняння Гендерсона-Хассельбальха, можна розрахувати рІ:

$$pI = S(pK_{\text{COOH}} + pK^+\text{NH}_3)$$

При подальшому додаванні лугу буде титруватися б -NH⁺₃ група [б -NH₂]/[б -NH⁺₃]=1 і рН буде дорівнювати pK'_a 9,6. Після додавання ще 0,5 еквіваленту основи (загальний повний еквівалент = 2) титрування б -NH⁺₃ групи буде повністю закінчено. При високому значенні рН переважати буде стан, при якому загальний негативний заряд дорівнює -1. Аніон, який утворився, буде рухатися до аноду.

Аналогічно можна розрахувати знак і величину сумарного заряду для будь-якої іншої амінокислоти при будь-якому значенні рН.

Ця інформація має велике значення, оскільки вона є основою електрофоретичних властивостей амінокислот і білків.

6.2. Титрування амінокислот з радикалами, що іонізуються

Амінокислоти відрізняються за своїми кислотно-основними властивостями. Всі амінокислоти, які містять α-аміногрупу, одну карбоксильну групу (2 іоногенні групи) і радикал, що не іонізується, мають криві титрування, східні з гліцином. Вся ця група амінокислот (табл.1) характеризується близькими, але не

однаковими, значеннями pK_{COOH}, які знаходяться в інтервалі від 2,0 до 3,0 і pK⁺NH₃ в інтервалі 9,0 – 10,0 і близькі значення рІ.

Таблиця 1

Значення pK'_a іоногенних груп амінокислот при 25⁰ С

Амінокислоти з 2 іоногенними групами			Амінокислоти з 3 іоногенними групами			
Амінокислота	б -COOH	б -NH ⁺ ₃	Амінокислота	б -COOH	б -NH ⁺ ₃	РН або РН ⁺
Глі	2,34	9,6	Асп	2,09	9,82	3,86 ^a
Ала	2,34	9,69	Глу	2,19	9,67	4,25 ^a
Вал	2,32	9,62	Гіс	1,82	9,17	6,0 ^a
Лей	2,36	9,68	Цис	1,71	10,78	8,33 ^a
Іле	2,36	9,68	Тир	2,2	10,07	9,11 ^a
Сер	2,21	9,15	Ліз	2,18	8,95	10,53
Тре	2,63	10,43	Арг	2,17	9,04	12,48
Мет	2,28	9,21	^a Для цих амінокислот іонізація групи R відбувається раніше іонізації б-NH ⁺ ₃ -групи			
Фен	1,83	9,13				
Трп	2,38	9,39				
Асн	2,02	8,8				
Глн	2,17	9,13				
Про	1,99	10,6				

Амінокислоти з радикалами, що іонізуються в залежності від рН (мають 3 іоногенні групи), характеризуються більш складними кривими титрування (рис.2), які складаються з трьох ділянок.

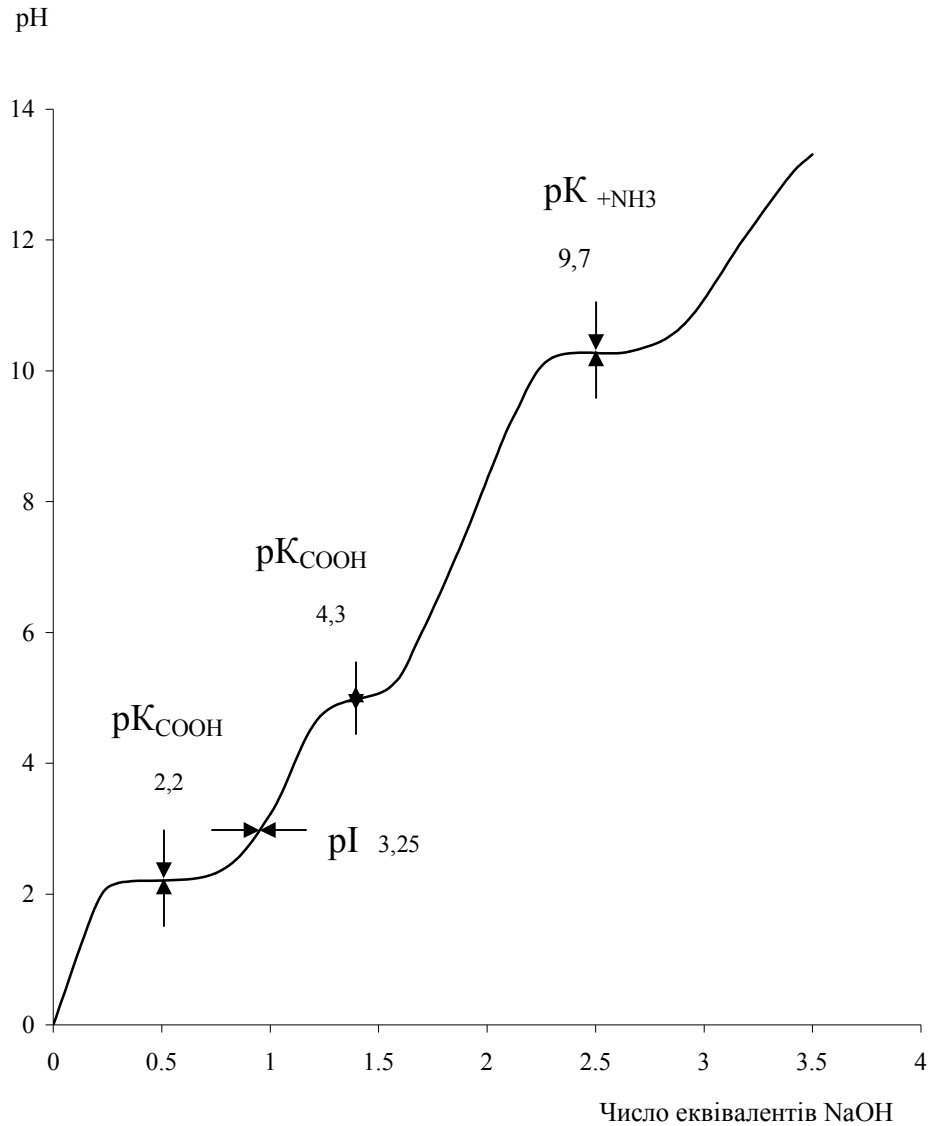


Рис.2 Крива титрування глутамінової кислоти

Ці три ділянки відповідають трьом етапам послідовної іонізації і зміні заряду молекули амінокислоти від +1 до -2 у випадку, наприклад, глутамінової кислоти (рис.3), або від +2 до -1 для лізину (рис. 4).

