

22767



для  
высшей  
школы

*Е. В. Румянцев*  
*Е. В. Антипа*  
*Ю. В. Чистяков*

# **Химические основы жизни**

*Е. В. Румянцев*  
*Е. В. Антипа*  
*Ю. В. Чистяков*

# Химические ОСНОВЫ ЖИЗНИ

Допущено Министерством образования и науки  
Российской Федерации в качестве учебного по-  
собия для студентов высших учебных заведений,  
обучающихся по направлению подготовки бака-  
лавров и магистров «Химия»

УДК 577(075.8)  
ББК 28.072я73  
Р86

*Издано при финансовой поддержке Федерального агентства по печати и массовым коммуникациям в рамках Федеральной целевой программы «Культура России»*

Редактор Л. И. Галицкая

Рецензенты: зав. каф. химической энзимологии МГУ им. М. В. Ломоносова докт. хим. наук, проф., член-корр. РАН С. Д. Варфоломеев; зав. лаб. Института химии растворов РАН докт. хим. наук, проф. Т. Н. Ломова; кафедра общей, биоорганической и биологической химии Ивановской государственной медицинской академии (зав. каф. — докт. мед. наук, проф. В. Б. Слободин)

**Румянцев Е. В. и др.**

Р86 Химические основы жизни / Е. В. Румянцев, Е. В. Антина, Ю. В. Чистяков. — М.: Химия, КолосС, 2007. — 560 с. : ил. — (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений).

ISBN 978—5—98109—042—4 (Издательство «Химия»)

ISBN 978—5—9532—0426—2 (Издательство «КолосС»)

Дано систематическое описание основных вопросов статической, динамической, функциональной, фармацевтической и клинической биохимии. С учетом новейших достижений в области биохимической науки тщательно отобран материал по ферментативному катализу, витаминам, нуклеиновым кислотам, гормонам, процессам переноса наследственной информации в живых организмах, биоэнергетике, метаболизму основных классов жизненно необходимых соединений, нейроэндокринной регуляции биохимических процессов и др. Рассмотрены некоторые аспекты фото- и хеморецепции, биохимии нервной, мышечной и иммунной систем, а также прикладные направления биохимической науки. Цель учебного пособия — формирование у будущих специалистов представлений о фундаментальных достижениях в изучении химических основ жизни и развитии исследований в этой области научного знания.

Для студентов, аспирантов и преподавателей химических вузов по направлению «Химия», а также биологических и медицинских вузов, биохимиков, биологов, медиков и широкого круга читателей, интересующихся процессами жизнедеятельности.

УДК 577(075.8)

ББК 28.072я73

**Rumyantsev E. V. et al.**

Chemical Foundations of Life / E. V. Rumyantsev, E. V. Antina, Y. V. Chistyakov : Text-book. — Moscow : Chemistry, KolosS, 2007. — 560 s.

The issues is the systematic description of the basic problems of static, dynamic, functional, pharmaceutical and clinical biochemistry. It comprises the material on enzymatic catalysis, vitamins, nucleic acids, hormones, processes of carrying hereditary information in alive organisms, bioenergetics, metabolism of the basic classes of vital compounds, neuroendocrinic regulation of biochemical processes, etc which thoroughly selected in view of the advanced achievements in the branch of biochemical science. Some aspects of a photo- and chemoreception, biochemistry of nervous, muscular and immune systems as well as applied directions of biochemical science are examined. The authors set up as their purpose to create understanding on fundamental achievements in chemical bases of life studies to encourage researches in this area of scientific knowledge for the future professional experts in chemistry.

The books is addressed to students and teachers of chemical, biological and medical higher schools, to biochemists, biologists, physicians and also to the extensive audience of readers who are interested in the living processes.

© Е. В. Румянцев, Е. В. Антина,

Ю. В. Чистяков, 2007

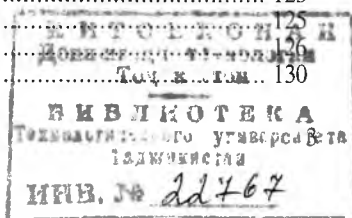
ISBN 978—5—98109—042—4 (Издательство «Химия»)

ISBN 978—5—9532—0426—2 (Издательство «КолосС»)

© Издательство «КолосС», 2007

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений и условных обозначений .....	13
Предисловие .....	15
Введение .....	18
В.1. Биохимия — важнейшая область современного естествознания .....	18
В.2. Исторические аспекты развития биохимии .....	21
В.3. Специфика биологических систем .....	23
В.4. Химический состав живых организмов .....	24
В.5. Структурно-химическая организация живой клетки .....	25
В.6. Обмен веществ и энергии в живых организмах .....	29
В.7. Размеры, форма и молекулярная масса биомолекул .....	31
Контрольные вопросы и задания .....	32
<b>РАЗДЕЛ I. ЖИЗНЕННО НЕОБХОДИМЫЕ СОЕДИНЕНИЯ</b> .....	<b>34</b>
<b>Глава 1. Аминокислоты. Пептиды. Белки</b> .....	<b>35</b>
1.1. Развитие представлений о белковых веществах .....	35
1.2. Аминокислоты .....	37
1.3. Физико-химические свойства аминокислот .....	44
1.4. Аминокислотный состав пептидов и белков .....	51
1.5. Структурно-пространственная организация пептидов и белков .....	54
1.6. Физико-химические свойства белков и их растворов .....	71
1.7. Методы выделения и очистки белков .....	77
1.8. Методы определения молекулярной массы белков .....	78
1.9. Биологические функции белков .....	81
1.10. Характеристика отдельных групп пептидов и белков .....	83
1.10.1. Природные пептиды .....	83
1.10.2. Простые белки .....	85
1.10.3. Сложные белки .....	88
Контрольные вопросы и задания .....	92
<b>Глава 2. Ферменты</b> .....	<b>93</b>
2.1. Наука о ферментах .....	93
2.2. Классификация и номенклатура ферментов .....	94
2.3. Химическая природа ферментов .....	95
2.4. Особенности ферментативного катализа .....	97
2.5. Механизмы действия ферментов .....	100
2.6. Кинетическое описание ферментативных реакций .....	104
2.7. Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций .....	110
2.8. Регуляция активности ферментов .....	112
2.9. Биологическое значение ферментов .....	120
2.10. Применение ферментов в промышленности, медицине, сельском хозяйстве .....	122
Контрольные вопросы и задания .....	124
<b>Глава 3. Витамины</b> .....	<b>125</b>
3.1. История открытия и изучения витаминов .....	125
3.2. Общая характеристика витаминов .....	126
3.3. Жирорастворимые витамины .....	130





3.3.1. Витамин А (ретинол) .....	130
3.3.2. Витамин D (кальциферолы) .....	136
3.3.3. Витамин К (нафтохиноны) .....	138
3.3.4. Витамин Е (токоферолы) .....	140
3.4. Витаминоподобные жирорастворимые вещества .....	142
3.4.1. Убихинон (кофермент Q, CoQ) .....	142
3.4.2. Витамин F .....	143
3.5. Водорастворимые витамины .....	144
3.5.1. Витамин В <sub>1</sub> (тиамин) .....	144
3.5.2. Витамин В <sub>2</sub> (рибофлавин) .....	146
3.5.3. Витамин В <sub>3</sub> (пантотеновая кислота) .....	148
3.5.4. Витамин В <sub>5</sub> (РР, ниацин) .....	150
3.5.5. Витамин В <sub>6</sub> (пиридоксин) .....	153
3.5.6. Витамин В <sub>9</sub> (В <sub>с</sub> , фолацин) .....	155
3.5.7. Витамин В <sub>12</sub> (кобаламин) .....	157
3.5.8. Витамин С (аскорбиновая кислота) .....	159
3.5.9. Витамин Р (флавоноиды) .....	163
3.5.10. Витамин Н (биотин) .....	164
3.6. Витаминоподобные водорастворимые вещества .....	166
3.6.1. <i>n</i> -Аминобензойная кислота (витамин Н <sub>1</sub> ) .....	166
3.6.2. Холин (витамин В <sub>4</sub> ) .....	166
3.6.3. Инозит (витамин В <sub>8</sub> ) .....	167
3.6.4. Оротовая кислота (витамин В <sub>13</sub> ) .....	167
3.6.5. Липоевая кислота (витамин N) .....	167
3.6.6. Пангамовая кислота (витамин В <sub>15</sub> ) .....	167
3.6.7. Метилметионин (витамин U) .....	167
3.6.8. Карнитин (витамин В <sub>7</sub> ) .....	168
3.7. Взаимодействие витаминов. Антивитаминное действие .....	168
3.8. Химический анализ витаминов .....	168
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	170
<b>Глава 4. Биометаллы</b> .....	171
4.1. Ионы металлов в живых организмах .....	171
4.2. Биок комплексы металлов .....	174
4.3. Концепция жестких и мягких кислот и оснований (ЖМКО) .....	176
4.4. Биологическая активность и токсичность <i>s</i> -металлов .....	179
4.4.1. <i>s</i> -Металлы IА группы (Na, K) .....	180
4.4.2. <i>s</i> -Металлы IIА группы (Mg, Ca) .....	184
4.5. Биологическая активность и токсичность <i>p</i> -элементов .....	186
4.5.1. <i>p</i> -Металлы IIIА группы (Al, Tl) .....	187
4.5.2. <i>p</i> -Металлы IVА группы (Sn, Pb) .....	187
4.5.3. <i>p</i> -Элементы VА группы (As) .....	188
4.5.4. <i>p</i> -Элементы VIА группы (Se) .....	189
4.6. Биологическая активность и токсичность <i>d</i> -металлов .....	190
4.6.1. <i>d</i> -Металлы IB группы (Cu, Ag, Au) .....	191
4.6.2. <i>d</i> -Металлы IIB группы (Zn, Cd, Hg) .....	194
4.6.3. <i>d</i> -Металлы IVB и VB групп (Ti, V) .....	196
4.6.4. <i>d</i> -Металлы VIB группы (Cr, Mo) .....	196
4.6.5. <i>d</i> -Металлы VIIB группы (Mn) .....	197
4.6.6. <i>d</i> -Металлы VIIIB группы (Fe, Co, Ni) .....	198
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	200
<b>Глава 5. Порфирины и родственные соединения</b> .....	201
5.1. История открытия и изучения порфиринов .....	201
5.2. Общие аспекты химии и биохимии порфиринов .....	202
5.3. Гемопротейны .....	206
5.3.1. Миоглобин и гемоглобин .....	206
5.3.2. Хлорокруорин, гемоцианин, гемоэритрин и гемованадин .....	220
5.3.3. Цитохромы .....	221

5.3.4. Пероксидаза, каталаза .....	223
5.4. Хлорофиллы .....	223
5.5. Линейные тетрапирролы .....	225
5.6. Получение и практическое использование порфиринов .....	228
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	229
<b>Глава 6. Углеводы</b> .....	231
6.1. Строение и биологические функции углеводов .....	231
6.2. Моносахариды .....	233
6.3. Олигосахариды .....	239
6.4. Полисахариды .....	243
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	249
<b>Глава 7. Липиды</b> .....	250
7.1. Строение и биологические функции липидов .....	250
7.2. Простые омыляемые липиды .....	251
7.3. Сложные омыляемые липиды .....	255
7.4. Неомыляемые липиды .....	258
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	263
<b>Глава 8. Нуклеиновые кислоты</b> .....	264
8.1. История открытия и изучения нуклеиновых кислот .....	264
8.2. Нуклеозиды, нуклеотиды, нуклеиновые кислоты .....	265
8.3. Структурно-функциональная организация молекул ДНК .....	271
8.4. Структурно-функциональная организация молекул РНК .....	277
8.5. Химический синтез полинуклеотидов .....	280
8.6. Физико-химические свойства нуклеиновых кислот .....	281
8.7. Биологические функции нуклеиновых кислот и нуклеотидов .....	285
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	288
<b>Глава 9. Гормоны</b> .....	289
9.1. Общие сведения о гормонах .....	289
9.2. Механизмы действия гормонов .....	291
9.3. Гормоны пептидной (белковой) природы и гормоны — производные аминокислот .....	294
9.4. Стероидные гормоны .....	301
9.5. Простагландины .....	305
9.6. Фитогормоны .....	306
9.7. Получение и применение гормонов .....	309
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	309
<b>РАЗДЕЛ II. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ</b> .....	310
<b>Глава 10. Основы биоэнергетики. Общий путь катаболизма</b> .....	311
10.1. Вводные представления .....	311
10.2. Метаболические системы организмов .....	313
10.3. Основы биоэнергетики. Энергетическое сопряжение .....	315
10.4. Высокоэнергетические соединения .....	317
10.5. Биологическое окисление .....	318
10.6. Дыхательная цепь .....	321
10.7. Фосфорилирование АДФ. Митохондриальное окисление .....	325
10.8. Микросомальное окисление .....	326
10.9. Поддержание постоянной температуры организмов в результате обмена энергии и теплопродукции .....	328
10.10. Общий путь катаболизма .....	330
10.11. Баланс биомассы при обмене веществ .....	337
10.12. Методы исследования обмена веществ .....	338
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	340
<b>Глава 11. Обмен нуклеиновых кислот</b> .....	341
11.1. Молекулярная основа наследственности .....	341
11.2. Биосинтез нуклеотидов .....	343

11.3. Биосинтез ДНК (репликация) .....	348
11.4. Биосинтез РНК (транскрипция) .....	354
11.5. Катаболизм нуклеиновых кислот и нуклеотидов .....	356
11.6. Нарушения обмена нуклеотидов .....	358
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	359
<b>Глава 12. Обмен белков и аминокислот</b> .....	360
12.1. Динамика белков в организме .....	360
12.2. Биологическая фиксация молекулярного азота .....	362
12.3. Биосинтез белков (трансляция) .....	364
12.4. Пищевая ценность белков .....	371
12.5. Гидролиз белков в процессе пищеварения .....	373
12.6. Особенности катаболизма аминокислот .....	378
12.7. Катаболизм углеродного скелета аминокислот .....	384
12.8. Обмен аммиака .....	385
12.9. Биосинтез заменимых аминокислот .....	387
12.10. Особенности обмена простетических групп сложных белков на примере гемоглобина .....	389
12.11. Нарушения обмена белков и аминокислот .....	394
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	396
<b>Глава 13. Обмен углеводов</b> .....	397
13.1. Превращения углеводов в процессе пищеварения .....	397
13.2. Активация моносахаридов .....	398
13.3. Обмен гликогена .....	400
13.4. Катаболизм глюкозы .....	403
13.5. Этанол и обмен веществ .....	411
13.6. Пентозофосфатный путь окисления углеводов .....	412
13.7. Биосинтез глюкозы .....	415
13.8. Патологии, связанные с нарушениями обмена углеводов .....	416
13.9. Фотосинтез углеводов .....	417
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	424
<b>Глава 14. Обмен липидов</b> .....	425
14.1. Превращения липидов в процессе пищеварения .....	425
14.2. Внутриклеточный гидролиз липидов .....	427
14.3. Биоокисление жирных кислот .....	428
14.4. Свободнорадикальное окисление жирных кислот. Антиоксиданты .....	432
14.5. Биосинтез кетоновых тел .....	434
14.6. Биосинтез жирных кислот .....	436
14.7. Биосинтез триацилглицеринов .....	438
14.8. Биосинтез холестерина .....	439
14.9. Нарушения обмена липидов .....	440
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	441
<b>Глава 15. Транспорт веществ через биомембраны. Водно-минеральный обмен</b> .....	442
15.1. Строение клеточных мембран .....	442
15.2. Транспорт веществ через биомембраны .....	444
15.3. Рецепторная роль биомембран .....	448
15.4. Вода: свойства и биологические функции .....	448
15.5. Минеральный обмен .....	451
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	455
<b>РАЗДЕЛ III. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ВАЖНЕЙШИХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ</b> .....	456
<b>Глава 16. Биохимия нервной системы</b> .....	456
16.1. Нервная система и ее структурно-функциональная организация .....	456
16.2. Механизмы возникновения и передачи нервного импульса .....	458
16.3. Химическая природа и особенности действия нейромедиаторов .....	461
16.4. Химические механизмы памяти .....	462

16.5. Химия ощущений .....	463
16.6. Особенности химической коммуникации между организмами .....	468
16.7. Действие токсичных веществ на нервную систему .....	472
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	474
<b>Глава 17. Биохимия мышечного сокращения</b> .....	475
17.1. Структурно-функциональная организация мышечной ткани .....	475
17.2. Механизм мышечного сокращения .....	479
17.3. Энергетическая обеспеченность мышечной работы .....	481
17.4. Особенности энергетического обмена сердечной мышцы .....	483
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	483
<b>Глава 18. Биохимия иммунной системы</b> .....	484
18.1. Структурно-функциональная организация иммунной системы .....	484
18.2. Химическая природа антител .....	485
18.3. Взаимодействие антиген — антитело .....	486
18.4. Система комплемента .....	488
18.5. Интерфероны .....	488
18.6. Группы крови .....	489
18.7. Иммунодефицит. Проблема СПИДа .....	491
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	493
<b>РАЗДЕЛ IV. ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ БИОХИМИИ</b> .....	494
<b>Глава 19. Генная инженерия. Биотехнология</b> .....	494
19.1. Генная инженерия и биотехнология как важнейшие отрасли современной индустрии .....	494
19.2. Методы генной инженерии .....	496
19.3. Генетически модифицированные растительные и животные продукты .....	497
19.4. Методический и этический аспекты клонирования человека .....	498
19.5. Генно-инженерные продукты для медицины и фармакологии .....	500
19.6. Проблемы и перспективы генной инженерии и биотехнологии .....	501
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	502
<b>Глава 20. Химия лекарственных веществ</b> .....	503
20.1. Роль химии в решении задач фармакологии .....	503
20.2. Методы получения лекарств .....	504
20.3. Классификация лекарственных веществ .....	505
20.4. Особенности метаболизма лекарственных веществ .....	506
20.5. Стереоселективность действия лекарственных веществ .....	508
20.6. Характеристика основных химических групп лекарственных веществ .....	510
20.6.1. Лекарственные препараты на основе производных бензола .....	510
20.6.2. Лекарственные препараты на основе гетероциклических соединений .....	516
20.6.3. Антибиотики .....	520
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	522
<b>Глава 21. Основы клинической биохимии</b> .....	523
21.1. Клиническая биохимия как важная составная часть практической медицины ..	523
21.2. Биохимические анализы в клинике .....	524
21.3. Норма и патология .....	525
21.4. Анализ ДНК .....	527
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	529
<b>Заключение</b> .....	530
3.1. Происхождение жизни. Концепции биохимической эволюции .....	530
3.2. Молекулярная логика живого .....	537
3.3. Нобелевские лауреаты в области биохимии и смежных областей науки .....	539
3.4. Цели и задачи биохимии XXI века .....	545
<i>Контрольные вопросы и задания</i> .....	546
<b>Краткий словарь биохимических терминов</b> .....	547
<b>Литература</b> .....	558

---

---

## CONTENTS

<i>The List of Abbreviations and Symbols</i> .....	13
<i>Preface</i> .....	15
<i>Introduction</i> .....	18
1.1. Biochemistry — the Major Area of Modern Natural Sciences .....	18
1.2. Historical Aspects of Development of Biochemistry as Science .....	21
1.3. Specificity of Biological Systems .....	23
1.4. Chemical Composition of Alive Organisms .....	24
1.5. Structure-Chemical Organization of an Alive Cell .....	25
1.6. Metabolism and Energy in Alive Organisms .....	29
1.7. Sizes, Form and Molecular Weight of Biomolecules .....	31
<i>Test Questions</i> .....	32
<b>PART I. VITAL COMPOUNDS</b> .....	34
<b>Chapter 1. Amino Acids. Peptides. Proteins</b> .....	35
1.1. Development of Knowledge on Proteins .....	35
1.2. Amino Acids .....	37
1.3. Physical and Chemical Properties of Amino Acids .....	44
1.4. Amino Acids Structure of Peptides and Proteins .....	51
1.5. Structure-Spatial Organization of Peptides and Proteins .....	54
1.6. Physical and Chemical Properties of Proteins and Their Solutions .....	71
1.7. Proteins Isolation and Purification of Methods .....	77
1.8. Proteins Molecular Weight Identification Methods .....	78
1.9. Biological Functions of Proteins .....	81
1.10. The Characteristic of Separate Groups of Peptides and Proteins .....	83
1.10.1. Natural Peptides .....	83
1.10.2. Simple Proteins .....	85
1.10.3. Complex Proteins .....	88
<i>Test Questions</i> .....	92
<b>Chapter 2. Enzymes</b> .....	93
2.1. Enzymology .....	93
2.2. Classification and Nomenclature of Enzymes .....	94
2.3. Chemical Nature of Enzymes .....	95
2.4. Features of Enzymatic Catalyses .....	97
2.5. Mechanisms of Enzymes Action .....	100
2.6. Kinetic Description Enzymatic Reactions .....	106
2.7. Factors Influencing Enzymatic Reactions Speed .....	110
2.8. Regulation Enzymes Activity .....	112
2.9. Biological Role of Enzymes .....	120
2.10. Application of Enzymes in Industry, Medicine, Agriculture .....	122
<i>Test Questions</i> .....	124
<b>Chapter 3. Vitamins</b> .....	125
3.1. History of Discovering and Studying of Vitamins .....	125
3.2. General Characteristics of Vitamins .....	126
3.3. Fat-soluble Vitamins .....	130
3.3.1. Vitamin A (Retinol) .....	130



3.3.2. Vitamin D (Calciumpherols) .....	136
3.3.3. Vitamin K (Nathtoquinones) .....	138
3.3.4. Vitamin E (Tocopherols) .....	140
3.4. Vitamin-like Fat-soluble Substances .....	142
3.4.1. Ubiquinone (Coenzyme Q, CoQ) .....	142
3.4.2. Vitamin F .....	143
3.5. Water-soluble Vitamins .....	144
3.5.1. Vitamin B <sub>1</sub> (Thiamin) .....	144
3.5.2. Vitamin B <sub>2</sub> (Riboflavin) .....	146
3.5.3. Vitamin B <sub>3</sub> (Pantothenic Acid) .....	148
3.5.4. Vitamin B <sub>5</sub> (PP, Niacin) .....	150
3.5.5. Vitamin B <sub>6</sub> (Pyridoxine) .....	153
3.5.6. Vitamin B <sub>9</sub> (B <sub>12</sub> , Folicin) .....	155
3.5.7. Vitamin B <sub>12</sub> (Cobalamin) .....	157
3.5.8. Vitamin C (Ascorbic Acid) .....	159
3.5.9. Vitamin P (Flavanoids) .....	163
3.5.10. Vitamin H (Biotin) .....	164
3.6. Vitamin-like Water-soluble Substances .....	166
3.6.1. <i>p</i> -Aminobenzoic acid (Vitamin H <sub>1</sub> ) .....	166
3.6.2. Choline (Vitamin B <sub>4</sub> ) .....	166
3.6.3. Inosine (Vitamin B <sub>8</sub> ) .....	167
3.6.4. Orotic Acid (Vitamin B <sub>13</sub> ) .....	167
3.6.5. Lipoic Acid (Vitamin N) .....	167
3.6.6. Pangamic Acid (Vitamin B <sub>15</sub> ) .....	167
3.6.7. Methylmethionine (Vitamin U) .....	167
3.6.8. Carnitine (Vitamin B <sub>7</sub> ) .....	168
3.7. Vitamins Interaction. Antivitamin Action .....	168
3.8. Chemical Analysis of Vitamins .....	168
<i>Test Questions</i> .....	170
<b>Chapter 4. Biometals</b> .....	171
4.1. Ions of Metals in Biological Systems .....	171
4.2. Metals Biocomplexes .....	174
4.3. Concept of Rigid and Soft Acids and Bases (RSAB) .....	176
4.4. Biological Activity and Toxicity of <i>s</i> -Metals .....	179
4.4.1. <i>s</i> -Metals of IA Group (Na, K) .....	180
4.4.2. <i>s</i> -Metals of IIA Group (Mg, Ca) .....	184
4.5. Biological Activity and Toxicity of <i>p</i> -Elements .....	186
4.5.1. <i>p</i> -Metals of IIIA Group (Al, Ti) .....	187
4.5.2. <i>p</i> -Metals of IVA Group (Sn, Pb) .....	187
4.5.3. <i>p</i> -Elements of VA Group (As) .....	188
4.5.4. <i>p</i> -Elements of VIA Group (Se) .....	189
4.6. Biological Activity and Toxicity of <i>d</i> -Metals .....	190
4.6.1. <i>d</i> -Metals of IB Group (Cu, Ag, Au) .....	191
4.6.2. <i>d</i> -Metals of IIB Group (Zn, Cd, Hg) .....	194
4.6.3. <i>d</i> -Metals of IVB and VIB Group (Ti, V) .....	196
4.6.4. <i>d</i> -Metals of VIB Group (Cr, Mo) .....	196
4.6.5. <i>d</i> -Metals of VIIB Group (Mn) .....	197
4.6.6. <i>d</i> -Metals of VIIIB Group (Fe, Co, Ni) .....	198
<i>Test Questions</i> .....	200
<b>Chapter 5. Porphyrines and Related Compounds</b> .....	201
5.1. History of Discovering and Studying of Porphyrines .....	201
5.2. General Aspects of Chemistry and Biochemistry of Porphyrines .....	202
5.3. Hemoproteines .....	206
5.3.1. Mioglobin and Hemoglobin .....	206
5.3.2. Chlorocruorins, Hemocyanins, Hemerythrin and Hemovanadin .....	220
5.3.3. Cytochromes .....	221
5.3.4. Peroxydaza, Catalaza .....	223

5.4. Chlorophylls .....	223
5.5. Linear Tetrapyrroles .....	225
5.6. Obtaining and Practical Application of Porphyrines .....	228
<i>Test Questions</i> .....	229
<b>Chapter 6. Carbohydrates</b> .....	231
6.1. Structure and Biological Functions of Carbohydrates .....	231
6.2. Monosaccharides .....	233
6.3. Oligosaccharides .....	239
6.4. Polysaccharides .....	243
<i>Test Questions</i> .....	249
<b>Chapter 7. Lipids</b> .....	250
7.1. Structure and Biological Functions of Lipids .....	250
7.2. Simple Saponifiable Lipids .....	251
7.3. Complete Saponifiable Lipids .....	255
7.4. Unsaponifiable Lipids .....	258
<i>Test Questions</i> .....	263
<b>Chapter 8. Nucleic Acids</b> .....	264
8.1. History of Opening and Studying of Nucleic Acids .....	264
8.2. Nucleosides, Nucleotides, Nucleic Acids .....	265
8.3. Structure — Functional Organization of DNA Molecules .....	271
8.4. Structure — Functional Organization of RNA Molecules .....	277
8.5. Chemical Synthesis of Polynucleotides .....	280
8.6. Physical and Chemical Properties of Nucleic Acids .....	281
8.7. Biological Functions of Nucleic Acids and Nucleotides .....	285
<i>Test Questions</i> .....	288
<b>Chapter 9. Hormones</b> .....	289
9.1. General Information on Hormones .....	289
9.2. Mechanisms of Action of Hormones .....	291
9.3. Hormones of Peptides Nature and Hormones — Derivatives of Amino Acids .....	294
9.4. Steroid Hormones .....	301
9.5. Prostaglandins .....	305
9.6. Phytohormones .....	306
9.7. Obtaining and Application of Hormones .....	309
<i>Test Questions</i> .....	309
<b>PART II. METABOLISM AND ENERGY</b> .....	310
<b>Chapter 10. Bases of Bioenergetics. General Way of Catabolism</b> .....	311
10.1. Introduction in Metabolism and Energy .....	311
10.2. Organisms Metabolic Systems .....	313
10.3. Bases of Bioenergetics. Power Adjacement .....	315
10.4. High-energy Compounds .....	317
10.5. Biological Oxidation .....	318
10.6. Respiratory Circuit .....	321
10.7. Phosphorilation of ADP. Mythochondrial Oxidation .....	325
10.8. Microsome Oxidation .....	326
10.9. Maintenance of Constant Temperature of Organisms as a Result of an Exchange of Energy and Heatgeneration .....	328
10.10. General Way of Catabolism .....	330
10.11. Balance of Biomass at Metabolism .....	337
10.12. Methods of Study of Metabolism .....	338
<i>Test Questions</i> .....	340
<b>Chapter 11. Nucleic Acids Metabolism</b> .....	341
11.1. Molecular Basis of a Heredity .....	341
11.2. Biosynthesis of Nucleotides .....	343
11.3. Biosynthesis of DNA (Replication) .....	348
11.4. Biosynthesis of RNA (Transcription) .....	354

11.5. Catabolism of Nucleic Acids and Nucleotides .....	356
11.6. Infringements of Nucleotides Metabolism .....	358
<i>Test Questions</i> .....	359
<b>Chapter 12. Proteins and Amino Acids Metabolism</b> .....	360
12.1. Proteins Dynamics in an Organism .....	360
12.2. Biological Fixing Molecular Nitrogen .....	362
12.3. Biosynthesis of Proteins (Translation) .....	364
12.4. Food Importance of Proteins .....	371
12.5. Hydrolysis of Proteins During Digestion .....	373
12.6. Features of Catabolism of Amino Acids .....	378
12.7. Catabolism of Carbon Skeleton of Amino Acids .....	384
12.8. Exchange of Ammonia .....	385
12.9. Biosynthesis of Replacible Amino Acids .....	387
12.10. Features of Prosthetic Groups of Complex Proteins Metabolism the Example of Hemoglobin .....	389
12.11. Infringements of Proteins Metabolism .....	394
<i>Test Questions</i> .....	396
<b>Chapter 13. Carbohydrates Metabolism</b> .....	397
13.1. Transformations of Carbohydrates During Digestion .....	397
13.2. Activation of Monosaccharides .....	398
13.3. Glycogen Metabolism .....	400
13.4. Catabolism of Glucose .....	403
13.5. Ethanol and Metabolism .....	411
13.6. Penthose-phosphate Way of Carbohydrates Oxidation .....	412
13.7. Biosynthesis of Glucose .....	415
13.8. Pathologies Connected to Infringements of an Metabolism Carbohydrates .....	416
13.9. Carbohydrates Photosynthesis .....	417
<i>Test Questions</i> .....	424
<b>Chapter 14. Lipids Metabolism</b> .....	425
14.1. Lipids Transformations During Digestion .....	425
14.2. Endocellular Hydrolysis of Lipids .....	427
14.3. Biooxidation of Fat Acids .....	428
14.4. Radical-free Oxidation of Fat Acids. Antioxidants .....	432
14.5. Biosynthesis of Cetones .....	434
14.6. Biosynthesis of Fat Acids .....	436
14.7. Biosynthesis of Triacylglyceroles .....	438
14.8. Cholesterol Biosynthesis .....	439
14.9. Infringements of an Lipids Metabolism .....	440
<i>Test Questions</i> .....	441
<b>Chapter 15. Transport of Substances through Biomembranes. Water-mineral Metabolism</b> .....	442
15.1. Structure of Cellular Membranes .....	442
15.2. Transport of Substances through Biomembranes .....	444
15.3. Reseption Role of Biomembranes .....	448
15.4. Properties and Biological Functions of Water .....	448
15.5. Mineral Metabolism .....	451
<i>Test Questions</i> .....	455
<b>PART III. MOLECULAR BASES OF THE MAJOR PHYSIOLOGICAL PROCESSES</b> .....	456
<b>Chapter 16. Biochemistry of Nervous System</b> .....	456
16.1. Nervous System and its Structure — Functional Organization .....	456
16.2. Mechanism of Formation and Transfer of Nervous Pulse .....	458
16.3. Chemical Nature and Action of Neuromediators .....	461
16.4. Chemical Mechanisms of Memory .....	462
16.5. Chemistry of Sensations .....	463

16.6. Features of the Chemical Communications Among Organisms .....	468
16.7. Action of Toxic Substances on Nervous System .....	472
<i>Test Questions</i> .....	474
<b>Chapter 17. Biochemistry of Muscular Reduction</b> .....	475
17.1. The Structure — Functional Organization of a Muscular Tussie .....	475
17.2. The Mechanism of Muscular Reduction .....	479
17.3. Power Provideness of Muscular Work .....	481
17.4. Features of Exchange of a Cardiac Musle .....	483
<i>Test Questions</i> .....	483
<b>Chapter 18. Biochemistry of Immune System</b> .....	484
18.1. Structure — Functional Organization of Immune System .....	484
18.2. Chemical Nature of Antibodies .....	485
18.3. Antigene — Antibody Interaction .....	486
18.4. Complement System .....	488
18.5. Interferons .....	488
18.6. Blood Groups .....	489
18.7. Immunodeficiency. A Problem of AIDS .....	491
<i>Test Questions</i> .....	493
<b>PART IV. APPLIED ASPECTS OF BIOCHEMISTRY</b> .....	494
<b>Chapter 19. Genic Engineering. Biotechnology</b> .....	494
19.1. Genic Engineering and Biotechnology as the Major Branches of the Modern Industry .....	494
19.2. Genic Engineering Methods .....	496
19.3. Genetically Modified Vegetative and Animal Products .....	497
19.4. Methodical and Ethical Aspects of Human Cloning .....	498
19.5. Genetically Modified Products for Medicine and Pharmacology .....	500
19.6. Problems and Prospects of Genic Engineering and Biotechnology .....	501
<i>Test Questions</i> .....	502
<b>Chapter 20. Chemistry of Medicinal Substances</b> .....	503
20.1. A Role of Chemistry in the Solution of Pharmacology Problems .....	503
20.2. Methods of Medicines Obtaining .....	504
20.3. Medicinal Substances Classification .....	505
20.4. Features of Metabolism of Medicinal Substances .....	506
20.5. Stereoselectivity of Medicinal Substances Action .....	508
20.6. Characteristics of the Basic Chemical Groups of Medicinal Substances .....	510
20.6.1. Medical Products on the Basis of Derivatives of Benzene .....	510
20.6.2. Medical Products on the Basis Heterocyclic Compounds .....	516
20.6.3. Antibiotics .....	520
<i>Test Questions</i> .....	522
<b>Chapter 21. Bases of Clinical Biochemistry</b> .....	523
21.1. Clinical Biochemistry as the Important Component of Applied Medicine .....	523
21.2. Biochemical Analyses in Clinical Practice .....	524
21.3. Norm and Pathology .....	525
21.4. Analysis of DNA .....	527
<i>Test Questions</i> .....	529
<b>Conclusion</b> .....	530
C.1. Origin of Life. Concepts of Biochemical Evolution .....	530
C.2. Molecular Logics Alive .....	537
C.3. Nobel Winners in the Field of Biochemistry and Adjacent Areas of Science .....	539
C.4. Problems and Purposes of Biochemistry of the XXI Century .....	545
<i>Test Questions</i> .....	546
<b>Vocabulary of Biochemical Terms</b> .....	547
<b>References</b> .....	558

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

А — аденин  
 АБ — азотистый баланс  
 АДФ — аденозиндифосфат  
 АМФ — аденозинмонофосфат  
 цАМФ — циклический аденозин-3',5'-монофосфат  
 АПБ — ацилпереносящий белок  
 АТФ — аденозинтрифосфат  
 АТФаза — аденозинтрифосфатаза  
 ВИЧ — вирус иммунодефицита человека  
 ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография  
 Г — гуанин  
 ГАМК —  $\gamma$ -аминомасляная кислота  
 ГДФ — гуанозиндифосфат  
 ГМФ — гуанозинмонофосфат  
 цГМФ — циклический гуанозин-3',5'-монофосфат  
 ГТФ — гуанозинтрифосфат  
 ГЦ — гемоцианин  
 Да — дальтон  
 ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота  
 ДНКаз — дезоксирибонуклеаза  
 ДОФА — дигидроксифенилаланин  
 Дофамин — дигидроксифенилэтиламин  
 ДФГ — 2,3-дифосфоглицерат  
 ЖКТ — желудочно-кишечный тракт  
 ИМФ — инозинмонофосфат  
 ИС — иммунная система  
 КоА (HSCoA) — кофермент А  
 КоQ — кофермент Q  
 КоR — кофермент R  
 ЛВП — липопротеины высокой плотности  
 ЛНП — липопротеины низкой плотности  
 ЛОНП — липопротеины очень низкой плотности  
 мРНК — матричная РНК  
 НАД<sup>+</sup> и НАДН — окисленный и восстановленный никотинамидадениндинуклеотид  
 НАДФ<sup>+</sup> и НАДФН — окисленный и восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат

ОГДК — оксоглутаратдегидрогеназный комплекс  
 ОПК — общий путь катаболизма  
 ПАБК — *p*-аминобензойная кислота  
 ПАВ — поверхностно-активное вещество  
 ПАСК — *p*-аминосалициловая кислота  
 ПАФ — пиридоксаминофосфат  
 ПДК — предельно допустимая концентрация  
 ПДФ — пиридоксальфосфат  
 ПЦР — полимеразная цепная реакция  
 РНК — рибонуклеиновая кислота  
 РНКаз — рибонуклеаза  
 рРНК — рибосомная РНК  
 СПИД — синдром приобретенного иммунодефицита  
 Т — тимин  
 ТГФК (H<sub>4</sub>-фолат) — тетрагидрофолиевая кислота  
 ТДФ — тиаминдифосфат  
 ТДФ\* — тимидиндифосфат\*  
 ТМФ — тимидинмонофосфат  
 ТТФ — тимидинтрифосфат  
 тРНК — транспортная РНК  
 ТСХ — тонкослойная хроматография  
 У — урацил  
 УДФ — уридиндифосфат  
 УМФ — уридинмонофосфат  
 УТФ — уридинтрифосфат  
 ФАД и ФАДН<sub>2</sub> — окисленный и восстановленный флавинадениндинуклеотид  
 ФДНБ — фтординитробензол  
 ФДТ — фотодинамическая терапия  
 ФИТЦ — фенилизотиоцианат  
 ФКУ — фенилкетонурия  
 ФМН и ФМНН<sub>2</sub> — окисленный и восстановленный флавинмононуклеотид  
 ФС — фотосенсибилизатор  
 ФТГ-АК — фенилтиогидантоиновое производное аминокислоты  
 Ц — цитозин  
 ЦДФ — цитидиндифосфат  
 ЦМФ — цитидинмонофосфат  
 ЦНС — центральная нервная система  
 ЦП — церулоплазмин  
 ЦТФ — цитидинтрифосфат  
 ЦХО — цитохромоксидаза  
 ЭДТА — этилендиаминтетраацетат  
 ЭСП — электронный спектр поглощения



FeSПр — железосерный белок (протеин)  
Е — фермент (энзим)  
 $E^{\circ}$  — стандартный окислительно-восстановительный потенциал  
Ig — иммуноглобулин  
 $K_M$  — константа Михаэлиса  
 $K_y^{\circ}$  — стандартная константа устойчивости  
 $K_y^c$  — концентрационная константа устойчивости

Mb — миоглобин  
MP — металлопорфирин  
My — миозин  
Hb — гемоглобин  
 $H_2P$  — порфирин  
 $pI$  — изоэлектрическая точка  
 $pI_i$  — изоионная точка  
S — субстрат

---

---

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Познание живой природы и бесконечного многообразия ее форм — глобальная задача современного естествознания. Такое познание было бы невозможным без тесного взаимодействия наук о природе: биологии, химии, физики и др. Очень важным представляется тот факт, что биология — наука о живом — с тех пор как в нее вошли методы химии и физики, из описательной превратилась в точную науку, ведущую исследования на молекулярном уровне, т. е. изучение живого мира дошло до самых его глубин. Химия, являясь мощным инструментом исследования и познания процессов, протекающих в живых организмах, приобрела главенствующую роль в различных областях современной жизни: от использования химических препаратов против вредителей растений до сложных методов клинической диагностики. Поэтому современного химика-специалиста просто невозможно представить без багажа знаний о молекулярных процессах, лежащих в основе жизни.

Курс «Химические основы жизни» имеет своей целью формирование современных представлений о фундаментальных достижениях в изучении химии мира живого: химического состава живых организмов, свойств биомолекул и особенностей их взаимодействия, молекулярных основ биокатализа, метаболизма, наследственности, нейрогормональной регуляции, иммунитета, фото- и хеморецепции и др. При этом данный курс, по глубочайшему убеждению авторов, должен вызывать интерес изучающих его к самопознанию, поскольку осознание себя как частицы живого мира накладывает отпечаток на собственное мироощущение.

Нам представляется, что важно не только преподать предмет, но и воспитать у будущих специалистов то волнение, любопытство и интерес к нему, которые испытываем мы сами. Этот интерес в первую очередь формируется в результате привнесения в классический курс биохимии научных фактов, отражающих наиболее ценные достижения современной науки в познании молекулярной сущности процессов жизни.

Перед авторами настоящего пособия стояли две главные цели: во-первых, дать наиболее общую (далеко не исчерпывающую!) информацию по биохимии и рассказать о современном состоянии этой так стремительно развивающейся науки (при этом основной акцент был сделан на биохимию человека); во-вторых, что не менее важно, способствовать развитию научно-исследовательского мышления студентов в данной области.

При написании пособия был использован методологический подход к изложению материала, сформировавшийся за многолетнюю практику преподавания курса «Химические основы жизни» студентам Ивановского отделения Высшего химического колледжа РАН, обучающимся по направлению подготовки бакалавров и магистров «Химия».

Вся информация, содержащаяся в настоящем пособии, изложена в четырех разделах, которые включают в себя 21 главу. Основному материалу книги предшествует Введение, а завершается курс Заключением.

Введение освещает предмет и задачи биохимии, краткую историю ее развития, химический состав и строение живых организмов и т. п., т. е. оно является кратким экскурсом в биохимическую науку.

Раздел I — «Жизненно необходимые соединения» (главы 1—9) — содержит сведения об особенностях химического строения, физико-химических свойств и биологических функций соединений, относящихся к основным группам биологически активных веществ: аминокислот, пептидов, белков, ферментов, витаминов, биометаллов, макроциклических и линейных тетрапирролов, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот и гормонов.

В разделе II — «Обмен веществ и энергии» (главы 10—15) — рассматриваются вопросы динамического состояния веществ в организмах (основы биоэнергетики, процессы переноса наследственной информации, обмен основных групп биомолекул — аминокислот, белков, углеводов, липидов, минеральных солей и воды).

Раздел III — «Молекулярные основы важнейших физиологических процессов» (главы 16—18) — дает представления о физико-химических аспектах функционирования нервной, мышечной и иммунной систем организма.

Раздел IV — «Прикладные аспекты биохимии» (главы 19—21) — посвящен анализу современных прикладных направлений биохимической науки: генной инженерии и других биотехнологий, фармацевтической и клинической биохимии.

В Заключении предпринята попытка изложить современные концепции о происхождении жизни и биохимической эволюции, охарактеризовать молекулярную логику живого и сформулировать основные цели и задачи биохимии XXI века.

После каждой главы приводятся контрольные вопросы, работа над которыми способствует более качественному усвоению студентами материала дисциплины.

В конце книги приводится Краткий словарь биохимических терминов, облегчающий работу с материалом пособия. Завершается пособие списком литературы.

Неоценимую помощь в подборе материала при написании книги авторам оказали отечественные и иностранные научно-периодические издания биохимического направления («Биохимия», «Биофизика», «Биоорганическая химия», «Молекулярная биология» и др.).

Для наглядности и полноты изложения авторы снабдили учебное пособие большим количеством формул, рисунков, схем, графиков и таблиц,

частично разработанных ими самими, а частично заимствованных из других источников, но переработанных или упрощенных.

Авторы выражают огромную признательность рецензентам — проф. С. Д. Варфоломееву (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова), проф. Т. Н. Ломовой (Институт химии растворов РАН), проф. В. Б. Слободину и коллективу руководимой им кафедры (Ивановская государственная медицинская академия) — за ценные критические замечания и советы по улучшению качества пособия, а также своим семьям и всем тем, кто окружал нас заботой и вниманием во время написания книги.

Авторы осознают ответственность за вероятные неточности в фактах или в их трактовке, которые могут встретиться в тексте пособия, связанные главным образом со сложностью и неоднозначным трактованием их современной наукой. Отзывы и замечания по книге будут приняты с благодарностью и учтены в дальнейшей работе.



---

---

# ВВЕДЕНИЕ

## В.1. БИОХИМИЯ — ВАЖНЕЙШАЯ ОБЛАСТЬ СОВРЕМЕННОГО ЕСТЕСТВОЗНАНИЯ

*Биологическая химия* — это наука о химических основах жизни. Биологическая химия (в дальнейшем — *биохимия*) является интегральной наукой и связывает в единое целое химические, физические и биологические науки с целью познания химической сущности живой материи. Основные направления химии — неорганическая, органическая, аналитическая и физическая — предоставляют биохимии научную базу для исследования явлений жизни на атомно-молекулярном уровне, позволяя использовать для этого все возможности и достижения современной химической науки, а также химическую терминологию. В свою очередь, биохимия является важнейшим инструментом, с помощью которого биологи, медики и химики выясняют биологические функции химических соединений, изучают физико-химические процессы, протекающие в живых организмах, а также механизмы нарушения этих процессов как причины развития любой патологии. Целая область практической, прикладной биохимии — клиническая и фармацевтическая биохимия — направлена на решение главных задач медицины — диагностики и лечения различных заболеваний.

В более конкретном понимании *биохимия* — это самостоятельная наука, задачей которой является исследование химического состава и строения природных соединений, их биологической активности и молекулярной природы всех процессов, благодаря которым осуществляется жизнь.

В наши дни биохимия — одна из самых популярных областей естествознания, привлекающая наибольшее внимание исследователей всех стран мира. Причиной стремительного развития биохимии явились важнейшие открытия в области химических основ жизни, которые позволили проникнуть в тайны живой материи и поднять биологическую науку на качественно новый научный уровень.

Во-первых, биохимики выяснили состав и строение основных химических компонентов организмов. Например, открытие нуклеиновых кислот произвело настоящий переворот в представлениях о сущности жизни, о наследственной организации растений, животных и человека. В результате проведенных в течение последних 100 лет исследований были выяснены особенности строения молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), которая играет роль главного носителя наследственной информации в живых организмах.



Во-вторых, обнаружены и достаточно подробно изучены общие пути превращения химических соединений *in vivo*\* и химические основы многих важнейших биологических процессов. Например, было установлено, что столь различные организмы, как бактерии и человек, имеют много общего на атомно-молекулярном уровне, поскольку они используют одни и те же вещества для синтеза собственных биополимеров и аденозин-трифосфорную кислоту (АТФ) в качестве универсального источника энергии.

В-третьих, за счет развития и использования методов клинической и фармацевтической биохимии был сделан прорыв в медицинской науке. Развитие биохимии позволило приступить к изучению наиболее общих и фундаментальных проблем биологии и медицины, начиная от дифференциации клеток и заканчивая молекулярными механизмами памяти и восприятия. В результате серии таких открытий современная научная мысль постулирует, что в основе любого биологического явления лежит определенный физико-химический процесс, который может быть подвергнут изучению.

Наряду с молекулярной биологией, биофизикой, биоорганической и био-неорганической химией биохимию включают в комплекс наук — **физико-химическую биологию**. Фактически все вышеперечисленные области физико-химической биологии призваны изучать молекулярные процессы, лежащие в основе жизни организмов, но с различных позиций (используя разные подходы, приемы и методы).

В зависимости от поставленных задач в биохимии выделяют три направления:

- **статическую (структурную) биохимию**, предметом исследования которой являются химический состав живых организмов и строение жизненно необходимых соединений;

- **динамическую биохимию**, изучающую совокупность химических реакций, лежащих в основе жизни (обмен веществ и энергии);

- **функциональную биохимию**, изучающую взаимосвязь физико-химических процессов с биологическими явлениями.

В зависимости от объектов исследования биохимию разделяют на **биохимию человека, биохимию животных, биохимию растений и биохимию микроорганизмов**.

Кроме того, существуют не менее важные разделы биохимии, которые можно рассматривать как достаточно обособленные дисциплины, имеющие свои задачи и специфические методы исследования. Среди них следует отметить: **эволюционную и сравнительную биохимию**, задачами которых является изучение особенностей жизни организмов на различных стадиях их эволюционного развития; **энзимологию**, занимающуюся исследованиями строения, функций и механизмов действия ферментов; **витаминологию** — химию витаминов; **эндокринологию** — химию гормонов; **радиационную биохимию**, изучающую изменения в обмене веществ живых

---

\* Пояснение к используемой в биохимии терминологии: *in vivo* — в условиях живого организма; *in vitro* — в условиях, моделирующих изолированные органы, ткани и клетки организма.

