ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ МГУ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

БИОНЕОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

МИЛАЕВА
ЕЛЕНА РУДОЛЬФОВНА

ХИМФАК МГУ

КОНСПЕКТ ПОДГОТОВЛЕН СТУДЕНТАМИ, НЕ ПРОХОДИЛ ПРОФ. РЕДАКТУРУ И МОЖЕТ СОДЕРЖАТЬ ОШИБКИ. СЛЕДИТЕ ЗА ОБНОВЛЕНИЯМИ НА VK.COM/TEACHINMSU.

ЕСЛИ ВЫ ОБНАРУЖИЛИ ОШИБКИ ИЛИ ОПЕЧАТКИ, ТО СООБЩИТЕ ОБ ЭТОМ, НАПИСАВ СООБЩЕСТВУ VK.COM/TEACHINMSU.

БЛАГОДАРИМ ЗА ПОДГОТОВКУ КОНСПЕКТА
СТУДЕНТКУ БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА МГУ
СОЛОВЬЕВУ АННУ АНДРЕЕВНУ

Оглавление

Лекция 1 4
Роль бионеорганической химии в современной науке 4
Основные задачи бионеорганической химии 4
Методы исследований 5
Строение белков с гемами 9
Белки как биолиганды 12
Функциональные группы в аминокислотах 15
Металлотионеины 16
Нуклеиновые кислоты как лиганды 17
Липиды как лиганды 20
Лекция 2 21
Натрий, калий, кальций 21
Цинк 25
Карбоксиангидраза 25
Карбоксипептидаза А 28
Щелочная фосфатаза 30
Роль железа в биологических системах 30
Функции железа 30
Транспорт железа 31
Железо-серные кластеры 33
Лекция 3 37
Порфирины 37
Гем 39
Биосинтез гема 42
Врожденная порфирия 48
Острая перемежающаяся порфирия 48
Дальнейшая судьба гема 49
Лекция 4 51
Активные формы кислорода 51
Гемоглобин и миоглобин 53
Особенности связывания кислорода гемоглобином 56
Синтетические переносчики кислорода 57
Гемэритрин 58
Пероксидазы и каталазы 59
Гем-тиолатные белки 60

Медь-содержащие белки 65
Цитохром с оксидаза 70
Лекция 6 73
Метанмонооксигеназа 73
Кобальт 74
Молибден 75
Нитрогеназа 76
Никель 78
Марганец 80
Ванадий 81
Лекция 7 83
Металлы и их соединения в медицине 83
Щелочные металлы 83
Mg, Ca, Sr, Ba 84
B, Al, Ga, In, Tl 85
Si, Ge, Sn, Pb 87
N, P, As, Sb, Bi 88
V, Nb, Ta, Cr 89
Платина 90

Лекция 1

Роль бионеорганической химии в современной науке

В привычном понимании химия классифицируется на неорганическую и органическую, также используется деление на биоорганическую и бионеорганическую. Это связано с тем, что уже давно и хорошо развитая дисциплина, биоорганическая химия, посвящена изучению роли органических соединений (C, N, O, S, P). Однако кроме этих элементов, большое количество различных биологических молекул содержит атомы металлов, и в связи с этим сформировалась и в последнее время интенсивно развивается такая наука как бионеорганическая химия. Также в отдельный раздел пришлось выделить биометаллоорганическую химию. В российской классификации она рассматривается в разделе органической химии, в то время как в англоязычной литература она принадлежит к разделу неорганической химии.

Бионеорганическая химия изучает роль металлов и их соединений в биологических процессах. Данный список металлов представляет биогенные элементы, которые непременно встречаются в живой клетке и выполняют определенную роль:

Na, K, Mg, Ca, V, Mo, W, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn

Глобальная роль неорганических соединений - это построение белковых систем, синтез аминокислот, пептидов и белков, нуклеиновых кислот, они принимают участие в биохимии углеводов, липидов, биорегуляторов.

Те биологические системы, которые содержат металл, играют большую роль, т.к. связаны с ферментативными реакциями, процессами дыхания (дыхание в среде, содержащей кислород, является одним из важнейших процессов), преобразованием энергии, транспортом веществ, фотосинтезом, фиксацией азоты и др.

Итак, биометаллонеорганическая химия в данном курсе будет рассматриваться в разделе бионеорганической химии. Что важно для этой дисциплины? Во-первых, междисциплинарность, характерная для науки 21го века. Исследования, которые сейчас проводятся, как правило, объединяют исследователей различных областей. И хотя приставка био- скорее могла бы относить эту дисциплину скорее к биомолекулярной химии или молекулярной биологии, но на самом деле ключевыми частями, составляющими эту дисциплину являются органическая и неорганическая химия, физхимия, частично аналитическая химия. Результат исследований в этой области используется в медицинской химии, химии окружающей среды, фармакологии. В этом состоит суть междисциплинарности данного направления.

Основные задачи бионеорганической химии

- Изучение роли металлов и их соединений в живых организмах и окружающей среде, с которой они взаимодействуют
- Изучение реакционной способности металлов и их соединений по отношению к биологическим субстратам, содержащимся в живой клетке

- Моделирование ферментов и процессов с их участием - уникальная природа биологических катализаторов – ферментов – инициирует поиск таких катализаторов, которые напоминали бы функционально или структурно активные центры ферментов, и при этом позволяли бы осуществлять процессы реакций в технологических схемах

Эти три задачи – фундаментальный блок исследований, изучающих структуры, функции, механизмы, и обеспечивающий фундаментальную основу для дальнейших прикладных исследований.

Направленный синтез координационных и металлоорганических соединений с заданной биологической активностью

- Создание лекарственных препаратов
- Создание биоматериалов, или же, как часто говорится, биосовместимых материалов – неорганических систем, координационных соединений с органическим лигандом, которые благоприятно входят в живую клетку и являются биосовместимыми

Методы исследований

На данный момент в бионеорганической химии используются разнообразные методы исследований.

- Изучение физико-химических и спектральных свойств активных центров металлопротеинов
- Синтез и изучение моделей (биомиметиков) активных центров ферментов и физиологически активных веществ
- Сопоставление реакционной способности металлопротеинов и модельных соединений
- Направленная модификация с использованием генной инженерии (“site-directed mutagenesis”)
- XAS, EXAFS
- РСА (монокристалл)
- Электронная спектроскопия поглощения (хромофор)
- MCD
- Raman-спектроскопия ЭПР (парамагнитные частицы)
- Магнитные измерения (SQUID-магнетометр)
- ЯМР
- Mossbauer-спектроскопия (соединения Fe)
- Кинетические методы (stop-flow)
- Изучение молекулярных механизмов
- Квантовохимические расчеты

Основные блоки курса

1. Роль металлов в биологических процессах

2. Органические реакции с участием металлопротеинов (с участием ферментов, содержащих металл), сравнение с аналогичными реакциями, проводящимися в лабораторных условиях без них

3. Металлы в медицины, лекарственные препараты, история их открытия, механизмы действия

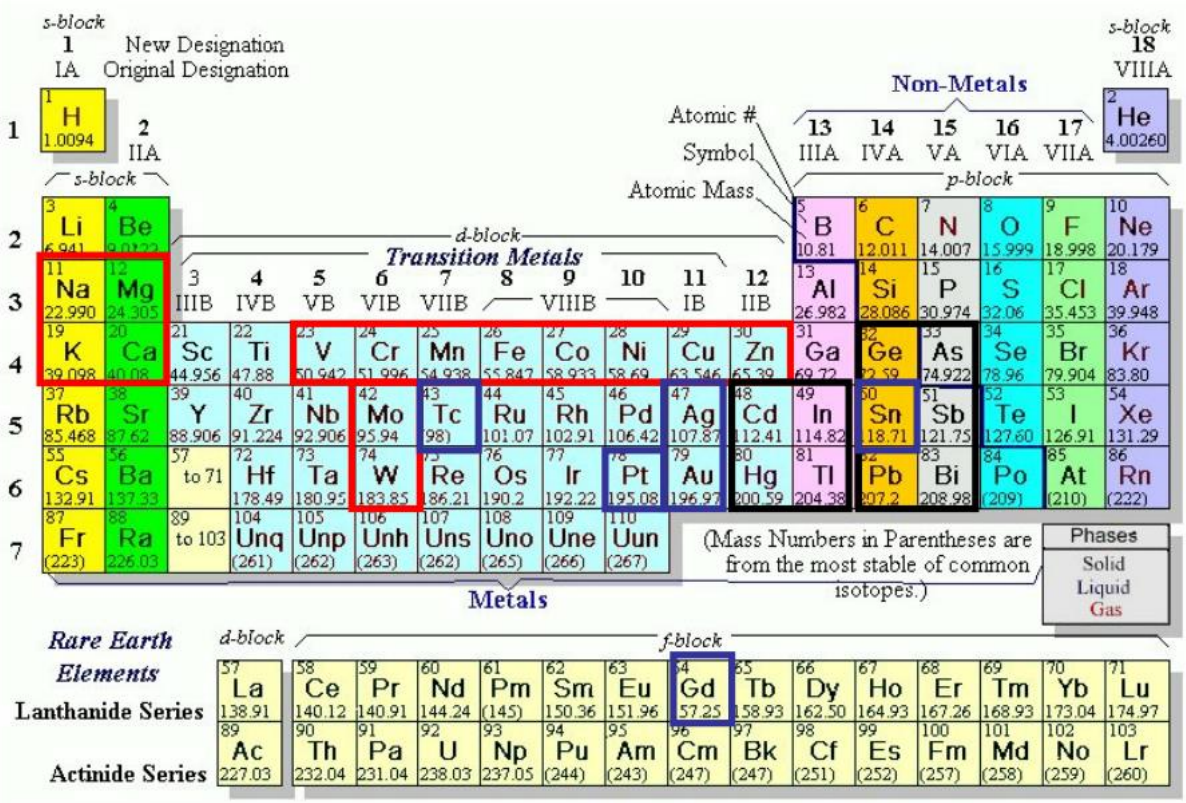


Рис. 1.1 Элементы в красной рамке – биогенные элементы (металлы, функционирование клетки без которых не представляется возможным). В синей рамке представлены металлы, входящие в состав лекарственных препаратов (наиболее часто встречающиеся). В черной рамке представлены тяжелые металлы, относящиеся к так называемым эко-токсикантам, в норме не содержащимся в живой клетке, проникновение которых в клетку приводит к ее повреждениям и гибели. Интересный факт – олово попадает во все три группы, т.к. его соединения являются токсичными, при этом популярными при создании лекарственных препаратов, и олово обнаружено в нормально функционирующих живых клетках.

В среднем содержание металлов в организме человека весом 70 кг является следующим:

Ca	~1000 g	Fe	~4.5 g	Sn	~20 mg	Co	~3 mg
K	~140 g	Zn	~2.3 g	Cr	~14 mg	Ni	~1 mg
Na	~100 g	Cu	~72 mg	Mn	~12 mg		
Mg	~25 g	V	~20 mg	Mo	~5 mg		

Большое количество кальция обусловлено его большим содержанием в скелетной ткани человека. Но все остальные элемента, содержание которых относительно мало, также являются необходимыми для работы ферментов, а значит и жизни клеток. Подтверждения биогенной роли некоторых элементов в клетке еще нет, возможно, их происхождение в организме обуславливается антропогенными причинами.

С точки зрения рассматриваемых биологический процессов, прежде всего стоит выделить несколько, содержащих металлы в составе ферментов:

- Метаболизм (Окислительно-восстановительные процессы)
- Дыхание
- Фотосинтез
- Передача биохимических сигналов
- Защита против токсичных и мутагенных агентов

Металл в ферменте – это способ добавить молекуле редокс-активность за счет измерения степени окисления.

Данная таблица (рис. 1.2) хорошо показывает, как распределяются биологические системы, содержащие металлы – основная роль, как видно, принадлежит белкам, но также существуют содержащие металлы низкомолекулярные соединения, чаще – координационные соединения. К таким соединениями относятся известные сидерофоры, переносящие кислород в бактериях

Рис. 1.2 Биосоединения с металлом

В чем состоит разница между химическим и биохимическим маршрутом?

К примеру, самый распространенный для человека субстрат – это глюкоза. Если рассматривать химическую реакцию окисления глюкозы (горение глюкозы, тк. продуктом является CO2 и вода)(рис. 4), то ценой является 3000 кДж на моль.

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \downarrow 6CO_2 + 12H_2O$$

~ 3000 кДж/моль

Рис. 1.3 Реакция горения глюкозы

Что делает клетка? Главный принцип ферментативных реакций - это разделение большого процесса на несколько дискретных стадий для понижения энергетической стоимости каждой из стадий. И если начинается разбивка на дискретные стадии, то понижение этой энергии может достигать двух порядков (рис. 1.4). В этом и состоит выигрыш, обеспечивающий весь биохимический маршрут, все ферментативные процессы и функционирование живой клетки. Так достигаются 100%е выходы, реакции имеют возможность идти при комнатной температуре, нормальном давлении, с

большими константами скоростей (вплоть до 10^10-10^12), без образования побочных продуктов, при этом все эти циклы возобновляемы.

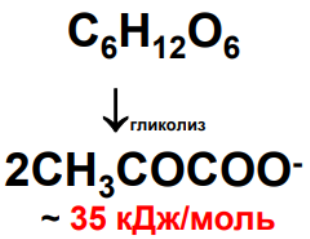


Рис. 1.4 Общая схема метаболизма глюкозы

Живая клетка работает с биомолекулами. Но, поскольку изучение биомолекул не может подчиняться никаким другим законам кроме химических, то со стороны биомолекулярной химии мы должны изучать биохимические, структурные и функциональные особенности биомолекул с точки зрения их химического строения (связи, их форма, углы) и реакционной способности.

Отличительные черты биомолекул:

- могут выполнять различные функции в соответствии с их химической реакционной способностью
- характерна уникальная архитектура; они имеют специфическую химическую структуру, которая подчиняется принципу структурной комплементарности. Пример: субстрат-ферментный комплекс
- Слабые силы (связи) формируют биологические структуры и определяют биомолекулярные взаимодействия
  • Силы Ван-дер-Ваальса: 0.4-4.0 кДж/моль
    - Водородные связи: 12-30 кДж/моль
    - Ионные взаимодействия: 20 кДж/моль
    - Гидрофобные взаимодействия: < 40 кДж/моль
- Биомолекулы несут информацию

Строение белков с гемами

Хорошо известный белок гемоглобин (рис. 1.5) является достаточно крупным белком, имеет в середине своей структуры полость и содержит четыре одинаковых активных центра. Эти активные центры, собственно, и есть гемы (рис 1.6).

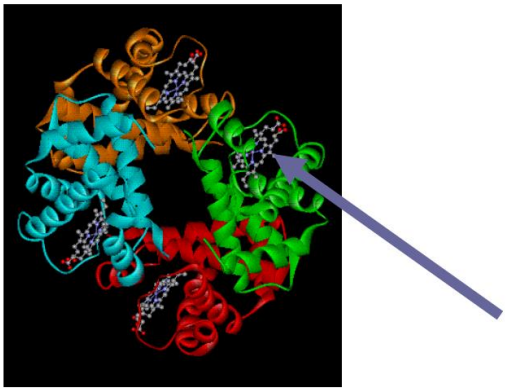


Рис. 1.5 Строение гемоглобина. Стрелкой указан гем

Что представляет из себя гем? (рис. 1.6)Это порфирин, тетрапиррольный плоский макроциклический комплекс, в середине которого находится атом железа, координированный четырьмя атомами азота.

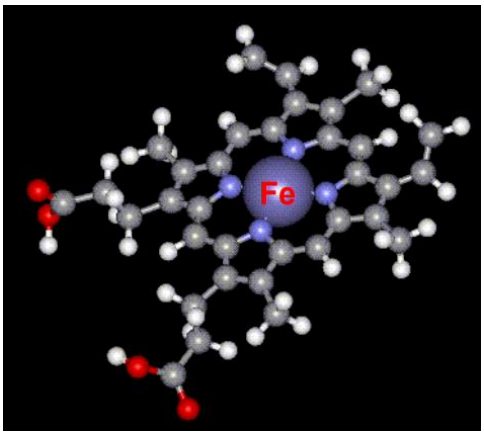


Рис. 1.6 Строение гема

Пример большого белка с гемом – цитохром с.

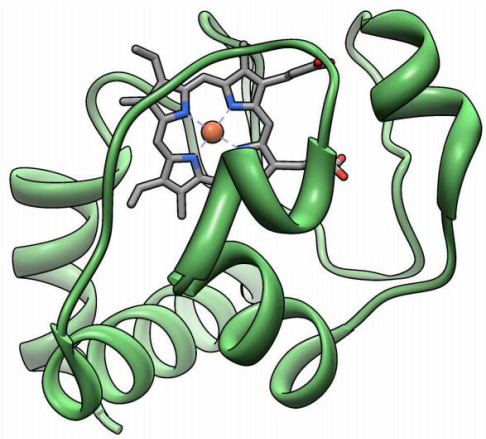


Рис. 1.7 Строение цитохрома С. Он содержит один гем.

Гем строен в белок, так что должны существовать силы и связи, которые его там удерживают. Ковалентные связи обеспечивают линейную последовательность

аминокислот в самом белке, а гем встраивается с помощью нековалентных взаимодействий.

Роль нековалентных взаимодействий:

1. Формирование биомолекулярных структур – больших, сложных, индивидуальных.

Только нативно свернутый белок является функциональным. Если он претерпевает чрезмерное воздействие таких факторов, как изменение pH, температуры, ионной силы, то происходит образование денатурированного нефункционального белка.

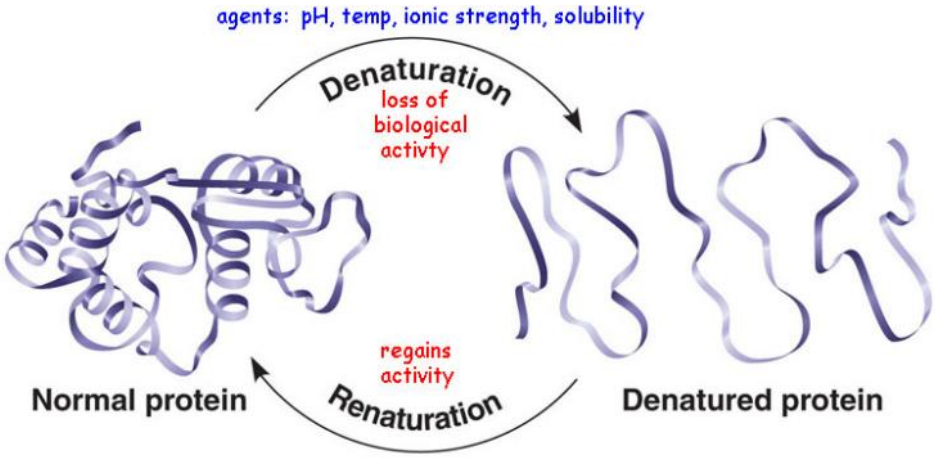


Рис. 1.8 Влияние деструктивных фактором на нековалентные взаимодействия, приводящие к нарушению структуры белка или его реактивации.

2. Способность к биомолекулярному распознаванию.

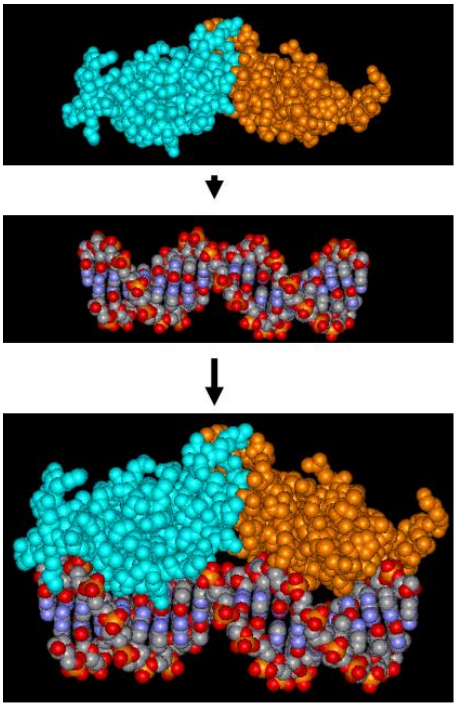


Рис. 1.9 Биоломолекулярное распознавание возможно для крупных биомолекул с

заданной структурой, и именно за счет них происходит, к примеру, взаимодействие нестероидного гормона и ДНК.

3. Согласование условий жизнедеятельности организмов с узким диапазоном условий внешней среды.

Биолиганды

Некий металл находит в биологической системе, в большой или маленькой, и, естественно, в белке, должны существовать определенные связи для связывания атома металла. Речь идет об образовании координационного или металлорганического соединения. Также существуют примеры образования связь металл-углерод в молекуле. Тем не менее, подавляющее число металлопротеинов содержит координационные соединения с атомами кислорода, азота, серы. Т.е. если отбросить окружающую активный центр белковую структуры, то всегда можно увидеть комплекс металла, и этот комплекс имеет какие то лиганды. Что является лигандом в биологических системах? Белки, а значит остатки аминокислот, ДНК, РНК – нуклеиновые основания, углеводы, липиды.

Белки как биолиганды
Напомним важнейшие виды белков по функциям:

- Ферменты (рибонуклеаза катализирует гидролиз РНК)
- Регуляторные белки (инсулин регулирует уровень сахара в крови)
- Транспортные белки (гемоглобин доставляет O2 в ткани)
- Структурные белки (коллаген является компонентом соединительных тканей)
- Сократительные белки (актин и миозин содержатся в мускулах)
- Запасные белки (ферритин депонирует Fe в селезенке)
- Scaffolding proteins & modules: (доставляют белки к необходимому участку)
- Экзотические белки (белки-антифризы у рыб)

Крайне важной является простетическая группа белка, определяющая его функционирование.

Нуклеопротеины – белки с компонентами нуклеиновых кислот (рибосомы)
Гликопротеины – белки, связанные с углеводами за счет ковалентных связей (рецепторы клеток)
Липопротеины – белки, ковалентно связанные с липидами (мембранно-связанные белки) ***Металлопротеины*** – белки, для функционирования которых необходим ион металла (гемоглобин)

Ферменты по типу реакций делятся на 6 классов:

КФ 1: Оксидоредуктазы, катализирующие окислительновосстановительные реакции;
КФ 2: Трансферазы, катализирующие перенос химических групп с одной молекулы

субстрата на другую;
КФ 3: Гидролазы, катализирующие гидролиз химических связей;
КФ 4: Лиазы, катализирующие разрыв химических связей без гидролиза, а также реакции образования и разрыва двойной связи;
КФ 5: Изомеразы, катализирующие структурные или геометрические изменения в молекуле субстрата;
КФ 6: Лигазы, катализирующие образование химических связей между субстратами за счёт гидролиза АТФ.

Для рассмотрения в рамках данного курса самыми важными являются **оксидоредуктазы** и **гидролазы**.

Белок состоит из уникальной последовательно мономеров – аминокислот, и имеет структуру, обеспечивающуюся слабыми взаимодействиями. Что интересует нас в самой аминокислоте? (рис. 1.10) В аминокислоте есть аминогруппа, которая впоследствии будет участвовать в образовании пептидной связи. Карбоксильная группа – довольно сильная кислота, также участвующая в образовании пептидной связи. Альфа-атом углерода обладает хиральностью. Нас интересует боковая цепь.

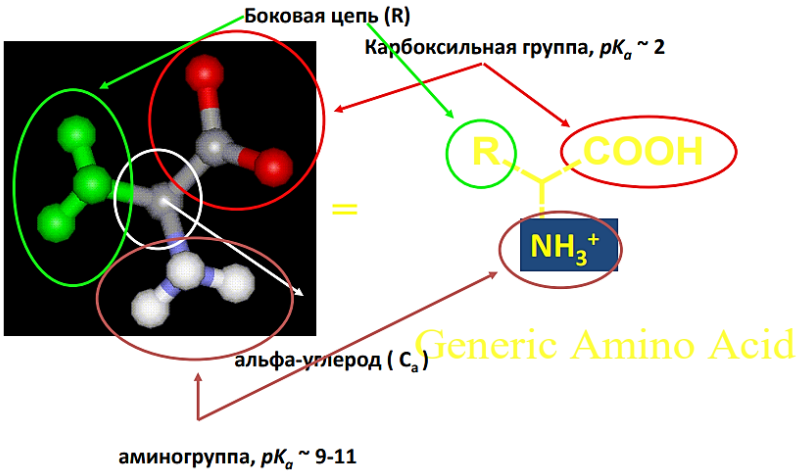


Рис. 1.10 Строение аминокислоты

Пептидная связь имеет частичную двоесвязность, обеспечивающую длину связи в 1.33 Å. Атомы углерода в цепи находятся, как правило, в транс конформации, свободного вращения нет, поэтому боковые фрагменты заместители фиксированы и доступны для образования связи с металлом.
Белок состоит их одной (мономерный) или нескольких (мультимерный) полипептидных цепей. Гомомультимерный белок имеет больше, чем одну цепь с одинаковой аминокислотной последовательностью Гетеромультимерный белок имеет две или более различных цепей.
По форме белки могут быть фибриллярными (напр. коллаген, рис.1.11), глобулярными (напр. миоглобин, рис. 1.12).

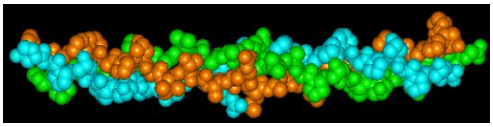


Рис. 1.11 Модель фибриллярного белка

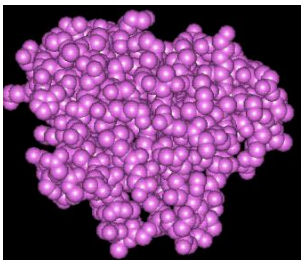
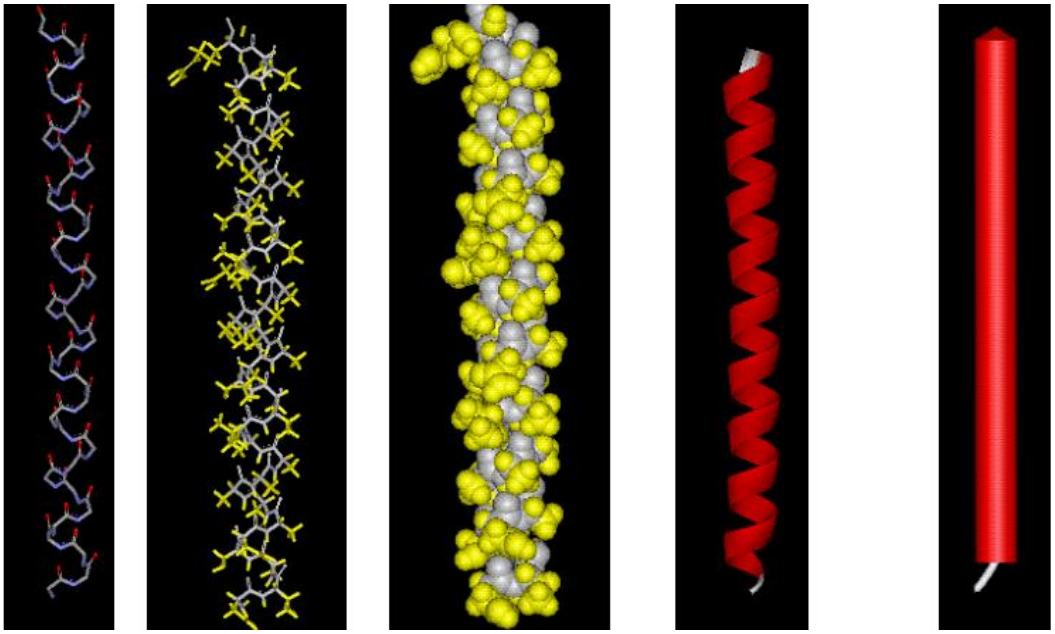


Рис. 1.12 Модель глобулярного белка

Изображать модели белков (в данном случае альфа спираль) можно различными способами.



а б в г д

Рис. 1.13 Способы изображение альфа спирали

Интересно посмотреть на модель зеленых флуоресцентных белков. Они былине так давно обнаружены и имеют довольно интересную структуру, схожую со структурой иммуноглобулинов, но более компактную, с полостью внутри и флуорофором, обеспечивающим флуоресценцию.

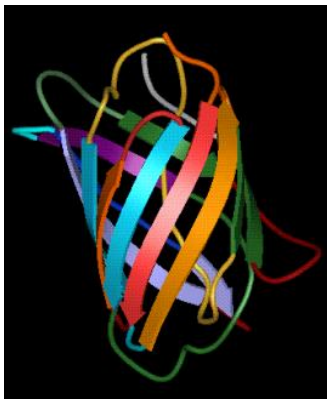


Рис. 1.14 Модель флуоресцентного белка, в составе которого имеются альфа спирали

Функциональные группы в аминокислотах

Все то, что, начиная с глицина в ряду аминокислот, имеет алифатические заместители - не представляет интереса, т.к. нет координационных элементов. Из циклических заместителей важен гистидин. Представляет ли интерес для связи с металлом аминокислота с гидроксильным заместителем? Фактически, мы говорим об алкоголяте или феноляте. Алкоголят (алифатический спирт) как лиганд встречается редко, а вот тирозин – распространенная аминокислота, обеспечивающая хорошую связь кислород-металл. Наличие карбоксильной группы или амидной группы как заместителя является возможностью для образования связи с металлом. Атом азота интересен в том случае, если аминогруппа является основанием.

Гистидин содержит пятичленный цикл имидазола, в протонированной форме является достаточно слабой кислотой, в депротонированной форме является основанием и наиболее благоприятной аминокислотой для связывания металлов.

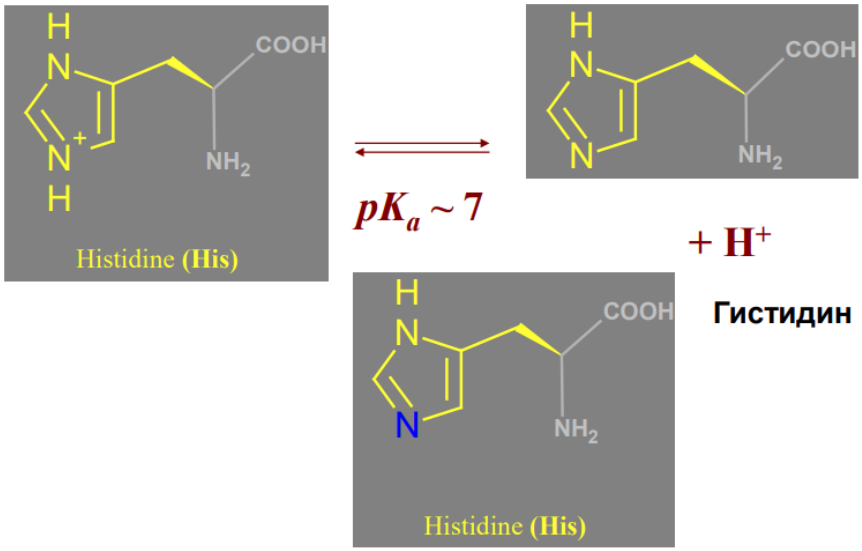


Рис. 1.15 Гистидин – важная аминокислота для связывания металлов

В триптофане фрагмент индола не является благоприятным для связывания металлов.

Цистеин – очень хороший лиганд за счет депротонированной SH группы. При этом он перестает быть таковым при димеризации и образовании дисульфидного мостика. Метионин – также является хорошим лигандом.

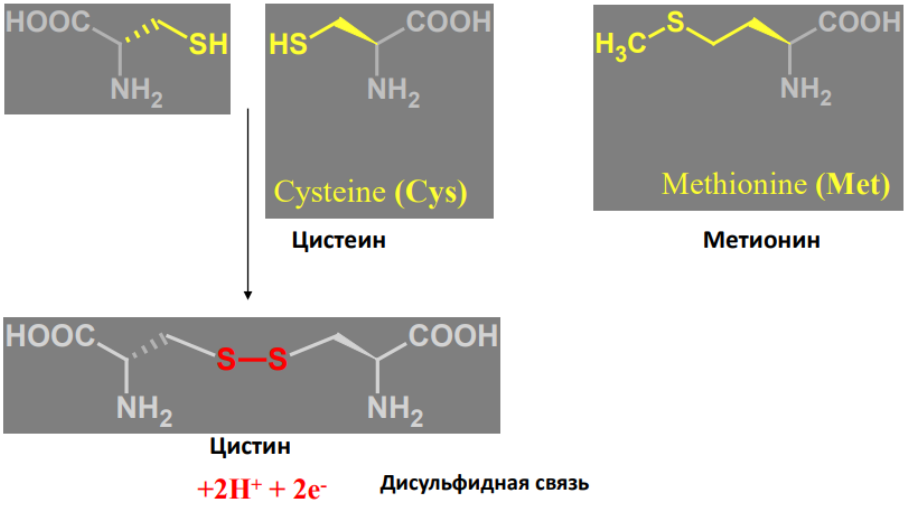


Рис. 1.16 Аминокислоты-лиганды - цистеин и метионин.

