

Hinweis

Bei dieser Datei handelt es sich um ein Protokoll, das einen Vortrag im Rahmen des Chemielehramtsstudiums an der Uni Marburg referiert. Zur besseren Durchsuchbarkeit wurde zudem eine Texterkennung durchgeführt und hinter das eingescannte Bild gelegt, so dass Copy & Paste möglich ist – aber Vorsicht, die Texterkennung wurde nicht korrigiert und ist gerade bei schlecht leserlichen Dateien mit Fehlern behaftet.

Alle mehr als 700 Protokolle (Anfang 2007) können auf der Seite http://www.chids.de/veranstaltungen/uebungen_experimentalvortrag.html eingesehen und heruntergeladen werden.

Zudem stehen auf der Seite www.chids.de weitere Versuche, Lernzirkel und Staatsexamensarbeiten bereit.

Dr. Ph. Reiß, im Juli 2007

Erster Lehramtsvortrag vom 25.05.1989
 von WALTER DITTRICH

Thema: Aminosäuren - Struktur und Reaktivität

Gliederung:

I. Einleitung

Grundstruktur und Stereoisomerie von Aminosäuren;
 proteinogene Aminosäuren

II. Nachweise der funktionellen Gruppen:

- NH₂-Gruppe
- COOH-Gruppe
- SH-Gruppe

III. Aminosäuren in wässriger Lösung

- Broenstädt - Säure-Basen-Beziehung
- Lewis - Säure-Basen-Beziehung

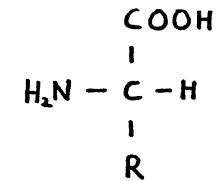
IV. Peptidbindung

V. Redoxreaktionen

I. Einleitung

Von den Carbonsäurederivaten tritt eine Gruppe durch ihre besondere biologische Bedeutung hervor: die **Aminosäuren** oder kurz **Aminosäuren**.

Ca. zwanzig Aminosäuren sind regelmäßig in Proteinen nachgewiesen worden. Fast alle dieser proteinogenen Aminosäuren tragen den Stickstoff als primäres Amin am α -C-Atom; nur zwei enthalten ihn in cyclisch gebundenen, sekundären Aminogruppen, wobei das α -ständige Stickstoffatom mit in den Ring einbezogen ist. Die allgemeine Grundstruktur der Aminosäuren ist:



Das α -C-Atom ist asymmetrisch substituiert, wenn alle vier Liganden verschieden sind, also R nicht mit einem der anderen Liganden identisch ist. Da das α -C-Atom sp³-hybridisiert ist, die vier Liganden also in den Ecken eines Tetraeders liegen, ergeben sich zwei Anordnungen wie Bild und Spiegelbild, die sich nicht zur Deckung bringen lassen.

Solche Moleküle, die keine Spiegelbildebene und kein Symmetriezentrum besitzen, nennt man chiral (gr. Hand). Die beiden möglichen Spiegelbildisomere nennt man Enantiomere oder Antipoden. Sie unterscheiden sich nur durch ihre optische Aktivität.

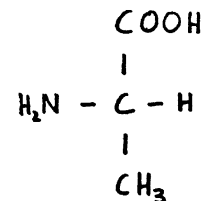
Eine Möglichkeit zur Klassifizierung von Stereoisomeren durch Bestimmung der Konfiguration der Liganden am α -C-Atom bietet die Sequenzregel nach Cahn, Ingold und Prelog. Danach werden den Liganden Prioritäten zugeordnet. Das Molekül wird dann so betrachtet, daß der Ligand mit der niedrigsten Priorität (meist ein H-Atom) nach hinten schaut. Die Aufeinanderfolge der drei dem Betrachter zugewandten Substituenten nach abnehmender Priorität, im Uhrzeigersinn oder Gegenuhrzeigersinn, ergibt die Konfigurationsbezeichnung am asymmetrischen C-Atom, dem Chiralitätszentrum:

- R- (rectus, rechts - im Uhrzeigersinn)
- S- (sinister, links - im Gegenuhrzeigersinn)

Die Einteilung der Aminosäuren erfolgt jedoch nicht nach dem R-S-System, sondern nach der Einteilung von Stereoisomeren nach der Fischer'schen Projektionsformel. Dieses soll am Beispiel von Alanin verdeutlicht werden:

Modell von L-Alanin

Man denkt sich das asymmetrische C-Atom in der Papierebene liegend. Nach einer Konvention werden die Kohlenstoffatome der Kette hinter der Papierebene angeordnet. Die Kette wird so orientiert, daß das Ende mit der höheren Oxidationsstufe nach oben zu liegen kommt. Die Substituenten des α -C-Atoms liegen vor der Papierebene. Durch Fällen des Lotes von den Substituenten auf die Papierebene wird das Molekül in die Ebene projiziert:



L-Alanin

Liegt dann die NH_2 -Gruppe links vom α -C-Atom, wo wird das Molekül als L-(lavo) Alanin bezeichnet, liegt sie aber rechts vom α -C-Atom, so haben wir D-(dextro) Alanin vorliegen.

Am Aufbau der Proteine sind nur L-Aminosäuren beteiligt. In Bakterienzellwänden und Tumorzellen sind jedoch auch D-Aminosäuren nachgewiesen worden. Die zwanzig proteino-genen Aminosäuren lassen sich in verschiedene Gruppen einteilen:

- I Hydrophobe Aminosäuren:
 - aliphatische AS
 - Valin, Leucin, Isoleucin
 - aromatische AS
 - Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan
- II Hydrophile Aminosäuren:
 - saure AS
 - Glutaminsäure, Asparaginsäure
 - basische AS
 - Lysin, Arginin, Histidin

III Die restlichen Aminosäuren werden als ambivalente AS zusammengefaßt:

Glycin (prochiral, da R=H), Alanin, Prolin, Serin Threonin, die Säureamide Glutamin, Asparagin, die schwefelhaltigen AS Cystein, Methionin

II. Nachweise der funktionellen Gruppen von Cystein

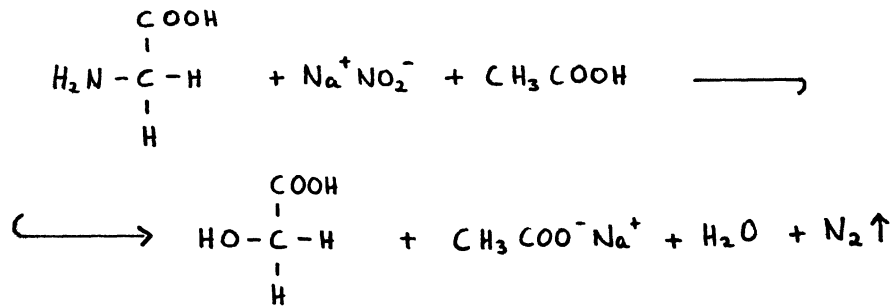
NH₂-Gruppe: Desaminierung von Glycin



Bei dieser Reaktion können freie Aminogruppen durch Reaktion der Aminosäure mit salpetriger Säure bestimmt werden. Unter Abspaltung von Stickstoff werden die α-Hydroxysäuren gebildet.

Versuchsdurchführung:

In einem Reagenzglas werden zu 5ml 1-m-Glycinlösung 1ml Eisessig und 5ml 1-m-NaNO₂-Lösung hinzugegeben und durch Schütteln gemischt. Es tritt eine lebhafte Gasentwicklung ein. Das entstehende Gas wird durch negative Nachweise von H₂ (Knallgasprobe), O₂ (Glimmspanprobe) und CO₂ (Barytwasser) als Stickstoff identifiziert.

