

### ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №3

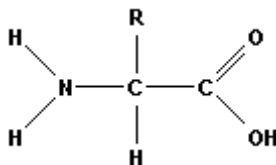
**Тема: Химия биологически активных соединений. Аминокислоты, пептиды, белки**

**Учебно-целевые задачи:** Ознакомиться с явлениями взаимного влияния функциональных групп в молекулах аминокислот. Изучить химическое поведение аминокислот. Ознакомиться с различными видами организации пептидов и белков в пространстве.

**Перечень практических навыков.**

- ✓ самостоятельно работать со справочной и учебной литературой, превращать прочитанное в средство для решения типовых задач;
- ✓ активно использовать номенклатурные правила по органической и неорганической химии и номенклатуру органических и неорганических соединений;
- ✓ на основании периодического закона и строения электронных оболочек атомов прогнозировать свойства и взаимодействие химических элементов и их соединений, применяемых в фармации, и решать соответствующие этим превращениям количественные задачи;
- ✓ проводить простой учебно-исследовательский эксперимент на основе овладения основными приемами техники работ в лаборатории, выполнять расчеты, оформлять результаты, формулировать выводы
- ✓ методикой планирования и проведения эксперимента, включающего синтез и способы идентификации полученных веществ,

Аминокислоты – органические бифункциональные соединения, в состав которых входят карбоксильные группа  $-\text{COOH}$  и аминогруппа  $-\text{NH}_2$ .

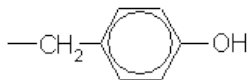
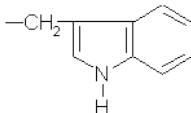
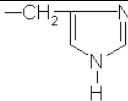
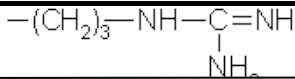
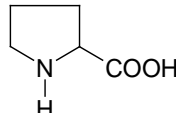


Другими словами, **аминокислоты** – органические кислоты, молекулы которых содержат одну или несколько аминогрупп ( $\text{NH}_2$ -группы). Являются основными структурными элементами белков. Аминокислоты – строительные блоки, из которых строятся белковые структуры, мышечные волокна, например. Организм использует их для собственного роста, восстановления, укрепления и выработки различных гормонов, антител и ферментов. Помимо 20 наиболее распространенных аминокислот, входящих в состав белков, известно свыше 150 других, которые встречаются в различных клетках и тканях либо в свободном, либо в связанном виде, но никогда не встречаются в составе белков.

Аминокислоты подразделяются на **незаменимые** (валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, фенилаланин, триптофан, лизин, гистидин). Незаменимые аминокислоты не синтезируются в организме человека, но необходимы для нормальной жизнедеятельности. Они должны поступать в организм с пищей. При недостатке незаменимых аминокислот задерживается рост и развитие организма. Оптимальное содержание незаменимых аминокислот в пищевом белке зависит от возраста, пола и профессии человека, а также от других причин. Белки пищи в организме человека расщепляются до аминокислот (таблица 1).

Таблица 1

Важнейшие $\alpha$ -Аминокислоты		
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{R} \end{array}$		
$\alpha$ -Аминокислоты общей формулы		
Аминокислота	Обозначение	-R
Глицин	Gly(G)	-H

Аланин	Ala(A)	-CH <sub>3</sub>
Валин	Val(V)	-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Лейцин	Leu(L)	-CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Изолейцин	Ile(I)	-CH(CH <sub>3</sub> )-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>
Цистеин	Cys(C)	-CH <sub>2</sub> -SH
Метионин	Met(M)	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -S-CH <sub>3</sub>
Серин	Ser(S)	-CH <sub>2</sub> -OH
Треонин	Thr(t)	-CH(OH)-CH <sub>3</sub>
Фенилаланин	Phe(F)	-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
Тирозин	Tyr(Y)	
Триптофан	Trp(W)	
Аспарагиновая кислота	Asp(D)	-CH <sub>2</sub> COOH
Глутаминовая кислота	Glu(E)	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH
Аспарагин	Asn(N)	-CH <sub>2</sub> -CO-NH <sub>2</sub>
Глутамин	Gln(Q)	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CO-NH <sub>2</sub>
Гистидин	His(H)	
Лизин	Lys(K)	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>
Аргинин	Arg(R)	
Пролин	Pro	

Определенная часть аминокислот, в свою очередь, расщепляется до органических кетокислот, из которых в организме вновь синтезируются новые аминокислоты, а затем белки. Отдельно стоят так называемые две **"полузаменимые"** аминокислоты: цистин (цистеин) и тирозин. Отличаются они от остальных тем, что организм может использовать их вместо, соответственно, метионина и фенилаланина для производства белка. Остальные 13 аминокислот синтезируются в организме человека в реакциях трансаминирования. Эти аминокислоты – **«заменимые»** – аланин, аргинин, аспарагин/аспарагиновая кислота, карнитин, цистеин, цистин, глутаминовая кислота, глутамин, глицин, гидроксипролин, пролин, серин, тирозин.

Аминокислоты всасываются из желудочно-кишечного тракта и с кровью поступают во все органы и ткани, где используются для синтеза белков и подвергаются различным превращениям. В крови поддерживается постоянная концентрация аминокислот. Из организма выделяется около 1 г азота аминокислот в сутки. В мышцах, ткани головного мозга и печени содержание свободных аминокислот во много раз выше, чем в крови, и менее постоянно. Концентрация аминокислот в крови позволяет судить о функциональном состоянии печени и почек. Содержание аминокислот в крови может заметно нарастать при нарушениях функции почек, лихорадочных состояниях, заболеваниях, связанных с повышенным содержанием белка.

Значение аминокислот не ограничивается их ролью в синтезе тканевых белков. Каждая из них выполняет в организме свои особые функции, направленные на поддержание гомеостаза организма.

**Валин.** Один из главных компонентов в росте и синтезе тканей тела. Основным источником – животные продукты. Опыты на лабораторных крысах показали, что валин повышает мышечную координацию и понижает чувствительность организма к боли, холоду и жаре.

**Гистидин.** Способствует росту и восстановлению тканей. В большом количестве содержится в гемоглобине; используется при лечении ревматоидных артритов, аллергий, язв и анемии. Недостаток гистидина может вызвать ослабление слуха.

**Изолейцин.** Поставляется всеми продуктами, содержащими полноценный белок – мясом, птицей, рыбой, яйцами, молочными продуктами.

**Лейцин.** Поставляется всеми продуктами, содержащими полноценный белок – мясом, птицей, рыбой, яйцами, молочными продуктами. Необходим не только для синтеза протеина организмом, но и для укрепления иммунной системы.

**Лизин.** Обеспечивает должное усвоение кальция; участвует в образовании коллагена (из которого затем формируются хрящи и соединительные ткани); активно участвует в выработке антител, гормонов и ферментов. Недавние исследования показали, что лизин, улучшая общий баланс питательных веществ, может быть полезен при борьбе с герпесом. Недостаток может выражаться в усталости, неспособности к концентрации, раздражительности, повреждению сосудов глаз, потере волос, анемии и проблемам в репродуктивной сфере.

**Метионин.** Важен в метаболизме жиров и белков, организм использует ее также для производства цистеина. Является основным поставщиком серы, который предотвращает расстройства в формировании волос, кожи и ногтей; способствует понижению уровня холестерина, усиливая выработку лецитина печенью; понижает уровень жиров в печени, защищает почки; участвует в выводе тяжелых металлов из организма; регулирует образование аммиака и очищает от него мочу, что понижает нагрузку на мочевой пузырь; воздействует на луковицы волос и поддерживает рост волос.

**Треонин.** Важная составляющая в синтезе пуринов, которые, в свою очередь, разлагают мочевину, побочный продукт синтеза белка. Важная составляющая коллагена, эластина и протеина эмали; участвует в борьбе с отложением жира в печени; поддерживает более ровную работу пищеварительного и кишечного трактов; принимает общее участие в процессах метаболизма и усвоения.

**Триптофан.** Является первичным по отношению к ниацину (витамину В) и серотонину, который, участвуя в мозговых процессах, управляет аппетитом, сном, настроением и болевым порогом. Естественный релаксант, помогает бороться с бессонницей, вызывая нормальный сон; помогает бороться с состоянием беспокойства и депрессии; помогает при лечении головных болей при мигренях; укрепляет иммунную систему; уменьшает риск спазмов артерий и сердечной мышцы; вместе с лизином борется за понижение уровня холестерина.

**Фенилаланин.** Используется организмом для производства тирозина и трех важных гормонов – эпинерфина, норэпинерфина и тироксина. Используется головным мозгом для производства норэпинерфина, вещества, которое передает сигналы от нервных клеток к головному мозгу; поддерживает нас в состоянии бодрствования и восприимчивости; уменьшает чувство голода; работает как антидепрессант и помогает улучшить работу памяти.