Итого:

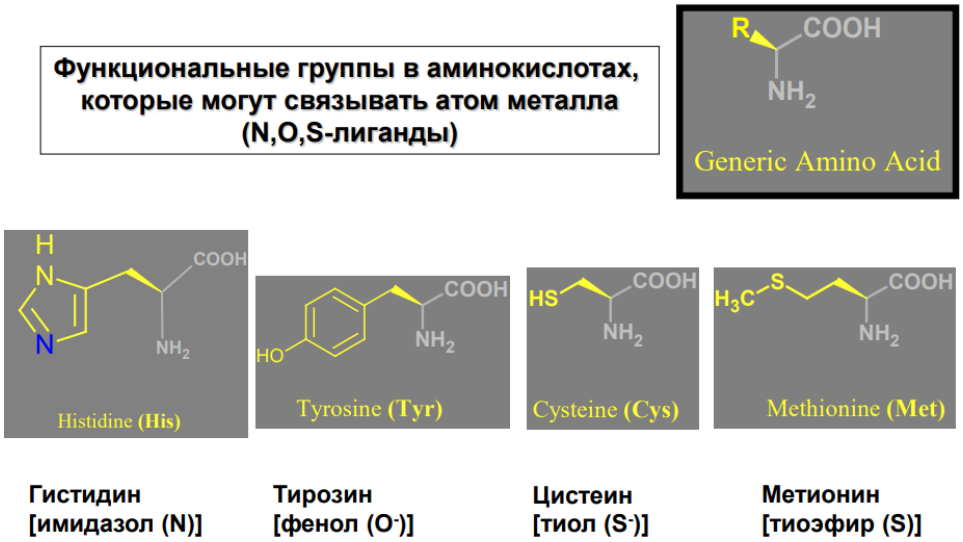


Рис. 1.17 Функциональные группы ам-т, способные связывать металлы

Металлотионеины

В последнее время интенсивно ведется изучение полипептидов, называемых металлотионеинами. Это семейство низкомолекулярных белков, важной их структурной частью является обогащение цистеином примерно на треть от общего кол-ва аминокислот, они способны связывать металлы как биогенные (Zn, Cu), так и ксенобиотики (Cd, Hg, Ag, As), причем несколько атомов за раз. Металлотионеины локализованы в мембране аппарата Гольджи. Открытие этих полипептидов было ответом на многие вопросы.

Их функции:

- Запасание металлов
- Транспорт металлов
- Детоксикация металлов

Таблица (рис. 1.18) показывает связи гетероциклов с указанием электростатических эффектов. С помощью такой визуализации можно посмотреть, какие гетероциклы подходят для связей с металлами (например, имидазол)

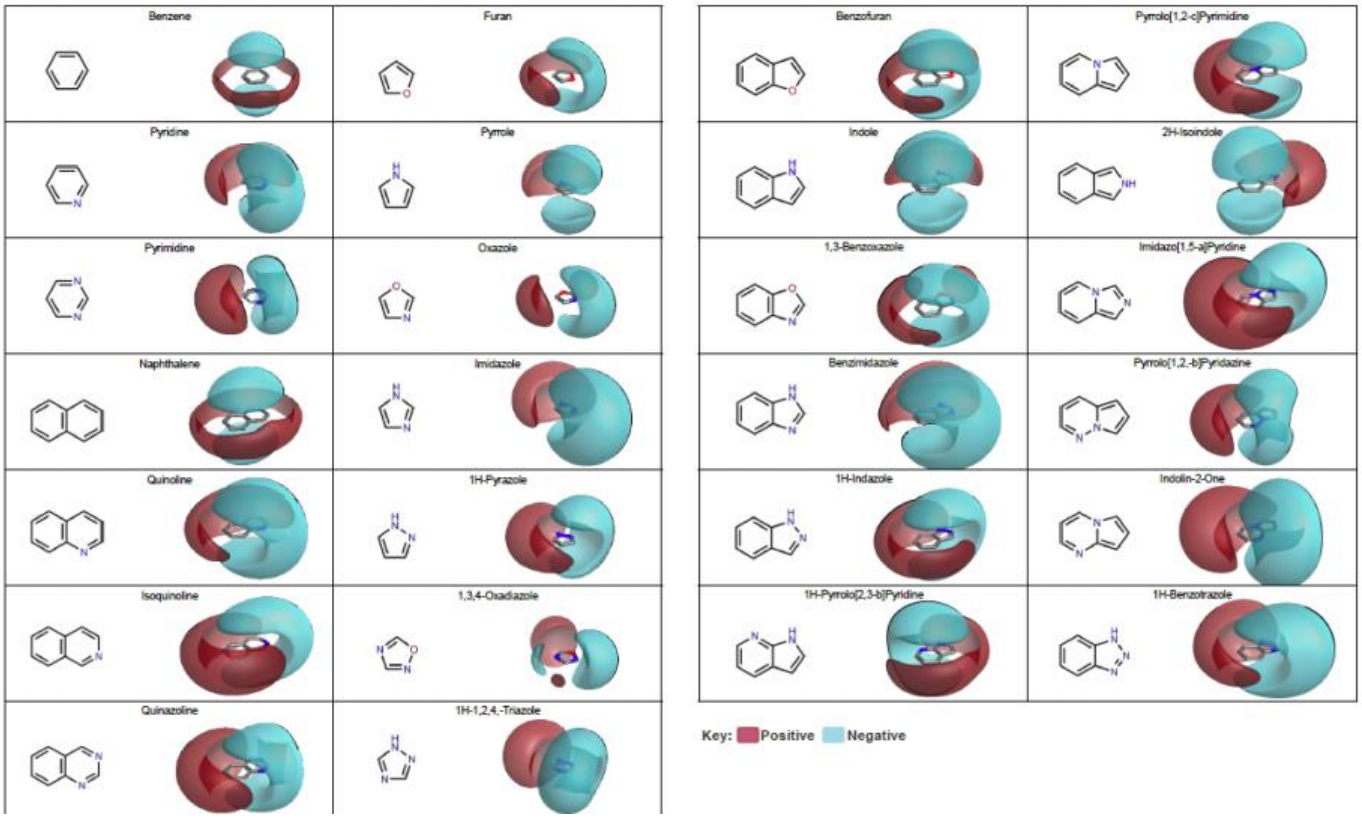


Рис. 1.18 Визуализация электростатических эффектов гетероциклов

Нуклеиновые кислоты как лиганды

Нуклеиновые кислоты – важная мишень, если говорить о связывании с металлами. Металлы, взаимодействуя с ДНК и РНК, могут обеспечить некую их токсичность, негативное влияние на клетку.

ДНК и РНК состоят из последовательности азотистых оснований, и основная их роль – хранение и передача информации. При этом именно с ними может связаться металл, т.к. в их составе присутствует азот. Именно азотистые основания представляют собой доступный для атаки металлом фрагмент. При этом, когда формируется нормальная двойная спираль, мы считаем азотистые основание недоступными для включения в различного рода связи, и все таки существуют низкомолекулярными соединения, способные к этому.

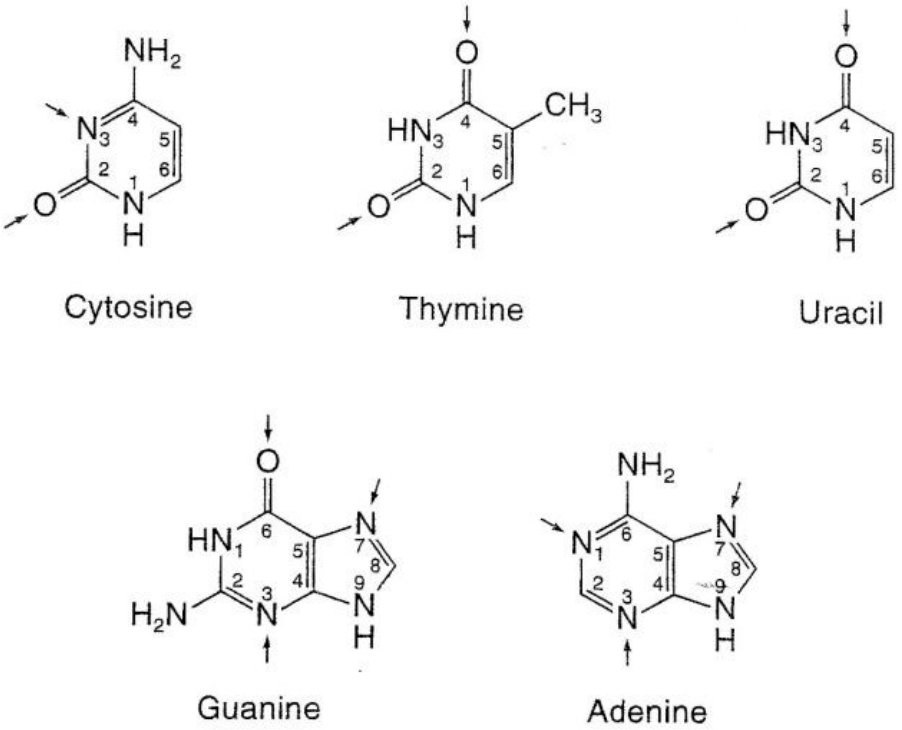


Рис. 1.19 Стрелочками указаны потенциальные участки связывание металлов в нуклеиновых основаниях. Эти участки позволяют рассматривать ДНК как мишени для действия различных веществ, в т.ч. лекарственных препаратов и токсичных ксенобиотиков.

Пример образования связи со свинцом:

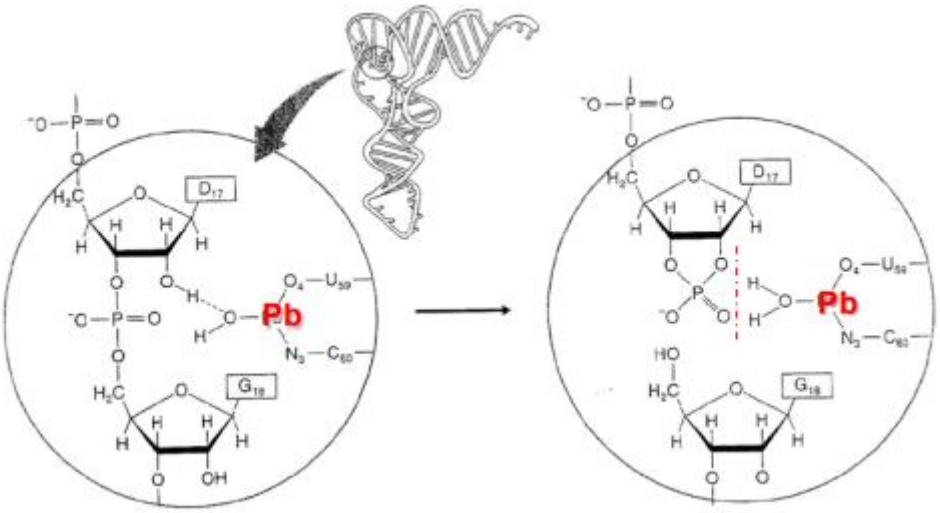


Рис. 1.20 Схема взаимодействия атома свинца с РНК, приводящее к разрыву цепи

На данной схеме видно, как мишенью атаки атома металла может служить не азотистое основание.

Осмий – крайне токсичный металл. В зависимости от природы металла, его координационных возможностей, его стремления к образованию связей с тем или иным элементом, образуются различные характерные связи. Так, для осмия характерно образование комплекса по углеводному остатку, для магния - по фосфатной группе, для платины – по атому азота.

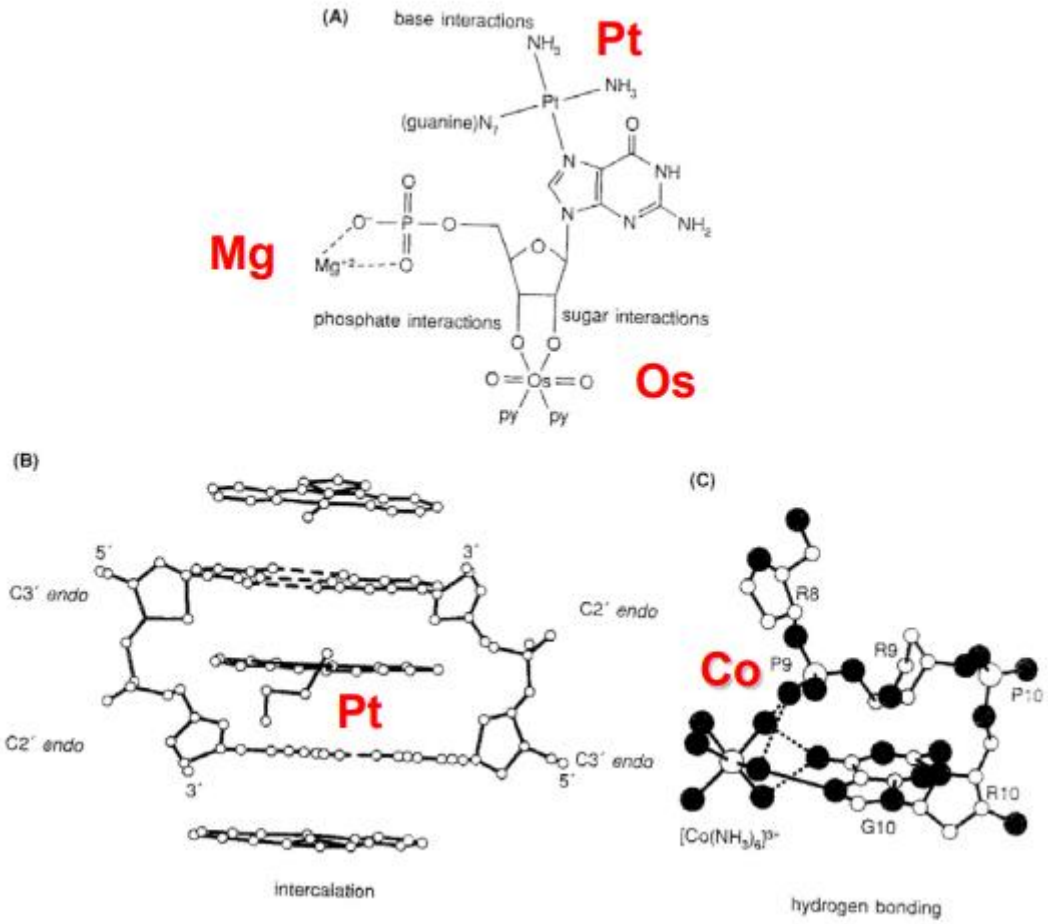


Рис. 1.21. A) примеры взаимодействий металлов по разным группам основания
B) пример интеркаляции (образование стэкинг-структур) металла в двойную спираль
C) водородная связь (между лигандами комплекса Co(NH3)6 3+ и гуанином и фосфатом)

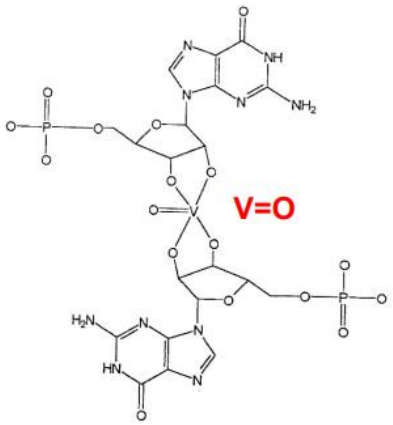


Рис. 1.22 Пример взаимодействия ванадия с двумя гидроксильными группами углевода и образования типичного стабильного оксо-комплекса

Липиды как лиганды

Напомним, что липиды имеют полярную головку и гидрофобный «хвост». Гидрофобная головка имеет в своем составе фосфатную группу. Что мы можем ожидать от насыщенной или ненасыщенной жирной кислоты? Они не имеют мишеней для атаки металлом. Но возникает момент, когда необходимо обсудить процесс проникновения металлов и их соединений через мембрану, состоящую из бислоя липидов. И если молекула состоит из иона металла, окруженного органическим лигандным окружениям, то липофильность этой молекулы может обеспечить взаимодействие с липидным бислоем. В целом, именно фосфатная группа липидов доступна для атаки металлом. И в этом случае мы говорим о том, что проникновение атома металла в виде простого координационного соединения, металлоорганического соединения или комплекса, окруженного большим органическим лигандом, будет зависеть от взаимодействия с мембраной. Это важный момент, т.к. любое взаимодействие металла или его соединения, лекарственного препарата, токсического агента начинается с проникновения в клетку через мембрану.

Лекция 2

Натрий, калий, кальций

Материал этой лекции начнется с роли натрия, калия и кальция. Эта тема еще не относится к металлопротеинам, но позволяет, во-первых, понять роль щелочных и щелочноземельных металлов, во-вторых, открывает информацию о мембранном транспорте, т.к. роль калия, натрия и кальция очень тесно связана с вопросами транспорта ионов и молекул через мембрану клетки.

Как может происходить перенос того или иного вещества, молекулы или заряженной частицы через клеточную мембрану?
Это могут быть: пассивная диффузия, не требующая затрат энергии, она облегчена и может происходить самопроизвольно. Активный транспорт обязательно требует затраты энергии. В качестве источников энергии прежде всего выступает хорошо известный АТФ, гидролиз которого на одну молекулу обеспечивают около 30 килокалорий на моль, источниками энергии могут быть также свет или градиент концентрации другого вещества в том случае, если перенос через мембрану осуществляется несколькими, как правило, двумя веществами, молекулами или заряженными частицами - ионами.

Да данной картинке (рис.2.1) вы видите упрощенное представление клеточной мембраны. Надо обратить внимание, что помимо липидного бислоя, который нам хорошо известен, в мембране находятся мембранные и так называемые мембранно-ассоциированные белки, встроенные в липидный слой. Частично они могут быть обращены либо наружу, либо внутрь клетки. Как правило, именно эти белки являются транспортерами, каналами, через которые молекула или заряженная частица проникает в клетку. На данной упрощенной схеме (рис. 2) продемонстрирован белок, встроенный в липидный бислой, и который может менять конформацию. Поэтому у него есть три состояния: первое состояние соответствует закрытому и неактивному белку. Это означает, что в этом состоянии перенос заряженной частицы через канал невозможен. Второе состояние - это открытая, готовая для проведения ионов конформация. И состояние закрытое. Для того, чтобы эти состояния существовали, необходимы конформационные изменения, для которых нужна энергия.

Рис. 2.1 Схематичное изображение мембраны и встроенных белков

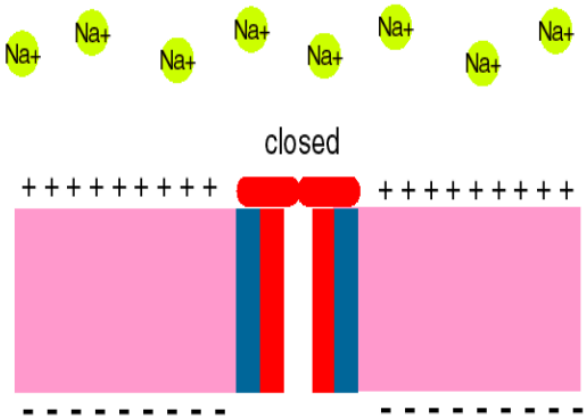


Рис. 2.2 Схематичное изображение канала в закрытом состоянии.

Каналы, которые транспортируют натрий, калий, кальций, а также протоны, связаны с источником энергии - гидролизом АТФ, поэтому транспорт является АТФ зависимым и происходит с участием аденозинтрифосфатазы, поэтому они и называются АТФ-зависимыми каналами, осуществляющими транспорт снаружи в клетку или из клетки.

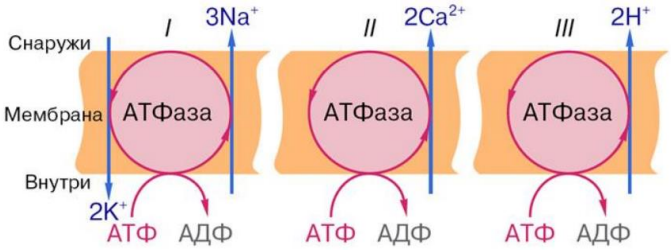


Рис. 2.3 Насосы, осуществляющие перенос ионов через мембрану клетки

Важным аспектом является различие концентраций ионов натрия и калия в клетке и во внеклеточным пространстве.

Во внеклеточном пространстве концентрация натрия всегда выше, причем существенно - около 140 миллимоль, а калия - 5 миллимоль. Внутри клетки ситуация обратная - на порядок меняется концентрация, и калия больше, чем натрия.

Белок, через который осуществляется транспорт - это так называемый калий-натриевый насос, или же натриевый насос. Он представляет очень важное значение для работы клетки, особенно важен для работы головного мозга. Он выводит на одну молекулу АТФ 3 иона натрия и вводит в клетку два иона калия. Итак, как работает этот насос? (рис. 2.4) Ионы калия входят в клетку, белок меняет свою информацию за счет гидролиза АТФ, натрий выходит из клетки тоже за счет изменения конформации, при этом осуществляется опять гидролиз АТФ, отщепляется фосфатная группа. Этот процесс происходит постоянно и описывает роль натрий-калиевого насоса. Этот белок всегда встроен в липидный бислой, часть белка находится снаружи клетки, часть белка, гораздо большая по молекулярной массе, расположена внутри клетки.

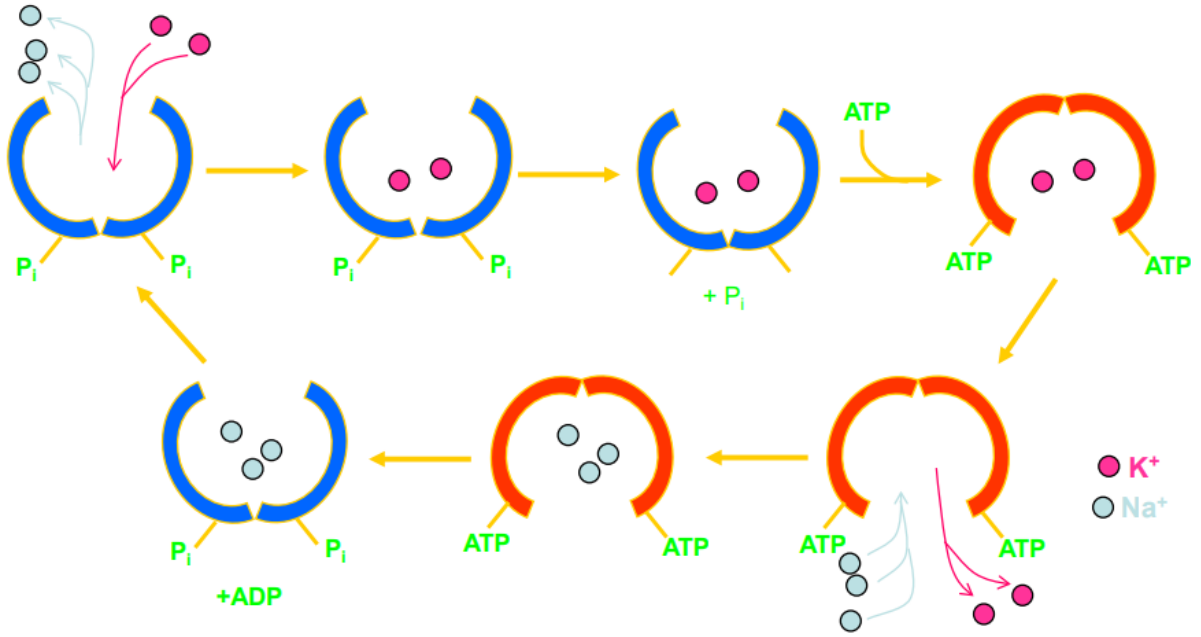


Рис. 2.4 Принцип работы Na+/K+ АТФ-азы. Гидролиз АТФ происходит собразованием энзим-аспаратил фосфатного интермедиата. Механизм включает две конформации фермента, • известные как E1 и E2.

По такому же принципу действует и канал, который транспортируют кальций. Это тоже АТФ-зависимый процесс, в нем участвует кальциевая АТФаза, проникают ионы кальция, происходит гидролиз АТФ. В каналы кальций координируется кислородсодержащими лигандами, потому что для каждого металла будет характерно образование связей с одним из возможных гетероатомом. В данном случае для кальция более характерно образование связи с кислородом, так что в этом могут участвовать либо карбоксильные группы аспартата или глутамата, либо карбонильная группа

аспарагина и глутамина, OH группы серина или треонина, которые являются производными спиртов или содержат спирт в функциональных группах. И не часто встречающийся случай: карбонильный атом кислорода самой амидной связи, что не очень типично для металлопротеинов в целом, тоже может быть координирующим центром.

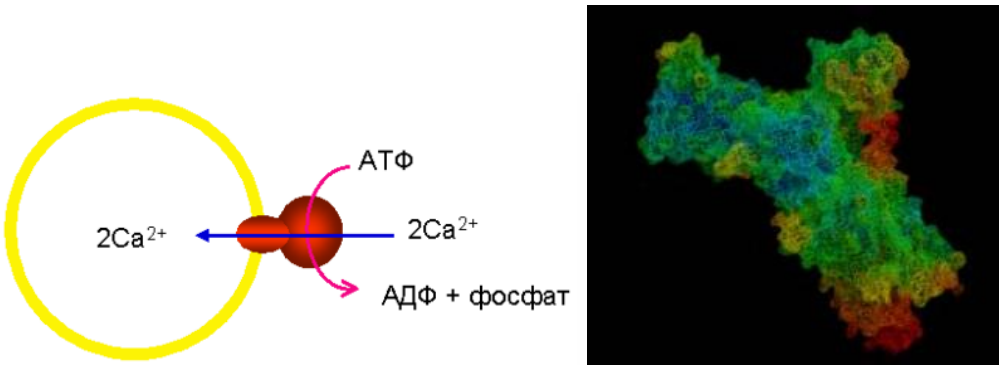


Рис. 2.5 а) Схема работы Са-АТФазы б) строение насоса по данным рентгеноструктурного анализа

Движение молекул и частиц через мембрану может осуществляться как симпорт. Это движение в одном направлении, когда канал принимает две молекулы или молекулу и заряженную частицу и переносит в одном направлении. Антипорт соответствует транспорту в разных направлениях. Пример: калий-натриевый насос, который был рассмотрен ранее. Можно рассматривать также сочетание транспорта глюкозы, как очень хорошо известного и важного субстрата для клетки, и ионов натрия.

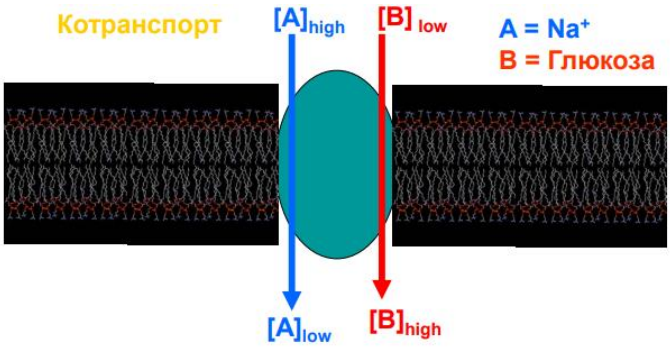


Рис. 2.6 Симпорт натрия и глюкозы. Симпорт натрия и глюкозы осуществляется, например, в клетках эпителия кишечника, канал в состоянии принять одновременно молекулу и положительно заряженную частицу и внести их в клетку.

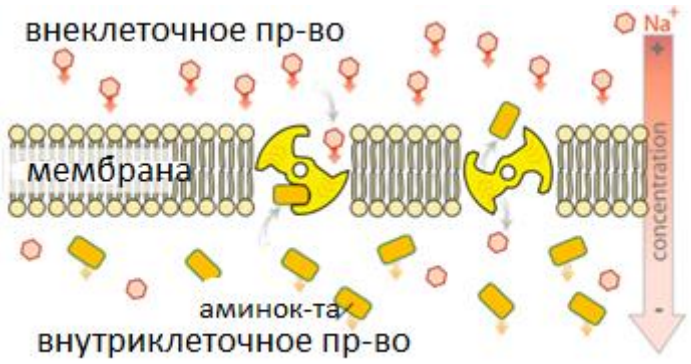


Рис. 2.7 Антипорт аминокислоты и натрия. Аминокислота обозначена как желтый прямоугольник, натрий – розовый многоугольник.

Цинк

Практически все металлы из биогенных элементов относятся к редокс активным, то есть они меняют степень окисления, с чем будет в дальнейшем связаны перенос электронов, процессы окисления-восстановления и так далее. Цинк, однако, является редокс неактивным, он не меняет степень окисления.

Гидролазы - это ферменты, которые катализируют реакции гидролиза, то есть расщепление связи при взаимодействии с водой. На самом деле гидролазы могут содержать различные металлы помимо цинка: никель, магний, и даже металлы щелочные, но преимущественно цинк является наиболее распространенным металлом для класса ферментов гидролаз.

Для рассмотрения роли цинка будут рассмотрены три фермента: карбоангидраза, карбоксипептидаза и щелочная фосфатаза, по мере их усложнения.

Карбоксиангидраза

Первый фермент - карбоангидраза - всегда вызывает удивление химика, потому что реакция, о которой идёт речь, это взаимодействие CO2 + H2O. Эта реакция не требует никакого катализа в обычных условиях. Возникает вопрос, зачем нужен фермент? Но в живой клетке практически нет реакций которые проходят без участия ферментов.

В этом ферменте атом металла имеет молекулу воды в качестве лиганда в активном центре. Происходит депротонирование молекулы воды и подготовка нуклеофильной частицы, которая будет в дальнейшим атаковать субстрат - CO2. Чтобы повысить кислотность воды необходима координация молекулы воды с атомом металла, неподеленная пара электронов в атоме кислорода и включение молекулы воды как лиганда в окружение металла, то есть образование. Это приводит к увеличению кислотности, то есть легкости депротонирования координированной молекулы воды.

Что может происходить? (рис. 2.8)

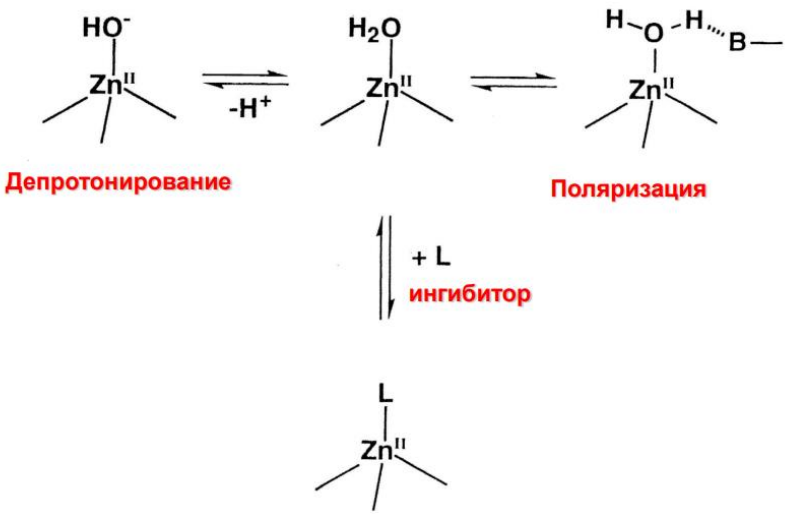


Рис. 2.8 Активация молекулы H2O и действие ингибитора, связывающего цинк.

Взаимодействие с молекулой воды приводит к поляризации связи. Полное депротонирование - отрыв протона от координированный молекулы воды. Третий путь: в активный центр этого металлопротеина попадает ингибитор этот ингибитор, который может образовать связь с металлом гораздо более прочную, чем связь молекулы воды. H2O являются лабильным лигандом, легко вытесняемым из комплекса, поэтому следствием действия ингибитора будет блокировка активного сайта фермента.

Карбоангидраза содержится в клетках организма человека. Это глобулярный белок, в активном сайте находится ион цинка в окружении аминокислотных остатков. В активном сайте координационное число атома цинка - 4, геометрия - тетраэдр. Первым, вторым и третьим координирующим агентом являются имидазол гистидина, четвертое координационное положение занимает молекула воды.Надо обратить особое внимание на присутствие в белке поблизости от активного сайта три кольца имидазола гистидина, расположенного недалеко от активного сайта гистидина 64 на аминокислотной последовательности в цепи, и который будет играть ключевую роль в осуществлении реакции.

Механизм каталитической гидратации CO2, то есть взаимодействия субстрата CO2 с реагентом H2O: есть координированная молекула воды, далее происходит депротонирование молекулы воды, и генерируется нуклеофил как активная частица, которая в состоянии на следующей стадии атаковать атом углерода в молекуле CO2, на котором находится дельта-плюс.