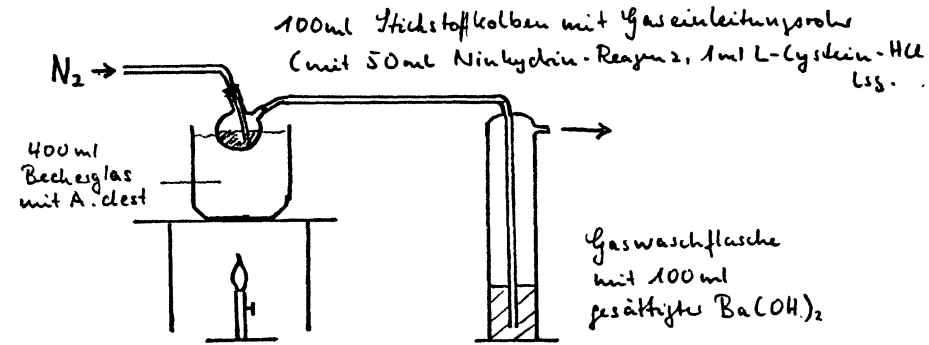


COOH-Gruppe: Decarboxylierung



Die Carboxylgruppe der Aminosäure läßt sich durch Decarboxylierung mit Ninhydrin (Triketohydrindenhydrat) und Fällung des entstehenden CO₂ als BaCO₃ nachweisen. Ninhydrin ist ein Reagenz auf α-Aminosäuren; gleichzeitig wird also auch die α-Stellung der NH₂-Gruppe nachgewiesen.

Versuchsaufbau:



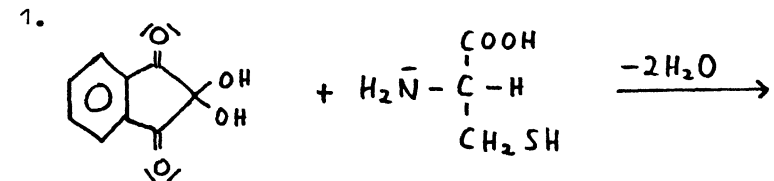
Dieser Versuch funktionierte aus unerklärlichen Gründen nicht. Es kam keine Fällung von BaCO₃ zustande und somit konnte kein direkter Nachweis für CO₂ erfolgen.

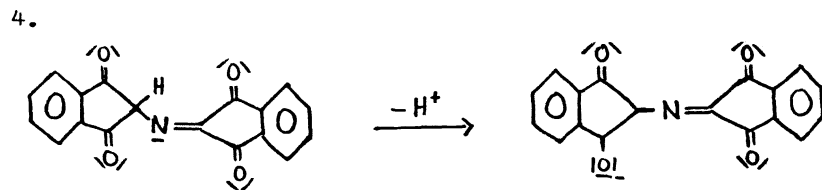
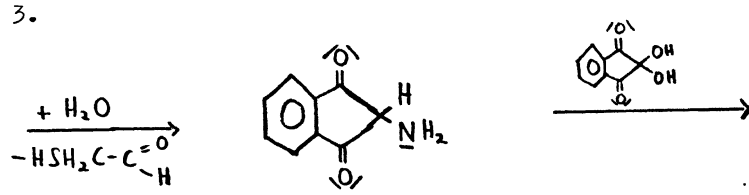
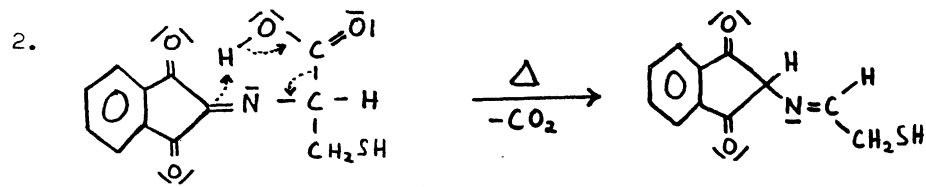
Mögliche Fehlerquellen:

- zu geringe Konzentration der eingesetzten Aminosäure
- nach Einfüllen des Ninhydrin-Reagenzes zu lange belüftet
- Aparatur undicht

Trotzdem gelang der Nachweis des charakteristischen violetten Ninhydrin-Farbkomplexes.

Reaktionsmechanismus:





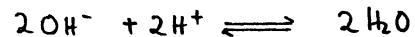
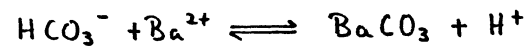
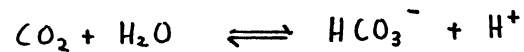
ad.1: Stabilisierung der Hydratform des Ketons durch die Nachbarschaft zweier elektronenziehender Gruppen (C=O)

ad.2: Produkt der Dekarboxylierung ist eine Schiff'sche Base

ad.3: Hydrolyse der Schiff'schen Base

ad.4: Farbkomplex enthält delokalisiertes Elektronensystem

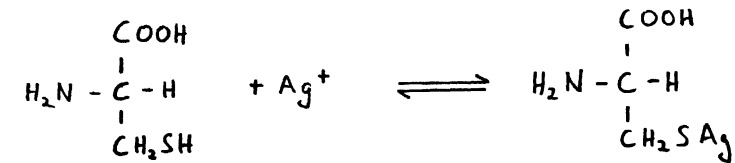
CO₂-Nachweis:



SH-Gruppe: Einige Aminosäuren zeichnen sich durch Besitz einer schwefelhaltigen Gruppe, der Sulfhydrylgruppe aus. Diese wird durch Fällung als Silbermercaptid nachgewiesen. Eine mit verdünnter H₂SO₄ angesäuerte Lösung von L-Cystein wird mit einigen Tropfen einer 0,1-m-AgNO₃-Lösung versetzt. Es fällt das gelblich-weiße Silbermercaptid aus.

3

Reaktionsgleichung:



Im Versuch wurde irrtümlich L-Cystein-HCl verwendet, sodaß ein weißlicher Niederschlag von AgCl ausfiel.

III. Aminosäuren in wässriger Lösung

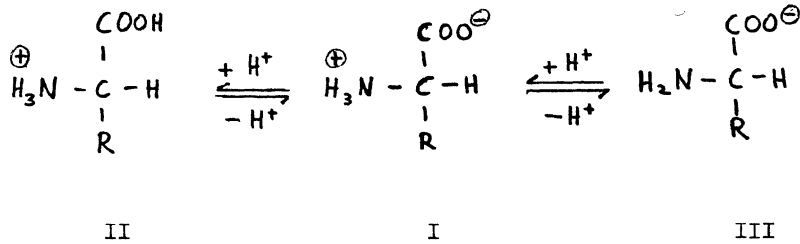
1. Broenstädt - Säure - Basen - Beziehung

Bei den vorausgegangenen Nachweisen für die funktionellen Gruppen von Aminosäuren wurde die Aminosäure immer mit der allgemeinen Formel $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ | \\ \text{H}_2\text{N} - \text{C} - \text{H} \\ | \\ \text{R} \end{array}$ charakterisiert. Diese gibt jedoch nicht die wahre Struktur der Aminosäure in wässriger Lösung wieder.

Aminosäuren liegen in neutraler, wässriger Lösung als sogenannte Zwitterionen vor, wobei sowohl die Carboxylgruppe als auch die Aminogruppe dissoziiert vorliegen.

Durch Ansäuern der Lösung wird die COO⁻-Gruppe protoniert und die Aminosäure liegt als Kation vor. Durch Zugabe von

Alkali wird die NH_3^{\oplus} -Gruppe deprotoniert, und die Aminosäure liegt nun als Anion vor. Die Aminosäure kann somit als Säure oder als Base fungieren. Diese Eigenschaft nennt man amphoterisch.



In einer Aminosäurelösung stellt sich ein Gleichgewicht zwischen I und II oder I und III ein, abhängig von der Dissoziationskonstanten der Säure- bzw. Aminogruppe und dem pH-Wert der Lösung.

An einem bestimmten pH-Wert wird fast ausschließlich die zwitterionische Form I (neben wenig, aber genau gleich viel der Aminosäure II und III) vorliegen. Dieser pH-Wert wird als isoelektrischer Punkt bezeichnet (IEP). Am IEP erscheint die Aminosäure nach außen hin ungeladen, obwohl sie Dipolcharakter mit positiver und negativer Ladungsverteilung besitzt.

Versuch: amphotere Eigenschaften einer Aminosäure

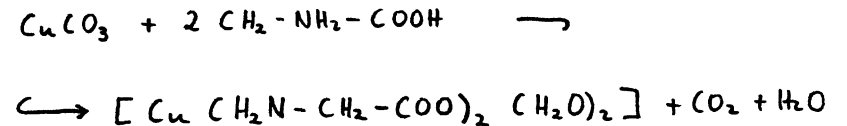
4

In 3 Reagenzgläsern befinden sich je 4g Glutaminsäure. Dazu werden jeweils gleiche Mengen von 2n HCl bzw. 2n NaOH oder Wasser gegeben. In den Reagenzgläsern mit HCl bzw. NaOH wird die Aminosäure gänzlich gelöst, während in wässriger Lösung ein Niederschlag bleibt. Dieses ist dadurch zu erklären, daß in wässriger Lösung die Aminosäure Glutaminsäure einen Ph-Wert von ca. 6 besetzt. In diesem Bereich liegt auch der IEP für Glutaminsäure, also der Punkt der maximalen Zwitterionenkonzentration. Eine Protolyse mit Wassermolekülen tritt wegen der nach außen hin neutralen Ladung nur in geringem Umfang ein. (Löslichkeit von Glutaminsäure in Wasser bei 20°C ca. 0.5g