**Тирозин.** Используется организмом вместо фенилаланина при синтезе белка. Источники – молоко, мясо, рыба. Мозг использует тирозин при выработке норэпинерфина, повышающего ментальный тонус. Многообещающие результаты показали попытки использовать тирозин как средство борьбы с усталостью и стрессами.

**Цистин (цистеин).** Если в рационе достаточное количество цистина, организм может использовать его вместо метионина для производства белка. Хорошие источники цистина – мясо, рыба, соя, овес и пшеница. Цистин используют в пищевой промышленности как антиоксидант для сохранения витамина С в готовых продуктах.

**Аланин.** Заменяемая аминокислота. Является важным источником энергии для мышечных тканей, головного мозга и центральной нервной системы; укрепляет иммунную систему путем выработки антител; активно участвует в метаболизме сахаров и органических кислот.

**Аргинин.** Заменяемая аминокислота. L-Аргинин вызывает замедление развития опухолей и раковых образований. Очищает печень. Помогает выделению гормона роста, укрепляет иммунную систему, способствует выработке спермы и полезна при лечении расстройств и травм почек. Необходим для синтеза протеина и оптимального роста. Наличие L-Аргинина в организме способствует приросту мышечной массы и снижению жировых запасов организма. Также полезен при расстройствах печени, таких, как цирроз печени, например. Не рекомендуется к приему беременными и кормящими женщинами.

**Аспарагин.** Заменяемая аминокислота. Аспарагиновая кислота активно участвует в выводе аммиака, вредного для центральной нервной системы. Недавние исследования показали, что аспарагиновая кислота может повышать сопротивляемость усталости.

**Глутамин.** Заменяемая аминокислота. Важен для нормализации уровня сахара, повышении работоспособности мозга, при лечении импотенции, при лечении алкоголизма, помогает бороться с усталостью, мозговыми расстройствами – эпилепсией, шизофренией и просто заторможенностью, нужен при лечении язвы желудка, и формирование здорового пищеварительного тракта.

**Глутаминовая кислота** считается естественным "топливом" для головного мозга, улучшает умственные способности, способствует ускорению лечения язв, повышает сопротивляемость усталости.

**Глицин.** Активно участвует в обеспечении кислородом процесса образования новых клеток. Является важным участником выработки гормонов, ответственных за усиление иммунной системы.

**Пролин.** Заменяемая аминокислота. Предельно важен для правильного функционирования связок и суставов; также участвует в поддержании работоспособности и укреплении сердечной мышцы.

**Серин.** Заменяемая аминокислота. Участвует в запасании печенью и мышцами гликогена; активно участвует в усилении иммунной системы, обеспечивая ее антителами; формирует жировые "чехлы" вокруг нервных волокон.

Лишение всех аминокислот приводит к совершенной потере белка организмом, истощению, полной потере энергии, потере веса, анемии, разрушению мышц, в самом тяжелом случае – к смерти.

## § 1 Классификация аминокислот

Простейший представитель – аминокислота  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$  (глицин)

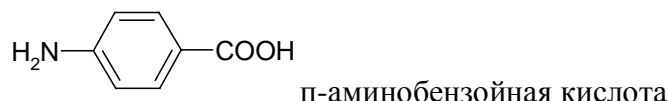
Аминокислоты классифицируют по нескольким признакам.

1. **В зависимости от взаимного расположения amino- и карбоксильной групп** аминокислоты подразделяют на  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$  и т. д.

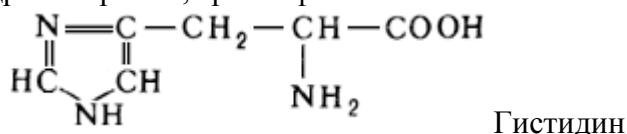
В природе встречаются и  $\beta$ -аминокислоты,  $\text{RCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{COOH}$ , например  $\beta$ -аланин  $\text{CH}_2\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ , входящий в состав пантотеновой кислоты.

2. **По характеру углеводородного радикала.** В зависимости от строения радикала аминокислоты могут быть **алифатическими** и **циклическими**, из которых только одна (пролин) не является ароматической. Две аминокислоты – тирозин и фенилаланин – являются **карбоциклическими** и две (гистидин и триптофан) – **гетероциклические**.

Приведенные выше аминокислоты относятся к жирному ряду. Примером ароматической аминокислоты может служить пара-аминобензойная кислота:



Гетероциклический фрагмент в строении имеют следующие аминокислоты: гистидин, пролин, гидроксипролин, триптофан.



**3. По количеству карбоксильных и аминогрупп** в составе аминокислот различают дикарбоновые аминокислоты (**кислого характера**), т.к. они содержат две карбоксильные группы, и диаминомонокарбоновые аминокислоты (**основного характера**), в состав которых входит большее количество аминогрупп.

Моноаминомонокарбоновые кислоты могут содержать и другие функциональные группы в своем составе. Например, **гидроксиаминокислоты** (серин, треонин, тирозин) и **серосодержащие** аминокислоты (цистеин и метионин).

По характеру радикала аминокислоты подразделяют на **неполярные (гидрофобные радикалы)** и **полярные (гидрофильные радикалы)**.

К первой группе относятся аминокислоты как с алифатическим (аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин), так и с циклическим радикалом (фенилаланин, триптофан, пролин).

Ко второй группе принадлежат  $\alpha$ -аминокислоты, в радикале которых имеются полярные функциональные группы как способные к ионизации (**ионогенные**), так и не способные (**неионогенные**). Поэтому вторую группу подразделяют на: **полярные незаряженные** (глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин), **положительно заряженные** (лизин, аргинин, гистидин) и **отрицательно заряженные** (аспарагиновая и глутаминовые кислоты). В растворах с  $\text{pH} > 7.0$  может происходить полная ионизация HS – групп цистеина и HO–групп тирозина, в результате чего они заряжаются отрицательно.

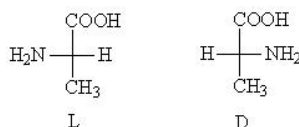
В белках ионогенные группы радикалов, расположенные на поверхности макромолекул, обуславливают электростатические взаимодействия и образование гидратной оболочки. Полярные неионогенные группы располагаются как на поверхности, так и внутри белковых молекул, участвуя в образовании водородных связей с другими полярными группами.

### § 3 Изомерия аминокислот

1. Изомерия углеродного скелета
2. Изомерия положения функциональных групп
3. Оптическая изомерия

Все  $\alpha$ -аминокислоты, кроме глицина  $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ , содержат асимметрический атом углерода ( $\alpha$ -атом) и могут существовать в виде оптических изомеров (зеркальных антиподов) (рисунок 1).

Рисунок 1



Все природные аминокислоты, кроме глицина, содержат асимметричные атомы углерода, существуют в оптически активных модификациях и, как правило, относятся к L-ряду. Большинство аминокислот L-ряда имеют сладкий вкус, а D-ряда – горький или безвкусны. Аминокислоты D-ряда содержатся только в некоторых антибиотиках и в

оболочках бактерий (грамицидин С, актиномицин, полимиксин). Оптическая изомерия природных α-аминокислот играет важную роль в процессах биосинтеза белка.

**Вкус α-аминокислот.** Сладкие L – аминокислоты: глицин, серин, пролин, аланин.

Аспартам ( в 200 раз слаще сахарозы)

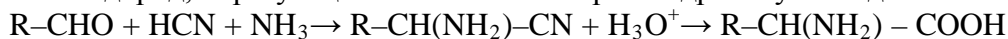


#### § 4 Получение аминокислот

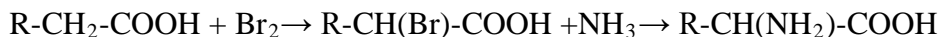
Многие растения и бактерии могут синтезировать все необходимые им аминокислоты из простых неорганических соединений. Большинство аминокислот синтезируются в теле человека и животных из обычных безазотистых продуктов обмена веществ и усвояемого азота. Однако, как уже говорилось ранее, валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин - являются незаменимыми, т. е. не могут синтезироваться в организме животных и человека, и должны доставляться с пищей. Суточная потребность взрослого человека в каждой из незаменимых аминокислот составляет в среднем около 1 г. При недостатке этих веществ (чаще триптофана, лизина, метионина) или в случае отсутствия в пище хотя бы одной из них невозможен синтез белков и многих др. биологически важных веществ, необходимых для жизни. Гистидин и аргинин синтезируются в животном организме, но лишь в ограниченной, иногда недостаточной, мере. Цистеин и тирозин образуются лишь из своих предшественников — соответственно метионина и фенилаланина — и могут стать незаменимыми при недостатке этих аминокислот. Некоторые аминокислоты могут синтезироваться в животном организме из безазотистых предшественников при помощи процесса переаминирования, т. е. переноса аминогруппы с одной аминокислоты на другую. В организме аминокислоты постоянно используются для синтеза и ресинтеза белков и др. веществ — гормонов, аминов, алкалоидов, коферментов, пигментов и др. Избыток аминокислот подвергается распаду до конечных продуктов обмена (у человека и млекопитающих до мочевины, двуокиси углерода и воды), при котором выделяется энергия, необходимая организму для процессов жизнедеятельности. Промежуточным этапом такого распада является обычно дезаминирование (чаще всего окислительное).