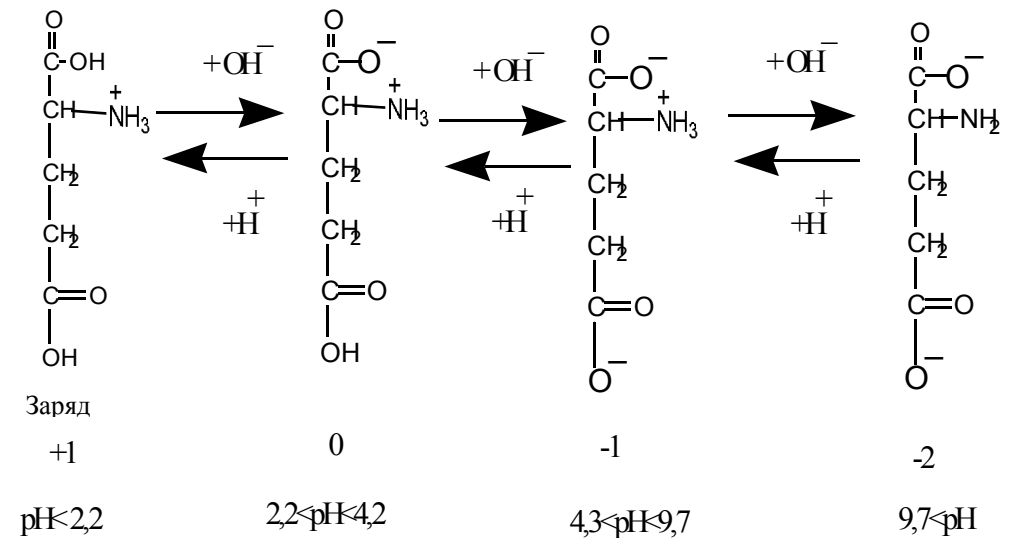


Рис.3 Іонні форми глутамінової кислоти

Амінокислоти, які містять в R-групах атом нітрогену, що іонізується, (ліз, гіс, арг) називають основними амінокислотами (амінокислотами 4 групи), тому що їх бокові ланцюги мають вище

значення pK'_a і функціонують як основи. Вони несуть позитивний заряд при фізіологічному значенні рН.

Іонізація основної амінокислоти на прикладі лізіна:

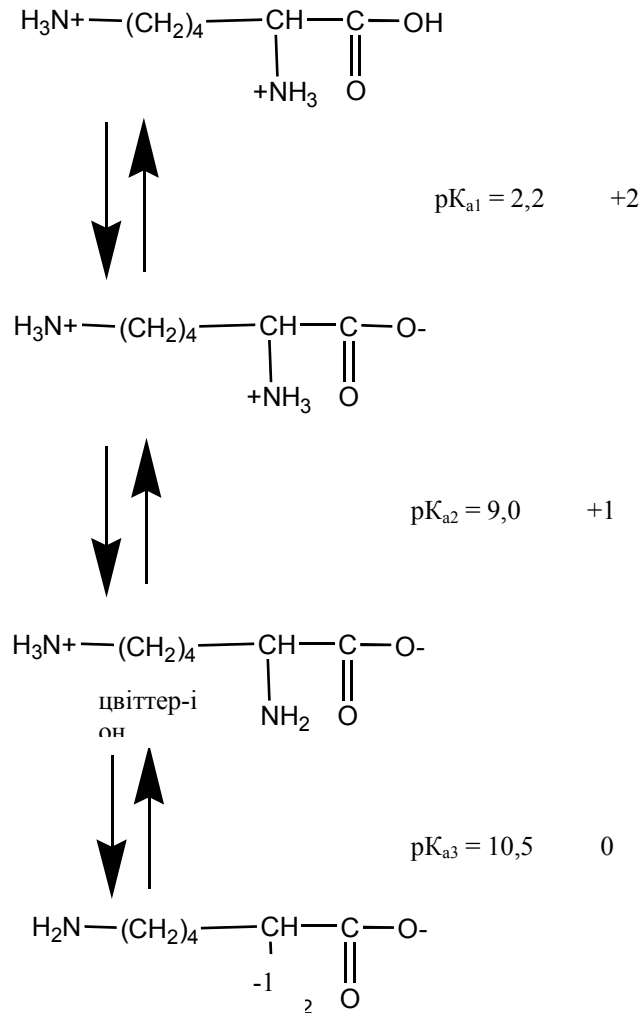


Рис. 4 Іонні форми лізіну

Амінокислоти, які в боковому ланцюзі містять карбоксильну групу (амінокислоти 3 групи), мають відносно низьке значення pK'_a і їх називають кислими амінокислотами. Вони несуть негативний заряд при фізіологічному значенні рН. Білки, в яких співвідношення $(\sum \text{ліз} + \sum \text{арг}) / (\sum \text{глу} + \sum \text{асп})$ більше ніж 1, відносять до основних, а ті де це співвідношення менше 1 – до кислих.

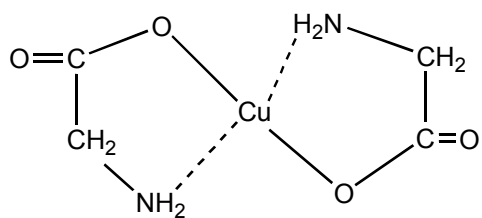
7. Хімічні властивості

Амінокислоти вступають в реакції, характерні для карбоксильної та аміногрупи. Разом з тим, гетерофункціональність молекул амінокислот обумовлює деякі їх специфічні властивості всієї молекули. Окремі реакції застосовують для ідентифікації та аналізу амінокислот.

