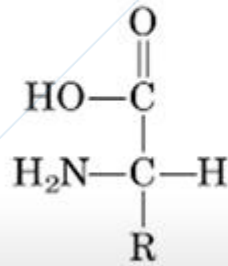
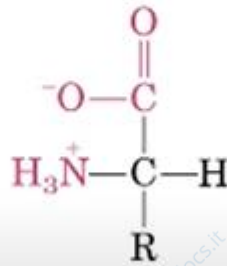


23 B:

Tutti gli amminoacidi contengono almeno due gruppi ionizzabili, il **gruppo carbossilico** ed il **gruppo amminico** (α -imminico per la prolina). Per il fatto di possedere sia un gruppo acido che un gruppo basico gli amminoacidi sono definiti molecole **ANFOTERE**.



forma non
ionica



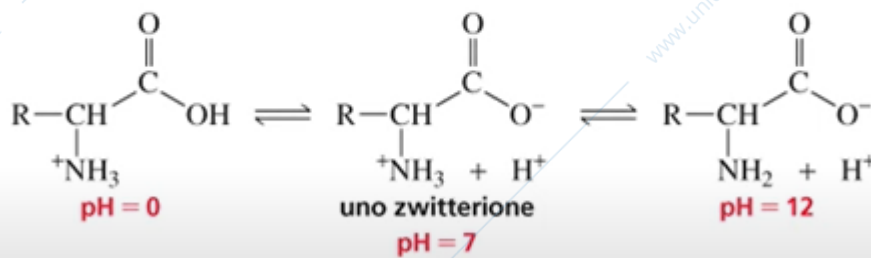
forma
zwitterionica

Una caratteristica comune a tutti gli amminoacidi naturali è di essere **sali interni** o **zwitterioni**

Il gruppo amminico si trova in posizione alpha.

Gli zwitterioni presentano una carica positiva e una carica negativa nella stessa molecola.

Proprietà acido-base



Ogni aa per il fatto di possedere un gruppo carbossilico e un gruppo amminico, gli aa esistono in forma acida o basica a seconda del pH in soluzione in cui l'aa è disciolto.

La forma acida, che è la forma protonata, predomina se il pH della soluzione è minore del valore di pKa del gruppo ionizzabile.

Mentre invece predominerà la forma basica, deprotonata, se il pH della soluzione è maggiore del valore di pKa del gruppo ionizzabile. La forma acida di un composto prevale in soluzioni il cui $\text{pH} < \text{pKa}$. Invece a livelli di $\text{pH} > \text{pKa}$ prevale la forma basica, deprotonata. Il gruppo carbossilico di un aa ha un pKa di circa 2, mentre il gruppo amminico protonato ha una pKa di circa 9. Quindi entrambi i gruppi funzionali saranno nella forma acida in una soluzione con pH vicino allo zero.

A $\text{pH} \neq \text{pH} > \text{pKa}$ del carbossilico ma minore del gruppo amminico primario, quindi il gruppo carbossilico sarà nella sua forma di zwitterione.

In una soluzione fortemente basica a pH circa 12, entrambi i gruppi saranno nella forma basica.

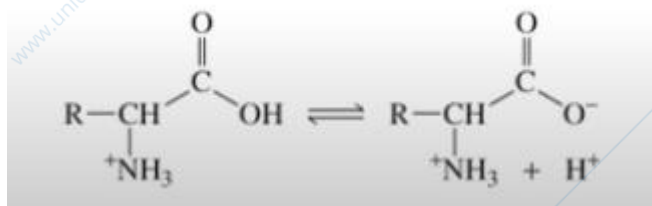
PROBLEMA

Perché i gruppi carbossilici degli aminoacidi sono più acidi ($\text{pKa} \approx 2$) di un gruppo carbossilico come quello dell'acido acetico ($\text{pKa} = 4.76$)?

I gruppi carbossilici degli aa sono + acidi rispetto al gruppo carbossilico dell'acido acetico.

$\text{pKa} +$ bassa significa acido + forte.

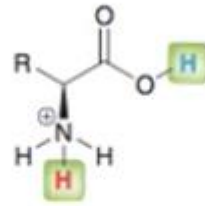
La risposta è: a causa della presenza del gruppo ammonio elettron attrattore.



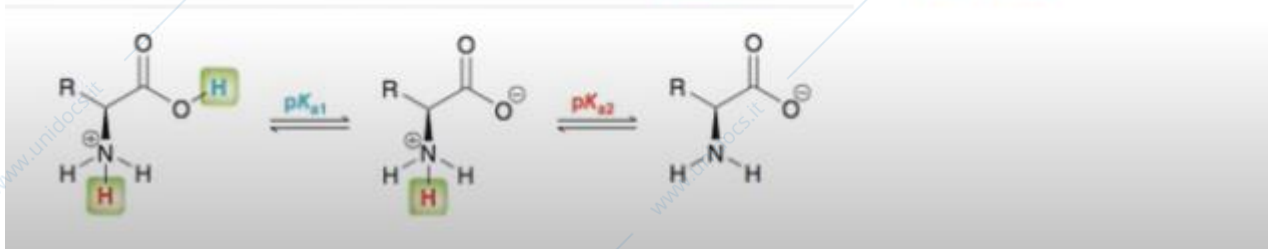
Questo è l'aa generico, lo ione ammonio NH_3^+ ha un effetto di richiamo sulla carica negativa della base carbossilato e quindi stabilizzazione della base carbossilato, quindi l'equilibrio sarà verso destra, quindi l'acido è + forte.

