

CARBOIDRATI E PEPTIDI

LEZIONE 4

CARBOIDRATI



INTRODUZIONE

Carboidrati = (poli)idrossialdeidi o (poli)idrossichetoni

Carboidrati semplici: monosaccaridi

Carboidrati complessi: disaccaridi (2), oligosaccaridi (3-10), polisaccaridi (>10)

Nomenclatura:

▶ **n° C: 5 ⇒ pentoso; 6 ⇒ esoso**

(meno comuni: triosi (3C), tetrosi (4C), eptosi (7C))

▶ **poliidrossialdeide: aldoso; poliidrossichetone: chetoso**

STEREOCHIMICA: NOTAZIONE D - L

Proiezione di Fisher:

- ▶ C carbonilico = C 1

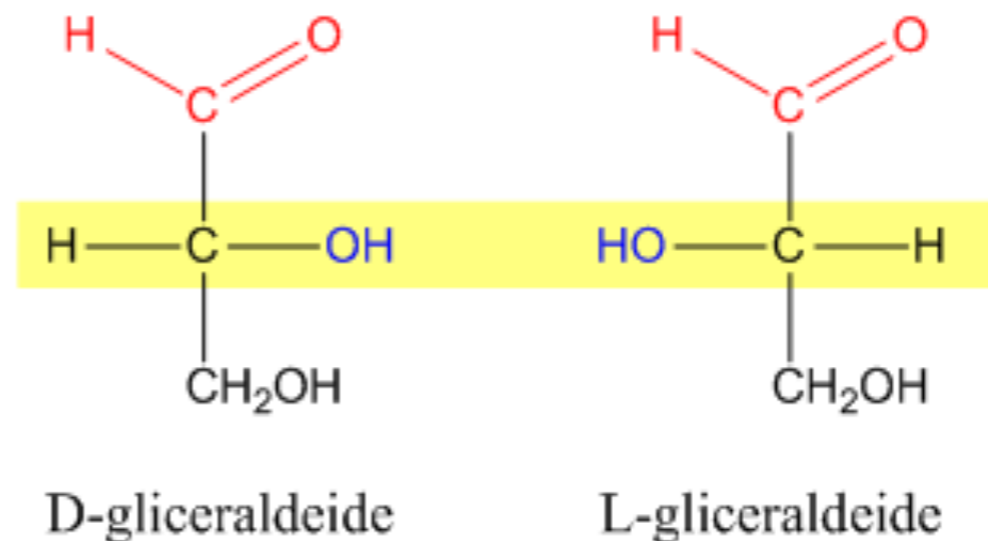
Si sistema il **carbonile** più in **alto** possibile nella proiezione di Fisher.

- ▶ C chirale più in basso = C configurazionale

Se OH legato al C configurazionale è a destra \Rightarrow zucchero D

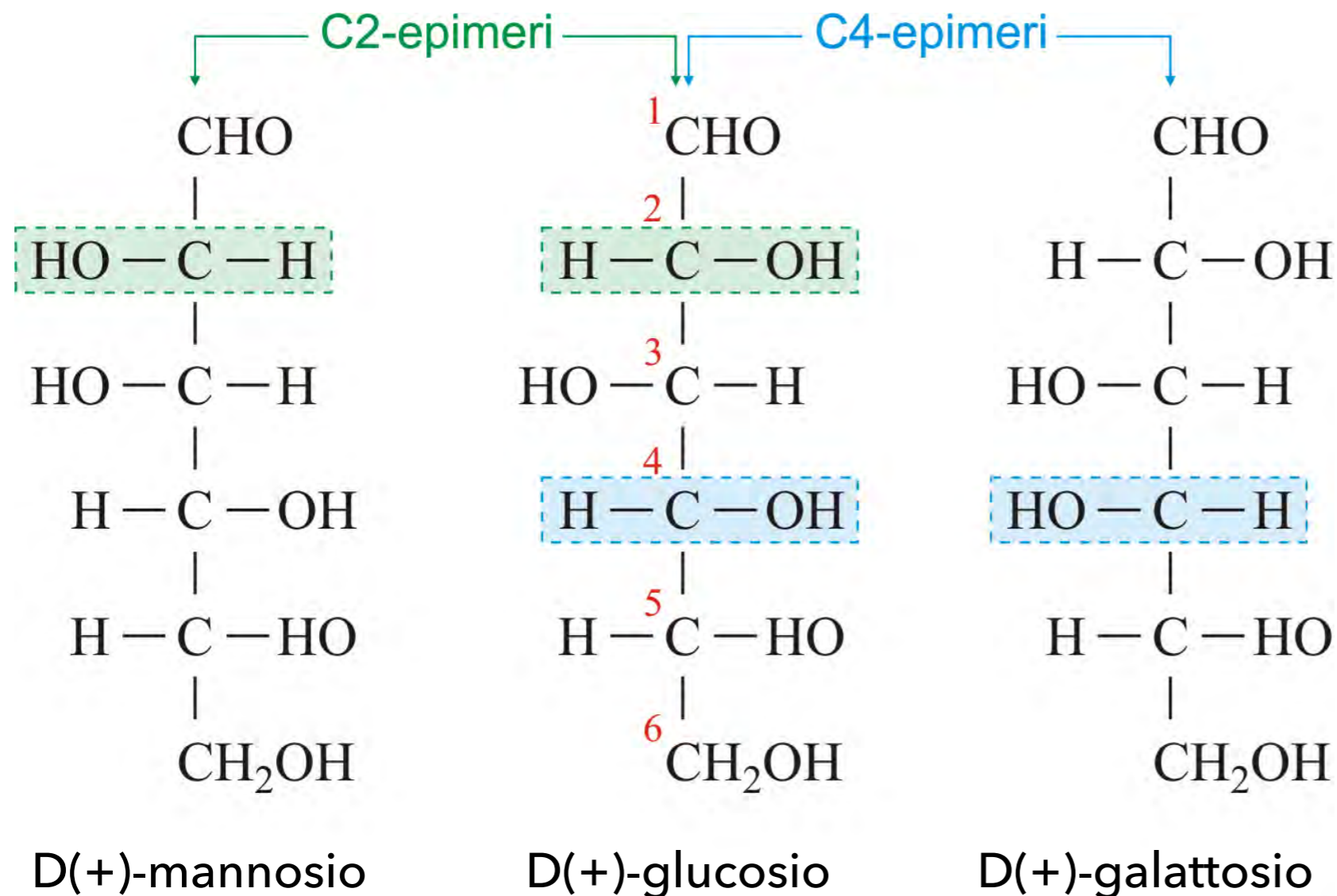
Se OH legato al C configurazionale è a sinistra \Rightarrow zucchero L

Le serie D e L usano come riferimento la gliceraldeide:



STEREOCHIMICA: EPIMERI

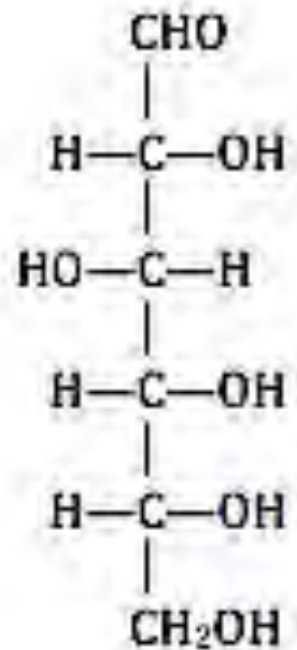
Epimeri = diastereoisomeri che differiscono nella configurazione di 1 solo stereocentro



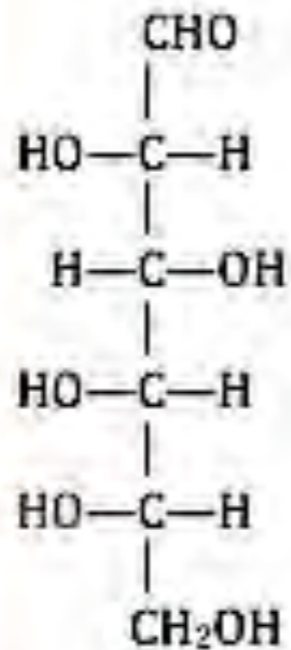
STEREOCHIMICA: ENANTIOMERI

Enantiomeri = tutti i centri chirali hanno configurazione diversa

Ovviamente due enantiomeri sono di serie D e L diversa.



D-Glucose



L-Glucose

REAZIONI DEI COMPOSTI CARBONILICI DA TENERE SEMPRE A MENTE!!

- ▶ Riduzione con NaBH_4 (o LiAlH_4):

carbonile + red \rightarrow alcol

- ▶ Riduzione catalitica (con H_2 e Ni)

carbonile + red \rightarrow alcol (ma si riducono anche i $\text{C}=\text{C}$)

- ▶ Amminazione riduttiva

carbonile + ammina 1^{aria} \rightarrow immina $\xrightarrow{\text{H}_2 / \text{Ni}}$ ammina 2^{aria}

- ▶ Riduzione di Clemmensen

carbonile + ZnHg + HCl \rightarrow alcano

- ▶ Riduzione di Wolff-Kishner

carbonile + NH_2NH_2 \rightarrow idrazone $\xrightarrow{\text{OH}^-}$ alcano

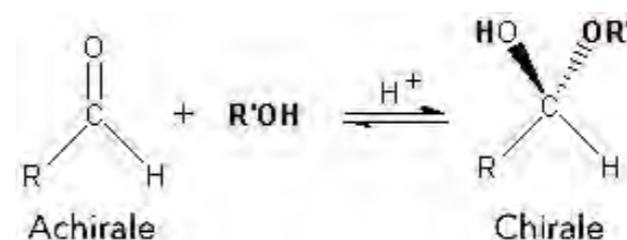
- ▶ Formazione di emiacetali

aldeide + alcol $\xrightarrow{\text{H}^+}$ emiacetale $\xrightarrow[\text{ROH}]{\text{H}^+}$ acetale

STRUTTURA CICLICA DEI MONOSACCARIDI

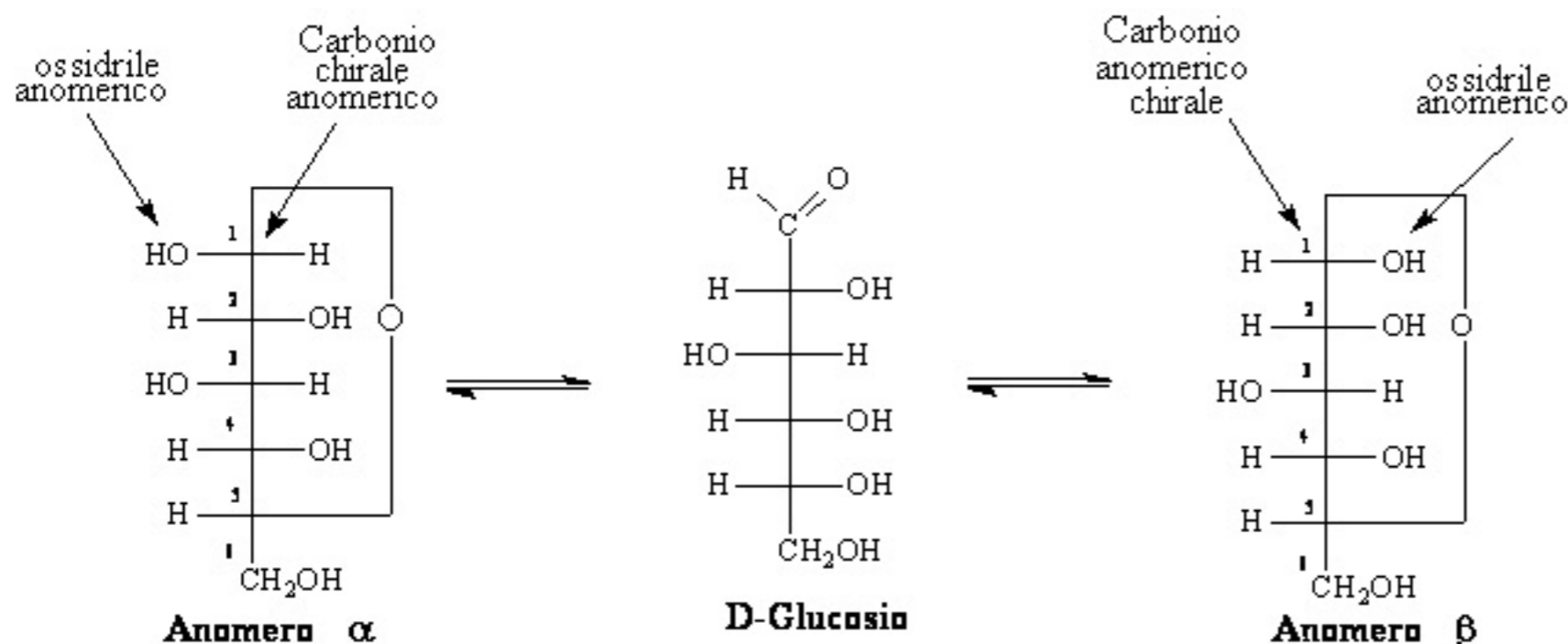
I monosaccaridi possono dare reazione intramolecolare tra gruppo ossidrilico del C5 e il carbonio aldeidico C1 \Rightarrow si ottiene un **emiacetale** ciclico.

La reazione forma un **nuovo centro chirale**



A seconda della stereochimica del C anomero (ex C aldeidico) si distinguono gli anomeri α e β :

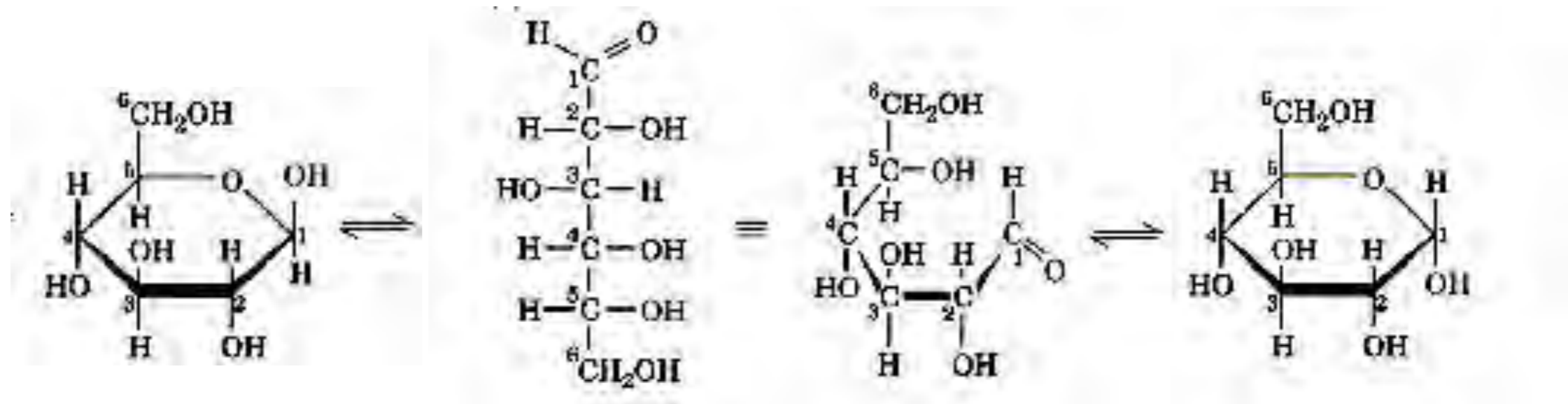
- ▶ OH acetalico e O del carbonio configurazionale dalla stessa parte: anomero α .
- ▶ OH acetalico e O del carbonio configurazionale dalla parte opposta: anomero β .



PROIEZIONI DI HAWORTH

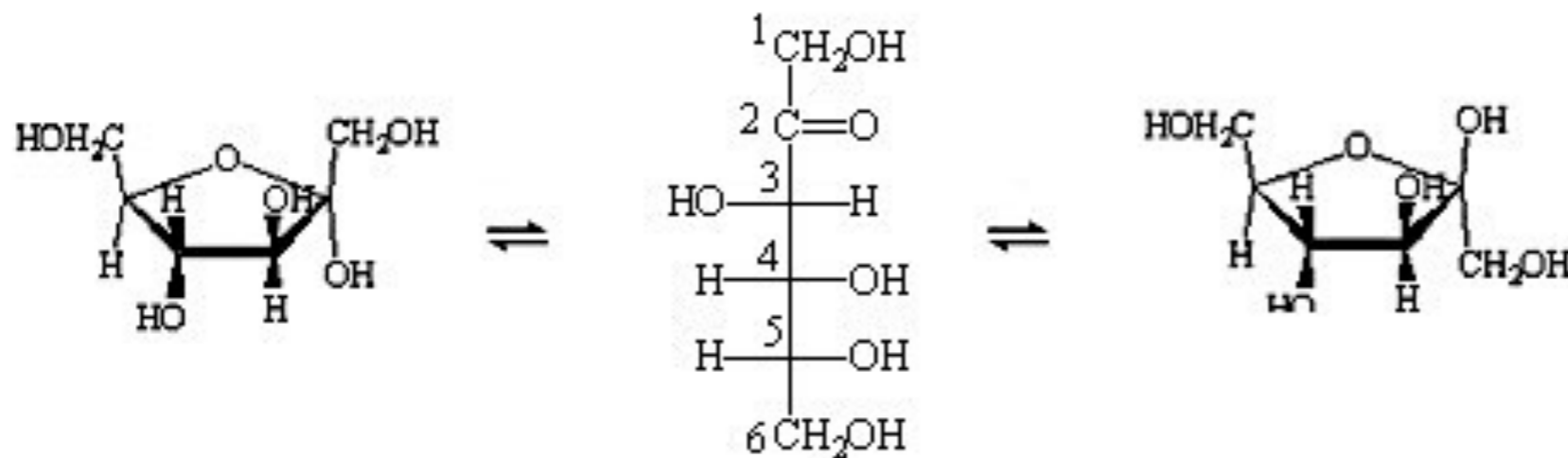
- ▶ Cicli a 6 termini: piranososi
 - * ossigeno endociclico in alto a dx
 - * C anomero (C1) a dx
 - * OH primario in alto a sx
 - * gruppi Fisher a dx → in basso
 - * gruppi Fisher a sx → in alto

NB: Per i **chetoesosi** la struttura **piranosica** è predominante nei **monosaccaridi**, mentre la struttura **furanosica** è predominante nei **disaccaridi** (es: fruttosio).



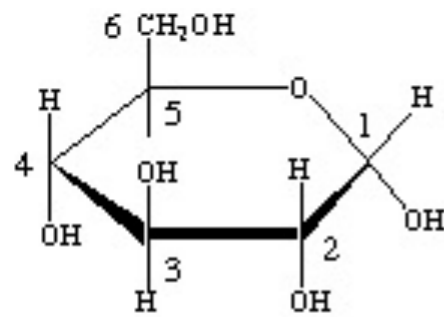
PROIEZIONI DI HAWORTH

- ▶ Cicli a 5 termini: furanosi
 - * ossigeno endociclico in alto
 - * C anomero in alto a dx
 - * OH primario in alto a sx
 - * gruppi Fisher a dx → in basso
 - * gruppi Fisher a sx → in alto

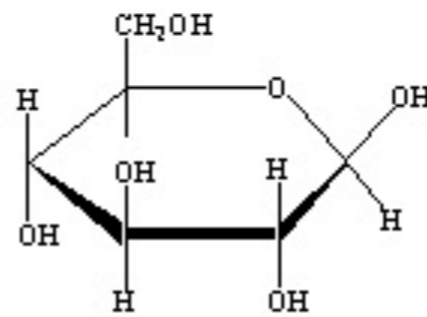


CONFORMAZIONE A SEDIA (SOLO PIRANOSI)

- ▶ La punta verso l'alto a sx
- ▶ L'ossigeno nell'angolo in alto a dx
- ▶ OH primario equatoriale

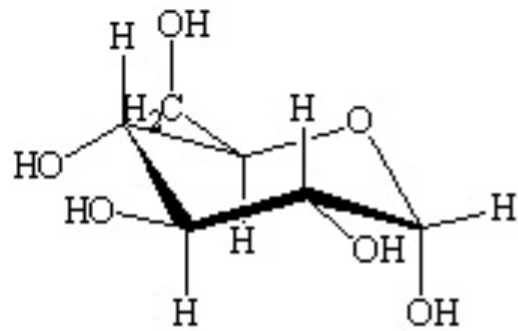


anomero α

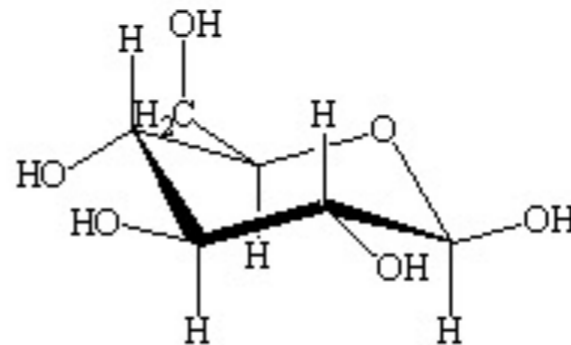


anomero β

NB: Il β -D-glucosio è l'unico zucchero con tutti i gruppi in posizione equatoriale, per questo è il più stabile.



α -D-(+)-glucosio



β -D-(+)-glucosio

MUTAROTAZIONE

Monosaccaride in soluzione: (equilibrio fortemente a dx) forma aperta \rightleftharpoons forma ciclica

Evidenza: se si fa una reazione tipica dei composti carbonilici lo zucchero in soluzione reagisce a completamento ma lentamente.

Spiegazione: reagisce la forma aperta \Rightarrow per il principio di Le Chatelier l'eq si sposta a sx fino a completamento della reazione.

Considerazione: se come monosaccaride di partenza si ha un anomero puro, per esempio α , passando alla forma aperta si perde l'informazione stereochimica sul C anomero e quindi si formeranno nella forma ciclica entrambi gli anomeri α e β .

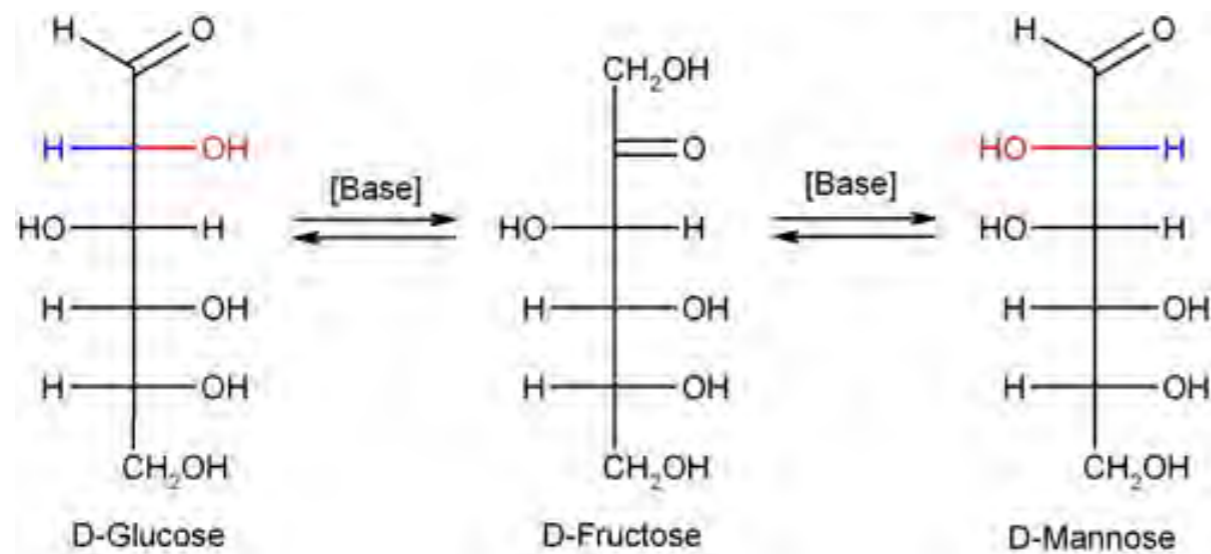
MUTAROTAZIONE

Mutarotazione: i due anomeri hanno angoli di rotazione specifica diversi (sono diastereoisomeri) per cui

- ▶ partendo da una soluzione dell'anomero α puro si registra un angolo di rotazione specifica X , che nel tempo muta fino all'equilibrio in cui si registra un angolo Z
- ▶ partendo da una soluzione dell'anomero β puro si registra un angolo di rotazione specifica Y , che nel tempo muta fino all'equilibrio in cui si registra un angolo Z

ISOMERIZZAZIONE BASE CATALIZZATA

Un aldoso in base può trasformarsi nel proprio epimero e nel chetoso corrispondente grazie a un processo tautomerico con intermedio endiolo.



FORMAZIONE DI GLICOSIDI

Gli zuccheri nella forma ciclica (emiacetalica) possono reagire con molecole contenenti un gruppo ossidrilico a dare acetali (glicosidi).

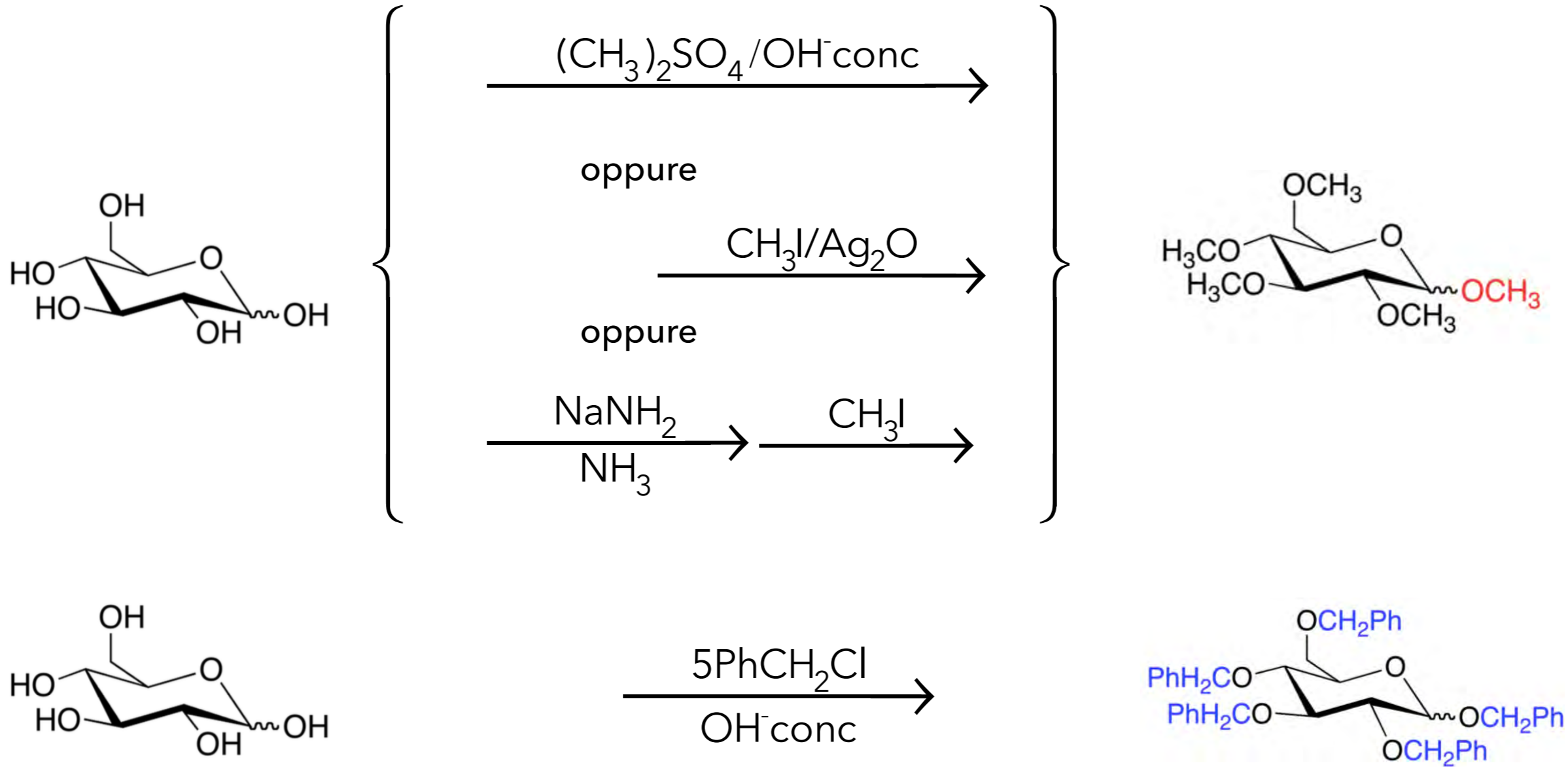
NB:

- ▶ L'informazione **stereochimica dell'anomero di partenza viene persa nella reazione.**
- ▶ -OH può provenire da un **alcol** (es CH_3OH) ma anche da un **monosaccaride** (in questo caso si forma un disaccaride)

Glicosidi:

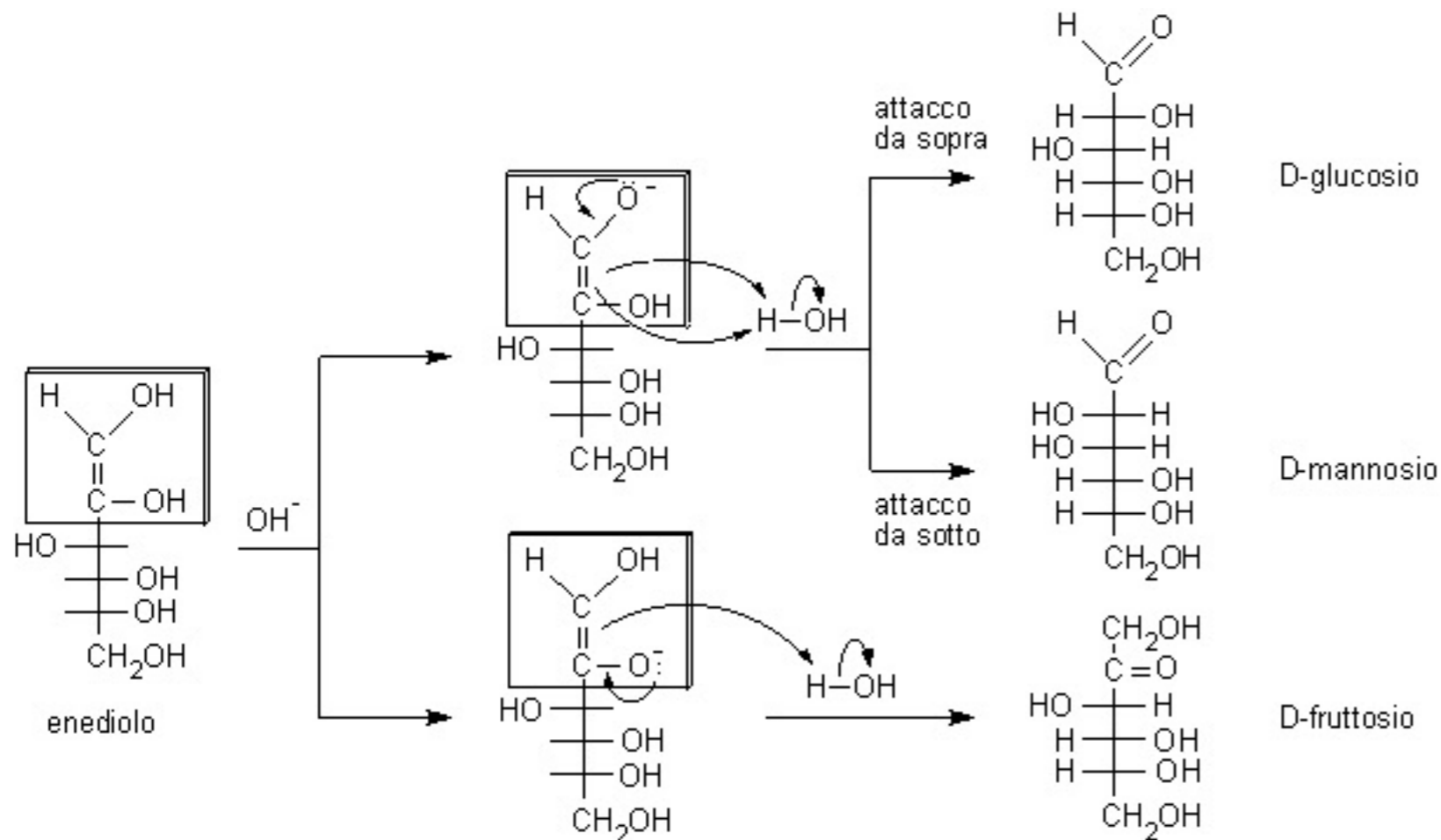
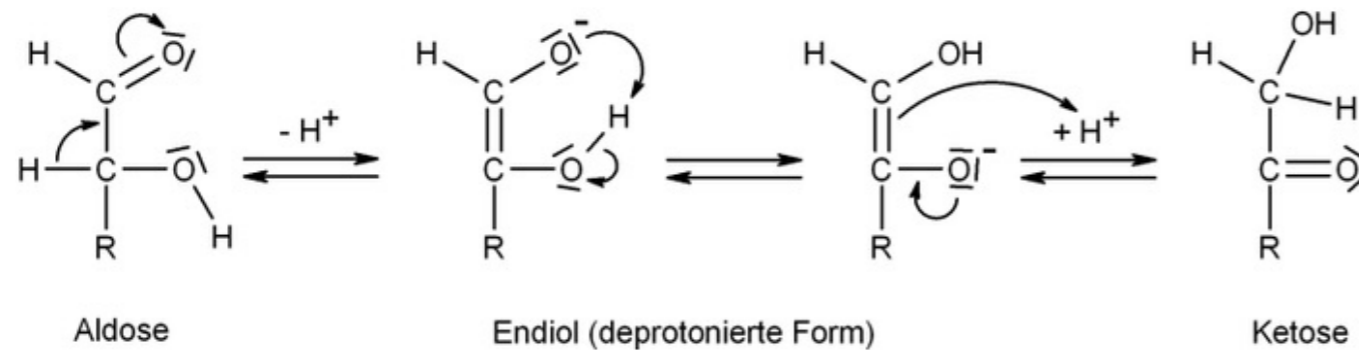
- ▶ **stabili alle basi**
- ▶ **idrolizzano in acido**