Существует целый ряд методов получения аминокислот вне организма (*in vitro*). Наибольшее применение находят получение из оксинитрилов (синтез Штекера) и карбоновых кислот.

1. Синтез Штекера заключается в том, что к альдегиду прибавляют аммиак и цианистый водород, образующийся α – аминонитрил гидролизуют водной кислотой:



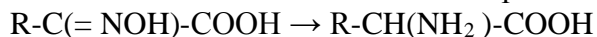
Получение аминокислот из карбоновых кислот включает две стадии: бромирование карбоновой кислоты и последующую обработку α – бромпроизводного избытком аммиака:



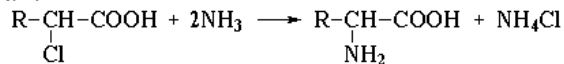
2. Получить аминокислоты возможно, например действием аммиака на галогензамещенные карбоновые кислоты:



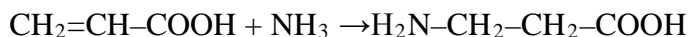
3. Восстановлением оксимов или гидразонов, кето- или альдегидокислот:



4. Замещением галогена на аминогруппу в соответствующих галогензамещенных кислотах:



5. Присоединением аммиака к  $\alpha$ ,  $\beta$ -непредельным кислотам с образованием  $\beta$ -аминокислот:

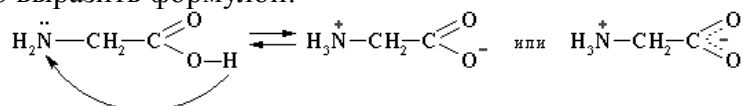


6. Некоторые аминокислоты выделяют из продуктов гидролиза богатых ими белков методом адсорбции на ионообменных смолах; так выделяют глутаминовую кислоту из казеина и клейковины злаков; тирозин — из фиброина шёлка; аргинин — из желатины; гистидин из белков крови. Некоторые аминокислоты производят синтетически, например метионин, лизин и глутаминовую кислоту. Аминокислоты получают в больших количествах также микробиологическим синтезом. Поступление в организм незаменимых аминокислот определяется количеством и аминокислотным составом пищевых белков. Это следует учитывать для организации правильного общественного питания и составления рационов для разных возрастных и профессиональных групп населения. Потребность в пищевом белке может быть полностью покрыта за счёт смеси аминокислот. Этим пользуются в лечебном питании.

7. В организме (*in vivo*) заменимые аминокислоты синтезируются из  $\alpha$ -кетокислот путем восстановительного аминирования или трансаминирования с аминокислотой.

## § 5 Свойства аминокислот

**Физические свойства.** Аминокислоты — бесцветные кристаллические вещества, растворимые в воде;  $t_{\text{пл}}$  220—315°C, при плавлении разлагаются. Хорошо растворимы в воде, водные растворы электропроводны. Растворимость аминокислот в воде варьируется в широких пределах в зависимости от природы радикала и, главным образом, от наличия в молекуле гидрофильных или гидрофобных групп. Растворимость аминокислот в спирте значительно ниже, а в эфире, хлороформе и других органических растворителях они практически не растворяются. Высокая температура плавления аминокислот связана с тем, что их молекулы имеют структуру главным образом амфотерных (двузарядных) ионов. Например, строение простейшей аминокислоты — глицина — можно выразить формулой:



В водных растворах  $\alpha$ -аминокислоты существуют в виде равновесной смеси диполярного иона, катионной и анионной форм (рис 2):

Рисунок 2

Сильно кислая среда	Нейтральная среда	Сильно щелочная среда
<b>1. Аминокислоты с недиссоциирующими радикалами</b>		
$\text{NH}_3^+-\underset{\text{R}}{\text{CH}}-\text{COOH}$ Суммарный заряд = +1	$\xleftarrow{+\text{H}^+}$ $\text{NH}_3^+-\underset{\text{R}}{\text{CH}}-\text{COO}^-$ $\xrightarrow{+\text{OH}^-}$	$\text{NH}_2-\underset{\text{R}}{\text{CH}}-\text{COO}^-$ Суммарный заряд = -1
<b>2. Аминокислоты с анионными группами в радикале</b>		
$\text{NH}_3^+-\underset{\text{CH}_2\text{COOH}}{\text{CH}}-\text{COOH}$ Суммарный заряд = +1	$\xleftarrow{+\text{H}^+}$ $\text{NH}_3^+-\underset{\text{CH}_2\text{COO}^-}{\text{CH}}-\text{COO}^-$ $\xrightarrow{+\text{OH}^-}$	$\text{NH}_2-\underset{\text{CH}_2\text{COO}^-}{\text{CH}}-\text{COO}^-$ Суммарный заряд = -2
<b>3. Аминокислоты с катионными группами в радикале</b>		
$\text{NH}_3^+-\underset{\text{(CH}_2)_4\text{NH}_3^+}{\text{CH}}-\text{COOH}$ Суммарный заряд = +2	$\xleftarrow{+\text{H}^+}$ $\text{NH}_3^+-\underset{\text{(CH}_2)_4\text{NH}_3^+}{\text{CH}}-\text{COO}^-$ $\xrightarrow{+\text{OH}^-}$	$\text{NH}_2-\underset{\text{(CH}_2)_4\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COO}^-$ Суммарный заряд = -1

Положение равновесия зависит от pH среды. Общим для всех  $\alpha$ -аминокислот является

преобладание катионных форм в сильноокислых (pH 1-2) и анионных – в сильнощелочных (pH 13-14) средах.

Значение pH, при котором суммарный заряд молекулы аминокислоты или белка равен нулю, а концентрация биполярного иона максимальна, называется **изоэлектрической точкой (ИЭТ)**, а такое состояние молекулы – **изоэлектрическим состоянием**.

Для аминокислот **кислотного** характера ИЭТ находится в сильноокислой среде (у аспарагиновой кислоты pH=2.8, глутаминовой -3.2), **нейтрального характера** – в слабокислой среде, **основного характера** – в сильнощелочной (у лизина – pH 9.6, у аргинина – 10.8).

В ИЭТ молекула не перемещается в постоянном электрическом поле ни к катоду, ни к аноду. При pH ниже ИЭТ α-аминокислота заряжается положительно и движется к катоду, при pH выше ИЭТ приобретает отрицательный заряд и движется к аноду. На этом основано разделение аминокислот и белков методами электрофореза и ионообменной хроматографии, которые позволяют идентифицировать и количественно определить их содержание в растворах и биологических жидкостях.

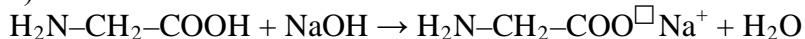
## § 6 Химические свойства аминокислот

Аминокислоты проявляют свойства оснований за счет аминогруппы и свойства кислот за счет карбоксильной группы, т.е. являются **амфотерными** соединениями. В аминокислотах как гетерофункциональных соединениях можно выделить следующие реакционные центры: карбоксильная группа (электрофильный), аминогруппа (нуклеофильный) и радикал.

