

# 6

## CAPÍTULO

### Aminoácidos

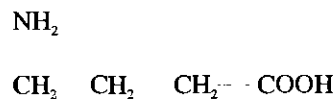
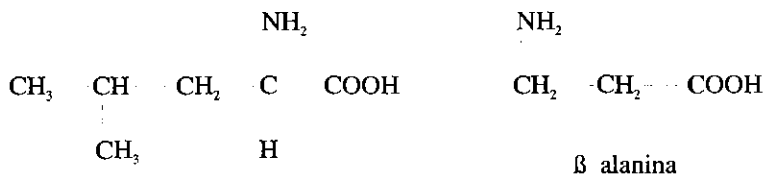
Los aminoácidos constituyen las unidades estructurales de las proteínas. Éstas son las macromoléculas con mayor grado de variabilidad estructural, que desempeñan las funciones más diversas; muchas son enzimas, otras intervienen en el transporte de diferentes sustancias y constituyen los receptores de diversos ligandos; algunas forman los anticuerpos, varias son hormonas. Estos biopolímeros cumplen, además, muchas otras funciones disímiles.

La diversidad estructural y funcional viene dada por la variabilidad en la composición y disposición de sus monómeros constituyentes o precursores: los aminoácidos. Son 20 los aminoácidos que conforman las unidades estructurales de los péptidos y las proteínas; ellos poseen algunas regularidades estructurales que son comunes a la inmensa mayoría, pero presentan otras que diferencian a un aminoácido de otro.

En este capítulo trataremos el estudio de los aminoácidos, tanto desde el punto de vista estructural como funcional y estudiaremos algunas de las principales propiedades de estas biomoléculas; también conoceremos cómo se unen para formar los péptidos y las proteínas, haciendo énfasis en las características de dicho enlace.

#### Concepto y características generales

Los aminoácidos pueden existir libres en los tejidos animales y vegetales; pero en su mayoría se encuentran formando parte de los péptidos y de las proteínas. Estos compuestos constituyen ácidos orgánicos en los cuales, al menos un hidrógeno, ha sido sustituido por un grupo amino. De acuerdo con el C al cual se une dicho grupo amino, estos aminoácidos se clasifican como  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , etc.



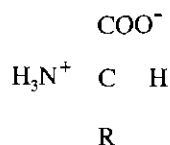
Ácido y amino butírico

Los aminoácidos cumplen diversas funciones:

1. Son precursores de las proteínas.
2. Forman parte de vitaminas, ejemplo la  $\beta$  alanina forma parte del ácido pantoténico, vitamina del complejo B.
3. Constituyen, por descarboxilación, las aminas biógenas; compuestos que cumplen funciones importantes y que a su vez pueden formar parte de otras biomoléculas; ejemplo la etanolamina que se forma por descarboxilación de la serina y forma parte de algunos lípidos, la serotonina -producto de descarboxilación de un derivado del triptófano- que es un poderoso vasoconstrictor.
4. Son precursores en la síntesis de algunas hormonas; ejemplo la tiroxina, hormona secretada por la glándula tiroides, que se forma a partir del aminoácido tirosina; la adrenalina y noradrenalina se forman también a partir de la tirosina.
5. Constituyen neurotransmisores muchos de ellos, como la glicina, la histidina y el glutámico.
6. Son aminoácidos, algunos antibióticos; un ejemplo es el cloramfenicol.
7. Algunos son metabolitos intermedarios de importantes vías metabólicas, ejemplo: la ornitina y la citrulina en el ciclo de la urea.

A pesar de las numerosas y variadas funciones que desempeñan los aminoácidos, la más importante de todas es, sin duda alguna, constituir los precursores de los péptidos y las proteínas.

Los aminoácidos que se encuentran formando las proteínas son todos alfa aminoácidos, con la excepción de la prolina y su derivado, la hidroxiprolina. La estructura general de los alfa aminoácidos es la siguiente:



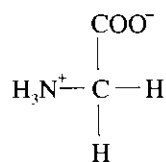
donde R representa un residuo que diferencia a un aminoácido de otro, que presenta naturaleza química variada. R puede ser una cadena alifática, puede presentar anillos aromáticos, heterociclos o tener distintos grupos químicos como OH, SH,  $\text{NH}_2$ , COOH y  $\text{CONH}_2$ . El grupo carboxilo suele representarse disociado (con carga negativa) y el amino sin disociar (con carga positiva), ya que esta forma es la que predomina a pH fisiológico.

### **Estructura de los aminoácidos que constituyen las proteínas**

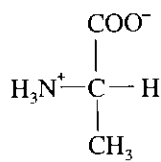
Para proceder al estudio de estos aminoácidos los ordenaremos de acuerdo con las características estructurales de la cadena lateral en R:

1. Aminoácidos con cadena alifática en su cadena lateral en R. En este grupo se incluyen aquéllos que poseen sólo una cadena hidrocarbonada en R y aquéllos que presentan además, un grupo OH o que contienen azufre.

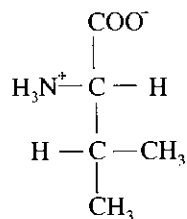
a) Aminoácidos con cadena hidrocarbonada en R



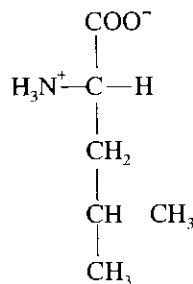
Glicina



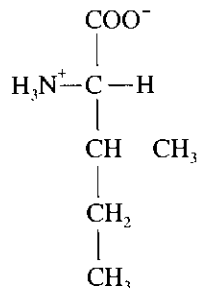
Alanina



Valina

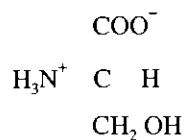


Leucina

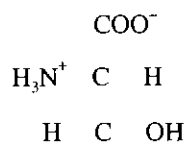


Isoleucina

b) Aminoácidos con grupos hidroxilos (OH) en R



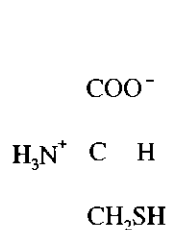
Serina



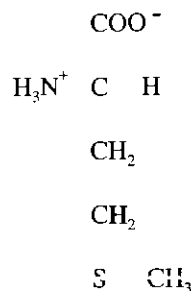
CH<sub>3</sub>

Treonina

c) Aminoácidos que contienen átomos de azufre (S) en R

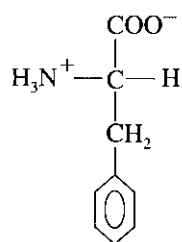


Cisteína

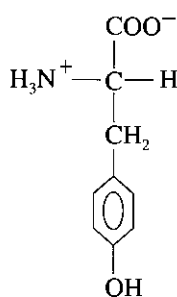


Metionina

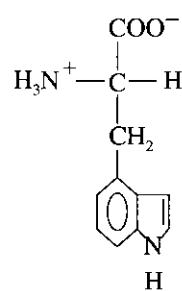
2. Aminoácidos con un anillo aromático en R. En este grupo se incluyen aquellos aminoácidos que presentan el anillo benceno, el fenol y el indol.