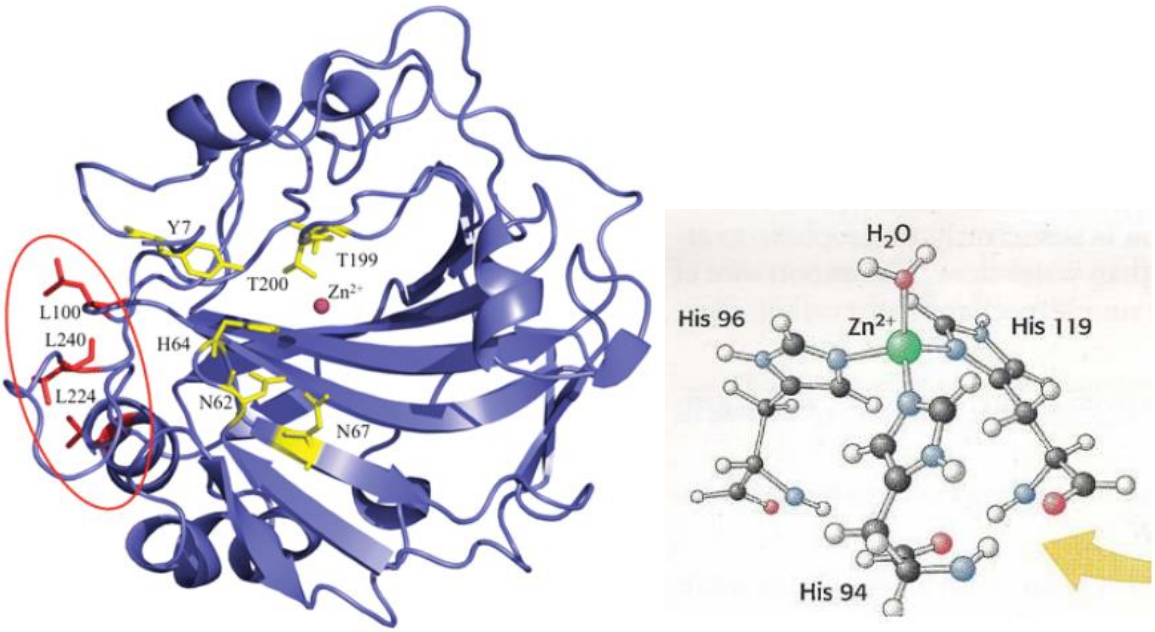


Рис. 2.9 Строение фермента карбоангидразы II и ее активного центра

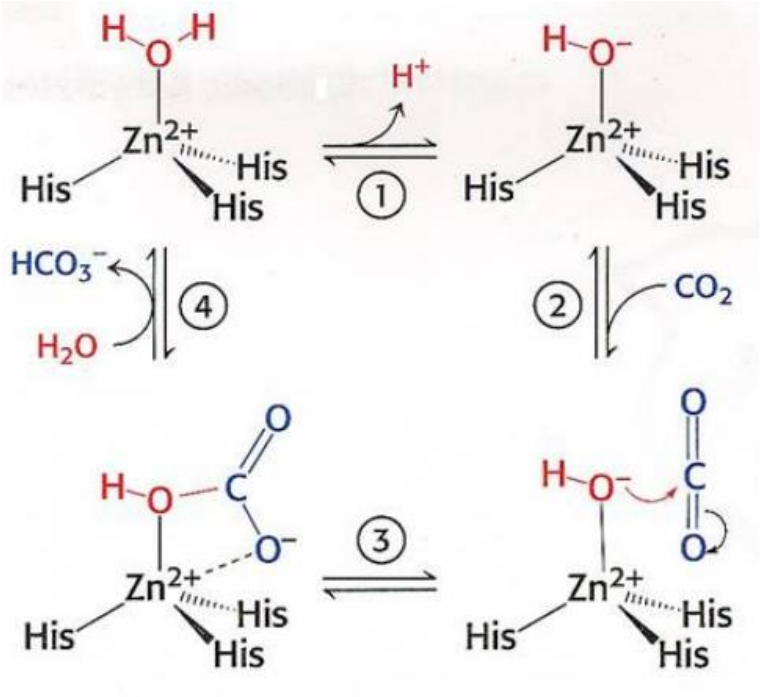


Рис. 2.10 Реакция каталитической гидратации CO2 в активном центре карбоангидразы

При этом образуется связь кислород-углерод продукта реакции, который в дальнейшем отщепляется в координированном активном центре за счет дополнительной связи цинка с остатком карбоксильной группы, и затем происходит отщепление субстрата, и вновь появляется следующая молекула воды в активном сайте. Это очень простой и понятный с химической точки зрения механизма. Естественно, дегидрирование молекулы воды не происходит самопроизвольно.

Для генерации нуклеофила в белке необходимо основание, которое и будет сначала поляризовать связь OH, а затем осуществлять депротонирование. Этим основанием и является дополнительное основание гистидина 64, находящегося очень близко от активного сайта. Этот гистидин 64 называется просторным шатлом, и именно за счёт самого наличия имидазола и двух атомов азота, один из которых содержит N-H связь, а другой - неподеленную электронную пару, возможен транспорт протона.

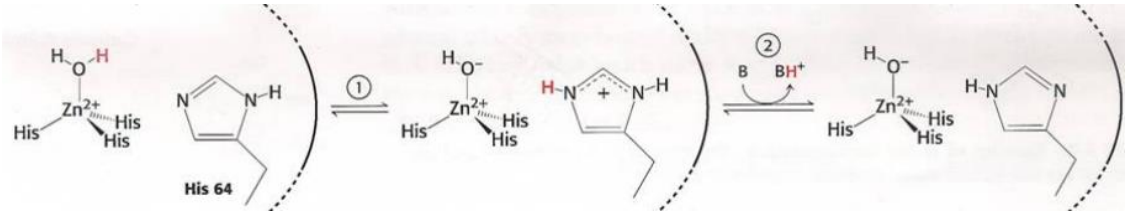


Рис. 2.11 Схема «гистидинового шаттла»

Карбоксипептидаза А

Существует большой круг ферментов, называющийся протезами, или же протеинами, катализирующих расщепление белков. Белки могут быть от малых до самых больших молекулярных масс. Гидролиз белков до аминокислот поэтому, естественно, происходит поэтапно. Сначала образуются олигопептиды, затем они подвергаются дальнейшему гидролизу. Для нашего курса важно понять, как именно осуществляется расщепление амидной связи при участии фермента, содержащего металл цинк. Протеиназы могут и не содержать атом металла, но нас интересуют именно металлозависимые протеиназы. Рассмотрим их на примере карбоксипептидазы.

Этот фермент, содержащийся в клетках человека, содержит атом цинка в активном сайте. Как устроен его активный сайт, и каков механизм катализа?

В активном сайте имеются, как и в предыдущем случае, два лиганда, поставляющих гистидин, появляется также и глутаминовая кислота. Интересно то, что, поставляя карбоксильную группу, глутаминовая кислота выступает в качестве лиганда, это карбоксилат. Оба атома кислорода координированы, расстояние одинаковое. Также имеется необходимая для дальнейшего гидролиза молекула воды. Какие ещё изменения наблюдаются в этом активном сайте?

Координационное число цинка - пять. Но, возвращаясь к основному принципу этого процесса, обращаем особое внимание на важную роль ещё одной глутаминовой кислоты, которая расположена также в непосредственно близости от активного сайта с атомом цинка. Роль этой дополнительной глутаминовой кислоты 270 заключается в осуществлении реакции депротонирования.

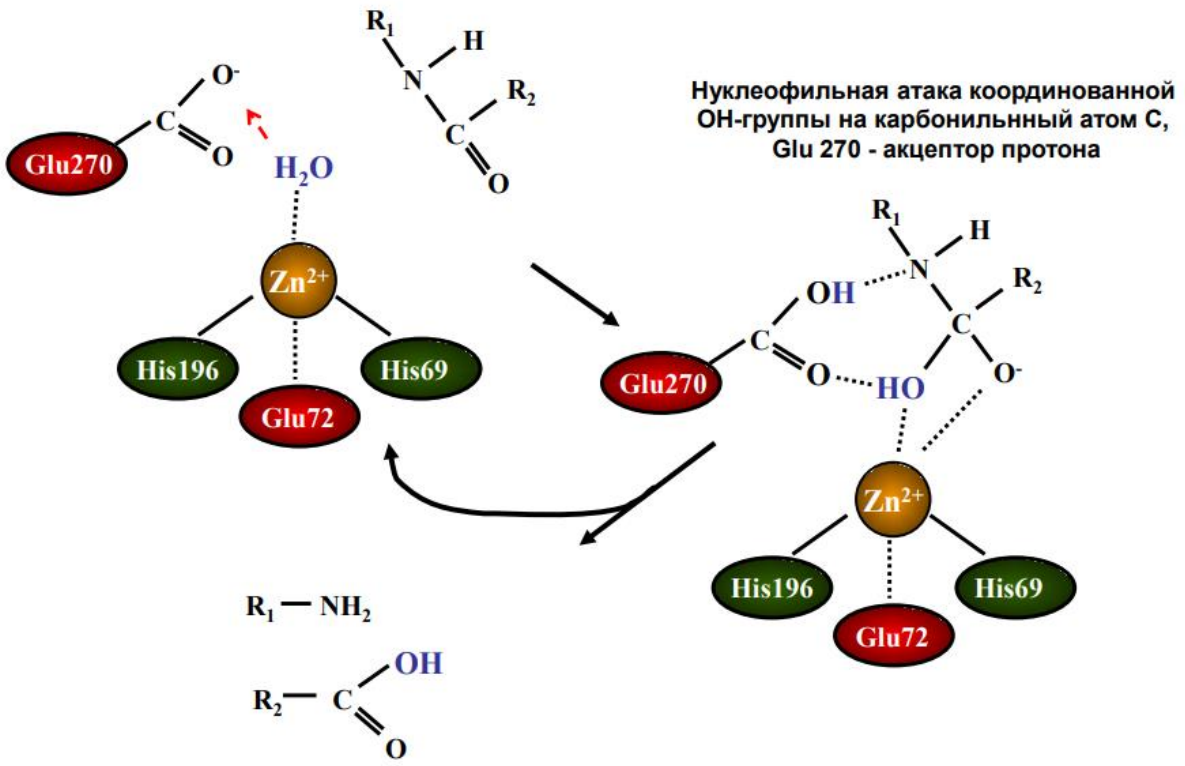


Рис. 2.12 Механизм гидролиза пептидов карбоксипептидазой А

Когда мы говорили о взаимодействии CO2 с водой, то субстрат был маленькой молекулой, но теперь это по меньшей мере олигопептиды, поэтому в белке существует канал, позволяющий субстрату достичь активный сайт.

Карбоксилат анион помогает осуществить подготовку нуклеофила, который будет в дальнейшем атаковать амидную связь, приводить к расщеплению этой связи и образованию карбоксильной и аминогруппы как результату распада этой связи. К работе белков вроде карбоксипептидазы есть определенные требования, например: расщепляемый белок должен содержать концевую ароматическую аминокислоту или аминокислоту с объемной гидрофобной цепью. картинка с компьютерной моделью Механизм: глутаминовая кислота депротонирована, карбоксильная группа отщепляет протон от молекулы воды, генерирует нуклеофил OH-, осуществляется атака по карбонильному атому углерода амида, образуется связь углерод-кислород. В данном механизме, в отличие от механизма предыдущего фермента, происходит раскрытие связи C=O. Глутаминова кислота, получившая протон от молекулы воды, предоставляет этот протон будущему амину, а OH группа будет входит в состав будущей кислоты. С учетом этого можно записать уравнение формально амина и кислоты. Важно помнить, что нуклеофил координирован с атомом металла. Когда субстрат располагается в активном центре, и происходит атака нуклеофильной частицы по карбонильной группе, то субстрат может представлять собой довольно большое по молекулярной массе органическое соединение, упакованное в активном

сайте, и эта упаковка обеспечивается нековалентными взаимодействиями с лежащими рядом аминокислотами.

Щелочная фосфатаза

Третий фермент - щелочная фосфатаза, осуществляющая дефосфорилирование (отщепление фосфата) от нуклеотидов, белков и алкалоидов в щелочной среде. Относится к классу гидролаз.

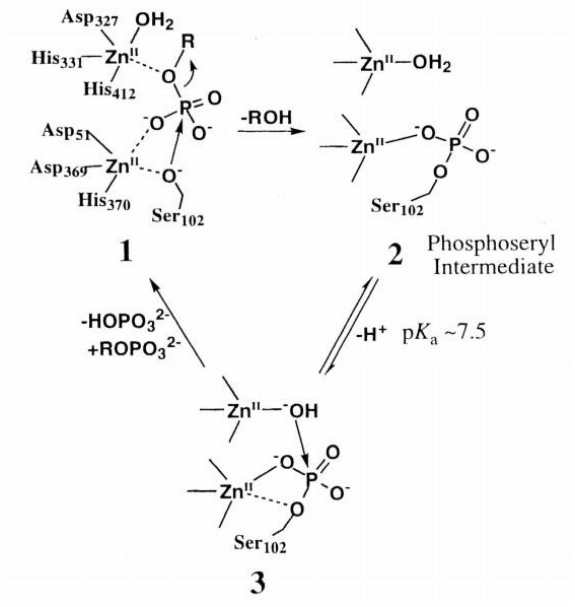


Рис. 2.13 Реакция, осуществляемая ферментом фосфатазой

Фермент представляет собой биядерный комплекс, содержащий два атома цинка. На достаточно близком к ним расстоянии в ферменте содержится также атом магния. В активном центре каждый из атомов цинка координирован фосфатной группой и окружен гидратной оболочкой из молекул воды.

Роль железа в биологических системах

В среднем , около 70% железа приходится на гемоглобин, остальные 30% приходятся на ферменты и другие белки. Важным является поддержание определенного уровня железа в организме, т.к. при его недостатке или избытке могут возникать различные патологии – анемия, окислительный стресс.

Функции железа:

- Обратимое связывание, транспорт и хранение кислорода в составе таких белков, как гемоглобин, миоглобин, гемэритрин
- Обратимый перенос электронов в составе железо-серных белков, цитохромов a, b, c, цитохрома c
- Функционирование активных центров редокс-ферментов, которые участвуют в окислении (пероксидазы, цитохромы P450), разложении активных метаболитов кислорода (каталаза, супероксиддисмутаза), образовании активных метаболитов кислорода (оксидаза фагоцитов), образовании реакционноспособных азотсодержащих частиц (NO-синтаза)

Существуют две наиболее распространенные **простетические группы**:
1. Гем: это железо в окружении порфиринового лиганда, поставляет 1 или 2 донорных атома для координации в аксиальных положениях
2. Железо-серные кластеры: железо координирует сульфид, S2- , каждый атом Fe находится в тетраэдрическом окружениии, белок поставляет остатки цистеина Cys для завершения координационного окружения, типы кластеров: Fe, Fe2S2, Fe3S4 и Fe4S4

Транспорт железа

В процессе попадания железа в клетку участвуют два ключевых белка – ферритин и трасферрин у млекопитающих, и сидерофоры у бактерий.

Опишем простейшую схему: в мембрану встроен белок – трансферриновый рецептор. Трансферрин, несущий железо, связывается со своим рецептором. Затем часть мембраны, включающая этот комплекс, отщепляется в виде эндосомы. Внутреннее содержимое эндосомы закисляется с помощью накачивания протонов (это атф-зависимый процесс) железо отделяется от трансферрином, а эндосома снова сливается с мембраной. В дальнейшем поступившее в клетку железо может запасаться с помощью ферритина, использоваться для синтеза простетических групп или участвовать в регуляторном пути с помощью iron regulatory proteins (IRP).

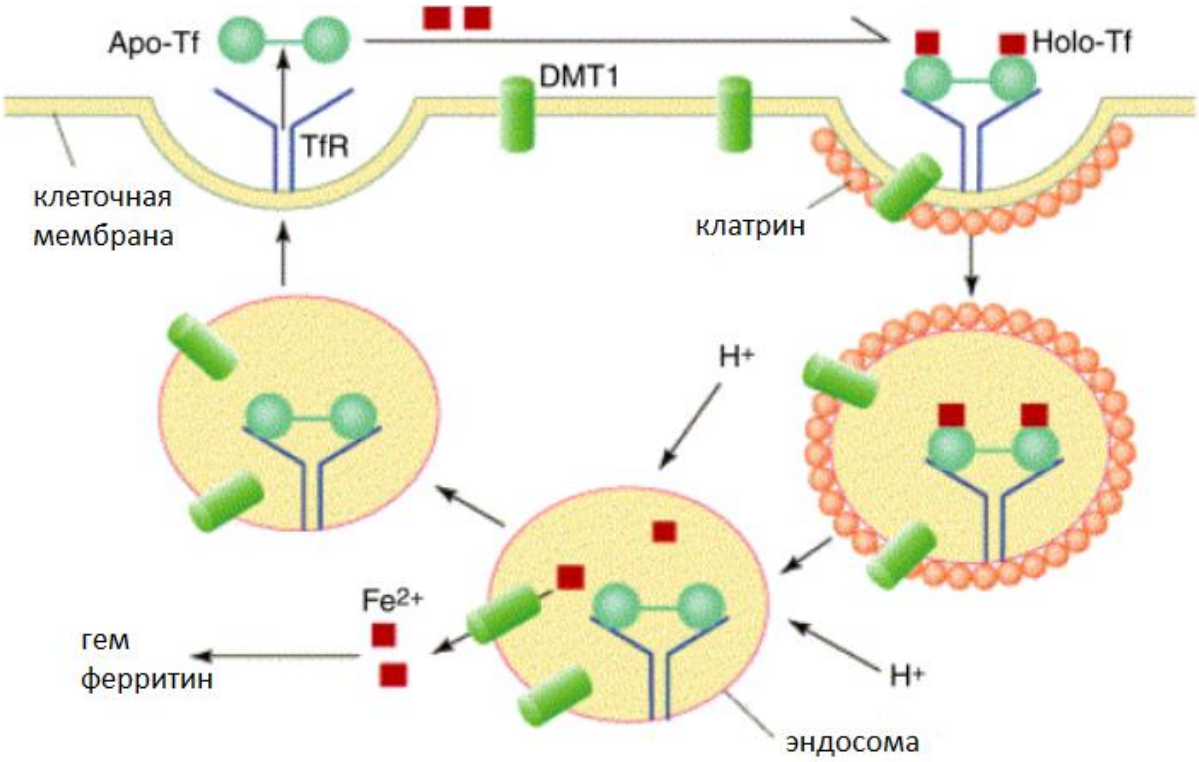


Рис. 2.14 Схема транспорта железа в клетку

Трансферрин имеет размер 80 kDa, имеет два домена со связывающими центрами и способен переносить два иона железа в степени окисления +3. Связывание Fe связано с изменением конформации белка. Координационное число железа в данном случае 6, фигура - октаэдр. Связывание железа невозможно без одновременного связывания карбоната, стабилизирующих друг друга, и для того, чтобы карбонат ион был зафиксирован, необходимые нековалентные связи окружающих аминокислот.

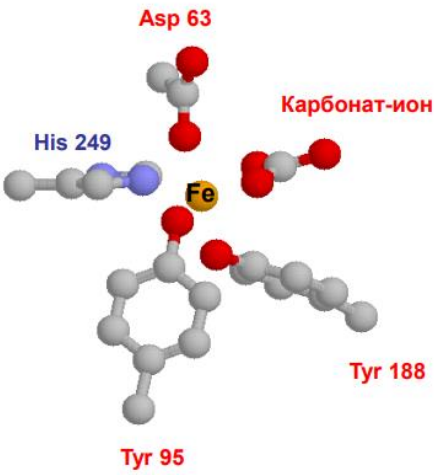
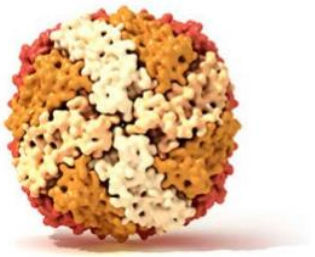


Рис. 2.15 Активный цент р Fe(III)-т рансферрина

Белок обеспечивает 4 донорных атома: 3 O (2 Tyr, 1 Asp), 1 N (His)
Два донорных атома предоставляет карбонат: 2 O
КЧ Fe(III) = 6

Связывание карбоната и Fe(III) является синэргическим процессом, т.е. связывание одного промотирует связывание другого.

За хранение пула железа в клетке отвечает ферритин. Внутри белка существует полость, в которой за счёт кислородных связей мостиковых OH- и фосфатных групп содержится полиядерный кластер железа +3.



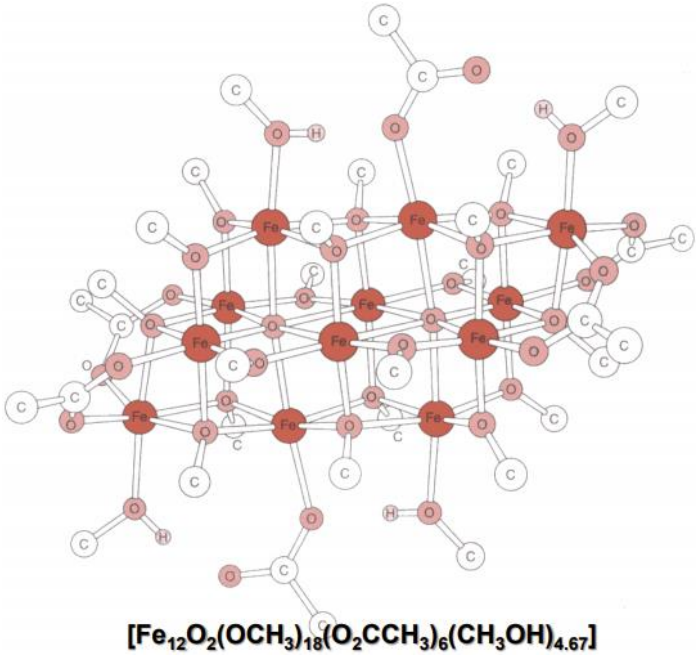


Рис. 2.16 Общее строение ферритина. Белок состоит из 24 субъединиц. Строение ядра белка.

Бактерии же используют принципиально иную схему транспорта и запасания железа. У них есть такие молекулы как пирокатехины, гидроксамовые кислоты, гидроксикислоты.

Энтеробактин, представляющий собой соединение железа с низкомолекулярным органическим соединением, проникает через мембрану с помощью белков сидерофоров.

Железо-серные кластеры

Строение: представляют собой четырехкоординированные тетраэдрические комплексы железа, в которых сульфиды выполняют роль мостиковых лигандов. С белком кластер связывают тиолатные боковые цепи цистеинов. В кластере может находиться от одного до четырех атомов. Так, например, кубан содержит четыре атома

железа, четыре атома мостиковой серы и связь с цистеином. Тем не менее, вариации кубана могут различаться по степени окисления железа, и от этого зависят длины связей в кластере (рис. 2.17)

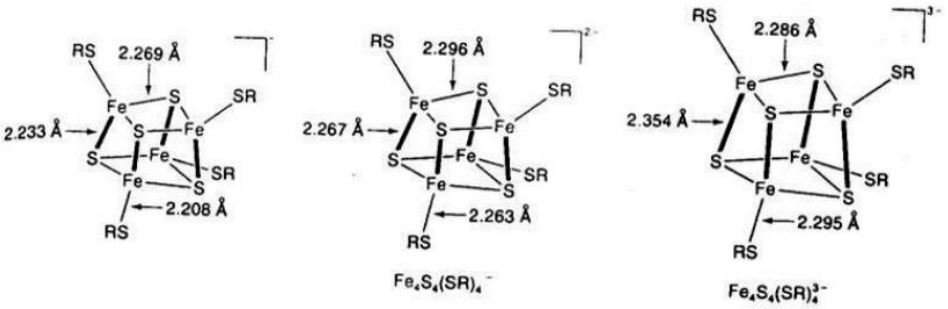


Рис. 2.17 Строение [Fe4S4(SR)4] кластеров

Функции:

- Перенос электронов
- Катализ
- Регуляция экспрессии генов

Рубридоксин

Один атом железа связан четырьмя остатками цистеина

Ферредоксин

Два атома железа, так же связан с аминокислотами цистеинами, при этом в связи также участвуют атомы мостиковой серы, обеспечивающий биядерность. Важно отметить, что в белках вместо цистеина в связывании железа может участвовать гистидин или карбоксильная группа

Аконитаза

Напомним, что существует так называемый цикл дикарбоновых кислот, или же цикл Кребса. В качестве одной из трикарбоновых кислот выступает лимонная кислота, и она находится в равновесии с изолимонной кислотой, но равновесие сдвинуто в сторону лимонной кислоты. Это равновесие обеспечивается образованием цис-аконитовой кислоты, которая является продуктом ее деградации. Эта реакция осуществляется аконитазой.

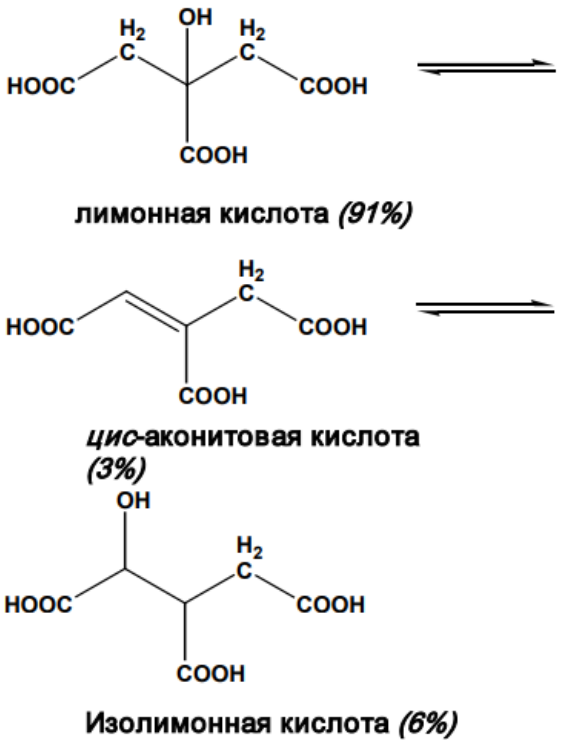
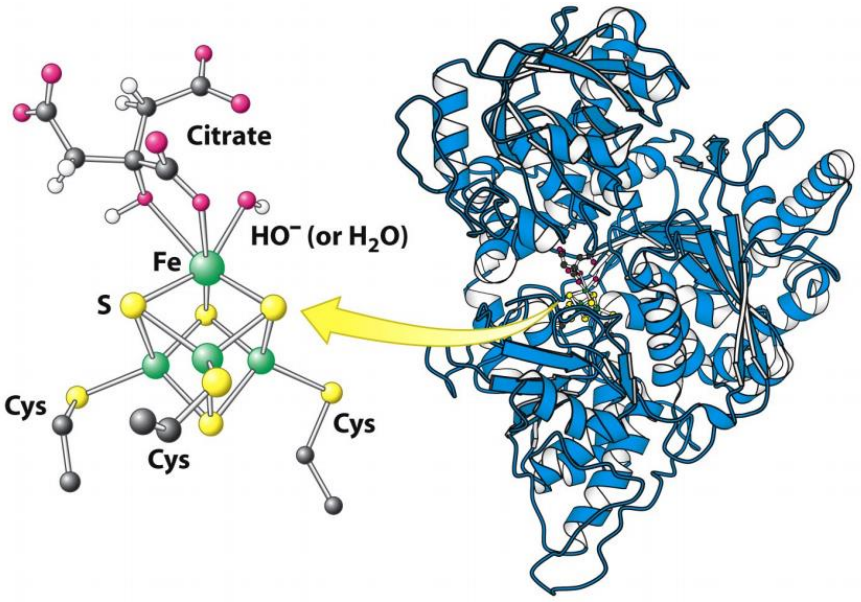
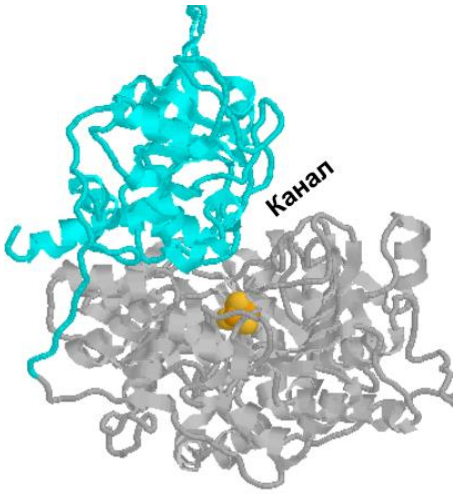


Рис. 2.18 Аконитазное равновесие

Аконитаза имеет кубан в активном сайте, канал, обеспечивающий доступ субстрата. Цитрат связывается с лабильным ионом железа в кубане. Железо действует как кислота Льюиса, промотируя потерю ОН группы цитратом. Однако не расщепление связи получившегося «гидроксида железа» потребовалось бы слишком большое количество энергии, так что в данной реакции клетке гораздо выгоднее отщепить этот лабильный атом железа в кубане, и затем восполнить его из пула доступного железа (рис. 2.20).



А



Б

Рис. 2.19 Строение аконитазы. А – строение активного центра с кубаном, взаимодействующим с цитрат ионом. Б – общий вид фермента, локализация канала.

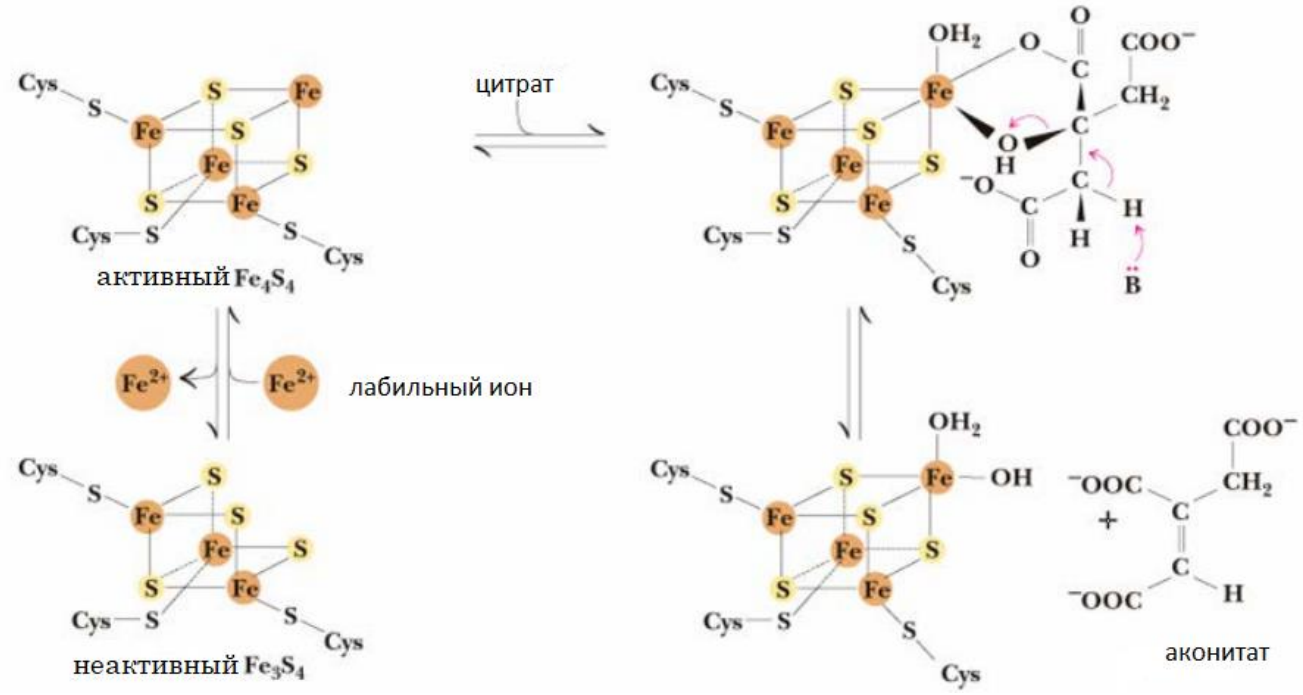


Рис. 2.20 Каталитический цикл аконитазы

Лекция 3

Порфирины

Одним из самых важных природных порфиринов является протопорфирин IX. Это макроциклическое тетрапиррольное кольцо, два пиррола содержат в качестве заместителей метил и винил, а два остальных также содержат метилы и остатки пропионовой кислоты. Это крайне важная формула в рамках данного курса, обязательная к запоминанию:

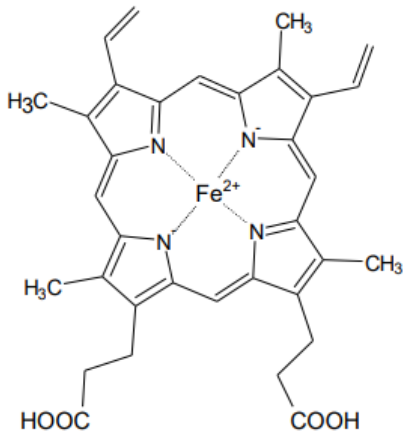


Рис. 3.1 Протопорфирин IX

На рис. 3.2 изображены представители третрапиррольных макроциклов. Исходная базовая структура – сам порфирин. Одной из модификаций с отсутствием одного из атомов углерода и большей насыщенностью связей является коррин, также известный как витамин B12. И еще одна модификация – хлорины, известнейшим из которых является хлорофилл.