Таблица В.1. Уровни исследования живой природы

Уровень исследования живой природы	Центральное определение
Молекулярный	Все живое состоит из молекул, способных к сложной организации и выполнению уникальных биофункций
Субклеточный	Взаимосвязь субклеточных структур (органелл) — первый биохимический цикл, лежащий в основе функционирования живого организма
Клеточный	Клетка — это элементарная структурная, функциональная, генетическая единица многоклеточного организма
Тканевый	Ткань — это совокупность клеток, одинаковых по строению, свойствам и происхождению
Органный	Орган — часть тела, состоящая из нескольких тканей и выполняющая определенные функции
Организменный	Организм — это целая одноклеточная или многоклеточная система, способная к самостоятельному существованию
Популяционно-видовой	Популяция — это совокупность особей, которые свободно скрещиваются и дают потомство Вид — совокупность популяций
Биогеоэкологический	Биогеоценоз — это однородный участок земной поверхности, имеющий определенный состав живых (биоценоз) и косных (приземный слой атмосферы, солнечная энергия, почва и т. д.) компонентов, динамически взаимодействующих между собой (обмен веществ и энергии)
Биосферный	Биосфера — это область активной жизни, охватывающая нижнюю часть атмосферы, гидросферу и верхнюю часть литосферы

организмов под действием ионизирующего излучения; *квантовую биохимию* — приложение квантово-химических расчетов к изучению молекулярной структуры, свойств, функций и путей превращения природных соединений.

Несмотря на такое разнообразное деление биохимических дисциплин, следует иметь в виду, что данные разграничения далеко не лучшим образом отражаются на целостности восприятия биохимической науки, подтверждением чему могут служить слова Б. Шоу: «Исследователь, который в поисках истины все более и более дробит изучаемые явления, в конце концов узнаёт все ни о чем».

В совокупном процессе изучения природы биохимии принадлежит особое место, поскольку любое явление в живой природе для полного его понимания должно быть изучено на молекулярном или биохимическом уровне (табл. В.1). Ф. Г. Хопкинс, основатель британской биохимической школы, высказался о биохимиках так: «Возможно, последнее слово в изучении живого скажут не они, но без них это последнее слово вообще никогда не будет сказано».

## В.2. ИСТОРИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ БИОХИМИИ

Как известно, до середины XIX в. органической химией называли науку, которая занималась изучением веществ, входящих в состав животных и растительных организмов. Вследствие этого начальный этап становления биохимии тесно связан с историей развития органической химии. Длительное время развитию этих наук препятствовало виталистическое учение о сущности жизни, которое поставило барьер между царствами неорганических и органических соединений. Так, Я. Берцелиус в 1833 г. пришел к отрицанию возможности получения органических веществ путем их синтеза в лабораторных условиях, полагая, что только «жизненная сила» (*vis vitalis*) способна осуществить такой синтез.

Историю биохимии принято отсчитывать с конца XVIII в., когда впервые из живых организмов имеющимися в то время методами начали выделять в чистом виде некоторые соединения, такие, как мочевины, лимонная и яблочная кислоты и др. Но в то время еще не было четких представлений о химическом строении этих соединений. Вплоть до середины XX в. биохимия занималась открытием новых классов соединений, образующих живую материю, изучением их структуры и химических превращений. К главным достижениям этого периода можно отнести следующие: установление строения важнейших биополимеров (белков и нуклеиновых кислот) и выяснение общих путей химических превращений многих соединений *in vivo*.

Середина XX столетия явилась переломным этапом в развитии биохимии. Отличительной чертой биохимии этого периода стал переход к широкому изучению структуры и свойств индивидуальных белков и нуклеиновых кислот и выяснению их функций в живых системах. Предпосылкой к этому послужило стремительное развитие методов разделения веществ и изучения их структуры, а также специфических биохимических методов выделения и исследования надмолекулярных структур и клеточных органелл. В данный период по-прежнему сохраняются и усиливаются связи биохимии с органической химией, но одновременно возрастает значение биохимии для других наук — таких, как цитология, физиология, генетика и т. д. Ярким результатом такого интегрального взаимодействия явилось раскрытие молекулярных механизмов фундаментальных биологических явлений — наследственности и изменчивости.

В настоящее время невозможно представить практически ни одной области современного естествознания, которая бы не соприкасалась с биохимией. В биохимии формируются и развиваются как фундаментальное, так и прикладное направления исследований. Часто под термином «фундаментальная наука» понимают науку, не приносящую непосредственной пользы обществу. В данном случае «фундаментальная» биохимия не есть антоним «прикладной» биохимии. Истинный смысл определения «фундаментальная» биохимия состоит в том, что эта наука изучает наиболее общие, глубинные (фундаментальные) свойства живой материи, опираясь на знание которых можно не только понять и объяснить, но и использовать сведения о сложных формах ее организации на практике.

Яркими, но далеко не единственными примерами эффективного решения практических задач с помощью результатов фундаментальных исследований в биохимии могут служить открытие механизмов клеточного и гуморального иммунитета, изучение молекулярной структуры вирусов и механизмов их взаимодействия с клеткой, приведшее к созданию современной индустрии вакцин, которая позволила освободить человечество от многих заболеваний вирусной этиологии (черная оспа, полиомиелит и др.). Другими наиболее яркими примерами использования биохимических знаний в настоящее время являются:

- разработка методов по выведению высокопродуктивных пород животных и ценных растений, новых штаммов микроорганизмов;
- биохимические способы переработки промышленных и бытовых отходов, очистки морей от нефтепродуктов;
- широкое применение в пищевой и других отраслях промышленности высокоэффективных ферментов как биологических катализаторов;
- перспективные способы получения и анализа лекарственных препаратов, изучение механизмов их действия, направленный синтез новых лекарств и другие достижения биохимии в фармацевтической практике и т. д.

Успехи биохимической науки в значительной мере определяют не только современный уровень развития медицины, но и ее дальнейший прогресс. В настоящее время одной из основных задач биохимии и молекулярной биологии становится решение проблемы исправления дефектов генетического аппарата. Радикальная терапия наследственных болезней, связанных с мутационными изменениями тех или иных генов, ответственных за синтез определенных белков и ферментов, в принципе возможна лишь путем трансплантации синтезированных *in vitro* или выделенных из живых организмов аналогичных «здоровых» генов. Весьма сложной, но заманчивой идеей является овладение механизмами регуляции считывания генетической информации, заложенной в полинуклеотидной последовательности ДНК, и расшифровки молекулярных механизмов дифференциации клеток. Проблема терапии ряда вирусных заболеваний, особенно лейкозов, вероятно, не будет решена до тех пор, пока не станет полностью ясен механизм взаимодействия вирусов (в частности, онкогенных) с инфицируемой клеткой. В этом направлении интенсивно ведутся работы во многих лабораториях мира. Выяснение картины жизни на молекулярном уровне не только позволит полностью понять происходящие в организме процессы, но и откроет новые возможности создания эффективных лекарственных средств предотвращения преждевременного старения, сердечно-сосудистых заболеваний, поиска способов продления жизни и др. Наряду с вышеперечисленными следует отметить и другие важные направления биохимии:

- изучение молекулярных основ патологий и иммунитета;
- развитие принципов рационального питания;
- выяснение механизмов памяти и восприятия;
- исследование функционирования генома животных и человека с целью выяснения общепатологических принципов жизни;
- разработка моделей ферментативного катализа, биоэнергетических систем и т. д.

### В.3. СПЕЦИФИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

В биохимии, как и в биологии, важно определить, что вкладывается в понятия живой (биологической) системы и характерных признаков живой материи.

Под *биологическими системами (биосистемами)* понимаются объекты живого мира любой сложности — клетки и ткани, органы, системы органов и организмы, биоценозы и экосистемы, вплоть до биосферы в целом. *Биосистемы* представляют собой совокупность взаимосвязанных и взаимодействующих элементов и обладают следующими свойствами.

1. *Целостность*: свойства биосистемы не сводятся к сумме свойств составляющих ее элементов, и изолированный от системы элемент не способен выполнять ее функции. Например, если гемоглобин (белок эритроцитов крови) выделить из эритроцитов, то он теряет способность к транспорту атмосферного кислорода.

2. *Относительная устойчивость и способность к адаптации по отношению к внешней среде*: биосистемы способны к регуляции и взаимной подстройке самых различных внутренних процессов путем подчинения их меняющимся (в определенном диапазоне) условиям внешней среды. Живая природа широко использует механизм «обратной связи», на основе которого созданы информационные саморегулирующиеся биосистемы для поддержания постоянства параметров внутренней среды (*гомеостаз*) в зависимости от внешних условий. На молекулярной химической основе построены все механизмы функционирования живого организма — начиная с клеточного уровня и заканчивая внутривидовыми и межвидовыми коммуникациями.

3. *Способность к самовоспроизведению и развитию* — удивительное «изобретение» природы. Нуклеиновые кислоты служат для самовоспроизведения биосистем, в результате чего с высокой точностью живые организмы воссоздают себе подобных в процессе размножения. Все многообразие живых организмов определяется наследственной или генетической информацией, заложенной в нуклеиновых кислотах. В особенностях химического строения нуклеиновых кислот заложены потенциальная возможность самокопирования и, следовательно, способность к передаче наследственных признаков от одного поколения организмов к другому, дочернему поколению.

В процессе жизнедеятельности клетки информация, заложенная в ДНК, реализуется через *рибонуклеиновые кислоты (РНК)* в структуре соответствующего белка, который отвечает за тот или иной фенотипический признак организма. Процесс передачи наследственной информации не может происходить без участия белков, следовательно, образование нуклеиновых кислот и белков — главное достижение биохимической эволюции, в результате которой образовались первичные живые организмы.

В биохимии рассматривают биосистемы разного уровня сложности, которые объединяет самый важный признак — единство химического состава.



## В.4. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

Общая масса всех живых организмов, населяющих Землю, по приближительным оценкам равна  $10^{13}$ — $10^{15}$  т, а общая масса живого вещества, образовавшегося за всю историю существования Земли, составляет порядка  $10^{24}$  т и превышает массу нашей планеты.

Сравним химический состав организмов животных, растений и химический состав земной коры и морской воды. Сопоставляя данные, представленные в табл. В.2, можно сделать важный вывод, что не все самые распространенные элементы земной коры присутствуют в больших количествах в живых организмах; например, кремний — один из наиболее распространенных элементов литосферы — лишь в небольших количествах содержится в некоторых видах растений, а в организме человека и высших животных он присутствует в следовых количествах. Почти 99 % атомов, входящих в состав животных и растительных организмов, являются атомами четырех основных элементов — *органогенов*: кислорода, водорода, углерода и азота, в то время как содержание в земной коре трех последних элементов относительно мало.

Таблица В.2. Содержание некоторых химических элементов в организме человека, растениях, земной коре и морской воде, % (мас.) (по А. П. Виноградову)

Среда	H	O	C	N	Ca	P	S	K	Cl	Si
Животные	9,7	62,4	21	3,1	1,9	0,95	0,16	0,27	0,08	$1 \cdot 10^{-5}$
Растения	10	70,0	18	0,3	0,3	0,07	0,05	0,3	0,01	0,15
Земная кора	1,0	49,4	0,15	0,02	3,5	0,08	0,05	2,5	0,048	27,6
Морская вода	10,72	85,82	0,002	$1 \cdot 10^{-5}$	0,04	$5 \cdot 10^{-6}$	0,09	0,038	1,89	$5 \cdot 10^{-5}$

Химический состав организма человека и животных представлен более чем 70 элементами Периодической системы химических элементов Д. И. Менделеева. По количественному содержанию в организмах все элементы можно разделить на три основные группы:

1. *Макробиогенные элементы* — их содержание в организмах от  $10^{-2}$  % (мас.) и выше (O, C, N, H, P, S, Ca, Mg, Na, K и Cl).

2. *Микробиогенные элементы* — их содержание в организмах находится в пределах от  $10^{-2}$  до  $10^{-5}$  % (мас.), но в то же время они играют большую роль в процессах жизнедеятельности (I, F, Br, Cu, As, Sr, Ba, Co).

3. *Ультрамикробиогенные элементы* — их содержание в организмах ниже  $10^{-5}$  % (мас.); установлено, что необходимыми для жизни являются B, Li, Al, Si, Sn, Cd, Se, Ti, V, Cr, Ni, Be, Rb, Ag, Pb, W. Их содержание в организме человека колеблется от индивидуума к индивидууму и зависит от места проживания, рода занятий, наиболее часто употребляемой пищи, возраста и других факторов.

Кроме того, в живых организмах могут быть обнаружены в ничтожных количествах — от  $10^{-6}$  до  $10^{-12}$  % (мас.): Cs, Ga, In, Tl, Ge, Sb, Bi, Te, Au, Hg, La, Ce, Zr, Pr, Nb, Nd, Ra, Ac, Po, Th, U. Содержание последних пяти в норме не превышает одного атома на клетку.

Следует отметить, что информация о содержании микроэлементов в живых организмах постоянно пополняется новыми сведениями. При этом нередко меняется представление о биологической роли тех или иных элементов. Иногда результаты разных исследований противоречат друг другу. Одной из основных причин таких несоответствий является колоссальная сложность экспериментов по выяснению роли того или иного элемента в жизни организмов. Кроме того, загрязнение внешней среды соединениями, содержащими атомы токсичных элементов, приводит к аккумуляции их в организмах, особенно в растениях.

По качественному составу элементов живая и неживая природа отличаются незначительно, поскольку источником исходного материала для построения живых организмов является неживая материя. Например, морская вода по содержанию элементов (см. табл. В.2), за исключением углерода и фосфора, очень близка к внутренним жидкостям живых организмов. Более того, химический состав морской воды почти идентичен составу крови человека. Поэтому предполагается, что возникновение жизни на Земле связано с водной средой Мирового океана.

Последние исследования показали, что основное отличие живых объектов от неживых заключается в наличии следующих химических элементов: фосфора, кальция, серы и калия. Если в исследуемых объектах отсутствует хотя бы один из этих элементов, можно однозначно заключить, что данные объекты неживые и живыми никогда не были. Кроме того, обращается внимание на количественные соотношения [фосфор]/[сера] и [калий]/[кальций], которые зависят от физиологического состояния клетки и могут дать информацию о принадлежности объекта к живому или неживому. Для определения элементного состава природных объектов исследователи применяют электронно-микроскопический рентгеновский анализ.

Большая часть элементов находится в живых организмах в составе сложных неорганических и органических соединений. Пожалуй, единственным исключением является кислород, небольшая доля которого растворена в жидкостях организма в свободном молекулярном состоянии. Однако в основном молекулярный кислород, используемый в процессах жизни организма человека, связан с его переносчиками — гемоглобином и миоглобином, в то время как растворенные в жидких средах азот и инертные газы не вовлекаются в биохимические процессы организмов человека и животных.

Биологически активные формы *s*-, *p*- и *d*-металлов и их биохимические функции рассматриваются в главе 4 настоящего пособия.

Все биосистемы объединяет важный признак, вытекающий из особенностей их химического состава, — высокий уровень структурно-химической организации, которая рассмотрена ниже на примере структурно-химической организации живой клетки.

## **В.5. СТРУКТУРНО-ХИМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЖИВОЙ КЛЕТКИ**

Если мысленно разобрать клетку на отдельные молекулы, то можно увидеть, что по набору индивидуальных соединений и надмолекулярных структур она представляет собой уникальную систему с суперсложной

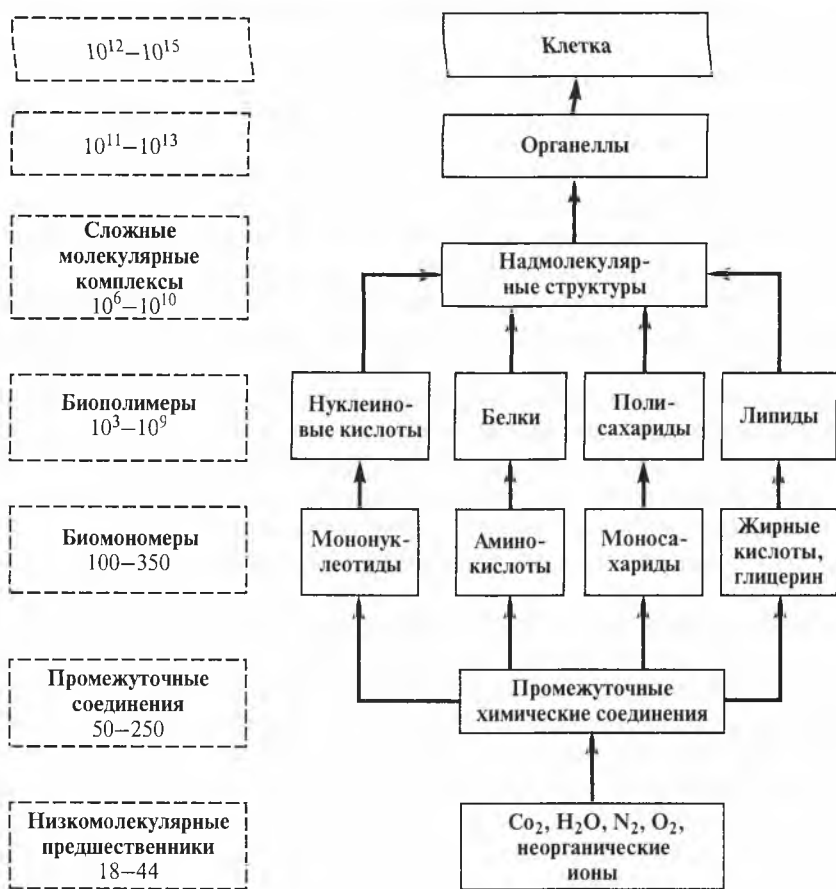


Рис. В.1. Структурно-химическая организация живой клетки. Числа — масса в дальтонах

организацией, совершенно не характерной для объектов неживой природы. Рассмотрим уровни структурно-химической организации живой клетки (рис. В.1).

Неорганические молекулы — вода, диоксид углерода, азот, кислород, а также ряд других через промежуточные соединения (уксусная кислота, аммиак, карбомилофосфат, органические кислоты и др.) в результате целого набора биохимических превращений образуют так называемые *биомономеры*, которые затем в результате реакций полимеризации (в том числе программированного матричного синтеза на молекулах нуклеиновых кислот) соединяются друг с другом, формируя *биополимеры*. К основным биомономерам можно отнести аминокислоты, мононуклеотиды, моносахариды, жирные кислоты, глицерин, а также некоторые органические спирты (холин, инозит и др.). Биополимеры отличаются чрезвычайно большим многообразием структур благодаря тому, что образующие их биомономеры могут соединяться друг с другом в самых различных сочетаниях. Например, из 20 аминокислот образуется до  $10^{12}$  белков, из 5 мононуклеотидов — до  $10^{10}$  разновидностей нуклеиновых кислот и т. д.

Промежуточное положение между биомономерами и биополимерами занимают *гетероциклические соединения* (витамины, коферменты, гем крови, хлорофилл растений и др.), которые по молекулярной массе ближе к биомономерам, но не являются подобно последним повторяющимися фрагментами биополимеров.

Биополимеры включают вещества различной химической природы (липопротеины, нуклеопротеины, гликопротеины, гликолипиды, хромопротеины и ряд других) и имеют сложную пространственную организацию. Зачастую они соединяются друг с другом, образуя *надмолекулярные (макромолекулярные) структуры*. Именно у надмолекулярных структур появляется способность к независимому выполнению ряда биологических функций — катализу, транспорту, самокопированию, что можно отнести к элементарным проявлениям жизни. Именно эти свойства макромолекулярных структур используются учеными при обосновании некоторых современных версий о происхождении жизни на Земле.

Взаимодействие макромолекул приводит к образованию *супрамолекулярных структур\** (рибосомы, белки мышечных тканей, полиферментные ансамбли и др.). Супрамолекулярные структуры стабилизированы за счет как универсальных, так и специфических взаимодействий.

Следующая ступень организации клетки — ее *органеллы* (митохондрии, ядро, лизосомы и т. д.), отличающиеся относительной автономностью в выполнении ряда специальных функций, определяющих существование самой клетки (например, митохондрии производят энергию, лизосомы участвуют в превращении веществ).

Наконец, система органелл образует саму *клетку* (рис. В.2). Клетка — элементарная ячейка живой системы, основа строения и жизнедеятельности всех животных и растений. Клетки могут существовать как самостоятельные организмы (например, простейшие, бактерии) и в составе многоклеточных организмов. Размеры клетки варьируются в пределах от 0,1 — 0,25 мкм (некоторые бактерии) до 155 мм (яйцо страуса).

Переход от простых биомолекул к сложным биологическим структурам основан на довольно простых физико-химических *принципах самоорганизации*. Такая самоорганизация обеспечивается внутри- и межмолекулярными взаимодействиями. Ковалентные связи обуславливают все многообразие и устойчивость биомолекул. Межмолекулярные взаимодействия (специфические и универсальные) придают биоструктурам достаточную подвижность (динамичность), участвуют в процессах «укладки» биомолекул в пространстве, организации надмолекулярных структур,

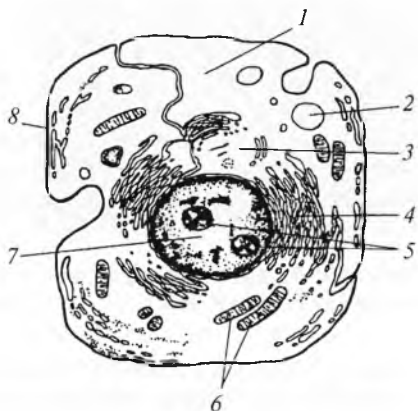


Рис. В.2. Схема строения животной клетки:

1 — цитоплазма; 2 — вакуоль; 3 — аппарат Гольджи; 4 — эндоплазматическая сеть; 5 — ядрышки; 6 — митохондрии; 7 — ядро; 8 — клеточная мембрана

\* Изучением супрамолекул занимается *супрамолекулярная химия*.



Рис. В.3. Микрофотография клеточной культуры *E. coli*

органелл и клетки. В целом любой живой организм можно представить как совокупность внутри- и межмолекулярных взаимодействий, организованных сложным образом. Недаром существует высказывание: «человек — это ходячий коллоид»: тем самым подчеркивается сходство живых организмов с коллоидными системами, которые стабилизированы только за счет межмолекулярных взаимодействий.

Все физико-химические взаимодействия между биомолекулами осуществляются в соответствии с *принципом структурной комплементарности*\* (синонимы: «молекулярное узнавание», принцип «ключ — замок» или «рука — перчатка»), основанным на зависимости реакционной способности веществ от их пространственной конфигурации. Сложная структурная организация биомолекул объясняет уникальные свойства, присущие живой природе в отличие от неживой материи.

Чтобы понять всю сложность исследований, проводимых учеными-биохимиками при изучении структурно-функциональной организации живых объектов, в качестве иллюстрации приведем лишь один пример, поясняющий строение и основы жизнедеятельности простейшей бактериальной клетки *Escherichia coli*\*\* (в дальнейшем сокращенно — *E. coli*). Клетка *E. coli* (рис. В.3) имеет весьма скромные размеры: длина — 3, а диаметр — 1 мкм, ее масса приблизительно  $6 \cdot 10^{-13}$  г, две трети которой составляет вода. Остальное вещество клетки образовано белками, свободными аминокислотами, нуклеиновыми кислотами, жирами и углеводами. Клетка состоит из 40 млн больших и средних молекул, участвующих вместе с малыми молекулами в 2—5 тыс. типов химических процессов, многие из которых протекают в 20—30 стадий. В клетке содержится около 10 тыс. рибосом, на которых непрерывно синтезируется несколько тысяч типов белков, причем каждая рибосома «собирает» в среднем одну молекулу белка за 1 с. «Сборка» представляет собой многостадийную операцию, во время которой несколько сотен аминокислот сшиваются в определенном порядке за счет образования пептидных связей, и включает стадии подбора аминокислот, расстановки их по местам, удаления молекулы воды в процессе образования пептидных связей. Поэтому одновременно в клетке содержится около миллиарда аминокислот, из которых только 1 % входит в состав белков, а остальные находятся в работе. Основная информация о химической организации клетки записана в ДНК; буквами такой записи являются триплеты азотистых оснований. В рассматриваемой нами клетке молекулы ДНК содержат 2—5 млн триплетов, т. е. до 15 млн оснований, расположенных в строго определенном порядке (для сравнения: одна молекула ДНК клетки человека содержит приблизительно 3 млрд оснований).

\* Мысль о структурной комплементарности биомолекул впервые высказал основоположник химии природных соединений Э. Г. Фишер (1852—1919 гг.). Термин *комплементарность* происходит от лат. *complementum* — дополнение.

\*\* *E. coli* — классический объект биохимических исследований.

Процессы размножения и функционирования клетки требуют постоянного синтеза новых молекул, уникально высокие скорости которого достигаются благодаря участию вспомогательных белков — *ферментов*, резко ускоряющих биохимические реакции. Кроме того, чтобы обеспечить материалами процессы синтеза, необходимо иметь налаженные механизмы поглощения веществ из окружающей среды, их переработки и выделения продуктов, а также механизмы обмена энергией. Таким образом, проблема, стоящая перед биохимиками, заключается в том, чтобы разобраться в этой невероятно сложной системе, равной которой не было создано за все время научно-технической деятельности человека. Поэтому стоит изумляться не тому, как многого биохимики не знают, а тому, как много открытий они успели сделать.

Для жизнедеятельности организмов очень важна роль *воды*. Немецкий физиолог Э. Дюбуа-Реймон заметил, что «человек — это одушевленная вода». И действительно, на две трети наш организм состоит из воды. Даже в головном мозге, этом командном пункте, управляющем всеми нашими помыслами и поступками, содержится около 80 % воды. По выражению А. А. Покровского, «вода является основной средой, а во многих случаях — участником бесчисленных химических реакций, лежащих в основе жизни». В этой среде протекают все сложные процессы превращения веществ, все процессы обмена. Причины уникальной роли воды для жизни следует искать в ее особых физико-химических свойствах, которые как нельзя лучше соответствуют биологическим функциям клеток (см. главу 15).

Здесь необходимо отметить, что в водных средах многие биомолекулы — биополимеры (белки, нуклеиновые кислоты, липиды, полисахариды), а также более сложные структуры клеток (биологические мембраны) — находятся в *жидкокристаллическом состоянии*, которое обеспечивает их одно- и двухмерную упорядоченность, способность к самоорганизации, спонтанному образованию строго упорядоченной структуры и ее самовоспроизведению. Это во многом объясняет процессы структурообразования в биосистемах.

В живых организмах макромолекулы постоянно синтезируются заново и распадаются; динамическое состояние этих процессов получило название *обмена веществ и энергии*.

## В.6. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ

Строгая структурная организация биосистем тесно связана с законами термодинамики. Согласно II закону термодинамики процессы, происходящие в изолированной системе, направлены в сторону увеличения энтропии (необратимые процессы) или, в предельном случае, энтропия остается постоянной (обратимые процессы):  $dS \geq 0$ . Живые организмы постоянно обмениваются с окружающей средой энергией и веществом, т. е. являются открытыми системами (с точки зрения термодинамики) или относительно изолированными системами (с точки зрения кибернетики), поэтому для них не характерна энтропийная закономерность, спра-

ведливая для закрытых и изолированных систем. Для поддержания структурной упорядоченности живые организмы постоянно расходуют энергию.

Подчиняясь первому закону термодинамики, они потребляют энергию из окружающей среды, преобразуют ее в удобную для использования форму и возвращают часть энергии в окружающую среду в форме, малоприменимой для применения. Так, клетки фотосинтезирующих организмов получают из внешней среды энергию в виде квантов света, а клетки прочих организмов получают химическую энергию, заключенную в химических связях органических и неорганических веществ. Все они преобразуют ее в электрическую энергию и энергию химических связей *аденозинтрифосфорной кислоты* (АТФ). Электрическая энергия и энергия, выделяющаяся в процессе гидролиза АТФ, используются клеткой для совершения полезной работы. В окружающую среду организм отдает тепловую, бесполезную для него энергию, в результате чего энтропия окружающей среды возрастает (см. главу 10).

Из сказанного выше следует, что живая природа, так же как и неживая, подчиняется классическим законам феноменологической термодинамики: живые организмы поддерживают свою структуру за счет внешней среды, энтропия которой при этом увеличивается. Обмениваясь с окружающей средой энергией и веществом, клетка является открытой неравновесной системой. *Состояние равновесия для живой системы равнозначно ее смерти.*

В отличие от неживых объектов, в живых организмах благодаря особым системам регуляции поддерживаются практически постоянные значения температуры и давления, вследствие чего они не способны использовать тепловую энергию для совершения работы. Клетка является изотермической химической машиной, эффективность которой значительно выше, чем эффективность большинства преобразователей энергии, созданных человеком. Высокая эффективность преобразования энергии живыми организмами поддерживает их структурную организацию и обеспечивает жизненные функции.

Поступающие в клетку вещества используются не только как источник энергии, но и как строительный материал, поскольку в ней происходит постоянное обновление структурных компонентов. Продукты этих превращений, т. е. продукты обмена, выводятся из клетки во внешнюю среду. Химические пути образования необходимых для организма веществ отличаются уникальной селективностью и достаточно высокой скоростью. Для этого природа в ходе своей эволюции «создала» *биологические катализаторы — ферменты*, обеспечивающие высокую скорость и селективность биохимических превращений (см. главу 2).

Поскольку структуры живого организма нестабильны, постоянно разрушаются и синтезируются заново, то и «живое состояние» — это не структура, а процесс, мерой которого может служить *период биологического полубождения*, или *полужизни*, — время, за которое половина данного вещества заменяется новыми молекулами. Исходя из того, что количество молекул, заменяемых в единицу времени новыми ( $dN/dt$ ), пропорционально общему количеству молекул, имеющемуся

в начальный момент времени, можно записать:

$$\frac{dN}{dt} = \mu N, \text{ или } N_t = N_0 e^{-\mu t},$$

где  $N_0$  — начальное число молекул данного вещества;  $N_t$  — число молекул вещества в момент времени  $t$ ;  $\mu$  — биохимическая константа выделения, равная  $1/\tau$  ( $\tau$  — «средняя продолжительность жизни» вещества).

Период биологического полуобновления  $t_{1/2}$  вычисляется из формулы

$$\frac{1}{2} N_0 e^{-\mu t_{1/2}},$$

откуда

$$t_{1/2} = \ln(2/\mu) = \ln(2\tau) = 0,6931\tau.$$

Скорость обновления изменяется не только от вида к виду, от организма к организму, но и от вещества к веществу. Например, у крыс период полужизни глюкозы в крови составляет 19 мин, гликогена в печени — 20 — 24 ч, гликогена в мышцах — 3 — 4 дня, белка печени — 2 — 4 дня (у человека — 8 — 10 дней), резервного жира — 16 — 20 дней.

## В.7. РАЗМЕРЫ, ФОРМА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАССА БИОМОЛЕКУЛ

При изучении структуры биомолекул важно представлять себе их размеры (табл. В.3). Так, небольшие молекулы, в частности сахара или аминокислоты, как правило, имеют длину в несколько ангстрем ( $\text{\AA}$ ). Макромолекулы, например белки, по крайней мере в 10 раз крупнее. Так, гемоглобин — белок эритроцитов, переносящий кислород, имеет диаметр 65  $\text{\AA}$ . Еще на порядок больше размеры надмолекулярных комплексов и супрамолекулярных структур. Например, диаметр рибосом — органелл, на которых происходит синтез белков, составляет около 300  $\text{\AA}$ .

В диапазоне от 100  $\text{\AA}$  (10 нм) до 1000  $\text{\AA}$  (100 нм) лежат размеры большинства вирусов. Клетки, как правило, имеют в сотни раз большие размеры, измеряемые уже в микрометрах. Например, наибольшая длина эритроцита человека составляет 7 мкм. Важно отметить, что предел разрешающей

Таблица В.3. Размеры некоторых биомолекул, надмолекулярных структур и клеток

Характеристика биоструктуры	Размеры, $\text{\AA}$	Пример
Молекулы	10	Глюкоза
Макромолекулы	$10^2$	Гемоглобин
Надмолекулярные комплексы	$10^3$	Рибосома
Клетки	$10^4 - 10^5$	Бактерия, эритроцит



способности современного светового микроскопа составляет около 0,2 мкм, что соответствует размеру многих клеточных органелл. Так, в световом микроскопе видны митохондрии — клеточные органеллы, синтезирующие АТФ. Поэтому представления о биологических структурах размерами от 1 Å (0,1 нм) до  $10^4$  Å (1 мкм) получены в основном благодаря использованию методов электронной микроскопии и рентгеноструктурного анализа.

Клеточные структуры, образованные простыми неорганическими и органическими соединениями, обладают определенной пространственной конфигурацией, которую нельзя отразить простейшими химическими формулами. Так, например, молекулы белков имеют четыре уровня пространственной организации — первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры; три последние характеризуются определенными формами, которые, в свою очередь, обуславливают уникальные биологические функции белков.

При изучении структуры, физико-химических и биохимических характеристик биомолекул очень важно знать их молекулярные массы. *Молекулярная масса биомолекул* выражается в *дальтонах* (Да) в честь Дж. Дальтона (1766 — 1844 гг.), разработавшего атомно-молекулярное учение. *Дальтон* — это единица массы, численно равная  $1/12$  массы атома изотопа углерода  $^{12}\text{C}$ . Очевидно, что масса в дальтонах численно равна величине молекулярной массы в а. е. м., но она не совсем идентична общепринятому определению молекулярной массы. Выражая массу в дальтонах, можно охарактеризовать размер структур, для которых термин «молекулярная масса» не совсем применим, так как они отличаются достаточно сложной организацией и состоят из нескольких молекул различной природы, соединенных за счет специфических и универсальных взаимодействий в надмолекулярный ансамбль.

Молекулярная масса биомономеров (аминокислоты, мононуклеотиды, моносахариды и др.) лежит в пределах от 50 до 250 Да. Молекулярная масса биополимеров (белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды и др.) составляет порядка  $10^3$  —  $10^6$  Да, а различных надмолекулярных структур, клеточных органелл и самой клетки — от  $10^6$  до  $10^{15}$  Да. При дальнейшем изложении материала численные значения молекулярных масс даются без единицы измерения.

Для определения молекулярных масс биомолекул применяется ряд экспериментальных методов, которые можно разделить на две основные группы:

1) методы, основанные на определении химического состава соединений (содержание отдельных элементов, молекул, идентификация концевых групп макромолекул, в частности белков);

2) физико-химические методы, используемые при исследовании седиментации, диффузии, двойного лучепреломления в потоке, осмотического давления и светорассеяния, вязкости, а также электрофореза, гель-фильтрации и др.

## Контрольные вопросы и задания

1. Дайте определение биохимии и перечислите смежные с ней области естествознания.
2. Назовите уровни исследования живой природы. Какой из них имеет первостепенное значение и почему?

3. Перечислите основные этапы развития биохимии как науки. Какие научные открытия характерны для этих этапов?
4. Какие наиболее перспективные направления современной биохимии вы знаете?
5. В чем состоит сходство и различие между живой и неживой природой в химическом плане?
6. Дайте определение биологической системы и перечислите ее основные свойства и признаки.
7. В чем состоят особенности распределения химических элементов в организмах человека и растениях по сравнению с земной корой?
8. Как классифицируются химические элементы по количественному содержанию в живых организмах?
9. Расположите молекулы, составляющие живую клетку, по степени их сложности. Какие виды взаимодействий определяют пространственную организацию надмолекулярных структур, органелл и клеток?
10. Как взаимосвязана структурная организация в живой природе с законами термодинамики? Не наблюдается ли при этом каких-либо противоречий?
11. Какие соединения отвечают за способность к самовоспроизведению и передаче наследственной информации у живых организмов?
12. Охарактеризуйте размеры биологических молекул.
13. Дайте определение молекулярной массы биомолекул, используемое в биохимии. Почему термин «молекулярная масса» в обычном понимании не применим для описания сложных надмолекулярных структур? Какие методы используются для определения молекулярных масс?

---

## Раздел I

# ЖИЗНЕННО НЕОБХОДИМЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

*В настоящем разделе рассматриваются строение, свойства и биологические функции основных групп природных химических соединений. Из этих соединений, по сути, «строится живая материя» и их молекулы включаются в цепи разнообразных химических реакций, благодаря которым осуществляется жизнь. Подобная методология рассмотрения материала отвечает базовому курсу статической биохимии.*

*Традиционно **глава 1** посвящена строению, свойствам и биологическим функциям самых главных веществ живых организмов — белков и составляющих их аминокислот.*

*В **главе 2** рассмотрена огромная группа соединений, обладающих каталитической активностью, без которых невозможно ни одно химическое превращение *in vivo*, — это ферменты, которые по химической природе в основном являются белками. Многие ферменты не проявляют своих биокаталитических функций в отсутствие особых веществ — коферментов, роль которых в большинстве случаев выполняют витамины и ионы металлов. Поэтому в **главе 3** описаны строение и биохимические функции витаминов, а в **главе 4** отражены вопросы химии биометаллов.*

*В **главе 5** обсуждаются строение и биофункции обширной группы циклических и линейных тетрапиррольных соединений, играющих ключевую роль в процессах фотосинтеза и дыхания.*

***Главы 6 и 7** посвящены строению, свойствам и биофункциям углеводов и липидов как основных компонентов пищи и соединений, используемых организмами в качестве главного источника энергии и осуществляющих многие другие важнейшие функции в живой природе. Строение и свойства нуклеиновых кислот как носителей наследственной информации рассмотрены в **главе 8**. В **главе 9** обсуждается взаимосвязь химического строения и высокой биологической активности важной группы природных регуляторов — гормонов.*

# Глава 1

## Аминокислоты. Пептиды. Белки

### 1.1. РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О БЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВАХ

**Белки** (или **протеины**\*) — это уникальный класс органических соединений, играющих решающую роль во всех процессах жизни. Данный факт подтверждается следующим аргументом: белки составляют около 50 % сухой массы организмов животных и человека (табл. 1.1); у вирусов содержание белков колеблется в пределах от 45 до 95 %.

Таблица 1.1. Содержание белков в тканях различных органов животных и человека

Органы и ткани	Содержание белков, % (мас.)	Органы и ткани	Содержание белков, % (мас.)
Селезенка	84	Головной мозг	45
Легкие	82	Кишечник	63
Мышцы	80	Кожа	63
Почки	72	Кости	28
Сердце	60	Зубы	24
Печень	57		

Сведения о белках, их составе, строении и биологических функциях начали формироваться еще в XVIII — XIX вв. На этом этапе в разнообразных природных объектах (семена и соки растений, мышцы, хрусталик глаза, кровь, молоко и др.) в достаточно больших количествах были обнаружены вещества, при сжигании которых ощущался запах паленой шерсти и аммиака. Эти вещества растворялись в воде с образованием вязких, клейких растворов; при испарении воды из этих растворов получалась роговидная масса, свертывающаяся при нагревании. Именно из-за этих специфических свойств данные соединения получили название *белки*, поскольку аналогичными свойствами обладает яичный белок.

В XIX в. благодаря развитию физико-химических методов выделения и очистки было положено начало исследованиям элементного состава белков, в результате чего в них были обнаружены шесть химических элементов: С, Н, N, О, S и Р. Голландский ученый Г. Я. Мульдер (1802 — 1880 гг.) впервые предложил теорию химического строения белков. Согласно этой теории белки — это соединения, состоящие из одной или нескольких группировок состава  $[C_{40}H_{62}N_{10}O_{12}]_n$ , связанных между собой посредством атомов S и/или Р. Для обозначения этой группы Мульдер предложил термин «*протеин*» (от греч. *protos* — первый, важнейший), и, несмотря на то что существование данной группировки в белках в результате последующих исследований было опровергнуто, этот термин сохранился и по настоящее время как синоним названия «белок».

\* Термин «протеины» наиболее употребителен в англоязычной литературе.

В 1820 г. французский ученый А. Браконно, подвергая животные белки многочасовому кислотному гидролизу, выделил из них аминокислоту, названную им *гликоколом*, ее химическое строение было определено в 1846 г.; сегодня эта аминокислота известна под названием *глицин*. К концу XIX в. из природных белков было выделено свыше десятка различных аминокислот. Последняя из аминокислот, которую обнаружили в белках, — *треонин* — была идентифицирована в 1938 г. Каждая аминокислота имеет свое тривиальное (традиционное) название, нередко связанное с источником ее выделения. Например, *аспарагин* впервые обнаружили в спарже, *глутаминовую кислоту* (от англ. *gluten* — клейковина) — в клейковине пшеницы, *глицин* был назван так за его сладкий вкус (от греч. *glykys* — сладкий), *тирозин* был впервые получен из сыра (греч. *tyros* — сыр). *Лейцин* был назван в соответствии со своей окраской (от греч. *leukos* — белый), поскольку в пору его выделения из мышечной ткани (1820 г.) белый цвет не считался, по-видимому, характерным свойством веществ, полученных из природных объектов.

В 1888 г. А. Я. Данилевский выдвинул гипотезу строения белка, получившую название «теории элементарных рядов». Он первым предположил существование в белках *амидной*, или *пептидной*, связи ( $\text{—NH—CO—}$ ). В 1902 г. Э. Фишер сформулировал «полипептидную теорию» строения белков, а также синтезировал первые пептиды.

В 1925—1930 гг. Т. Сведберг определил молекулярные массы многих белков с помощью разработанного им метода ультрацентрифугирования, позволившего создавать очень сильные центробежные поля с ускорением до 250 000 *g*.

Изучение белков в XIX в. сдерживалось несовершенством методов разделения белковых смесей, что не давало возможности исследовать структуру и свойства индивидуальных белков. Лишь в конце XIX в. получили распространение эффективные методы разделения белков с помощью осаждения нейтральными солями. Так, в 1926 г. Д. Самнер выделил из семян канавалии белок (фермент) уреазу в кристаллическом состоянии; Дж. Нортроп и М. Кунитц в 1930—1931 гг. получили кристаллические пепсин и трипсин (ферменты желудочно-кишечного тракта).

В XX в. применение современных методов фракционирования (хроматографии на целлюлозных и других гидрофильных ионообменниках, гель-фильтрации, электрофореза и др.) позволило ученым выделить несколько тысяч индивидуальных белков из различных объектов живой природы. С помощью ряда аналитических методов (хроматография, рентгеноструктурный анализ, метод изотопной индикации, цитоспектрофотометрия, электронная микроскопия) был изучен аминокислотный состав многих белков.

Изучение более сложных уровней организации белковых молекул — вторичной, третичной и четвертичной структур — стало возможным лишь в середине XX в. благодаря использованию рентгеноструктурного анализа. Первые модели этих структур были разработаны Л. Полингом и Р. Кори (1951 г.), К. У. Линдерстремом-Лангом (1952 г.), а также Е. Блу (1953—1961 гг.).

В 1953 г. была впервые расшифрована аминокислотная последовательность белкового гормона поджелудочной железы инсулина, а в 1963 г. осуществлен его искусственный синтез.

В настоящее время на стыке биологии и химии развито новое научное направление — *протеомика*, задачей которого является изучение полного набора белков организмов того или иного вида. Основные задачи, которые ставит перед собой это научное направление, следующие: исследование пространственной структуры белковых молекул; изучение их биологических функций; исследование механизмов их функционирования на атомно-молекулярном уровне.

Поскольку  $\alpha$ -аминокислоты являются структурными единицами всех белков и пептидов, то в первую очередь следует остановиться на особенностях химического строения и физико-химических свойств соединений данного класса.

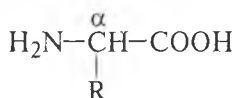
## 1.2. АМИНОКИСЛОТЫ

**Аминокислоты** представляют собой класс органических соединений, молекулы которых содержат как карбоксильные ( $-\text{COOH}$ ), так и аминогруппы ( $-\text{NH}_2$ ). Аминокислоты можно рассматривать как карбоновые кислоты, у которых хотя бы один из атомов водорода углеводородной цепи замещен на аминогруппу.

Природные аминокислоты, участвующие в построении молекул пептидов и белков, называют *протеиногенными*, а аминокислоты, которые не входят в состав белковых молекул, но при этом выполняют определенные биологические функции, называют *непротеиногенными*.

В биологических объектах на настоящее время обнаружено около 300 разных аминокислот, но в состав большинства пептидов и белков входят в основном 20 аминокислот, и потому они имеют наиболее важное значение для жизни. Рассмотрим особенности химического строения протеиногенных и непротеиногенных аминокислот.

**Протеиногенные аминокислоты.** Мономерами белков являются  $\alpha$ -аминокислоты, общим признаком молекулярной структуры которых является наличие карбоксильной и аминогрупп у  $\alpha$ -углеродного атома:



Вследствие того что во всех (за исключением глицина) природных аминокислотах  $\alpha$ -углеродный атом асимметрический, у большинства этих молекул имеется хотя бы один хиральный центр, поэтому они существуют в виде двух оптических изомеров (L- и D-энантиомеры). Встречающиеся в живой природе  $\alpha$ -аминокислоты, как правило, имеют L-конфигурацию\*. L-Конфигурация природных аминокислот обеспечивает высокую стереоселективность белковых молекул, которые вступают во взаимодействие только с соединениями, имеющими строго определенную простран-

---

\* В данном курсе оптическая активность и стереохимическая конфигурация аминокислот не рассматриваются, поскольку данные вопросы подробно освещены в курсе органической химии.

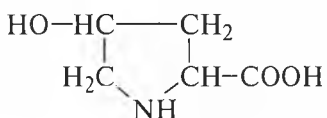
ственную конфигурацию. В этом проявляется биохимический *принцип структурной комплементарности*. Однако в клетках многих микроорганизмов обнаружены D-аминокислоты (например, в веществе клеточной стенки и в составе некоторых антибиотиков). Так, в состав белков клеток бактерий сибирской язвы входит D-глутаминовая кислота, поэтому против данного вида бактерий бессильны ферменты, расщепляющие белки человека и животных.

Названия, химическое строение, условные обозначения и некоторые физико-химические константы 20 важнейших протеиногенных аминокислот приведены в табл. 1.2.

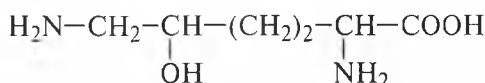
Существует несколько классификаций аминокислот, которые основаны на следующих признаках:

- 1) химическое строение радикала R — *структурная классификация* (см. табл. 1.2);
- 2) кислотно-основные свойства бокового радикала R — *электрохимическая классификация* (кислые, основные и нейтральные аминокислоты);
- 3) степень заменимости аминокислот для организма — *физиологическая классификация* (заменимые, незаменимые, частично заменимые, условно заменимые аминокислоты).

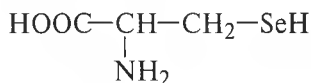
**Редкие протеиногенные аминокислоты.** Существуют аминокислоты, которые редко встречаются в белках. К ним относятся содержащиеся в коллагене 4-гидроксипролин (Hyp), 5-гидроксизин (Hyl), селеноцистеин и  $\alpha$ -аминолимонная кислота, молекулы которых имеют следующее строение:



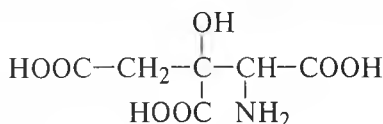
4-Гидроксипролин



5-Гидроксизин



Селеноцистеин



$\alpha$ -Аминолимонная кислота

Редкие аминокислоты, как правило, образуются на стадии посттрансляционной модификации белка в результате реакций гидроксилирования, фосфорилирования и др. (см. главу 12).

**Непротеиногенные аминокислоты.** Непротеиногенные аминокислоты играют биохимическую роль не менее важную, чем протеиногенные. Они могут содержать заместители у  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - или  $\delta$ -углеродных атомов. Наиболее важные представители непотеиногенных аминокислот — *орнитин*, *цитруллин* (промежуточные соединения цикла биосинтеза мочевины), нейромедиатор  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК) и предшественник гормона щитовидной железы 2,5-дйодтирозин; к этой группе относятся также  $\beta$ -аланин — предшественник витамина пантотеновой кислоты,

Таблица 1.2. Протеиногенные аминокислоты в соответствии со структурной классификацией

Название	Химическая формула	Сокращение		Физико-химические константы			
		русское	латинское	$pK_a$ ( $\alpha$ -COOH)	$pK_a$ ( $\alpha$ -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	$pK_a$ (R)	$pI$
Моноаминомонокарбоновые кислоты							
Глицин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{H} \end{array}$	Гли	Gly (G)	2,35	9,78	—	6,07
Аланин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Ала	Ala (A)	2,35	9,87	—	6,11
Валин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_3 \end{array}$	Вал	Val (V)	2,29	9,74	—	6,02
Лейцин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{CH}_3 \end{array}$	Лей	Leu (L)	2,33	9,74	—	6,04
Изолейцин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{C}_2\text{H}_5 \end{array}$	Иле	Ile (I)	2,32	9,76	—	6,04
Серин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2-\text{OH} \end{array}$	Сер	Ser (S)	2,19	9,21	—	5,70
Треонин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{OH} \end{array}$	Тре	Tre (T)	2,11	9,10	—	5,61
Цистеин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2-\text{SH} \end{array}$	Цис	Cys (C)	1,92	10,70	8,37	5,15



Название	Химическая формула	Сокращение		Физико-химические константы			
		русское	латинское	$pK_a$ ( $\alpha$ -COOH)	$pK_b$ ( $\alpha$ -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	$pK_a$ (R)	$pI$
Метионин	$  \begin{array}{c}  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{S}-\text{CH}_3  \end{array}  $	<i>Мет</i>	<i>Met (M)</i>	2,13	9,28	—	5,71
Гистидин	$  \begin{array}{c}  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\    \\  \text{CH}_2-\text{HN} \begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{N} \quad \text{N} \end{array}  \end{array}  $	<i>Гис</i>	<i>His (H)</i>	1,80	9,33	6,04	7,69
Диаминомонокислоты							
Лизин	$  \begin{array}{c}  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2-\text{NH}_2  \end{array}  $	<i>Лиз</i>	<i>Lys (K)</i>	2,16	9,06	10,54	9,80
Аргинин	$  \begin{array}{c}  \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{NH} \\    \\  \text{H}_2\text{N}-\text{C}=\text{NH}  \end{array}  $	<i>Арг</i>	<i>Arg (A)</i>	1,82	8,99	12,48	10,74

Моноаминодикарбоновые кислоты

Аспарагиновая кислота	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$	<i>Асп</i>	<i>Asp (D)</i>	1,99	9,90	3,90	2,95
Глутаминовая кислота	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$	<i>Глу</i>	<i>Glu (E)</i>	2,10	9,47	4,07	3,09

Амиды моноаминодикарбоновых кислот

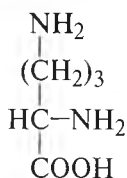
Аспарагин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{O}=\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$	<i>Асп</i>	<i>Asn (N)</i>	2,14	8,72	—	5,43
Глутамин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{O}=\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$	<i>Глн</i>	<i>Gln (Q)</i>	2,17	9,13	—	6,74

Ароматические моноаминомонокарбоновые кислоты

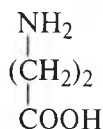
Фенилаланин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	<i>Фен</i>	<i>Phe (F)</i>	2,20	9,31	—	5,76
-------------	--	------------	----------------	------	------	---	------

Название	Химическая формула	Сокращение		Физико-химические константы			
		русское	латинское	$pK_a$ ( $\alpha$ -COOH)	$pK_a$ ( $\alpha$ -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	$pK_a$ (R)	$pI$
Тирозин	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{OH} \end{array}$	<i>Tyr</i>	<i>Tyr (Y)</i>	2,20	9,21	10,46	5,71
Триптофан	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_8\text{H}_6\text{N} \end{array}$	<i>Trp</i>	<i>Trp (W)</i>	2,46	9,41	—	5,94
Иминокислота							
Пролин	$\begin{array}{c} \text{C}_5\text{H}_9\text{N} \\   \\ \text{NH} \end{array} \text{COOH}$	<i>Pro</i>	<i>Pro (P)</i>	1,95	10,64	—	6,30

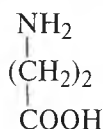
$\beta$ -цианаланин — аминокислота, присутствующая в растениях, и пеницилламин, используемый в клинической практике в качестве хелатирующего лиганда по отношению к ионам металлов:



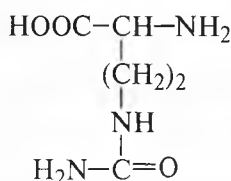
Орнитин



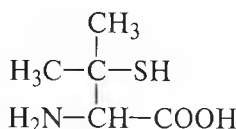
ГАМК



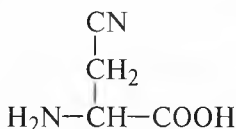
$\beta$ -Аланин



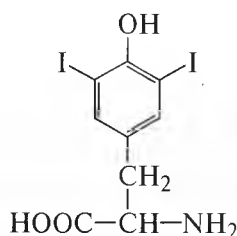
Цитруллин



Пеницилламин



$\beta$ -Цианаланин



3,5-Диодтирозин

**Незаменимые аминокислоты.** В начале XX в. было показано, что содержание молодых крыс на диете, состоящей из *зеина* (белок кукурузы) в качестве единственного источника белка, приводит к задержке их роста. В *зеине* нет лизина и триптофана; добавление этих аминокислот к диете восстанавливало нормальный рост крыс. Изучение влияния особенностей питания на развитие организмов животных привело также к открытию *треонина*: кормление крыс *треонином* и 19 другими чистыми аминокислотами способствовало нормальному росту животных, а отсутствие *треонина* приводило к уменьшению их массы.

Аминокислоты, которые не синтезируются в данном организме из других соединений, называются *незаменимыми аминокислотами*. Незаменимые аминокислоты обязательно должны поступать в организм извне (с пищей). Для организма человека незаменимыми являются 8 важнейших аминокислот (см. далее).

Если в пище отсутствует хотя бы одна из незаменимых аминокислот, то в организме сначала замедляется, а затем и полностью прекращается синтез белков. Это можно объяснить тем, что в состав белков организма входят все 20 аминокислот, причем при отсутствии хотя бы одной из них синтез белков *in vivo* прекращается (принцип «все или ничего»).

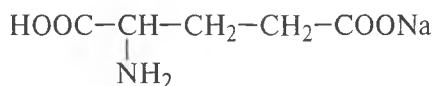
В соответствии со специфическими особенностями биосинтеза некоторые аминокислоты относят к *частично заменимым* или *условно заменимым* (см. ниже).

Частично заменимые аминокислоты (*гистидин*, *аргинин* — для человека) синтезируются в организме, но скорость их синтеза крайне недостаточна для обеспечения потребностей организма, особенно у детей.

Условно заменимые аминокислоты могут синтезироваться в организме из незаменимых: *цистеин* — из *метионина*, *тирозин* — из *фенилаланина*.

на, т. е. эти аминокислоты являются заменимыми при условии достаточного поступления в организм метионина и фенилаланина.

L-Глутаминовая кислота не является незаменимой, однако она имеет большое значение для улучшения вкусовых качеств пищи. L-Глутамат натрия



L-Глутамат натрия

применяется для улучшения вкусовых качеств бескислотных пищевых продуктов и придает им вкус мяса (нужно заметить, что D-глутаминовая кислота подобного эффекта не дает). Глутаминовую кислоту получают из растительных белков (глутеин, соевый жмых) кислотным гидролизом.

Таким образом, классификация аминокислот по физиологической значимости основана на их разделении на незаменимые, частично заменимые, условно заменимые и заменимые аминокислоты:

*незаменимые аминокислоты* — валин, лейцин, изолейцин, треонин, метионин, фенилаланин, триптофан, лизин;

*частично заменимые аминокислоты* — гистидин, аргинин;

*условно заменимые аминокислоты* — цистеин, тирозин;

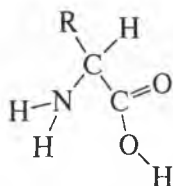
*заменимые аминокислоты* — аланин, аспарагиновая кислота, аспаргин, глутаминовая кислота, глутамин, пролин, глицин, серин.

Нужно отметить, что незаменимые аминокислоты определяют пищевую ценность белков, что является самым важным показателем для разработки рациональных основ питания. Растительные белки часто содержат недостаточное количество незаменимых аминокислот (как правило, лизина, метионина и триптофана), что снижает их пищевую ценность (подробнее о пищевой ценности растительных и животных белков см. главу 12).

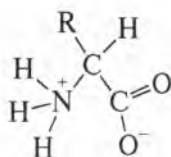
### 1.3. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АМИНОКИСЛОТ

Все своеобразие физико-химических свойств аминокислот в основном обусловлено содержанием в их молекулах по крайней мере двух функциональных групп с явно противоположными свойствами.

Аминокислоты в свободном виде представляют собой бесцветные кристаллы с высокими температурами плавления (200 — 350 °С). Большая часть их растворима в воде и практически нерастворима в неполярных органических растворителях. Кристаллическая решетка аминокислот — ионная, стабилизированная за счет электростатических сил притяжения между противоположно заряженными ионизированными группами соседних молекул. Таким образом, аминокислоты в свободном виде — это органические соли, кристаллическая решетка которых образована *биполярными ионами*, или *цвиттер-ионами*, в которых протон карбоксильной группы мигрирует к электронной паре атома азота аминогруппы той же молекулы:



Молекулярная форма  
 $\alpha$ -аминокислоты



Биполярная форма  
 $\alpha$ -аминокислоты

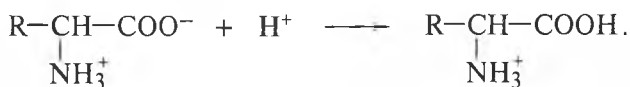
В водных растворах аминокислоты проявляют как кислотные, так и основные свойства, т. е. представляют собой амфолиты. Свойства кислот аминокислотам в водных растворах придают  $\alpha$ -карбоксильная ( $-\text{COOH}$ ) группа и протонированная  $\alpha$ -аминогруппа ( $-\text{NH}_3^+$ ). Свойства оснований аминокислотам придают депротонированная  $\alpha$ -карбоксильная группа ( $-\text{COO}^-$ ) и  $\alpha$ -аминогруппа ( $-\text{NH}_2$ ).

Для каждой аминокислоты имеется как минимум две константы кислотной диссоциации: одна для  $\alpha$ -карбоксильной —  $pK_a(\alpha\text{-COOH})$ , другая — для протонированной  $\alpha$ -аминогруппы —  $pK_a(\alpha\text{-NH}_3^+)$ . При наличии кислотно-основных функциональных групп в радикале R аминокислоты появляется дополнительная  $pK_a(R)$  (см. табл. 1.2). Нужно отметить, что за счет  $-I$ -эффекта  $\text{NH}_2$ -группы при  $\alpha$ -углеродном атоме величина  $pK_a(\alpha\text{-COOH})$  для аминокислот меньше, чем для соответствующих карбоновых кислот (например, для глицина  $pK_a(\alpha\text{-COOH}) = 2,35$ , а для уксусной кислоты — 4,7).

С применением различных физико-химических методов (спектроскопия, определение диэлектрической проницаемости, титрование в органических растворителях) было доказано, что в водных растворах, так же как и в кристаллах, аминокислоты существуют в виде биполярных ионов, или цвиттер-ионов. Молекулярная форма аминокислот в основном характерна для неводных растворов — в растворителях с низкой диэлектрической проницаемостью.

Изменение pH водной среды от кислой до щелочной влияет на заряд растворенных аминокислот.

В сильноокислых растворах аминокислоты несут суммарный положительный заряд (существуют в форме катионов), так как избыток протонов в среде подавляет диссоциацию карбоксильной группы:



Поэтому в кислой среде аминокислоты в электрическом поле движутся к катоду.

В щелочных растворах аминокислоты за счет диссоциации протонированной аминогруппы  $-\text{NH}_3^+$  имеют отрицательный заряд (находятся в виде анионов):



В этом случае аминокислоты в электрическом поле перемещаются к аноду. Таким образом, в зависимости от pH среды аминокислоты могут иметь суммарный нулевой, положительный или отрицательный заряд (рис. 1.1).

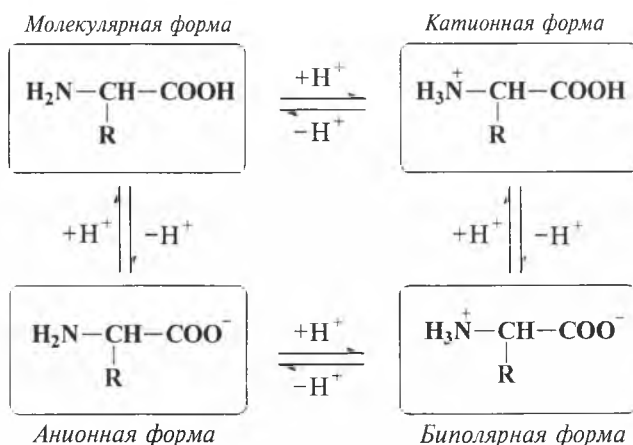


Рис. 1.1. Формы существования аминокислот в зависимости от pH водного раствора

Состояние, при котором суммарный заряд аминокислоты равен нулю, называется *изоионным*, а соответствующее этому состоянию значение pH называется *изоионной точкой* и обозначается  $pI_i$ . Точно так же, если в соответствующих экспериментальных условиях молекула аминокислоты не несет электрического заряда (например, не обладает электрофоретической подвижностью), то такое состояние аминокислоты называется *изо-*

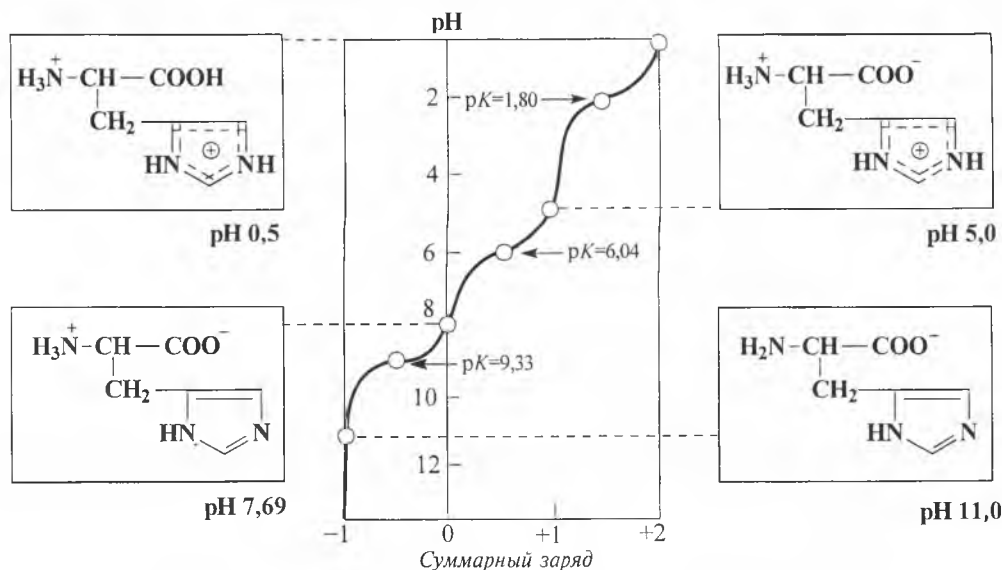


Рис. 1.2. Кривая pH-метрического титрования гистидина

электрическим, а значение  $pH$ , при котором наступает такое состояние, называется *изоэлектрической точкой* и обозначается  $pI$ . Особо следует отметить то обстоятельство, что при установлении изоионного состояния рассматривают только процесс диссоциации и присоединения протонов, поэтому у биполярного иона изоэлектрическая и изоионная точки совпадают лишь в том случае, если он присоединяет только протоны. Изоэлектрическая и изоионная точки аминокислоты в разбавленных водных растворах приблизительно совпадают.

При  $pH = pI$  аминокислоты не перемещаются в электрическом поле ни к катоду, ни к аноду. Изоэлектрическая точка соответствует точке перегиба на кривой титрования аминокислоты (рис. 1.2). Изоэлектрическая точка очень точно отражает кислотно-основные свойства разных функциональных групп в аминокислотах и является одной из важнейших констант, характеризующих состояние аминокислот в водных растворах (см. табл. 1.2).

Значение  $pI$  для неполярных аминокислот приближается к 7, у кислотных аминокислот оно имеет более низкие значения, у основных — более высокие.

Для аминокислот, не содержащих дополнительных кислотно-основных групп в радикале  $R$ , значение  $pI$  может быть рассчитано исходя из следующей формулы:

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2},$$

где  $pK_1$  и  $pK_2$  — это  $pK_a(\alpha\text{-COOH})$  и  $pK_a(\alpha\text{-NH}_3^+)$  соответственно.

В общем случае для аминокислот, содержащих в составе радикала  $R$  дополнительные кислотные или основные группы,  $pI$  можно определить по уравнению

$$pI = \frac{pK_n + pK_{n+1}}{2},$$

где  $n$  — максимальное число положительных зарядов в полностью протонированной форме аминокислоты.

В изоэлектрической точке аминокислоты не проявляют буферных свойств, их буферная емкость\* максимальна при  $pH$ , равных значениям  $pK_a$  кислотных групп. Если известны величины  $pK_1$  и  $pK_2$ , то можно рассчитать соотношения различных видов ионов для любого значения  $pH$ .

В клетках и межклеточной жидкости организма человека и животных  $pH$  среды близок к нейтральному значению, поэтому основные аминокислоты (лизин, аргинин) несут суммарный положительный заряд (кати-

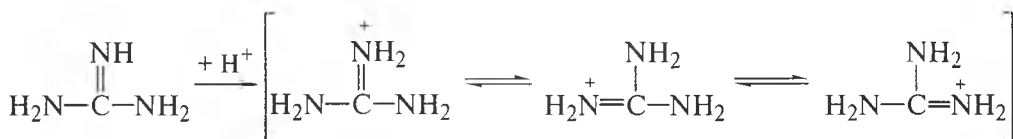
---

\* *Буферная емкость* — способность буферного раствора поддерживать постоянное значение  $pH$ , выражаемая количеством сильной кислоты или сильного основания, которое требуется ввести в 1 л буферного раствора, чтобы изменить  $pH$  на единицу.



оны), кислые аминокислоты (аспарагиновая, глутаминовая) имеют отрицательный заряд (анионы), а остальные существуют в биполярной ионной форме.

Особо следует отметить, что сильные основные свойства гуанидиновой группировки в аргинине ( $pK_a = 12,48$  для  $=NH_2^+$ ) объясняются тем, что протонирование иминогруппы ( $=NH$ ) приводит к образованию более стабильного катиона с делокализованным положительным зарядом, чем протонирование первичной аминогруппы:



Гуанидин

Наряду с кислотно-основными свойствами аминокислот важное значение для биохимии имеют гидрофобные свойства боковых радикалов аминокислот, поскольку гидрофобные взаимодействия оказывают сильное влияние на формирование и стабилизацию белковых макромолекул. Гидрофобность, как правило, характеризуют изменением свободной энергии переноса растворенного вещества из воды в неполярный органический растворитель (например, диоксан). Следовательно, если определить гидрофобность каждой аминокислоты, а затем вычесть из нее гидрофобность глицина — простейшей аминокислоты, образующей единицу звеньев с пептидными связями, — то можно получить характеристику гидрофобности каждого из боковых радикалов аминокислот. Гидрофобность боковых радикалов для разных аминокислот в среднем составляет около  $-100$  кДж/моль.

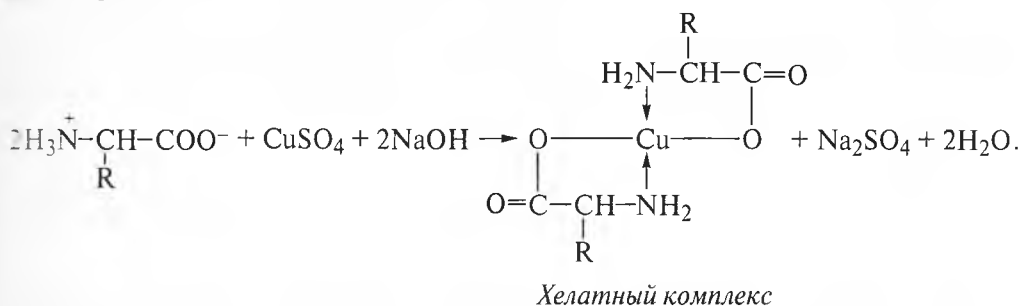
Ароматические аминокислоты — тирозин, фенилаланин и триптофан — обуславливают наличие максимумов в электронных спектрах поглощения белков в УФ-области ( $\lambda_{max} = 260 \div 280$  нм), на чем основан спектрофотометрический метод определения белка в растворах и биологических жидкостях. *Цистин* — диаминодикарбоновая кислота, образующаяся при окислении цистеина



слабо поглощает свет при  $\lambda_{max} = 240$  нм благодаря наличию дисульфидной связи.

Важным свойством аминокислот является их хелатирующая способность по отношению ко многим ионам металлов (как правило, наиболее устойчивые комплексы образуются с ионами  $d$ -металлов). Все аминокис-

лоты, отдавая протон, приобретают свойства полидентатных лигандов и способны к образованию хелатных комплексов с катионами *d*-металлов. Так, например, при взаимодействии  $\alpha$ -аминокислоты со свежеприготовленным гидроксидом меди(II) образуется окрашенный в ярко-синий цвет растворимый хелатный комплекс:

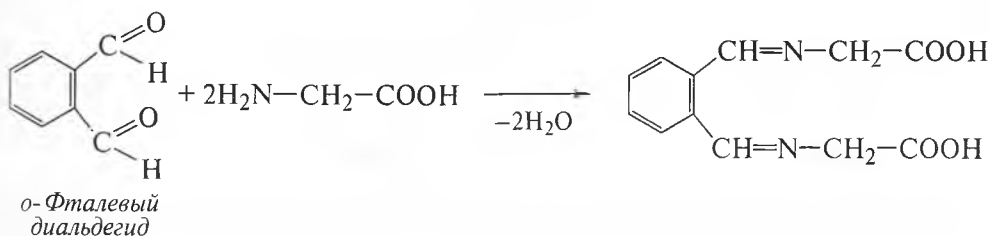


Практически каждая природная аминокислота способна образовывать устойчивый пятичленный хелатный цикл с ионом металла. Если в боковом радикале аминокислоты отсутствуют дополнительные электронодонорные центры, то в качестве последних могут выступать только  $\alpha$ -карбоксильная и  $\alpha$ -аминогруппы. При изменении pH среды характер комплексообразования с аминокислотами может изменяться; так, при снижении pH аминокислота может координироваться как нейтральный лиганд. Когда аминогруппа не участвует в образовании пятичленного хелатного цикла, часто образуется четырехчленное кольцо, в котором оба атома кислорода связаны с центральным ионом металла. Кроме того, карбоксильная группа может служить мостиком между двумя ионами металлов.

Реакции комплексообразования ионов металлов с аминокислотами играют существенную роль в поддержании *металло-лигандного баланса* в живых организмах.

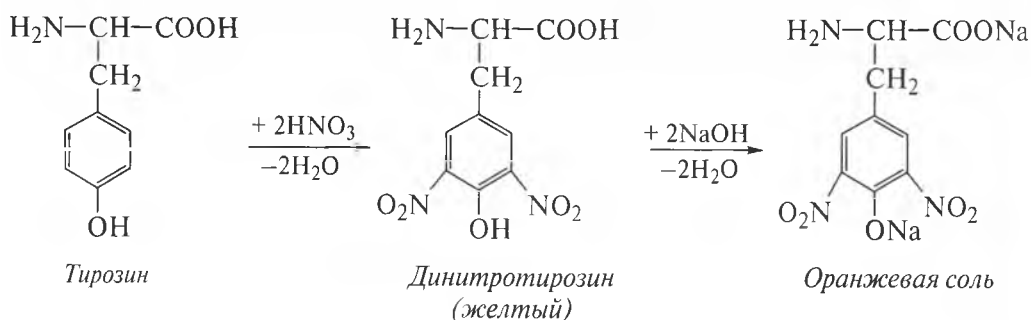
Важный аспект биохимической лабораторной практики составляют специфические качественные реакции на аминокислоты, обусловленные реакционной способностью содержащихся в них функциональных групп. Эти реакции часто используют в лабораториях для идентификации и полуколичественного определения белков и отдельных аминокислот. Приведем несколько примеров качественных реакций на аминокислоты.

*Реакция на глицин* протекает за счет взаимодействия последнего с *о*-фталевым диальдегидом с образованием ярко-зеленого продукта присоединения:



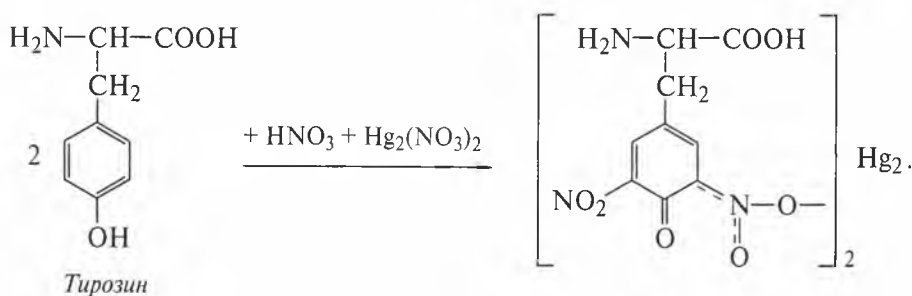
*Реакция нитрования на ароматические аминокислоты (реакция Мильдера)* обусловлена образованием окрашенных в желтый цвет нитропроиз-

водных тирозина, фенилаланина и триптофана при их нагревании с азотной кислотой:



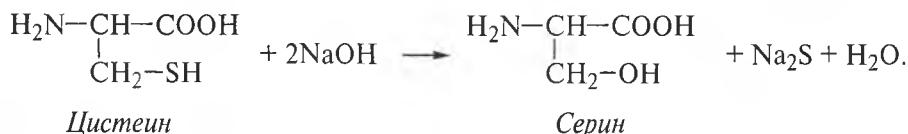
При добавлении щелочи полученные нитропроизводные аминокислот образуют соли хиноидной структуры, окрашенные в оранжевый цвет. Реакцию с азотной кислотой дают также практически все белки, за исключением тех, в которых отсутствуют ароматические аминокислоты.

*Реакция на тирозин (реакция Миллона)* обусловлена образованием кроваво-красного осадка ртутной соли динитротирозина при добавлении к раствору белка реактива Миллона (раствор нитратов ртути(I) и ртути(II) в азотной кислоте с примесью азотистой кислоты):



Следует иметь в виду, что положительную реакцию с реактивом Миллона могут давать также и небелковые вещества, например фенол.

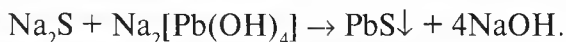
*Реакция на цистеин (реакция Фоля)* обусловлена гидролизом сульфгидрильных групп —SH в щелочной среде:



При добавлении к образовавшемуся раствору ацетата свинца, который в щелочной среде переходит в гидроксоплюмбит(II)

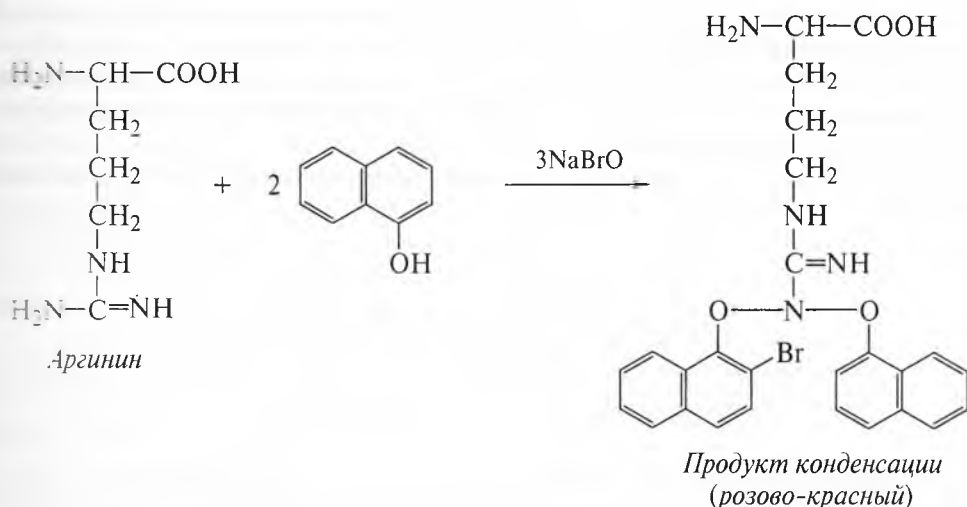


сульфида натрия выпадает черный осадок сульфида свинца(II):



Метионин, также содержащий серу, этой реакции не дает, поскольку сера в нем связана более прочно, чем в цистеине.

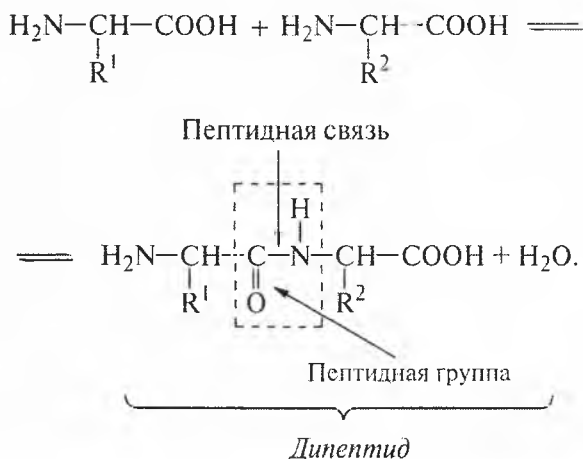
Реакция на аргинин (реакция Сакагучи) обусловлена взаимодействием окисленной гуанидиновой группировки в аргинине с  $\alpha$ -нафтолом с образованием продукта конденсации розово-красного цвета:



Реакция Сакагучи не является строго специфичной на аргинин, ее дают также и другие производные гуанидина — метилгуанидин, гликоциамин.

## 1.4. АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ

**Пептидная связь.** Формально при взаимодействии  $\alpha$ -карбоксильной группы одной аминокислоты с  $\alpha$ -аминогруппой другой аминокислоты образуется амидная связь, соединяющая остатки аминокислот друг с другом:

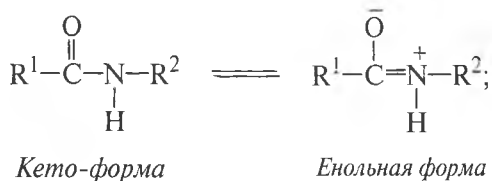


Такая амидная связь называется *пептидной связью*, а группа [—CO—NH—] — *пептидной группой*. Полимерные соединения, в которых аминокислоты соединены пептидными связями, называют *пептидами* (*дипептиды*, *трипептиды* и т. д.; *олигопептиды*; *полипептиды*). Хотя четкого разграничения между белками и пептидами не существует, короткие цепи принято называть *пептидами* или *олигопептидами*, а собственно белками называют обычно *полипептиды*, содержащие 50 и более аминокислотных остатков.

Пептидная группа (рис. 1.3) является повторяющимся фрагментом белковой молекулы и имеет ряд особенностей, которые оказывают влияние на структурно-пространственную организацию полипептидной цепи:

1) *копланарность структуры* — все атомы, входящие в пептидную группу, лежат в одной плоскости;

2) способность существовать в *двух резонансных формах* (кето- или енольной):



3) *транс-положение* заместителей по отношению к пептидной связи;  
4) способность к образованию водородных связей, причем каждая пептидная группа может образовывать две водородные связи с другими группами, в том числе и с пептидными (за исключением образованных пролином и гидроксипролином), что играет важную роль в формировании пространственных структур нативных белков.

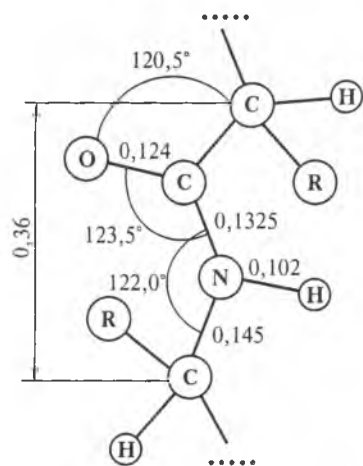


Рис. 1.3. Геометрические характеристики пептидной группы (длины связей — в нм, углы — в град)

В пептидной группе связь между карбонильным атомом углерода и атомом азота, находящимися в  $sp^2$ -гибридном состоянии, имеет меньшую длину, чем аналогичная одинарная связь (0,132 нм вместо 0,147 нм), и существенно заторможенное вращение групп атомов вокруг линии связи. Это вызвано сильным взаимодействием неподеленной электронной пары, локализованной на  $p$ -орбитали атома азота, с  $\pi$ -электронами связи  $\text{C}=\text{O}$ , т. е. пептидная группа может быть охарактеризована как трехцентровая  $p, \pi$ -сопряженная делокализованная система.

**Химический синтез пептидов.** Одним из важнейших доказательств полипептидной теории строения белков послужил синтез Э. Фишером олигопептидов, содержащих до 20 аминокислотных остатков, последовательно соединенных друг с другом пептидной связью.

Разработка полипептидной теории и методик синтеза полипептидов и белков имела огромное значение для теории и практики биохимии. Синтетические полипептиды широко используются для изучения функций и механизмов действия белков в живых клетках. Некоторые гормоны, являющиеся пептидами, в больших количествах необходимы для медицинских целей. В настоящее время разработаны методы, позволяющие получать тысячи и даже миллионы тонн многих полимеров, в том числе состоящих из аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями. Так как синтез полимеров — это прерогатива препаративной органической химии, остановимся здесь лишь на ключевых моментах синтеза полипептидов.

Прямое образование пептидной связи между аминокислотами с удалением молекулы воды не является термодинамически возможным процессом ( $\Delta G > 0$ ) вследствие биполярной природы аминокислот. Поэтому практически всегда оказывается необходимым блокировать функциональные группы аминокислот с переводом последних в активные производные. Учитывая это, можно указать последовательность операций, необходимых для образования пептидной связи.

1. *Защита аминогруппы.* Проводится с помощью следующих заместителей: карбобензоксигруппы ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OSCO—}$ ), *n*-нитрокарбобензоксигруппы ( $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{OSCO—}$ ), *трет*-бутилоксикарбонил- [ $(\text{CH}_3)_3\text{COCO—}$ ] и ряда других.

2. *Защита карбоксильной группы.* Наиболее общим методом защиты карбоксильной группы является превращение ее в сложноэфирную группу. При этом происходит разрушение биполярной структуры аминокислоты и освобождается необходимая для дальнейшего синтеза аминогруппа.

3. *Образование пептидной связи.* Для проведения реакции необходимо повысить электрофильность атома углерода карбоксильной группы или нуклеофильность аминогруппы аминокислоты. Большинство известных методов синтеза пептидов основано на активации карбоксильной группы (карбодиимидный, азидный методы, метод смешанных ангидридов и ряд других).

4. *Удаление защитных групп.*

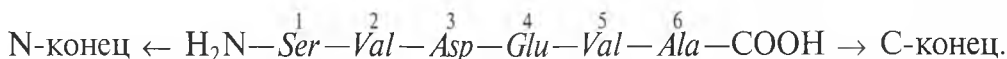
Синтез пептидов необходимо совмещать с процессом, для которого  $\Delta G$  значительно меньше нуля, чтобы суммарное значение  $\Delta G$  сопряженных процессов было несколько ниже или близко к нулю. Большое значение в синтезе полипептидов играет кинетический контроль за протеканием реакций на отдельных стадиях синтеза. Трудоемкость полипептидного синтеза заключается в огромном числе идентичных стадий и в большом количестве повторяющихся процедур (отмывка реагентов и побочных продуктов, их идентификация и др.).

Более совершенным и эффективным оказался разработанный в конце XX в. Р. Б. Меррифилдом и широко используемый в настоящее время метод автоматического твердофазного синтеза пептидов, позволивший автоматизировать данный процесс и снизить механические потери. Сущность данного метода состоит в том, что первый мономер во вновь строящейся цепи синтезируемого полипептида ковалентно связывается с нерастворимым полимерным носителем, а все последующие стадии проводятся

с полипептидом, растущим на исходной затравке, «привязанной» к смоле. При этом на каждой стадии попеременно добавляют очередной активированный мономер — *синтон* и реагент для удаления концевой защитной группы. В течение всего процесса полипептид остается связанным со смолой, что позволяет использовать специально разработанные приборы для автоматического полипептидного синтеза.

**Номенклатура пептидов и белков.** В каждом пептиде один из двух концевых аминокислотных остатков имеет свободную  $\alpha$ -аминогруппу (*N-концевая аминокислота*), а другой — свободную  $\alpha$ -карбоксильную группу (*C-концевая аминокислота*).

Структуру пептидов принято изображать, начиная с N-концевой аминокислоты; с нее же начинается и нумерация аминокислотных остатков, что соответствует направлению синтеза полипептидной цепи на рибосомах в процессе трансляции, которое отвечает направлению  $5' \rightarrow 3'$  полинуклеотидной цепи мРНК (см. главу 12). При этом аминокислотные остатки обозначаются символами (трех- или однобуквенными), например для следующего гексапептида:



Данная запись изображает пептид, в котором свободная  $\alpha$ -аминогруппа принадлежит остатку серина (N-конец), а свободная  $\alpha$ -карбоксильная группа — остатку аланина (C-конец). При чтении такой записи окончания названий всех аминокислот, за исключением последней, изменяются с «ин» на «ил», поскольку аминокислотные остатки в пептиде имеют карбонильную группу вместо карбоксильной. Например, название трипептида *Val—Pro—His* будет читаться так: **валилпролилгистидин**.

## 1.5. СТРУКТУРНО-ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ

Проявление белками разнообразных биологических функций основывается на высокоспецифичном (комплементарном) взаимодействии белка с другими биомолекулами. Для этого белкам необходима достаточно жесткая пространственная структура, небольшие изменения которой зачастую приводят к потере или резкому изменению биохимической активности белков. Поэтому знание молекулярной трехмерной структуры белка необходимо для понимания функционирования белковой молекулы в целом.

Специфические особенности структурно-пространственной организации пептидов и белков определяются следующими факторами:

- 1) аминокислотный состав;
- 2) порядок чередования аминокислотных остатков в полипептидной цепи;
- 3) длина полипептидной цепи и ее молекулярная масса.

Молекулярная масса белков зависит от длины полипептидной цепи: если принять среднюю молекулярную массу одной аминокислоты около

**Таблица 1.3. Молекулярные массы некоторых белков**

Белок	Молекулярная масса	Белок	Молекулярная масса
Инсулин	5808	Дрожжевая гексокиназа	96 000
Рибонуклеаза	12 640	Каталаза	250 000
Лизоцим	13 930	Фибриноген	330 000
Миоглобин	17 000	Коллаген	345 000
Химотрипсин	23 000	Уреаза	480 000
Пепсин	35 000	Миозин	493 000
Яичный альбумин	45 000	Гликогенфосфорилаза	495 000
Гемоглобин человека	64 500	Глутаматдегидрогеназа	1 000 000
Сывороточный альбумин	68 500	Гемоцианин улитки	6 600 000
		Вирус табачной мозаики	40 000 000

100, то молекулярная масса пептидов приближается к 1000, для полипептидов она составляет величину до 4000, а для белков — от 4000 до нескольких миллионов (табл. 1.3). Так, например, молекулярная масса белкового гормона *инсулина* равна 5808. Длина пептидной цепи в пептидах и белках, встречающихся в организме, колеблется в широких пределах — от двух до сотен, а иногда и до тысяч аминокислотных остатков.

В биохимической литературе традиционно принято различать четыре уровня структурно-пространственной организации молекул пептидов и белков: *первичная, вторичная, третичная и четвертичная структуры*, исследование которых позволило подойти к объяснению многих биологических явлений. В настоящее время большинство ученых склоняются к шестиуровневой классификации структурно-пространственной организации белков:

- 1) *первичная структура*;
- 2) *вторичная структура*;
- 3) *сверхвторичная структура*;
- 4) *доменная структура*;
- 5) *третичная структура глобулярных белков*;
- 6) *четвертичная структура*.

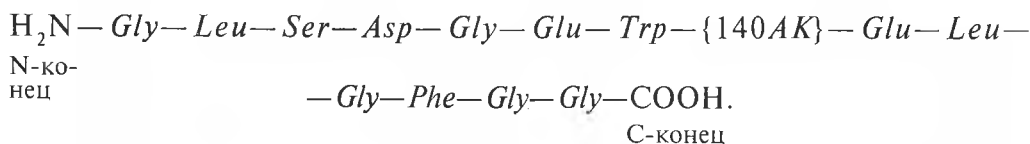
Рассмотрим особенности пространственной структуры белковых молекул в соответствии с приведенной иерархией.

**Первичная структура.** *Первичная структура (секвенция)* специфична для каждого индивидуального белка (пептида) и определяется составом и последовательностью расположения аминокислотных остатков в его полипептидной цепи.

Многие белки, в частности *миоглобин* (мышечный белок, способный транспортировать и запасать молекулярный кислород), состоят из одной полипептидной цепи; другие содержат несколько цепей одинакового или разного аминокислотного состава. Первичная структура миоглобина че-



ловека, содержащего 153 аминокислотных остатка, может быть представлена в следующей записи (см. табл. 1.2):



Даже идентичные по аминокислотному составу и длине цепи пептиды могут быть абсолютно разными по физико-химическому и биохимическому поведению изомерными веществами вследствие различия в последовательности расположения аминокислотных остатков в цепи. Например, из двух аминокислот — аланина и тирозина — можно построить два дипептида: *Ala—Tyr* и *Tyr—Ala*. Соответственно число изомеров полипептида, состоящего из  $n$  остатков разных аминокислот, будет равно числу перестановок из  $n$  элементов, т. е.  $n!$ . При  $n = 20$  число возможных изомерных первичных структур полипептида будет равно  $2 \cdot 10^{18}$ . А если еще учесть, что каждая из аминокислот в полипептидной цепи может повторяться, то число изомеров становится невообразимо большим. Но в живой природе реализуются не все перечисленные возможности. Поэтому в организме человека по самым приближенным оценкам имеется около 100 000 различных белков.

Как мы уже отмечали, молекула белка может содержать от нескольких десятков до нескольких тысяч аминокислотных остатков. Рекорд принадлежит белку *титину* (другое название — *коннектин*), который содержится в мышечной ткани, придавая ей эластичность (совместно с другими белками). Титин построен из 26 926 аминокислотных остатков, а его молекулярная масса составляет 2 993 000. Если молекулу титина вытянуть, то ее длина превысит 1 мкм — объекты такого размера уже видны в оптический микроскоп.

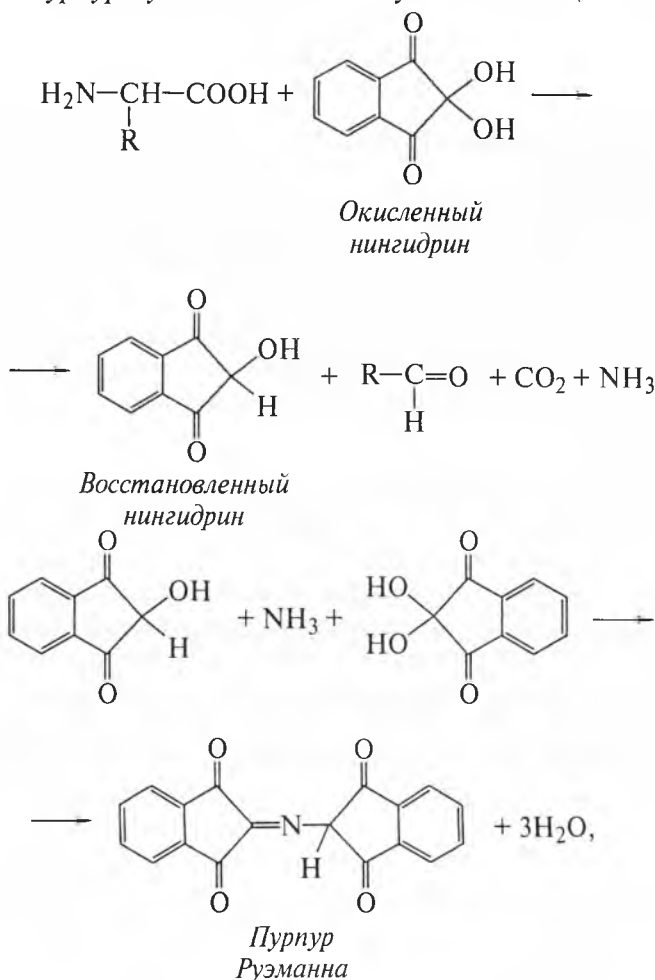
Первичная структура каждого белка относительно постоянна и несет в себе всю информацию, необходимую для формирования структур более высокого порядка. Эта информация прежде всего заключена в индивидуальном для каждого белка (пептида) чередовании аминокислотных остатков, содержащих функциональные группы, в свою очередь способные образовывать водородные связи с комплементарными аминокислотными радикалами той же полипептидной цепи. Благодаря особым свойствам пептидной связи и уникальному, генетически запрограммированному чередованию аминокислотных остатков полипептидная цепь способна самопроизвольно формировать и сохранять особую пространственную структуру, речь о которой пойдет ниже.

**Анализ первичной структуры белков.** Рассмотрим основные экспериментальные методы, используемые для определения первичной структуры белков (пептидов).

Для идентификации аминокислотного состава белка, т. е. для количественного определения аминокислотных остатков в его полипептидной цепи, применяют *аминокислотный анализ*. Для этого пептид или белок подвергают предварительному кислотному гидролизу до составляющих его аминокислот. Кислотный гидролиз благодаря его простоте, точности и удовлетворительной воспроизводимости обычно оказывается предпоч-

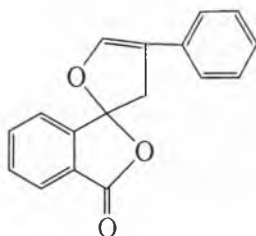
тительным в сравнении с альтернативными методами щелочного или ферментативного гидролиза. Классический метод кислотного гидролиза пептидов и белков состоит в нагревании с 6 М соляной кислотой при 110 °С в вакууме в течение 24, 48 и 72 ч. Далее аминокислоты, содержащиеся в гидролизате, разделяют методом ионообменной хроматографии на колонке с сульфонированным полистиролом, а соляную кислоту удаляют лиофилизацией или упариванием в роторном испарителе. Основным недостатком кислотного гидролиза является разрушение триптофана. Поэтому для определения триптофана проводят щелочной или смешанный (соляная кислота + тиогликолевая кислота) гидролиз. Добавление тиогликолевой кислоты полезно и для предотвращения образования *гуминов* — смеси окрашенных продуктов, появляющихся в ходе кислотного гидролиза сложных белков, — гликопротеинов.

Фракционированные аминокислоты определяют по окраске, образующейся при нагревании с *нингидрином*.  $\alpha$ -Аминокислоты с нингидрином дают интенсивное синее окрашивание (образуется сильное хромофорное соединение — *пурпур Рузмана* с максимумом поглощения при 580 нм)



а иминокислоты, в частности пролин, — желтое окрашивание.

Метод ионообменной хроматографии обладает высокой чувствительностью: с его помощью можно определить даже 1 мкг аминокислоты, т. е. приблизительно такое количество, которое содержится в одном отпечатке пальца человека. Количество аминокислоты пропорционально оптической плотности раствора с нингидрином после его нагревания. Если требуется определить еще меньшие количества аминокислоты (порядка нескольких нанограммов), то используют *флуорескамин*

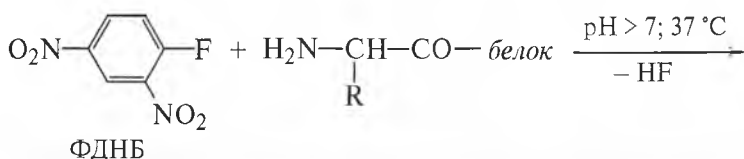


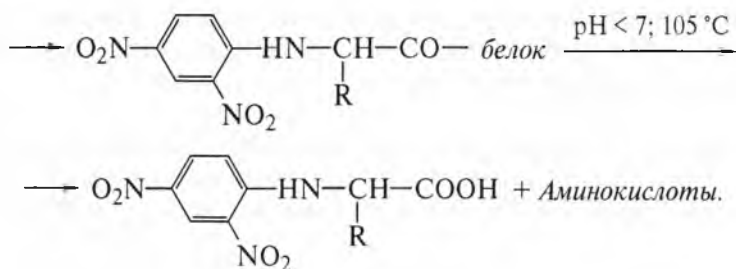
Флуорескамин

который реагирует с  $\alpha$ -аминогруппой кислоты, образуя сильное флуоресцирующее соединение.

По интенсивности окрашивания можно рассчитать концентрацию каждой аминокислоты в гидролизате и число остатков данной аминокислоты в исследуемом белке. В настоящее время такой анализ проводят с помощью автоматических приборов — *аминокислотных анализаторов*. В прибор загружают гидролизат белка, а все остальные операции производятся автоматически. Результат анализа прибор выдает в виде графика, отражающего концентрации отдельных аминокислот, что очень удобно для исследователя.

С помощью методов, перечисленных выше, можно определять число остатков каждой аминокислоты в изучаемом белке (пептиде), но нельзя установить последовательность их чередования в полипептидной цепи, т. е. ее первичную структуру. Первый метод определения последовательности аминокислотных остатков в пептидах и белках был разработан Ф. Сенгером (1945 г.) и основан на определении N-концевых аминокислот. Ф. Сенгер использовал 1-фтор-2,4-динитробензол (ФДНБ), реагирующий с незаряженной  $\alpha$ -аминогруппой с образованием динитрофенильного производного пептида желтого цвета, которое кислотным гидролизом превращается в динитрофенильное производное аминокислоты:



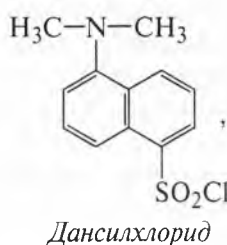


Связь между атомом углерода бензольного кольца и атомом азота концевой аминогруппы стабильна в условиях, используемых для гидролиза пептидных связей. Кроме того, в реакцию с ФДНБ вступают  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>-группа лизина, HS-группа цистеина, OH-группа тирозина и имидазольная группа гистидина.

Важно отметить, что реакции пептидов и белков с ФДНБ и все последующие операции следует проводить в темноте из-за высокой фоточувствительности фтординитропроизводных аминокислот. Кроме того, необходимо учитывать, что динитрофенильные производные аминокислот разрушаются при кислотном гидролизе.

После удаления избытка ФДНБ (экстракция эфиром) динитрофенольные производные аминокислот идентифицируют хроматографическим методом благодаря наличию окраски, обусловленной высоким коэффициентом поглощения при 360 нм (380 нм для пролина).

В настоящее время для идентификации N-концевых аминокислотных остатков используют *дансилхлорид*

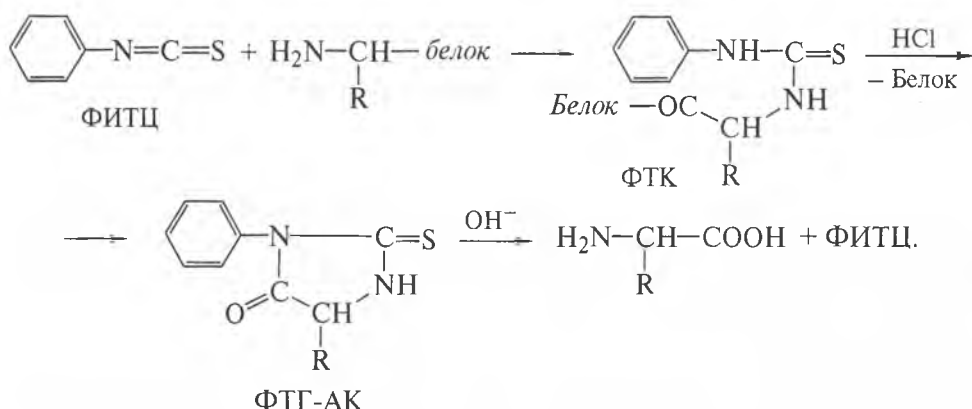


который при взаимодействии с  $\alpha$ -аминогруппой дает стабильное и интенсивно флуоресцирующее N-1-диметиламино-5-сульфонафтильное производное.

Но при всех достоинствах описанных выше методов они имеют существенный недостаток, заключающийся в том, что их нельзя использовать дважды применительно к одному и тому же пептиду, поскольку последний в результате проводимых операций подвергается гидролизу на составляющие его аминокислоты.

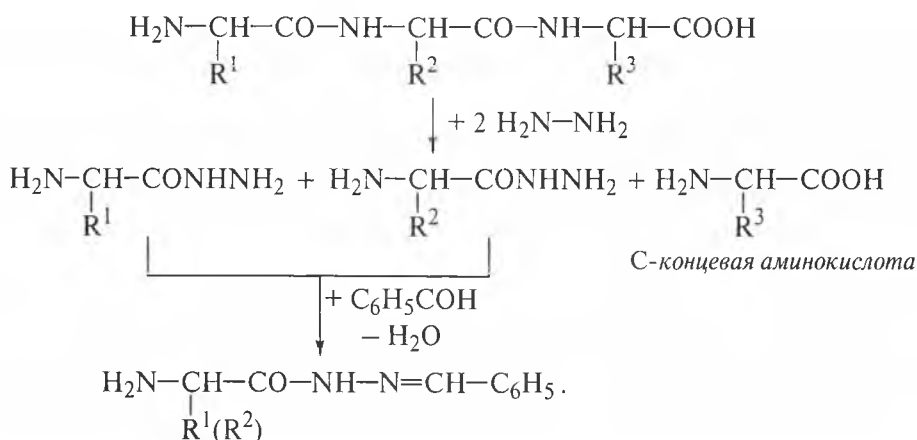
Другой метод определения концевых групп белков, предложенный П. Эдманом (1950 г.), включает избирательное отщепление N-концевых аминокислотных остатков. При реакции белка с *фенилизотиоцианатом* (ФИТЦ) образуется соответствующее фенилтиокарбамильное производное, которое расщепляется под действием HCl до фенилтиогидантоино-

вого производного аминокислоты (ФТГ-АК) и модифицированного белка. Наконец, щелочной гидролиз ФТГ-АК приводит к выделению свободной концевой аминокислоты:



Анализ аминокислотной последовательности пептидов и белков этим методом может выполняться вручную или с помощью специальных автоматических приборов — *секвенаторов*, использование которых в настоящее время значительно упростило процесс аминокислотного анализа. В секвенаторах белок в виде тонкой пленки помещают во вращающийся цилиндрический сосуд, где он подвергается реакции по Эдману. Реактивы и растворители проходят над иммобилизованной белковой пленкой, а высвобождающиеся ФТГ-АК подвергаются жидкостной хроматографии при высоком давлении и таким образом идентифицируются. С помощью секвенатора можно определить аминокислотную последовательность полипептида или белка, содержащего до ста аминокислотных остатков.

Японский химик С. Акабори в 1952 г. предложил метод определения С-концевых остатков аминокислот. По этому методу пептид или белок нагревают при 105 °С в течение 10 ч с безводным *гидразином*. При этом все аминокислоты, кроме С-концевой, превращаются в соответствующие гидразиды, которые отделяют от С-концевой аминокислоты в виде бензилиденовых производных:



Широко применяются методы ферментативного селективного гидролиза белков до более коротких фрагментов по определенным положениям в полипептидной цепи. Для этого используются *протеолитические ферменты*: трипсин, химотрипсин и другие, гидролизующие пептидные связи, образованные строго определенными аминокислотными остатками. Например, *химотрипсин* гидролизует пептидные связи, в образовании которых принимают участие карбоксильные группы ароматических аминокислот — тирозина, фенилаланина и триптофана.

В настоящее время для анализа первичной структуры белков как с С-, так и с N-конца широко применяют масс-спектрометрию.

Следует особо отметить, что установление аминокислотной последовательности белка имеет очень важное практическое значение. Так, например, причину возникновения *серповидно-клеточной анемии* у новорожденных детей удалось установить при анализе аминокислотной последовательности белка гемоглобина, содержащегося в эритроцитах крови больных. Оказалось, что аномальный гемоглобин больных (HbS), в отличие от нормального гемоглобина (HbA) здоровых людей, в 6-м положении полипептидной цепи вместо глутаминовой кислоты содержит валин:

	Номер аминокислотного остатка						
	1	2	3	4	5	6	7
HbA .....	Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu	Val
HbS .....	Val	His	Leu	Thr	Pro	Val	Val

Замена всего одного аминокислотного остатка приводит к очень существенным изменениям физико-химических, а в результате и биохимических свойств гемоглобина. Дети, родившиеся с этой аномалией, в раннем возрасте погибают от серповидно-клеточной анемии. Случаи заболевания серповидно-клеточной анемией широко распространены среди жителей Центральной Африки (подробнее о причинах этого заболевания можно узнать из главы 5).

**Вторичная структура.** *Вторичная структура белка* определяется пространственной конфигурацией полипептидной цепи, формируемой в результате нековалентных взаимодействий между функциональными группами аминокислотных остатков. Вторичная структура представлена регулярными молекулярными образованиями, такими, как  $\alpha$ -спираль и  $\beta$ -складчатый слой. В структуре многих белков наблюдается сочетание  $\alpha$ -спиральных и  $\beta$ -складчатых участков, в этом случае белки имеют неупорядоченное строение.

Формирование вторичной структуры белков происходит за счет оттапливания аминокислотных радикалов и вращения плоскостей пептидных групп относительно подвижных мостиков с одновременным образованием водородных связей, возникающих между СО- и NH-группами полипептидной цепи. Водородные связи играют основную роль в поддержании вторичной структуры полипептидной цепи.

В  $\alpha$ -спирали (рис. 1.4) NH-группа одного аминокислотного остатка образует водородную связь с СО-группой четвертого от него остатка. Первая водородная связь в ней,  $(\text{CO})_1 \cdots (\text{NH})_5$ , фиксирует конформации трех

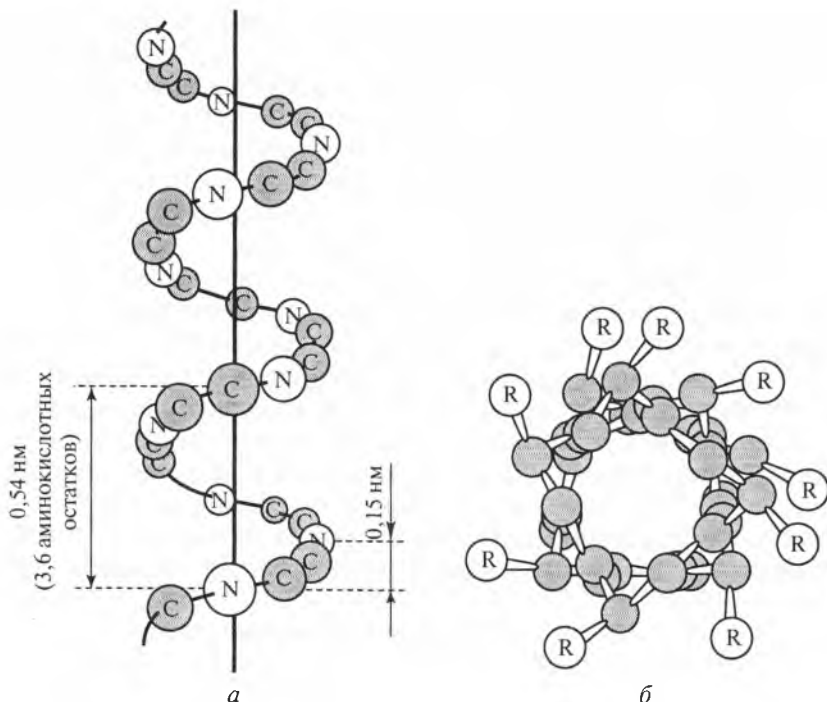


Рис. 1.4. Схематическое изображение  $\alpha$ -спирали белка:

*a* — вид сбоку; *б* — вид с торца

остатков — 2, 3 и 4; следующая водородная связь,  $(\text{CO})_2 \cdots (\text{HN})_6$ , дополнительно фиксирует конформацию только одного, 5-го остатка; связь  $(\text{CO})_3 \cdots (\text{HN})_7$  дополнительно фиксирует остаток 6 и т. д. (рис. 1.5).

В результате полипептидная цепь закручивается в спираль, на каждый виток которой в среднем приходится 3,6 аминокислотного остатка. Водородные связи ориентированы вдоль оси спирали, соединяя и стабилизируя ее витки.

В  $\beta$ -складчатом слое пептидные цепи располагаются параллельно друг другу, образуя фигуру, подобную листу, сложенному гармошкой (рис. 1.6).

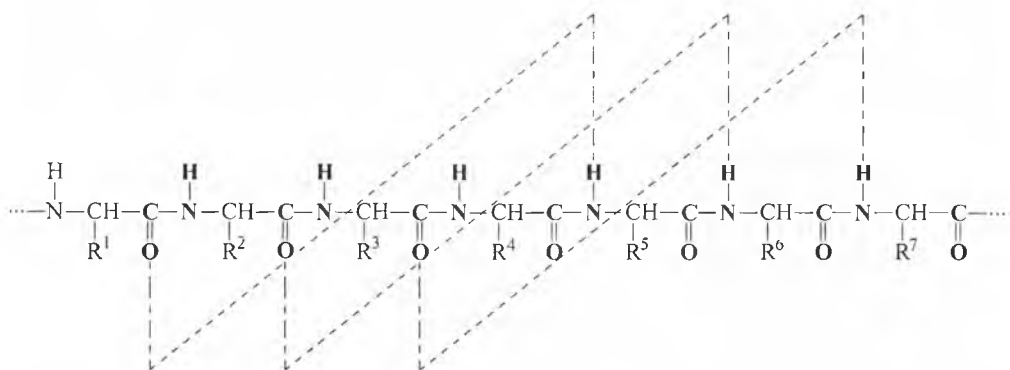


Рис. 1.5. Схема образования водородных связей в  $\alpha$ -спирали белка

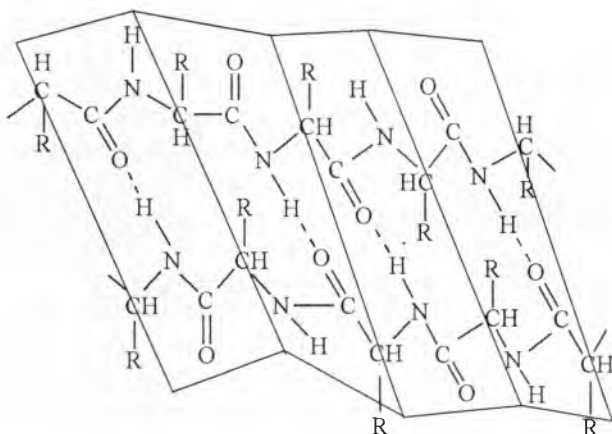


Рис. 1.6. Схематическое изображение  $\beta$ -складчатого слоя белка

Слой может быть образован одной, двумя или большим числом полипептидных цепей. Если смежные цепи в слое ориентированы N-концами в одну сторону, то образуется *параллельная  $\beta$ -структура*; в том случае, когда полипептидная цепь делает поворот назад и идет вдоль самой себя в обратном направлении, в месте поворота образуется  *$\beta$ -изгиб* и при этом формируется *антипараллельная  $\beta$ -структура*. Антипараллельность полипептидных цепей создает наиболее благоприятные условия для возникновения между ними водородных связей, в то время как в параллельной  $\beta$ -структуре водородные связи между цепями менее прочны.

Аминокислоты различаются по способности участвовать в образовании  $\alpha$ -спиралей или  $\beta$ -структур: в составе  $\alpha$ -спиралей редко встречаются пролин, аспарагин, тирозин, глицин, а в составе  $\beta$ -структур — глутаминовая кислота, пролин, аспарагин, гистидин, лизин, серин.

*Неупорядоченная структура* белка характеризуется отсутствием пространственной упорядоченности в расположении ее отдельных фрагментов. В областях с неупорядоченной структурой пептидная цепь может сравнительно легко изгибаться, изменять конформацию, в то время как  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры представляют собой конформационно жесткие образования.

**Сверхвторичная структура.** Наиболее энергетически устойчивыми в физиологических условиях структурами белков являются комбинации их вторичных структур:  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -складчатых слоев. Внутри белковой молекулы  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -складчатые слои взаимодействуют друг с другом, образуя сложные комбинации, общее название которых — *сверхвторичная структура белков*. Простейший пример сверхвторичной структуры — *левая суперспирализованная  $\alpha$ -спираль*, образованная двумя  $\alpha$ -спиралями, скрученными друг относительно друга (рис. 1.7). Поскольку в образовании суперспирализованных структур вносят вклад дополнительные нековалентные взаимодействия между боковыми радикалами аминокислотных остатков, принадлежащих разным  $\alpha$ -спиралям, то формирование суперспиралей энергетически выгодно. Например, в  $\alpha$ -кератине или тропомиозине такие спирали охватывают всю белковую цепь, да и большая





Рис. 1.7. Модель суперспирализованной  $\alpha$ -спирали

часть миозиновой цепи образует фибриллу такого типа. Такие структуры содержатся также в шелке, но не в обычной шелке тутового шелкопряда, а в шелке пчел и муравьев.

Относительное содержание  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур может широко варьироваться в разных белках. По количеству  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур белки можно подразделить на несколько основных групп.

В первую группу входят белки, в которых преобладают  $\alpha$ -спирали ( $\alpha$ -белки). К ним относятся, например, цитохром *c*, миогемэритрин и белок оболочки вируса табачной мозаики (рис. 1.8).

Вторая группа ( $\beta$ -белки) включает белки, главным образом построенные из антипараллельных  $\beta$ -слоев. Наглядными примерами сверхвторичной структуры  $\beta$ -белков могут служить модели ферментов сериновой и кислой протеаз (рис. 1.9).

К третьей группе принадлежат белки, у которых имеются участки, целиком построенные из  $\alpha$ -спиралей, и участки, целиком состоящие из  $\beta$ -слоев, — ( $\alpha + \beta$ )-белки. На рис. 1.10 изображена модель стафилококковой нуклеазы — типичного представителя ( $\alpha + \beta$ )-белка. Примерами белков такого типа являются инсулин, попаин, рибонуклеаза.

Четвертая группа — это  $\alpha/\beta$ -белки, в которых  $\alpha$ -спирали и  $\beta$ -структуры чередуются по ходу цепи (рис. 1.11). При этом большинство  $\beta$ -струк-

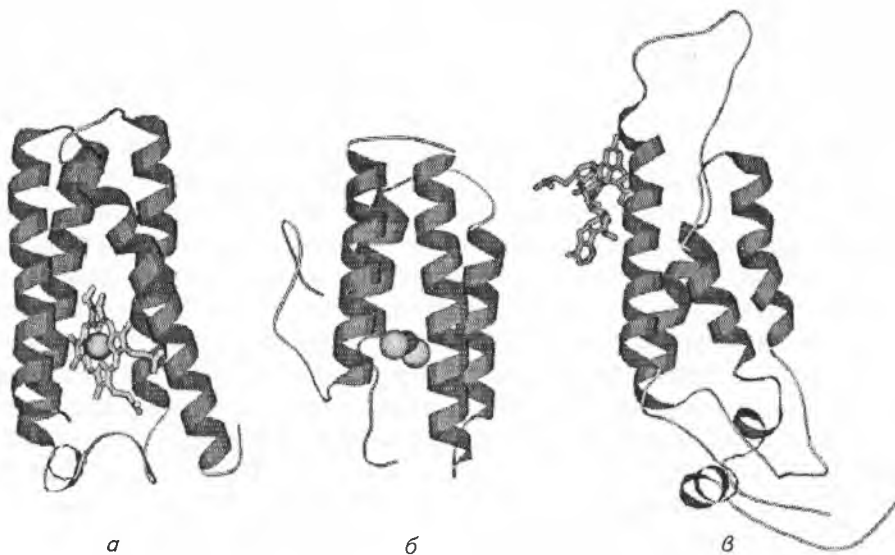
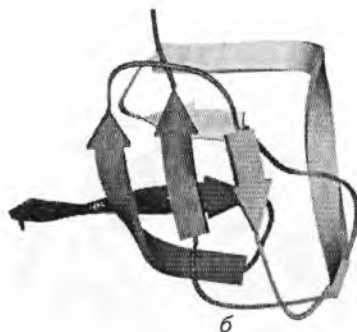
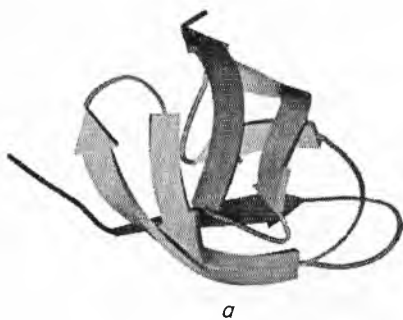
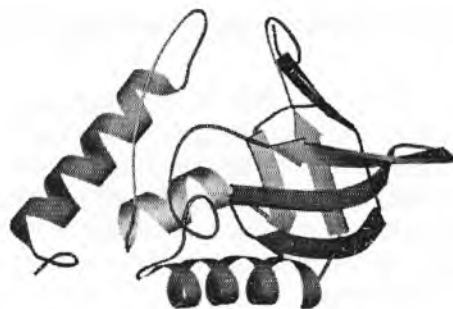


Рис. 1.8. Модели  $\alpha$ -спиральных белков:

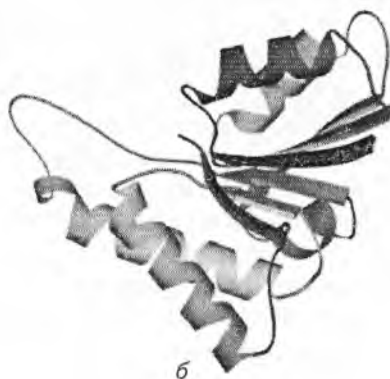
*a* — цитохром *c*; *b* — миогемэритрин; *в* — белок оболочки вируса табачной мозаики



**Рис. 1.9. Модели  $\beta$ -спиральных белков:**  
*a* — сериновая протеаза; *б* — кислая протеаза



**Рис. 1.10. Модель строения  $(\alpha + \beta)$ -белка — стафилококковой нуклеазы**



**Рис. 1.11. Модели строения  $\alpha/\beta$ -белков:**  
*a* — « $\alpha/\beta$ -цилиндр» в триозофосфатизомеразе; *б* — «укладка Россманна» в малат-дегидрогеназе

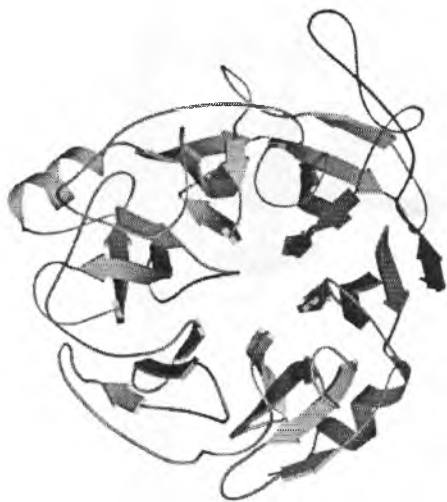


Рис. 1.12. Модель «твист»-структуры белка

тур локализованы в центральной части молекулы, где они изгибаются в виде пропеллера («твист»-структуры), образуя жесткую «основу», с которой связаны остальные участки молекулы (рис. 1.12); примером может служить нейраминидаза. К белкам данной группы также относятся карбоксипептидаза и гексокиназа.

**Доменная структура.** В длинных полипептидных цепях зачастую образуется несколько компактных, относительно независимых областей — *доменов*. Домены представляют собой структурно и функционально обособленные области, соединенные друг с другом короткими участками полипептидной цепи.

Представление о доменной структуре

белков дает рис. 1.13. Формирование отдельных доменов в белках протекает независимо друг от друга, что упрощает процесс укладки макромолекулы в пространстве при формировании третичной структуры.

**Третичная структура глобулярных белков.** По форме пространственной укладки молекулы *нативные* белки, т. е. белки, выполняющие запрограммированные природой биологические функции, делят на *фибриллярные* и *глобулярные*.

Молекулы фибриллярных белков обычно имеют волокнистое строение: они могут образовывать высокомолекулярные нитевидные агрегаты — *фибриллы*, имеющие высокую механическую прочность. Фибриллярные белки нерастворимы в воде, поскольку на поверхности фибриллярного агрегата находится много гидрофобных радикалов. Фибриллярные белки главным образом выполняют опорные функции, обеспечивая тем самым прочность тканей. К ним относятся кератин волос, кожи, ногтей; коллаген сухожилий и костной ткани; миозин мышечной ткани.

Глобулярные белки имеют цилиндрическую или сферическую форму и размеры порядка  $10^{-9}$ — $10^{-7}$  м. Атомная и скелетная модели строения белковой глобулы представлены на рис. 1.14. Глобулярные белки, как правило, относительно хорошо растворимы в воде, так как поверхность глобул в основном образована полярными группами аминокислотных остатков. Растворяясь в воде, глобулярные белки формируют лиофильные коллоидные растворы.

Третичная структура определяется расположением и упаковкой в пространстве глобулярных белков. Часто понятие третичной структуры относят к характерному, строго специфичному для каждого конкретного белка способу сворачивания полипептидной цепи в пространстве.

Третичная структура белковой молекулы формируется самопроизвольно в результате самоорганизации полипептидной цепи в соответствии с информацией, заложенной в ее первичной и вторичной структурах. Если

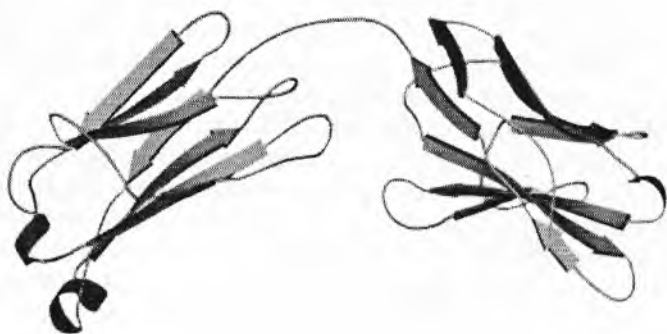


Рис. 1.13. Модель, дающая представление о доменной структуре белков

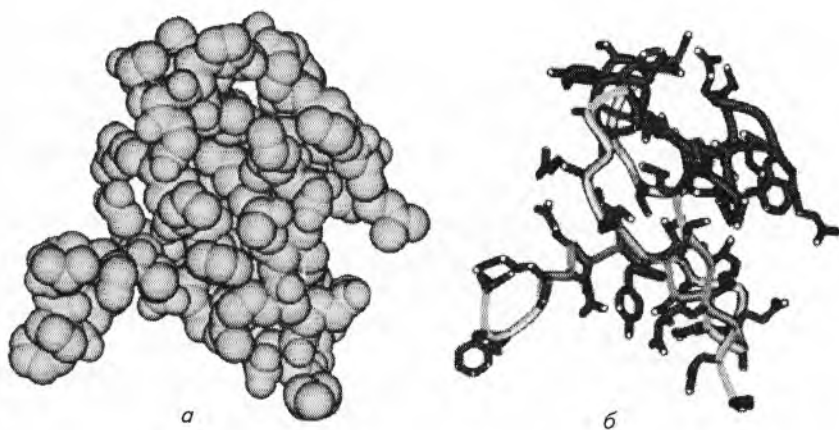


Рис. 1.14. Модель белковой глобулы:  
*a* — атомная; *б* — скелетная

вторичная структура белков возникает в основном благодаря образованию водородных связей, то формирование и фиксация (стабилизация) третичной структуры происходят за счет разнообразных типов взаимодействий (внутримолекулярные специфические и универсальные взаимодействия между боковыми группами аминокислотных остатков) (рис. 1.15).

Особую роль в образовании третичной структуры играют достаточно прочные дисульфидные связи, образующиеся в результате окислительного замыкания сульфгидрильных групп двух остатков цистеина. Аналогичная группа присутствует в аминокислоте цистине.

Важными факторами, влияющими на формирование третичной структуры белка в растворе, являются сольватационные взаимодействия, природа которых определяется составом окружающей среды и физико-химическими свойствами аминокислотных радикалов белка. При образовании водного раствора белка гидрофобные заместители втягиваются внутрь белковой молекулы, образуя там «сухие» зоны, а гидрофильные — ориентируются в сторону водной среды. В результате достигается энергетически выгодная и стабильная для данных условий среды конформация молекулы белка. Представление о третичной структуре молекул некоторых белков дает рис. 1.16.

Белки организмов разных видов, проявляющие одинаковую биологическую функцию (эволюционно родственные), могут иметь схожее пространственное строение (третичные структуры), но при этом существенно отличаться по первичной структуре. Например, к таким белкам относятся миоглобины и гемоглобины, а также трипсин, химотрипсин, эластаза и другие протеолитические ферменты животных. Вероятно, существует еще нерасшифрованный стереохимический код, определяющий способ

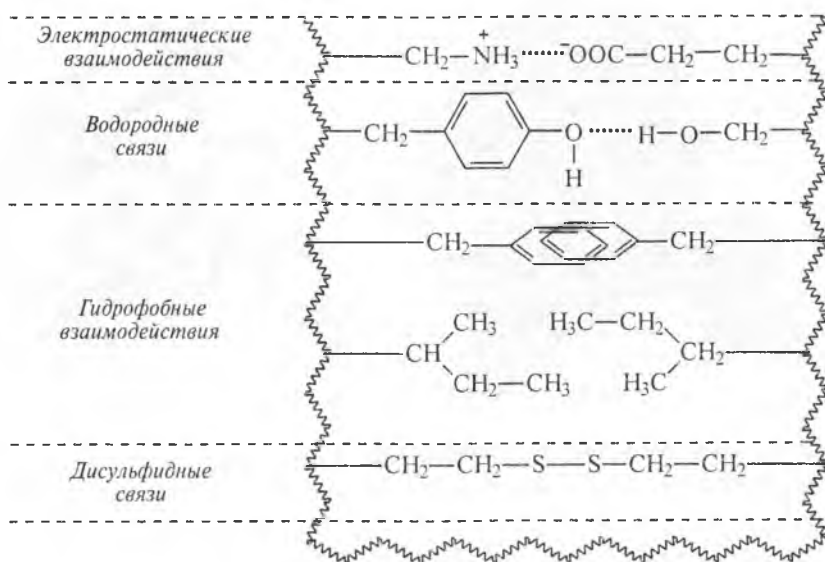
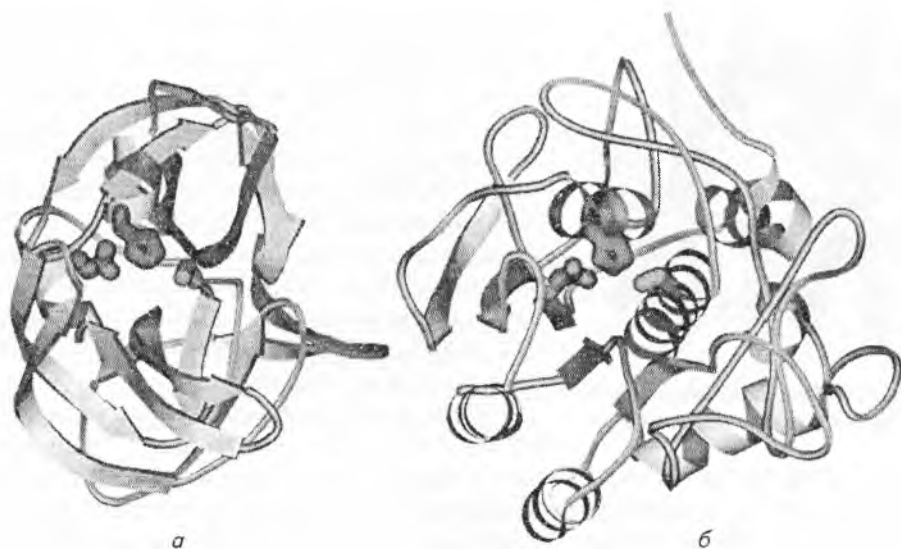


Рис. 1.15. Типы взаимодействий, формирующих и стабилизирующих третичную структуру белков



**Рис. 1.16. Модели третичной структуры:**

*а* — химотрипсина; *б* — субтилизина

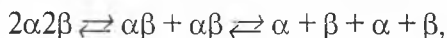
укладки полипептидной цепи в пространстве, который мало зависит от первичной структуры белка.

Благодаря наличию третичной структуры белковая молекула обладает *кооперативными свойствами*, т. е. отвечает на внешнее воздействие как единое целое: взаимодействия с окружающей средой, вызывающие изменения в одной части молекулы, приводят к конформационным изменениям во всех других ее частях, что имеет важнейшее биологическое значение. Так, регуляция активности *ферментов* — важного класса белков, выполняющих функции биологических катализаторов, осуществляется именно благодаря кооперативным свойствам.

**Четвертичная структура.** Многие белки построены из нескольких одинаковых или разных полипептидных цепей, каждая из которых, в свою очередь, имеет третичную структуру. Для таких белков введено понятие *четвертичной структуры*, под которой подразумевают организацию нескольких полипептидных цепей в определенном объеме пространства.

Белок, обладающий четвертичной структурой, называется *олигомером*, а его индивидуальные полипептидные цепи — *протомерами* или *субъединицами*.

Например, основной белок эритроцитов — гемоглобин построен из четырех полипептидных цепей: две  $\alpha$ - и две  $\beta$ -цепи (рис. 1.17). Строение тетрамерного гемоглобина представляют формулой  $2\alpha 2\beta$ . Стабилизация четвертичной структуры гемоглобина осуществляется за счет как электростатических, так и ван-дер-ваальсовых взаимодействий между соответствующими радикалами аминокислотных остатков в протомерах. При определенных физико-химических воздействиях тетрамерный гемоглобин диссоциирует сначала на димеры, а затем и на мономеры (протомеры):



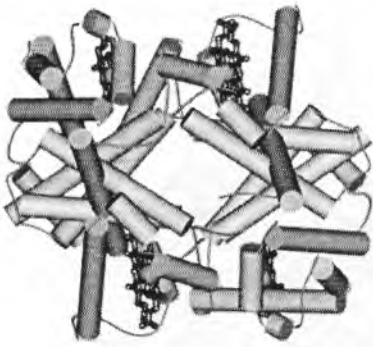


Рис. 1.17. Модель четвертичной структуры гемоглобина человека

причем диссоциация димеров на мономеры требует более жестких условий.

Белки с молекулярной массой более 50 000 почти всегда являются олигомерами. Число протомеров в олигомерных белках чаще всего находится в пределах десяти, но может быть и большим. Наиболее часто встречаются димеры и тетрамеры. Равновесие диссоциации некоторых олигомерных белков в условиях живой клетки таково, что в клетке в сравнимых количествах существуют как олигомер, так и его субъединицы.

Белки, у которых обнаруживается четвертичная структура, могут быть выделены в виде индивидуальных макромолекулярных комплексов, не распадающихся на субъединицы. Контакты между поверхностями субъединиц возможны только за счет полярных групп аминокислотных остатков, поскольку при формировании третичной структуры отдельных субъединиц неполярные боковые радикалы аминокислот оказываются «спрятанными» внутрь глобулы. Между полярными группами субъединиц образуются многочисленные ионные, ион-дипольные, водородные, а в некоторых случаях и дисульфидные связи, которые прочно удерживают несколько белковых молекул в виде организованного комплекса. Нужно отметить, что наряду с другими уровнями организации четвертичная структура белков является специфичной, уникальной характеристикой индивидуального белка и в конечном счете определяет его биологическую активность.

Накопленный к настоящему времени огромный фактический материал по строению и свойствам биополимеров в условиях живой клетки позволяет говорить о еще более высоких уровнях пространственной организации белковых молекул. Так, некоторые белки способны к образованию поли- или мультиферментных комплексов (например, пируватдегидрогеназный комплекс ферментов), протяженных структур (белковые оболочки бактериофагов) и надмолекулярных комплексов, функционирующих как единое целое (например, компоненты дыхательной цепи митохондрий).

**Методы исследования пространственной структуры белков.** В завершение рассмотрения особенностей структурно-пространственной организации белковых молекул следует остановиться на методах ее исследования. В большинстве случаев трехмерную структуру белков изучают с помощью рентгеноструктурного анализа (РСА) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР).

РСА основан на дифракции рентгеновских лучей на хорошо сформированных белковых кристаллах. На основании дифракционных картин рассчитывают распределение электронной плотности в кристалле, а по картам распределения электронной плотности восстанавливают пространственную структуру молекул белка с атомным разрешением. Метод ЯМР позволяет получать ценную информацию о динамике белковых структур в растворах. Он основан на измерении времен релаксации по ширине линий резонанса. К настоящему времени методами РСА и ЯМР

определены пространственные структуры тысяч белков. Широкое распространение в исследовании белков получили также люминесцентные, радиоспектроскопические, гамма-резонансные методы и др.

В глобальной сети Internet созданы целые компьютерные банки белковых структур. Но, к сожалению, подавляющая часть того, что мы знаем о трехмерных белковых структурах, относится пока лишь к водорастворимым глобулярным белкам. Для мембранных же и фибриллярных белков расшифрованы лишь считанные пространственные структуры или отдельные фрагменты. Дело в том, что поскольку водорастворимые белки легче выделять в кристаллическом виде, их структуру легче изучать как методом РСА, так и спектроскопией ЯМР в растворах. Поэтому практически все закономерности формирования пространственной структуры белковых молекул были получены исключительно на глобулярных белках.

## 1.6. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ И ИХ РАСТВОРОВ

Аминокислотный состав и пространственная организация индивидуального белка определяют его физико-химические и биохимические свойства. Белки подвергаются гидратации в водных растворах, осаждаются из них нейтральными солями, претерпевают денатурацию под влиянием различных факторов. Кроме того, белки в растворах обладают кислотно-основными, буферными, хелатирующими, коллоидными, осмотическими и оптическими свойствами.

**Растворимость и гидратация.** Белки — это гидрофильные вещества, и как всякое гидрофильное высокомолекулярное соединение они при растворении в воде сначала набухают, а затем переходят в растворенное состояние. При набухании молекулы воды проникают в белок и связываются с его полярными группами. В результате плотная упаковка полипептидных цепей разрыхляется, и дальнейшее поглощение воды приводит к отрыву молекул белка от общей массы, т. е. к растворению. Но некоторые белки, например коллаген, поглощая большое количество воды, так и остаются в набухом виде, не растворяясь.

Растворение белка всегда связано с его гидратацией, причем гидратная вода настолько прочно связана с макромолекулой белка, что отделить ее удастся с большим трудом. Часть гидратной воды связывается пептидными группами, которые образуют с водой водородные связи. Поэтому, несмотря на то что коллаген в основном содержит аминокислотные остатки с неполярными радикалами, данный белок способен связывать достаточно большое количество воды.

Растворимость различных белков колеблется в широких пределах и определяется их аминокислотным составом (полярные аминокислоты придают белку большую растворимость в полярных растворителях) и особенностями надмолекулярной организации. Глобулярные белки *проламины* растворяются в 60 — 80%-м спирте, *альбумины* — в воде и разбавленных растворах солей, а фибриллярные белки коллаген и кератины нерастворимы в большинстве растворителей. На растворимость белков ока-



зывает влияние присутствие в растворе ионов, которые вследствие взаимодействия с противоположно заряженными или полярными группами белковых молекул инициируют растворение последних. В силу аналогичных причин рН среды также влияет на заряд белка, а следовательно, на его растворимость. Влияние температуры на растворимость белков не является строго закономерным: с повышением температуры одни белки растворяются лучше (пепсин, глобулины и др.), а другие — хуже (гемоглобин).

**Высаливание.** Растворы нейтральных солей широко используются не только для повышения растворимости белка, но и для избирательного осаждения разных белков, т. е. их фракционирования. Процесс осаждения белков нейтральными солями называется *высаливанием*. Характерной особенностью белков, осажденных в процессе высаливания, является то, что после удаления соли они сохраняют свои нативные биологические свойства. Сущность процесса высаливания заключается в том, что ионы забирают на себя гидратную оболочку белка, одновременно нейтрализуя заряд белковой молекулы. Способность к высаливанию наиболее ярко выражена у многозарядных анионов, в частности у сульфатов. На практике для высаливания чаще всего применяют сульфаты натрия и аммония. Помимо солей для осаждения белков могут быть использованы органические водоотнимающие (гидрофильные) растворители — этанол, ацетон, метанол и др. Высаливание достаточно широко применяется для разделения и очистки белков. Для каждого белка существует своя *зона высаливания*, т. е. диапазон концентраций соли, позволяющий дегидратировать и осадить белок. После удаления высаливающего агента белок сохраняет все свои природные свойства и функции.

**Кислотно-основные и буферные свойства.** Белки подобно аминокислотам проявляют кислотные и основные свойства. Однако амфотерность белковых молекул обусловлена главным образом наличием кислотно-основных групп в составе боковых радикалов аминокислот белка, а также концевых  $\alpha$ -амино- и  $\alpha$ -карбоксильной групп. У белка с четвертичной структурой число концевых амино- и карбоксильных групп равно числу протомеров. Однако их количество недостаточно для того, чтобы обеспечить амфотерность макромолекулы белка. Кислотно-основные свойства и заряд белковой молекулы главным образом определяются наличием полярных аминокислотных радикалов, большая часть которых находится на поверхности глобулярных белков. Кислотные свойства белку придают аспарагиновая, глутаминовая и аминимонная кислоты, а основные свойства — лизин, аргинин, гистидин. Слабая диссоциация SH-группы цистеина и фенольной группы тирозина (их можно рассматривать как слабые кислоты) почти не влияет на кислотные свойства белков.

Несмотря на то что водные растворы белков обладают свойствами буфера, при физиологических значениях рН их буферная емкость довольно ограничена. Только растворы белков, содержащих много гистидина, обладают буферными свойствами при значениях рН, близких к физиологическому. Таких белков мало. Гемоглобин — чуть ли не единственный белок, который содержит до 8 % гистидина и является мощным внутриклеточным буфером в эритроцитах, благодаря чему значение рН крови поддерживается на постоянном уровне (см. главу 15). В общем случае кис-

лотно-основное равновесие в растворе белка и соответствующее уравнение Гендерсона — Хассельбаха, которое связывает значение рН с константой кислотности белка  $pK_{(Prot-H)}$ , можно записать следующим образом:

$$Prot-H \rightleftharpoons H^+ + Prot^-;$$

$$pH = pK_{(Prot-H)} + \lg \frac{[Prot^-]}{[Prot-H]}.$$

Белковая буферная система эффективна в области рН от 7,2 до 7,4. Рассчитано, что при рН 7,36 белки плазмы, содержащиеся в 1 л крови, способны связывать 18 ммоль оснований.

Как и для аминокислот, значение рН, при котором белок в неких экспериментальных условиях имеет суммарный нулевой заряд, называется *изоэлектрической точкой*. В этой точке белок не обладает подвижностью в электрическом поле. Чем выше в белке количественное соотношение [кислые аминокислоты] / [основные аминокислоты], тем ниже его изоэлектрическая точка. У кислых белков  $pI < 7$ , у нейтральных  $pI$  около 7, а у основных  $pI \gg 7$ . Значения изоэлектрических точек некоторых белков представлены в табл. 1.4.

Таблица 1.4. Изоэлектрические точки некоторых белков

Белок	pI	Белок	pI
Пепсин	1,0	Фиброин шелка	2,2
β-Казеин	4,5	Миоглобин	7,0
Яичный альбумин	4,6	Химотрипсин	8,6
Сывороточный глобулин	5,5	Инсулин	5,3
Сывороточный альбумин	4,9	Желатин	5,1
Цитохром с	10,6	Гемоглобин	6,8

При значениях рН среды ниже изоэлектрической точки данного белка последний будет нести положительный заряд, а при значениях рН выше  $pI$  — отрицательный заряд. Белки цитоплазмы имеют в среднем  $pI$ , равный 5,5, т. е. при физиологических значениях рН около 7,0—7,4 клеточные белки имеют отрицательный заряд. В условиях живой клетки этот заряд компенсируется неорганическими катионами. Изоэлектрическая точка является важной характеристикой белка, так как в изоэлектрическом состоянии белки наименее устойчивы в растворах и, как правило, выпадают в осадок.

**Хелатирующие свойства.** В отличие от аминокислот пептиды, не содержащие дополнительных электронодонорных групп в боковых радикалах аминокислотных остатков, образуют нестабильные комплексы с ионами металлов. Маловероятно, что в комплексообразовании участвуют только концевые ( $—COOH$  и  $—NH_2$ ) группы пептида, поскольку это приводило бы к образованию стерически затрудненных циклических структур.

Данные рентгеноструктурного анализа показывают, что при комплексообразовании важную роль играют пептидные группы; при этом атом азота иминогруппы не координирует ион металла. Наличие боковых радикалов у аминокислотных остатков, содержащих дополнительные —COOH, —NH<sub>2</sub>, —SH и имидазольную группы, во многом определяет тип координации иона металла полипептидной цепью, при этом пептидные группы играют незначительную роль. Существенным фактором при комплексообразовании является суммарный заряд молекулы белка, так как именно величина этого заряда, а также пространственное распределение точечных зарядов на белковой молекуле определяют стехиометрию образующегося комплекса. Другими важными факторами являются число электронодонорных групп в полипептидной цепи, доступных для координации, а также реакционная способность этих групп по отношению к ионам данного металла.

Хелатирующие свойства белковых молекул играют важную биологическую роль, поскольку во многих случаях каталитическая активность белков-ферментов проявляется только в составе комплексов с ионами того или иного металла.

Не менее важным свойством белков является их способность участвовать в образовании молекулярных комплексов с жирами и другими гидрофобными веществами (например, билирубином), в составе которых осуществляются транспорт и выведение из организма нерастворимых в биологических жидкостях (зачастую токсичных) органических веществ.

**Коллоидные и осмотические свойства растворов белков.** Водные растворы белков являются устойчивыми и равновесными, они не коагулируют и не требуют присутствия стабилизаторов. Белковые растворы гомогенны, и в принципе их можно отнести к истинным растворам. Однако высокая молекулярная масса белков придает их растворам многие свойства коллоидных систем. Так, растворы белков, особенно концентрированные, обладают характерной *опалесценцией*. Способность белков и других биомолекул рассеивать свет используется при микроскопическом изучении органелл клетки: в темном поле микроскопа коллоидные частицы видны как светлые включения в цитоплазме.

Белки имеют ограниченную скорость диффузии в сравнении с обычными молекулами и ионами, которые перемещаются в сотни и тысячи раз быстрее, чем белки. Скорость диффузии белков больше зависит от формы их молекул, чем от молекулярной массы. Глобулярные белки в водных растворах подвижнее фибриллярных. Диффузия белков имеет важное значение для нормального функционирования живой клетки. При отсутствии диффузии синтез белков мог бы привести к их скоплению в месте образования, т. е. в том участке клетки, где имеются рибосомы. Внутриклеточное распределение белков происходит путем диффузии. Поскольку скорость диффузии белков невысока, она ограничивает скорость процессов, зависящих от функции белка, диффундирующего в соответствующий участок клетки.

Клеточные мембраны непроницаемы для белка, поэтому осмотическое давление, создаваемое белком, зависит от концентрации его внутри и вне клетки. Осмотическое давление, которое создается белками, называют *онкотическим давлением*.

Для растворов белков характерна высокая вязкость. Растворы фибриллярных белков всегда более вязкие, чем растворы глобулярных белков. На вязкость растворов белков сильное влияние оказывают изменения температуры и присутствие электролитов. С повышением температуры вязкость растворов белков снижается, а присутствие некоторых солей, в частности солей кальция, приводит к повышению вязкости растворов за счет сцепления молекул белков посредством ионных (кальциевых) мостиков. Иногда вязкость белкового раствора увеличивается настолько, что он теряет текучесть и переходит в гелеобразное состояние. Взаимодействие между макромолекулами белка в растворе может привести к образованию структурных сеток, внутри которых будут находиться «захваченные» молекулы воды. Такие структурированные системы называются *гелями* или *студнями*. Считается, что протоплазма клетки может переходить в гелеобразное состояние. Характерный пример — тело медузы, которое является как бы живым студнем, содержащим до 90 % воды.