Fenilalanina

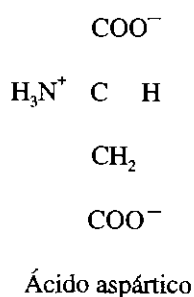


Tirosina

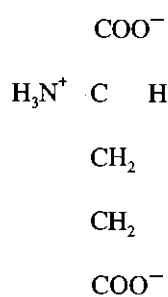


Triptófano

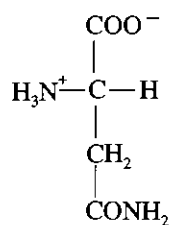
3. Aminoácidos con un grupo carboxilo (COOH) o amida (CONH<sub>2</sub>) en R:



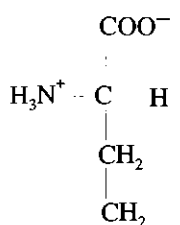
Ácido aspártico



Ácido glutámico



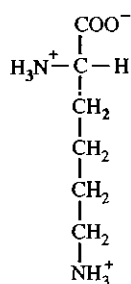
Asparagina



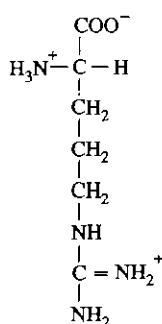
Glutamina

Glutamina

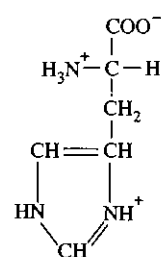
4. Aminoácidos con grupos básicos:(NH<sub>2</sub>), guanidino o anillo imidazol en R:



Lisina

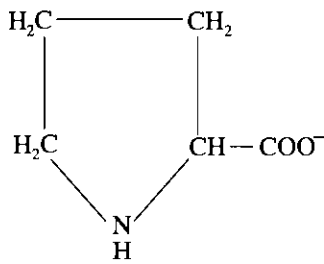


Arginina

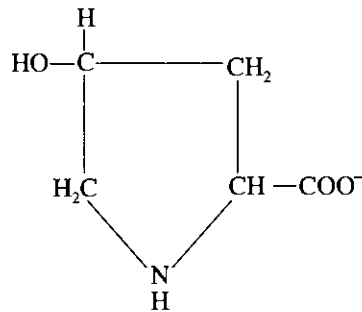


Histidina

**5. Aminoácidos cíclicos.** En este grupo se incluyen al aminoácido prolina y su derivado la hidroxiprolina:



Prolina



Hidroxiprolina

En la tabla 6.1 se presentan el nombre abreviado y el símbolo (letra) que identifican a cada uno de los 20 aminoácidos que constituyen los precursores de las proteínas.

**Tabla 6.1. Nombre completo, abreviatura y símbolo para identificar los aminoácidos**

Nombre	Abreviatura	Símbolo de una letra
Alanina	ala	A
Arginina	arg	R
Ácido aspártico	asp	D
Asparagina	asN	N
Cisteína	cis	C
Ácido glutámico	glu	E
Glicina	gli	G
Glutamina	glN	Q
Histidina	his	H
Isoleucina	ile	I
Leucina	leu	L
Lisina	lis	K
Metionina	met	M
Fenilalanina	fen	F
Prolina	pro	P
Serina	ser	S
Treonina	tre	T
Triptófano	tri	W
Tirosina	tir	Y
Valina	val	V

## Clasificación de los aminoácidos

Es posible clasificar los aminoácidos sobre la base de distintos criterios, de acuerdo con el objetivo que se persiga. En el acápite anterior realizamos una clasificación para el estudio de sus estructuras particulares; el criterio que se seleccionó fueron las características estructurales de sus cadenas laterales. Por el interés que tiene en la comprensión de la estructura y propiedades de péptidos y proteínas, seleccionaremos otros 2 criterios para su clasificación:

1. El número de grupos carboxilos y aminos (u otra agrupación básica) presentes en el aminoácido, de lo cual derivará el carácter ácido-básico de sus disoluciones. Sobre este criterio, los aminoácidos se clasificarán en **neutros** (monoamino-monocarboxílicos), **ácidos** (monoaminodicarboxílicos) y **básicos** (diaminomonocarboxílicos) (tabla 6.2). Se puede apreciar de manera fácil que los aminoácidos ácidos son 2 (glutámico y aspártico); básicos son 3 (lisina, arginina e histidina); el resto son aminoácidos neutros.

**Tabla 6.2.** Clasificación de los aminoácidos según número de grupos carboxilos y aminos en la molécula

Neutros		Ácidos	Básicos
Glicina	Cisteína	Ácido glutámico	Lisina
Alanina	Metionina	Ácido aspártico	Arginina
Valina	Fenilalanina		Histidina
Leucina	Tirosina		
Isoleucina	Triptófano		
Asparagina	Prolina		
Glutamina	Treonina		
Serina			

2. La presencia o no de grupos químicos polares en su cadena lateral R. Sobre este criterio, los aminoácidos se clasifican en apolares si no poseen ningún grupo polar en R, y polares -si tienen algún grupo polar en R. Los polares, a su vez, se subclasifican en polares iónicos- si a valores de pH fisiológico, adquieren carga eléctrica apreciable- y polares poco iónicos- si a valores de pH fisiológico, no adquieren carga eléctrica apreciable. La tabla 6.3 muestra la ubicación de cada aminoácido de acuerdo con este fundamento de clasificación. Se puede observar que los polares iónicos son precisamente los 2 aminoácidos ácidos y los 3 básicos, según el criterio precedente de clasificación; son polares poco iónicos aquellos aminoácidos que presentan en R alguno de los grupos siguientes: hidroxilo (OH), sulfidrilo (SH), amida (CONH<sub>2</sub>) o el anillo indol; el resto de los aminoácidos son apolares.