Proprietà acido-base

Quando un aminoacido viene disciolto in una soluzione a un **pH di 1**, entrambi i gruppi funzionali esistono principalmente nelle loro *forme protonate*



Ognuno dei protoni evidenziati ha il suo valore unico di **pKa**, spesso chiamato **pKa1** e **pKa2**.



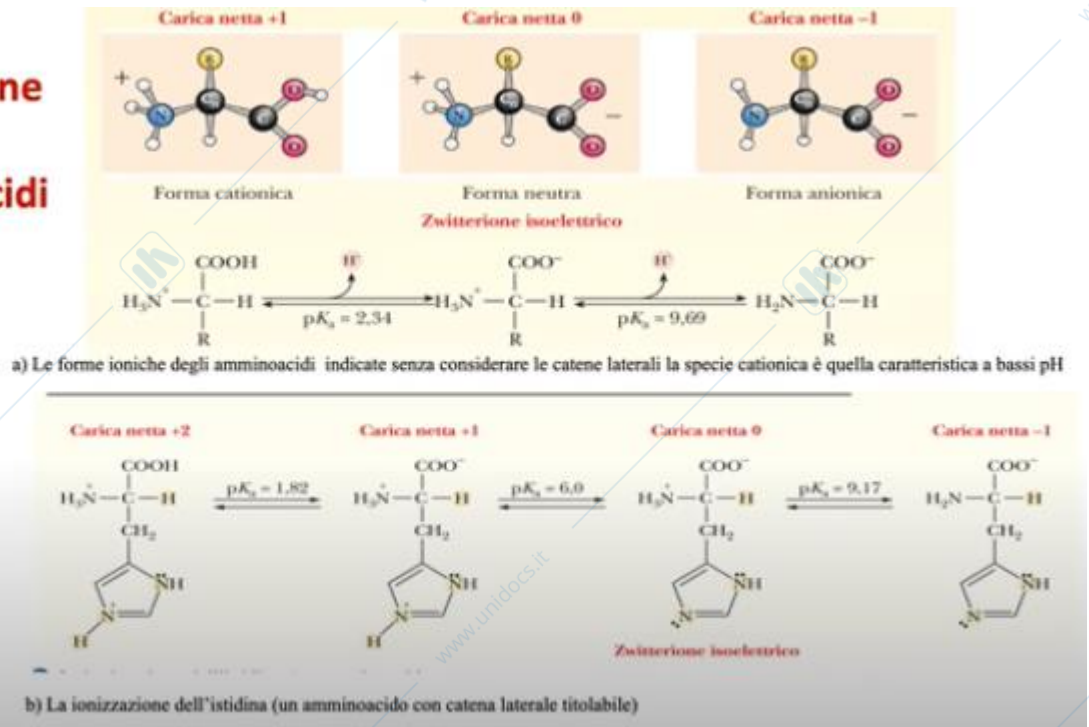
$\text{pH} = \text{molto acido}$ ha pH inferiore alla pKa dell'amminoacido, entrambi i gruppi funzionali esisteranno nella loro forma protonata.

Ognuno dei protoni evidenziati (rossi blu) avrà un suo valore unico di pKa e questi valori vengono indicati come $\text{pKa}=1$ e $\text{pKa}=2$.

Si noti che il gruppo acido carbossilico è deprotonato prima. il valore **pKa1** si riferisce all'acidità del gruppo **carbossilico**, mentre il valore di **pKa2** si riferisce all'acidità del gruppo di **ammonio**.

Ionizzazione degli aminoacidi

I gruppi COOH e NH₃⁺ sono ionizzabili perché possono perdere un protone in soluzione acquosa. Per gli aa neutri la carica può essere da +1 a -1



La pka del cooh è 2 e del nh₃ è 9.

Sì può quindi notare che un aminoacido non può mai esistere in una forma non carica, indipendentemente dal ph della soluzione. Per essere non carico un aa dovrebbe perdere un protone dal gruppo nh₃ con pka 9 prima di perdere il protone dal carbossilico che ha pka=2.

Questo è impossibile: un acido debole che ha pka=9 non può perdere un protone + facilmente di uno forte.

Quindi a ph fisiologico (intorno a 7) un aa avrà carica netta 0 ma in realtà è uno ione dipolare che abbiamo chiamato zwitterione.

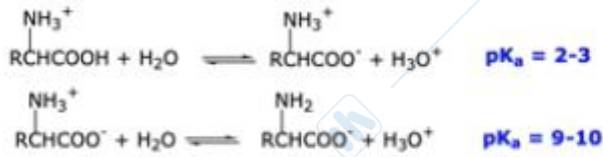
Pochi aa hanno la catena laterale con atomi di idrogeno ionizzabili, uno di questi è l'istidina.

La catena laterale dell'istidina ha un anello di imidazolo, il quale ha pka 6.04.

L'istidina quindi esiste in 4 forme diverse e la forma predominante dipende dal ph della soluzione.

Sì vede che a ph < 1.8 è presente con carica +2; a 6 < ph > 1.8 avrà carica +1; a ph fisiologico ha carica netta=0 nella sua forma di zwitterone; a ph > 9 avrà carica netta=-1.