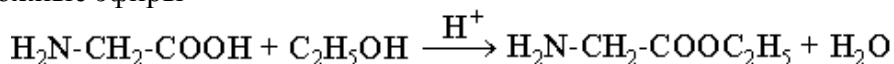
**Реакции, протекающие по карбоксильной группе.**

Как карбоновые кислоты они образуют функциональные производные:

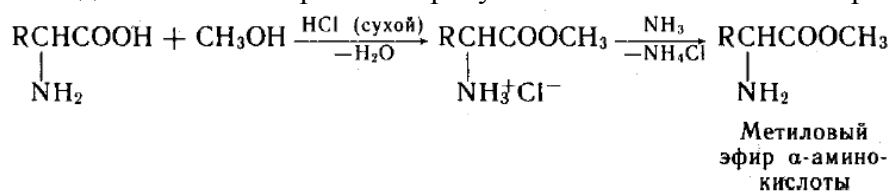
а) соли



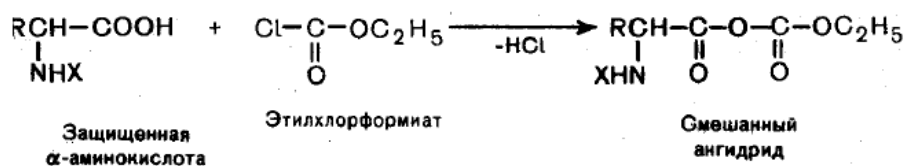
б) сложные эфиры



Для карбоксильной группы характерны реакции **ацилирования**: при взаимодействии со спиртами в присутствии сильных кислот образуются сложные эфиры:



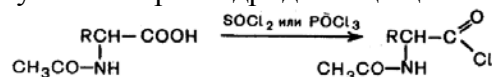
Таким образом, в кислой среде, когда аминогруппа блокирована протоном, аминокислоты выступают **ацилирующим** реагентом, т.е. донором ацильной группы, а в щелочной среде за счет свободной аминогруппы они выступают акцептором ацильной группы от сильного ацилирующего реагента, например, хлорангидрида карбоновой кислоты, при этом образуются N-ацильные производные аминокислот.



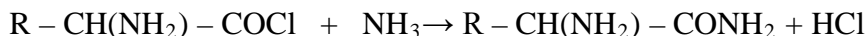
**Образование галогенангидридов.** При действии на аминокислоты с защищенной аминогруппой оксид-дихлоридом серы (хлористым тионилем) или оксид-трихлоридом



фосфора образуются хлорангидриды защищенных аминокислот:



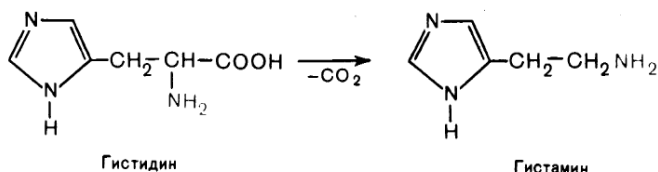
Хлорангидриды аминокислот более реакционноспособны в реакциях нуклеофильного замещения, чем аминокислоты, например, в реакциях с аммиаком:



Эта реакция имеет важное значение для обезвреживания аммиака в клетке, образующегося в процессах деаминации аминокислот, аминов и амидов.

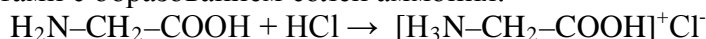
**Декарбоксилирование** – важный путь распада аминокислот в организме. В  $\alpha$ -аминокислотах электроноакцепторная группа –  $\text{NH}_3^+$  расположена в  $\alpha$ -положении к группе –  $\text{COO}^-$ . Это вызывает сильную поляризацию связи между атомами углерода и способствует ее разрыву с образованием  $\text{CO}_2$ , т.е. декарбоксилированию. В организме реакция катализируется декарбоксилазами, активность которых определяется пиридоксальфосфатом. В результате декарбоксилирования из  $\alpha$ -аминокислот образуются биогенные амины.

Аналогично происходит образование гистамина из гистидина, а из триптофана – триптамина и серотонина.

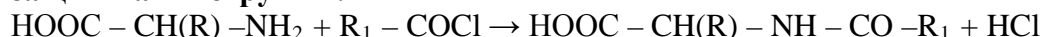


**Гистамин** обладает широким спектром физиологического действия: расширяет капилляры, ускоряет приток лейкоцитов в очаг воспаления, способствует активизации защитных сил организма, усиливает секрецию соляной кислоты в желудке, имеет прямое отношение к явлениям сенсibilизации и десенсibilизации, влияет на рецепторы сосудов, являясь нейромедиатором, участвует в болевом синдроме.

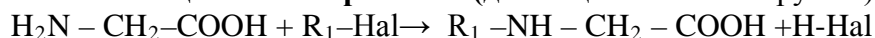
**Реакции, протекающие по аминогруппе.** Подобно аминам, аминокислоты реагируют с кислотами с образованием солей аммония:



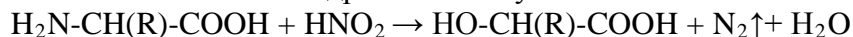
Реакция ацилирования протекает в слабощелочной среде, используется для защиты аминогруппы:



**Реакция алкилирования** (для защиты  $\alpha$ -аминогруппы)

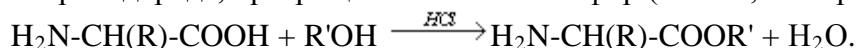


**Реакция с азотистой кислотой.** Подобно первичным аминам, аминокислоты реагируют с азотистой кислотой, при этом аминогруппа превращается в гидроксигруппу, а аминокислота — в гидроксикислоту:

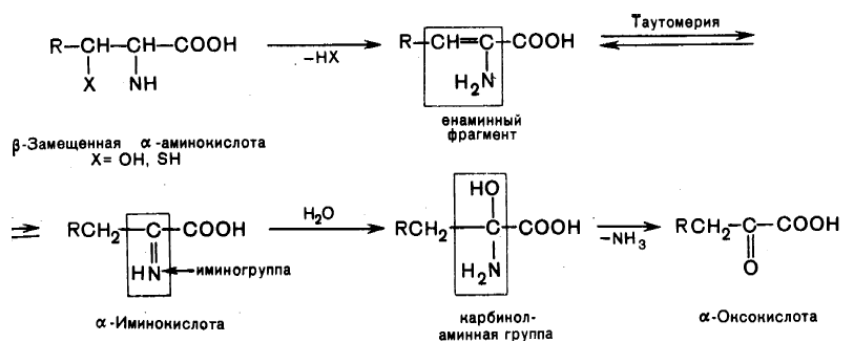


Измерение объема выделившегося азота позволяет определить количество аминокислоты (метод Ван-Слайка).

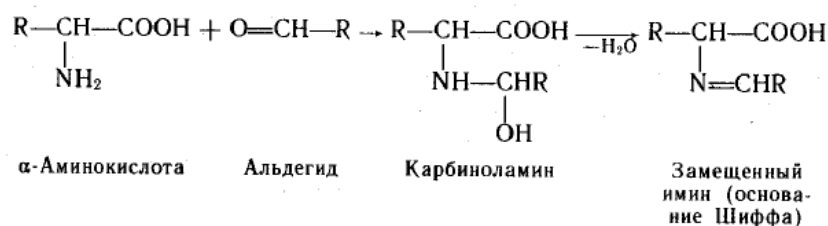
Аминокислоты могут реагировать со спиртами в присутствии газообразного хлороводорода, превращаясь в сложный эфир (точнее, в хлороводородную соль эфира):



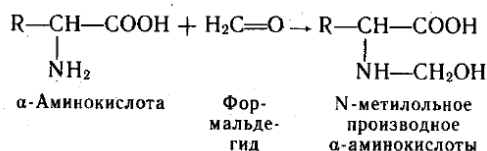
**Элиминирование** – путь трансформации аминокислот с функциональной группой в  $\beta$ -положении.



**С альдегидами.** С формальдегидом в слабощелочной среде аминокислоты легко переходят в моноанион, содержащий свободную аминогруппу, поэтому легко вступают в реакцию нуклеофильного присоединения к формальдегиду. При взаимодействии  $\alpha$ -аминокислот с альдегидами образуются замещенные имины (основания Шиффа) через стадию образования карбиноламинов.



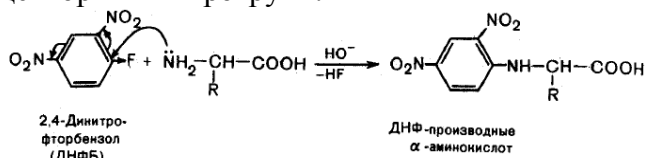
Амфотерный характер  $\alpha$ -аминокислот не позволяет непосредственно проводить титрование их щелочью в аналитических целях. При взаимодействии аминокислот с формальдегидом получают относительно устойчивые карбиноламины – N-метилольные производные, в которых наличие свободной карбоксильной группы позволяет провести титрование щелочью.



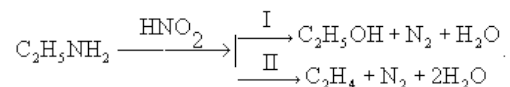
В таких производных аминокислот основность атома азота сильно понижена, что позволяет использовать эту реакцию для количественного определения  $\alpha$ -аминокислот методом Серенсена. Способность аминогрупп в аминокислотах и белках взаимодействовать с формальдегидом приводит к необратимой денатурации белков. Этим объясняется высокая токсичность формальдегида и его стерилизующая способность.

