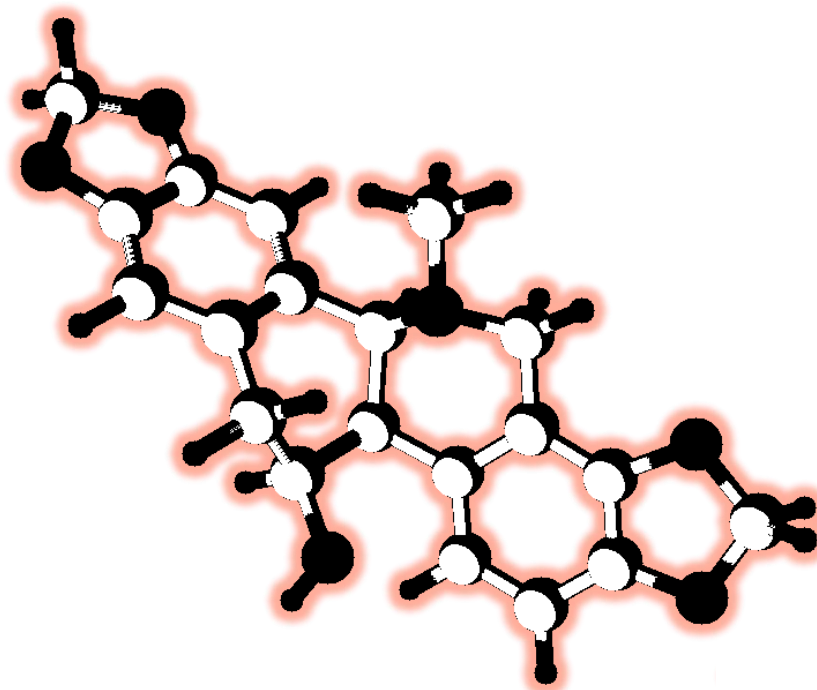


ZWIĄZKI NATURALNE



AMINOKWASY I PEPTYDY

Etap 0. i 1.

ZADANIE 1.

Struktura tripeptydu

Tripeptyd zawierający fenyloalaninę, glicynę i serynę poddano działaniu karboksypeptydazy. Pierwszym wolnym aminokwasem pojawiającym się w roztworze była fenyloalanina. Kiedy ten sam tripeptyd poddano degradacji Edmana otrzymano N-fenylotiohydantoinę glicyny. Jaka była struktura tego tripeptydu?

ZADANIE 2.

Struktura pentapeptydu

W wyniku częściowej hydrolizy pentapeptydu otrzymano następujące fragmenty: Gly-Ala, Leu-Phe, Leu-Leu i Ala-Leu. Podczas degradacji Edmana wyjściowego pentapeptydu otrzymano N-fenylotiohydantoinę glicyny. Jaka była struktura wyjściowego pentapeptydu?

ZADANIE 3.

Pierwszorzędowa struktura hormonu somatostatyny

Somatostatyna jest 14-peptydem, który hamuje wydzielanie hormonu wzrostu. W celu określenia sekwencji aminokwasowej tego peptydu wykonano, degradację Edmana i kilka hydroliz enzymatycznych. Na podstawie poniżej podanych danych określ strukturę pierwszorzędową somatostatyny:

1. degradacja Edmana dała PHT-Ala.
2. selektywne hydrolizy dały peptydy o następujących sekwencjach:

Phe-Trp

Thr-Ser-Cys

Lys-Thr-Phe

Thr-Phe-Thr-Ser-Cys

Asn-Phe-Phe-Trp-Lys

Ala-Gly-Cys-Lys-Asn-Phe

3. somatostatyna posiada mostek disiarczkowy.

ZADANIE 4.

Budowa peptydu

Po działaniu trypsyną, z hydrolizatu pewnego białka, zawierającego tylko aminokwasy kodowane (białkowe), wyodrębniono dipeptyd w postaci jego soli monoocjanowej. W wyniku analizy elementarnej (całkowite spalanie) ze 100 mg tej soli otrzymano 165,05 mg CO₂ i 70,64 mg H₂O; nie stwierdzono obecności tlenków siarki. W rezultacie oznaczania azotu metodą Dumasa, z również 100 miligramowej próbki związku uzyskano 11,5 cm³ azotu (pomiar w warunkach normalnych). Podaj:

- a) wzór strukturalny dipeptydu z zaznaczeniem konfiguracji na atomach asymetrycznych w konwencji wzoru Fischera.
- b) wzór dipeptydu w punkcie izoelektrycznym
- c) wzór dipeptydu w formie występującej w środowisku kwaśnym.
- d) wzór dipeptydu w formie przeważającej w środowisku zasadowym.

ZADANIE 5.

Analiza tripeptydu

Z hydrolizatu pewnego białka naturalnego, po trawieniu chymotrypsyną wyodrębniono tripeptyd. Podczas oznaczania zawartości węgla i wodoru (całkowite spalanie) z próbki 10,00 mg tego tripeptydu otrzymano 21,49 mg CO₂ i 6,17 mg H₂O; nie stwierdzono obecności tlenków siarki. Oznaczanie azotu z próbki 10,06 mg tripeptydu dało 1,1 cm³ azotu (pomiar w warunkach normalnych).

Podaj:

- wzór sumaryczny tripeptydu.
- skład aminokwasowy i sekwencję aminokwasów w tripeptydzie.
- wzór strukturalny (w konwencji wzoru Fischera) tripeptydu w punkcie izoelektrycznym.
- wzór strukturalny tripeptydu w formie występującej w środowisku kwaśnym.
- wzór strukturalny tripeptydu w formie przeważającej w środowisku zasadowym.

ZADANIE 6.

Ustalenie sekwencji aminokwasów w peptydzie

W oparciu o poniższe fakty wydedukuj sekwencję heptapeptydu.

- W wyniku całkowitej hydrolizy tego peptydu otrzymano następujący skład ilościowy aminokwasów: Ala (2), Glu, Leu, Lys, Phe, Val.
- Peptyd poddano reakcji z 2,4-dinitrofluorobenzenem, a następnie częściowej hydrolizie. Otrzymano m.in. walinę z oznakowaną grupą α-aminową, lizynę z oznakowaną grupą ε-aminową i dipeptyd DNP-Val-Leu (DNP = 2,4-dinitrofenyl-)
- Hydroliza wyjściowego peptydu karboksypeptydazą prowadziła początkowo do odszczenia alaniny, a następnie obserwowano wzrastające stężenie kwasu glutaminowego
- Częściowa hydroliza tego peptydu prowadzi do otrzymania dipeptydu (**A**) i tripeptydu (**B**)
 - Dipeptyd **A** poddano reakcji z 2,4-dinitrofluorobenzenem, a następnie częściowej hydrolizie. Otrzymano DNP-Leu i lizynę z oznakowaną grupą ε-aminową,
 - Całkowita hydroliza peptydu **B** prowadzi do otrzymania Glu, Phe i Ala. Kiedy tripeptyd **B** poddano reakcji z karboksypeptydazą mieszanina reakcyjna wykazywała wzrastające stężenie Glu. W wyniku reakcji peptydu **B** z 2,4-dinitrofluorobenzenem, a następnie hydrolizie otrzymano DNP-Phe.