ACIDITA' e BASICITA'

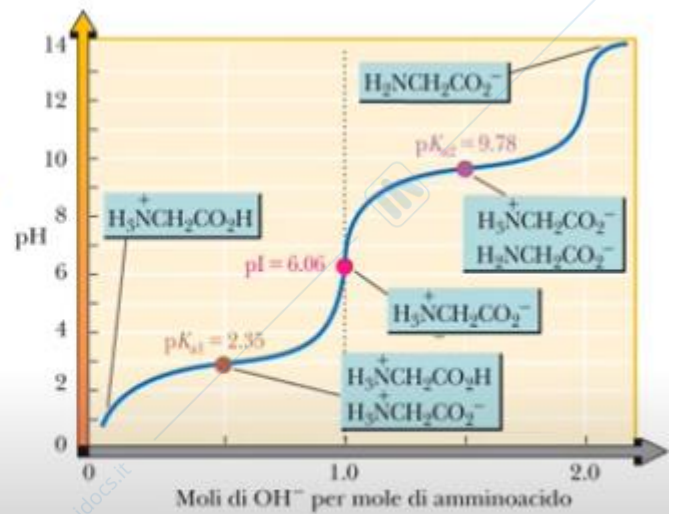


Sono acidi poliprotici deboli.

I gruppi α -carbossilici sono piú acidi dell'acido acetico (effetto elettron-attrattore del gruppo amminico protonato).

La basicità dei gruppi α -amminici è inferiore rispetto ad ammine alifatiche primarie (lo ione ammonio è un acido piú forte).

Titolazione della glicina con NaOH



I valori dei pka dei gruppi ionizzabili degli aa si ottengono attraverso la titolazione (reazione acido-base) in cui viene misurato il ph della soluzione in funzione della quantità di base che vien aggiunta.

Consideriamo di titolare una soluzione contenente 1 mol di aa alla quale è stata aggiunta una quantità di acido forte per far si che il gruppo amminico e carbossilico siano protonati.

Questa soluzione viene trattata con quantità successive di una soluzione contenente la base naoh.

Il volume della base aggiunta e il ph risultante vengono registrati e riportati in un grafico.

Il gruppo + acido, cioè quello che reagisce per primo con l'idrossido di sodio che viene aggiunto, è il gruppo carbossilico.

Quando sono state aggiunte 0.5 moli di naoh il carbossile è neutralizzato per metà quindi la concentrazione dello zwitterione eguaglia quello dello ione carico positivamente. Quindi il ph 2.35 eguaglia il valore di pka del gruppo carbossilico.

Il punto finale della prima parte della titolazione viene raggiunto con aggiunta di 1 mol di naoh perché a questo punto la specie predominante è lo zwitterone e il ph della soluzione è 6.06.

La parte successiva della curva rappresenta la titolazione del gruppo NH_3^+ .

Quando sono state aggiunte altre 0.5 moli di NaOH , quindi un totale di 1.5 mol di NaOH , vengono neutralizzate la metà degli ioni presenti nell'aa che vengono convertiti in gruppo NH_2 .

Adesso le concentrazioni dello zwitterione e dello ione negativo sono uguali e pH è di 9.78 che corrisponde al valore di pK_a del gruppo amminico, il secondo punto finale della titolazione si raggiunge quando si hanno 2 moli totali di NaOH e quindi aa è stato completamente trasformato in forma anionica.

Esistono a pH neutro in forma di ione dipolare o zwitterione.

L'acido aspartico e glutammico hanno una seconda pK_a acida di 3.65 e 4.25, rispettivamente.

La lisina ha un altro gruppo amminico ($\text{pK}_a = 10.53$), l'arginina un gruppo guanidinico ($\text{pK}_a = 12.48$), l'imidazolo un azoto basico ($\text{pK}_a = 6.10$) e la tirosina un OH fenolico ($\text{pK}_a = 10.07$).

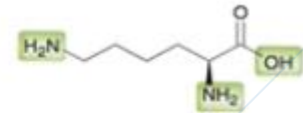
TABELLA 22.2 VALORI DI pK_a DEI VENTI AMMINOACIDI PROTEINOGENICI

AMMINOACIDO	$\alpha\text{-COOH}$	$\alpha\text{-NH}_3^+$	CATENA LATERALE
Alanina	2.34	9.69	—
Arginina	2.17	9.04	▲ 12.48
Asparagina	2.02	8.80	—
Acido aspartico	1.88	9.60	→ 3.65
Cisteina	1.96	10.28	—
Acido glutammico	2.19	9.67	→ 4.25
Glutamina	2.17	9.13	—
Glicina	2.34	9.60	—
Istidina	1.82	9.17	—
Isoleucina	2.36	9.60	—
Leucina	2.36	9.60	—
Lisina	2.18	8.95	▲ 10.53
Metionina	2.28	9.21	—
Fenilalanina	1.83	9.13	—
Prolina	1.99	10.60	—
Serina	2.21	9.15	—
Treonina	2.09	9.10	—
Triptofano	2.83	9.39	—
Tirosina	2.20	9.11	10.07
Valina	2.32	9.62	—

Esercizio: Disegnare la forma di lisina che predomina ad un pH di 9.5.

La lisina è un aa che presenta un gruppo NH_2 nella catena laterale.

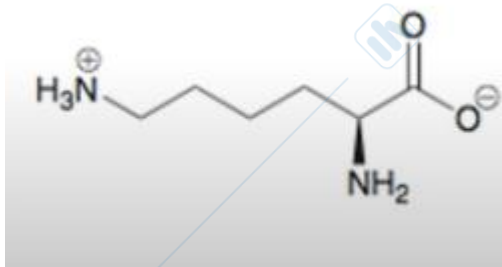
Esercizio: Disegnare la forma di lisina che predomina ad un pH di 9.5.



Cerca in tabella i valori delle pKa per la lisina. Questo aminoacido ha una catena laterale basica, il che significa che il composto ha tre posizioni che dobbiamo considerare.