7.1 Реакції карбоксильної групи

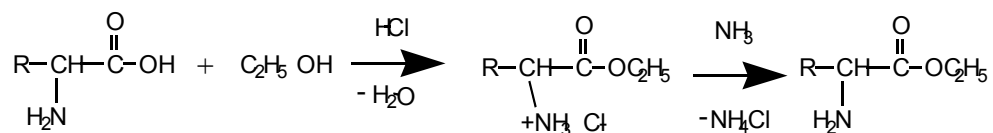
Утворення солей і внутрішньоконплексних сполук. Крім звичайних солей, амінокислоти утворюють внутрішньоконплексні (хелатні) солі з катіонами важких металів (Cu, Mo, Co та ін.).

Характерними є конплексні солі міді - кристали темносинього або синьо-фіолетового кольору:



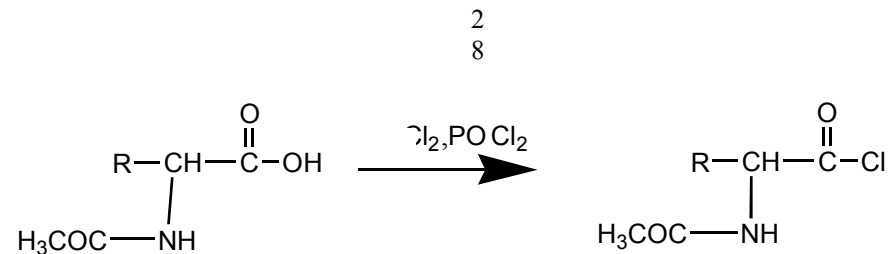
В організмі такі солі приймають участь в біохімічних процесах. Так, сіль цинку і цистеїну підвищує вміст цукру в крові. Солі з Co, Cu, Mo, Fe, Al та ін. утворюють активні ферментні комплекси.

Утворення складних естерів. Естерифікацію амінокислот спиртами проводять при наявності сухого гідрогенхлориду; естери при цьому виділяються у вигляді солей:



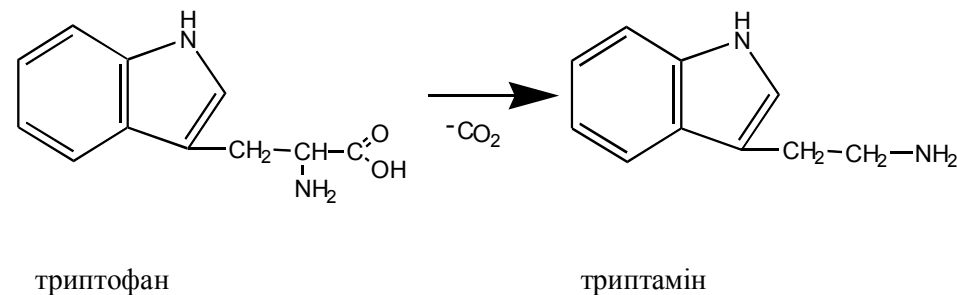
Естери переганяються без розкладання, наприклад, гліцин має т.пл. 292°C , а його метиловий естер - рідина, з т.кип. 130°C . Тому естери використовують в аналізі суміші амінокислот методом ГРХ.

Утворення галогенангідридів і ангідридів. При дії на амінокислоти, у яких аміногрупа захищена ацетильним замісником, SOCl_2 або POCl_3 , утворюються хлорангідриди:



Хлорангідриди - дуже активні сполуки, і тому рідко застосовуються як ацилюючі агенти в синтезі пептидів. Більше значення для цієї мети має змішаний ангідрид α -амінокислоти з етиловим ефіром хлормурашиної кислоти (етилхлорформіат).

Реакції декарбосиловання. Під впливом ферментів (або при нагріванні) амінокислоти перетворюються в біогенні аміни, які виявляють високу біологічну активність, наприклад, гістамін (із гістидину), ГАМК (із глутамінової кислоти), триптамін (із триптофану):



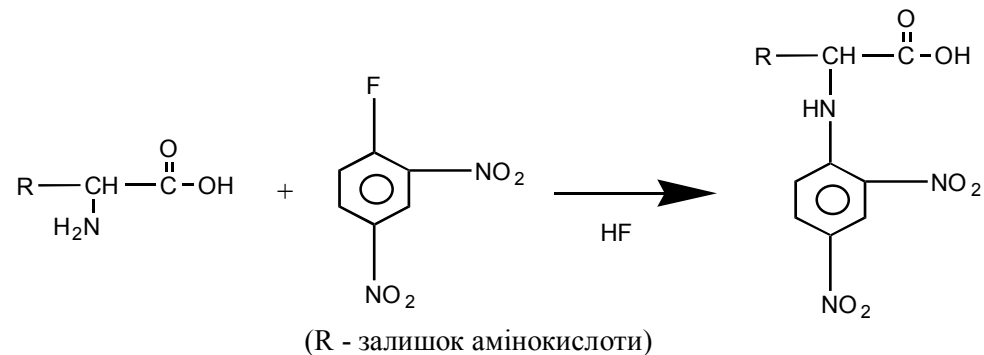
7.2. Реакції аміногруп

Реакції алкілування. При дії йодистого метилу на гліцин утворюється N-метилгліцин - саркозин, який міститься в тканинах м'язів. Триалкілований гліцин - біполярний іон - бетаїн:

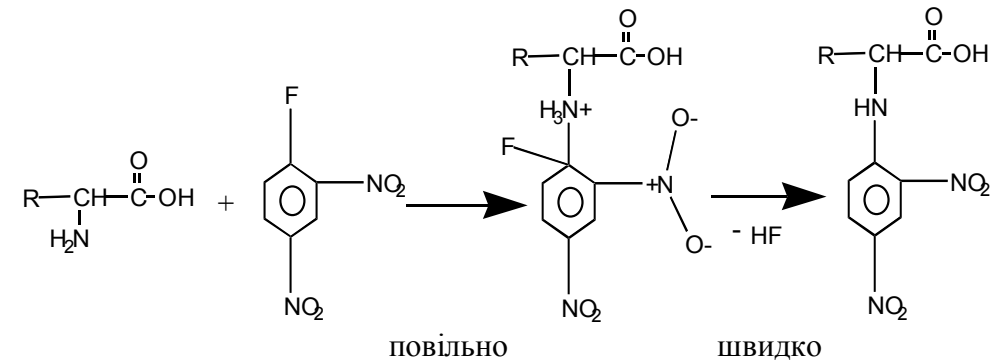


Бетаїн широко розповсюджений в природі, входить до складу зерен та проростків рослин. Багато його у гичці цукрового буряка (*Beta vulgaris*), звідси і походить його назва. Бетаїн утворюється також при окисненні холіну *in vivo*, приймає участь в біосинтезі амінокислоти метіоніну - універсального донора метильних груп, при утворенні коламіну, норадреналіну і других біогенних амінів.

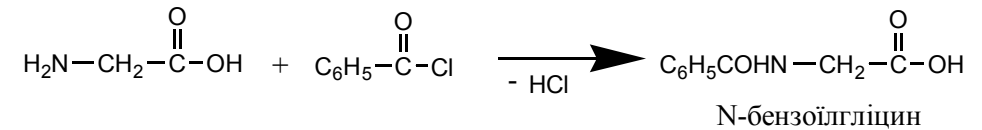
Важливе значення для установлення структури білка має алкілюючий агент - 2,4-дінітрофторбензол (реактив Сенгера):



Реакція протікає за механізмом приєднання - відщеплення:

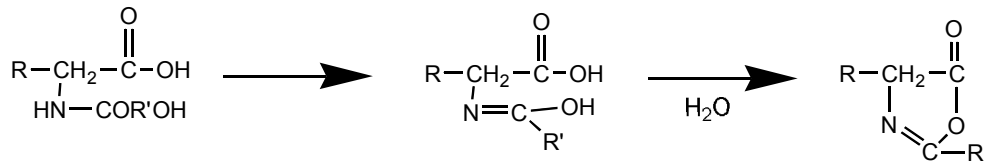


Ацилювання амінокислот. При взаємодії амінів з хлорангідами кислот, наприклад, з хлористим бензоїлом, утворюються N-ацильні похідні:



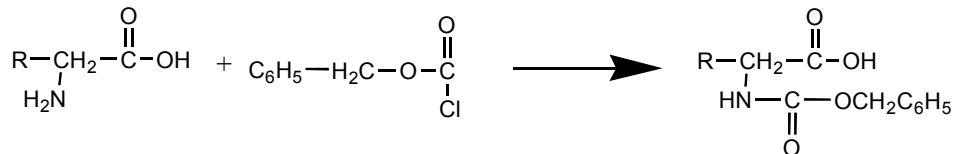
N-Бензоїлгліцин або гіпурова кислота, в значній кількості міститься в сечі коней, а також інших тварин. В організмі ссавців вона утворюється з бензойної кислоти і гліцину - це один із механізмів детоксикації, тобто перетворення отруйної речовини - бензойної кислоти - в нешкідливу - гіпурову кислоту, яка потім виводиться з сечею.

N-Ациламінокислоти можуть перетворюватися у внутрішні ангідриди азлактони:



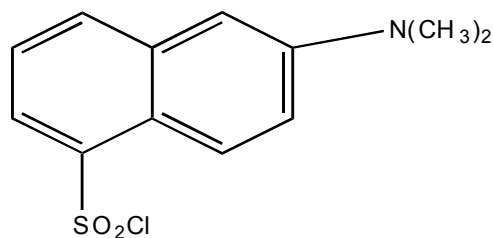
Існує припущення, що азлактони - проміжні речовини в процесі рацемізації амінокислот.

Реакція ацилювання застосовується для захисту аміногрупи в синтезі білка. Але ацильна група повинна потім легко відщеплюватись. Такою групою є, наприклад, карбобензоксигрупа (бензілоксикарбонільна). Ацилюючим агентом в цьому випадку є бензиловий ефір хлормурашиної кислоти:



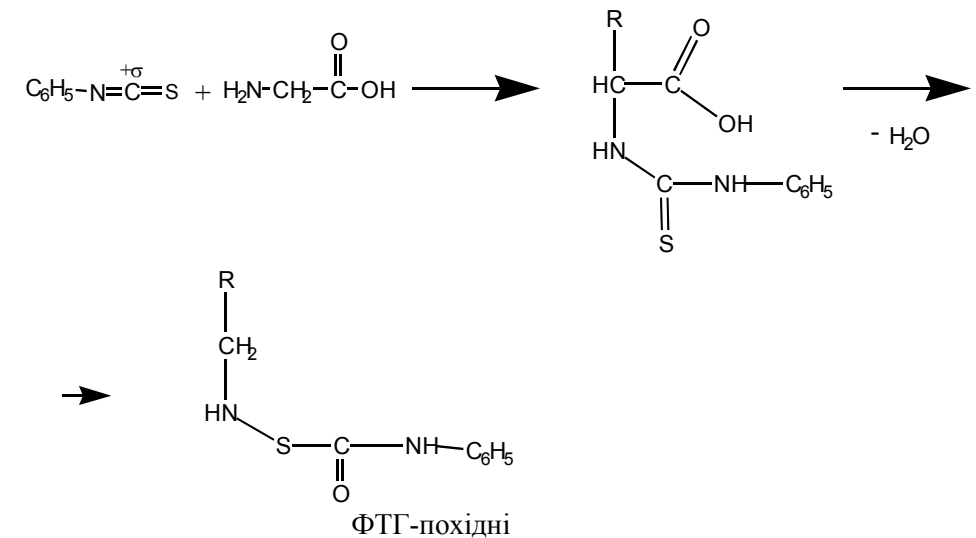
Бензілоксикарбонільну групу потім знімають відновленням (Pd) або при нагріванні з HBr і CH₃COOH.