FORMAZIONE DI ETERI



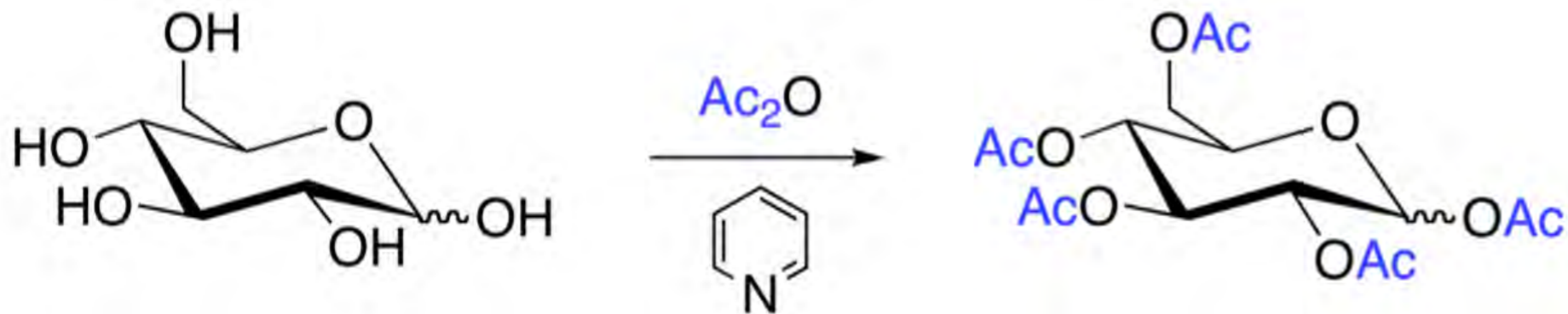
ISOMERIZZAZIONE BASE CATALIZZATA

Meccanismo di trasformazione aldoso-chetoso:



FORMAZIONE DI ESTERI

Formazione di esteri utile per proteggere lo zucchero



Deprotezione:

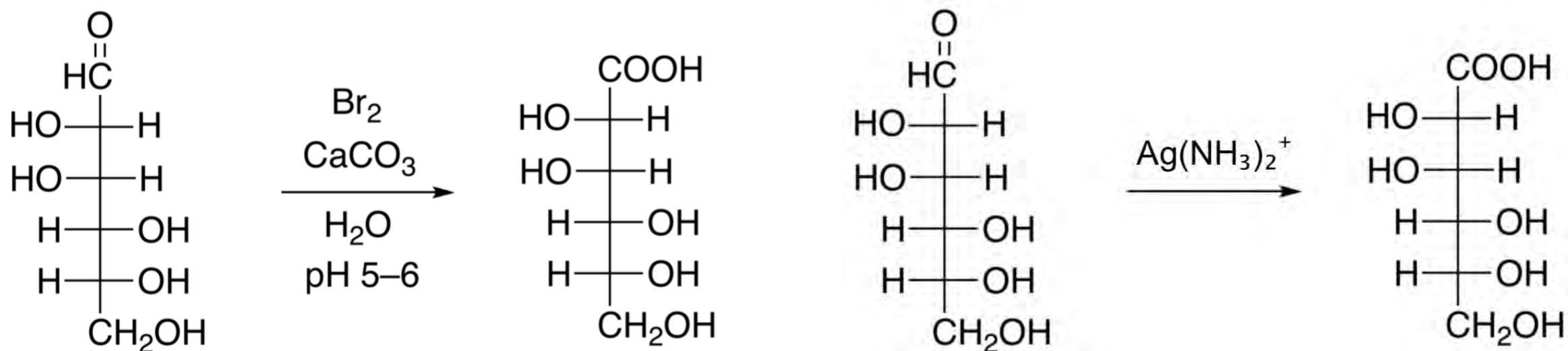
- ▶ transesterificazione (utilizzando MeOH)
- ▶ saponificazione

OSSIDAZIONE AD ACIDI ALDONICI

Il **bromo** ossida gli aldosi ad acidi aldonici \Rightarrow il gruppo aldeidico si ossida a carbossile.

NB: i glicosidi non reagiscono, i chetosi non reagiscono.

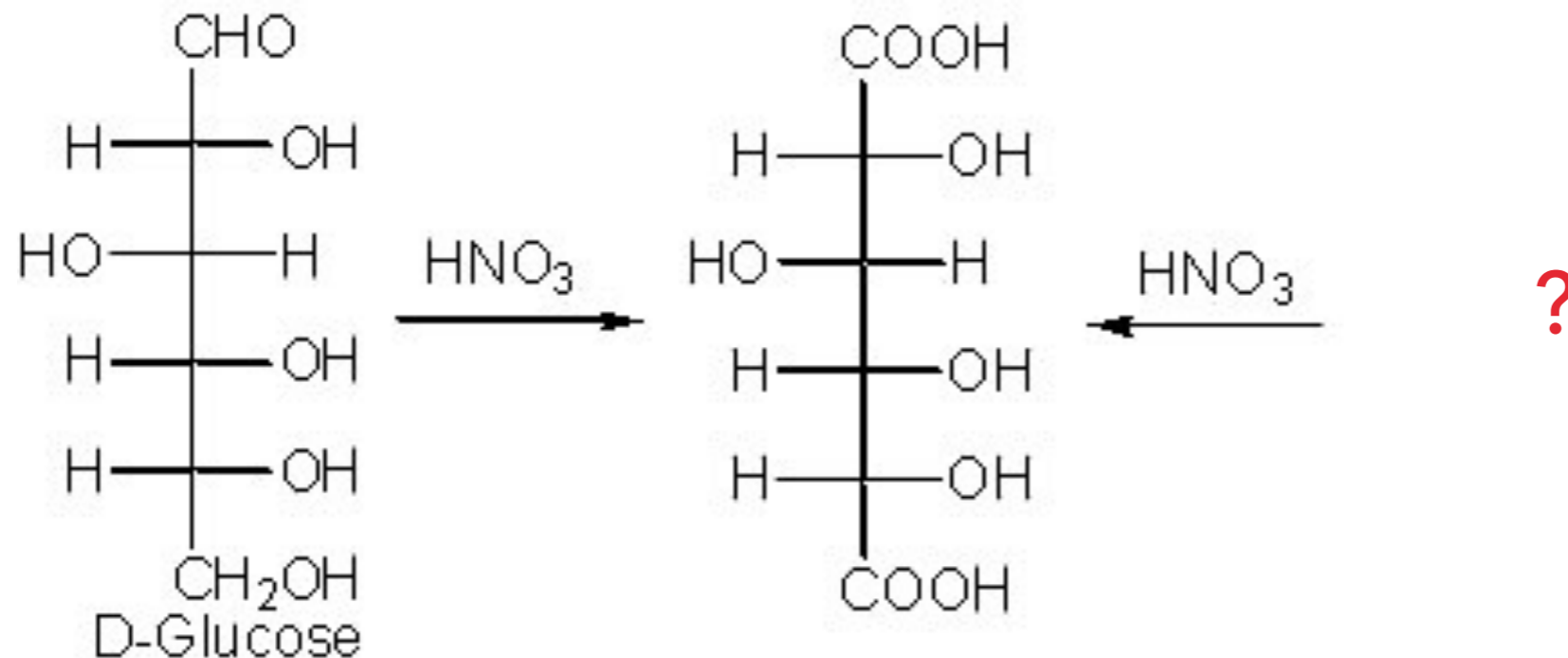
Il reattivo di **Tollens** ($\text{AgNO}_3 + 2\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+ \text{NO}_3^-$) ossida solo le aldeidi e non i chetoni ma ossida sia zuccheri aldosi che chetosi poichè in condizioni basiche si ha tautomeria con formazione di endiolo (vedi [isomerizzazione base catalizzata](#))



OSSIDAZIONE AD ACIDI ALDARICI

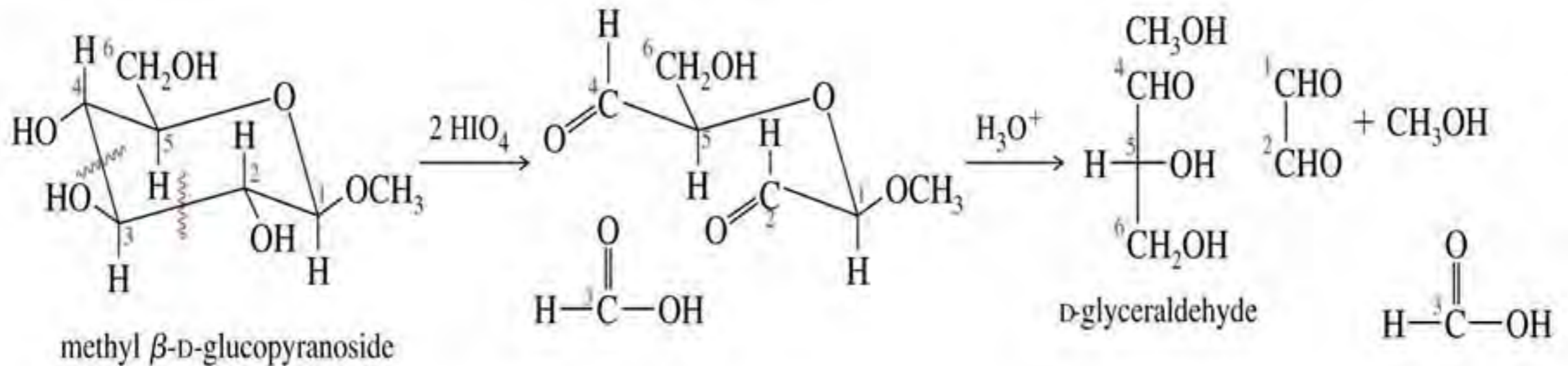
L'**acido nitrico** ossida gli aldosi ad acidi aldarici, quindi vengono ossidati sia il gruppo aldeidico sia gli alcoli primari.

Esercizio: trovare il composto "?"



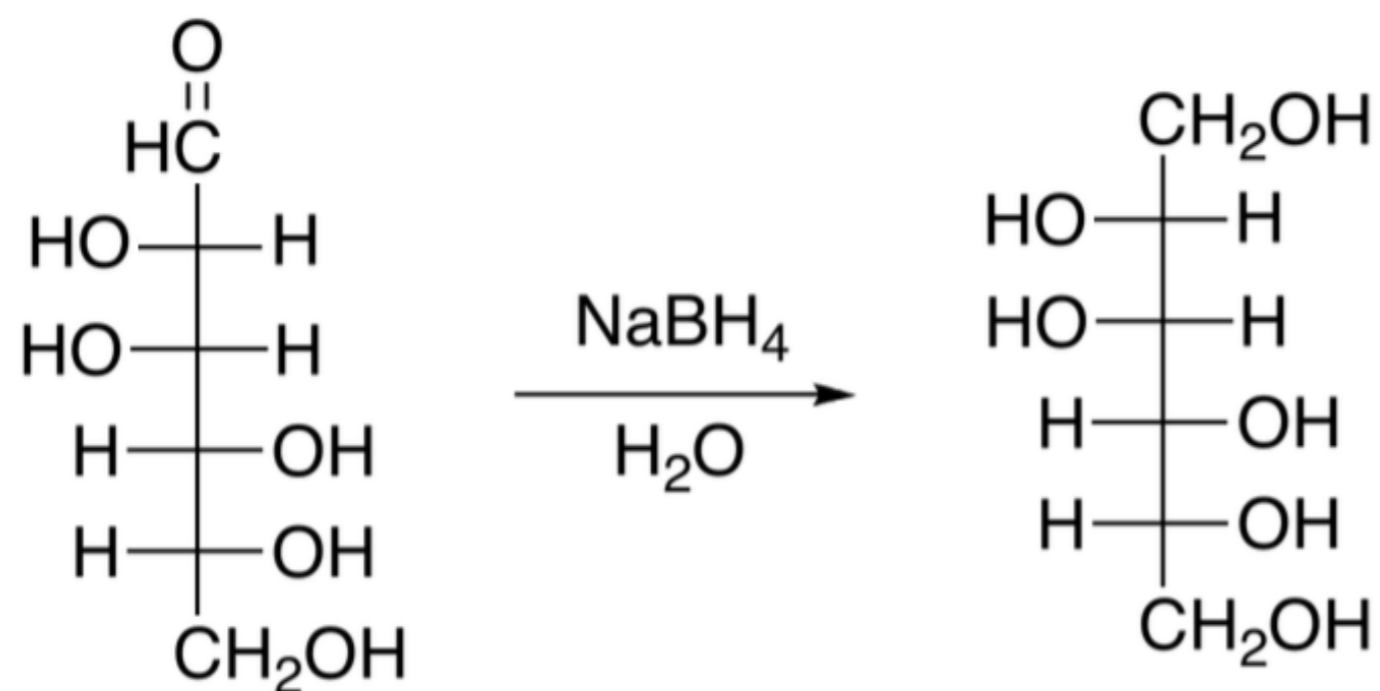
OSSIDAZIONE CON PERIODATO

Il periodato scinde lo zucchero ossidandolo:
un diolo si scinde ossidandosi a due aldeidi e un α -idrossialdeide si scinde ossidandosi a un aldeide e un acido carbossilico.



RIDUZIONE AD ALDITOLI

Il gruppo carbonilico si riduce ad idrossile:



DISACCARIDI

I disaccaridi si formano per condensazione acido catalizzata o enzimatica di due monosaccaridi. Il gruppo emiacetalico di un monosaccaride forma un acetale o glicoside con un gruppo idrossilico di un altro monosaccaride.

Se nel disaccaride c'è un emiacetale questo è riducente (=può essere ossidato), se nel disaccaride sono presenti solo acetali questi non sono riducenti (=resistono all'attacco di ossidanti)

POLISACCARIDI

I polisaccaridi contengono da 10 a centinaia di unità monosaccaridiche unite da un legame glicosidico.

