

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

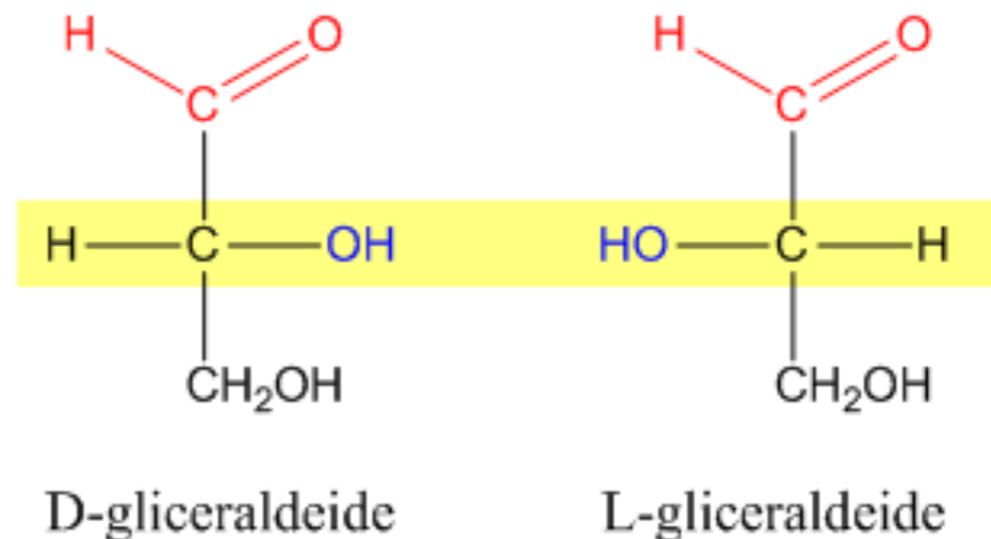
Si sistema il **carbonile** più in **alto** possibile nella proiezione di Fisher.

- ▶ C chirale più in basso = C configurazionale

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

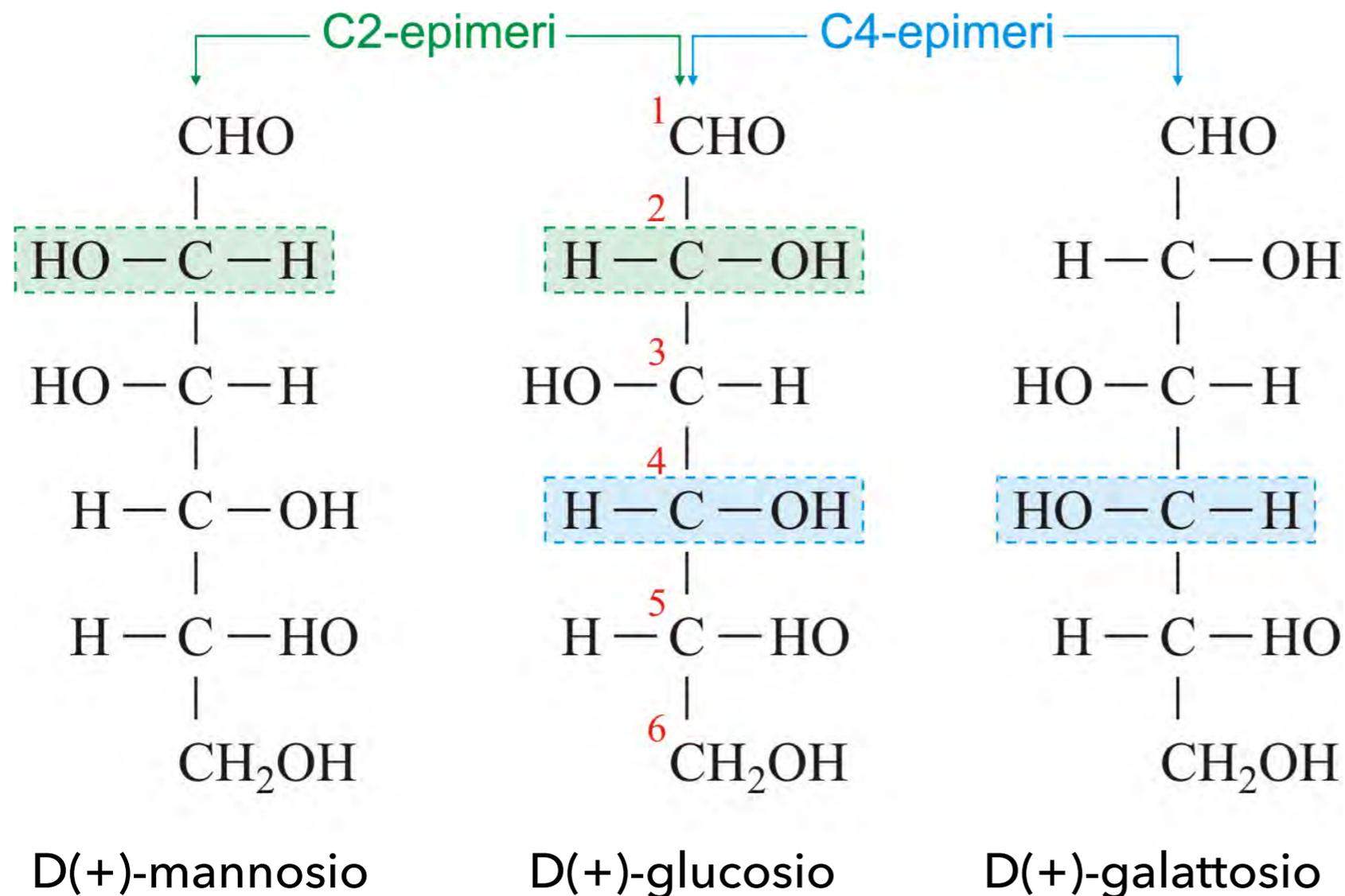
Se OH legato al C configurazionale è a sinistra  $\Rightarrow$  zucchero L

Le serie D e L usano come riferimento la gliceraldeide:



# STEREOCHIMICA: EPIMERI

**Epimeri** = diastereoisomeri che differiscono nella configurazione di 1 solo stereocentro

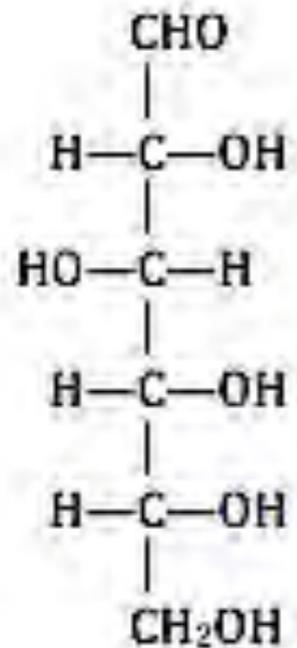


---

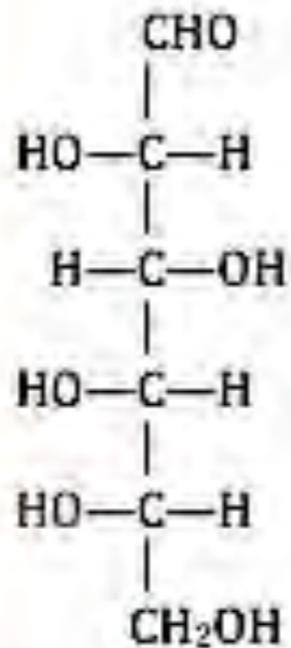
# STEREOCHIMICA: ENANTIOMERI

**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  $\text{NaBH}_4$  (o  $\text{LiAlH}_4$ ):

carbonile + red  $\rightarrow$  alcol

- ▶ Riduzione catalitica (con  $\text{H}_2$  e Ni)

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

- ▶ Amminazione riduttiva

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

- ▶ Riduzione di Clemmensen

carbonile +  $\text{ZnHg}$  +  $\text{HCl}$   $\rightarrow$  alcano

- ▶ Riduzione di Wolff-Kishner

carbonile +  $\text{NH}_2\text{NH}_2$   $\rightarrow$  idrazone  $\xrightarrow{\text{OH}^-}$  alcano

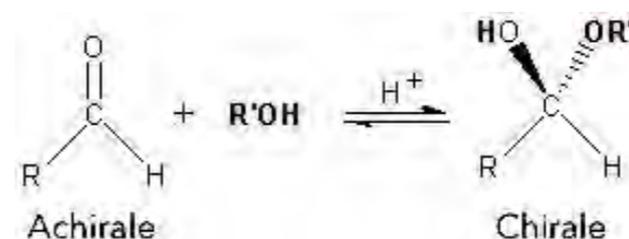
- ▶ Formazione di emiacetali

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

# STRUTTURA CICLICA DEI MONOSACCARIDI

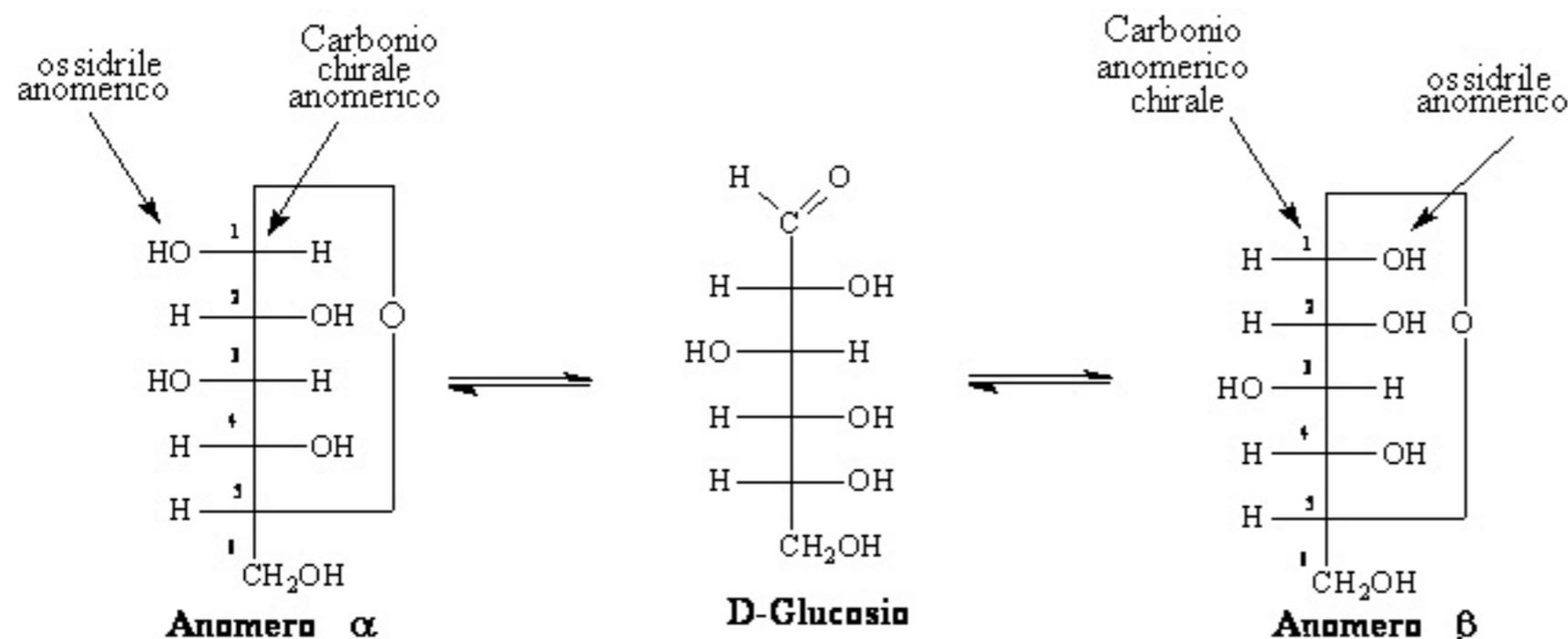
I monosaccaridi possono dare reazione intramolecolare tra gruppo ossidrilico del C5 e il carbonio aldeidico C1  $\Rightarrow$  si ottiene un **emiacetale** ciclico.

La reazione forma un **nuovo centro chirale**



A seconda della stereochimica del C anomero (ex C aldeidico) si distinguono gli anomeri  $\alpha$  e  $\beta$ :

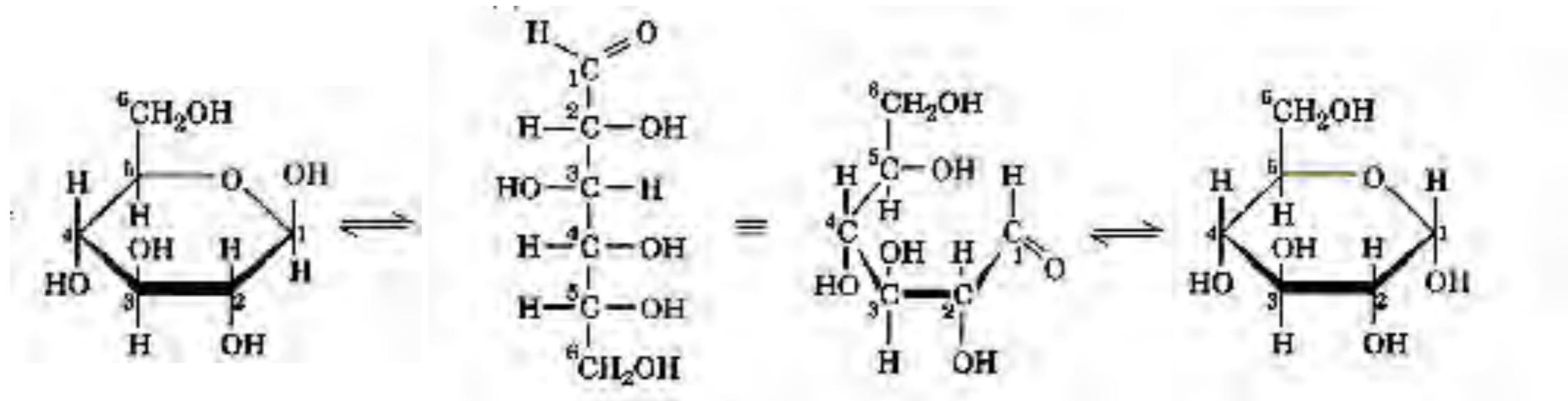
- ▶ OH acetalico e O del carbonio configurazionale dalla stessa parte: anomero  $\alpha$ .
- ▶ OH acetalico e O del carbonio configurazionale dalla parte opposta: anomero  $\beta$ .