ZADANIE 7.

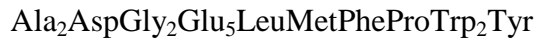
Struktura peptydu

Określ sekwencję 6-peptydu na podstawie poniższych danych:

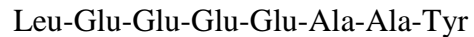
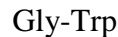
- hydroliza w środowisku kwaśnym daje: 2Leu, Lys, Phe, Ser, Tyr.
- karboksypeptydaza A uwalnia Tyr.
- odczynnik Edmana uwalnia Leu.
- w wyniku działania trypsyną powstaje: Leu-Lys oraz Phe-Leu-Ser-Tyr.
- pod wpływem chymotrypsyny powstaje: Leu-Lys-Phe oraz Leu-Ser-Tyr.

ZADANIE 8.**Sekwencja gastryny**

Gastryna jest heptadekapeptydowym hormonem, który stymuluje wydzielanie kwasu w żołądku ssaków. Kocia gastryna ma następujący skład aminokwasowy:



Peptyd ten poddano działaniu chymotrypsyny a następnie wyizolowano w produktach reakcji fragmenty peptydowe. Fragmenty te poddano analizie sekwencyjnej i otrzymano następujące struktury:



Analiza grup końcowych wykazała obecność na N-końcu kwasu glutaminowego, a na C-końcu obecność fenyloalaniny.

Polecenia:

- Określ, jakie są możliwe sekwencje kociej gastryny, które można napisać na podstawie powyższych informacji.
- Podaj metody służące do określania grup końcowych peptydów (N- i C-koniec).
- Oceń, czy peptyd ten będzie trawiony przez trypsynę.

ZADANIE 9.**Ustalanie sekwencji peptydu**

Analizowano pewien peptyd. Okazało się, że występuje on w postaci amidu na C-końcu i daje pozytywny wynik reakcji z ninhydraną. Kolejne próby dały następujące rezultaty:

- Po częściowej hydrolizie wyodrębniono następujące fragmenty: Ala-Thr, Phe-Leu, Ser-Phe oraz fragment o masie 231 g/mol. Masa ta nie odpowiadała żadnemu krótkiemu peptydowi.
- Po całkowitej hydrolizie wyizolowano 5 różnych aminokwasów oraz związek **X**. Stwierdzono, że związek **X** praktycznie nie rozpuszcza się w wodzie, natomiast rozpuszcza się w roztworze NaHCO_3 , czemu towarzyszy wydzielanie się pęcherzyków gazu. Analiza widma NMR wykazała, że związek ten ma prosty, nasycony łańcuch węglowy. Ponadto po spaleniu 0,01 mola związku **X** otrzymano 3,52 g CO_2 .
- W wyniku reakcji z 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenem, a następnie hydrolizie otrzymanej pochodnej powstaje związek o masie 255 g/mol.

Polecenia:

- Napisz schemat reakcji peptydu z 2,4-dinitrofluorobenzenem.
- Podaj sekwencję (wraz z uzasadnieniem) poszukiwanego peptydu, z uwzględnieniem przyłączenia związku **X**. Dla aminokwasów zastosuj kod 3-literowy, natomiast związek **X** napisz w postaci wzoru półstrukturalnego.
- Określ, jakiego typu połączenie chemiczne występuje między związkiem **X** a badanym peptydem.

ZADANIE 10.**Lek mukolityczny**

Prosta pochodna **X** jednego z aminokwasów naturalnych (składnika białek) stosowana jest jako lek mukolityczny – rozrzedzający wydzielinę dróg oddechowych. Wykazuje ona również pewne właściwości odtruwające, na przykład unieczynnia toksyczne metabolity paracetamolu. Skład pierwiastkowy tego związku jest następujący: C – 36,80% , H – 5,56%, N – 8,58%, O – 29,41 % , S – 19,65%, a jego masa molowa jest mniejsza niż 200 g/mol. W wyniku reakcji hydrolizy **X** można otrzymać z powrotem wyjściowy aminokwas. W testach na właściwości kwasowo-zasadowe związek **X** odbarwia papierek uniwersalny zabarwiony na zielono w oparach amoniaku (miejskowa zmiana koloru papierka z zielonego na żółty), natomiast nie odbarwia papierka zabarwionego na czerwono w oparach kwasu solnego.

Podaj:

- wzór sumaryczny związku **X**.
- wzór półstrukturalny związku **X**.
- konfigurację absolutną asymetrycznego atomu węgla (R lub S).

ZADANIE 11.**Peptydy i ich sekwencje**

Analizowano pewien peptyd **Y** o nieznannej sekwencji. Przeprowadzono kilka podstawowych prób i okazało się, że:

- peptyd **Y** nie ulega degradacji Edmana, ani reakcji z 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenem.
- peptyd **Y** zbudowany jest z 7 reszt aminokwasowych: 2Ala, 2Gly, Leu, Val i Tyr lub Phe.
- w wyniku działania chymotrypsyną na peptyd **Y** otrzymuje się produkt **X**.
- produkt **X** ulega reakcji z 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenem, a po hydrolizie otrzymuje się pochodną Gly.
- częściowa hydroliza peptydu **Y** doprowadziła do wyizolowania krótszych fragmentów o następujących masach: 174 g/mol, 202 g/mol, 222 g/mol, 236 g/mol. Ponadto część wyizolowanych fragmentów poddano sekwencjonowaniu i otrzymano: Val-Leu-Ala, Gly-Ala-Gly.

