سپاس خداوند

سپاس می گویم تو را ای خداوند مهر و ماه
برای تمام نعمت هایی که به من ارزانی داشتی
برای تمام روزهای آفتابی و برای تمام روزهای غمگین ابری و بارانی
برای غروبهای آرام و شبهای تاریک و طولانی
برای تمام چیزهایی که به من قرض دادی و باز پس گرفتی
برای تمام لبخند های محبت بار و دستهای یاری رسان
برای همه ی آن عشق و محبت و چیزهای شگفت انگیزی که دریافت کردم
برای تمام گل ها و ستارگان
برای تداوم حیات ، برای سر پناهی که در اختیارم نهادی
برای بر آورده کردن تمام نیازهایم
برای سلامتی و بیماری ، برای غم ها و شاد ی ها
برای تمام تنهایی ها، مسائل و مشکلات، تردیدها و اشک ها ،
چرا که همه ی این ها برای نزدیکتر شدن به تو یاری ام کردند.
پروردگارا از تو می خواهم آنقدر به من ایمان عطا کنی تا در هر آنچه بر سر راهم قرار می دهی تو را ببینم و خواستت را.
آنقدر امید و شجاعت تا نومید نشوم و عشق و محبت، هر روز بیشتر از روز قبل نسبت به خودت و آنان که اطرافم هستند.
پروردگارا به من قلبی فرمانبردار، گوشی شنوا، ذهنی هوشیار، و دستانی ساعی عنایت فرما تا بتوانم تسلیم رضایت گردم و آنچه را که برای رسیدن به کمال برایم خواسته ای بپذیرم
خدایا بر تمام عزیزانم برکت و بهروزی عطا کن و صلح و دوستی و آرامش بر قلوب انسان ها حاکم گردان.
امیدوارم بتوانم سبزترین خاطرات و بودن هایم را با آن هایی که دوستشان داشته ام مرور کنم و زیر شمشادهای باغچه مان چاله ای بکنم و در آن به خاک بسپارم تلخی های گذشته را.

تقدیر و تشکر

از اساتید بزرگوار و ارجمند جناب آقای دکتر نادر نوشیران زاده و جناب آقای دکتر علی رمضانی اساتید راهنمای این پروژه که در کسب علم و دانش و تجربه با تواضع روحی و اخلاقی و اقتدار علمی شان مرا یاری نمودند و من را امید دادند به فردا و نور ی گشتند از دریچه معرفت و آگاهی بر صفحات تحقیق من و لطف ایشان من را رسانید به سرمنزل مقصود، حال سپاس بی پایان دارم از ایشان که بزرگوارانه و انبیاءگونه من را رهسپار جاده های دانش نمودند و همراهم بودند، همسفری امین و صمیمی، از خداوند متعال برای ایشان سلامتی و سرافرازی روزافزون خواهانم.

از سرکار خانم فاطمه زینلی نصر آبادی استاد مشاور این پایان نامه که مرا یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از جناب آقای دکتر رسولی فرد و جناب آقای دکتر رحمانی که زحمت داوری این پایان‌نامه را بر عهده داشتند کمال تشکر را دارم.

از اساتید محترم گروه شیمی که در طول مدت تحصیل در این دانشگاه از راهنمایی های تک‌تک ایشان بهره‌مند شده‌ام کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از تمامی دوستانم که در طول مدت این دو سال همواره مشوق و پشتیبان من بودند کمال تشکر را دارم و امیدوارم که همواره موفق و مؤید باشند.

تشکر وسپاس

خدمت پدر

که بزرگ هستی و مهربان. آسمان دلت همچون آسمان دیدگانت پاک است و همه ی مهربانی ها به لبخند تو می رسند . صدای تو، آشناترین کلامی است که می شناسم . تو دفتر رنج های نامکتوبی .تو رفیع ترین داستان حیات منی. تو کتاب همیشه گشوده ایثاری. تو در مزرعه زندگی مان بذر سپیده و مهر می کاری .

این ناقابل تقدیم تو باد با هزاران هزار سپاس‌از تو ای سرافرازترین سرو سایه گستر زندگی ام

ومادرم

بانوی عشق و شادی ، صدای پایت را به تمام دنیا نمی توان فروخت . آفتاب چشم های تو ،زود تر از آفتاب پشت بام سر می زند،سرازیر می شود از پنجره ها به اتاق. حضورت ،خاطره هر چه سختی را خط می زند؛ خاطره هر چه اندوه را نیز. تو قلب خانه ای. عشق، لانه اش را روی شانه تو بنا می کند . شانه های تو، یادمان مهر الهی است در زمین. چه صبورند شانه های تو ! چه پرغرور ایستاده اند تا تندیس مهر، نشکند در برابر طوفان های روزگار! ساحل دریای متلاطم روزهای زندگی تویی و من ساحل نشین محبت های توام . نبض امید ، با دست های تو می زند .قدر تو را نشناختن ظلم است به خاطره های خود، به روز های شیرینی که می توان ورق زد.خنده هایت را دریغ مکن؛ انرژی می دهد به کالبد های خسته. تو به قدم هایم راه رفتن آموخته ای .تو به لب هایم سخن گفتن آموخته ای. من در دامن تو بزرگ شده ام. دست های تو بوسیدن دارد.پاهای تو بوسیدن دارد؛ چرا که بهشت زیر پای مادران است.صدای پای تو را به تمام دنیا نمی توان فروخت.تو قلب خانه ای مادر!

