

Métodos de separação dos aminoácidos

- **Carga**
- **Polaridade**

CARGA

Cromatografia de Troca Iônica

Etapas:

- Adsorção

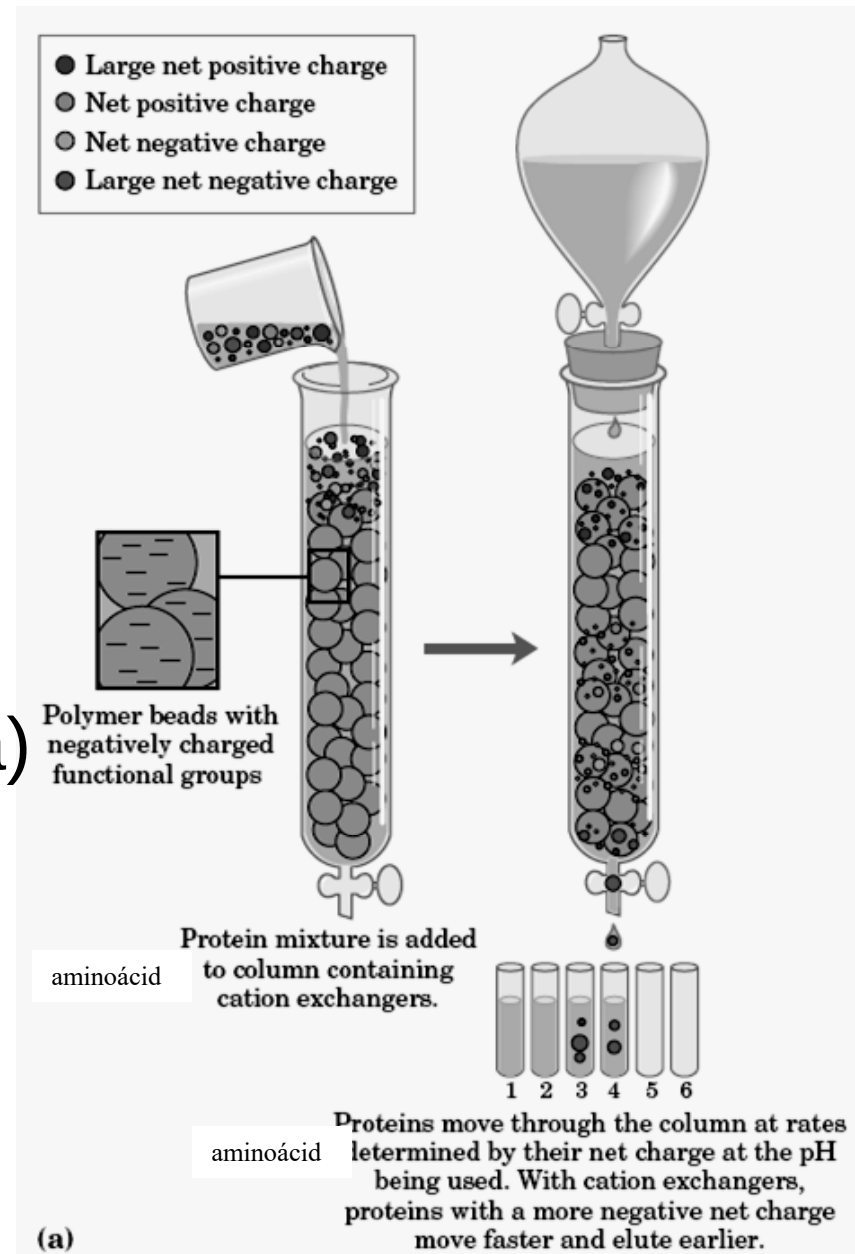
(pH do eluente, tipo de resina)

Anionica (+)

Cationica (-)

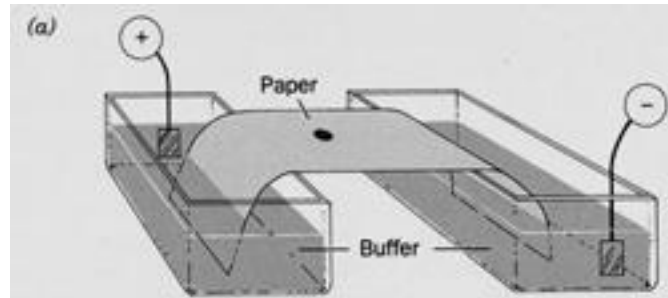
- Eluição

(NaCl ou Troca de pH)

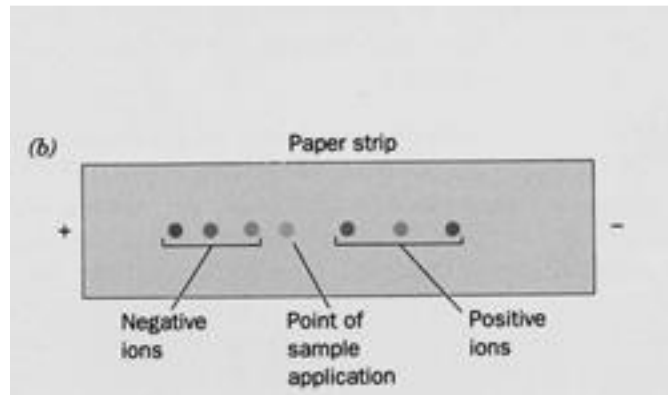


Elektroforese em Papel

Aparato



Revelação



Exercícios:

1) Qual a ordem de eluição dos seguintes aminoácidos quando aplicados numa coluna catiónica em pH 3,2: alanina (pI 6,02), arginina (pI= 10,76), ácido glutâmico (pI=3,22) serina (pI=5,68) e triptofano (pI=5,88)?

2) Quais são as mobilidades eletroforéticas relativas em pH 5,68 dos cinco aminoácidos dados no problema 1?