**Tabla 6.3.** Clasificación de los aminoácidos según la polaridad de sus grupos en R

Polares		Apolares
Iónicos	Poco iónicos	Glicina
Ácido aspártico	Serina	Alanina
Ácido glutámico	Treonina	Valina
Lisina	Tirosina	Leucina
Arginina	Cisteína	Isoleucina
Histidina	Asparagina	Metionina
	Glutamina	Fenilalanina
	Triptófano	Prolina

### Propiedades físicas de los aminoácidos

Los aminoácidos son sustancias cristalinas, por lo general, solubles en agua y en soluciones ácidas o básicas diluidas, e insolubles o muy poco solubles en alcohol y totalmente insolubles en éter. Sin embargo, alguno de ellos se comporta de forma contraria, como la cisteína, que es poco soluble en agua y la prolina, la cual es soluble en alcohol y éter. Los aminoácidos poseen un elevado punto de fusión que casi siempre sobrepasa los 200 °C y en algunos casos los 300 °C. Es frecuente que con valores por encima de estas temperaturas los aminoácidos se descompongan, por lo que no resulta útil su separación por destilación fraccionada.

### Propiedades ópticas de los aminoácidos. Series estéricas L y D

Con excepción de la glicina, todos los aminoácidos presentan actividad óptica, son capaces de desviar el plano de vibración de la luz polarizada (capítulo 5). La actividad óptica de los aminoácidos se debe a que, al menos el carbono  $\alpha$  de estos compuestos (excepto la glicina) está sustituido de forma asimétrica con 4 grupos químicos diferentes.

Por comparación con el gliceraldehído, respecto a la configuración espacial de su grupo  $\alpha$  amino, los aminoácidos se clasifican en 2 series estéricas: L y D (capítulo 5). A la serie L pertenecen aquellos aminoácidos cuyo grupo  $\alpha$   $\text{NH}_2$  está orientado hacia el mismo lado que el OH del L gliceraldehído. Si el  $\alpha$   $\text{NH}_2$  está orientado hacia el mismo lado que el OH del D gliceraldehído, el aminoácido será de la serie D.

Como regla general, los aminoácidos naturales pertenecen a la serie L, lo que se cumple particularmente para los aminoácidos que forman las proteínas. Sin embargo, en algunos péptidos naturales se encuentran, como excepción, aminoácidos de la serie D; un ejemplo lo constituye la presencia de la D fenilalanina en sustancias antibióticas como los péptidos gramicidina y tirocidina.

Por convención se acostumbra a colocar en la fórmula en proyección el grupo  $\alpha$  amino de los L aminoácidos hacia la izquierda del grupo  $\alpha$  carboxilo, cuando este

último se haya colocado hacia arriba y el  $\alpha$  amino de los L aminoácidos hacia arriba, cuando el grupo  $\alpha$  carboxilo se dispone hacia la derecha.

Los aminoácidos pueden constituir mezclas racémicas, que no son más que disoluciones equimoleculares de las series L y D, las que no presentan actividad óptica. Para identificar una mezcla racémica se le anteponen las letras DL al nombre del aminoácido; ejemplo: DL tirosina. En la tabla 6.4 se presentan los valores de rotación específica (sentido y magnitud de la actividad óptica) de algunos aminoácidos.

**Tabla 6.4. Rotación específica de las disoluciones acuosas de algunos L aminoácidos**

Aminoácido	Rotación específica
L-Alanina	+ 1,8 °
L-Arginina	+ 12,5 °
L-Leucina	- 11,0 °
L-Fenilalanina	- 34,5 °
Ácido L-Glutámico	+ 12,0 °
L-Histidina	- 38,5 °
L-Metionina	- 10,0 °
L-Lisina	+ 13,5 °
L-Serina	- 7,5 °
L-Prolina	- 86,2 °
L-Triptófano	- 33,7 °
L-Valina	+ 5,6 °

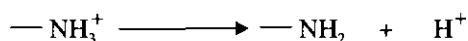
### **Propiedades eléctricas de los aminoácidos**

Los aminoácidos deben sus propiedades eléctricas a la presencia de grupos disociables en su molécula: los grupos carboxilos y aminos, el grupo guanidino presente en la arginina, el anillo imidazol de la histidina, el anillo fenol de la tirosina y el sulfidrilo de la cisteína. La disociación (como ácido) de cada uno de estos grupos se presenta de la forma siguiente:

#### **Grupo carboxilo**

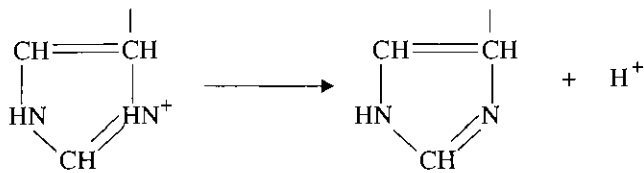


#### **Grupo amino**

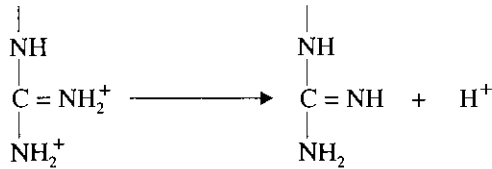




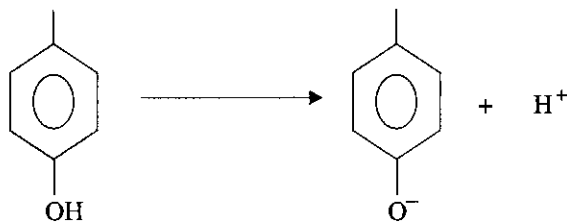
### Anillo imidazol



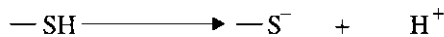
### Grupo guanidino



### Grupo fenólico



### Grupo sulfidrilo



Estos grupos pueden estar en su forma disociada o no disociada, según el pH del medio en que se encuentre disuelto el aminoácido; debido a ello estos compuestos pueden existir en distintas formas iónicas. La relación entre la disociación de un grupo y el pH del medio viene dada por la fórmula de Henderson-Hasselbach (capítulo 5):

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{Forma disociada}]}{[\text{Forma no disociada}]}$$

Es conveniente recordar que a mayor  $K_a$ , mayor será la acidez del grupo y, por el contrario, a menor valor de su  $\text{pK}$ , mayor será la acidez de un grupo. En los aminoácidos se han ordenado sus  $\text{pK}$  de menor a mayor: ( $\text{pK}_1$ ,  $\text{pK}_2$  y  $\text{pK}_3$ ), del grupo más ácido al menos ácido. A partir de la fórmula de Henderson-Hasselbach, se puede estimar la relación de las

concentraciones de las formas disociadas y no disociadas para cada grupo disociable de los aminoácidos, pero, para fines prácticos se puede asumir que:

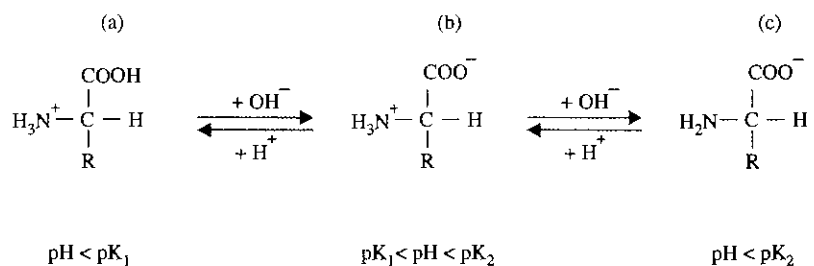
Si pH del medio = pK del grupo	[forma disociada] = [forma no disociada]
Si pH del medio es > pK del grupo	entonces predomina la forma disociada y [forma disociada] > [forma no disociada]
Si pH del medio es < pK del grupo	entonces predomina la forma no disociada y [forma no disociada] > [forma disociada]

## Especies iónicas de los aminoácidos

De acuerdo con lo antes expuesto, acerca de la disociación de los grupos disociables de los aminoácidos, éstos podrán existir en forma de especies iónicas distintas según el valor del pH del medio en que se encuentren disueltos. El comportamiento de los aminoácidos en cuanto a cantidad y variedad de sus especies iónicas depende del número y tipo de sus grupos disociables, es por ello conveniente analizarlos por separado para los aminoácidos neutros, ácidos y básicos.

### Especies iónicas de los aminoácidos neutros

Para estos aminoácidos, el pK<sub>1</sub> corresponde al pK del grupo α carboxilo y el pK<sub>2</sub> al pK del grupo α amino. Analizaremos las especies iónicas para este tipo de aminoácido a partir de valores bajos de pH, menores al valor de su pK<sub>1</sub>, situación en la que para todos los grupos predominará la forma no disociada, ya que será pH < pK para ambos grupos, especie (a); en esta condición el grupo carboxilo no presentará carga eléctrica y el grupo amino presentará carga eléctrica de +1, por lo que el aminoácido tendrá carga eléctrica neta positiva (+1) y situado en un campo eléctrico sería atraído por el polo negativo (cátodo).



Si se aumenta el pH del medio de disolución del aminoácido hasta un valor de pH que sea mayor que pK<sub>1</sub>, pero menor que pK<sub>2</sub> (pK<sub>1</sub> < pH < pK<sub>2</sub>), el grupo carboxilo predominará en su forma disociada y por tanto presentará carga eléctrica de -1; mientras el grupo amino predominará en su forma no disociada (carga eléctrica de +1), de donde la carga neta del aminoácido será igual a cero, especie (b); en tal condición el aminoácido no mostrará afinidad por ninguno de los polos de un campo eléctrico y, por tanto, no sería atraído por ninguno de ellos; esta especie iónica se conoce como ion dipolar.

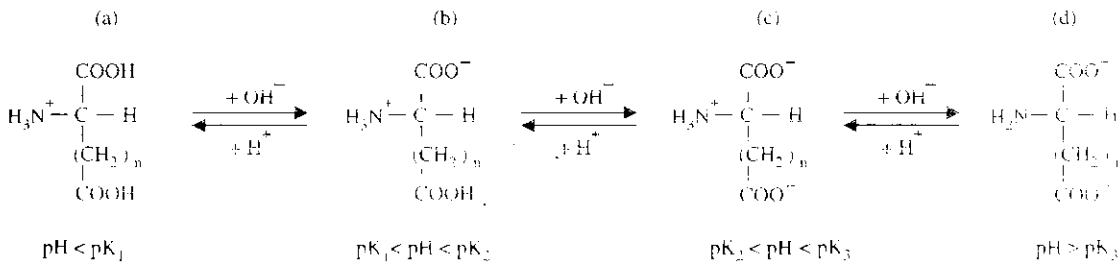
Si se continúa aumentando el pH del medio hasta lograr que su valor sea mayor que el valor de pK<sub>2</sub>, entonces para ambos grupos predominará la forma disociada y para tal situación el grupo carboxilo presentará carga eléctrica negativa (-1), en tanto que el

grupo amino no presentará carga eléctrica alguna, por ello el aminoácido tendrá carga eléctrica neta negativa (-1) y sería atraído por el polo positivo o ánodo especie (c).

Se puede aumentar o disminuir de manera fácil el pH del medio por la adición en el primer caso de un álcali (+ OH<sup>-</sup>) y en el segundo caso de un ácido (+ H<sup>+</sup>). Aunque para realizar este análisis hemos partido de valores bajos de pH, los que se han ido incrementando por la adición de un álcali al medio; es posible de igual forma realizar el análisis inverso, a partir de los valores más elevados de pH y disminuirlos por la adición de un ácido; por ello, en las ecuaciones de las especies iónicas se escriben las flechas en ambos sentidos con la adición, según corresponda, de un ácido o un álcali.

### Especies iónicas de los aminoácidos ácidos

Se deben analizar 3 grupos disociables: el valor de pK<sub>1</sub> corresponde al pK del grupo α carboxilo; el pK<sub>2</sub> al otro grupo carboxilo presente en la cadena R (β carboxilo en el caso del ácido aspártico y γ carboxilo en el del ácido glutámico) y por último el pK<sub>3</sub> será el valor del pK del grupo α amino. Como puede apreciarse en este caso las especies iónicas serán 4. En un medio con valor de pH < pK<sub>1</sub>, ninguno de los grupos estará disociado, la carga neta del aminoácido será positiva y en un campo eléctrico sería atraído y se desplazaría hacia el polo negativo o cátodo, especie (a). Si se aumenta el pH, de modo que sea mayor que pK<sub>1</sub> pero menor que pK<sub>2</sub> (pK<sub>1</sub> < pH < pK<sub>2</sub>), estaría predominantemente disociado el grupo α carboxilo y los demás grupos se mantendrían sin disociar, la carga eléctrica neta sería 0 (-1 del α carboxilo y +1 del α amino), por lo que no se desplazaría hacia ningún polo, si se sometiera a la acción de un campo eléctrico, especie (b).