Гелеобразование гораздо легче протекает в растворах фибриллярных белков, нежели глобулярных: их палочковидная форма способствует лучшему контакту концов макромолекул. Данное свойство фибриллярных белков хорошо известно и используется в бытовой практике. Так, пищевые студни готовят из продуктов (кости, хрящи, мясо), содержащих в больших количествах фибриллярные белки. Гелеобразование имеет очень важное физиологическое значение для организма. Например, в гелеобразном состоянии находится белковый комплекс актомиозин, выполняющий сократительную функцию в мышечных клетках.

**Денатурация.** Третичная структура белка более чувствительна по сравнению с его вторичной структурой к внешним воздействиям, вызванным присутствием слабых окислителей и некоторых других реагентов, изменением природы растворителя, ионной силы и pH среды, температуры, а также к воздействию облучения. Разрушение нативной структуры белка под действием внешних факторов называется *денатурацией* (рис. 1.18). Денатурацию белков можно вызвать нагреванием до 60 — 80 °С или действием агентов, разрушающих нековалентные связи в нативной структуре белка. Денатурация происходит на поверхности раздела фаз, в щелочных или кислых средах (например, денатурация белка пищи в желудке под действием соляной кислоты), при действии ряда органических соединений — спиртов, фенолов и др. Часто для денатурирования белков исполь-

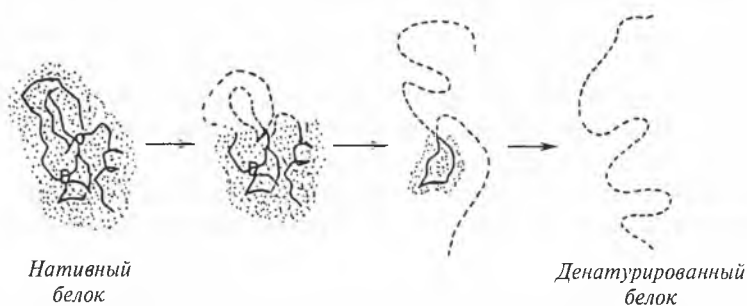


Рис. 1.18. Схематическое изображение процесса денатурации белка

зуют *мочевину* или *гуанидинхлорид*. Эти вещества образуют водородные связи с амино- или карбонильными группами пептидного остова и с некоторыми группами радикалов аминокислотных остатков, подменяющие собственные внутримолекулярные связи в белке, вследствие чего вторичная и третичная структуры разрушаются.

При денатурации утрачивается биологическая активность белков, на этом свойстве основано применение водного раствора фенола (карболовой кислоты) в качестве антисептика. При денатурации первичная структура белка сохраняется, поэтому денатурация может иметь обратимый характер. Процесс, обратный денатурации, называется *ренативацией*. Процесс ренативации протекает самопроизвольно, и это является подтверждением того, что организация полипептидной цепи белка в пространстве определяется его первичной структурой.

В процессе выделения белка из биологического материала во избежание его денатурации и нарушения нативной конформации все операции проводят в мягких условиях — при температуре не выше 5 °С, избегая резких воздействий химических реагентов\*.

Денатурация белков возможна не только в модельных условиях, но и в условиях живой клетки. Поскольку из-за высокой концентрации белков во внутриклеточном пространстве осуществляется ассоциация, а затем агрегация денатурированных белковых молекул, то возможность самопроизвольной ренативации белков *in vitro* затруднена. Для восстановления нативной конформации частично денатурированных молекул в живых организмах существуют специфические белки — *шапероны*, обнаруженные как белки, активно синтезирующиеся в условиях теплового шока организма. Классификация шаперонов основана на различиях в молекулярной массе их субъединиц. Высокомолекулярные шапероны имеют массу от 60 до 100. Из них наиболее исследованы три семейства родственных белков: Ш-60, Ш-70 и Ш-90. Кратко остановимся на особенностях их функционирования.

Семейство шаперонов-60 представляет собой олигомерные белки, содержащие 14 субъединиц, каждая из которых состоит из трех доменов, выполняющих определенную функцию. Верхний (апикальный) домен имеет гидрофобную поверхность, обращенную в пространство между субъединицами. Средний домен соединяет верхний домен с нижним, обладающим АТФазной активностью, т. е. способен гидролизовать АТФ до АДФ и фосфата. Гидролиз АТФ необходим в данном случае для высвобождения белка из шаперонинового комплекса. Механизм действия Ш-60 заключается в следующем. Белок-субстрат, имеющий гидрофобную поверхность, взаимодействует с полостью шаперона, в которой происходит конформационная перестройка субстрата до стабильного состояния (ренативация), на которую расходуется энергия АТФ.

Шапероны-70 (места локализации: цитоплазма, ядро, эндоплазматический ретикулум, митохондрии и др.) способны защищать белки от тем-

---

\* Тем не менее явление денатурации широко используется в пищевой промышленности (производство яичного порошка, консервов и др.), кулинарии, медицине (при отравлениях тяжелыми металлами).

пературной денатурации и восстанавливать пространственную структуру и активность частично денатурированных белков. Механизм действия семейства Ш-70 основан на их взаимодействии с пептидами длиной 7—9 аминокислотных остатков, содержащими боковые радикалы гидрофобной природы. Такие участки в глобулярных белках, как правило, встречаются через каждые 16 аминокислотных остатков.

**Оптические свойства.** Белки способны поглощать УФ-свет в трех диапазонах длин волн. Поглощение в диапазоне 250—280 нм обусловлено присутствием в белке исключительно ароматических аминокислот: триптофана, тирозина и фенилаланина. Основной вклад в поглощение в данном диапазоне длин волн дают триптофан ( $\lambda_{\max} = 278$  нм) и тирозин ( $\lambda_{\max} = 275$  нм). Поглощение в диапазоне 210—250 нм имеет более сложную природу и определяется наличием ароматических и других аминокислот, а также внутри- и межмолекулярными водородными связями в белковых молекулах. Поглощение в области  $\lambda_{\max} = 190$  нм обусловлено наличием пептидных связей.

На способности белка поглощать УФ-свет основан важный метод спектрофотометрического определения белков в растворах. Этот метод довольно быстр и удобен в исполнении, но не совсем точен, поскольку количество триптофана и тирозина в различных белках варьируется в широких пределах.

## 1.7. МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БЕЛКОВ

Исследование физико-химических и биохимических свойств белков неразрывно связано с особенностями их выделения из биологического материала и последующей очистки. В биохимической лабораторной практике, как правило, используют перечисленные ниже приемы по выделению белков.

1. Измельчение биологического материала — *гомогенизация*. В качестве первичного материала для гомогенизации используют органы и ткани животных, микроорганизмы, растения. Измельчение исследуемого материала проводят до перевода последнего в гомогенное состояние, вплоть до разрушения клеточной структуры. Данную процедуру проводят с помощью гомогенизаторов и мельниц различных типов. Кроме того, используется метод периодического замораживания и оттаивания, ультразвуковые методы и др.

2. Извлечение белков из биологического материала в раствор — *экстракция*. Для экстракции белков применяют различные буферные смеси, органические растворители, а также растворы поверхностно-активных веществ (ПАВ).

3. Выделение индивидуальных белков из смесей. Как правило, первичной процедурой выделения белка является его осаждение с помощью высаливания с использованием солей аммония и щелочных металлов высоких концентраций. Далее применяют целый ряд методов концентрирования и тонкой очистки белков, из которых наиболее эффективными являются хроматографические методы. На стадии концентрирования белка приме-

няют адсорбционную, распределительную, ионообменную и фронтальную обменную хроматографию. На стадии очистки используют методы молекулярно-ситовой, аффинной, иммуноадсорбционной, фронтально-вытеснительной, высокоэффективной жидкостной хроматографии. Наряду с хроматографическими методами широкое распространение получили также методы гель-фильтрации.

## 1.8. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ БЕЛКОВ

Для определения молекулярной массы белков применяются различные химические и физико-химические методы.

В соответствии с традиционным приемом молекулярная масса может быть легко рассчитана по известному содержанию какого-либо элемента в соединении [в %(мас.)]. Минимальная молекулярная масса ( $M_{\min}$ ), рассчитанная из предположения, что молекула содержит только один атом данного элемента, определяется по соотношению

$$M_{\min} = \frac{A(\Theta)}{\omega(\Theta)} \cdot 100,$$

где  $A(\Theta)$  — атомная масса определяемого элемента;  $\omega(\Theta)$  — содержание определяемого элемента в образце, %(мас.).

Истинная молекулярная масса ( $M_{\text{ист}}$ ) может быть рассчитана по формуле

$$M_{\text{ист}} = nM_{\min},$$

где  $n$  — число атомов элемента в соединении, молекулярная масса которого определяется.

Например, аминокислота лизин содержит 19,17 %(мас.) азота. Его минимальная масса будет равна

$$M_{\min} = \frac{14}{19,17} \cdot 100 = 73.$$

Лизин содержит два атома азота, поэтому его истинная молекулярная масса

$$M_{\text{ист}} = 2 \cdot 73 = 146.$$

Для нахождения молекулярной массы белка предпочтительным является определение содержания аминокислотных остатков, находящихся в белке в небольшом количестве (тирозин, гистидин, аланин). Например, при аминокислотном анализе белка, образованного одной полипептидной цепью, было установлено, что содержание лизина в нем составляет 24, а аргинина — 45 моль остатков на 100 000 г белка. После гидролиза белка

трипсином и последующего электрофореза обнаружено 36 индивидуальных пептидов. Так как пептидная цепь гидролизуеться трипсином только по остаткам лизина и аргинина, то число таких остатков в молекуле равно  $36 - 1 = 35$ . Однако на 100 000 г белка приходится  $24 + 45 = 69$  моль остатков лизина и аргинина. Следовательно, минимальная молекулярная масса белка составит

$$M_{\min} = \frac{35}{96} \cdot 100\,000 = 50\,725.$$

Физико-химические методы определения молекулярных масс белков основаны на молекулярно-кинетической теории и могут быть разделены на две группы:

1) методы, основанные на коллигативных свойствах растворов белков, т. е. регистрирующие число молекул в единице объема; они позволяют определять так называемую среднечисловую молекулярную массу ( $M_n$ ):

$$M_n = \frac{\sum_i n_i M_i}{\sum_i n_i} = \frac{\sum_i c_i}{\sum_i n_i},$$

где  $n_i$  — число молекул с молекулярной массой  $M_i$ ;  $c_i = n_i M_i$  — концентрация вещества в единице объема раствора;

2) методы, регистрирующие массу молекул (светорассеяние, седиментация) и в результате позволяющие определить среднемассовую молекулярную массу ( $M_w$ ):

$$M_w = \frac{\sum_i n_i M_i^2}{\sum_i n_i M_i} = \frac{\sum_i c_i M_i}{\sum_i c_i}.$$

Величины  $M_n$  и  $M_w$  дают информацию о дисперсности вещества с высокой молекулярной массой. Если вещество состоит из молекулярных структур одинакового размера (монодисперсное), то в этом случае  $M_n = M_w$ . Если же оно состоит из молекулярных структур различных размеров (полидисперсное), то  $M_w$  будет больше, чем  $M_n$ . Отношение этих значений является ориентировочным показателем степени полидисперсности вещества, например белка.

Для определения молекулярных масс белков используется только одно коллигативное свойство их растворов — *осмотическое давление*. При определении осмотического давления можно путем подбора подходящих условий избежать эффекта влияния примесей небольших молекул и ионов, ассоциированных с белком, и получить достоверные результаты в тех случаях, когда изменение температуры замерзания раствора нельзя зафиксировать с помощью даже самых чувствительных приборов (из-за низкой концентрации растворов), а определение температуры кипения невозможно из-за деструкции биологических молекул.



Для очень разбавленных растворов давление, которое необходимо оказать на раствор, чтобы предотвратить переход молекул растворителя через мембрану (непроницаемую для молекул растворенного вещества), называется *осмотическим* и определяется по формуле

$$\pi = cRT/M,$$

где  $\pi$  — осмотическое давление, см  $\text{H}_2\text{O}$ ;  $T$  — абсолютная температура;  $c$  — концентрация, г/л;  $M$  — молярная масса растворенного вещества, г/моль;  $R$  — универсальная газовая постоянная, л · см  $\text{H}_2\text{O}$ /(моль · К).

Молярную массу белка можно определить из этого соотношения, измерив при данной температуре осмотическое давление раствора с известной концентрацией белка:

$$M = cRT/\pi.$$

Это соотношение справедливо только для разбавленных растворов белков.

Так как  $\pi/c = RT/M$ , то величина  $\pi/c$  (приведенное осмотическое давление) должна быть постоянной при всех концентрациях в случае идеального раствора. На опыте определяют величину  $\pi/c$  для ряда концентраций, а затем строят график зависимости  $\pi/c = f(c)$ , который в большинстве случаев имеет линейный характер, что позволяет провести экстраполяцию на нулевую концентрацию, т. е. к бесконечному разбавлению. Полученную величину отрезка  $\pi/c$  используют для расчета  $M$ .

В зависимости от природы растворителя наклон графика увеличивается с ростом сольватированности молекул растворенного вещества растворителем, т. е. является количественной мерой энергии взаимодействия растворенное вещество — растворитель, которая может быть выражена как второй вириальный коэффициент  $A$  в следующем уравнении:

$$\pi/c = RT[(1/M) + Ac + Bc^2 + \dots],$$

а для разбавленных растворов в приближенном виде

$$\pi/c = RT[(1/M) + Ac].$$

Коэффициент  $A$  называют константой взаимодействия, характеризующей меру отклонения исследуемого раствора от идеального.

Например, для 0,2 М фосфатных буферных растворов гемоглобина лошади при 3 °С было измерено осмотическое давление и получены следующие результаты:

$c$ , г/л .....	11,1	12,4	16,5	25,4	29,8	35,2	39,0	48,9	60,6	80,1
$\pi$ , см $\text{H}_2\text{O}$ .....	3,9	4,7	5,7	8,9	11,2	13,4	14,6	19,6	23,9	34,2
$\pi/c$ , л · см $\text{H}_2\text{O}$ /г .....	0,351	0,379	0,346	0,35	0,376	0,38	0,374	0,40	0,379	0,427

Построим зависимость  $\pi/c$  от  $c$  (рис. 1.19). Экстраполируя прямую, построенную по экспериментальным точкам, до нулевой концентрации,

определим величину отрезка  $\pi/c = 0,351$  и рассчитаем молярную массу гемоглобина лошади:

$$M = \frac{84,71 \cdot 276}{0,351} = 66\,000 \text{ (г/моль)}$$

[для приведенных в условии единиц  $R = 84,71 \text{ л} \cdot \text{см H}_2\text{O}/(\text{моль} \cdot \text{К})$ ].

Остановимся на определении молекулярных масс белков по данным *седиментационного анализа*. Если раствор макромолекул находится под действием очень сильного центробежного поля — при ультрацентрифугировании ускорение достигает  $(100\,000 \dots 500\,000)g$ , то вследствие большой массы происходит седиментация молекул, т. е. их концентрация увеличивается от центра центрифуги к периферии. Одновременно с седиментацией происходит противоположный по тенденции процесс — диффузия макромолекул из области с большей концентрацией (на периферии) в центральную область с меньшей концентрацией.

Скорость седиментации характеризуют коэффициентом седиментации  $s$ , т. е. скоростью молекулы, отнесенной к центробежной силе ( $s$  имеет размерность времени). По данным измерения скорости седиментации и диффузии молекулярную массу находят по *уравнению Сведберга*:

$$M = \frac{RTs}{D(1 - \bar{V}\rho)},$$

где  $R$  — универсальная газовая постоянная;  $T$  — абсолютная температура;  $s$  — коэффициент седиментации (для большинства белков  $s$  находится в пределах  $1\text{—}20 \text{ с}$ );  $D$  — коэффициент диффузии,  $\text{см}^2/\text{с}$ ;  $\bar{V}$  — удельный парциальный объем растворенного вещества (для большинства белков его величина близка к  $0,74 \text{ см}^3/\text{г}$ );  $\rho$  — плотность растворителя,  $\text{г}/\text{см}^3$ .

Например, при исследовании седиментации дифтерийного белкового токсина были получены следующие данные при  $20^\circ\text{C}$ :  $s = 4,6 \cdot 10^{-13} \text{ с}$ ,  $D = 5,96 \cdot 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$ . Плотность воды при  $20^\circ\text{C}$  равна  $0,998 \text{ г}/\text{см}^3$ . Зная удельный парциальный объем дифтерийного токсина  $V_{\text{уд}} = 0,736 \text{ см}^3/\text{г}$ , рассчитаем значение его молярной массы:

$$M = \frac{8,314 \cdot 10^7 \cdot 293 \cdot 4,6 \cdot 10^{13}}{5,96 \cdot 10^7 (1 - 0,736 \cdot 0,998)} = 70\,850 \text{ (г/моль)}$$

[здесь  $R = 8,314 \cdot 10^7 \text{ эрг}/(\text{моль} \cdot \text{К})$ ].

## 1.9. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ БЕЛКОВ

Белки выполняют чрезвычайно разнообразные и, пожалуй, самые важные функции в живых организмах. Предполагается, что в природе существует несколько миллиардов индивидуальных белков (например, толь-

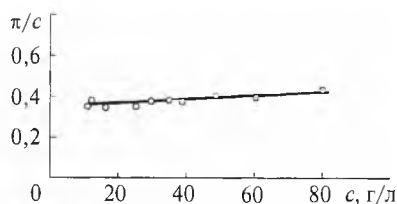


Рис. 1.19. График зависимости  $\pi/c$  от  $c$

ко в бактерии *E. coli* насчитывается более 3 тыс. различных белков). Если учесть тот факт, что в организме человека содержится несколько десятков тысяч разнообразных белков и что каждый белок имеет индивидуальную пространственную структуру и выполняет специфические функции, можно сказать, что *живой организм — это уникальное природное образование, сочетающее в себе такое многообразие химических форм, какого не сумела достичь неживая природа за время с начала своего существования.* В биологии сформулирован очень важный постулат: «*организмы делаются белками*».

Белки в живых организмах выполняют разнообразные функции, главные из которых перечислены ниже.

**Каталитическая функция.** В биологических системах почти все химические реакции катализируются специфическими макромолекулами, называемыми ферментами. Практически все изученные к настоящему времени ферменты (за исключением *рибозимов* — молекул РНК, катализирующих собственные химические превращения) по своей химической природе являются белками, вследствие этого именно белки определяют ход химических превращений в биологических системах.

**Транспортная функция.** Транспорт многих низкомолекулярных веществ (гормонов, аминокислот, углеводов, газов и др.) и ионов во внутренних средах живых организмов осуществляется специфическими белками — такими, как гемоглобин, сывороточный альбумин, трансферрин и др.

**Регуляторная функция.** Регуляция биологических процессов в живых системах осуществляется белковыми гормонами, белковыми ингибиторами, активаторами ферментов и др. Например, белковый гормон инсулин, продуцируемый клетками поджелудочной железы, регулирует метаболизм глюкозы.

**Структурная функция.** Высокая упругость кожи, хрящей и сухожилий обусловлена наличием в них фибриллярного белка коллагена, а аналогичные свойства связкам придает эластин. Химический состав волос, ногтей (когтей) и перьев определяется в основном кератином. Шелковые нити и паутина построены из белка фиброина.

**Защитная функция.** *Антитела (иммуноглобулины)* — это высокоспецифичные белки, которые способны узнавать и связывать такие чужеродные организму объекты, как вирусы, бактерии и клетки других организмов. Кроме того, к защитным белкам можно отнести фибриноген и тромбин — они участвуют в свертывании крови, предохраняя тем самым организм от кровопотери.

**Сократительная функция.** Этот тип белков на молекулярном уровне обеспечивает движение хромосом и сперматозоидов, на других уровнях — движение простейших организмов, двигательные реакции у растений и т. д. Сокращение мышц обеспечивается скольжением двух типов белковых нитей относительно друг друга (мышечные белки актин и миозин).

**Энергетическая функция.** В тех случаях, когда в организме наступает истощение энергетических ресурсов (углеводов и липидов), аминокислоты, образующиеся в результате гидролиза белков, могут служить источниками энергии. Для развивающегося организма или зародыша многие белки выполняют функцию «резервных» питательных веществ (казеин молока, овальбумин яиц, запасные белки семян растений).

Кроме того, обладая буферными свойствами, белки поддерживают постоянное значение pH внутренней среды организмов и тем самым во многом определяют феноменальную способность живых систем к сохранению постоянства значений некоторых параметров их внутренней среды (*гомеостаз*).

Известны также белки-*токсины*. Они продуцируются паразитами животных и растений. К ним относятся также змеиные яды и токсичные белки растений (рицин и др.), представляющие угрозу для жизни человека и животных.

## 1.10. ХАРАКТЕРИСТИКА ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ

Белки принято делить на две группы — *простые* (состоят только из аминокислот) и *сложные* (помимо белковой части содержат компонент небелковой природы). Следует отметить, что данная классификация весьма условна и несовершенна. Так, многие белки, ранее отнесенные к группе простых (например, глобулины крови), по результатам исследования их молекул оказались двухкомпонентными.

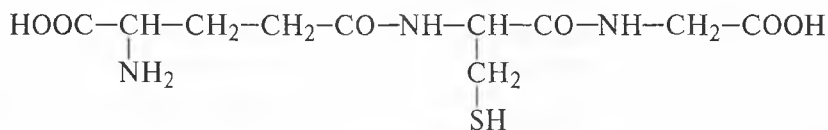
В природе в свободном виде существуют также пептиды, особенности химического строения и функций которых рассматриваются далее.

### 1.10.1. ПРИРОДНЫЕ ПЕПТИДЫ

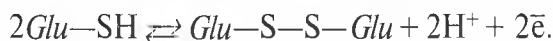
В живых организмах обнаружено несколько сотен различных свободных пептидов, выполняющих важные жизненные функции. К ним относятся некоторые гормоны, токсины, антибиотики, нейромедиаторы, а также ряд других биологически активных веществ.

Рассмотрим особенности химического строения и биологических функций некоторых отдельных представителей природных пептидов.

**Глутатион** (*Glu—Cys—Gly*, *Glu—SH*):



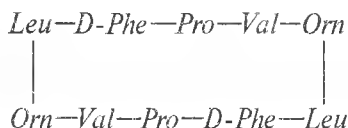
Глутатион обнаружен в клетках животных и человека (особенно много глутатиона содержится в мозге, хрусталике глаза), бактериях, дрожжах, грибах, растениях; он принимает участие в окислительно-восстановительных процессах и является одним из самых основных антиоксидантов в организме:



Поэтому основная функция глутатиона в клетках заключается в защите сульфидрильных групп белков от окисления. Кроме того, глутатион выполняет роль кофермента в ряде ферментативных процессов, на-

пример разложения пероксида водорода, который образуется в процессе метаболизма лекарственных препаратов и других соединений. Глутатион участвует в детоксикации ряда чужеродных для живой клетки соединений (галогенпроизводные алифатических или ароматических углеводов), переводя их в водорастворимую форму, выводимую почками из организма.

**Грамицидин S** — антибиотик, активно синтезируемый бактериями *Bac. brevis*, является циклическим декапептидом, в составе которого кроме протеиногенных аминокислот присутствует орнитин (*Orn*):



Пептидные антибиотики типа грамицидинов являются эффективными ионофорами: образуя комплексы с ионами металлов, они нарушают механизмы регуляции ионной проницаемости в мембранах бактерий.

**Аманитины** — токсические октапептиды ядовитых грибов рода *Amanita*. Типичным представителем аманитинов является  $\alpha$ -аманитин. Он блокирует синтез белка в клетке эукариот на стадии транскрипции. Интересно отметить, что замена в молекуле  $\alpha$ -аманитина аминокислоты диоксиизолейцина на лейцин приводит к образованию нетоксичного соединения.

**Каллидин и брадикинин** относятся к пептидам плазмы крови. Они повышают проницаемость капилляров, обладают мощным сосудорасширяющим действием, являются сильнейшими возбудителями болевых ощущений. Оба пептида образуются из общего предшественника *кининогена* в результате протеолитического расщепления. Брадикинин — линейный нонапептид, имеющий следующую аминокислотную последовательность: *Arg—Pro—Pro—Gly—Phe—Ser—Pro—Phe—Arg*. Каллидин отличается от него наличием еще одного аминокислотного остатка (*Lys*) на N-конце макромолекулы. Эти пептиды легко инактивируются в результате отщепления C-концевого аргинина при участии фермента карбоксипептидазы.

**Фолиевая кислота** — основной представитель обширной группы родственных соединений, обладающих витаминной активностью (витамин  $B_9$ ), также может быть отнесена к пептидам. В составе фолиевой кислоты содержится от 1 до 7 остатков глутаминовой кислоты в форме  $\gamma$ -глутамилпептида. Подробнее о биофункциях фолиевой кислоты и ее производных см. в главе 3.

**Нейромедиаторы и гормоны** относятся к группе природных пептидов, обладающих высокой нейрогормональной активностью. Их химическое строение и биологические эффекты рассматриваются в главе 9, а также в главе 16. Это *либерины*, *статины* — гормоны, играющие ключевую роль в системе гормональной регуляции; гормон роста *соматотропин*; *вазопрессин* — антидиуретический гормон, при его недостатке развивается несахарный диабет; *эндорфины*, влияющие на функции нейронов; *инсулин*, *глюкагон* и ряд других.

В настоящее время природные пептиды привлекают большое внимание исследователей: активно ведутся работы по их выделению, выясне-

нию структуры и жизненных функций, поиску путей эффективного химического синтеза с целью применения в практической медицине в качестве лекарственных препаратов, в том числе антибиотиков и нейрорегуляторов.

### 1.10.2. ПРОСТЫЕ БЕЛКИ

К *простым белкам* относятся белки, структура которых представлена только полипептидной цепью, т. е. при их гидролизе образуются только аминокислоты.

Простые белки называют *апопротеинами*. К апопротеинам относят такие белки, как *гистоны*, *протамины*, *альбумины*, *глобулины*, *проламины*, *глутелины* и *склеропотеины*. Рассмотрим особенности строения и биологических функций этих групп белков.

**Гистоны** (от греч. *histos* — ткань) — это тканевые белки многоклеточных организмов, связанные с ДНК хроматина. Эти белки имеют небольшую молекулярную массу (11 000 — 24 000) и сильно выраженные основные свойства (их изоэлектрическая точка находится в пределах от 9,5 до 12,0). Пространственная организация гистонов ограничивается только третичной структурой.

Выделяют пять типов (или фракций) гистонов, которые обозначаются следующими символами:  $H_1$ ,  $H_{2a}$ ,  $H_{2b}$ ,  $H_3$ ,  $H_4$ . Такое деление основано на некоторых признаках, из которых главным является количественное соотношение [лизин]/[аргинин] во фракциях гистонов. У гистона  $H_1$  это соотношение равно 19 (очень богат лизином), а у гистона  $H_4$  оно составляет порядка 0,7 (богат аргинином и глицином). Выделен дополнительный тип гистонов — гистон  $H_5$  (рис. 1.20), содержащийся в ядерных эритроцитах птиц, амфибий и рыб. Существуют и другие представители данного типа белков, но их доля невелика.

В естественных условиях гистоны прочно связаны с ДНК и выделяются из биологических объектов в составе сложных белков — *нуклеопротеинов* (см. ниже). Взаимодействие между молекулами гистона и ДНК имеет электростатическую природу, так как гистоны обладают большим положительным зарядом, а цепь ДНК — отрицательным. Гистоноподобные белки встречаются в составе рибосом цитоплазмы клеток.

Основными функциями гистонов являются *структурная* и *регуляторная*. Гистоны стабилизируют пространственную структуру ДНК, а следовательно, хроматина и хромосом. Четыре фракции гистонов, за исключением  $H_1$ , составляют основу *нуклеосом*, являющихся структурными единицами хроматина; фракция  $H_1$  заполняет фрагменты ДНК между нуклеосомами. Регуляторная функция гистонов основана на их способности блокировать передачу генетической информации от ДНК к РНК в процессе транскрипции.



Рис. 1.20. Модель структуры гистона  $H_5$  цыпленка

**Протамины** — своеобразные биологические заменители гистонов, которые отличаются от последних аминокислотным составом и пространственной организацией. Это белки, обладающие малой молекулярной массой (от 4 000 до 12 000) и имеющие сильно выраженные основные свойства из-за большого содержания аргинина (до 80 %). Протамины, как и гистоны, связываются с ДНК в хроматине спермиев. Наиболее типично присутствие протаминов в составе *нуклеопротамин* в сперматозоидах рыб (в молоках). Некоторые протамины получили свое название по источнику их получения, например: *сальмин* — из молоки лосося (от англ. *salmon* — лосось); *клупеин* — из икры сельди (от лат. *clupea harengus*); *труктин* — из молоки форели (от лат. *trout* — форель); *скупбрин* — из молоки скумбрии (от англ. *scomber* — скумбрия). Протамины выполняют структурную функцию, делая компактной молекулу ДНК сперматозоидов, и, по-видимому, не выполняют регуляторных функций, так как присутствуют в клетках, не способных к делению.

**Альбумины и глобулины** — групповое название белков, высаливающихся из растворов при разном насыщении солями  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  или  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . При 50%-м насыщении раствора солью в осадок выпадают глобулины, а при полном насыщении — альбумины. Альбумины и глобулины содержатся в клетках, плазме крови и других биологических жидкостях. Каждая из этих групп белков настолько разнородна, что среди них имеются белки с самыми разнообразными функциями.

**Альбумины** — белки, имеющие относительно небольшую молекулярную массу (15 000—70 000), отрицательный заряд в физиологических условиях и кислые свойства ( $\text{pI} = 4,7$ ) из-за относительно большого содержания остатков глутаминовой кислоты. Альбумин крови животных и человека состоит из одной полипептидной цепи, включающей 575 аминокислотных остатков с повышенным содержанием аспарагиновой и глутаминовой кислот; молекулярная масса белка составляет 69 000. Альбумин также содержится и в растительных клетках. Например, в сое различают два типа альбуминов с коэффициентами седиментации 2s и 7s соответственно. В отличие от альбуминов животных организмов растительные альбумины содержат значительное количество метионина и триптофана.

Альбумины проявляют высокую адсорбционно-связывающую способность по отношению к различным низкомолекулярным веществам, поэтому они играют физиологически важную транспортную роль во внутренних средах организма. Например, молекулярный комплекс альбумина и билирубина (желчного пигмента) — транспортная форма последнего во внутренней среде организма человека. Альбумин также принимает участие в транспорте жирных кислот, токсичных соединений, в том числе ионов тяжелых металлов. Другая важная функция альбуминов — поддержание постоянства осмотического давления: осмотический эффект плазмы крови на 75—80 % связан с альбумином, который обладает наименьшей молекулярной массой из белков плазмы и в то же время составляет около половины их количества. Большая роль принадлежит альбуминам в азотистом обмене тканей: содержание альбуминов в тканях служит показателем восполнения белковых запасов организма.

**Глобулины** — белки с большей, чем у альбуминов, молекулярной массой (свыше 100 000). В отличие от альбуминов они нерастворимы в чистой воде, а растворимы только в разбавленных солевых растворах. Глобулины — слабокислые или нейтральные белки ( $pI$  лежит в интервале от 6,0 до 7,3); содержат меньше, чем альбумины, остатков кислых аминокислот. Эти белки плохо гидратируются, поэтому они легко осаждаются из растворов с низкой концентрацией  $(NH_4)_2SO_4$ . Некоторые из глобулинов обладают способностью к специфическому связыванию веществ (специфические переносчики), другие, как и альбумины, — к неспецифическому связыванию жирорастворимых веществ.

Глобулины в отличие от альбуминов представляют собой сложные смеси белков. С помощью иммуноэлектрофореза и электрофореза сывороточных белков на полиакриламидном геле можно различить  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулиновые фракции. Таким образом, альбумины и глобулины разделяют с помощью электрофореза.

**Проламины** — группа растительных белков, содержащихся в клейковине семян злаковых культур. Проламины не растворяются в воде, а также в растворах солей, кислот и щелочей. Для выделения проламинов их экстрагируют 70%-м этиловым спиртом. Такая плохая растворимость проламинов связана с наличием в них неполярных аминокислотных остатков и пролина. Проламины, как и протамины, получили свое название по источнику их выделения: *глиадины* экстрагируют из клейковины зерна пшеницы и ржи (от лат. *glia* — клей); *гордеины* — из ячменя (от лат. *hordeum* — ячмень); *авенины* — из овса (от лат. *avena sativa* — овес); *зеин* — из кукурузы (от лат. *zea mais* — кукуруза) и т. д.

**Глютелины** также являются растительными белками, они нерастворимы в воде, растворах солей и этаноле, но хорошо растворимы в растворах щелочей, очевидно, потому, что содержание аргинина и пролина в них значительно больше, чем в проламинах. Комплекс щелочерастворимых белков семян пшеницы получил название *глютерин*, риса — *оризенин*. Глиадин семян пшеницы в соединении с глютеринном образует клейковину, свойства которой в значительной мере определяют технологические качества муки и теста.

**Склеропротеины** (от греч. *skleros* — твердый) — белки опорных тканей (костей, хрящей, связок, сухожилий, ногтей, волос и т. д.). Все они являются фибриллярными белками (фиброин шелка, коллаген, кератин, эластин). Из-за высокого содержания неполярных аминокислот склеропротеины обладают очень низкой растворимостью в полярных растворителях. Молекулы склеропротеинов чаще всего состоят из нескольких полипептидных цепей, имеющих структуру  $\alpha$ -спирали ( $\alpha$ -кератины, миозин),  $\beta$ -складчатых слоев ( $\beta$ -кератины, фиброин) или скрученных особым образом спиралей (коллагены). Фибриллярные белки нерастворимы в воде. Они не перевариваются в пищеварительном тракте большинства животных и человека и поэтому не могут выполнять питательную функцию. Однако некоторые виды членистоногих, например моль, приспособились к питанию фибриллярными белками шерсти, перьев и т. д.

Рассмотрим особенности строения и свойств жизненно важных склеропротеинов.



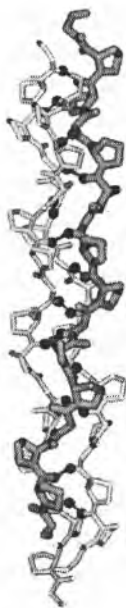


Рис. 1.21. Модель тройной суперспирали коллагена

Коллаген является самым распространенным животным белком. Так, в организме человека на его долю приходится примерно  $\frac{1}{3}$  общего количества белков. В составе соединительных тканей животных и человека коллаген образует нити или коллагеновые волокна, построенные из фибрилл, структурной единицей которых является *тропоколлаген*. Молекула тропоколлагена (молекулярная масса 300 000) состоит из трех полипептидных цепей, каждая имеет вторичную структуру в виде левозакрученной спирали, содержащей три аминокислотных остатка в витке. Третичная структура тропоколлагена образуется путем объединения трех спиралей в правозакрученную спираль; в результате формируется структурная единица белка, представляющая собой агрегат диаметром 1,5 нм и длиной 300 нм (рис. 1.21). Коллаген — единственный белок, в составе которого содержится 4-гидроксипролин. В кипящей воде коллаген частично растворяется (набухает), образуя раствор желатина, который при охлаждении переходит в гель.

Эластин — белок соединительной ткани, немного отличающийся по строению и свойствам от коллагена (более эластичен). Эластин содержится в основном в тканях, испытывающих периодическое растяжение и сокращение (кровеносные сосуды, легкие, некоторые связки).

$\alpha$ -Кератины — белки волос, рогов, кожи, перьев, состоят из 3—7 полипептидных цепей, включающих около ста аминокислотных остатков и имеющих структуру  $\alpha$ -спирали. Полипептидные цепи связаны дисульфидными мостиками; скручиваясь вместе, они образуют левозакрученные суперспирали, из которых формируются микрофибриллы диаметром около 2 нм. При термообработке  $\alpha$ -кератинов разрушается система водородных связей в каждой полипептидной цепи, в результате чего цепь растягивается и приобретает структуру  $\beta$ -складчатого слоя. Таким образом образуются  $\beta$ -кератины, стабилизированные за счет водородных связей между отдельными полипептидными цепями.

Фиброин шелка имеет пространственную структуру, сходную с  $\beta$ -кератином, но дисульфидные связи между соседними антипараллельными цепями отсутствуют. Этот белок богат глицином, серином и аланином.

Все перечисленные простые белки в условиях живого организма входят в состав структур, содержащих различные по своей природе соединения, но изучение простых белков очень помогает с методологической точки зрения в понимании особенностей строения сложных белков.

### 1.10.3. СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

Сложные белки, или *холопротеины*, образованы двумя компонентами, один из которых — апопротеин, а второй — вещество небелковой природы, которое называется *простетической группой*. Простетическая группа,

как правило, связана с белковым фрагментом за счет специфических взаимодействий.

Роль простетической группы могут выполнять как органические, так и неорганические соединения: углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты, металлопорфирины, ионы металлов, фосфорная кислота и др.

Химические связи между белком и простетической группой в молекулах холопротеинов в определенных условиях способны разрушаться, в результате чего может протекать следующая обратимая реакция:



Часто в условиях живой клетки равновесие в данной реакции сильно смещено влево, особенно при наличии ковалентных связей между белком и простетической группой. В других случаях в равновесном состоянии могут преобладать продукты диссоциации холопротеина.

Рассмотрим строение и биофункции основных представителей сложных белков.

**Гликопротеины.** Простетическая группа гликопротеинов образована углеводами и их производными и достаточно прочно связана с полипептидной цепью через одну из трех аминокислот: аспарагин, серин, треонин. Для гликопротеинов типична ковалентная *углевод-пептидная* связь. В качестве углевода выступают гетерополисахариды нерегулярного строения (гексозамины, моносахариды и ряд производных кислот).

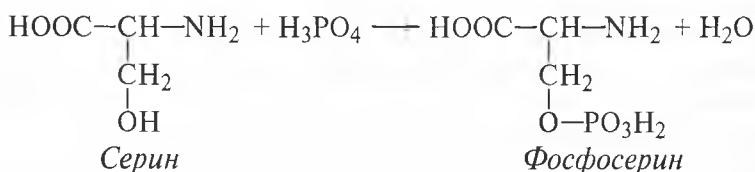
Углеводная часть придает гликопротеинам большую биохимическую специфичность. Это своего рода «*векторные группы*» протеинов, «*узнающие*» участки других молекулярных биоструктур: макромолекул, мембран клеток. Кроме информативной углеводные компоненты выполняют и другую, не менее важную функцию: они значительно повышают стабильность молекул гликопротеинов по сравнению с апопротеинами. Гликопротеины выдерживают более высокие и более низкие температуры без изменения своих физико-химических свойств, т. е. наличие углеводного фрагмента препятствует денатурации белка. Этими свойствами объясняется высокое содержание гликопротеинов в крови, клеточных мембранах, внутриклеточной жидкости. Например, у антарктических рыб гликопротеины играют роль антифризов, препятствующих образованию кристаллов льда во внутренних средах организмов.

**Липопротеины.** В составе липопротеинов простетическая группа представлена *липидами*: нейтральными жирами, свободными жирными кислотами, фосфолипидами, холестерином и его производными.

В липопротеинах связь между липидами и белком осуществляется за счет взаимодействий различной природы: *адсорбционных* (белок адсорбируется на поверхности липида, повышая растворимость и термическую устойчивость последнего); *гидрофобных* (между неполярными фрагментами молекул липида и белка); *ион-дипольных* (когда липид представлен фосфолипидом, способным к ионизации). Чаше всего в липопротеинах действуют комбинированные силы, способствующие образованию в высшей степени упорядоченных структур. В живых организмах липопротеины выполняют *транспортную* (перенос белком липопростетической группы), *ферментативную*, *гормональную* функции.

Путем электрофореза на бумаге липопротеины могут быть разделены на  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -липопротеины. При электрофорезе  $\gamma$ -липопротеины, состоящие из белков и нейтральных жиров, остаются на старте. Между  $\alpha$ - и  $\beta$ -липопротеинами имеются различия в количественном составе, при этом качественный состав одинаков: в них входят холестерин, фосфолипиды, нейтральные жиры и белки. Молекулы  $\alpha$ -липопротеинов содержат до 40 % белка, а соотношение [холестерин]/[фосфолипиды] составляет в них 0,81; они имеют небольшие размеры, достаточно устойчивы в кровяном русле, не склонны к оседанию и хорошо проникают через стенки сосудов. Молекулы  $\beta$ -липопротеинов содержат 10—15 % белка, соотношение [холестерин]/[фосфолипиды] равно 2,3—2,7; они обладают большим объемом, низкой плотностью, не проникают через стенки сосудов, легко оседают на их поверхности, что зачастую приводит к образованию атеросклеротических бляшек.

**Фосфопротеины.** Характерной особенностью фосфопротеинов является наличие в них остатков фосфорной кислоты, связанных сложноэфирной связью с молекулой белка через гидроксильные группы  $\beta$ -гидроксиаминокислот (главным образом серина и треонина):



Таким образом, фосфопротеины содержат лабильный фосфат, абсолютно необходимый для выполнения клетками организма ряда биологических функций. Они являются ценным энергетическим и пластическим материалом, используемым в процессе роста и развития организма. К белкам данного класса относятся *казеиноген молока*, *овальбумин куриного яйца* и другие сложные белки.

**Металлопротеины.** К металлопротеинам первой группы относятся биополимеры, содержащие помимо белка ионы одного или нескольких металлов. Типичным представителем таких соединений является *ферритин* — водорастворимый белок, сконцентрированный в печени и костном мозге и выполняющий роль депо железа. Ферритин содержит от 17 до 23 % железа в составе неорганического соединения  $(\text{FeOOH})_8(\text{FeOOH}_2\text{PO}_3)$ , при этом ионы  $\text{Fe}^{3+}$  координационно связаны с атомами азота пептидных фрагментов. Вторая группа металлопротеинов представлена в основном металлозависимыми ферментами, активность которых определяется наличием в организме в достаточных количествах ионов ряда металлов ( $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  и др.).

**Хромопротеины.** Все хромопротеины содержат в качестве простетической группы *хромофорные соединения*.

Хромопротеины участвуют в процессах фотосинтеза, дыхания клеток и организма в целом, транспорта газов, токсических веществ, лекарственных препаратов, в окислительно-восстановительных реакциях. Представители природных хромопротеинов и их простетические группы представлены в табл. 1.5.

Таблица 1.5. Природные хромопротеины и их простетические группы

Хромопротеины	Простетическая группа	Главы, в которых описаны данные хромопротеины
Гемоглобин, миоглобин, цитохромы, каталаза, пероксидаза и др.	Протопорфирин железа(II)	Глава 5
Флавопротеины (дегидрогеназы и др.)	Флавинадениндинуклеотид (ФАД), флавиномононуклеотид (ФМН)	Глава 3
V <sub>12</sub> -зависимые ферменты	Витамин B <sub>12</sub>	Глава 3
Хлорофиллпротеины	Хлорофиллы <i>a</i> , <i>b</i> ; бактериохлорофиллы <i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> , <i>d</i>	Главы 5 и 13
Каротинопротеины	Каротиноиды	Глава 3
Фикобилины	Линейные тетрапирролы	Главы 5 и 12
Родопсин	Ретиналь (витамин А)	Глава 3

Особую группу хромопротеинов составляют *гемопротеины*, содержащие в качестве простетической группы протопорфирин железа(II) — координационное соединение лиганда протопорфирина с ионом Fe<sup>2+</sup>. Ион металла в составе металлопорфиринов зачастую оказывается координационно ненасыщенным, и именно это свойство определяет биологические функции хлорофилла, гема крови, цитохромов в процессах транспорта газообразных молекул и передачи электронов. Подробнее об особенностях химического строения и биологических функциях порфиринов и их комплексов с ионами металлов в живых организмах см. главу 5.

Важную группу растительных хромопротеинов составляют *хлорофилл-протеины*. В отличие от железопорфиринов животных в растениях содержатся магний(II)порфириновые комплексы, придающие листьям характерную зеленую окраску. Порфириновое кольцо хлорофилла — *феофитин* представлено дигидропорфирином, содержащим остаток спирта фитола. В растениях хлорофиллы в составе сложного белково-липидного комплекса присоединяют два дополнительных лиганда, одним из которых являются аминокислотные радикалы пептидных фрагментов белка, другим — молекула воды. Координация молекулы воды способствует ее окислению с использованием энергии квантов света, в результате чего происходит передача электрона по сложной цепи фотосинтетического аппарата от восстановителей к окислителям в процессе *фотосинтеза* (см. главу 13).

**Нуклеопротеины.** В состав нуклеопротеинов входят белки, имеющие сильно выраженный щелочной характер (например, гистоны), и нуклеиновые кислоты, соединенные между собой как слабыми межмолекулярными взаимодействиями, так и сильными ковалентными связями. Строение, свойства и биологические функции нуклеиновых кислот, а также строение нуклеопротеинов рассматриваются в главах 8 и 11. В качестве примера можно привести описание структуры наиболее изученного нук-

леопротеина — вируса табачной мозаики. Структура этого вируса представляет собой молекулу РНК, которая окружена регулярно расположенными полипептидными цепями с молекулярной массой около 17 500. Молекулярная масса самого вируса составляет  $4 \cdot 10^7$ , а молекулярная масса РНК  $2,2 \cdot 10^6$ . Общий состав вируса: 5—6 % РНК и 94—95 % белка, а размеры —  $15 \times 300$  нм.

## Контрольные вопросы и задания

1. Перечислите основные исследования, послужившие развитию современных научных представлений о белковых веществах.
2. В чем заключаются особенности молекулярного строения природных аминокислот?
3. Чем обусловлена оптическая активность аминокислот? Какой стереохимической конфигурацией обладают природные аминокислоты?
4. Какие признаки легли в основу классификации аминокислот?
5. Какие протеиногенные аминокислоты вы знаете? Что вам известно о необычных протеиногенных аминокислотах?
6. Перечислите известные вам непротеиногенные аминокислоты, имеющие важное биологическое значение.
7. Какие аминокислоты называют незаменимыми и какую роль они играют в обеспечении нормальной жизнедеятельности организмов?
8. Перечислите основные физико-химические свойства аминокислот.
9. Какими особенностями молекулярной структуры обусловлены кислотно-основные свойства аминокислот? При каких значениях pH растворы аминокислот обладают измеримой буферной емкостью?
10. Дайте определение изоионной и изоэлектрической точек аминокислот. Какими свойствами обладают аминокислоты при различных значениях pH?
11. Какими особыми свойствами обладает пептидная связь? Как она образуется?
12. В чем заключаются основные принципы проведения химического синтеза пептидов?
13. По какому принципу построена номенклатура пептидов и белков? Назовите следующий пептид: *Ala—Gly—Phe—Val—Leu—His*.
14. Перечислите основные уровни структурно-пространственной организации белков.
15. Чем определяется первичная структура белков? Какие экспериментальные методы определения первичной структуры вы знаете?
16. Что такое вторичная структура белков, за счет каких факторов она формируется и стабилизируется? Какие типы вторичной структуры характерны для белков?
17. Какие особенности формирования супервторичной и доменной структур белков вам известны?
18. В чем состоят особенности формирования третичной структуры белковых молекул?
19. Что называют четвертичной структурой белка?
20. Какие физико-химические свойства белков и их растворов вы знаете? Какие из этих свойств определяют биологическую активность белковых молекул?
21. Какие методы применяются для определения молекулярной массы белков?
22. Приведите примеры природных пептидов. Какие биологические функции они выполняют?
23. Перечислите основные биологические функции белков.
24. Расскажите о простых белках (опишите особенности их химического строения и биологической роли).
25. Расскажите о сложных белках. Какие соединения могут выполнять роль простетических групп в сложных белках? Какие биологические функции выполняют сложные белки?

---

---

## Глава 2

### Ферменты

#### 2.1. НАУКА О ФЕРМЕНТАХ

**Ферменты** (или **энзимы**) представляют собой высокоспециализированный класс белков, обеспечивающих высокие скорости химических реакций, протекающих в клетках живых организмов.

Слово «фермент» происходит от латинского *fermentum* — закваска; другое установившееся название ферментов — *энзимы* — происходит от греческого *en zyme* — в дрожжах (термин предложен Ф. В. Кюне в 1878 г.).

Первые сведения о ферментах стали появляться еще в глубокой древности, в те времена, когда человек начал применять такие элементарные ферментативные процессы, как спиртовое брожение, осахаривание крахмалистого сырья, применение заквасок при изготовлении хлеба, сыра, вина и уксуса. Русский ученый К. С. Кирхгофф в 1814 г. обнаружил, что вытяжка из солода вызывает превращение крахмала в более простые сахара. Таким образом, было впервые показано, что ферменты могут катализировать химические реакции не только в живой клетке, но и вне ее, тем самым для ученых того времени была доказана возможность изучения особенностей ферментативных превращений *in vitro*.