تقدیم به گریه های شبانه ات که مرهمی است مدام بر دردهایم

سپاس تو را مادرم

فهرست مطالب

فصل اول:

۱-۱ مقدمه ای بر شیمی پپتیدها ۱
۱-۱-۱ مقدمه ۱
۱-۱-۲ تعریف پپتید ۱
۱-۱-۳ پیوند پپتیدی ۲
۱ -۱ -۳-۱ توالی اسیدهای آمینه ساختمان اولیه پپتیدها را مشخص می کند ۳
۱-۱-۳ -۲ هیدرولیز پیوند پپتیدی ۵
۱-۱-۴ بررسی پیوند پپتیدی ۵
۱-۱-۵ ویژگی پپتیدها ۷
۱-۱-۶ سنتز پپتیدها ۱۱
۱-۱-۶-۱ اصول کلی ۱۱
۱-۱-۶-۲ عوامل حفاظت کننده ی گروه های آمینی ۱۲
۱-۱-۶-۳ عوامل حفاظت کننده ی گروه های کربوکسیلی ۱۵
۱ -۱-۶-۴ حفاظت کننده های عوامل جانبی مختلف اسید های آمینه ۱۵
۱-۱-۶ -۵ فعال کردن اسیدهای آمینه و سنتز پیوند پپتیدی ۱۷
۱-۱-۶ -۶ مثال هایی از سنتز پپتیدها ۱۹
۱-۱-۷ کاربرد پپتیدها و دی پپتیدها ۲۳
۱ -۱-۷ -۱پپتیدها در بیولوژی مولکولی ۲۳
۱ - ۱-۷-۲ کابرد پپتیدها به عنوان نانو لوله ها و نانو کامپوزیت ها ی پپتیدی ۲۳
۱-۱-۷-۳ سنتز دارو ها ۲۴
۱ -۱-۷-۴ پپتید های (باکتریوسین ها)محافظ در مواد غذایی ۲۵
۱-۱-۷-۵ کاربرد آسپارتام و ال –آلانیل –ال –گلوتامین ۲۵
۱-۱-۷-۶ کاربرد های تار عنکبوت پروتئین متشکل از پلی پپتیدهای مختلف ۲۶
۱-۲ پیشرفت هایی در زمینه ی سنتز پپتید ها وآمیدها ۲۸
۱-۲-۱ تکنیک های اتصال ۲۸
۱-۲-۲ استراتژی های ترکیبی فاز جامد ۳۳
۱-۲-۳ پپتیدهای حلقوی ۳۵

فصل دوم:

۲-۱ مقدمه ۳۸

۲-۲ کلیات مواد، دستگاه‌ها و روش‌های مورد استفاده ۳۸

۲-۳روش سنتز اسید تیمین ۳۹

۲-۳-۱ مکانیسم واکنش ۴۰

۲-۴ روش سنتز استر تیمین ۴۱

۲-۴-۱ مکانیسم واکنش ۴۲

۲-۵ روش سنتز دی پپتید۲-[۵- متیل-۴،۲ - دی اکسو- ۴،۳-دی هیدرو-۱(H۲) –
پیریمیدینیل] –N' - [۸ - ({۲-[۵-متیل-۴،۲-دی اکسو-۴،۳-دی هیدرو-۱(H۲) –
پیریمیدینیل]استات}آمینو)-۱-نفتیل] ۴۲

۲-۵-۱ مکانیسم واکنش ۴۴

۲-۶ روش سنتز اسید اوراسیل ۴۶

۲-۶-۱ مکانیسم واکنش ۴۸

۲-۷ روش سنتز استر اوراسیل ۴۹

۲-۷-۱ مکانیسم واکنش ۵۰

۲-۸ روش سنتز N,N'- (۴،۴'-بای تیازول-۲،۲'-دی ایل)بیس (۲- (۴،۲-دی اکسو-۴،۳ –
دی هیدروپیریمیدین-۱(H۲)-ایل)استامید ۵۰

۲-۸-۱ مکانیسم واکنش ۵۲

فصل سوم:

۳-۱ خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیب ۲-[۵- متیل-۴،۲ - دی اکسو- ۴،۳- دی هیدرو-
۱(H۲) - پیریمیدینیل] -N1 - [۸ - ({۲-[۵-متیل-۴،۲-دی اکسو-۴،۳-دی هیدرو-۱(H۲) -
پیریمیدینیل] استیل}آمینو)-۱-نفتیل] ۵۵

۳-۲ خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیب۲- [۵- متیل - ۴،۲ - دی اکسو - ۴،۳ - دی هیدرو-
۱(H۲)- پریمیدینیل]-N1 - [۲-({۲- [۵- متیل - ۴،۲ – دی اکسو- ۴،۳ -دی هیدرو -۱(H۲)-
پیریمیدینیل] استیل} آمینو) فنیل] استامید ۶۳

۳-۳) خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیب N',N - (۴ و'۴- بای تیازول-۲و'۲-دی ایل)

بیس(۲ - (۵ - متیل-۲و۴-دی اکسو-۳و۴-دی هیدرو پیریمیدین- ۱(H۲)- ایل) ا ستامید) ۷۰

۳-۴ خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیب۲- [۵ - متیل - ۴،۲ - دی اکسو – ۴،۳ - دی هیدرو-
۱(H۲)- پریمیدینیل]-N^1 - [۲-({۲- [۵- متیل - ۴،۲ – دی اکسو - ۴،۳ - دی هیدرو -۱(H۲)-
پیریمیدینیل] استیل} آمینو) اتیل] استامید ۷۸

۳-۵ خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیبN و'N- (۴و'۴-بای تیازول-۲و'۲-دی ایل) بیس(۲-
(۲و۴-دی اکسو-۳و۴-دی هیدروپیریمیدین-۱(H۲)- ایل) استامید) ۸۳

۳-۶ خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیب۲- [۴،۲- دی اکسو - ۴،۳ – دی هیدرو- ۱(۲ H)-
پریمیدینیل]-N^1 - [۲- ({۲- [۴،۲ - دی اکسو –۴،۳–دی هیدرو -۱(H۲)- پیریمیدینیل] استیل}
آمینو) فنیل] استامید ۸۹