2. Lewis - Säure - Basen - Beziehung

Manche Aminosäuren bilden mit wäßrigen Lösungen von Metallsalzen charakteristische, farbige Komplexverbindungen. Dabei bilden die Liganden der Aminosäure als Lewis-Base mit einem freien Elektronenpaar eine koordinative, kovalente Bindung mit dem Zentralatom (Metallkation) als Lewis-Säure.

Als Beispiel soll hier die Darstellung von Kupfer (II)-aminoazetat dienen. Zu einer Glycinlösung im Reagenzglas wird Kupferkarbonat gegeben, zum Sieden erhitzt und nach ca. 1 Minute die entstandene blaue Lösung auf eine Uhrglasschale filtriert.



Beim Abkühlen kristallisiert Kupfer (II)-aminoazetat (Glyzinkupfer) in Form feiner Nadeln aus.

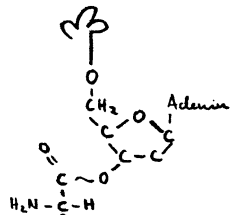
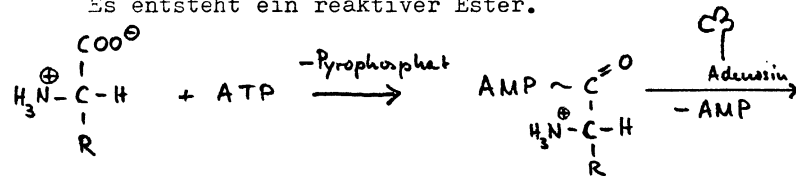
IV. Peptidbindung

Biologische Bedeutung besitzen die Aminosäuren wegen ihrer Fähigkeit zur Ausbildung von Peptidbindungen. Dabei kondensiert die NH_2 -Gruppe der einen Aminosäure mit der COOH -Gruppe der anderen zu einem Dimeren; die Kondensation kann weitergehen. Allerdings ist die Reaktion nicht so einfach wie hier dargestellt. Die COOH -Gruppe besitzt zu wenig Carbonylaktivität, um einen nukleophilen Angriff der NH_2 -Gruppe zu ermöglichen. Auch ist für das biologische System von Bedeutung, in welcher Folge die Aminosäuren im Polypeptid angeordnet sind (Beispiel: Regen \neq Neger). Daher ist

es nicht möglich, mit einfachen Mitteln ein Polypeptid zu synthetisieren. Im folgenden sei kurz erklärt, wie im biologischen System die Probleme der Aktivierung und Spezifität bei der Proteinsynthese gelöst wird.