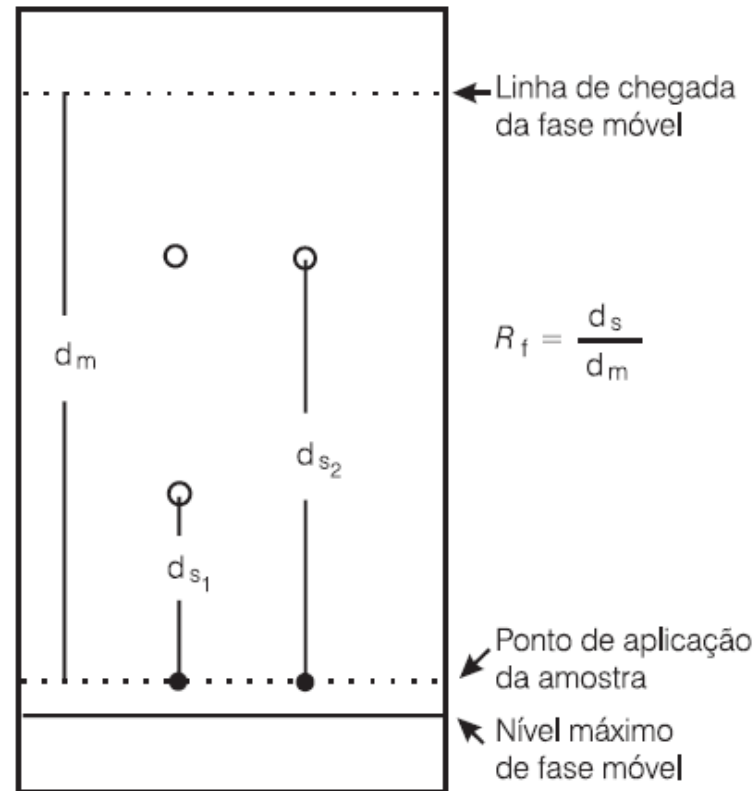
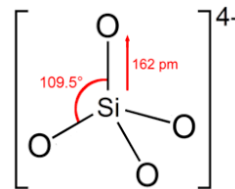
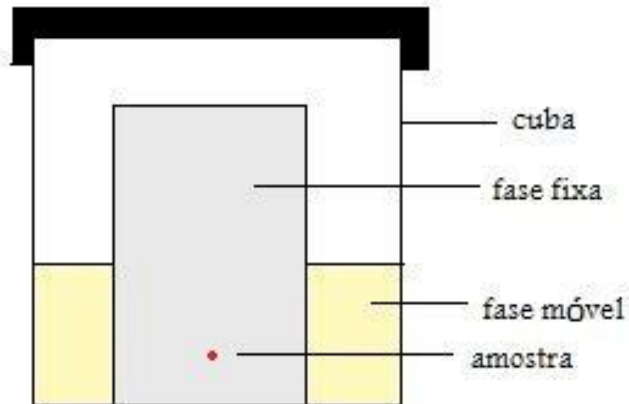
Resposta exercício 1

	PI	Carga líquida no pH 3,2	Eluição (gradiente de concentração de NaCl)
Ala	6,02	+3	1º - Glu
Arg	10,76	+7	2º - Ser
Glu	3,22	0	3º - Trp
Ser	5,68	+2,4	4º - Ala
Trp	5,88	+2,6	5º - Arg

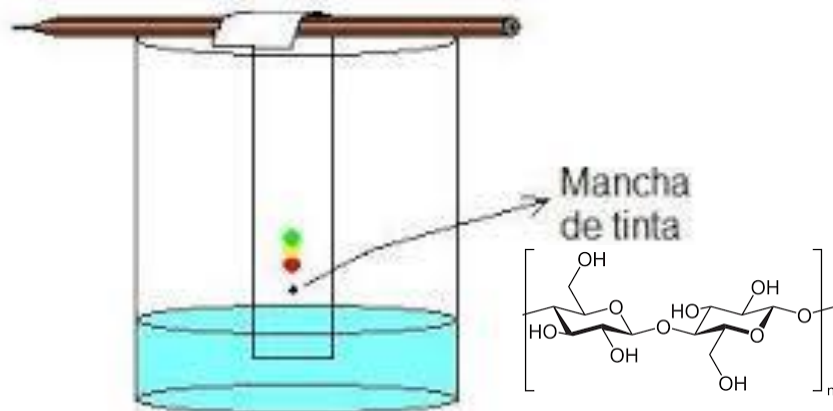
Resposta exercício 2

	PI	Carga líquida no pH 5,68	Polo - migração
Ala	6,02	+0,34	catodo
Arg	10,76	+5,08	catodo
Glu	3,22	-2,46	anodo
Ser	5,68	0	Não migra
Trp	5,88	+0,2	catodo

1 - Cromatografia fina ou camada delgada

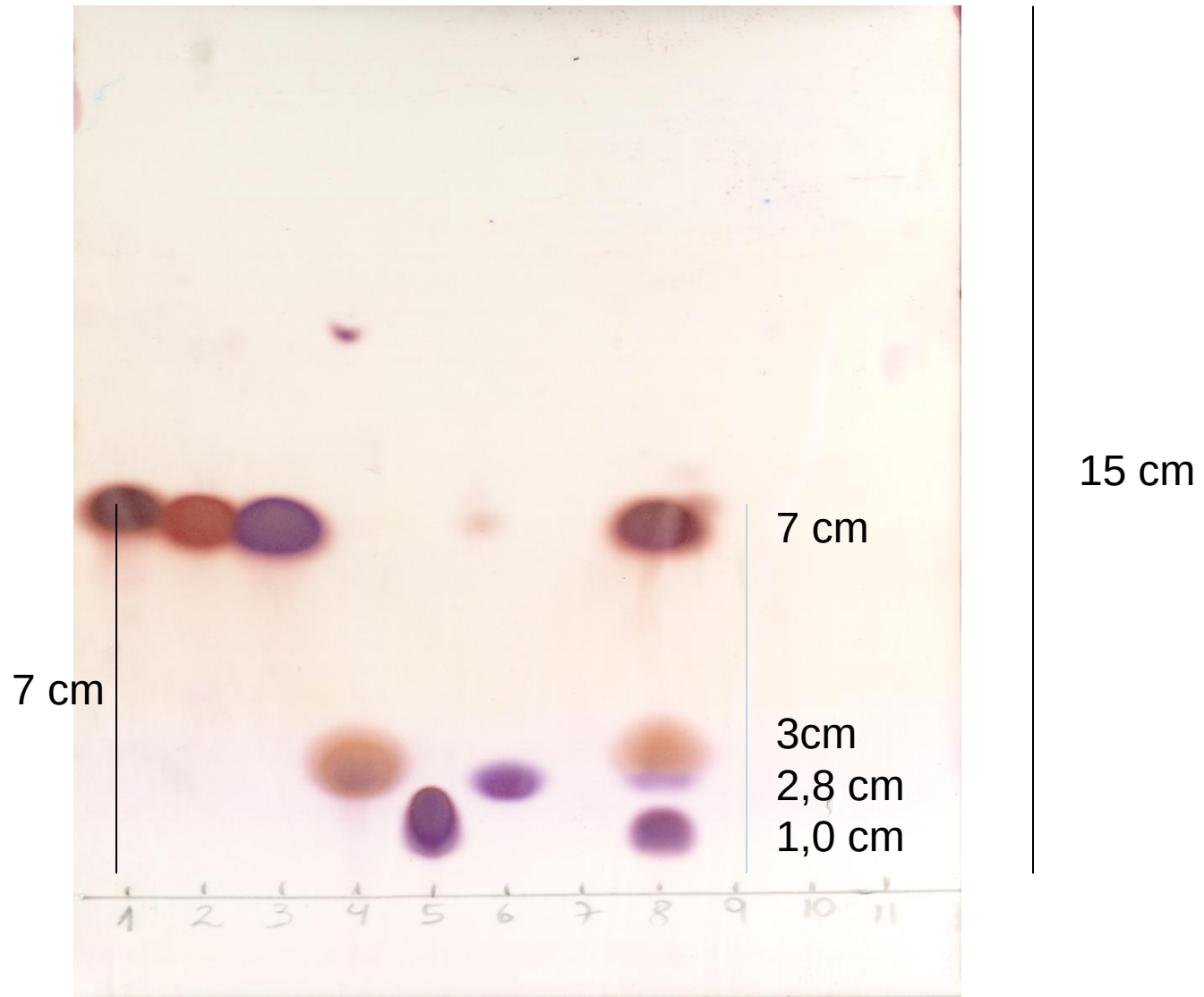


2 - Cromatografia em papel



fator de retenção (R_f), o qual é a razão entre a distância percorrida pela substância em questão e a distância percorrida pela fase móvel.

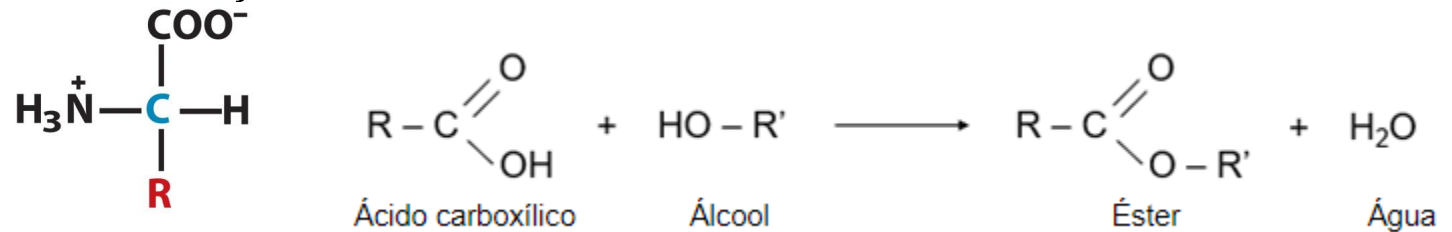
Revelação



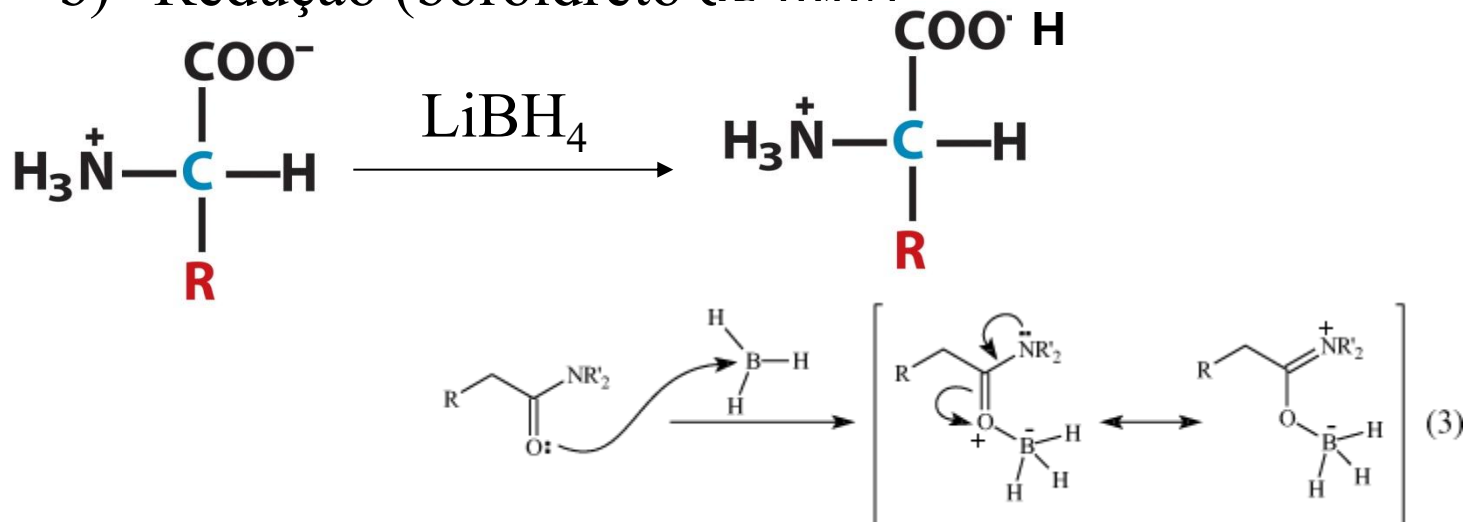
Reatividade dos aminoácidos

1) Reações dos grupamentos carboxílicos

a) Esterificação com etanol



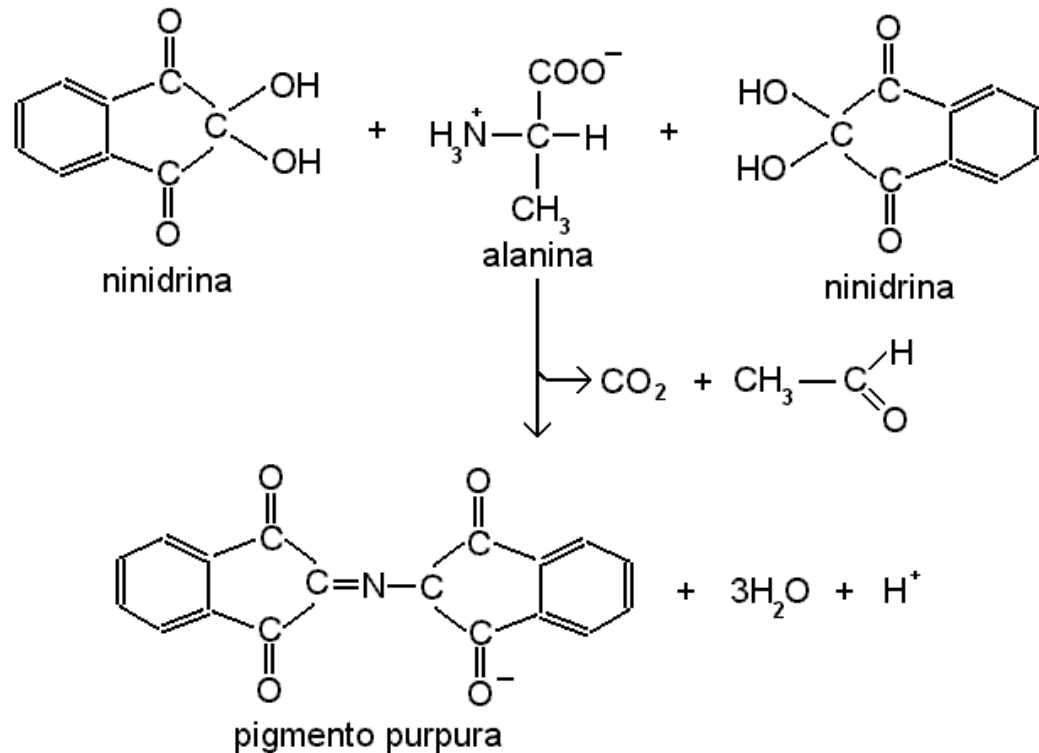
b) Redução (boroidreto de lítio)

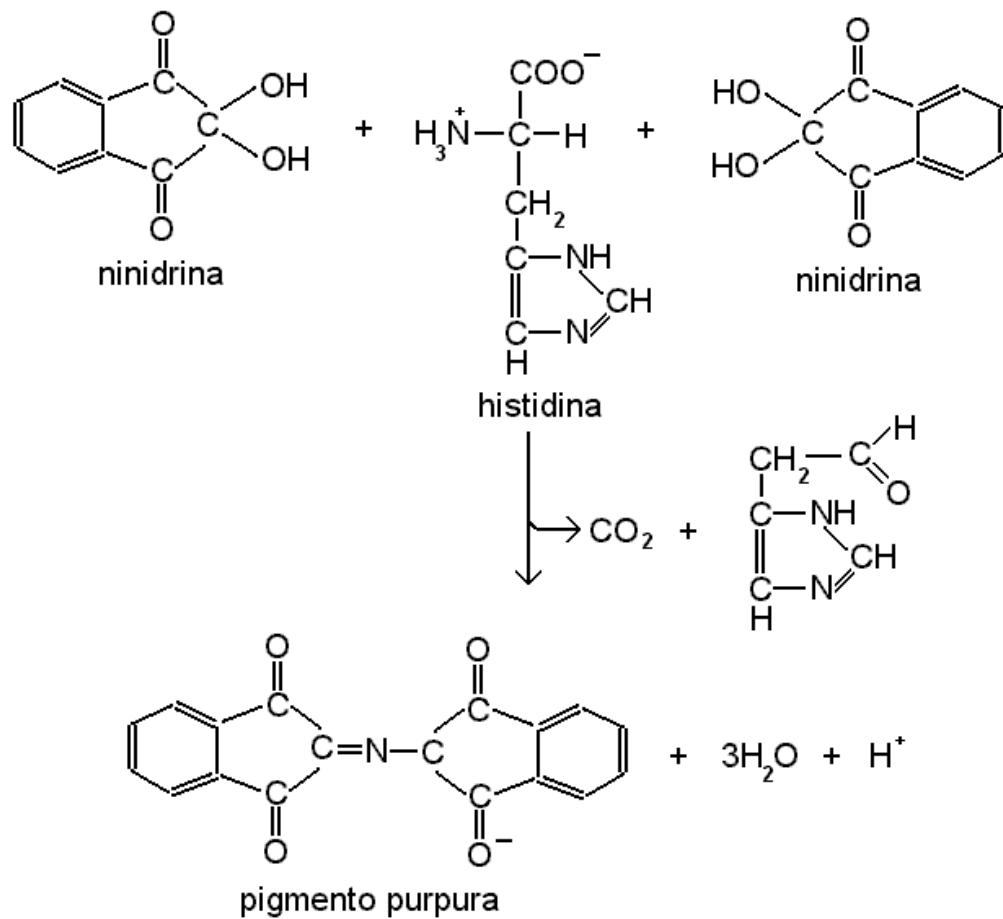


2) Reação do aminogruppo

Ninhidrina

O aminoácido é degradado ao aldeído mais próximo e CO_2 . O reagente se combina com a amônia liberada e produz a coloração azul.