۳-۷ خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیب ۲- [۴،۲- دی اکسو - ۴،۳ – دی هیدرو- ۱(H۲)-
پریمیدینیل]-N^1 - [۴- ({۲- [۴،۲ - دی اکسو - ۴،۳–دی هیدرو -۱(H۲)- پیریمیدینیل] استیل}
آمینو) فنیل] استامید ۹۴

۳-۸ خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیب۲- [۴،۲ - دی اکسو - ۴،۳ – دی هیدرو- ۱(H۲)-
پریمیدینیل]-N^1 - [۲-({۲- [۴،۲- دی اکسو - ۴،۳ – دی هیدرو -۱(H۲)- پیریمیدینیل] استیل}
آمینو) اتیل] استامید ۱۰۰

۳-۹خواص فیزیکی و اطلاعات طیفی ترکیب ۲- [۵- متیل – ۲، ۴- دی اکسو – ۴،۳ –دی هیدرو-
۱(H۲)- پریمیدینیل]-N^1 - [۴-({۲- [۵- متیل - ۴،۲ – دی اکسو – ۴،۳ - دی هیدرو -۱(H۲)-
پیریمیدینیل] استیل} آمینو) فنیل] استامید ۱۰۷

مراجع ۱۱۵

فـهـرست جـدول هـا

فصل اول

جدول (۱-۱) مقادیر pK' بعضی از اسید های آمینه و پپتید ها را در دمای ۲۵ درجه ی سانتیگراد ۹
جدول (۱-۲) اسامی ترکیبات ۲۹

فصل دوم

جدول (۲-۱) دی پپتید های سنتز شده بر پایه ی استر تیمین با پنج دی آمین مختلف ۴۵،۴۶
جدول (۲-۲) دی پپتیدهای سنتز شده بر پایه ی استر اوراسیل با چهار دی آمین مختلف ۵۳،۵۴

فـهـرست شـکـل هـا

فصل سوم

شکل (۳-۱) طیف IR ترکیب A ۵۶
شکل (۳-۲) طیف ^1H NMR ترکیب A درحلال DMSO ۵۷
شکل (۳-۳) طیف ^1H NMR ترکیب A درحلال DMSO ۵۸
شکل (۳-۴) طیف ^1H NMR ترکیب A درحلال DMSO ۵۹
شکل (۳-۵) طیف ^1H NMR ترکیب A درحلال DMSO ۶۰
شکل (۳-۶) طیف ^{13}C NMR ترکیب A درحلال DMSO ۶۱
شکل (۳-۷) طیف ^{13}C NMR ترکیب A درحلال DMSO ۶۲
شکل (۳-۸) طیف IR ترکیب B ۶۴
شکل (۳-۹) طیف ^1H NMR ترکیب B در حلال DMSO ۶۵
شکل (۳-۱۰) طیف ^1H NMR ترکیب B در حلال DMSO ۶۶
شکل (۳-۱۱) طیف ^1H NMR ترکیب B در حلال DMSO ۶۷
شکل (۳-۱۲) طیف ^{13}C NMR ترکیب B درحلال DMSO ۶۸
شکل (۳-۱۳) طیف ^{13}C NMR ترکیب B درحلال DMSO ۶۹
شکل (۳-۱۴) طیف IR ترکیب C ۷۱
شکل (۳-۱۵) طیف ^1H NMR ترکیب C در حلال DMSO ۷۲

شکل (۳-۱۶) طیف ^{1}H NMR ترکیب C در حلال DMSO ۷۳
شکل (۳-۱۷) طیف ^{1}H NMR ترکیب C در حلال DMSO ۷۴
شکل (۳-۱۸) طیف ^{1}H NMR ترکیب C در حلال DMSO ۷۵
شکل (۳-۱۹) طیف ^{13}C NMR ترکیب C درحلال DMSO ۷۶
شکل (۳-۲۰) طیف ^{13}C NMR ترکیب C درحلال DMSO ۷۷
شکل (۳-۲۱) طیف IR ترکیب D ۷۹
شکل (۳-۲۲) طیف ^{1}H NMR ترکیب D در حلال DMSO ۸۰
شکل (۳-۲۳) طیف ^{1}H NMR ترکیب D در حلال DMSO ۸۱
شکل (۳-۲۴) طیف ^{13}C NMR ترکیب D درحلال DMSO ۸۲
شکل (۳-۲۵) طیف IR ترکیب F ۸۴
شکل (۳-۲۶) طیف ^{1}H NMR ترکیب F در حلال DMSO ۸۵
شکل (۳-۲۷) طیف ^{1}H NMR ترکیب F در حلال DMSO ۸۶
شکل (۳-۲۸) طیف ^{13}C NMR ترکیب F در حلال DMSO ۸۷
شکل (۳-۲۹) طیف ^{13}C NMR ترکیب F در حلال DMSO ۸۸
شکل (۳-۳۰) طیف IR ترکیبG ۹۰
شکل (۳-۳۱) طیف ^{1}H NMR ترکیب G در حلال DMSO ۹۱
شکل (۳-۳۲) طیف ^{1}H NMR ترکیب G در حلال DMSO ۹۲
شکل (۳-۳۳) طیف ^{13}C NMR ترکیب G در حلال DMSO ۹۳
شکل (۳-۳۴) طیف IR ترکیبH ۹۵
شکل (۳-۳۵) طیف ^{1}H NMR ترکیب H در حلال DMSO ۹۶
شکل (۳-۳۶) طیف ^{1}H NMR ترکیب H در حلال DMSO ۹۷
شکل (۳-۳۷) طیف ^{1}H NMR ترکیب H در حلال DMSO ۹۸
شکل (۳-۳۸) طیف ^{13}C NMR ترکیب H در حلال DMSO ۹۹
شکل (۳-۳۹) طیف IR ترکیبI ۱۰۱
شکل (۳-۴۰) طیف ^{1}H NMR ترکیب I در حلال DMSO ۱۰۲
شکل (۳-۴۱) طیف ^{1}H NMR ترکیب I در حلال DMSO ۱۰۳
شکل (۳-۴۲) طیف ^{1}H NMR ترکیب I در حلال DMSO ۱۰۴
شکل (۳-۴۳) طیف ^{1}H NMR ترکیب I در حلال DMSO ۱۰۵
شکل (۳-۴۴) طیف ^{13}C NMR ترکیب I در حلال DMSO ۱۰۶