# PROIEZIONI DI HAWORTH

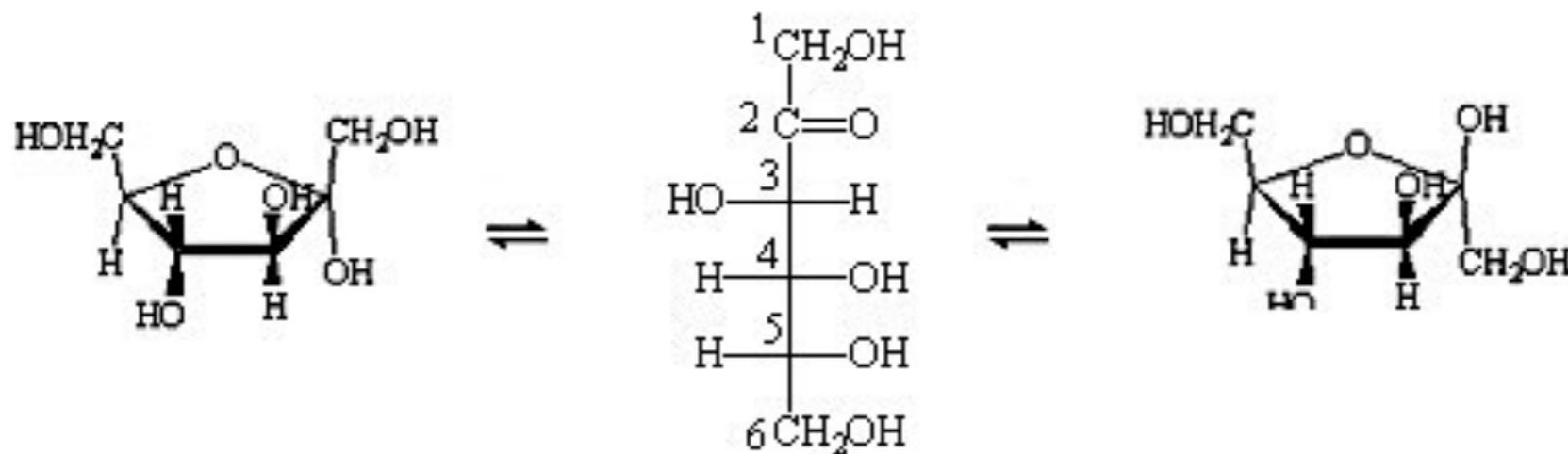
- ▶ Cicli a 6 termini: piranososi
  - \* ossigeno endociclico in alto a dx
  - \* C anomero (C1) a dx
  - \* OH primario in alto a sx
  - \* gruppi Fisher a dx → in basso
  - \* gruppi Fisher a sx → in alto

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



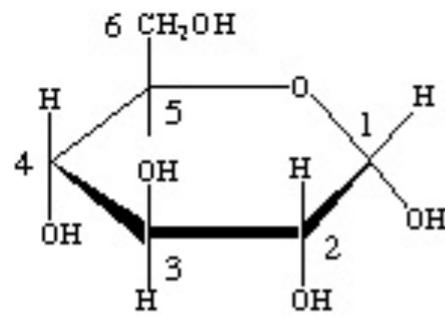
# PROIEZIONI DI HAWORTH

- ▶ 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

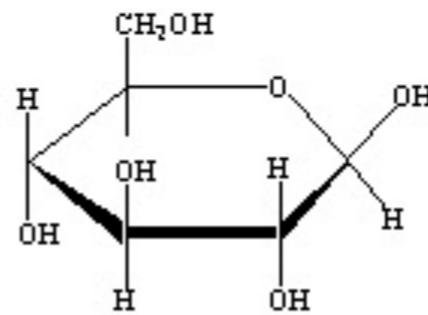


# CONFORMAZIONE A SEDIA (SOLO PIRANOSI)

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

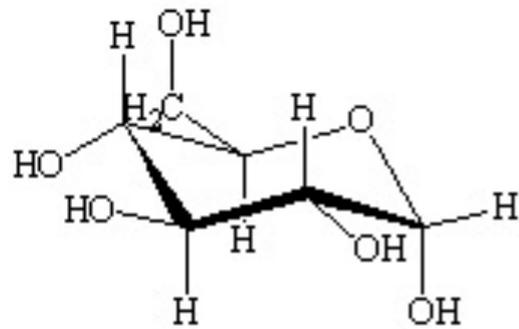


anomero  $\alpha$

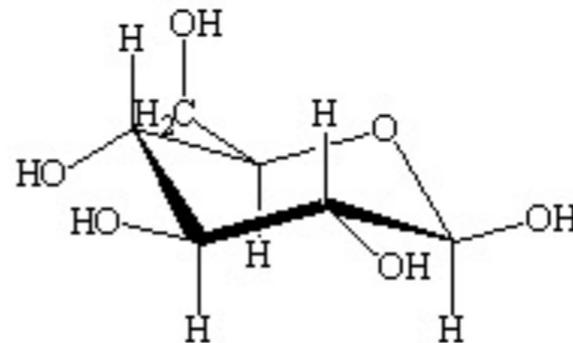


anomero  $\beta$

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



$\alpha$ -D-(+)-glucosio



$\beta$ -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  $\alpha$ , passando alla forma aperta si perde l'informazione stereochimica sul C anomero e quindi si formeranno nella forma ciclica entrambi gli anomeri  $\alpha$  e  $\beta$ .

---

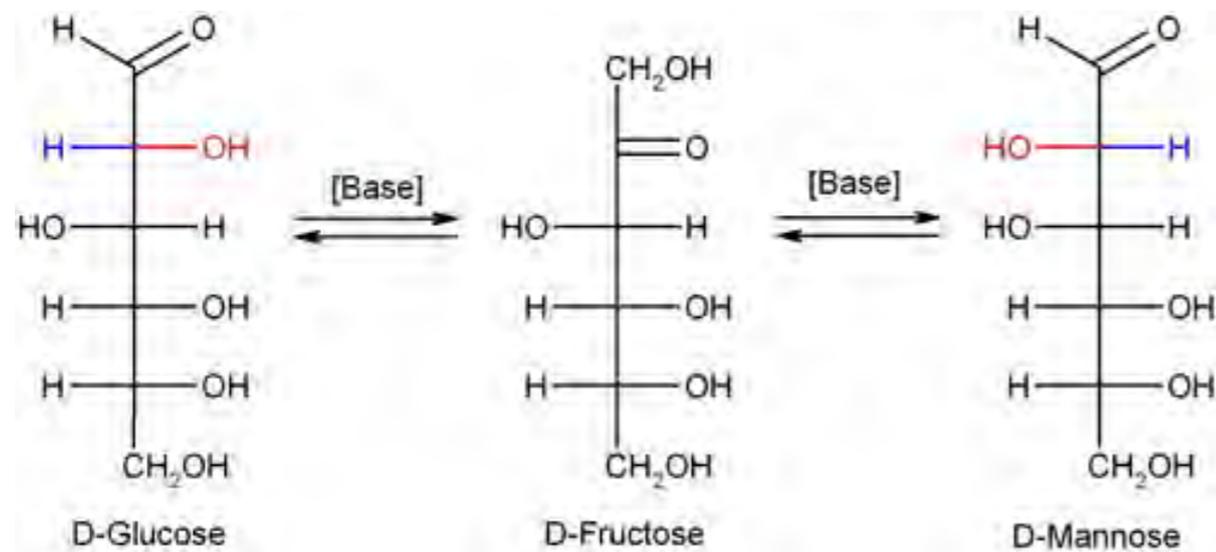
# MUTAROTAZIONE

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

- ▶ partendo da una soluzione dell'anomero  $\alpha$  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  $\beta$  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).

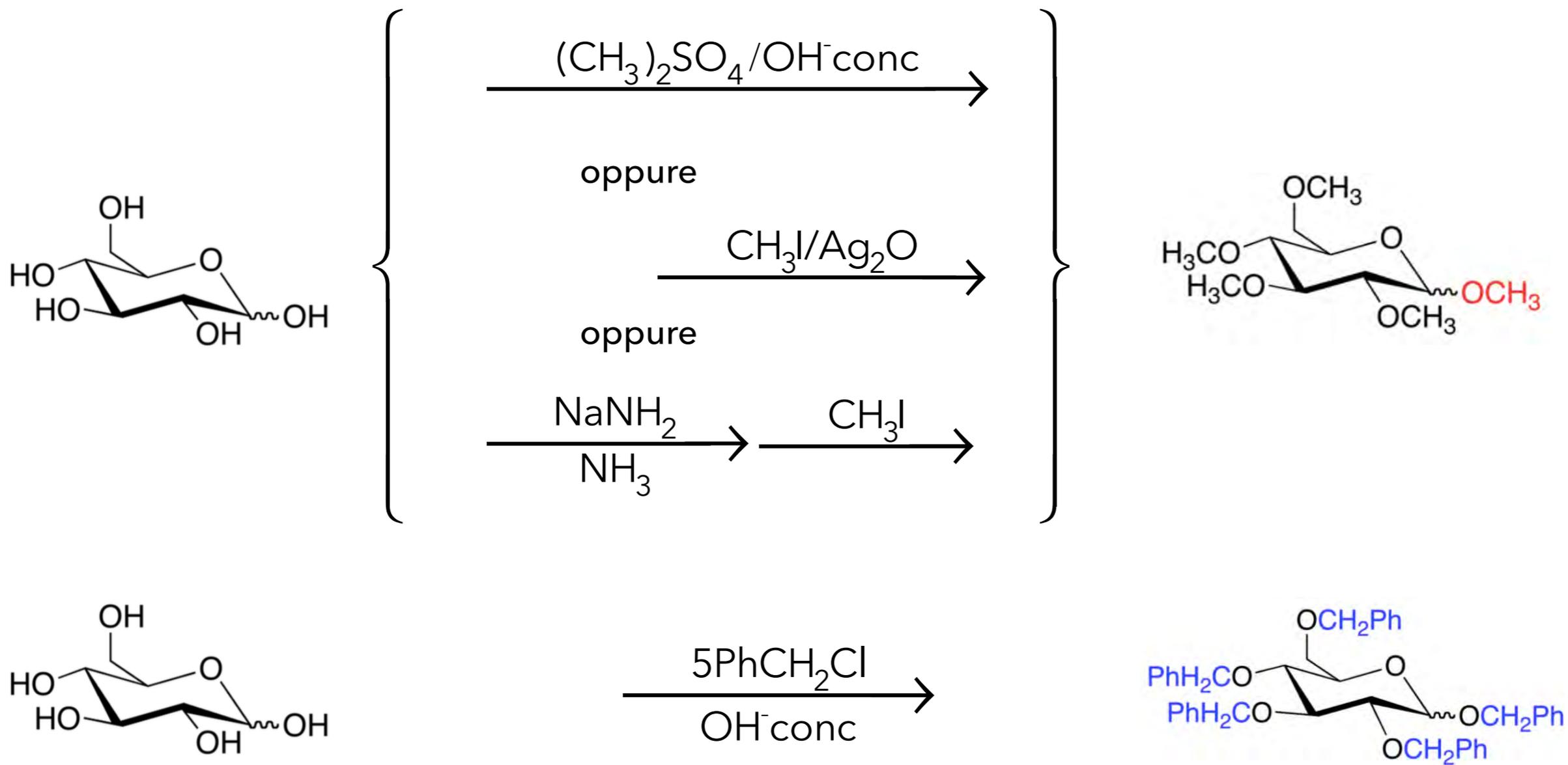
NB:

- ▶ L'informazione **stereochimica dell'anomero di partenza viene persa nella reazione.**
- ▶ -OH può provenire da un **alcol** (es  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) ma anche da un **monosaccaride** (in questo caso si forma un disaccaride)

### **Glicosidi:**

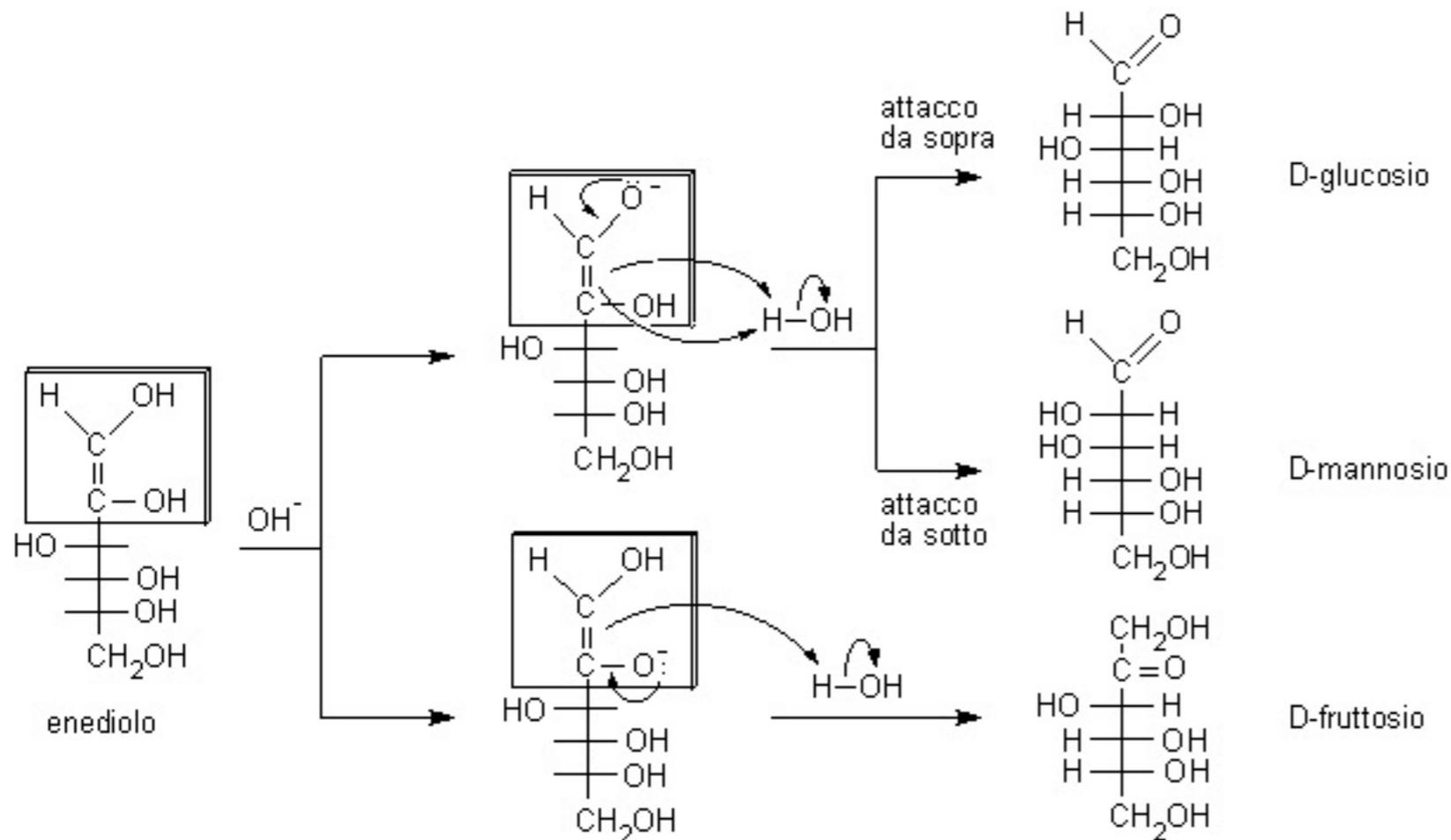
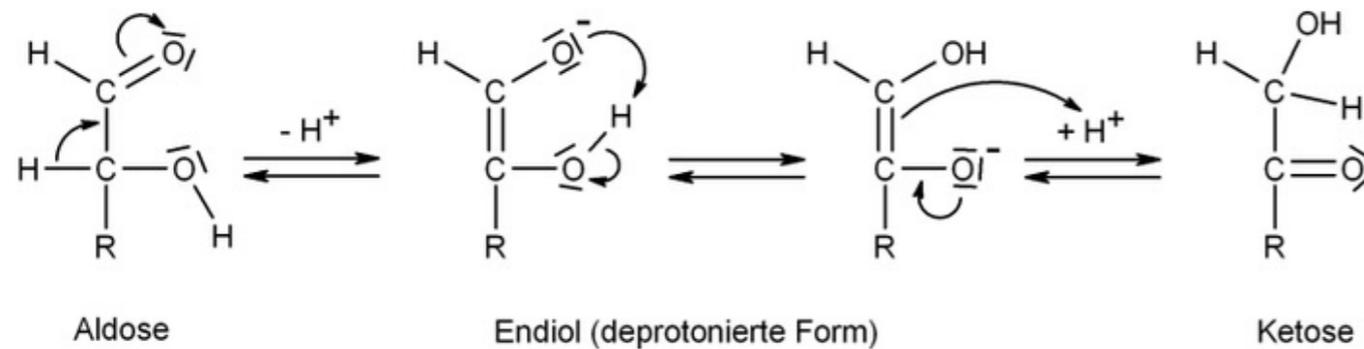
- ▶ **stabili alle basi**
- ▶ **idrolizzano in acido**