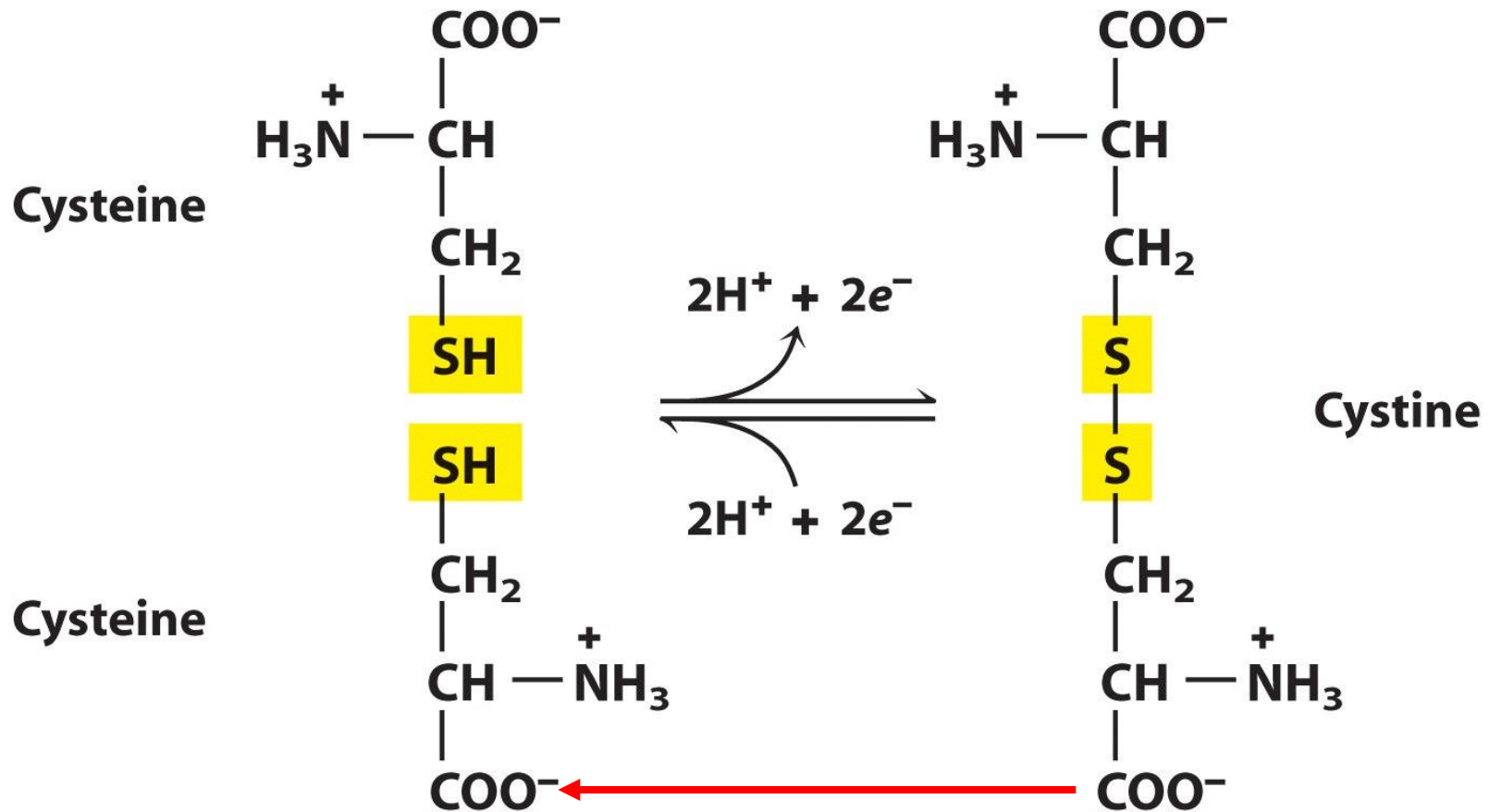




3) Reações do grupo R

Cisteína - Reação com Hg^{+2} e Ag^{+} - Formam mercaptídeos

Ligações dissulfeto

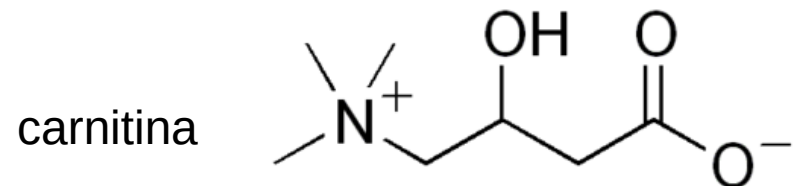
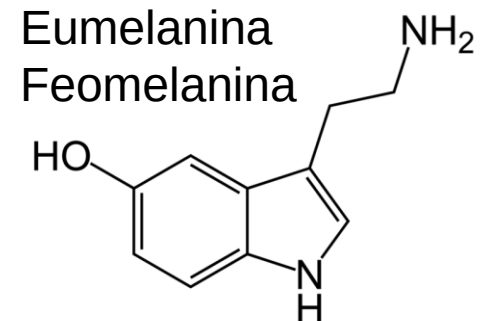
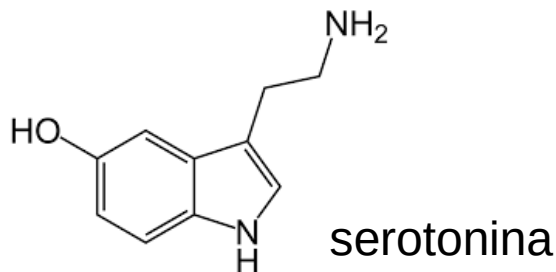
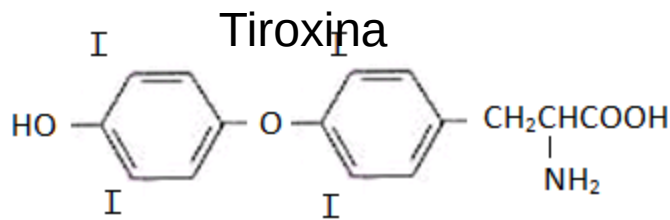


Mercaptoetanol

Outras funções dos aminoácidos:

- fornecem substâncias precursoras para os componentes endógenos:

- síntese de **tiroxina** a partir da tirosina
- síntese de **melanina** a partir da tirosina
- síntese de **serotonina** a partir do triptofano
- síntese de **carnitina** a partir de lisina e metionina



Tiroxina – hormônio (quando T4 está alto hipertireoidismo e quando está baixo hipotireoidismo)

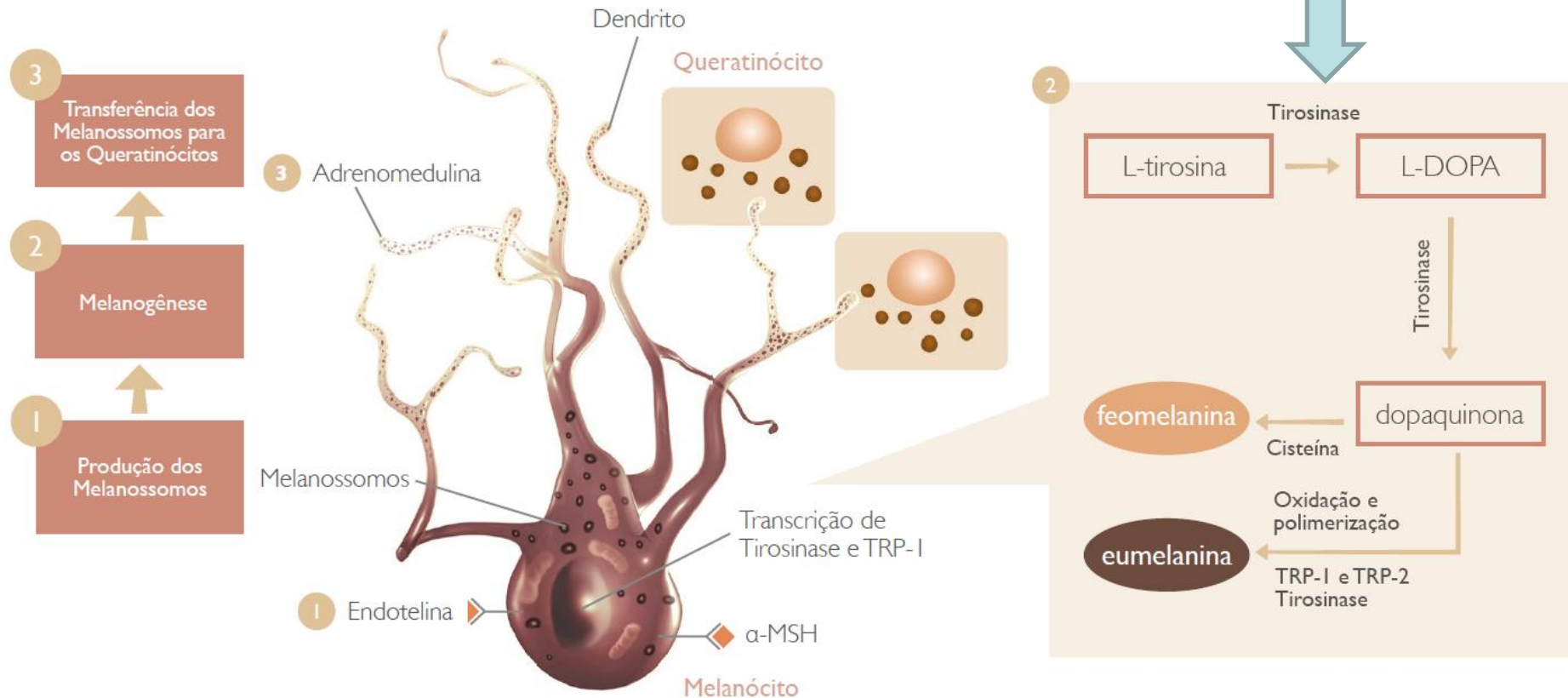
Serotonina – neurotransmissor (inibe a ira, agressão, humor, sono, apetite)

Carnitina – provoca a oxidação de gordura durante o exercício

Hiperpigmentação cutânea

- As hiperpigmentações cutâneas surgem devido a uma exacerbada produção de melanina
- Olheiras
- Sardas
- Melasma (fatores genéticos, gestação, terapias hormonais, disfunção da tireóide, cosméticos e medicamentos fototóxicos)

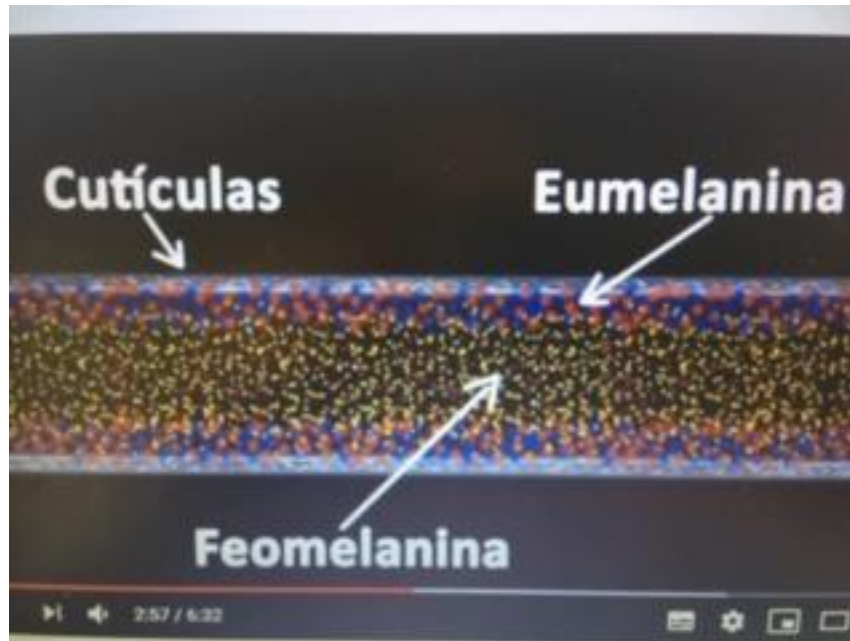
enzima tirosinase, que é responsável pela conversão de L-Dopa em melanina, é o principal alvo de atuação da maioria das substâncias clareadoras da pele



Quais os agentes despigmentantes mais comercializados?