- ▶ Amido:
 - ▶ amilosio (20%) catene non ramificate con legami α -1,4-glicosidici
 - ▶ amilopectina (80%) catene ramificate con legami α -1,4-glicosidici e α -1,6-glicosidico

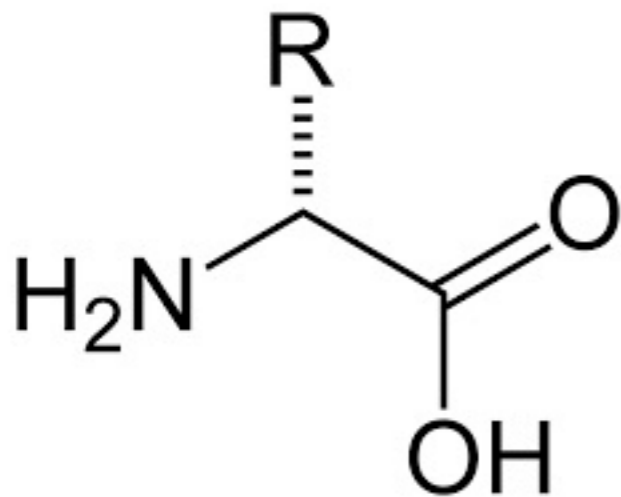
AMMINOACIDI



STEREOCHIMICA

Gli α -amminoacidi:

- ▶ sono composti chirali (eccetto la glicina)
- ▶ quelli naturali sono della serie L ($-\text{NH}_2$ a sx nella Fisher)
- ▶ hanno configurazione S al carbonio in α (tranne la cisteina)



PROPRIETÀ ACIDO-BASE

Forma neutra zwitterionica:

- ▶ sono **insolubili in solventi organici**
- ▶ sono **solubili in acqua**
- ▶ hanno punti di fusione elevati
- ▶ hanno momenti dipolari elevati

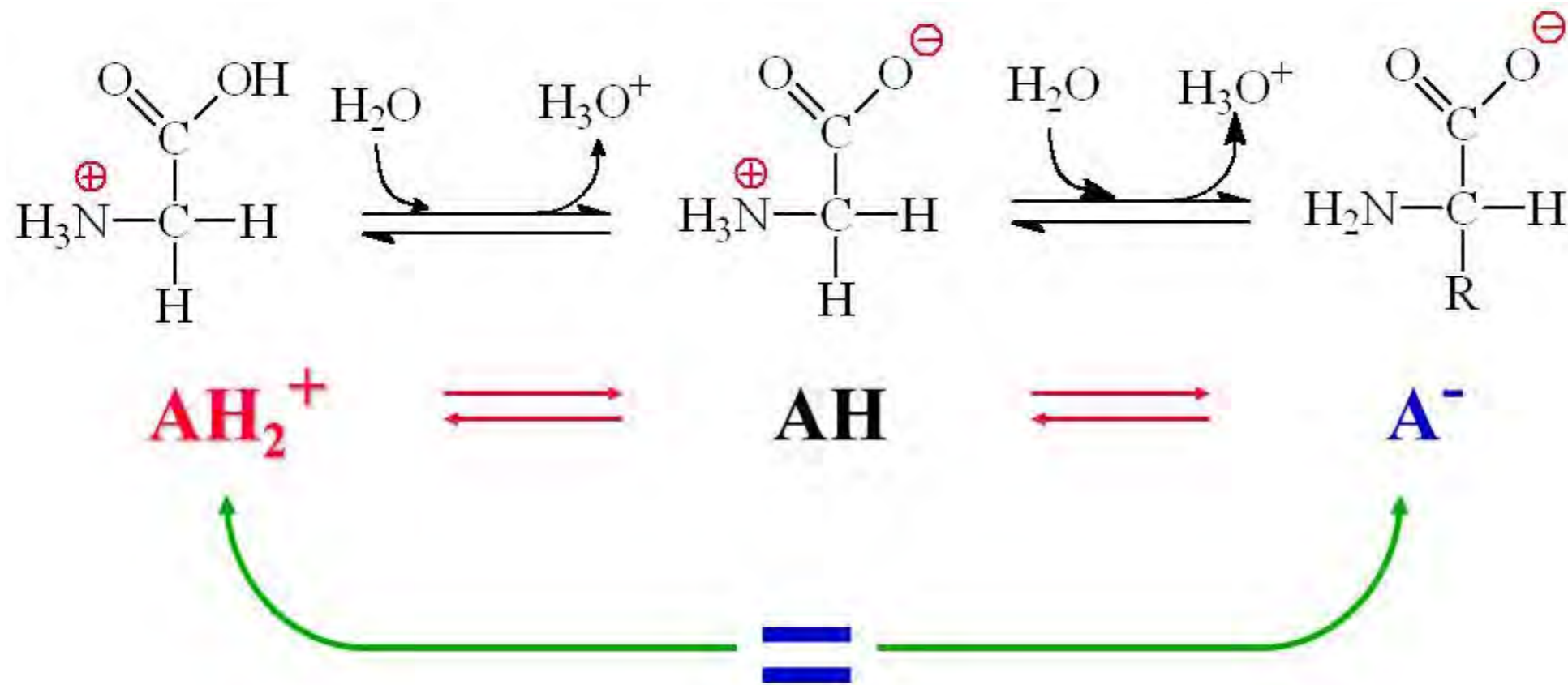
COOH: $pK_a \approx 2$

NH₂: $pK_a \approx 9$

a pH = 7 COO⁻ (deprotonato) e NH₃⁺ (protonato)

PUNTO ISOELETTRICO

Il punto isoelettrico (pI) è il valore di pH al quale una molecola non reca alcuna carica elettrica netta.



PUNTO ISOELETTRICO

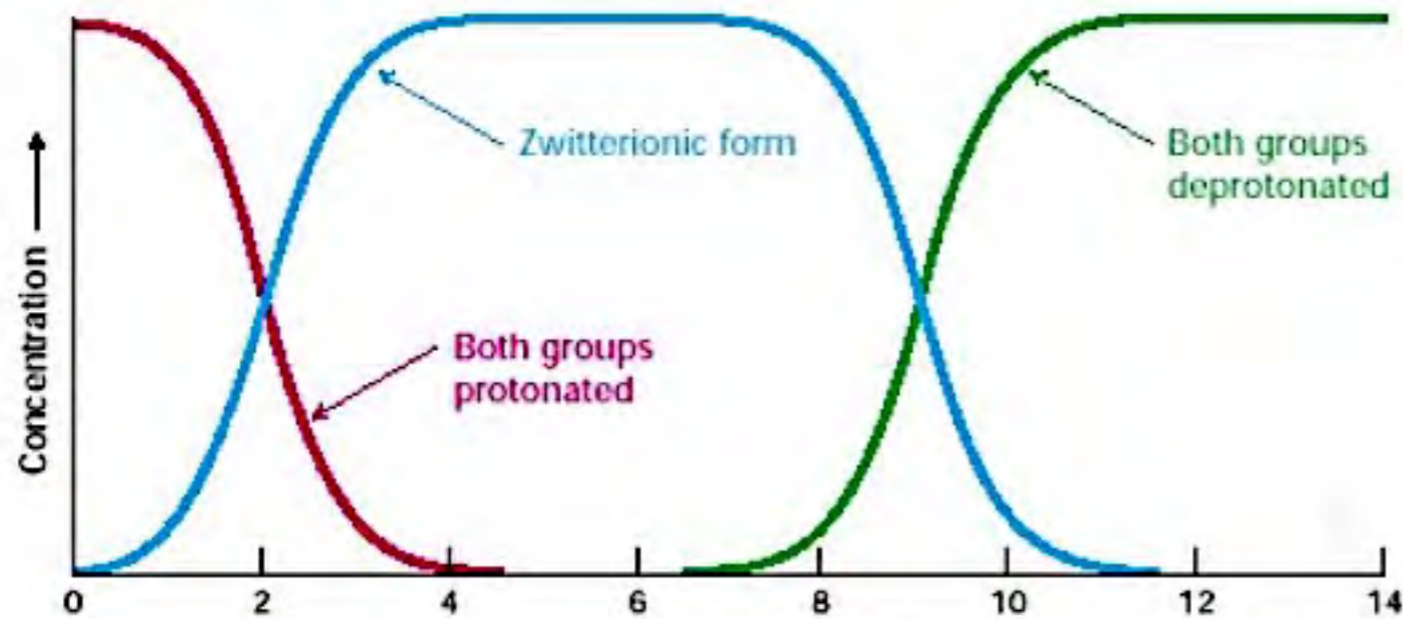
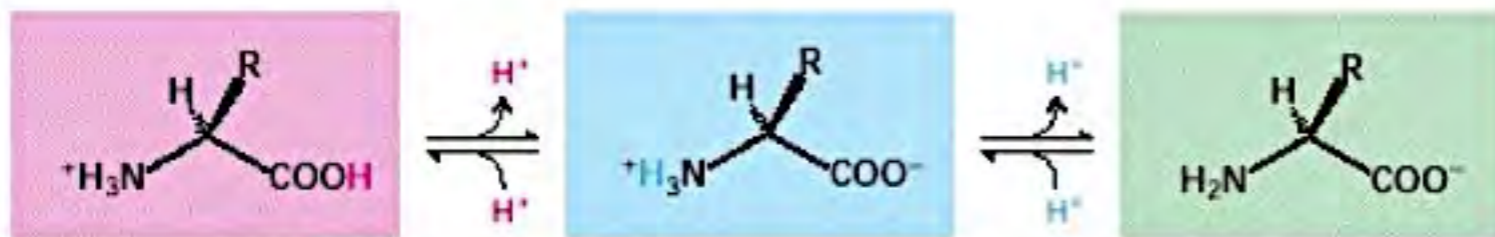
poiché $K_{a1} = \frac{[N][H_3O^+]}{[A]}$; $K_{a2} = \frac{[B][H_3O^+]}{[N]}$

e al punto isoelettrico $[A]=[B]$

si ricava che: $pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2}$

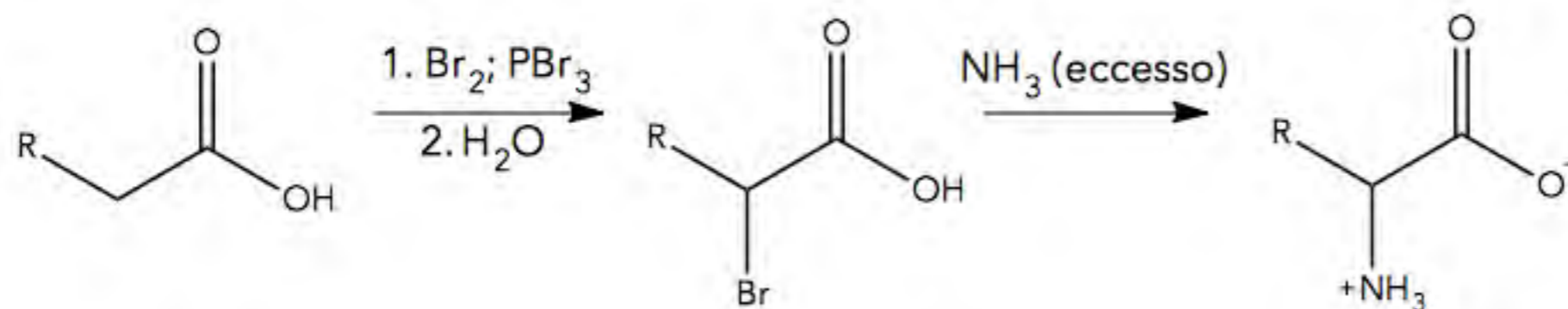
PUNTO ISOELETTRICO

- ▶ per $\text{pH} < \text{pI}$ prevale la forma carica +
- ▶ per $\text{pH} > \text{pI}$ prevale la forma carica -

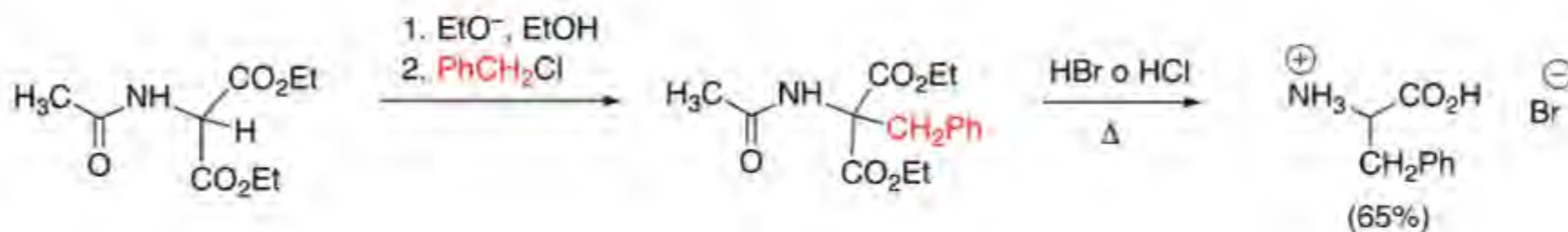


SINTESI DI AMMINOACIDI

- ▶ Sintesi con ammoniaca (reazione che viene male)

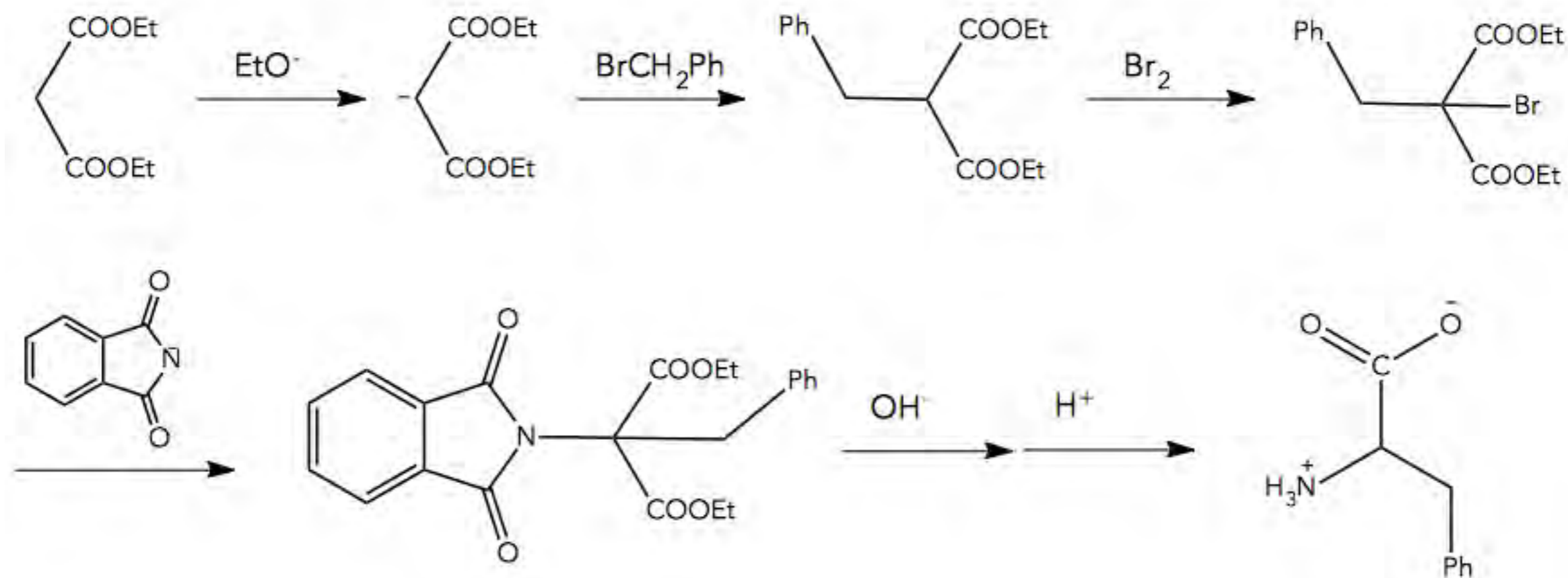


- ▶ Sintesi per variazione della sintesi malonica (1)



SINTESI DI AMMINOACIDI

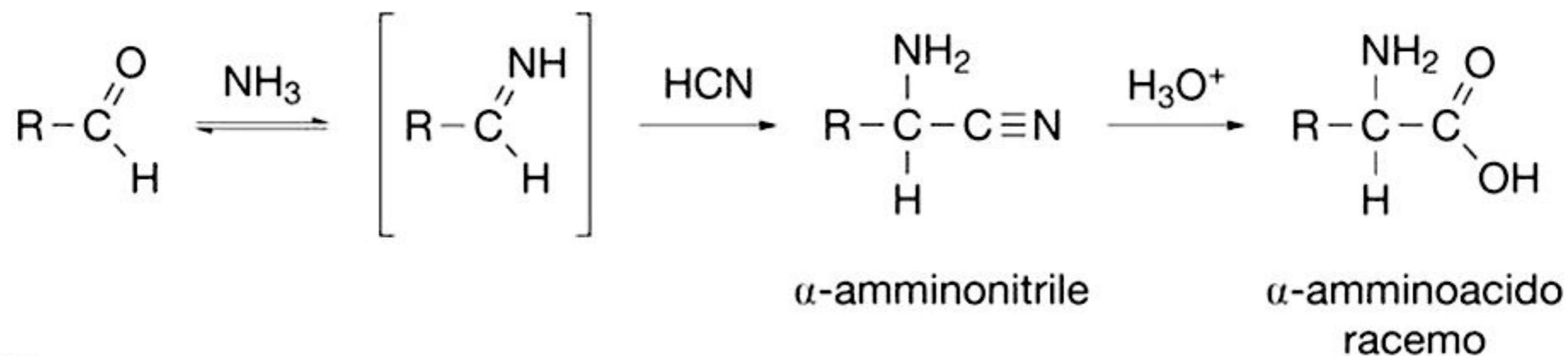
► Sintesi per variazione della sintesi malonica (2)