**Образование ДНФ – производных.** Аминокислоты образуют с 2,4-динитрофторбензолом окрашенные в желтый цвет динитрофенильные производные (ДРФ-производные), растворимые в органических растворителях. Они экстрагируются из реакционной смеси органическими растворителями и используются для идентификации хроматографическими методами.

Данная реакция протекает по механизму нуклеофильного замещения в бензольном кольце. Такое замещение становится возможным за счет влияния двух сильных электроноакцепторных нитрогрупп:

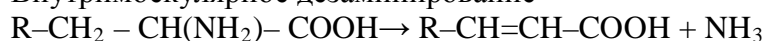


**Дезаминирование**, отщепление (элиминирование) аминогруппы (NH<sub>2</sub>) из органических соединений. Дезаминирование сопровождается замещением аминогруппы какой-либо др. группой (например, H, OH, OR, Hal) или образованием двойной связи. Дезаминирование производят, в частности, действием на первичные амины азотистой кислотой. При этом из алифатических аминов образуются спирты (I) и олефины (II), например:



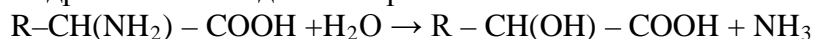
Дезаминирование циклоалифатических аминов сопровождается расширением или сужением цикла. Ароматические амины дают с азотистой кислотой (в присутствии сильных неорганических кислот) диазония соли. Такие реакции, как гидролиз, гидрогенолиз, расщепление четвертичных аммониевых солей, пиролиз и др., также приводят к реакции дезаминирования. Важную роль играет эта реакция в процессах жизнедеятельности животных, растений и микроорганизмов. Для α-аминокислот характерно окислительное дезаминирование с образованием аммиака и α-кетокислот. Окислительному дезаминированию подвергаются также амины. Оксидазы природных аминокислот, кроме глутаматдегидрогеназы, дезаминирующей L-глутаминовую кислоту, в животных тканях мало активны. Поэтому большинство L-аминокислот подвергается непрямому дезаминированию путём предварительного переаминирования с образованием глутаминовой кислоты, которая затем претерпевает окислительное дезаминирование или др. превращения. Др. типы дезаминирования — восстановительное, гидролитическое (дезаминирование аминопобудовных пуринов, пиримидинов и сахаров) и внутримолекулярное (дезаминирование гистидина) — в большей степени распространены у микроорганизмов.

Внутримолекулярное дезаминирование



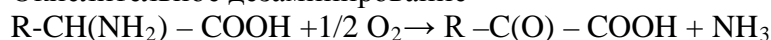
α,β – ненасыщенная кислота

Гидролитическое дезаминирование



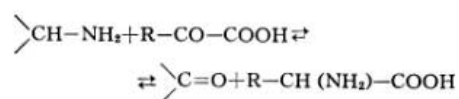
α - оксикислота

Окислительное дезаминирование

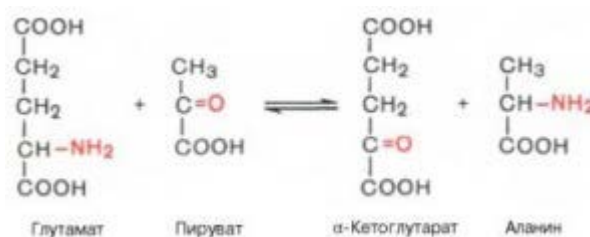


α-кетокислота

**Переаминирование, трансаминирование**, обратимый перенос аминогруппы (—NH<sub>2</sub>) от аминокислот или аминов к оксикислотам:

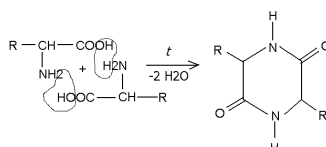


Реакция ферментативного переаминирования играет роль важного промежуточного звена в процессах синтеза и дезаминирования многих аминокислот у животных, растений и микроорганизмов. Большинство природных аминокислот синтезируется в тканях путём переноса NH<sub>2</sub>-группы от глутаминовой кислоты — начального продукта усвоения азота — на различные оксикислоты. Обеспечивая быстрое взаимопревращение различных амино- и оксикислот, реакции переаминирования играют важную роль в регуляции и сопряжении обмена аминокислот и углеводов, ферменты переаминирования — аминотрансферазы имеются во всех живых клетках. Описано свыше 55 различных аминотрансфераз, катализирующих эту реакцию всех известных природных аминокислот и ряда биогенных аминов. Коферментом аминотрансфераз является производное витамина В<sub>6</sub> — пиридоксальфосфат, играющий роль переносчика NH<sub>2</sub>-группы. Резкое повышение содержания некоторых аминотрансфераз в плазме крови больных служит диагностическим признаком при поражениях печени (гепатиты), сердца (инфаркт миокарда), мышц (травмы, миодистрофические заболевания).

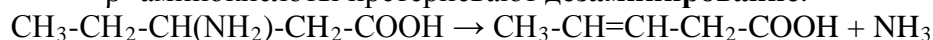


Кроме того, возможно взаимодействие amino- и карбоксильной групп как внутри одной молекулы (внутримолекулярная реакция), так и принадлежащих разным молекулам (межмолекулярная реакция).

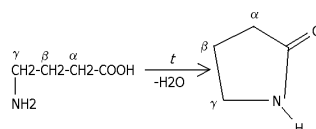
При нагревании в сухом виде различные аминокислоты ведут себя по разному. Так, α-аминокислоты образуют циклические дипептиды, называемые **дикетопиперазинами**:



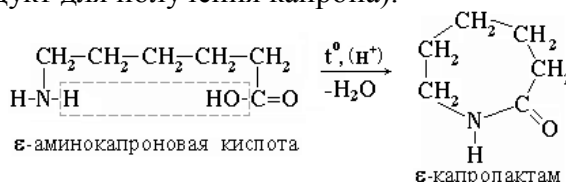
β-аминокислоты претерпевают **дезаминирование**:



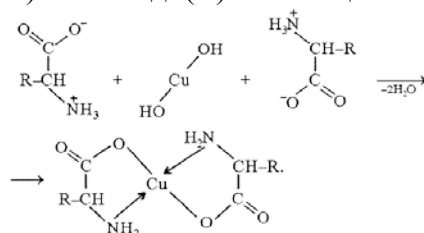
α-аминокислоты превращаются в циклические внутримолекулярные пептиды-**лактамы**:



Практическое значение имеет внутримолекулярное взаимодействие функциональных групп ε-аминокапроновой кислоты, в результате которого образуется ε-капролактam (полупродукт для получения капрона):



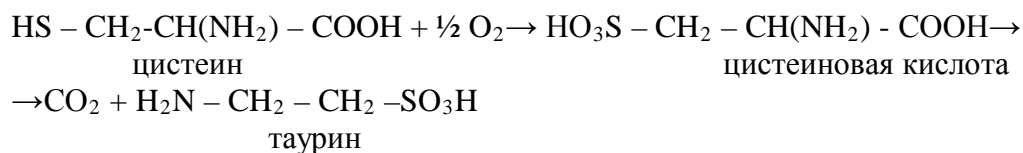
**Образование комплексов с металлами.** α-Аминокислоты образуют с катионами тяжелых металлов внутрикомплексные соли. Со свежеприготовленным гидроксидом меди(II) все α-аминокислоты в мягких условиях дают хорошо кристаллизующиеся внутрикомплексные (хелатные) соли меди(II) синего цвета:



В таких солях ион меди координационными связями соединен с аминогруппами.

**Реакционная способность радикала** обусловлена наличием HO-, SH- групп или ароматического ядра. Важнейшими из них являются окислительно-восстановительные реакции, β-декарбоксилирование, диметилирование, переметилирование, которые ведут к переходу одних аминокислот в другие, что расширяет возможности синтеза различных аминокислот (например, окисление фенилаланина в тирозин).

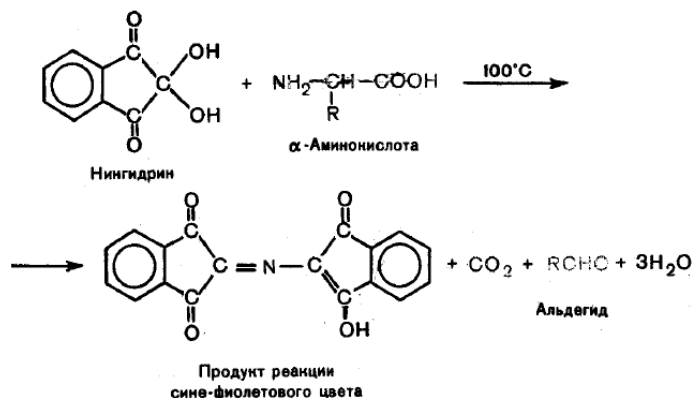
При полном окислении тиоловой группы цистеин превращается в цистеиновую кислоту, которая декарбоксилируясь, превращается в таурин, образующий с желчными кислотами парные желчные кислоты (таурохолевую и тауродезоксихолевую).



