

**Ю.М. Лукьянова
Ж.В. Мацулевич
А. В. Борисов**

**ЭЛЕМЕНТЫ БИОХИМИИ
В КУРСЕ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

Нижний Новгород 2024

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ им. Р. Е. АЛЕКСЕЕВА»

Ю. М. ЛУКЬЯНОВА, Ж.В. МАЦУЛЕВИЧ, А.В. БОРИСОВ

ЭЛЕМЕНТЫ БИОХИМИИ

В КУРСЕ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

*Рекомендовано Учёным советом Нижегородского государственного
технического университета им. Р. Е. Алексеева в качестве учебного
пособия для студентов высших учебных заведений, обучающихся по
направлениям: 12.03.04 Биотехнические системы, 18.03.01 Химическая
технология, 19.03.01 Биотехнология*

Нижний Новгород 2024

УДК 547.1; 577.1
ББК 24.23; 28.072
Л 844

Рецензент

доктор химических наук, профессор ННГУ им. Н.И. Лобачевского
Н.Б Мельникова

Л 844 **Лукьянова Ю. М., Мацулевич Ж. В., Борисов А.В.**
Элементы биохимии в курсе органической химии: учеб.
пособие /Ю.М. Лукьянова, Ж.В. Мацулевич, А.В. Борисов; Ниж-
ний Новгород: НГТУ им. Р.Е. Алексеева, 2024. – 115 с.

ISBN 978-5-502-01779-4

Содержит информацию о методах синтеза, химическом строении органических соединений, биомолекул: белков, моно- и полисахаридов, липидов, нуклеиновых кислот. Проанализированы их свойства и биологические функции.

Предназначено для студентов, обучающихся по направлениям: 12.03.04 «Биотехнические системы», 18.03.01 «Химическая технология», 19.03.01 «Биотехнология» всех форм обучения.

Рис. 38. Табл.5. Библиогр.: 11 назв.

УДК 547.1; 577.1
ББК24.23;28.072

ISBN 978-5-502-01779-4

**© Нижегородский государственный
технический университет
им.Р.Е.Алексеева, 2024**

ОГЛАВЛЕНИЕ

Принятые сокращения	4
Введение	5
Глава 1. Белки	7
1.1. Аминокислоты.....	8
1.1.1. Классификация аминокислот.....	11
1.1.2. Ионное равновесие в водных растворах.....	12
1.1.3. Химические свойства аминокислот.....	13
1.1.4. Методы разделения аминокислот.....	17
1.1.5. Применение аминокислот.....	18
1.2. Пептиды.....	18
1.2.1. Секвенирование полипептидов и белков.....	20
1.2.2. Химический синтез полипептидов.....	23
1.3. Уровни структурной организации белков.....	23
1.4. Классификация белков.....	32
1.5. Нативные свойства белков.....	32
1.6 Методы разделения белков.....	34
Глава 2. Ферменты	36
2.1 Номенклатура и классификация ферментов.....	36
2.2. Механизм действия ферментов.....	38
Глава 3. Углеводы	42
3.1. Моносахариды.....	42
3.2. Олигосахариды. Дисахариды.....	52
3.3. Полисахариды.....	55
Глава 4. Липиды	62
4.1. Классификация и строение липидов.....	62
4.2. Основные химические свойства липидов.....	71
4.3. Вещества, родственные липидам.....	77
4.4. Эйкозаноиды.....	84
4.5. Витамины.....	85
Глава 5. Нуклеиновые кислоты	95
5.1. Пуриновые и пиримидиновые основания.....	95
5.2. Нуклеозиды и нуклеотиды.....	98
5.3. Структура ДНК.....	101
5.4. Структура РНК.....	108
Библиографический список	114

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

А	аденин
АДФ	аденозиндифосфат
АК	аминокислота
Ала	аланин
АМФ	аденозинмонофосфат
Арг	аргинин
Асн	аспарагин
Асп	аспарагиновая кислота
АТФ	аденозинтрифосфат
Вал	валин
Г	гуанин
Гис	гистидин
Глн	глутамин
Гли	глицин
Глу	глутаминовая кислота
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
Е	фермент
ES	фермент-субстратный комплекс
Иле	изолейцин
КоА	кофермент А
Лей	лейцин
Лиз	лизин
Мет	метионин
НАД ⁺	никотинамидадениндинуклеотид (окисл.)
НАДН	никотинамидадениндинуклеотид (восст.)
НАДФ ⁺	никотинамидадениндинуклеотидфосфат (окисл.)
НАДФН	никотинамидадениндинуклеотидфосфат (восст.)
Нб	гемоглобин
Про	пролин
РНК	рибонуклеиновая кислота
мРНК	матричная рибонуклеиновая кислота
рРНК	рибосомная рибонуклеиновая кислота
тРНК	транспортная рибонуклеиновая кислота
Сер	серин
Т	дезокситимин
Тре	треонин
Три	триптофан
У	урацил
Фен	фенилаланин
Ц	цитозин
Цис	цистеин
Цит	цитохром

ВВЕДЕНИЕ

Примерно 15–20 миллиардов лет назад в результате взрыва, который сопровождался извержением раскаленных субатомных частиц с очень высокой энергией, возникла Вселенная. Такие простейшие элементы, как водород и гелий, образовались за считанные секунды. По мере расширения и остывания Вселенной материя под действием гравитации конденсировалась, и возникали звезды. Некоторые из них становились огромными и взрывались как сверхновые звезды, высвобождая энергию, необходимую для слияния атомных ядер и образования разнообразных химических элементов. Так, по одной из теорий несколько миллиардов лет назад возникла Земля с химическими элементами, существующими сейчас. Жизнь возникла около четырех миллиардов лет назад: появились простые микроорганизмы, способные добывать энергию из химических соединений, солнечного света (позже) и использовать ее для синтеза великого множества сложных **биомолекул** с помощью простых элементов и соединений, находящихся на поверхности Земли.

В подтверждение данной теории можно вспомнить эксперименты Миллера-Юри, которые исследовали возможность возникновения жизни на Земле в результате пропускания электрического тока (имитируя удары молнии по поверхности земли) через смесь газов, соответствующей представлениям о составе атмосферы ранней Земли в 1950 годах. Данный эксперимент показал образование 22 аминокислот!

Аминокислоты, как и другие биомолекулы, являются органическими соединениями. **Органические соединения** – это соединения углерода с другими элементами, такими, как водород, кислород, азот, сера и др. **Органическая химия** изучает строение и химические свойства органических соединений. Что же такое биохимия?

Биохимия изучает, каким образом свойства живых организмов возникают из тысяч различных неживых молекул. Биохимические исследования позволяют понять, как неживые молекулы в составе живых организмов взаимодействуют между собой, способствуя сохранению и непрерывному поддержанию жизни, причем и взаимодействия происходят строго в соответствии с физическими и химическими законами, управляющими неживой материей. Единство и различие организмов очевидны уже на клеточном уровне. Структурной единицей живых систем является клетка. Самые маленькие организмы состоят из одной клетки и имеют микроскопические размеры. Более крупные многоклеточные организмы содержат много разных типов клеток, отличающихся по размеру, форме и специфическим функциям. Несмотря на эти очевидные различия, все клетки как простейших, так и наиболее сложных организмов имеют общие фунда-

ментальные свойства, которые можно исследовать на биохимическом уровне.

Таким образом, можно сделать вывод, что *биохимия* – наука о химических основах процесса жизнедеятельности, изучающая химические компоненты клеток, реакции и процессы с их участием.

ГЛАВА 1. БЕЛКИ

Белки, или протеины, — важнейший класс биологически активных веществ. Они играют ключевую роль в клетке, присутствуют в виде главных компонентов в любых формах живой материи. Без белков невозможно представить себе жизнедеятельность, жизнь; и именно в этом смысле и сегодня сохраняет свое значение определение Ф. Энгельса: «Жизнь есть способ существования белковых тел». Белки разнообразны по структуре и выполняют многочисленные биологические функции (схема 1).



Схема 1. Функции белков

Первая концепция строения белков принадлежит голландскому химику Г. Мульдеру (1836). Основываясь на теории радикалов, он сформулировал понятие о минимальной структурной единице, входящий в состав белков. Эту единицу Г. Мульдер назвал протеином, а свою концепцию — теорией протеина.

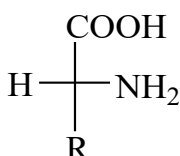
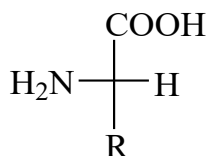
Дальнейшие структурные исследования белка, а также основополагающие работы Т. Курциуса по синтезу пептидов привели к формулированию (1902) пептидной гипотезы, согласно которой белки построены из аминокислот, соединенных пептидными связями —CO—NH—.

Белки – это высокомолекулярные азотсодержащие органические соединения, состоящие из остатков α -аминокислот, соединенных пептидной связью [1].

1.1. Аминокислоты

Аминокислоты – соединения, молекулы которых содержат аминогруппу и карбоксильную группу.

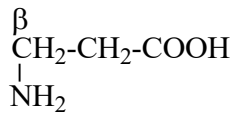
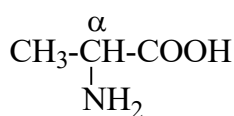
Тривиальные названия аминокислот связаны с источником их выделения или свойствами. Все природные α -аминокислоты (кроме глицина) содержат асимметрический атом углерода, поэтому могут существовать в виде оптических изомеров. Природные аминокислоты, входящие в состав белков, относятся к L-ряду.



L-аминокислота

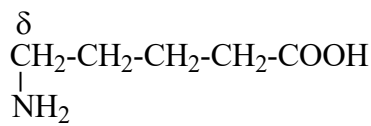
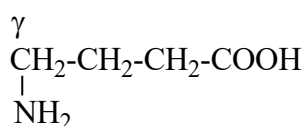
D-аминокислота

По взаимному расположению карбоксильной и аминогрупп различают α -, β -, γ -, δ -аминокислоты.



α -аминопропионовая кислота

β -аминопропионовая кислота



γ -аминомасляная кислота

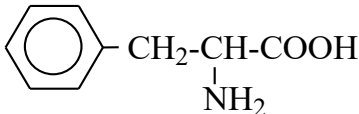
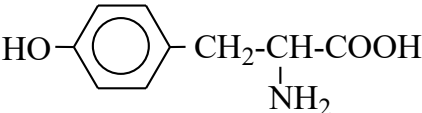
δ -аминовалериановая кислота

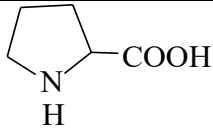
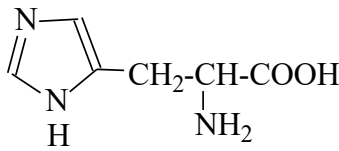
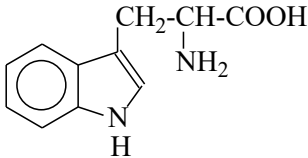
Среди аминокислот алифатического ряда наиболее значимы α -аминокислоты, так как входят в состав белков. В настоящее время извест-

но более 100 природных α -аминокислот, из них 20 входят практически во все белковые молекулы (табл.1.1, 1.2).

Таблица 1.1

Тривиальные названия и соответствующие сокращения основных природных α -аминокислот

№	Название	Формула	Сокращение
1	2	3	4
1	Глицин	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$	Gly
2	Аланин	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Ala
3	Валин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \diagdown \\ \text{H}_3\text{C} \diagup \end{array} \text{CH-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2$	Val
4	Лейцин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \diagdown \\ \text{H}_3\text{C} \diagup \end{array} \text{CH-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2$	Leu
5	Изолейцин	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH-CH-COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Ile
6	Фенилаланин		Phe
7	Тирозин		Tyr
8	Серин	$\text{HO-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2$	Ser

1	2	3	4
9	Треонин	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH-CH-COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Thr
10	Цистеин	$\begin{array}{c} \text{HS-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Cys
11	Метионин	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Met
12	Аспарагиновая кислота	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Asp
13	Аспарагин	$\begin{array}{c} \text{NH}_2\text{CO-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Asn
14	Глутаминовая кислота	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Glu
15	Глутамин	$\begin{array}{c} \text{NH}_2\text{CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Gln
16	Пролин		Pro
17	Гистидин		His
18	Триптофан		Trp
19	Лизин	$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH}$ $ $ NH_2	Lys
20	Аргинин	$\text{NH}_2\text{-C-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-COOH}$ $ \quad $ $\text{NH} \quad \text{NH}_2$	Arg

Основным источником α -аминокислот для живого организма служат пищевые белки. Многие α -аминокислоты синтезируются в организме, некоторые же необходимые для синтеза белков α -аминокислоты не синтезируются и должны поступать извне. Такие аминокислоты называют **незаменимыми**: **валин, лейцин, изолейцин, лизин, треонин, метионин, фенилаланин, триптофан**. В детском организме так же **незаменимы** **гистидин, аргинин**.

Наименование аминокислот

Сокращенное название	Аминокислота	Сокращенное название	Аминокислота
Ала	Аланин	Лей	Лейцин
Арг	Аргинин	Лиз	Лизин
Асн	Аспарагин	Мет	Метионин
Асп	Аспарагиновая кислота	Про	Пролин
Вал	Валин	Сер	Серин
Гис	Гистидин	Тир	Тирозин
Гли	Глицин	Тре	Треонин
Глн	Глутамин	Три	Триптофан
Глу	Глутаминовая кислота	Фен	Фенилаланин
Иле	Изолейцин	Цис	Цистеин

1.1.1. Классификация аминокислот

По строению бокового радикала*Алифатические аминокислоты:*

- моноаминомонокарбоновые кислоты: глицин, аланин, валин, изолейцин, лейцин;
- оксимоноаминокарбоновые кислоты (содержат-ОН-группу): серин, треонин;
- моноаминодикарбоновые кислоты (содержат COOH-группу): аспарат, глутамат (за счёт второй карбоксильной группы несут в растворе отрицательный заряд);
- амиды моноаминодикарбоновых кислот (содержат NH₂CO-группу): аспарагин, глутамин;
- диаминомонокарбоновые кислоты (содержат NH₂-группу): лизин, аргинин (за счёт второй аминогруппы несут в растворе положительный заряд);
- серосодержащие кислоты: цистеин, метионин.

Ароматические аминокислоты: фенилаланин, тирозин, триптофан.*Гетероциклические аминокислоты:* триптофан, гистидин, пролин.*Иминокислоты:* пролин.***По полярности бокового радикала****Неполярные (гидрофобные):*

- алифатические: аланин, валин, лейцин, изолейцин;
- ароматические: фенилаланин, триптофан;
- серосодержащие: метионин;

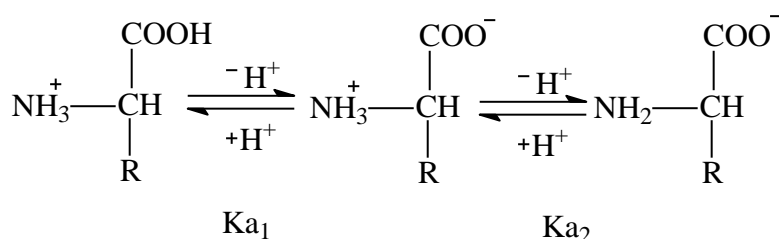
- иминокислота: пролин.

Полярные незаряженные:

- полярная OH-группа (оксиаминокислоты): серин, треонин и тирозин;
- HS-группа: цистеин;
- амидная группа: глутамин, аспарагин.

1.1.2. Ионное равновесие в водных растворах

Биполярный цвиттер-ион определяет температуру плавления выше 200°C, плохую растворимость в органических растворителях и относительно хорошую в воде. Особенности структуры аминокислот (АК): они не поглощают инфракрасный и ультрафиолетовый свет.



$$pK_{a1} = -\lg K_{a1} \approx 2$$

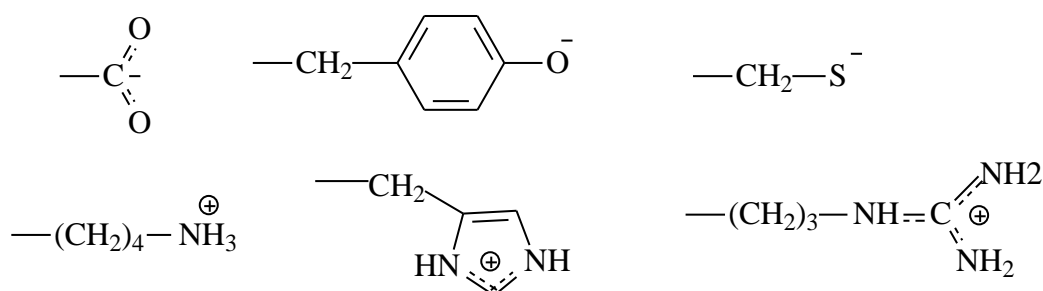
$$pK_{a2} \approx 9-10$$

$$pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2}$$

pK_{a1} – характеризует кислотные свойства кислоты, в α -положении которой находится группа аммония, которая обладает высокой электроотрицательностью.

pK_{a2} – определяет константу кислотности, замещенного иона аммония, также она сравнима с константой кислотности протонированных аминов.

У некоторых аминокислот боковой радикал имеет функциональную группу, обладающую кислотно-основными свойствами. При растворении в воде кислота присутствует в виде катиона, цвиттер-иона, аниона. Количество форм зависит от pH среды.



Изоэлектрическая точка (pI) — это величина водородного показателя (pH) раствора, при которой заряд содержащейся в нём аминокислоты равен 0.

Явление перемещения заряженной частицы дисперсной системы под действием внешнего электрического тока называется электрофорезом. Электрофорез связан с высокой скоростью установления протолитического равновесия, поэтому в изоэлектрической точке протон быстро перемещается от одной формы к другой и заряженные частицы не успевают перемещаться ни к аноду, ни к катоду.

Если $pH > pI$, то аминокислота находится в анионной форме и под действием тока смещается к аноду. Если $pH < pI$, то аминокислота в катионной форме и смещается к катоду [2].

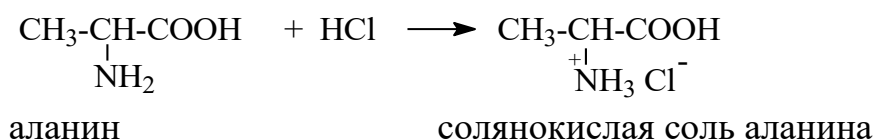
1.1.3. Химические свойства аминокислот

Аминокислоты как соединения, имеющие в составе аминогруппу и карбоксильную группу, проявляют свойства аминов, карбоновых кислот и специфические свойства, обусловленные одновременным присутствием аминогруппы и карбоксильной группы.

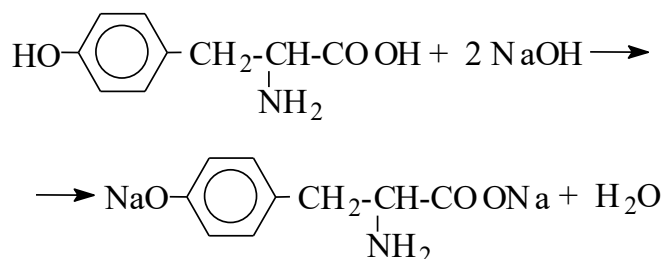
1. Реакции образования солей

Аминокислоты являются амфотерными соединениями, что обусловлено одновременным присутствием в молекуле основной (NH_2) и кислотной ($COOH$) групп.

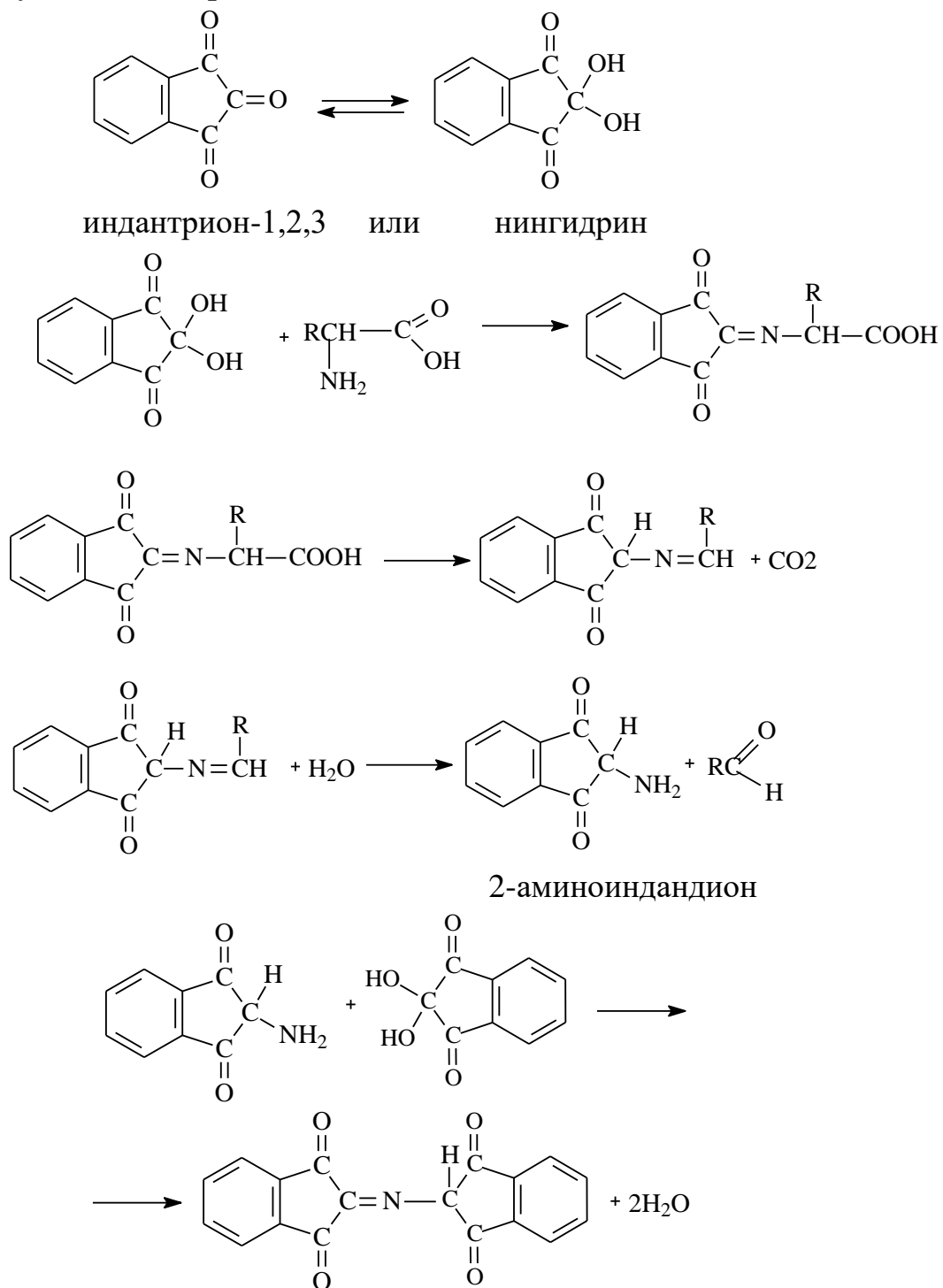
а) реакции аминокислот с кислотами



б) реакции аминокислот со щелочами



Аминокислота реагирует с нингидрином (водным раствором индантриона-1,2,3), образуя продукт конденсации, из которого путем перегруппировки, декарбоксилирования и гидролиза синтезируется 2-аминоиндандион; взаимодействие последнего с нингидрином дает продукт синей окраски.

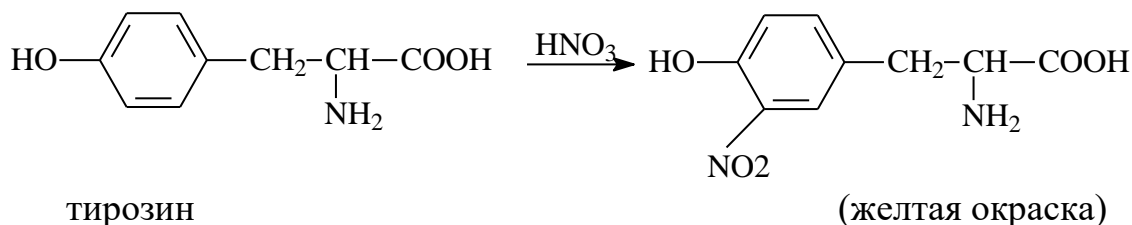


Окраска нингидриновой реакции связана с образованием красителя — синего Руэмана 1. Продукт реакции между пролином и нингидрином имеет желтую окраску. Нингидрин реагирует не только с α -аминокислотами,

но и с другими аминами, при этом тоже появляется синяя окраска, но без выделения CO_2 .

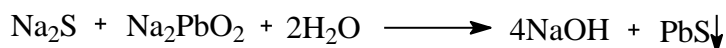
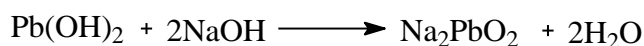
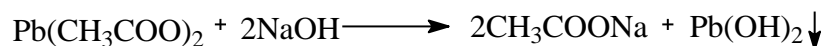
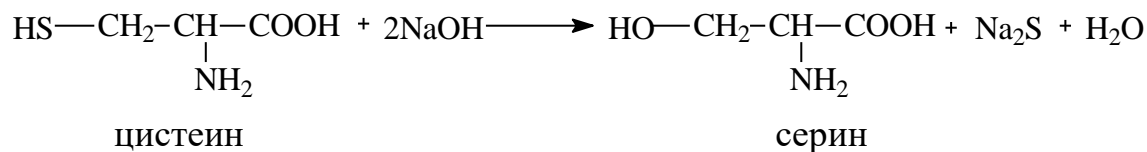
б. Ксантопротеиновая реакция

Ксантопротеиновая реакция характерна для бензольного кольца таких аминокислот, как тирозин, фенилаланин, триптофан. В результате реакции замещения по бензольному кольцу образуется продукт желтого цвета [3].



в. Реакция Фоля

Реакция Фоля применяется для серосодержащих аминокислот: цистеина, цистина, метионина.



1.1.4. Методы разделения аминокислот

Хроматография. При хроматографии молекулы аминокислот распределяются между стационарной и подвижной фазой. Разделение зависит от относительной способности аминокислот к более прочной ассоциации с той или иной фазой. Используют распределительную, ионообменную, адсорбционную, молекулярно-ситовую и другие хроматографии.

Высоковольтный электрофорез основан на том, что суммарный заряд аминокислоты зависит от рН среды. При наложении постоянного электрического поля молекулы, имеющие при данном рН отрицательный заряд, перемещаются к аноду, а молекулы, имеющие положительный заряд к катоду.

1.1.5. Применение аминокислот

Метионин используют в медицине для лечения и профилактики токсических поражений печени и при диабете. Природный метилметионин-сульфонийхлорид называют витамином U. Им богаты капуста, петрушка и томаты. Он рекомендуется для лечения язвы желудка. Этот витамин играет в биопроцессах роль донора метильных групп.

Триптофан применяется для лечебного питания.

Глутаминовая кислота находит применение при лечении заболеваний ЦНС (эпилепсии, психозов; у детей – при полиомиелите и задержке психического развития). Ее натриевая соль используется как вкусовая и консервирующая добавка в пищевые продукты.

Метилвый эфир L-аспарагил-L-фенилаланина (аспартам, аспарат) при диабете служит как малокалорийный заменитель сахара.

γ -Аминомасляная кислота – природное вещество. Была обнаружена в головном мозге млекопитающих в 1950 г. Установлено, что она играет роль медиатора торможения при передаче нервных импульсов. ГАМК (аминалон, гаммалон) применяют при лечении нарушений нервной системы: расстройство речи, ослабление памяти, атеросклероз мозговых сосудов, умственная отсталость у детей. Она обладает ноотропными свойствами – стимулирует обучение, улучшает умственную деятельность и память.

ϵ -Аминогексановая (ϵ -аминокапроновая) кислота в медицине используется для остановки сильных кровотечений, так как способствует эффективному свертыванию крови.

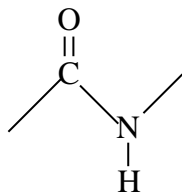
Производные *n*-аминобензойной кислоты. Среди многих тысяч производных *n*-аминобензойной кислоты найден ряд эффективных местных анестетиков – веществ, подавляющих чувствительность (возбудимость) нервных окончаний. Такие ее эфиры, как анестезин, новокаин и дикаин стали успешно заменять в клинике алкалоид кокаин, но не вызывая при этом болезненного привыкания к лекарству.

Аргинин и глицин служат для заживления ран, защиты клеток. Гистидин и лизин широко распространены в косметологии. Гистидин – антиоксидант, защищает от повреждения UV-лучами. Лизин способствует увлажнению кожи, участвует в синтезе коллагена.

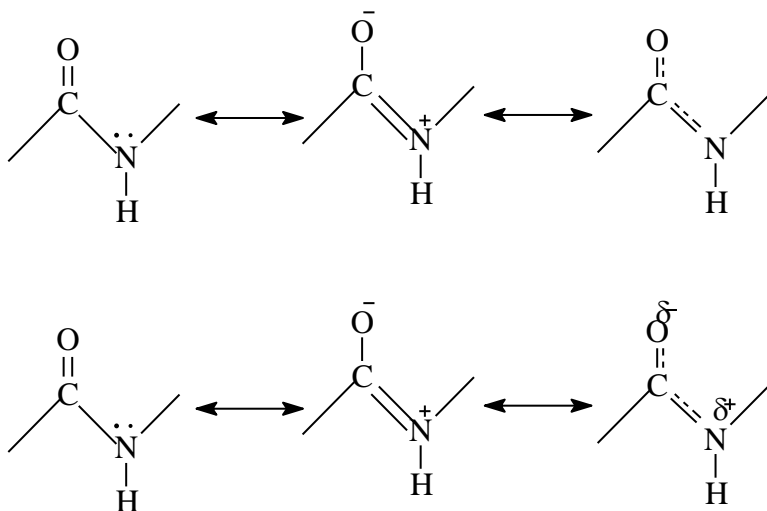
1.2. Пептиды

Пептиды, состоящие из более пяти аминокислот, называются полипептидами. Высокомолекулярные полипептиды являются белками. Условная граница, разделяющая полипептиды и белки, проходит в области молекулярных масс $8,0 \cdot 10^3 - 1,0 \cdot 10^4$.

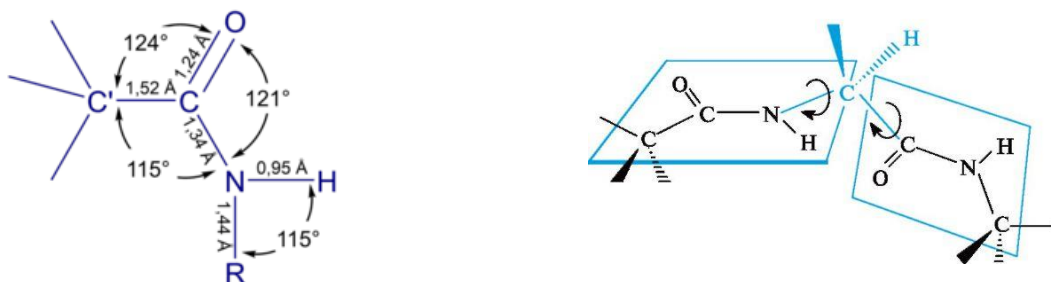
Характерный признак пептидов – наличие пептидной группировки.



Связь между карбонильным атомом углерода и азота называется пептидной. В пептидной группе атом углерода находится в состоянии sp^2 – гибридизации. Причем неподеленная пара электронов атома азота вступает в сопряжение с π -электронами двойной связи $C=O$. С позиций электронного строения пептидная группа представляет собой трехцентровую p - π -сопряженную систему, электронная плотность в которой смещена в сторону более электроотрицательного атома кислорода. Распределение электронной плотности в пептидной группе можно представить с помощью трех граничных структур:



Можно утверждать, что связь между атомом углерода карбонильной группы и атомом азота пептидной группы имеет характер частично двойной. В результате сопряжения происходит выравнивание длин связей. Двойная связь $C=O$ удлиняется до 0,124 нм, а связь между атомами азота и углерода становится 0,132 нм.

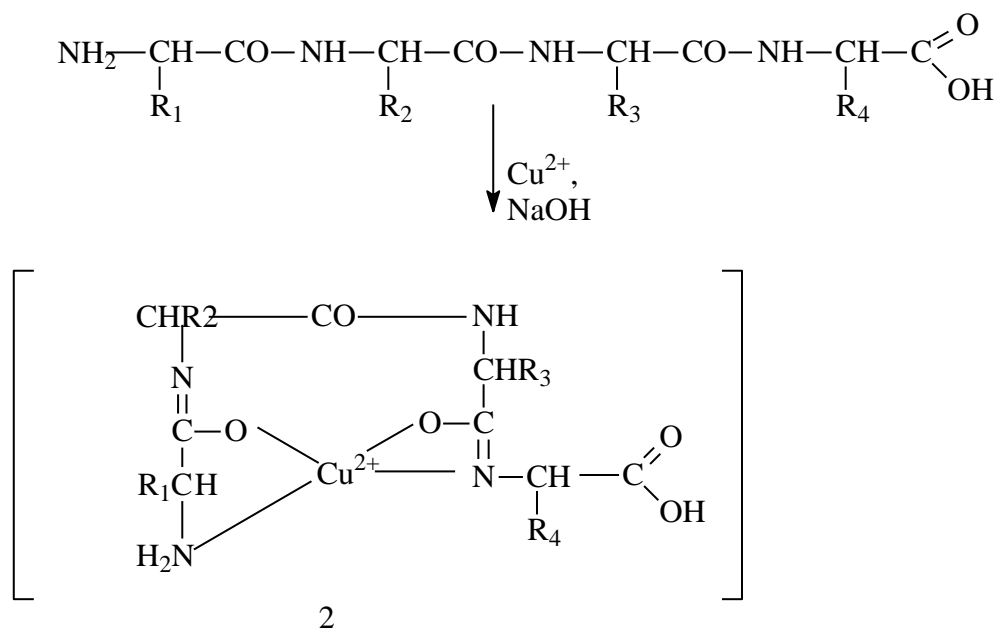


Все атомы пептидной группы лежат в одной плоскости (компланарны), и их свободное вращение при обычных температурах отсутствует.

Пептидная связь настолько прочная, что для её гидролиза вне организма необходимы очень жесткие условия: нагревание при 105°C в течение суток в присутствии концентрированной HCl. В условиях организма существуют специфические ферменты – пептидазы, с помощью которых эти связи разрываются очень быстро.

Для обнаружения пептидной связи используется Биуретовая реакция. В зависимости от числа связей окраска изменяется от розовой до сине-фиолетовой.