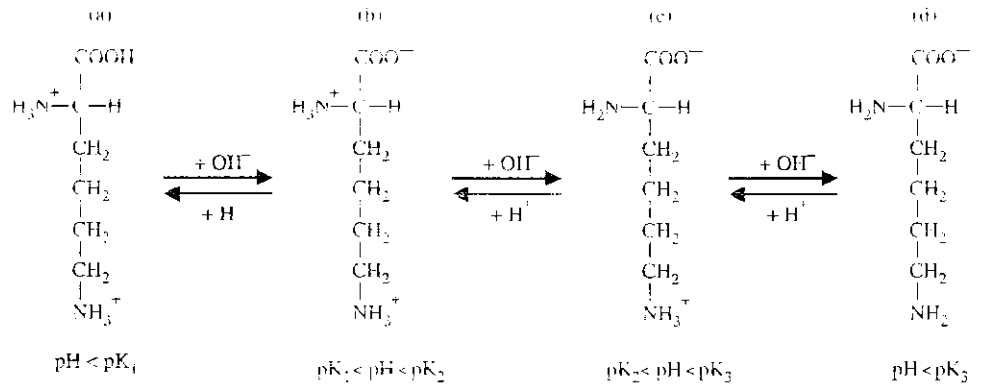


Al continuar elevando el valor del pH hasta lograr que su valor supere al pK<sub>2</sub>, pero sea inferior al pK<sub>3</sub>, especie (c) (pK<sub>2</sub> < pH < pK<sub>3</sub>), se consigue que se disocien ambos grupos carboxilos y que el amino se mantenga sin disociar; en tal condición la carga neta del aminoácido será -1 y, sometido a la acción de un campo eléctrico, se desplazaría hacia el ánodo. Por último, al continuar incrementando el pH del medio hasta que pH > pK<sub>3</sub> se lograría la disociación de todos los grupos, especie (d), el aminoácido presentaría carga neta de -2 y se desplazaría hacia el polo positivo incluso con mayor velocidad que la especie anterior, debido a una mayor afinidad por el ánodo al poseer mayor carga negativa.

### Especies iónicas de los aminoácidos básicos

Nos basaremos en el aminoácido lisina y por último haremos las consideraciones necesarias para los casos de la arginina y la histidina. El aminoácido lisina posee 3 grupos ionizables, el pK<sub>1</sub> corresponde al grupo α carboxilo, el pK<sub>2</sub> al α amino y el pK<sub>3</sub> al grupo amino presente en su cadena lateral (ε amino). En valores de pH < pK<sub>1</sub> ningún grupo estará disociado y por tanto la especie iónica será la especie (a)

y la carga neta del aminoácido sería igual a +2, por lo que se desplazaría al cátodo en un campo eléctrico. Si se aumenta el valor del pH del medio, de manera que sea mayor que  $pK_1$  y menor que  $pK_2$  ( $pK_1 < pH < pK_2$ ), la especie iónica sería la (b), la carga eléctrica de +1 y también se desplazaría hacia el cátodo, pero a menor velocidad que la especie anterior. Al incrementar aún más el pH del medio, hasta lograr que éste sea mayor que el  $pK_2$  pero menor que el  $pK_3$  ( $pK_2 < pH < pK_3$ ), estarían disociados los grupos carboxilo y el  $\alpha$  amino especie (c), ésta presenta carga neta cero (-1 por el grupo carboxilo y +1 por el  $\epsilon$  amino), sería el ion dipolar y no se desplazaría en un campo eléctrico. Por último, al continuar aumentando el pH hasta que sea mayor que el  $pK_3$ , todos los grupos se disociarían, especie (d), ésta con carga eléctrica neta de -1 se comportaría como un anión y por tanto se desplazaría hacia el polo positivo o ánodo.



Es conveniente aclarar que el comportamiento en cuanto a las especies iónicas según el pH del medio, es similar para la arginina y la lisina, con la diferencia de que el  $pK_3$  corresponde al grupo guanidino. Sin embargo, en el caso del aminoácido histidina el comportamiento resulta diferente, ya que el anillo imidazol posee un valor de  $pK$  menor ( $pK_2$ ) que el del  $\alpha$  amino ( $pK_3$ ) y por tanto se disociará antes el anillo imidazol que el  $\alpha$  amino; salvo esta diferencia el resto del análisis para el caso de la histidina, resulta similar al de los demás aminoácidos básicos.

### Punto isoelectrico de los aminoácidos

Como consecuencia del comportamiento eléctrico de los aminoácidos nos referimos al concepto de punto isoelectrico (PI). El punto isoelectrico de un aminoácido es el valor del pH al cual éste presenta carga neta cero y no es atraído por ningún polo, si se le somete a la acción de un campo eléctrico. La especie iónica predominante en el PI será la de ion dipolar. El punto isoelectrico se calcula diferente según el tipo de aminoácido como se muestra a continuación:

- Para los aminoácidos neutros

$$PI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

donde  $pK_1$  es el  $pK$  del grupo  $\alpha$  carboxilo y  $pK_2$  es el del  $\alpha$  amino.

- Para los aminoácidos ácidos

$$PI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

donde el  $pK_1$  es el del grupo  $\alpha$  carboxilo y el  $pK_2$  corresponde al  $pK$  del otro grupo carboxilo presente en R. Como puede apreciarse para el cálculo del PI de los aminoácidos neutros y ácidos estas expresiones matemáticas son similares, sin embargo, se debe recordar que aunque el  $pK_1$  en ambos casos corresponde al grupo  $\alpha$  carboxilo, no sucede así para el  $pK_2$ , el cual corresponde para el grupo  $\alpha$  amino en el caso de los aminoácidos neutros, y para el otro grupo carboxilo presente en la cadena lateral R de este tipo de aminoácidos ( $\beta$  carboxilo si se trata del ácido aspártico y  $\gamma$  carboxilo, del ácido glutámico), para los aminoácidos ácidos.

- Para los aminoácidos básicos

$$PI = \frac{pK_2 + pK_3}{2}$$

El  $pK_2$  es el  $pK$  del grupo  $\alpha$  amino y el  $pK_3$  es el  $pK$  del otro grupo básico presente en R ( $\epsilon$  amino para el caso de la lisina y guanidino para el de la arginina), debe recordarse que el aminoácido histidina constituye una excepción entre los aminoácidos básicos; su  $pK_2$  corresponde al  $pK$  del anillo imidazol y su  $pK_3$  al del grupo  $\alpha$  amino, aunque es obvio que para el cálculo del valor del PI esto no implica ninguna consecuencia.

Se puede inferir la carga eléctrica neta de un aminoácido al comparar el pH del medio con el valor de su punto isoeléctrico. Si sabemos que el pH del medio coincide con el de su PI, el aminoácido presenta carga neta cero, y resulta claro que a valores de pH menores que su PI, su carga neta sería positiva, pues los grupos básicos predominarían sin disociar, con carga positiva y los grupos carboxilos sin disociar (sin carga); si el pH es mayor que su PI, la carga eléctrica neta sería negativa, pues todos los grupos carboxilos estarán disociados (carga negativa) y predominarán los grupos básicos ya disociados (carga eléctrica cero). De manera que se puede resumir:

- |                                       |   |
|---------------------------------------|---|
| - Si pH del medio = PI del aminoácido | carga eléctrica neta = 0 y no se desplaza en un campo eléctrico             |
| - Si pH del medio < PI del aminoácido | carga eléctrica neta positiva y se desplaza al cátodo en un campo eléctrico |
| - Si pH del medio > PI del aminoácido | carga eléctrica neta negativa y se desplaza al ánodo en un campo eléctrico  |

En la tabla 6.5 aparecen los valores de  $pK$  de todos los grupos de los diferentes aminoácidos, así como el valor de su punto isoeléctrico.