Reazione di Gabriel

SINTESI DI AMMINOACIDI

► Sintesi di Strecker



DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DEGLI AMMINOACIDI

Reazione con ninidrina

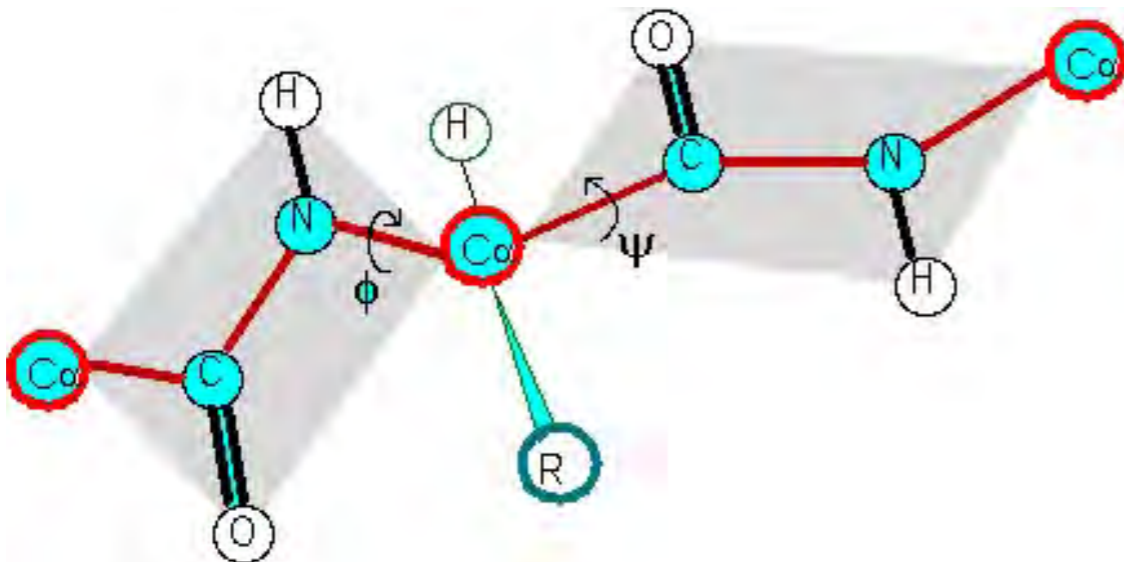


- ▶ Questa reazione è utile come test per la determinazione quantitativa degli amminoacidi. In più la ninidrina è autoindicatrice perchè quando reagisce si trasforma in un prodotto viola.
- ▶ Utile per tutti gli amminoacidi con NH_2 primario

PEPTIDI

I legami peptidici sono legami ammidici che uniscono i residui amminoacidici.

- ▶ gruppo ammino libero a sx
- ▶ gruppo carbossilico libero a dx
- ▶ configurazione trans più stabile della cis
- ▶ legame peptidico 40% carattere di doppio legame \Rightarrow strutture dell'intorno peptidico planari
- ▶ rotazione permessa per $C_{\alpha}-NH_3^+$ e per $C_{\alpha}-COO^-$



LEGAME AMMIDICO (PEPTIDICO)

Il legame ammidico si ottiene per reazione di un gruppo derivato dall'acido carbossilico con un gruppo amminico

acido carbossilico (acido) + ammina (base) \rightleftharpoons sale di ammonio

derivato dell'acido carbossilico + ammina \rightarrow ammide

derivato dell'acido carbossilico:

- ▶ **cloruro acilico: NO! (si hanno reazioni collaterali)**
- ▶ **anidride asimmetrica: NO! perchè si perderebbero degli aminoacidi**
- ▶ **anidride simmetrica: SI!**
- ▶ **esteri: SI!**

PROTEZIONE

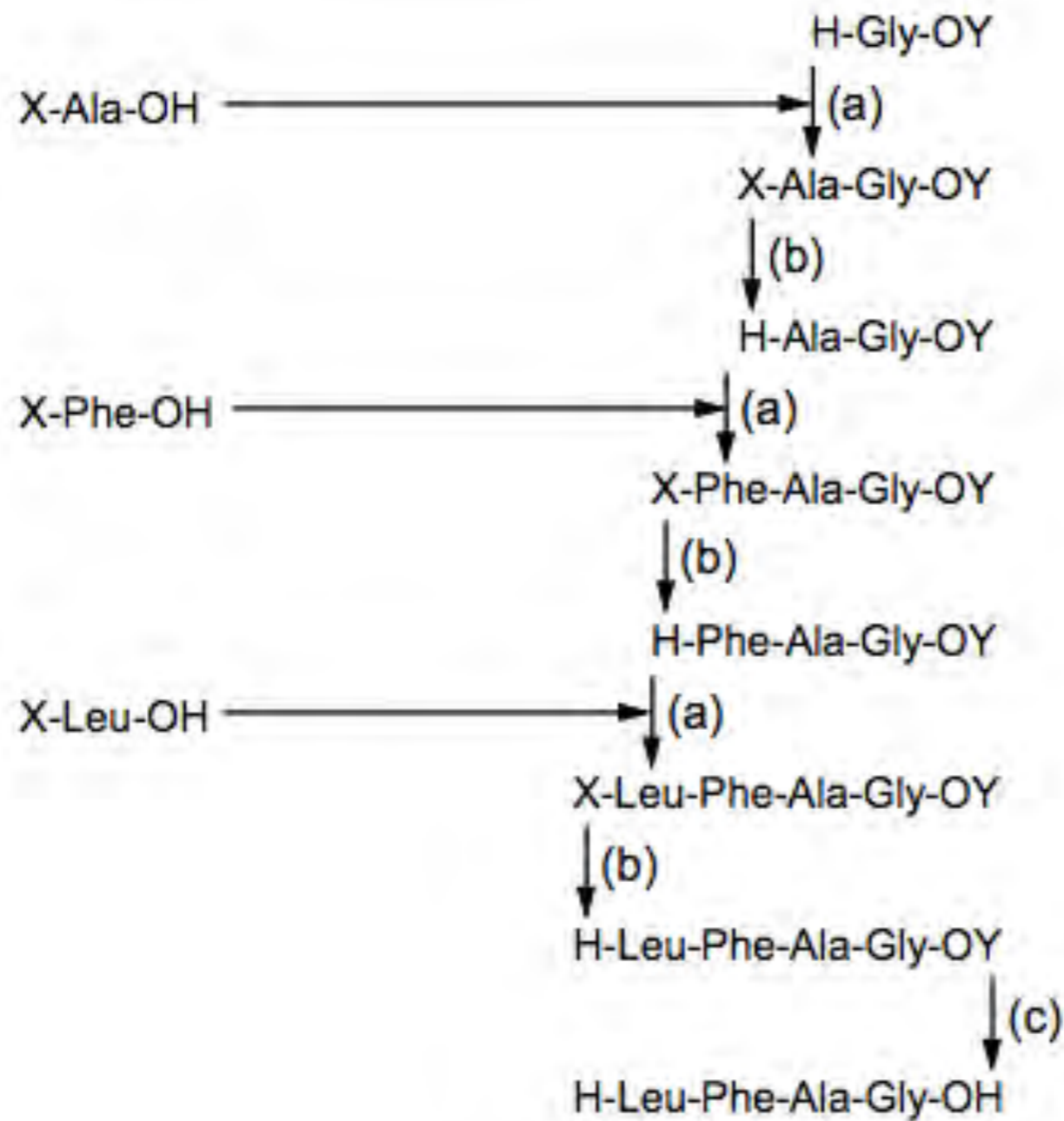
Se si fanno reagire due amminoacidi diversi ci sono 4 possibili peptidi come prodotto.

Per una sintesi selettiva è necessario procedere proteggendo i gruppi che non devono reagire in ogni passaggio e deproteggendoli per avere la reazione.

Si avranno quindi:

- ▶ N protettori
- ▶ C protettori
- ▶ C attivatori (per evitare la reazione acido-base)

PROTEZIONE



X = N protettore

Y = C protettore

(a) = aggancio del nuovo amminoacido

(b) = deprotezione del gruppo amminico

(c) = deprotezione del gruppo carbossilico

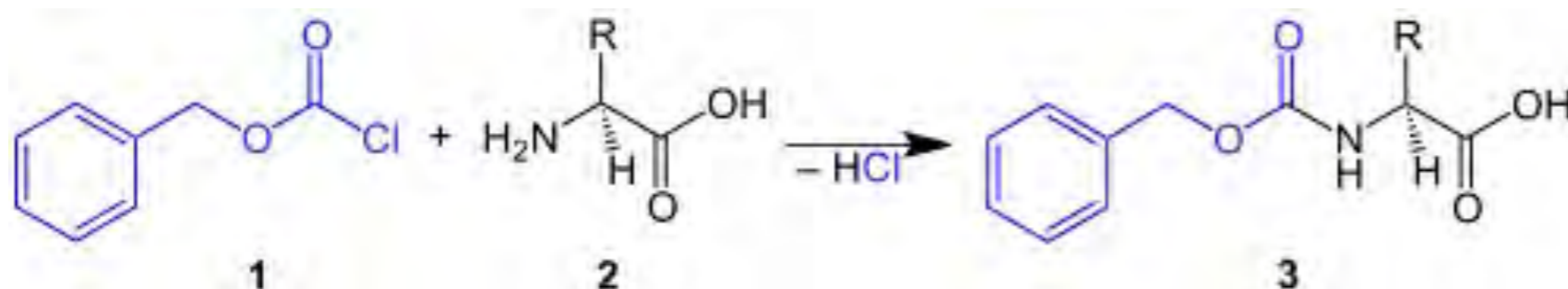
N-PROTETTORI

N-protettori sono **gruppi elettronattrattori che formano legami labili**

Gli N-protettori una volta idrolizzati formano carbocationi stabili (es: PhCH_2^+ , tBu^+)

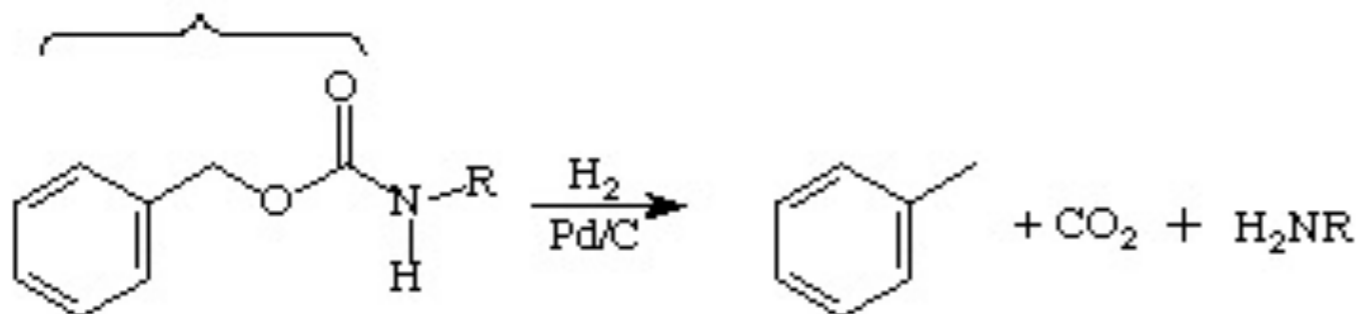
- ▶ Estere carbammico Cbz (Benzil-ossi-carbonil)

protezione:



deprotezione: con idrogeno e catalizzatore

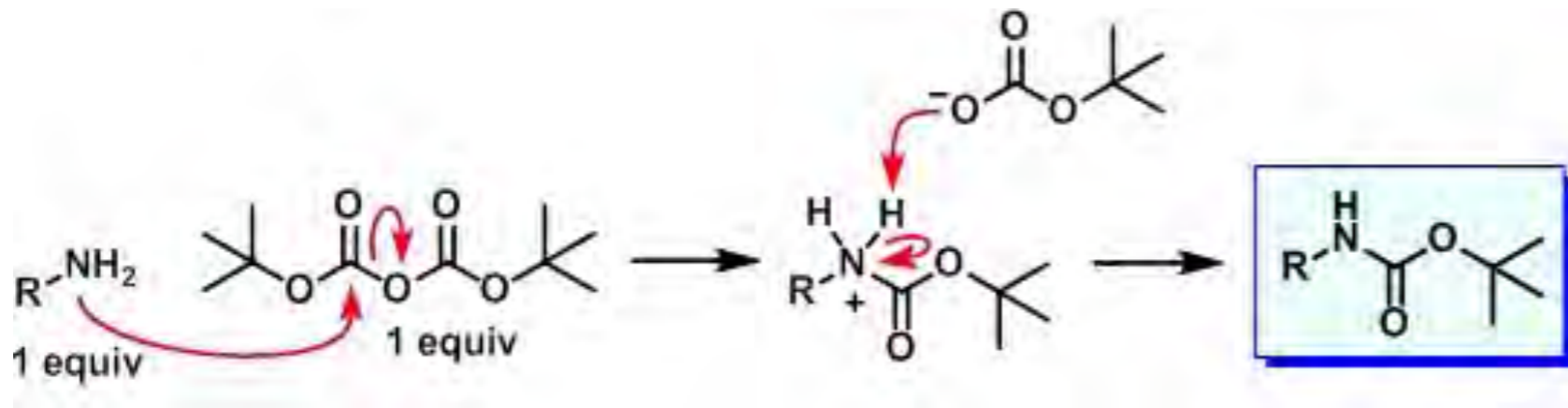
Cbz group
"Carbo**benzyloxy**"
(But better to call it benzyloxycarbonyl.)
Sometimes abbreviated as Z



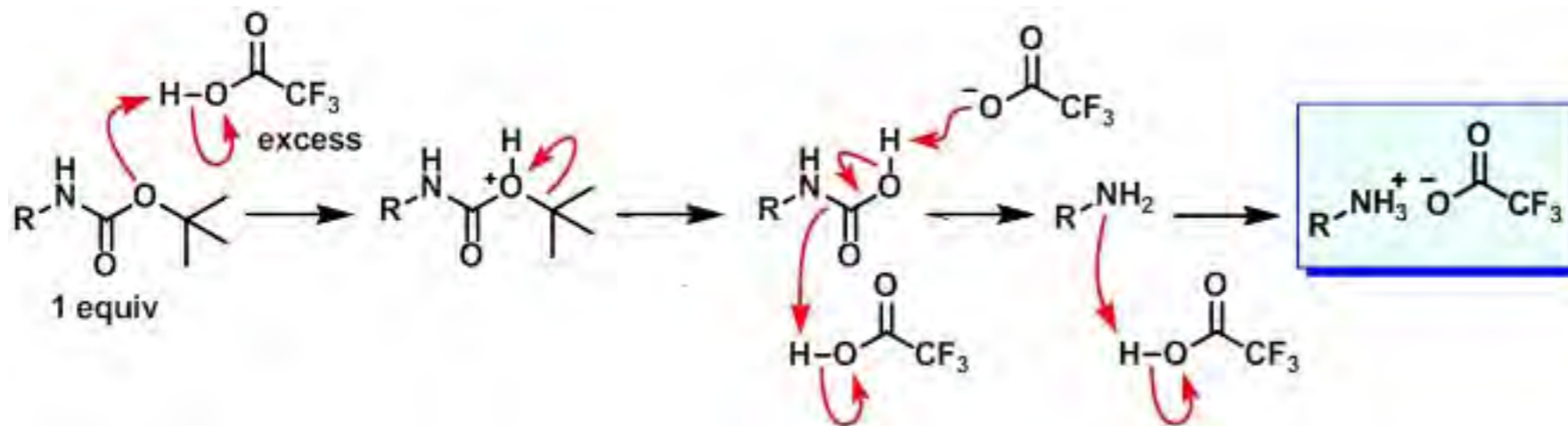
- HBr anidro in CH_3COOH
- HF 70% in piridina
- CF_3COOH agisce molto lentamente