شکل (۳-۴۵) طیف IR ترکیب J ۱۰۸
شکل (۳-۴۶) طیف ^{1}H NMR ترکیب J در حلال DMSO ۱۰۹
شکل (۳-۴۷) طیف ^{1}H NMR ترکیب J در حلال DMSO ۱۱۰
شکل (۳-۴۸) طیف ^{1}H NMR ترکیب J در حلال DMSO ۱۱۱
شکل (۳-۴۹) طیف ^{1}H NMR ترکیب J در حلال DMSO ۱۱۲
شکل (۳-۵۰) طیف ^{13}C NMR ترکیب J در حلال DMSO ۱۱۳
شکل (۳-۵۱) طیف ^{13}C NMR ترکیب J در حلال DMSO ۱۱۴

فصل اول

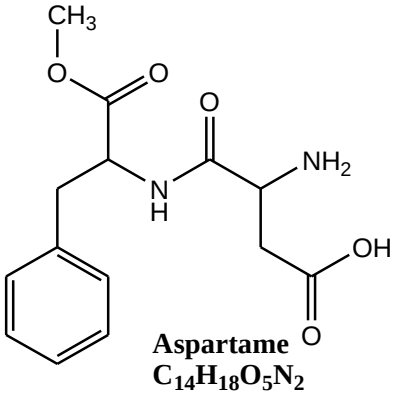
مقدمه

ومروری بر تحقیقات انجام شده

۱ ـ ۱ - مقدمه ای بر شیمی پپتیدها

۱-۱-۱-مقدمه

تاکنون کاربرد و نحوه ی عمل دی پپتید ها کمتر مورد مطا لعه قرار گرفته است . تعداد کمی از دی پپتیدها از قبیل آسپارتام (L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester) (شکل ۱-۱)و ال-آلانیل-ال گلوتامین (Ala-Gln) ، مصرف تجاری دارند . دلیل اصلی کمبود روش های سنتز دی پپتیدها را می توان فقدان فرآیند موثر و کار آمد برای تولید دی پپتیدها در بین روش های مختلف شیمیایی و شیمی آنزیم هایی که تاکنون گزارش شده است، دانست[۱].

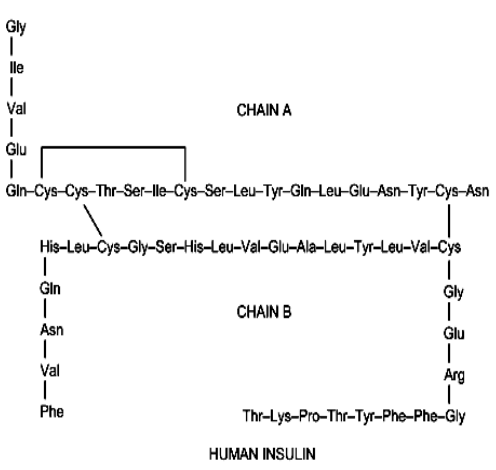


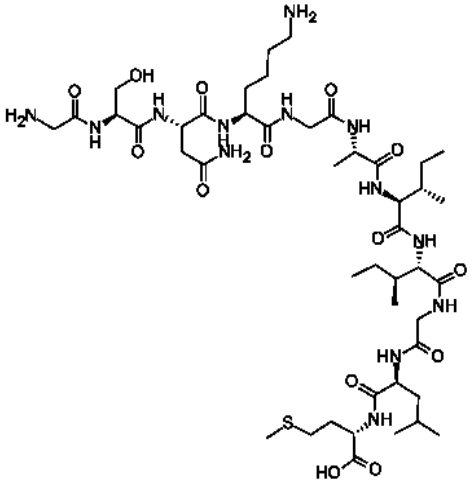
شکل (۱-۱)

۱-۱-۲-تعریف پپتید

پـِپتیدها پلیمرهای کوچکی هستند که از به هم پیوستن اسیدهای آمینه با ترتیب مشخصی تشکیل شده‌اند. پیوند بین هر اسید آمینه با اسید آمینه ی بعدی پیوند آمید یا پیوند پپتیدی نامیده می‌شود . پروتئین‌ها، مولکول‌های بس‌پپتیدی‌ای (و یا حتی چند زیرواحد بس پپتیدی، موسوم به ساختار نوع چهارم) هستند. تمایز بین آن‌ها در این است که پپتیدها رشته هایی کوتاه و پروتئین ها رشته‌هایی بلند از اسید آمینه می باشند. تعریف دیگر این است که، به زنجیره ی ساخته شده از آمینواسیدهایی که به اندازه کافی کوچک می باشند، به جای پروتئین، پپتید می گوییم[۲].