**Tabla 6.5. Valores de pK y del punto isoeléctrico de los aminoácidos**

Aminoácido	pK <sub>1</sub>		pK <sub>2</sub>		pK <sub>3</sub>		PI
	Grupo	Valor	Grupo	Valor	Grupo	Valor	
Glicina	α carboxilo	2,34	α amino	9,60	-	-	5,97
Alanina	α carboxilo	2,35	α amino	9,69	-	-	6,02
Valina	α carboxilo	2,32	α amino	9,62	-	-	5,97
Leucina	α carboxilo	2,36	α amino	9,60	-	-	5,98
Isoleucina	α carboxilo	2,36	α amino	9,68	-	-	6,02
Serina	α carboxilo	2,21	α amino	9,15	-	-	5,68
Treonina	α carboxilo	2,63	α amino	10,43	-	-	6,53
Fenilalanina	α carboxilo	1,83	α amino	9,13	-	-	5,48
Triptófano	α carboxilo	2,38	α amino	9,39	-	-	5,88
Metionina	α carboxilo	2,28	α amino	9,21	-	-	5,75
Prolina	α carboxilo	1,99	α amino	10,60	-	-	6,29
Asparagina	α carboxilo	2,02	α amino	8,88	-	-	5,45
Glutamina	α carboxilo	2,17	α amino	9,13	-	-	5,65
Tirosina	α carboxilo	2,20	α amino	9,11	fenólico	10,07	5,65
Lisina	α carboxilo	2,18	α amino	8,95	ε amino	10,53	9,74
Histidina	α carboxilo	1,82	Imidazol	6,00	α amino	9,17	7,58
Arginina	α carboxilo	2,17	α amino	9,04	guanidino	12,48	10,76
Ácido aspártico	α carboxilo	2,09	β carboxilo	3,86	α amino	9,67	2,97
Ácido glutámico	α carboxilo	2,19	γ carboxilo	4,25	α amino	9,67	3,22
Cisteína	α carboxilo	1,71	Sulfidrilo	8,33	α amino	10,78	5,02

### **Electroforesis de los aminoácidos**

Los aminoácidos por su carácter de anfótero, moléculas cuya carga eléctrica depende del pH del medio en el que se encuentren disueltas, pueden ser separadas mediante la técnica de electroforesis. Ésta consiste en someter

bajo la acción de un campo eléctrico, a un valor de pH determinado, una mezcla de varios aminoácidos. En dependencia fundamentalmente de su carga, los aminoácidos se separan al desplazarse hacia polos distintos y con velocidades diferentes.

Para realizar esta técnica se utilizan distintos soportes, en los que se coloca la solución de aminoácidos que se desea separar; los soportes pueden ser papel, agarosa, almidón, poliacrilamida, etcétera.

El voltaje que se debe aplicar y el tiempo de corrida dependen de las cargas eléctricas y el peso molecular de los anfólitos que se van a separar. Al finalizar la corrida, la tira de papel -o el soporte utilizado- se revela por coloración, frecuentemente con ninhidrina, para visualizar la separación.

## Importancia de los grupos en la cadena R de los aminoácidos

En las cadenas laterales de los aminoácidos están presentes diferentes grupos químicos según el aminoácido específico que se trate. Estos grupos tienen importancia en la determinación de la estructura tridimensional que adopten las proteínas. Así, la glicina que es un aminoácido pequeño puede localizarse en sitios inaccesibles para otros aminoácidos; los aminoácidos de cadena larga perturban las estructuras en hélice alfa y en hoja plegada; los aminoácidos con cadenas laterales hidrofóbicas son abundantes en proteínas intrínsecas de membrana en las zonas de dichas proteínas que se hallan en contacto estrecho con la doble capa lipídica, la prolina se encuentra en zonas de giros o de fallas de la estructura en hélice de las proteínas; los aminoácidos polares iónicos se disponen hacia afuera en la estructura de proteínas globulares, pues interactúan con mayor efectividad que otros con el medio ambiente acuoso.

El anillo imidazólico de la histidina desempeña una función importante en el mantenimiento del pH sanguíneo debido a su valor de pK cercano a 7. Los grupos OH de la serina y la tirosina tienen importancia en la función catalítica de algunas enzimas, así como en la unión covalente a grupos fosfatos que intervienen en procesos de regulación de la actividad de determinadas enzimas.

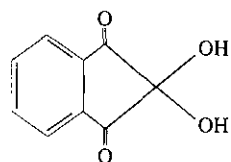
Entre varios de estos grupos presentes en las cadenas laterales de los aminoácidos se establecen determinados enlaces o interacciones que influyen en la estructura espacial de las proteínas, entre los más frecuentes se encuentran los siguientes:

Grupos	Enlace o interacción
Entre un grupo básico con carga + y un grupo ácido con carga -	Unión salina
Entre las cadenas hidrocarbonadas de 2 aminoácidos apolares	Unión hidrofóbica
Entre el -COO <sup>-</sup> de un aminoácido ácido y otro con OH en R	Puente de hidrógeno
Entre el NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> de un aminoácido básico y otro con OH en R	Puente de hidrógeno
Entre 2 aminoácidos con grupos OH en R	Puente de hidrógeno
Entre 2 grupos SH	Puente disulfuro
Entre dos anillos aromáticos presentes en R	Fuerzas de Van der Waals que en estos casos se conocen con el nombre de apilamiento o <i>stacking</i>

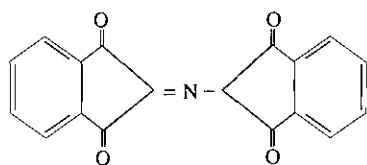
## Reacciones químicas de los aminoácidos

Los aminoácidos pueden participar en numerosas reacciones químicas, poseen grupos que son capaces de intervenir en diferentes tipos de reacciones: mediante el grupo amino pueden formar bases de Schiff-de importancia en algunas vías metabólicas de estos compuestos- también mediante el grupo amino reaccionan con el dinitrofluorobenceno o el ácido nitroso o con el fenilisotiocianato (reacción de Edman), entre otras muchas reacciones que han sido de utilidad en la identificación de los grupos aminos terminales, y por ello empleadas en la determinación de la secuencia de péptidos y proteínas.