N-PROTETTORI

- ▶ Estere carbammico: Boc (terzbutil-ossi-carbonil)
protezione:

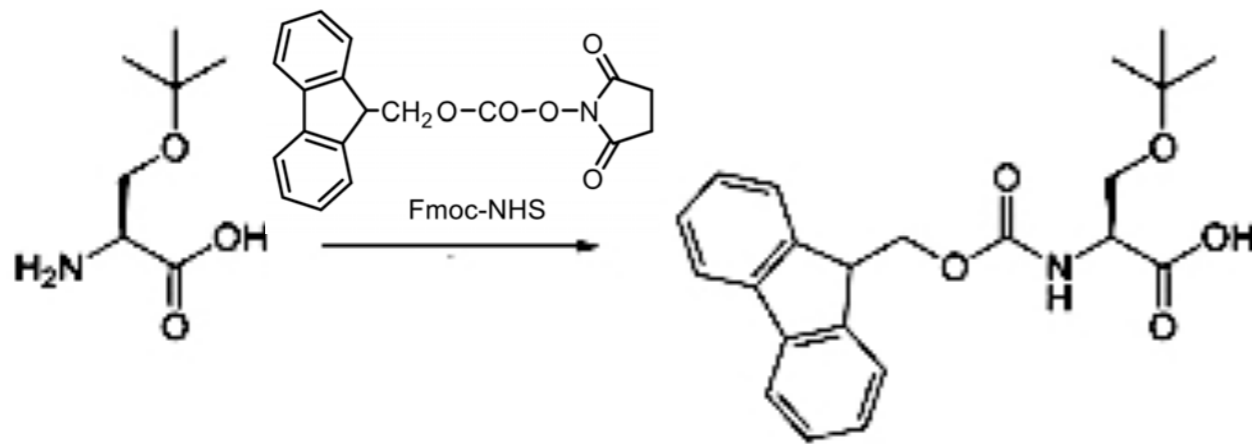


deprotezione: con acido trifluoroacetico

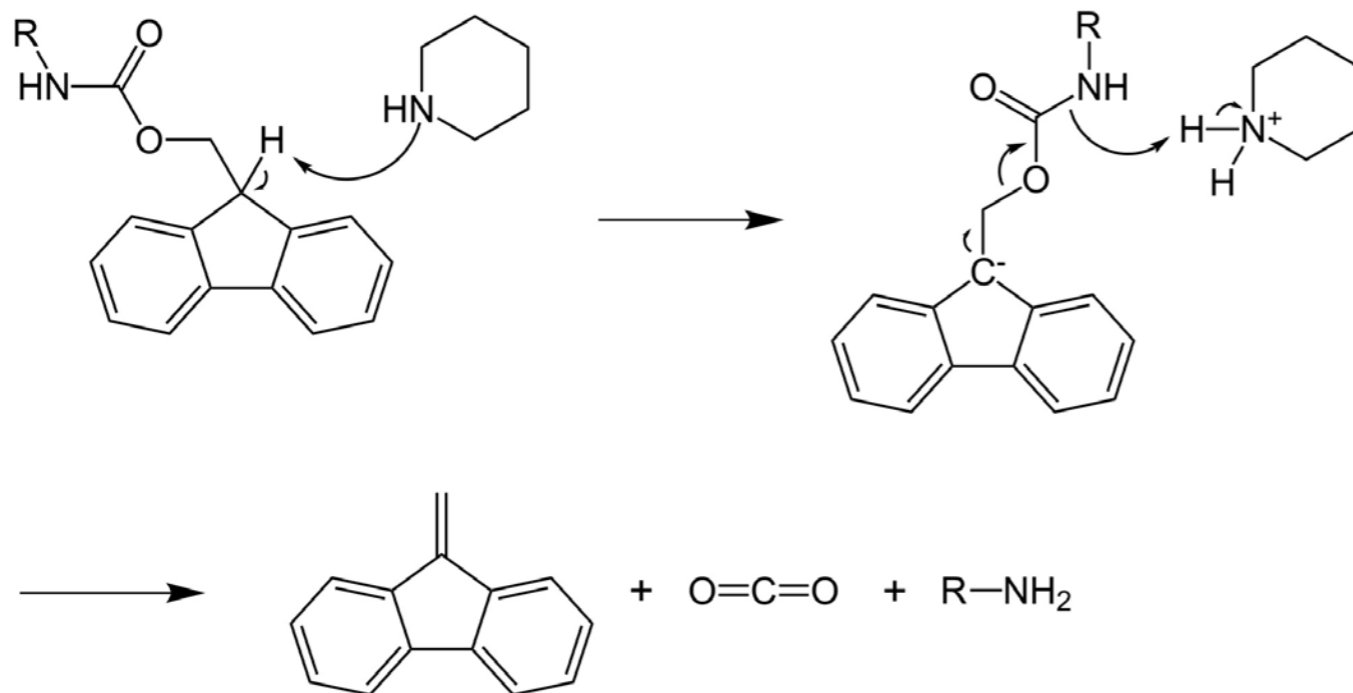


N-PROTETTORI

- ▶ Estere carbammico: Fmoc (9-fluorenil)metossicarbonil
protezione:



deprotezione: con piperidina

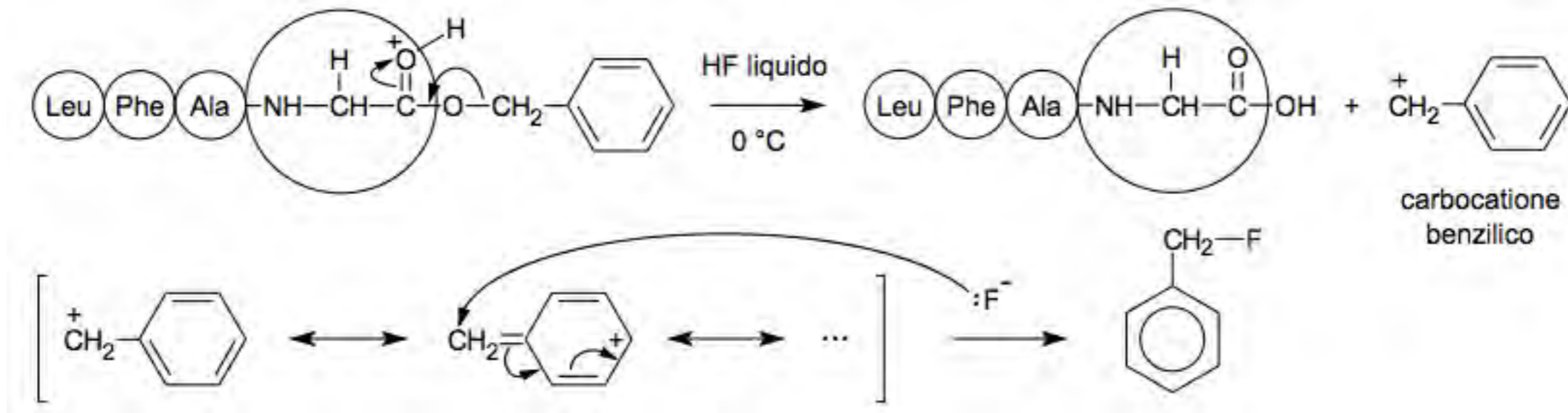


C-PROTETTORI

► Estere benzilico

protezione: formazione di un estere con PhCH₂OH acido catalizzata

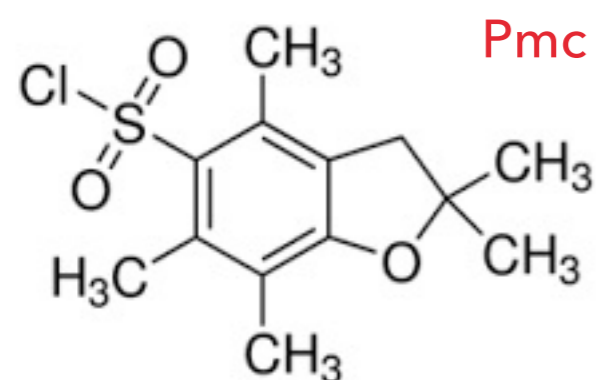
deprotezione: con HF anidro



PROTEZIONE DELLE CATENE LATERALI

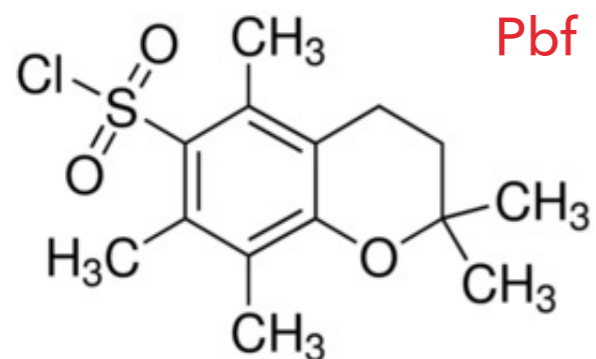
Se la catena laterale dell'A.A. ha un gruppo amminico è necessario proteggerlo.

Protettori:



Deprotezione:

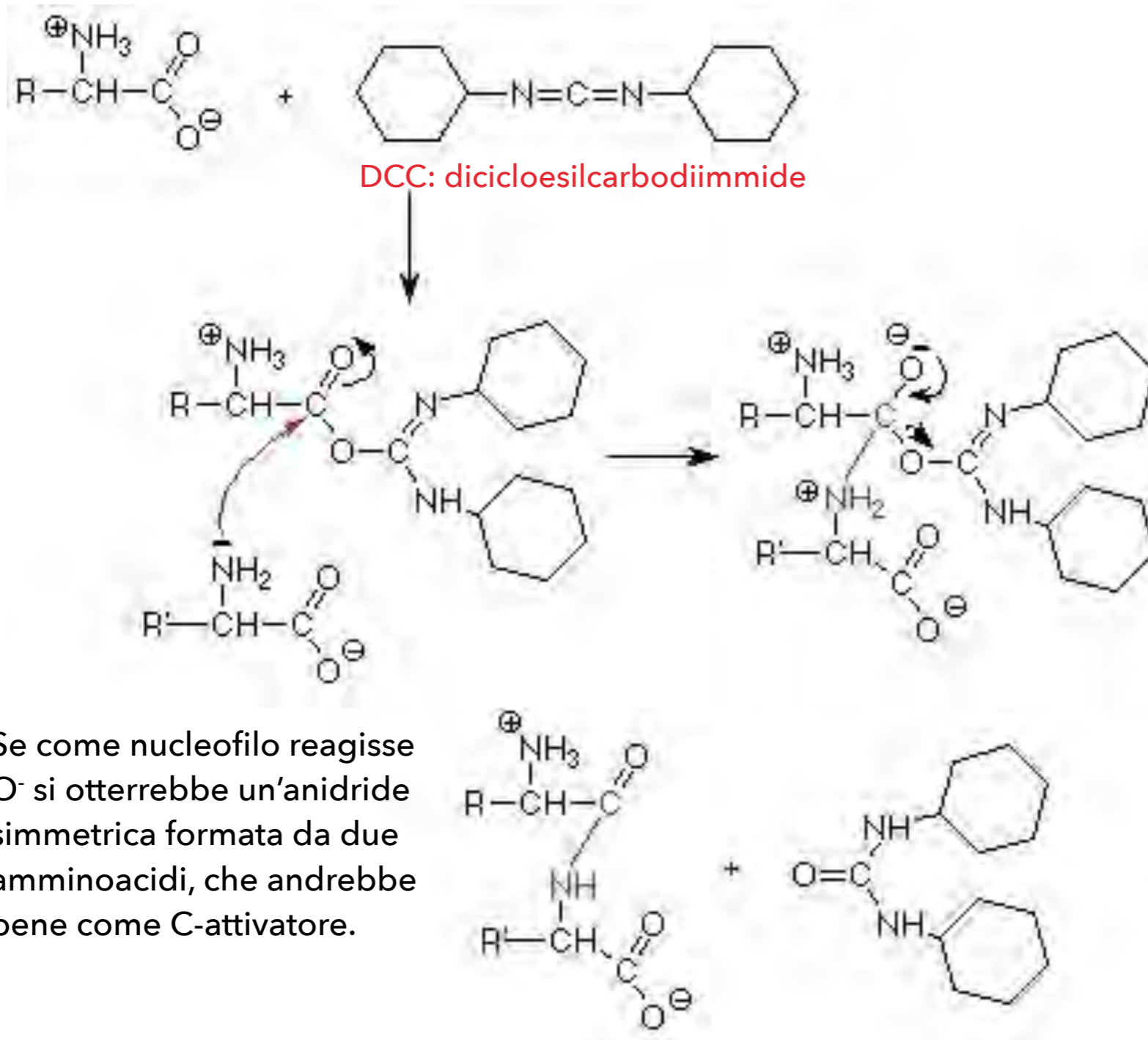
TFA (20min)



TFA (più veloce)

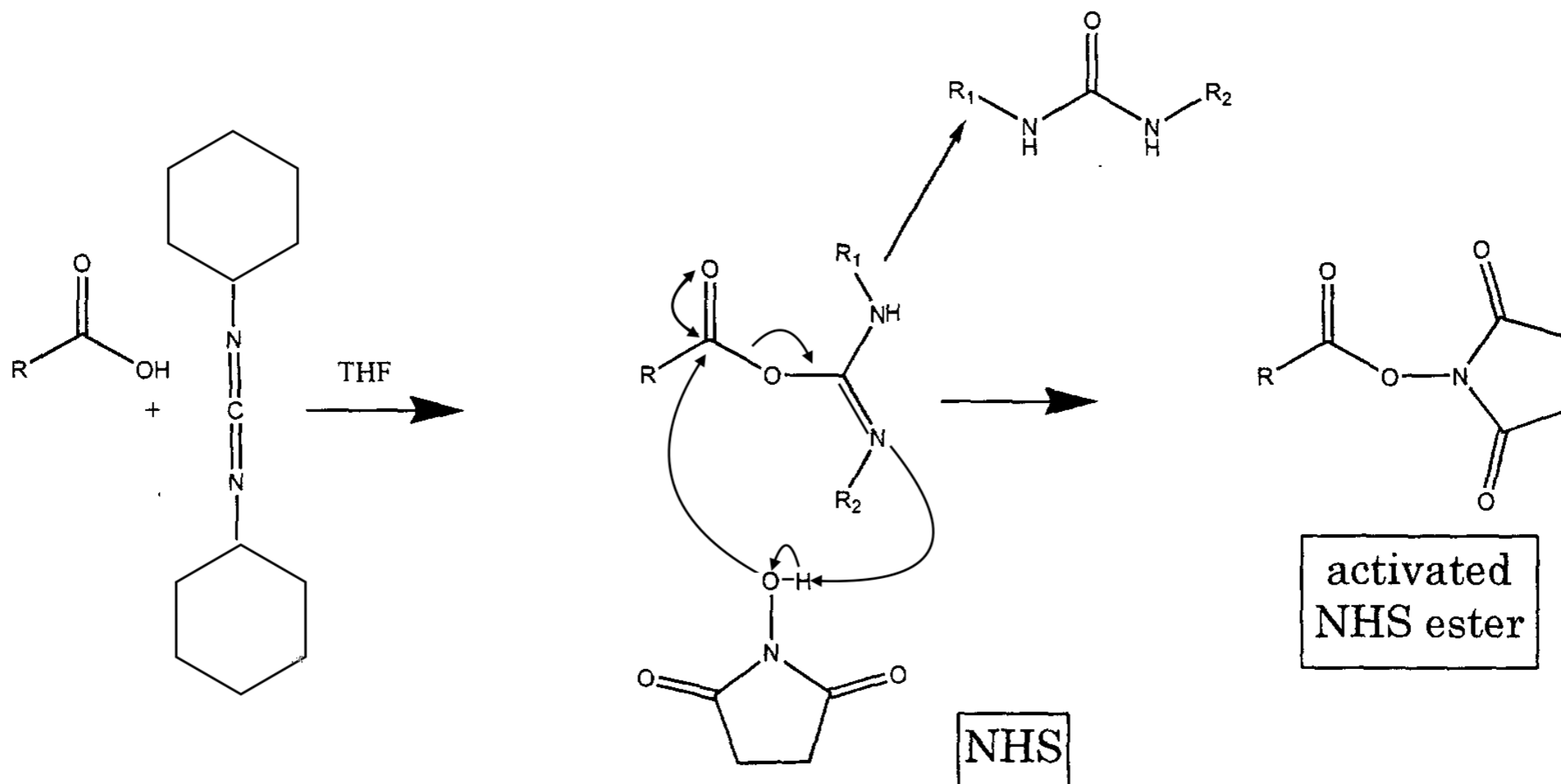
C-ATTIVATORI

► Anidridi simmetriche



C-ATTIVATORI

► Esteri attivi: N-idrossi eterocicli



SINTESI PEPTIDICA IN FASE SOLIDA (SPPS)