Для захисту аміногрупи використовують також дансилхлорид - 1-диметиламіно-5-нафталінсульфохлорид:

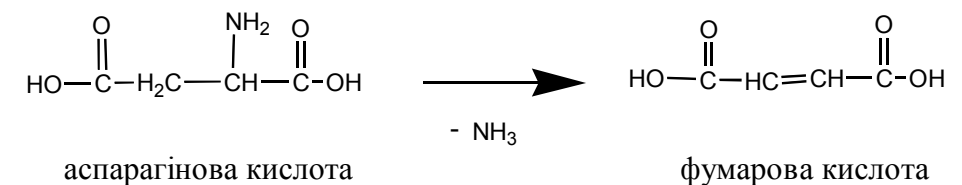


Дансильні похідні є флуоресцентними речовинами, що допомагає їх визначати в найменших концентраціях.

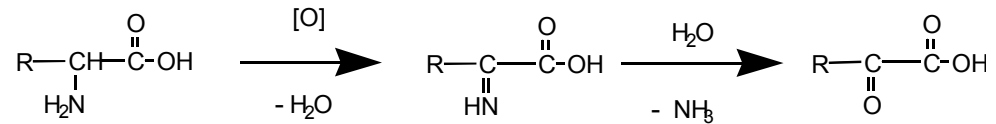
Утворення фенілтіогідантоїнових (ФТГ)-похідних. З фенілізотіоціанатом амінокислота утворює спочатку продукт нуклеофільного приєднання - карбаніловий інтермедіат, який потім внаслідок внутрішньої молекулярної реакції заміщення - отщеплення утворює ФТГ-похідні:



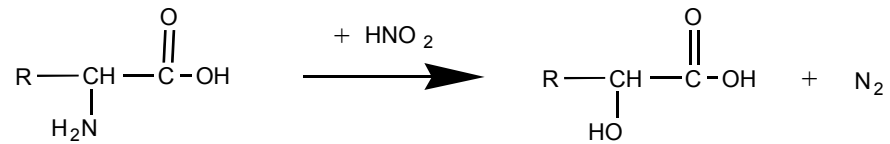
Реакція дезамінування і дія азотистої кислоти. Під дією ферментів амінокислоти відщеплюють аміак, перетворюючись в ненасичені кислоти:



Окислювальне дезамінування супроводжується *in vivo* утворенням, через імін кетокислот:



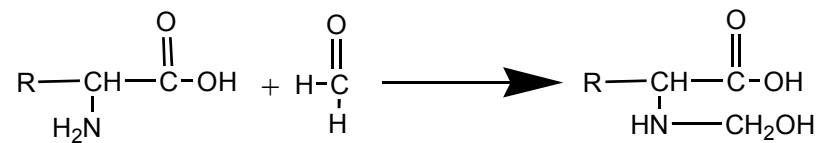
З азотистою кислотою, подібно до первинних амінів, виділяється азот, і аміногрупа заміщується на гідроксильну:



Реакція використовується для кількісного визначення амінокислот (метод Ван-Слайка).

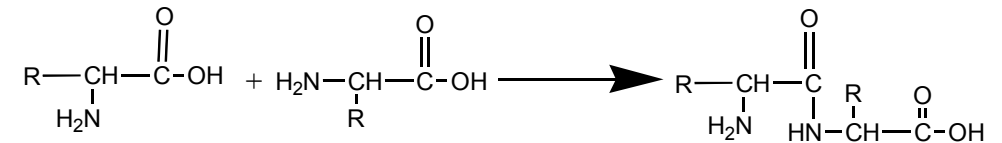
Утворення азометинів. Амінокислоти з альдегідами утворюють азометини (основи Шифа). Для кількісного визначення амінокислот застосовують також метод формольного титрування.

α -Амінокислоти з формальдегідом утворюють відносно стійкі карбіноламіни - N-метилольні похідні, які можна титрувати; луги в цій реакції із-за амфотерності амінокислоти використовувати неможливо:



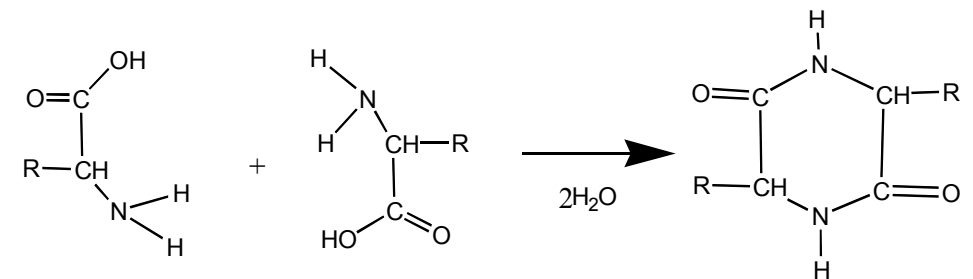
Перетворення амінокислот при нагріванні.

При нагріванні α -амінокислоти можуть утворювати дипептиди:

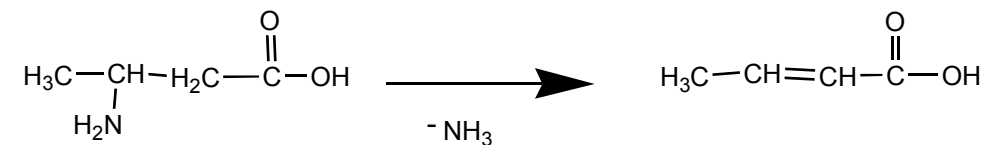


дипептид

Крім неповного амід-дипептиду, трипептиду і т.д. можуть утворюватись повні циклічні внутрішні амід-дипептиди - дикетопіперазини:



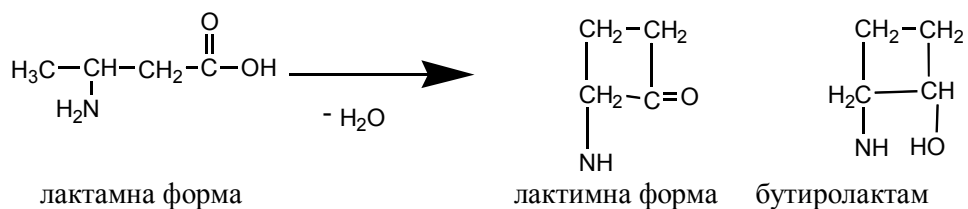
β -Амінокислоти при нагріванні виділяють аміак і, подібно до β -оксикислот, перетворюються в ненасичені кислоти:



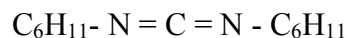
β -аміноасяна кислота

кротонова кислота

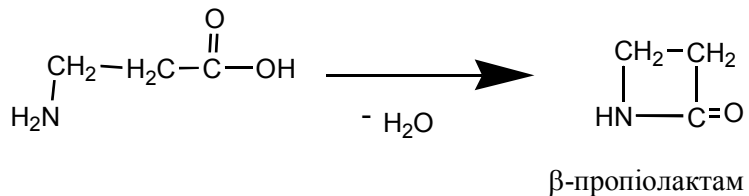
γ , δ і ϵ -Амінокислоти при нагріванні утворюють внутрішні циклічні амід-дипептиди - лактами:



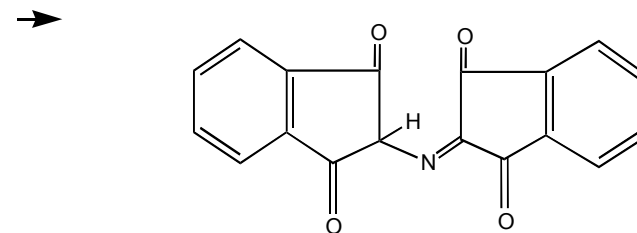
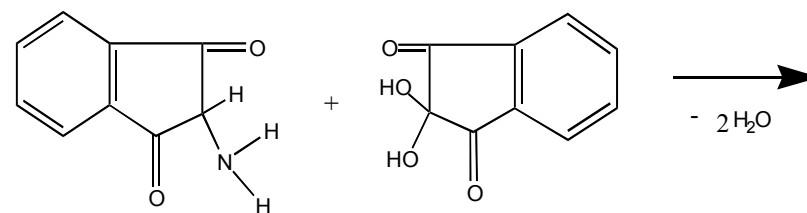
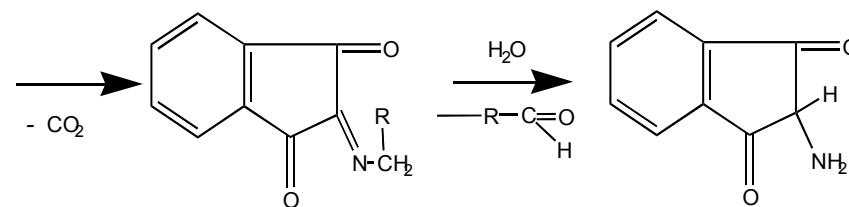
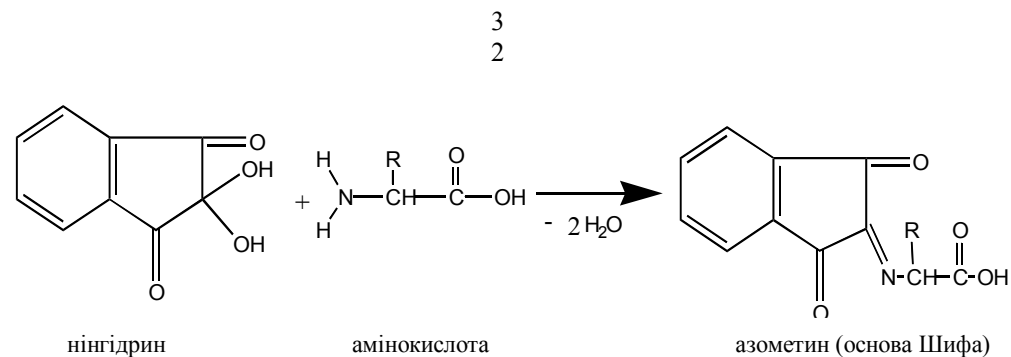
Для лактамів відома лактам-лактимна (кето-енольна) таутомерія. Якщо нагрівати β-амінокислоту з дициклогексилкарбодіїмідом,



можна одержати також β-лактама, структура якого входить до складу пеніциліну:



Якісні реакції на амінокислоти. При нагріванні спиртового розчину нінгідрину з розчином амінокислоти утворюється продукт реакції, забарвний в синьо-фіолетовий колір.



речовина синє-фіолетового кольору

Цю реакцію застосовують для визначення амінокислот спектрофотометричним або хроматографічним методом.

Відомі кольорові реакції для окремих амінокислот. Так, триптофан з n-диметиламінобензальдегідом визначають кількісно, оскільки утворюється червоно-фіолетово забарвлений розчин (реакція Ерліха). Інші амінокислоти її не дають, тому що в ній приймає участь ядро індолу.

Чорний осад сульфиду свинцю дає цистеїн. Для сполук, що містять ароматичне ядро, відома ксантопротеїнова реакція. При дії на такі амінокислоти концентрованою HNO_3 утворюються нітросполуки, забарвлені в жовтий колір, який з лугом переходить в оранжевий.

8. Амінокислотний аналіз

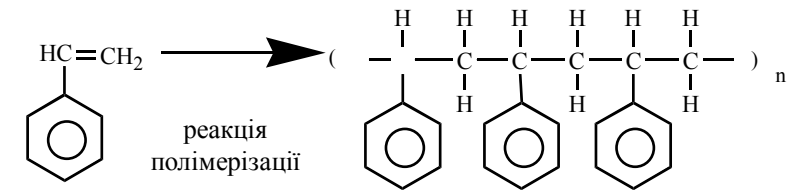
Як показано у розділі 6, при низьких значеннях рН сумарний заряд молекули амінокислоти позитивний, а при високих значеннях рН – негативний. При певних значеннях рН середовища молекула не несе заряду – це ізоїонна точка, для кожної амінокислоти вона різна.