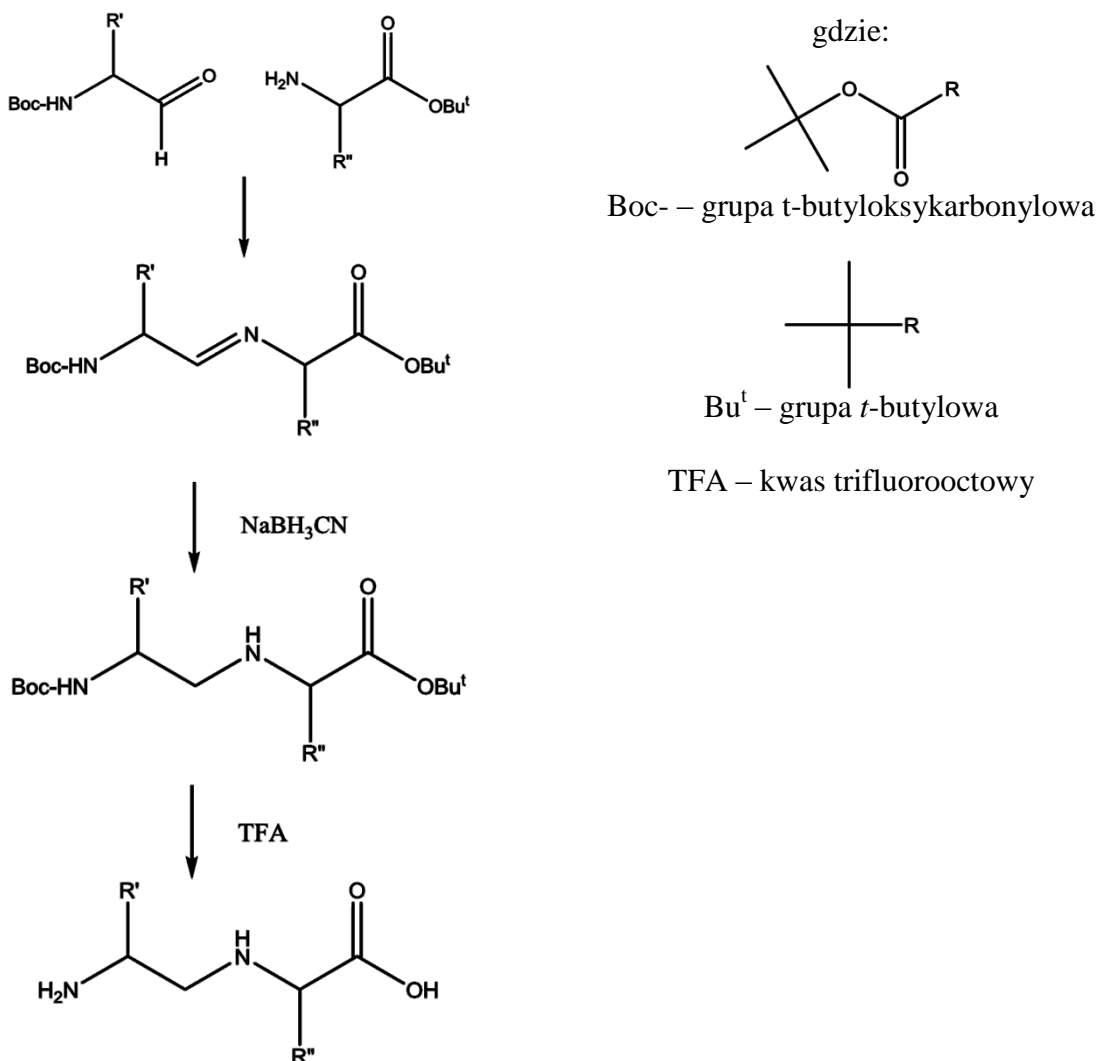
Polecenia:

- Uzasadnij obserwacje dotyczące degradacji Edmana i reakcji z 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenem.
- Podaj sekwencję badanego peptydu wraz z krótkim uzasadnieniem.

ZADANIE 12.**Struktura analogu tetrapeptydu**

W badaniach zależności aktywności biologicznej od struktury chemicznej biologicznie czynnych peptydów często syntezuje się analogi, w których część wiązań peptydowych zastępuje się innymi wiązaniami, które przypominają wiązania peptydowe, ale w przeciwieństwie do nich, nie są podatne na hydrolizę enzymatyczną. Badanie związku P, będącego analogiem endogennego tetrapeptydu dało następujące rezultaty:

1. W wyniku kwaśnej hydrolizy analogu P otrzymano fenyloalaninę (Phe), walinę (Val) i związek X.
2. Oznaczenie aminokwasu znajdującego się na N-końcu tego analogu wykonano metodą Sangera. Okazało się, że powstała pochodna 2,4-dinitrofenylowa zawierała 11 atomów węgla.
3. W wyniku działania na badany analog karboksypeptydazy (enzymu odcinającego C-końcowy aminokwas), w roztworze stwierdzono obecność fenyloalaniny.
4. Związek X jest izosterem dipeptydu alanylo-alaniny (Ala-Ala) i zawiera w miejscu wiązania peptydowego $-\text{CO}-\text{NH}-$ inne wiązanie, nie podatne na degradację enzymatyczną.
5. Związek X można otrzymać w cyklu reakcji:



Polecenie: Korzystając z powyższych informacji ustal budowę związku P.

ZADANIE 13.

Pochodne aminokwasów naturalnych

Od wielu lat prowadzone są badania nad systemem dostarczania leków (ang. DDS – drug delivery system) do miejsca działania. Jednym ze sposobów jest umieszczanie leku w polimerze, który pęcznieje lub kurczy się zależnie od pH środowiska. Do otrzymania jednego z takich żeli wykorzystano związek **X**, pochodną pewnego naturalnego aminokwasu **A**, którego pI wynosi 9,74. Wiadomo, że związek **X**:

- wykazuje fioletową barwę w próbie z ninhydryną.
- ulega reakcji z chlorkiem acetylu wobec trietyloaminy.
- ulega reakcji z metanolem wobec chlorku tionylu.
- ma masę molową równą 200 g/mol.
- w widmie IR ma 2 różne pasma pochodzące od grup karbonylowych.

Ponadto roztwór związku **X** odbarwia wodę bromową oraz roztwór KMnO_4 na zimno, ale nie daje pozytywnego wyniku próby Tollensa.

Związek **X** można otrzymać w wyniku dwóch następujących po sobie reakcji: w pierwszej z nich substratem jest aminokwas **A** z zablokowaną grupą α -aminową, natomiast druga reakcja polega na usunięciu grupy zabezpieczającej.

Polecenia:

- Podaj wzór strukturalny lub półstrukturalny związku **X** (bez zaznaczanie stereochemii), jeśli wiadomo, że 2 mmole aminokwasu **A** reagują z 0,33 g chlorku acetylu wobec trietyloaminy (do reakcji wzięto 5% molowych nadmiaru chlorku kwasowego).
- Podaj schematy reakcji związku **X** z Br_2 oraz chlorkiem acetylu wobec trietyloaminy (bez zaznaczania stereochemii).
- Podaj prawdopodobny schemat otrzymywania pochodnej związku **X** w reakcji aminokwasu **A** z zablokowaną grupą α -aminową oraz drugiego potrzebnego komponentu.
- Wyjaśnij, w jaki sposób związek **X** można wbudować w strukturę polimeru (żelu), tak by tylko w niewielkim stopniu zmieniły się właściwości kwasowo-zasadowe **X**.

ZADANIE 14.