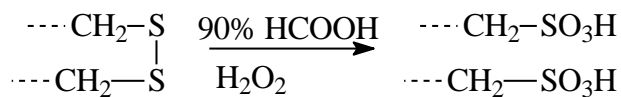
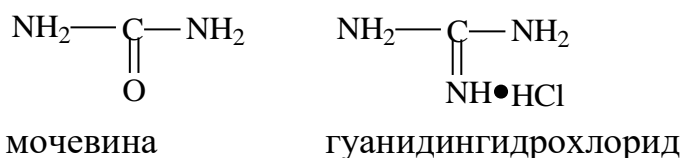
• Биуретовая реакция основана на образовании внутрикмплексного соединения ионов Cu^{2+} с двумя пептидными связями в щелочной среде. Цвет внутрикмплексного соединения меди зависит от числа пептидных связей: розовый – для биурета $\text{H}_2\text{NCO}-\text{NH}-\text{CONH}_2$, розово-фиолетовый для пептидов с числом пептидных связей более трех, сине-фиолетовый для полипептидов и белков. Основой комплексного соединения является, по-видимому, структура 2:



1.2.1. Секвенирование полипептидов и белков

Процесс определения первичной структуры полипептидов и белков называется *секвенированием*. Для белков различают несколько этапов:

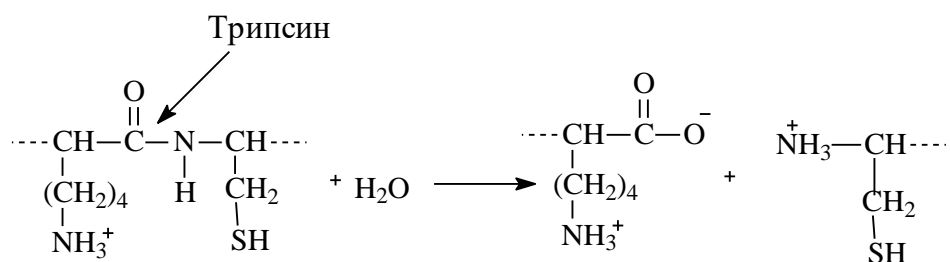
1. Если белок имеет несколько пептидных цепей, то происходит разделение на индивидуальные цепи путем разрыва водородных и дисульфидных связей. Цепи обрабатываются надмуравьиной кислотой, в результате чего образуются индивидуальные цепи. Водородные связи обрабатывают либо мочевиной, либо гуанидингидрохлоридом.



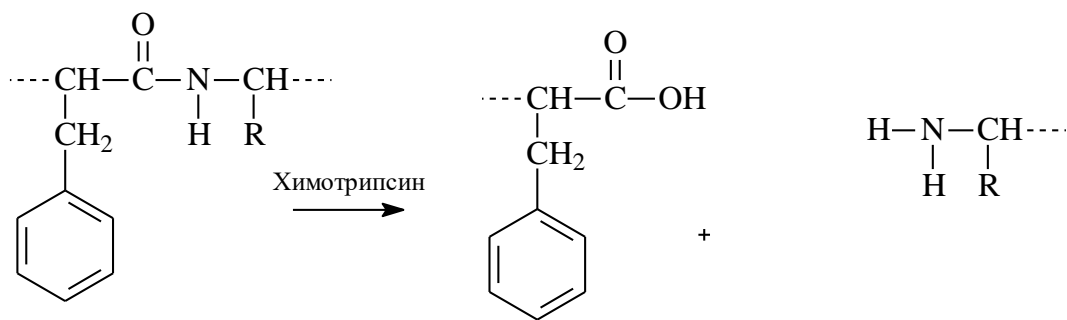
После разрыва индивидуальные цепи выделяют хроматографически.

2. Каждая цепь расщепляется на относительно короткие фрагменты ферментативно либо химически. Обычно используется набор двух или трех ферментов: химотрипсин, трипсин, бромциан. Наиболее широко используемый фермент при установлении первичной структуры белков – трипсин. Он относится к классу сериновых протеаз и проявляет наибольшую активность в диапазоне pH 7,0 – 9,0.

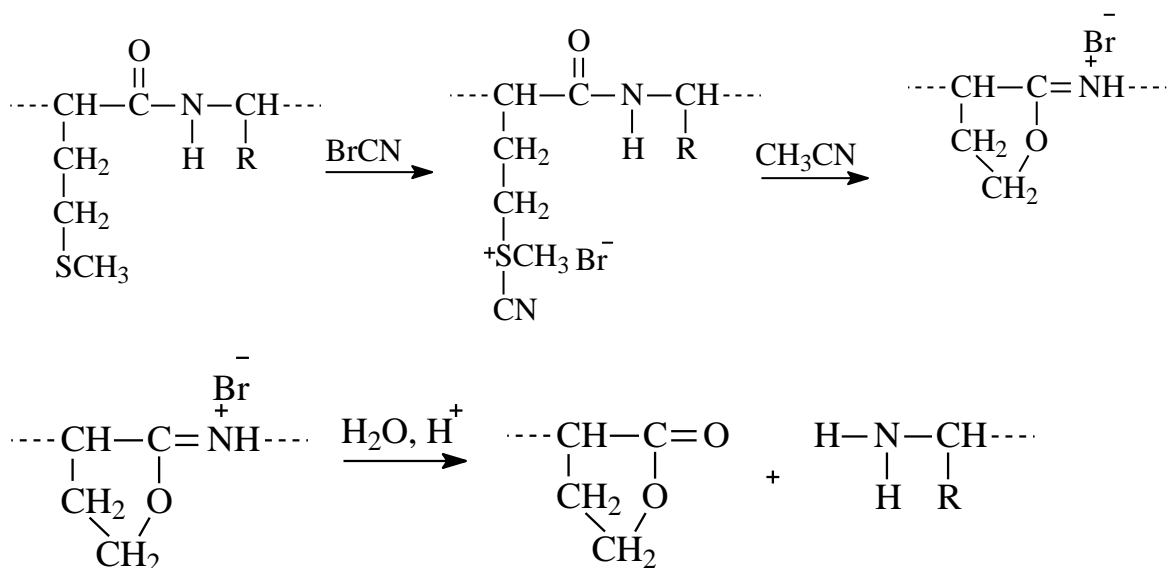
Трипсин гидролизует связи, образованные карбоксильными группами только основных аминокислот – аргинина и лизина. Гидролиз трипсином в оптимальных условиях происходит, как правило, с выходом 100%. Однако на скорость протекания реакции оказывают влияние положение гидролизуемой связи в цепи и химическая природа боковых групп соседних аминокислотных остатков.



Химотрипсин также относится к сериновым протеазам. Используемый для структурных исследований α-химотрипсин А проявляет максимальную активность в диапазоне pH 7,8 – 9,0. Химотрипсин обладает гораздо более широкой специфичностью, чем трипсин. Фермент гидролизует пептидную связь после ароматических аминокислот: фенилаланин, тирозин, триптофан. С меньшей скоростью гидролизуются связи лейцина, метионина, гистидина. Скорость расщепления зависит от характера соседних аминокислотных остатков.

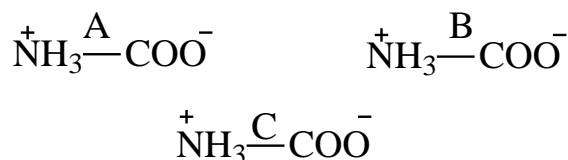


Расщепление бромцианом происходит по остаткам метионина.



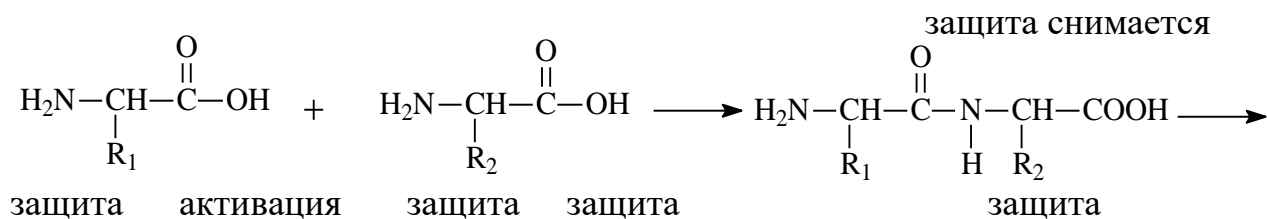
Двух, трех наборов фрагментов, получаемых при расщеплении исходного полипептида по остаткам метионина, триптофана, аргинина, оказывается достаточно для определения первичной структуры полипептида. Образующуюся смесь фрагментов разделяют, используя различные физико-химические методы, на индивидуальные полипептиды.

Для установления аминокислотной последовательности необходимо иметь полипептиды, содержащие перекрывающиеся участки последовательности и полученные, как правило, разными методами в результате разрыва белковой цепи в различных местах, например:

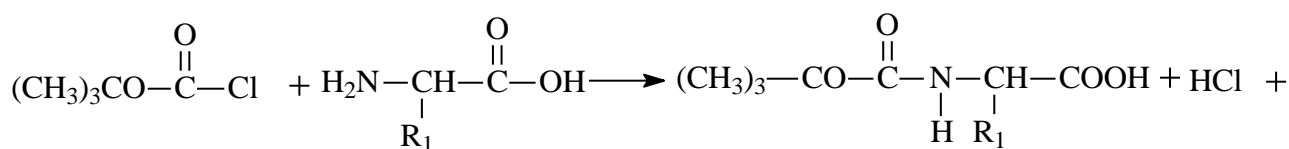


По структуре пептида С, содержащего С-концевой фрагмент пептида А и N-концевой фрагмент пептида В, можно установить, что исходный полипептид имеет последовательность А→В.

1.2.2. Химический синтез полипептидов

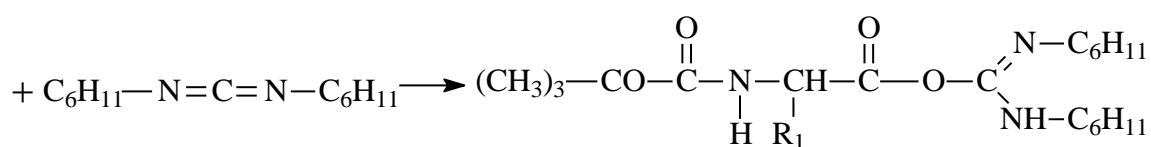


Защита аминогруппы



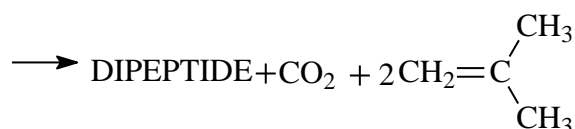
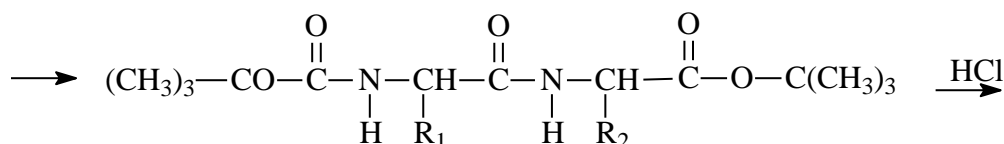
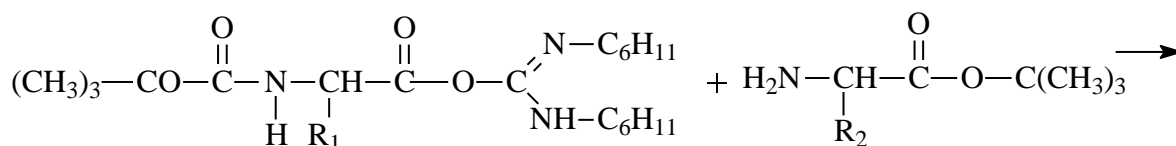
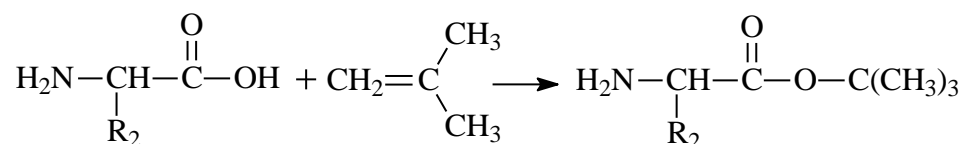
третбутилоксикарбонил хлорид

Активация карбоксигруппы



дициклогексилкарбодиимид

Защита карбоксигруппы



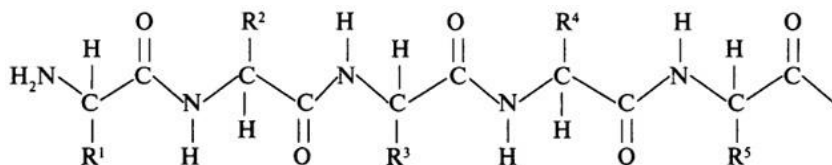
1.3. Уровни структурной организации белков

Различают структуры

- первичная

- вторичная
- третичная
- четвертичная

Основу белка составляет первичная структура. **Первичная структура** белка – это последовательность остатков α-аминокислот в полипептидной цепи.



Информация о первичной структуре белка лежит в ДНК:

ДНК (гены)

↓

мРНК

↓

первичная структура белка

В условиях клетки первичная структура приобретает 3-мерную пространственную структуру – конформацию. В понятие конформация входят вторичная и третичная структура белка.

Вторичная структура — участки полипептидной цепи с упорядоченной конформацией, стабилизированной водородными связями, которые образуются между карбонильным атомом кислорода одной пептидной группы и атомом водорода NH группы другой пептидной связи, удаленные вдоль цепи на определенное значение звеньев.

Исторически первой описанной пространственной конфигурацией полипептидной цепи была β-структура, предложенная У. Астбери в 1941 г. на основании рентгеноструктурных исследований β-кератина. Через 10 лет Л. Полинг и Р. Кори установили, что β-структура, или «складчатый лист» - это стабилизированный межцепочечными водородными связями ассоциат вытянутых, зигзагообразных пептидных цепей.

Одна из главных канонических форм полипептидной цепи была впервые обнаружена Л. Полингом и Р. Кори в 1951 г. и названа α-спираль.

Таким образом, различают:

- α-спиралевидная;
- β-складчатая;
- структура беспорядочного клубка.

Особенность полипептидной группировки — компланарность всех атомов. Вращение возможно только по $C\alpha$. α -спираль стабилизируется водородными связями между $C=O$ и NH , удаленными друг от друга на пептидной связи. Они направлены по условной оси спирали и в образовании участвуют все группы $C=O$ и NH , кроме концевых. Спираль считается правой, если закручивается от наблюдателя по часовой стрелке, или левой — против часовой стрелки. В природе существуют только правые спирали. В среднем отдельные спиральные участки включают в себя 6–24 аминокислотных остатков. Правые стабильнее, чем левые.

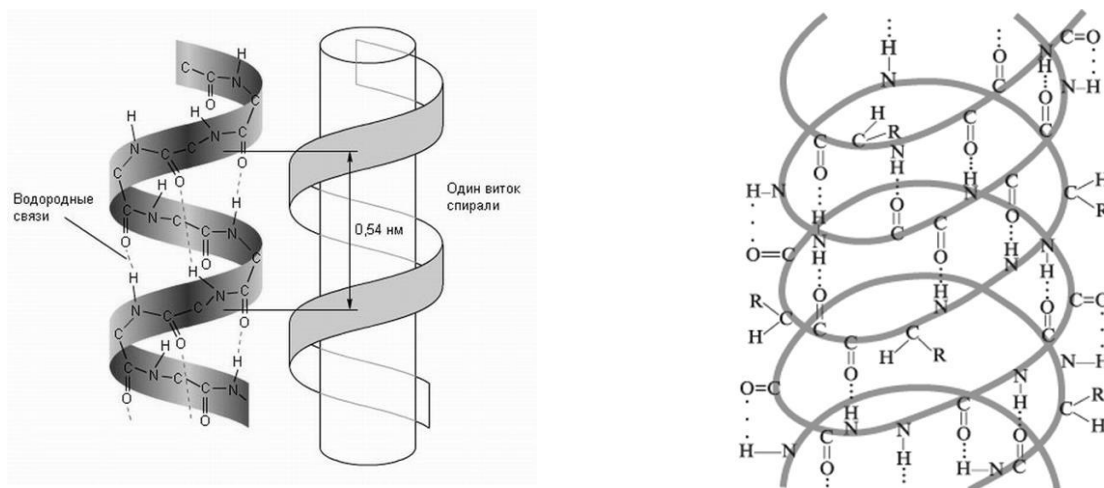


Рис. 1.1. Структура α -спирали

На один виток спирали приходится 3,6 остатка аминокислот. Ради-калы аминокислот располагаются снаружи спирали.

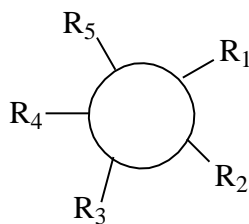


Рис. 1.2. Поперечный разрез спирали

Формирование α -спирали может быть нарушено:

1. В участках, содержащих пролин. Пролин не содержит атома водорода, способного образовывать водородную связь. В этом месте полипептидной цепи возникает изгиб или петля;
2. Если последовательно расположены несколько одноименно заряженных радикалов, между которыми возникает электростатическое отталкивание;
3. Участки с близкорасположенными объемными радикалами (триптофан, метионин, гистидин).

В складчатом β -слое полипептидная цепь находится в растянутом состоянии, а ее C=O и NH группы связаны водородными связями с такими же соседними группами параллельной и пространственно сближенной цепи. Цепи сближены на 0,272 нм.

В одной плоскости находится две амидные группировки, а так как только у C α возможно вращение, то образуется складка. В зависимости от значения углов и направления участков β -складки делятся на параллельные и антипараллельные

Антипараллельные участки делают изгиб на на 180°.

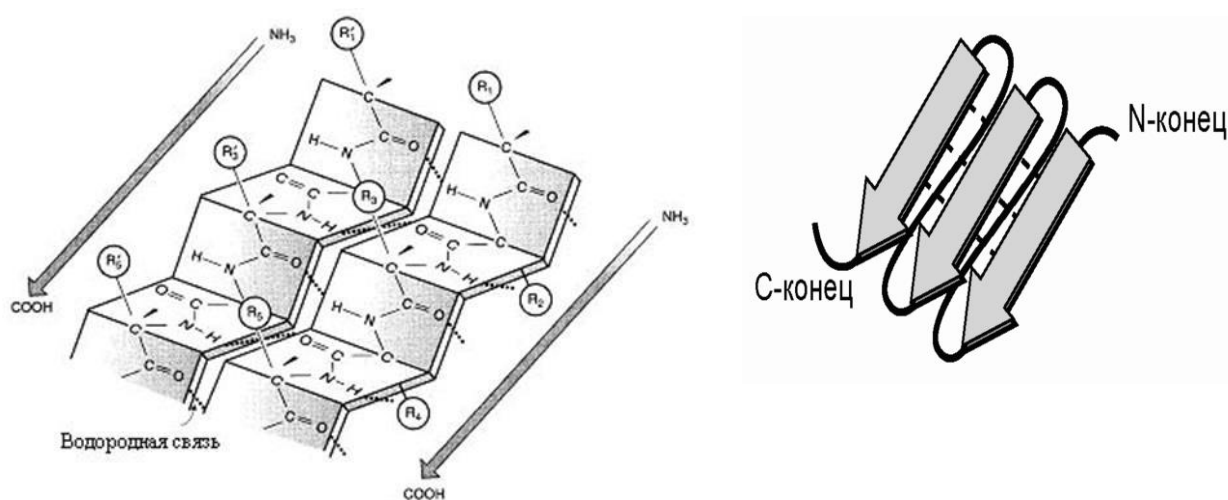


Рис. 1.3. Параллельные β -складки

Края антипараллельных β -структур образованы особым видом вторичной структуры, называемой β -изгибом. β -изгибы образуются четырьмя последовательно расположенными аминокислотными остатками. Это характерный элемент пространственной структуры природных и синтетических олигопептидов как линейных, так и циклических.

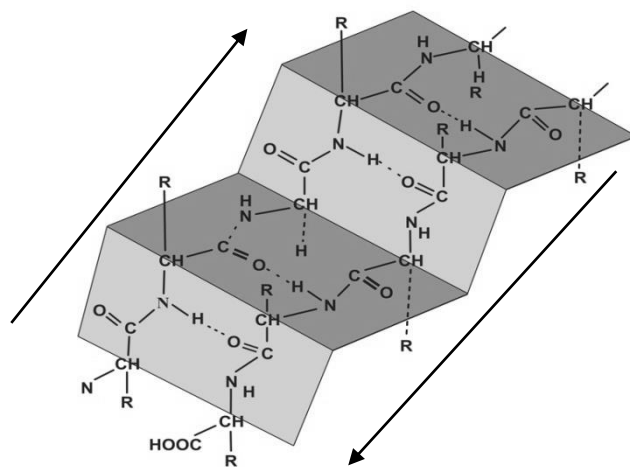
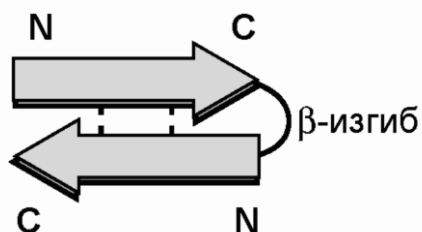


Рис. 1.4. Антипараллельные β -складки

Фрагмент β -структуры из двух антипараллельных цепей с β -изгибом часто называют « β -шпилькой».



Вторичная структура может быть неупорядоченной, в таком случае формируется клубок. *Беспорядочный клубок* – области с нерегулярной вторичной структурой. Это петлеобразные и кольцеобразные структуры с меньшей регулярностью укладки, чем α -спираль и β -структура. Они сильно отличаются в разных белках, но имеют одинаковую (или очень близкую) структуру для всех молекул одного и того же белка. Участки вторичной структуры нельзя отнести ни к α -складкам, ни к β -складкам, это соединительные петли. Не все фрагменты участвуют в образовании пептидных связей, поэтому участки пептидной цепи находятся на поверхности белковой глобулы в области контакта с водой.

Третичная структура белка представляет собой расположенные в пространстве относительно друг друга регуляторные вторичные структуры, соединительные петли и боковые фрагменты. Третичная структура формируется за счет невалентных взаимодействий между боковыми фрагментами.

Взаимодействия:

- водородное. *Водородная связь* – это связь между положительно заряженным атомом водорода одной молекулы и отрицательно заряженным атомом другой молекулы или между положительно заряженным атомом водорода одной молекулы и отрицательно заряженным атомом той же молекулы (внутримолекулярная водородная связь).

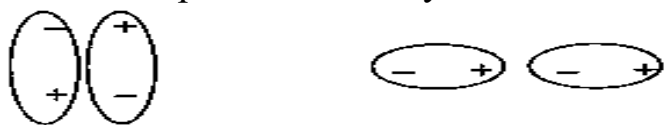
Водородная связь возникает между электроотрицательным элементом (F, O, N, S, Cl) и атомом водорода. Она имеет частично электростатический и частично донорно-акцепторный механизм возникновения.

- *ион-ионное* (некоторые аминокислоты несут положительный заряд, некоторые — отрицательный). Ионная связь образуется между разноименно заряженными радикалами;

- *ион-дипольное* возникает между аминокислотой с положительным зарядом и полярной молекулой с высоким дипольным моментом;

- *взаимодействие Ван-дер-Ваальса* (диполь-диполь, дисперсионное...): ориентационное взаимодействие. Полярные молекулы, в которых

центры тяжести положительного и отрицательного зарядов не совпадают ориентируются таким образом, чтобы рядом находились концы с противоположными зарядами. Между ними возникает притяжение.



Притяжение диполь-диполь может осуществляться только тогда, когда энергия притяжения превышает тепловую энергию молекул, что обычно имеет место в твердых и жидких веществах. Диполь-дипольное взаимодействие проявляется также в полярных жидкостях (вода, фтороводород).

Индукционное взаимодействие. Если полярная молекула окажется рядом с неполярными, то начнет влиять на них. Поляризация нейтральной частицы под действием внешнего поля (наведение диполя) происходит благодаря наличию у молекул свойства поляризуемости γ . Поляризуемость – это способность вещества или молекулы образовывать диполь при наложении электрического поля. Постоянный диполь, или заряженная частица, может индуцировать дипольное распределение зарядов в неполярной молекуле.

Под действием заряженных концов полярной молекулы электронные облака неполярных молекул смещаются в сторону положительного заряда и подальше от отрицательного. Неполярная молекула становится полярной, и молекулы начинают притягиваться друг к другу, только намного слабее, чем две полярные молекулы:



Этот вид взаимодействия проявляется, главным образом, в растворах полярных соединений в неполярных растворителях.

Дисперсионное взаимодействие. Между неполярными молекулами также может возникнуть притяжение. Электроны, которые находятся в постоянном движении, на миг могут оказаться сосредоточенными с одной стороны молекулы, то есть неполярная частица на мгновение станет полярной. Это вызывает перераспределение зарядов в соседних молекулах, и между ними устанавливаются кратковременные связи.



Силы притяжения между неполярными частицами (атомами, молекулами) являются короткодействующими. Эти связи очень слабые – самые слабые из всех межмолекулярных взаимодействий.

Дисперсионное взаимодействие универсально, оно присуще всем молекулам и чем больше поляризуемость молекул, тем сильнее дисперсионное взаимодействие.

- *гидрофобное взаимодействие* (белки в физиологических условиях находятся в водном окружении, это сказывается на формировании третичной структуры). В водной среде третичная структура начинает образовываться с гидрофобных связей. Гидрофобные радикалы, «прячась» от воды, погружаются внутрь белковой молекулы, максимально сближаясь друг с другом и образуя между собой гидрофобные связи. Они составляют гидрофобное ядро белка. Гидрофильные радикалы стремятся располагаться снаружи, образуя с водой водородные связи, и составляют гидрофильную оболочку белка. За счет гидрофильной оболочки крупная молекула белка хорошо растворима в воде. Гидрофильные радикалы, оказавшиеся внутри белковой молекулы, образуют друг с другом водородные и ионные связи. В белках, функционирующих в гидрофобном окружении (белки мембран), обратное строение: внутри – гидрофильные радикалы, а снаружи – гидрофобные.

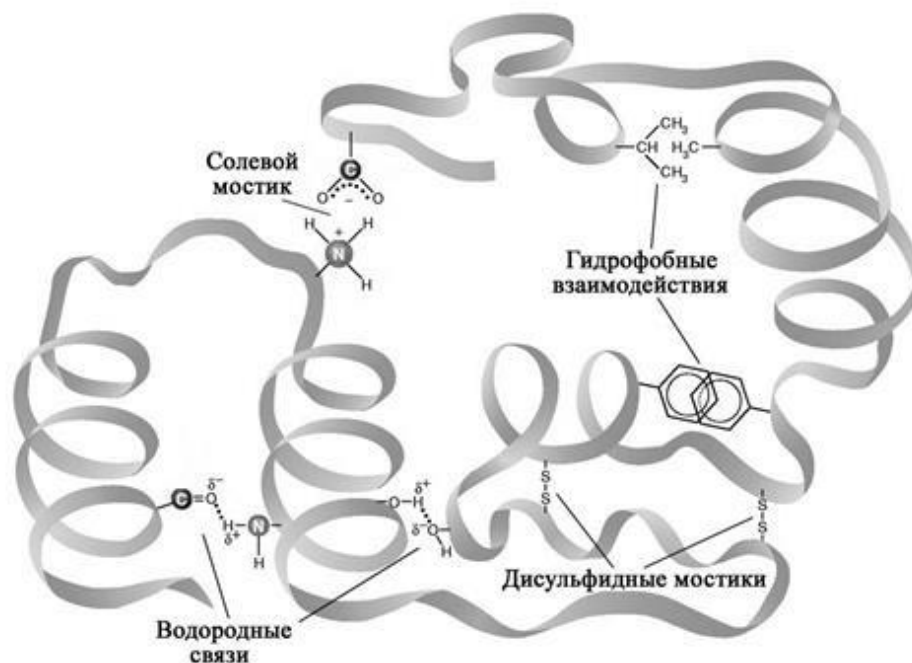


Рис. 1.5. Третичная структура белка

Между радикалами цистеина может образовываться прочная ковалентная связь – дисульфидная [2].

Выделяют четыре типа третичной структуры белка:

1. α/α – структура состоит только из α – спиралей;
2. $\alpha+\beta$ – на одном участке α –спирали, а на другом участке β –складки;
3. β/β – структура состоит только из β – складок;
4. α/β – чередование α – спиралей и β – складок.

Супервторичная структура белка

Супервторичная структура белка – сходные сочетания и взаиморасположение вторичных структур в белке. Это специфическое сочетание элементов вторичной структуры при формировании третичной структуры белка. В формировании супервторичной структуры могут принимать участие межрадикальные взаимодействия. Примеры: « α -спираль – поворот – α -спираль»; «лейциновая застежка молния», «цинковые пальцы», « β -бочонок» и др.

1. Супервторичная структура типа β -бочонок. Действительно напоминает бочонок, где каждая β -структура расположена внутри и связана α -спиральным участком цепи, находящимся на поверхности. Характерна для некоторых ферментов, например, триозофосфатизомеразы, пируваткиназы.
2. Структурный мотив « α -спираль – поворот – α -спираль». Обнаружен во многих ДНК-связывающих белках.
3. Супервторичная структура в виде «цинкового пальца». Характерна также для ДНК-связывающих белков. «Цинковый палец» – фрагмент белка, содержащий около 20 аминокислот, в котором атом цинка связан с радикалами четырех аминокислот: обычно с двумя остатками цистеина и двумя – гистидина.
4. Супервторичная структура в виде «лейциновой застежки-молнии». Объединение протомеров или отдельных белков в комплексы иногда осуществляется с помощью структурных мотивов, называемых «лейциновая застежка-молния». Примером такого соединения белков могут служить гистоны. Это ядерные белки, в состав которых входит большое количество положительно заряженных аминокислот – аргинина и лизина. Молекулы гистонов объединяются в комплексы с помощью «лейциновых застежек», несмотря на то, что все мономеры имеют сильный положительный заряд.

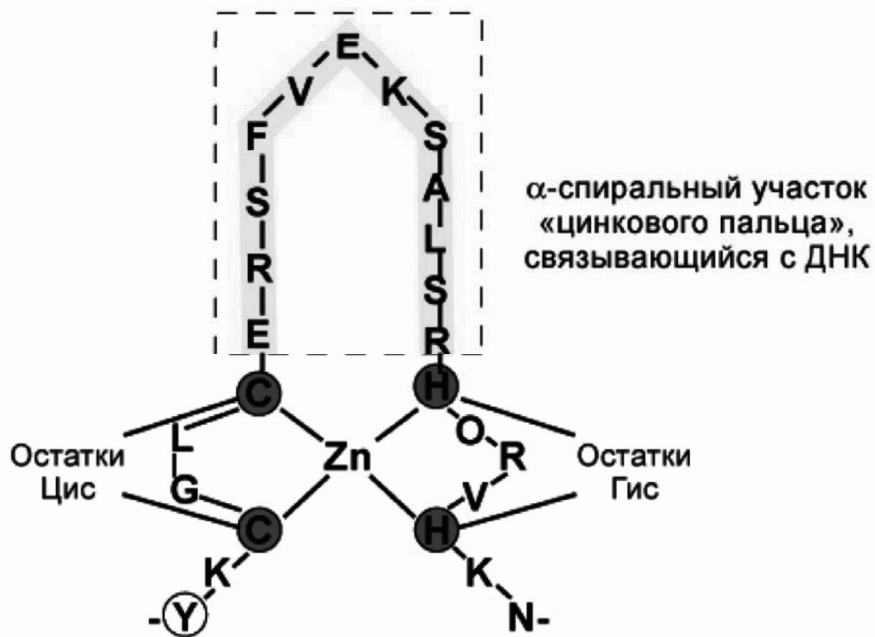


Рис. 1.6. Фрагмент ДНК-связывающего белка в форме «цинкового пальца»

Все связи, стабилизирующие вторичную и третичную структуру (кроме дисульфидных), – слабые. Они могут разрываться даже при комнатной температуре. Поэтому для белков характерно уникальное свойство: конформационная лабильность. *Конформационная лабильность* – это способность белков к небольшим изменениям конформации в результате разрыва одних и образования других слабых связей. Эта способность помогает белкам функционировать [3].

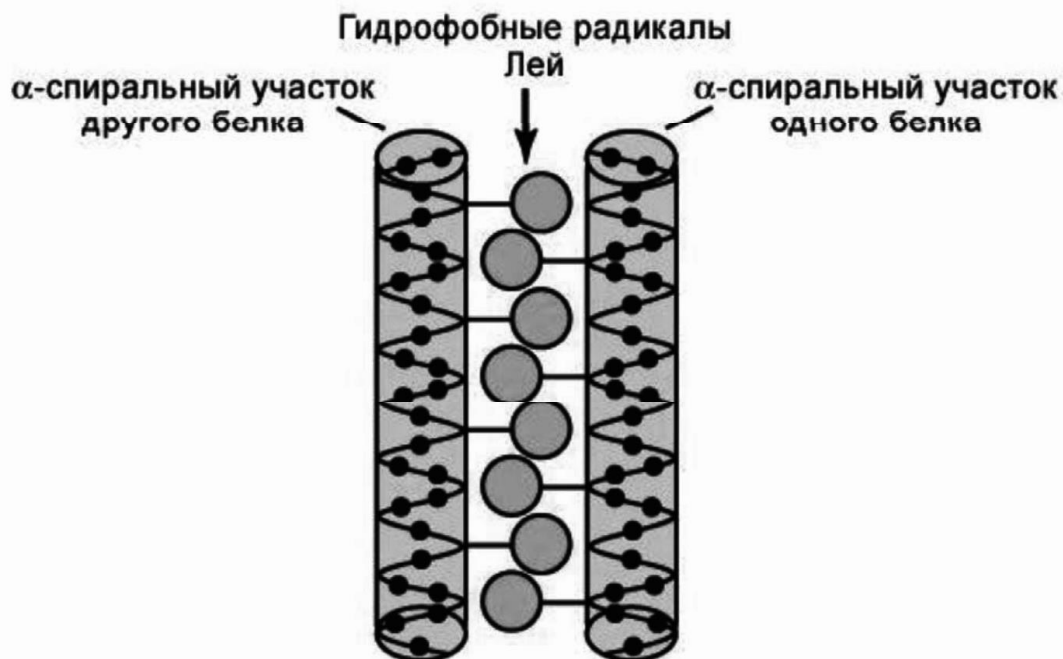


Рис. 1.7. «Лейциновая застежка-молния» между α-спиральными участками двух белков

Четвертичная структура характерна для белков, состоящих из нескольких полипептидных цепей. Она возникает в результате ассоциации нескольких субъединиц в компактную глобулу. Это взаимное расположение субъединиц белка в пространстве.

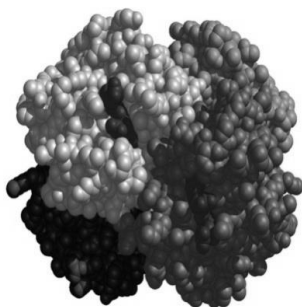


Рис. 1.8. Четвертичная структура белка

1.4. Классификация белков

Белки можно классифицировать:

- по структуре и составу: *простые* (только аминокислоты), *сложные* (аминокислоты и липидные фрагменты).
- по составу: *полноценные* и *неполноценные*
- по форме: *глобулярные* и *фибриллярные* (эластин, кератин).

Отношение продольной и поперечной осей мысленно проведенных через центр белковой молекулы, а именно 3-4 — сферические, > 10 — длинные;

- по функциональным свойствам: *каталитически активные* (катализаторы), *генно-регуляторные* (регуляция экспрессии генов), *сократительные* (актин, состав мышечных волокон), *транспортные*, *гормональные* (участвуют в обмене веществ), *защитные* (иммуноглобулин, интерферон, тромбин), *структурные* (кератин, эластин + формируют опорные и соединительные ткани) и *рецепторные* (способствуют восприятию импульсов);

- по растворимости: *альбумины* (растворяются в воде и водно-солевых растворах), *проламины* (растворимы в 80%-ном спирте), *гистоны* (белки ядер клеток растений и животных, обогащенные аминокислотами — лиз, арг), *глобулины* (растворяются в воде), *глутелины* (растворимы в водных растворах щелочей, кислот), *протамины* (сильноосновные с низкой молекулярной массой, растворимы в слабых кислотах), *склеропотеины* (не растворимы).