## § 7 Качественные реакции аминокислот

Аминокислоты можно обнаружить с помощью цветных реакций: нингидриновой, ксантопротеиновой, Фоля, Милона, биуретовой пробы и др. Эти реакции неспецифичны, т.к. основаны на обнаружении отдельных фрагментов в структуре аминокислот, которые могут встречаться и в других соединениях.

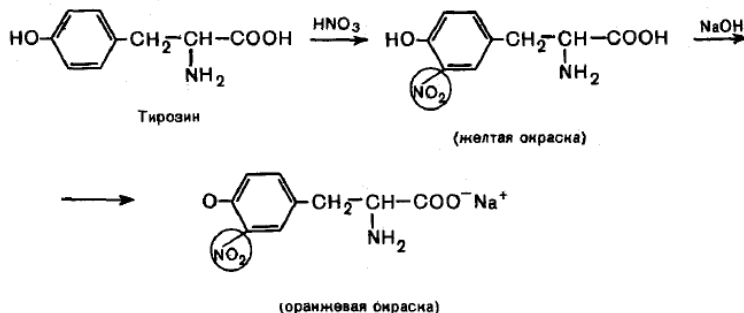
**Нингидриновая реакция**, цветная реакция, применяемая для качественного и количественного определения аминокислот, иминокислот и аминов. При нагревании в щелочной среде нингидрина (трикетогидринденгидрата,  $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$ ) с веществами, имеющими первичные аминогруппы ( $-\text{NH}_2$ ), образуется продукт, который имеет устойчивую интенсивную сине-фиолетовую окраску с максимальным поглощением около 570 нм. Т.к. поглощение при этой длине волны линейно зависит от числа свободных аминогрупп, нингидриновая реакция послужила основой для их количественного определения методами колориметрии или спектрофотометрии. Эта реакция используется также для определения вторичных аминогрупп ( $>\text{NH}$ ) в иминокислотах — пролине и оксипролине; в этом случае образуется продукт ярко-жёлтого цвета. Чувствительность — до 0,01%. Современный автоматический аминокислотный анализ проводят, сочетая ионообменное разделение аминокислот и количественное определение их с помощью нингидриновой реакции. При разделении смесей аминокислот методом бумажной хроматографии позволяет определять каждую аминокислоту в количестве не менее 2—5 мкг.



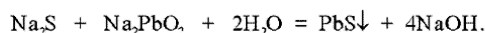
По интенсивности окраски можно судить о количестве аминокислот.

Эта реакция положительна не только со свободными аминокислотами, но и пептидами, белками и др.

**Ксантопротеиновая реакция** позволяет обнаружить ароматические аминокислоты (фенилаланин, тирозин, гистидин, триптофан), основана на реакции электрофильного замещения в ароматическом ядре (нитрование).



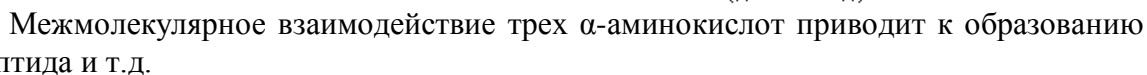
**Реакция Фоля.** Это реакция на цистеин и цистин. При щелочном гидролизе «слабосвязанная сера» в цистеине и цистине достаточно легко отщепляется, в результате чего образуется сероводород, который, реагируя со щелочью, дает сульфиды натрия или калия. При добавлении ацетата свинца(II) образуется осадок сульфида свинца(II) серо-черного цвета.



Кроме белков и биурета такое же окрашивание дают и другие соединения, содержащие эту группу: амиды, имиды карбоновых кислот, а также соединения, содержащие в молекуле группы  $-CS-NH-$  или  $=CH-NH-$ . Также реакцию дают белки, некоторые аминокислоты, пептиды, биурет и средние пептоны.

При взаимодействии полипептида с  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  образуется комплекс, строение которого можно показать так:

Межмолекулярное взаимодействие  $\alpha$ -аминокислот приводит к образованию пептидов. При взаимодействии двух  $\alpha$ -аминокислот образуется дипептид.



**Белки**, протеины, высокомолекулярные природные органические вещества, построенные из аминокислот и играющие фундаментальную роль в структуре и жизнедеятельности организмов. Название "**протеины**" (от греч. *protos* – первый, важнейший) более точно отражает первостепенное биологическое значение этого класса веществ, хотя в отечественной литературе их принято называть белками или белковыми веществами по аналогии с белком куриного яйца, приобретающего при кипячении (денатурации) белый цвет. В природе существует примерно  $10^{10}$ - $10^{12}$  различных белков,

обеспечивающих жизнедеятельность организмов всех степеней сложности от вирусов до человека. Это мускулы, кровь, сердце, кожа, кости... Белками являются ферменты, антитела, многие гормоны и другие биологические активные вещества. Необходимость постоянного обновления белков лежит в основе обмена веществ. Именно белки (ферменты и др.) осуществляют обмен веществ и энергетические превращения, неразрывно связанные с активными биологическими функциями. Белки входят в состав сложных клеточных структур — органелл. И хотя органеллы содержат также другие вещества (липиды, углеводы, нуклеиновые кислоты, неорганические компоненты), белки особенно важны; они — основные структурообразователи и играют ведущую роль в выполнении физиологических функций. Например, благодаря соответствующей организации различного рода белков биологические мембраны, покрывающие клетки, активно (с затратой энергии) переносят в клетку или из клетки определённые молекулы и ионы. В частности, транспорт катионов создаёт электрическую поляризацию, необходимую для процессов возбуждения. В двигательных аппаратах — мышечных волокнах и других — комплексы специфических белки осуществляют сокращение, превращая химическую энергию в механическую работу. Деятельность белков во многом связана с разными небелковыми веществами, из которых наибольшее биологическое значение имеют нуклеиновые кислоты. Однако решающим фактором молекулярных механизмов всех активных проявлений жизнедеятельности являются белки. В этом смысле подтверждено и детализировано известное положение Ф. Энгельса о белке, как основе биологической формы движения материи. Молекулы белков в структурном отношении бесконечно разнообразны — жёсткость и точность уникальной организации сочетаются в них с гибкостью и пластичностью. Всё это создаёт необозримые функциональные возможности; поэтому белки и явились тем исключительным материалом, который послужил основой возникновения жизни на Земле. Белки — один из основных продуктов питания человека и животных, они служат источником восстановления и обновления цитоплазмы клеток, образования ферментов, гормонов и др.

## § 9 Классификация белков

**Классификация белков** крайне затруднена их многообразием и сложностью молекул. К **простым** белкам, состоящим только из аминокислот, относят **альбумины** (яичный альбумин и сывороточный альбумин крови), **глобулины** (антитела в крови, фибрин), **гистоны**, **склеропротеины** (**кератин** волос, кожи и перьев, **коллаген** сухожилий, **эластин** связок).

К **сложным белкам** относятся белки, имеющие самое разнообразное назначение в организме: металлопротеины, липопротеины, гликопротеины, фосфопротеины и др. Небелковой частью молекул металлопротеинов являются ионы различных металлов, которые нельзя удалить из молекулы белка, не повредив ее белковую часть. Металлопротеинами являются многие ферменты, содержащие железо (цитохромы, каталаза), медь (тирозидаза), цинк (алкогольдегидрогеназа), а также дыхательные пигменты, в т. ч. гемоглобин, миоглобин и др. Липопротеины представляют собой хим. комплексы белков с липидами. Липопротеины выполняют важнейшую функцию депонирования и транспорта липидов, являются необходимой составной частью клеточных мембран. Концентрация разных липопротеинов в сыворотке крови служит диагностическим признаком ряда заболеваний (атеросклероза, ожирения и др.). Белки, в которых небелковая часть представлена углеводами (или углеводом), называют гликопротеинами. Гликопротеинами являются некоторые ферменты и гормоны, антитела и другие физиологически активные белки. Полагают, что специфическая активность этих соединений определяется именно углеводной частью их молекул. Сложные белки, молекулы которых содержат остатки фосфорной кислоты, присоединенные чаще всего к

остатку аминокислоты серина (реже – треонина) в полипептидной цепи белка, называются фосфопротеинами, эти белки играют важную роль в клеточном метаболизме. К фосфопротеинам относятся белки биологических мембран и клеточных ядер, казеины и др. Присоединение остатков фосфорной кислоты (фосфорилирование) к пяти аминокислотным остаткам (серина и треонина) на С-конце полипептидной цепи зрительного белка родопсина и превращение его в фосфопротеин играет существенную роль в регуляции адаптации зрения к свету и к темноте. Превращение важнейших белков мозга в фосфопротеины в результате фосфорилирования происходит при стимуляции нервов или при действии на нервы определенных нейромедиаторов.