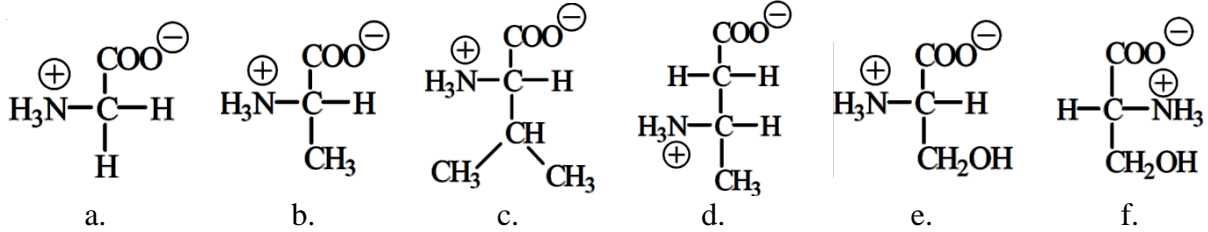
Oznaczanie sekwencji peptydu

Podaj sekwencję naturalnego 8-peptydu w oparciu o poniższe fakty:

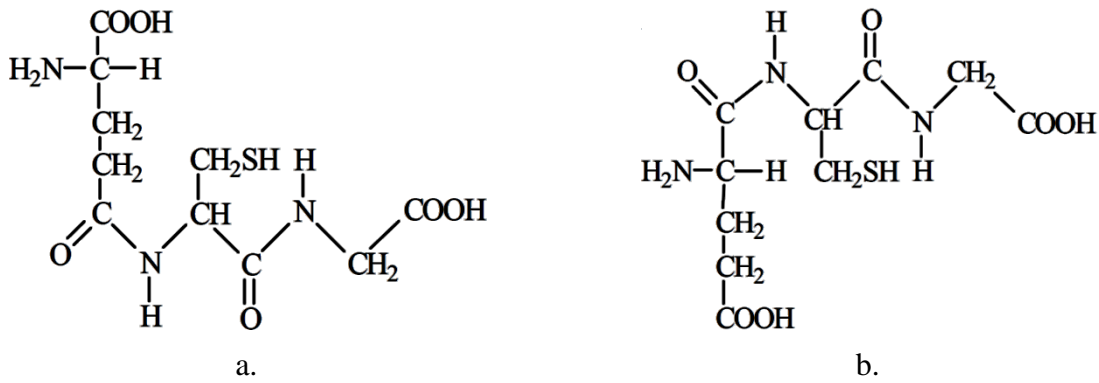
- Do oznaczenia N-końcowego aminokwasu wykorzystano metodę Sangera. W wyniku reakcji peptydu z 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenem i przeprowadzonej hydrolizie produktu tej reakcji dwa aminokwasy zostały przeprowadzone w pochodne 2,4-dinitrofenylowe (DNP). Okazało się, że obie pochodne zawierały 12 atomów węgla.
- W wyniku trawienia wyjściowego peptydu enzymem rozszczepiającym wiązania peptydowe po karboksylowej stronie aminokwasów aromatycznych otrzymano następujące fragmenty: Leu-Pro-Met-Phe i Lys-Pro-Ala-Phe.

ZADANIE 15.**Struktura i własności aminokwasów**

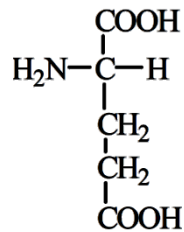
A. Spośród przedstawionych aminokwasów wskaż dwa aminokwasy niebiałkowe. Uzasadnij, jakie cechy budowy tych związków decydują o tym, że nie wchodzi one w skład łańcuchów polipeptydowych białek.



B. Który z następujących tripeptydów nie powstaje w wyniku hydrolizy białka? Odpowiedź uzasadnić.



C. W jakiej postaci będą występować cząsteczki aminokwasu o wzorze:



a) w 0,1-molowym roztworze HCl?

b) w 0,1-molowym roztworze NaOH?

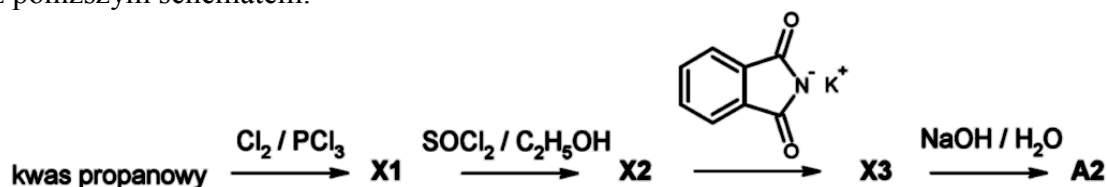
Etap 2.

ZADANIE 16.

Analiza pewnego peptydu

Analizowano pewien 7-peptyd **P**. Stwierdzono, że peptyd ten składa się z 4 różnych aminokwasów, z których 3 występują dwukrotnie. Po przeprowadzeniu kilku reakcji peptydu **P** okazało się, że:

- w skład cząsteczki peptydu wchodzi jedna reszta aminokwasu zasadowego **A1**, którego grupa funkcyjna w łańcuchu bocznym stanowi fragment wiązania peptydowego. Ponadto peptyd zbudowany jest z reszt aminokwasów aromatycznych i obojętnych.
- w wyniku reakcji peptydu **P** z 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenem, a następnie hydrolizy tak uzyskanej pochodnej, otrzymano dwie różne pochodne 2,4-dinitrofenylowe (DNP) **B** i **C** o masach molowych równych odpowiednio: 312 g/mol 347 g/mol.
- sól sodową aminokwasu **A2**, w postaci mieszaniny racemicznej, można otrzymać zgodnie z poniższym schematem:



- zarówno aminopeptydaza jak i karboksypeptydaza mogą odszczepić ten sam aminokwas **A3**.
- częściowa hydroliza (tylko jednego wiązania peptydowego) peptydu prowadzi do otrzymania 2 fragmentów: **P1**, składającego się z 3 reszt aminokwasowych oraz **P2**, zbudowanego z 4 reszt.
- masa molowa peptydu **P1** jest równa 399 g/mol. Peptyd ten ulega trawieniu chymotrypsyną, w wyniku czego otrzymuje się aminokwas oraz dipeptyd zbudowany m.in. z reszty aminokwasu **A2**; peptyd **P1** nie ulega reakcji z trypsyną.
- peptyd **P2** ulega reakcji z trypsyną, co powoduje skrócenie jego sekwencji o jeden aminokwas; trawienie **P2** chymotrypsyną powoduje otrzymanie m.in. tripeptydu.

Chymotrypsyna to enzym hydrolizujący wiązania peptydowe po karboksylowej stronie aminokwasów aromatycznych, natomiast trypsyna to enzym hydrolizujący wiązania peptydowe po karboksylowej stronie aminokwasów zasadowych.

Polecenia:

- Narysuj wzory strukturalne lub półstrukturalne związków **B** i **C** (bez uwzględniania stereochemii). Uzasadnij swój wybór m.in. wykonując stosowne obliczenia.
- Narysuj wzory strukturalne lub półstrukturalne związków **X1**, **X2**, **X3**.
- Podaj aminokwas **A3** odszczepiany przez aminopeptydazę oraz karboksypeptydazę.
- Podaj sekwencje peptydów **P1**, **P2**, **P** (używając trzyliterowych skrótów poszczególnych aminokwasów) wraz z uzasadnieniem każdej sekwencji.