1.5. Нативные свойства белков

Так как структура белка поддерживается водородными связями, то белки способны денатурировать. При денатурации специфическая про-

пространственная структура (четвертичная, третичная и вторичная) разрушается, и с точки зрения конформационных характеристик денатурированный белок представляет собой «полный хаос».

Денатурация — это процесс разрушения нативной структуры, обусловленный разрывом невалентных связей с сохранением первичной структуры.

Реагенты и условия, вызывающие денатурацию:

- нагрев. В большинстве случаев белки денатурируют при 50-60°C, а термостабильные при 100°C. Температура, при которой 50% нативного белка подвергается денатурации, называется температурой перехода. Пример тепловой денатурации – свертывание белка при варке яиц;

- соли тяжелых металлов (Ag, Pb, Hg, Cu). При обработке солями тяжелых металлов образуются нерастворимые соли белков с ионами тяжелых металлов;

- изменение pH. Одни белки стабильны при кислых значениях pH (например, пепсин), другие – при щелочных (щелочные протеазы), третьи стабильны при нейтральных. Часто для денатурации белков применяют 8M раствор мочевины или 6M раствор гидрохлорида гуанидина;

- обработка денатурирующими агентами. Кислоты и щелочи изменяют ионизацию ионогенных групп, разрывают ионные и водородные связи. Спирт, фенол, хлорамин и другие денатурирующие агенты разрушают водородные и гидрофобные связи.

При денатурации полипептидная цепь раскручивается и гидрофобные участки оказываются на поверхности молекулы. Полярные и ионогенные становятся открытыми, создаются невалентные взаимодействия, что приводит к агрегатированию белков, то есть выпадает осадок.

В биохимических исследованиях перед определением в биологическом материале низкомолекулярных соединений обычно из раствора вначале удаляют белки. Для этой цели чаще всего используют трихлоруксусную кислоту (ТХУ). После добавления ТХУ в раствор денатурированные белки выпадают в осадок и легко удаляются фильтрованием. В медицине денатурирующие агенты часто применяют для стерилизации медицинского инструмента и материала в автоклавах (денатурирующий агент- высокая температура) и в качестве антисептиков (спирт, фенол, хлорамин) для обработки загрязненных поверхностей, содержащих патогенную микрофлору.

Ренатурация — восстановление структуры и биологической активности (затруднена в организме).

Формирование пространственных структур белка осуществляется способом самосборки - самопроизвольного процесса, при котором поли-

пептидная цепь, имеющая уникальную первичную структуру, стремится принять в растворе конформацию с наименьшей свободной энергией. Способность к ренативации белков, сохраняющих после денатурации первичную структуру, описана в опыте с ферментом рибонуклеазой. Рибонуклеаза - фермент, разрушающий связи между отдельными нуклеотидами в молекуле РНК. Этот глобулярный белок имеет одну полипептидную цепь, третичная структура которой стабилизирована множеством слабых и четырьмя дисульфидными связями. Обработка рибонуклеазы мочевиной, разрушающей водородные связи в молекуле, и восстановителем,рывающим дисульфидные связи, приводит к денатурации фермента и потере его активности. Удаление денатурирующих агентов диализом приводит к восстановлению конформации и функции белка, то есть к ренативации.

1.6. Методы разделения белков

Выделяют следующие методы:

1. Избирательная тепловая денатурация – кратковременное нагревание раствора белков, при котором можно удалить часть денатурированных белковых примесей, в том случае, если исследуемый белок относительно термостабилен.

2. Высаливание. Различные белки выпадают в осадок при разной концентрации соли в растворе. Постепенно повышая концентрацию водно-солевого раствора, можно получить ряд отдельных фракций с преимущественным содержанием выделяемого белка в одной из них. Наиболее часто используют сульфат аммония.

3. Гель-фильтрация – метод молекулярного просеивания молекул через набухшие гранулы сефадекса (трехмерные полисахаридные цепи декстрана, имеющие поры). Скорость прохождения белков через колонку зависит от молекулярной массы: чем меньше масса молекул, тем легче они проникают внутрь гранул и дольше там задерживаются.

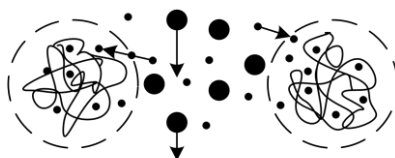


Рис. 1.9. Схема гель-фильтрации

4. Ультрацентрифугирование – метод, основанный на седиментации белков под действием центробежного ускорения. Белки в пробирке помещают в ротор центрифуги, при вращении ротора скорость осаждения белков пропорциональна их молекулярной массе. Более тяже-

лые белки образуют фракции, расположенные ближе ко дну кюветы, низкомолекулярные – к поверхности.

5. Электрофорез – метод, в основе которого лежат различия в скорости движения белков в электрическом поле. Электрофоретическая подвижность пропорциональна заряду белков. Электрофорез проводят на бумаге (где скорость перемещения белков пропорциональна только заряду) или в полиакриламидном геле, имеющем определенный размер пор.

6. Ионообменная хроматография – метод фракционирования, основанный на связывании ионогенных групп белков с противоположно заряженными группами ионообменных нерастворимых полимеров. Прочность связывания белка со смолой пропорциональна заряду белка. Белки, адсорбированные в ионообменном полимере, можно смыть раствором с нарастающей концентрацией NaCl: чем меньше заряд белка, тем меньшая концентрация необходима.

7. Аффинная хроматография – наиболее специфический метод выделения белков. К инертному полимеру ковалентно присоединяется лиганд какого-либо белка. При пропускании раствора белков через колонку с полимером за счет комплементарного связывания белка со специфическим для него лигандом на колонке адсорбируется только данный белок.

8. Диализ – метод используется для удаления низкомолекулярных соединений из водного раствора выделяемой белковой фракции, например, солей после высаливания, основан на неспособности высокомолекулярных белков проходить через полупроницаемую мембрану, пропускающую только низкомолекулярные соединения.

ГЛАВА 2. ФЕРМЕНТЫ

Ферменты — катализаторы белковой природы, образующиеся и функционирующие во всех живых организмах. Ферменты являются необычайно мощными биокатализаторами, намного превосходящими по своей эффективности синтетические. Они высокоспецифичны по отношению к своим субстратам и ускоряют строго определенные химические реакции без образования побочных продуктов. Ферменты обеспечивают осуществление важнейших процессов жизнедеятельности: реализацию наследственной информации, биоэнергетику, синтез и распад биомолекул. Организованная последовательность процессов обмена возможна при условии, что каждая клетка обеспечена собственным генетически заданным набором ферментов. Только при этом условии осуществляется упорядоченная последовательность химических реакций, проходящих с высокой продуктивностью.

2.1. Номенклатура и классификация ферментов

К настоящему времени идентифицировано свыше 2 000 различных ферментов, каждый из которых катализирует какую-то определенную химическую реакцию. Первоначально ферментам давали названия, добавляя окончания -аза к названию субстрата. Так, ферменты, гидролизующие крахмал (амилон), были названы амилазами, ферменты, гидролизующие жиры (липос), липазами и т. д. Позднее ферментам, катализирующим сходные по типу реакции, стали давать названия, указывающие тип соответствующей реакции.

Номенклатура, введенная Международным биохимическим союзом (IUB), состоит в том, что ферменты называют и классифицируют в соответствии с типом катализируемой химической реакции. Все известные на сегодняшний день ферменты включены в «Каталог ферментов» под своим классификационным номером (КФ), состоящим из четырех цифр. Первая цифра указывает на принадлежность к одному из шести классов. Следующие две цифры определяют подкласс и подподкласс, а последняя — номер фермента в данном подподклассе. Например, лактатдегидрогеназа имеет КФ: 1.1.1.27 (класс 1 оксидоредуктаза, подкласс 1 донор электрона СН—ОН, подподкласс акцептор НАД⁺). Кроме научных систематических названий, в ферментологии используются и тривиальные, например, пепсин, трипсин, папаин, цитохромы и др.

Классификация ферментов строго научная и основана на типе реакции, подвергающейся каталитическому воздействию. По этому принципу все ферменты делятся на шесть классов. В каждом из шести классов объ-

единены ферменты, обладающие одинаковой реакционной специфичностью.

Класс 1. Оксидоредуктазы – катализируют окислительно-восстановительные реакции. Класс делится на подклассы:

а) **дегидрогеназы** катализируют реакции дегидрирования (отщепления водорода с переносом электронов от дегидрируемого субстрата на другой акцептор). В качестве акцепторов электронов используются коферменты NAD⁺, NADP⁺, FAD, FMN. К этому подклассу относятся ферменты: малатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, α-кетобутиратдегидрогеназа и др.;

б) **оксидазы** - катализируют реакции окисления с участием молекулярного кислорода;

в) **оксигеназы** (гидроксилазы) катализируют реакции окисления путем включения атома кислорода в гидроксильную группу молекулы субстрата. Реакция протекает с участием молекулярного кислорода, один атом которого присоединяется к субстрату, а второй участвует в образовании молекулы воды.

Класс 2. Трансферазы – переносят ту или иную функциональную группу от одного субстрата на другой. Разделяются на подклассы в зависимости от субстрата. Названия образуются в зависимости от молекулы субстрата или конкретной гидролизуемой химической связи: протеазы, амилазы, гликозидазы, нуклеазы, эстеразы, фосфатазы и др.

Класс 3. Гидролазы – также участвуют в переносе групп, однако акцептором являются молекулы воды.

Класс 4. Лиазы катализируют расщепление или образование химических соединений, при этом образуются или исчезают двойные связи. Поскольку ферменты 4-го класса участвуют в реакциях образования химических соединений, их также называют синтазами.

Класс 5. Изомеразы – перемещают группы в пределах одной молекулы без изменения общей формулы субстрата.

Класс 6. Лигаза (синтетаза) – катализируют энергозависимые реакции синтеза (чаще за счет расщепления АТФ).

Для ферментов характерны:

- специфичность. Биологическая функция фермента, как и любого белка, обусловлена наличием в его структуре активного центра, с которым взаимодействует определенный лиганд. Лиганд, взаимодействующий с активным центром фермента, называется субстратом;
- каталитическая эффективность. Большинство катализируемых ферментами реакций высокоэффективны, они протекают в 10^8 - 10^{14} раз быстрее, чем некатализируемые реакции. Каждая молекула фермента спо-

способна за секунду трансформировать от 100 до 1000 молекул субстрата в продукт;

- конформационная лабильность. Каталитическая эффективность фермента, как и любой белковой молекулы, зависит от его конформации и, в частности, от конформации активного центра. В клетках имеются вещества, способные вызывать незначительные изменения конформации молекулы фермента за счет разрыва одних и образования других слабых связей: это может вызывать как повышение, так и снижение активности фермента.

По строению ферменты могут быть однокомпонентными — простые белки и двухкомпонентными — сложные белки. Во втором случае в составе ферментов обнаруживается добавочная группа небелковой природы. Белковую часть двухкомпонентных ферментов называют апоферментом, а небелковую часть — кофактором. Кофактор условно разделяют на кофермент, легко диссоциирующий, и простетическую группу, труднодиссоциирующую. Кофермент легко присоединяется к различным апоферментам, а простетическая группа соединяется с одним и тем же апоферментом.

2.2. Механизм действия ферментов

1. Активный центр ферментов – это определенный участок белковой молекулы, способный комплементарно связываться с субстратом и обеспечивающий его каталитическое превращение. Структура активного центра сформирована радикалами аминокислот, как и в случае активного центра любого белка. В активном центре фермента имеются аминокислотные остатки, функциональные группы которых обеспечивают комплементарное связывание субстрата (участок связывания), и аминокислотные остатки, функциональные группы которых осуществляют химическое превращение субстрата (каталитический участок).

2. Аллостерический центр (allos – чужой) – центр регуляции активности фермента, который пространственно отделен от активного центра и имеется не у всех ферментов. Связывание с аллостерическим центром какой-либо молекулы (называемой активатором или ингибитором, а также эффектором, модулятором, регулятором) вызывает изменение конфигурации белка-фермента и, как следствие, скорости ферментативной реакции.



Рис. 2.1. Схематическое изображение основных участков фермента

Специфичность – наиболее важное свойство ферментов, определяющее их биологическую значимость. Различают субстратную и каталитическую специфичности фермента, которые определяются строением активного центра. Субстратная специфичность – это способность каждого фермента взаимодействовать лишь с одним или несколькими определенными субстратами. Каталитическая специфичность обеспечивает преобразование одного и того же субстрата под действием разных ферментов. Это обусловлено строением каталитических участков активных центров соответствующих ферментов.

Ферменты специфически связывают субстраты в активном центре. При этом субстраты ориентируются таким образом, что приобретают оптимальное положение для образования переходного состояния (фермент-субстратного комплекса). Сближение и необходимая ориентация реагентов значительно повышает вероятность образования продуктивного комплекса.

Если обозначить фермент E, субстрат S, активированный субстрат S', продукт реакции P, то механизм действия ферментов можно выразить достаточно простой схемой:



Эта схема первоначально была разработана В. Генри (1903 г.), затем Л. Михаэлисом и М. Ментен (1913 г.) и подтверждена прямым выделением ES-, ES'-и EP-комплексов.

На 1-м этапе происходит сближение и ориентация субстрата в области

активного центра фермента. На этапе 2 в результате индуцированного соответствия (изменение конформации субстрата (S) и активного центра фермента) образуется фермент-субстратный комплекс (ES). На этапе 3 происходит дестабилизация связей в субстрате и образование неустойчивого комплекса фермент-продукт (EP). На этапе 4 происходит распад

комплекса (EP) с высвобождением продуктов реакции из активного центра и освобождением фермента.

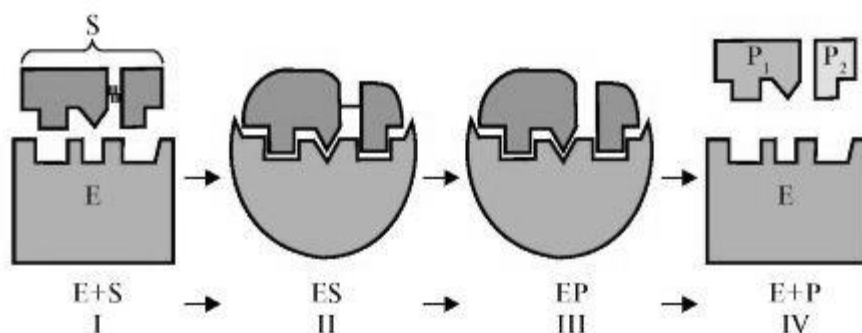


Рис. 2.2. Механизм действия ферментов:

I - этап сближения и ориентации субстрата в активном центре фермента;

II - образование фермент-субстратного комплекса (ES);

III - образование нестабильного комплекса фермент-продукт (EP);

IV - высвобождение продуктов реакции из активного центра фермента

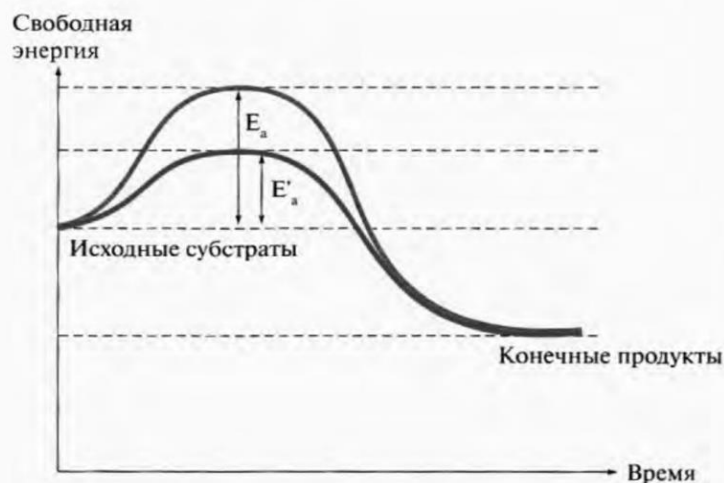


Рис. 2.3. Изменение свободной энергии в ходе химической реакции, некатализируемой и катализируемой ферментами:

E_a – энергия активации некатализируемой реакции;

E'_a – энергия активации катализируемой ферментом реакции

Фермент понижает энергию активации E_a , т.е. снижает высоту энергетического барьера, в результате возрастает доля реакционно-способных молекул и повышается скорость реакции [4].

МЕХАНИЗМЫ СПЕЦИФИЧНОСТИ. В общем виде все сводится к комплементарному взаимодействию фермента и субстрата. При этом функциональные группы субстрата взаимодействуют с соответствующи-

ми им функциональными группами фермента. Наличие субстратной специфичности объясняют две гипотезы:

1. Гипотеза Фишера (модель «жесткой матрицы», «ключ-замок») – активный центр фермента строго соответствует конфигурации субстрата и не изменяется при его присоединении. Эта модель хорошо объясняет абсолютную специфичность, но не групповую.



Рис. 2.4. Теория Фишера – модель специфичности «ключ-замок»

2. Гипотеза Кошланда (модель «индуцированного соответствия», «рука-перчатка») – подразумевает гибкость активного центра. Присоединение субстрата к якорному участку фермента вызывает изменение конфигурации каталитического центра таким образом, чтобы его форма соответствовала форме субстрата.



Рис. 2.5. Теория Кошланда – модель специфичности «рука - перчатка»

ГЛАВА 3. УГЛЕВОДЫ

Углеводы можно считать основой существования большинства организмов. В таких углеводах, как крахмал и сахара, заключено основное количество калорий, получаемых с пищей человеком, почти всеми животными и многими бактериями. Центральное место углеводы занимают и в метаболизме зеленых растений и других фотосинтезирующих организмов, утилизирующих солнечную энергию для синтеза углеводов из CO_2 и H_2O . Образующиеся в результате фотосинтеза огромные количества крахмала и других углеводов играют роль главных источников энергии и углерода для неспособных к фотосинтезу клеток животных, растений и микроорганизмов. Углеводам присущи также и другие важные биологические функции. Крахмал и гликоген используются как временные депо глюкозы.

К углеводам относят моносахариды и образованные ими олигомеры и полисахариды – олиго- и полисахариды соответственно.

3.1. Моносахариды

Моносахариды – бесцветные, твердые кристаллические вещества, легко растворяющиеся в воде, но не растворимые в неполярных растворителях. К ним относят углеводы, которые не могут быть гидролизованы до более простых углеводных форм. В зависимости от числа углеродов моносахариды подразделяются на триозы, тетрозы, пентозы, гексозы. В природе чаще встречаются пентозы и гексозы. В зависимости от функциональной группы, входящей в состав моносахарида, различают альдозы и кетозы (табл. 3.1).

Таблица 3.1

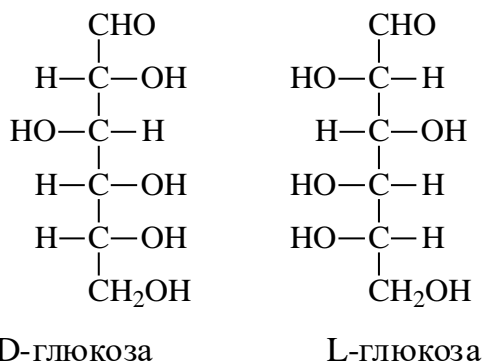
Классификация углеводов

По характеру функциональных групп	По числу атомов углерода		
	Тетрозы $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$	Пентозы $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$	Гексозы $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$
1	2	3	4
Альдозы (содержат альдегидную группу)	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{C}=\text{O} \\ \\ \text{C}\text{H}\text{O}\text{H} \\ \\ \text{C}\text{H}\text{O}\text{H} \\ \\ \text{C}\text{H}_2\text{O}\text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{C}=\text{O} \\ \\ \text{C}\text{H}\text{O}\text{H} \\ \\ \text{C}\text{H}\text{O}\text{H} \\ \\ \text{C}\text{H}\text{O}\text{H} \\ \\ \text{C}\text{H}_2\text{O}\text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{C}=\text{O} \\ \\ \text{C}\text{H}\text{O}\text{H} \\ \\ \text{C}\text{H}\text{O}\text{H} \\ \\ \text{C}\text{H}\text{O}\text{H} \\ \\ \text{C}\text{H}\text{O}\text{H} \\ \\ \text{C}\text{H}_2\text{O}\text{H} \end{array}$
	альдотетрозы	альдопентозы	альдогексозы

1	2	3	4
Кетозы (содержат кетонную группу)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
	кетотетрозы	кетопентозы	кетогексозы

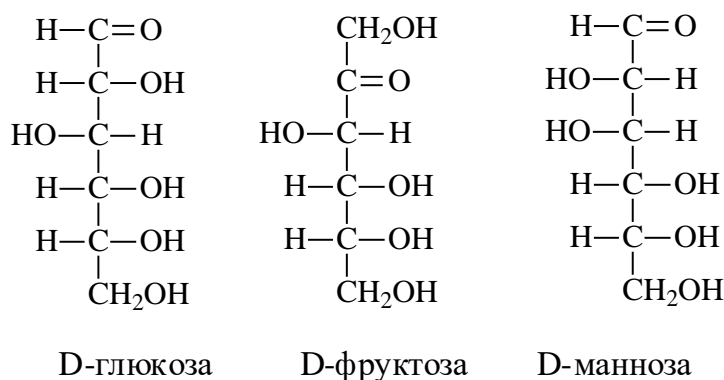
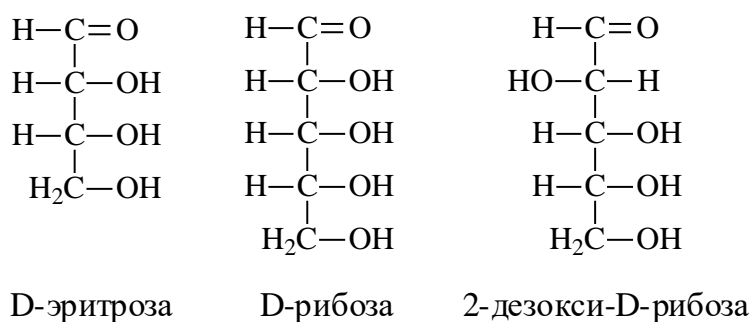
Альдегидная группа находится у C1, кетогруппа у C2. Моносахариды имеют один или несколько ассиметричных атомов углерода. Наличие хиральных центров является причиной существования большого числа стереоизомеров.

Различают D и L изомеры. Принадлежность к D или L изомерам определяется по гидроксильной группе у последнего хирального атома углерода. Если Он группа справа - D изомер, если слева - L.

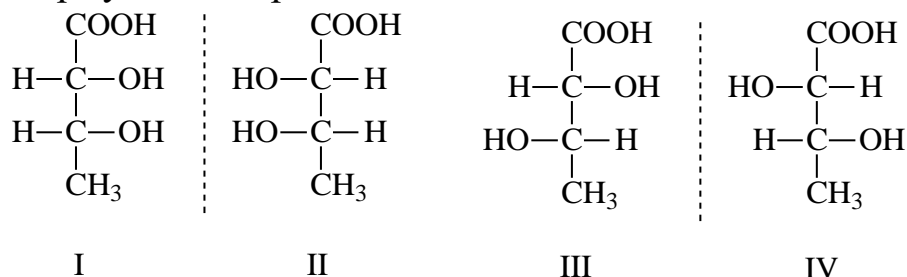


Стереоизомеры, которые отличаются конфигурацией одного или нескольких центров хиральности и не являются антиподами (зеркальное отображение), называются диастереомерами. У альдогексоз 4 хиральных центра, следовательно, 16 диастереомеров. 8 из них D ряда, 8 – L ряда.

Стереоизомеры, молекулы которых соотносятся между собой как предмет и несовместимое с ним в пространстве зеркальное отражение, называются энантиомерами. Энантиомеры имеют одинаковые физико-химические свойства и отличаются направлением вращения плоскости поляризованного света. Правовращающие моносахариды обозначают +, левовращающие – (против часовой стрелки).



Формула Фишера:

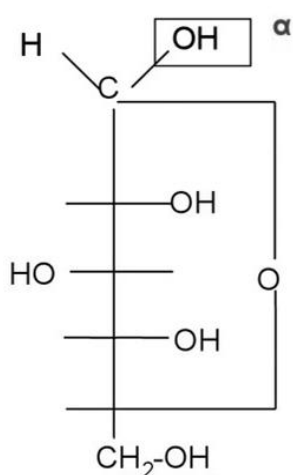


Соединения I и II, а также III и IV являются попарно оптическими антиподами (энантиомерами). Оптические изомеры I и III, I и IV, II и III, II и IV не являются оптическими антиподами, их называют диастереомерами.

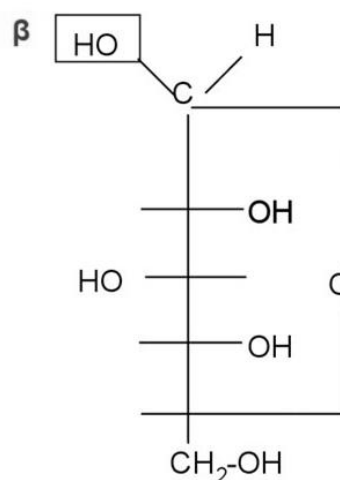
Стереизомеры, отличающиеся только конфигурацией у одного атома углерода, – эпимеры. Если энантиомеры берутся в равных количествах, то образуется рацемическая смесь, или рацемат. Рацемат не обладает оптической активностью.

Начиная с альдететроз и кетопентоз, моносахариды могут существовать в циклической форме. Впервые предположение о циклической структуре моносахаридов было выдвинуто М.А.Колли и подтверждено Б.Толленсом в 1870 г. В связи с чем циклические структуры представляются проекционными формулами Колли-Толленса. Циклизация протекает за счет внутримолекулярного взаимодействия альдо- и кетогруппы с гидроксильным фрагментом, удаленным на 2-4 фрагмента. При этом у атома C1 и C2 появляется новая гидроксильная группа, называемая гликозидной.

Формула Колли-Толленса:



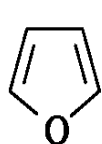
α – D глюкопираноза



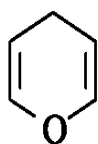
β – D глюкопираноза

По отношению к плоскости цикла гликозидный гидроксил может занимать два положения, соответственно для циклических моносахаридов существует еще один тип изомерии. Изомеры положения гликозидного гидроксила называются апомерами, или α, β – изомеры. Если гликозидный гидроксил справа от углеродной линии – α изомер, слева – β изомер.

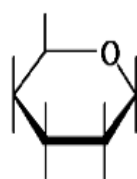
Чаще циклическую структуру моносахаридов изображают перспективными формулами Хеуорса. В этом случае цикл может быть пятичленным (по аналогии с органическим веществом фураном) – фураноза, а может и шестичленным (основа пиран) – пираноза.



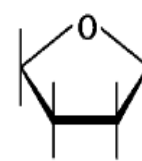
фуран



пиран



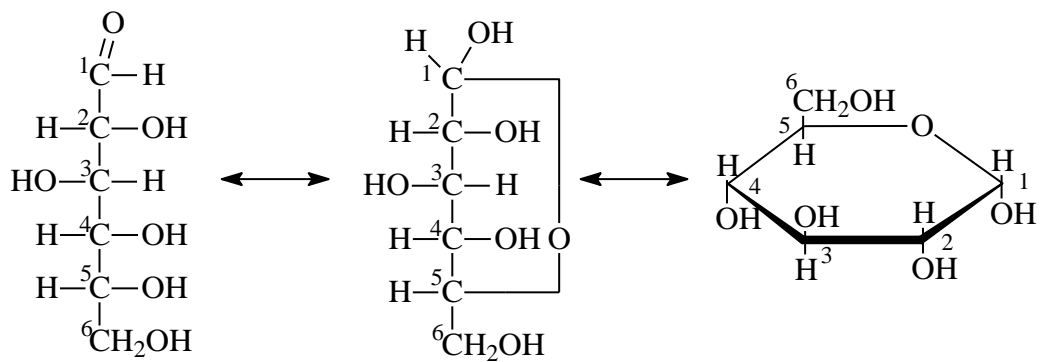
пиранозный цикл



фуранозный цикл

При преобразовании проекционных форм Колли-Толленса в перспективные формы Хеуорса поступают следующим образом: все атомы и группы, находящиеся в форме Колли-Толленса справа от углеродной цепи, размещаются под плоскостью цикла*. Группа CH_2OH в D-ряду всегда под циклом.

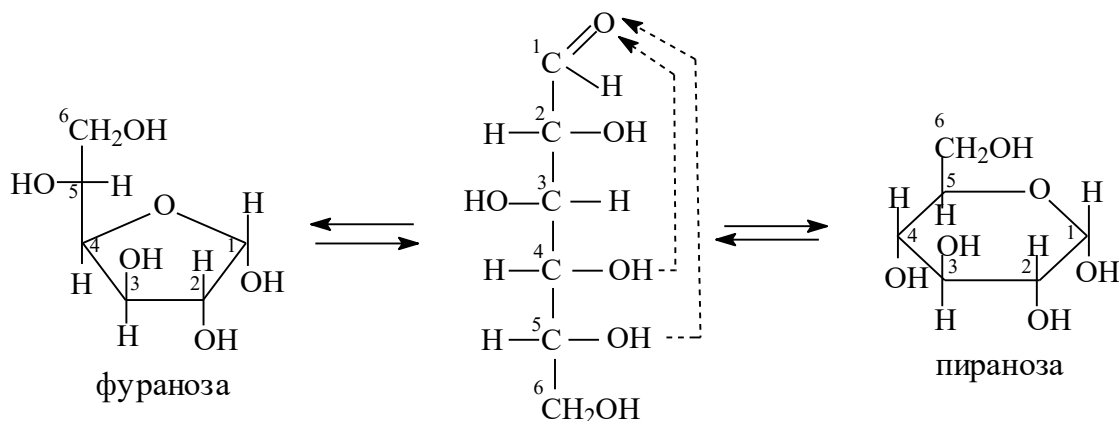
*За плоскость кольца (цикла) принимают среднюю плоскость цикла, который сам по себе вследствие алифатического характера не является плоским и подвержен ряду конформационных изменений.



глюкоза
(по Фишеру)

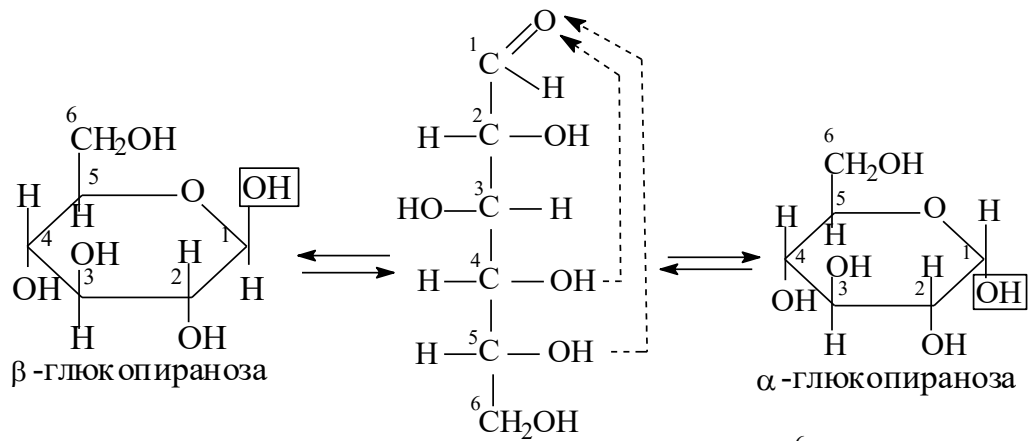
α-глюкоза
(по Колли – Толленсу)

α – D – глюкопираноза
(по Хеурсу)



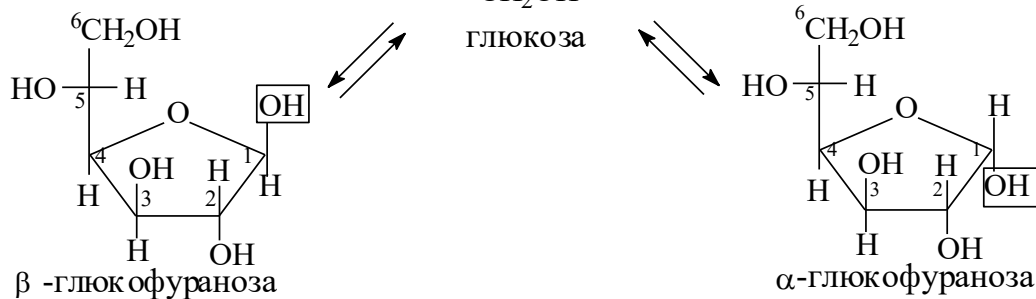
фураноза

пираноза



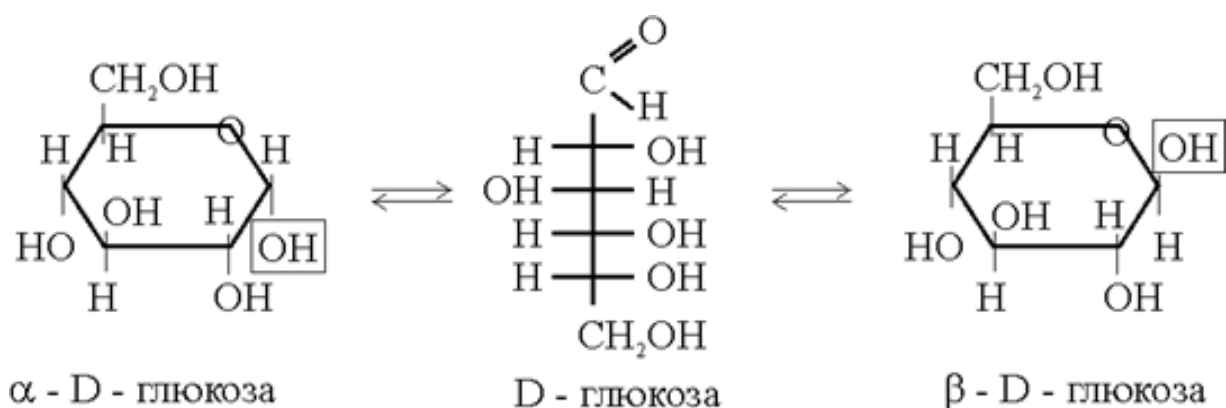
β -глюк опираноза

α -глюкопираноза



β -глюк офураноза

α-глюкофураноза

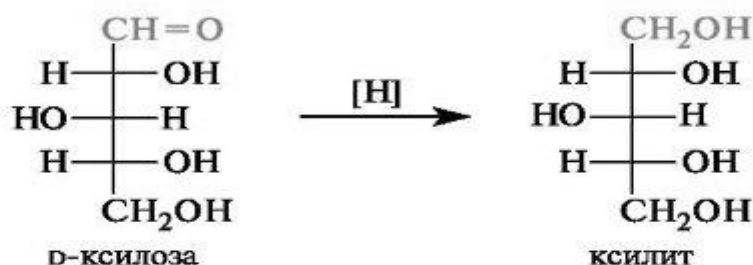


Циклическая структура в растворе может раскрываться, переходя в линейную, и снова циклизоваться, но с новым положением гликозидного гидроксила.