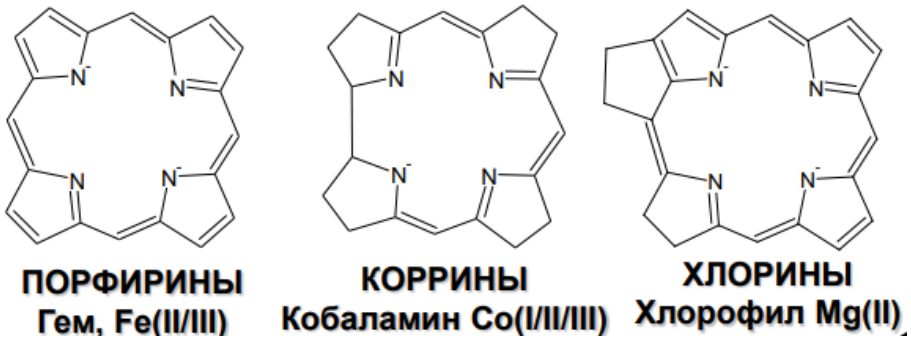


Рис. 3.2 Циклические татрапирролы

Также существуют нециклические открытые формы тетрапиррольных соединений

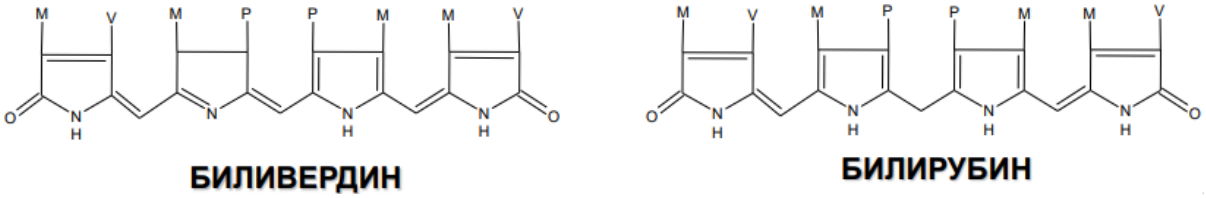


Рис. 3.3 Нециклические тетрапирролы

Порфирин формируется в результате конденсации четырех пиррольных колец, а разнообразии достигается вводом заместителей в различные положения. Атомы, соединяющие кольца между собой называются мезо-положениями, которые в природе никогда не участвуют во включении заместителей.

Хотя обычно предполагается, что ароматические системы являются плоскими, для порфиринов возможны искажения геометрической формы. Искажение может быть куполоподобным или тетраэдрическим, когда соседние пиррольные кольца имеют незначительный наклон в противоположном направлении. А вот геометрия металлопорфирина в первую очередь будет определяться размером иона металла. Если его радиус идеально подходит под размер «полости» порфирина, то он сохраняет свое плоское строение. Если металл имеет большой ионный радиус, например редкоземельные элементы, то ион металла выходит за пределы порфирина, и возможно образование, к примеру, «сэндвичей», т.к. это позволяет координационное число атома. Также на форму будет влиять степень окисления металла, спиновое состояние.

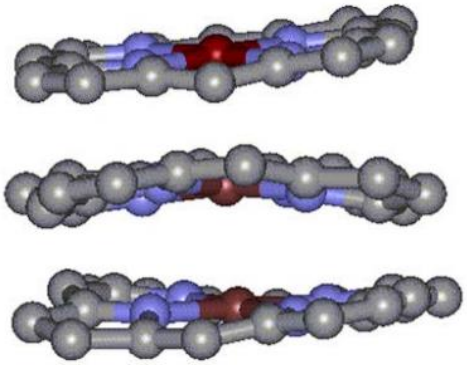


Рис. 3.4 Модели порфирина с различной геометрией: плоский, куполообразный, тетраэдрически искаженный.

Почему кровь ярко окрашена? Это определяется содержанием гема. Электронные спектры поглощения порфиринов на самом деле крайне интересно выглядят и имеют специфические полосы поглощения. Первым пиком является полоса Сорэ, но также имеются полосы в диапазоне 370-450 нм, что и определяет его как хорошо окрашенный хромофор.

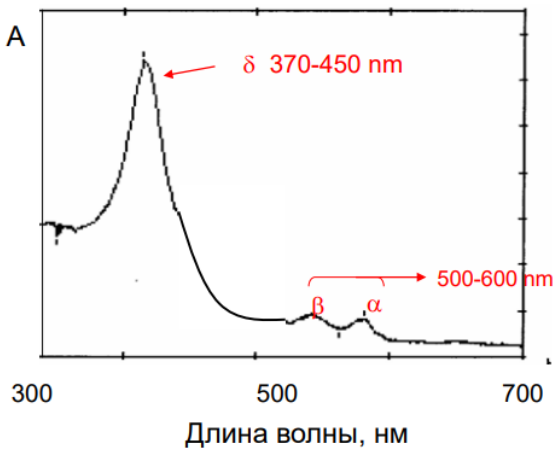


Рис. 3. Типичный UV-vis спект р мет аллопорфирина

Характер спектра зависит от природы:

- заместителей
- металла, его степени окисления и спинового состояния
- белкового окружения

В соответствии с измерением, например, степени окисления металла может изменяться и окраска раствора, переходы эти при этом обратимы, т.к. выгодная сопряженная система макрокольца определяет обратимость электронных переходов, сопровождающих редокс процессы. Растворы могут быть красного, оранжевого, розового, коричневого, зеленого цветов.

Гем

Гем – протопорфирин IX, содержащий атом железа в степени окисления +2. Если железо находится в степени окисления +3, то молекула называется гемином. Гемин – устойчивое на воздухе соединение, продающееся в свободном доступе в виде хлорида.

Каким образом белок удерживает гем в своем составе? Для правильной работы белка закрепление гем должен быть зафиксирован строго определенным образом. Положение гема относительно макромолекулы белка имеет большое значение для доступа субстрата.

1. Функциональные группы аминокислот в определенных позициях являются аксиальными лигандами атома железа в координационном комплексе (координационное число атома железа – 6). Образование связей железа возможно с атомами кислорода, азота, серы координирующих аминокислот.

2. Возможно закрепление гема с помощью слабых гидрофобных взаимодействий при внедрении гема в гидрофобную полость белка.

3. Группы депротонированной пропионовой кислоты могут выходить за пределы глобулы белка, находить остатки аминокислот с положительным зарядом на белка и закреплять «крючками».

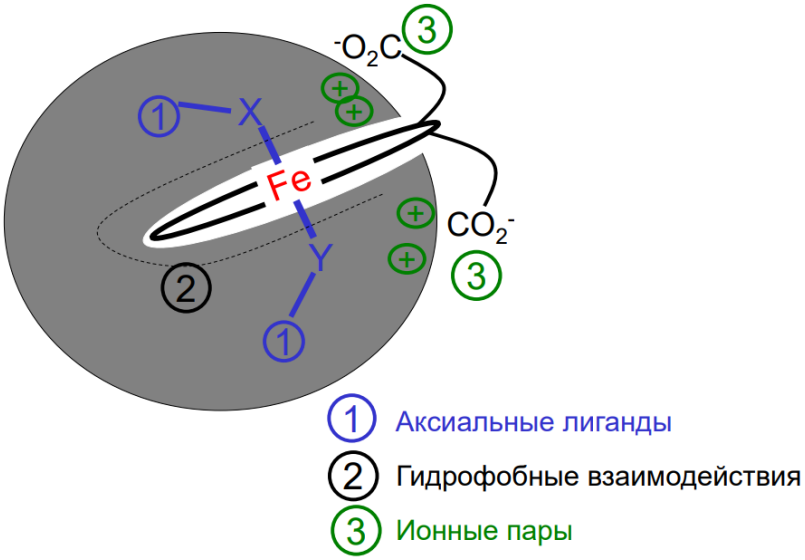


Рис. 3.6 Способы закрепления гема в глобуле белка

Аксиальными лигандами могут являться:

- Гистидин (имидазольный атом N)
- Метионин (тиоэфирный атом S)
- Тирозин (фенолятный атом O)
- Цистеин (тиолатный атом S)

Важно понимать, что наличие двух аксиальных лигандов не позволяет работать гему как активному центру и взаимодействовать с субстратом. Поэтому одним из лигандов может выступать лабильный лиганд, например – молекул воды, гидроксид-анион, кислород.

Функции гема

1. Транспорт кислорода (глобины)
2. Транспорт электронов (цитохромы)
3. Катализ реакций окисления, например, стереоспецифическое гидроксилирование нереакционноспособных атомов углерода (монооксигеназы)
4. Генерирование свободных радикалов, которые участвуют в механизмах защиты клетки и сигнальных механизмах (фагоцитная оксидаза, NO-синтаза)

Важной характеристикой являются потенциалы, характерные для порфириновых гемовых белков. Потенциал может зависеть от различных факторов: строения комплекса, его лигандного окружения, геометрии, степени окисления, влияния соседних групп и так далее. В среднем потенциал варьирует от -300 до +300 мВ.

Другие возможные названия гема: феррогем (при железе в степени окисления +2), ферригем (железо в степени окисления +3).

В каком виде используется лиганд, поставляемый белком? Если лиганд – нейтральная часть молекулы, то заряд со стороны аксиального лиганда не участвует в формировании комплекса. Если фрагмент заряжен, когда железо находится в степени окисления +3, то в целом комплекс не является электронейтральным; и элейтронейтральным он будет, если остаток аминокислоты цистеина депротонирован и поставляет отрицательный заряд. Гем в таком случае называется низкопотенциальным (E=-300мВ).
Для гема с железом +2 идеальным лигандом будет аминокислота, являющаяся нейтральной (имидазол гистидина или тиоэфирная группа метионина). Получается высокопотенциальный гем (E=+300 мВ).

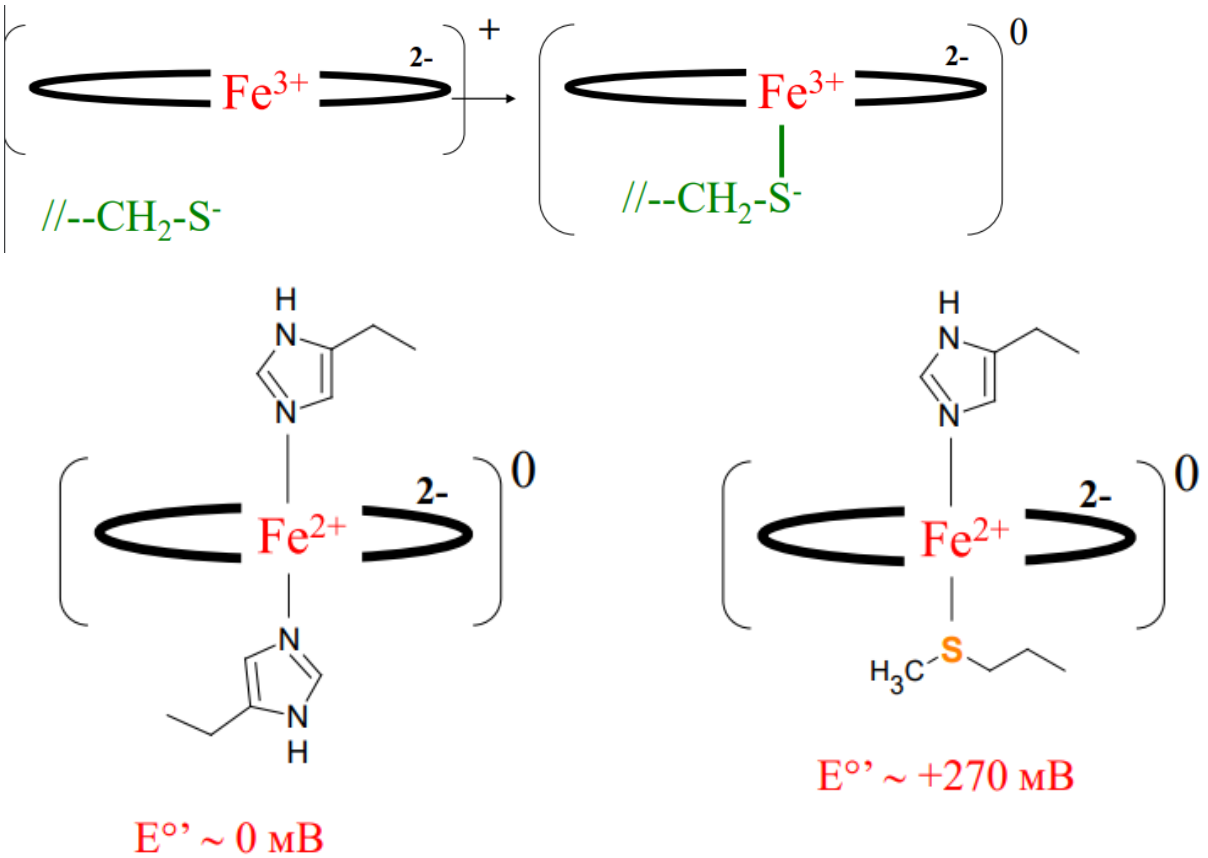


Рис. 3.7 Изменение потенциала гема в соответствии с окружением

В реакциях ферментативного катализа участвуют белки с гемами с железом +3; транспортные белки используют гемы с железом в степени окисления +2.

Цитохром b, в котором координация осуществляется двумя гистидинами, и цитохром c (координация за счет гистидина и метионина) называются электронными шаттлами (переносчиками электронов). Так, например, цитохром c содержится в электрон-транспортной цепи митохондрии.

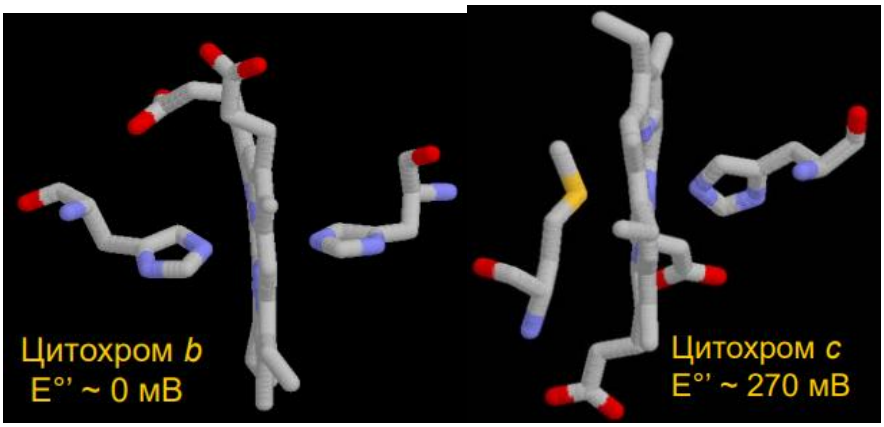


Рис. 3.8 Цитохром b и c. Переносчики электронов организованы в цепи: направление переноса электронов определяется последовательностью редокс-потенциалов от низких до высоких. Изменение свободной энергии при электронном переносе часто сопряжено с синтезом АТФ.

Доступность гема также является фактором контроля его реакционной способности. Доступность может быть разной. По типу «жетон в турникете», примеры: доступность гема для кислорода в миоглоибне или для электрона в цитохроме с. По типу «дно колодца» - часть гема доступна на дне глубокого канала. В некоторых случаях (например, цитохром P450) гем в значительной мере недоступен даже для субстратов (O2, органические субстраты), в таком случае наблюдается «структурное дыхание» - получая энергию, белок способен в определенной степени менять конформацию и увеличивать доступность гема.

Биосинтез гема

Большинство клеток могут синтезировать гем, но считается, что его основная часть синтезируется в эритроцитах , и наибольший запас гема представлен в составе гемоглобина.

Стадии синтеза гема:

1. Образование пиррола из 2 молекул δ-ALA (δ-аминолевулиновой кислоты)
2. Образование макроцикла - тетрапиррола из 4 молекул пиррола
3. Модификация периферийных групп макроцикла
4. Ароматизация (-CH2- в =CH-)
5. Внедрение иона железа

Также можно выделить «нулевую» стадию – синтез δ-аминолевулиновой кислоты в митохондрии. Для синтеза используется аминокислота глицин и сукцинил-coA, происходит отщепление CO2.

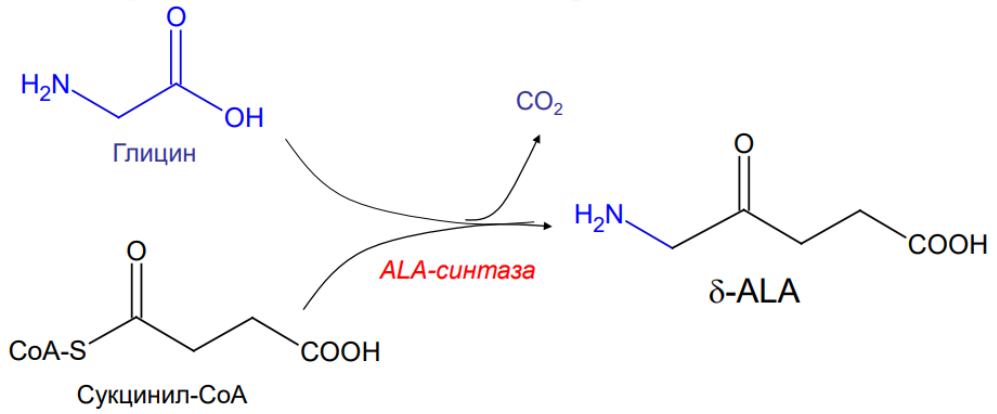


Рис. 3.9 Синтез δ-аминолевулиновой кислоты

1. Синтез пиррола – это катализируемый ALA-дегидратазой (или порфобилиноген-синтазой) процесс. Реакция включает образование основания Шиффа с последующей альдольной конденсацией и дегидратацией. ALA-дегидратаза - это Zn содержащий белок - использует Zn(II) как кислоту Льюиса для образования основания Шиффа.

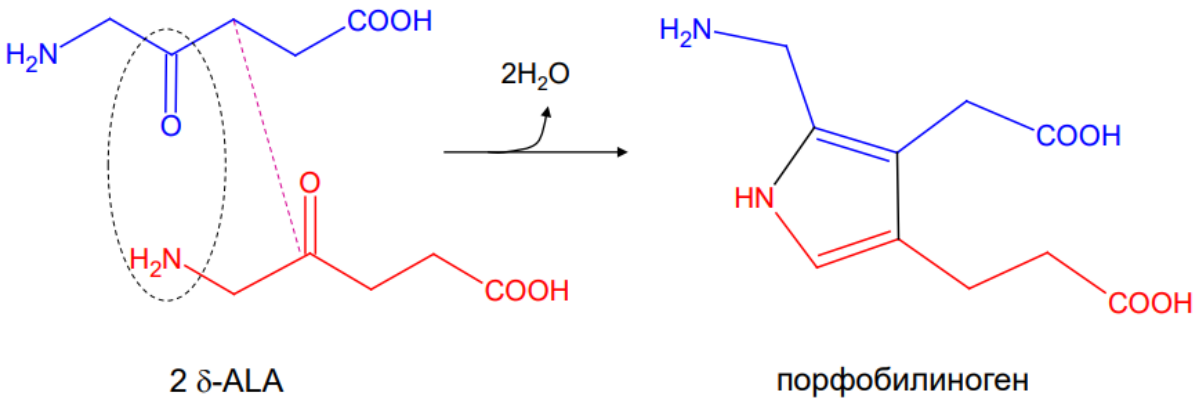


Рис. 10 Синтез порфобилиногена

2. Вторая стадия – конденсация пиррола в два шага. Первый – конденсация и дезаминирование до гидроксиметилбилана. Катализирующий фермент - уропорфириноген I синтаза. Второй шаг - образование макроциклического кольца с помощью уропорфириноген III ко-синтазы.

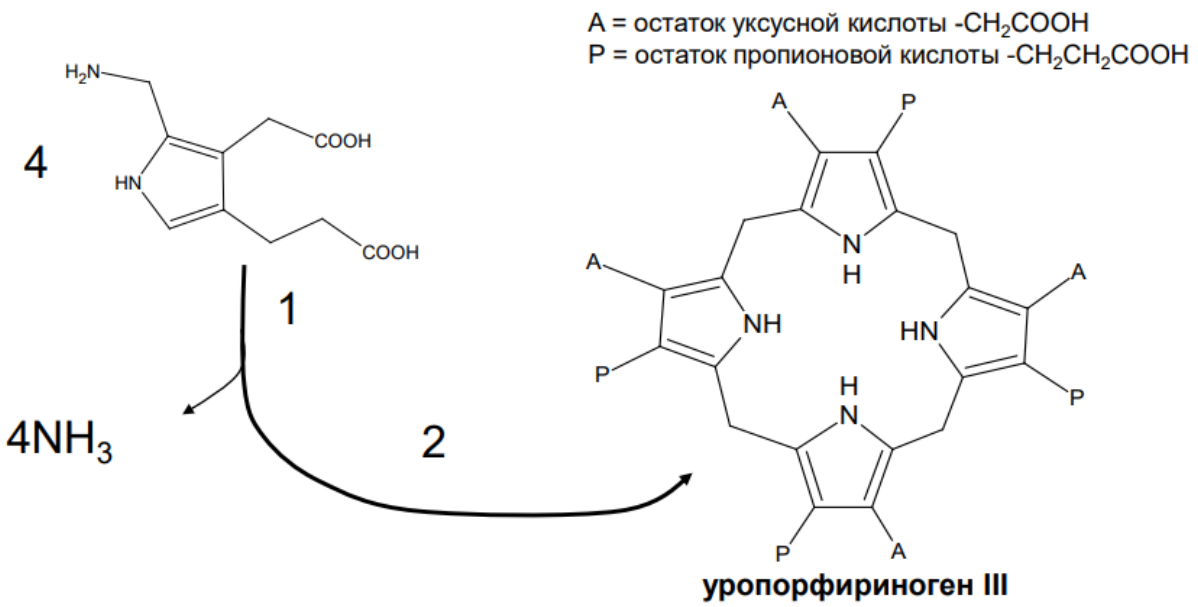


Рис. 3.11 Конденсация порфирина

Важно заметить, что в трех пиррольных кольцах заместители располагаются в последовательности A-P, а в четвертом наоборот. Такое расположение достигается только при участие фермента, тогда как в обычной синтетической реакции предполагался бы симметричный продукт.

3. Преобразование периферийных групп. Катализируется уропорфириноген III декарбоксилазой -CH2COOH группы преобразуются в CH3 группы с выделением CO2

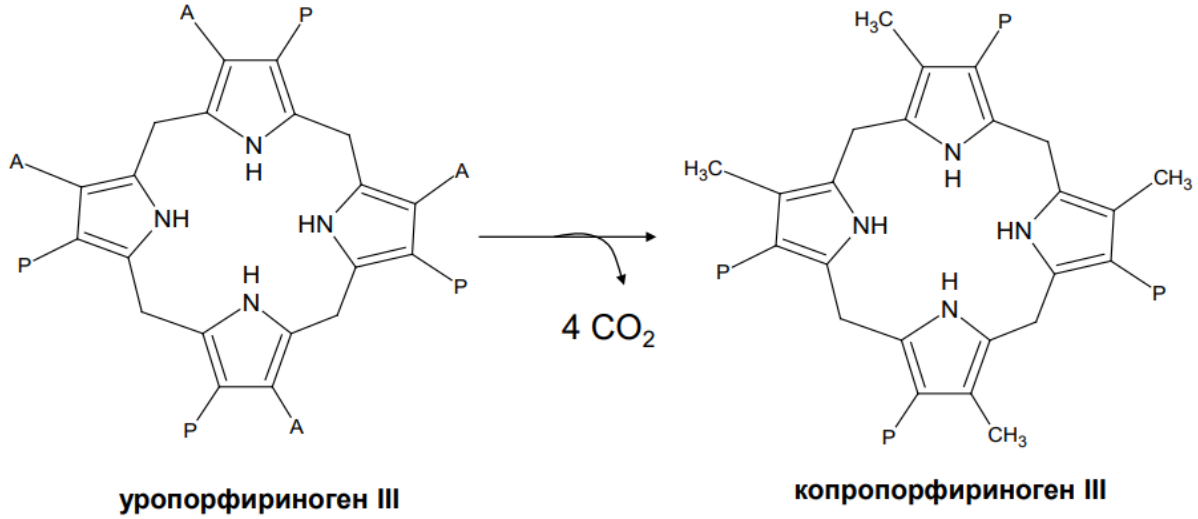


Рис. 3.12 Преобразование периферийных групп: декарбоксилирование CH2COOH группы в CH3

Также происходит селективное декарбоксилирование с помощью копропорфириноген III оксидазы в митохондриях. Реакции проходят примембранно, т.к. интермедиаты нерастворимы в воде.

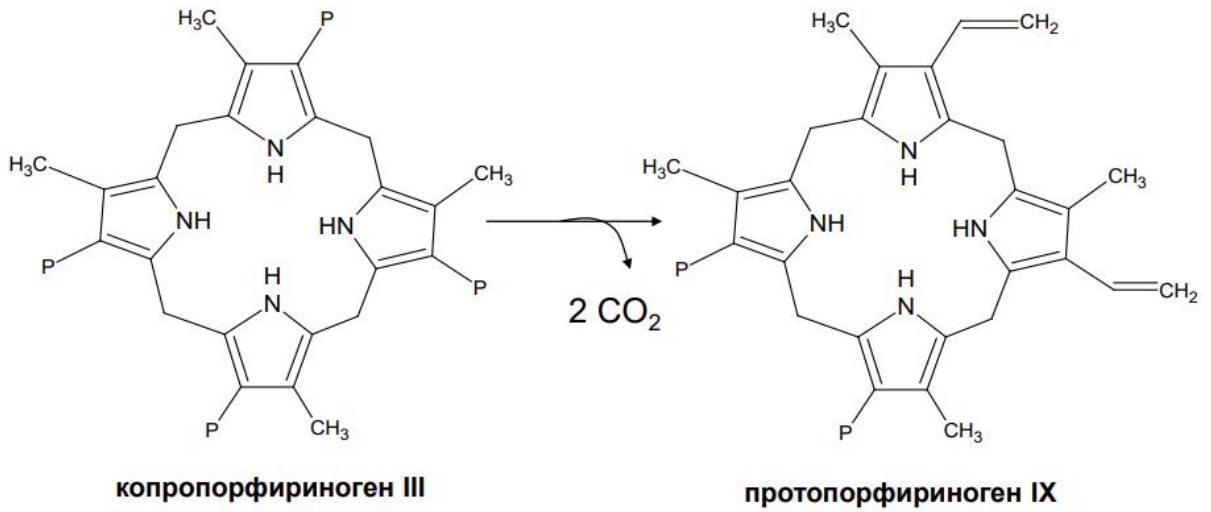


Рис. 3.13 Образование протопорфириногена IX.

4. Ароматизация происходит при участии протопорфириноген IX оксидазы. Для этойц реакции необходимо наличие кофермента – 3 NADP+. Мостковые метиленовые группы окисляются до метиновых, а также окисляются две NH группы пиррола, выделяется при этом 6 атомов H+.

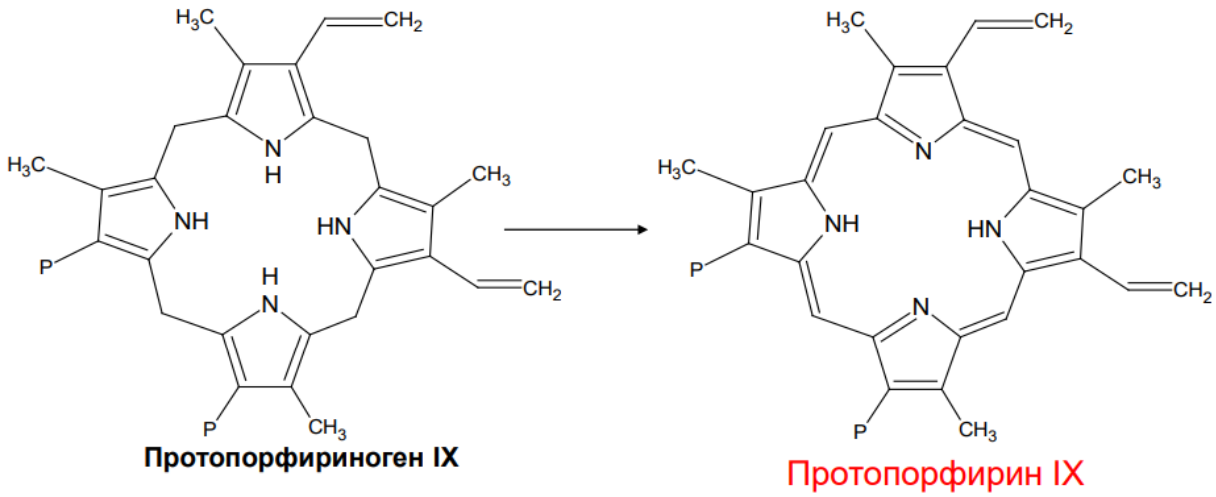


Рис. 3.14 Ароматизация до образования протопорфирина IX.

5. Внедрение иона железа в структуру молекулы. Необходимо подчеркнуть, что два пиррольных кольца содержали связь NH, и депротонирование должно было бы приводить к образованию двух связей между атомами железа и азота, но на самом деле железо имеет четыре абсолютно равноценные связи, и обозначать их в строении молекулы стоит именно так. Катализируется феррохелатазой, которая содержит Fe2S2 кластер.

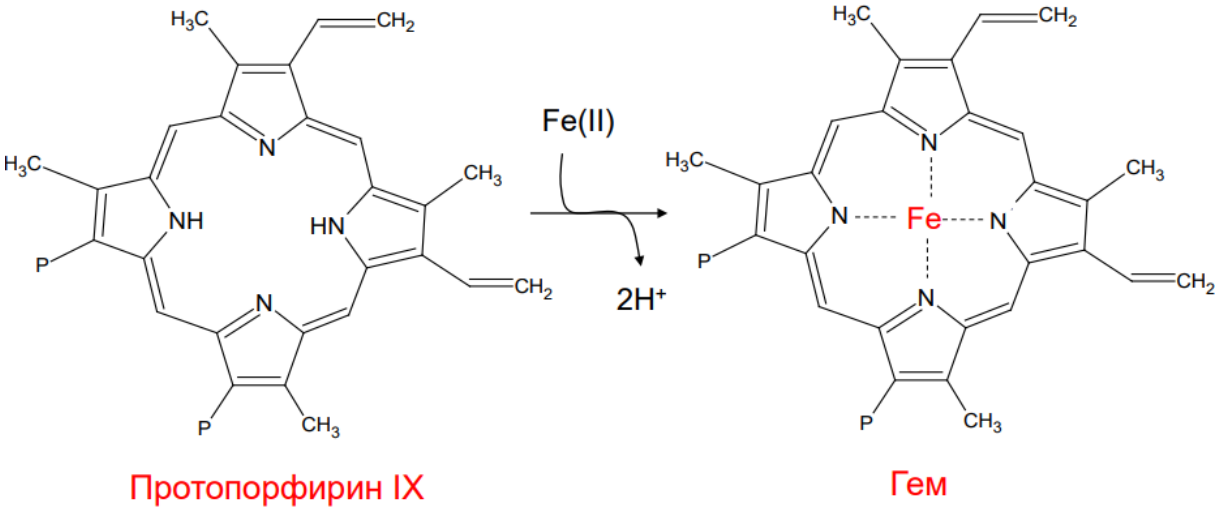


Рис. 3.15 Образование гема.

Один из возможных источников железа – железозапасающий белок ферритин.

Помимо протопорфирина и гема существуют некоторые аналоги, образующиеся как побочные продукты в указанных выше реакциях.

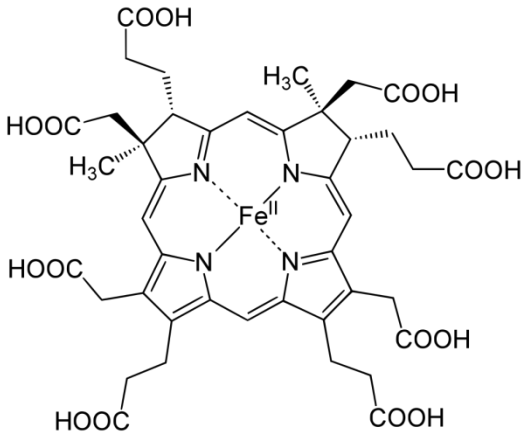


Рис. 3.16 Сирогем. Используется в ферментах с 6-ти электронным восстановления серы и азота. Синтезируется из уропорфириногена III, гема и витамина B12.

Метаболические ошибки биосинтеза гема

Если на пути шестистадийного синтеза гема происходит метаболическая ошибка работы фермента, то весь каскад реакций пойдет по неправильному пути, что приводит к тяжелейшим заболеваниям - порфириям. Видов порфирий на самом деле достаточно много, в соответствии с количеством участков синтеза, где может произойти ошибка. Эти заболевания могут быть наследственными.

В таблице 1 указаны необходимые для ознакомления виды порфирий:

Таблица 1. Список порфирий и их причины.

Фермент	**Метаболитическая цепочка**	**Заболевание, обусловленное дефицитом этого фермента**	**Побочные продукты биосинтеза**
Синтетаза δ-аминолевулиновой кислоты	Глицин + сукцинил-коА		
Дегидратаза δ-аминолевулиновой кислоты (δ-АЛК-дезаминаза)	δ-аминолевулиновой кислота	Порфирия, обусловленная дефицитом дегидратазы δ-АЛК	
Порфобилиноген-дезаминаза (ПБГД) или гидроксилметил - билиансинтетаза	Порфобилиноген (ПБГ)	Острая перемежающаяся порфирия (ОПП)	Порфобилин
Уропорфириноген III синтетаза	[Гидроксиметилбилиан]	Врожденная эритропоэтическая порфирия	
Уропорфириноген декарбоксилаза	Уропорфириноген III	Поздняя кожная порфирия	Уропорфирин
Копропорфириноген III оксидаза	Копропорфириноген III	Наследственная копропорфирия	Копропорфирин
Протопорфириноген IX оксидаза	Протопорфириноген IX	Вариегатная порфирия	
Феррохелатаза	Протопорфирин IX	Эритропоэтическая протопорфирия	

Одними из наиболее важных для изучения являются врожденная и острая перемежающаяся порфирии.