Шведский химик Я. Берцелиус в 1835 г. опубликовал работу, в которой сопоставил ферментативные процессы и классический неорганический катализ. В первой половине XX в. было установлено, что по химической природе ферменты являются белками, а во второй половине XX в. для многих сотен ферментов были определены первичная структура и особенности пространственной организации. В 1969 г. впервые был осуществлен химический синтез фермента рибонуклеазы. Большой вклад в развитие учения о ферментах внесли братья Г. и Э. Бухнеры, русский физиолог И. П. Павлов, Л. Михаэлис и М. Ментен.

Наука о ферментах — *энзимология* (русский аналог — *ферментология*) — ставит перед собой следующую основную задачу: изучение ферментов и процессов, протекающих с их участием. Энзимология традиционно занимает одно из ведущих мест в биохимии и является одним из генеральных направлений биохимической науки, поскольку практически все химические реакции в живых организмах протекают только благодаря ферментам. Следовательно, изучение физико-химических основ биохимических реакций, протекающих в живой природе, невозможно без познания законов ферментативного катализа. Кроме того, ферменты, в отличие от большинства других белков, достаточно просто идентифицируются по

катализируемой ими реакции, поэтому многие свойства белковых веществ вначале были изучены на примере ферментов.

Ферменты участвуют в осуществлении всех процессов обмена веществ, в реализации генетической информации. Переваривание и усвоение пищевых веществ, синтез и распад белков, нуклеиновых кислот, жиров, углеводов и других соединений в клетках и тканях всех организмов — все эти процессы невозможны без участия ферментов. Любые проявления функций живого организма — дыхание, мышечное сокращение, нервно-психическая деятельность, размножение и др. — обеспечиваются действием ферментов. Все вышесказанное позволяет назвать ферменты «эликсирами жизни».

До недавнего времени считалось, что все ферменты являются исключительно белками. Но исследования показали, что и молекулы небелковой природы способны катализировать некоторые химические превращения. Так, в последнее время обнаружены ферменты небелковой природы — *рибозимы*, построенные из молекул РНК и способные катализировать химические превращения рибонуклеиновых кислот.

## 2.2. КЛАССИФИКАЦИЯ И НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

В основе классификации ферментов лежит принцип селективности их действия по отношению к субстратам и катализируемым процессам. По типу катализируемых реакций все ферменты можно разделить на шесть основных классов (табл. 2.1).

Таблица 2.1. Классы ферментов

№ класса	Название классов	Типы катализируемых реакций
1	Оксидоредуктазы	Окислительно-восстановительные реакции
2	Трансферазы	Перенос групп
3	Гидролазы	Гидролиз
4	Лиазы	Расщепление негидролитическим путем связей С—С, отщепление групп с образованием двойной связи, присоединение по двойной связи
5	Изомеразы	Реакции изомеризации
6	Лигазы (синтетазы)	Химические взаимодействия молекул с использованием энергии АТФ (или других высокоэнергетических соединений)

Тривиальные названия ферментов строятся по названию субстрата с изменением окончания на «аза». Типичными примерами тривиальных названий ферментов являются «протеазы» — ферменты, расщепляющие белки, «липазы» — ферменты, расщепляющие жиры, и др. Международный биохимический союз разработал правила рациональной номенклатуры ферментов. Каждый фермент обозначается специальным кодом, указывающим номер класса, подкласса, подподкласса и номер фермента

в подподклассе. Например, кодовое обозначение для глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы выглядит как 1.2.1.12\*, а для фенилаланин-4-монооксигеназы — 1.14.16.1\*\*.

Поскольку рациональные названия ферментов довольно длинные, их использование представляется весьма проблематичным. Поэтому наряду с рациональными широко используются также и тривиальные названия ферментов.

## 2.3. ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА ФЕРМЕНТОВ

Высокая биологическая активность ферментов в первую очередь определяется характерными свойствами образующих их белков. Ферментативной активностью могут обладать как простые, так и сложные белки. Первые, как описано в предыдущей главе, состоят только из полипептидных цепей и гидролизуются до аминокислот (примерами могут служить ферменты пепсин, трипсин, уреазы и т. д.). Вторая группа ферментов представлена сложными белками, для проявления каталитической активности которых требуется присутствие веществ небелковой природы — *протестических групп*. Протестические группы ферментов, являющихся по химической природе сложными белками, называются *кофакторами*.

Различают две группы кофакторов: *ионы металлов* (а также некоторые неорганические анионы) и *коферменты*, представляющие собой органические вещества. Примерно треть из всех известных в настоящее время ферментов активируется ионами металлов. Прочность связи ионов металлов с белковой частью фермента колеблется в широких пределах. Некоторые металлокомплексы ферментов в процессе их выделения из биологических материалов вследствие достаточной лабильности теряют ион металла. Эти особенности приходится учитывать при исследовании физико-химических и биохимических характеристик таких ферментов, восстанавливая их активность путем добавления в среду соответствующих ионов. Такие белки образуют группу *ферментов, активируемых ионами металлов*. Другие металлоферментные комплексы отличаются большей стабильностью, т. е. сохраняют ион металла при выделении и очистке (*металлоферменты*). В роли кофакторов ферментов могут выступать различные по природе ионы металлов.

Ион металла может участвовать в присоединении субстрата, собственно в катализе, в стабилизации оптимальной конформации молекулы фермента и т. д. (табл. 2.2). Подробнее о роли ионов различных металлов в ферментативных превращениях см. главу 4.

---

\* Числа в коде означают: 1 — фермент принадлежит к классу I (оксидоредуктазы); 2 — донором электронов для фермента служит альдегидная группа субстрата; 1 — акцептором электронов является НАДФ; 12 — химическая природа субстрата (в соответствии с официальной номенклатурой ферментов 1992 IUBMB).

\*\* Рекомендации по названиям ферментов Комитета по номенклатуре Международного союза по биохимии и молекулярной биологии приведены на Internet-сайте [www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/](http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/).



**Таблица 2.2. Некоторые металлозависимые ферменты**

Фермент	Ионы металлов	Функции ионов металлов
Гексокиназа	Mg <sup>2+</sup>	Связывание субстрата
Пируваткиназа	Mg <sup>2+</sup> , K <sup>+</sup>	Связывание субстрата и катализ
Аргиназа	4Mn <sup>2+</sup>	То же
Транскетолаза	Ca <sup>2+</sup>	Стабилизация четвертичной структуры фермента
Щелочная фосфатаза	2Zn <sup>2+</sup>	Связывание субстрата и катализ
Тирозиназа	2Cu <sup>2+</sup>	Катализ
Моноаминоксидаза	4Cu <sup>2+</sup>	»
Церулоплазмин	8Cu <sup>2+</sup>	»

Если в качестве кофермента выступает органическое соединение, то фермент называют *холоферментом*, а его белковую часть — *апоферментом*. Реакция образования холофермента обратима:



Если равновесие данной реакции в условиях живой клетки сильно сминуто влево, то кофермент присоединяется к апоферменту вместе с субстратом в момент реакции. Другой крайний случай — стабильные холоферменты, содержащие прочно связанный кофермент. Они представлены сложными белками. Многие коферменты являются производными *витаминов* — незаменимых пищевых факторов (табл. 2.3), речь о которых пойдет в следующей главе. Витамины и другие коферменты в качестве жизненно необходимых соединений входят в состав компонентов пищи и, как правило, не синтезируются (или синтезируются в недостаточных количествах) в организмах (по крайней мере, в организмах высших жи-

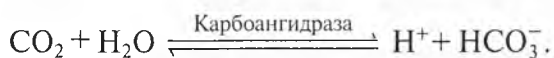
**Таблица 2.3. Некоторые коферменты — производные витаминов**

Кофермент	Витамин	Функция кофермента
Коферменты дегидрогеназ:		
НАД, НАДФ	Никотиновая кислота	Перенос водорода
ФАД, ФМН	Витамин В <sub>2</sub> (рибофлавин)	То же
Тиаминдифосфат (ТДФ)	Витамин В <sub>1</sub> (тиамин)	Декарбоксилирование α-кетокислот
Кофермент ацилирования (КоА)	Витамин В <sub>3</sub> (пантотеновая кислота)	Перенос ацильных групп
Пиридоксальфосфат	Витамин В <sub>6</sub>	Перенос аминогрупп
Биоцин	Витамин Н (биотин)	Перенос СО <sub>2</sub>
Кобаламины	Витамин В <sub>12</sub>	Перенос алкильных групп

вотных). К настоящему времени помимо витаминов обнаружены кофакторы, являющиеся производными нуклеотидов, пептидов, порфиринов и углеводов.

## 2.4. ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

Присутствие ферментов обеспечивает значительное увеличение скоростей химических реакций *in vivo*. По приблизительным оценкам скорость реакции в присутствии фермента в миллион раз больше, чем в его отсутствие. В отсутствие ферментов скорость большинства реакций в биосистемах настолько мала, что практически не обеспечивает выход продуктов, т. е. совершенно неощутима. Так, например, гидратация диоксида углерода катализируется ферментом *карбоангидразой*:



В отсутствие фермента перенос  $\text{CO}_2$  из тканей в кровь, а затем в легочные альвеолы был бы недостаточным для выведения диоксида углерода из организма и поддержания нормального дыхания. Карбоангидраза является цинкзависимым ферментом и принадлежит к числу самых активных из всех известных ферментов. Активный центр карбоангидразы, содержащий хелатированный ион  $\text{Zn}^{2+}$ , изображен на рис. 2.1.

Константа скорости реакции в присутствии карбоангидразы составляет порядка  $10^6 \text{ с}^{-1}$ , а в ее отсутствие —  $1,3 \cdot 10^{-1} \text{ с}^{-1}$ . Таким образом, каж-

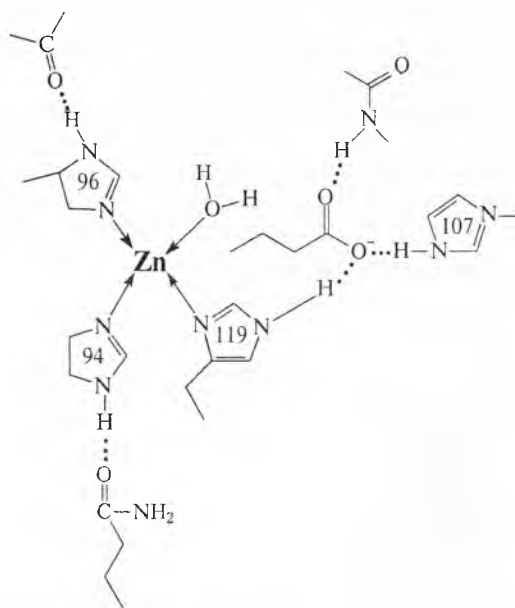


Рис. 2.1. Хелатированный цинк(II) в активном центре карбоангидразы

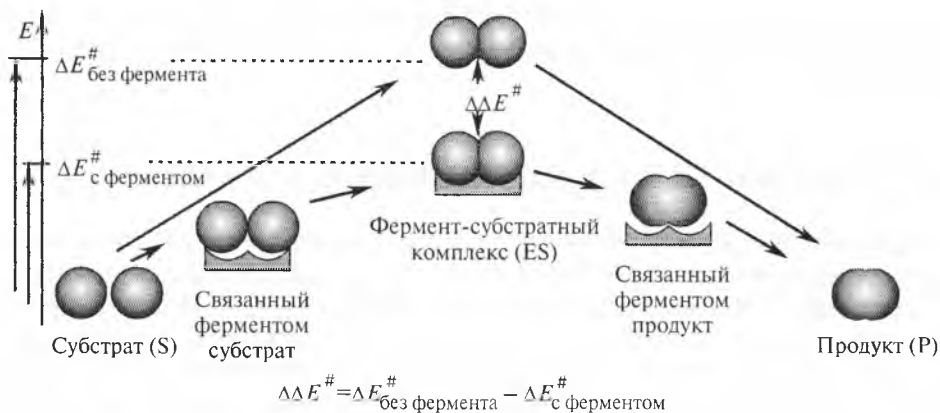


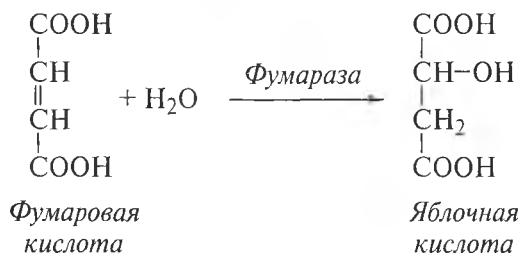
Рис. 2.2. Схема, поясняющая механизм снижения энергии активации реакции за счет ферментативного катализа (индекс # означает переходное состояние)

дая молекула карбоангидразы способна катализировать гидратацию  $10^5$  молекул  $\text{CO}_2$  в 1 с. Скорость реакции гидратации  $\text{CO}_2$  при участии фермента в  $10^7$  раз выше, чем в аналогичном неферментативном процессе.

Фермент, являясь катализатором, не может изменять термодинамического равновесия химической реакции. Но в то же время фермент сильно влияет на скорости прямой и обратной реакций процесса таким образом, что достижение состояния равновесия в присутствии фермента происходит значительно быстрее (при этом константа равновесия не изменяется). Ферменты, как и любые катализаторы, повышают скорость реакций за счет снижения энергии активации процесса. При взаимодействии субстрата с ферментом реакция протекает по новому механизму, который характеризуется более низкой энергией переходного состояния, чем процесс, протекающий в отсутствие фермента (рис. 2.2).

Характерной чертой, отличающей ферменты от других катализаторов, является высокая *селективность* их действия. Различают *абсолютную* и *групповую селективность* действия ферментов.

Фермент с абсолютной селективностью катализирует превращение какого-либо одного субстрата. Например, фермент *фумараза* катализирует только гидратацию фумаровой кислоты:



Ферменты с групповой селективностью катализируют однотипные превращения сходных по химическому строению веществ. Например, фермент *липаза* катализирует гидролиз различных триацилглицеринов до глицерина и жирных кислот:



Другой пример групповой селективности — действие *протеолитических ферментов*, катализирующих гидролиз пептидов и белков: они ускоряют расщепление пептидных связей, образованных разными аминокислотными остатками (см. главу 12).

Важной особенностью ферментов в отличие от обычных катализаторов является стереохимическая селективность их действия. Многие ферменты катализируют превращения только оптически изомерных L- или D-форм или геометрических *цис*- или *транс*-изомеров химических соединений. Примерами тому могут служить оксидазы аминокислот. Напротив, существуют ферменты — *рацемазы*, катализирующие реакции рацемизации оптически активных изомеров соединений (бактериальная аланин-рацемаза).

Нужно отметить, что ферменты катализируют химические реакции в «мягких» условиях, т. е. при обычном давлении, сравнительно невысокой температуре (около 37 °С) и в большинстве случаев при pH около 7,4 (хотя в общем случае диапазон pH действия ферментов достаточно широк — см. раздел 2.7). Это отличает ферменты от катализаторов небиологического происхождения, действующих, как правило, при высоких давлениях, крайних значениях pH и высокой температуре. Являясь в большинстве своем белковыми веществами, ферменты весьма чувствительны к изменениям температуры (т. е. термолabile) и к сдвигам pH среды.

Другая особенность ферментативного катализа заключается в том, что скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна концентрации фермента, тогда как для небиологического катализатора не существует строгой зависимости между скоростью реакции и количеством катализатора. Недостаточное (по сравнению с требуемым) количество фермента обуславливает низкую скорость превращения вещества в живом организме. Поэтому одним из путей приспособления клеток организма к изменению условий функционирования является синтез дополнительных количеств фермента.

Ферменты — это катализаторы с регулируемой активностью, чего нельзя сказать о небиологических катализаторах. Именно это уникальное свойство ферментов позволяет изменять скорость превращения веществ в организме в зависимости от условий среды, т. е. приспосабливаться к действию различных факторов.

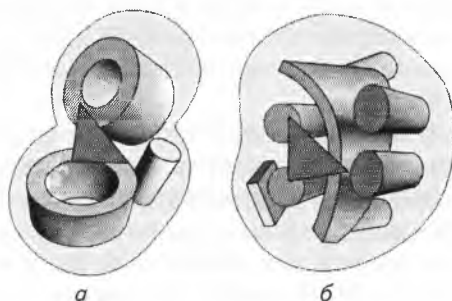


Рис. 2.3. Схема строения сериновых протеаз типа трипсина (а) и субтилизина (б). Активные центры ферментов изображены в виде треугольников

Таблица 2.4. Молекулярные массы некоторых ферментов

Фермент	<i>M</i>	Фермент	<i>M</i>
Рибонуклеаза	13 700	Лактатдегидрогеназа	140 000
Цитохром <i>c</i>	15 000	Альдолаза	142 000
Трипсин	23 800	Каталаза	248 000
Пепсин	32 000	Глутаматдегидрогеназа	336 000
Гексокиназа	45 000	Уреаза	480 000
Щелочная фосфатаза	80 000	Пируватдегидрогеназный комплекс ферментов	4 500 000

Молекулярная масса ферментов достаточно велика и может изменяться в пределах  $10^4$ — $10^6$  Да, что также отличает ферменты от традиционных катализаторов (табл. 2.4). Возникает вопрос: почему функции ферментов могут выполнять только высокомолекулярные вещества? Дело в том, что активный центр фермента должен иметь определенное, высокоупорядоченное строение. Иллюстрацией может служить рис. 2.3, на котором схематично показано строение двух протеаз. Все аминокислотные остатки, ответственные за связывание и каталитическое превращение субстрата, в активном центре фермента располагаются так, чтобы создать оптимальные условия для катализа. Такие особенности накладывают на систему жесткие энтропийные требования, которые могут быть компенсированы за счет изменения энтропии в другой, более упорядоченной области биополимера.

## 2.5. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Большую роль в развитии представлений о механизмах действия ферментов сыграли классические работы Л. Михаэлиса и М. Ментен, развивших положение о фермент-субстратных комплексах.

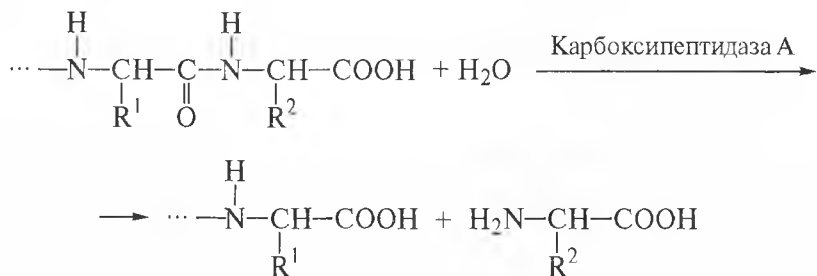
**Фермент-субстратные комплексы.** В результате многочисленных исследований физико-химических закономерностей реакций ферментативного катализа было показано, что первым этапом любой ферментативной реакции является образование *фермент-субстратного комплекса* (ES). Такой комплекс образуется за счет присоединения субстрата (S) к специфическому участку фермента (E), называемому *активным центром*. В сущности, высокая селективность каталитического действия ферментов в основном зависит от степени комплементарности связывания фермента с субстратом.

Фермент-субстратные комплексы идентифицируют и выделяют в чистом виде различными физико-химическими методами, что служит прямым доказательством их существования. Например, подробная информация о связывании *карбоксипептидазы* А с ее субстратом глицил-L-тирозином была получена с помощью рентгеноструктурного анализа. Для этих целей широко используется метод электронной микроскопии. Как

уже отмечалось, при образовании ES-комплекса проявляется высокая степень стереоселективности фермента и субстрата. Например, D-серин в отличие от L-серина не может служить субстратом для *триптофансинтетазы*. Более того, D-изомер даже не связывается с ферментом из-за отсутствия соответствующих параметров у центров связывания. Из этого следует, что участок связывания субстрата имеет строго определенную конформацию, которая как нельзя лучше соответствует форме биосубстрата (принцип «ключ — замок»).

**Карбоксипептидаза А.** Рассмотрим молекулярные события, лежащие в основе механизма действия хорошо изученного пищеварительного фермента *карбоксипептидазы А*. Механизм действия данного фермента исследован методом рентгенографии на комплексах фермента с различными ингибиторами и модельными субстратами.

Карбоксипептидаза А синтезируется клетками поджелудочной железы и в составе сока этой железы поступает в кишечник, где катализирует отщепление С-концевых аминокислотных остатков от пептидов:



Карбоксипептидаза А состоит всего из одной полипептидной цепи, содержащей 307 аминокислотных остатков (N-концевым служит аланин), и является цинкзависимым ферментом (ион  $\text{Zn}^{2+}$  расположен в активном центре фермента). Молекулярная масса карбоксипептидазы А составляет 34 600. Активный центр фермента расположен в нише, глубина которой составляет приблизительно 1 нм. Размеры самой молекулы карбоксипептидазы А составляют  $5 \times 4,2 \times 3,8$  нм.

На рис. 2.4 показаны два аминокислотных остатка, принадлежащих С-концевой части пептида в активном центре карбоксипептидазы А. В связывании субстрата и собственно в катализе принимают участие аминокислотные остатки тирозина(248), аргинина(145), глутаминовой кислоты(270) и ион  $\text{Zn}^{2+}$ , который ковалентно связан с атомом кислорода депротонированной карбоксильной группы глутаминовой кислоты(72) и за счет двух донорно-акцепторных связей — с электронодонорными атомами азота имидазольных циклов 69-го и 198-го аминокислотных остатков гистидина.

Активный центр карбоксипептидазы А образован гидрофобными радикалами аминокислотных остатков (так называемый «гидрофобный карман»), поэтому наибольшим сродством к активному центру карбоксипептидазы А обладают пептиды с гидрофобной С-концевой аминокислотой.

Связывание субстрата с карбоксипептидазой А начинается с электростатического взаимодействия депротонированной карбоксильной груп-

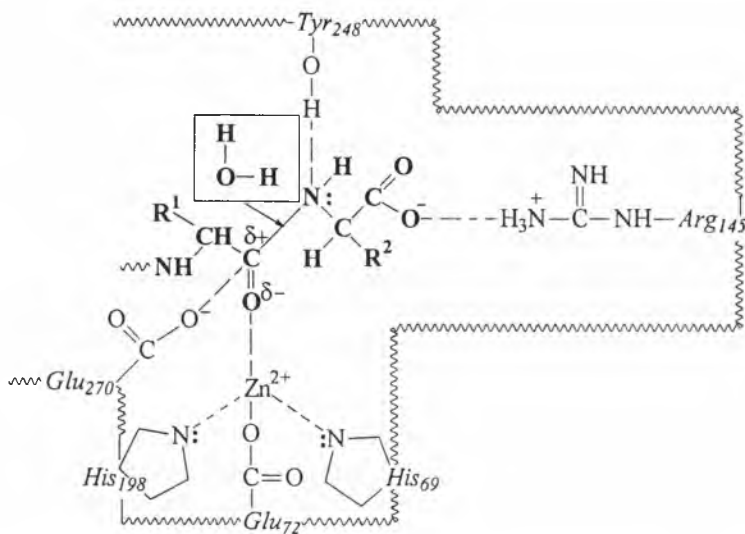


Рис. 2.4. Расположение субстрата в активном центре карбоксипептидазы А

пы субстрата с протонированной аминогруппой гуанидиновой группировки аргинина фермента. В результате пептидная цепь карбоксипептидазы А в области аргинина(145) «подтягивается» к карбоксильной группе субстрата примерно на 0,2 нм. Это приводит к конформационным перестройкам в других частях активного центра: в сторону субстрата примерно на 1,2 нм перемещаются аминокислотные остатки глутаминовой кислоты(270) и тирозина(248). Затем электрононенасыщенный атом углерода пептидной группы субстрата взаимодействует с депротонированной карбоксильной группой глутаминовой кислоты(270) и ионом цинка(II). Параллельно с этим атом азота пептидной связи субстрата образует водородную связь с ОН-группой тирозина(248). В результате происходят дестабилизация пептидной связи и ее гидролиз. Продукты гидролиза покидают активный центр, а фермент восстанавливает исходную конформацию.

Более подробная информация о строении активных центров и механизмах действия ферментов изложена в специальной литературе по ферментативному катализу.

**Характерные стадии ферментативного катализа.** Строение активных центров и механизмы действия разных ферментов очень специфичны, но несмотря на это можно выделить основные и наиболее характерные стадии ферментативного катализа, каждая из которых имеет свои особенности, присущие большинству ферментативных реакций. Дадим характеристику основным стадиям ферментативного катализа.

1. Диффузия субстрата к ферменту. Эта стадия обычно непродолжительна, ее скорость определяется концентрацией субстрата и эффективностью его транспорта к активному центру фермента.

2. Комплементарное связывание субстрата с активным центром фермента. Активный центр фермента формирует-

ся из отдельных аминокислотных остатков полипептидной цепи, содержащих разные функциональные группы. Субстрат соединяется с активным центром в нескольких местах: это обеспечивает высокую избирательность связывания (комплементарность субстрата и активного центра) и пространственную ориентацию субстрата, необходимую для катализа. В активном центре фермента различают *контактный*, или *якорный*, участок, связывающий субстрат, и *каталитический* участок, где происходит превращение субстрата после его связывания.

Контактные участки активного центра фермента специфически связывают субстраты и обеспечивают их взаимную ориентацию и сближение. Упорядоченное расположение субстратов приводит к снижению энтропии, а значит, и энергии активации процесса. Функциональные группы аминокислотных остатков, входящих в активный центр фермента, могут проявлять кислотно-основные свойства, т. е. фермент может играть роль акцептора или донора протонов, что невозможно для обычных катализаторов. После закрепления субстрата в активном центре на его молекулу воздействуют электрофильные и нуклеофильные группы каталитического участка. Это вызывает перераспределение электронной плотности и разрыв связей в молекуле субстрата, атакуемого кислотно-основными группами. До присоединения к ферменту субстрат имеет «расслабленную» конфигурацию. После связывания с активным центром молекула субстрата как бы растягивается («напряженная», или «деформированная», конфигурация). Места деформации легче атакуются реагентами.

3. Образование ES-комплекса. Это наиболее быстрая стадия ферментативного катализа, в результате которой молекула субстрата химически модифицируется, что приводит к образованию переходных форм комплекса.

4. Преобразование ES-комплекса в один или несколько активированных фермент-субстратных переходных комплексов. Эта стадия самая медленная и обычно лимитирует скорость всего ферментативного катализа; она связана с ослаблением химических связей в субстрате, их разрывом и образованием новых связей в результате взаимодействия с каталитическими группами фермента. Именно благодаря образованию активированных переходных комплексов снижается энергия активации процесса. Если для ферментов характерен ковалентный тип катализа, который протекает за счет образования ковалентных связей между каталитическими группами активного центра и группами субстрата, то соответствующие промежуточные ковалентные фермент-субстратные комплексы очень неустойчивы и легко распадаются с выделением продуктов реакции.

5. Отделение продуктов реакции от активного центра и их диффузия в окружающее пространство. Эта стадия непродолжительная, как и первая, и определяется скоростью диффузии продуктов реакции в окружающую среду.

Нужно отметить, что физико-химические механизмы действия ферментов еще во многом неясны, поэтому исследование этих механизмов — одна из важнейших задач энзимологии.



## 2.6. КИНЕТИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

Выявление кинетических закономерностей протекания ферментативных реакций составляет одну из самых актуальных проблем энзимологии. Исследование кинетики биокатализа в целом направлено на установление зависимости скорости ферментативных процессов от химической природы ферментов, а также на изучение условий взаимодействия субстратов с ферментами. Иначе говоря, кинетика биокатализа позволяет понять природу молекулярных механизмов действия различных факторов на скорость ферментативных процессов.

Основные представления о принципах биокатализа возникли еще в начале XX в., а позднее были развиты Л. Михаэлисом и М. Ментен, а также Дж. Бриггсом и Дж. Холдейном.

В 1913 г. немецкий ученый Л. Михаэлис и его ассистентка М. Ментен предположили, что механизм каталитического действия ферментов в общем случае заключается в образовании между ферментом и субстратом промежуточных соединений, претерпевающих в ходе реакции последовательные превращения вплоть до образования конечных продуктов и регенерации фермента. В простейшем случае описание кинетики ферментативной реакции представляют в виде следующей двухстадийной схемы:



где E — фермент (энзим); S — субстрат; ES — фермент-субстратный комплекс; P — продукт реакции;  $k_1$ ,  $k_{-1}$  и  $k_2$  — соответствующие кинетические константы.

Выведем уравнение, описывающее кинетику данной двухстадийной реакции, используя принцип квазистационарности. В ходе реакции фермент в реакционной смеси существует в двух формах: свободной (E) и в составе фермент-субстратного комплекса (ES); суммарная концентрация этих двух форм будет равна начальной концентрации фермента  $[E]_0$ :

$$[E]_0 = [E] + [ES]. \quad (2.1)$$

Скорость образования продукта реакции (P) прямо пропорциональна концентрации ES-комплекса:

$$r = k_2[ES]. \quad (2.2)$$

При насыщающей концентрации субстрата (т. е. тогда, когда все активные центры фермента заняты молекулами субстрата) практически весь фермент находится в составе комплекса ES, т. е.  $[ES] = [E]_0$ . Скорость реакции при насыщающей концентрации субстрата максимальна и выражение для нее имеет следующий вид:

$$r_{\max} = k_2[E]_0. \quad (2.3)$$

Концентрация ES-комплекса определяется балансом скорости его образования в реакции с константой  $k_1$  и распада в реакциях с константами  $k_{-1}$  (обратная реакция) и  $k_2$ :

$$r_{\text{обр}} = k_1[E][S] = k_1([E]_0 - [ES]); \quad (2.4)$$

$$r_{\text{расп}} = k_{-1}[ES] + k_2[ES] = (k_{-1} + k_2)[ES]. \quad (2.5)$$

Концентрация фермента в физиологических условиях значительно ниже концентрации субстрата. Для кинетического описания ферментативных реакций принимают, что в этих условиях устанавливается квазистационарный режим протекания реакции, т. е. скорость образования ES-комплекса ( $r_{\text{обр}}$ ) равна скорости его распада ( $r_{\text{расп}}$ ):

$$k_1([E]_0 - [ES]) = (k_{-1} + k_2)[ES]. \quad (2.6)$$

Преобразуя это выражение и решая его относительно  $[ES]$ , получаем:

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}. \quad (2.7)$$

Решая совместно уравнения (2.2), (2.3) и (2.7) относительно  $r$ , получаем уравнение, описывающее зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, называемое *уравнением Михаэлиса—Ментен*:

$$r = \frac{r_{\text{max}}[S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}. \quad (2.8)$$

Отношение суммы констант скоростей реакций, в которых фермент-субстратный комплекс распадается, к константе скорости реакции, в которой он образуется, называют *константой Михаэлиса*  $K_M$ :

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}. \quad (2.9)$$

Если  $k_{-1} > k_2$ , то на первой стадии ферментативной реакции с течением времени устанавливается равновесие (квазиравновесный режим протекания реакции), и в выражение для скорости ферментативной реакции входит уже не константа Михаэлиса, а *субстратная константа*  $K_S$ , характеризующая взаимодействие фермента с субстратом в равновесных условиях:

$$r = \frac{r_{\text{max}}[S]}{K_S + [S]}; \quad K_S = \frac{k_{-1}}{k_2} = \frac{[E][S]}{[ES]}. \quad (2.10)$$

По значению  $K_S$  судят о химическом сродстве субстрата к ферменту.

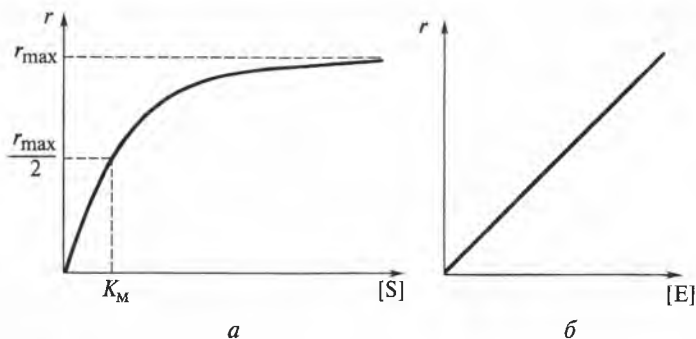


Рис. 2.5. Зависимости скорости ферментативной реакции  $r$  от концентрации субстрата  $[S]$  (а) и от концентрации фермента  $[E]$  (б)

График зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата имеет гиперболический вид — это так называемая *кривая Михаэлиса* (рис. 2.5, а). При высокой концентрации субстрата, когда все молекулы фермента находятся в составе фермент-субстратного комплекса (полное насыщение), скорость реакции будет максимальной ( $r_{\max}$ ). При полунасыщении, т. е. когда половина молекул фермента войдет в состав ES-комплекса, скорость реакции станет равной половине максимальной скорости ( $0,5r_{\max}$ ). Концентрация субстрата, при которой достигается данная скорость, и дает значение константы Михаэлиса (поэтому константу Михаэлиса называют также *концентрацией Михаэлиса*). Решая уравнение Михаэлиса — Ментен относительно  $K_M$ , получаем следующее выражение:

$$K_M = [S] \left( \frac{r_{\max}}{r} - 1 \right). \quad (2.11)$$

Отсюда следует, что если  $r = 0,5r_{\max}$ , то  $K_M = [S]$ , что объясняет физический смысл константы Михаэлиса.

Константа Михаэлиса выражается в единицах концентрации (как правило, в моль/л). По величине  $K_M$  судят о скорости каталитического превращения субстрата данным ферментом: чем выше  $K_M$ , тем ниже скорость реакции. В результате по значению  $K_M$  ферменты можно условно разделить на «быстрые» (с низкой  $K_M$ ) и «медленные» (с высокой  $K_M$ ). Если фермент катализирует превращение двух субстратов одновременно (двух-субстратная реакция), то для каждого из субстратов имеются собственные значения  $K_M$ , которые будут существенно различаться. У ферментов с групповой специфичностью каждому субстрату соответствует определенное значение  $K_M$ .

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента выражается наклонной прямой (рис. 2.5, б).

Существуют различные методы определения числовых значений кинетических параметров ферментативных реакций (в основном  $K_M$ ,  $r_{\max}$ ) по результатам измерения скорости реакции при различных концентрациях субстрата  $[S]$ . По гиперболической кривой, приведенной на рис. 2.5, а, можно рассчитать  $K_M$ , однако требуемое для этого значение  $r_{\max}$  трудно определить экспериментально. Поэтому используют выражение, обрат-

ное уравнению Михаэлиса — Ментен и называемое *уравнением Лайнувера — Берка*:

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{r_{\max}} + \frac{K_M}{r_{\max}[S]}. \quad (2.12)$$

График зависимости  $1/r$  от  $1/[S]$ , приведенный на рис. 2.6, а, представляет собой прямую с наклоном  $K_M/r_{\max}$ , отсекающую на оси ординат отрезок  $1/r_{\max}$ . Если прямую продолжить влево от оси ординат, то она пересечет ось абсцисс в точке  $1/K_M$ , это становится очевидным, если положить  $1/r = 0$ .

Кроме уравнения Лайнувера — Берка предложено еще несколько модифицированных вариантов уравнения Михаэлиса — Ментен, решение которых позволяет определить точные значения кинетических параметров ферментативных реакций, в частности *уравнение Эди — Хофсти*:

$$\frac{r}{[S]} = \frac{r_{\max}}{K_M} + \frac{r}{K_M}; \quad (2.13)$$

графическое решение этого уравнения в координатах  $r/[S] - r$  дает прямолинейную зависимость (рис. 2.6, б), по которой легко определяются величины  $K_M$  и  $r_{\max}$ . Также в энзимологии широко используется *уравнение Хейнса*:

$$\frac{[S]}{r} = \frac{K_M}{r_{\max}} + \frac{[S]}{r_{\max}}. \quad (2.14)$$

По уравнению Хейнса строят график в координатах  $[S]/r - [S]$  и определяют  $K_M$  и  $1/r_{\max}$  (рис. 2.6, в).

В зависимости от того, как изменяется скорость ферментативной реакции при разных концентрациях субстрата, можно судить о порядке реакции, который необходимо знать при работе с ферментами, в том числе для правильного определения их активности в лабораторных условиях. Порядок реакции может варьироваться от нулевого и выше. При нулевом

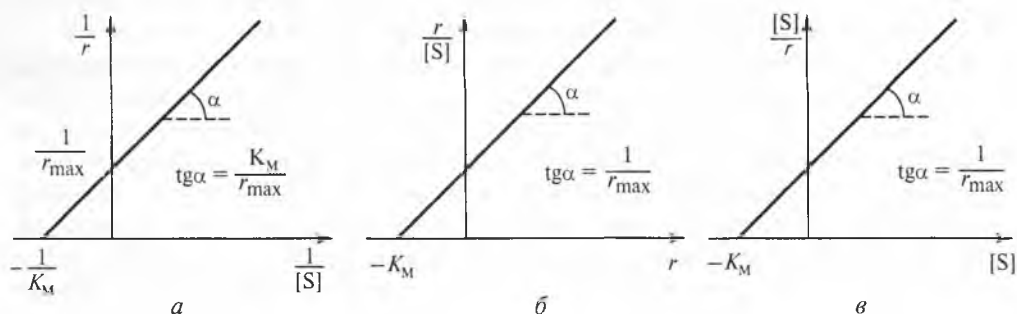
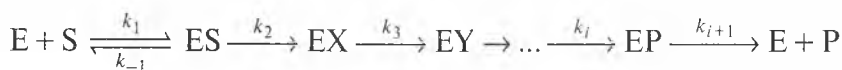


Рис. 2.6. Графики уравнений Лайнувера — Берка (а), Эди — Хофсти (б) и Хейнса (в)

порядке скорость реакции — величина постоянная, не зависит от концентрации субстрата и имеет максимальное значение. При первом порядке скорость реакции прямо пропорциональна концентрации субстрата. Для того чтобы правильно определить активность фермента, нужно добиться нулевого порядка реакции, т. е. определять скорость ферментативной реакции при насыщающих концентрациях субстрата. В этом случае все изменения скорости реакции будут зависеть только от количества фермента.

Для того чтобы непосредственно оценить условия работы того или иного фермента *in vivo*, необходимо знать реальные концентрации субстратов в клетках организма. В физиологических условиях ферменты почти никогда не проявляют свою максимальную активность, поскольку концентрации субстратов очень малы, т. е. далеки от насыщающих. Исключение составляют лишь ферменты класса гидролаз, поскольку вода присутствует в клетках в насыщающих количествах (за исключением тех случаев, когда структурная локализация фермента в клетке ограничивает доступ воды к активному центру).

Уравнение Михаэлиса — Ментен формально можно использовать для описания начальной стационарной скорости более сложных (в сравнении с представленным выше) ферментативных процессов. Например, для многостадийной реакции



при  $[S]_0 \gg [E]_0$  имеем следующее кинетическое описание:

$$r_{\max} = k_{i+1}[E]_0; \quad K_M = \frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1 k_2} \left( \frac{1}{k_2} + \frac{1}{k_3} + \dots + \frac{1}{k_{i+1}} \right), \quad (2.15)$$

где  $k_1, k_2, k_3, \dots, k_i$  и  $k_{i+1}$  — константы скорости соответствующих стадий процесса.

Формально уравнением Михаэлиса — Ментен можно представить также и начальную стационарную скорость многостадийной реакции, в которой все стадии обратимы. Но в этом случае значения  $r_{\max}$  и  $K_M$  окажутся весьма сложными функциями констант скоростей отдельных стадий. Подробная информация по кинетическому описанию сложных ферментативных реакций изложена в специальных руководствах.

Исследование кинетики ферментативных реакций в стационарном режиме — один из наиболее распространенных способов изучения механизма действия ферментов. При исследовании реальных ферментативных систем условие стационарности выполняется лишь приблизительно. Например, если механизм реакции включает несколько промежуточных соединений, то кинетика в строгом смысле не может быть стационарной, т. е. ни в какой момент времени не может быть достигнуто условие  $r_{\text{обр}} = r_{\text{расп.}}$ . Более детальную информацию о механизме ферментативной реакции с участием ряда промежуточных соединений дает изучение процесса в нестационарном режиме. Именно поэтому в последнее время исследо-

вания нестационарной кинетики ферментативных реакций получили широкое развитие. Кинетическое описание реакции ферментативного катализа в нестационарном режиме связано с определенными математическими трудностями, такими, как решение систем дифференциальных и алгебраических уравнений. Эти трудности преодолеваются путем решения этих уравнений численными методами интегрирования и аналитическими методами, при этом используются определенные упрощения для трансформации дифференциальных систем в линейную систему уравнений.

Если нестационарный режим протекания реакции может выходить на стационарный режим, продолжительность которого зависит от начальной концентрации субстрата, то в таком случае кинетику ферментативных реакций рассматривают в предстационарном режиме.

В последнее время широкое применение получили также релаксационные методы исследования кинетики ферментативных реакций. Они основаны на принципе, предполагающем, что при быстром внешнем воздействии на систему (изменение температуры, давления, электрического поля) время, необходимое системе для достижения нового стационарного состояния, зависит от скорости химической реакции (или иногда от скорости диффузии реагентов). Переход системы к новым стационарным концентрациям реагентов называется «химической релаксацией». Если отклонение от равновесия, вызванное внешним воздействием, невелико, то кинетику релаксации можно описать с помощью дифференциальных уравнений с постоянными коэффициентами. Релаксационные методы, используемые для исследования быстрых химических реакций в растворах, имеют высокую разрешающую способность. Так, например, метод поглощения ультразвука обнаруживает время разрешения вплоть до наносекундного диапазона. Именно поэтому релаксационная кинетика широко используется при исследовании механизмов ферментативных реакций.

Но все же для многих ферментативных реакций условие квазистационарности может выполняться приближенно. Для этого достаточно, чтобы абсолютные значения скоростей образования и распада промежуточных соединений были малы (но не обязательно равны нулю) по сравнению с абсолютными значениями скоростей расходования субстрата и образования продукта. Поскольку на практике данное условие выполняется довольно часто, стационарная кинетика находит широкое применение при исследовании ферментативных реакций.

**Определение концентрации активных центров ферментов.** При изучении механизмов ферментативных реакций возникает необходимость в определении концентрации активных центров в молекулах ферментов. Для этой цели используется несколько подходов.

1. **Определение по содержанию белка.** Если известно, что фермент содержит только один активный центр на молекулу белка и в растворе не содержится других белков (раствор гомогенен по белку), то концентрацию активных центров можно определить, исходя из содержания белка в растворе:

$$[E]_0 = c/M,$$

где  $[E_0]$  — концентрация активных центров;  $c$  — концентрация белка, г/л;  $M$  — молярная масса белка, г/моль.

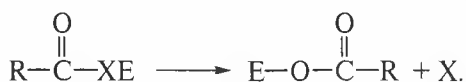
2. **Определение по коферменту.** Если белковая часть фермента образует прочный комплекс с простетической группой (коферментом), то последняя может служить в качестве «метки» при определении концентрации активных центров. Например, для ферментов, образующих прочный комплекс с гемом (цитохромы и др.), определение концентрации активных центров сводится к определению содержания в растворе гема или его производных.

3. **Определение путем обратимого ингибирования.** Если для фермента известен необратимый ингибитор (I), блокирующий активный центр, то может быть использован удобный метод определения концентрации активных центров, основанный на измерении остаточной активности фермента после его инкубации с различными концентрациями ингибитора:

$$r_{\text{нач}} = k_{\text{нач}}([E]_0 - [I]_0).$$

При  $[E]_0 = [I]_0$  значение  $r_{\text{нач}} = 0$ , и точка пересечения прямолинейной зависимости наблюдаемой скорости от концентрации ингибитора с осью абсцисс дает значение концентрации активных центров.

4. **Использование субстратов, стехиометрически образующих малореакционноспособный интермедиат.** Если взаимодействие фермента с субстратом связано со стехиометрическим образованием устойчивого интермедиата и промежуточного продукта, то концентрация активных центров может быть определена по концентрации промежуточного продукта. Так, гидролиз *n*-нитрофенильных эфиров алифатических или ароматических кислот под действием *сериновых протеаз* сопряжен с образованием ацилфермента и стехиометрическим образованием *n*-нитрофенола (X):



Дальнейший гидролиз ацилфермента протекает относительно медленно, поэтому, определив концентрацию X (например, спектрофотометрическим методом), можно определить и концентрацию активных центров фермента.

## 2.7. ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СКОРОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

Так же как и скорость любых химических превращений, скорость ферментативных реакций зависит от многих факторов. Основными из них являются следующие: *время протекания* ферментативной реакции (*время инкубации*), *температура* и *pH* окружающей среды, присутствие особых веществ — *модификаторов* фермента (*ингибиторов* и *активаторов*). Рас-

смотрим влияние перечисленных факторов на скорость ферментативных реакций.

**Время протекания.** По мере того как время инкубации фермента увеличивается, скорость реакции снижается. Это может происходить по различным причинам, главными из которых являются: уменьшение концентрации субстрата, увеличение скорости обратной реакции (в результате накопления продукта), ингибирование фермента продуктом реакции, денатурация фермента. При кинетических исследованиях проводят измерения начальной скорости реакции.

**Температура.** Согласно правилу Вант-Гоффа для химических реакций повышение температуры на  $10^{\circ}\text{C}$  приводит к увеличению скорости реакции в 2—4 раза. Скорость ферментативной реакции с повышением температуры увеличивается, достигая максимума при некоторой оптимальной температуре (*температурный оптимум фермента*), а затем падает до нуля (рис. 2.7, а). Следует заметить, что температурный коэффициент увеличения скорости для ферментативных реакций меньше, чем для обычных химических реакций: при увеличении температуры на каждые  $10^{\circ}\text{C}$  скорость возрастает не более чем в два раза.

Снижение скорости реакции до нуля вызвано инактивацией фермента вследствие денатурации его белковой части. Большинство ферментов инактивируется при температурах  $40—50^{\circ}\text{C}$ . Отдельные ферменты инактивируются при температурах, близких к  $0^{\circ}\text{C}$ . Высокой термостабильностью отличаются ферменты, являющиеся гликопротеинами, поскольку углеводный фрагмент придает белку термоустойчивость. Такие ферменты работают в микроорганизмах, обитающих в горячих источниках.

Изучение влияния температуры на скорость ферментативных реакций очень важно для понимания процессов жизнедеятельности. При понижении температуры некоторые животные впадают в состояние анабиоза за счет снижения скорости ферментативных реакций, в результате чего обеспечивается малый расход накопленных в клетках веществ. Искусственное охлаждение организма (гибернация) используется в клинике при проведении хирургических операций, так как позволяет снизить расход веществ и сохранить жизнеспособность клеток. Повышение температуры тела при инфекционных заболеваниях ускоряет биохимические реакции в клетках, мобилизуя защитные функции организма, однако расточительное использование эндогенных ресурсов требует их восполнения за счет поступления с пищей. Кроме того, уже при температуре порядка

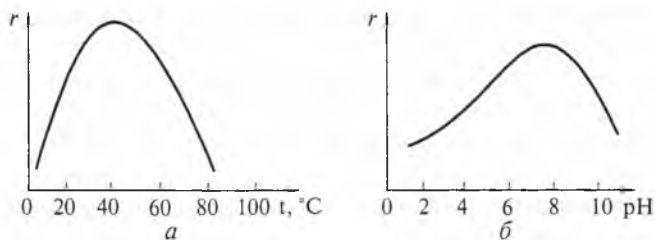


Рис. 2.7. Зависимости скорости ферментативной реакции от температуры (а) и рН среды (б)



40 °С часть термолабильных ферментов теряет свою активность, что нарушает ход биохимических реакций, тем самым «обезоруживая» организм в химической битве с микроорганизмами. Сведения о термостабильности ферментов используются в практике для разработки температурных режимов хранения продуктов.