- 1) hidroquinona (inibe tirosinase)
- 2) ácido glicólico (descamação)
- 3) ácido kójico (quelação do íon cobre presente no local ativo da tirosinase que interfere na formação de melanina a partir da tirosina)
- 4) vitamina C tópica (atua na redução da produção da melanina convertendo Dopamina em Dopa, sua forma reduzida, atua também na quelação de íons de cobre, causando o bloqueio da atividade da tirosinase)

Curiosidade: Qual é a cor do seu cabelo?



Mistura das cores

- Amarelo
- Vermelho
- Azul

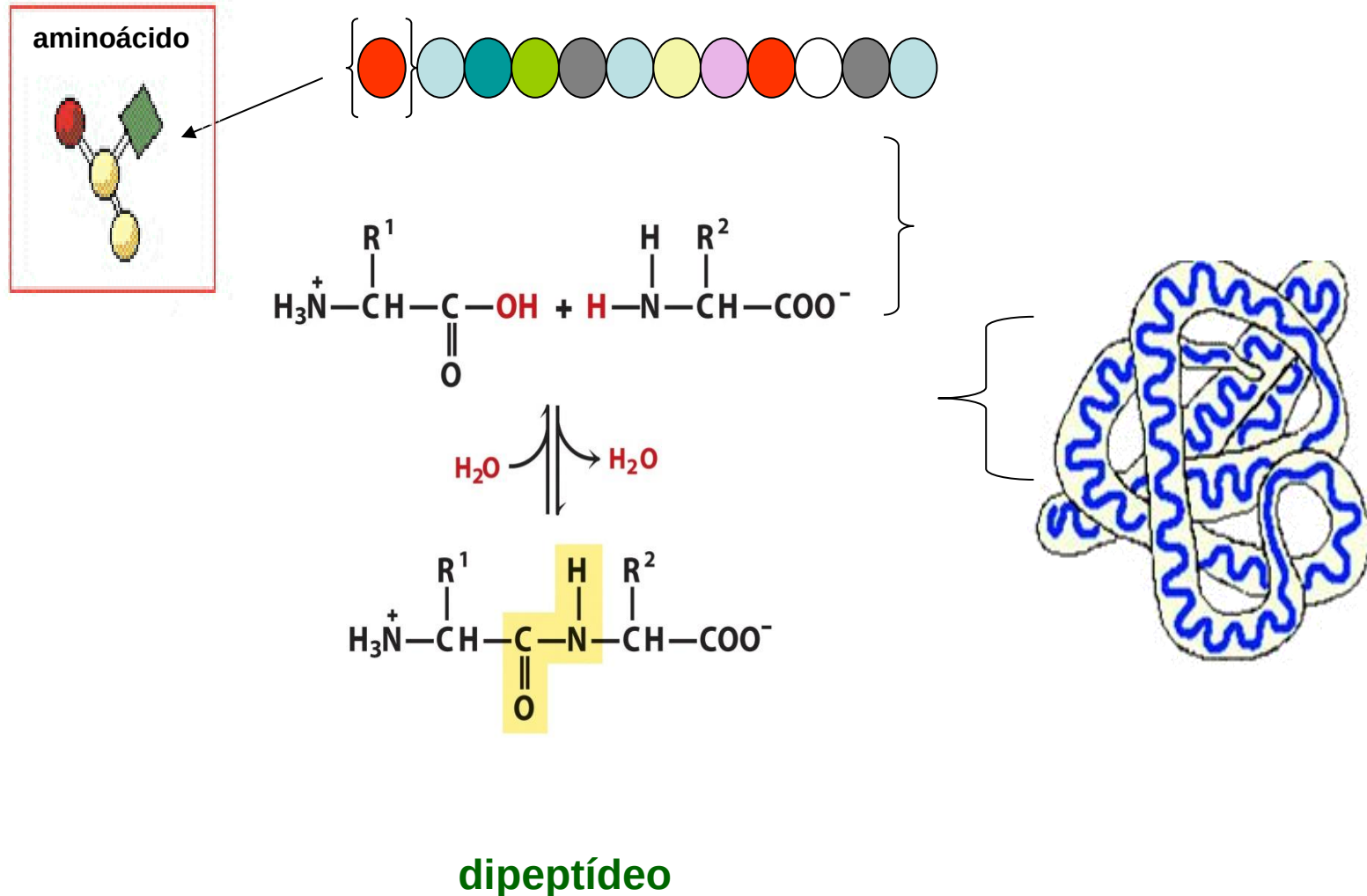
Eumelanina – (pigmentos azuis e vermelhos) - cabelo castanho e preto

Feomelanina – (pigmentos vermelho e amarelo) - cabelo castanho avermelhado e louro

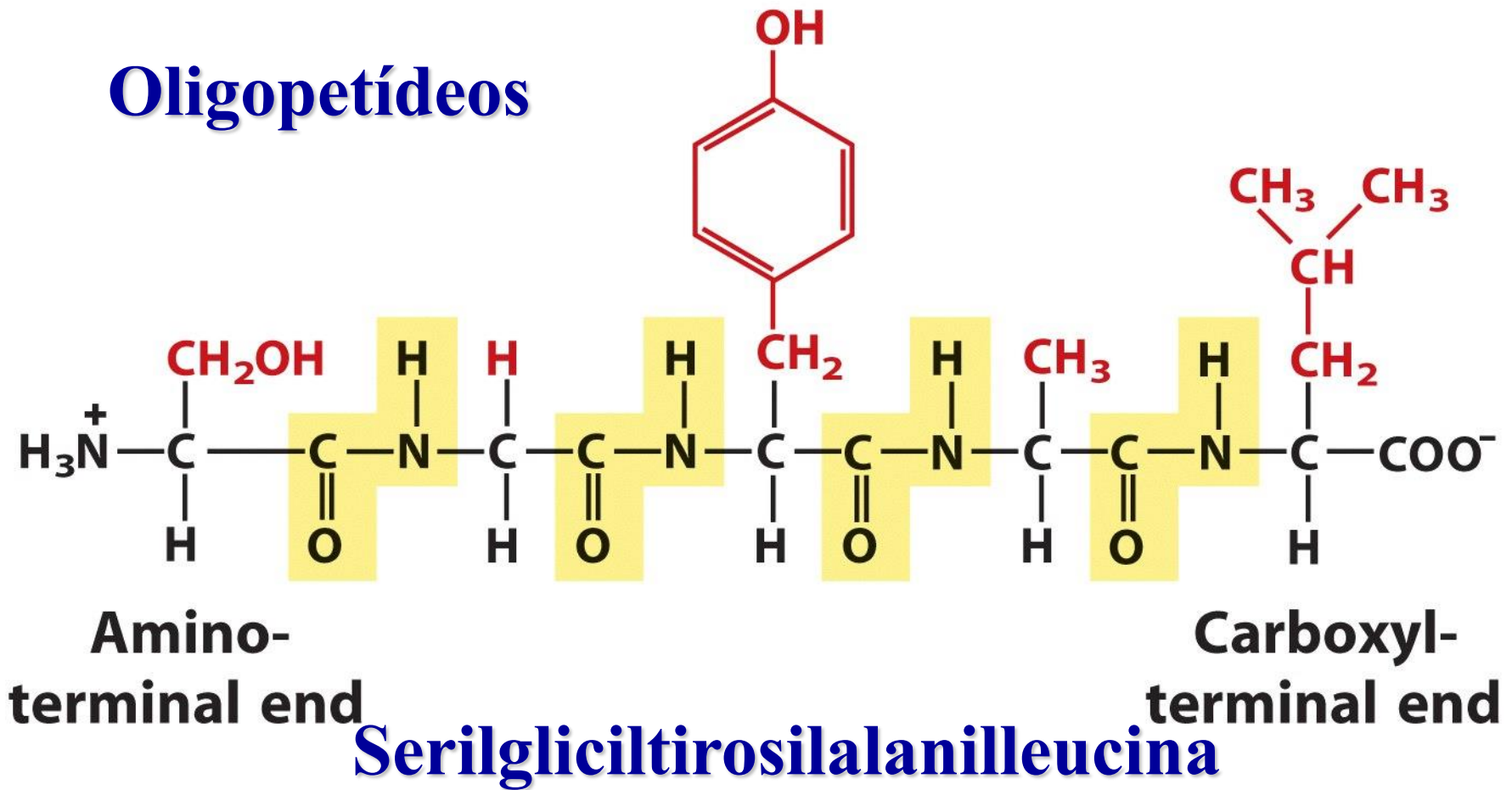
Canície – embranquecimento dos cabelos – melanóitos incapazes em produzir pigmentos