Острые порфирии – группа наследственных метаболических заболеваний, обусловленных дефектом одного из ферментов биосинтеза гема. Проявления: приступ вегетативных дисфункций, боли в животе, психические нарушения. При прогрессивном заболевании: острая двигательная полиневропатия, эпилептические припадки. Более всего распространена на севере Европы, составляет 7-12 случаев на 10 тысяч населения.

Интересно, что многие истории про вампиров берут в основу именно больных острой порфирией, и при этом одним из типов лечения является, соответственно, искусственный прием внешних источников порфирина, в т.ч. можно использовать кровь различных животных как один из источников.

Врожденная порфирия

Причиной врожденной порфирии является дефекты в работе уропорфириноген III ко-синтазы, что ведет к неправильному расположению заместителей в продукте реакции, осуществляемой этим ферментом. Накопление уропорфириногена I ведет к появлению следующих симптомов: красная моча, анемия, светочувствительная кожа, флуоресцирующие зубы.

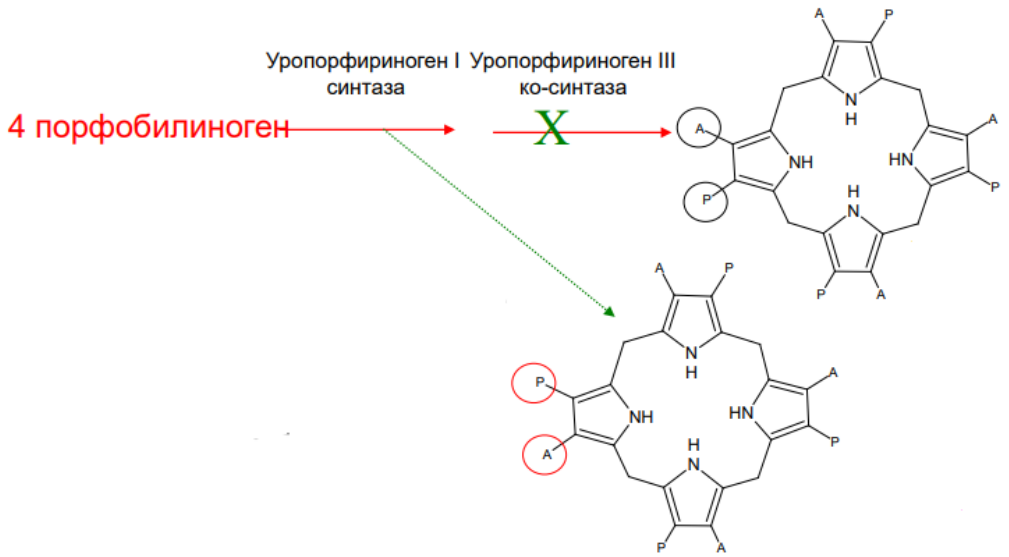


Рис. 3.17 Нарушение в работе уропорфириноген III ко-синтазы, ведущее к появлению врожденной порфирии.

Острая перемежающаяся порфирия

Эта порфирия является не наследственной, а приобретенной. Отравление свинцом в степени окисления +2 приводит к связыванию свинца вместо цинка в активном центре ALA-дегидратазы и ее деактивации, что ведет к накоплению δ-аминолевулиновой кислоты. Эта кислоты является аналогом ГАМК. ГАМК является жизненно важной для процессов в нервной системе, и ее замещение таким аналогом будет приводить к тяжелым неврологическим нарушениям.

Известны случаи заболевания исторических личностей перемежающейся порфирией. Так, например, Георг III, английский король, сошел с ума, и диагноз был поставлен только спустя 200 лет после его смерти.

Также отравление свинцом как причина смерти была указана для всей арктической экспедиции сэра Джона Франклина. Ранее использовалось консервирование продуктов в банках и цистернах, в составе сплава которых находился свинец.

Дальнейшая судьба гема

Как уже упоминалось ранее, три четверти гемов содержится в составе гемоглобинов. Но, как известно, сами клетки эритроциты функционируют около трех-четырех месяцев, поэтому требуется постоянная замена содержащегося в них гемоглобина.

Распад гемоглобина начинается с отщепления гема из молекулы. В дальнейшем железо используется повторно для ресинтеза гема или железо-серных кластеров, макроциклический остаток удаляется и разлагается в клетке. Белковый остаток молекулы также расщепляется на аминокислоты, которые в дальнейшем рециклизуются.

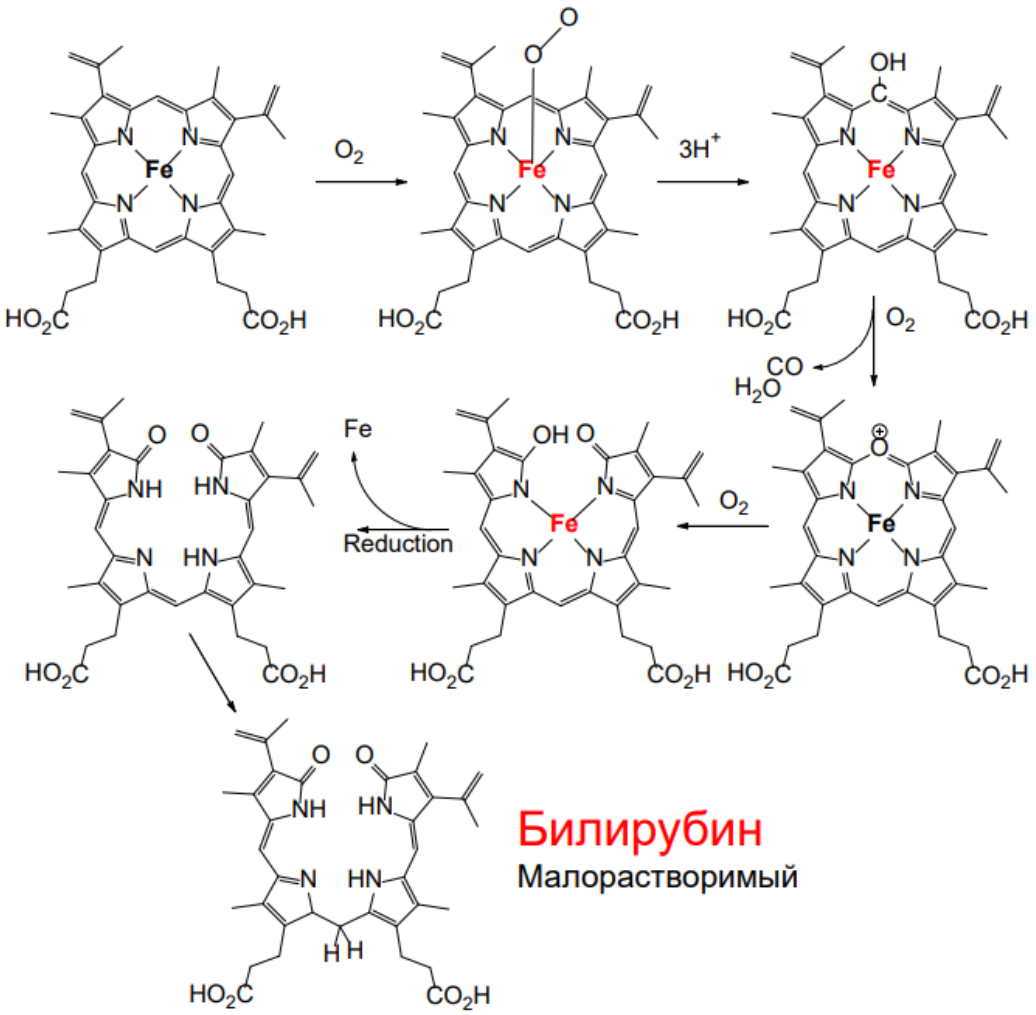


Рис. 3.18 Распад гема в селезенке.

Раскрытие цикла с образование биливердина осуществляется при помощи гем оксигеназы, затем получается малорастворимый билирубин с участием биливердин редуктазы.

Если все ферменты нормально работают и осуществляют катализ своих реакций, то билирубин в селезенке в норме сопрягается с сывороточным альбумином и транспортируется в печень вместе с кровью.
В печени происходит гликозилирование билирубина по пропионатным группам двумя молекулами глюконуроновой кислоты, что обеспечивает его большую растворимость и, соответственно, облегчение выведения сначала в желчный пузырь, а затем и в кишечник по желчевыводящим протокам.

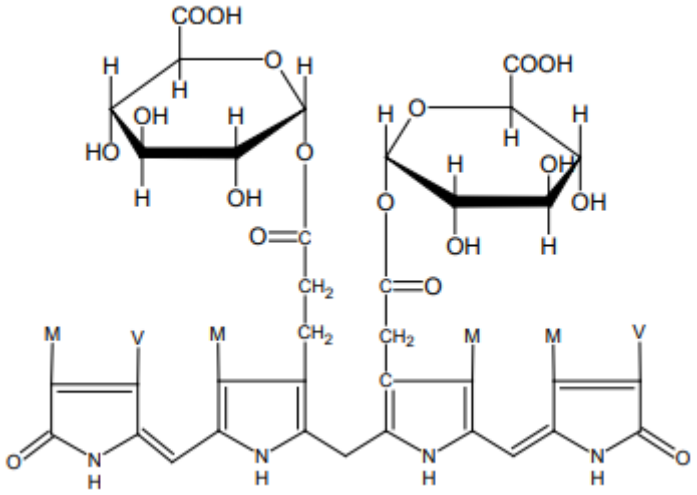


Рис. 3.19 Диглюконурид билирубина

Нарушение работы функций любого из участвующих в процессе выведения билирубина органов ведет к различным последствиям.

Например, нарушение образования сложноэфирных связей билирубина с сахаром или недостаток связывающего сывороточного альбумина ведет к накоплению билирубина в крови. Это нарушение сопровождается желтизной кожи и глаз, и известно как «желтуха».

Лекция 4

В данной лекции будут рассмотрены вопросы, касающиеся переноса молекулярного кислорода. Процессы переноса кислороды крайне важны для организмов, в т.ч. человека, живущих за счет дыхания в кислородной среде.

Одним из наиболее распространенных и известных переносчиков кислорода является гемоглобин.
При нормальных условиях (25 ºС) в 1 л воды растворяется 21 мл молекулярного кислорода, что является недостаточным для функционирования живого организма. Гемоглобин обеспечивает существенное повышение растворимости молекулярного кислорода до 200 мл в 1 л крови.

Процессы с использованием O2:

- Поглощение
- Транспорт
- Запасание
- Образование активных форм кислорода

Активные формы кислорода

Активные формы кислорода (АФК, Активные метаболиты кислорода, АМК, Reactive Oxygen Species, ROS) – это реакционноспособные частицы, образующиеся из молекулярного кислорода. Как они образуются? Во-первых, одноэлектронное восстановление – молекула принимает электрон на низшую свободную атомную орбиталь, образуется супероксид анион-радикал. При его взаимодействии с протоном получается пероксильный радикал. На следующей стадии восстановления получается дианион, протонирование его приводит к появлению пероксида водорода. Далее при восстановлении также получаются различные зараженные частицы (рис. 1). Важной особенностью является их крайне высокая активность и возможность взаимодействовать практически с любыми биологическими системами и повреждать их.

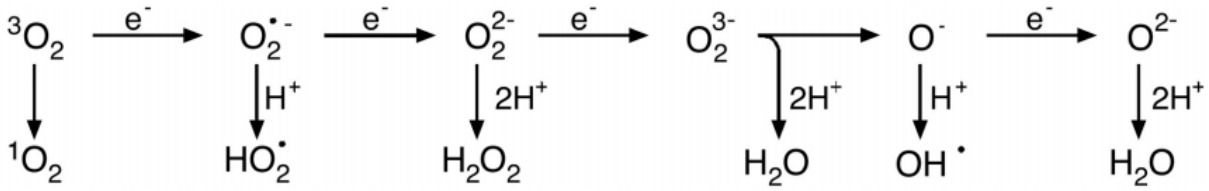


Рис. 4.1 Ряд получения АФК

В клетке для защиты от АФК существуют антиоксидантные системы. Для защиты от супероксид-радикала используется суперкосиддисмутаза, осуществляющая реакции диспропорционирования и образования, соответственно, воды и молекулярного

кислорода. Для защиты от пероксида водорода используются семейства ферментов каталаз и пероксидаз.

Генерирование АФК происходит в большей степени в митохондриях на внутренней мембране, где и располагается электрон-транспортная цепь, в меньшей степени – в других неферментативных и ферментативных реакциях окисления (микросомальное окисление, неферментативное окисление биогенных аминов). Генерирование АФК находится к равновесии с их утилизацией (супероксиддисмутазой, каталазой, пероксидазами, низкомолекулярными антиоксидантами, хелаторами ионов железа).

Окислительный стресс возникает при дисбалансе этой системы и накоплении АФК. Связанные с окислительным стрессом повреждения распространяются на липиды, белки, ДНК и тд. Часть белков инактивируется, часть (с содержание железо-серных кластеров) может и активироваться, многие белки подвергаются агрегации. Нарушения в ДНК связаны с повреждением передачи генетической информации и синтеза новых белков, а окисление липидов приводит к нарушению целостности клеточной мембраны. В результаты возникают такие заболевания как нейродегенеративные заболевания (болезни Альцгеймера, Паркинсона и тд), остма, опухолевые заболевания, диабет, инфаркт и тромбозы, ишемия/реперфузия, радиационное поражение, острый респираторный дистресс-синдром.

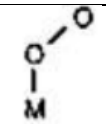
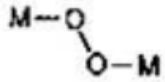
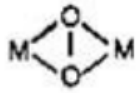
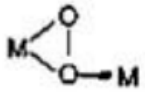
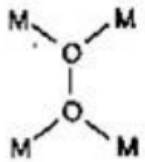
Табл. 1 Белки-переносчики кислорода

Белок	M металл	Функция	M/O_2	Лиганды	Цвет	
					окси-форма	*дезокси*-форма
Гемоглобин	Fe	Транспорт	1:1	Порфирин	Красный	Красно-синий
Миоглобин	Fe	Сохранение	1:1	Порфирин	Красный	Красно-синий
Гемэритрин (негемовый)	Fe	Сохранение	2:1	Белок	Фиолетовый	Бесцветный
Гемоцианин (негемовый)	Cu	Транспорт	2:1	Белок	Синий	Бесцветный

Стоит обратить внимать, что гемэритрин и гемоцианин, не смотря на свои названия, не имеют в составе гема. Гемэритрин содержит биядерный комплекс железа, а гемоцианин относится в металлопротеинам, содержащим медь.

В гемоглобине и миоглобине гемовый центр связывает молекулу O2 в виде супероксид-анион радикала. Существует несколько способов координации молекул кислорода с участием различных комплексов металлов, в т.ч. и плоских макроциклических комплексов порфирина железа.

Табл. 2 Способы координации кислорода, супероксида, пероксида

Структура	**Способ связывания**
	End-on Молекула O2 координирована с помощью одного атома кислорода
	Side-on Кислород выступает как бидентантный лиганд
	And-on Кислород связывает два атома металла с двух сторон (пероксокомплекс)
	Каждый кислород связывает два атома металла с сохранением мостиковой связи
	Молекула кислорода связывает два атома металла, сохраняя мостиковую связь, координационные числа различаются
	Молекула O2 связывает четыре атома металла

Для гемоглобина характерен способ связывания end-on (взаимодействие d2 орбитали). Однако возможна ситуация так называемого back-donation, когда поставщиком электронной плотности является кислород.

Гемоглобин и миоглобин

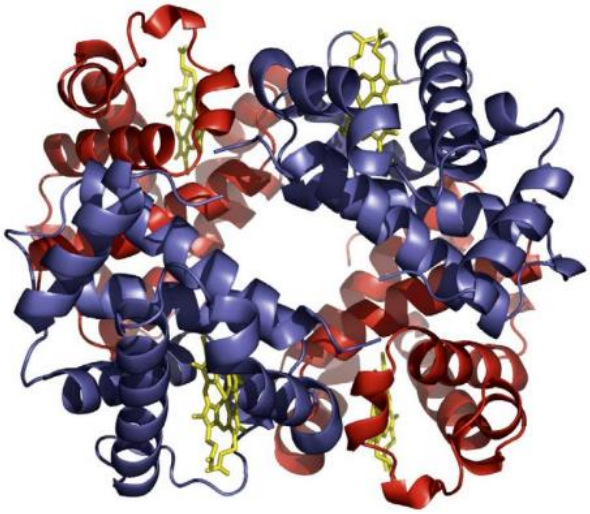


Рис. 4.1 Модель строения гемоглобина (тетрамер, отвечает за перенос кислорода)

В состав гемоглобина в соответствии с количеством субъединиц входит четыре гема, расположенных симметрично. В составе миоглобина только один гем. Молекула гемоглобина состоит из четырех полипептидных цепей – 2 альфа и 2 бета. Также внутри белка существует полость.
Гем в составе белка удерживают имидазолы гистидина. Внедрение приводит к образованию структуры типа end-on, и для ее закрепления необходимо, чтобы удаленный от сайта гема дистальный гистидин обеспечил наличие водородной связи с кислородом за счет N-H группы имидазола. В момент, когда белок поглощает кислород происходят конформационные изменения; поворот субъединиц изменяется примерно на 15°; изменяется размер полости.

В дезокси-форме есть взаимодействие атома азота гистидина с атомом железа, но это взаимодействие приводит к тому, что нарушается плоская структура порфирина. Из-за этого железо выходит из плоскости порфирина и обеспечивает куполообразную форму гема. При взаимодействии с молекулой O2 гем возвращается в плоское состояние, сохраняя связи как с имидазолом, так и с O2. При этом изменяется расстояние между атомом железа и имидазолом. В дезокси форме – 2,68Å, в окси форме - 2,07 Å.

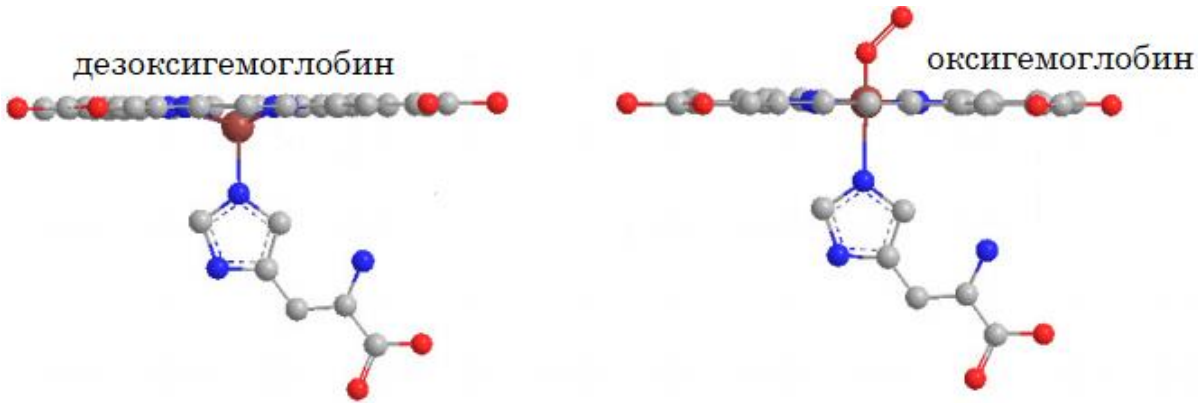


Рис. 4.2 Изменение геометрии сайта гема гемоглобина при связывании с кислородом.

Как уже упоминалось ранее, порфирины – сильные хромофоры. Окраска крови определяется содержанием эритроцитов, а соответственно гемоглобина и гема. Спектр поглощения оксигемоглобина и дезоксигемоглобина имеет различную форму (рис. 4.3).

Существуют яды (ингибиторы), частично или полностью блокирующие работу транспорт кислорода и, следовательно, дыхание. К ним относится нитрит-ион. $NO2^-$ окисляет Fe(II) до Fe(III) и образуется метгемоглобин, который не способен связывать O2.

$$Hb(Fe^{II})\cdot O_2 + H_2O + NO_2^- \rightleftharpoons MetHb(Fe^{III})OH + NO + O_2 + H^+$$

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ МГУ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА
teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

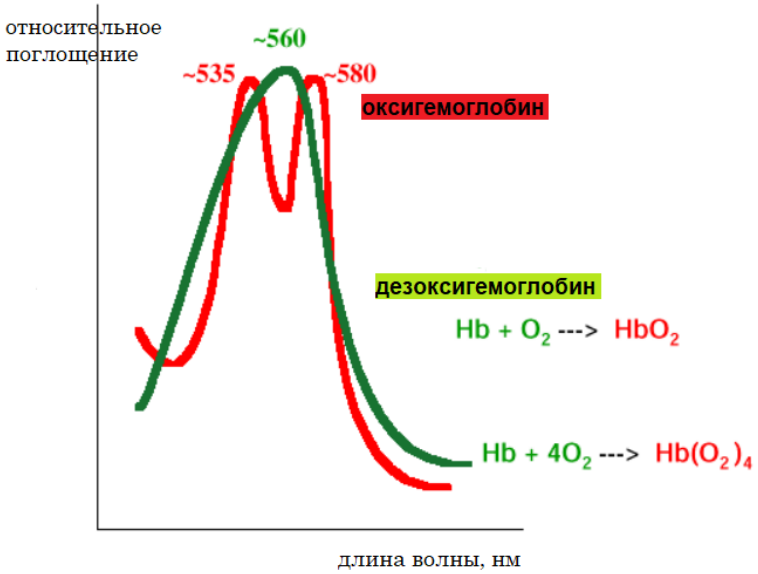


Рис. 4.3 Спектр поглощение гемоглобина

Также известно, что при содержание угарного газа (CO) в четверть от общего объема вдыхаемого воздуха он блокирует 25% гемоглобина. При его объемном содержании в половину от вдыхаемого воздуха ингибируется уже 90% гемоглобина. Такое ингибирование приводит к летальному исходу.
В нормальной ситуации проксимальный гистидин координирован за счет связи азот-железо, дистальный гистидин обеспечивает водородную связь с кислородом. При взаимодействии CO с гемом в конкурентной реакции преимущественно образуется карбонил железа (рис. 4.4). Эта реакция является необратимой.

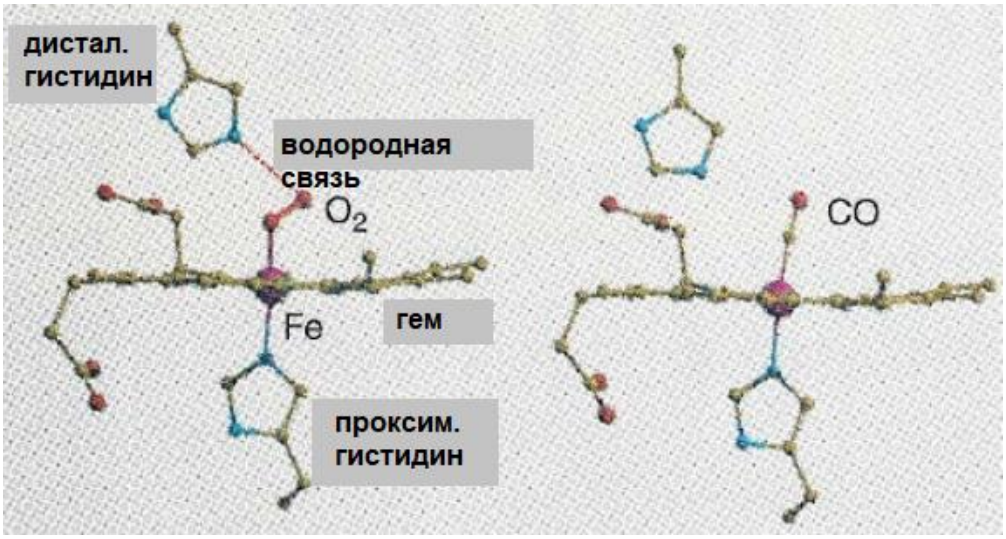


Рис. 4.4 Связывание CO с гемом

Особенности связывания кислорода гемоглобином:

- Увеличение эффективности связывания каждой последующей молекулы O2 (так называемый кооперативный эффект)
- Соотношение констант образования 1 : 4 : 24 : 9 для моно-, ди-, три- и тетраоксигемоглобина. При каждом следующем связывании молекулы кислорода происходит изменение конформации, спинового состояния, магнитных свойств и тд.
- Изменение магнитных свойств при присоединении кислорода (дезоксигемоглобин – парамагнитний, оксигемоглобин – диамагнитный)

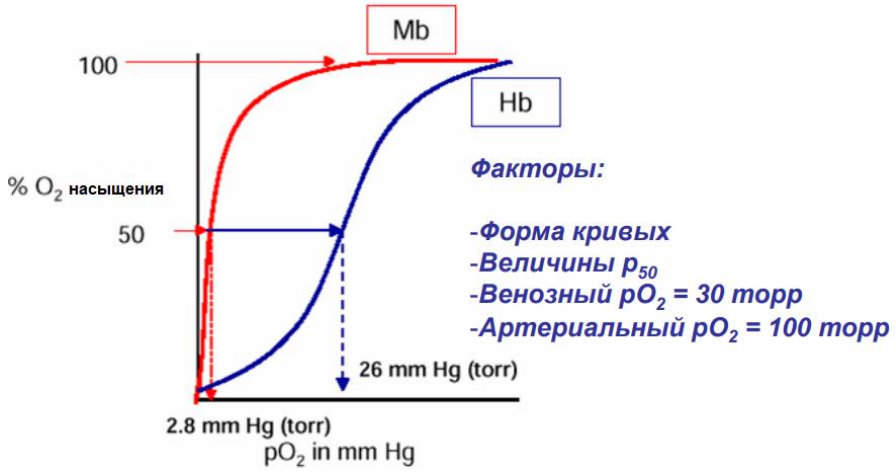


Рис. 4.5 Кривые насыщения кислородом. Красная линия – миоглобин, синяя линия – гемоглобин. Насыщение до 4х молекул O2 в кислороде происходит постепенно, одной молекулы в миоглобине – быстро и сразу. Эти кривые отражают различия в функции белков – транспортера и накопителя.

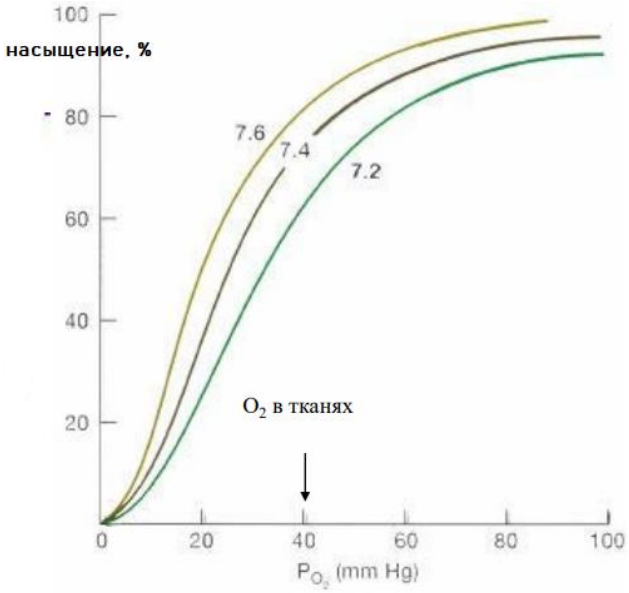


Рис. 4.6 Кривые влияния pH на связывание кислорода. Оптимальным является физиологическое значени pH~4,4.

Миоглобин

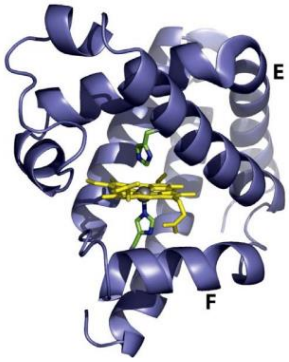


Рис. 4.7 Модель строения миоглобина (мономер, отвечает за запасание кислорода).

Миоглобин – мономер, небольшой белок размером 153 аминокислотных остатка, 17.3 kDa, содержится в основном в мышечной ткани.

Синтетические переносчики кислорода

На данный момент существует огромное множество синтетических порфиринов с различными заместителями. Исторически их синтез начинали с простых макроциклических комплексов, способных воспроизвести реакцию связывания кислорода.

Однако стоит понимать, что чистый порфирин с железом не может обеспечивать свое нормальное функционирование как модельная система транспортера кислорода, т.к. образуются пероксо-димеры и др. нерабочие соединения. В связи с этим были попытки нанесения порфирина на подложку, и такие порфирины даже могли связываться с гистидинами. Также существуют capped-модели с введением заместителей, закрывающих доступ к одному из аксиальных положений железа, но разрешающих доступ для маленьких молекул O2. Одной из первых молекул с гемом, способных к обратимому связыванию кислорода, стала следующая:

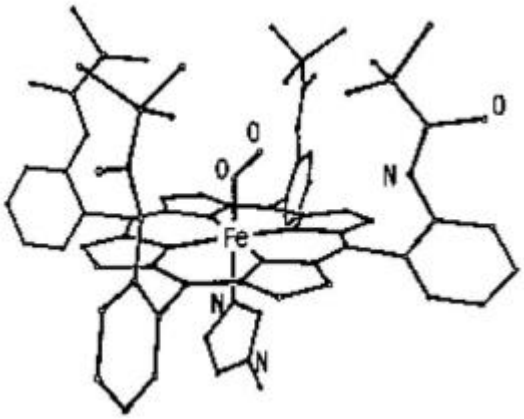


Рис. 4.8 Одна из первых модельных молекул траспортеров кислорода.

В настоящее время уже существуют различные синтетические аналоги крови, выпускающиеся на рынке. Также стоит упомянуть такую область как

фторорганические соединения; состоящая из определенных соединений этой области жидкость способна к растворению большого количества кислорода. Биомиметики (mimetics, греч. *mimetes* — подражатель) – синтетические вещества, подобные природным и в структурном, и в функциональном плане.

Гемэритрин

Этот белок небольшой массы встречается в организме беспозвоночных животных, некоторых бактерий, ответственен за перенос кислорода. Биядерный комплекс железа в его составе удерживается остатками аминокислот за счет карбоксильных групп глутаминовой и аспарагиновой кислот (причем они являются мостиковыми каждая), также есть мостиковая ОН группа для сохранения строго фиксированного расстояния между атомами железа. Комплекс обратимо связывает кислород, при этом приобретает окраску за счет изменения молекулярных орбиталей, оба атома железа приобретают степень окисления +3.

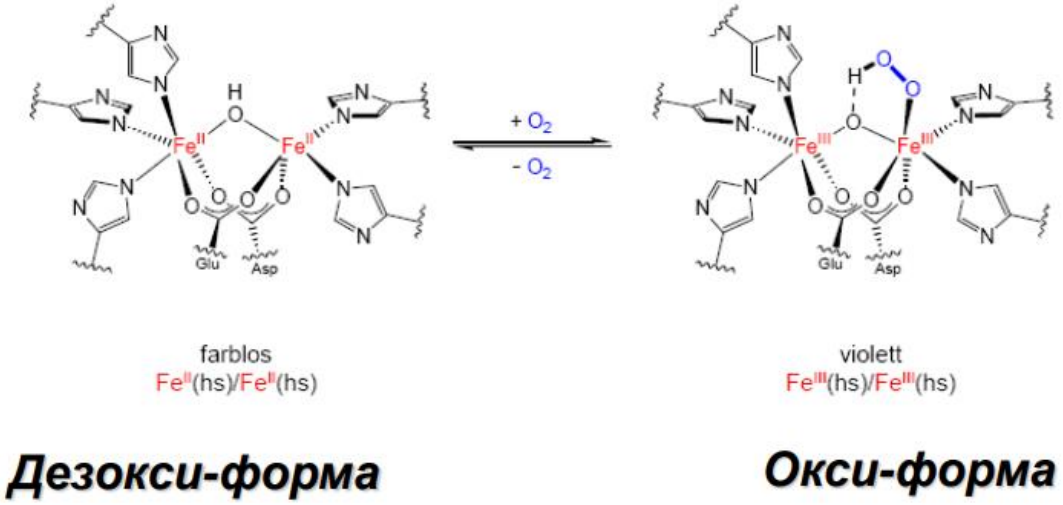


Рис. 4.9 Гемэритрин

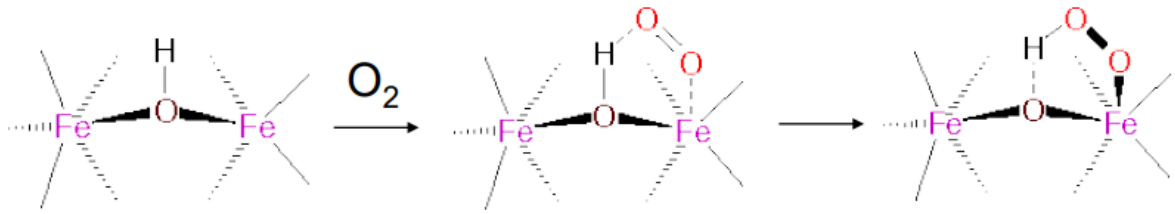


Рис. 4.10 Присоединение кислорода к биядерному комплексу гемэритрина

Пероксидазы и каталазы

Пероксидазы катализируют реакцию окисления ряда субстратов с участием H2O2 как окислителя: Substrate + 2 e− + 2H+ → Products + H2O

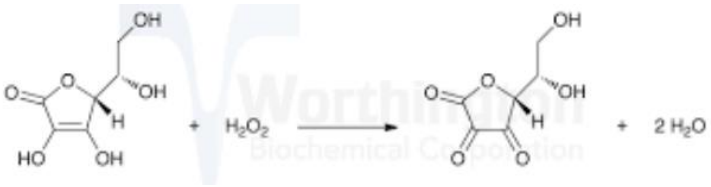


Рис. 4.11 Пример реакции, катализируемой пероксидазой: окисление аскорбиновой кислоты

Активным сайтом фермента является гем. Протофорфирин в исходном состоянии имеет нарушенную куполообразую геометрию за счет имидазола. Железо взаимодействует с пероксидом водорода (субстрат обозначен условно как AH2). Перекись активируется, отщепляется молекула воды, первым оксигенированию подвергает сам гем. Образуется несколько интермедиатов, подвергается окислению субстрат.