تعریف دیگر خط تقسیم فرضی با تقریب به طول ۵۰ اسیدآمینه، را نیز پپتید گویند (برخی از افراد طول کمتری در نظر می گیرند). این تعریف تا حدودی اختیاری است . پپتیدهای طولانی، مانند آمیلوید بتا [۱] (شکل ۱-۲)که به بیماری آلزایمر مربوط می شود را می توان به عنوان پروتئین در نظر گرفت و پروتئین های کوچک مانند انسولین(شکل ۱-۳) ، به عنوان پپتید در نظر گرفته می شود . انسولین دارای دو زنجیره پلی پپتیدی است که توسط پیوندهای دی سولفیدی به یکدیگر متصل هستند [۱].





شکل (۱-۲) ساختار آمیلوید بتا

شکل (۱-۳) ساختار انسولین

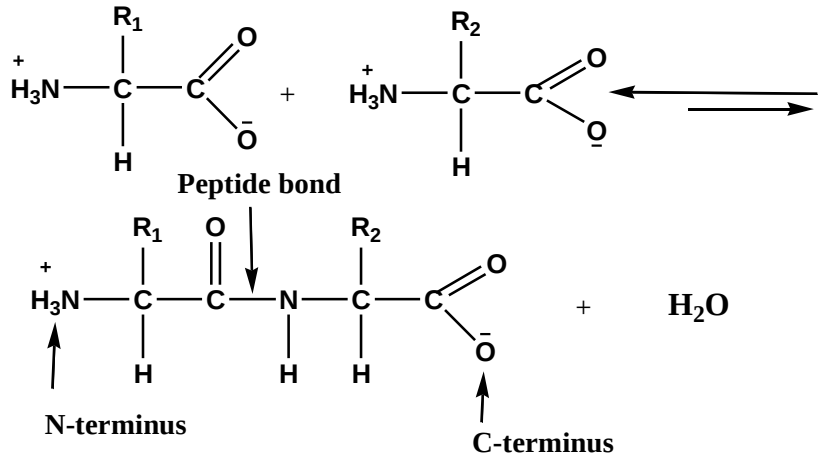
۱-۱-۳-پیوند پپتیدی

مهمترین واکنش آمینو اسیدها تشکیل پیوند پپتیدی است .به طور کلی پیوند پپتیدی از واکنش گروه آمین آلفای یک آمینو اسید با گروه کربوکسیل آلفای یک آمینو اسید دیگر با حذف یک مولکول آب به وجود می آید. اسید آمینه ای را که در زنجیرپلی پپتیدی شرکت می کند یک ریشه می گویند که نام اسید آمینه ای را که از آن مشتق می شود به اضافه ی پسوند ا یل به خود می گیرد. مثال :ریشه ی لیزیل ، تیروزیل، آلانیل و غیره [۲].

[۱]- amyloid beta

۱-۱-۳-۱-توالی اسیدهای آمینه ساختمان اولیه پپتیدها را مشخص می کند

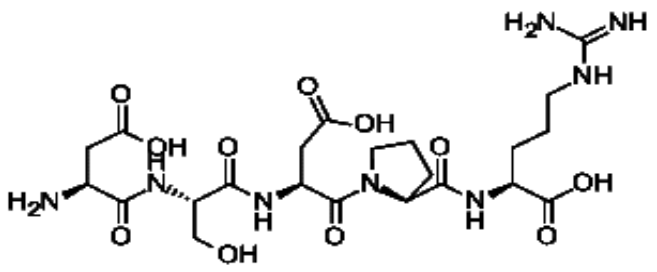
برای تعیین ساختمان اولیه یک پلی پپتید باید تعداد، ساختمان و ترتیب همه ریشه های اسیدهای آمینه را مشخص کرد. جایگزینی تنها یک اسید آمینه بجای اسید آمینه دیگر در توالی خطی بیش از ۱۰۰ اسید آمینه می تواند منجر به کاهش یا از بین رفتن فعالیت بیولوژیک شده، عواقب بالقوه و وخیمی به جای گذارد، مانند بیماری کم خونی سلول داسی شکل . پپتیدهای موجود در سیستم های بیولوژیک، از نظر اندازه متفاوتند و ممکن است به صورت انواع کوچک با دو یا سه اسید آمینه تا انواع بسیار بزرگ متشکل از هزاران اسید آمینه دیده شوند . دو مولکول اسید آمینه می توانند بطور کووالان از طریق یک پیوند آمیدی یا پیوند پپتیدی به یکدیگر متصل شده و ایجاد یک دی پپتید کنند . این پیوند با برداشت عناصر یک مولکول آب (دهیدراتاسیون) از گروه α-کربوکسیل یک اسید آمینه و α-آمینوی اسید آمینه دیگر ایجاد می گردد . گروه α-آمینوی یک اسید آمینه به عنوان یک نوکلئوفیل عمل نموده تا جایگزین گروه هیدروکسیل اسید آمینه دیگر شده و ایجاد یک پیوند پپتیدی کند (واکنش ۱-۱).



(واکنش ۱-۱)

تشکیل پیوند پپتیدی یکی از واکنش های معمول در سلول های زنده می باشد . تحت شرایط بیوشیمیایی استاندارد، تعادل واکنش بالا بیشتر به سمت مواد شرکت کننده در واکنش است تا محصول دی پپتیدی. برای اینکه این واکنش از نظر ترمودینامیکی قابل انجام باشد، لازم است گروه کربوکسیل دچار تغییر شیمیایی شده و یا به طریقی فعال گردد که گروه هیدروکسیل آن راحت تر برداشت شود. سه اسید آمینه می توانند توسط دو پیوند پپتیدی به یکدیگر متصل شده و ایجاد یک تری پپتیدکنند؛ بطور مشابه اسیدهای آمینه با اتصال به یکدیگر تولید تترا پپتید، پنتاپپتید و غیره می کنند. وقتی تعداد کمی از اسیدهای آمینه به این طریق به یکدیگر اتصال می یابند، ساختمان حاصل را اولیگوپپتید گویند. وقتی تعداد این اسیدهای آمینه زیاد باشد، محصول را پلی پپتید می نامند . در ساختمان پروتئین ها ممکن است هزاران اسید آمینه وجود داشته باشد . هر چند گاهی اصطلاحات پروتئین و پلی پپتید بجای یکدیگر بکار می روند، مولکولهایی که به آنها پلی پپتید اطلاق می گردد، عموماً دارای وزن مولکولی کمتر از ۱۰۰۰۰ هستند[۳].

شکل (۱-۴) ساختمان یک پنتاپپتید را نشان می دهد . اسید آمینه موجود در یک پپتید را اغلب یک ریشه (قسمت باقیمانده بعد از جدا شدن یک اتم هیدروژن از گروه آمینو و یک عامل هیدروکسیل از گروه کربوکسیل آن)گویند. در یک پپتید، ریشه اسید آمینه موجود در انتهای دارای گروه α-آمینو ی آزاد را ریشه انتهای آمینو (یا انتهای N) و ریشه موجود در انتهای دیگر دارای یک گروه کربوکسیل آزاد را ریشه انتهای کربوکسیل (یا انتهای C) گویند [۴].



شکل(۱-۴) ساختمان پنتا پپتید

۱-۱-۳-۲-هیدرولیز پیوند پپتیدی

هرچند هیدرولیز یک پیوند پپتیدی یک واکنش انرژی زا است، بخاطر انرژی فعالسازی بالای آن، به آهستگی صورت می گیرد. لذا پیوندهای پپتیدی موجود در پروتئین کاملاً پایدارند و تحت اکثر شرایط داخل سلول، نیمه عمری حدود ۷ سال دارند. گسیختن پیوندهای پپتیدی که منجر به تولید اسیدهای آمینه به حالت آزاد می گردد می تواند به وسیله اسید قوی و در گرما و یا بوسیله آنزیم های پروتئولیتیک انجام گیرد. معمولاً از اسیدکلرئیدریک ۶ نرمال در ۱۰۵ درجه سانتی گراد، در آمپولهای مسدود شده تحت خلأ و یا تحت فشار گاز ازت، به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت استفاده می کنند[۵].

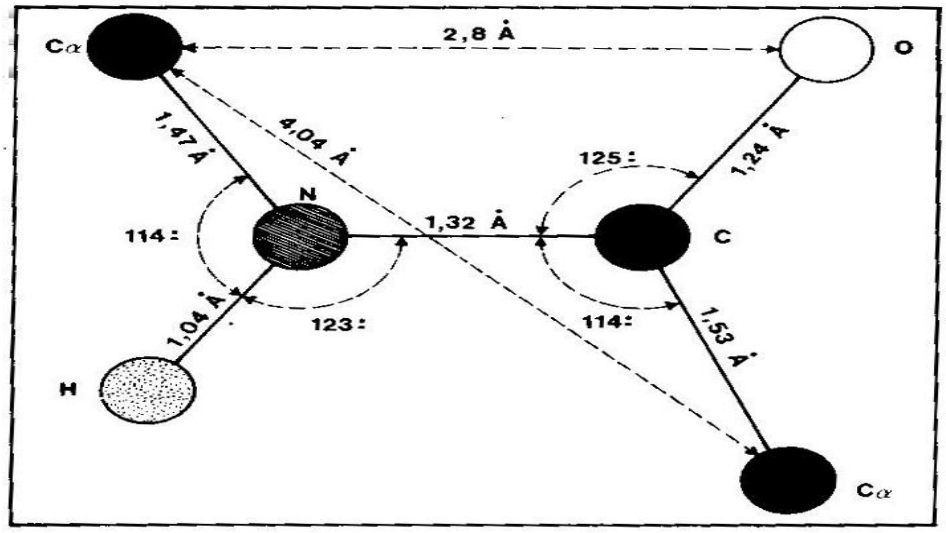
به علت حساسیت هسته های اندولی به اسیدها، آمینو اسید تریپتوفان می تواند تخریب گردد و لذا اندازه گیری آن مستلزم یک هیدرولیز قلیائی بـه وسیله سود ۲ تا ۴ نرمال، به مدت ۴ الی ۸ ساعت و در ۱۰۰ درجه سانتی گراد می باشد. هیدرولیز آنزیمی کامل یک زنجیر پپتیدی طولانی و مشکل است. در حقیقت، بسیاری از آنزیم ها در حمله به پیوندهای پپتیدی یک نوع عمل اختصاصی از خود نشان می دهند لذا برای اینکه تمامی اسیدهای آمینه آزاد شوند بایستی از مخلوطی از آنزیم ها و برای مدت زمان نسبتاً طولانی استفاده شود. از طرف دیگر این آنزیم ها اکثراً یک اتولیز از خود نشان می دهند که اسیدهای آمینهٔ خاص خود را آزاد می کنند و این موضوع موجب بروز اشتباهاتی در اندازه گیری می شود. امروزه آنزیم های پروتئولیتیک را مخصوصاً برای هیدرولیز جزئی زنجیرهای پپتیدی به کار می برند و برای این منظور از خاصیت اختصاصی بودن عمل آنها بهره می جویند [۶].

۱-۱-۴- بررسی پیوند پپتیدی

در اواخر دهه ۱۹۳۰، لینوس پائولینگ و رابرت کوری با استفاده از روش کریستالوگرافی اشعه X ، ساختار دقیق آمینواسیدها و پپتیدها را مورد بررسی قرار دادند . هدف آنها از این مطالعات، تعیین

فاصله پیوند بین اتمها و زوایای پیوند بود تا با استفاده از این اطلاعات بتوانند کونفورماسیون پروتئین ها را پیشگویی کنند [۷].

یکی از یافته های ارزشمند این دو محقق آن بود که واحد پپتیدی محکم و مسطح است . هیدروژن گروه آمینی در این پیوند همیشه در موقعیت ترانس نسبت به اکسیژن گروه کربونیل قرار می گیرد . پیوند میان اتم کربن گروه کربونیل و اتم نیتروژن دارای آزادی چرخش نیست و تقریباً مانند یک پیوند دوگانه عمل می کند . طول این پیوند، کوتاه و در حدود ۱/۳۲ آنگستروم بوده و میانگین طول پیوند ساده N-C (۱/۴۹ آنگستروم) و پیوند دوگانه (C=N ۱/۲۷ آنگستروم) است و به همین دلیل، خصوصیات یک پیوند دوگانه نسبی را نشان می دهد . پیوند میان کربن α و کربن گروه کربونیل از نوع پیوند ساده بوده و طول آن ۱/۵۳ آنگستروم است. همچنین پیوند بین کربن α در اسید آمینه دوم و نیتروژن نیز از نوع پیوند ساده (۱/۴۷ آنگستروم) است. بنابراین درجه آزادی چرخش حول این پیوندها زیاد بوده و اتمهایی که در پیوند پپتیدی درگیر شده اند، روی یک خط قرار نمی گیرند ولی در یک صفحه هستند [۸] (شکل ۱-۵) .



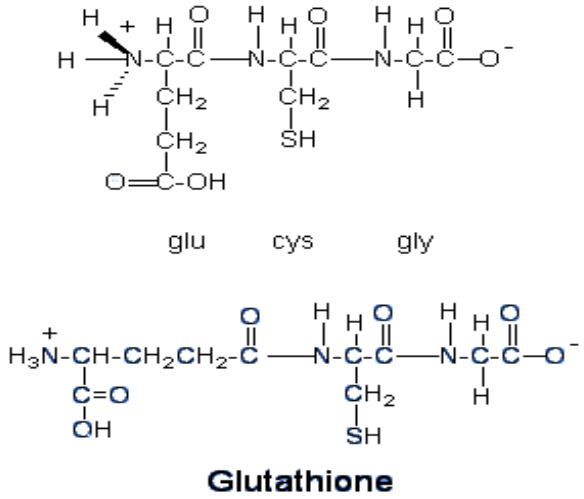
مختصات خطی وزاویه‌دار پیوندپپتیدی

شکل (۱-۵)

۱-۱-۵-ویژگی پپتیدها

۱) بسیاری از پپتیدها فعالیت فیزیولوژیک دارند

در سلول های جانوران، گیاهان و باکتری ها پلی پپتیدهای مختلفی با وزن مولکولی پایین وجود دارد (۳ تا ۱۰۰ ریشه اسید آمینه) که فعالیت فیزیولوژیکی بارزی بر عهده دارند . در مولکلول گلوتاتیون، (شکل ۱-۶)گلوتامات انتهایی N از طریق یک پیوند غیر آلفا پپتیدی به سیستئین متصل شده است . این مولکول، مورد نیاز آنزیم های متفاوتی است . گلوتاتیون و آنزیم گلوتاتیون ردوکت از در تشکیل پیوندهای دی سولفیدی صحیح در بسیاری از پروتئین ها و هورمونهای پلی پپتیدی شرکت داشته و در متابولیسم گزنوبیوتیکها (Xenobiotics) نقش دارند.



شکل (۱-۶)

آنتی بیوتیکهای پلی پپتیدی که توسط قارچ ها ساخته و آزاد می شوند دارای هر دو نوع اسید آمینه D و L و اسیدهای آمینه ای که در پروتئین ها وجود ندارند می باشد . از جمله این آنتی بیوتیکها می توان به تیروسیدن، گرامیسیدین اشاره کرد . این پلی پپتیدهای حلقوی دارای D فنیل آلانین و اسید آمینه غیر پروتئینی اورنیتین می باشند[۹].

۲) پپتیدها پلی الکترولیت هستند

در pH های مختلف فیزیولوژیک، پیوند پپتیدی (آمیدی) باردار نیست. بنابراین تشکیل پپتیدها از اسید آمینه در pH برابر۷/۴ با از بین رفتن خالص یک بار الکتریکی مثبت و یک بار منفی به ازای هر پیوند پپتیدی تشکیل شده، همراه می باشد . به علت وجود گروههای دو انتهای C و N و گروههای R اسیدی یا بازی، پپتیدها در pH فیزیولوژیک ، مولکولهایی دارای بار الکتریکی هستند[۱۰].

۳) پیوند پپتیدی بطور نسبی ماهیت پیوند دوگا نه را دارد

هر چند برای نوشتن ساختمان پپتیدها اتمهای آلفا- نیتروژن و آلفا-کربوکسیل توسط یک پیوند منفرد به هم متصل می شوند، این پیوند در حقیقت ماهیت یک پیوند دوگانه نسبی یا ناقص را دارد .

۴) نیروهای غیر کووالان بر شکل پپتیدها تاثیر می گذارند

با اینکه یک پلی پپتید ممکن است آرایش فضایی متفاوتی داشته باشد، در یک محلول اشکال معدودی بصورت غالب وجود دارد . وجود این اشکال خاص ، نشانه دخالت عواملی مانند موانع فضایی، تداخلات نیروهای کلونی، پیوند هیدروژنی و تداخلات هیدروفوبی می باشد .