Peptídeos e proteínas

Como se forma uma Ligação peptídica?



Oligopetídeos



Quantas moléculas de água são perdidas na formação de um pentapeptídeo?

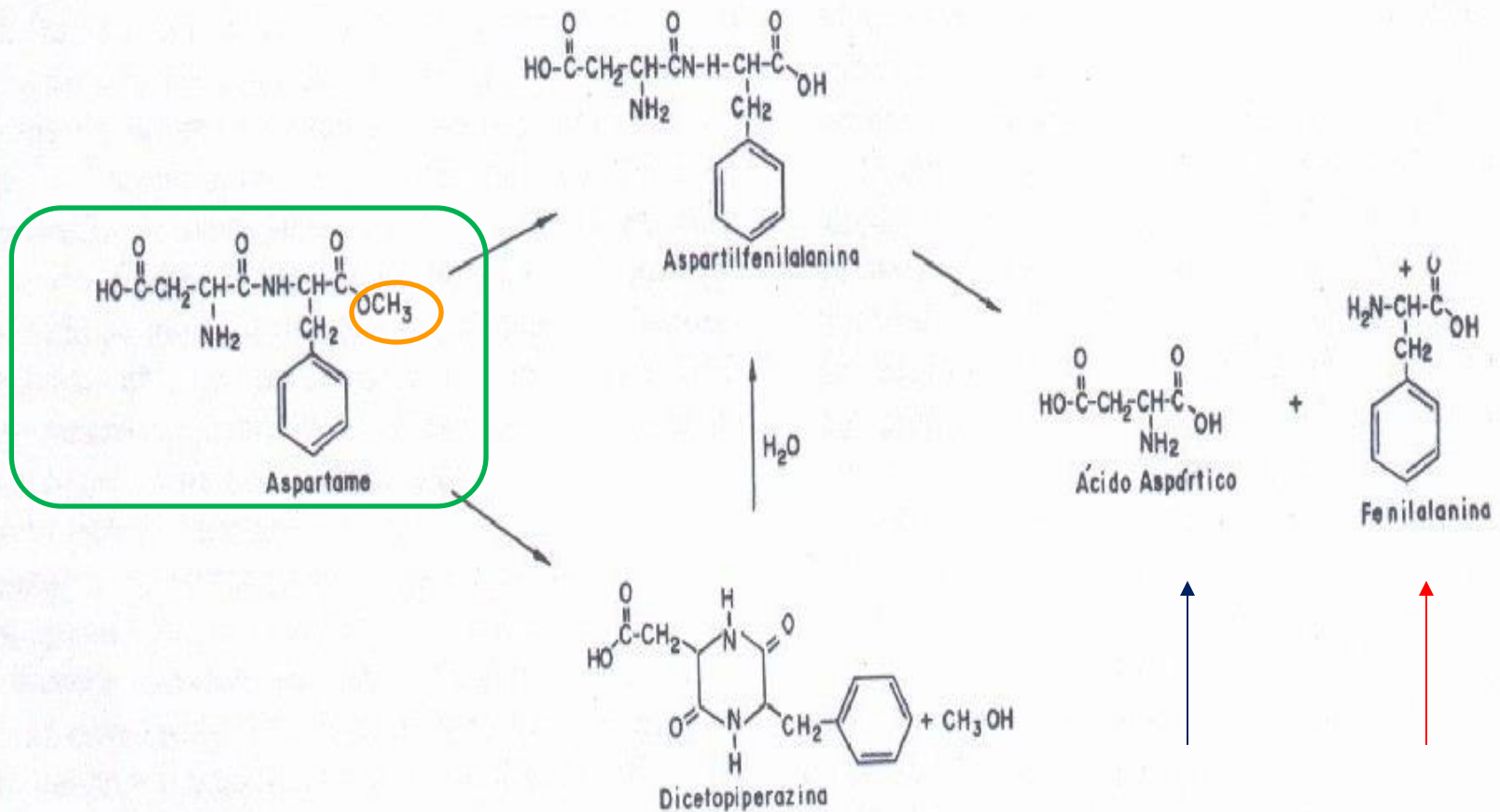
Propriedades ácido-básicas dos peptídeos