В составе фермента также могут присутствовать атомы калиця, их функции в молекулы возможно связаны с локализацией молекул воды, необходимых для работы фермента.

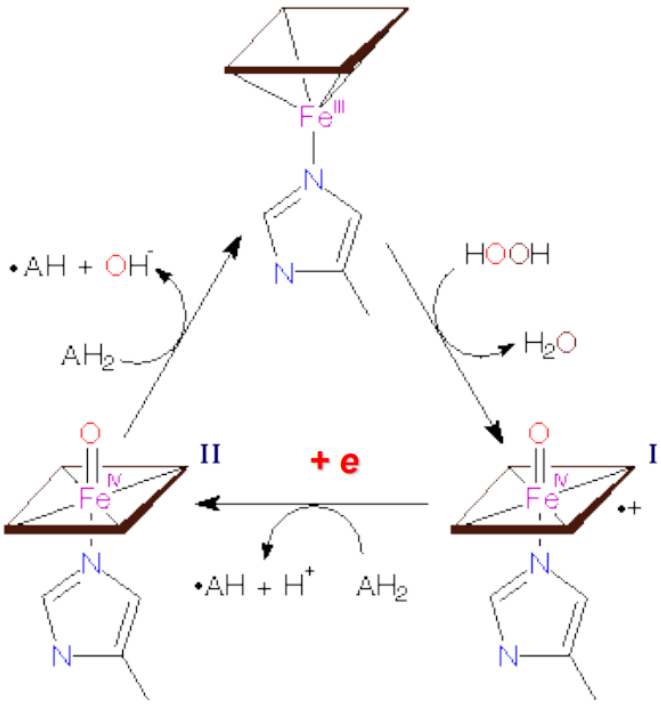


Рис. 4.12 Простейшая схема каталитического цикла пероксидазы.

Каталаза

Единственный субстрат каталазы – сама перекись водорода. Этот фермент отвечает только за утилизацию перекиси: 2H2O2 → 2H2O + O2

Структура включает один гем; функционирование зависит от кофермента – NADPH. В чем заключается отличие от пероксидазы? Для координации с атомом железа фенольную группу предоставляет тирозин. Механизм катализа и интермедиаты сходны с таковыми у пероксидазы.

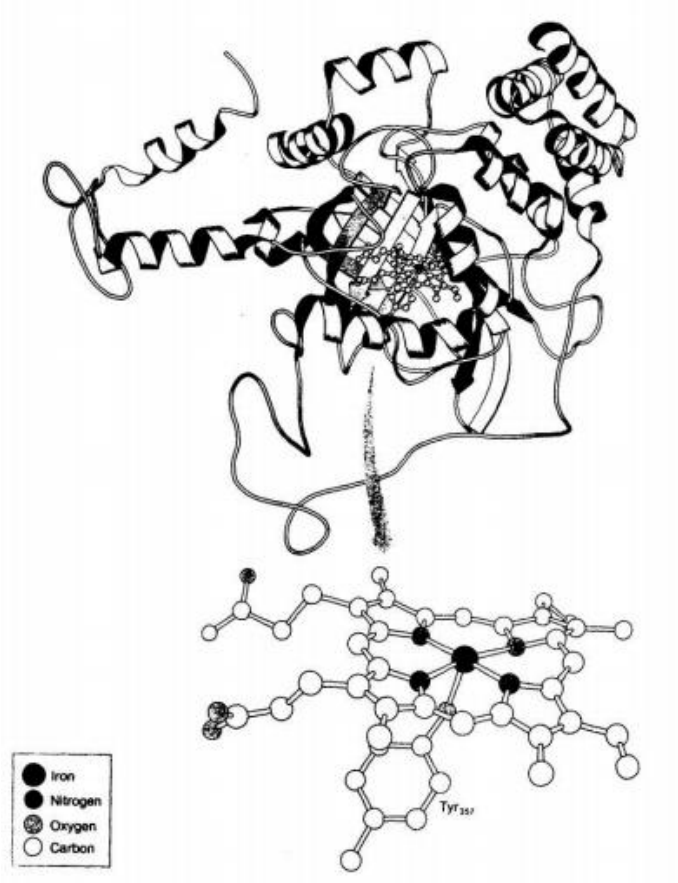


Рис. 4.13 Общее строение каталазы и ее активный центр

Гем-тиолатные белки

Пример - гем хлороперoксидаза, NO синтаза, цитохромы P450. Используют закрепление гема с помощью цистеина.

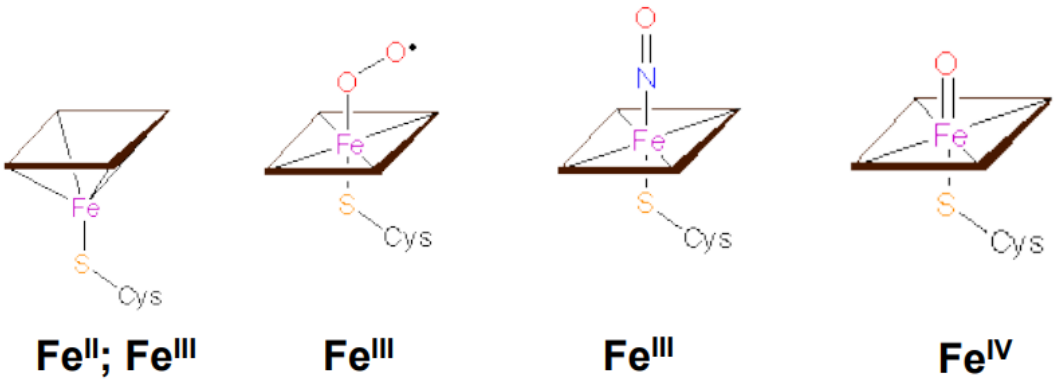


Рис. 4.14 Ряд активных интермедиатов гема гем-тиолатных белков.

Лекция 5

Цитохромы P450

Альтернативные названия и сокращения: цитохром P450-зависимые монооксигеназы, Cytochrome P450, cyt P450 , CYP

Гемовые белки можно хорошо анализировать с помощью спектроскопии. Несколько десятилетий назад при исследовании белка, точнее, его комплекса с CO, при спектроскопии была обнаружена очень интенсивная полоса поглощения с пиком 450 нм. Было принято решение назвать семейство таких белком цитохромами P450.Дальнейшее исследование семейство показало что изменение его характеристик сильно связано с редокс состоянием белкового гема. Окисление порфиринового кольца гема, изменение степени окисления железа, образование интермедиатов будет существенно изменять спектр поглощения белка. Тем не менее, за семейством закрепилось именно такое название.

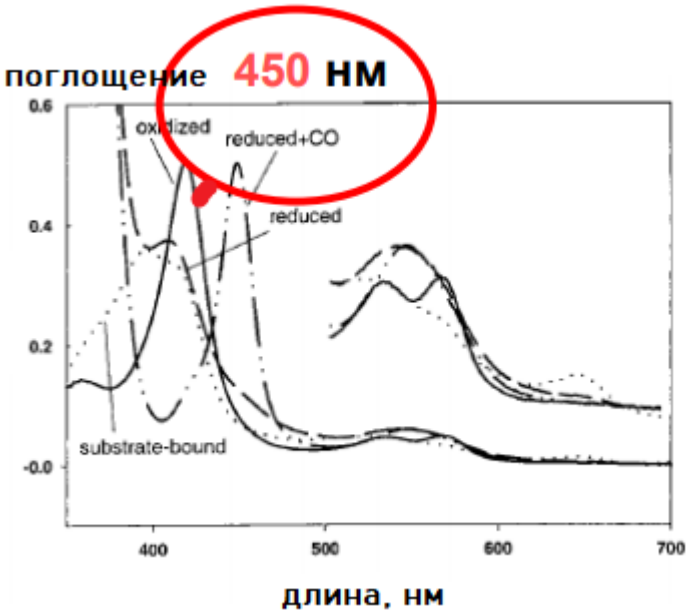


Рис. 5.1 Спектр поглощения различных форм цитохромов P450.

Цитохромы P450 - важная группа белков, содержатся преимущественно в клетках печени и выполняют функцию детоксикации экзогенных органических соединений. По типу катализируемых реакций они относятся к оксидазам, а точнее к монооксигеназам, т.к. окисление субстрата происходит с внедрением одного атома кислорода.

В организме человека существует около 2х десятков семейств с 40 подсемействами данных белков. Кончено, их присутствие не ограничено организмом человека – в большом разнообразии цитохромы существуют и у бактерий, растений и других живых организмов.
У человека цитохромы преимущественно содержатся, как упоминалось, в печени. Печень осуществляет в т.ч. детоксификацию экзогенных соединений, что связано с их

химической деструкцией. Кроме того P450 имеет и функции, связанные с нормальными метаболическими процессами организма: гидроксилирование холестерина, биосинтез стероидов, желчных кислот.

Фермент осуществляет реакцию как монооксигеназа, т.е. внедряет один атом кислорода (гидроксилирование). Однако при этом из экзогенного органического соединения может образовываться также токсичное вещество канцероген.

В чем состоит принцип работы CYP? В общем случае представим, что есть субстрат RH. Естественным окислителем являет кислород. Когда образуется первый продукт, то монооксигеназа дает продукт гидроксилирования. В дальнейшем могут получаться другие продукты из спирта, если это была активация активация связи CH и гидроксилирование, но в целом этот путь для многих организмов является источником углерода.

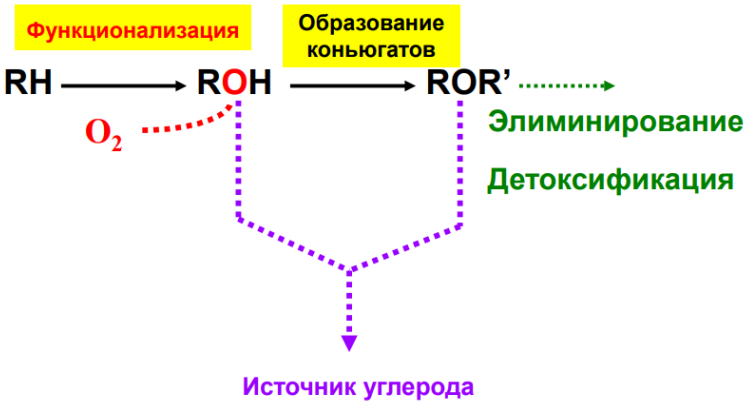


Рис. 5.2 Схема адаптации аэробных организмов к ксенобиотикам

Цитохромы P450 могут осуществлять следующие реакции:

- C, N or S- гидроксилирование или окисление
- дезалкилирование (разрыв C-C связи)
- восстановление
- дегалогенирование

Итак, CYP имеют широкое многообразие субстратов, разнообразие структур самих ферментов, высокая специфичность по субстрату определяется подтипом или типом белка семейства.

Цитохромы P450 содержат только один активный центр – протофорфирин железа. От ранее обсуждавшихся белков отличается наличием гем-тиолатной структуры. Одним из аксиальных лигандов является остаток цистеина (связь железо-сера).

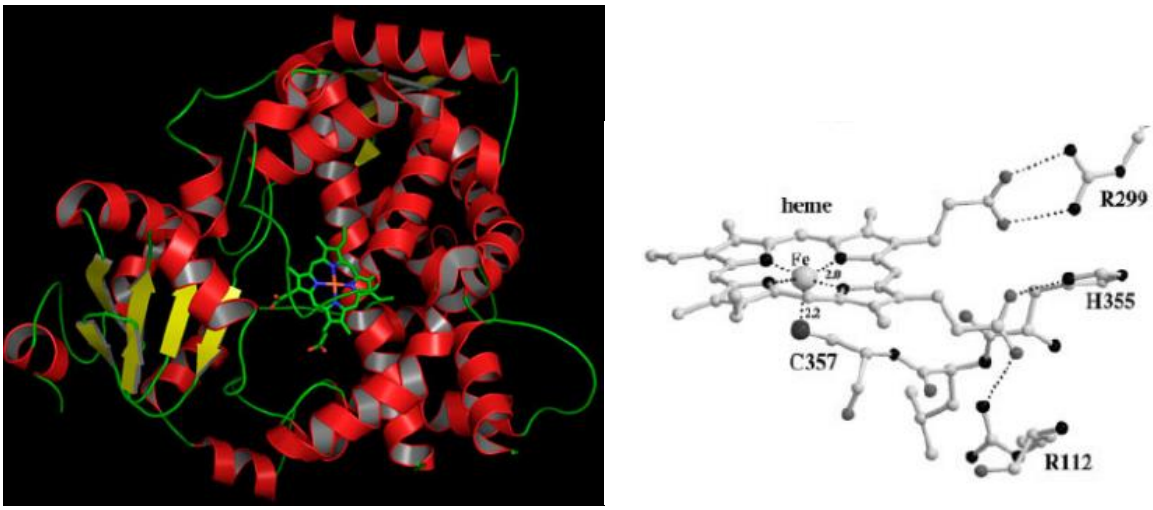


Рис. 5.3 Строение цитохрома P450 и его активного сайта. В центре белка находится протопорфирин железа (на крайней левой картинке изображен зеленым и синим цветом). На правой картинке также выделены пропионатные группы, которые за счет ионных взаимодействий с остатками аминокислот закрепляются и удерживаются в активном центре.

При окислении кислородом в реакции осуществляется стадия переноса электронов и протонов, и требуется присутствие коферментов.

Требуется упомянуть, что существует разночтение в определении терминов кофактор и кофермент. Кофакторами чаще называют просто ионы металлов и даже гемы. Коферменты относятся чаще к низкомолекулярным соединениям.

Цитохромы P450 используют кофермент НАДФ(Н). Также возможно использование в качестве кофермента второго белка цитохрома b5.

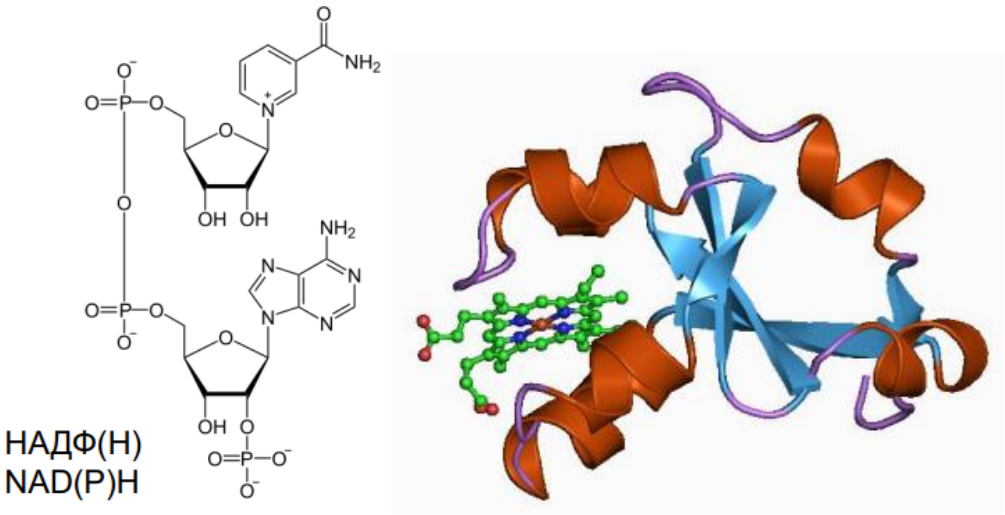


Рис. 5.4 Коферменты P450: НАФД(Н), цитохром b5

Суммарное уравнение реакции, осуществляемой цитохромом:

$$SH + O_2 + NAD(P)H + H^+ \rightarrow SOH + NAD(P)^+ + H_2O$$

Для осуществления реакций любым классам цитохромов P450 необходимы электроны. Донорами электронов изначально являются НАДФ(Н), транспортирующие их через систему, содержащую железо-серный кластер (рис. 5).

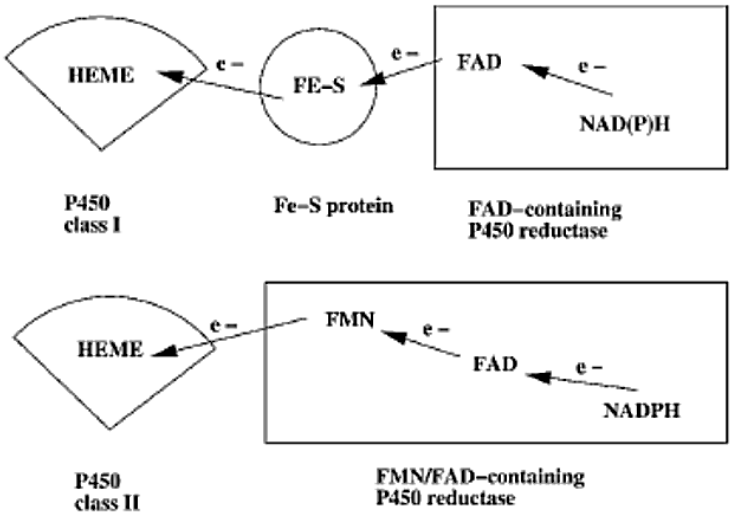


Рис. 5.5 Системы цитохрома P450 классов 1 и 2 (соответственно бактериальная и микросомальная системы)

При осуществлении реакции P450 становится окисленным, следовательно, существует его восстановитель – цитохром P450 редуктаза. Этот белок для редокс превращения заимствует электроны у низкомолекулярного соединения – NADPH.

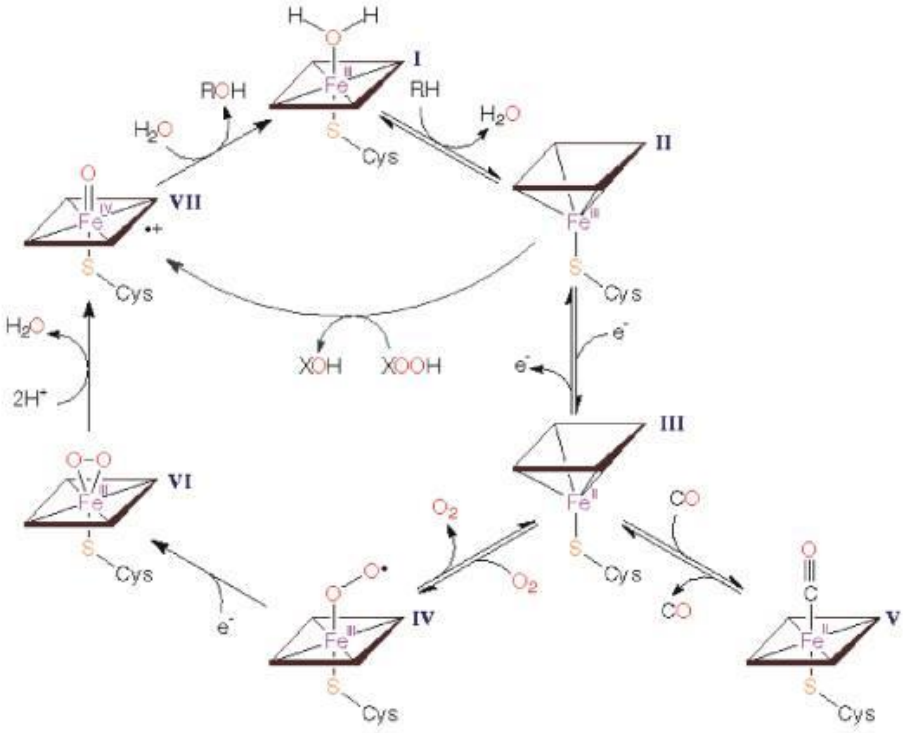


Рис. 5.6 Каталитический цикл P450

Пример проведения реакции: окисление камфоры. P450 окисляет ее, гидроксилируя.

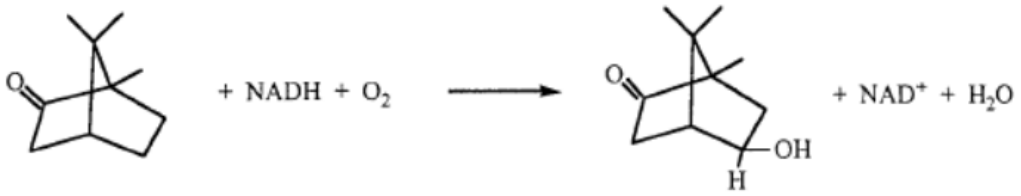


Рис. 5.7 Окисление камфоры

P450 осуществляет различные превращения, связанные с монооксигеназной активностью, оксидазной активностью, разрывом C-C связей, изомеризацией, дегидрогеназной активностью.

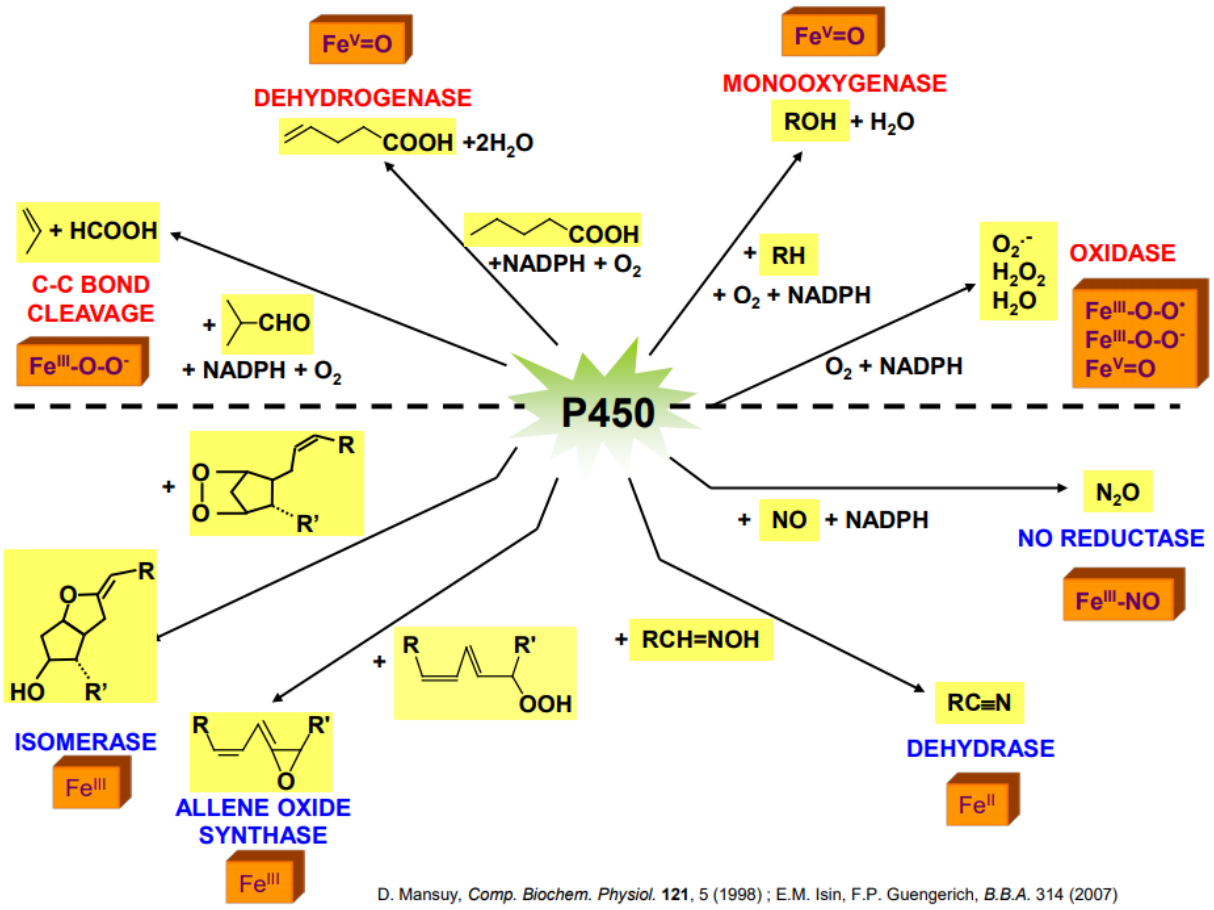


Рис. 5.8 Реакции, осуществляемые P450

Субстраты P450 не являются гидрофильными и расвторимыми, как тогда они попадают к ферменту? P450 часто являются мембраносвязанными белками, так что субстрат, проходя каким либо образом через мембрану, сразу попадает на фермент и окисляется примембранно.

Медь-содержащие белки

Медь-содержащие белки содержат медь в различных состояниях в активном центре. Существует схема транспорта и хранения меди, схожая с таковой для железа

(вспомним трансферрин, ферритин и тд). После попадания в клетку на большая часть меди используется сразу в цитохром С и супероксиддисмутазу.

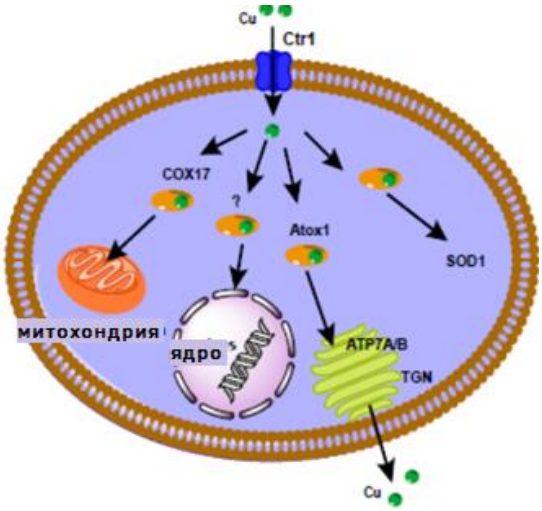


Рис. 5.9 Поступление меди в клетку и ее распределение

Существует три типа медь содержащих белков:

Тип 1 - синие медные протеины. Содержит простой комплекс меди с координационным числом 4. Лигандами являются два гистидина, один цистеин, и ещё один лиганд, обозначенный как R. Этим лигандом может быть метионин (как в азурине, лакказе, пластоцианинах), глутаман (фитоцианины), или вода (церулоплазмин). Примеры различных групп синих медных протеинов:
Малые синие протеины (переносчики электронов): азурин, пластоцианины, фитоцианины, растицианин, аурацианин.
Синие оксидазы (оксидазы): аскорбат оксидаза, лакказа, церулоплазмин.
Нитрит редуктаза (редуктазы).

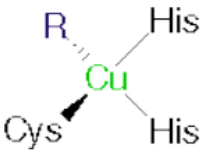


Рис. 5.10 Координационное соединение меди белка 1 типа

Т.к. медь – d-металл, то у нее более выражена склонность к координационному числу пять. Именно поэтому в активных центрах существует, к примеру, остаток глутаминовой кислоты, который является пятым лигандом и помогает образовать структуры вида тригональной бипирамиды.

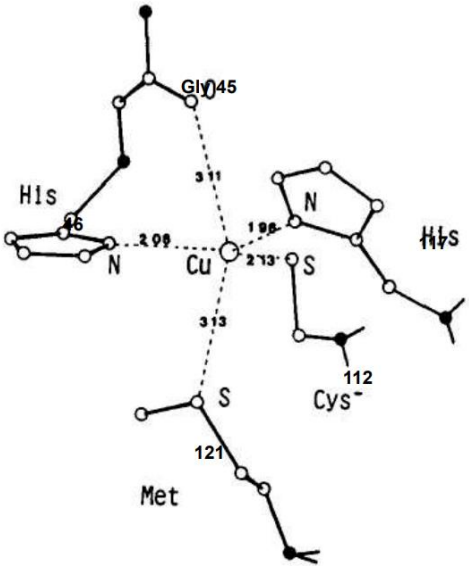


Рис. 5.11 Строение активного центра азурина, иллюстрирующее образование структуры тригональной бипирамиды для комплекса меди.

Тип 2 – медь имеет координационное число пять, лигандами являются аминокислоты с N, O или S-донорами (рис. 5.12, обозначены как L). В основном ферменты являются оксигеназами, моноядерные.
Примеры: Cu,Zncупероксид-дисмутаза, диоксигеназы, монооксигеназы, дофамин ßгидроксилаза, метан монооксигеназа, нитрит редуктаза, «несиние оксидазы», аминоксидаза, галактозоксидаза.

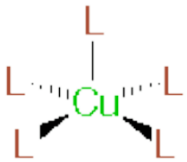


Рис. 5.12 Координационное соединение меди белка 2 типа

Супероксид-дисмутаза.

Содержит два атома металла – 1 атом цинка и 1 атом меди. Осуществляет реакцию диспропорционирования. В составе активного центра имеется остаток гистидина (His63). Формально этот гистидин принадлежит цинку, но осуществляет роль мостикового лиганда с медью (рис 5.13).

Рассмотрим схему катализа. Гистидин рассматривается как мостиковый лиганд, медь находится в степени окисления +2, как и цинк. Частица субстрата попадает в активный сайт, атом меди связывает кислород. Супероксид-анион радикал, связываясь с атомом меди, удерживается в активном сайте водородными связями гуанидина. В результате поступления протона медь восстанавливается до+1, и, как только произошло изменение степени окисления меди, координационные возможности атома меняются, и тогда имидазол мостиковый перестает быть мостиковым лигандом. Таким образом у цинка остается единственный имидазоловый лиганд. Поступает вторая частица

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ МГУ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА
teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

субстрата, медь окисляется до +2 переносом электрона на субстрат, Таким образом получается два продукта: молекулярный кислород, пероксид водорода, и все это обусловлено изменениями степени окисления меди. Для чего нужен цинк? Цинк является структурообразующим и удерживающим сайт, позволяет координировать и отщеплять мостиковый лиганд.

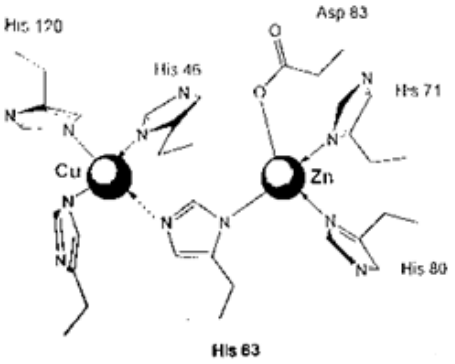


Рис. 5.13 Активный центр супероксид-дисмутазы

Примеры реакций несиних оксидаз:

RR'CHOH → RR'C=O + H2O2 - галактоза оксидаза, имеет моноядерный активный центр, осуществляет катализ окисления спиртов в грибах

RCH2NH2 + O2 + H2O → RCH=O + H2O2 + NH3 - амин оксидаза, имеет моноядерный активный центр, осуществляет катализ окисления аминов до карбонильных соединений

Нитрит редуктаза - комплекс меди в нитрит редуктазе содержит два гистидина, цистеин и метионин.

Тип 3 – у меди бывает двуядерный комплекс, имеет форму полиэдра – тригональной антипризмы, ферменты осуществляют катализ реакций оксигенирования, также отвечают за транспорт кислорода.
Примеры: катехолоксидаза, гемоцианины, тирозиназа.

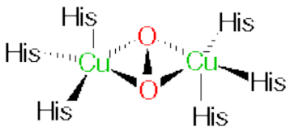


Рис. 5.14 Координационное соединение меди белка 3 типа

Гемоцианин как транспортер

В активном центре гемоцианина два атома меди окружены гистидинами. При соединенная молекула кислорода выступает как мостиковый лиганд. Расстояние между атомами меди составляет ~ 4 Å.