ZADANIE 17.**Tripeptyd**

Narysuj wzór strukturalny naturalnego tripeptydu (z podaniem konfiguracji absolutnej asymetrycznych atomów węgla) pełniącego w organizmie funkcję układu oksydoredukcyjnego, wiedząc, że:

1. peptyd poddany próbie ninhydrynowej wykazuje fioletową barwę.
2. jedno z wiązań peptydowych jest wytworzone poprzez grupę funkcyjną znajdującą się w łańcuchu bocznym jednego z aminokwasów.
3. pik jonu pseudomolekularnego stwierdzony za pomocą spektrometrii mas ze źródłem jonizacji typu elektrosprej (ang. *electrospray*) odpowiada masie cząsteczkowej 308 u. UWAGA: liczba ta odpowiada masie cząsteczkowej substancji powiększonej o jeden, $[M+H]^+$.
4. w wyniku utlenienia tego peptydu tlenem z powietrza powstaje produkt tworzący jon pseudomolekularny o masie cząsteczkowej 613 u.
5. podziałanie na tak utleniony peptyd chlorkiem tionylu w metanolu (jest to reakcja estryfikacji wolnych grup karboksylowych) prowadzi do produktu dającego pik pseudomolekularny odpowiadający masie cząsteczkowej 669 u.
6. w wyniku częściowej hydrolizy wyjściowego peptydu powstają m.in. dwa dipeptydy. Di-peptydy te po rozdzieleniu poddano analizie elementarnej. W obu przypadkach uzyskano CO_2 , H_2O , N_2 oraz $BaSO_4$.
7. identyfikacja reszty aminokwasowej znajdującej się na N-końcu badanego tripeptydu przeprowadzona została metodą Sangera. Stosując spektrometrię mas typu elektrosprej stwierdzono w widmie hydrolizatu m.in. obecność jonu pseudomolekularnego DNP-AA odpowiadającego masie cząsteczkowej 314 u.

Metoda Sangera polega na przeprowadzeniu reakcji peptydu z 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenem. Reakcji ulegają wolne grupy aminowe znajdujące się w peptydzie. Otrzymaną w ten sposób pochodną 2,4-dinitrofenylową (DNP) peptydu poddaje się hydrolizie, a następnie różnymi metodami indentyfikuje się DNP-pochodną aminokwasową.

Rozwiązując zadanie podaj wnioski, jakie wyciągasz z informacji podanych w każdym z powyższych punktów (1 – 7). Napisz równania reakcji, jakim ten peptyd zostaje poddany w punktach (4, 5, 7).

W obliczeniach masy molowe należy zaokrąglić do liczb całkowitych.

ZADANIE 18.**Analiza pewnego peptydu**

Z materiału naturalnego wyizolowano nieznaną związek, mający charakter peptydowy – związek ten dawał pozytywny wynik testu z ninhydriną. Metodą spektrometrii mas określono, że masa związku wynosiła $M_1 = 534$ g/mol, a po przeprowadzeniu jego całkowitej hydrolyzy stwierdzono, że jest to pentapeptyd. W celu określenia sekwencji tego peptydu, poddano go działaniu:

- trypsyny, otrzymując fragmenty o masach: $M_2 = 463$ g/mol i $M_3 = 89$ g/mol;
- chymotrypsyny, otrzymując fragmenty o masach: $M_4 = 335$ g/mol i $M_5 = 217$ g/mol.

Oznaczono też aminokwas N-końcowy, przeprowadzając reakcję peptydu z 2,4-dinitrofluorobenzenem a następnie produkt poddano hydrolizie. Otrzymano pochodną, której masa wynosiła $M_6 = 241$ g/mol. Po przeprowadzeniu dodatkowych eksperymentów okazało się, że w badanym peptydzie występuje aminokwas posiadający hydrofobowy łańcuch boczny oraz zawierający w cząsteczce 2 asymetryczne atomy węgla.

W peptydzie występuje też aminokwas tworzący w reakcji z bezwodnikiem octowym produkt, którego masa molowa jest o 84 g/mol większa niż masa molowa substratu. Skład procentowy tego produktu jest następujący: węgiel – 52,2%, tlen – 27,8%, wodór – 7,8%, a resztę stanowi azot.

Polecenia:

- a) Zidentyfikuj aminokwas C-końcowy (podaj jego wzór strukturalny i krótkie uzasadnienie).
- b) Zidentyfikuj aminokwas N-końcowy (podaj jego wzór strukturalny) i napisz schemat reakcji peptydu z 2,4-dinitrofluorobenzenem.
- c) Podaj wzór strukturalny aminokwasu z hydrofobowym łańcuchem bocznym i zaznacz asymetryczne atomy węgla.
- d) Zidentyfikuj aminokwas, który poddano reakcji z bezwodnikiem octowym (podaj jego wzór strukturalny) i napisz schemat tej reakcji.
- e) Zidentyfikuj pozostały aminokwas (podaj jego wzór strukturalny).
- f) Podaj sekwencję badanego peptydu oraz uzasadnienie wyboru sekwencji.

W obliczeniach przyjmij przybliżone wartości mas molowych:

C – 12 g/mol

H – 1 g/mol

N – 14 g/mol

O – 16 g/mol

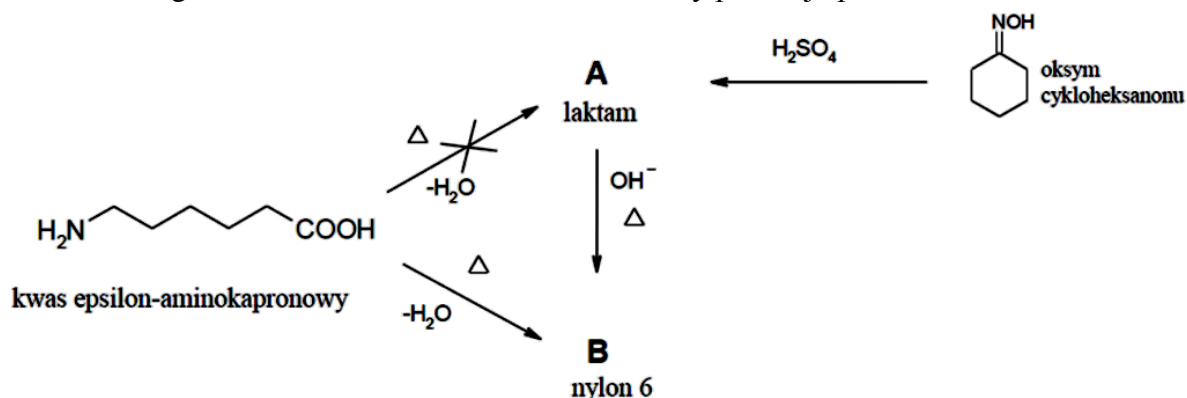
ZADANIE 19.**Aminokwasy**

Aminokwasy – związki organiczne zawierające w swej cząsteczce przynajmniej dwie grupy funkcyjne aminową i karboksylową – nie tylko pełnią ważne funkcje biologiczne, ale również ulegają wielu interesującym reakcjom chemicznym. W zależności od położenia grupy aminowej względem karboksylowej można wyróżnić α , β , γ , δ , ε -aminokwasy, gdzie grecka litera określa odległość między tymi grupami funkcyjnymi. W α -aminokwasach - podstawowych składnikach białek – grupy aminowa i karboksylowa są przyłączone do tego samego atomu węgla.