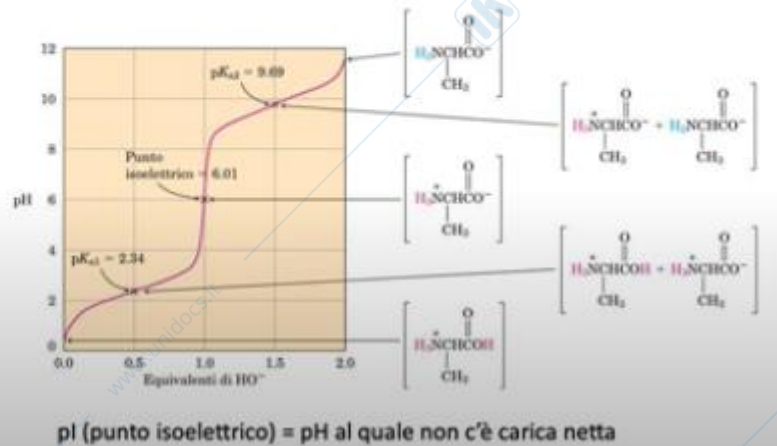
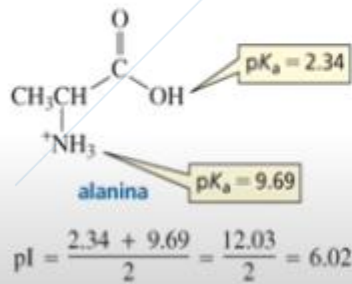
La tabella indica che **pKa1** per lisina è **2,18**. A un pH inferiore a **2,18** (condizioni altamente acide), ci aspettiamo che il gruppo COOH abbia il suo protone. Ma a pH più alto, ci aspettiamo che prevalga l'anione carbossilato. Di conseguenza, a un pH di 9,5, ci aspettiamo che prevalga la forma deprotonata (il carbossilato COO⁻).

Si consideri quindi il gruppo α -aminico. La tabella indica che **pKa2** per lisina è **8,95**. A un pH inferiore a 8,95 (pH inferiore - più acido), ci aspettiamo che il gruppo di amminico sia protonato, ma a un pH più alto, ci aspettiamo che il gruppo di amminico prevalga nella sua forma non carica. Di conseguenza, a un pH di 9,5, ci aspettiamo che prevalga la forma non carica (NH₂). Infine, si consideri la catena laterale, che ha un **pKa3 di 10,53**. A un pH al di sotto di 10,53 (pH-più acido), ci aspettiamo che il gruppo di amminico sia protonato.



Punto Isoelettrico

Per ogni aminoacido, c'è uno specifico pH in cui la concentrazione della forma zwitterionica raggiunge il suo valore massimo. Questo pH è chiamato **punto isoelettrico (pI)**, e ogni aminoacido ha il proprio pI unico. Per gli aminoacidi che non hanno una catena laterale acida o basica, il pI è semplicemente la media dei due valori di pKa. L'esempio seguente mostra il calcolo per il pI dell'alanina.



Il punto isoelettrico può essere definito quel pH al quale non c'è carica netta, cioè è il pH al quale la somma delle cariche positive = cariche negative.

Il punto isoelettrico di un aa che non ha un gruppo ionizzabile nella catena laterale come l'alanina, si può calcolare come la media tra i due valori di pKa.

A pH=3.4, metà delle molecole ha un gruppo carbossilico con la carica negativa e una metà delle molecole avrà il gruppo carbossilico non carico.

Mentre a pH=9.69 metà delle molecole avranno il gruppo amminico carico positivamente e metà avranno il gruppo amminico senza carica.

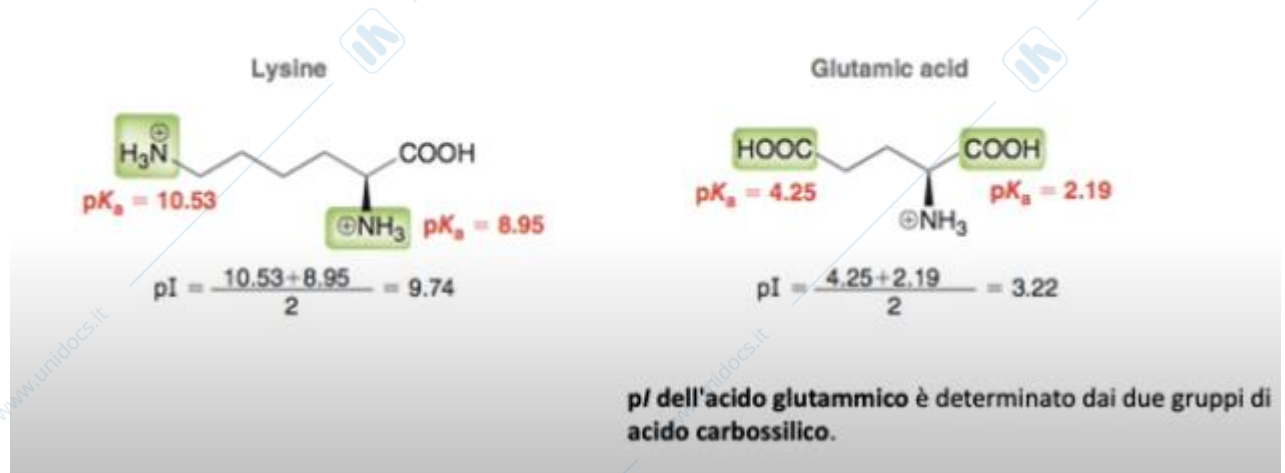
Se io salgo nella curva della titolazione partendo da 2.34 all'aumentare del pH, aumenta il numero di molecole che ha il gruppo carbossilico deprotonato, cioè carico negativamente.

Se parto dall'alto 9.69 e diminuisco il pH, aumenta il numero di molecole con il gruppo amminico protonato, cioè carico positivamente.