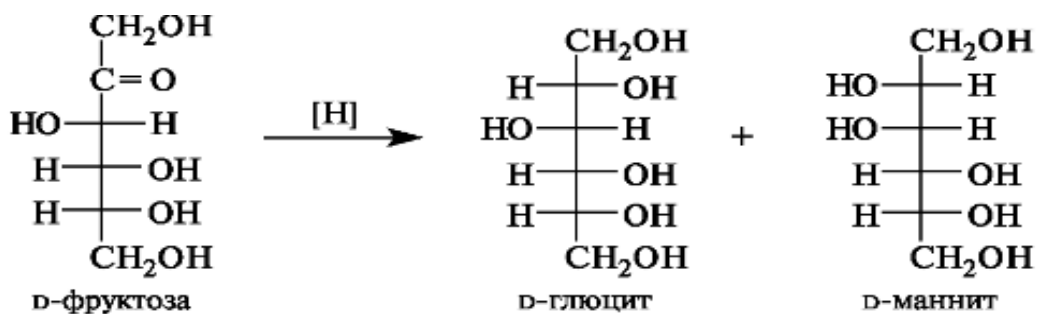
Химические свойства моносахаридов

По химической природе моносахариды являются полуацетальдами, или полукетальдами, соответственно вступают в реакции, характерные для альдегидов и кетонов.

Восстановление. При восстановлении моносахаридов (их альдегидной или кетонной группы) образуются альдиты.

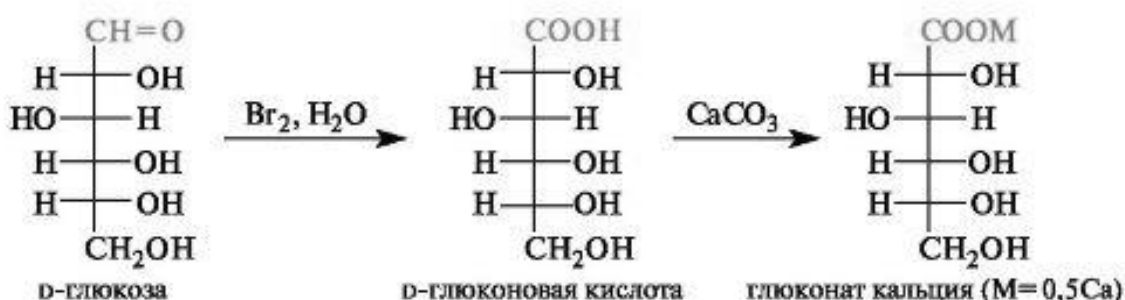


Шестиатомные спирты - D-глюцит (сорбит) и D-маннит - получают при восстановлении глюкозы и маннозы соответственно. Альдиты легко растворимы в воде, обладают сладким вкусом, некоторые из них (ксилит и сорбит) используются как заменители сахара для больных сахарным диабетом. При восстановлении альдоз получается лишь один полиол, при восстановлении кетоз - смесь двух полиолов; например, из d-фруктозы образуются d-глюцит и d-маннит.

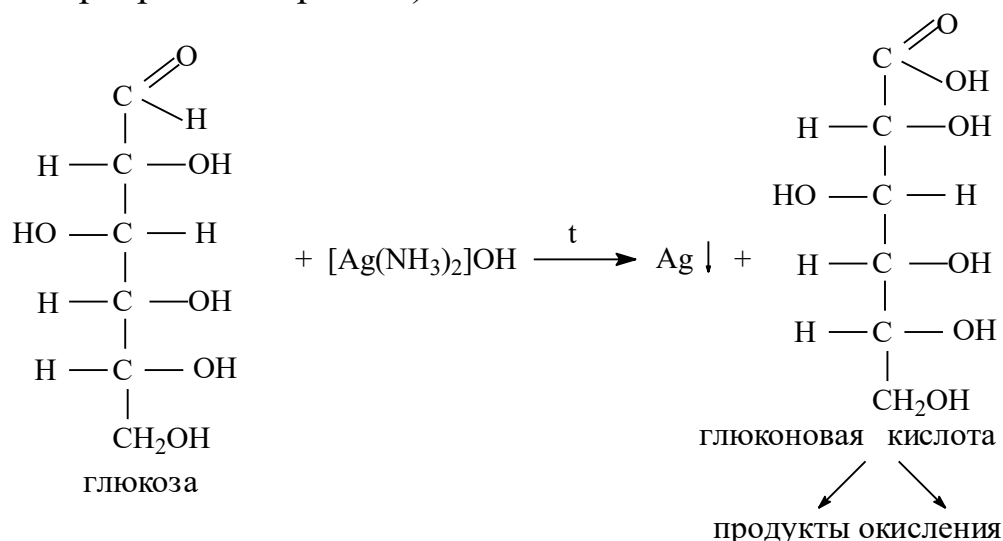


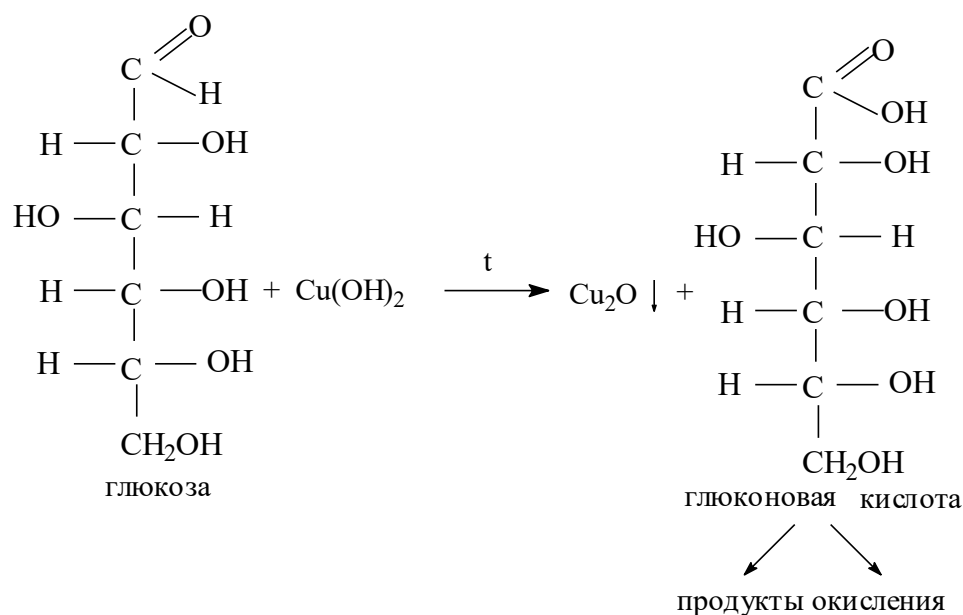
Окисление. Моносахариды легко восстанавливают такие окислители, как феррицианид, перекись водорода или ионы двухвалентной меди. В этих реакциях окисляется карбонильная группа сахаров и восстанавливается окислитель. Измеряя количество окислителя, восстановленное раствором сахара, можно вычислить концентрацию сахара. Таким образом, реакции окисления используют для обнаружения моносахаридов, в частности глюкозы, в биологических жидкостях (моча, кровь).

В молекуле моносахарида окислению может подвергаться любой атом углерода, но легче всего окисляется альдегидная группа альдоз в открытой форме.



Качественными реакциями на альдозы являются реакции с реактивом Толленса и жидкостью Фелинга. Реактив Толленса $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$ (реакция «серебряного зеркала»)

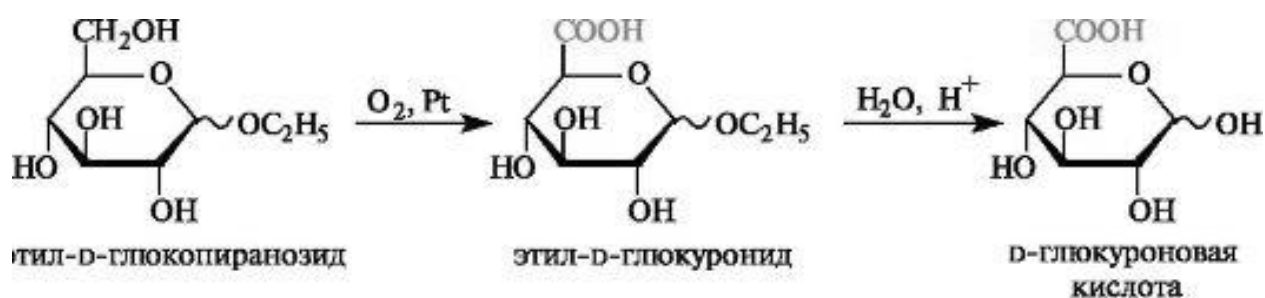




Благодаря способности восстанавливать ионы Cu^{2+} или Ag^+ моносахариды и их производные, содержащие потенциальную альдегидную группу, называют *восстанавливающими*.

Гликозиды не проявляют восстановительной способности и не дают положительной пробы с этими реактивами. Однако кетозы способны восстанавливать катионы металлов, так как в щелочной среде они изомеризуются в альдозы.

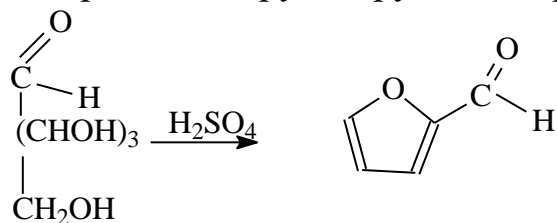
Прямое окисление звена CH_2OH моносахаридов в карбоксильную группу невозможно из-за присутствия более склонной к окислению альдегидной группы, поэтому для превращения моносахарида в уроновую кислоту окислению подвергают моносахарид с защищенной альдегидной группой, например, в виде гликозида.



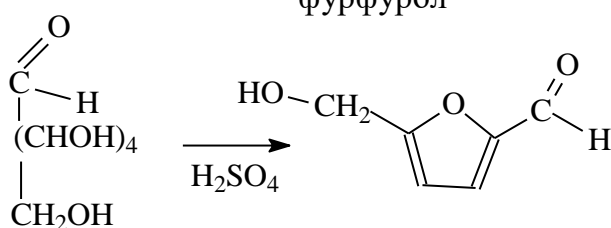
Жидкость Фелинга представляет собой водно-щелочной раствор CuSO_4 и Na-K-соли – винной кислоты. При взаимодействии с раствором моносахарида образуется красный осадок.

Как и все многоатомные спирты, глюкоза с гидроксидом меди (II) дает интенсивное синее окрашивание (качественная реакция).

К действию минеральных кислот моносахариды более устойчивы. При действии концентрированной серной кислоты на пентозы происходит деструкция моносахарида с образованием фурфурола. При действии на гексозы образуется гидроксиметил фурфурол. Фурфуры способны конденсироваться друг с другом с окрашиванием продуктов конденсации.

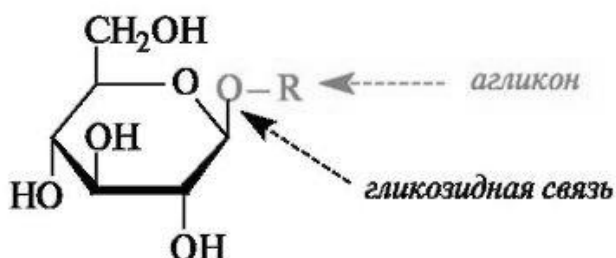


фурфурол

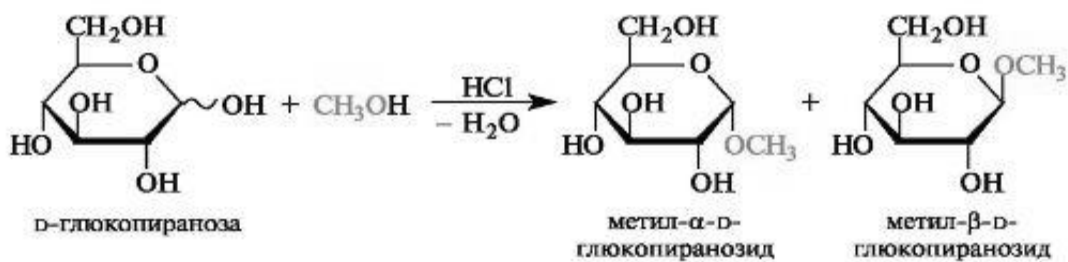


гидроксиметил фурфурол

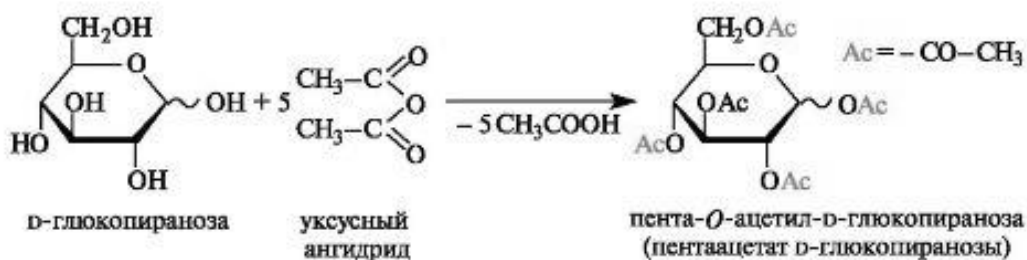
Свойства гликозидного гидроксила отличаются от свойств других ОН-групп. В частности, гликозидный гидроксил может взаимодействовать со спиртами, аминами с образованием группы соединений, называемой гликозиды. К гликозидам относят производные циклических форм углеводов, в которых полуацетальная гидроксильная группа заменена группой OR. Неуглеводный компонент гликозида – *агликон*. Связь между аномерным центром (в альдозах это С-1, в кетозах - С-2) и группой OR называют гликозидной. Гликозиды являются ацеталями циклических форм альдоз или кетоз.



Гликозиды образуются при взаимодействии моносахаридов со спиртами в условиях кислотного катализа; при этом в реакцию вступает только полуацетальная группа ОН:



Сложные эфиры. Моносахариды легко ацилируются ангидридами органических кислот, образуя сложные эфиры с участием всех гидроксильных групп. Например, при взаимодействии с уксусным ангидридом получают ацетильные производные моносахаридов. Сложные эфиры моносахаридов гидролизуются как в кислой, так и щелочной средах.



Большое значение имеют эфиры неорганических кислот, в частности, эфиры фосфорной кислоты - фосфаты. Они содержатся во всех растительных и животных организмах и представляют собой метаболически активные формы моносахаридов. Наиболее важную роль играют фосфаты d-глюкозы и d-фруктозы.

3.2. Олигосахариды. Дисахариды

Олигосахариды составляют промежуточную группу между моно- и полисахаридами. Как правило, к ним относят биополимеры, содержащие от двух до десяти моносахаридных фрагментов.

Дисахариды – это углеводы, молекулы которых состоят из двух остатков моносахаридов, соединенных друг с другом за счет взаимодействия гидроксильных групп (o-гликозидная связь). Гликозидные связи легко гидролизуются кислотами, но устойчивы к действию щелочей.

В образовании гликозидной связи олигосахаридов участвуют полуацетальный гидроксил одного и любой гидроксил, в том числе и полуацетальный, другого моносахаридного остатка. Если один из концевых моносахаридных остатков олигосахарида содержит полуацетальный гидроксил, олигосахарид называется **восстанавливающим (редуцирующим)**. Если же гликозидная связь образуется с полуацетальным гидроксилом другого

моносахарида, то такой олигосахарид **невосстанавливающий (нередуцирующий)**.

Сахароза (тростниковый сахар). Сахароза - нередуцирующий дисахарид. Состоит из α -D-глюкозы и β -D-фруктозы. Где фруктоза находится в фуранозной форме и повернута относительно гликозидного гидроксила на 180° . Между моносахаридами образуется α - β -1,2-о-гликозидная связь. Сахароза обладает наибольшей сладостью по сравнению с другими дисахаридами и глюкозой. Животные не могут усваивать сахарозу как таковую, но она становится доступной для усвоения после воздействия фермента сахаразы (инвертазы), локализованного в клетках тонкого кишечника. Фермент расщепляет сахарозу на D-глюкозу и D-фруктозу, которые легко проникают в кровоток.

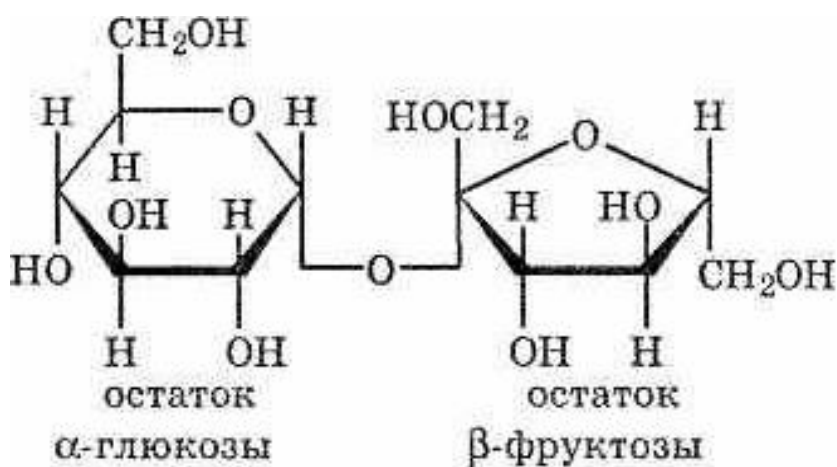


Рис. 3.2. Сахароза

Мальтоза, целлобиоза и трегалоза состоят из молекул D-глюкозы, соединенных разными способами. В мальтозе α -1,4-о-гликозидная связь. Это восстанавливающий дисахарид. Мальтоза мутаротирует. Образуется при ферментативном гидролизе крахмала ферментов β -амилазой, накапливается в период прорастания семян. В большом количестве содержится в солоде.

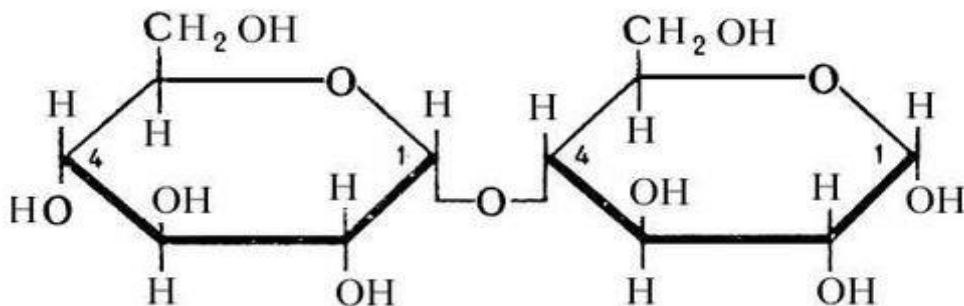


Рис. 3.3. Мальтоза

Лактоза (молочный сахар) состоит из D-галактопиранозы, связанной β -1,4-о-гликозидной связью с остатком D-глюкозы. Лактоза мутаротирует. Содержится только в молоке. В процессе переваривания подвергается действию фермента лактазы, секретируемой мукозными клетками кишечника.

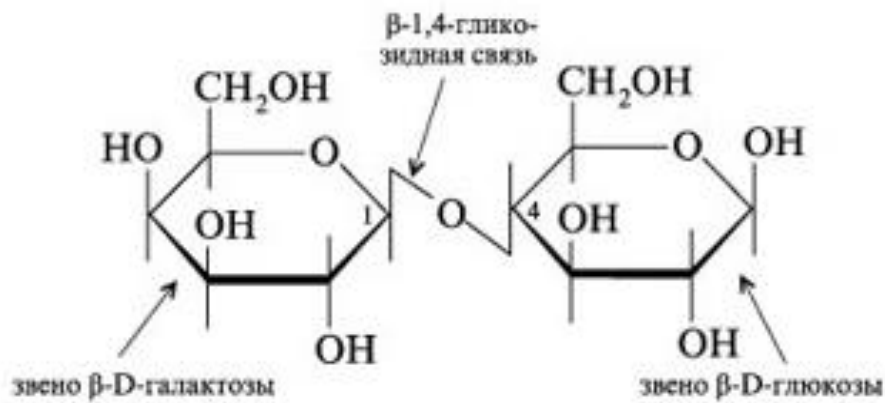


Рис. 3.4. Лактоза

Трегалоза – α -1,1-о-гликозидная связь, нередуцирующий сахар. Трегалоза основной дисахарид дрожжей и грибов. Не мутаротирует.

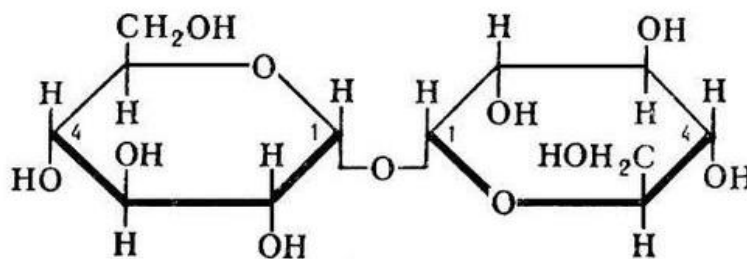


Рис. 3.5. Трегалоза

Целлобиоза основной компонент целлюлозы, мутаротирует. Организмом человека не усваивается. В целлобиозе β -1,4-о-гликозидная связь. Также редуцирующий сахарид.

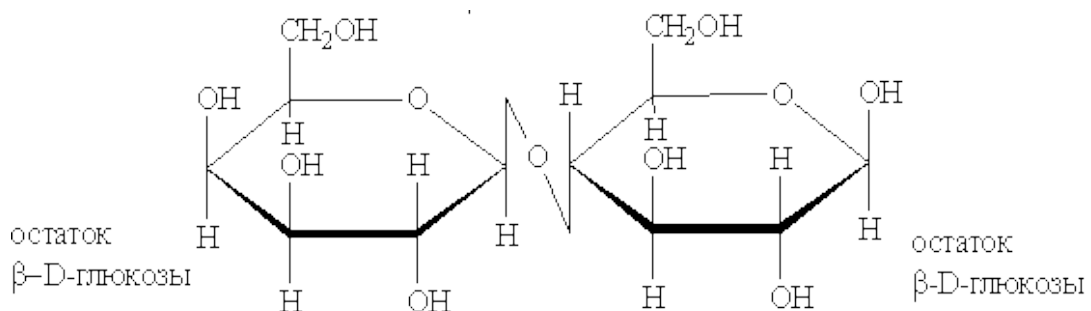


Рис. 3.6. Целлобиоза

В отличие от химии белков и нуклеиновых кислот, где определение первичной структуры сводится к установлению последовательности аминокислот или нуклеиновых оснований в линейной цепи биополимера, в случае углеводных биополимеров необходимо определить его моносахаридный состав, последовательность моносахаридных остатков и места разветвления олигосахаридной цепи, места присоединения моносахаридных остатков друг к другу, конфигурацию гликозидных связей. Определение моносахаридного состава проводится анализом продуктов кислотного гидролиза. Состав продуктов кислотного гидролизата анализируется с помощью хроматографии или электрофореза на бумаге. Определение мест присоединения моносахаридных остатков друг к другу проводят исчерпывающим метилированием олигосахарида с последующим гидролизом и анализом образующихся продуктов.

3.3. Полисахариды (гликаны)

Полисахариды представляют собой высокомолекулярные углеводы, образующиеся при поликонденсации моносахаридов. Полисахариды содержат более десяти моносахаридных фрагментов. В состав гомополисахарида входит один, а гетерополисахарида – несколько типов моносахаридов.

Молекулярная масса полисахаридов колеблется в широких пределах – от нескольких тысяч до нескольких миллионов. Любой образец не гомогенен, а представляет собой смесь полимергомологов. К методам выделения полисахаридов относятся экстракция (водой, щелочами, разбавленными кислотами), осаждение (спиртом, сульфатом аммония и др.), хроматография (ионообменная, гельфильтрация), ультрафильтрация, ультрацентрифугирование. Основным способом выявления структуры полисахариды является расщепление полимера на олигосахаридные фрагменты, установление строения каждого фрагмента и воссоздание на их основе структуры исходного полимера.

Самый распространенный полисахарид – **целлюлоза**, линейный β (1 \rightarrow 4)-глюкан со степенью полимеризации 2000 – 3000 (50% орг.углерода в биосфере). В чистом виде не встречается. В природе целлюлоза обычно в комплексе с лигнином, пектинами, смолами, липидам. Выделение в чистом виде основано на ее химической инертности. При обработке природного материала щелочью при повышенной температуре сопутствующие вещества растворяются и целлюлоза остается в нерастворимой форме.

Мономерный фрагмент целлюлозы – β -D-глюкоза. Основной источник целлюлозы – древесина (50% целлюлозы), а хлопок представляет собой почти чистую целлюлозу.

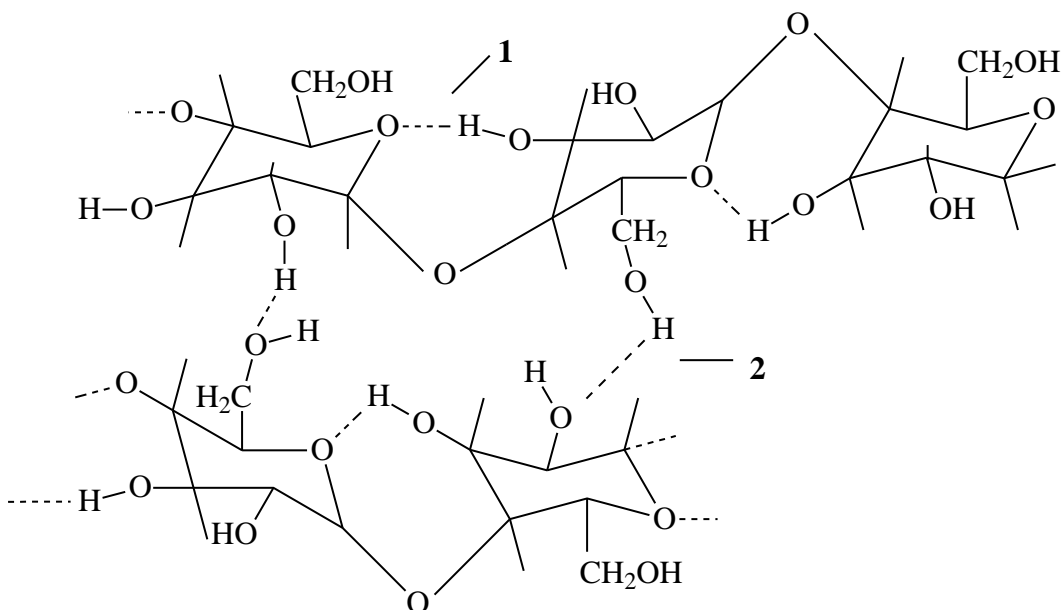


Рис. 3.7. Целлюлоза. Звенья β -глюкозы соединены внутри (1) и межмолекулярными (2) водородными связями

Фрагменты глюкозы повернуты относительно друг друга на 180° . В результате оказываются пространственно сближенными, пиранозный кислород и гр.ОН- в положении С3 (рис. 3.7, 1 - внутримолекулярные связи). Между ними образуется водородная связь по всей длине цепочки, что обеспечивает линейную направленность молекулярной целлюлозы и отсутствие вращения между 1-4-о-гликозидной связью. То есть целлюлоза имеет линейное строение. Между остальными гидроксильными группами соседних параллельно ориентированных молекул целлюлозы может возникать водородная связь. Молекулы объединяются в фибриллы. Около 20 элементарных фибрилл объединяются в микрофибриллу – основу древесины. В рамках одной микрофибриллы линейные фрагменты целлюлозы могут начинаться и заканчиваться в произвольных местах, но сохраняют общую направленность от нередуцирующего конца к редуцирующему.

В целлюлозе выделяют два типа областей: область кристалличности – кристаллиты, где существует дальний порядок целлюлозы; и аморфная – дальний порядок нарушается.

Целлюлоза может быть гидролизована до глюкозы. Гидролизу предшествует набухание глюкозы. Целлюлоза относится к неусвояемым углеводам, но она важна для пищеварения – пищевые волокна.

Крахмал. Накапливается во многих частях растений, особенно в корнеплодах и зерновках. Например, в рисе содержится до 80%. Крахмал состоит из двух структурных единиц: амилоза (10-20%) и амилопектин (90-80%).

Амилоза относится к линейным полисахаридам. Состоит из фрагментов глюкозы, связанных α -о-гликозидной связью, молекулярная масса от 10^5 - $4 \cdot 10^5$. Амилоза хорошо растворима в теплой воде. В отличие от целлюлозы линейная цепь не стабилизирована водородными связями между пиранозным кислородом и группой -ОН у С3. В результате возможно вращение вокруг о-гликозидной связи, и амилоза закручивается в спираль типа α . В полости этих спиралей могут проникать низкомолекулярные вещества, например, йод – образует комплексы внедрения (синяя окраска).

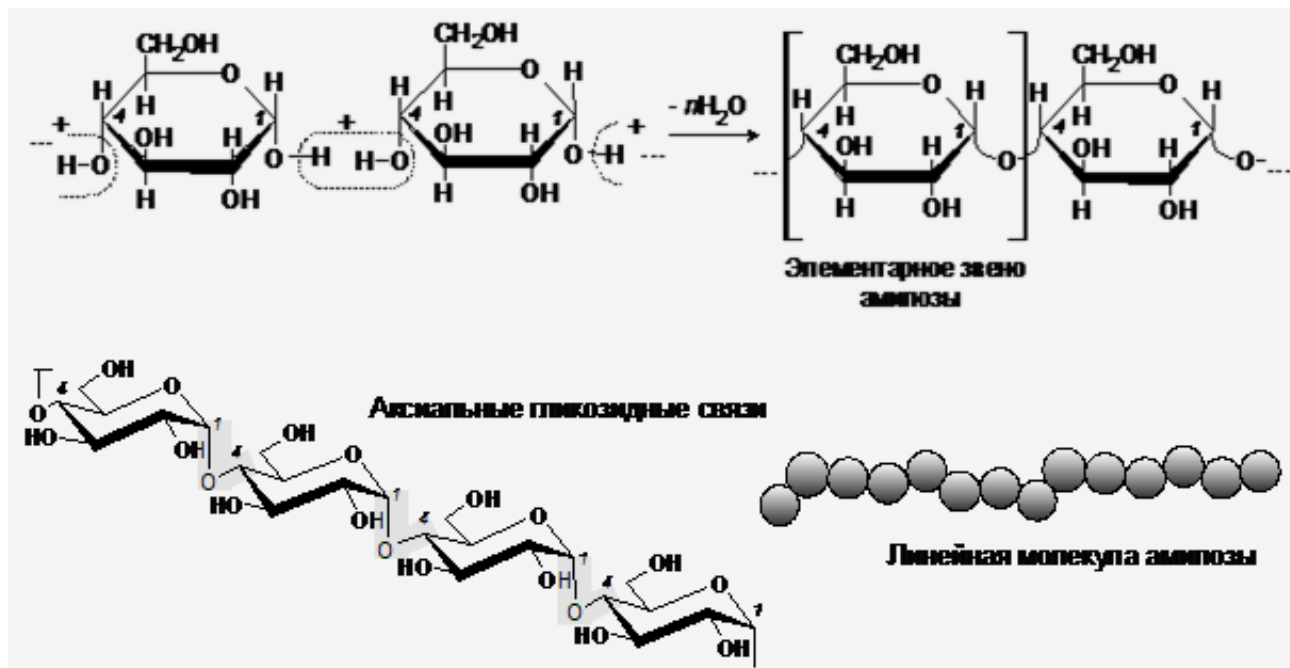


Рис. 3.8. Структура амилозы

Амилопектин – разветвленное строение, состоит из коротких, 20-30 линейных цепочек глюкозы, в рамках одной линейной цепочки глюкозы связаны α -1,4-о-гликозидной связью, а в точке ветвления α -1,6-о-гликозидной связью.

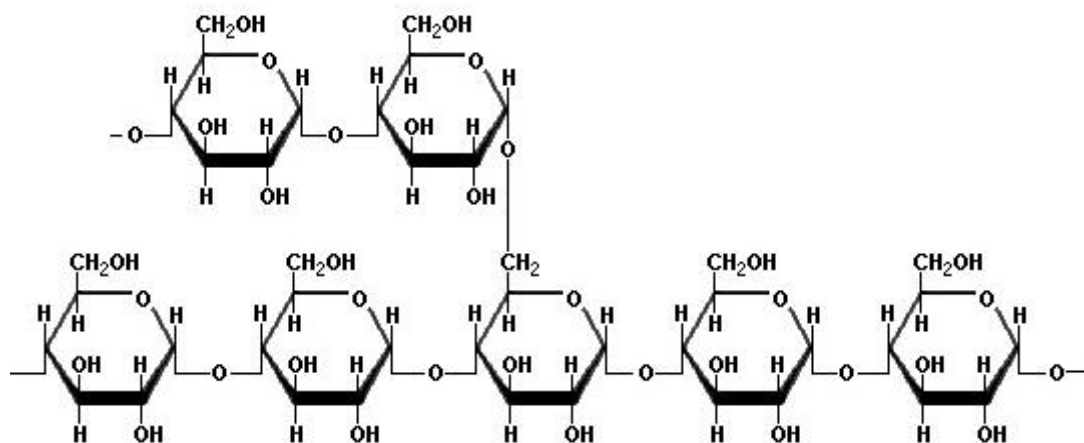


Рис. 3.9. Структура амилопектина

Наличие точек ветвления приводит к тому, что молекулярная масса составляет 10^6 - 10^8 . Не растворим в воде, но при длительном воздействии горячей воды амилопектин растворяется с образованием вязкого раствора, который при охлаждении образуют клейстер. Согласно одной из теорий, амилопектин имеет чередующиеся аморфные зоны, где находятся точки ветвления, и зону кристалличности. Гидролиз ступенчатый с образованием олигомеров – декстринов. В направлении уменьшения молекулярной массы декстрины классифицируются на амилодекстрины, эритродекстрины, ахродекстрины, мальтоза, глюкоза.

Гликоген – резервный полисахарид млекопитающих, запасается в клетках печени и мышечной ткани. По строению аналогичен амилопектину, но с большим числом точек ветвления.

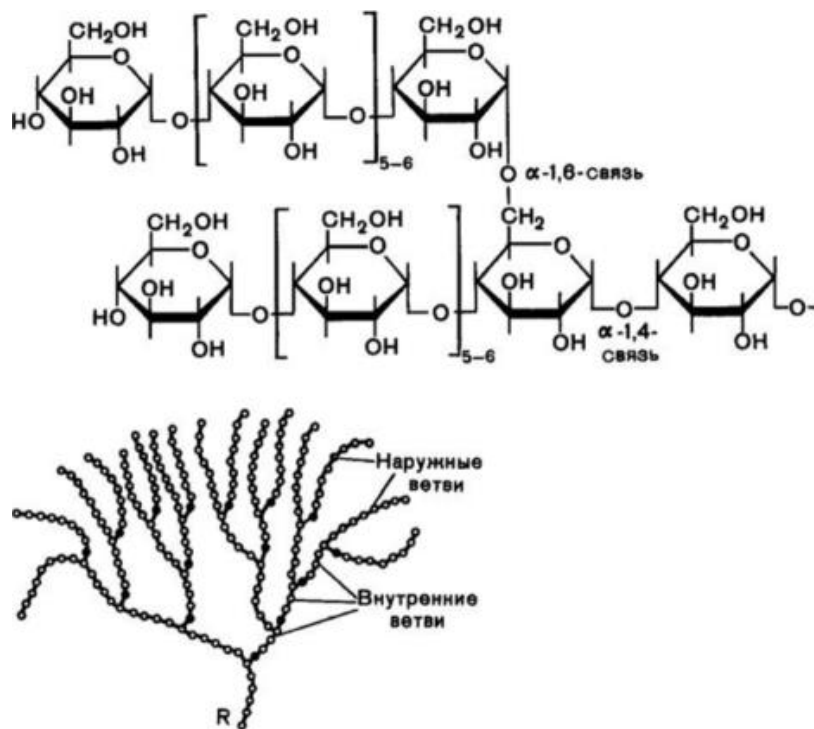


Рис. 3.10. Строение гликогена

Гемицеллюлозы – гетерополисахариды. Входят в состав клеточных стенок растений и сопутствуют целлюлозе. Состоит из двух – четырех типов углеводов. В зависимости от моносахаридного состава основной цепи гемицеллюлозы подразделяют на ксиланы, глюкоманнаны и галактаны. Основная цепь состоит из углеводов, связанных β -1,4-гликозидной связью, а боковые ветви образованы остатками других углеводов по β -1,3 и β -1,6 связями.