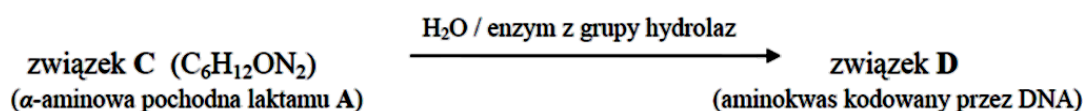
Część I

Pod wpływem ogrzewania γ - i δ -aminokwasów, w wyniku eliminacji wody, powstają cykliczne amidy – laktamy. Ogrzewany kwas ε -aminokapronowy nie tworzy cyklicznego amidu **A**, tylko ulega międzycząsteczkowej kondensacji dając produkt **B** - poliamid, znany pod nazwą nylon 6. Laktam **A** można otrzymać w wyniku reakcji oksymu cykloheksanonu z H_2SO_4 , nazywanej przegrupowaniem Beckmanna.

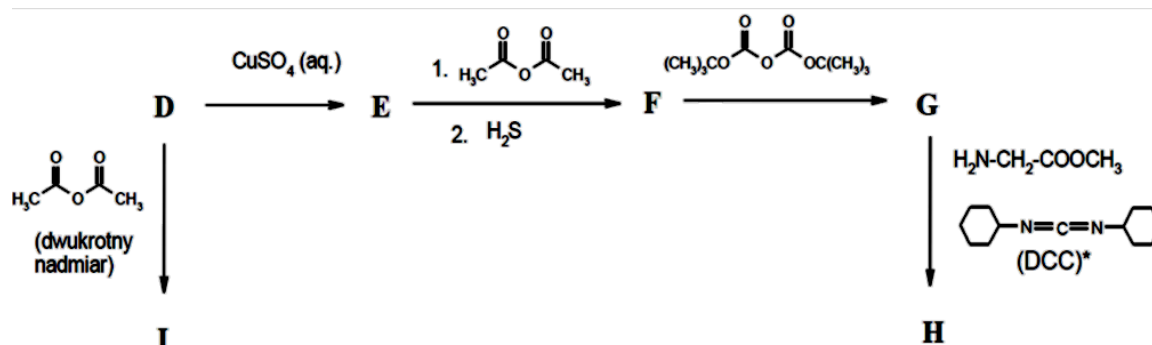
Podczas ogrzewania laktamu **A** w obecności zasady powstaje produkt **B**.

Część II

Jeżeli racemiczną α -aminową pochodną laktamu **A** (związek **C**) podda się działaniu pewnego enzymu z grupy hydrolaz w obecności wody to powstanie aminokwas kodowany przez DNA (związek **D**).



Związek **D** może być substratem ciągu przemian przedstawionych na poniższym schemacie:



* wskazówka: DCC jest reagentem aktywującym grupę karboksylową

Polecenia:

- Nazwij kwas ϵ -aminokapronowy zgodnie z regułami IUPAC.
- Narysuj wzór półstrukturalny związku **A**.
- Narysuj wzór półstrukturalny produktu **B**.
- Narysuj wzór półstrukturalny związku **C**.
- Narysuj wzór półstrukturalny lub szkieletowy związku **D**.
- Przedstaw za pomocą projekcyjnych wzorów Fischera enancjomery związku **D**. Zaznacz, który wzór przedstawia enancjomer L, a który D.
- Zaproponuj strukturę związku kompleksowego **E** wiedząc, że liczba koordynacyjna jonów Cu^{2+} w tym kompleksie wynosi 4.
- Narysuj wzory półstrukturalne lub szkieletowe związków **F, G, H, I**.

ZADANIE 20.**Sekwencja naturalnego pentapeptydu**

W wyniku analizy (całkowite spalanie) pewnego naturalnego pentapeptydu, wykazującego działanie przeciwbólowe, z 0,172 mmola tego peptydu otrzymano 0,228 g CO_2 i 0,057 g H_2O , nie stwierdzono zaś obecności siarki. W wyniku oznaczania całkowitej zawartości azotu z takiej samej ilości peptydu otrzymano 9,66 cm^3 azotu (pomiar w warunkach normalnych). Częściowa hydroliza wyjściowego peptydu chymotrypsyną – enzymem hydrolizującym wiązanie peptydowe utworzone przez grupę karboksylową aminokwasu aromatycznego – prowadziła do otrzymania m.in. dwóch peptydów o masach cząsteczkowych 172 u i 262 u. Oba te peptydy po wyizolowaniu i oczyszczeniu, nie wykazywały pozytywnego wyniku w próbie ninhydrynowej, podczas gdy wyjściowy pentapeptyd wykazywał w próbie ninhydrynowej wynik pozytywny.

Całkowita hydroliza tego peptydu prowadzi do następujących aminokwasów: Gly, Tyr oraz aminokwasów **X** i **Y**. Masa molowa aminokwasu **X** jest mniejsza od masy molowej aminokwasu **Y**.

Polecenia:

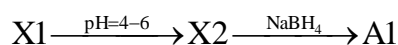
- Podaj wzór strukturalny aminokwasu **X** o konfiguracji absolutnej *S*.
- Podaj wzór strukturalny aminokwasu **Y** o konfiguracji absolutnej *S*.
- Podaj sekwencje peptydów powstających w wyniku hydrolizy chymotrypsyną.
- Ustal wzór sumaryczny wyjściowego pentapeptydu.
- Podaj sekwencję tego peptydu. Odpowiedź uzasadnij.

ZADANIE 21.**Analiza biologicznie aktywnego peptydu**

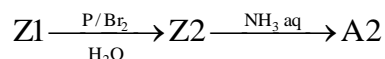
Pewien peptyd (związek **P**), o masie molowej równej 481 g/mol wykazuje fioletową barwę w próbie z ninhydriną i nie ulega żadnym reakcjom wobec trypsyny (trypsyna to enzym hydrolizujący wiązania amidowe po karboksylowej stronie Lys i Arg). Analiza pików w widmie masowym po fragmentacji tego peptydu wykazała, że jest on zbudowany z czterech reszt aminokwasów naturalnych przy czym:

- jest wśród nich arginina (Arg)
- jeden z aminokwasów się powtarza.