Per cui a pH che corrisponde alla media dei due valori di pKa, il numero dei gruppi carichi negativamente sarà uguale al numero di gruppi che ha carica positiva.

Per gli amminoacidi con catene laterali acide o basiche, il **pI** è la media dei due valori di pKa che corrispondono ai **gruppi simili**. Ad esempio,

il **pI della lisina** è determinato dai due **gruppi di amminici**,



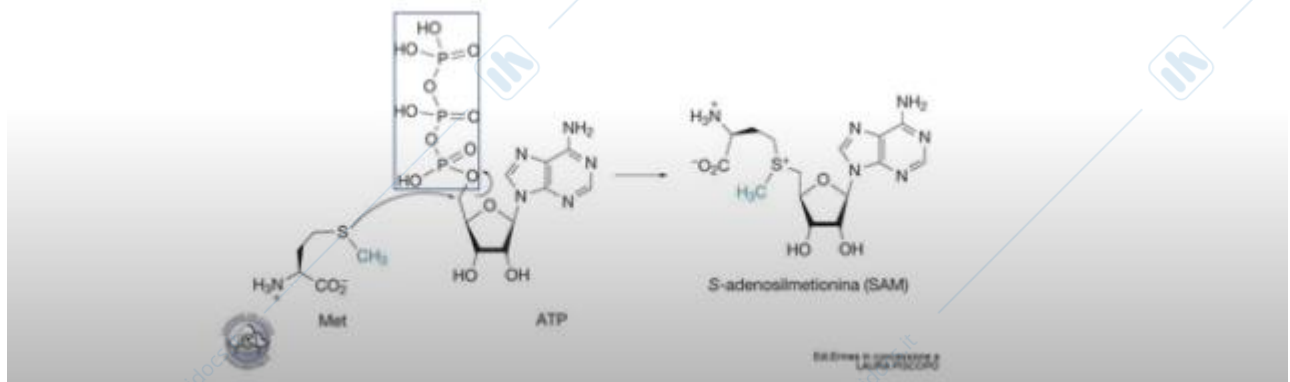
Gruppi carichi + si trasformano in gruppi non carichi, o gruppi senza carica che si trasformano in gruppi carichi negativamente. Il punto isoelettrico di lisina è la media dei valori di pKa dei due gruppi che hanno carica positiva nella loro forma acida e che sono non carichi nella forma basica, cioè i due NH_3^+ .

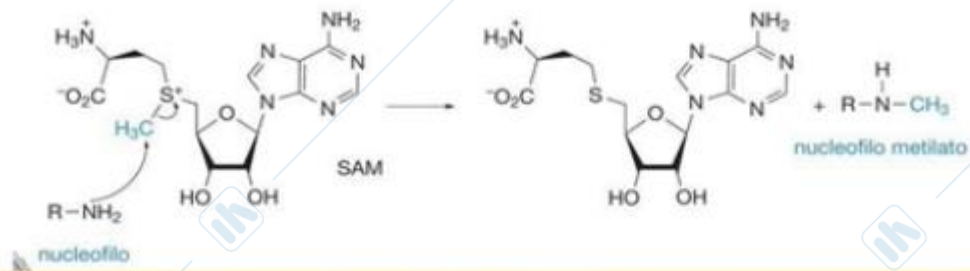
Quindi il PI della lisina sarà: pKa del primo gruppo NH_3^+ + 10.53 + 8.95 del secondo gruppo diviso due.

Specificità di alcuni amminoacidi

Glicina (Gly, G): non ha la catena laterale permette la struttura a fogli ripiegati o β -sheet delle proteine che devono disporsi a strati, le catene laterali degli altri aa interferirebbero con l'impaccamento- **il collagene** presente nel tessuto connettivo degli animali contiene il 35% di glicina

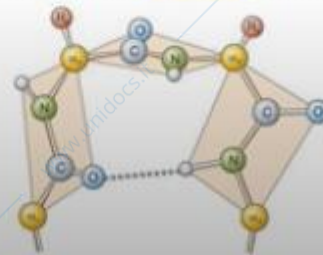
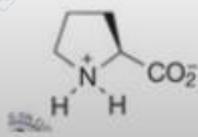
Metionina (Met, M): uno dei ruoli biologici più importanti è quello di generare la S-adenosilmetionina (SAM), un agente metilante naturale per reazione con ATP. Questo è un esempio di **sostituzione nucleofila biologica** in cui il nucleofilo è l'atomo di S e il gruppo uscente è il trifosfato





SAM ha un atomo S carico positivamente, il gruppo legato al metile è un ottimo gruppo uscente, quindi un nucleofilo può attaccare il metile con conseguente metilazione.

Prolina (Pro, P): è l'unico in cui il gruppo amminico fa parte di un ciclo questo impedisce la rotazione attorno al legame C-N questa rigidità costringe la catena proteica che contiene prolina a ripiegarsi formando un gomito (*turn*)- **proteine globulari**



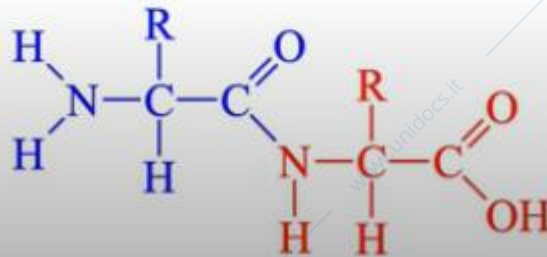
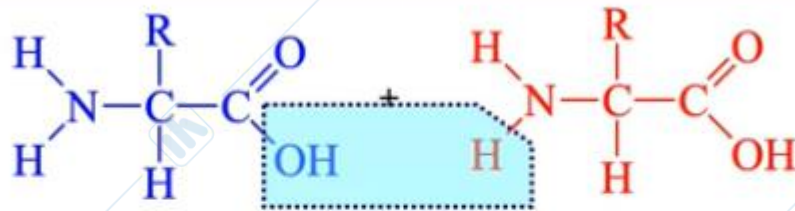
Struttura generale dei β -turns

L's adenosilmetionina una volta formata dispone di un atomo di zolfo carico +, che rende il gruppo legato al metile un ottimo gruppo uscente.