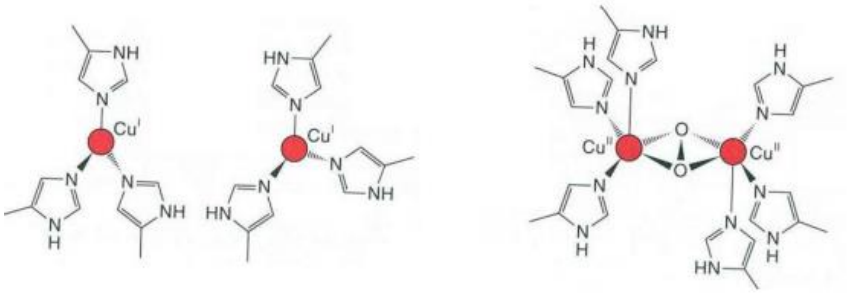
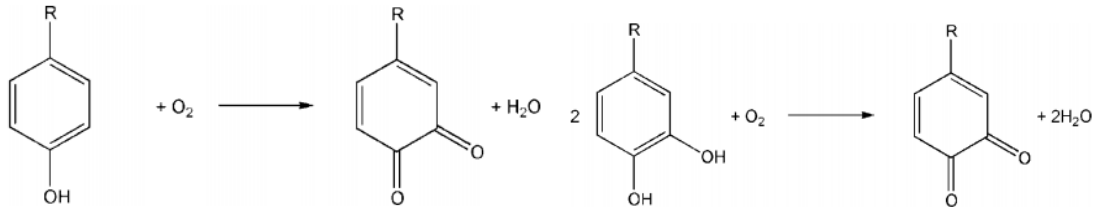


Рис. 5.15 Дезокси- и окси- состояние гемоцианина

Тирозиназа



а) б)

Рис. 5.16 Реакции, осуществляемые тирозиназами. а) крезолазная (монофенолазная) активность б) катехолазная (дифенолазная) активность

Синтез адреналина осуществляется каскадом реакций в клетках коры надпочечников. Синтез адреналина начинается с фенилаланина. Фенилаланин с помощью тирозина гидроксилируется по пара-положению (первая монооксигеназная реакция с участием меди – *фенилаланин-4-монооксигеназа*). Далее опять с участием медного фермента (*тирозин-3-монооксигеназа*) происходит гидроксилирование по соседнему атому углерода – получается фрагмент пирокатехина – ДОФА. *ДОФА-декарбоксилаза* убирает карбоксильную группу, продуктом реакции является дофамин, который окисляется до норадреналина медь-зависимым ферментом (*дофамин-бета-монооксигеназа*). Последним шагом является метилирование норадреналина до адреналина (*норадреналин-N-метилтрансфераза*). Синтез адреналина чаще всего блокируется на стадии получения норадреналина путем ингибирования медь-содержащего фермента.

Тирозиназа окисляет промежуточный продукт получения адреналина – ДОФА – до хинона. Хинон далее окисляется с образованием гетероциклического соединения – индол-хинона, который далее преобразуется в меланин. При нарушении синтеза этого вещества животное становится альбиносом.

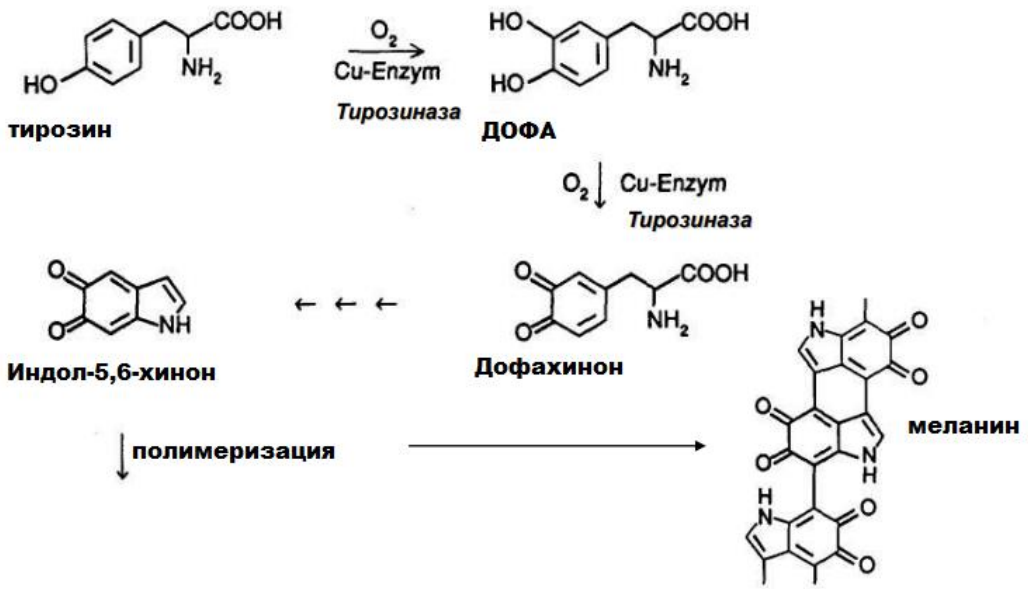


Рис. 5.17 Образование меланина

Тирозиназа, как фермент реакции окисления, активирует молекулярный кислород как окислитель, окисляет субстрат, который является способным координироваться к атому меди. Фенол образует связь медь-кислород, и за счет расположения в активном центре легко проходит оксигенирование.

Цитохром с оксидаза

Цитохром с оксидаза располагается на внутренней стороне мембраны митохондрии и является терминальным ферментом электрон транспортной цепи. Реакция, осуществляемая ферментом:

$$O_2 + 4\ \text{Cytochrom c}\ (Fe^{II}) + 4\ H^+ \xrightarrow{COX} 2\ H_2O + 4\ \text{Cytochrom c}\ (Fe^{III})$$

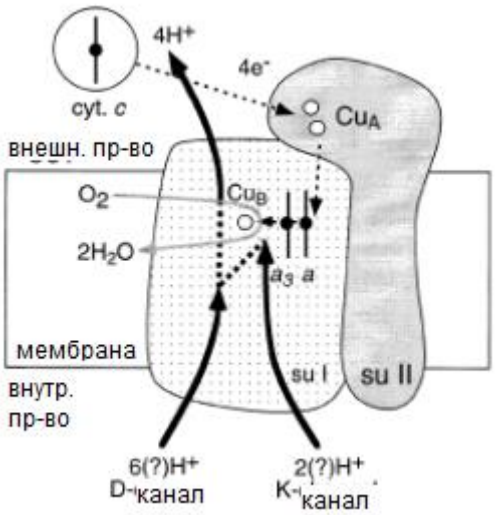


Рис. 5.18 Схема строения цитохром с оксидазы

Этот фермент является большим мультисубъединичным белком и содержит от 4х до 13ти субъединиц у разных организмов. Субъединица I содержит низкоспиновый цитохром а и центр, связывающий кислород, который состоит из высокоспинового цитохрома а3 и центра CuB. Субъединица II содержит биядерный центр CuA, который получает электроны от цитохрома с и передает их на цитохром а и далее на центр, связывающий кислород Субъединица III не содержит металлов, но вместе с субъединицами I и II, образует каталитически активное ядро.

Участники восстановления кислорода до воды (рис. 5.19): гем а (нижний левый), гема а3 (справа) расположен рядом с комплексом меди 1го типа (справа), биядерный комплекс меди (сверху). Также в молекуле содержится атом магний, координирующий воду.

Центр CuA
- биядерный
- координация: 2N(His), 1S(Met), O(амид)(Glu), 2μ-S(Cys) (мостиковые лиганды, стабилизируют комплекс в строго фиксированной позиции)

Центр CuB
- координация: 3N(His)

Цитохром а: координация - 2N(His)
Цитохром а3: координация - N(His)

Цитохром а3 - CuB центр: и гем цитохрома, и комплекс меди имеют вакантные координационные положения для связывания субстрата, возможно в окисленной форме координированный субстрат принимает участие в передаче обменного взаимодействия между а3 и CuB.

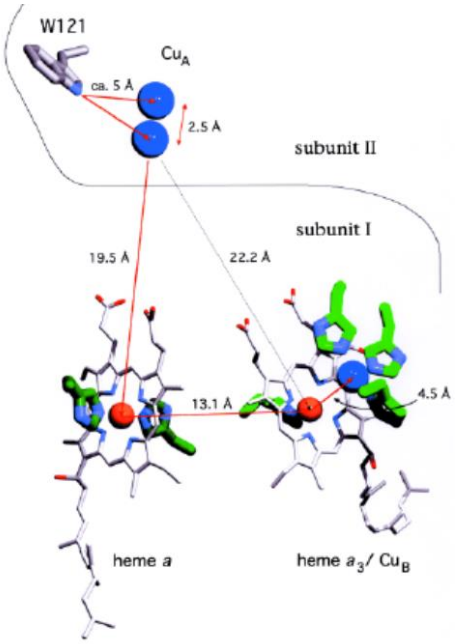


Рис. 5.19 Главные активные центры цитохром С оксидазы

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ МГУ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА
teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

Каждый из этих участков участвует в транспорте электрона, следовательно, происходит изменение степеней окисления металлов (и меди, и железа). Электрон сначала попадает на цитохром с, который является субстратом реакции. Электрон переходит на центр меди CuA, затем на гем в цитохроме а, затем на гем в цитохроме а3, соседним с медным центром CuB, и только затем попадает на кислород.

Рассмотрим каталитический цикл реакции. Железо находится в геме, медь располагается над порфириновым кольцом. При поступлении молекулы кислорода образуется смешанный пироксокомплекс, который включает связи кислорода с железом и с медью. В отличие от переноса кислорода, в данной реакции необходимо разорвать связь кислород-кислород. Комплекс приобретает новое редокс состояние: медь в с.о. +2, железо +3. С поступлением протонов от пула происходит образование интермедиатов: кампаунд 2 - оксокомплекс для гема и пероксид комплекса меди. Далее происходит возвращение в начало каталитического цикла. На стадии разрыва О-О связи донором электронов служит видоизмененный тирозин 187.

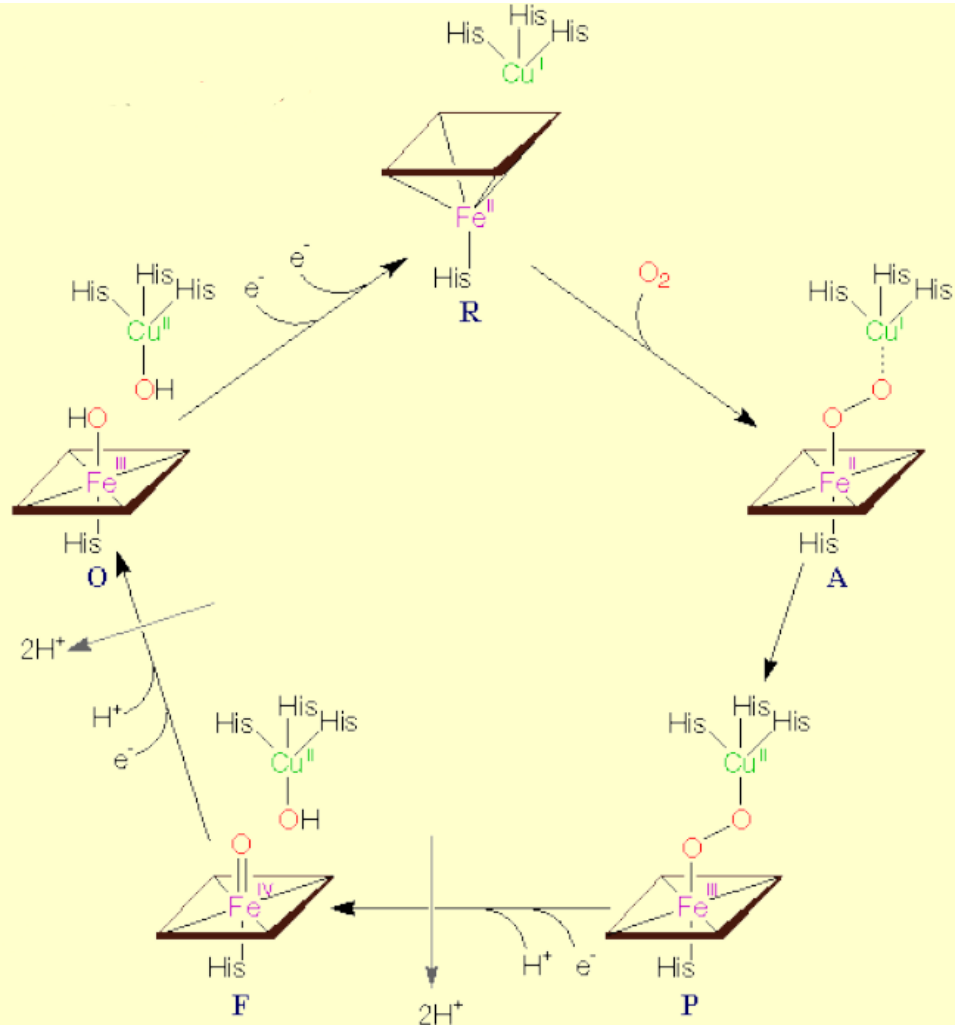


Рис. 5.20 Каталитический цикл реакции восстановления кислорода в цитохром с оксидазе

Лекция 6

Метанмонооксигеназа

В обычных условиях не представляется возможным в одну стадию окислить метан и получить метанол. Так что метиловый спирт получают в ходе сложного технологического процесса из CO и водорода (синтез газ) при температуре, с использованием различных катализаторов (оксиды цинка, хрома и др. металлов).

$CO + 2\ H_2 \rightarrow CH_3OH$

В природе метанотрофные бактерии умеют окислять метан ферментативно, со стопроцентными выходами, без побочных продуктов, при нормальных условиях и с высокими константами скоростей. Фермент, осуществляющий эту реакцию – метанмонооксигеназа. Эта группа ферментов может содержать медь или железо в активном центре. Железо содержит Fe-содержащая растворимая метанмонооксигеназа (sMMO). Медь содержит Cu-содержащая мембраносвязанная метанмонооксигеназа (pMMO; также в белке присутствует цинк). Микроорганизмы получают метан как субстрат, используют его в процессе C1 переноса и получают таким образом углерод.

$CH_4 + O_2 + НАДН + H^+ \rightarrow CH_3OH + H_2O + НАД^+$

В процессе реакции должна произойти активация как связи C-H в субстрате, так и активация O2 как реагента. Связь C-H имеет большую энергию и является прочной и не может быть разорвана без участия фермента.

В состав sMMO входит три белка:

1) MMO гидроксилаза (MMOH) – осуществляет реакцию гидроксилирования, является монооксигеназой. В белке содержатся два активных сайта, каждый из которых содержит по два атома железа.
2) MMO регуляторный белок (MMOB)
3) MMO редуктаза (MMOR) – белок содержит железо-серный кластер 2Fe-2S. Процесс переноса электронов проходит с участием коферментов – НАДН, ФАД

В активном центре MMO гидроксилазы содержится 2 иона Fe(III), расположение которых фиксируется за счет мостиковой группы гидроксид-иона. Остаток глуминовой кислоты в депротонированной форме также является бидентантным мостиковым лигандом и поддерживает геометрическую форму комплекса, а также расстояние между атомами железа. В координационное окружение входят остатки гистидина, остатки глутаминовой кислоты, степень окисления железа +3.
Каталитический цикл: активация кислорода происходит при образовании комплекса с железом (II). Молекула кислорода становится мостиковым лигандом но образует, по сути, пироксильный радикал. Дальнейшее преобразование связей приводит к образованию пероксокомплекса с железом (III). Все происходящие трансформации поддерживаются регуляторным белком. Происходит разрыв связи кислород-кислород, железо приобретает степень окисления +4, осуществляется активация кислорода, и на этой стадии происходит окисление субстрата. Комплекс железа остается в состоянии

связи с гидроксид ионом, и затем работает ММО редуктаза, которая позволяет вернуть железо в степень окисления +2.

Кроме метана, метанмонооксигеназа способна оксигенировать более 50ти различных соединений, в т.ч. линейные алканы. Она реагирует с ними медленнее, чем с метаном, не смотря на менее прочные С-Н связи. В разветвленных алканах окисляется наиболее удаленная от разветвления часть молекулы – это говорит о том, что ведущим фактором в реакциях ММО является не прочность атакуемой связи, а организация активного центра и его взаимодействие с молекулой. Ферменты типа ММО могут осуществлять дегидрогеназную деятельность. При окислении этилбензола образуется смесь фенилэтанола, этилфенола, стирола и эпоксида стирола (стирол является продуктом дегидрирования, эпоксид - продуктом дальнейшего окисления). Предполагается, что продукты дегидрирования образуются при депротонировании катионного интермедиата субстрата, который образуется при одноэлектронном окислении радикального интермедиата либо при дегидратации протонированного спирта.

Кобальт

Кобальт-зависимый фермент – **аденозилкобаламин-зависимая мутаза** – катализирует перегруппировки углеродного скелета и приводит к обратимым превращениям субстратов с разветвленной цепью в соединения с прямой цепью. Реакция сопровождается разрывом связи С-С и осуществляется при помощи кофермента кобальта в виде витамина В12 (аденозилкобаламин).

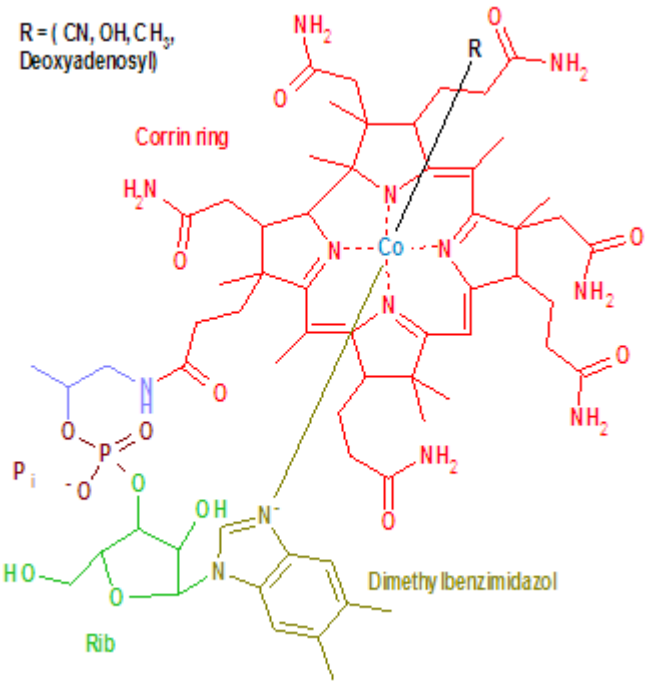


Рис. 6.1 Аденозилкобаламин

Кориновый комплекс кобальта отличается от гема тем, что у него отсутствует четвертый атом мезоуглерода, есть насыщенные кольца. Комплекс является плоским. Шестым аксиальным легинадом к кобальту (рис. 6.1, R) может выступать вода, цианид анион, метильная группа.

Радикальный механизм действия аденозилкобаламин-зависимой мутазы:

1. Кофактор является источником радикала 5’дезоксиаденозила
2. Катализ инициируется субстрат-индуцированным гемолизом связи Co-C, что приводит к изменению степени окисления металла (Co2+) и образованию радикала 5’дезоксиаденозила
3. Радикал 5’-дезоксиаденозил отрывает атом водорода от связанного субстрата, образуя 5’ – дезоксиаденозин, связанный с белком и радикал субстрата
4. Перегруппировка радикала субстрата приводит к радикалу продукта
5. Радикал продукта отрывает атом водорода от CH3 группы 5’ – дзоксиаденозина, это приводит к образованию продукта и радикала 5’ – дезоксиаденозила
6. Радикал 5’ – дезоксиаденозил вступает в реакцию с рекомбинации с восстановленным кофактором

Молибден

Табл. 1 Наиболее известные молибден-содержащие ферменты

Фермент	**Состав**
Ксантиноксидаза	2 Mo, 8 Fe, 8 S, 2 ФАД
Ксантиндегидрогеназа	2 Mo, 8 Fe, 8 S, 2 ФАД
Альдегидоксидаза	2 Mo, 8 Fe, 8 S, 2 ФАД
Сульфитоксидаза	2 Mo, 2 гема
Нитратредуктаза	2 Mo, 24 Fe, 22 S
Нитрогеназа	1-2 Mo, cyt b, ФАД

Ксантиноксидаза

Молибден-содержащая оксидоредуктаза, фермент, катализирующий окисление гипоксантина в ксантин и ксантина в мочевую кислоту:

- гипоксантин + O2 + H2O <-> ксантин + H2O2
- ксантин + O2 + H2O <-> мочевая кислота + H2O2

Мочевая кислота – конечный продукт обмена пуринов, ее отложение в виде кристаллов урата натрия в суставах приводит к болезни – подагре.

В результате деятельности фермента генерируется пероксид-анион радикал.

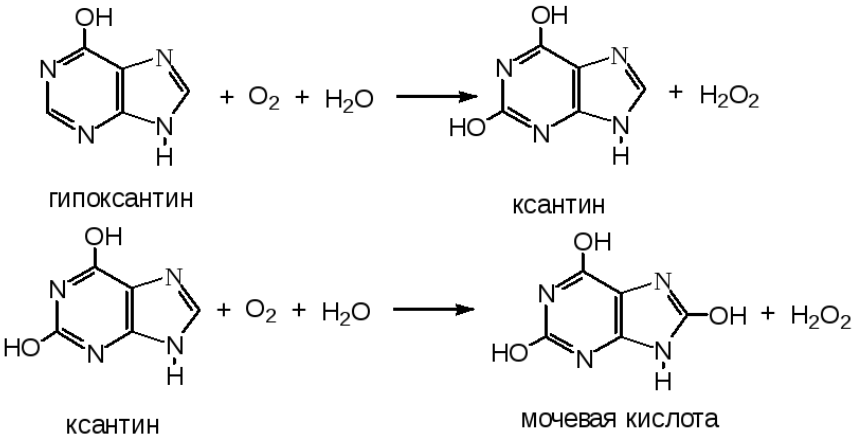


Рис. 6.1 Реакции ксантиноксидазы

Нитрогеназа

Фиксация азота при помощи нитрогеназы осуществляется при комнатной температуре и нормальном давлении, в отличие от промышленного способа, требующего высокой температуры и 400 атм. Нитрогеназа используется бактериями, фиксирующими азот.
Тройная связь азот-азот является самой прочной, наибольшей по энергии.

Табл. 2 Характеристики связи молекулы азота

Характеристики молекул	N_2
$E_д$, кДж/моль	941,6
Длина связи, Å	1,097

В нитрогеназе есть два типа комплексов, содержащих металл: P – кластеры, содержащие железо, и FeMo- кофакторы.

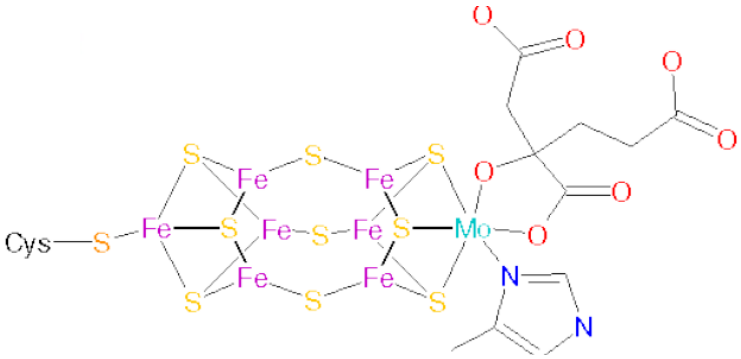


Рис. 6.2 Строение MoFe-кофактора. Присутствуют мостиковые атомы серы, концевой атом железа связан с остатком цистеина, вторая вершина кластера замыкается атомом молибдена, связанным с гистидином и карбоксильной группой.

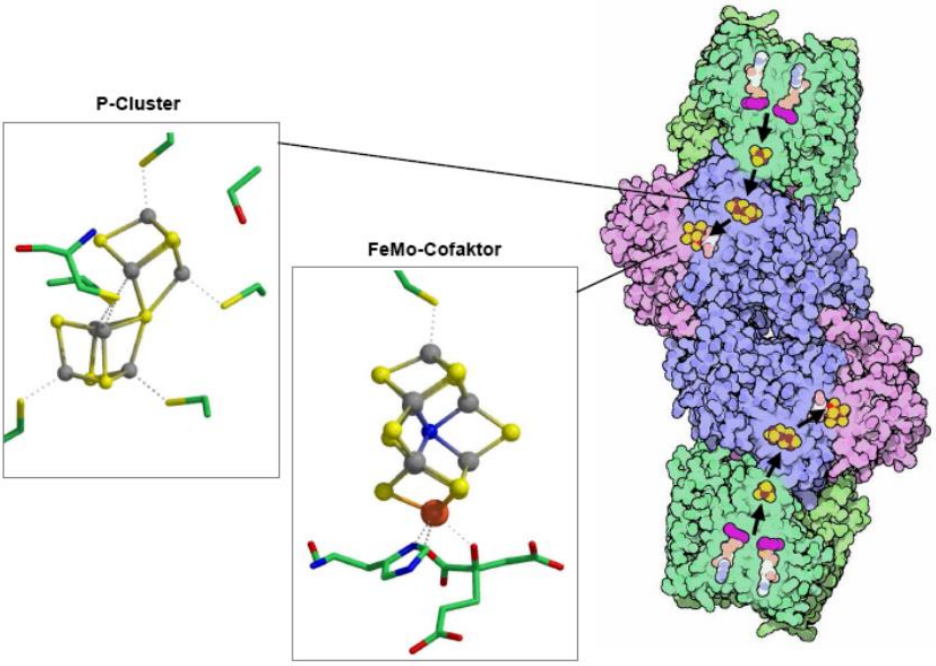


Рис. 6.3 Общее строение нитрогеназы и структуры металл-содержащих комплексов

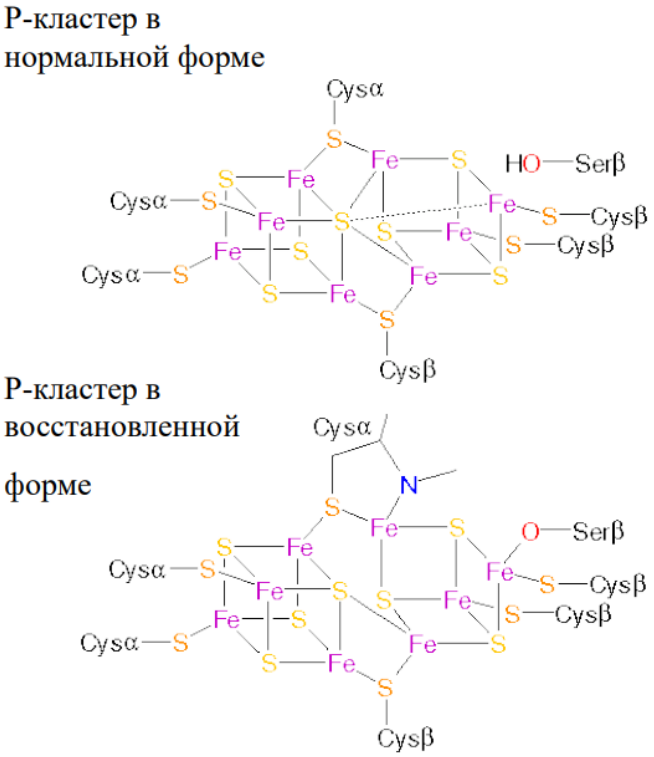


Рис. 6.4 Строение P-кластера

Наиболее интересующим нас являются два тома железа в MoFe-кофакторе с расстоянием в ~ 2,5 Å. Сейчас предполагается, что реакция начинается с взаимодействия N2 с этими двумя атомами железа (рис. 6.5).

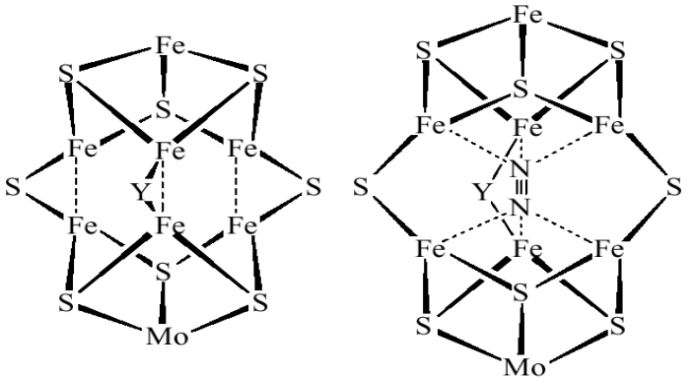


Рис. 6.5 Присоединение N2 к кофактору

Реакция нитрогеназы:

$N_2 + 8e + 8H^+ + 16MgАТФ \rightarrow 2NH_3 + H_2 + 16MgАДФ + 16PO_4^{3-}$

- восстановление Fe-белка (со степенью окисление +3) донорами электронов
- перенос электронов с восстановленного Fe-белка на MoFe-белок
- перенос электронов с MoFe системы на молекулу N2

Также нитрогеназа способна к восстановлению не только молекулы азоты, но и других веществ:

$N_2 \rightarrow NH_3$
$N_2O \rightarrow N_2 + H_2O$
$N_3 \rightarrow NH_3 + N_2$
$CN \rightarrow CH_4 + NH_3$
$CH_3NC \rightarrow CH_3NH_2 + CH_4$ и тд

Никель

Оксид углерода дегидрогеназа

Реакция: $CO + H_2O + A \rightarrow CO_2 + AH_2$

Содержит [Ni(Fe3-4S)] и [4Fe-4S]. [Ni(Fe3-4S)] – смешанный кластер, является гетероядерным, имеет 1 атом никеля и 3-4, в зависимости от типа белка, атомов железа. Железо-серный кластер служит донором электронов в окислительно восстановительном процессе.

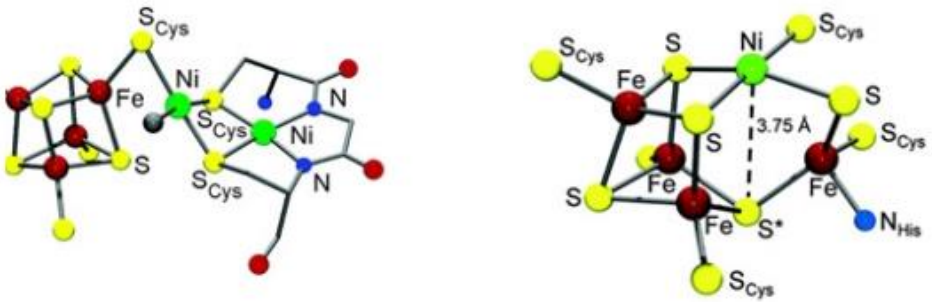


Рис. 6.6 Виды кластеров, содержащих железо и никель (A- и C- кластер)

Уреаза

Реакция: (NH2)2CO + H2O → CO2 + 2NH3

В активном сайте уреазы содержится два атома никеля с расстоянием между ними в ~ 3,5 Å. Мостиковым лигандом является гидроксид-ион. Субстратом является мочевина. Механизм на данный момент доподлинно неизвестен, существуют два предполагаемых пути активации субстрата.

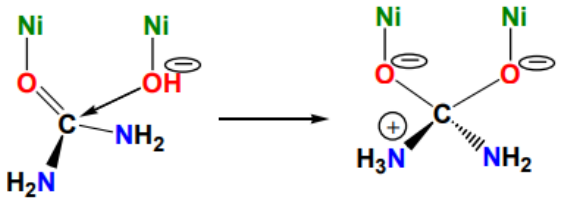


Рис. 6.7 1й вариант: молекула мочевины связывается с одним атомом никеля по атому кислорода карбонильной группы. В итоге расположение OH группы и молекулы мочевины создает идеальные условия для атаки нуклеофилом OH атома углерода мочевины.

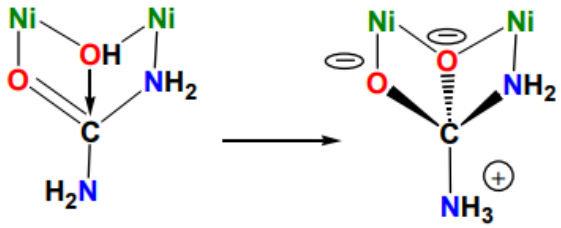


Рис. 6.8 2й вариант: субстрат координируется за счет атома кислорода карбонильной группы и атома азота аминогруппы, гидроксид ион не затрагивается. Нуклеофил OH атакует атом углерода мочевины.

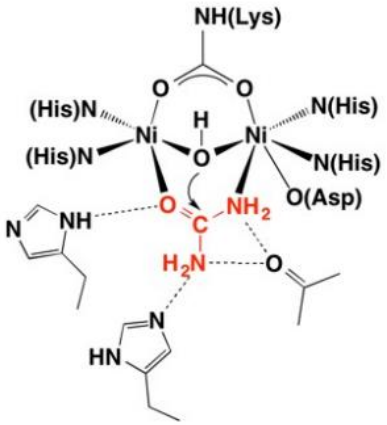
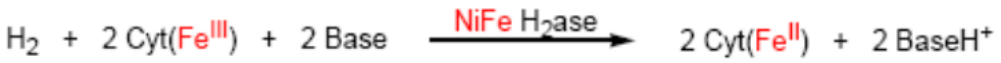


Рис. 6.9 Строение активного сайта уреазы

Никель также интересен тем, что входит в состав гидрогеназ и действует совместно с железом. С точки зрения окислительно восстановительного процесса речь идет об окислении молекулярного водорода с образованием протонов, либо восстановление протонов с образованием молекулярного водорода – это зависит от

типа организма (аэробные и анаэробные соответственно). В активных центрах этих ферментов донором электрона является не атом железа, а атом никеля.