**рН среды.** Изменение рН среды приводит к изменению степени ионизации кислотных и основных групп как активного центра фермента, так и самого субстрата. Следовательно, изменение рН влияет на сродство субстрата к активному центру фермента и на каталитический механизм реакции. Обычно зависимость скорости ферментативной реакции от рН среды имеет колоколообразную форму (рис. 2.7, б), поскольку для каждого фермента существует свое оптимальное значение рН, при котором фермент проявляет наибольшую каталитическую активность — *оптимум рН фермента*. Ниже приведены оптимумы рН для некоторых ферментов:

Фермент	Оптимум рН
Пепсин .....	2,0
Сахараза .....	4,5
Энтерокиназа .....	5,5
Амилаза слюны .....	6,8
Каталаза .....	7,6
Химотрипсин .....	7,0—8,0
Липаза поджелудочной железы .....	9,0
Аргиназа .....	9,7

Значение рН в оптимуме отвечает наилучшему связыванию субстрата ферментом и наибольшей скорости катализа. Оптимум рН для большинства ферментов лежит в пределах от 6 до 8, однако есть и исключения: например, пепсин имеет наибольшую активность при рН около 2. Количественное определение активности ферментов проводят при оптимальном для данного фермента значении рН.

## 2.8. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Как отмечалось выше, ферменты являются катализаторами с регулируемой активностью. Регуляция активности ферментов является основным механизмом контроля за скоростью реакций, протекающих в биологических системах, и может осуществляться путем взаимодействия ферментов с *модификаторами* (как правило, это небольшие специфические молекулы и ионы), ускоряющими (*активаторы*) или замедляющими (*ингибиторы*) скорость ферментативной реакции. Прежде чем рассмотреть механизмы активации и ингибирования ферментов, следует обратить внимание на способы количественного выражения активности ферментов.

**Активность ферментов.** Для определения активности ферментов пользуются *международными единицами* (МЕ), основанными на линейной зависимости скорости реакции от количества фермента. За международную единицу активности фермента принимают такое его количество, которое

катализирует превращение 1 мкмоль субстрата за 1 мин. Число единиц фермента ( $nE$ ) в тканях организма определяют по следующей формуле:

$$nE = \frac{P}{mt},$$

где  $P$  — количество образовавшегося продукта, мкмоль;  $m$  — навеска ткани, г;  $t$  — время инкубации, мин.

Например, для определения активности *лактатдегидрогеназы* было взято 100 мг печени. Эту навеску инкубировали в течение 15 мин в растворе субстрата и обнаружили, что образовалось 210 мкмоль продукта, следовательно, в 1 г печени содержится  $210/(0,1 \cdot 15) = 140$  ед. лактатдегидрогеназы.

С 1973 г. введена для использования новая единица ферментативной активности — *катал* (*кат*). Она соответствует количеству фермента, способного превращать 1 моль субстрата за 1 с. Международная единица ферментативной активности связана с каталом следующим образом:

$$\begin{aligned} 1 \text{ кат} &= 1 \text{ моль субстрата/с} = 60 \text{ моль/мин} = \\ &= 60 \cdot 10^6 \text{ мкмоль/мин} = 6 \cdot 10^7 \text{ МЕ.} \end{aligned}$$

Часто находят *удельную активность* ферментов, которая определяется как отношение числа единиц фермента в образце к его массе. Например, если в 1 г ткани печени содержится 140 ед. лактатдегидрогеназы и 200 мг белка, то удельная активность фермента равна  $140/200 = 0,7$  мкмоль/(мин · мг). Удельной активностью часто пользуются при очистке ферментов: по мере удаления посторонних белков доля выделяемого фермента в препарате увеличивается, следовательно, возрастает его удельная активность. По возрастанию удельной активности оценивают эффективность отдельных стадий очистки.

Используют также понятие *молярной активности*, которая указывает, сколько молекул субстрата превращается одной молекулой фермента за 1 мин. Молярная активность численно равна отношению числа единиц фермента в образце к количеству фермента, выраженному в микромолях. Например, в растворе *фумаразы* обнаружено 240 ед. фермента (в мкмоль/мин), а его содержание составляет 0,002 мкмоль, тогда молярная активность фумаразы будет равна  $240/0,002 = 12 \cdot 10^4 \text{ мин}^{-1}$ . Значения молярной активности некоторых ферментов представлены ниже:

Фермент	Молярная активность, $\text{мин}^{-1}$
Карбоангидраза .....	$36 \cdot 10^6$
Каталаза .....	$1,2 \cdot 10^6$
$\beta$ -Амилаза .....	$1,1 \cdot 10^6$
Фумараза .....	$1,2 \cdot 10^3$
Фосфоглюкомутаза .....	$1,24 \cdot 10^3$
Сукцинатдегидрогеназа .....	$1,15 \cdot 10^3$

**Активация ферментов.** Активация ферментов — это увеличение скорости биохимической реакции в результате действия активаторов, в роли

которых могут выступать соединения различной природы: коферменты (кофакторы), ионы металлов и субстраты.

Кофакторы являются не только структурными элементами ферментов, но и их активаторами. Активация кофакторами объясняется спецификой их участия в связывании субстрата и собственно в катализе. Особенно заметно активирующее влияние кофакторов при действии на фермент, который не насыщен кофакторами.

Ионы металлов являются довольно специфичными активаторами. Часто для некоторых ферментов требуются ионы не одного, а нескольких металлов. Например, для фермента  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза, который осуществляет перенос однозарядных катионов через клеточные мембраны, в качестве активаторов необходимы ионы магния, натрия и калия. Активация ионами металлов осуществляется по разным механизмам. В некоторых ферментах они входят в состав каталитического участка. В ряде случаев ионы металлов облегчают присоединение субстрата к активному центру фермента за счет образования дополнительных связей. Иногда ион металла соединяется с субстратом, образуя своеобразный металлосубстратный комплекс, который предпочтителен для действия фермента.

В случае активации фермента самим субстратом активность фермента после достижения насыщающей концентрации субстрата не возрастает. Субстрат как активатор повышает стабильность фермента и облегчает формирование необходимой конформации активного центра фермента.

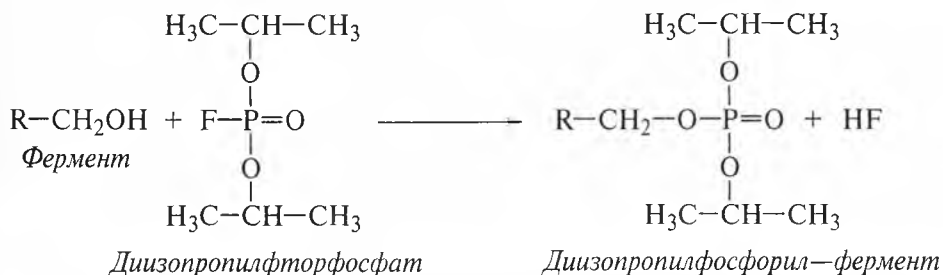
Для протеолитических ферментов характерен механизм активации путем *частичного протеолиза*, т. е. отщепления части полипептидной цепи фермента в результате неферментативного или ферментативного гидролиза. Такой способ активации имеет очень важное физиологическое значение для пищеварительных ферментов, которые образуются из неактивных форм (*проферментов*) именно благодаря механизму активации частичным протеолизом (см. главу 12).

**Ингибирование ферментов.** *Ингибирование ферментов* представляет большой практический интерес для понимания механизмов ферментативного катализа, строения активных центров ферментов и является инструментом изучения роли отдельных химических реакций при расшифровке механизма действия различных ингибиторов, например лекарственных препаратов, ядохимикатов и др.

Следует различать смысл терминов «ингибитор» и «инактиватор». Об «инактивации» правильнее говорить в случае торможения реакции под действием агентов, денатурирующих фермент. Но следует отметить, что нередко вещество в небольших концентрациях является ингибитором, а в больших — инактиватором.

Процесс ингибирования ферментов может носить как обратимый, так и необратимый характер. При *необратимом ингибировании* ингибитор настолько прочно связывается с ферментом, что это вызывает стойкие (необратимые) изменения его активности. Примером необратимого ингибирования может служить действие нервно-паралитических ядов на *ацетилхолинэстеразу*, играющую важную роль в процессах передачи нервных импульсов. Например, одно из таких отравляющих веществ — диизопропилфторфосфат — взаимодействует с остатком серина в активном

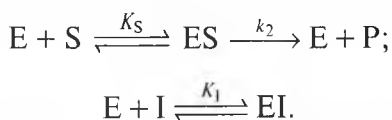
центре фермента с образованием прочного неактивного комплекса диизопропилфосфорил — фермент:



При обратимом ингибировании равновесие между ингибитором и ферментом устанавливается довольно быстро. Комплекс фермент — обратимый ингибитор довольно лабилен, вследствие чего быстро диссоциирует, при этом активность фермента восстанавливается. Примером обратимого ингибирования является образование молекулярного комплекса оксида углерода СО с гемом гемоглобина, который может быть разрушен введением в организм избытка кислорода.

Классическими вариантами ингибирования являются: *конкурентное, неконкурентное, бесконкурентное и субстратное ингибирование.*

**Конкурентное ингибирование.** Конкурентные ингибиторы вызывают торможение ферментативной реакции за счет структурного сходства молекулы ингибитора с молекулой субстрата. В этом случае ингибитор и субстрат, будучи схожими по строению, конкурируют между собой за активный центр фермента. Ингибирование наступает вследствие того, что ингибитор в силу большего стехиометрического соответствия связывает часть молекул фермента в *ингибитор-ферментные* комплексы, лишая тем самым субстрат возможности взаимодействовать с истинным ферментом. Общую схему конкурентного ингибирования можно представить так:

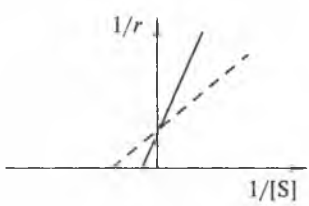
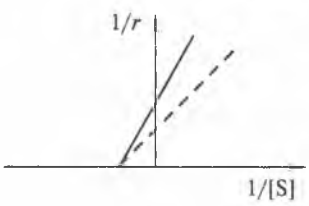
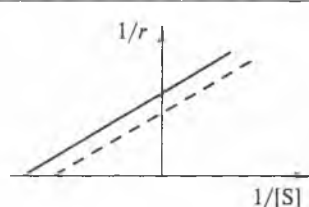


Скорость ферментативной реакции в случае полного конкурентного ингибирования будет определяться из следующего уравнения:

$$r = \frac{k_2[\text{E}]_0[\text{S}]_0}{K_S \left( 1 + \frac{[\text{I}]}{K_I} \right) + [\text{S}]_0}$$

В этом случае зависимость в координатах Лайнувера — Берка имеет вид пучка прямых, пересекающихся в точке на оси ординат (табл. 2.5). В этом уравнении  $K_I$  — константа конкурентного ингибирования, т. е. константа диссоциации комплекса фермент — ингибитор (EI), которая отражает срод-

Таблица 2.5. Влияние типа ингибирования на кинетические параметры ферментативных реакций и вид графика Лайнувера — Берка\*

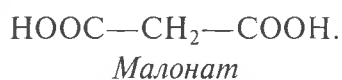
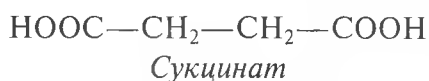
Тип ингибирования	$r_{\max}$	$K_M$	График Лайнувера — Берка			
			наклон	отрезок на оси ординат ( $1/r_{\max}$ )	точка пересечения	вид графика**
Конкурентный	Const	$\uparrow$	$\uparrow$	Const	На оси ординат	
Неконкурентный	$\downarrow$	Const	$\uparrow$	$\uparrow$	На оси абсцисс	
Бесконкурентный	$\downarrow$	$\downarrow$	Const	$\uparrow$	Не пересекаются	

\* Условные обозначения: Const,  $\uparrow$  и  $\downarrow$  — числовое значение остается постоянным, возрастает и убывает соответственно.

\*\* Штриховая линия соответствует реакции без ингибитора, сплошная — с ингибитором.

ство ингибитора к ферменту: чем меньше  $K_I$ , тем сильнее действие ингибитора.

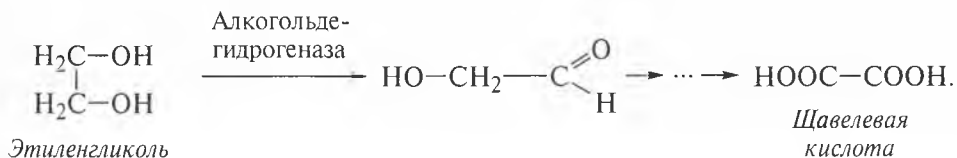
Классическим примером конкурентного ингибирования является действие малоната на *сукцинатдегидрогеназу* — фермент, отщепляющий от сукцината ионы водорода. Малонат отличается от сукцината лишь тем, что содержит вместо двух одну метиленовую группу:



Снять конкурентное ингибирование можно избытком субстрата, вытесняющего ингибитор из активных центров фермента и тем самым повышающего его активность.

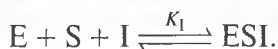
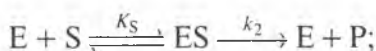
Избирательно выключая тот или иной фермент, можно проводить своеобразный анализ участия конкретного фермента в обмене веществ. Явление конкурентного ингибирования открывает возможности для поиска антиметаболитов — конкурентных ингибиторов, перспективных в качестве специфических лекарственных веществ. Таким способом были открыты сульфаниламидные препараты, молекулы которых сходны по структуре с *n*-аминобензойной кислотой (ПАБК), используемой бактериями для синтеза фолиевой кислоты — кофактора бактериальных ферментов. Замена ПАБК на молекулу сульфаниамида останавливает синтез фолиевой кислоты, блокируя развитие последующих метаболических стадий.

Использование механизмов конкурентного ингибирования довольно успешно применяется в медицинской практике. Так, например, щавелевая кислота является сильнейшим ядом для организма человека. Она образуется в результате окисления этиленгликоля, применяемого в качестве добавки в антифриз для автомобильных двигателей. При отравлении этиленгликолем ежегодно в мире погибает около 50 человек. Этиленгликоль окисляется в щавелевую кислоту в несколько этапов, первый из которых заключается в окислении этиленгликоля до альдегидного производного:



Данная реакция катализируется ферментом *алкогольдегидрогеназой*. Эту реакцию можно эффективно затормозить путем введения большой, почти токсической дозы этанола. Этанол является конкурентным ингибитором алкогольдегидрогеназы и тем самым предотвращает окисление этиленгликоля в альдегидное производное. В результате этиленгликоль выводится, не причиняя вреда организму. Этот же принцип лежит в основе лечения отравлений метанолом (см. главу 16).

**Неконкурентное ингибирование.** *Неконкурентное ингибирование* вызывается веществами, не имеющими структурного сходства с субстратом и связывающимися с каталитическими группами активного центра или с другими фрагментами молекулы фермента таким образом, что это затрагивает структуру каталитического центра, мешая взаимодействию с ним субстрата. Неконкурентное ингибирование приводит к образованию тройного комплекса *фермент — субстрат — ингибитор* (ESI), однако дальнейшего превращения этого комплекса в продукты не происходит:



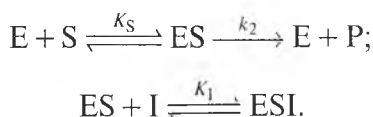
В случае полного неконкурентного ингибирования выражение для начальной скорости ингибируемой реакции имеет следующий вид:

$$r = \frac{k_2[E]_0[S]_0}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)(K_S + [S]_0)}.$$

Зависимость в координатах Лайнувера — Берка представляет собой пучок прямых, пересекающихся на оси абсцисс (см. табл. 2.5).

Примером неконкурентного ингибитора являются анионы  $\text{CN}^-$ , которые прочно связываются ионом  $\text{Fe}^{3+}$ , входящим в каталитический участок геминового фермента — *цитохромоксидазы*. Блокада этого фермента выключает дыхательную цепь, и клетка погибает. Токсичность действия ионов тяжелых металлов (ртути, свинца, кадмия, мышьяка) и их органических соединений также обусловлена неконкурентным ингибированием, механизм которого заключается в блокировании сульфгидрильных групп каталитического участка фермента (подробнее о токсическом действии различных ионов металлов см. в главе 4). Снять действие неконкурентного ингибитора избытком субстрата нельзя, это можно сделать лишь веществами, прочно связывающими ингибитор, — *реактиваторами* (рис. 2.8).

**Бесконкурентное ингибирование.** *Бесконкурентным ингибированием* называется торможение ферментативной реакции, вызванное присоединением ингибитора только к комплексу *фермент — субстрат* с образованием «тупикового» продукта EIS:



Такой ингибитор не присоединяется к ферменту в отсутствие субстрата и даже способен облегчать присоединение субстрата, а затем, связываясь, сам инактивирует фермент. В случае бесконкурентного ингибирования скорость ферментативной реакции описывается более сложным уравнением, чем в случае конкурентного и неконкурентного типов ингиби-

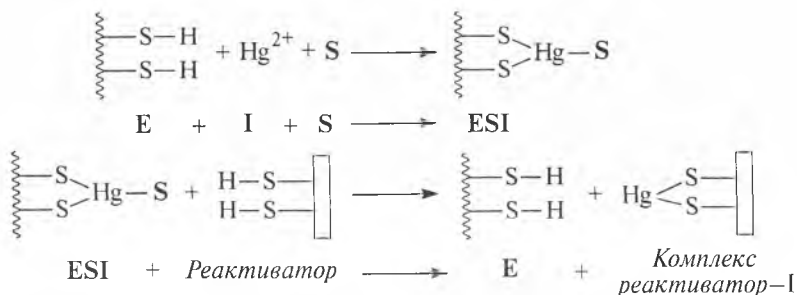
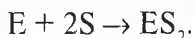


Рис. 2.8. Схема действия неконкурентного ингибитора ( $\text{Hg}^{2+}$ ) и механизм реактивации фермента

рования. В случае бесконкурентного ингибирования график зависимости в координатах Лайнувера — Берка имеет вид семейства параллельных прямых (см. табл. 2.5).

**Субстратное ингибирование.** *Субстратным ингибированием* называется торможение ферментативной реакции, вызванное избытком субстрата. Такое ингибирование происходит вследствие образования фермент-субстратного комплекса, не способного подвергаться дальнейшим каталитическим превращениям. Схема субстратного ингибирования выглядит следующим образом:



Комплекс  $ES_2$  непродуктивен и делает молекулу фермента неактивной.

**Аллостерическая регуляция ферментативной активности.** *Аллостерический тип регуляции* активности характерен для особой группы ферментов с четвертичной структурой, имеющих регуляторные центры для связывания *аллостерических эффекторов* (ингибиторов или активаторов). Механизм действия аллостерических эффекторов заключается в изменении конформации активного центра, затрудняющем или облегчающем превращение субстрата. Некоторые ферменты имеют несколько аллостерических центров, чувствительных к различным эффекторам. Роль аллостерического эффектора зачастую выполняют метаболиты, гормоны, ионы металлов, коферменты, а иногда и молекулы субстрата. Аллостерические ферменты отличаются от прочих ферментов особой S-образной кривой зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата (рис. 2.9). Такой характер зависимости свидетельствует о том, что активные центры субъединиц функционируют кооперативно, т. е. сродство каждого следующего активного центра к субстрату определяется степенью насыщения предыдущих центров.

В качестве примера аллостерического фермента можно привести *карбомоилфосфатсинтетазу II*, катализирующую начальную стадию биосинтеза *уридинтрифосфата* (УТФ) — предшественника пуриновых нуклеотидов *in vivo*. Конечный продукт биосинтеза — УТФ является аллостерическим ингибитором карбомоилфосфатсинтетазы II, вследствие чего скорость первой стадии процесса биосинтеза УТФ регулируется самим же УТФ по принципу отрицательной обратной связи. Чем больше концентрация УТФ, тем меньше скорость первой стадии, а значит, и всех остальных реакций, которые затормаживаются вследствие недостаточного количества субстратов.

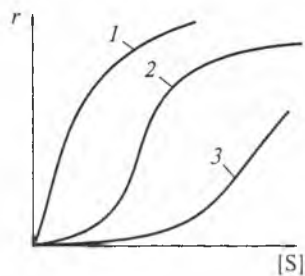


Рис. 2.9. Зависимость скорости реакции  $r$  от концентрации субстрата  $[S]$  при аллостерической регуляции активности фермента:

1 — в присутствии обычного активатора; 2 — в присутствии аллостерического активатора; 3 — в присутствии обычного ингибитора



Различают *гетеротропные* и *гомotropные* аллостерические эффекторы (ингибиторы и активаторы). Гетеротропные эффекторы отличаются по своей химической структуре от субстрата, примером чему может служить УТФ как аллостерический ингибитор карбомиилфосфатсинтетазы II. Гомотропная аллостерическая регуляция осуществляется самим субстратом: присоединение субстрата к одному протомеру фермента изменяет конформацию всего белка, при этом может изменяться и активность других протомеров.

Аллостерические механизмы регуляции характерны не только для ферментов, но и для других белков. В частности, транспорт кислорода гемоглобином регулируется по механизму гомотропной аллостерической активации: молекула кислорода, присоединившаяся к одной субъединице гемоглобина, увеличивает сродство к кислороду других субъединиц.

## 2.9. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ

Ферменты имеют очень важное биологическое значение, ибо практически каждая химическая реакция катализируется тем или иным ферментом. Не зря биохимики подтрунивают над поэтами, воспевающими венцы творения природы — человека, говоря, что «человек — всего лишь котел, в котором варятся, вступая в различные реакции, несколько тысяч ферментов».

Ферменты обнаруживаются практически во всех клетках организма, причем распределение тех или иных ферментов в клетках зависит от биологической функции конкретной ткани, конкретного органа. Так, например, клетки печени содержат набор ферментов, необходимых для синтеза мочевины, клетки коры надпочечников содержат ферменты, синтезирующие стероидные гормоны. Некоторые ферменты необходимы только одному-двум органам. Например, фермент *гистидаза* содержится только в печени и коже, *кислая фосфатаза* — преимущественно в предстательной железе. В то же время ферменты, которые участвуют в жизнеобеспечении самой клетки (в биосинтезе нуклеиновых кислот и белков, сборке клеточных органелл, катализе каскадов реакций, обеспечивающих энергетический обмен, и т. д.), присутствуют во всех органах и тканях.

Внутри клеток можно выделить области (*компартаменты*), различающиеся по набору ферментов, а следовательно, и по особенностям протекающих в них биохимических реакций. В приведенной ниже таблице показана локализация некоторых ферментов в клетке:

Органеллы	Ферменты и ферментативные комплексы
Цитозоль	Ферменты гликолиза Ферменты пентозофосфатного пути окисления углеводов Ферменты активации аминокислот для биосинтеза белка Ферменты синтеза жирных кислот Фосфоорилаза Гликогенсинтетаза

Органеллы	Ферменты и ферментативные комплексы
Митохондрии	Пируватдегидрогеназный комплекс ферментов Ферменты цикла Кребса Ферменты окисления жирных кислот Ферменты биологического окисления и окислительного фосфорилирования
Лизосомы	Кислые гидролазы
Микросомы	Ферменты синтеза белков Ферменты синтеза фосфолипидов, триацилглицеринов и др. Гидроксилазы
Плазматическая мембрана	Аденилатциклаза, $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -зависимая АТФаза
Ядро	Ферменты синтеза ДНК, РНК НАД-синтетаза

Многие ферменты в клетке организованы в так называемые *мультиферментные системы* (ансамбли). Они либо связаны с клеточными структурами, либо находятся в свободном состоянии в различных органеллах клетки. Мультиферментные ансамбли включают в себя десятки различных ферментов и катализируют превращения многих субстратов, составляющих биохимические циклы (например, цикл Кребса).

Собственно *метаболизм*, т. е. совокупность химических реакций в живых организмах, является результатом действия ферментов. В клетке содержится большое количество различных веществ, которые находятся в постоянном взаимодействии. Причем, как правило, одно вещество участвует в немногих реакциях, а часто — только в одной. Например, первая реакция метаболического цикла лимонной кислоты (цикл Кребса) — конденсация ацетильного остатка (из ацетил-КоА) и щавелевоуксусной кислоты — приводит к образованию лимонной кислоты. Эта реакция катализируется ферментом *цитратсинтазой*. Следующая — реакция изомеризации лимонной кислоты в изолимонную — катализируется ферментом *аконитазой* и т. д. Следовательно, при отсутствии того или иного фермента невозможно образование промежуточных соединений этого цикла. Таким образом, ферментативный катализ в клетке служит инструментом отбора определенных реакций из множества возможных, такой целенаправленный отбор является важным этапом биологической эволюции.

Существуют также ферменты, способные катализировать одну и ту же реакцию, но различающиеся по ряду свойств (активности и др.). Такие ферменты называют *изоферментами*. Например, ферменты *глюкокиназа* и *гексокиназа* катализируют превращение глюкозы в глюкозо-6-фосфат, но различаются по значению константы Михаэлиса, а также по локализации в организме: глюкокиназа — это фермент печени, а гексокиназа обнаруживается в печени, мышцах и других органах. Физиологическое значение этих ферментов состоит в том, что глюкокиназа, обладая низким сродством к глюкозе (по сравнению с гексокиназой), обеспечивает протекание реакции при высоких концентрациях глюкозы, а гексокина-

за — при низких. Тем самым предотвращается чрезмерное повышение концентрации глюкозы за счет поступления из печени в кровь в процессе пищеварения (см. главу 12).

## 2.10. ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ В ПРОМЫШЛЕННОСТИ, МЕДИЦИНЕ, СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

В настоящее время ферментативные процессы широко используются в различных отраслях промышленности. В хлебопекарном производстве для ускорения гидролиза крахмала и улучшения качества теста используют амилазы. При приготовлении детской пищи с целью облегчения переваривания углеводов и белков исходные продукты обрабатывают *амилазой* и *протеиназами*. Протеиназы и пектиновые ферменты используются в виноделии и при приготовлении соков. Они способствуют ускорению сокоотделения и осветлению сока. В сыроварении используют *ренин* или *химозин*, образующийся в сычуге — четвертом отделе желудка телят и ягнят молочного возраста. Амилазы используются в текстильном производстве для расшлихтовки хлопчатобумажного волокна (удаление примесей крахмала) перед отбеливанием и крашением. Для придания любимым всеми джинсам благородного потертого вида деним (джинсовую ткань) подвергают биохимической обработке *амилазой* и *целлюлазой*. Механизм ферментативной обработки денима аналогичен тому, который имеет место при ферментативном гидролизе крахмала, ведь целлюлоза (основная составляющая хлопкового волокна), как и крахмал, относится к классу полисахаридов. Причем ферменты начинают действовать с поверхностных волокон, которые окрашены индиго, в результате связь этих волокон с поверхностью ткани ослабевает, и постепенно на ткани образуются белые участки. Специфические протеиназы применяются в кожевенной промышленности с целью мягкого удаления волос с кожи, в технике — при регенерации киноплёнки. Щелочные протеазы наряду с липазами используют при производстве синтетических моющих средств.

Очень важны ферменты для химической промышленности (достаточно напомнить про высокие скорости ферментативных реакций, которые недостижимы для неферментных катализаторов). Использование ферментов наравне с другими катализаторами чрезвычайно перспективно, поэтому биокатализаторы уже сегодня начинают занимать заметное место в практике лабораторий и производств. Биокатализаторы готовят на основе целой клетки. Клетки закрепляют на полимерных или минеральных матрицах, данная процедура носит название *иммобилизация*. С помощью специальных приемов иммобилизованные клетки вынуждают действовать в строго заданном режиме. В результате получают катализатор, который способен работать в условиях, совершенно непривычных для живых организмов. В работе такого катализатора могут принимать участие сразу несколько ферментов. Например, в промышленном производстве этанола из глюкозы применяют биокатализаторы на основе клеток, в которых задействованы сразу 12 разных ферментов. Иммобилизованные ферменты являются как бы моделью структурно-организованных в клетке фермен-

**Таблица 2.6. Примеры использования иммобилизованных ферментов и клеток на их основе в разных отраслях промышленности**

Фермент или клетка	Носитель	Использование
Галактозидаза	Шарики из стекла	Безлактозное молоко
Ксилозоизомераза	Даулит А-7, амберлит IRA904	Смесь глюкозы и фруктозы
Аминоацилаза	Сефалекс	Получение чистых L-аминокислот из рацемических смесей
Клетки <i>E. coli</i> , аспаргат-аминоацилаза	Полиакриламидный гель	Получение L-аспартата
Клетки <i>E. coli</i> , пенициллинамидаза	То же	Получение 6-аминопенициллановой кислоты
Клетки <i>Brevibacterium ammoniagenes</i> , фумарат-гидратаза	»	Получение солей яблочной и фумаровой кислот

тов, поэтому они также используются для изучения свойств ферментов в составе внутриклеточных структур. Примеры использования иммобилизованных ферментов в разных отраслях промышленности приведены в табл. 2.6.

В сельском хозяйстве ферменты применяют как добавки при силосовании кормов (*целлюлолитические ферменты*), что увеличивает доступность биологических веществ и улучшает питательную ценность корма. С помощью бактериальных ферментов из нефтяных продуктов получают кормовой белок для животноводства.

Такое широкое применение ферментов в различных отраслях промышленности и сельского хозяйства потребовало разработки промышленных способов получения их в больших количествах. Сырьем для выделения ферментов чаще всего служат микроорганизмы, содержащие большое количество ферментов в активных формах. Кроме того, микроорганизмы быстро наращивают свою биомассу при разведении на селективных средах. Для их культивирования могут быть использованы дешевые питательные среды.

Некоторые ферменты находят применение в медицине как лекарственные препараты. Например, при желудочных заболеваниях, сопровождающихся снижением содержания пепсина в желудочном соке, для улучшения пищеварения назначают препараты пепсина (заместительная терапия). Разные протеолитические ферменты применяются для обработки ран: гидролизуют белки разрушенных клеток, ферменты способствуют очищению раны и уменьшению воспалительных явлений. Для лечения вирусного конъюнктивита успешно применяют глазные капли, содержащие фермент *ДНКазу*: он разрушает ДНК вируса и тем самым излечивает болезнь. Аспарагиназу применяют для лечения некоторых форм лейкозов (рак белой крови). Лечение основано на том, что аспарагин (аминокислота, необходимая для синтеза белков) в лейкозных клетках не синтезируется и клетки получают его из плазмы крови. Если ввести в кровь боль-

ного аспарагиназу, то аспарагин в плазме крови разрушается, и синтез белков в лейкозных клетках прекращается, в результате чего клетки погибают. Известны и другие ферменты, пригодные для лечения злокачественных опухолей и действующие по такому же механизму: они разрушают какое-либо вещество, необходимое для роста опухолевой ткани. Но ферментативные лекарственные препараты, как правило, быстро теряют свою активность при хранении. Чтобы повысить долговечность ферментов, их иммобилизуют, т. е. встраивают в нерастворимый носитель, что закрепляет конформацию фермента, тем самым снижая его лабильность.

## Контрольные вопросы и задания

1. Дайте определение ферментов. Изложите кратко историю их открытия. Какая наука занимается изучением ферментов?
2. Какой признак положен в основу рациональной классификации ферментов? Какие классы ферментов вам известны? В чем заключаются особенности номенклатуры ферментов?
3. Охарактеризуйте особенности структурно-функциональной организации ферментов. Какие вещества служат кофакторами ферментов?
4. В чем заключаются отличия ферментативного катализа от классического неорганического катализа?
5. Что такое групповая и абсолютная селективность действия ферментов? Приведите примеры.
6. Каков механизм действия фермента карбоксипептидазы А?
7. Назовите основные стадии механизма действия ферментов. Какие физико-химические процессы происходят на этих стадиях?
8. Выведите кинетические уравнения, описывающие протекание ферментативной реакции в квазистационарном и квазиравновесном режимах. Объясните физический смысл всех величин, входящих в полученные уравнения.
9. Выведите из уравнения Михаэлиса — Ментен выражения Лайнувера — Берка, Эди — Хофсти и Хейнса.
10. Назовите факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций, и обоснуйте их действие.
11. Как определяется концентрация активных центров в молекулах ферментов?
12. Что такое активность ферментов и как она выражается количественно?
13. Как осуществляется активация ферментов?
14. В чем заключаются различия между обратимым и необратимым типами ингибирования?
15. Перечислите классические варианты ингибирования и изложите их особенности.
16. Каким способом можно определить тип ингибирования из кинетических данных?
17. В чем состоит сущность аллостерической регуляции активности ферментов?
18. Расскажите о биологическом значении ферментов.
19. В каких отраслях народного хозяйства находят применение ферменты и почему?
20. Покажите преимущества и перспективы применения иммобилизованных ферментов.

---

## Глава 3

### Витамины

#### 3.1. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ И ИЗУЧЕНИЯ ВИТАМИНОВ

Практический опыт врачей и клинические наблюдения издавна указывали на существование ряда специфических заболеваний, вызванных неполноценностью потребляемой людьми пищи. Об этом же свидетельствовал многовековой практический опыт участников длительных путешествий. Настоящим бичом для мореплавателей долгое время была *цинга*, от которой погибало больше моряков, чем в сражениях или кораблекрушениях. История морских и сухопутных путешествий дает ряд поучительных примеров, указывающих на то, что появления цинги можно избежать, если в пищу добавлять лимонный сок или хвойный отвар.

Экспериментальное обоснование и научное обобщение этого многовекового практического опыта впервые стали возможны благодаря работам русского ученого Н. И. Лунина, изучавшего роль минеральных веществ в питании животных. Он проводил свои эксперименты на мышах, которые содержались на искусственно приготовленной пище (молочные белки и жиры, углеводы, минеральные соли, вода), и в 1880 г. пришел к выводу о том, что для обеспечения нормальной жизнедеятельности организмов животных их пища кроме основных компонентов должна содержать некоторые незаменимые вещества.

Блестящим подтверждением правильности вывода Н. И. Лунина послужило установление причины болезни *бери-бери*, широко распространенной в Японии и Индонезии среди населения, питающегося в основном полированным рисом. Проведенные исследования показали, что среди людей, питавшихся очищенным рисом, бери-бери заболевал в среднем один человек из 40, тогда как в группе людей, питавшихся неочищенным рисом, от этой болезни страдал лишь один человек из 10 000. Стало вполне очевидным, что в оболочке риса (рисовых отрубях) содержится какое-то неизвестное вещество, предохраняющее организмы человека и животных от заболевания бери-бери. В 1911 г. польский ученый К. Функ выделил это вещество в кристаллическом виде и установил, что оно содержит аминокруппу. Поэтому в 1912 г. К. Функ предложил назвать весь класс веществ, проявляющих аналогичные биохимические свойства, *витаминами* (от лат. *vita* — жизнь), т. е. «*аминами жизни*». Впоследствии открытое К. Функом вещество переименовали в *тиамин* (витамин В<sub>1</sub>) на основании того, что в его молекуле обнаружили связанные в тиазоловый цикл серу и азот. В настоящее время с химической точки зрения термин «витамины» потерял

свой смысл, так как установлено, что не все соединения данного класса содержат аминогруппу и вообще азот.

К настоящему времени открыто и изучено около 30 витаминов. Установлено химическое строение, разработаны методики синтеза витаминов, что позволило организовать их промышленное производство не только путем переработки продуктов, в которых они содержатся в готовом виде, но и путем химического и биохимического синтеза. Наука о витаминах — **витаминология** является одним из относительно молодых направлений в биохимии.

## 3.2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИТАМИНОВ

**Витамины** — это необходимые для нормальной жизнедеятельности низкомолекулярные органические соединения, синтез которых у организмов данного вида отсутствует или ограничен.

В организме человека некоторые витамины не синтезируются вообще, поэтому они должны обязательно поступать в составе пищи. Другие витамины синтезируются кишечной микрофлорой и всасываются в кровь, поэтому даже при отсутствии таких витаминов в пище организм может не испытывать в них недостатка. В пищевых продуктах могут содержаться не только сами витамины, но и вещества, являющиеся их предшественниками, — *провитамины*, которые в организме только после ряда биохимических реакций превращаются в витамины. Даже при сбалансированном содержании витаминов в пище их поступление в организм может быть недостаточным вследствие неправильной кулинарной обработки продуктов питания — нагревания, консервирования, высушивания, копчения, замораживания, а также в связи с особенностями национального питания.

Важно отметить, что животные и растения нуждаются почти во всех известных науке витаминах и в большинстве случаев способны их синтезировать. Однако человек и ряд животных, по-видимому, утратили эту способность и теперь могут пополнять дефицит витаминов только за счет компонентов пищи. Существует предположение, что отсутствие у человека и животных способности синтезировать витамины возникло в процессе эволюции как результат своеобразной «специализации и кооперирования» в биогеоценозах. При эволюции гетеротрофных организмов, пища которых содержала готовые витамины и аминокислоты, отпала необходимость образовывать собственные ферменты для синтеза многих таких веществ, в результате соответствующие гены были утрачены или заблокированы. Благодаря этому были достигнуты значительное упрощение метаболической системы и экономия ресурсов клетки. Но одновременно возникла зависимость организма от внешних источников этих веществ, которые стали незаменимыми пищевыми факторами. Потеря способности синтезировать эти соединения была заменена пищевыми связями с участием растений и бактерий. Современные животные и человек унаследовали эту особенность обмена веществ у своих далеких предков. Некоторые микроорганизмы и низшие растения также нуждаются в определенных витаминах, служащих для них важнейшими факторами рос-

та. Витамины и их производные — активные участники биохимических и физиологических процессов и у высших растений.

От уровня обеспеченности пищи витаминами зависят уровень умственной и физической работоспособности, выносливость и устойчивость организмов к влиянию неблагоприятных факторов внешней среды, включая инфекционные заболевания и действие токсинов.

Итак, источником витаминов у человека служат пища и кишечные бактерии. В отличие от других пищевых веществ витамины участвуют в образовании коферментов или служат регуляторами биохимических реакций. Можно отметить следующие особенности действия витаминов *in vivo*:

- практически не синтезируются в организме;
- не обладают структурной функцией;
- не используются организмом в качестве источника энергии;
- проявляют высокое биологическое действие в малых дозах.

Современная научная информация свидетельствует об исключительно многообразном участии витаминов в процессах жизнедеятельности организмов человека и животных. Одни из них выполняют функции обязательных компонентов ферментных систем (например, витамины группы В являются предшественниками важнейших коферментов), другие являются исходным материалом для синтеза гормонов, регулирующих многочисленные этапы обмена веществ в организме. Витамины в значительной степени обеспечивают нормальное функционирование нервной системы, мышц и многих других органов и физиологических систем.

Нарушения процессов обмена и возникновение многих заболеваний зачастую связаны с отклонением от нормального содержания в организме одного или нескольких витаминов. Следует отметить, что витамины выполняют свои функции главным образом внутри клеток, поэтому их концентрация в плазме крови не всегда отражает внутриклеточные концентрации. Хотя концентрация витаминов в тканях и суточная потребность в них невелики, но при недостаточном поступлении витаминов в организм в течение некоторого времени наступают характерные и опасные патологические изменения. Поэтому большинство витаминов было открыто именно при изучении причин возникновения различных заболеваний, например таких, как бери-бери, цинга и др. Как метко сказал академик В. А. Энгельгардт по этому поводу, «витамины обнаружили себя в организмах не своим присутствием, а своим отсутствием».

В зависимости от степени обеспеченности организма каким-либо витамином различают несколько форм патологических состояний: *авитаминоз*, *гиповитаминоз* и *гипервитаминоз*.

*Авитаминоз* — комплекс симптомов, развивающихся в организме в результате достаточно длительного полного или почти полного отсутствия одного из витаминов. Комплексная недостаточность сразу нескольких витаминов называется *полиавитаминозом*. В настоящее время полиавитаминозы практически не встречаются среди населения даже экономически слабых стран.

*Гиповитаминоз* — состояние, характеризующее частичную, но уже проявляющуюся специфическим образом недостаточность витамина. Довольно распространено деление гиповитаминозов на две группы: *пищевой ги-*



*повитаминоз*, возникающий вследствие длительного недостаточного обеспечения организма витамином, и *эндогенный гиповитаминоз*, когда симптомы витаминной недостаточности возникают на фоне нормального поступления витамина, но его использование организмом ограничено вследствие каких-либо причин. Такими причинами могут быть: недостаточное всасывание, нарушение метаболизма, повышение потребности, химическое взаимодействие с другими компонентами пищи, антагонистические взаимоотношения между отдельными витаминами. При пищевом гиповитаминозе важное значение имеет суточная норма поступления витамина с пищей (табл. 3.1).

**Таблица 3.1. Витамины человека: среднесуточная потребность и источники поступления**

Название витамина: химическое название; физиологическое название	Среднесуточ- ная потреб- ность, мг	Источники поступления
<i>Жирорастворимые витамины</i>		
Витамин А: <i>ретинол;</i> <i>антиксерофтальми- ческий</i>	1,5—2,5	Рыбий жир, печень животных, желток куриного яйца, сливочное масло, зелень, красномякотные овощи
Витамин D: <i>кальциферолы;</i> <i>антирахитический</i>	0,04	Образуются в коже под действием УФ-света; рыбий жир, сливочное масло, молоко, печень, желток яйца
Витамин К: <i>нафтохиноны;</i> <i>антигеморрагичес- кий</i>	2	Синтезируются кишечными бактериями; капуста, шпинат, фрукты, печень
Витамин Е: <i>токоферолы;</i> <i>антистерильный</i>	2—6	Растительные масла, зародыши пшеницы, салат, капуста, зерно
<i>Водорастворимые витамины</i>		
Витамин В <sub>1</sub> : <i>тиамин;</i> <i>антиневритный</i>	1,5—2,0	Хлеб, горох, фасоль, мясные продукты
Витамин В <sub>2</sub> : <i>рибофлавин;</i> <i>витамин роста</i>	2,0—2,5	Печень, желток яйца, творог, кишечные бактерии
Витамин В <sub>3</sub> : <i>пантотеновая кис- лота</i>	5—10	Синтезируется кишечной флорой; содержится во многих продуктах
Витамин В <sub>5</sub> (РР): <i>ниацин;</i> <i>антипеллагрический</i>	15—25	Синтезируется из триптофана; мясные и растительные продукты

Название витамина: химическое название; физиологическое название	Среднесуточ- ная потреб- ность, мг	Источники поступления
Витамин В <sub>6</sub> : <i>пиридоксин;</i> <i>антидерматитный</i>	2—3	Кишечные бактерии; зерновые, бобовые и мясные продукты
Витамин В <sub>9</sub> (В <sub>с</sub> ): <i>фолацин;</i> <i>фактор роста</i>	0,1—0,5	Салат, капуста, томаты, шпинат, печень, мясо
Витамин В <sub>12</sub> : <i>кобаламин;</i> <i>антианемический</i>	0,005—0,080	Синтезируются кишечными бактериями; продукты животного происхождения
Витамин Р: <i>флавоноиды;</i> <i>капилляроукрепля- ющий</i>	25	Фрукты, овощи, листья чая и плоды шиповника
Витамин С: <i>аскорбиновая кис- лота;</i> <i>антискорбутный</i>	80—110	Фрукты (цитрусовые), ягоды (шиповник, сморо- дина), овощи, молоко
Витамин Н: <i>биотин;</i> <i>антисеборейный</i>	0,15—0,3	Синтезируется кишечными бактериями; продукты растительного и животного происхождения

Нужно отметить, что суточная потребность организма в том или ином витамине — довольно расплывчатое понятие, ибо трудно определить «золотую грань» между малой и токсичной дозой витамина, возникающей при избыточном поступлении его в организм.

**Гипервитаминоз** — нарушения обмена и функций организма, возникающие вследствие длительного избыточного введения в организм любого из витаминов. Гипервитаминозы отчасти носят характер неспецифического отравления.

Для обозначения каждого витамина помимо химического и физиологического названия используют также буквы латинского алфавита. Например, химическое название *витамина А* — *ретинол*, а физиологическое — *антиксерофтальмический*. Следует отметить, что порядок латинских букв, применяемых для обозначения того или иного витамина, не соответствует хронологической последовательности открытия витаминов.

С 1956 г. принята Международная химическая номенклатура, согласно которой витамины подразделяются по растворимости в воде и жире на *водорастворимые* и *жирорастворимые* (см. табл. 3.1). Кроме того, выделяют группу *витаминоподобных соединений*, сходных с витаминами в том отношении, что они также являются незаменимыми факторами питания и при определенных условиях в организме может возникать их недостаточность, но по механизму участия в обмене веществ в строгом смысле их

нельзя отнести к витаминам. По сравнению с витаминами витаминоподобные соединения требуются организму в гораздо больших количествах.

Отдельные витамины могут быть представлены группой близких по химической структуре соединений, которые в организме способны превращаться друг в друга, — это *витамеры*.

Набор витаминов как незаменимых пищевых факторов различен для разных видов животных. Так, *аскорбиновая кислота (витамин С)* служит витамином для человека, обезьян, морской свинки. В то же время для собаки, крысы и других животных аскорбиновая кислота не является витамином, поскольку синтезируется в их организмах в достаточных количествах из глюкозы.

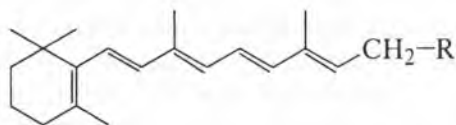
Следует особо отметить, что, как показали многочисленные клинические исследования, витамины — не только незаменимые пищевые факторы, но и соединения, которые в оптимальных дозах (ниже токсичной, но выше суточной потребности) обладают лекарственным действием. Поэтому мы сочли нужным при обсуждении особенностей функционирования витаминов в организмах отметить некоторые аспекты их лекарственного действия.

### 3.3. ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

#### 3.3.1. ВИТАМИН А (РЕТИНОЛ)

**Химическая природа.** *Витамин А*, или *ретинол*, представляет собой непредельный одноатомный циклический спирт, состоящий из шестичленного  $\beta$ -иононового кольца и боковой цепи, образованной двумя изопrenoидными фрагментами и содержащей первичную спиртовую группу. Витамин А существует в форме нескольких витамеров. Витамер  $A_2$  отличается от витамера  $A_1$  наличием дополнительной двойной связи в  $\beta$ -ионовом кольце.

В организме ретинол (витамин А — спирт) легко окисляется при участии специфических ферментов с образованием активных производных: *ретиналя* (витамин А — альдегид) и *ретиноевой кислоты* (витамин А — кислота):



R: —ОН (*Ретинол*)  
—COOH (*Ретиноевая кислота*)  
—CON (*Ретиналь*)

Витамин А и его производные существуют в организме в *транс*-конфигурации, за исключением сетчатки глаза, где они могут находиться в виде 11-*цис*-ретинола и 11-*цис*-ретиналя. В медицинской литературе *цис*-форма витамина А нередко носит название *невитамина А*.

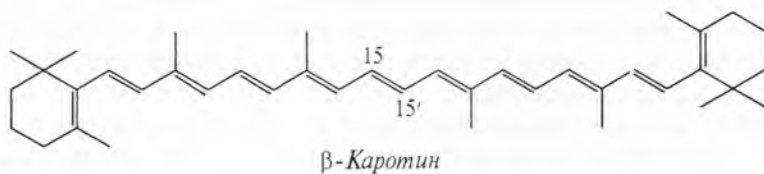
Таблица 3.2. Содержание витамина А в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание витамина А, мг на 100 г	Продукт	Содержание витамина А, мг на 100 г
Рыбий жир	24,0	Свинина	0,32
Куриная печень	11,0	Шиповник	0,26
Свиная печень	9,0	Абрикосы	0,26
Морковь	1,5	Облепиха	0,25
Петрушка	1,17	Тыква	0,20
Сливочное масло	0,67	Помидоры	0,12
Шпинат	0,61	Персики	0,08
Яичный желток	0,57	Козье молоко	0,06
Фенхель	0,54	Фасоль	0,06
Красный болгарский перец	0,33	Куриное мясо	0,04

Содержание витамина А в некоторых распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.2.

Все формы витамина А хорошо растворимы в жирах, а также в бензоле, хлороформе, эфире, ацетоне и других жирорастворителях. Ретинол разрушается под действием этанола, при освещении ультрафиолетовыми лучами, под влиянием кислорода воздуха, высокой температуры, а также при наличии в жирах продуктов окисления жирных кислот.

В пище витамин А содержится в основном в форме провитаминов. Известны три провитамина А — это  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -каротины (от лат. *carota* — морковь), отличающиеся друг от друга по химическому строению и биологической активности. Наибольшую биологическую активность с точки зрения эффективности синтеза витамина А проявляет  $\beta$ -каротин:



Он содержится в красномякотных овощах, фруктах, зелени (табл. 3.3).  $\beta$ -Каротин в кишечной стенке окисляется кислородом по двойной связи  $C_{15}=C_{15'}$  и распадается на две молекулы активного ретиналя с участием *каротиндезоксигеназы*.