Oznacza to, że poza arginina, w skład peptydu **P** wchodzi dwa inne aminokwasy **A1** i **A2**. Aminokwas **A1** jest syntezowany przez bakterie ze związku **X1**, który zawiera jedną grupę aldehydową i powstaje w wyniku selektywnej redukcji kwasu glutaminowego. Aminokwas **A1** można również otrzymać zgodnie z poniższym schematem:



Masa molowa związku **X2** jest o 18 g/mol mniejsza niż masa molowa związku **X1**. Aminokwas **A2** otrzymuje się zgodnie ze schematem:



Związkiem wyjściowym **Z1** jest nasycony kwas karboksylowy o masie molowej 116 g/mol. Kwas ten ma rozgałęziony łańcuch węglowy, ale nie ma w swojej strukturze asymetrycznego atomu węgla.

Polecenia:

- a) Narysuj wzory półstrukturalne (lub szkieletowe) wszystkich izomerów związku **Z1** będących kwasami z rozgałęzionym łańcuchem węglowym, bez względu na to, czy spełniają inne warunki zadania.
- b) Podaj wzory strukturalne lub półstrukturalne (bez zaznaczania stereochemii) aminokwasów **A1**, **A2** oraz związków **X1**, **X2**, **Z1** (izomeru spełniającego wszystkie warunki zadania), **Z2**.
- c) Podaj nazwę aminokwasu C-końcowego (**AC**) wraz z krótkim uzasadnieniem.
- d) Podaj nazwę aminokwasu N-końcowego (**AN**) wraz z krótkim uzasadnieniem.
- e) Podaj sekwencję peptydu **P** stosując skróty trzyliterowe dla oznaczenia poszczególnych aminokwasów. Krótko uzasadnij swój wybór.

W obliczeniach przyjmij przybliżone wartości mas molowych:



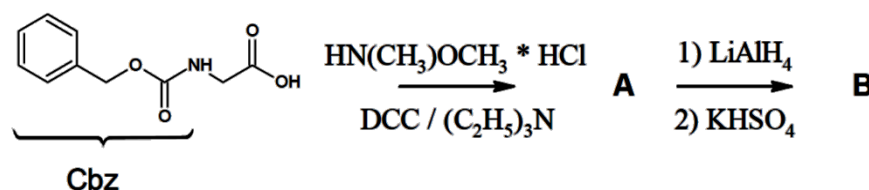
Etap 3.

ZADANIE 22.

Cykliczne analogi aminokwasów aromatycznych

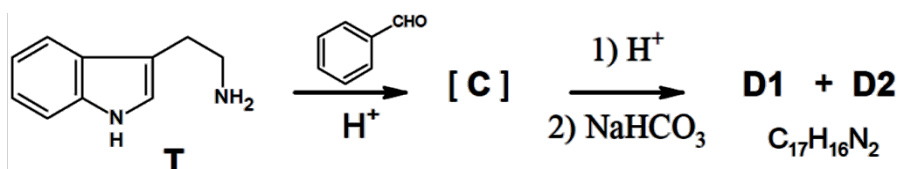
W chemii aminokwasów i peptydów od wielu lat stosuje się analogi aminokwasów aromatycznych, charakteryzujące się ograniczoną rotacją łańcuchów bocznych. Zastosowanie takich związków ma pomóc w poznawaniu przestrzennych struktur peptydów bioaktywnych.

W wielu syntezach organicznych jako tzw. bloki budulcowe używane są aminoaldehydy z zabezpieczoną grupą aminową, otrzymywane z aminokwasów. Związków tych nie można otrzymać w wyniku bezpośredniej redukcji aminokwasów z zabezpieczoną grupą aminową. Otrzymuje się je przez redukcję tzw. amidu Weinreba **A** (DCC – to tzw. odczynnik sprzęgający), co pokazane jest na schemacie I.



Otrzymywano pochodne tryptaminy **T** w sposób pokazany na schemacie II. Związek **C** jest produktem pośrednim. W środowisku kwaśnym ulega izomeryzacji polegającej na wytworzeniu nowego wiązania węgiel-węgiel na drodze substytucji elektrofilowej (powstaje stabilny pierścień).

W wyniku reakcji powstaje mieszanina enancjomerów **D1** i **D2**. Produkty **D1** i **D2** można w prosty sposób odróżnić od tryptaminy za pomocą testu ninhydrynowego: tryptamina powoduje fioletowe zabarwienie, a związki **D1** i **D2** wykazują żółtą barwę.



W przekształceniach przedstawionych na schemacie II, zamiast benzaldehydu można zastosować aminoaldehyd **B** oraz ester metylowy tryptofanu. Otrzymuje się wtedy mieszaninę izomerów **E1** i **E2**.

Polecenia:

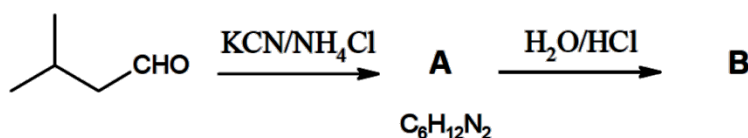
- Podaj wzory półstrukturalne związków **A**, **B**. Uzasadnij, dlaczego aminoaldehydów z zabezpieczoną grupą aminową nie można otrzymać w wyniku bezpośredniej redukcji aminokwasów z zabezpieczoną grupą aminową.
- Podaj wzory półstrukturalne związków **C**, **D1**, **D2**, wiedząc, że związek **D1** ma konfigurację *R*, a **D2** ma konfigurację absolutną *S*.
- Podaj wzór półstrukturalny produktu reakcji związku **D1** z chlorkiem kwasu octowego wobec trietyloaminy. Uzasadnij krótko taki przebieg reakcji.
- Podaj wzory półstrukturalne związków **E1**, **E2** wiedząc, że do reakcji użyto estru metylowego tryptofanu o konfiguracji *S*. Określ, jakiego typu izomerami są związki **E1** i **E2**.

ZADANIE 23.**Peptydy i peptydomimetyki**

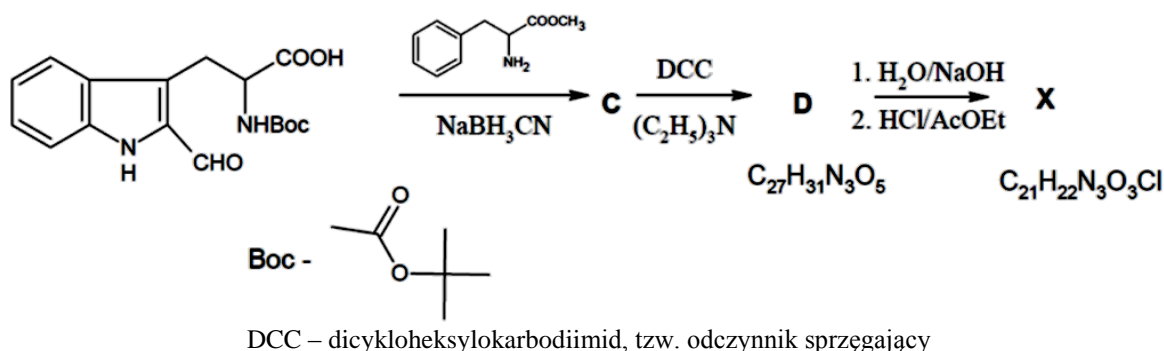
W badaniach nad zależnością aktywności biologicznej peptydów od ich struktury chemicznej często wykorzystuje się analogi wyjściowych peptydów, które zawierają w swojej strukturze usztywniony fragment o ograniczonej rotacji. Związki te (peptydomimetyki) umożliwiają dokładniejsze zbadanie konformacji badanego związku, a przez to określenie położenia łańcuchów bocznych aminokwasów koniecznego do wykazywania przez ten związek działania biologicznego.