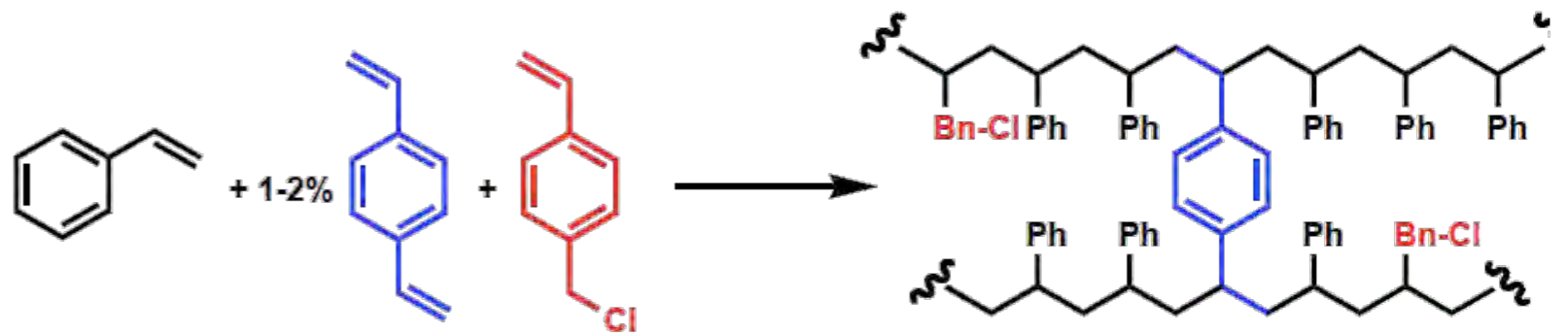
- ▶ L'amminoacido viene legato ad una resina in modo stabile (in modo che il legame resista a tutte le seguenti reazioni).
- ▶ Il processo di sintesi peptidica procede nello stesso modo della sintesi in soluzione e alla fine della sintesi si stacca il peptide dalla resina.
- ▶ E' necessario lavorare in eccesso di reagenti
- ▶ I reagenti in eccesso e i sottoprodotti si eliminano lavando la resina
- ▶ Il processo è automatizzabile (più veloce)

RESINE POLISTIRENICHE

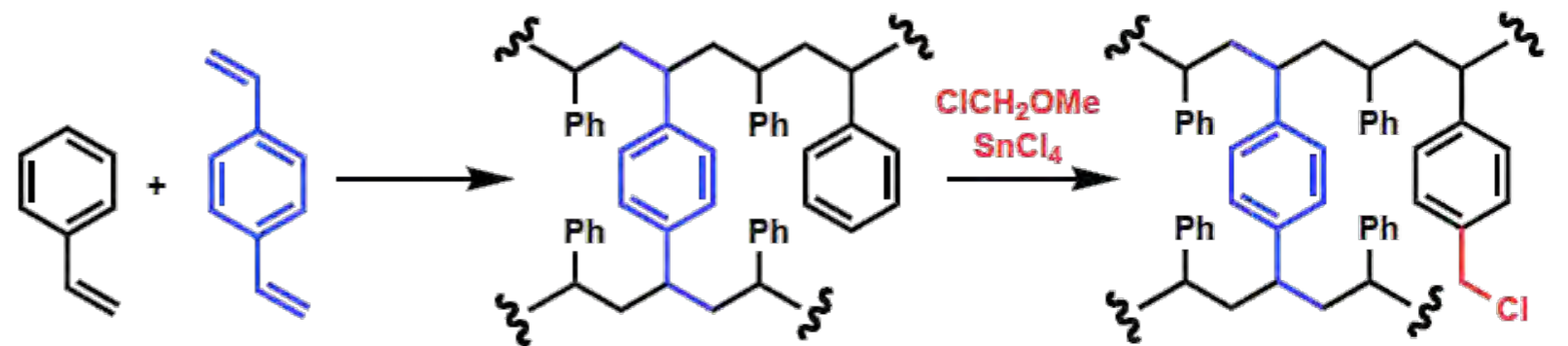
Resina clorometilica di Merrefield:

► Sintesi:

a. One pot
(semplice)



b. Resina → Resina funz.
(migliore)

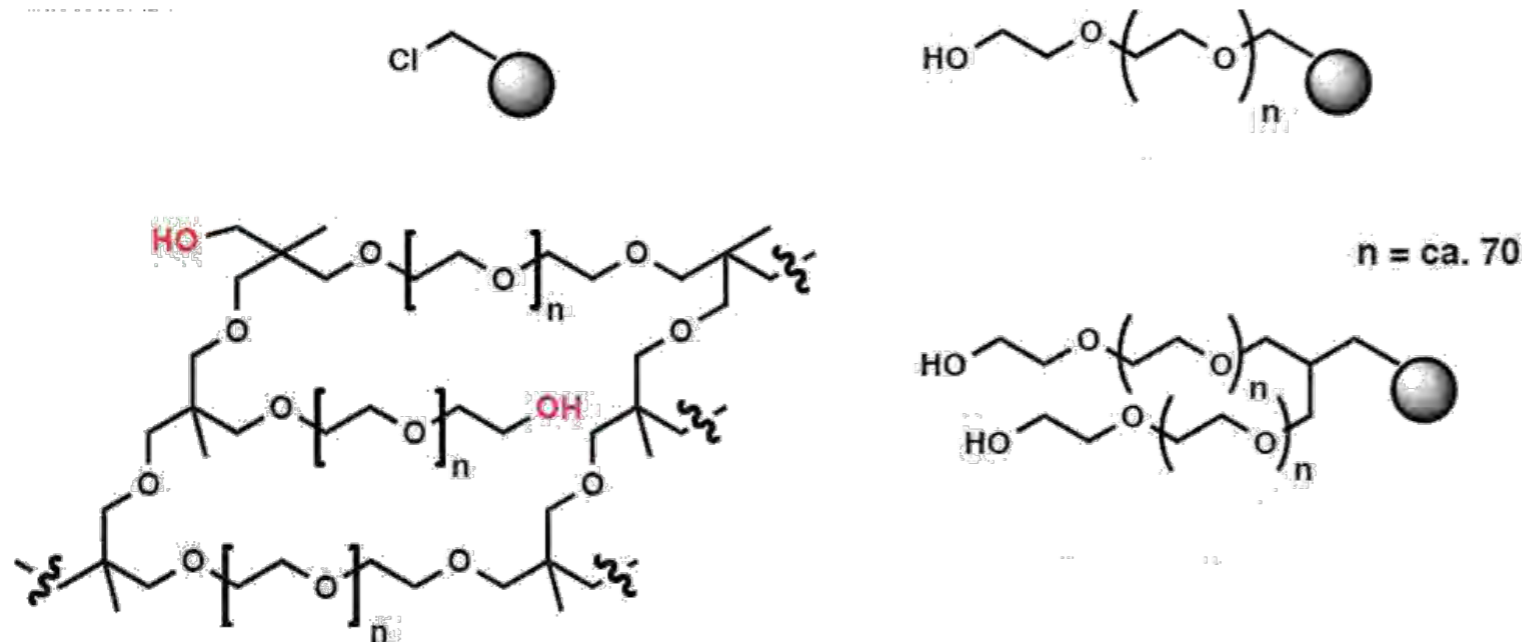


RESINE PEG-PS

Copolimero = Polistirene + Polietilenglicole: funziona bene in solventi polari

- ▶ Ha ottima stabilità chimica e termica
- ▶ Difetti: maggiore costo, minore capacità di loading e bassa resistenza alle sollecitazioni meccaniche

NB: Loading: mmol di gruppo funzionale per grammo di resina



CONSIDERAZIONI SULLA SINTESI IN FASE SOLIDA

Protocollo N-protezione:

- ▶ Con Boc:

 - Cleaving con TFA

 - Distacco dalla resina con HF

- ▶ Con Fmoc:

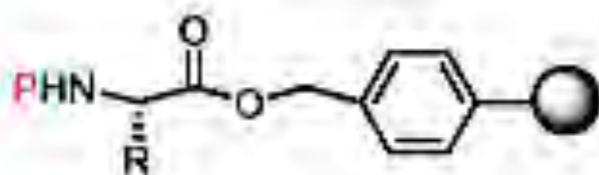
 - Cleaving con piperidina

 - Distacco dalla resina con HF ma può bastare anche TFA

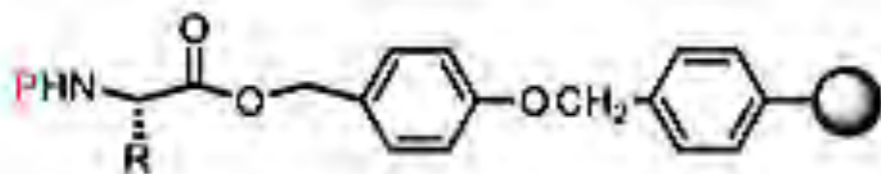
CONSIDERAZIONI SULLA SINTESI IN FASE SOLIDA

Resine:

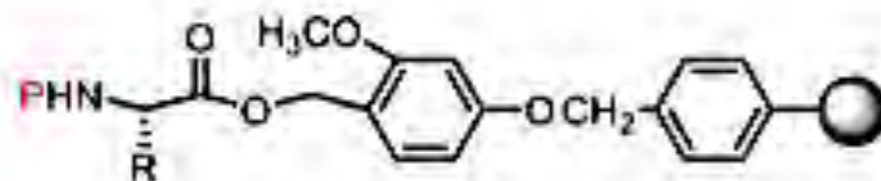
Merrifield



Wang



SasrIn



Distacco peptide:

HF liquido

50-60% TFA in DCM

1% TFA in DCM

EFFICIENZA DELLA SINTESI IN FASE SOLIDA

- ▶ Possono verificarsi mancati agganci tra un peptide e l'amminoacido seguente \Rightarrow errore nella sequenza

La piccola percentuale di errore ad ogni passaggio si propaga quindi è importante avere resa per passaggio $\approx 99\%$

NB: Resa totale = (Resa per passaggio)^{n° di amminoacidi}

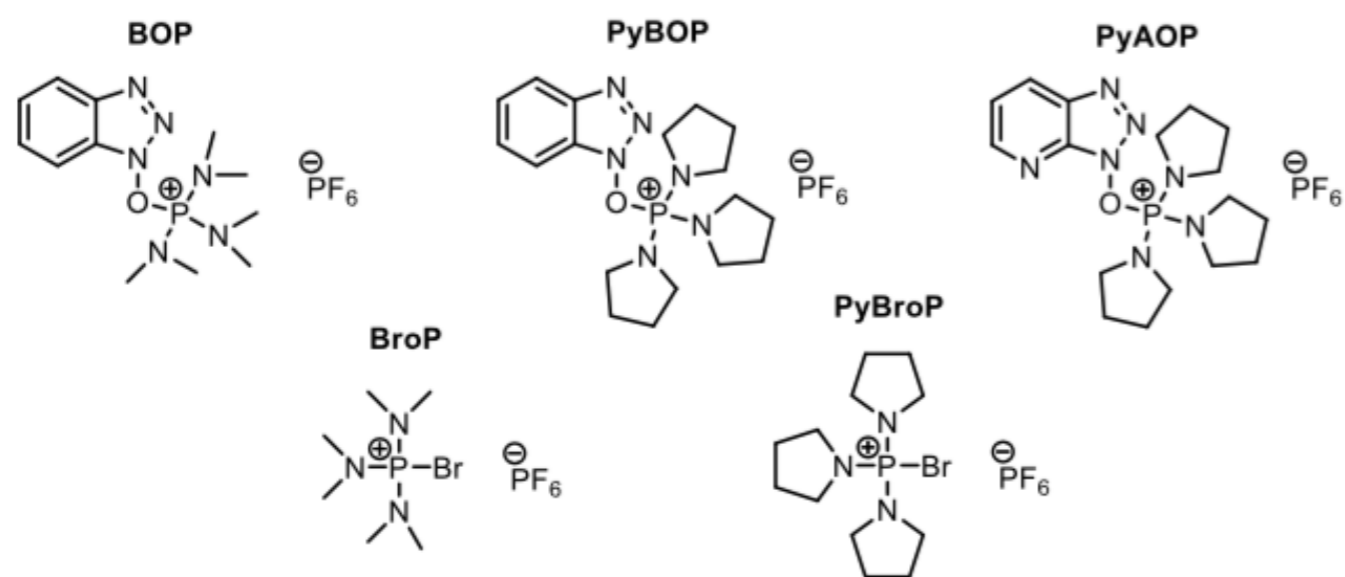
Es: Resa per passaggio: a) 90% b) 94% c) 99%

Numero di AA nel peptide: 50

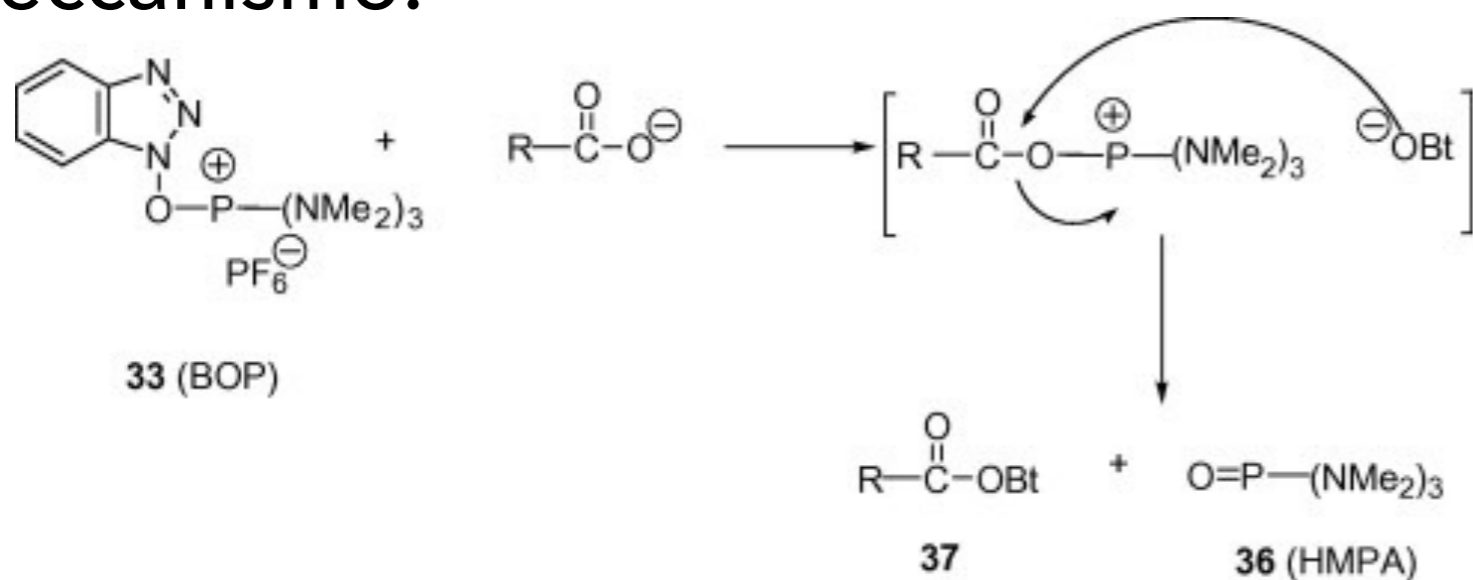
Resa totale: a) 0.5% b) 4.5% c) 60.5%

C-ATTIVATORI IN SITU

Sali di fosfonio

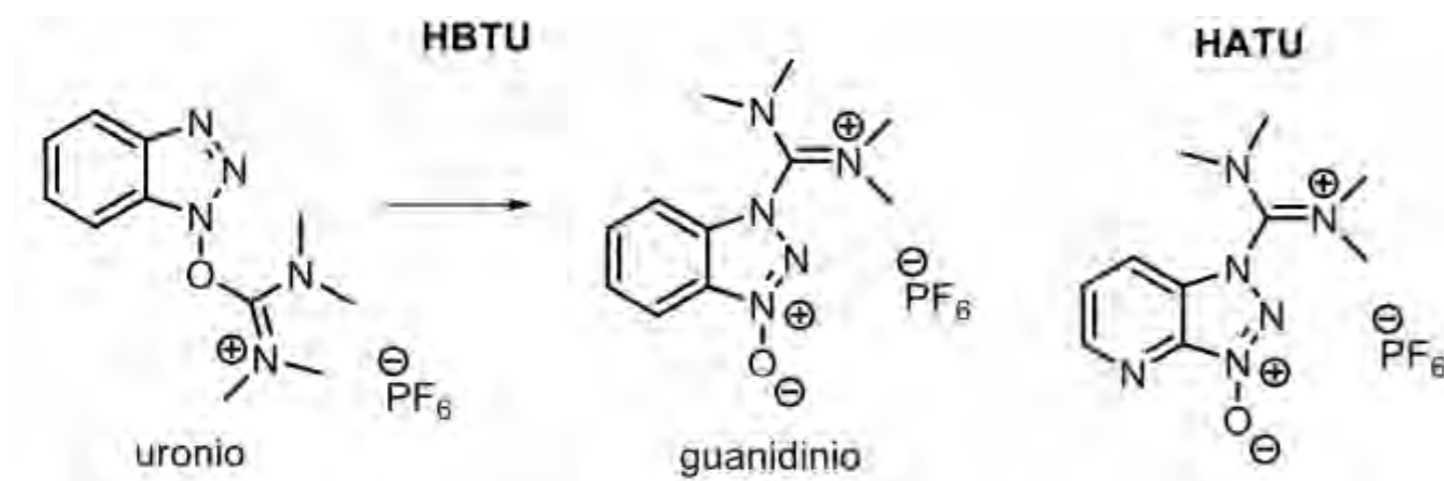


Meccanismo:

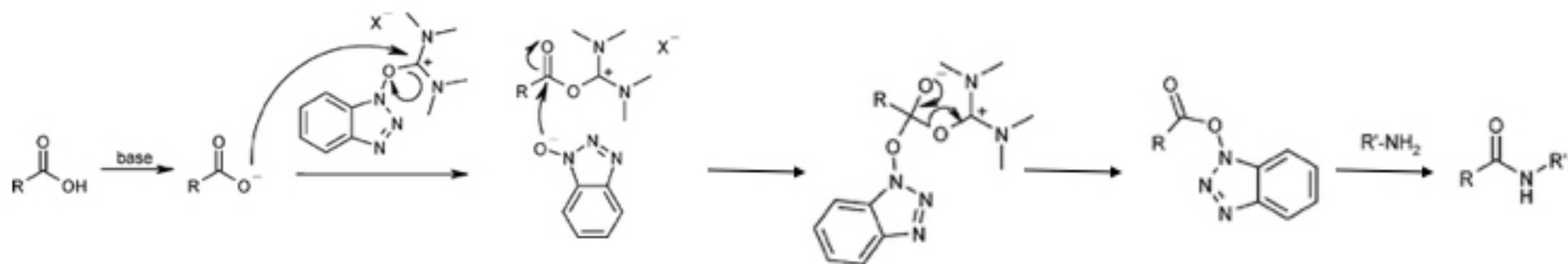


C-ATTIVATORI IN SITU

Sali di uronio e guanidinio:

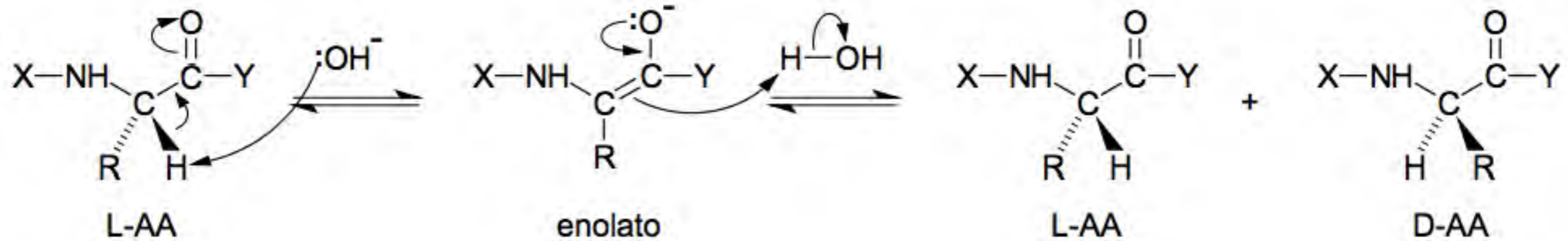


Meccanismo:



RACEMIZZAZIONE

- ▶ Racemizzazione per enolizzazione diretta
Il processo avviene in ambiente acido o basico ma è trascurabile in condizioni normali

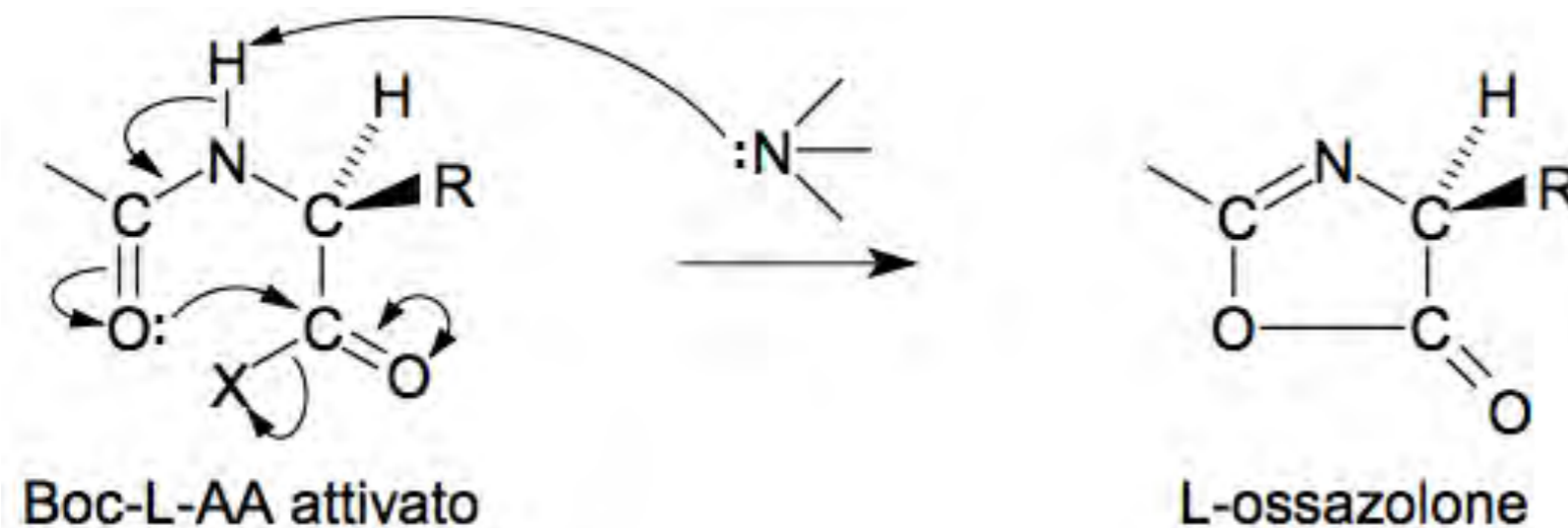


RACEMIZZAZIONE

► Racemizzazione via ossazolone

Ossazolone: intermedio ciclico (si forma in amminoacidi N protetti con legame ammidico)

NB: Questo processo è il vero responsabile della racemizzazione

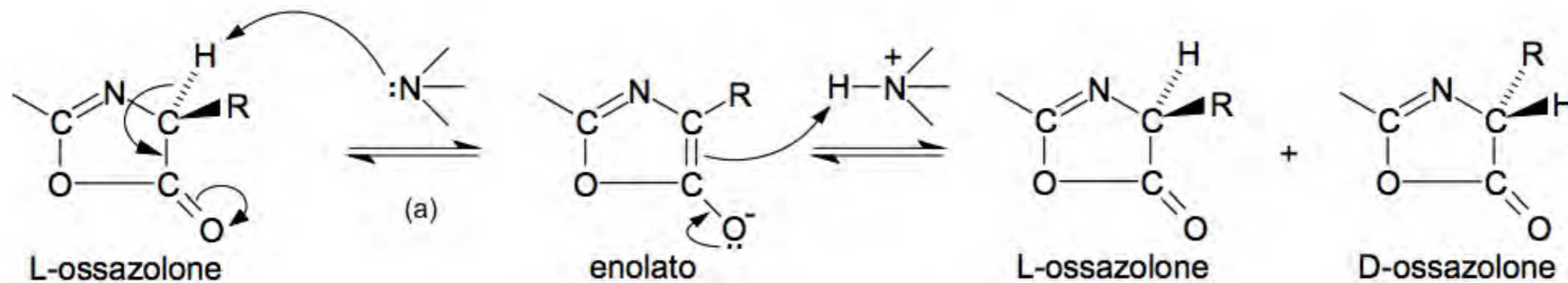


Meccanismi:

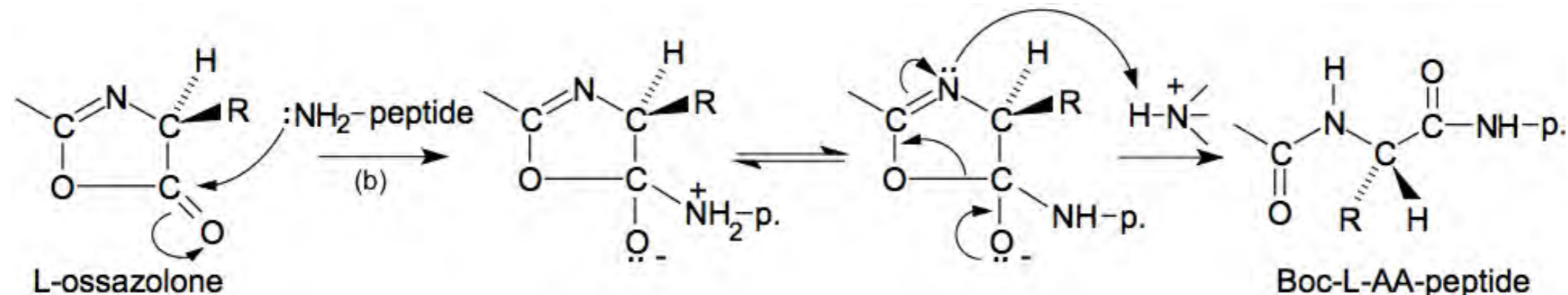
- Racemizzazione dell'ossazolone
- Racemizzazione della catena polipeptidica (amminolisi)

RACEMIZZAZIONE

- a. Racemizzazione dell'ossazolone: L'ossazolone può enolizzare ad alta velocità. L'idrogeno legato al carbonio chirale è acido perchè è in posizione α rispetto a due doppi legami, il carbonile e il doppio legame C=N.



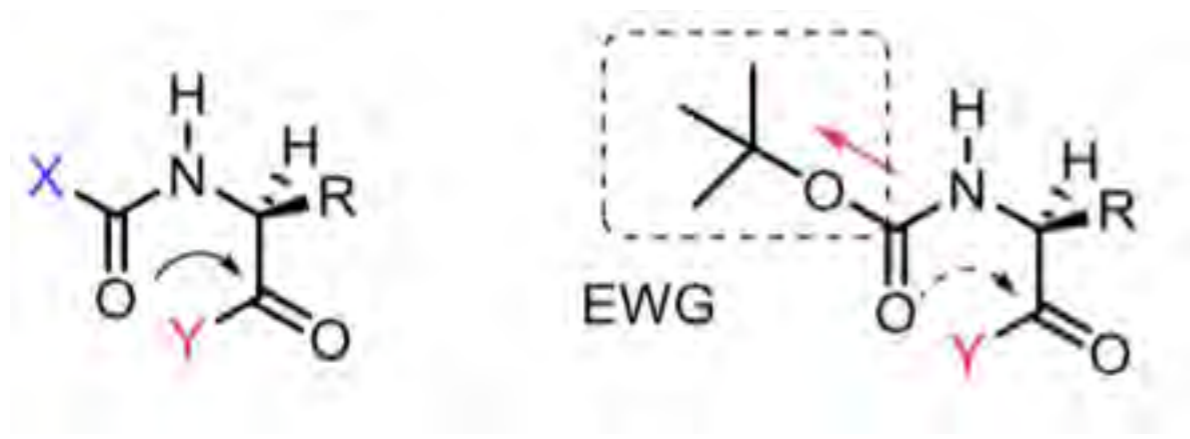
- b. Racemizzazione della catena polipeptidica (amminolisi): l'ossazolone è molto reattivo come acilante e può reagire con i nucleofili (es: gruppo amminico libero di un peptide). Se l'ossazolone aveva racemizzato, anche il prodotto di questo processo è un racemo.



RIDURRE LA RACEMIZZAZIONE

1. Impedire la formazione dell'ossazolone

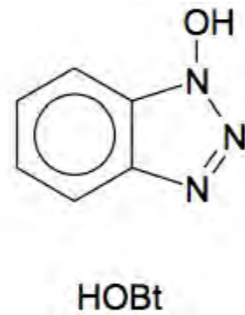
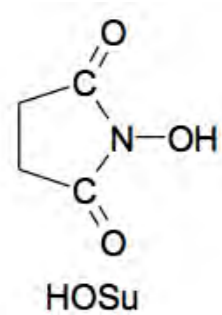
- ▶ Ridurre l'attivazione del gruppo carbossilico: invece di utilizzare cloruri acilici si utilizzano anidridi simmetriche o esteri attivi.
- ▶ Introdurre un sostituito elettron attrattore (EWG) per ridurre la nucleofilicità dell'ossigeno



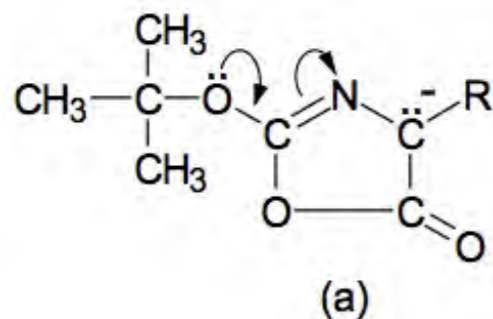
RIDURRE LA RACEMIZZAZIONE

2. Impedire la racemizzazione dell'ossazolone:

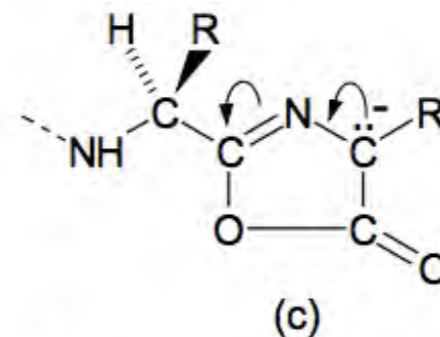
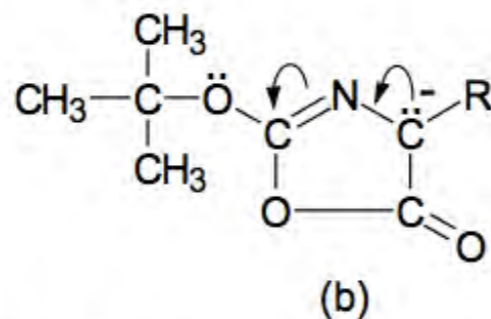
- ▶ Aumentare la competitività della reazione di apertura dell'anello (amminolisi) utilizzando HOSu e HOBT. L'ossigeno di HOSu o di HOBT attacca 10 volte più velocemente rispetto al gruppo amminico di un peptide.



- ▶ Diminuire l'acidità dell'ossazolone introducendo sostituenti del gruppo amminico di tipo uretanico (Boc, Fmoc)



L'ossazolone di un Boc-AA
è meno acido



L'ossazolone di un peptide
è più acido