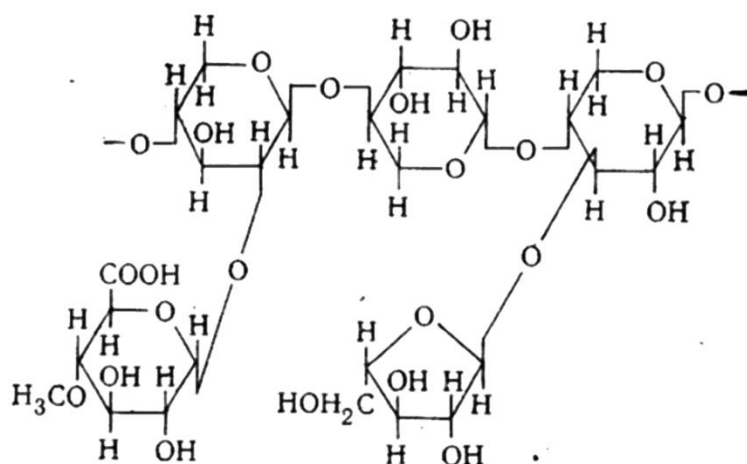
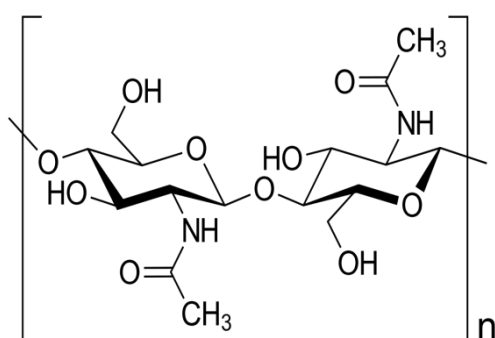


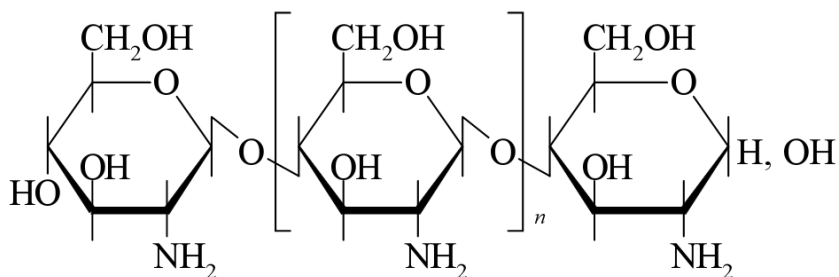
Рис. 3.11. Гемицеллюлоза

Близкое по составу гемицеллюлозы строение имеют **Гумми-вещества** (слизи). Растворяются в воде, образуя вязкие растворы. Главное различие гемицеллюлоз и гумми-веществ в том, что гемицеллюлозы растворяются только в растворах щелочей, а гумми-соединения растворяются также в воде. В виде вязких стекловидных наплывов они выделяются вишневыми, сливовыми, миндальными деревьями при механических повреждениях и поражениях тканей растений бактериями или грибами. Коммерческие препараты растительных галактоманнанов – камеди (камедь гуара и камедь рожкового дерева).

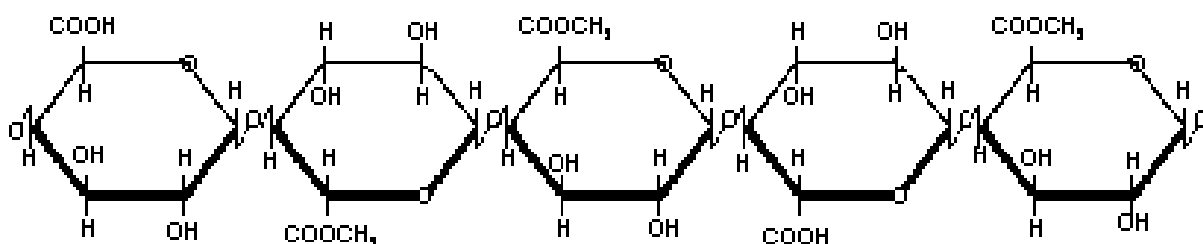
Близкое строение к целлюлозе имеют хитин и хитозан. **Хитин** – главная составная часть покровных оболочек насекомых, ракообразных (крабов, креветок, раков...). Хитин – линейный полисахарид, цепь построена из β -1,4-связанных остатков N-ацетил- D- глюкозамина.



Хитозан встречается редко, например, в некоторых видах грибов. Его получают путем деацетилирования хитина. Применяется хитозан в пищевой промышленности, медицине, косметике, сельском хозяйстве.

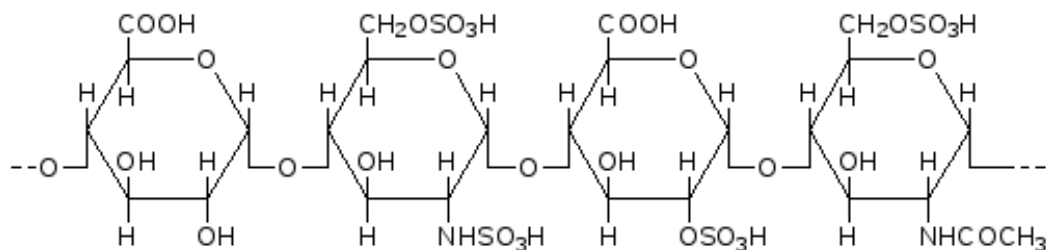


Пектины – линейные участки полигалактуроновой кислоты (пектовой), в которой мономерные звенья связаны α -1,4-о-гликозидной связью. Высокая склонность к гелеобразованию обуславливает применение пектинов в пищевой промышленности (кондитерские изделия, фруктовые желе, джемы, мармелад).



Гликозаминополисахариды (мукополисахариды) характеризуются слизистой консистенцией. Их основная функция – удержание большого количества воды и заполнение межклеточного пространства. Наиболее распространены мукополисахариды: гепарин, гиалуриновая кислота, хондроитинсульфаты.

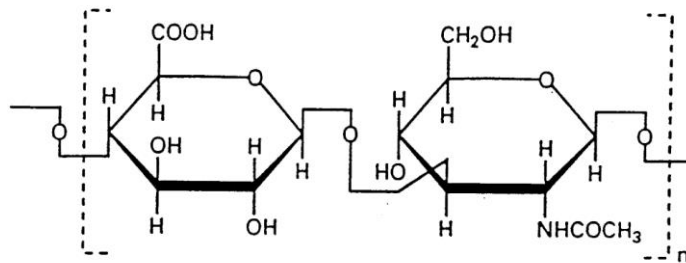
В **гепарине** в состав повторяющихся дисахаридных единиц входят остатки D-глюкозамина и двух уроновых кислот – D-глюкуроновой и L-идуриновой. Аминогруппа у большинства глюкозаминных остатков ацетилирована или сульфатирована. Гепарин широко распространен в тканях животного организма. Содержится в значительных количествах в печени, сердце, мышцах, легких.



Гепарин – мощный ингибитор свертывания крови, предотвращает образование тромбов в циркулирующей крови. Выделенный из легочной ткани гепарин применяется в медицине для предотвращения свертывания донорской крови, а также предупреждения свертывания крови в сосудах

при различных патологических заболеваниях, например, после приступов стенокардии.

Гиалуроновая кислота состоит из дисахаридных фрагментов, связанных β -1,4-о-гликозидной связью, каждый из которых включает N-ацетил- β -D-глюкозамин и β -D-глюконовую кислоту, соединенных друг с другом β -1,3-о-гликозидной связью [2].



ГЛАВА 4. ЛИПИДЫ

К липидам относятся низкомолекулярные органические вещества, извлекаемые из клеток растений, животных, микроорганизмов неполярными растворителями. Главное свойство липидов – липофильность или гидрофобность. В биохимии используют более узкое определение липида. К ним относят вещества различного химического строения, прямо или опосредованно связанных с монокарбоновыми жирными кислотами. *Lipos* – жир. Липиды подразделяют: на простые (триацилглицерины (ТАГ), воски) и сложные (фосфолипиды, гликолипиды, стериды).

Все остальные вещества, которые выделяются неполярными растворителями, но не содержат в составе жирных кислот, относят к веществам, родственным липидам: стеролы, терпеновые соединения, хлорофиллы, каротиноиды, жирорастворимые витамины, желчные кислоты.

Жиры (триацилглицерины) являются самой компактной и энергоемкой формой хранения энергии. Жиры запасаются в жировых клетках – адипоцитах, входящих в состав жировой ткани. В норме содержание жиров в организме человека составляет 6-10 кг. Этого количества достаточно для обеспечения энергией организма в течение 40-50 дней при полном голодании. В отличие от триацилглицеролов в форме гликогена организм может запастись энергией не более, чем на сутки. Жировая ткань выполняет теплоизолирующую и механические защитные функции.

Жирные кислоты входят в состав большинства липидов. Жирные кислоты, наряду с глюкозой, являются важнейшим источником энергии («топливные молекулы»).

4.1. Классификация и строение липидов

С точки зрения структурного назначения липиды делятся: структурные и резервные (представлены ТАГ, биологическое окисление которых сопряжено с биосинтезом АТФ).

Функции липидов существенно зависят от их вида:

1. Резервно-энергетическая функция – триацилглицеролы подкожного жира являются основным энергетическим резервом организма при голодании. В адипоцитах жиры могут составлять 65-85% веса. Для попеременно-полосатой мускулатуры, печени и почек они являются основным источником энергии.

2. Структурная функция – мембраны клеток состоят из фосфолипидов, обязательным компонентом являются гликолипиды и холестерол. Основным компонентом сурфактанта легких – фосфатидилхолин.

3. Сигнальная функция – гликолипиды выполняют рецепторные функции и задачи взаимодействия с другими клетками. Фосфатидилинозитол непосредственно принимает участие в передаче гормональных сигналов в клетку. Производные жирных кислот – эйкозаноиды – являются «местными гормонами», обеспечивая регуляцию функций клеток. Так как активность мембранных ферментов зависит от состояния и текучести мембран, то жирнокислотный состав и наличие определенных видов фосфолипидов, количество холестерина влияет на активность мембранных липидзависимых ферментов (например аденилатциклаза, Na⁺, K⁺ -АТФаза, цитохромоксидаза).

4. Защитная функция – подкожный жир является хорошим термоизолирующим средством, наряду с брыжеечным жиром он обеспечивает механическую защиту внутренних органов. Фосфолипиды играют определенную роль в активации свертывающей системы крови

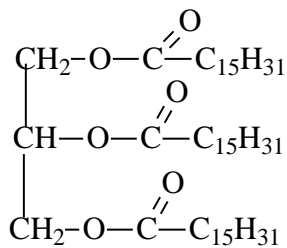
Таблица 4.1

Классификация и функции липидов

Класс липидов	Функции	Преимущественная локализация в организме
Триацилглицерины	Запасание энергетического материала Термоизоляция Механическая защитная функция	Адиipoциты
Глицерофосфолипиды	Структурные компоненты мембран Фосфатидил холин – структурный элемент липопротеинов, компонент сурфактанта, предотвращающего слипание альвеол	Мембраны клеток Монослой на поверхности липопротеинов Альвеолы легких
Сфингофосфолипиды-сфингомиелины	Основные структурные компоненты мембран клеток нервной ткани	Миелиновые оболочки нейронов Серое вещество мозга
Гликолипиды	Компоненты мембран клеток нервной ткани Антигенные структуры на поверхности разных типов клеток, рецепторы, структуры, обеспечивающие взаимодействие клеток	Внешний слой клеточных мембран
Стероиды	Компонент мембран Предшественник в синтезе желчных кислот и стероидных гормонов	Мембраны клеток Липопротеины крови

Простые липиды – относятся триацилглицерины (ТАГ) и воски.

Триаилглицерины – сложные эфиры монокарбоновых кислот и глицерина. Содержание в организме человека $\approx 15\%$.



трипальмитат

Свойства ТАГ зависят от жирно-кислотного состава. Кислоты делятся на насыщенные и ненасыщенные (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Жирные кислоты

Кислота	Название	Источник
1	2	3
Насыщенные		
$\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}$	Масляная (бутановая)	В небольших количествах присутствуют в растениях, молочном жире
$\text{C}_4\text{H}_9\text{COOH}$	Валериановая (пентановая)	
$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{COOH}$	Капроновая (гексановая)	
$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{COOH}$	Каприловая (октановая)	
$\text{C}_9\text{H}_{19}\text{COOH}$	Каприновая (декановая)	
$\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{COOH}$	Миристиновая (тетрадекановая)	Кокосовое масло, мускатный орех, мирт
$\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$	Пальмитиновая (гексадекановая)	Во всех жирах и маслах животного и растительного происхождения
$\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$	Стеариновая (октадекановая)	
Ненасыщенные		
$\text{C}_{15}\text{H}_{29}\text{COOH}$	Пальмитолеиновая (гексадецен-3-овая) (гексадецен-9-овая)	Во всех жирах и маслах животного и растительного происхождения
$\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$	Олеиновая (октадецен-9-овая)	Петрушка Во всех растительных и животных жирах
$\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{COOH}$	Нервоновая (тетракозен-15-овая)	Рыбий жир Фосфолипиды мозга
$\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$	Линолевая (октадиен-9,12-овая)	Арахис, соя, семя хлопка

Три кислоты являются незаменимыми: **линолевая, α-линоленовая, арахидоновая**. Эти кислоты входят в состав витамина F. В ТАГ растительного происхождения обычно 3-4 жирных кислоты. Например, в оливковом масле до 80% приходится на олеиновую кислоту, в подсолнечном масле 55-65% линолевая, 33-35% олеиновая, стеариновая и пальмитиновая 5-10%.

Обычные жирные кислоты нерастворимы в воде, но в разбавленных растворах NaOH и KOH могут образовывать мицеллы, превращаясь в мыла – соли жирных кислот.

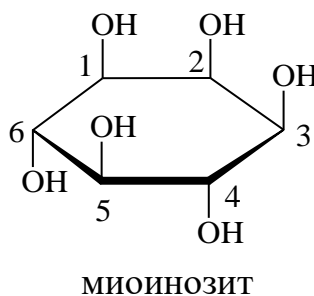
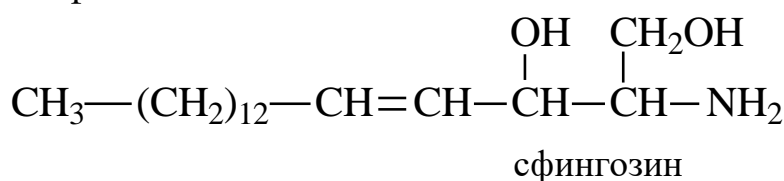
Воски. Воски – сложные эфиры высших жирных кислот и высокомолекулярных одноатомных спиртов с числом углерода C26, C28, C30, C32, C34. Основной компонент пчелиного воска – эфир пальмитиновой кислоты мирицилового спирта $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{28}\text{CH}_2\text{OH}$.

У позвоночных секретиромые кожными железами воска выполняют функцию защитного покрытия, смазывающего и смягчающего кожу и предохраняющего ее от воды. Восковым секретом покрыты также волосы, шерсть и мех. У птиц воски придают перьевому покрову водоотталкивающие свойства.

Сложные липиды. Сложные липиды, кроме монокарбоновых кислот и спирта, содержат фрагмент фосфорной кислоты – фосфолипиды; углеводов – гликолипиды.

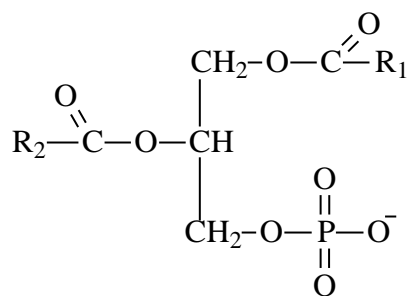
Фосфолипиды имеют гидрофобную часть, образованную радикалами жирных кислот и гидрофильную – остаток фосфорной кислоты, аминокислот, аминоспиртов, аминокислот. Амфифильные свойства фосфолипидов позволяют им образовывать бислойные структуры мембран.

Спиртовой компонентой фосфолипидов являются глицерин, миоинозит и сфингозин.

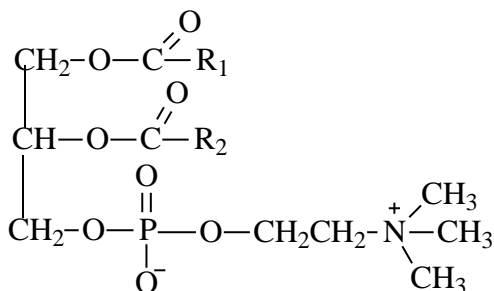


В зависимости от природы спирта различают глицерофосфолипиды, сфингофосфолипиды и инозитфосфолипиды.

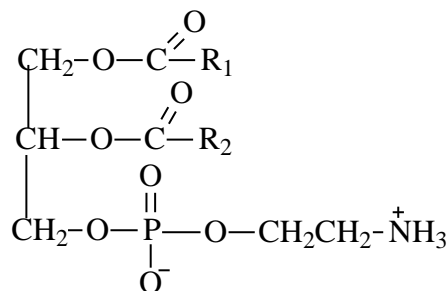
Глицерофосфолипиды можно рассматривать как производные фосфатидной кислоты:



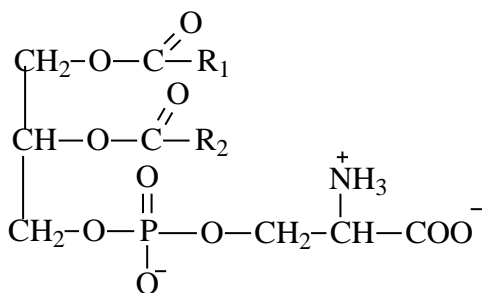
фосфатидная кислота



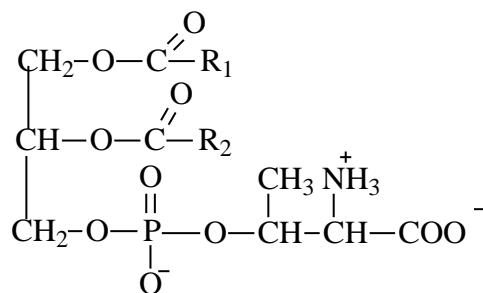
фосфатидилхолины (лецитины)



фосфатидилэтаноламины

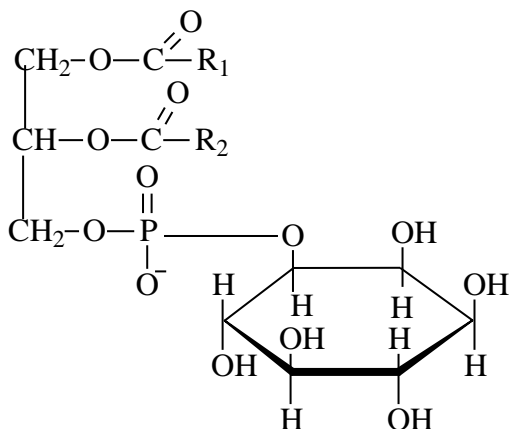


фосфатидилсерины (серинкефалины)



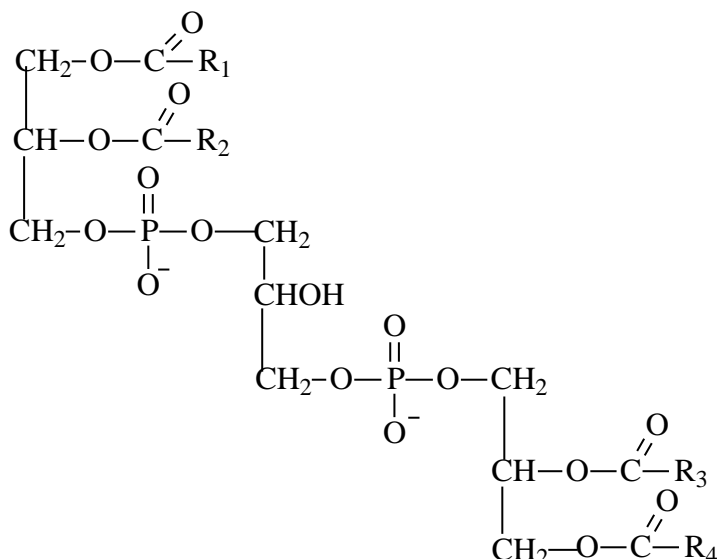
фосфатидилтреонины

Инозитфосфолипиды – производные фосфолипидной кислоты.



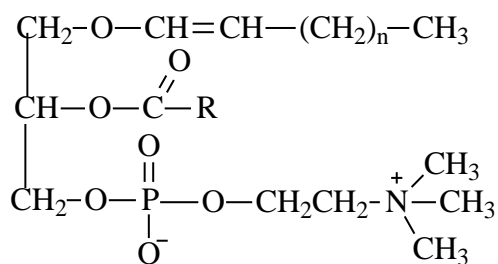
фосфатидилинозит

Кардиолипиды – димерная форма фосфолипидов.



кардиолипины

Плазмалогены – в положении 1 образуется простая эфирная связь с производным винилового спирта.



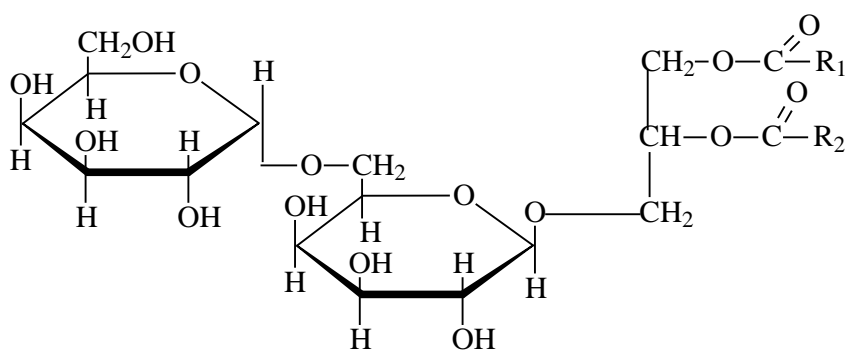
холинплазмалогены ($n=9-15$)

При $\text{pH} = 7,0$ остаток фосфорной кислоты во всех фосфоглицеридах заряжен отрицательно. Кроме того, при pH , близких к 7,0, спиртовые группы также могут нести один или несколько электрических зарядов.

При нагревании с кислотами или щелочами фосфоглицериды гидролизуются, образуя основные структурные компоненты: жирные кислоты, фосфорную кислоту, глицерол и спирт. Также могут гидролизироваться под действием ферментов – фосфолипаз.

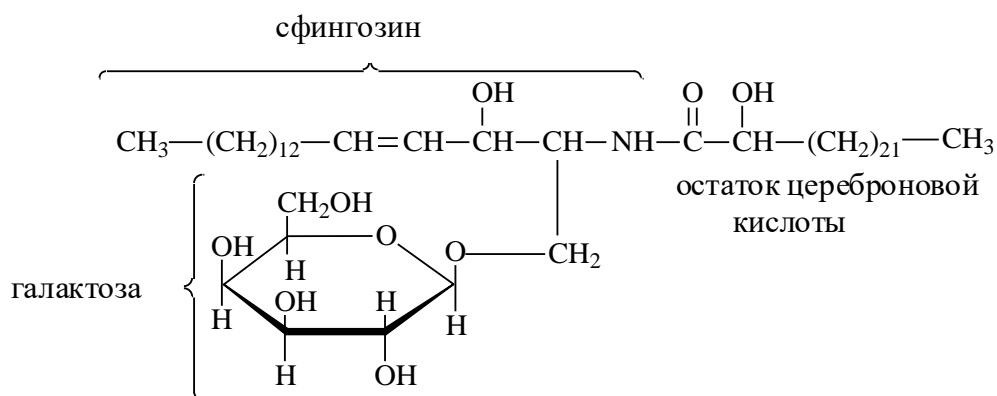
Сфингофосфолипиды – сложные липиды, в которых ацильный остаток соединен пептидной связью с молекулой спирта сфингозина. N-ацильные производные, в которых аминогруппа ацилирована жирной кислотой – церамиды. Сфинголипиды содержатся в мембранах всех клеток. Особенно много сфинголипидов в нервной ткани, где они формируют миелиновые оболочки нейронов.

Самые распространенные сфингофосфолипиды – сфингомиелины.

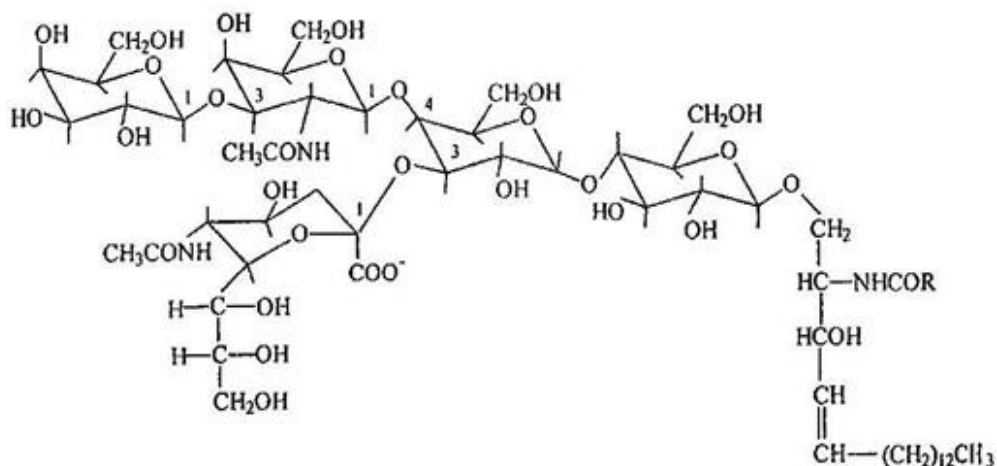


дигалактозилдиацилглицерин

Среди гликофинголипидов наиболее распространены цереброзиды и ганглиозиды. В цереброзиды входит остаток цереброновой, нервноной или лигноцериновой кислот и моносахарид. Содержатся в мембранах нервных клеток, особенно в белом веществе. Самые распространенные из них галактоцереброзид и глюкоцереброзид. Цереброзиды не содержат фосфора и не несут электрического заряда.



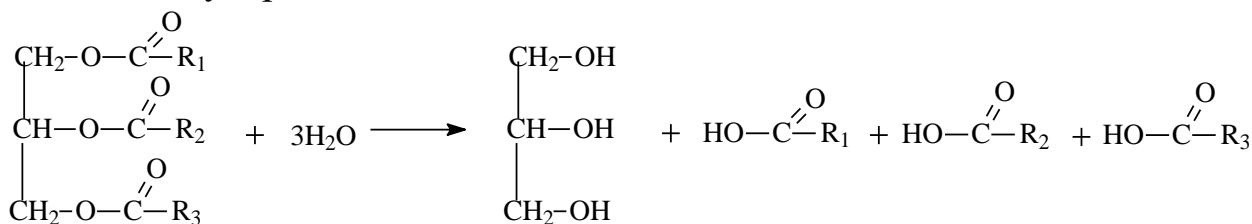
Ганглиозиды – сложные, богатые углеводами липиды, в состав входит хотя бы один остаток сиаловой кислоты. Например, ганглиозид, известный как GM1, – церамид-глюкоза-галактоза-N-ацетилнейраминовая кислота- N-ацетилгалактозамин-галактоза.



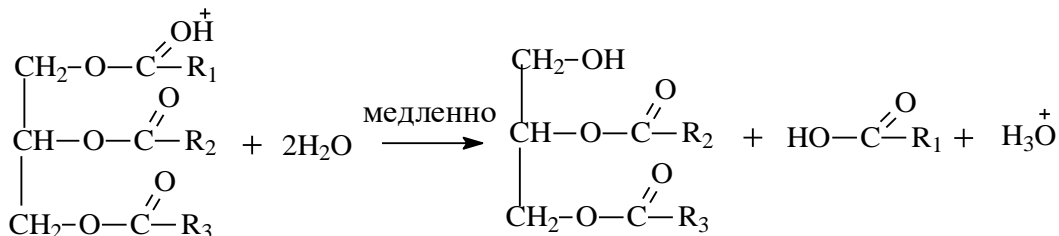
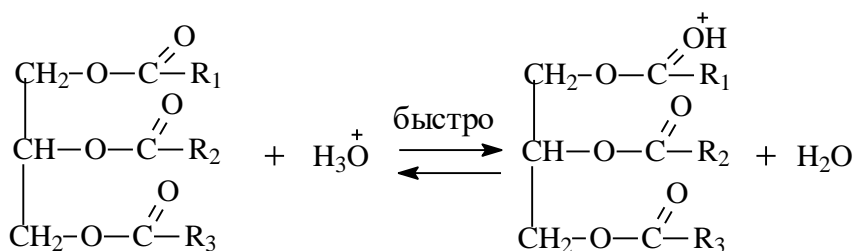
Ганглиозиды – важные компоненты специфических рецепторных участков, располагающихся на поверхности мембран. Они располагаются в местах связывания молекул нейромедиатора при химической передаче импульса от одной нервной клетки к другой. Ганглиозиды несут отрицательный заряд при pH = 7.0.

4.2. Основные химические свойства липидов

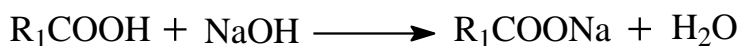
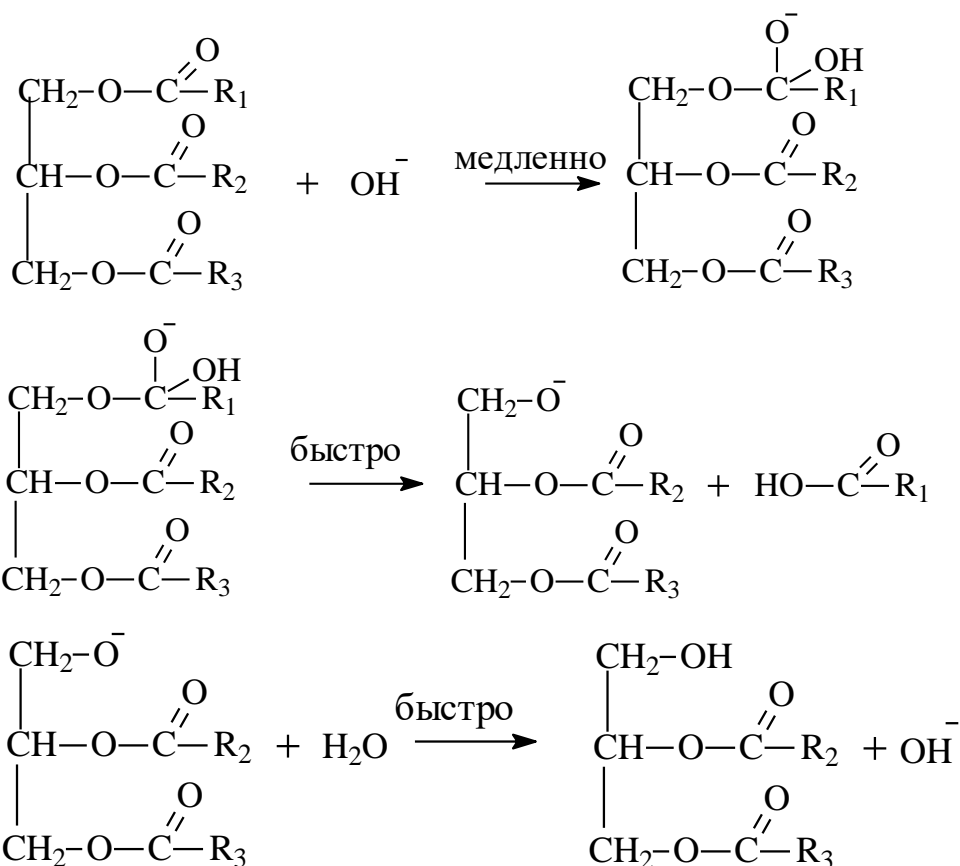
Гидролиз триацилглицеридов – каталитический процесс. Ферментативный гидролиз осуществляется ферментами липазами. Осуществляется он последовательно. Сначала отщепляется один фрагмент жирной кислоты с образованием диацилглицерина, причем скорость отщепления максимальна от триацилглицерина, ниже у ди- и моно-. Обычно липазы не обладают специфичностью к природе жирных кислот. Однако установлено, что высокомолекулярные жирные кислоты гидролизуются легче, чем низкомолекулярные.



Кислотный гидролиз

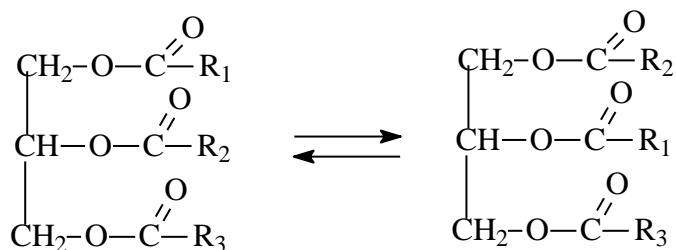


При гидролизе щелочами образуются мыла, поэтому процесс называют омылением.

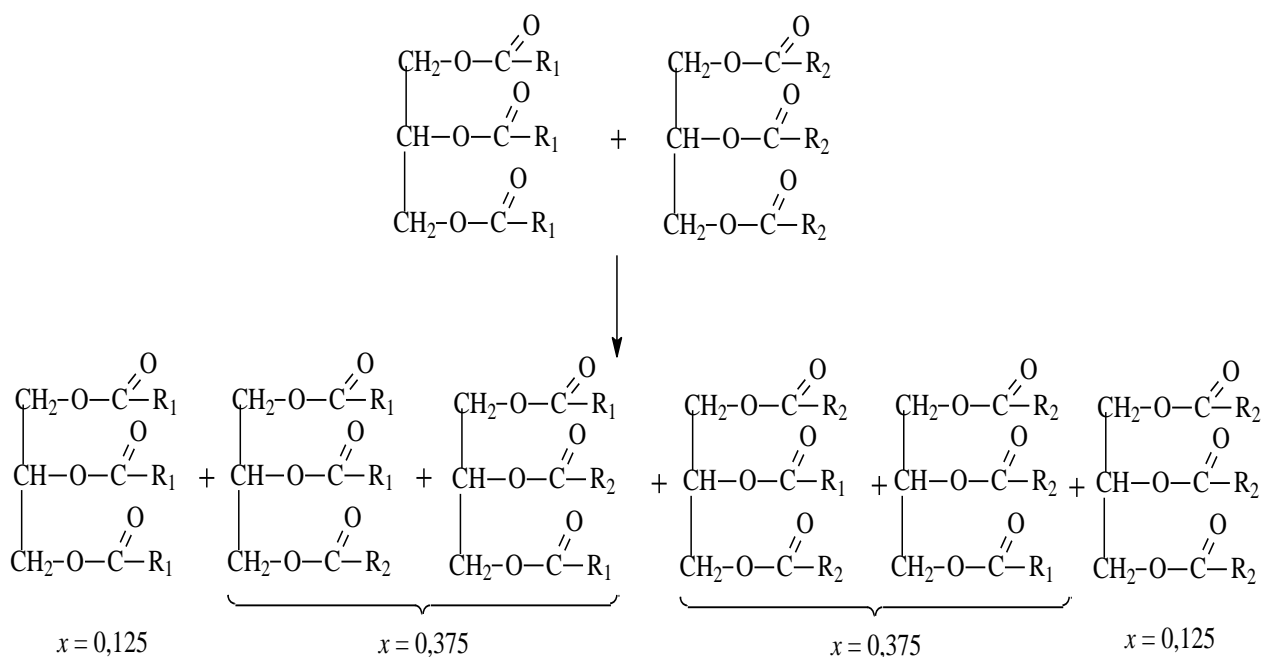


При кислотном и щелочном гидролизе сложных липидов, кроме глицерина и жирных кислот, образуется фосфорная кислота, соли фосфорной кислоты, азотсодержащие спирты, аминокислоты.