Określ budowę pewnego peptydomimetyku **P**, wiedząc że:

- związek ten jest zbudowany z 2 reszt aminokwasowych oraz reszty fragmentu **X**.
- masa molowa tego związku wynosi 533 g/mol.
- w wyniku działania 1-fluoro-2,4-dinitrobenzenem na ten związek, otrzymano pochodną o masie molowej 241 g/mol.
- działanie karboksypeptydazą na ten związek prowadzi do otrzymania aminokwasu, który można również otrzymać w wyniku poniższych przekształceń:



- do związku **X** prowadzą następujące przekształcenia:

**Polecenia:**

- Podaj jaki jest *N*-końcowy aminokwas wraz z krótkim uzasadnieniem.
- Podaj wzory półstrukturalne lub szkieletowe związków **A**, **B**, **C**, **D** (bez zaznaczania stereochemii).
- Narysuj wzór półstrukturalny lub szkieletowy peptydomimetyku **P** bez zaznaczania stereochemii, wraz z krótkim uzasadnieniem podanej sekwencji.
- Wiedząc, że peptydomimetyk **P** został zaprojektowany w celu określenia konformacji niektórych łańcuchów bocznych aminokwasów wyjściowego liniowego peptydu **I** o masie molowej 521 g/mol, podaj sekwencję peptydu **I** i narysuj jego wzór półstrukturalny lub szkieletowy (bez zaznaczania struktury przestrzennej).

W obliczeniach przyjmij następujące wartości mas molowych:

H – 1 g/mol

C – 12 g/mol

N – 14 g/mol

O – 16 g/mol

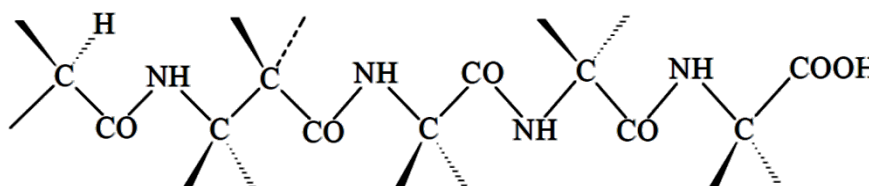
ZADANIE 24.**Pochodna syntetycznego pentapeptydu**

Uzupełnić podany na Rys. 1. wzór pochodnej pentapeptydu wiedząc, że:

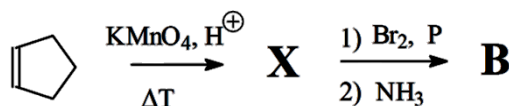
- a) w wyniku całkowitej hydrolizy tej pochodnej powstają:
- naturalne aminokwasy: alanina oraz aminokwas **B** w stosunku 3 : 1.
 - nie występujący w przyrodzie, izomeryczny z alaniną aminokwas **A**.
 - substancja nieaminokwasowa **Y**, która po dołączeniu do peptydu ułatwia jego transport przez błony komórkowe.
- b) w wyniku hydrolizy polipeptydu z udziałem karboksypeptydazy otrzymuje się tetrapeptyd oraz aminokwas **B**.
- c) racemiczny aminokwas **B** można otrzymać w wyniku sekwencji reakcji przedstawionej na Rys. 2.
- d) substancja **Y** ulega ozonolizie z następczą redukcją (cynk w środowisku słabo kwaśnym), tworząc trzy produkty: heksanal, propanodial i kwas 9-oksononanowy.
- e) substancja **Y** połączona jest w wyjściowym związku z N-terminalną resztą pentapeptydu.

Podać:

1. nazwy związków: **A**, **B**, **X** i **Y**. Odpowiedź uzasadnić
2. wzory lub nazwy wszystkich stereoizomerów substancji **Y**. Który z nich jest związkiem naturalnym?



Rys. 1.



Rys. 2.

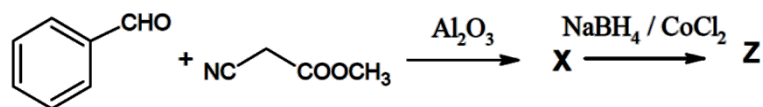
ZADANIE 25.**Analogi peptydów opioidowych**

Analizowano trzy związki **A**, **B**, **C** będące analogami endogennych peptydów o działaniu przeciwbólowym. Wiadomo, że wszystkie związki były krótkimi peptydami (wszystkie składały się z takiej samej liczby aminokwasów), zbudowanymi z aminokwasów aromatycznych oraz iminokwasu. W sekwencji dwóch peptydów w miejscu jednego aminokwasu białkowego był wbudowany aminokwas nienaturalny.

Za pomocą spektrometrii mas określono, że związki **A** i **B** miały masę molową o 14 g/mol większą niż związek **C**. Wszystkie trzy związki wykazywały pozytywny wynik próby ninhydrinowej. Po przeprowadzeniu reakcji trawienia chymotrypsyną okazało się, że z peptydów **A** i **C** otrzymano po 3 fragmenty, natomiast z peptydu **B** tylko 2 fragmenty. W przypadku dwóch peptydów otrzymano fragment o masie molowej 262 g/mol, dodatkowo z jednego z tych peptydów, fragment o masie molowej 165 g/mol.

W wyniku degradacji Edmana (jeden cykl) każdego z analizowanych peptydów otrzymano taką samą pochodną o masie 298 g/mol, a powstałe w ten sposób krótsze fragmenty nie dawały fioletowego zabarwienia z ninhydriną.

Aminokwas nienaturalny występujący w sekwencji można otrzymać w wyniku następujących przemian:

Polecenia:

- Podaj ogólny schemat degradacji Edmana oraz wzór półstrukturalny (szkieletowy) pochodnej, której powstawanie opisano w treści zadania.
- Podaj wzory półstrukturalne (szkieletowe) substancji **X** oraz **Z** i odpowiedz, czy podany cykl reakcji prowadzi do otrzymania produktu czynnego optycznie.
- Podaj sekwencje peptydów **A**, **B**, **C** (użyj kodu 3-literowego, a w miejscu aminokwasu nienaturalnego wpisz **U**) i każdą z nich krótko uzasadnij.
- Wyjaśnij, odnosząc się do treści zadania, jaki wpływ na stabilność peptydów w warunkach fizjologicznych, ma obecność aminokwasu nienaturalnego.