Por su grupo carboxilo los aminoácidos pueden formar ésteres o descarboxilarse y dar lugar a las llamadas aminas biógenas, muchas de ellas son compuestos con importantes funciones biológicas. Los aminoácidos pueden formar sales si reacciona el grupo carboxilo con un álcali, por ejemplo con el OHNa se formaría la sal sódica del aminoácido; si reacciona el grupo amino con un ácido, por ejemplo el HCl, se obtendría el clorhidrato del aminoácido. Por supuesto los aminoácidos también pueden reaccionar por los diferentes grupos que poseen en R, incluso algunas de estas reacciones han sido empleadas para identificar a los diferentes aminoácidos. Estudiaremos sólo 2 reacciones, la reacción de la ninhidrina por su amplio uso en la identificación y cuantificación de los aminoácidos y la formación del enlace peptídico por su trascendencia en la formación de los péptidos y las proteínas.



Ninhidrina



Púrpura de Ruhemann

### Reacción de la ninhidrina

Esta reacción es una de las más empleadas para la identificación de los aminoácidos. Ella transcurre a elevadas temperaturas (ebullición) y reaccionan 2 moléculas de ninhidrina por cada molécula del aminoácido, se forma un complejo de color violeta (púrpura de Ruhemann) y se libera  $\text{CO}_2$  y  $\text{NH}_3$ . La estructura de la ninhidrina y la del complejo coloreado de púrpura de Ruhemann se muestran en la figura 6.1.

### Formación del enlace peptídico

El enlace peptídico es una amida sustituida que se forma al reaccionar el grupo carboxilo de un aminoácido con el grupo amino de otro y pérdida de una molécula de agua:

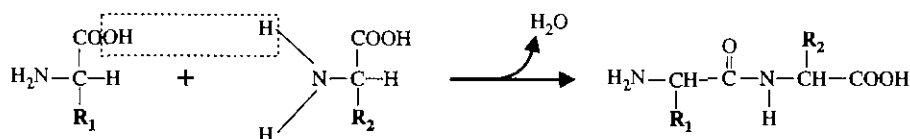


Fig. 6.1 Fórmulas de la ninhidrina y de la púrpura de Ruhemann.

El grupo peptídico formado está constituido por el carbono carbonílico y el N amídico, ambos unidos al carbono alfa. En el enlace peptídico se establece una resonancia electrónica, debido a la posibilidad que presentan los electrones del enlace para desplazarse entre el C y el N, por las interacciones que se establecen entre los orbitales p del N, el C y el O (Fig 6.2).

Debido a la resonancia el enlace peptídico presenta características de doble enlace, comprobado mediante la espectroscopia, ya que la distancia entre el átomo de carbono y el oxígeno es 0,02 Å mayor que la distancia promedio de enlaces dobles C=O de aldehídos y cetonas; así como el C-N peptídico es 0,13 Å menor que el enlace simple N-Cα; por consecuencia se dice que el enlace peptídico posee carácter parcial de doble enlace. El enlace Cα-N es el enlace φ, y el Cα-C es el ψ (Fig 6.3).



Esta característica determina que los elementos del enlace peptídico se encuentren en un mismo plano y los giros se establezcan sólo al nivel de los carbono alfa; además, debido a las limitaciones de giros que condiciona este carácter de doble enlace existe la posibilidad de la presencia de isomería geométrica (cis/trans). La configuración predominante en los péptidos y proteínas es la trans, donde los átomos de  $C_{\alpha}$  sucesivos se disponen a los lados opuestos del grupo peptídico (Fig 6.4). La energía de resonancia alcanza su valor máximo cuando el grupo peptídico es coplanar, ya que el sobresolapamiento de los orbitales p es máximo en esta conformación. Este sobresolapamiento y, por tanto, la energía de resonancia se hacen cero, si el enlace peptídico realiza un giro que lo aleje  $90^{\circ}$  de la planaridad, lo cual explica la rigidez planar del grupo peptídico.

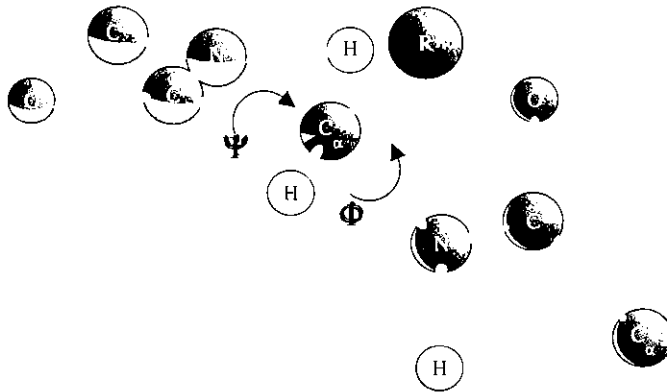
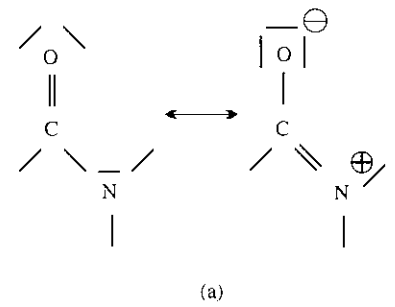


Fig.6.3 Representación de dos enlaces peptídicos contiguos. Los elementos del enlace peptídico se encuentran en un mismo plano debido a las limitaciones en el giro del enlace C-N ( carácter parcial de doble enlace). Los giros se producen a nivel de los carbonos  $\alpha$ ; enlace C-C $_{\alpha}$  ( $\psi$ ) y del C $_{\alpha}$ -N ( $\phi$ ).

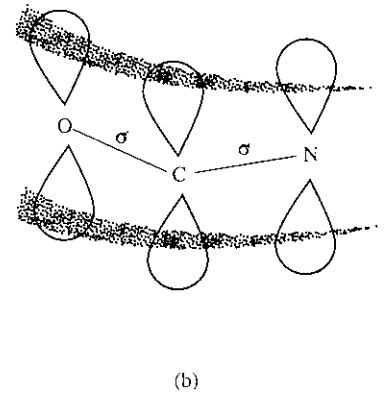


Fig. 6.2 Representación de la estructura del enlace peptídico; a) estructura resonante; b) solapamiento de los orbitales p del C, el O y el N.

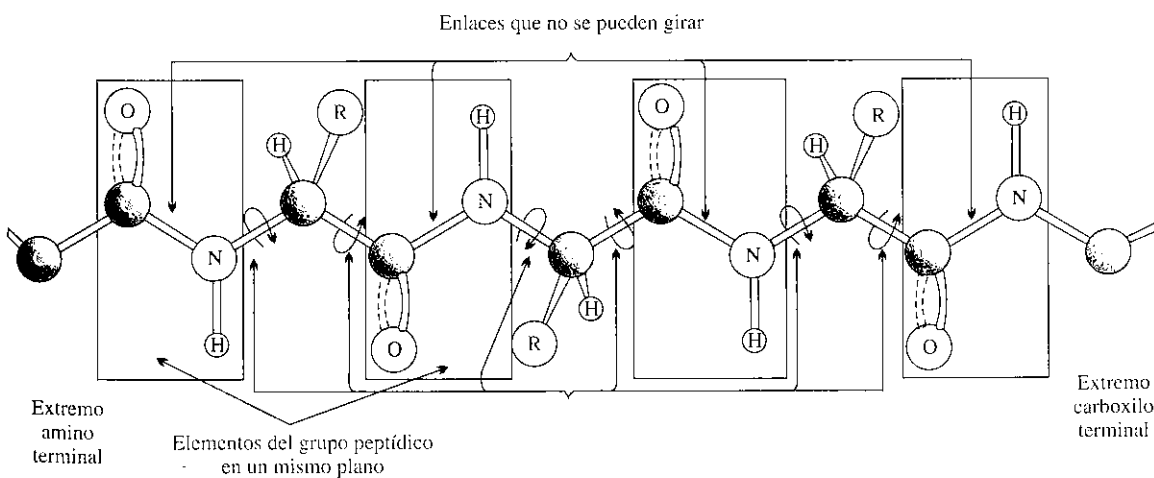


Fig. 6.4. Representación de los enlaces peptídicos de un segmento de una cadena polipeptídica. Pueden observarse los elementos del enlace peptídico en un mismo plano y la disposición trans de los grupos laterales R de los residuos de los aminoácidos y del propio grupo peptídico.

## Resumen

Los aminoácidos son ácidos orgánicos en los que un H ha sido reemplazado por un grupo amino. Los aminoácidos cumplen funciones variadas, pero la más importante es constituir las unidades estructurales de los péptidos y las proteínas. Los aminoácidos que forman las proteínas son todos alfa aminoácidos, excepto la prolina y la hidroxiprolina.

Los aminoácidos que forman las proteínas pertenecen a la serie L. La cadena lateral en R diferencia un aminoácido de otro y puede estar constituida por cadenas alifáticas que contengan grupos químicos diversos o por anillos aromáticos.

Los aminoácidos pueden clasificarse según diferentes criterios. De acuerdo con el número de grupos carboxilos y aminos se clasifican en neutros, ácidos y básicos; de acuerdo con la polaridad de su grupo R se clasifican en apolares y polares - estos últimos a su vez pueden ser polares iónicos o polares poco iónicos.

Entre los grupos presentes en los radicales R se pueden establecer diferentes interacciones como: uniones salinas, uniones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno, puentes disulfuro y apilamiento, que desempeñan una función muy importante en la determinación de la estructura espacial de las proteínas.

Los aminoácidos presentan propiedades eléctricas debido a la presencia de grupos disociables; la disociación de estos grupos depende del valor de su pK y del pH del medio en que se encuentren disueltos, por ello los aminoácidos pueden existir en diversas especies iónicas y presentar carga neta distinta. De acuerdo con su carga eléctrica serán atraídos por el ánodo o el cátodo si son sometidos a la acción de un campo eléctrico y se desplazarán en uno u otro sentido. Al valor del pH al cual el aminoácido presenta carga neta cero y no se desplaza en un campo eléctrico se le denomina punto isoeléctrico (PI). De la relación entre el pH del medio y el PI de un aminoácido se puede predecir su comportamiento electroforético. Las técnicas de electroforesis basadas en las propiedades eléctricas de los aminoácidos son de utilidad en la separación e identificación de estas biomoléculas.

Los aminoácidos se unen por medio del enlace peptídico para originar los péptidos y las proteínas. El enlace peptídico es un enlace de tipo amida sustituida, y se forma cuando reacciona el grupo carboxilo de un aminoácido con el amínico de otro y se elimina una molécula de agua. Este enlace posee carácter parcial de doble enlace y limita el giro de los elementos constituyentes que se encuentran todos en un mismo plano y en disposición trans.

## Ejercicios

1. Defina el concepto de aminoácido.
2. Cite 2 criterios de clasificación de los aminoácidos.
3. Clasifique los aminoácidos siguientes de acuerdo con el número de grupos carboxilos y aminos que poseen:

alanina	valina	glutámico	histidina
serina	glicina	arginina	fenilalanina
cisteína	aspártico	lisina	tirosina
4. Clasifique los aminoácidos del ejercicio anterior de acuerdo con la polaridad de sus grupos R.
5. Calcule el punto isoeléctrico de la hidroxiprolina si usted sabe que su  $pK_1=1,92$  y su  $pK_2=9,73$ .
6. ¿Cuál será la especie iónica predominante de la alanina a un valor de  $pH=8,5$ ? Escriba la estructura de la especie, señale su carga neta y prediga su comportamiento electroforético.
7. ¿Cuál será la especie iónica predominante de la histidina a un  $pH=7,2$ ? Escriba la estructura de la especie, señale su carga neta y prediga su comportamiento electroforético.

8. ¿Cuál será la especie iónica predominante del ácido glutámico a un pH=3,0? Escriba la estructura de la especie, señale su carga neta y prediga su comportamiento electroforético.
9. Identifique la interacción que puede establecerse entre los grupos en las cadenas laterales en R de las siguientes parejas de aminoácidos:
- |         |         |         |         |
|---------|---------|---------|---------|
| ala-ile | glu-tir | val-leu | cis-cis |
| fen-fen | lis-ser | asp-lis | tir-tir |
| glu-ser | glu-arg |         |         |
10. ¿Qué tipo de interacción usted considera que pueda establecerse entre los grupos en R de las siguientes parejas de aminoácidos? Fundamente su respuesta.
- |         |         |         |         |
|---------|---------|---------|---------|
| glu-glu | glu-asp | lis-lis | lis-arg |
|---------|---------|---------|---------|
11. Si se realiza una electroforesis a una mezcla de los aminoácidos hipotéticos A (PI=3,00), B (PI=6,00) y C (PI=9,00) utilizando un medio con pH=6 ¿Cuál será el comportamiento electroforético de cada aminoácido y por qué? Asuma que todos tienen similar peso molecular.
12. Enumere las características del enlace peptídico.