Переэтерификация. Различают внутри- и межмолекулярную. При внутримолекулярной происходит обмен ацильными фрагментами внутри молекулы. Процесс каталитический, в качестве катализатора идет глицерат натрия.

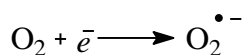


При межмолекулярной переэтерификации происходит обмен фрагментами между разными молекулами.



В результате переэтерификации более равномерно распределяются жирно-кислотные фрагменты, образуются смешанные ТАГ. В результате переэтерификации смесь имеет более низкую температуру плавления, понижается твердость и повышается пластичность.

Окисление. В присутствии кислорода липиды подвергаются окислению. Индикатором окисления являются активные формы кислорода (АФК) и супероксидный анион-радикал, который в норме образуется в клетках всех уровней жизни, в результате случайного переноса электрона на кислород.

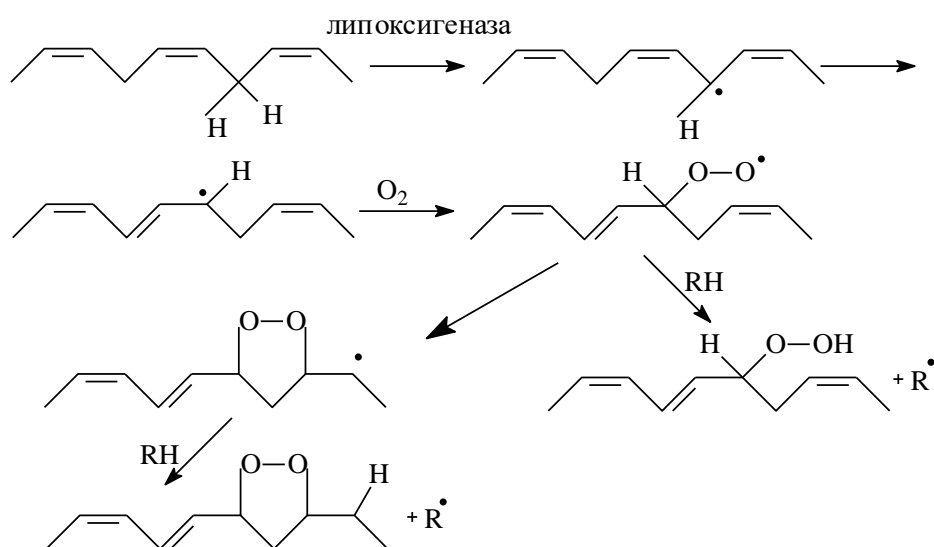


Наиболее активно он образуется в цепи переноса электронов, фотосинтезе, при работе некоторых ферментов - оксидаз.

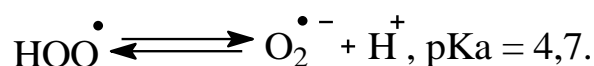
Инициировать процесс окисления в клетке (*in vivo*) может фермент липоксигеназа.

Фермент липоксигеназа содержит ионы переходных элементов, чаще всего Fe^{2+} и Cu^{2+} . Активные частицы, принимающие участие в каталитическом процессе, образуются в результате переноса электрона от иона металла на молекулярный кислород.

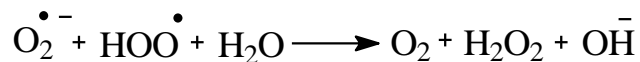
Окислительному процессу под действием АФК подвергаются только фрагменты ненасыщенных жирных кислот. Чем больше двойных связей в жирной кислоте, тем легче протекает окисление. Образующаяся частица при наличии кислорода приводит к появлению новой радикальной частицы.



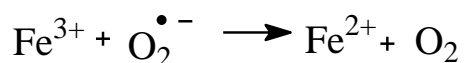
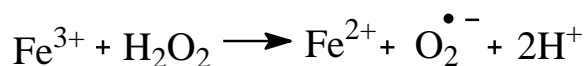
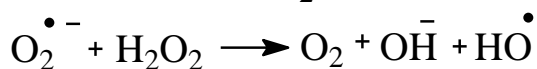
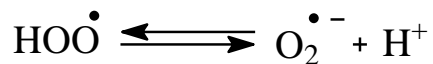
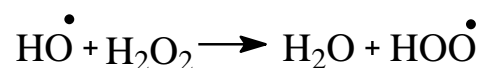
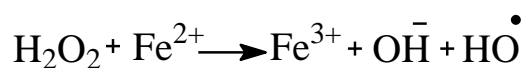
In vitro (вне клетки) АФК могут быть образованы при участии оксидов, содержащихся в природных маслах и жирах. Супероксидный анион-радикал находится в динамическом равновесии со своей протонированной формой.



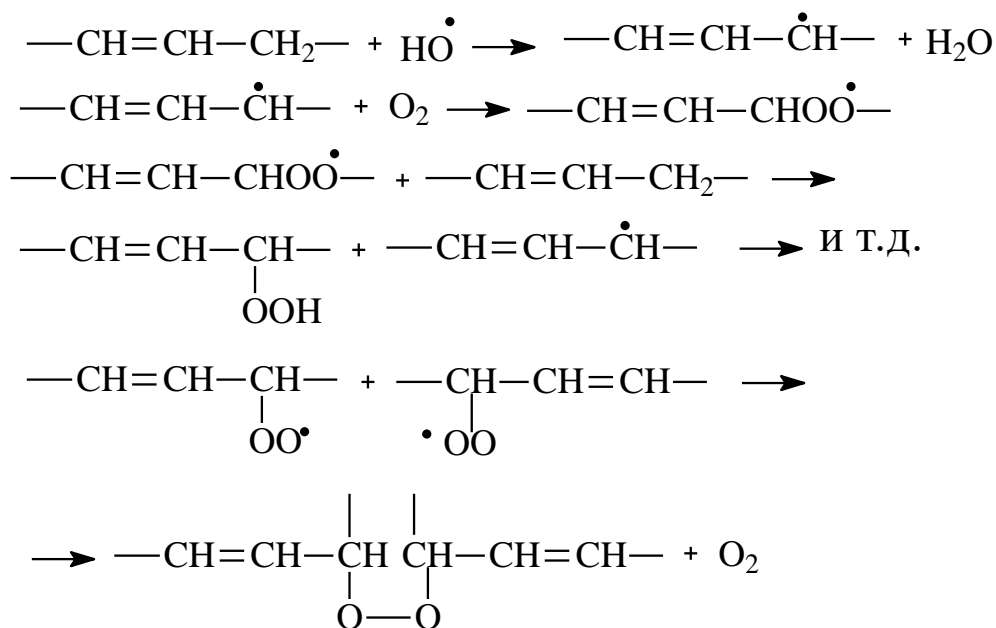
Между двумя радикальными частицами протекает реакция



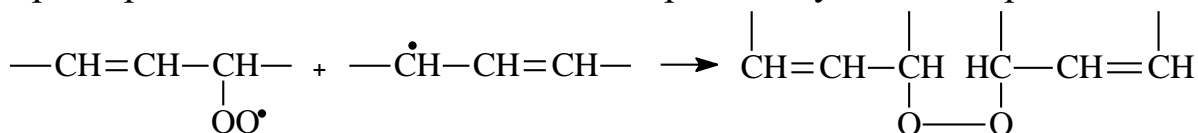
Разложение пероксида при катализе ионами Fe^{2+} приводит к образованию гидроксильного радикала $\text{OH}\cdot$ - самого активного соединения кислорода.



Гидроксильный радикал вступает в реакцию с непредельными компонентами липидов, формируя аллильные радикалы, которые на стадии роста цепи реагируют с кислородом с образованием гидропероксидов.



При обрыве цепи без выделения кислорода получаются пероксиды:



Образующиеся пероксиды и гидропероксиды являются нестабильными соединениями и подвергаются внутримолекулярной фрагментации с разрывом связи углерод-углерод. В результате образуются низкомолекулярные альдегиды, кетоны, спирты (так называемые вторичные продукты окисления).

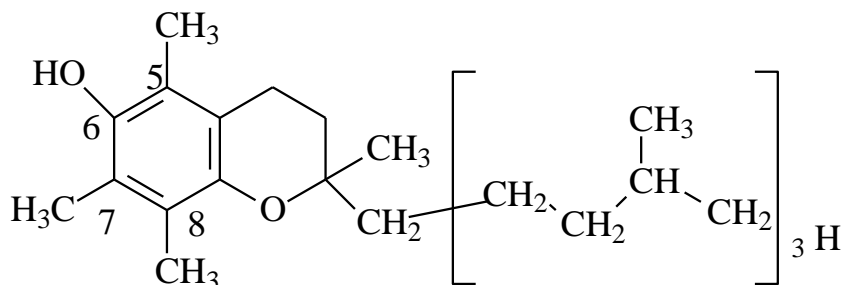
Поскольку в этом процессе образуются пероксиды и гидропероксиды, его называют **перекисным окислением**. При протекании его в клетке разрушаются фосфолипиды плазматической мембраны и других клеточных мембран. В результате изменяется проницаемость мембран, раннее старение клетки и ее гибель. Токсичные вещества, образующиеся при перекисном окислении, могут провоцировать возникновение злокачественных опухолей. Если процесс протекает *in vitro* (вне клетки), то накопление вторичных продуктов перекисного окисления вызывают порчу масел и жиров – процесс окислительного прогоркания.

Чтобы снизить эффект перекисного окисления в клетке, имеется ряд защитных систем. Все системы или вещества, способные улавливать свободные радикалы, с образованием нерадикальных продуктов называются – **антиоксиданты**. В клетке антиоксиданты – ферменты:

- супероксиддисмутаза – нейтрализует избыток супероксидного радикала (пероксид водорода является для клеток ядом);
- каталаза – расщепляет пероксид водорода;

- фермент супероксидредуктаза – нейтрализует супероксидный радикал у анаэробов;
- глутатионредуктаза и глутатионпероксидаза.

Кроме ферментных систем, в клетке представлены вещества – антиоксиданты. Самым распространенным является α -токоферол (витамин Е).

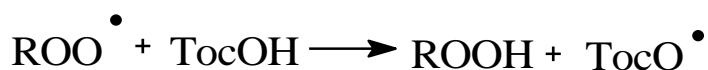


α -токоферол: 5,7,8-триметилтокол;

β -токоферол: 5,8 –диметилтокол;

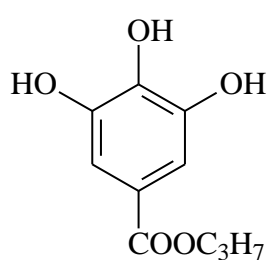
γ – токоферол: 7,8 –диметилтокол;

δ – токоферол: 8-метилтокол.

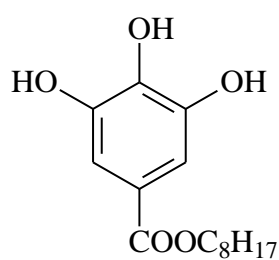


В результате действия токоферола образуется нерадикальный продукт. *In vitro* в качестве антиокислителей используются системы, обогащенные витамином Е, либо замещенные фенолы.

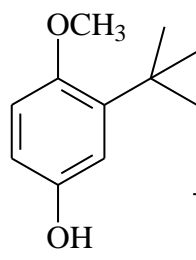
В некоторых случаях добавляют вещества–синергисты, усиливающие антиокислительный эффект (лимонная, винная, аскорбиновая кислоты, лецитин).



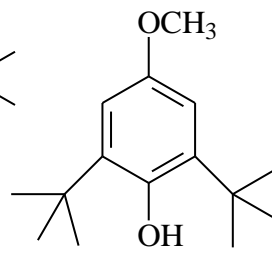
пропилгаллат



оксигаллат



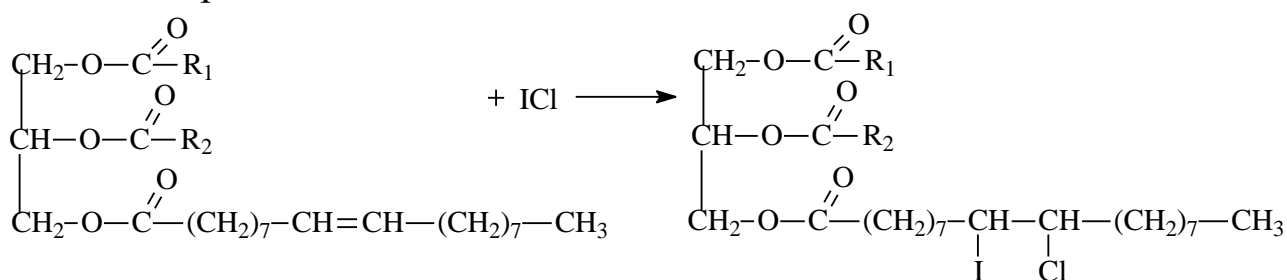
трет-бутил-
гидроксианизол



ди-*трет*-бутил-
гидрокситолуол

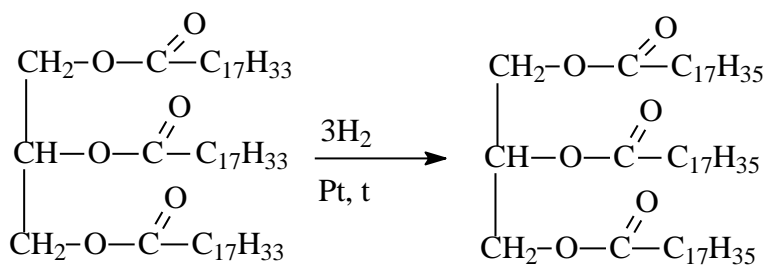
Поскольку окислительный процесс *in vitro* приводит к снижению качества продукта, осуществляется контроль, определением йодного числа. Уменьшение йодного числа при хранении жиров и масел свидетельствует о их порче.

Определение йодного числа основано на взаимодействии ненасыщенных жирных кислот с галогеном.



ICl, который не прореагировал, восстанавливается KI. Выделяющийся I₂ оттитровывается тиосульфатом натрия. По разности взятого ICl и не прореагировавшего определяется йодное число.

Гидрогенизация жиров (гидрирование). В результате гидрирования образуется саломас. Происходит насыщение водородом ненасыщенных жирных кислот.



олеиновый триглицерид,
триолеин (растительный жир,
жидкий)
T_{пл} = - 17°C

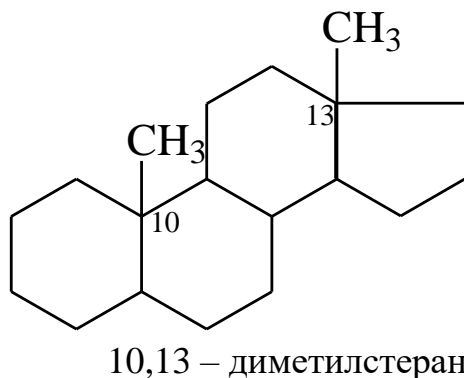
стеариновый триглицерид,
тристеарин (твёрдый жир)
T_{пл} = - 71°C

4.3. Вещества, родственные липидам

Существует два основных класса неомыляемых липидов: стероиды и терпены.

Стериды – сложные эфиры жирных кислот и спиртов, относящихся к группе стероидов.

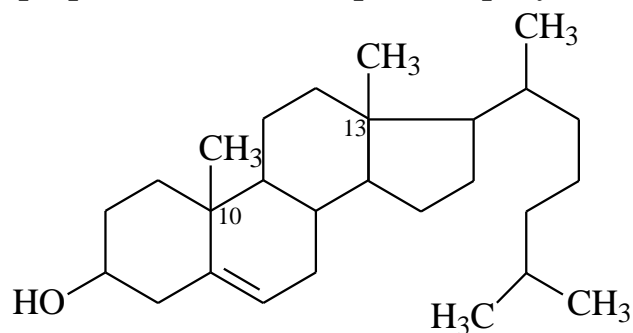
Стероиды – сложные жирорастворимые вещества, молекулы которых содержат четыре конденсированных кольца. Производные циклопентанопергидрофенантрена, или стерана. Делятся: стеролы; желчные кислоты и спирты; витамины группы D; стероидные гормоны.



Стеро́лы классифицируются в зависимости от природы кислородсодержащей группы в положении 3, количества и положения двойных связей в стериновом кольце и природы заместителя в положении 17. По происхождению стеролы подразделяются:

- на зоостеролы – животных;
- фитостеролы – растений;
- микостеролы – грибов.

Из зоостеролов наиболее распространен холестерин (холестерол). В норме в организме человека ≈ 140 г холестерина. Норма 3,6-5,2 ммоль/литр крови. Из холестерина образуется витамин Д₃.



холестерол

Холестерин – основной стероид организма. Является предшественником ряда гормонов, в том числе женских половых гормонов (прогестерона и эстрадиола) и мужского полового гормона (тестостерона).

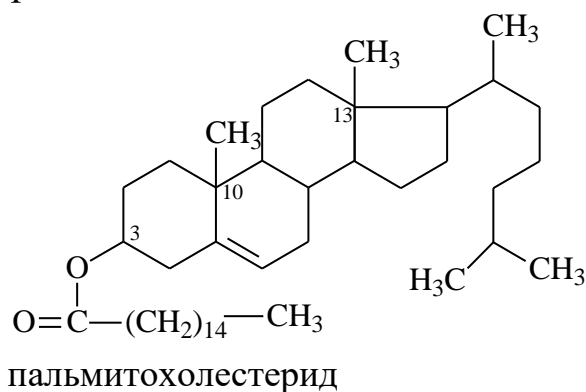
Основные функции холестерина в организме:

- компонент мембран, влияющий на вязкость гидрофобного слоя;
- компонент монослоя липидов на поверхности липопротеинов (вместе с фосфолипидами);
- предшественник желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D₃.

Синтез холестерина может происходить в большинстве типов клеток, однако основное его количество синтезируется в печени (75-80%), тонкой кишке (15 %), коже и железах, продуцирующих стероидные гормоны – коре надпочечников и половых желез. Печень – главный орган, поставляющий холестерин в другие ткани.

Исходный субстрат для синтеза холестерина – ацетил-КоА (ацетил кофермент А). Так как ацетил-КоА образуется в митохондриях, а синтез холестерина происходит в цитоплазме клеток, то ацетил-КоА доставляется в цитоплазму в составе цитрата.

Стериды – сложные эфиры жирных кислот и стеролов, относят непосредственно к липидам.

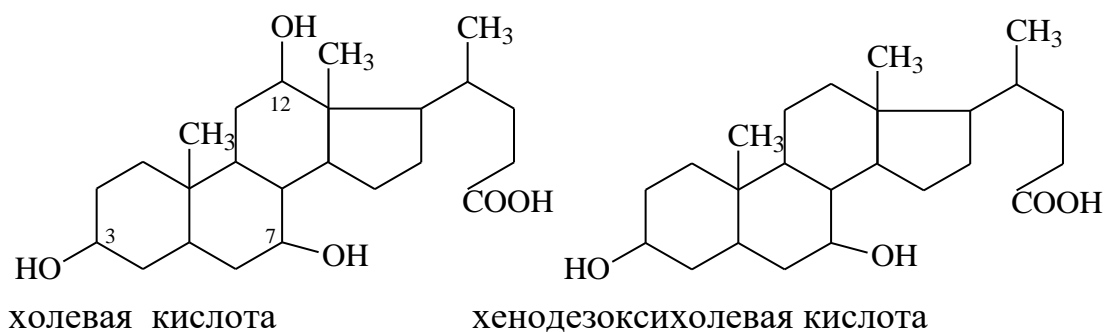


Желчные кислоты – оксикислоты стероидного ряда. Ежедневно в печени 300-500 мг холестерина окисляется в желчные кислоты, которые выступают активаторами панкреатической липазы.

Желчные кислоты выполняют следующие функции:

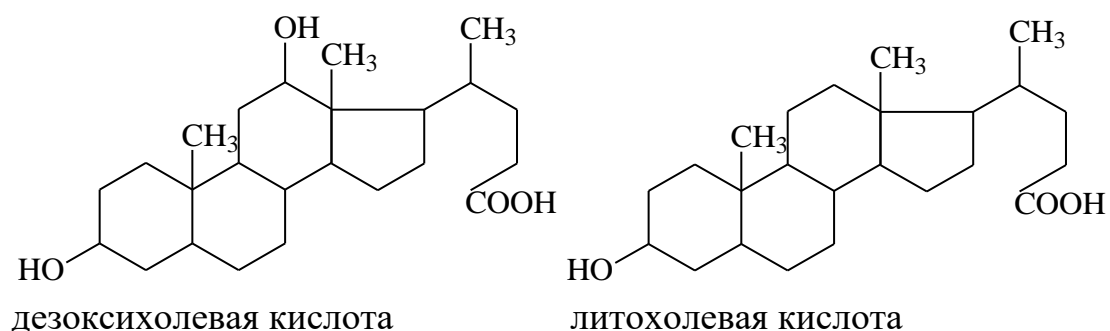
- участвуют в переваривании и всасывании липидов;
- являются конечными продуктами катаболизма холестерина, в виде которых он выделяется с калом из организма;
- являются компонентами желчи, удерживающими холестерин в растворенном состоянии.

Известны четыре главных желчных кислоты. Первичные кислоты, образуются из холестерина:



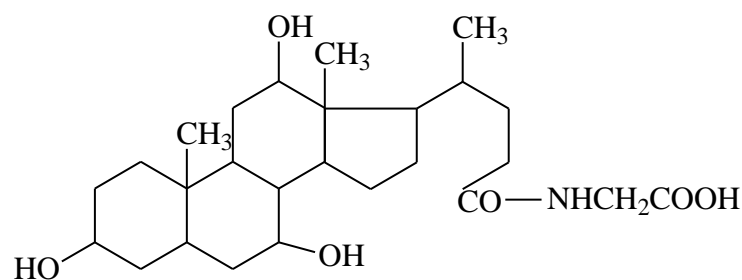
Холевая и хенодезоксихолевая кислоты этерифицируются глицином или таурином, давая парные (или конъюгированные) желчные кислоты, и в такой форме секретируются в желчь. В процесс конъюгации желчные кислоты вступают в активной форме в виде производных HS-КоА-(холил-КоА). Конъюгация желчных кислот делает их более амфифильными и таким образом увеличивает детергентные свойства (ПАВ).

Вторичные кислоты синтезируются на основе первичных.

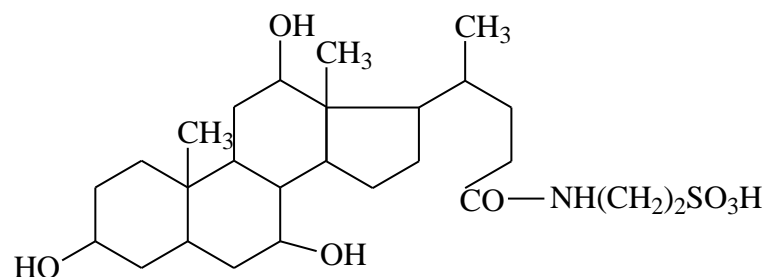


Желчные кислоты, синтезированные в печени, секретируются в желчный пузырь и накапливаются в желчи. При приеме жирной пищи выделяется гормон холецистокинин, стимулирующий сокращение желчного пузыря, желчь изливается в тонкий кишечник, эмульгирует жиры и обеспечивает их переваривание и всасывание. Когда первичные желчные кислоты достигают нижних отделов тонкой кишки, они подвергаются действию ферментов бактерий, которые сначала отщепляют глицин и таурин, а затем удаляют 7- α -гидроксильную группу. Так образуются вторичные желчные кислоты: дезоксихолевая и литохолевая. Около 95% желчных кислот всасывается в подвздошной кишке и возвращается в печень, где они опять конъюгируются с таурином и глицином и выделяются в желчь. В результате в желчи находятся и первичные и вторичные желчные кислоты.

Желчные кислоты содержатся либо в свободном виде, либо в виде калиевых и натриевых солей. Часто образуются производные желчных кислот.



гликохолевая кислота



таурохолевая кислота

В составе желчи содержатся: холестерол, желчные кислоты, фосфатидилхолин и пигменты, образующиеся при распаде гема. Холестерол наименее полярное вещество и удерживается в растворенном состоянии только благодаря включению в мицеллы, образованные желчными кислотами и фосфатидилхолином. Если содержание холестерола в желчи увеличивается или уменьшается количество желчных кислот и фосфатидилхолина, то холестерол выпадает в осадок, образуя камни в желчном пузыре. Камни, состоящие из холестерола, – белые, если же в них включаются продукты распада гема, то цвет камней может быть от коричневого до черного.

Переваривание жиров представляет собой гидролиз жиров под действием фермента панкреатической липазы. Для действия этого фермента необходимы следующие условия: значение рН должно быть близкое к нейтральной среде; необходимы желчные кислоты, эмульгирующие жиры; белок колипаза, который секретируется в поджелудочной железе вместе с панкреатической липазой.

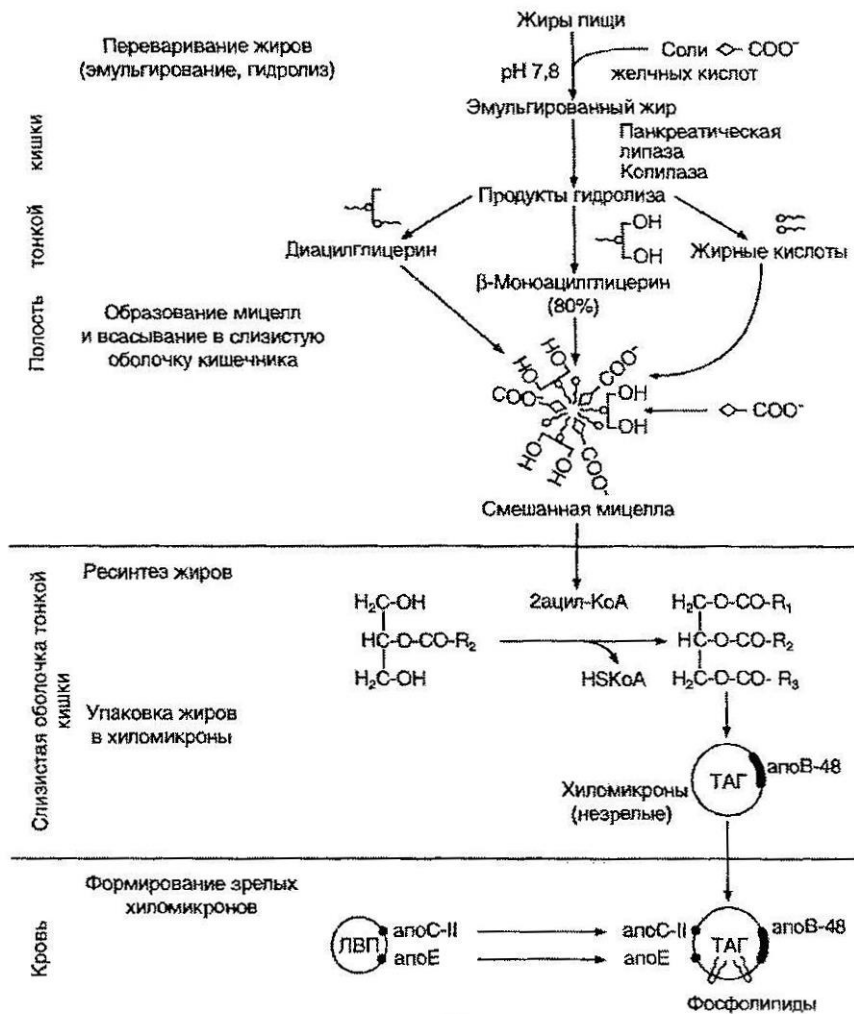


Рис. 4.1. Переваривание липидов

Необходимое значение pH достигается за счет нейтрализации кислого содержимого, поступающего из желудка, бикарбонатом, секретлируемым поджелудочной железой.

Желчные кислоты, соли, производные кислот, выполняют функцию **эмульгаторов**. По строению это амфифильные вещества, которые содержат неполярное стеариновое кольцо и полярные фрагменты OH^- и COO^- , что определяет поверхностно-активные свойства.

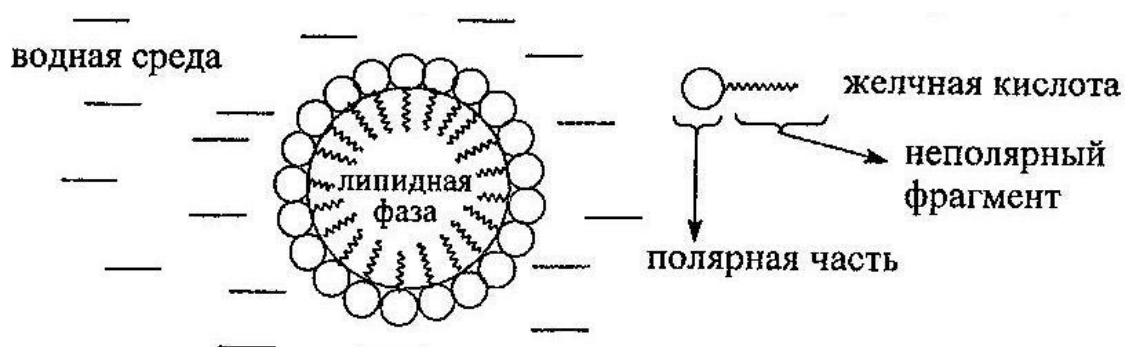


Рис. 4.2. Образование мицеллы

Всасывание липидов в желудочно-кишечный тракт начинается с эмульгирования, т.е. расщепления на мельчайшие сферические частицы. Каждая из частиц стабилизирована таким образом, что неполярный фрагмент обращен в неполярную фазу М (масло), а полярный фрагмент к полярному. Таким образом, частицы снова неагрегированы (не сливаются), и состояние системы остается высокодисперсным. Желчные кислоты способны агрегатироваться в мицеллы, ядро которых неполярно. Образование таких мицелл способствует явлению солюбилизации, т.е. повышению растворимости водонерастворимых веществ.

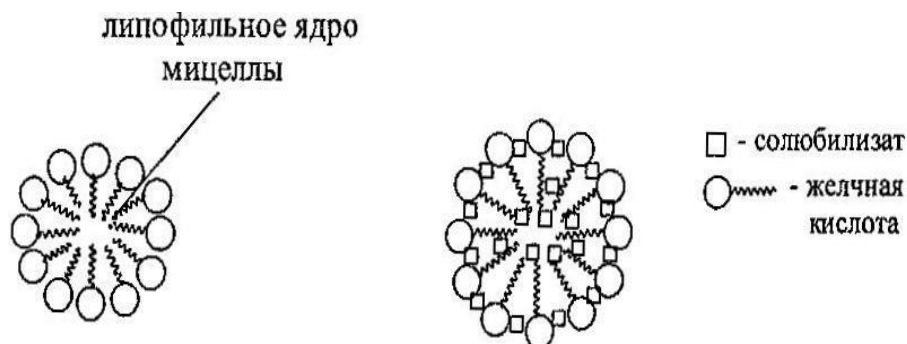


Рис. 4.3. Образование смешанной мицеллы. Солюбилизация.

Нерастворимые в воде компоненты или вещества проникают в ядро мицеллы и растворяются там. В таком виде осуществляется транспорт этих веществ в поток крови. Обычно формируются смешанные мицеллы, в образовании которых участвуют не только желчные кислоты, но и другие гидрофильные вещества.

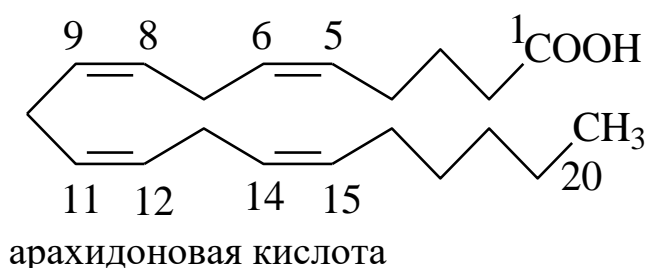
Ряд липидов образует комплексы со специфическими белками; эти комплексы называют *липопротеинами*. Кроме липопротеинов трех классов, в плазме крови содержатся более значительных размеров хиломикроны. *Хиломикроны* – это капельки, состоящие практически из чистых триацилглицеролов, окруженных тонким слоем белков. Хиломикроны переносят триацилглицеролы из тонкого кишечника, где они всасываются во время пищеварения в жировые депо. Предполагается, что высокое содержание в плазме *липопротеинов низкой плотности* (ЛПНП) и низкое содержание *липопротеинов высокой плотности* (ЛПВП) является важным фактором возникновения атеросклероза – заболевание, которое протекает с образованием обильных отложений холестерина и его эфиров на внутренней поверхности кровеносных сосудов (холестериновые бляшки). Ограничение кровотока через суженные сосуды мозга или сердца может привести к инсульту или инфаркту миокарда.

4.4. Эйкозаноиды

Эйкозаноиды – гормоны местного действия.

Арахидоновая кислота является предшественником группы важных биологических регуляторов – простагландинов.

К эйкозаноидам относят окисленные производные эйкозановых кислот: эйкозотриеновой (C₂₀:3), арахидоновой (C₂₀:4), тимнодоновой (C₂₀:5) жирных кислот. Активность эйкозаноидов значительно различается от числа двойных связей в молекуле, которое зависит от строения исходной жирной кислоты.



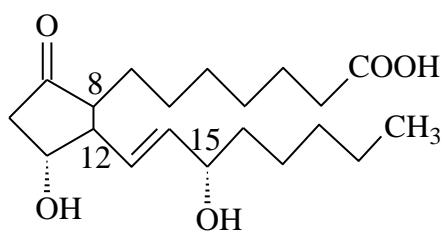
Выделяют три основные группы эйкозаноидов: простагландины, лейкотриены, тромбоксаны.

Простагландины – наиболее распространены в организме человека. Впервые они были выделены из предстательной железы, отсюда и получили свое название. Однако позже было показано, что и другие ткани организма синтезируют их. Основное биологическое действие простагландинов связано с их влиянием на гладкую мускулатуру. Так, простагландин E₂ расслабляет гладкую мускулатуру, а простагландин F₂ сокращает. Простагландины влияют и на агрегацию тромбоцитов, движение лимфоцитов.

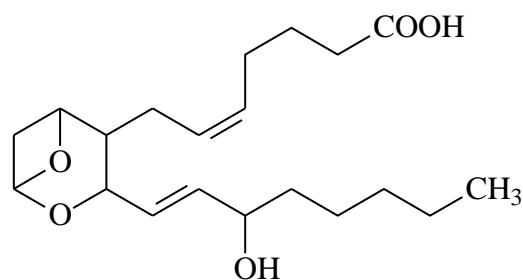
Простациклины образуются в стенках кровеносных сосудов, их биологический эффект – это торможение агрегации тромбоцитов, расширение сосудов.

Тромбоксаны – это биоактивные соединения, синтезируемые в тромбоцитах с их последующим выходом в кровь. Их физиологические эффекты заключаются в сужении сосудов и стимуляции агрегации тромбоцитов.