Реакция:



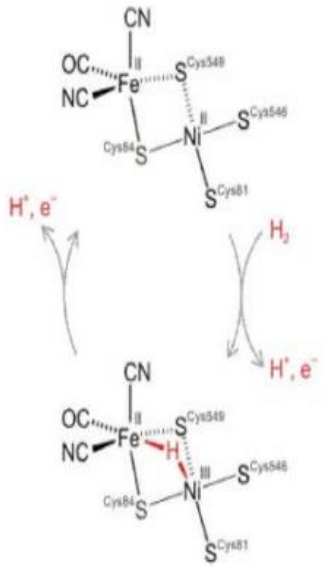


Рис. 6.10 Строение активного центра и происходящая в нем реакция гигдрогеназ с содержанием никеля

Существует ряд ингибиторов, способных блокировать активные центры гидрогеназ, например – CO, т.к. получение карбонильное соединения препятствует проведению реакции.

Марганец

Марганец – достаточно часто встречающийся металл, один из примеров марганец содержащих ферментов – супероксид дисмутаза, аргиназа.

Аргиназа

Реакция: аргинин + H2O → орнитин + мочевина

В каждой субъединице содержится по два атома марганца. Субстратом является аргинин. Марганец входит в состав активного центра (рис. 11) в виде биядерного комплекса, где каждый из атомов имеет степень окисления +2. Биядерный центр марганца необходим для повышения кислотности координированной молекулы H2O. Мостиковый анион OH- стабилен при pH=7,5 и является нуклеофилом.

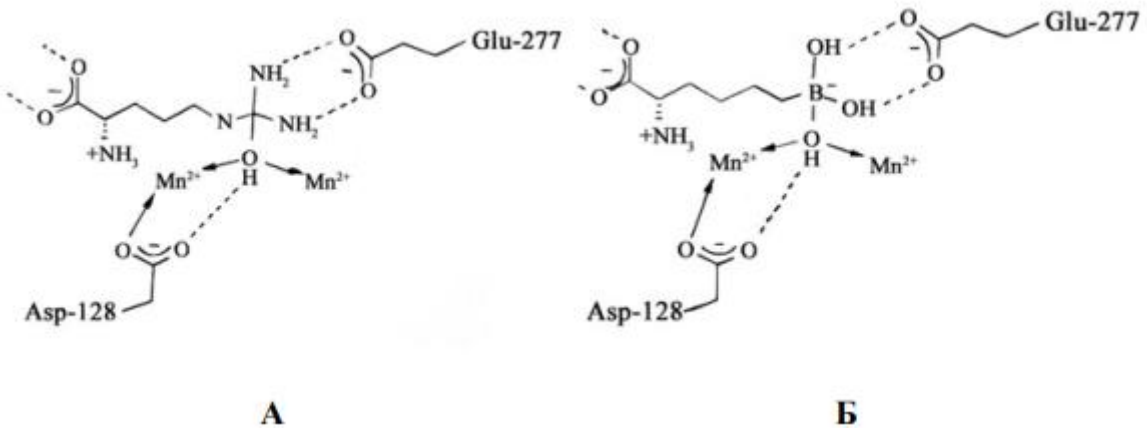


Рис. 6.11 А. Предполагаемое промежуточное соединение, образующееся при гиролизе аргинина аргиназой в результате нуклеофильной атаки связанного с металлом иона гидроксида на гуанидиновый углерод аргинина.
Б. Предполагаемое промежуточное соединение, образующееся при взаимодействии аналога аргинина АВН в гидратированной форме с активным центром аргиназы.

Ванадий

Галопероксидазы

Реакция: $H_2O_2 + X^- + H^+ \rightarrow H_2O + HOX$

X = Cl, Br, I, соответственно это хлоро (CPO) - , бромо (BPO) - , иодо (IPO) – пероксидазы.

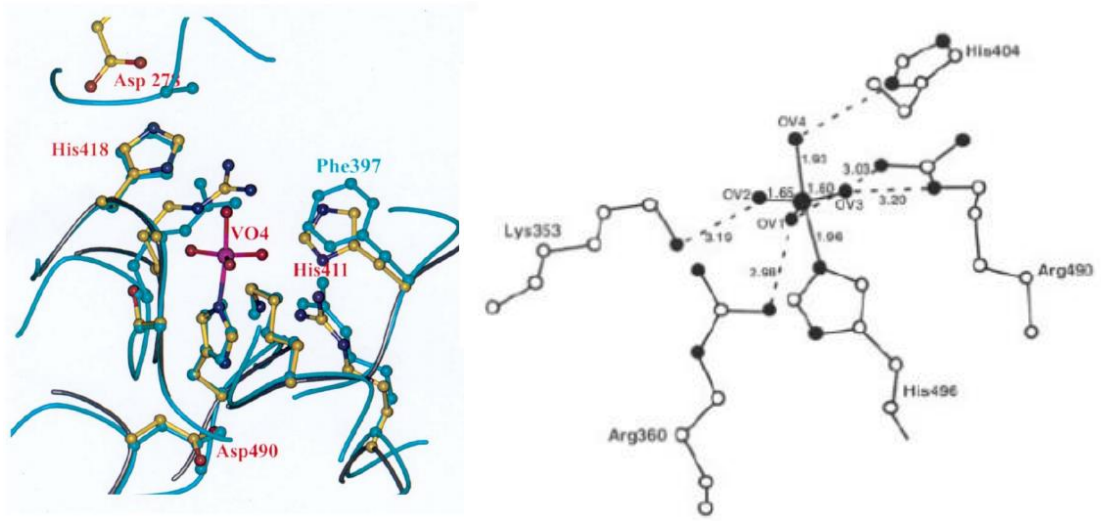


Рис. 6.12 Строение активного сайта галопероксидаз с ванадием в составе (данные рентгеноструктурного анализа). Содержит в активном центре тригонально бипирамидально координированные имидазолы гистидинов и атомы ванадия в степени окисления +5.

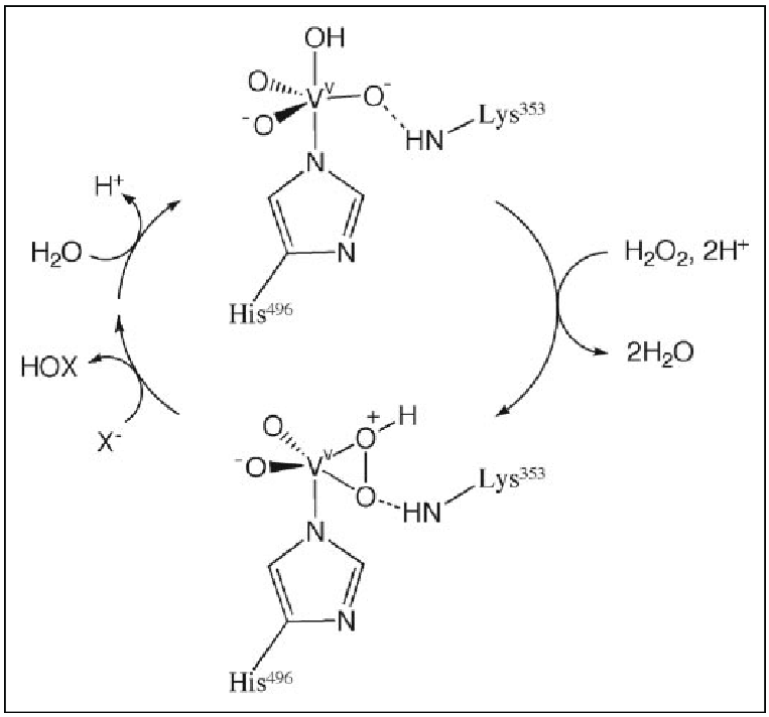


Рис. 6.13 Упрощенная схема каталитического цикла хлороперoксидазы, основанная на кристаллических структурах нативного фермента и пероксопродукта. Предполагается, что активированный пероксоатом, который реагирует с галогенидом, имеет положительный заряд. В ходе цикла не наблюдается изменения степени окисления ванадия (+5).

Лекция 7

Металлы и их соединения в медицине

Последняя лекция в курсе бионеорганической химии посвящена применению металлов в медицине. Применение металлов и их соединений в медицине не ограничивается лекарственными препаратами, в составе которых есть атом металла, существуют и иные аспекты применения металлов. Так металлы изучаются в ядерной медицине, в направлении наук о материалах.

В данной таблице (рис. 7.1) проиллюстрировано разнообразие элементов и их отношение к медицине. Относящиеся к жизненно необходимым элементы периодической системы выделены белым цветом, зелёная окраска - это радиоактивные изотопы, которые используются в ядерной медицине, синие символы относятся к тем элементам, что содержатся в лекарственных индивидуальных соединениях, оранжевым цветом окрашены те элементы, которые входят в состав диагностических средств. Большое количество веществ и соединений сейчас находятся на какой-то стадии клинических испытаний, то есть в разработке. Сам факт создания молекулы ещё не является путем к лекарственному препарату, если молекулы не дошла до стадии клинических испытаний и не прошла их полностью.

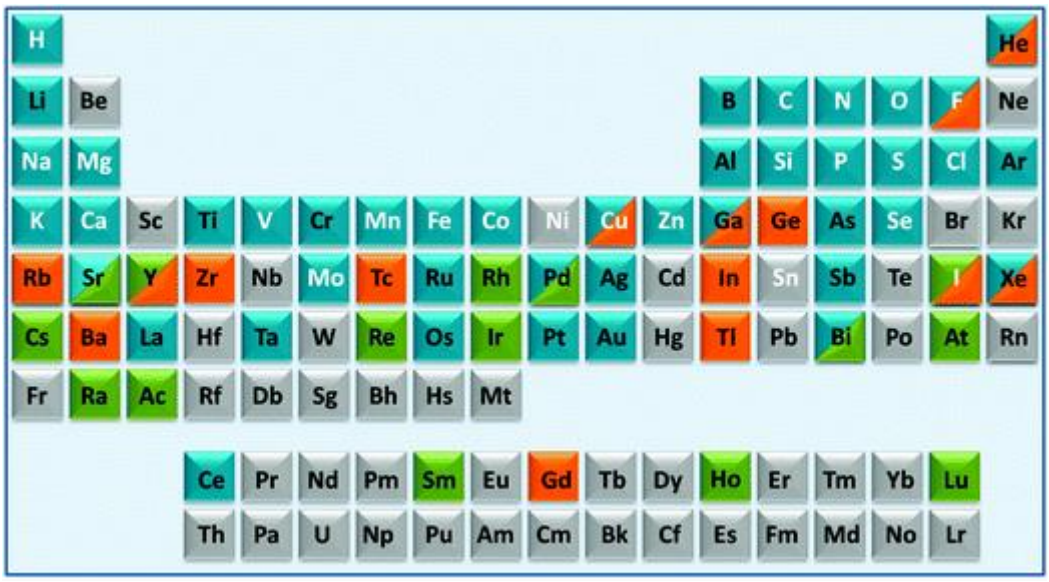


Рис. 7.1 «Медицинская» периодическая таблица, см разъяснения в тексте

Щелочные металлы

В 19м веке стало известно, что соли **лития** действовали как лекарство против подагры. Их используют для лечения биполярных растройств, маниакальной депрессии. Используются в виде карбоната лития (Lithicarb), соли лимонной кислоты (Lithotabs). Li является антагонистом натрия, а именно он изменяет транспорт натрия в нейронах, а также ингибирует протеинкиназы и фосфомоноэстеразы. Препараты лития - нормотимики, нормотимические средства, («стабилизаторы настроения» - mood stabilizers) — группа психотропных препаратов, основным свойством которых является способность стабилизировать настроение, прежде всего у

больных аффективными расстройствами, полностью предотвращать или смягчать рецидивы аффективных расстройств, тормозить прогрессирование болезни. Препараты лития были одобрены FDA в 1972 году и применяются в 50% случаев лечения биполярных расстройств.

Хлориды **натрия** и **калия** давно используются как растворы для инъекций. Калий входит в состав отдельно взятых витаминов, которые часто содержат калий и магний.

Цезий положил основу радиотерапии. В источник опухоли точно и локально можно направить источник излучения. Кюри-Терапия (Дистанционная - Telecurietherapy) - вид лучевой терапии, при которой источник воздействующего на организм человека излучения находится на некотором расстоянии от больного. Первоначально в качестве источника излучения использовался радий; в настоящее время для этой цели применяются искусственные радиоактивные изотопы (например, 137Cs или 60Co).

Рис. 7.2 Иллюстрация терапии рака груди, применявшаяся в 20м веке с помощью излучения цезия.

Mg, Ca, Sr, Ba

Магний присутствует в хлорофилле (большой макроцикл хлорин с магнием), играет крайне важную роль в фотосинтезе и, соответственно, в функционировании биосферы. Также магний – распространенный препарат, применяется в виже оксида и солей (магния оксид, карбонат, основной карбонат, сульфат, цитрат, ионы металлы лучше включаются в метаболизм при связывании с органическими кислотами). Цитрат магния имеет антацидное действие, способствует усилению перистальтики кишечника. Сульфат имеет успокаивающее (Магний В6 форте и тд), противосудорожное, желчегонное, слабительное действие. Магний является антагонистом кальция: мешает накоплению ибытка кальция в митохондриях, что

Рис. 3 Пример препарата магния

что снижает разобщение синтеза АТФ. Также магний является антагонистом NMDA рецептора, он ингибирует высвобождение глутамата. Суточная потребность в магние может удовлетворяться попаданием с пищей, но также существуют витамины с магнием.

Недостаток **кальция** вызывает проблемы с костной тканью. Одним из препаратов кальция является КАЛЬЦИЙ-Д3 никомед форте. Комбинированный препарат, регулятор обмена Ca и P. Применяется для профилактики и лечения остеопороза , переломов костей, для восполнения дефицита Ca и витамина D3

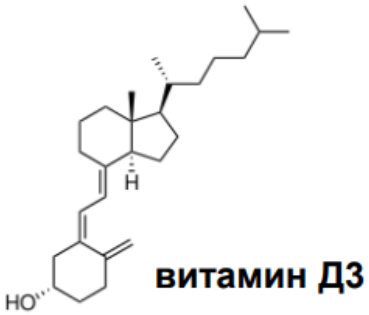


Рис. 7.4 Витамин Д3 в составе препарата КАЛЬЦИЙ-Д3 никомед форте

Крайне распространенным является раствор хлорида кальция. Ca участвует в процессе свертывания крови, способствует превращению протромбина в тромбин.

Стронций входит в состав зубных паст. Также этот металл считается радиоактивным с периодом полураспада 28,9 лет и применяется в качестве аппликаторов в медицине при лечении кожных и глазных болезней. Надо отметить, что стронций не входит в состав индивидуальных лекарственных молекул.

Сульфат **бария** используется для рентгеновской диагностики. Взвесь сульфата бария в воде нерастворима и видна на рентгеновском снимке, что используется при исследовании пищеварительного тракта на предмет нарушения оболочки тракта и тд.

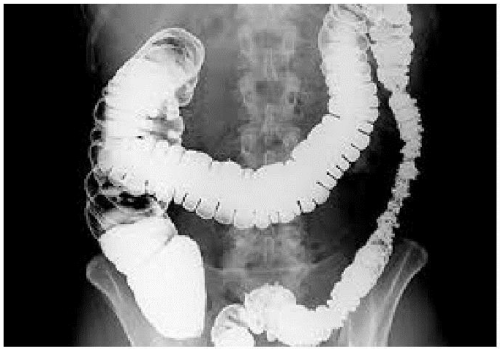
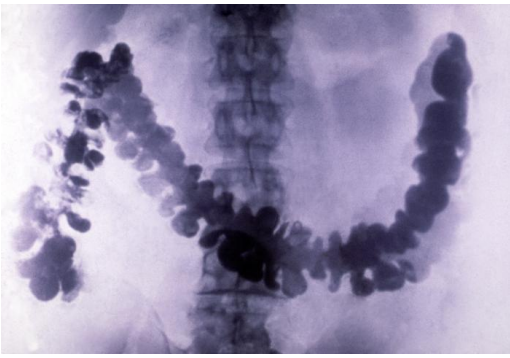



Рис. 7.5 Контрастирование сульфатом бария при рентгене

B, Al, Ga, In, Tl

Бор выпускается в составе препарата Tri-Boron Plus в виде цитрата и аспартата бора. Tri-Boron Plus необходим для развития крепких костей, зубов, также

предотвращает мышечные спазмы, уменьшает риск развития рака толстой кишки, поддерживает регулярное сердцебиение, защищает от остеопороза и помогает расслабить центральную нервную систему.

Несколько десятилетий назад был создан метод боронейтронозахватной терапии рака(БНЗТ) (рис. 7.6). Метод основан на том, что можно локально уничтожить опухолевое образование, используя изотоп бора10, который при действии нейтронов претерпевает ядерный распад конкретно в том участке, где располагается опухоль.

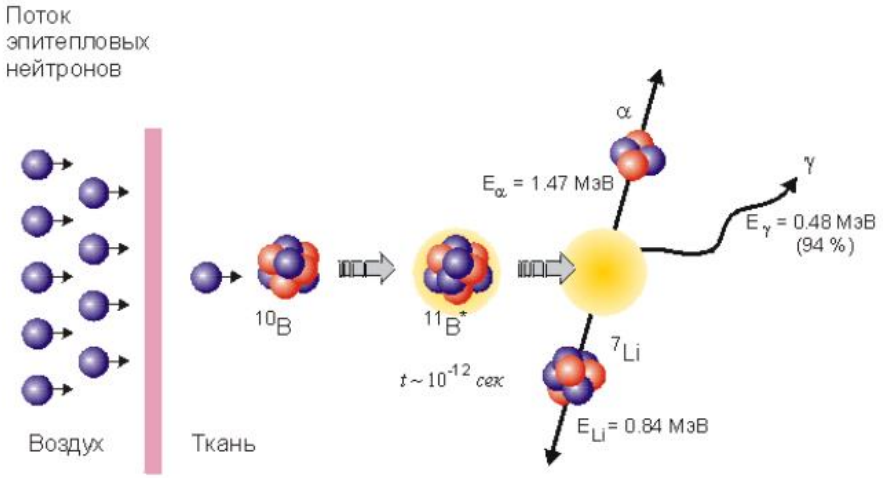


Рис. 7.6 Основы метода боронейтронозахватной терапии

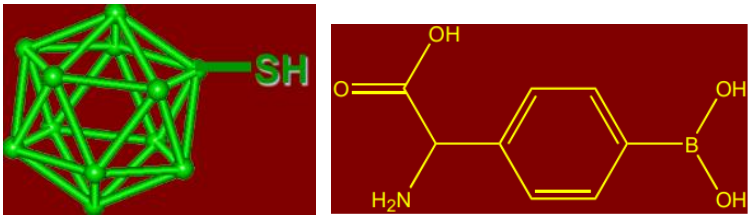


Рис. 7.7 Соединения, применяемые в БНЗТ. Na2[$B_{12}H_{11}SH]^{2-}$ (BSH) и 10B-o,m,p-boronophenylalanine (BPA).

Алюминий (гидрооксись алюминия; пример препарата – Альмагель, Гастал) входит в состав лекарств от язвы желудка, гастрита и тд. Фосфат алюминия обладает противоязвенным, адсорбирующим, обволакивающим действием. Силикат алюминия применяется в виде присыпок, мазей и паст при лечении кожных заболеваний.

Галий не встречается в норме в организме, является ксенобиотиком. Было выяснено, что он может служить для диагностики костных опухолей. Нитрат галия активен против некоторых видом опухолей, и в 80х годах прошлого века был одобрен в качестве лекарственного средства, но затем вскоре был выведен с рынка после обнаружения серьезных долгосрочных побочных эффектов. На данный момент соединения с галием проверяются на стадии клинических испытаний.

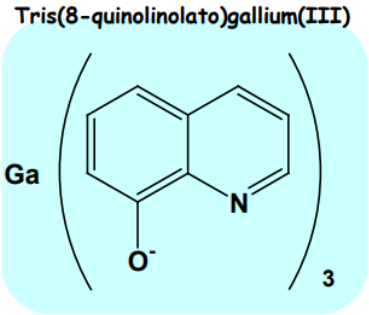


Рис. 7.8 Препарат галия КР46.

Индий используется в ядерной медицины в качестве раствора изотопа 111InCl3. Было показано, что хлорид индия попадает в участке тела, где наблюдается воспалительный процесс. В образец крови пациента добавляется раствор хлорида индия, кровь вводится пациенту. В течение некоторого времени индий оседает в очагах воспаления, которые теперь можно диагностировать.

Талий является сильнодействующим отравляющим веществом. Смертельная для человека доза таллия составляет 600 мг. Таллий поражает нервную систему, легкие, сердце, печень и почки. Симптомами отравления являются выпадение волос и расстройство желудка и кишечника. При тяжелом отравлении у больных могут развиться полиневриты, психические расстройства и поражения зрения. Ранее в малых дозах применялся для профилактики и лечения туберкулеза, дизентерии. Механизм токсичности не установлен. Предполагается, что токсичность таллия связана с нарушением баланса ионов натрия и калия, ингибированием белков за счет связывания с SH группами цистеина, влиянием на митохондриальный потенциал и выпуском цитохрома С.

Si, Ge, Sn, Pb

Кремний используется в виде полисилоксанов (рис. 9)в таких областях как пластическая хирургия для имплантантов, шунтов и катетеров, а также в виде силиконовых жидкостей как анти-коагулянты. Связь кремний кислород очень стабильна, а органические группы в составе формулы дают возможность варьировать свойства материала.
Силирование (включение O-Si связи) молекул, например гормонов, защищает молекулу и увеличивает для нее проницаемость мембраны.

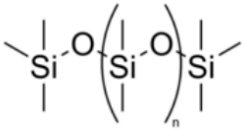


Рис. 7.9 Формула полисилоксана

Соединения **германия** ([(HOOCCH2CH2Ge)2O3]n) имеют противовирусное, иммуностимулирующее, гепатопротекторное действие. Propagermanium (Serocion) производится в Японии. Ранее добавки германия в пищу применяли для стимуляции поглощения железа и продукции гемоглобина.

В 2004 году на рынок был выведен препарат **олова** – Пурлитин (Purlytin Rostaporfin, этиопурпурин олова). Он имеет свойства сенсибилизатора, применяется при возрастной офтальмоологической дегенерации. Также возможно применении в фотодинамической терапии рака.

Рис. 7.10 Пурлитин

Другие соединения олова, применяющиеся в терапии онкологических заболеваний:

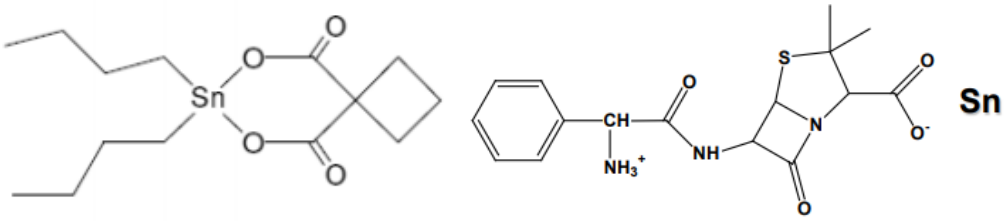


Рис. 7.11 Аналог карбоплатина и Пенициллин G (pen G)

Свинец в степени окисления +2 может замещать цинк в цинк-зависимых ферментах, блокируя их метаболизм. Мишенями действия Pb являются ферменты, участвующие в биосинтезе гема, антиоксидантные системы (супероксид дисмутаза, каталаза, глутатион пероксидаза, глюкоза-6-фосфат дегидрогеназа и глутатион GSH). На протяжении нескольких поколений ранее использовались свинцовые «примочки» для лечения ссадин, воспалительных процессов кожи тд.

N, P, As, Sb, Bi

Некоторые неорганические соединения с **мышьяком** тормозят окислительные процессы в организме, усиливают кроветворение. Он назначается при некоторых кожных заболеваниях. Суточная потребность мышьяка составляет 12-15 мкг. Некоторые соединения мышьяка: аминарсон, осарсол (антипротозойные средства), миарсенол (против сифилиса, тифа, малярии), новарсенол (против спирохетозов). Сальварсан (также известен как «препарат 606» и арсфенами́н) — лекарство от сифилиса, созданное химиком Паулем Эрлихом; число 606 — номер в перечне мышьяхсодержащих соединений заданного типа, синтезированных и испробованных Эрлихом в качестве противосифилитического средства.

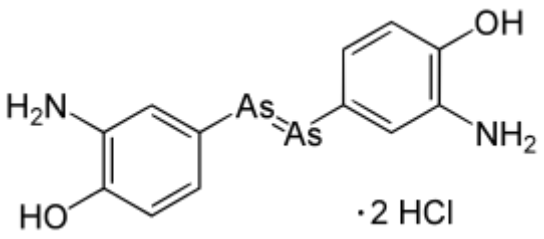


Рис. 7.12 Сальварсан

Сурьма входит в состав противопротозойных средств (против малярии, лейшманиоза, трипаносомоза, амебиоза и тд). Примеры препаратов: Antimonium crudum и Antimonium tartaricum.

Висмута субнитрат, салицилат, трикалия дицитрат используются в качестве антисептических и дезинфицирующих средств. Денол, трибимол, десмол, телен, пилорид и тд – применяются при язвенных болезнях желудка и кишечника.

Препараты на основе **титана** так и не были до сих пор выпущены на рынок. Однако титан используется в составе сплавов для различных протезов, портов катетеров и биокерамики на основе $K_2Ti_6O_{13}$. **Цирконий** и **гафний** не имеют лекарств, созданных на их основе, но входят в состав различных медицинских материалов.

V, Nb, Ta, Cr

Соединения **ванадия** изучаются как миметики инсулина. Соединения ванадия действуют на рецепторы инсулина. Наибольшей перспективностью обладает следующий комплекс:

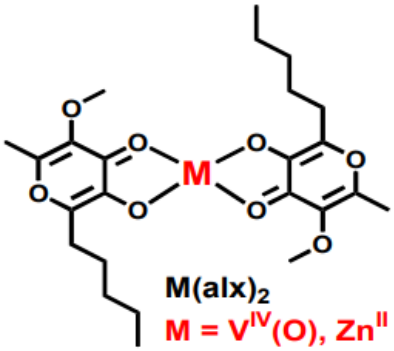


Рис. 7.13 Комплекс ванадила с алликсином в качестве лигандов

Ниобий и **тантал** применяются в костной и пластической восстановительной хирургии. Из тантала создаются крайне тонкие, соответствующие всем правилам биосовместимости пластинки для коррекции повреждений черепа. Металлические нити используются для сшивания сухожилий, сосудов, нервов, мышц.

В организме существует глюкозо толерантный фактор. **Хром**, поступая извне в с.о. +3, участвует в метаболизме углеводов, регулируя транспорт глюкозы. Хром вызывает антиатеросклеротическое, ранозаживляющее и язвозаживляющее,

улучшающее метаболизм миокарда и метаболизм нервной ткани действие. При этом хром в состояние с.о. +6 является крайне токсичным и канцерогенным элементом.

Ферроцерон – нетоксичный препарат с **железом** для лечения железодефицитной анемии.

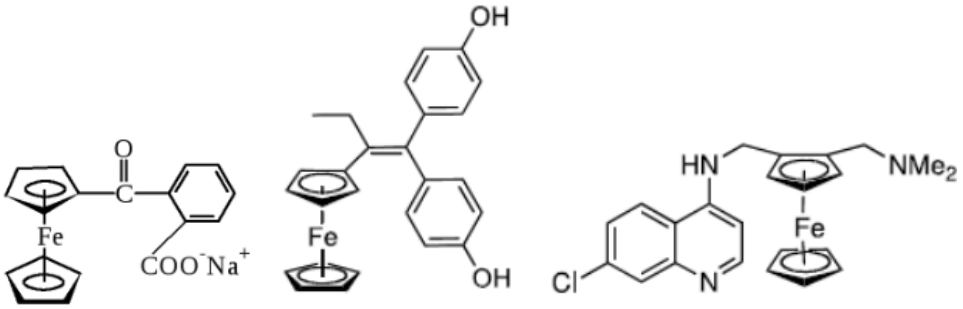


Рис. 7.14 Ферроцерон, ферросифен (противоопухолевый), ferroquine (антималярийный)

Соединения для **кобальта** (доксовир) прошли первую стадию клинических испытаний. **Палладий** имел место быть в соединениях фотосенсибилизаторах, которые в настоящее время не выпускаются. **Никель, иридий** не представлены в составе лекарственных препаратов. **Серебро** чаще всего используется в составах антисептиков. **Золото** имеет бактерицидные свойства своих соединений, с 20х годов прошлого века применялось для лечения туберкулеза, артрита, сейчас на основе золота выпускается препарат Auranofin, который является иммуномодулирующим, противовоспалительным и противоартритным.

Платина

Цисплатин – комплекс **платины**, противоопухолевый препарат. Его подавляющее действие было открыто в ходе экспериментов Розенберга в 1965 году при изучении E.coli в среде, содержащей аммониевые соли, при пропускании тока через платиновые электроды. Уже через девять лет препарат был разрешен к использованию и выведен на рынок.
В этой среде происходили следующие реакции:

Реакция на электроде: $Pt^{0} \leftrightarrow Pt^{4+} + 4e^{-}$
Комплексообразование: $Pt^{4+} + 6\,Cl^{-} \leftrightarrow PtCl6^{2-}$ $NH4^{+} + PtCl6^{-} \leftrightarrow (NH4)2PtCl$
Фотореакция: $(NH4)2PtCl6 \rightarrow cis\text{-}Pt(NH3)2Cl4 + 2\,HCl$

Платиновые препараты используются в 50% химиотерапии в мире. Каковы механизмы работы платиновых соединений в клетке? Во-первых, это гидролиз. Платина попадает в клетку, подвергается гидролизу, ее захватывают металлотионеины. Также частицы платины проходят мембрану митохондрии, и до ядра доходит около 30% платиновых частиц. Остальные 60% отвечают за тяжелые побочные эффекты в клетке. Соединение платины атакует ДНК по указанным в рис.16 положениям.

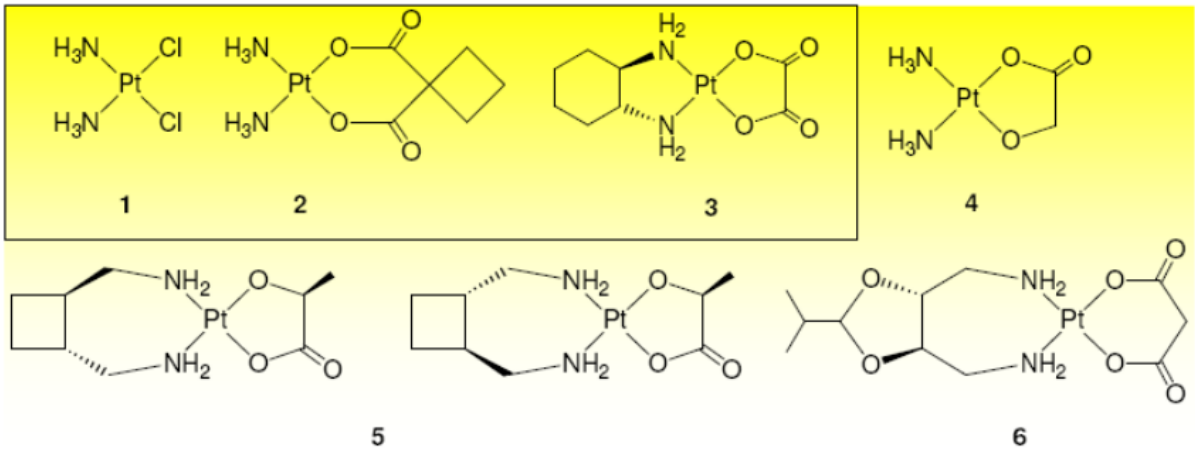


Рис. 7.15 Платиновые препараты, допущенные к использованию в различных странах: 1 – цисплатин, 2 – карбоплатин, 3 – оксалиплатин, 4 – недаплатин, 5 – лобаплатин, 6 – гептаплатин.

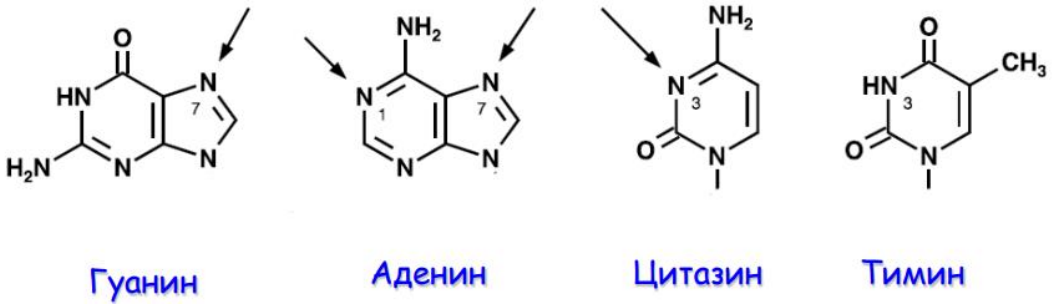


Рис. 7.16 Места атаки платинового соединения

Присоединение цисплатина к ДНК вызывает стягивание азотистых оснований и соответственное изменение формы и структуры ДНК на 45 градусов. Данные нарушения не поддаются репарированию.

ХИМИЧЕСКИЙ
ФАКУЛЬТЕТ
МГУ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА

teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