На кислотно-основних властивостях амінокислот, тобто на відмінностях у величині та знаку електричного заряду молекули при різних значеннях рН, які можна розрахувати, використовуючи

рівняння Гендерсона-Хассельбальха та виходячи з кривих титрування амінокислот, засновано самий ефективний та поширений метод амінокислотного аналізу – метод іонообмінної хроматографії.

Основою методу є розділення суміші амінокислот на іонообмінній колонці. Колонка – це довга скляна трубка, яка заповнена гранулами синтетичної смоли, яка містить негативно заряджені групи.

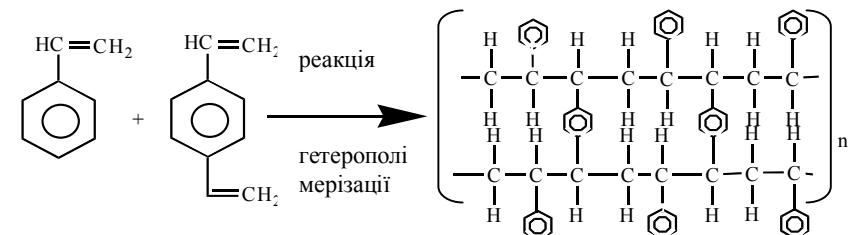
Розглянемо принцип отримання одного з найпоширеніших катіонітів – смоли на основі стиролу та дивінілбензолу:



стирол

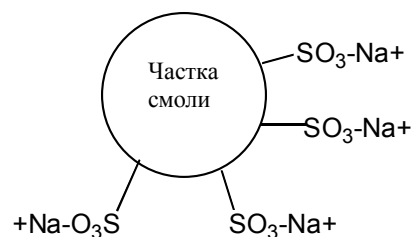
полістирол

Полістирол – розчинний полімер. Але при конденсації стиролу з дивінілбензолом утворюються поперечні зшивки (зв'язки між довгими ланцюгами), внаслідок чого утворюється нерозчинна смола:



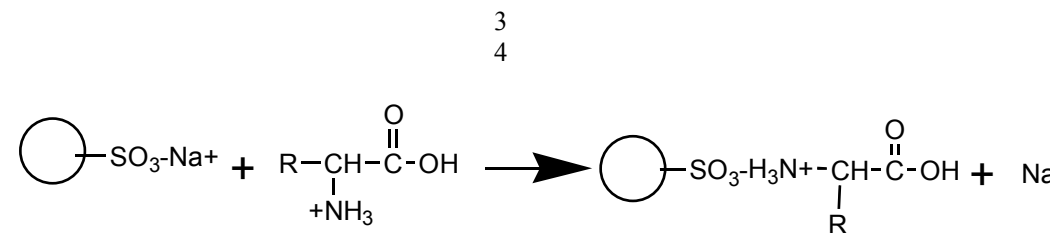
стирол дивінілбензол гетерополімер стиролу та дивінілбензолу

Змінюючи відносну кількість мономерів, можна регулювати ступінь зшивання. Таким чином утворюється трьохмірний каркас із гідрофобних бензольних ядер. Тепер цей каркас заповнюють негативно заряджені сульфгідрильними групами – проводять реакцію з сірчаною кислотою. Потім проводять наступну обробку смоли – набухання (молекули води входять в каркас, що утворює труднощі для проходження низькомолекулярних сполук). Тепер частку смоли можна явити як трьохмірний каркас з ковалентно закріпленими негативно зарядженими сульфо-групами:



Смоли із зв'язаними аніонними групами називають катіонітами, або катіонообмінними, а смоли, зв'язані з катіонними групами – аніонітами, або аніонообмінними.

Спочатку катіонообмінну колонку “наважують” іонами натрію, потім на поверхню колонки наносять кислий (рН 3,0) розчин суміші амінокислот і повільно пропускають його через колонку. При рН 3,0 амінокислоти – це катіони, які несуть позитивний заряд. Проходячи через колонку, позитивно заряджені іони амінокислот витісняють іони натрію:



Амінокислоти, які мають при рН 3,0 найбільший позитивний заряд (лізин, аргінін і гістидин) особливо активно приймають участь в обміні і внаслідок цього міцно зв'язуються із смолою. Амінокислоти, які при рН 3,0 мають найменший позитивний заряд (глутамінова і аспарагінова кислоти), зв'язуються із смолою в найменшій ступені. Всі інші амінокислоти несуть середній по величині позитивний заряд і характеризуються середньою міцністю зв'язування із смолою. Вимивання амінокислот проводять різними буферними розчинами із зростаючим значенням рН (від 3,25 до 5,28). Різні амінокислоти таким чином із різною швидкістю пересуваються по колонці, що залежить від їхніх кислотно-основних властивостей, а також від їх здібності адсорбуватись на частках смоли. Аспарагінова та глутамінова кислоти будуть проходити через колонку з найбільшою швидкістю, а гістидин, аргінін і лізин – з найменшою.

Процеси розділення амінокислот в іонообмінній хроматографії не можна звести тільки до іонного механізму. Наприклад, молекули тирозину та фенілаланіну, які мають бензольні кільця, виходять майже останніми тому, що бензольні

кільця цих амінокислот зв'язуються з бензольними кільцями смоли за рахунок Ван-дер-Ваальсових сил.

Розчин, який виходить з колонки, потрапляє в проточний реактор, де до розчину певної амінокислоти додають нінгідрин, отримують синьо-фіолетове забарвлення і вимірюють кількість кожної амінокислоти фотометричним способом.

Порядок виходу амінокислот з іонообмінної колонки:

Асп, Тре, Сер, Глу, Про, Глі, Ала, Цис, Вал, Мет, Іле, Лей, Тір, Фен, Ліз, Гіс, аміак, Арг

Обговорені принципи лежать в основі роботи сучасних автоматичних амінокислотних аналізаторів.