1. Aktivierung:

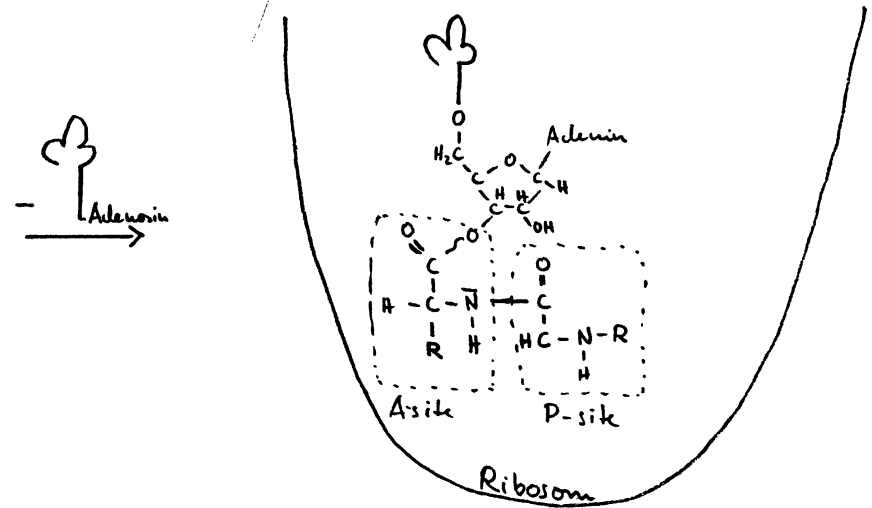
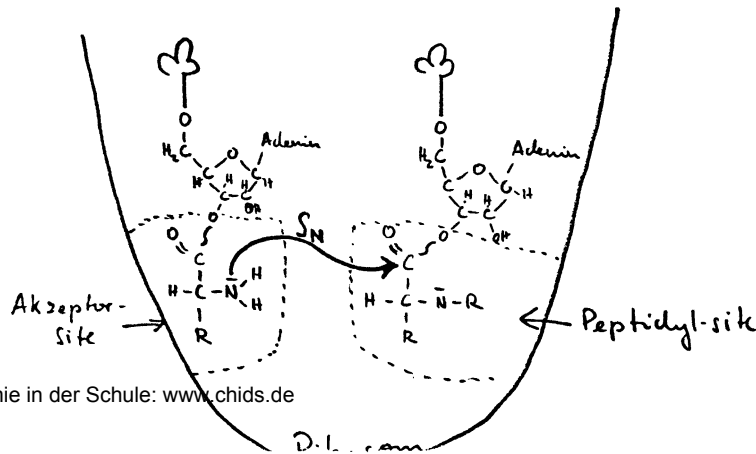
Die Aktivierung erfolgt durch Bildung eines gemischten Anhydrids mit einem Phosphatrest von ATP unter Abspaltung von Pyrophosphat. Das entstandene Anhydrid reagiert mit dem C₃-Alkohol des endständigen Adenosins einer t-RNA. Es entsteht ein reaktiver Ester.



zum Ribosom →

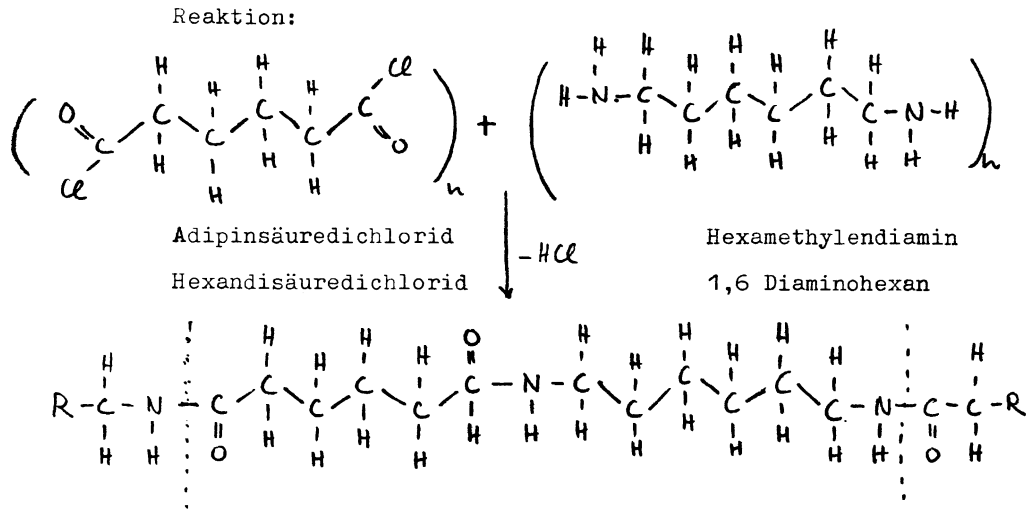
2. Knüpfen der Peptidbindung unter Beachtung der Spezifität

Die Peptidbindung wird am Ribosom als Protein-Synthesemaschine gebildet. Die Spezifität wird durch die Aktivierung der COOH-Gruppe zum reaktiven Esther erreicht: Synthese kann nur in einer Richtung erfolgen. Die Vorgänge im Detail:



Am Ribosom unterscheiden sich zwei Bereiche, der Akzeptor-Site, an dem neuankommende t-RNA-Aminosäure-Komplexe angelagert werden und der Peptidyl-Site, an dem die Knüpfung der Peptidbindung abläuft. Dazu wird die Aminosäure am Peptidyl-Site vom C₃-Alkoholester zum Adenosin umgeestert zur Säureamidbindung zu dem t-RNA-Aminosäurekomplex am Akzeptor-Site. Die freiwerdende t-RNA kann wieder an eine Aminosäure gekoppelt werden. Anschließend rückt der neuentstandene t-RNA-Peptid-Komplex auf den Peptidyl-Site, der nun freigewordene Akzeptor-Site kann von dem nächsten t-RNA-Aminosäure-Komplex eingenommen werden.

Als Analogreaktion kann die Polyamidsynthese am Beispiel der Nylonsynthese demonstriert werden. Dazu überschiebt man in einem Reagenzglas eine Lösung von Adipinsäuredichlorid in CCl₄ mit einer Lösung von Hexamethyldiamin in Wasser. An der Phasengrenze findet eine Polymerisation statt. Ergreift man das Polymerisat mit einem geeigneten Haken, läßt sich ein Nylonfaden aus dem Reagenzglas ziehen. Man führe diesen Versuch als Microprojektion durch.

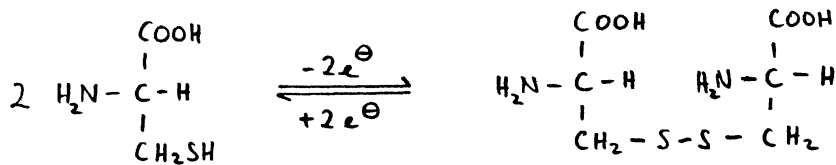


Polyamid-1,6-(Polyhecamethylenadipamid) = NYLON

V. Redoxreaktionen mit Cystein

Die Oxidation mit Cystein durch O₂ in Fe³⁺-haltiger Lösung läßt sich sehr gut demonstrieren. Man gibt zu einer 0,1 m-Cystein-HCl-Lösung einige ml 1% FeCl₃-Lösung. Es bildet sich ein tiefblauer Cysteinoferrat (III)-Komplex. Dann gibt man einige ml der 1% FeCl₃-Lösung zu einer 0,1 m -Cystein-Lösung. Auch hier entsteht ein tiefblauer Komplex. Dieser entfärbt sich jedoch sofort wieder. Man kann den Versuch mehrfach wiederholen. Nach einiger Zeit entfärbt sich auch der Ansatz in saurer Lösung. Cystein ist in saurer Lösung stabiler gegen Oxidation.

Reaktion:



Es entsteht schwerlösliches Cystin, das Dimere des Cystein. Im Cystin nimmt der Schwefel die Oxidationsstufe - 1 ein. Die Reaktion läuft also unter Abgabe von zwei Elektronen ab. Biologisch ist diese Reaktion von großer Bedeutung. Durch diese Oxidation von Cystein zu Cystin wird die Struktur von Proteinen bestimmt. Die Proteinstruktur setzt sich aus mehreren Elementen zusammen: Als Primärstruktur wird die Aminosäuresequenz bezeichnet. Der entstehende Polypeptidfaden kann sich zur α-Helix aufdrehen (Sekundärstruktur). Dieses wird durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen benachbarten C=O und R - N - R Gruppen stabilisiert. Die Tertiärstruktur wird durch Aufknäulung der α-Helix gebildet. Sie wird durch Reduktion von benachbarten Cysteinmolekülen zu Cystin-Disulfidbrücken stabilisiert.

Die Bedeutung von Cystin-Disulfidbrücken für die Proteinstruktur läßt sich anhand der Dauerwelle eindrucksvoll demonstrieren: Man läßt die reduzierende Wellotion mindestens 20 min auf das aufgedrehte Haar einwirken. Dann spült man gründlich mit Leitungswasser. Man fixiert mit Fixierlösung (kurz einwirken lassen), spült erneut und trocknet mit einem Föhn. Die Wickel wird entfernt und das Haar ausgekämmt. Reagenzien beim Friseur besorgen.

Reaktionen:

