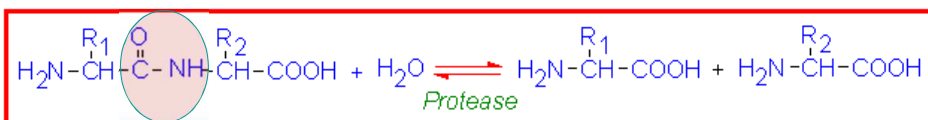


Peptidszintézis

SZINTÉZIS ← PROTE(IN)ÁZ → BONTÁS
 -CO-NH- -CO-NH-



Minden enzimes reakció megfordítható, még a makromolekulákat hidrolizálók is, de csak egy-két kötést hoznak létre, hosszú láncot nem.



Bontási hely specifikus prote(in)ázok

Tripszin* (EC 3.4.21.4)

Arg/Lys ↓ Y_{as}

Szubtilizin* (EC 3.4.21.62)

Trp/Tyr/Phe/Leu ↓ Y_{as}

Elasztáz* (EC 3.4.21.36)

Ala/Ser ↓ Y_{as}

Termolizin (EC 3.4.24.27)

X_{as} ↓ Leu/Phe

Pepszin (EC 3.4.23.15)

Phe/Tyr/Leu ↓ Trp/Phe/Tyr

Y_{as}=bármelyik aminosav, -észter vagy -amid

X_{as}=bármelyik aminosav



Védőcsoportok

Melléktermékek elkerülésére a nem-reagáló csoportokat védeni kell



-NH₂ védelme

Benziloxikarbonil- (Z)



Acetil- (Ac)

-COOH védelme



Amid-



Észtér



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

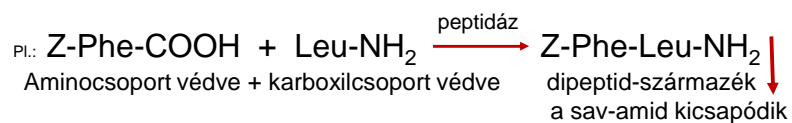
3

Egyensúlyi kontroll

$$\text{Egyensúlyi állandó: } K_{eq} = \frac{\text{peptid}}{\text{1. aminosav} \cdot \text{2. amin(osav)}} = \frac{[\text{R-CO-NH-R}']}{[\text{R-COOH}][\text{H}_2\text{N-R}']}$$

Az egyensúly eltolásának lehetőségei:

1. Kicsapás: oldhatalan peptidek, védő csoportok hatása is.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

Az egyensúly eltolása

2. Kétfázisú rendszerben

2-5% H₂O szerves oldószerben: a disszociáció visszaszorul

3. Vizes-oldószeres rendszerben: + dimetil-formamid, dimetil-szulfid, trietilén-glikol

4. pH eltolás: 9,5 → 6,5 $20 \times K_{eq}$ Z-Trp + Gly → Z-Trp-Gly

5. Aminosavak koncentráció növelése



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

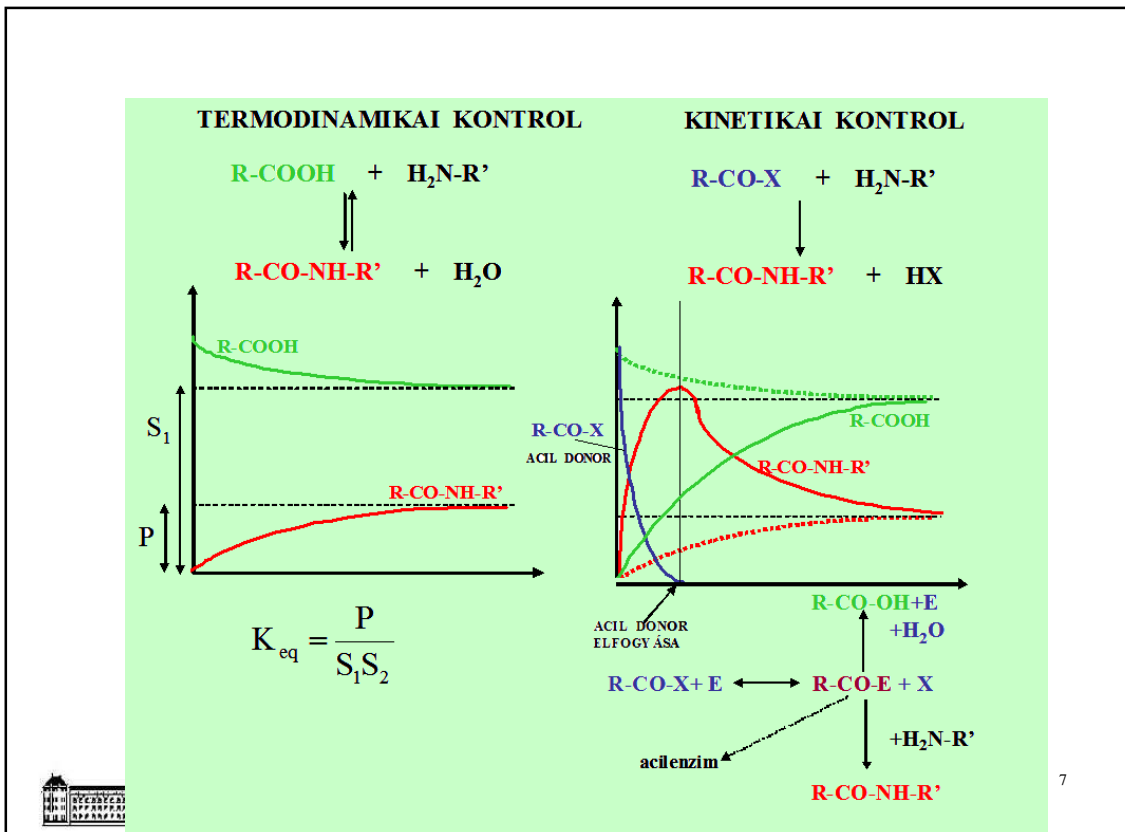
Kinetikai kontroll

Ez esetben nem várják meg az egyensúly beállítását, hanem egy kedvező összetételű korábbi fázisban leállítják a reakciót. Erre azok az enzimes reakciók alkalmasak, amelyeknél stabil átmeneti komplex alakul ki (vö.: ping-pong mechanizmus, például szerin proteázok). Ezeknél az acilező szubsztrát elfogyásáig nő a termék koncentráció, ezután viszont a hidrolízis miatt csökken. A maximális kihozatalhoz a maximum pontot kell elcsípni.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6



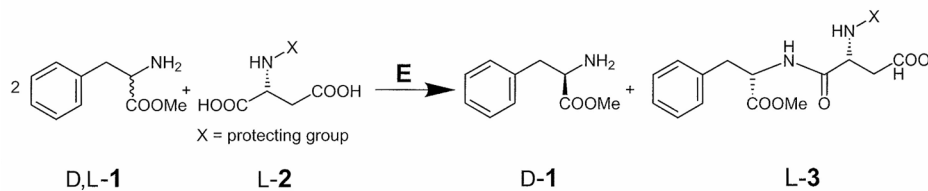
Aszpartám gyártás

Aszpartám: mesterséges édesítőszer.

Felhasználása élelmiszereknél: italok, cukorkák, tej, jam,...

de: hőre bomlik, sütésre nem jó

A fenilalanin metil észterének és aszparaginsavnak az összekapcsolásával keletkezik, enzim: termolizin



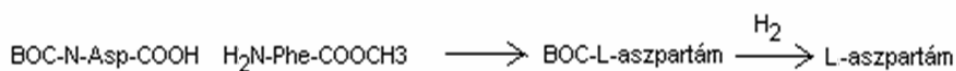
- 1 = phenylalanine methylester
- 2 = aspartic acid (protected)
- 3 = α-aspartame (protected)



Aszpartám gyártás

Ahhoz, hogy csak a fenilalanin aminocsoportja reagáljon az aszparaginsav α -karboxil csoportjával, a rajtuk lévő egyéb funkciós csoportokat blokkolni kell, egyébként random dipeptidok és oligopeptidok képződnek.

A Phe metilésztere a karbonsavat blokkolja, az Asp aminocsoportját pedig egy benzoiil-oxi-karbonil (BOC) csoporttal védik (ez hidrogénezéssel eltávolítható).



Az enzimes eljárás

Az enzim forrása: *Bacillus proteoliticus*

Izolált enzimeként, oldott formában vagy rögzítve alkalmazzák.

Szakaszos eljárás, keverős reaktorban

Előnyei:

Nem keletkezik β -aszpartám (keserű)

Sztereoszektív a reakció, csak L-aszpartám keletkezik, enantiomer tisztaság: 99,99 %

Emiatt alapanyagként DL-Phe (racém) is használható.

Nincs racemizáció a szintézis alatt

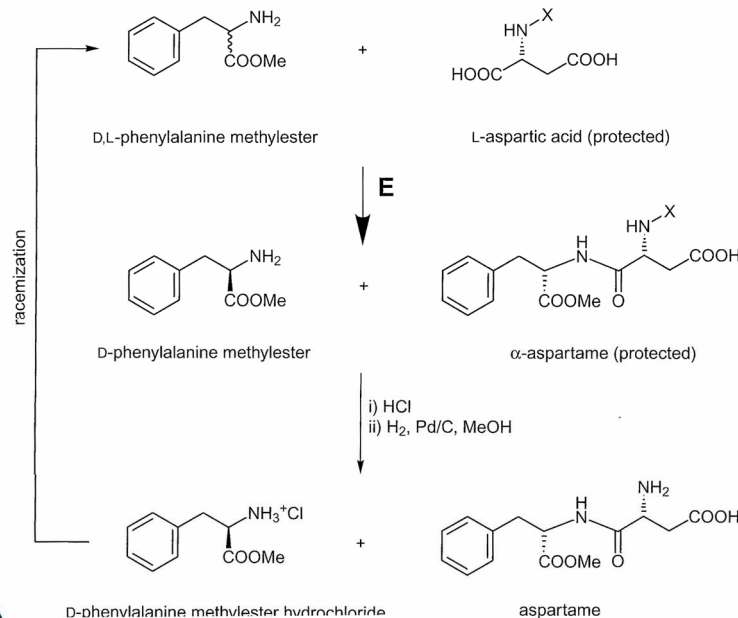


A gyártás lépései

1. A keletkező védett aszpartám adduktot képez a feleslegben lévő D-PheOMe-rel, és kicsapódik.
2. Szűrés
3. Sósavval visszaoldják.
4. A BOC csoportot lehidrogénezik, a D-PheOMe-t racemizálják és visszavizik a folyamat elejére.

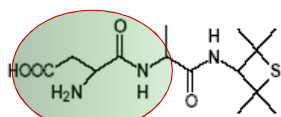


BN

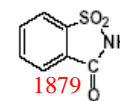


További édesítőszer

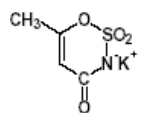
Main intense sweeteners



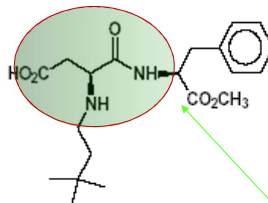
Alitame (2000)



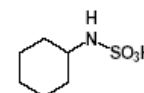
Saccharin (300)



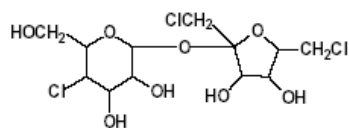
Acesulfame-K (200)



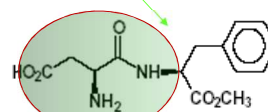
Neotame (8000)



Cyclamate (30)



Sucralose (500)



Aspartame (200)



12