L'attacco ad esempio di un'ammina al gruppo metilico, ne provoca l'allontanamento con la formazione del nuovo legame tra il carbonio del carbonile e l'azoto.

Questa si chiama metilazione del nucleofilo.

Gli aminoacidi si legano formando legami peptidici



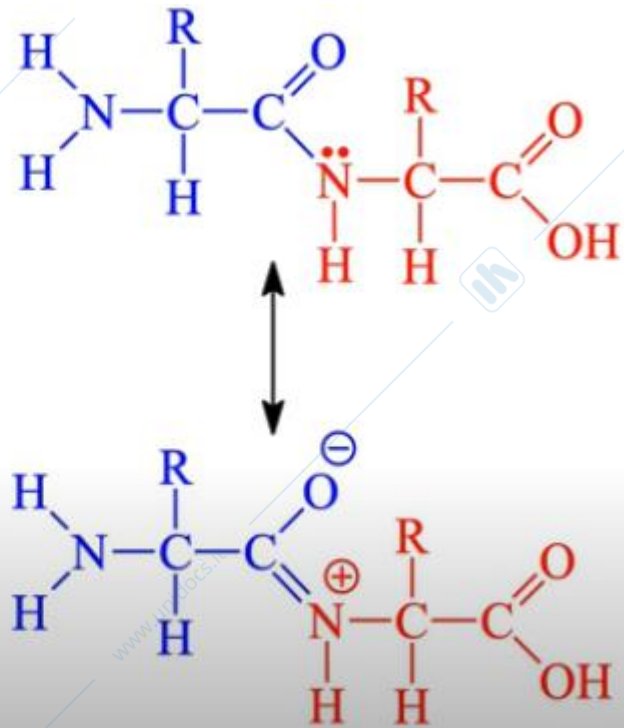
I legami peptidici o disolfuro sono gli unici legami covalenti che tengono uniti gli aa in un peptide/proteina.

Il legame peptidico è il legame ammidico che unisce i residui degli aa.

Per convenzione i peptidi e proteine sono rappresentati scrivendo a sinistra l'aa avente gruppo amminico libero chiamato amminoacido N-terminale e sulla destra l'aa con il gruppo carbossilico libero.

Il legame ammidico è un legame che può essere rappresentato con doppio legame C=O o C-N della struttura in cui l'n condivide il doppietto elettronico con il carbonio e si ha uno shift degli elettroni del doppio legame C=O sull'ossigeno.

risonanza del gruppo funzionale peptidico



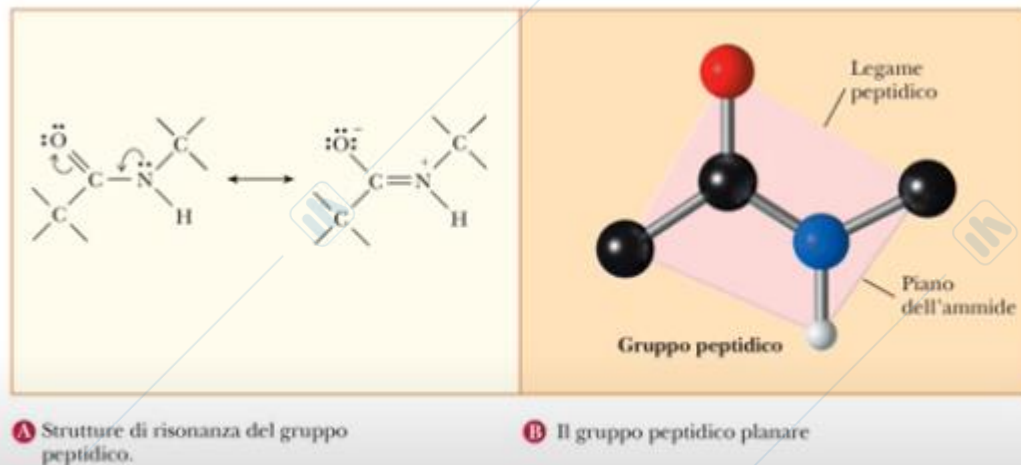
Il legame C-N ha un certo carattere di doppio legame e ridotta rotazione interna → il legame peptidico è planare.

Quindi possiamo scrivere due strutture di risonanza per il gruppo funzionale peptidico o amminico, quello con il doppio legame C=N è importante perché evidenzia una caratteristica funzionale del legame peptidico che è la planarità.

Il legame carbonio azoto ha un certo legame doppio e quindi una ridotta rotazione interna, per cui si dice che il legame peptidico è planare, come sono planari tutti i doppi legami.

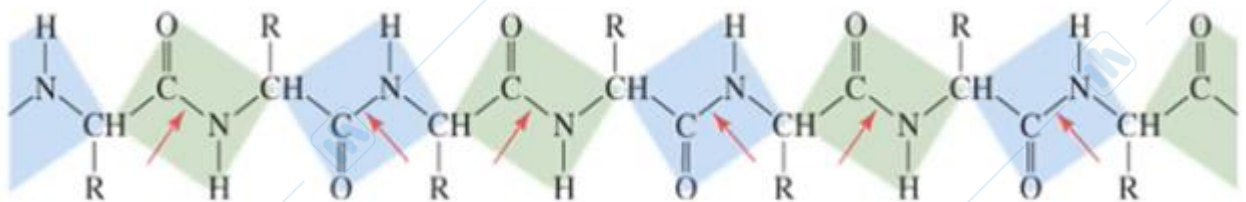
Quindi i due atomi a cui ciascuno di essi è legato C / N sono sullo stesso piano.