# FORMAZIONE DI ETERI



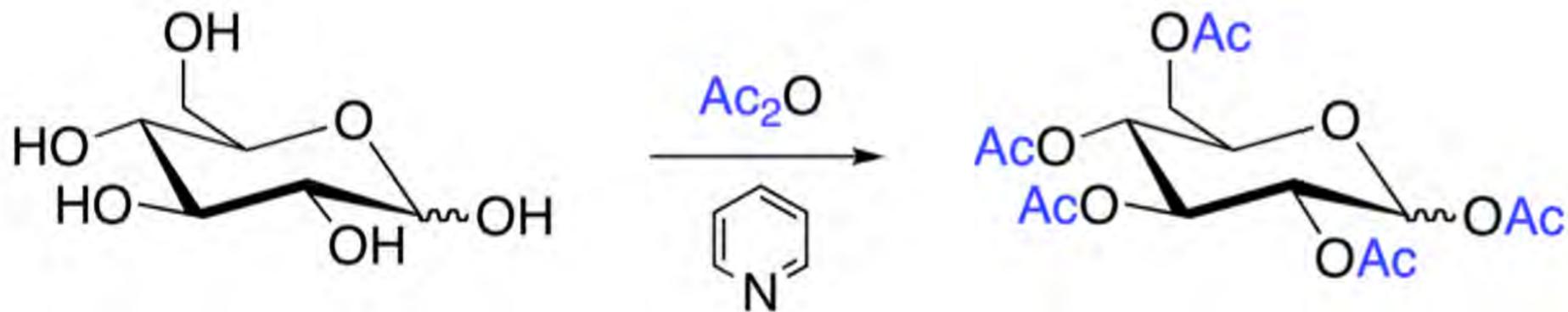
# ISOMERIZZAZIONE BASE CATALIZZATA

## Meccanismo di trasformazione aldoso-chetoso:



# FORMAZIONE DI ESTERI

Formazione di esteri utile per proteggere lo zucchero



Deprotezione:

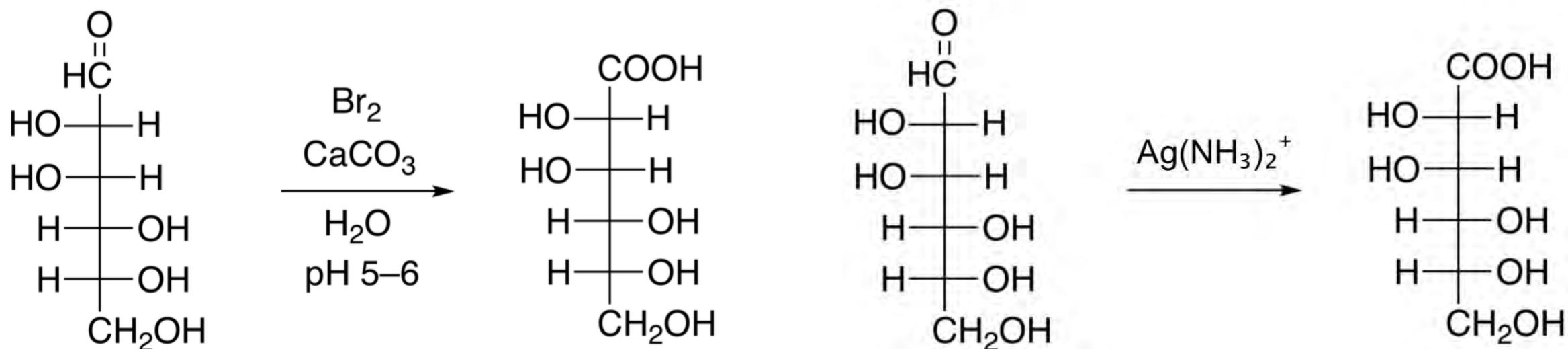
- ▶ transesterificazione (utilizzando MeOH)
- ▶ saponificazione

# 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.

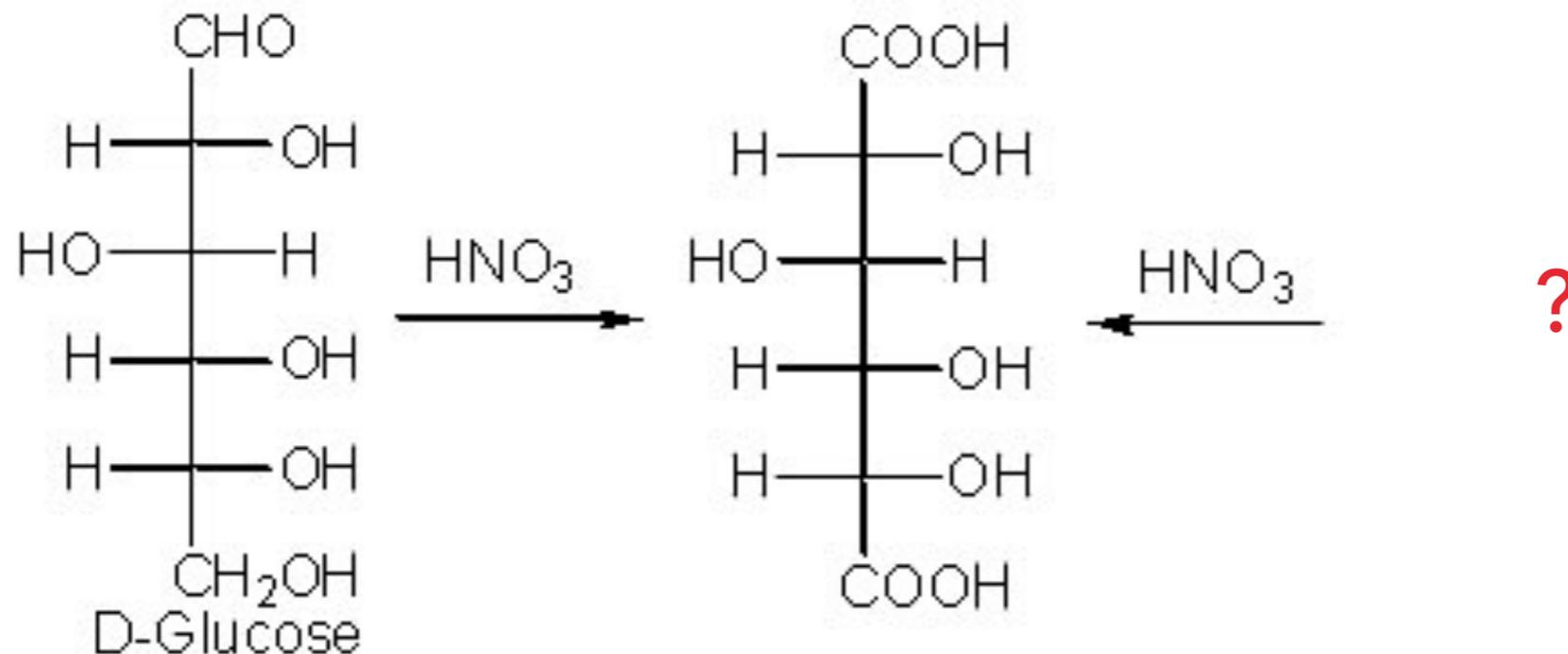
Il reattivo di **Tollens** ( $\text{AgNO}_3 + 2\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Ag}(\text{NH}_3)_2^+ \text{NO}_3^-$ ) ossida solo le aldeidi e non i chetoni ma ossida sia zuccheri aldosi che chetosi poichè in condizioni basiche si ha tautomeria con formazione di endiolo (vedi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



# OSSIDAZIONE AD ACIDI ALDARICI

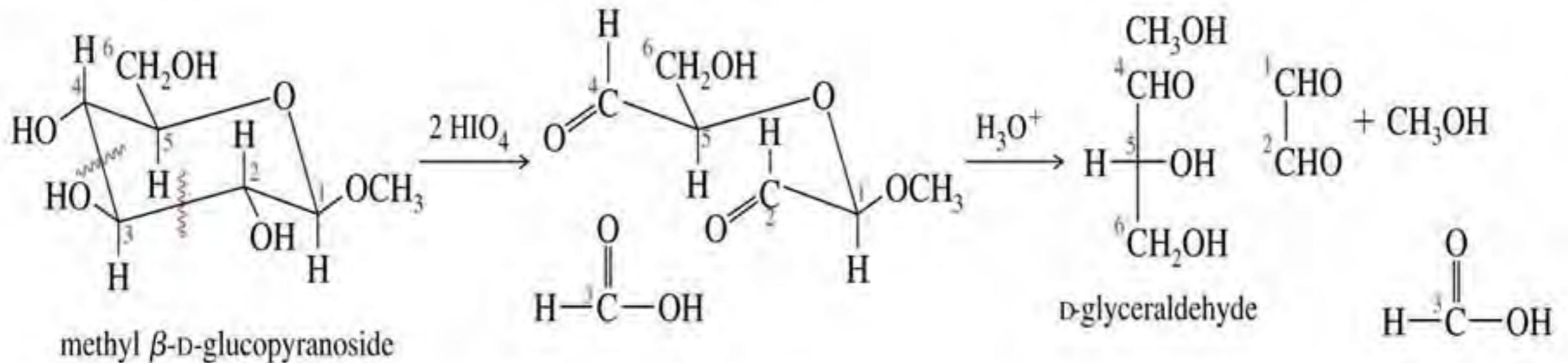
L'**acido nitrico** ossida gli aldosi ad acidi aldarici, quindi vengono ossidati sia il gruppo aldeidico sia gli alcoli primari.

Esercizio: trovare il composto "?"



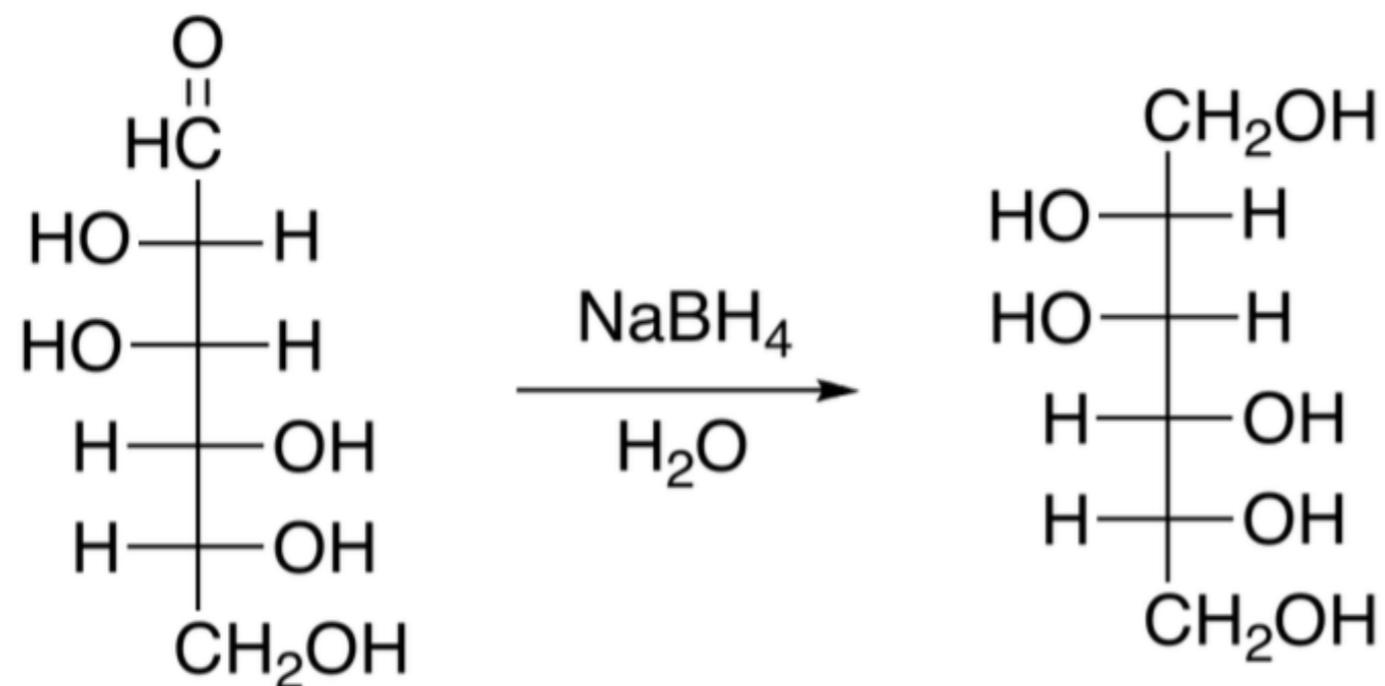
# OSSIDAZIONE CON PERIODATO

Il periodato scinde lo zucchero ossidandolo:  
un diolo si scinde ossidandosi a due aldeidi e un  $\alpha$ -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  $\alpha$ -1,4-glicosidici
  - ▶ amilopectina (80%) catene ramificate con legami  $\alpha$ -1,4-glicosidici e  $\alpha$ -1,6-glicosidico

# AMMINOACIDI

---

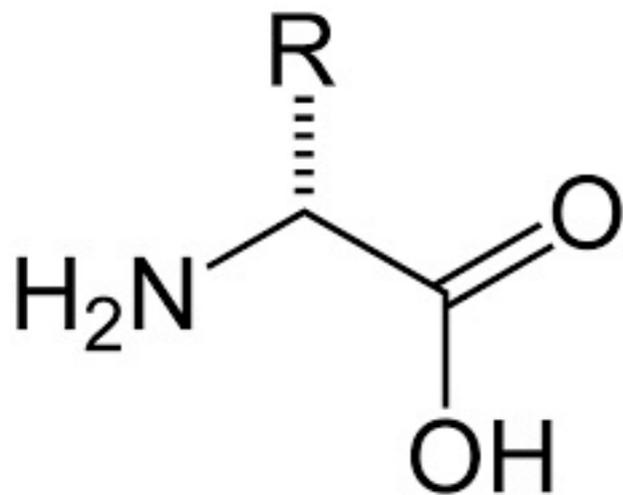


---

# STEREOCHIMICA

Gli  $\alpha$ -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  $\alpha$  (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

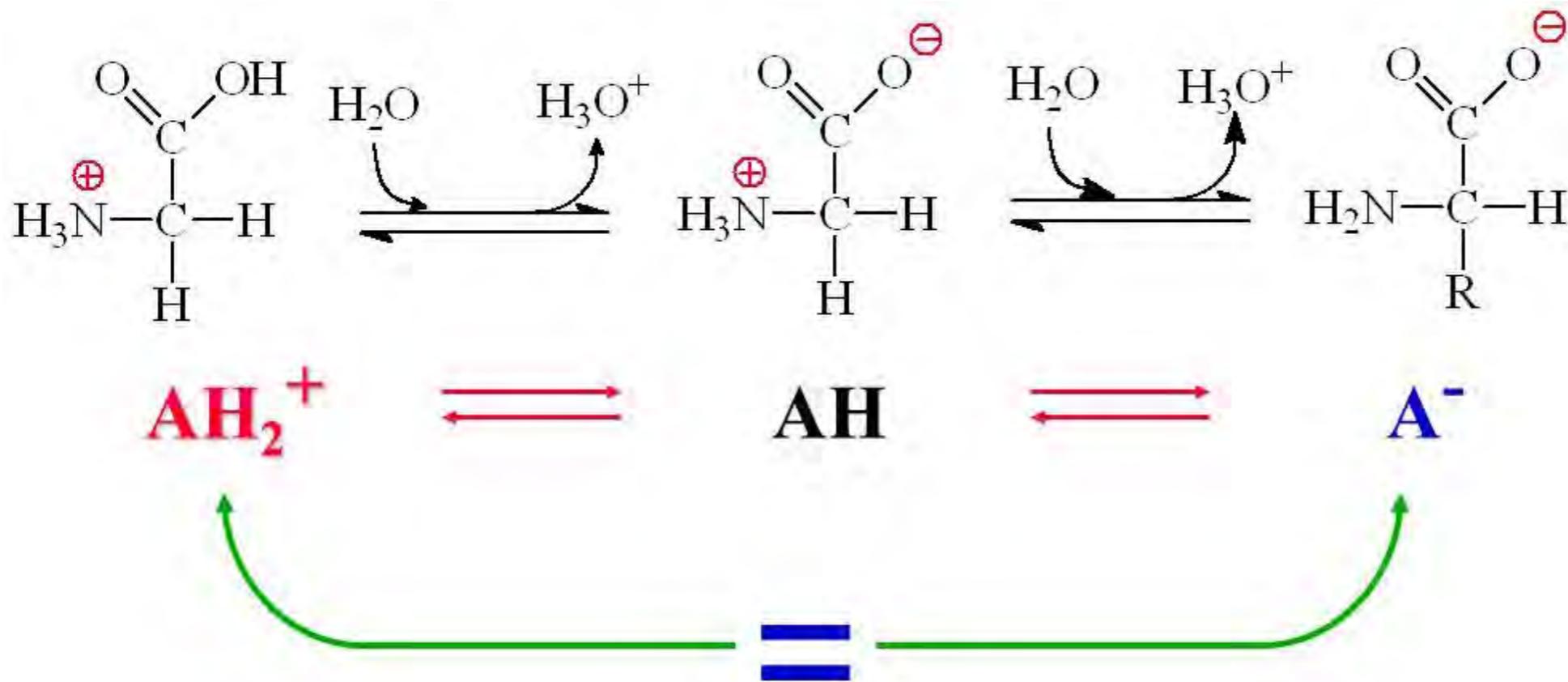
COOH:  $pK_a \approx 2$

NH<sub>2</sub>:  $pK_a \approx 9$

a pH = 7 COO<sup>-</sup> (deprotonato) e NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (protonato)

# PUNTO ISOELETTRICO

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



---

## PUNTO ISOELETTRICO

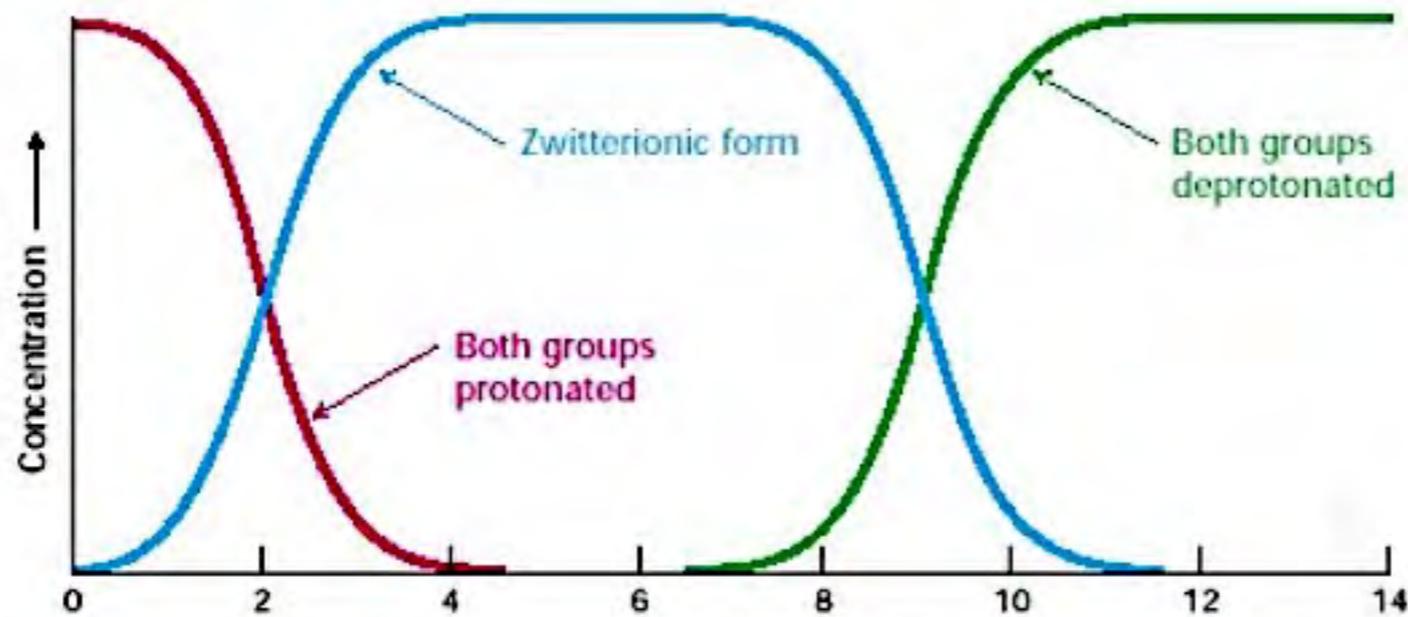
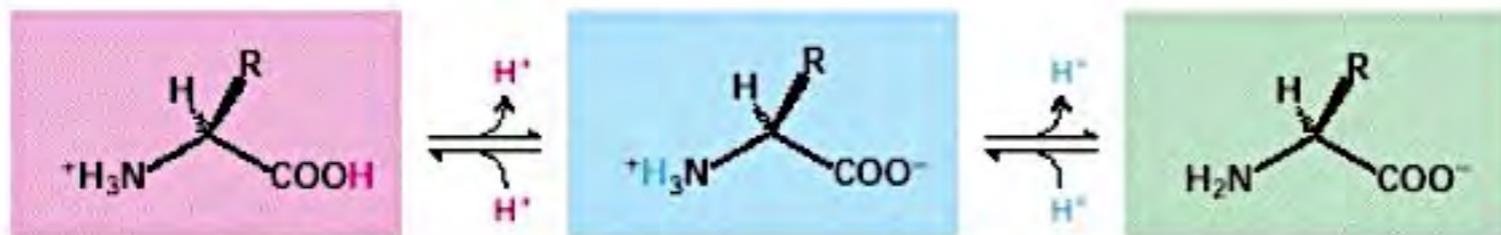
poiché  $K_{a1} = \frac{[N][H_3O^+]}{[A]}$  ;  $K_{a2} = \frac{[B][H_3O^+]}{[N]}$

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

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

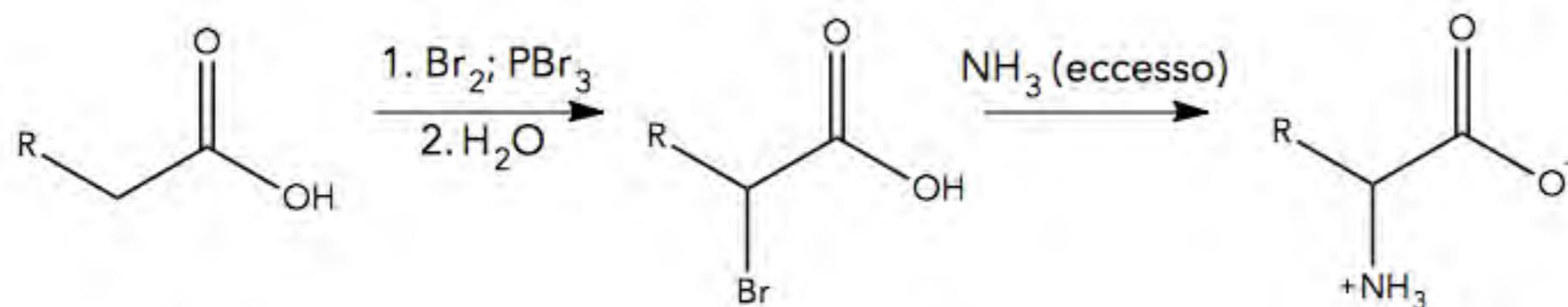
# PUNTO ISOELETTRICO

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

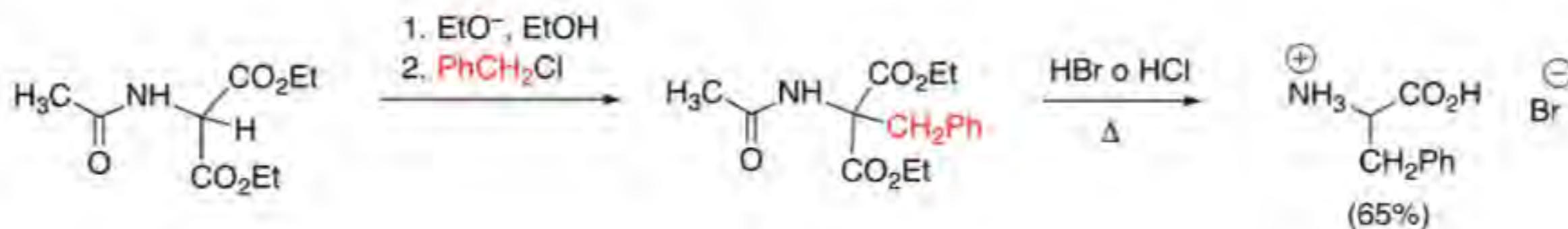


# SINTESI DI AMMINOACIDI

- ▶ Sintesi con ammoniaca (reazione che viene male)

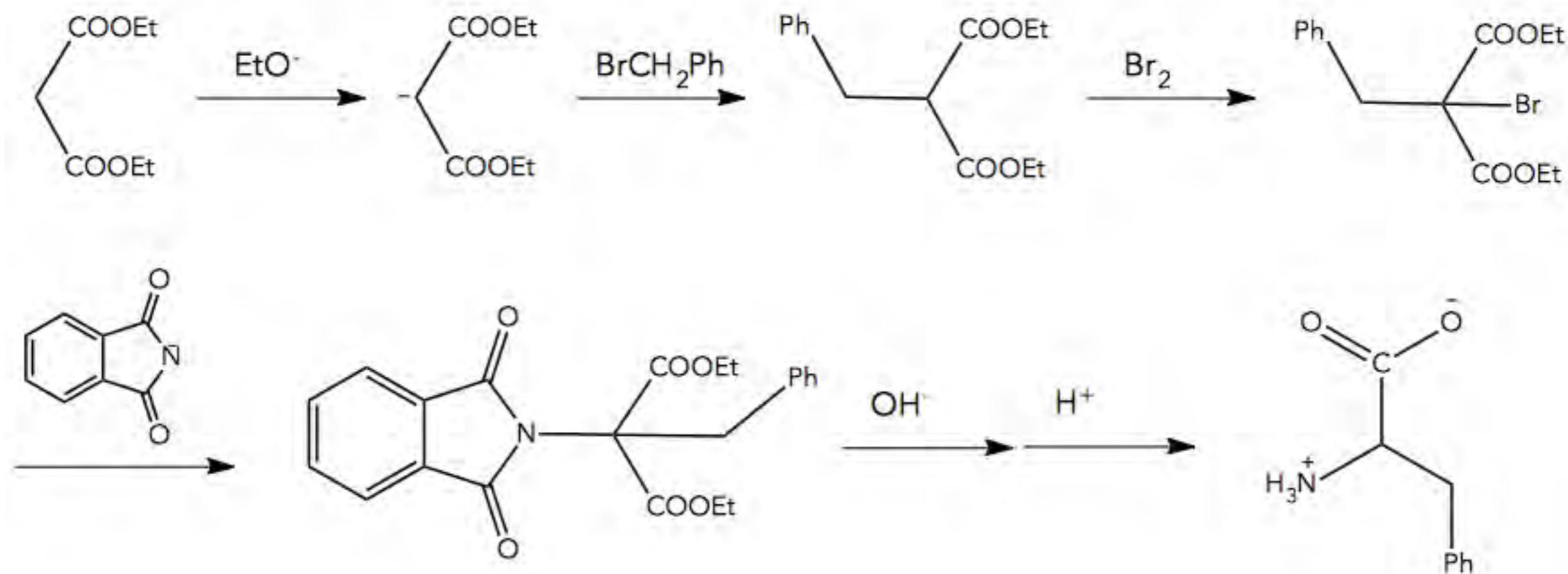


- ▶ Sintesi per variazione della sintesi malonica (1)



# SINTESI DI AMMINOACIDI

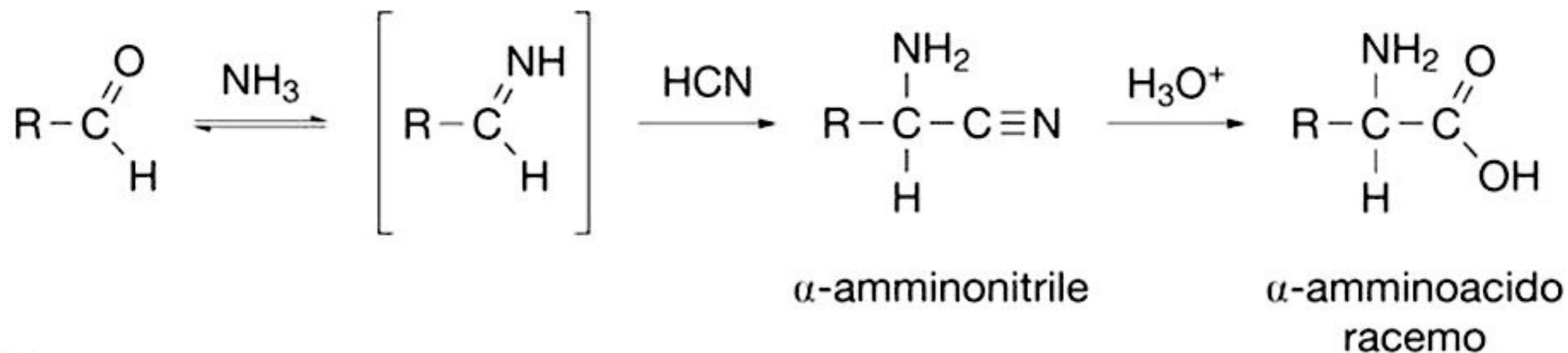
## ► Sintesi per variazione della sintesi malonica (2)



Reazione di Gabriel

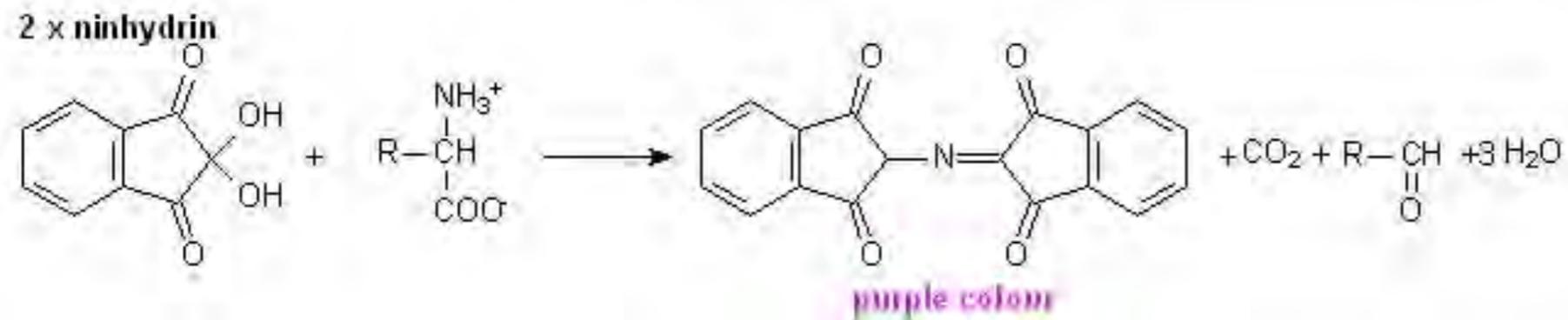
# SINTESI DI AMMINOACIDI

## ► Sintesi di Strecker



# DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DEGLI AMMINOACIDI

## Reazione con ninidrina

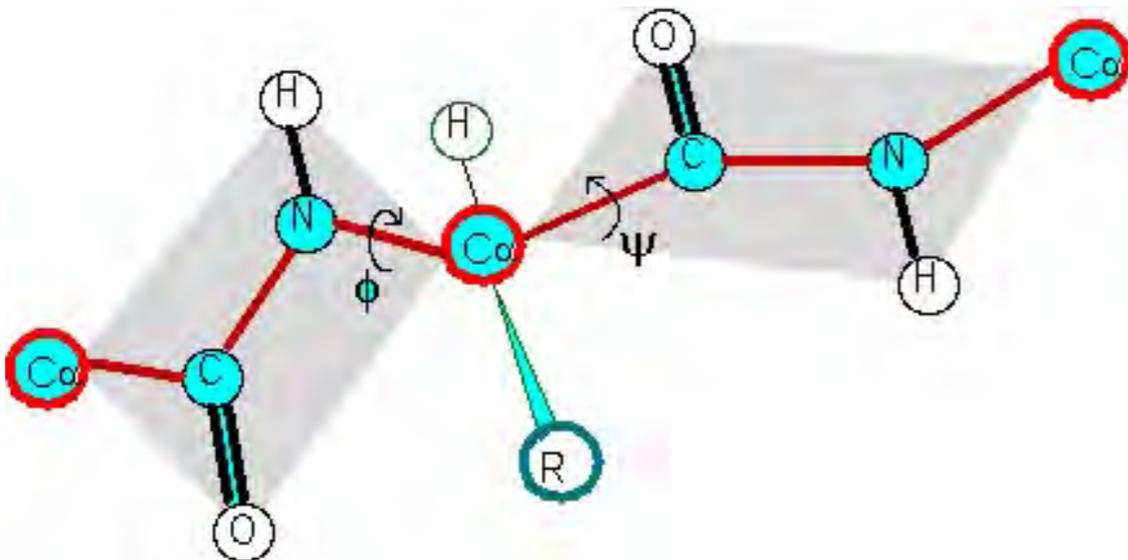


- ▶ Questa reazione è utile come test per la determinazione quantitativa degli amminoacidi. In più la ninidrina è autoindicatrice perchè quando reagisce si trasforma in un prodotto viola.
- ▶ Utile per tutti gli amminoacidi con  $\text{NH}_2$  primario

# 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  $\rightarrow$  ammido**

**derivato dell'acido carbossilico:**

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

---

# PROTEZIONE

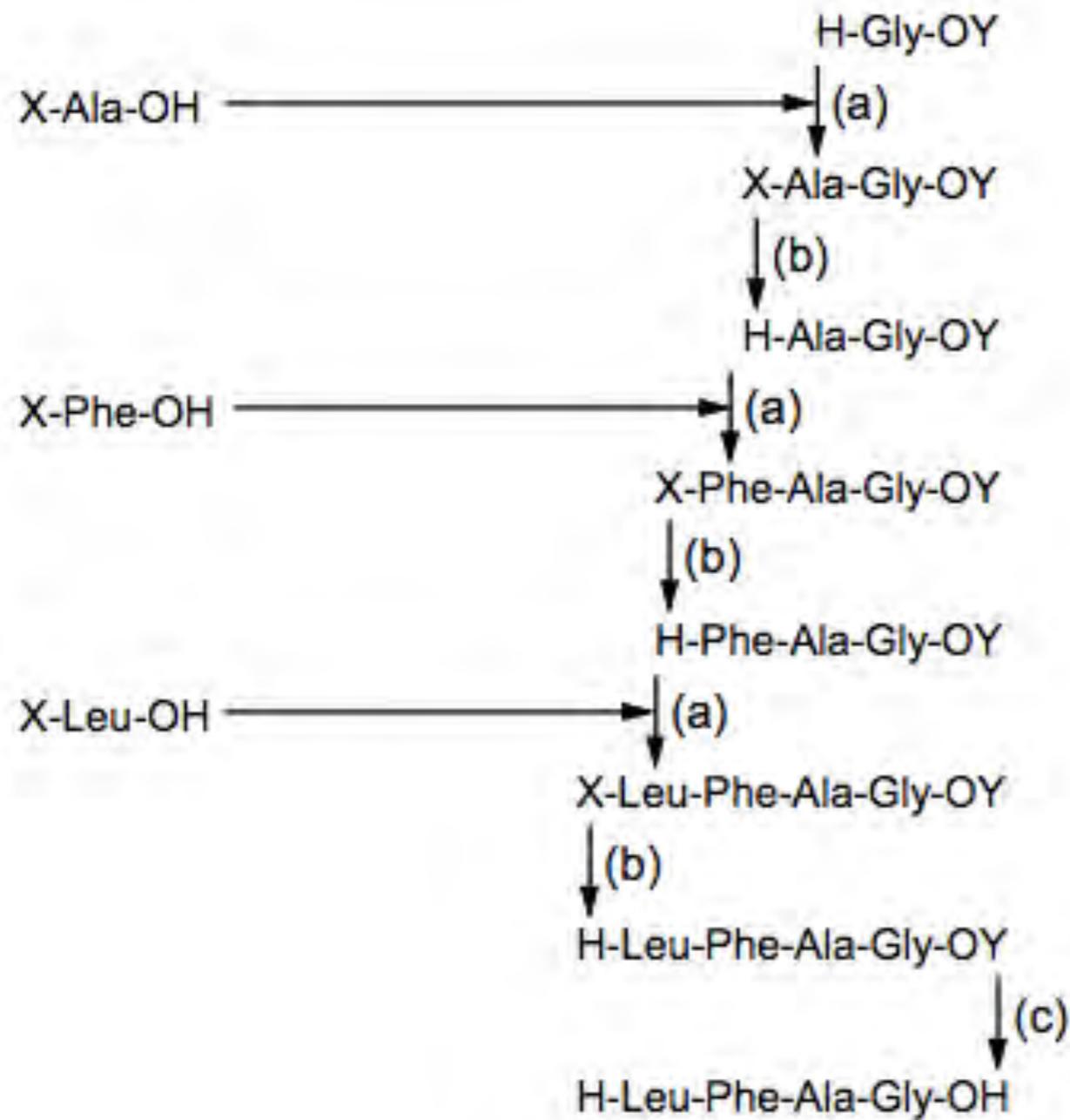
Se si fanno reagire due amminoacidi diversi ci sono 4 possibili peptidi come prodotto.

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

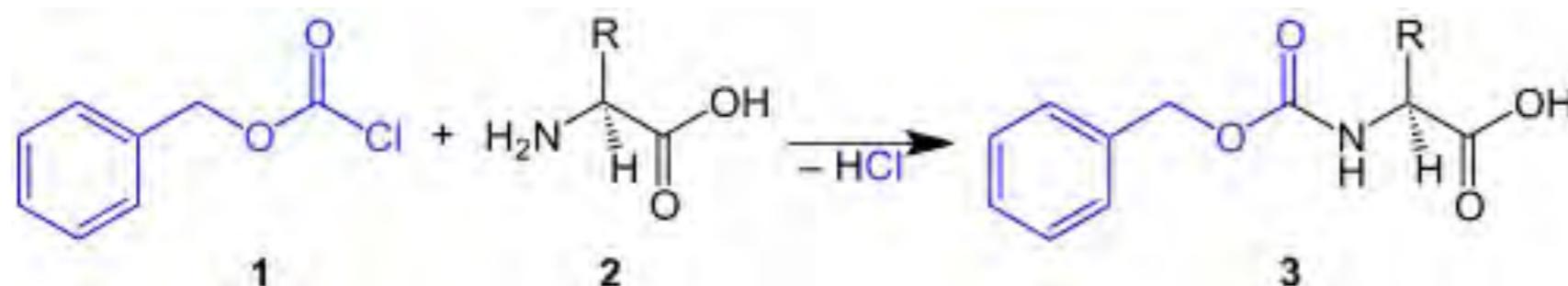
# N-PROTETTORI

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

Gli N-protettori una volta idrolizzati formano carbocationi stabili (es:  $\text{PhCH}_2^+$ ,  $\text{tBu}^+$ )

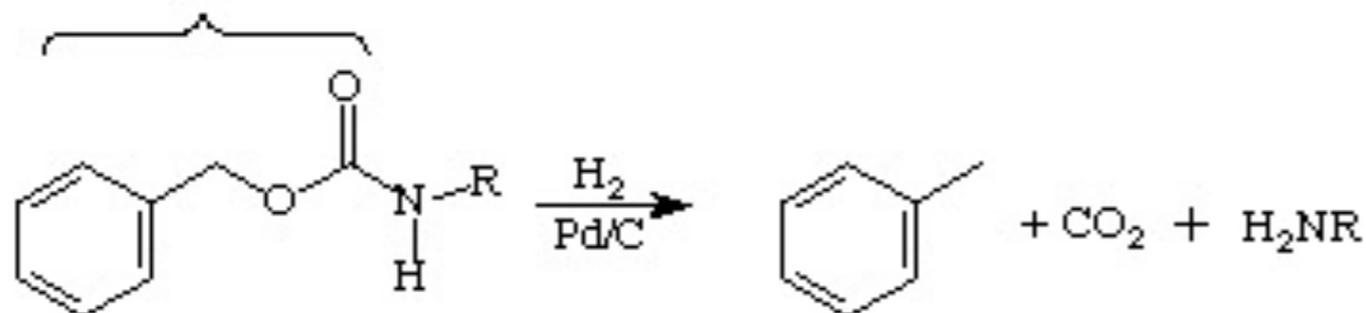
- ▶ Estere carbammico Cbz (Benzil-ossi-carbonil)

**protezione:**



**deprotezione:** con idrogeno e catalizzatore

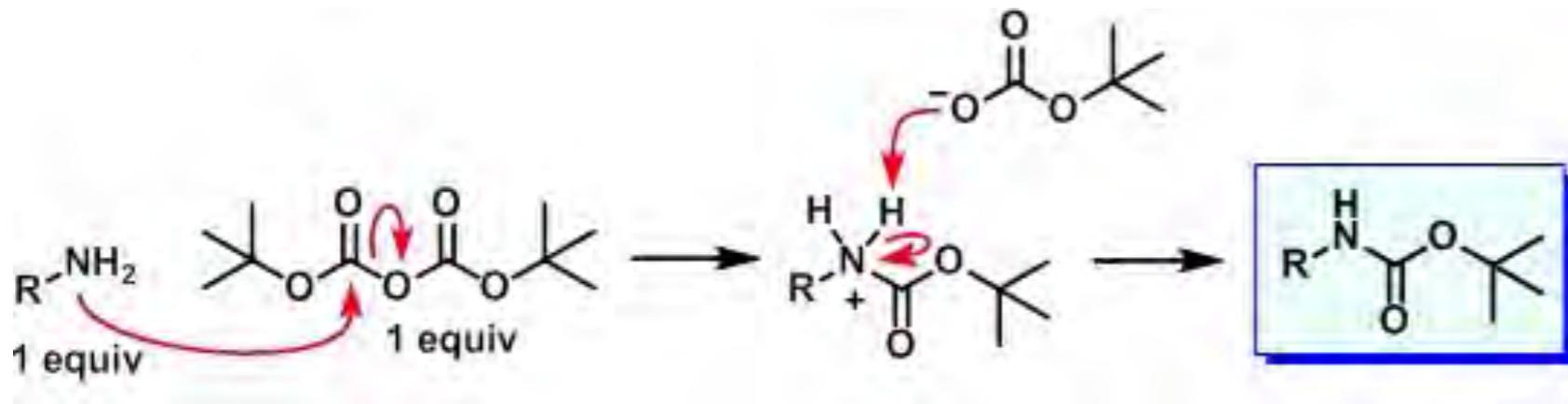
Cbz group  
"Carbo**benzyloxy**"  
(But better to call it benzyloxycarbonyl.)  
Sometimes abbreviated as Z



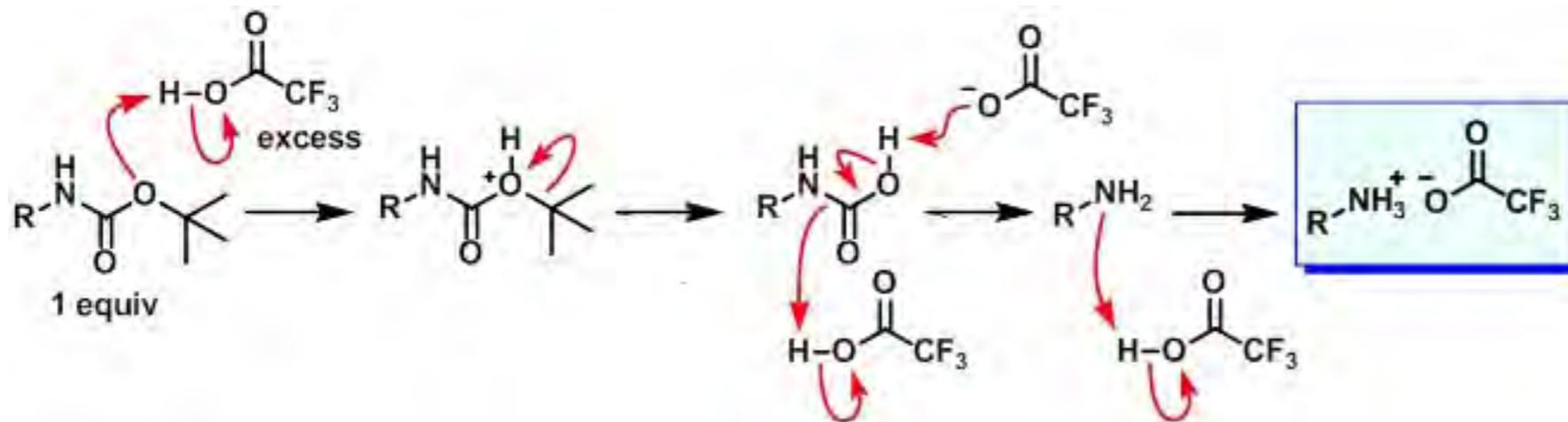
- HBr anidro in  $\text{CH}_3\text{COOH}$
- HF 70% in piridina
- $\text{CF}_3\text{COOH}$  agisce molto lentamente

# N-PROTETTORI

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

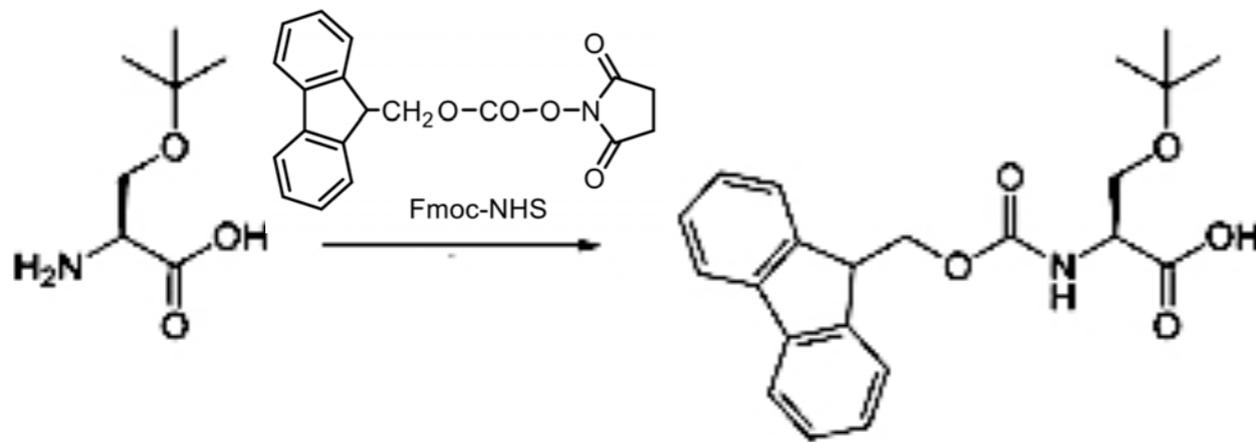


- deprotezione:** con acido trifluoroacetico

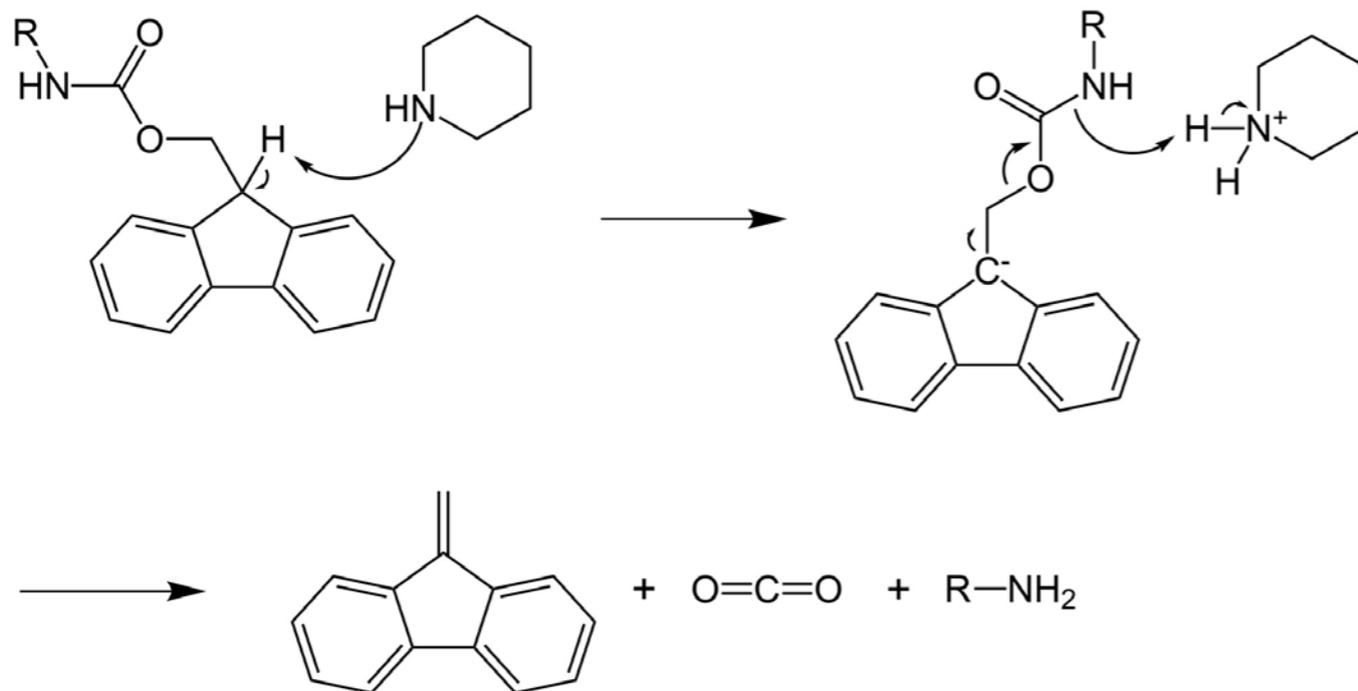


# N-PROTETTORI

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



deprotezione: con piperidina

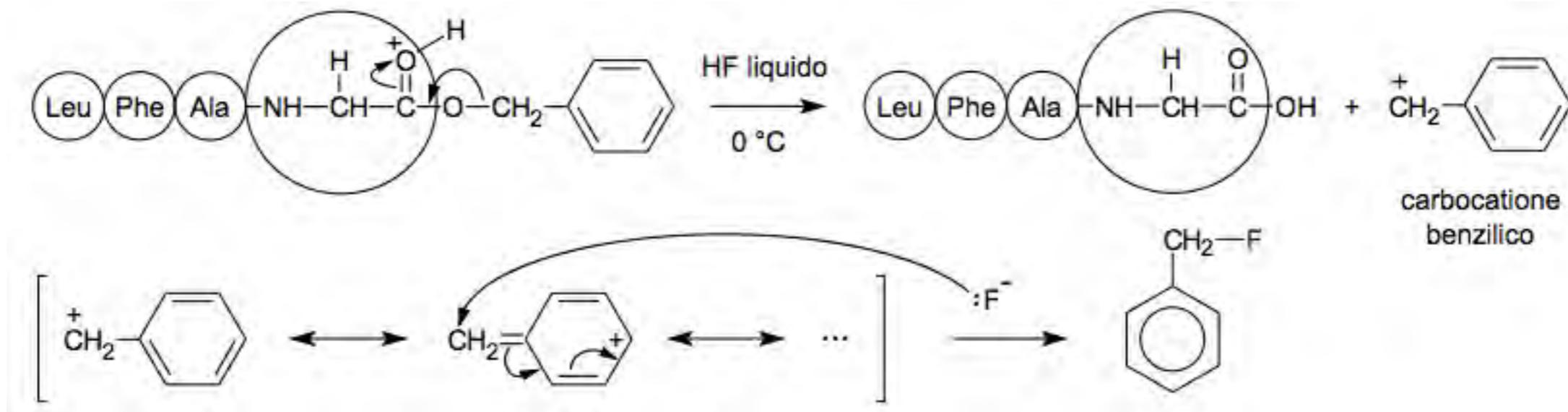


# C-PROTETTORI

## ► Estere benzilico

**protezione:** formazione di un estere con PhCH<sub>2</sub>OH acido catalizzata

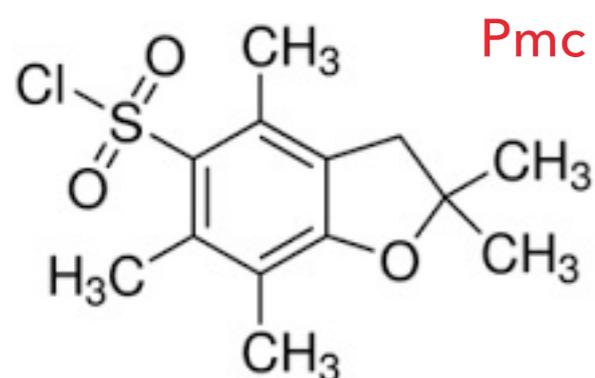
**deprotezione:** con HF anidro



# PROTEZIONE DELLE CATENE LATERALI

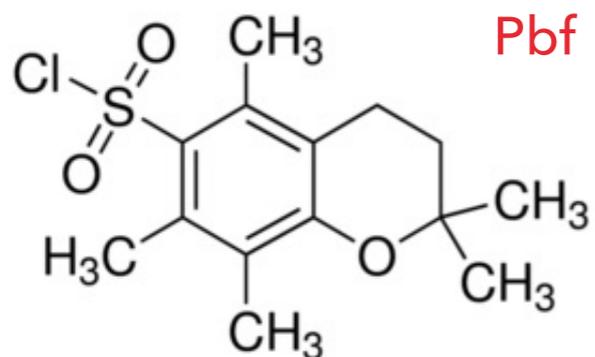
Se la catena laterale dell'A.A. ha un gruppo amminico è necessario proteggerlo.

**Protettori:**



**Deprotezione:**

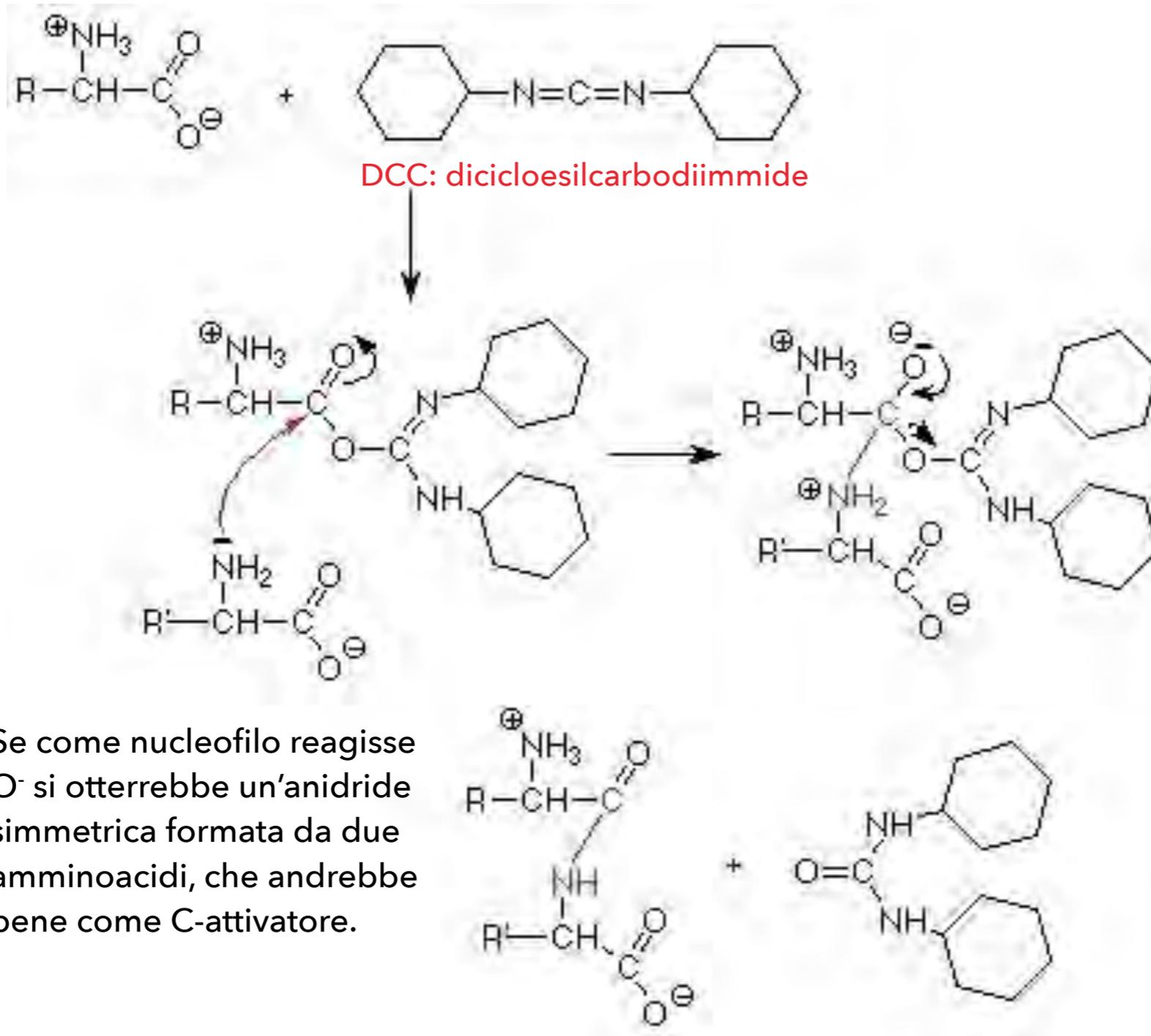
TFA (20min)



TFA (più veloce)

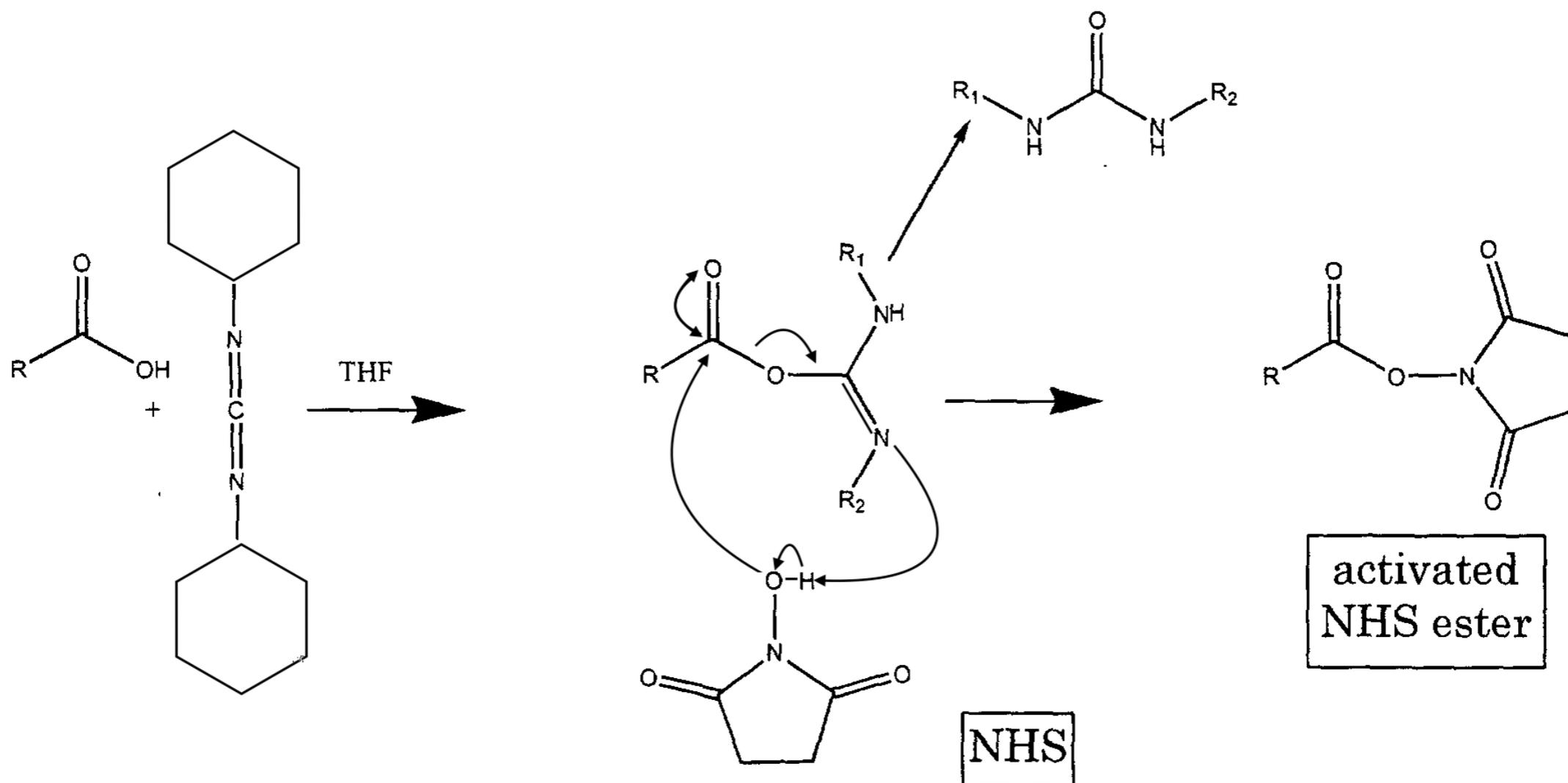
# C-ATTIVATORI

## ► Anidridi simmetriche



# C-ATTIVATORI

## ► Esteri attivi: N-idrossi eterocicli



---

## SINTESI PEPTIDICA IN FASE SOLIDA (SPPS)

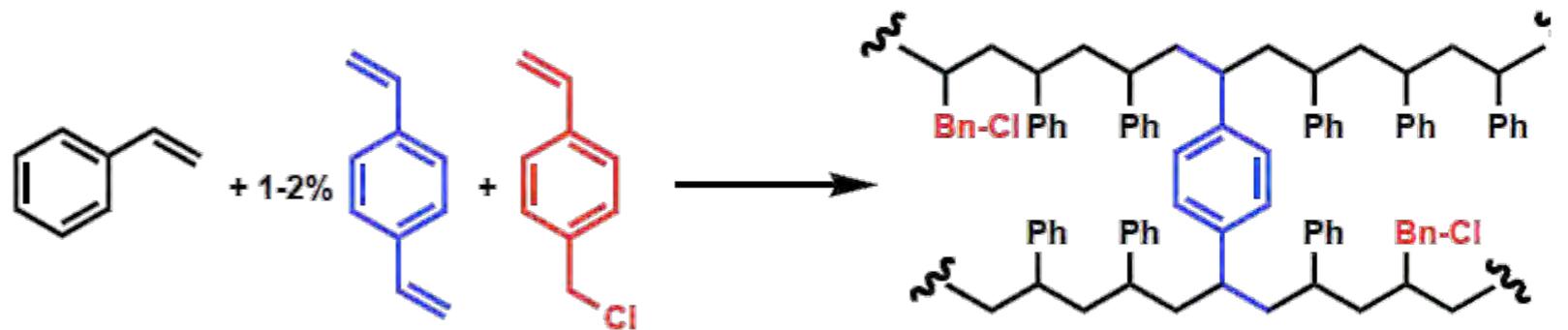
- ▶ L'amminoacido viene legato ad una resina in modo stabile (in modo che il legame resista a tutte le seguenti reazioni).
- ▶ Il processo di sintesi peptidica procede nello stesso modo della sintesi in soluzione e alla fine della sintesi si stacca il peptide dalla resina.
- ▶ E' necessario lavorare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

# RESINE POLISTIRENICHE

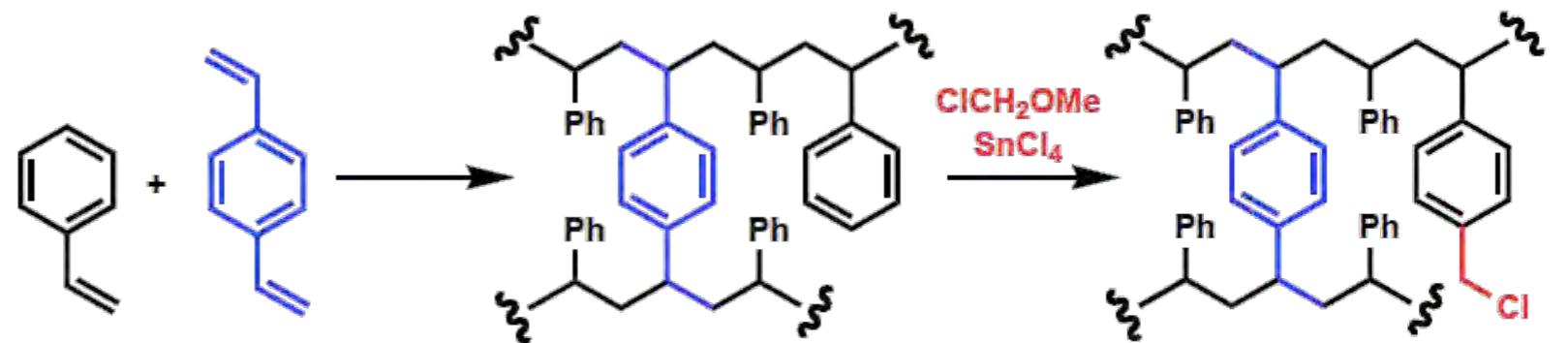
## Resina clorometilica di Merrefield:

### ► Sintesi:

a. One pot  
(semplice)



b. Resina → Resina funz.  
(migliore)

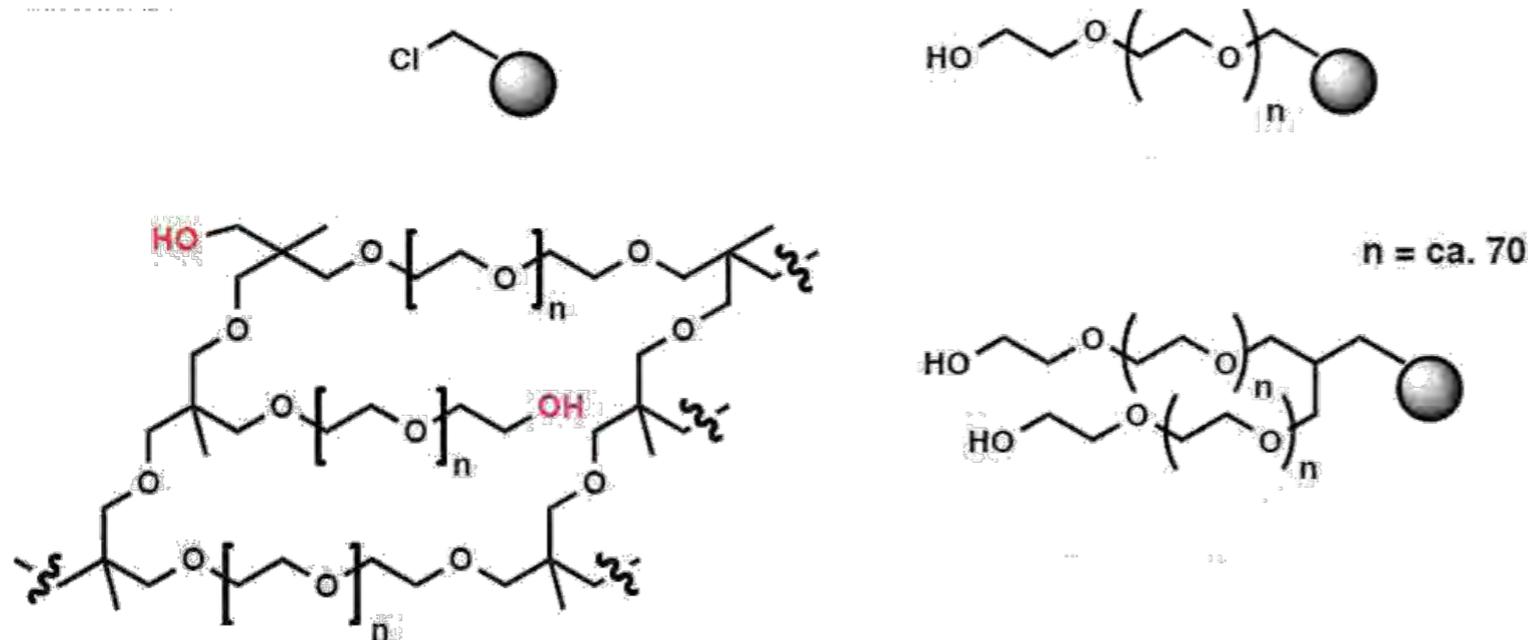


# RESINE PEG-PS

**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:

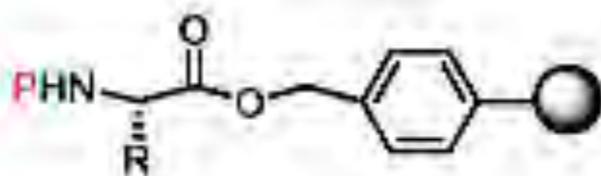
  - Cleaving con piperidina

  - Distacco dalla resina con HF ma può bastare anche TFA

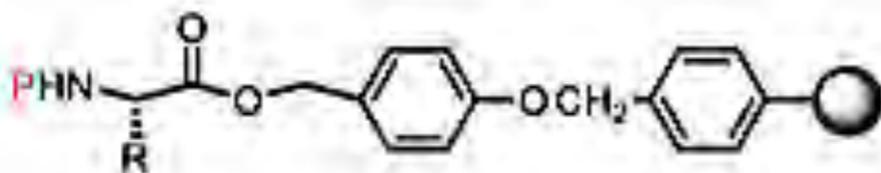
# CONSIDERAZIONI SULLA SINTESI IN FASE SOLIDA

## Resine:

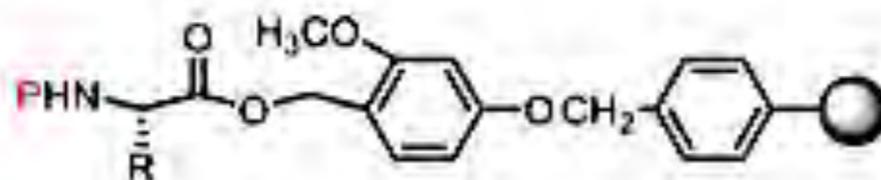
Merrifield



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)<sup>n° di amminoacidi</sup>**

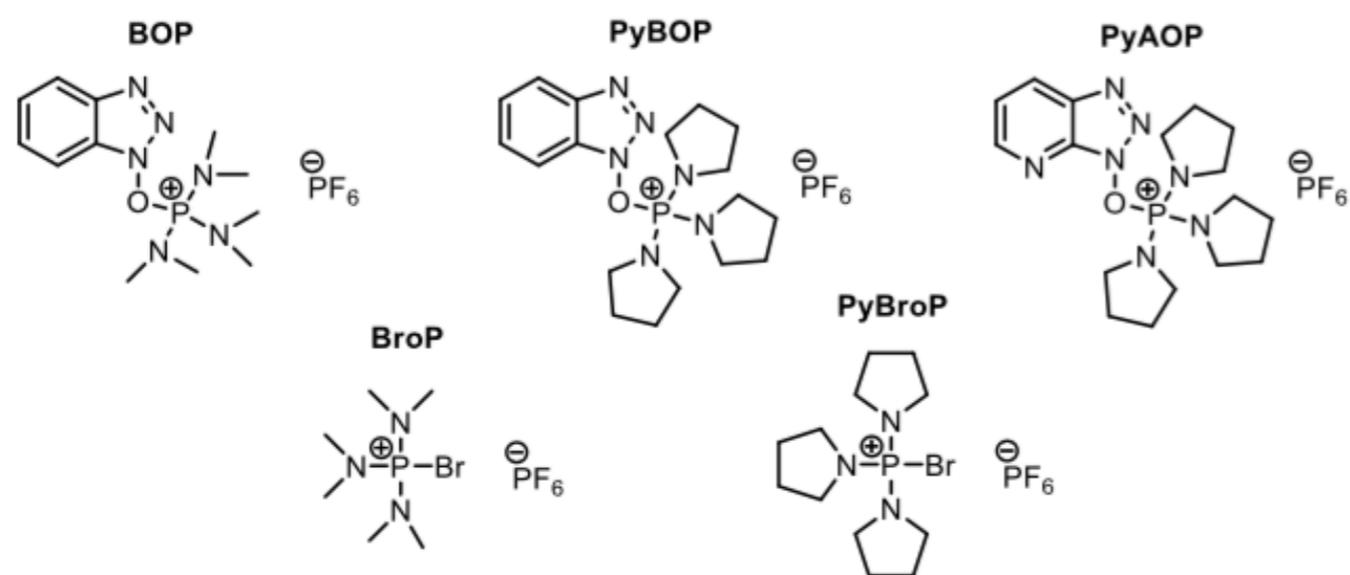
**Es: Resa per passaggio: a) 90%   b) 94%   c) 99%**

**Numero di AA nel peptide: 50**

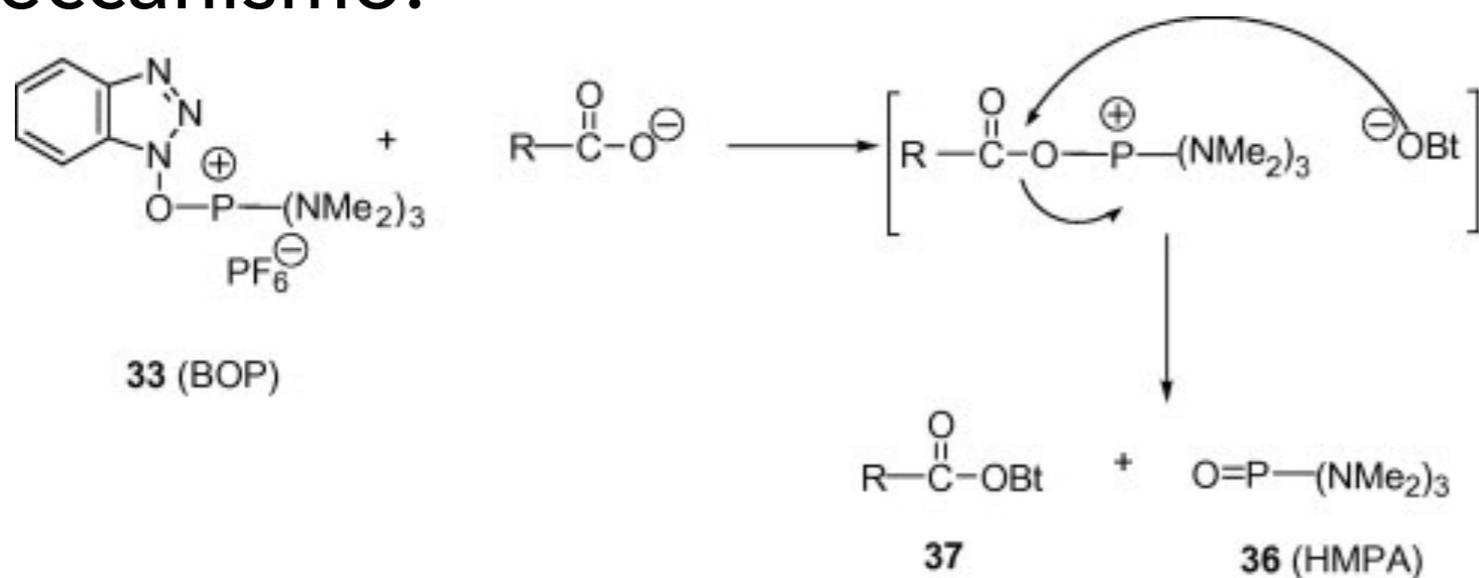
**Resa totale:                      a) 0.5%   b) 4.5%   c) 60.5%**