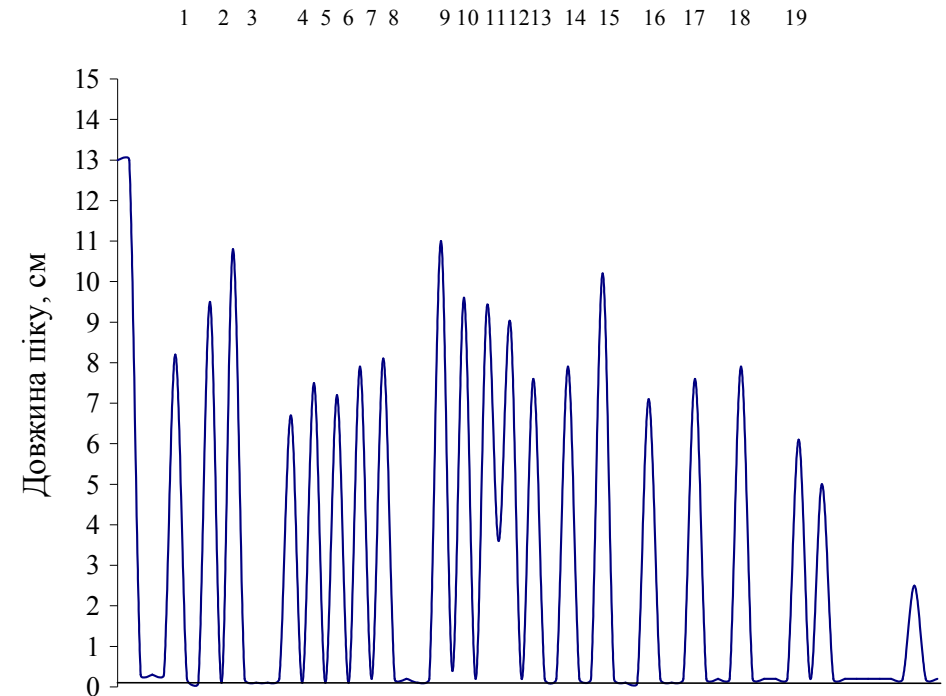
Зразок – білковий гідролізат, або суміш вільних амінокислот, яка виділена з фізіологічної рідини, потрапляє на іонообмінну колонку аналізатора через особливу систему вводу (2) і за допомогою насоса подається на колонку, яка заповнена катіонообмінником (4).

Після проходження через колонку амінокислоти поступають в змійовиковий реактор, де при кип'ятінні реагують з нінгідрином. Інтенсивно забарвлений продукт реакції поступає в колориметр, де при 540 нм та 440 нм вимірюється інтенсивність забарвлення.

Рис. 6 Хроматограма стандартної суміші вільних амінокислот (Схема, ЧРСР): 1 – аланін, 2 – гліцин, 3 – валін, 4 – β -аланін, 5 – лейцин, 6 – ізолейцин, 7 – пролін, 8 – треонін,

9 – серин, 10 – γ -аміноасляна кислота, 11 – аспарагінова кислота + аспарагін, 12 – глутамінова кислота + глутамін, 13 – фенілаланін, 14 – лізин, 15 – тирозін, 16 – триптофан, 17 – метіонін, 18 – гістидін, 19 – аргінін

Сигнал з фотокolorиметра поступає на реєстраційний прилад (самописець, обчислювальний інтегратор, ЕОМ). Запис реєстраційного приладу представляє собою амінограму або хроматограму амінокислот (рис.6). Час виходу амінокислоти характеризує якісно, а площа піка – кількісно кожну амінокислоту.



9 Використання амінокислотного аналізу в діагностиці захворювань

Існують клінічні розлади, при яких визначається висока концентрація амінокислот в плазмі крові та сечі. Концентрація амінокислот, що перевищує норму, у сечі має назву аміноацидурия. Фенілкетонурія – це метаболічний дефект, при якому в організмі хворого спостерігається недостатня кількість ферменту фенілаланін гідролази, який каталізує перетворення фенілаланіну в тирозин. Як результат, велика концентрація фенілаланіну, фенілпірувату і феніллактату накопичується в плазмі крові та сечі. Фенілкетонурія має місце в перші декілька неділь після народження, і якщо для немовля не визначити спеціальну дієту, то в подальшому буде спостерігатися сповільнений розумовий розвиток. Цистинурія – це загальний дефект у роботі транспортної системи мембран для цистину, лізину, аргініну і орнітину в епітеліальних клітинах. Велика кількість цих амінокислот виділяється в сечу. Інші симптоми цього захворювання: формування каменів всередині нирок при осаджуванні в них цистину. Синдром Фанконі – узагальнена аміноацидурия, яка пов'язана з гіпофосфатемією і виділенням глюкози. В основі цього

захворювання лежить аномальне поглинання амінокислот, фосфату і глюкози трубчатими клітинами.

Список рекомендованої літератури

1. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию: В 2-х т.Т.1.-М.: Мир, 1986.- 393 с.
2. Измайлов С.Ф. Азотный обмен в растениях. -М.:Мир, 1986.-652с.
3. Кретович В.Л. Биохимия растений - М.: Высшая школа, 1986.- 593 с.
4. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х т.: Пер. с англ. -М.: Мир, 1985.-Т.2.-368 с.
5. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. - М.:Колос, 1968.-183 с.
6. Практикум по общей биохимии/ Ю.Б.Филиппович , Т.А. Егорова, Г.А.Севастьянова/ Под ред. Ю.Б.Филипповича - М.:Наука, 1975.- 318 с.
7. Штеменко Н.И. Аминокислоты кукурузы. – Днепропетровск: Изд-во ДГУ.-1993.-196 с.
8. Хроматография . Практическое приложение метода В 2-х частях. Ч.1 Пер.с англ. /Под ред. Э.Хефтмана. -М.: Мир, 1986-336с.
9. Sung TM, Lambert RJ Ninhydrin color test for screening

modified endosperm opaque-2 maize// Cereal
Chem.J.-1983.- № 60.- P.83-84.

10. Chothia C. Amino acid residue must be at least 95 % buried within the interior of the protein structure in order to be counted as buried. Average for 12 proteins.// J. Mol. Biol.- Vol.105, N1.- 1976.-P.36-45.