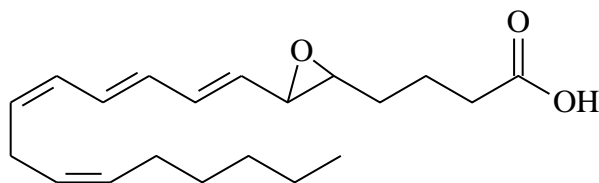
Лейкотриены образуются в лейкоцитах, тромбоцитах и макрофагах. Эта группа соединений в основном стимулирует расширение сосудов, увеличивает их проницаемость, активизирует хемотаксис.



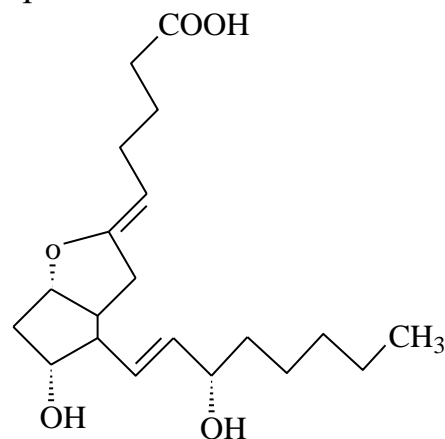
простагландин E₁



тромбоксан A₂



лейкотриен A₂



простациклин PGI₁

Эйкозаноиды действуют как локальные биорегуляторы путем связывания с мембранными рецепторами в непосредственной близости от места их синтеза как на синтезирующие их клетки (*аутокринное действие*), так и на соседние клетки (*паракринное действие*). В некоторых случаях их действие опосредовано цАМФ и цГМФ.

4.5. Витамины

Витамины — низкомолекулярные, разнообразные по химическому строению органические вещества, принимающие участие во многих реакциях клеточного метаболизма. В отличие от белков, жиров и углеводов витамины не являются структурными компонентами клетки, и не используются в качестве источника энергии. Большинство витаминов не синтезируются в организме человека и животных, но некоторые синтезируются микрофлорой кишечника и тканями в минимальных количествах, поэтому основной источник витаминов — пища. Витамины — вещества нестойкие, легко разрушаются высокой температурой, действием сильных гидроксидов, кислородом воздуха, ионизирующими излучениями и другими факторами.

В 1912 г. польский ученый Коземир Функ, изучая компоненты, входящие в состав шелухи риса и предохраняющие от болезни бери-бери, и

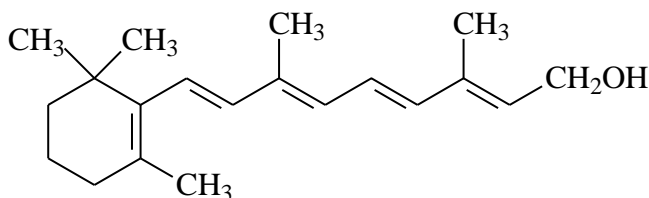
полагая, что в их состав должны входить аминные группировки, предложил назвать эти неизвестные вещества витаминами, т.е. аминами жизни. Известно три состояния, связанные с витаминами: 1 – авитаминоз - полное отсутствие витаминов. 2 - гиповитаминоз - недостаток витаминов. 3 – гипervитаминоз – избыточное поступление витаминов.

Витамины принято обозначать большими буквами латинского алфавита (А, D, Е, В1, В2 и т. д.), а также по болезни (которую излечивает данный витамин) с прибавкой «анти» (антирахитный, антинеуритный, антиксерофтальмический и т. д.) или по химическому названию (ретинол, аскорбиновая кислота кальциферол, биотин, и т.д.). К группе жирорастворимых витаминов относятся витамины А, D, Е, К и F, а водорастворимым — В1, В2, В3, В5, В6, Вс, В12, С, Р, Н. К группе витаминоподобных веществ относятся холин, инозит, витамины В13, В15 убихинон и др.

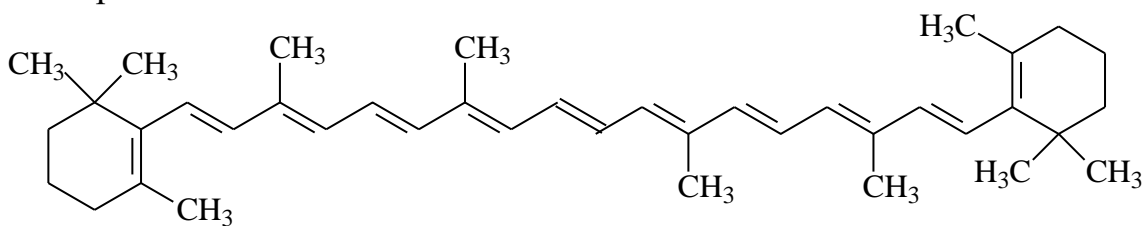
Жирорастворимые витамины

Они выполняют различные функции.

Витамин А (антиксерофтальмический) участвует в процессе зрения, роста и дифференцировки клеток, доказана его способность угнетать рост некоторых видов опухолей. С пищевыми продуктами (морковь, черника и т.д.) в организм поступает как витамин А, так и каротины – вещества, схожие с ним по строению.



ретинол



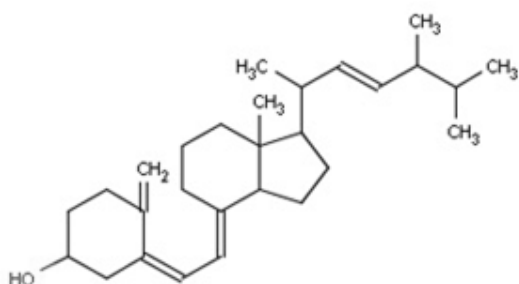
β-каротин

При недостатке или отсутствии в организме животных витамина А наблюдают остановку роста, снижение продуктивности, легкую восприимчивостью к инфекции.

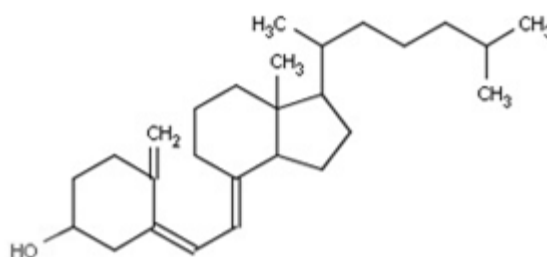
В свободном виде витамин А содержится в печени рыб (треска, тунец, палтус) – до 37 000 мг/100 г, рыбьем жире, молозиве и молоке коров, в рыбной и мясокостной муке и других кормах животного и растительного происхождения.

Витамин D (кальциферол, антирахитический) влияет на всасывание кальция из кишечника в кровь. Витамин D индуцирует синтез в стенке кишечника белка-переносчика, транспортирующего кальций через мембраны ворсинок кишечника в кровь.

Источники поступления витамина D: печень, дрожжи, жирномолочные продукты (сливочное масло, сливки, сметана), желток яиц, образуется в коже при ультрафиолетовом облучении из 7-дегидрохолестерола в количестве 0,5-1,0 мкг/сут. Недостаток витамина проявляется в виде рахита, остеомаляции и остеопороза.



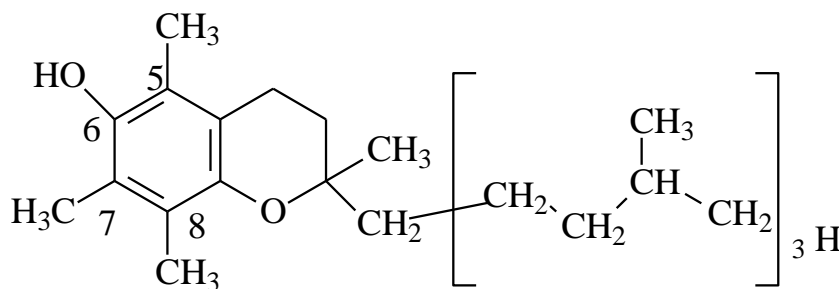
витамин D2 (эргокальциферол)



витамин D3 (холекальциферол)

Витамин E (токоферол) выполняет антиоксидантную функцию.

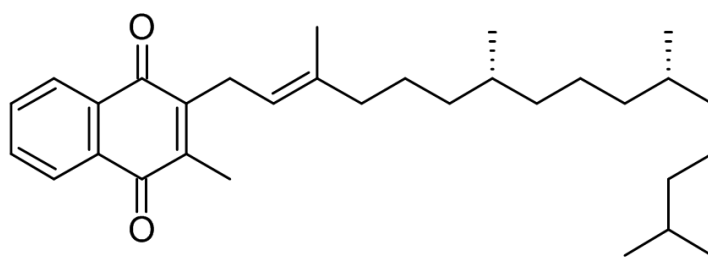
Источником витамина E являются растительные масла (кроме оливкового), пророщенное зерно пшеницы, бобовые, яйца.



α -токоферол: 5,7,8-триметилтококол

При гиповитаминозе появляется пониженная устойчивость и гемолиз эритроцитов *in vivo*, анемия, увеличение проницаемости мембран, мышечная дистрофия, слабость.

Витамин K (нафтохиноны, антигеморрагический) обеспечивает синтез: факторов свертывания, белков костной ткани, протеинов C и S, участвующих в антисвертывающей системе крови. Источниками витамина K являются: капуста, крапива, рябина, шпинат, тыква, арахисовое масло, печень (филлохинон).

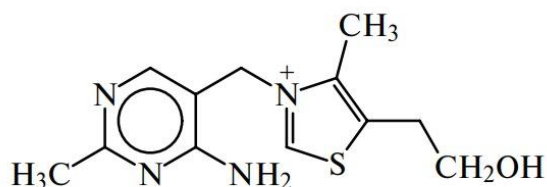


витамин К1 (филлохинон)

При недостатке витамина наблюдается кровоточивость, снижение свертываемости крови, легкое возникновение подкожных гематом.

Водорастворимые витамины

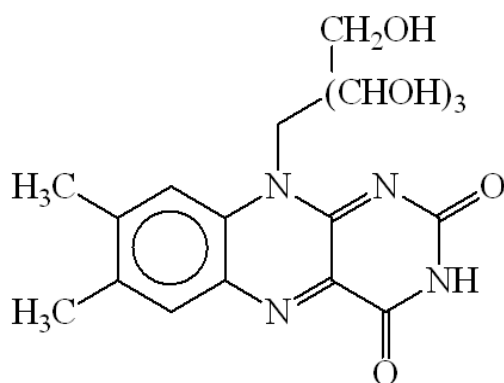
Витамин В1 (тиамин, аневрин, анейрин) входит в состав тиаминдифосфата (ТДФ), который является коферментом ферментов, участвующих в биосинтезе нуклеиновых кислот и энергетическом обмене, необходим для передачи нервных импульсов. Витамин В1 содержится в черном хлебе, злаках, горохе, фасоли, мясе.



тиамин

При гиповитаминозе наблюдаются полиневриты, энцефалопатия, нарушение сердечного ритма, нарушение функций желудочно-кишечного тракта.

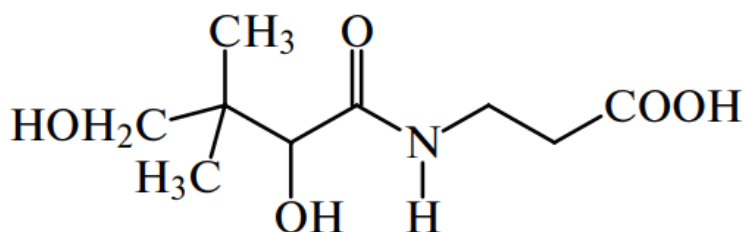
Витамин В2 (рибофлафин, витамин роста) является коферментом оксидоредуктаз. Содержится в мясных продуктах, печени, почках, молочных продуктах, дрожжах.



рибофлавин

При гиповитаминозе развиваются заболевания кожи (себорея, псориаз), появляются трещины в углах рта (хейлоз), поражение сетчатки глаза, ряд заболеваний кроветворной системы и желудочно-кишечного тракта.

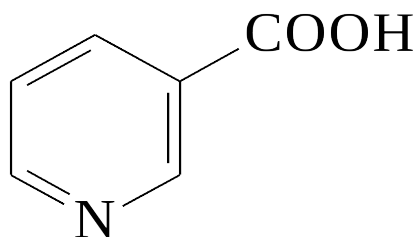
Витамин В3 (пантотеновая кислота) существует только в виде пантотеновой кислоты, в ее составе находится β-аланин и пантотеновая кислота (2,4-дигидрокси-3,3-диметилмасляная). Его коферментными формами являются кофермент А (коэнзим А, HSKoA) и 4-фосфопантетеин. Витамин В3 переносит ацильные группы в реакциях биологического окисления, синтеза жирных кислот и желчных кислот.



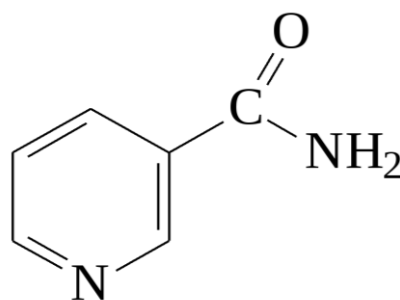
пантотеновая кислота

При гиповитаминозе появляется дерматит, педио-лалгия (эритромелалгия) – поражение малых артерий дистальных отделов нижних конечностей.

Витамин В5 (РР, ниацин, антипеллагрический) участвует в переносе гидрид-ионов в синтезе карбоновых кислот, жиров, применяется для лечения нервных расстройств. Хорошие источники витамина В5: печень, мясо, рыба, бобовые, гречка, черный хлеб. Также синтезируется в организме из триптофана – 60 мг триптофана равноценны примерно 1 мг никотиламида.



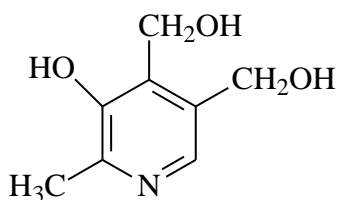
никотиновая кислота



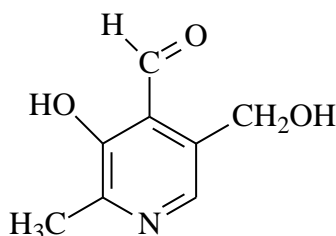
никотинамид

При гиповитаминозе появляются повышенная возбудимость ЦНС, синдром трех Д: деменция, дерматиты, диарея.

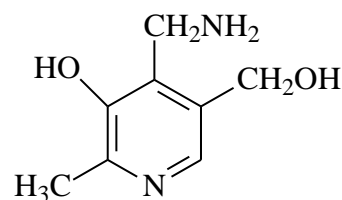
Витамин В6 (пиридоксин, антидерматитный) участвует в переносе аминогрупп и карбоксильных групп в реакциях метаболизма аминокислот. Витамином В6 богаты злаки, бобовые, дрожжи, печень, почки, мясо. Синтезируется кишечными бактериями.



пиридоксин



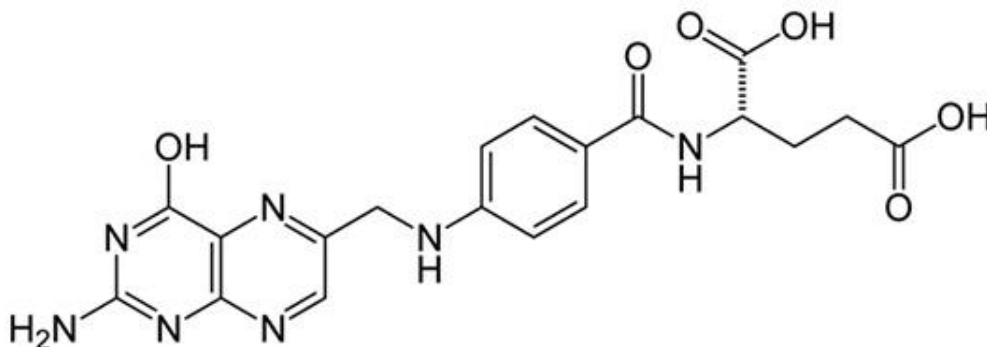
пиридоксаль



пиридоксамин

При гиповитаминозе появляются повышенная возбудимость ЦНС, эпилептиформные судороги, полиневриты, пеллагроподобные дерматиты, эритемы и пигментация кожи, отеки, анемии.

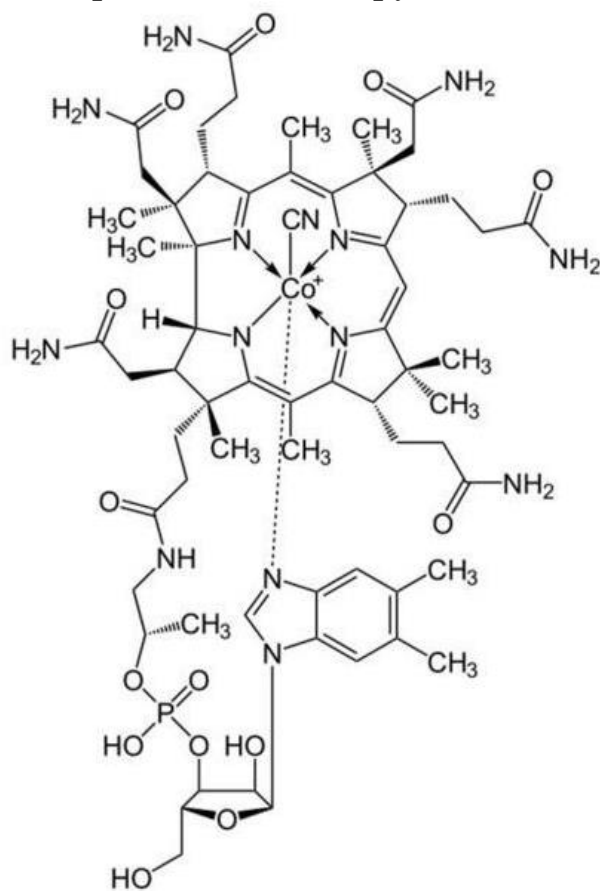
Витамин В9 = ВС (фолиевая кислота) участвует в переносе одноуглеродных фрагментов, в синтезе пуриновых оснований, взаимодействует с витамином В12, содействуя выполнению его функций. Витамин содержится в растительных продуктах, дрожжах, мясе, печени, почках, желтке яиц.



фолиевая кислота

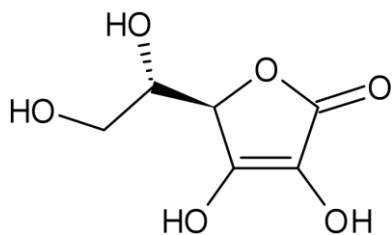
При гиповитаминозе клетки не теряют способности расти, и в них происходит нарушение синтеза ДНК с остановкой деления. Это приводит к образованию мегалобластов (крупных клеток) и мегалобластической анемии. Аналогично развивается поражение слизистых желудка и кишечного тракта (гастриты, энтериты), конъюнктивит, ухудшение заживления ран, иммунодефициты, оживление хронических инфекций и субфебрилитет.

Витамин В12 (кобаламин, антианемический) участвует в реакциях изомеризации и метилирования. Применяется в гематологии, неврологии, дерматологии. Содержится витамин только в животных продуктах: печень, рыба, почки, мясо. При гиповитаминозе появляется макроцитарная анемия и неврологические нарушения.



цианкобаламин

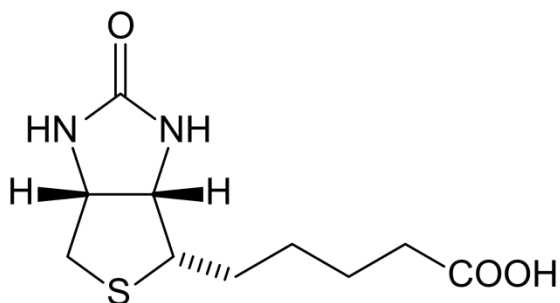
Витамин С (аскорбиновая кислота) участвует в окислительных процессах в качестве кофермента гидроксилаз, выполняет антиоксидантную роль. В медицине витамин применяется для лечения цинги, при геморрагических диатезах, кровотечениях, простуде, а также в химиотерапии рака. Источник витамина С – свежие овощи и фрукты (по убыванию количества): шиповник, смородина, перец сладкий, укроп, капуста, земляника, клубника, апельсины, лимоны, малина.



аскорбиновая кислота

При недостатке витамина С наблюдается нарушение синтеза коллагена, отмечается нарушение иммунитета, кровоточивость десен, снижается всасываемость железа в кишечнике (вызывает нарушение синтеза гемоглобина и железодефицитную анемию), у детей дефицит аскорбиновой кислоты приводит к болезни Меллера-Барлоу.

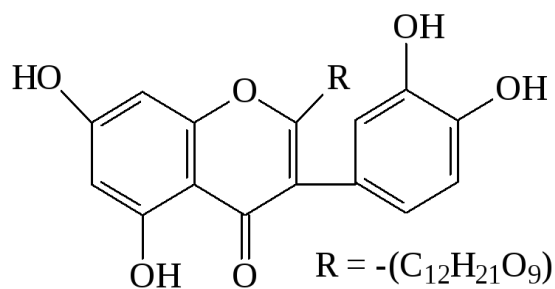
Витамин Н (биотин, антисеборейный) является коферментом N⁵-карбоксибиотина, переносящего CO₂ в обратимых реакциях карбоксилирования – декарбоксилирования и транскарбоксилирования при биосинтезе липидов, аминокислот, углеводов, нуклеиновых кислот. Из пищевых продуктов витамин содержат: печень, почки, горох, соя, цветная капуста, грибы.



биотин

При гиповитаминозе появляются дерматиты, выделение жира салынными железами кожи (себорея), поражение ногтей, выпадение волос, анемия, анорексия, депрессия, усталость, сонливость.

Витамин Р (рутин) уменьшает проницаемость и ломкость капиллярных кровеносных сосудов. Вместе с витамином С участвует в окислительно-восстановительных процессах, тормозит действие гиалуронидазы. В значительных количествах рутин содержится в цитрусовых. Применяется витамин Р при лечении заболеваний кровеносных сосудов, гипертонии, кори, скарлатины и т.д.



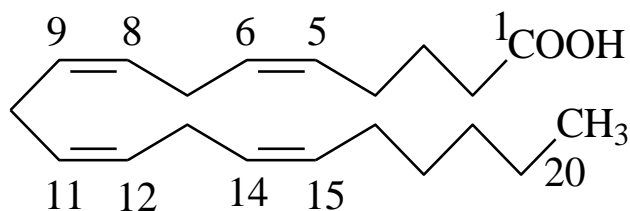
рутин

При недостатке витамина появляется кровоточивость дёсен и точечные кровоизлияния.

Витаминоподобные вещества

Витаминоподобные вещества – группа химических веществ, некоторые из которых частично синтезируются в организме, но обладают витаминными свойствами.

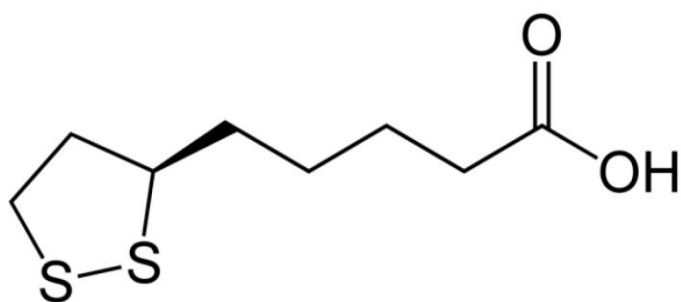
Витамин F (омега-6 жирные кислоты) представляет собой набор полиненасыщенных жирных кислот. Наиболее распространены из этих кислот: линолевая, линоленовая и арахидоновая. Витамин F – предшественник эйкозаноидов, предотвращает витамин А от окисления и является составной частью фосфолипидов мембран. Источники витамина – растительные масла (кроме пальмового и оливкового).



арахидоновая кислота

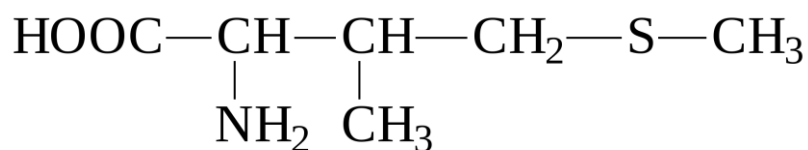
При недостатке витамина появляются воспалительные поражения кожи (возникновение некротических очагов, экзема, выпадение волос), поражение почек, атеросклероз, иммунодефициты.

Витамин N (липоевая кислота) является кофактором мультиферментных комплексов. Липоевая кислота участвует также в тиолдисульфидных превращениях белков, окислительном фосфорилировании и других важных биохимических реакциях. Применяется в медицине для нормализации липидного обмена, лечения сахарного диабета, атеросклероза, некоторых отравлений.



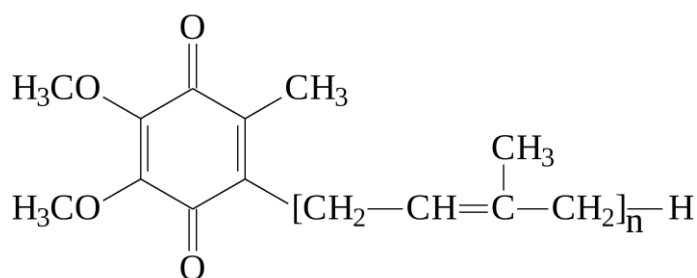
липовая кислота

Витамин U (противоязвенный, метилметионин) оказывает болеутоляющее действие и способствует эпителизации оболочки желудка и кишечника при у язвенных больных. Витамин U содержится в спарже, петрушке, шпинате, сельдерее, томатах, молоке.



метилметионин

Витамин Q (кофермент Q, убихиноны) участвует в системе дыхания, обеспечивая поглощение кислорода, транспорт электронов и окислительное фосфорилирование в митохондриях. В нормальных условиях убихиноны биосинтезируются организмом человека в достаточных количествах, однако при белковой или калорийной недостаточности (голодании) у детей возникают анемия или изменения в костном мозге, которые снимаются введением витамина Q₁₀. Убихиноны необходимы также при развитии эмбриона. Витамин применяется в медицине для стимуляции митохондрий миокарда.



убихинон

ГЛАВА 5. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Нуклеиновые кислоты – биополимеры мономерным фрагментом которых являются нуклеотиды, включающие фрагменты β -D-рибозы или β -D-2-дезоксирибозы, фрагмент фосфорной кислоты и азотистые основания, которые (по аналогии с пиримидином) называют пиримидиновыми и (по аналогии с пурином) – пуриновыми. Нуклеиновые кислоты – составная часть всех живых клеток, играют главную роль в передаче наследственных признаков (генетической информации) и управлении процессом биосинтеза белка. Существует два различных типа нуклеиновых кислот – рибонуклеиновые (РНК) и дезоксирибонуклеиновые (ДНК). Первая отличается от второй моносахаридным остатком: в состав РНК входит рибоза, а в состав ДНК – дезоксирибоза. Кроме того, в состав РНК входят четыре нуклеиновых основания – урацил, цитозин, аденин, гуанин. В состав ДНК входят: тимин, цитозин, аденин, гуанин.

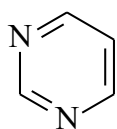
Нуклеиновые кислоты представляют высокомолекулярные соединения. Их полимерные цепи построены из мономерных единиц – нуклеотидов, в связи с чем нуклеиновые кислоты называют полинуклеотидами.

Впервые нуклеиновые кислоты обнаружил Фридрих Мишер в 1869 г. в клетках, богатых ядерным материалом.

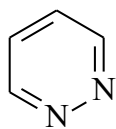
5.1. Пуриновые и пиримидиновые основания

Гетероциклические соединения – это органические соединения, в циклах которых, кроме атомов углерода, содержатся атомы других элементов, называемые гетероатомами (атомы азота, серы, кислорода и др.). Размер цикла может быть различным. Наибольшее распространение в природе имеют пяти- и шестичленные циклы.

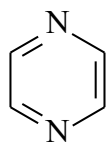
Шестичленные гетероциклы с двумя гетероатомами



пиримидин



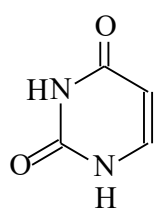
пиридазин



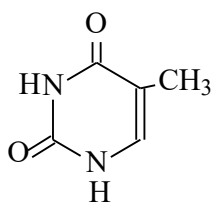
пиразин

Наибольшее практическое значение из них имеет пиримидин.

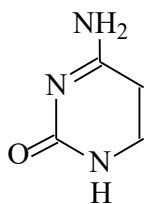
Производные пириимидина



урацил



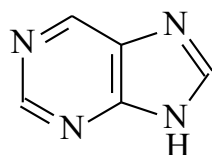
тимин



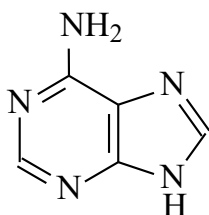
цитозин

Пурин является амфотерным соединением, представляющим собой слабую кислоту и слабое основание.

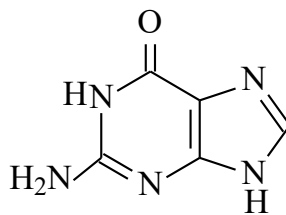
Пурин и его производные



пурин



аденин

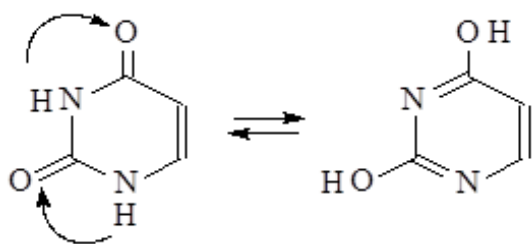


гуанин

Для азотистых оснований характерно явление таутомерии – взаимное динамическое превращение изомеров, обусловленных переносом какой-либо подвижной группы или атома (обычно H^+), что сопровождается перераспределением электронной плотности.

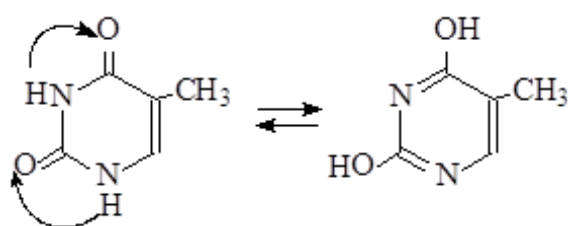
Для тимина и урацила характерна лактам-лактимная таутомерия.

Пириимидиновые нуклеотиды в составе нуклеиновых кислот находятся в лактамной форме, позволяющей пириимидиновым основаниям включаться в состав нуклеотидов и участвовать в образовании водородных связей в ДНК. Лактамная форма более устойчива.



урацил

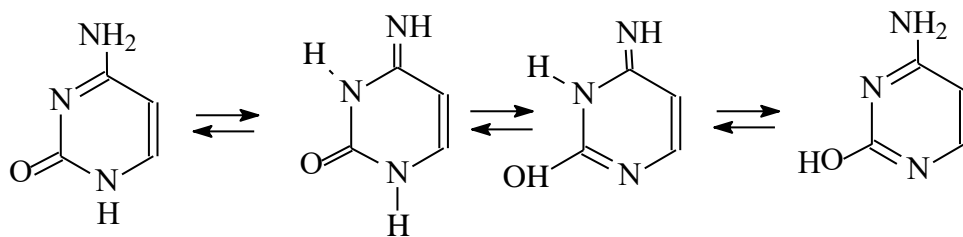
лактимная форма лактамная форма



тимин

лактимная форма лактамная форма

Для цитозина, кроме лактам-лактимной, возможно енамино-иминная таутомерия (амино-иминная).



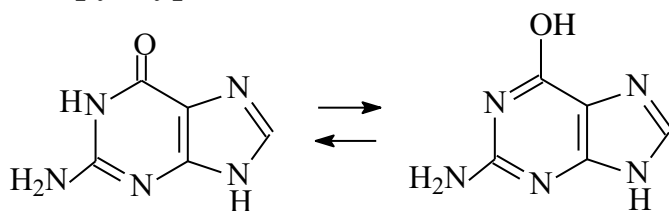
лактамная (=O)
аминная (NH₂)

лактамная
иминная (NH)

лактимная
иминная

лактимная (OH)
аминная

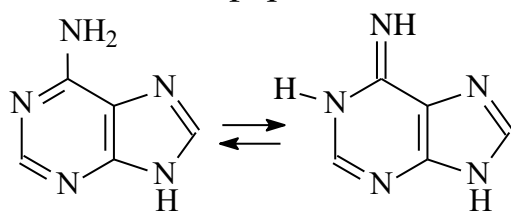
Для гуанина в физиологических условиях наиболее устойчива лактамная структура.



лактамная

лактимная

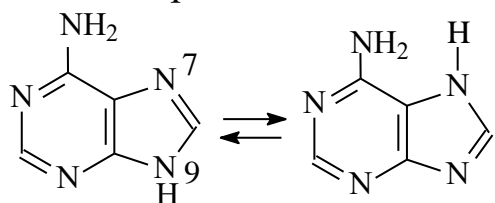
Для аденина характерна енамино-иминная таутомерия. Устойчивой является аминная форма.



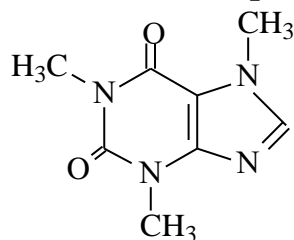
аминная

иминная

Для аденина также возможно прототропная таутомерия. Происходит перемещение протона в пятичленном цикле между положениями 7 и 9.



Азотистые основания могут находиться и в свободном состоянии, особенно в клетках растений (например в зернах кофе).

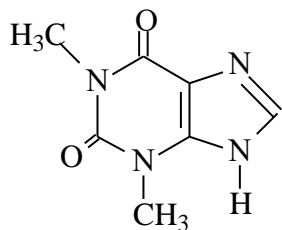


кофеин

Кофеин – алкалоид, который содержится в листьях чая (до 4%), семенах кофе (до 2%), орехах кола (до 6%), бобах какао (до 4%).

Кофеин, теofilлин и теобромин являются алкалоидами, оказывающими возбуждающее действие на центральную нервную систему.

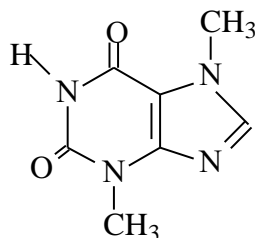
В листьях чая, помимо кофеина, содержится теofilлин.



теofilлин

Теofilлин – алкалоид, хорошее сосудорасширяющее и мочегонное средство.

В какао бобах содержится теобромин.

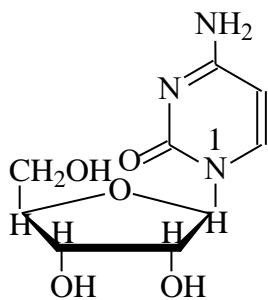


теобромин

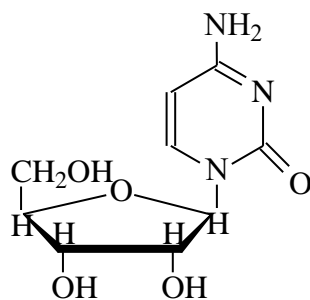
Теобромин повышает сердечный ритм и оказывает стимулирующее воздействие на организм человека, как и кофеин, но без побочных эффектов (бессонница и дрожь).

5.2. Нуклеозиды и нуклеотиды

Нуклеозиды – соединения, в молекуле которых пиримидиновые или пуриновые основания связаны N- гликозидной связью с β -D- рибозой или β -D-дезоксирибозой. При этом пиримидиновые нуклеотиды связаны через положение N-1 (цитидин), через N-9 (аденозин).