۵) پپتیدها را می توان بر اساس خاصیت یونیزاسیون آنها تشخیص داد

پپتیدها تنها دارای یک گروه α-آمینو آزاد و یک α-کربوکسیل آزاد هستند که هر کدام از آنها در یک انتها قرار دارند. این گروه ها همانند حالت موجود در اسیدهای آمینه آزاد، یونیزه هستند ولی به خاطر عدم وجود گروه های با بار مخالف بر روی کربن α، ثابت های یونیزاسیون آنها متفاوت می باشد . گروه های α-آمینو و α-کربوکسیل تمامی اسیدهای آمینه غیر انتهایی در ایجاد پیوندهای کووالان پپتیدی شرکت می کنند؛ لذا یونیزه نیستند و نقشی در رفتار اسید- بازی کلی پپتیدها ندارند . هر چند، گروه های R برخی اسیدهای آمینه موجود در یک پپتید، قابلیت یونیزاسیون را دارد و این گروه ها در

خصوصیت اسید- بازی کلی مولکول همکاری می کنند . بنابراین، رفتار اسید- بازی یک پپتید را می توان از روی گروه های آزاد α-آمینو و α- کربوکسیل و همچنین ماهیت و تعداد گروه های R قابل یونیزاسیون موجود در آن پیش بینی نمود . همانند اسیدهای آمینه ، پپتیدها دارای منحنی های مشخص تیتراسیون و یک pH ایزوالکتریک (pI) خاص می باشند که در آن pH ، حرکتی در میدان الکتریکی ندارند که با دانستن pK' آن ها ، pH ایزوالکتریک قابل محاسبه است .جدول(۱- ۱) مقادیرpK' بعضی از اسید های آمینه و پپتید ها را در دمای ۲۵ درجه ی سانتیگراد نشان می دهد . از این ویژگی در برخی از تکنیک ها برای جداسازی پپتیدها و پروتئین ها استفاده می گردد . وقتی یک اسید آمینه در ساختمان یک پپتید قرار می گیرد، مقدار گروه R قابل یونیزاسیون آن مقداری تغییر می نماید. از دست رفتن بار گروههای α- آمینو و α- کربوکسیل، تعامل با سایر گروه های R پپتیدی و عوامل محیطی دیگر می توانند اثر گذار باشند[۱۱].

جدول ۱-۱ . مقادیر pK' برای بعضی از اسیدهای آمینه وپپتیدهادر ۲۵ درجه سانتیگراد

	pK'_1 آلفاکربوکسیل	pK'_2 آلفاآمینه	pK'_R گروه R	pH_I ایزوالکتریک
Gly	۲/۳۴	۹/۶	—	۵/۹۷
Gly-Gly	۳/۰۶	۸/۱۳	—	۵/۵۹
Gly-Gly-Gly	۳/۲۶	۷/۹۱	—	۵/۵۸
Ala	۲/۳۴	۹/۶۹	—	۶/۰۲
Ala-Ala-Ala-Ala	۳/۴۲	۷/۹۴	—	۵/۶۸
Ala-Ala-Lys-Ala	۳/۵۸	۸/۰۱	۱۰/۵۸	~۹/۳
Gly-Asp	۲/۸۱	۸/۶۰	۴/۴۵	~۳/۶

جدول (۱-۱)

۶) پپتیدها و پلی پپتیدها ی دارای فعالیت بیولوژیک، از نظر اندازه بسیار متفاوت هستند

در مورد ارتباط وزن های مولکولی پپتیدها و پروتئین های دارای فعالیت با عملکرد آنها، هیچ قاعده ی کلی وجود ندارد. اندازه پپتیدهای طبیعی ممکن است از دو تا هزاران اسید آمینه متفاوت باشد . حتی کوچکترین پپتیدها نیز اعمال بیولوژیکی مهم را انجام می دهند . دی پپتید L- آسپارتیل- L- فنیل آلانین متیل استر، بعنوان یک شیرین کننده مصنوعی است که بطور تجارتی سنتز شده و بنام آسپارتام یا نوتراسوئیت مشهور می باشد . بسیاری از پپتیدها اثرات خود را در غلظت های بسیار پایین به انج ام می رسانند. برای مثال، تعدادی از هورمون های موجود در مهره داران از جنس پپتیدهای کوچک می باشند. از جمله این هورمون ها عبارتند از اکسی توسین (با ۹ ریشه اسید آمینه) که توسط هیپوفیز خلفی ترشح شده و انقباضات رحمی را تحریک می کند، برادی کینین (۹ ریشه ای) که مانع التهاب بافت می گردد و فاکتور آزاد کننده تیروتروپین (۳ ریشه ای) که در هیپوتالاموس ساخته شده و رهاسازی هورمونهای دیگری بنام تیروتروپین از غده هیپوفیز قدامی را تحریک می کند . تعدادی از سموم قارچی، نظیر آمانیتین و همچنین بسیاری از آنتی بیوتیکها نیز جز ء پپتیدهای کوچک می باشند. مولکولهای دارای اندازه ی قدری بزرگتر، شامل الیگوپپتیدها و پلی پپتیدهای کوچکی نظیر هورمون انسولین پانکراس می باشند که از دو زنجیر پلی پپتیدی، یکی با ۳۰ و دیگری با ۲۱ ریشه اسید آمینه، تشکیل شده است . هورمون دیگر پانکراس، یعنی گلوکاگو ن، ۲۹ ریشه دارد و با فعالیت انسولین مخالفت می کند[۱۲].

تعدادی از پروتئین ها از یک زنجیر پلی پپتیدی تشکیل شده اند، ولی بقیه آن ها، تحت عنوان پروتئین های چند زیر واحدی، متشکل از دو یا چند پلی پپتید هستند که بطور غیر کووالان به یکدیگر متصل می باشند. زنجیره پلی پپتیدی موجود در یک پروتئین چند زیر واحدی ، ممکن است یکسان و یا متفاوت باشند . درصورتیکه حداقل دو زنجیر مشابه باشد، پروتئین را اولیگومر گویند و واحدهای مشابه (متشکل از یک یا چند زنجیر پلی پپتیدی) را پروتومر می نامند . برای مثال