По структуре белки делятся на **фибриллярные** (третичная структура почти не выражена, нерастворимы, представляют собой длинные полипептидные цепи), **глобулярные** (третичная структура хорошо выражена, растворимы) и **промежуточные** (фибриллярные, но растворимые). Первые входят в состав соединительных тканей, вторые играют роль ферментов, гормонов, антител.

## § 10 Функции белков

Белки выполняют множество самых разнообразных функций, характерных для живых организмов. Здесь будут перечислены главные и в некотором смысле уникальные для жизнедеятельности человека функции, не свойственные или лишь частично присущие другим классам биополимеров.

☐ **Каталитическая функция белков.** Все до сих пор открытые биологические катализаторы – **ферменты** являются белками. Эта функция белков является уникальной, не свойственной другим полимерным молекулам.

☐ **Питательная (резервная) функция белков.** К таким белкам относятся так называемые резервные белки, являющиеся источниками питания для развития плода; белки яйца (овальбумины) и основной белок молока (казеин) также выполняют главным образом питательную функцию. Ряд других белков, несомненно, используется в организме в качестве источника аминокислот, которые в свою очередь являются предшественниками биологически активных веществ, регулирующих процессы обмена веществ.

☐ **Транспортная функция белков.** Дыхательная функция крови, в частности перенос кислорода, целиком осуществляется молекулами гемоглобина – белка эритроцитов. В транспорте липидов принимают участие альбумины сыворотки крови. Ряд других сывороточных белков образует комплексы с жирами, медью, железом, тироксином, **витамином А** и другими соединениями, обеспечивая их доставку в соответствующие органы-мишени.

☐ **Защитная функция белков.** Основную функцию защиты в организме выполняет иммунологическая система, которая обеспечивает синтез специфических защитных белков – **антител** в ответ на поступление в организм бактерий, токсинов или вирусов. Высокая специфичность взаимодействия антител с антигенами (чужеродными веществами) по типу белок – белковое взаимодействие способствует нейтрализации их биологического действия и сохранению нормального состояния. В качестве другого примера защитной роли можно привести способность ряда белков крови к свертыванию. Свертывание белка плазмы крови фибриногена приводит к образованию сгустка крови, что предохраняет от потери крови при ранениях.

☐ **Сократительная функция белков.** В акте мышечного сокращения и расслабления участвует множество белковых веществ тела. Однако главную роль в этих жизненно важных процессах играют актин и миозин – специфические белки мышечной ткани. Сократительная функция присуща не только мышечным белкам, но и белкам ряда субклеточных структур, что обеспечивает тончайшие процессы жизнедеятельности клеток.



□ **Структурная функция белков.** Данная функция белков многопланова. Белки со структурными функциями занимают по количеству первое место среди других белков тела человека. Широко распространены такие важные структурные белки, как **коллаген** в соединительной ткани, кератин в волосах, ногтях, коже, **эластин** в сосудистой стенке и др. Не менее важную роль выполняют белки в комплексе с углеводами в формировании ряда секретов – мукоидов, муцинов и т.д. Наконец, в комплексе с липидами (в частности, фосфолипидами) белки участвуют в образовании биомембран клеток.

□ **Гормональная функция белков.** Обмен веществ в организме регулируется разнообразными механизмами. В этой регуляции важное место занимают гормоны, вырабатываемые в железах внутренней секреции. Ряд гормонов представлен белками или полипептидами, например, гормоны гипофиза, поджелудочной железы и др.

Можно указать еще на некоторые другие жизненно важные функции белков, в частности, на способность белков к сохранению онкотического давления в клетках и в крови, на буферные свойства белков, регулирующие физиологическое значение **pH** внутренней среды, и др.

## § 11 Структура белка

Каждому белку свойственна особая геометрическая структура. При описании пространственной структуры обычно описывают четыре разных уровня организации.

Под **первичной структурой** белка обычно понимают последовательность аминокислот. Первичная структура инсулина была открыта Ф. Сэнгером в 1944–54 годах; в настоящее время известна первичная структура нескольких сотен белков. Последовательность аминокислот определяет биологическую функцию белка, и замена одной единственной аминокислоты может резко изменить эту функцию. В молекулах белков аминокислоты соединены между собой пептидными связями ( $\text{—CO—NH—}$ ) в линейной последовательности составляющей так называемую первичную структуру белка.

Для каждого белка не только состав, но и последовательность аминокислот в полипептидной цепи — **первичная структура** — строго индивидуальны; любое звено цепи — вполне определённая аминокислота. Все многочисленные виды белков, существующие в природе, различаются по первичной структуре; потенциально возможное их число практически неограниченно. Каждый из бесчисленного множества существующих белков имеет особую наследственно детерминированную первичную структуру, присущую только ему. Индивидуальная первичная структура каждого белка сохраняется в поколениях благодаря точной передаче соответствующей наследственной информации. Это обуславливает строго индивидуальную систему внутримолекулярных связей, т. е. уникальную конформацию белка. Для анализа первичной структуры белков разработаны специальные методы. Каждый белок характеризуется собственной «химической топографией» и своеобразными сочетаниями пространственно сближенных химических групп. Часть таких сочетаний служит функциональными центрами молекул. Благодаря структурному соответствию, напоминающему отношение ключа к замку (комплементарности), функциональные центры «узнают» и избирательно присоединяют вещества, на которые соответствующие белки «установлены». Функциональные — **активные центры** белков-ферментов специфически присоединяют субстраты и активируют их, ускоряя и направляя химические превращения. Например, при переваривании определёнными ферментами, например трипсином, каждый белок даёт свой набор фрагментов (пептидов). При соответствующем их разделении на листе бумаги получается «пептидная карта», которая, подобно отпечатку пальца, характерна для данного белка. Разделение на пептиды и определение строения каждого из них в отдельности — основной путь расшифровки первичной структуры белка.

Пространственная конфигурация (конформация) полипептидной цепи определяется первичной структурой и условиями среды. При обычных условиях

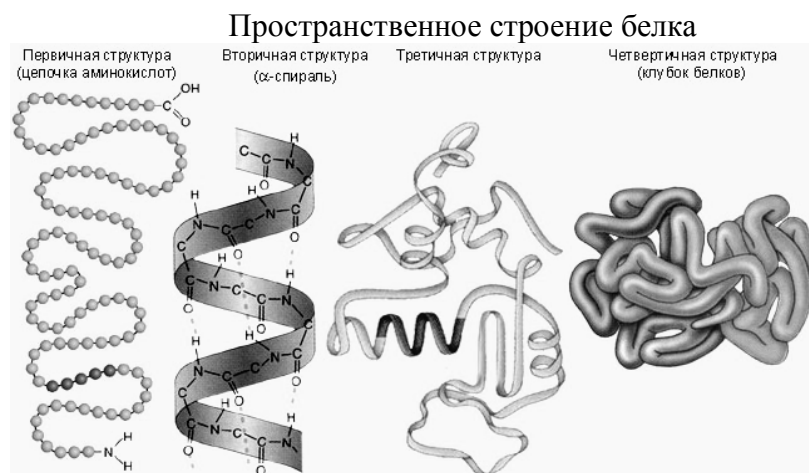
(температура не выше 40°C, нормальное давление и т.д.) белки характеризуются внутримолекулярной упорядоченностью. «Хребет» полипептидной цепи местами может закручиваться спиралью или образовывать полностью вытянутые отрезки. Обычно белковая молекула имеет форму спирали. Это так называемая **вторичная структура**, стабилизируемая водородными связями, возникающими между СО- и NH-группами. На один виток спирали приходится 3,6 аминокислотного остатка. Существуют и другие формы вторичной структуры, например, тройная спираль коллагена и складчатый слой фибрина.

Аминокислотные (полипептидные) цепи, содержащие аминокислоту цистин, в местах его расположения скреплены дисульфидными связями ( $\text{—S—S—}$ ). Кроме пептидных и дисульфидных связей, в молекуле белка есть многочисленные связи с меньшей энергией взаимодействия, имеющие большое значение для внутренней организации и функционирования. Среди этих связей наиболее существенны так называемые гидрофобные связи, создаваемые неполярными боковыми группами аминокислот. Эти группы, лишённые сродства к воде, имеют тенденцию контактировать между собой внутри молекулы. Кроме того, в молекуле белка можно выделить также электростатические взаимодействия между группами, несущими электрические заряды.

Дисульфидные, ионные и водородные связи, а также гидрофобное взаимодействие заставляют большинство белковых цепей сворачиваться в компактную **глобулу**. Полипептидная цепь в целом «упаковывается» и жестко фиксируется с помощью взаимодействий боковых групп аминокислот. Это так называемая **третичная структура** белка. В зависимости от укладки полипептидных цепей форма молекул варьирует от **фибриллярной** (вытянутой, нитеобразной) до **глобулярной** (округлой).

Наконец, многие белки с особо сложным строением состоят из нескольких полипептидных цепей – способ их упаковки называется **четвертичной структурой**. При помощи особых центров взаимного связывания («контактных площадок») определённые белки соединяются по нескольку вместе (структура 4-го порядка) или создают значительно более сложные системы (рисунок 4).

Рисунок 4



Конформация некоторых белков раскрыта рентгеноструктурными исследованиями. Создание упорядоченной прочной конформации белка определяется целыми системами взаимодействий, находящихся во взаимной зависимости. Смены конформации белка, вызываемые изменениями среды или реакциями, в которые они вступают, связаны с изменением ряда взаимодействий. Конформационные переходы охватывают молекулу целиком или ограничиваются определёнными районами. При нагревании, резком подкислении среды и других сильных воздействиях происходит «плавление» молекулы белка — переход в состояние беспорядочного клубка. Молекула временно или постоянно теряет свою третичную структуру и «сворачивается» или выпадает в осадок. Использование спирта в качестве дезинфицирующего средства

связано именно с тем, что он вызывает денатурацию белка любых бактерий. Это, как правило, влечёт за собой ряд других превращений, общий результат которых обозначают как **денатурацию** белка. При этом понижается растворимость, усиливается вязкость их растворов, теряются ферментативные и другие биологические свойства.

Изучение структуры белка даёт возможность переходить к их синтезу. В 1955 была выяснена структура инсулина, молекула которого состоит из двух сравнительно коротких полипептидных цепей (21 и 30 аминокислотных остатков). Вслед за этим была раскрыта первичная структура гемоглобина, рибонуклеазы, трипсина и ряда других белков. Путём химического синтеза сначала были получены сложные пептиды со свойствами гормонов, затем удалось синтезировать гормон инсулин, наконец — фермент рибонуклеазу. Правильность химической формулы инсулина и рибонуклеазы подтвердилась тем, что синтетические белки не отличались от молекул, продуцируемых организмом, ни по физико-химическим свойствам, ни по биологической активности. Установлена полностью или частично первичная структура свыше 200 Б.

**Биосинтез белка** — процесс образования белков из аминокислот в клетках живых организмов. Выяснение механизма этого процесса, имеющего огромное биологическое значение, можно отнести к важнейшим достижениям науки 20 в. Биосинтез белка идёт при помощи особых сложных механизмов, обеспечивающих упорядоченное воспроизведение специфической уникальной структуры. Механизмы эти едины или весьма сходны для самых разнообразных клеток и организмов, в них принимают участие нуклеиновые кислоты, в особенности рибонуклеиновые кислоты (РНК). Этот процесс идёт с использованием энергии, накопленной в виде аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Биосинтез белка происходит на особых рибонуклеопротеидных частицах — **рибосомах**, состоящих из почти равных количеств рибосомной РНК (*p*-РНК) и белков. Первичная структура (последовательность аминокислот) синтезирующихся полипептидных цепочек обеспечивается соединением с рибосомами особой матричной, или информационной, рибонуклеиновой кислоты (и-РНК, или м-РНК), которая содержит информацию о специфическом строении белка, «закодированную» в виде последовательного расположения нуклеотидов, составляющих и-РНК. Эту информацию и-РНК получает от дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), хранящей и передающей её по наследству. Аминокислоты, прежде чем попасть в рибосомы, активируются, получая энергию от АТФ и образуя соединение с адениловой кислотой. (Активированные аминокислоты представляют собой смешанный ангидрид аминокислоты и адениловой кислоты — аминокациладенилат.) Далее, остаток данной аминокислоты переносится на соответствующую транспортную рибонуклеиновую кислоту (т-РНК). Оба эти процесса катализируются одним и тем же ферментом (аминокациладенилатсинтетазой, или аминокацилт-РНК-синтетазой), специфическим для каждой аминокислоты. Определённой аминокислоте соответствуют одна или несколько специфичных для неё т-РНК. Все т-РНК сравнительно низкополимерны, содержат около 80 нуклеотидных остатков. Они построены по общему плану: в начале цепи находится 5-гуаниловая кислота, а в конце — часто обменивающаяся группировка из двух остатков цитидиловой кислоты и аденозина, к которому и присоединяется остаток аминокислоты. Остаток аминокислоты, соединённый с т-РНК, далее переносится на рибосомы, где и происходит образование полипептидной цепочки. Т. о., рибосомная стадия — центральный этап биосинтеза белка. В процессе биосинтеза рибосомы соединяются в цепочки при помощи и-РНК, образуя активные белоксинтезирующие структуры — **полирибосомы**, или полисомы.

и-РНК синтезируется на матрице ДНК. В уникальной последовательности нуклеотидов ДНК линейно «записана» генетическая информация о последовательности аминокислотных остатков в полипептидных цепочках белка. В новообразованной и-РНК получается нуклеотидная последовательность, соответствующая матричной ДНК, — комплементарная последовательность, которая определяет первичную структуру

синтезирующейся полипептидной цепочки. Включение каждой аминокислоты обуславливается (кодируется) определёнными группами из трёх нуклеотидных остатков (триплетами). Каждой аминокислоте соответствует несколько триплетов, или кодонов, для которых теперь установлены состав и последовательность нуклеотидов.

В полисомах т-РНК, нагруженная аминокислотой, присоединяется к соответствующим кодонам и-РНК. Это присоединение совершается внутри рибосомы в силу взаимодействия комплементарных оснований: аденина с урацилом или тиминном и гуанина с цитозином. При этом т-РНК присоединяется к кодону содержащимся в ней комплементарным триплетом, называемым антикодоном. По мере продвижения рибосомы по нуклеотидной цепочке и-РНК к соседним кодонам присоединяются новые молекулы т-РНК, нагруженные аминокислотами. Предыдущая т-РНК при этом освобождается, присоединяя свою аминокислоту карбоксильным концом к аминогруппе новой аминокислоты с образованием пептидной связи. Т. о., полипептидная цепочка растёт по мере продвижения рибосомы по и-РНК и освобождается по завершении своего синтеза, пройдя соответствующий участок и-РНК, комплементарный данному структурному гену ДНК.

Процесс биосинтеза белка не исчерпывается образованием полипептидных цепочек, т. е. созданием первичной структуры. Далее происходит свёртывание цепочек в спирали, их «укладка» и взаимодействие, и образование вторичной, третичной и, иногда, четвертичной структуры.

В связи с важным значением белка разрабатываются новые методы получения белков и аминокислот путём промышленного микробиологического синтеза, т. е. выращиванием микробов (например, дрожжей и др.) на дешёвом сырье (например, нефти, газе и др.).

Аминокислотный состав устанавливается путем гидролиза белка с последующим хроматографическим анализом. Амидные связи способны гидролизироваться как в кислой, так и в щелочной средах. Гидролиз может быть частичным (образуются более короткие полипептиды и пептиды) или полным (образуется смесь аминокислот). Широко используют частичный гидролиз под действием ферментов пептидаз, которые избирательно гидролизуют пептидные связи внутри белковой молекулы (эндопептидазы), либо на конце цепи (экзопептидазы).

Полученную в результате гидролиза смесь аминокислот анализируют в аминокислотном анализаторе. Таким образом определяется аминокислотный состав белков.

Более сложным является определение аминокислотной последовательности, т.е. первичной структуры белка. Первичная структура определяется путем последовательного отщепления аминокислот от одного из концов цепи и их идентификация. Первый способ отщепления и идентификации N-концевой аминокислоты был предложен Сенгером (1945), в котором белок обрабатывали динитрофторбензолом, а затем гидролизовали. Более простым, а поэтому и более распространенным методом определения первичной структуры белка, является метод ступенчатой деструкции Эдмана (фенилтиогидрантоиновый). Преимущество этого метода заключается в том, что он позволяет сохранить часть молекулы, от которой была отщеплена аминокислота. Также широко известен и дансильный метод, который основан на взаимодействии N-концевой аминокислоты с дансилхлоридом.

В настоящее время для определения аминокислотного состава белков используют специальные приборы –секвенаторы, работающие в автоматическом режиме.