Valores de pK de alguns aminoácidos e peptídeos

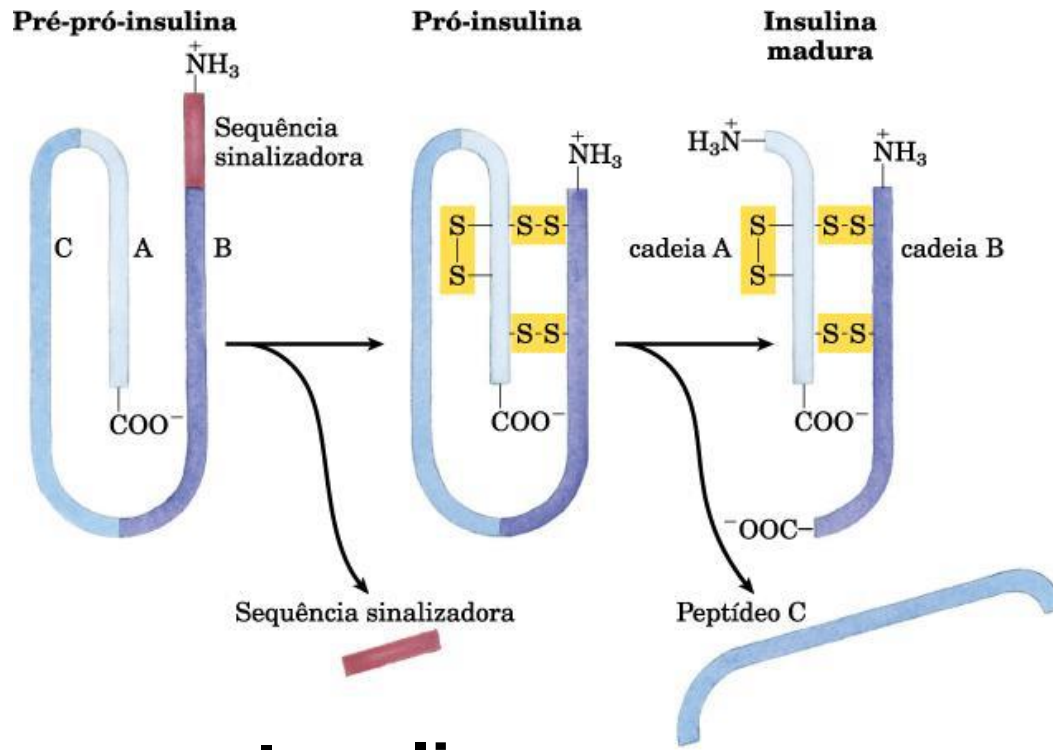
Aminoácido	pK ₁	pK ₂	pK _R	PI
Gly	2,34	9,6	-	5,97
Gly-Gly	3,06	8,13	-	5,59
Gly-Gly-Gly	3,26	7,91	-	5,58

Aspartame

(dipeptídeo – poder adoçante)

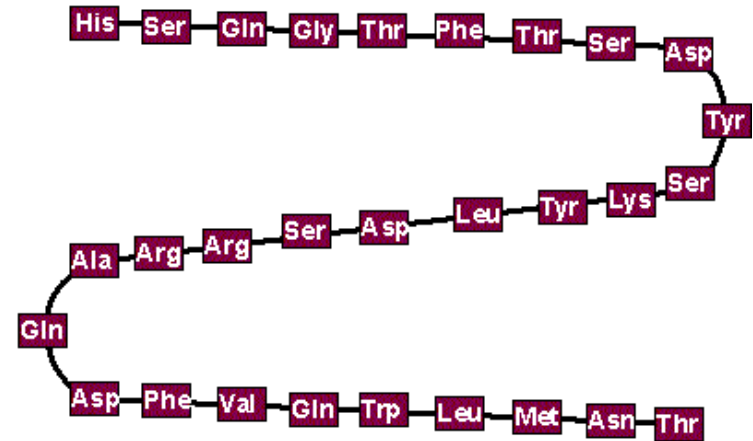


Peptídeos com atividade biológica



Insulina

1. Preproinsulina (**Líder**, cadeia **B**, cadeia **C**, cadeia **A**);
a proinsulina consiste em BCA, sem L
2. Dobra espontânea
3. As cadeias A (21 aa) e B (30 aa) ligadas **por enxofre**
4. As cadeias L and C são cortadas
5. Molécula de insulina final – 51 aa, 5,8 kDa



Glucagon

Uma única cadeia polipeptídica simples, 29 aminoácidos, PM=3,5 kDa

é hormônio produzido no pâncreas e nas células do trato gastrointestinal.

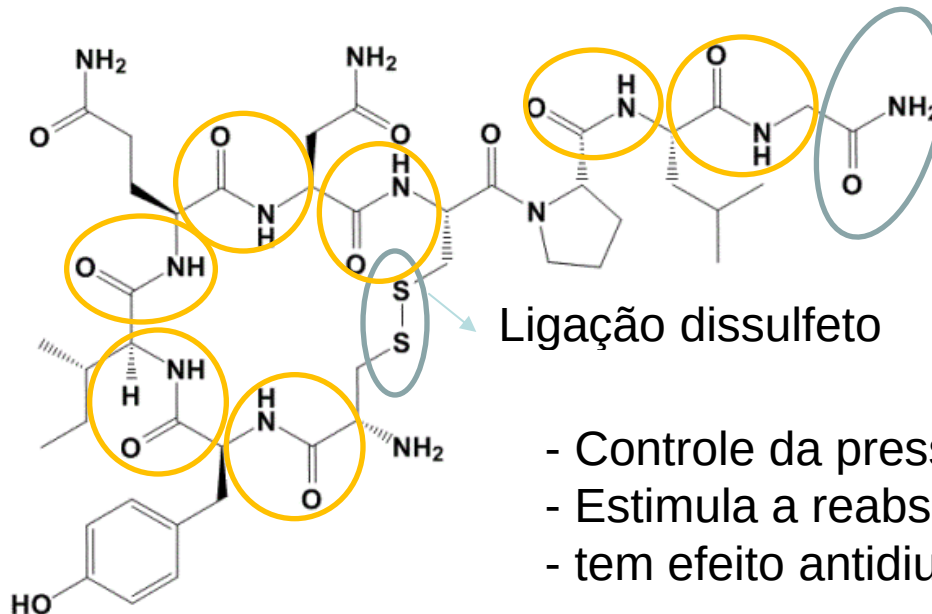
Alguns hormônios peptídicos importantes tem estruturas cíclicas:

Ocitocina

(cys - tyr - ile - gln - asn - cys - pro - leu - gly - NH₂) – PM 1007,19 g/mol

- Induz o parto e controla a contração do musculo uterino;
- Estimula o fluxo de leite

Cíclicas????



- Controle da pressão sanguínea
- Estimula a reabsorção de água pelos rins
- tem efeito antidiurético

Vasopressina (cys - tyr - Phe - gln - asn - cys - pro - Arg - gly - NH₂) ²²

Peptídeos anti-hipertensivos - inibe uma enzima que regula a pressão arterial - Angiotensina 1 não se converte em angiotensina 2
Ex . (Thr-Asp-Ile-Semet-Cys-Val-Lys)

Peptídeo antioxidantes (Entre os mais reativos estão os aminoácidos nucleofílicos que contém enxofre (cisteína e metionina), os aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina e fenilalanina) e a histidina por conter um grupamento imidazólico, que pode estar relacionada à eliminação de radicais livres e à atividade quelante de íons e à inibição da oxidação em lipídios .

Peptídeos antimicrobianos - Os peptídeos antimicrobianos (PAMs) são geralmente moléculas catiônicas que contém de 12 a 50 resíduos de aminoácidos, que interagem com os fosfolipídios aniônicos da membrana microbiana

Exemplos : 1)caseicidina apresentou efeito de inibição contra *Staphylococcus* spp., *Sarcina* spp., *Bacillus subtilis*, *Diplococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes*

2) Israicidina - Arg-Pro-Lis-His-Pro-Ile-Lis-His-Gln-Gli-Leu-Pro-Gln-Glu-Val-Leu-Asn-Glu-Asn-Leu-Arg-Phe ,

Tarefa – Próxima aula

Escolha uma proteína de interesse

Função

Número de aminoácidos

Sequência de aminoácidos

Quais as estruturas secundárias

Número de cadeias polipeptídicas

Estrutura tridimensional

Dica:

**NCBI
Protein
Structure**

**PDB (protein data bank)
Proteopedia**