# C-ATTIVATORI IN SITU

## Sali di fosfonio

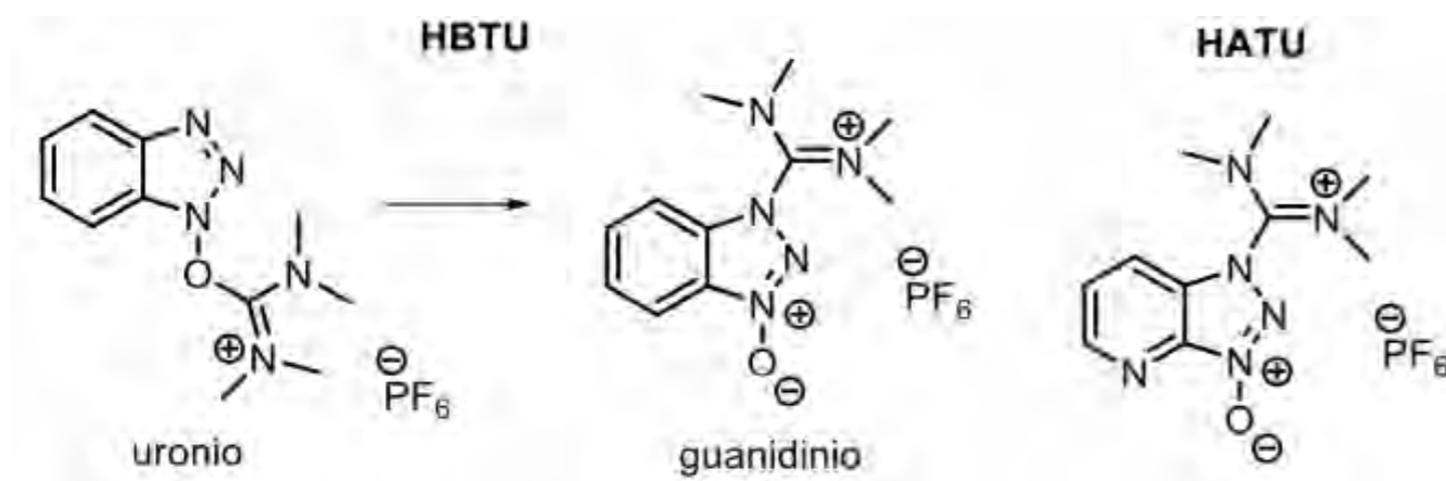


## Meccanismo:

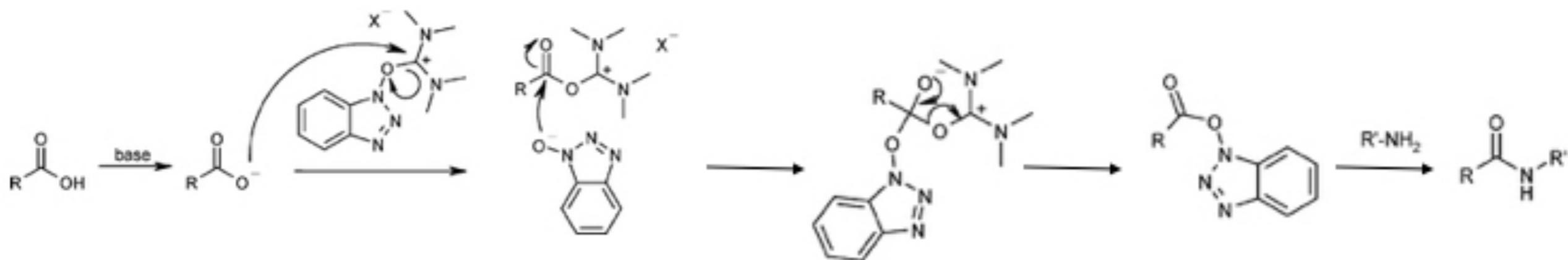


# C-ATTIVATORI IN SITU

Sali di uronio e guanidinio:

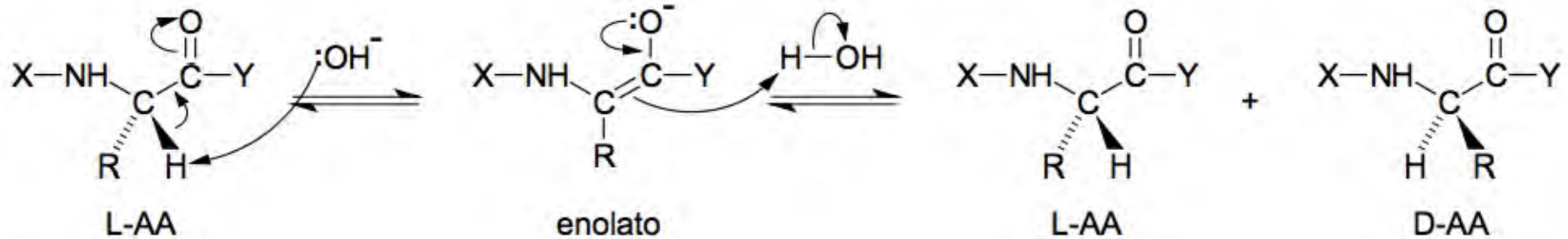


Meccanismo:



# RACEMIZZAZIONE

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

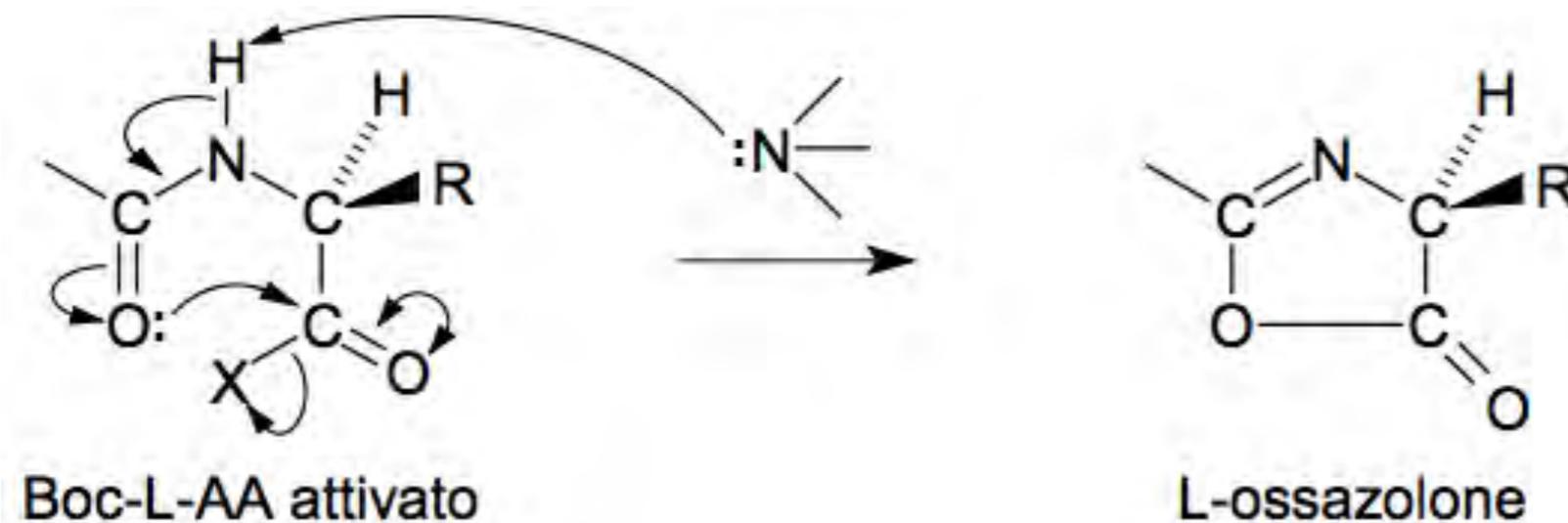


# RACEMIZZAZIONE

## ► Racemizzazione via ossazolone

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

NB: Questo processo è il vero responsabile della racemizzazione

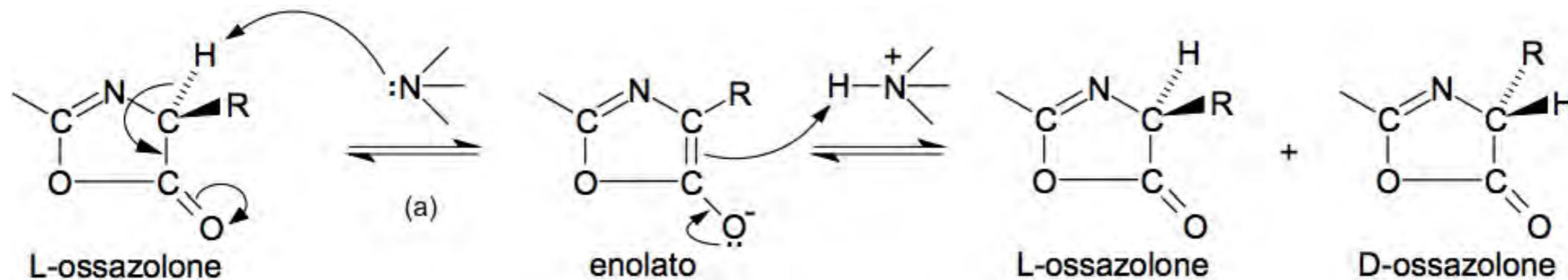


Meccanismi:

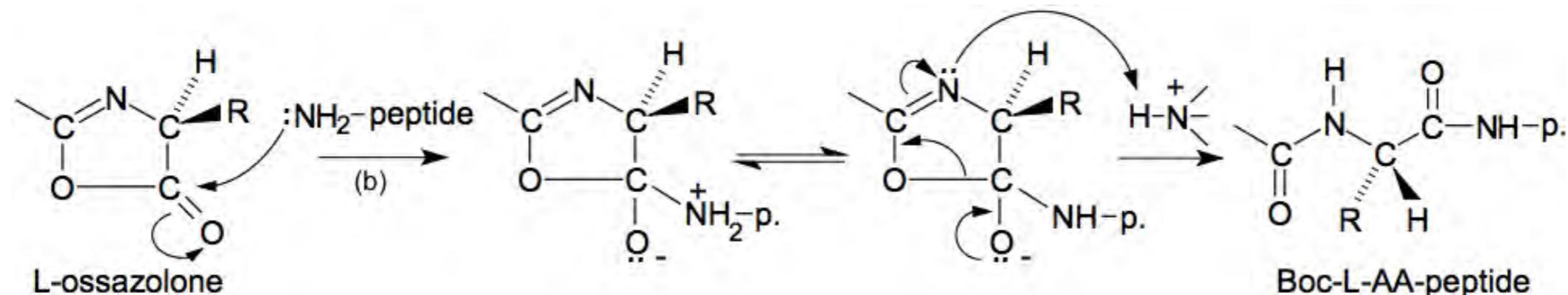
- Racemizzazione dell'ossazolone
- Racemizzazione della catena polipeptidica (amminolisi)

# RACEMIZZAZIONE

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



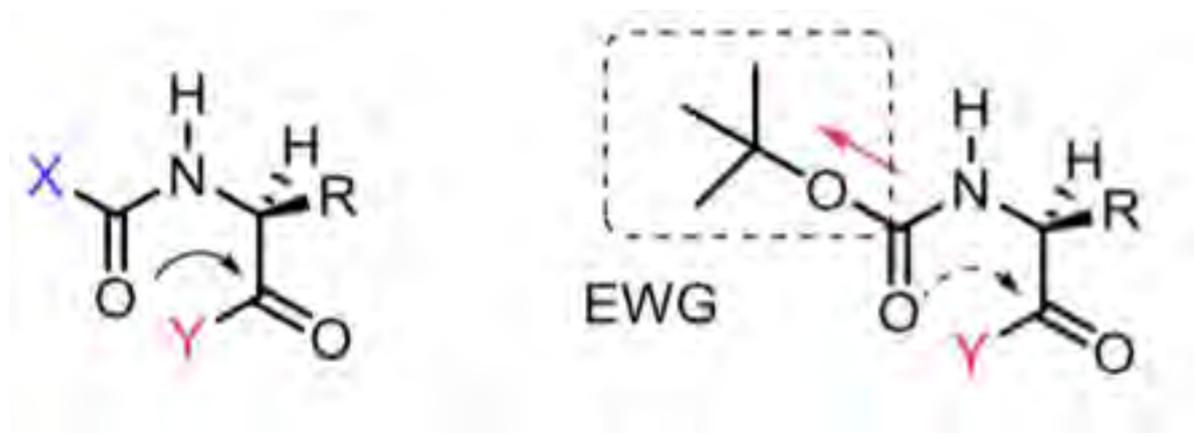
- b. Racemizzazione della catena polipeptidica (amminolisi): l'ossazolone è molto reattivo come acilante e può reagire con i nucleofili (es: gruppo amminico libero di un peptide). Se l'ossazolone aveva racemizzato, anche il prodotto di questo processo è un racemo.



# RIDURRE LA RACEMIZZAZIONE

## 1. Impedire la formazione dell'ossazolone

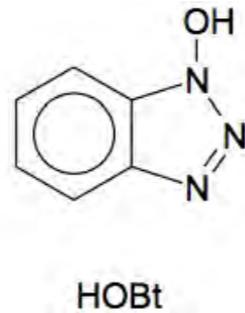
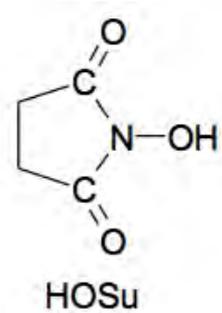
- ▶ Ridurre l'attivazione del gruppo carbossilico: invece di utilizzare cloruri acilici si utilizzano anidridi simmetriche o esteri attivi.
- ▶ Introdurre un sostituito elettron attrattore (EWG) per ridurre la nucleofilicità dell'ossigeno



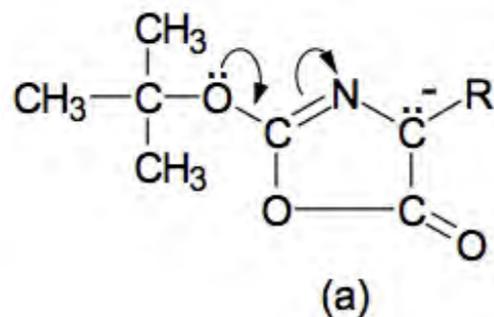
# RIDURRE LA RACEMIZZAZIONE

## 2. Impedire la racemizzazione dell'ossazolone:

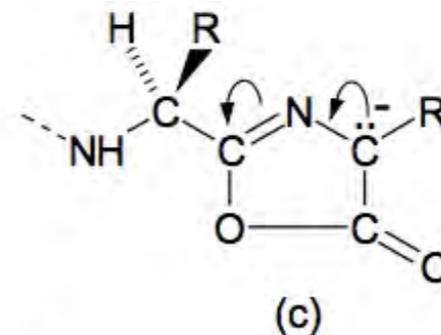
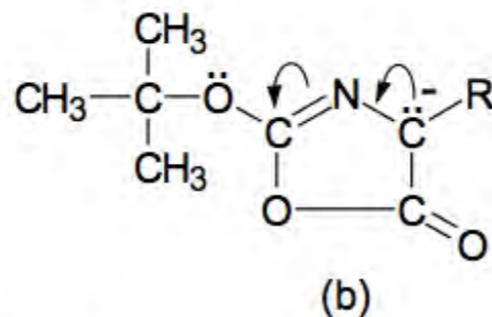
- ▶ Aumentare la competitività della reazione di apertura dell'anello (amminolisi) utilizzando HOSu e HOBT. L'ossigeno di HOSu o di HOBT attacca 10 volte più velocemente rispetto al gruppo amminico di un peptide.



- ▶ 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