Questa polarità influenza il modo con cui questa catena amminoacidica si può ripiegare ed ha conseguenze importanti sulla forma tridimensionale di peptidi e proteine.

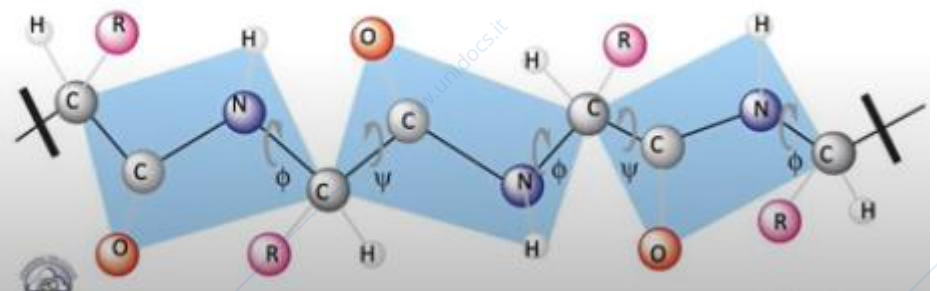


■ FIGURA 3.10 Le strutture di risonanza del legame peptidico portano a un gruppo planare.

La risonanza del legame amminico, la planarità del gruppo peptidico, che viene evidenziata meglio in una catena peptidica.

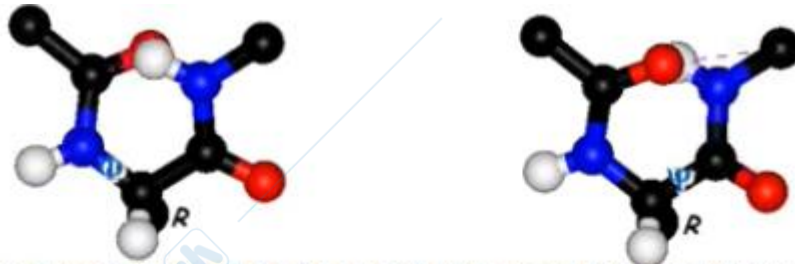


Le proteine sono costituite da unità planari ripetute, ciascuna delle quali può ruotare liberamente rispetto alle altre.

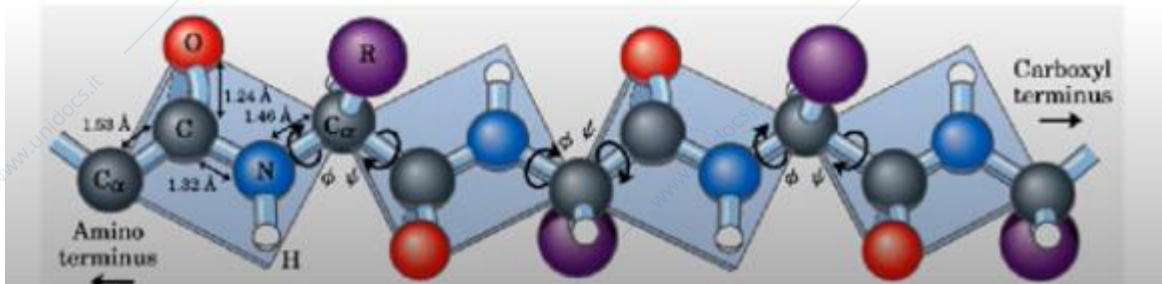


Il piano verde e azzurro definisce la planarità del legame amminico, mentre i gruppi r legati ai carboni alpha si trovano situati in maniera alternata sui lati opposti dello scheletro peptidico.

Attorno al carbonio alpha è possibile la rotazione del lega $c-c$ o $c-n$.



Queste torsioni sono limitate dall'ingombro sterico (e da interazioni elettrostatiche). La piccola catena laterale della alanina impedisce le modificazioni conformazionali molto meno di quella, "più ingombrante", del triptofano. La glicina gode della massima libertà conformazionale mentre la prolina, per la struttura ciclica in cui è compreso l'azoto del gruppo funzionale, ha una libertà di modificazioni conformazionali fortemente limitata.



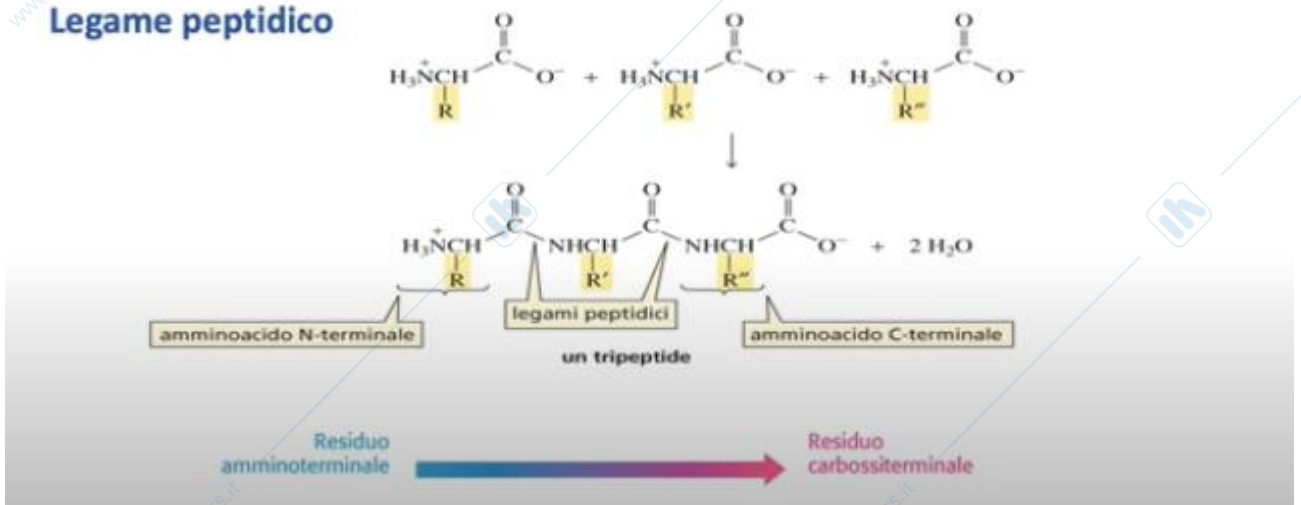
Queste torsioni sono limitate dall'ingombro sterico degli amminoacidi + ingombranti.