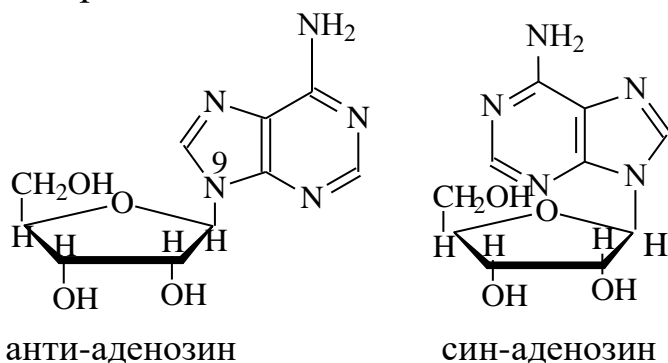


син-цитидин



анти-цитидин

Азотистые основания по отношению к рибозному циклу (плоскости) могут занимать два положения: син и анти, которые отличаются положение кислорода или азота в положении С3.

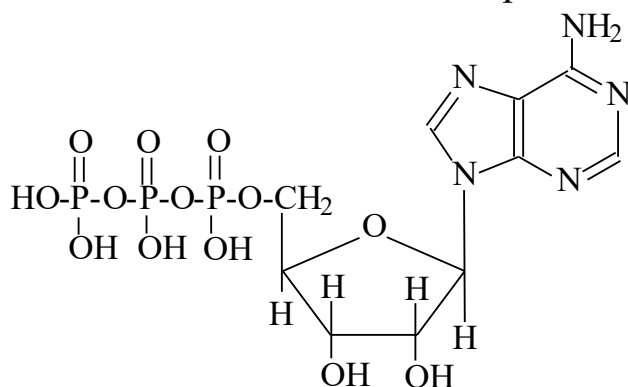


В кристаллическом состоянии преимущественно структура – анти, в растворе пиримидиновые основания преимущественно в состоянии – анти, а пуриновые в анти и син. В молекуле ДНК основания находятся только в анти состоянии. В молекуле РНК преимущественно анти, но может быть и син.

Нуклеозидполифосфаты. Никотинамиднуклеотиды

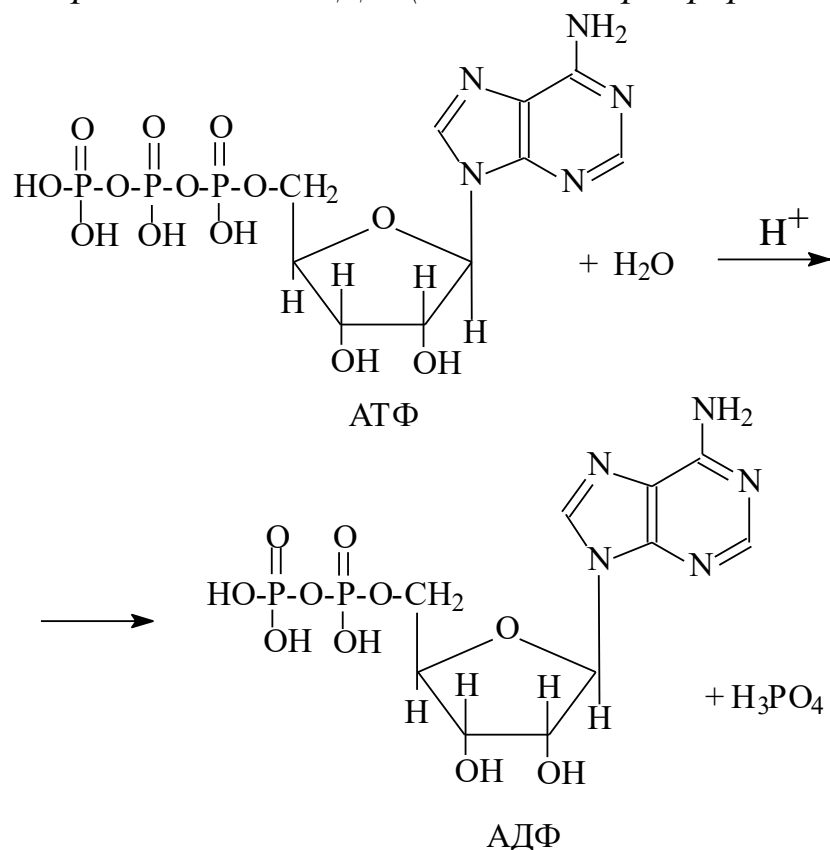
Нуклеотиды имеют большое значение не только как строительный материал для нуклеиновых кислот, они участвуют в биохимических процессах, особенно важны в роли коферментов, т.е. веществ, тесно связанных с ферментами и необходимых для проявления ферментативной активности.

Большое значение в живых организмах играют нуклеотиды, содержащие в своем составе трифосфатные группировки – АТФ – аденозин-5'-трифосфорная кислота. С участием АТФ и АДФ в организме осуществляется важнейший биохимический процесс – перенос фосфатных групп.

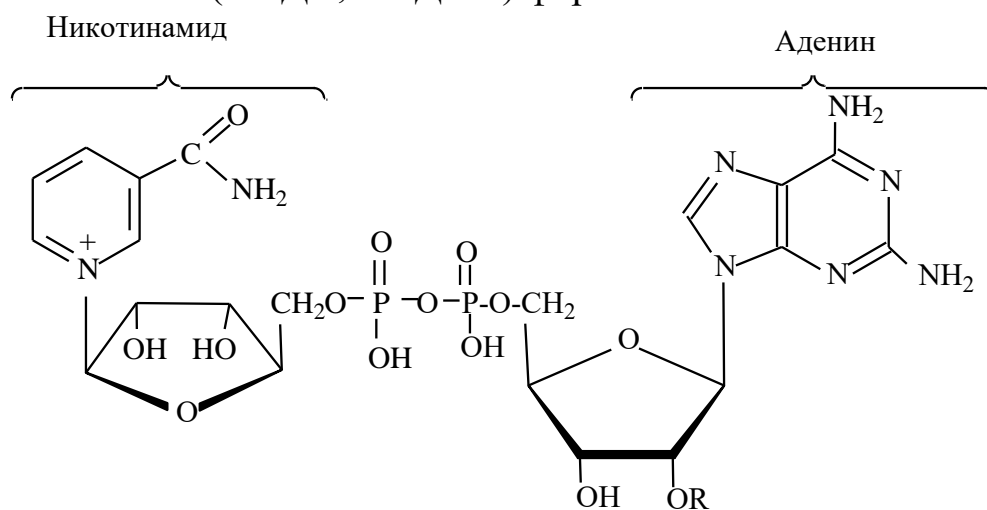


АТФ является своеобразным аккумулятором энергии в живых организмах. При гидролизе АТФ связи Р-О-Р легко разрываются с выделением большого количества энергии ≈ 33 кДж/моль.

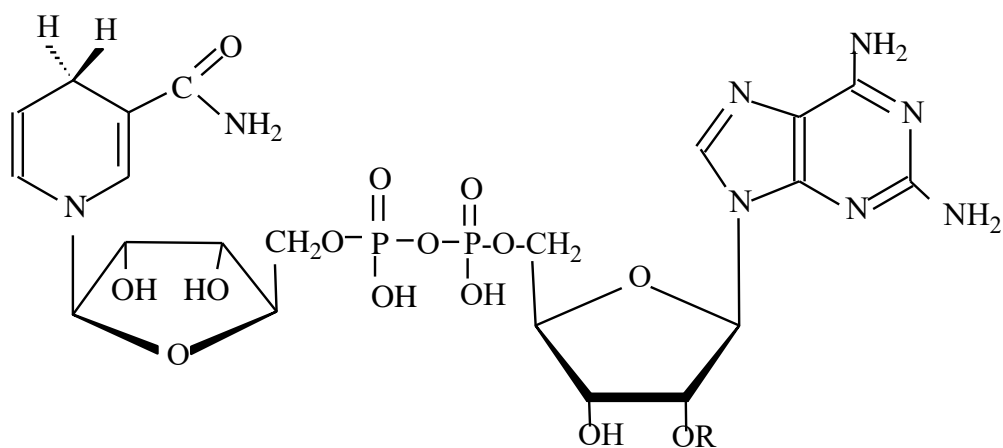
Гидролиз АТФ до АДФ (аденозиндифосфорной кислоты)



Наиболее важными представителями *никотинамиднуклеотидов* являются никотинамидадениндинуклеотид (NAD, или в русской литературе НАД) и его фосфат (NADP, или НАДФ). Эти соединения выполняют важную роль коферментов большого числа ферментов дегидрогеназ и, следовательно, являются участниками окислительно-восстановительных реакций. Они могут существовать как в окисленной (НАД⁺, НАДФ⁺), так и восстановленной (НАДН, НАДФН) формах.



R=H Никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺)
 R=PO₃H₂ Никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ⁺)



R=H Никотинамидадениндинуклеотид (НАДН)

R=PO₃H₂ Никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФН)

Типичными примерами биохимических реакций с участием НАД⁺ служат окисление спиртовых групп в альдегидные (например превращение ретинола в ретиналь), а с участием НАДН – восстановление карбонильных групп в спиртовые (превращение пировиноградной кислоты в молочную).

5.3. СТРУКТУРА ДНК

ДНК имеет первичную, вторичную и третичную структуры.

Первичная структура ДНК

Мономером ДНК является дезоксирибонуклеотид. В состав входят два пиримидиновых основания (Цитозин и Тимин) и два пуриновых (Аденин и Гуанин). Углеводный фрагмент представлен β-D-2'-дезоксирибозой. Все азотистые основания находятся в устойчивых конформациях, и только в син-положении относительно дезоксирибозы. Соединение нуклеотидов осуществляется сложноэфирной связью между фосфорной кислотой и группой ОН в положении 3' одного нуклеотида и 5' другого. Такая связь называется 3', 5'-фосфодиэфирной.

Процесс образования фосфодиэфирной связи ферментативный, осуществляется только в одном направлении от 5' к 3'. С точки зрения химии это означает, что гидроксильная группа в положении 3' нуклеотида, встроенного в полинуклеотидную цепь, нуклеофильно атакует 5'-ТФ фрагмент свободного нуклеотида, который должен присоединиться к нуклеотидной последовательности ДНК. При этом происходит отщепление пирофосфата.

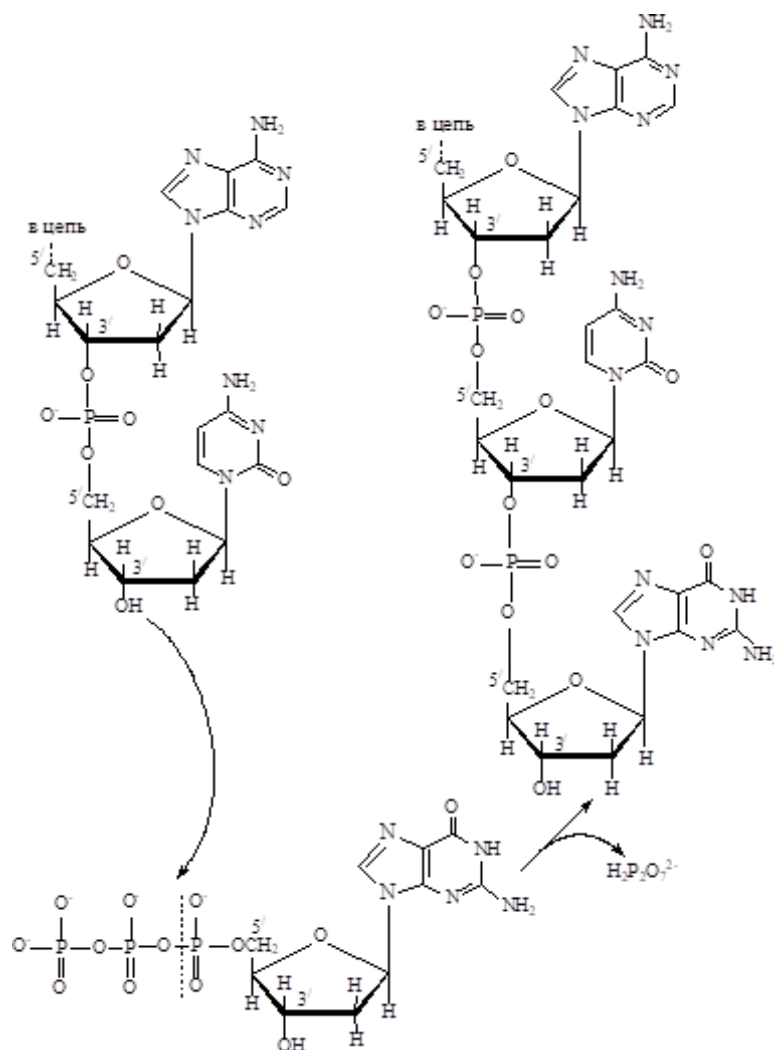


Рис. 5.1. Образование первичной структуры ДНК

Определенная последовательность дезоксирибонуклеотидов определяет первичную структуру ДНК. Она строго специфична и индивидуальна для каждой природной ДНК и представляет кодовую форму записи биологической информации (*генетический код*). Впервые доказательство генетической роли ДНК получено в 1944 г. Освальдом Эйвери с сотрудниками в опытах по трансформации, осуществленных на бактериях. Содержание нуклеотидов в ДНК подчиняется закономерностям, выявленным Эрвином Чаргафом (1950): суммарное количество пуриновых оснований равно сумме пиримидиновых, причем количество А равно количеству Т, а количество Г – количеству Ц. Эти закономерности определяются особенностями вторичной структуры ДНК.

Вторичная структура ДНК

В 1953 г. Уотсон и Крик предложили двухспиральную модель ДНК, в соответствии с которой она состоит из полинуклеотидных цепей, правозакрученных относительно общей оси.

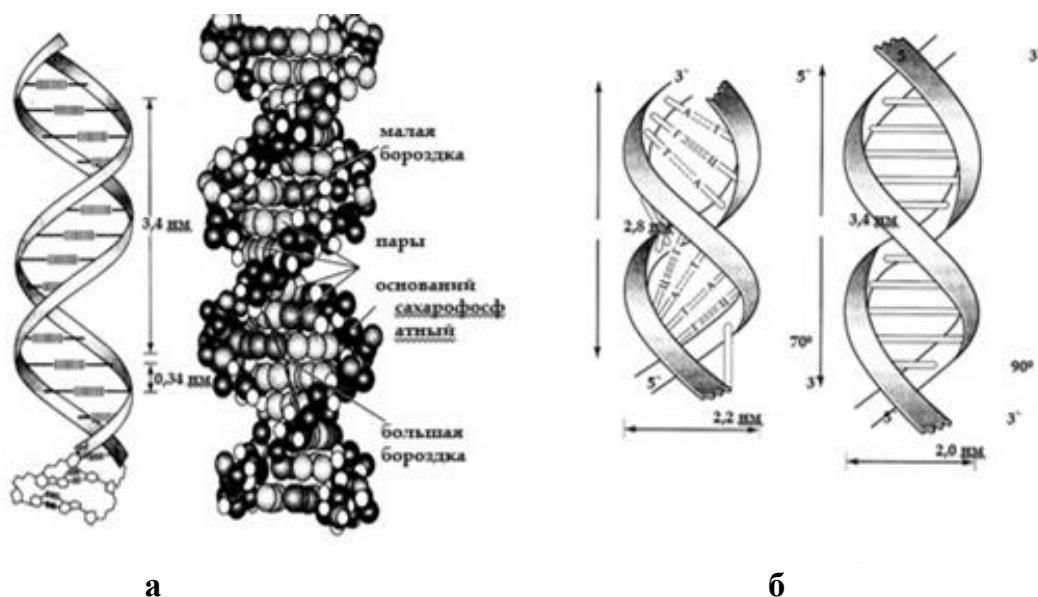


Рис. 5.2. Структура двойной спирали ДНК:

а-модель двуцепочечной спирали ДНК

б-схематическое изображение А- и В- форм двойной спирали ДНК

В процессе жизнедеятельности организма перед каждым клеточным делением происходит точное воспроизводство ДНК. Процесс самовоспроизведения ДНК называется **репликацией** (от лат. *replication* – повторение). И хотя механизм репликации одинаковый для всех ДНК, различные ДНК дают только идентичные себе копии.

Согласно модели Уотсона–Крика, цепи в двухспиральной ДНК расходятся, и каждая цепь служит матрицей при синтезе новой комплементарной цепи. Последовательность оснований в синтезируемой цепи задается последовательностью комплементарных оснований соответствующей цепи ДНК матрицы (рис. 5.3).

Репликация осуществляется комплексом ферментов. Непосредственный процесс удлинения вновь синтезируемой цепи (рис. 5.3) происходит при катализе ДНК-полимеразой, и с химической точки зрения он аналогичен процессу транскрипции (рис. 5.4).

Диаметр ДНК 2 нм. Спираль делает полный оборот с интервалом 3,4 нм. Азотистые основания направлены перпендикулярно к оси спирали, их плоскости практически параллельны друг с другом. В результате формируются стопки. Расстояние между плоскостями азотистых оснований 0,34 нм.

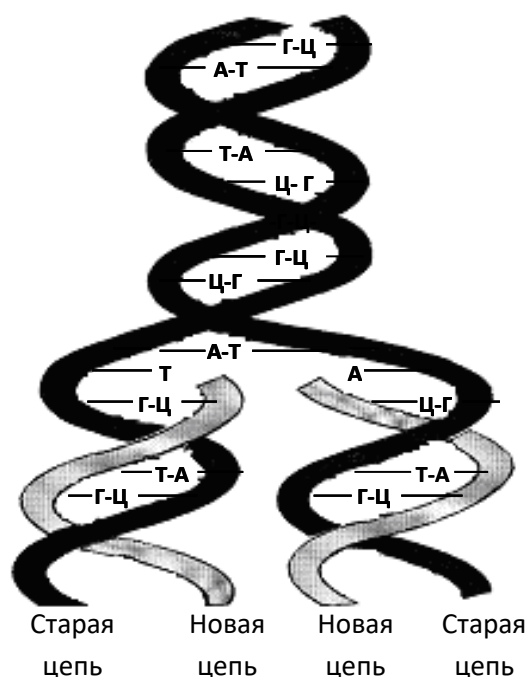


Рис. 5.3. Схема репликации ДНК

Главную роль в стабилизации вторичной структуры ДНК играют водородные связи, которые образуются между пуриновыми и пиримидиновыми основаниями двух цепей. Максимальная стабильность водородной связи достигается, когда все 3 атома, образующие ее (атом донор и два атома акцептора) находятся на одной линии.

Экспериментальным признаком образования стабильной водородной связи служит расстояние между донором и акцептором 2,8-3,0 нм. Всем этим требованиям удовлетворяют взаимодействия пар оснований: А-Т и Г-Ц. Они называются комплементарными, или пары Уотсона-Крика. Между аденином и тиминами образуются две связи.



Между гуанином и цитозином образуются три связи.



Во втором случае комплементарное спаривание более эффективно. Энтальпия трех водородных связей $\approx 40-48$ кДж/моль. В первом случае ≈ 29 кДж/моль.

Дополнительно вторичная структура ДНК стабилизирована гидрофобными взаимодействиями между азотистыми основаниями, уложенными в стопки – СТЭКИНГ – взаимодействие.

Субстратами при репликации являются четыре дезоксирибонуклеозидтрифосфата: аденозин-, гуанозин-, тимидин- и цитидинтрифосфат. В соответствии с принципом комплементарности, если в матричной цепи имеется нуклеотидная последовательность

5' АГЦТАГГА 3' ,

то во вновь синтезируемой в этом месте должна находиться последовательность

3' ТЦГАТЦЦТ 5' ,

т.е. тимин комплементарен только аденину, а цитозин – гуанину.

ДНК-полимераза выбирает нужный мономер, комплементарный основанию матричной цепи (рис. 5.4). Затем также при участии ДНК-полимеразы фосфатная группа, связанная с 5'-углеродным атомом дезоксирибозы этого нуклеотида, нуклеофильно атакуется 3'-ОН-группой предыдущего нуклеотида, уже встроенного в растущую цепь. При этом происходит образование фосфодиэфирной связи и отщепление пирофосфата, который гидролизруется до фосфата.

Эти этапы повторяются по мере движения ДНК-полимеразы от одного основания к другому вдоль матрицы. В большинстве клеток имеется несколько ДНК-полимераз.

Репликация ДНК осуществляется во время S-фазы клеточного цикла. Как следует из рис. 5.3, в каждой из двух вновь синтезированных ДНК сохраняется одна цепь от исходной материнской ДНК.

механизм репликации у бактерий был подтвержден экспериментально как *in vivo*, так и *in vitro*. При репликации ДНК скорость полимеризации колеблется в пределах от 500 нуклеотидов в одну секунду у бактерий и приблизительно до 50 нуклеотидов у млекопитающих.

В молекуле ДНК редко встречаются модифицированные азотистые основания, чаще 5-метилцитозин и N6-метиладенин, которые не нарушают комплементарность спаривания. Форма спирали, предложенная Уотсоном и Криком, называется ***β-форма***. В такой форме обычно находятся ДНК клетки. Однако вторичная структура динамичная и при изменении условий, а также на различных этапах деления клетки она может переходить в другие формы. К настоящему времени наиболее изученными являются А-, В-, С-, Т-, Z-, SBS- формы. Они отличаются числом пар оснований на один виток спирали, расстоянием между парами оснований, углом, который они образуют к оси молекулы. В репликации участвуют ДНК в В-форме, в процессах транскрипции – А-форме, в упаковке – С-форме.

В эукариотических клетках молекула ДНК способна к образованию спиралей, суперспиралей, т.е. за счет этого происходит упаковка ДНК. Важную роль в упаковке играют гистоновые белки.

Третичная структура ДНК различается у прокариотических и эукариотических организмов. У бактерий и вирусов, а также в митохондриях и хлоропластах эукариот ДНК имеют либо линейную, либо кольцевую форму, двух- или одноцепочечную. Двухцепочечные ДНК легко переходят в суперспирализованное состояние в результате дополнительного скручивания в пространстве двухспиральной молекулы.

Третичная структура ДНК эукариотических клеток также выражена в многократной суперспирализации молекулы, однако (в отличие от прокариот) она осуществляется в форме комплексов ДНК с гистоновыми и негистоновыми белками. Гистоны обогащены зарядом +, а ДНК за счет фосфорной кислоты имеет заряд –. Следовательно, электростатическое взаимодействие способствует упаковке молекулы ДНК. Такие дезокси-нуклеопротеины называются **хроматином**.

Выделяют следующие уровни упаковки хроматина (рис. 5.5):

- **нуклеосомный**. Четыре гистона H2A, H2B, H3 и H4 (по два каждого типа) образуют октамерный белковый комплекс, который называют *нуклеосомный кор*. С нею связываются молекулы гистона H1, защищая эти участки от действия нуклеаз;
- **соленоидный**. Нуклеосомная нить скручивается в более толстые фибриллы – **соленоиды**;
- **петлевой**. Соленоидная фибрилла образует петли и дополнительно упаковывается;

- *метафазная хромосома*. Петельные домены дополнительно конденсируются и спирализуются, приобретают четкие формы.

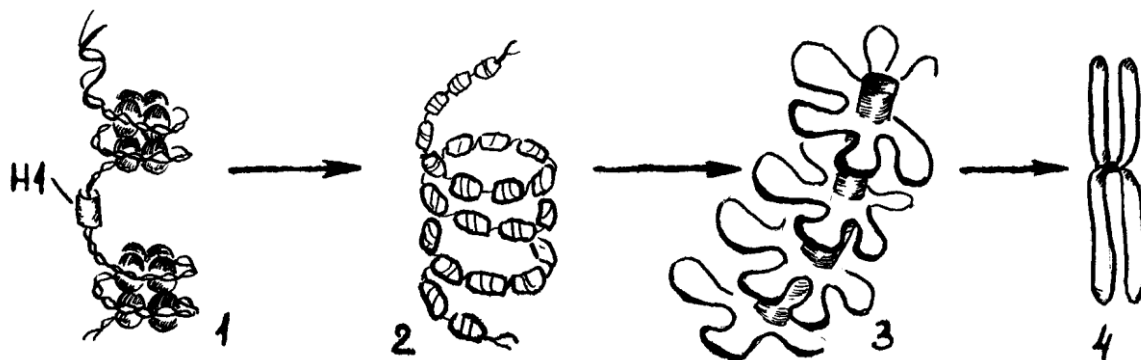


Рис. 5.5. Уровни организации хроматина

Свою роль носителя генетической информации ДНК эукариот выполняет не сама по себе, а в составе клеточной структуры, которая называется *хромосомой* (греч. *chroma* – цвет, *soma* – тело). С биологической точки зрения хромосома представляет собой комплекс ДНК и белков, т.е. нуклеопротеиновый комплекс.

Организация генома человека. Общая длина ДНК гаплоидного набора из 23 хромосом человека составляет $3,5 \times 10^9$ пар нуклеотидов. Этого количества ДНК достаточно для создания нескольких миллионов генов. Однако истинное число структурных генов находится в области 40 тысяч. Таковую избыточность ДНК объясняют как сложной организацией генов, так и наличием повторяющихся участков ДНК.

5.4. СТРУКТУРА РНК

Количество РНК в клетке в 5-10 раз превышает количество ДНК. В отличие от ДНК в РНК вместо Тимина – Урацил, а вместо дезоксирибозы – рибоза. Это одноцепочечный полинуклеотид, связь между нуклеотидами, как и в ДНК, фосфодиэирная. Синтез, как и в ДНК, протекает ферментативно и только в направлении от 5' к 3'.

Содержащиеся в клетке РНК различаются размером, составом, функциями и локализацией. В цитоплазме содержится стабильная РНК нескольких видов: **транспортная (тРНК)**, **матричная (мРНК)**, **рибосомальная (рРНК)**. В ядре локализована ядерная РНК, основная часть которой представлена предшественниками цитоплазматических РНК.

Первичная структура всех **мРНК**, независимо от уникальности их кодирующей последовательности, имеет одинаковое строение 5'- и 3'-

концов. Так, на 5'-конце присутствует модифицированный нуклеотид 7-метилгуанозин-5'-трифосфат (кЭП).

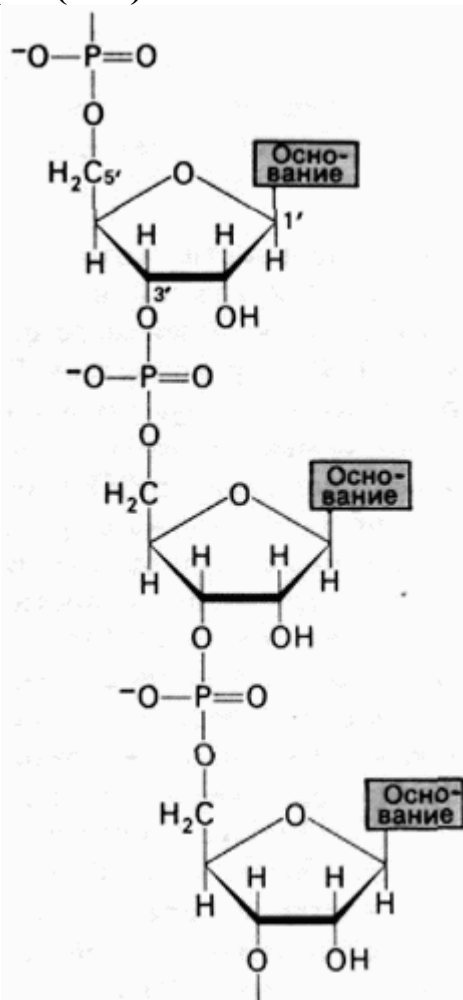


Рис. 5.6. Первичная структура РНК

Вторичная структура – короткие спиральные фрагменты – образуются в рамках одной цепи ДНК за счет комплементарных взаимодействий.

Главная функция м-РНК: служит матрицей при переводе нуклеотидной последовательности в аминокислотную. Способ записи аминокислотной последовательности белка через нуклеотидную последовательность мРНК называют **генетическим кодом**. Переход последовательности оснований ДНК через кодоны мРНК в аминокислотную последовательность полипептида называется **экспрессией гена** (рис. 5.7).

Поскольку процесс транскрипции проходит в направлении $5' \rightarrow 3'$, цепь ДНК, с которой считывается генетическая информация, имеет противоположное направление (рис. 5.7, рис. 5.8). Ее называют **матричной**, иногда **кодирующей, несмысловой**. Цепь ДНК, комплементарная матричной, носит название **некодирующей, смысловой**.



Рис. 5.7. Схема перехода нуклеотидной последовательности матричной цепи ДНК в комплементарную последовательность мРНК и последовательность аминокислотных остатков полипептидной цепи

Транскрибированной может быть любая из двух цепей ДНК, но матрицей при транскрипции отдельного гена служит только одна из них (рис. 5.8). Так, при биосинтезе мРНК 1 матричной является верхняя цепь ДНК, а транскрипция в направлении $5' \rightarrow 3'$ протекает справа налево. При транскрибировании гена 2 кодирующей является нижняя цепь ДНК, процесс идет в том же направлении $5' \rightarrow 3'$, но слева направо. При этом общепринято изображать мРНК таким образом, чтобы ее 5'-конец располагался слева, а 3'-конец – справа (рис. 5.8).

При транскрипции триплеты матричной цепи ДНК переходят в комплементарные триплеты мРНК, которые в данном случае называются *кодонами (еденица генетического кода)*. Часто этим термином обозначают и триплеты матричной цепи.

Расположение кодонов мРНК воспроизводит последовательность триплетов смысловой цепи (рис.5.7).

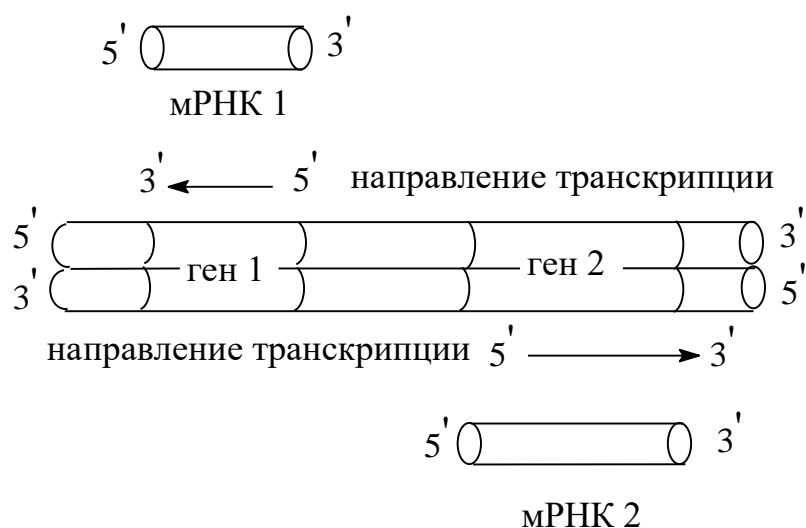


Рис. 5.8. Возможные направления транскрипции

Кодоны определяют место присоединения аминокислот к растущей полипептидной цепи. Сочетания ЦАГ, ГУА, УУЦ, приведенные на рис. 5.7, кодируют соответственно глутамин, валин, фенилаланин, поэтому при синтезе полипептида к растущей цепи сначала будет присоединяться глутамин, затем валин, фенилаланин и т.д.

Как видно из рис. 5.7, такая же информация о линейной последовательности аминокислотных остатков содержится в смысловой цепи ДНК, нуклеотидные последовательности которой образуют отдельный ген. В этом соответствии и заключается главное положение о гене как единице генетической информации [2].

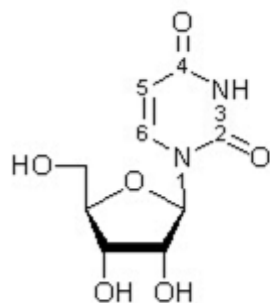
Больше всего (80-82%) в клетке содержится **рибосомальной РНК (Р-РНК)**. Она участвует в формировании клеточных органелл – рибосом, в которых протекает биосинтез белка. У эукариот четыре типа рРНК: 5S, 5.8S, 18S и 28S.

рРНК классифицируется по коэффициенту седиментации, который определяется S-сведбергом. **Седиментация** – процесс осаждения частиц или молекул под действием силы тяжести или центробежного ускорения.

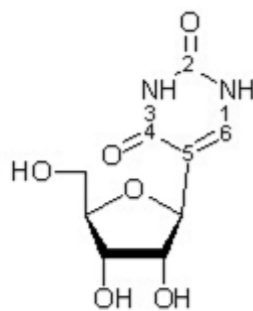
Пространственную структуру **транспортной РНК (тРНК)** описывают моделью «клеверного листа».

В состав тРНК входят минорные основания, которые поддерживают определенную третичную структуру молекулы и делают ее устойчивой к действию нуклеаз цитоплазмы. 3'- и 5'-концы полинуклеотидной цепи спарены и образуют **акцептирующий стебель**, он завершается на 3'-конце последовательностью ЦЦА. Противостоит акцептирующему стеблю антикодонавая петля, которая содержит в своей средней части **антикодон**, комплементарный кодону данной аминокислоты в мРНК.

В состав тРНК включается тимин, который не типичен для РНК, поэтому его называют риботимидин. Также включается псевдоуридин, который связан с рибозой через С5.



Уридин



Псевдоуридин

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- 1. Овчинников, Ю.А.** Биоорганическая химия / Ю.А. Овчинников. – М.: Просвещение, 1987. – 815 с.
- 2. Соколова, Т.Н.** Введение в биохимию: учеб. пособие / Т.Н. Соколова, В.Р. Карташов. – Нижний Новгород: НГТУ им. Р. Е. Алексеева, 2003. Ч.1. – 173 с.
- 3. Никитина, Л.Е.** Медицинская химия. Ч. 1. Органическая химия: учеб. пособие / Л.Е. Никитина, И.В. Федюнина. – Казань: КГМУ, 2019. – 135 с.
- 4. Северин, С.Е.** Биологическая химия с упражнениями и задачами: учебник // С.Е. Северин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 624 с.
- 5. Ленинджер, А.** Биохимия / А. Ленинджер. – М.: Мир, 1985. Т. 1-3.
- 6. Кнорре, Д.Г.** Биологическая химия / Д.Г. Кнорре, С.Д. Мызина. – М.: Высш. шк., 2000. – 279 с.
- 7. Березов, Т.Т.** Биологическая химия: учебник / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. - 3-е изд., перераб. и доп. - М. : Медицина, 2012. - 704 с.
- 8.** Биохимия человека: [пер. с англ.]. / Р. Марри [и др.] – М.: Мир, 1993. Т. 1,2.
- 9. Комов, В.П.** Биохимия / В.П. Комов, В.Н. Шведова. – М.: Дрофа, 2004. – 640 с.
- 10. Нельсон, Д.** Основы биохимии Ленинджера / Д. Нельсон, М. Кокс. - М.: Бином, 2011. Т. 1-3.
- 11. Николаев, А.Я.** Биологическая химия / А. Я. Николаев. – 3-е изд. переработ. – М.: МИА, 2007. – 568 с.

Лукьянова Юлия Михайловна
Мацулевич Жанна Владимировна
Борисов Александр Владимирович

ЭЛЕМЕНТЫ БИОХИМИИ
В КУРСЕ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Редактор Т. В. Третьякова
Компьютерная верстка авторов

Подписано в печать 24.09.2024. Формат 60x84^{1/16}.
Бумага офсетная. Печать трафаретная. Усл. печ. л. 7,25.

Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е.Алексеева.
Типография НГТУ.
Адрес университета и полиграфического предприятия:
603950, Нижний Новгород, ул. Минина, 24.