Solo la glicina gode della massima libertà conformazionale, mentre la prolina che ha una struttura ciclica in cui l'azoto del gruppo funzionale è compreso ha una libertà di movimento fortemente limitata.

LEGAME PEPTIDICO e DISOLFURO

Gli unici legami covalenti che uniscono tra loro i residui amminoacidi sono il legame peptidico e il legame disolfuro

Legame peptidico



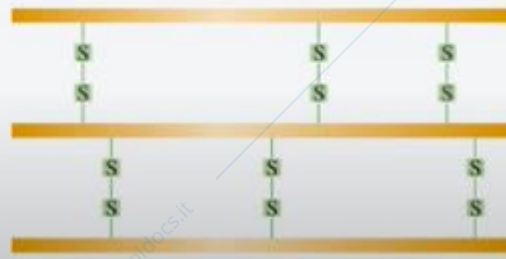
Capelli: lisci o ricci?

I capelli sono costituiti da una proteina nota come cheratina, caratterizzata da un numero estremamente elevato di residui di cisteina (circa l'8% degli amminoacidi in confronto a una media del 2.8% delle altre proteine).

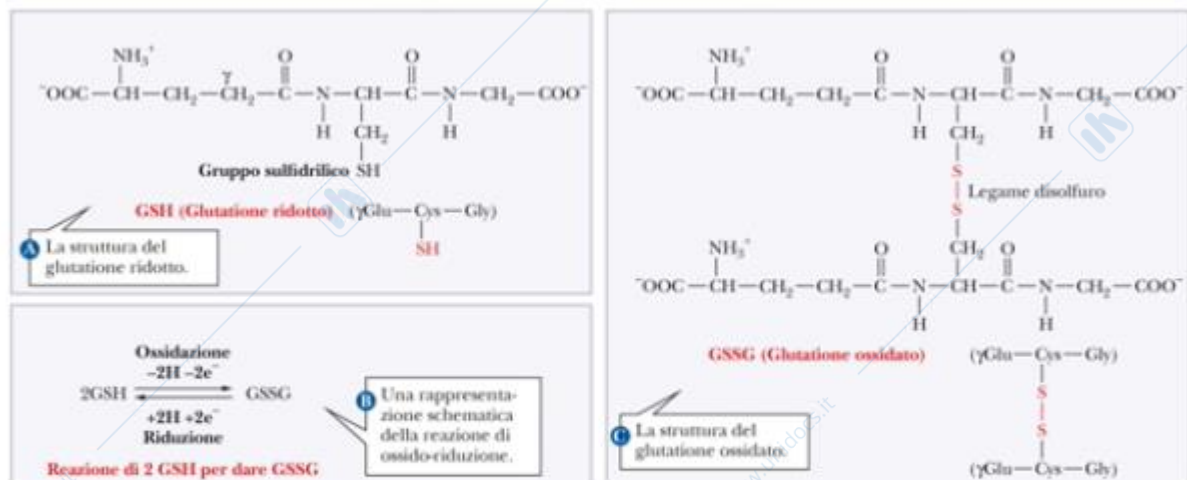
Queste cisteine formano molti ponti disolfuro che preservano la struttura tridimensionale della cheratina. Una persona può modificare la struttura dei propri capelli (se ritiene che siano troppo lisci o troppo ricci) modificando i ponti disolfuro. Questo può essere fatto applicando ai capelli un agente riducente che riduce tutti i ponti disolfuro nella proteina. Successivamente, dopo aver ottenuto i capelli nell'aspetto desiderato (usando arricciatori se si vogliono ricci o stirandoli se si vogliono lisci), si applica un agente ossidante per formare nuovi ponti disolfuro che mantengano la capigliatura nell'aspetto desiderato. Quando questo trattamento è utilizzato per stirare i capelli si parla di "stiramento". Quando è usato per arricciarli si chiama "permanente".



capigliatura riccia



capigliatura liscia



■ FIGURA 3.12 L'ossidazione e la riduzione del glutatione. (a) La struttura del glutatione ridotto. (b) Una rappresentazione schematica della reazione di ossido-riduzione. (c) La struttura del glutatione ossidato.

Qui vediamo il glutatione che presenta parte dell'organismo ed ha funzione di agente antiossidante.

Il glutatione rimuove gli agenti ossidanti riducendoli.

Nel processo di riduzione il glutatione viene ossidato ad un dimero che presenta un legame disolfuro.

Un enzima poi interverrà riducendo il legame disolfuro liberando il glutatione che torna in circolo.