**Биохимические функции.** Ретинол называют *витамином роста*, так как все формы витамина А и их эфирные производные регулируют процессы нормального роста, деления и дифференциации клеток, ограничивают свободнорадикальное окисление в тканях за счет восстановительных свойств  $\pi$ -электронов двойных связей и участвуют в фотохимическом процессе зрения. Ретинол участвует в биосинтезе гликопротеинов, входящих

Таблица 3.3. Содержание  $\beta$ -каротина в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание $\beta$ -каротина, мг на 100 г	Продукт	Содержание $\beta$ -каротина, мг на 100 г
Морковь	9,02	Абрикосы	1,55
Петрушка	4,20	Тыква	1,19
Шпинат	3,66	Зеленый салат	0,70
Фенхель	3,36	Помидоры	0,70
Красный болгарский перец	2,0	Яблоки	0,05

в состав слизистых оболочек и других барьерных тканей, поэтому он необходим для нормальной функции слизистых оболочек глаз, дыхательной, пищеварительной систем и мочевыводящих путей. К настоящему времени достаточно полно изучен механизм участия витамина А в форме 11-*цис*-ретинала в фотохимическом процессе зрения, в связи с чем рассмотрим основные особенности протекающих при этом молекулярных процессов.

**Участие витамина А в фотохимическом процессе зрения.** Для выживания индивида животные должны обладать способностью обнаруживать свет, а также различать свет различных длин волн. С этой целью в ходе биологической эволюции у них развились фоторецепторные органы — глаза, в которых центральную роль играют поглощающие свет фоторецепторы, или зрительные пигменты. Наиболее эффективно способность реагировать на свет используется у животных. В связи с этим в данной главе нельзя не остановиться на особенностях процессов фоторецепции и зрения, которые будут рассмотрены на примере работы зрительной системы человека.

Сетчатка глаза человека содержит рецепторные клетки двух типов — *палочки* и *колбочки*. Палочки отличаются большой светочувствительностью: всего пяти квантов света достаточно, чтобы вызвать нервный импульс. Палочки предназначены для зрения при малой освещенности и дают черно-белую картину. Колбочки обеспечивают цветное зрение. Существует три вида колбочек — чувствительные к синей, зеленой или красной областям спектра. Хромофором, воспринимающим свет в палочках сетчатки, является хромопротеин *родопсин*, или *зрительный пурпур*. Опсиновый белок в действительности является сложным комплексом собственно белка — опсина, липидов и углеводов, но термин «опсин» применяют как к белковой части, так и к комплексу в целом. Опсины, выделенные из сетчатки многих видов животных, представляют собой небольшие белки с молекулярной массой порядка 30 000—40 000. Почти у всех представителей животного мира зрительные пигменты в качестве хромофора содержат 11-*цис*-ретиаль (витамин А<sub>1</sub>); распространение 3,4-дегидроретинала (витамин А<sub>2</sub>) ограничивается рядом пресноводных рыб и некоторыми видами земноводных. Родопсин находится в мембранных структурах — дисках, которые располагаются в палочке. Мембранные диски на 80 % состоят из родопсина, молекулы которого «пронизывают»

мембрану насквозь. Модель пространственной структуры родопсина представлена на рис. 3.1.

В родопсине 11-*цис*-ретиаль ковалентно связан с опсином путем образования шиффова основания (альдимины) между его альдегидной группой и  $\epsilon$ -аминогруппой лизинового остатка опсина. Чрезвычайно важное значение имеют также нековалентные взаимодействия между боковыми группами остатков аминокислот белка и  $\pi$ -электронной системой полиена, которые, во-первых, определяют конформацию хромофора в составе родопсина, а во-вторых, вызывают поляризацию  $\pi$ -электронной системы полиенового фрагмента. Энергетические характеристики нековалентных взаимодействий между опсином и полиеновой цепью зависят от структуры белка и сопряженных с ним липидов и углеводов и существенно различаются для различных родопсинов. Именно эти эффекты совместно с индукционным эффектом, возникающим от образования альдиминной связи, обуславливают: 1) значительный сдвиг в красноволновую область максимума поглощения 11-*цис*-ретиаля в составе родопсина ( $\lambda_{\max} \approx 500$  нм) в сравнении с альдегидом в свободном состоянии ( $\lambda_{\max} \approx 375$  нм); 2) вариации величины  $\lambda_{\max}$  у разных зрительных пигментов. Все это приводит к повышению чувствительности светового и цветового восприятия. Цветовое зрение человека — это трихроматический процесс, за который ответственны рецепторы, чувствительные к разному цвету — синему ( $\lambda_{\max} \approx 440$  нм), зеленому ( $\lambda_{\max} \approx 535$  нм) и красному ( $\lambda_{\max} \approx 575$  нм) — и содержащие различные пигменты. Различие в  $\lambda_{\max}$  поглощаемого света обусловлено особенностями строения опсина и нековалентных взаимодействий опсин — хромофор. Все детали структуры и функций фоточувствительных пигментов в настоящее время еще не выяснены до конца, но установлено, что в основе механизмов функционирования зрительных пигментов заложены многостадийные циклические процессы. Рассмотрим основные молекулярные события, происходящие при попадании кванта света на сетчатку глаза человека.

При попадании света на сетчатку происходит изомеризация 11-*цис*-ретиаля в 11-*транс*-ретиаль за счет энергии поглощенного света:

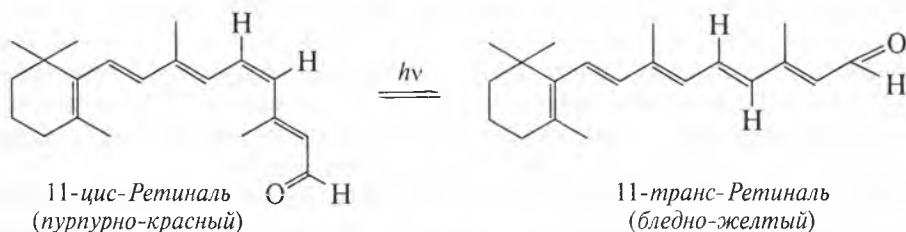


Рис. 3.1. Модель пространственной структуры родопсина



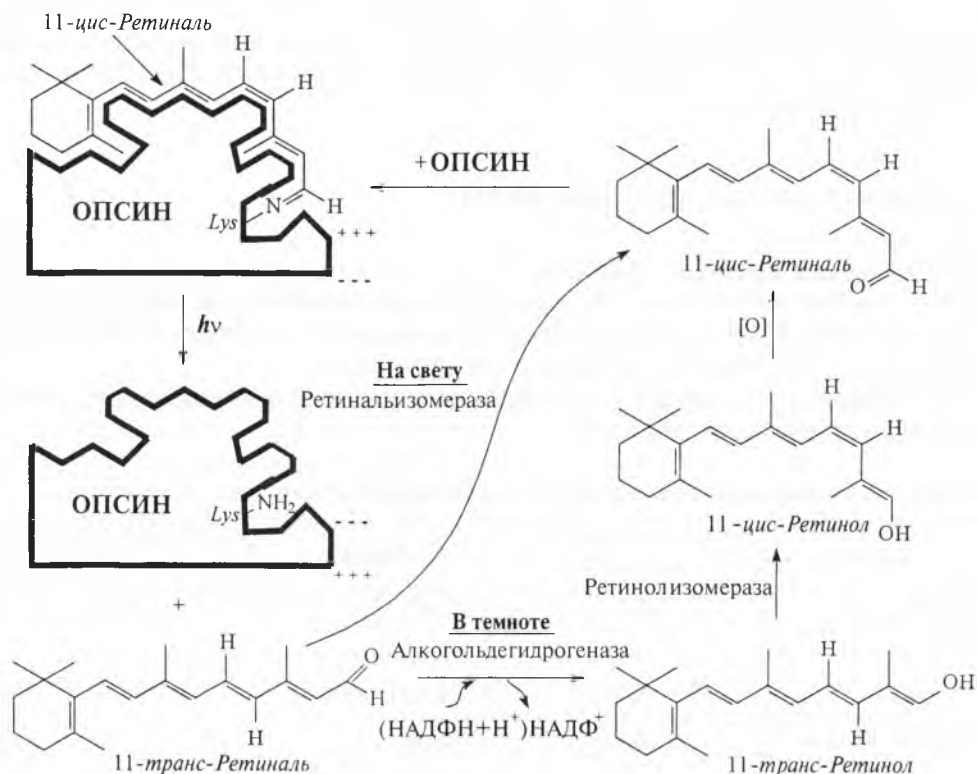


Рис. 3.2. Схема фотохимического процесса зрения

тиновой кислоты. Нормальная печень содержит большие запасы витамина А, и его недостаточность редко встречается в экономически развитых странах. Однако во многих регионах мира дефицит витамина А является достаточно распространенным явлением. Ранним симптомом авитаминоза витамина А является ослабление темновой адаптации, вплоть до полной утраты зрения в темноте — «куриная» слепота.

Недостаточность витамина А влияет на развитие и функции практически всех тканей и органов. На этом основании предполагают, что витамин А выполняет не только описанные выше биологические функции, но, очевидно, играет важную роль и в других, еще не изученных процессах. Клинические исследования показали, что диета, богатая витамином А, способствует излечению предракового заболевания полости рта (лейкоплакия), а также более быстрому излечению детей, больных инфекционными заболеваниями.

Витамин А является одновременно и одним из достаточно токсичных витаминов. Ни один из видов витаминной интоксикации не изучался так подробно, как гипervитаминоз А. Известен, например, гипervитаминоз у новичков, попавших в Арктику и по неведению употреблявших в пищу печень белого медведя. Местные жители не едят печень медведя, так как даже после приема небольшой порции возникают головная боль, рвота,



расстройство зрения и может даже наступить смерть. Все это связано с очень высоким содержанием витамина А в печени белого медведя: несколько граммов печени могут удовлетворить годовую (!) потребность человека в этом витамине.

### 3.3.2. ВИТАМИН D (КАЛЬЦИФЕРОЛЫ)

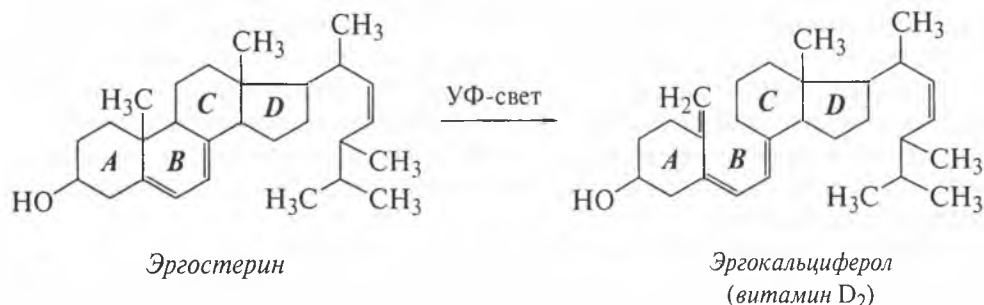
**Химическая природа.** Витамин D представлен группой родственных соединений, обладающих антирахитической активностью. Важнейшими среди них являются: *холекальциферол (витамин D<sub>3</sub>)*, *эргокальциферол (витамин D<sub>2</sub>)*, *дигидроэргокальциферол (витамин D<sub>4</sub>)*.

Содержание витамина D в некоторых распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.4.

Таблица 3.4. Содержание витамина D в некоторых продуктах питания

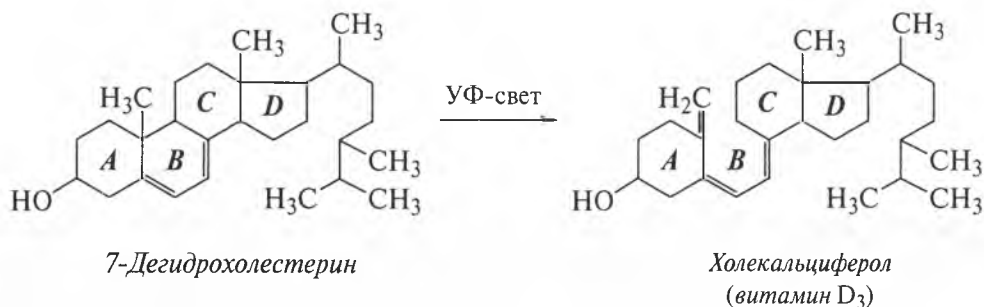
Продукт	Содержание витамина D, мкг на 100 г	Продукт	Содержание витамина D, мкг на 100 г
Рыбий жир	300,0	Карп	1,78
Сельдь	27,0	Шампиньоны	1,60
Лосось	17,0	Свиная печень	1,13
Яичный желток	4,75	Щука	1,10
Форель	4,50	Треска	1,0
Тунец	3,20	Сливочное масло	1,0
Белые грибы	3,0	Молоко	0,06

Эргокальциферол синтезируется из растительного предшественника — *эргостерина*, представляющего собой одноатомный ненасыщенный циклический спирт, в основе структуры которого лежит *циклопентанпергидрофенантрен* — конденсированная система колец *A—B—C—D*:



В животных организмах холекальциферол синтезируется под действием УФ-света из 7-дегидрохолестерина, присутствующего в кожных

покровах:



Поэтому витамин D называют «солнечным витамином».

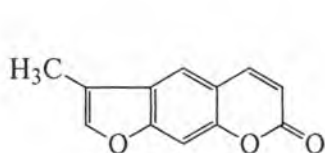
Кальциферол устойчив к воздействию высокой температуры и не разрушается при кулинарной обработке.

Такой расовый признак, как цвет кожи, объясняется взаимосвязью между длительностью и интенсивностью освещения организма солнечным светом и продукцией в нем витамина D. Количество витамина D, синтезируемого в норме в организме человека, определяется количеством солнечного облучения, которое проникает в клетки кожного покрова глубже слоя клеток, содержащих *меланины*. Меланины (от греч. *melas* — черный) — это группа полимерных пигментов коричневого или черного цвета, определяющих окраску кожных покровов, волос, перьев, чешуи и т. д. Строение этих пигментов до сих пор до конца не выяснено, но известна их общая брутто-формула:  $C_{77}H_{98}O_{33}N_{14}S$ .

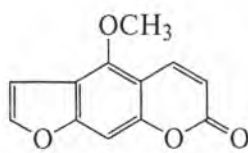
Синтез меланинов в организме начинается с окисления тирозина с участием фермента *тирозиныазы*. Дальнейшие превращения происходят уже без участия ферментов. Связанные с белком меланины образуют в коже темные зернышки размером от 0,1 до 2 мкм.

Чем больше меланина содержится в клетках кожи, тем меньше проникает света в глубь клетки сквозь слой меланина. Поэтому продукция витамина D в коже под действием солнечного света зависит как от содержания меланинов, так и от интенсивности и продолжительности действия солнечного света. У людей со светлой кожей витамин D может синтезироваться в количествах, достаточных для нормального функционирования организма, даже если они проживают в регионах, удаленных от экватора, в то время как люди с черной кожей для достижения аналогичного эффекта должны получать большую дозу ультрафиолетового облучения.

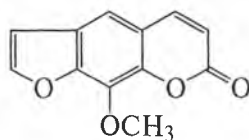
Особо отметим, что под действием определенных химических соединений — *сенсibilизаторов* — может значительно возрасти чувствительность кожи к УФ-облучению. Известно довольно много сенсibilизаторов загара; этот эффект вызывают некоторые смолы, желчь, хинин, метиленовый синий и даже мука. Облучение кожи, покрытой мучной пылью, вызывает болезнь, именуемую «гречишной». Особенно сильным фотосенсibilизирующим действием обладают соединения группы *фурокумаринов* (*псорален, бероксан, пувален*), которые используются в медицинской практике для получения лечебного загара:



Псорален



Бероксан



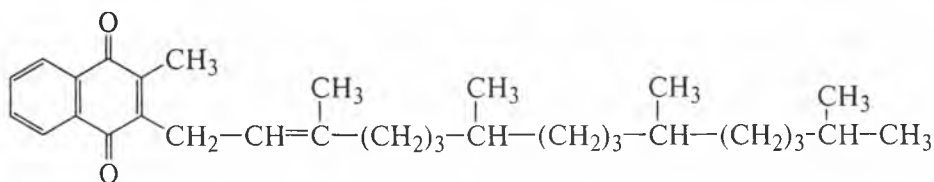
Псуален

**Биохимические функции.** Витамин D выполняет свои биологические функции не в виде холе- или эргокальциферолов, а в форме образующихся из них активных метаболитов, важнейшим из которых является соединение, обладающее гормональной активностью, — *кальцитриол* (1,25-дихолекальциферол). Кальцитриол стимулирует всасывание кальция и фосфатов в тонком кишечнике, обеспечивает транспорт ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$  через клеточные мембраны, мобилизует кальций из костной ткани, а также реабсорбирует кальций и фосфор в почечных канальцах. Поэтому витамин D необходим для кальцинирования (отвердевания) новообразованной костной ткани, правильного формирования зубов и костей, особенно в детском возрасте. Кальцитриол взаимодействует с хроматином, изменяя скорость синтеза некоторых белков, т. е. воздействует на генетический аппарат клеток.

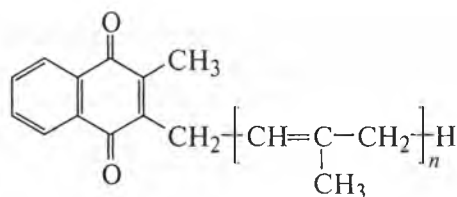
**Гипо- и гипervитаминоз D.** При недостаточности витамина D у детей развивается рахит. Это заболевание сопровождается нарушением минерализации растущих костей, вследствие чего происходит их деформация (выгнутые наружу голени, вывернутые внутрь колени и т. д.). Рахит обычно излечивается витамином D, однако есть формы этого заболевания, не поддающиеся такому лечению. Предполагают, что они связаны с нарушением синтеза кальцитриола из витамина D. Гипervитаминоз D приводит к деминерализации костей, переломам, образованию камней в почках вследствие отложения органических солей кальция из-за повышения его концентрации в крови.

### 3.3.3. ВИТАМИН К (НАФТОХИНОНЫ)

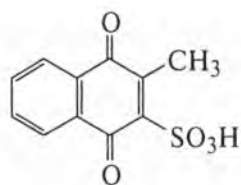
**Химическая природа.** Витамин К по своей химической природе является хиноном с боковой изопреноидной цепью. Различают *филлохиноны* (витамин  $\text{K}_1$ ) и *менахиноны* (витамин  $\text{K}_2$ ). Содержание витамина К в некоторых распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.5. Синтетический препарат витамина К — *викасол* представляет собой водорастворимую натриевую соль сульфопроизводного 2-метил-1,4-нафтохинона (витамин  $\text{K}_3$ ), широко применяющегося в клинической практике:



Филлохинон ( $\text{K}_1$ )



Менахинон ( $K_2$ ),  $n = 6-9$



Викасол ( $K_3$ )

У филлохинонов боковой радикал представлен остатком слегка разветвленного алкена, а у менахинона он состоит из нескольких (от 6 до 9) изопреноидных остатков.

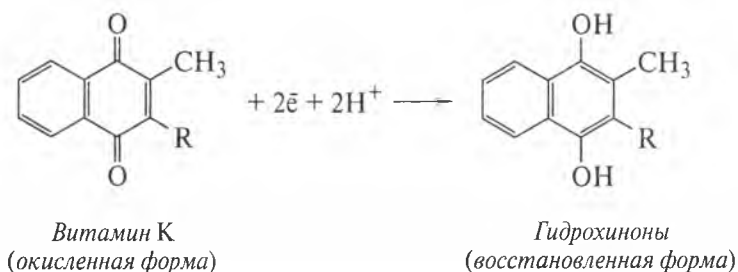
Таблица 3.5. Содержание витамина К в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание витамина К, мкг на 100 г	Продукт	Содержание витамина К, мкг на 100 г
Квашеная капуста	1540,0	Яичный желток	45,0
Сок квашеной капусты	1409,40	Картофель	40,50
Куриная печень	590,0	Морковь	39,80
Подсолнечное масло	500,0	Свиная печень	30,0
Шпинат	340,0	Фасоль	23,30
Пророщенная пшеница	300,0	Говядина	18,90
Соевые бобы	190,0	Телятина	18,50
Цветная капуста	186,0	Свинина	16,70
Зеленый салат	170,0	Земляника	13,0
Капуста	137,50	Шампиньоны	12,0
Овсяные хлопья	50,0	Помидоры	9,50
Творог	50,0	Молоко	4,0

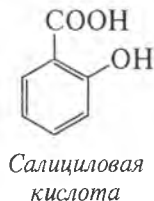
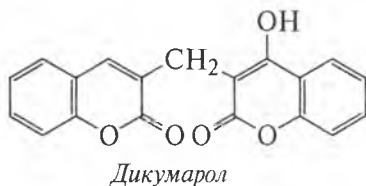
Витамин  $K_1$  — светло-желтая жидкость, неустойчивая при нагревании в щелочной среде и при облучении; витамин  $K_2$  представляет собой желтые кристаллы, также неустойчив. Обе формы нерастворимы в воде, но хорошо растворимы в бензоле, хлороформе, ацетоне, гексане и других органических растворителях.

**Биохимические функции.** Витамин К регулирует процессы свертывания крови: участвует в синтезе *протромбина* (белковый фактор свертывания крови) из его предшественника. Витамин К выполняет коферментную функцию в реакции  $\beta$ -карбоксилирования остатков глутаминовой кислоты, содержащихся в молекуле протромбина, после чего протромбин через ионы  $Ca^{2+}$  связывается с фосфолипидами и подвергается ферментативному расщеплению с образованием тромбина. Тромбин автоматически запускает систему свертывания крови с образованием фибринового сгустка.

Витамин К способствует мягкому окислению биосубстратов и связывает возникающие в клетках свободные радикалы:



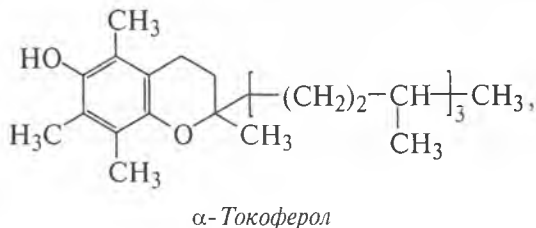
**Гипо- и гипervитаминоз К.** Недостаточность витамина К проявляется в повышенной кровоточивости тканей, особенно при травмах, появлении подкожных и внутримышечных кровоизлияний. Одной из причин гиповитаминоза К является подавление кишечной микрофлоры лекарственными препаратами. Дефицит витамина К нередко наблюдается у новорожденных детей из-за низкого его содержания в молоке и по причине отсутствия в кишечнике К-синтезирующей микрофлоры. Первичная недостаточность витамина К у взрослых наблюдается редко, так как потребность в нем обеспечивается поступлением с пищевыми продуктами и за счет синтеза кишечными бактериями. Структурные аналоги витамина К — *дикумарол* и *салициловая кислота* являются конкурентными ингибиторами процессов, протекающих с участием витамина К. Их введение в организм вызывает такие же последствия, что и гиповитаминоз К:



Гипervитаминоз К ведет к образованию тромбов, что, в свою очередь, может быть причиной возникновения инсультов.

### 3.3.4. ВИТАМИН Е (ТОКОФЕРОЛЫ)

**Химическая природа.** К группе *витамина Е* относится несколько природных метилированных производных *токола* и *токотриенола*. В структуру этих молекул входят ароматический спирт *токол* и боковая изопреноидная цепь, которая у *токоферолов* гидрирована полностью:



а у *токотриенолов* — нет. Индивидуальные токоферолы, обозначаемые как  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\delta$ -*токоферолы*, отличаются друг от друга количеством и положением дополнительных метильных групп в ароматическом кольце *6-оксихромана*.  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\delta$ -Токотриенолы являются аналогами соответствующих токоферолов и отличаются от них структурой боковой изопреноидной цепи.

Содержание витамина Е в некоторых распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.6.

Таблица 3.6. Содержание витамина Е в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание витамина Е, мг на 100 г	Продукт	Содержание витамина Е, мг на 100 г
Подсолнечное масло	55,80	Сливочное масло	2,20
Кукурузное масло	30,90	Спаржа	2,10
Лесные орехи	26,0	Авокадо	1,65
Миндаль	25,0	Соевые бобы	1,55
Грецкие орехи	20,0	Лосось	1,20
Рыбий жир	20,0	Пророщенная пшеница	1,10
Соевое масло	14,60	Малина	0,50
Оливковое масло	12,0	Куриное мясо	0,14
Яичный желток	3,60		

Соединения, образующие группу витамина Е, представляют собой бесцветные маслянистые жидкости, хорошо растворимые в органических растворителях (ацетон, этанол, хлороформ, эфиры), но нерастворимые в воде. Раствор  $\alpha$ -токоферола в этаноле имеет максимум поглощения при 292 нм. Витамины группы Е относительно устойчивы к нагреванию, но разрушаются под действием УФ-света, а также при прогоркании масел. Эфиры (ацетат, аллофанат, *n*-нитрофенилуретан) гораздо более устойчивы к свету и кислороду, чем свободные токоферолы. Поэтому витамин Е разрушается при термообработке продуктов питания, их замораживании, при взаимодействии с железом и хлором.

**Биохимические функции.** Токоферолы регулируют интенсивность свободнорадикальных реакций, так как являются одними из самых мощных природных антиоксидантов. Благодаря особенностям химической структуры токоферолы препятствуют развитию неуправляемых реакций пероксидного окисления ненасыщенных липидов в биологических мембранах.

Токоферолы повышают биологическую активность жирорастворимых витаминов, особенно витамина А. Эффект защиты состоит в предохранении ненасыщенной изопреноидной цепи витамина А от пероксидного окисления. Витамин Е способствует активизации процесса синтеза АТФ, а также нормальному состоянию и функционированию иммунной и эндокринной систем. Половые железы очень чувствительны к действию токо-

феролов, следствием чего является нарушение функции размножения при гиповитаминозе Е.

**Гипо- и гипервитаминоз Е.** Гиповитаминоз Е возникает очень редко и может приводить к нарушению развития плода в утробе матери, развитию мышечной дистрофии, разрушению эритроцитов, дегенерации спинного мозга, к параличу конечностей. В медицинской практике в качестве заменителя витамина Е могут использоваться его структурные аналоги на основе фенолов, ароматических аминов, гидрированных производных пиридина.

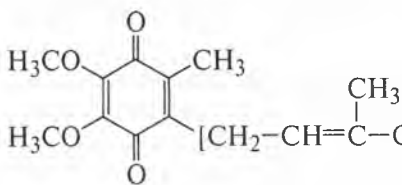
В медицинских целях витамин Е используют как профилактическое и лечебное средство при опухолевых новообразованиях, катарактах и болезни Паркинсона. Существуют данные, что прием больших доз витамина Е обеспечивает некоторую защиту от ишемической болезни сердца, вероятно, за счет предотвращения окисления липопротеинов низкой плотности.

### 3.4. ВИТАМИНОПОДОБНЫЕ ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВЕЩЕСТВА

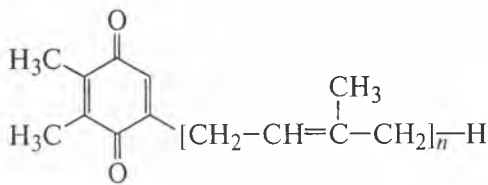
К витаминоподобным жирорастворимым веществам можно отнести *убихинон и витамин F*.

#### 3.4.1. УБИХИНОН (КОФЕРМЕНТ Q, КоQ)

*Убихинон* из-за чрезвычайно широкой распространенности во всех клетках организма был назван «вездесущим хиноном». КоQ содержится в различных растительных и животных тканях (сердце, печень, бурая жировая ткань животных, впадающих в спячку). По своей химической природе убихинон представляет 2,3-диметокси-5-метил-1,4-бензохинон с изопреноидной цепью в положении 6 хинонового кольца. Как и близкие к нему по строению витамины К и Е, убихинон нерастворим в воде, но растворим в неполярных органических растворителях. В хлоропластах растений было открыто близкое к убихинону соединение *пластохинон*, который отличается от убихинона природой заместителей в ароматическом кольце:



Убихинон ( $n = 6 \div 10$ )

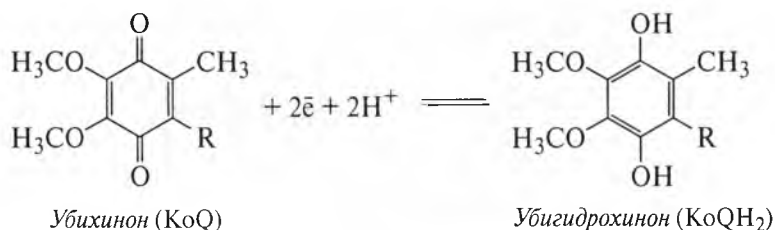


Пластохинон

Число изопреноидных остатков в боковой цепи убихинона варьируется от 6 до 10, что соответственно отражается в обозначении: КоQ<sub>6</sub>, КоQ<sub>7</sub> и др. В митохондриях клеток человека и животных присутствует убихинон только с 10 изопреноидными остатками, т. е. КоQ<sub>10</sub>. Растворы всех гомологов КоQ<sub>n</sub> в этаноле имеют два максимума поглощения: при 275 и

405 нм. Убихинон медленно разлагается под действием кислорода воздуха, УФ- или солнечного света.

КоQ<sub>10</sub> является обязательным компонентом дыхательной цепи: благодаря своей растворимости в жирах он осуществляет перенос водорода в гидрофобной мембране митохондрий (см. главу 10). Перенос водорода основан на легкообратимом восстановлении КоQ, который способен окисляться за счет восстановления биосубстратов, а также связывать возникающие в клетках свободные радикалы, протоны и электроны:



Пластохиноны выполняют аналогичную функцию при транспорте электронов в процессе фотосинтеза.

Убихинон синтезируется в клетках человека из мевалоновой кислоты и продуктов обмена фенилаланина и тирозина. Поэтому КоQ нельзя относить к классическим витаминам, однако при некоторых заболеваниях, развивающихся на фоне неполноценного питания, КоQ становится незаменимым пищевым фактором. Так, например, у детей, получающих с пищей недостаточное количество белка, развивается анемия, которая не поддается лечению известными препаратами (витамин В<sub>12</sub>, фолиевая кислота и др.). В этих случаях препараты КоQ дают положительный результат. КоQ оказался также эффективным при лечении мышечной дистрофии (в том числе генетической ее формы) и сердечной недостаточности.

### 3.4.2. ВИТАМИН F

Под *витамином F* подразумевается совокупность ненасыщенных жирных кислот — *линолевой, линоленовой и арахидоновой* (см. главу 7), которые не синтезируются в тканях организма, но необходимы для его нормальной жизнедеятельности. Витамин F содержится в растительных маслах, суточная потребность человека в нем сравнительно велика и составляет около 5 мг. Витамин F необходим для нормального роста и регенерации кожного эпителия, а также для синтеза *простагландинов* — важных биохимических регуляторов (см. главу 9). Витамин F поддерживает запасы витамина А и способствует его более эффективному воздействию на обмен веществ. Витамин F снижает уровень холестерина в крови, и в связи с этим для профилактики атеросклероза в медицинской практике применяются препараты незаменимых жирных кислот — *линетол* и *линол*. Для предотвращения пероксидного окисления и сохранения биологической активности ненасыщенных жирных кислот требуется витамин Е.

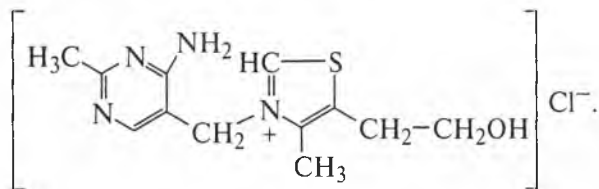
Гиповитаминоз F вызывает жировую инфильтрацию печени, остановку роста организма и поражение кожных покровов.



## 3.5. ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

### 3.5.1. ВИТАМИН В<sub>1</sub> (ТИАМИН)

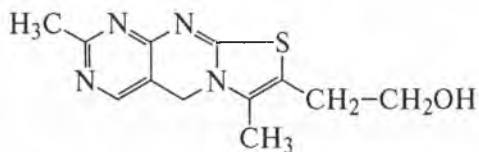
**Химическая природа.** Молекула витамина В<sub>1</sub> — *тиамина* — содержит два ароматических кольца: пиримидиновое и тиазоловое, соединенные метиленовым мостиком. Тиамин обычно выделяют и используют в виде хлорида или бромиды:



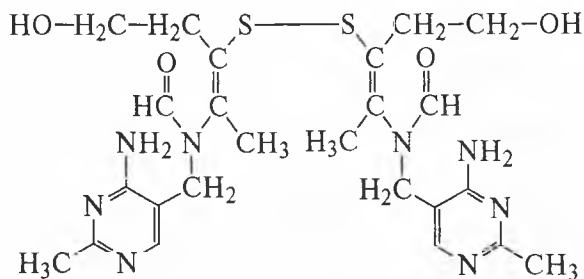
*Хлорид тиамина*

К настоящему времени получены также сульфат и моонитрат тиамина, а также известны соли нафтагенсульфоновой, арилсульфоновой, цетилсерной кислот и эфиры уксусной, пропионовой, масляной, бензойной и других кислот.

Тиамин хорошо растворяется в воде и уксусной кислоте, несколько хуже — в этиловом и метиловом спиртах и нерастворим в хлороформе, эфире, бензоле, ацетоне. Водные растворы тиамина имеют кислую реакцию ( $pK_a = 4,8$ ). В УФ-спектре водных растворов тиамина при  $pH > 7$  проявляется два максимума поглощения: 235 и 267 нм, а при  $pH < 5,5$  — 247 нм. Из водных растворов тиамин может быть осажден фосфорно-вольфрамовой или пикриновой кислотой. В щелочной среде тиамин подвергается многочисленным превращениям, которые в зависимости от природы добавленного окислителя могут завершаться образованием *тиохрома* или *тиаминдисульфида*:



*Тиохром*



*Тиаминдисульфид*

На реакции окисления тиамин гексацианоферратом(III) калия в щелочной среде в тиохром, который обладает синей флуоресценцией при УФ-облучении, основано качественное обнаружение витамина В<sub>1</sub>.

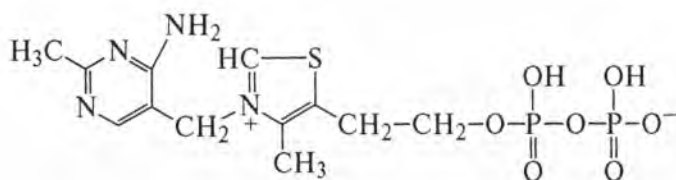
Тиамин — один из наименее стабильных витаминов. Выпечка, пастеризация или кипячение продуктов, обогащенных тиамином, могут привести к его потерям до 50 %.

Содержание витамина В<sub>1</sub> в распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.7.

Таблица 3.7. Содержание витамина В<sub>1</sub> в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание витамина В <sub>1</sub> , мг на 100 г	Продукт	Содержание витамина В <sub>1</sub> , мг на 100 г
Пророщенная пшеница	2,0	Говяжья печень	0,28
Семена подсолнечника	1,96	Сушеный инжир	0,21
Дрожжи	1,0	Говядина	0,18
Свинина	0,84	Чечевица	0,17
Пшено	0,73	Соевые бобы	0,10
Арахис	0,63	Картофель	0,09
Овес в зернах	0,59	Цветная капуста	0,09
Зеленый горошек	0,32	Форель	0,04
Свиная печень	0,30	Морской окунь	0,04

Биологическая роль витамина В<sub>1</sub> определяется прежде всего его коферментными функциями. Фосфорилированная форма этого витамина — *тиаминдифосфат* (ТДФ) является простетической группой ряда ферментов:



Тиаминдифосфат (ТДФ)

Медицинский препарат ТДФ — *кокарбоксилаза* широко используется в клинической практике в терапии инфаркта миокарда для увеличения метаболической активности миокардиоцитов.

**Биохимические функции.** ТДФ входит в состав *пируватдегидрогеназного комплекса* ферментов, фермента *транскетолазы* и принимает активное участие в процессе окисления пирувата, т. е. в образовании биохимической энергии из углеводов и аминокислот (см. главу 10). ТДФ необходим для всех биохимических процессов, в которых участвуют *никотинамиддениндинуклеотидфосфат* (НАДФ) и *рибозо-5-фосфат*: синтеза жирных

кислот, стероидов, нуклеотидов, обезвреживания лекарственных препаратов и ядов.

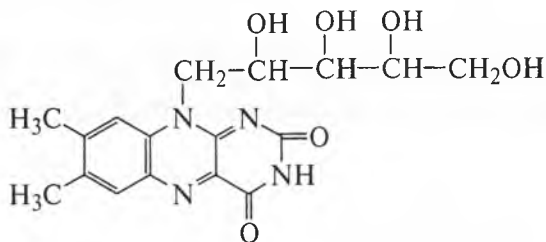
Витамин В<sub>1</sub> помогает улучшению психического состояния. Повышенные дозы этого витамина требуются при употреблении большого количества сахара или алкоголя, в присутствии которых тиамин легко разрушается.

**Гипо- и гипервитаминоз В<sub>1</sub>.** В связи с вышесказанным дефицит витамина В<sub>1</sub> часто возникает у людей, страдающих алкогольной зависимостью. Авитаминоз В<sub>1</sub> (болезнь *бери-бери*) начинается с таких симптомов, как потеря аппетита, онемение, слабость. Появляется тошнота, при малейшем физическом напряжении — одышка и сердцебиение. Постепенно поражается центральная нервная система, отмечаются резкое похудение и общее истощение. Это заболевание нередко приводит к летальному исходу.

Отравления тиамином встречаются довольно редко, однако отмечены случаи тяжелых реакций у больных, получающих внутривенно повторные инъекции витамина В<sub>1</sub>.

### 3.5.2. ВИТАМИН В<sub>2</sub> (РИБОФЛАВИН)

**Химическая природа.** Витамин В<sub>2</sub> впервые был выделен из молочной сыворотки в 1933 г., а в 1935 г. была установлена его химическая структура. В основе молекулы витамина В<sub>2</sub> — *рибофлавин* — лежит гетероциклическое соединение — *изоаллоксазин* (сочетание бензольного, пиразинового и пиримидинового колец), к которому в положении 9 присоединен пятиатомный спирт *рибитол*:



*Рибофлавин*

Витамин В<sub>2</sub> — желтое кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде; разрушается при облучении УФ-светом с образованием биологически неактивных форм (люмифлавина в щелочной среде и люмихрома в нейтральной или в кислой). Свет, вываривание продуктов, алкоголь разрушают витамин В<sub>2</sub> с потерей его биологической активности. То же происходит с витамином В<sub>2</sub> в организме при стрессовых состояниях.

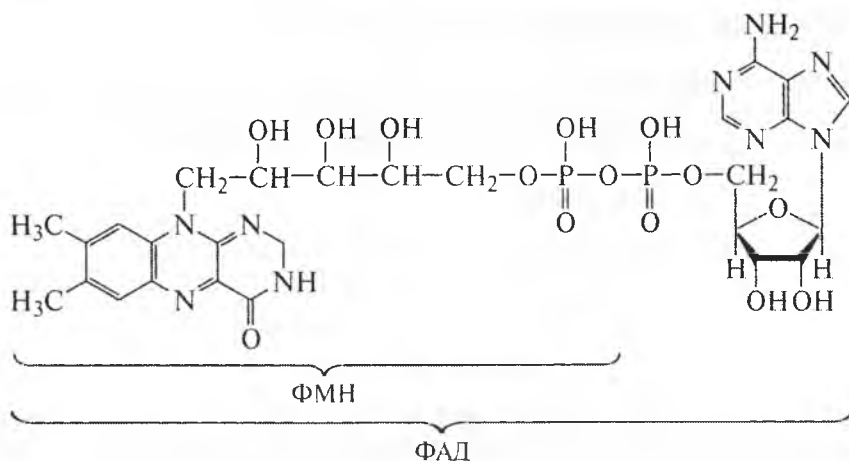
Содержание витамина В<sub>2</sub> в распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.8.

**Биохимические функции.** Молекула рибофлавина очень чувствительна к видимому и УФ-излучению и легко подвергается обратимому восстановлению, присоединяя водород по месту двойных связей (при N<sub>1</sub> и N<sub>10</sub>) и переходя при этом в бесцветную лейко-форму (окисленная форма рибофлавина имеет желтый цвет). Лейко-форма, отдавая при соответству-

Таблица 3.8. Содержание витамина В<sub>2</sub> в некоторых продуктах питания

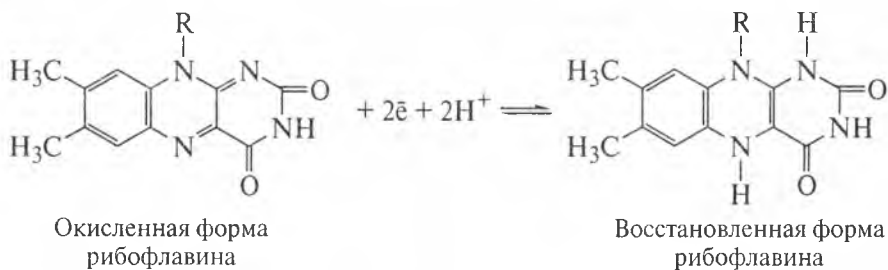
Продукт	Содержание витамина В <sub>2</sub> , мг на 100 г	Продукт	Содержание витамина В <sub>2</sub> , мг на 100 г
Свиная печень	3,10	Телятина	0,25
Говяжья печень	3,0	Свинина	0,22
Телячья печень	3,0	Говядина	0,22
Куриная печень	2,50	Шпинат	0,20
Дрожжи	2,0	Йогурт	0,19
Шампиньоны	0,35	Молоко	0,17
Яйца	0,32	Лосось	0,16
Белые грибы	0,30	Авокадо	0,14
Творог	0,28	Капуста	0,14

ющих условиях водород, снова переходит в рибофлавин, приобретая окраску. Это свойство лежит в основе биологической активности рибофлавина, механизм которой заключается в следующем. В природных источниках содержатся коферментные производные рибофлавина: *флавиномононуклеотид* (ФМН) и *флавинадениндинуклеотид* (ФАД). Эти коферментные формы в отличие от других известных коферментов преобладают в большинстве животных и растительных тканей, а также в клетках микроорганизмов. Строение ФМН и ФАД выглядит следующим образом:



ФМН и ФАД являются простетическими группами сложных белков флавопротеинов, катализирующих многочисленные реакции окисления веществ в клетках: перенос электронов и протонов в дыхательной цепи, окисление пирувата, жирных кислот, биогенных аминов, альдегидов и др. (см. раздел II). ФМН и ФАД, восстанавливаясь, присоединяют от субстрата два электрона к атомам углерода изоаллоксазинового фрагмента, изменяя при этом их степени окисления. Одновременно два протона, полу-

чаемые обычно из водной среды, присоединяются к атомам азота, в результате чего образуются восстановленные формы — ФМНН<sub>2</sub> и ФАДН<sub>2</sub>:

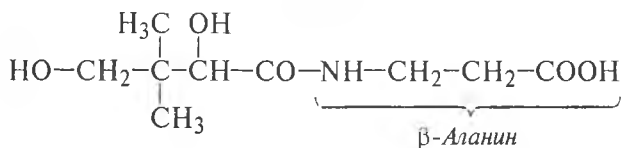


**Гипо- и гипervитаминоз В<sub>2</sub>.** Если учесть, что рибофлавин участвует в окислительных процессах, протекающих с образованием энергии, то становится понятным, почему гиповитаминоз В<sub>2</sub> влияет на регенерацию тканей и вызывает поражение кожных покровов (себорейный дерматит, трещины на губах, васкуляризация роговицы глаза), понижает остроту зрения на цвет и темновую адаптацию. Гиповитаминоз В<sub>2</sub> приводит к снижению способности иммунной системы организма продуцировать антитела, обеспечивающие его сопротивляемость различным инфекциям.

Высокие дозы витамина В<sub>2</sub> при приеме внутрь практически безвредны.

### 3.5.3. ВИТАМИН В<sub>3</sub> (ПАНТОТЕНОВАЯ КИСЛОТА)

**Химическая природа.** Химическое название *витамина В<sub>3</sub> — пантотеновая кислота*. Природная пантотеновая кислота состоит из остатков β-аланина и 2,4-дигидрокси-3,3-диметилмасляной кислоты:



*Пантотеновая кислота*

Пантотеновая кислота синтезируется зелеными растениями и микроорганизмами из α-кетоизовалериановой кислоты через кетопантоевую, а затем пантоевую кислоты с присоединением к последней β-аланина.

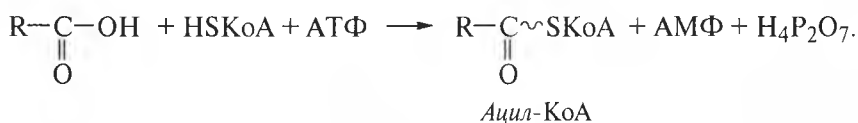
Содержание витамина В<sub>3</sub> в распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.9.

Витамин В<sub>3</sub> может разрушаться под действием алкоголя и длительного кипячения продуктов питания.

**Биохимические функции.** Наиболее важным производным пантотеновой кислоты является коэнзим А (*кофермент ацилирования*, КоА). В форме КоА пантотеновая кислота выполняет свои специфические функции в



Ацильный остаток присоединяется к КоА, образуя ацил-КоА:



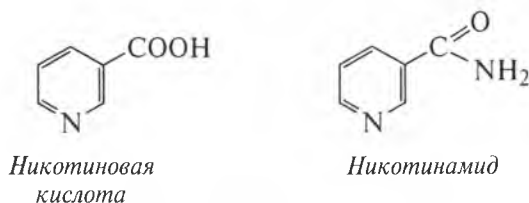
В ацил-КоА связь между карбонильным атомом углерода и атомом серы (показана волнистой чертой) принадлежит к числу так называемых «высокоэнергетических» связей, поскольку ее гидролиз сопровождается значительным уменьшением свободной энергии:  $\Delta G^\circ = -30,4$  кДж/моль (см. главу 10). Таким образом происходит активация карбоновой кислоты, т. е. перевод ее в термодинамически выгодное состояние для использования в реакциях, протекающих с потреблением энергии: окисление жирных кислот, синтез холестерина и других стероидных соединений, кетонных тел и т. д.

**Гипо- и гипervитаминоз В<sub>3</sub>.** Недостаточность пантотеновой кислоты у человека и животных проявляется в повышенной возбудимости, утомляемости, потере памяти, замедлении роста, потере массы тела, повреждениях кожи и т. д. Ввиду большой распространенности пантотеновой кислоты в природных объектах ее гиповитаминоза практически не наблюдается.

Избыточные дозы пантотеновой кислоты могут привести к повреждению печени.

### 3.5.4. ВИТАМИН В<sub>5</sub> (РР, НИАЦИН)

**Химическая природа.** В природе витамин В<sub>5</sub> (РР) встречается в двух формах: в виде *никотиновой кислоты* и *никотинамида*. Никотиновая кислота является пиридин-3-карбоновой кислотой, а никотинамид — ее амидом:



У человека и животных никотиновая кислота синтезируется из триптофана, а у зеленых растений и микроорганизмов — из аспартата и производных триоз. Но у человека скорость синтеза недостаточна для того, чтобы полностью удовлетворить потребность организма в этом витамине.

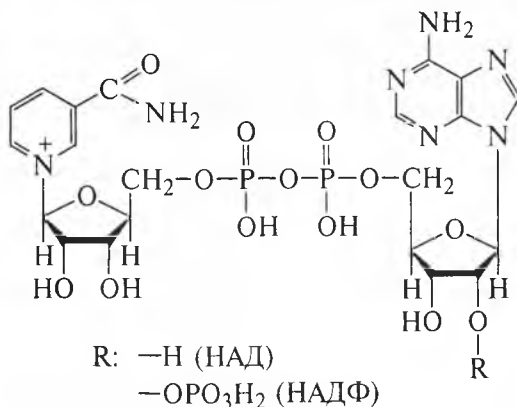
Никотиновая кислота плохо растворима в воде (около 1 %), но хорошо растворима в водных растворах щелочей за счет солеобразования. Никотиновая кислота кристаллизуется из растворов в виде белых игл.

Содержание витамина В<sub>5</sub> в распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.10.

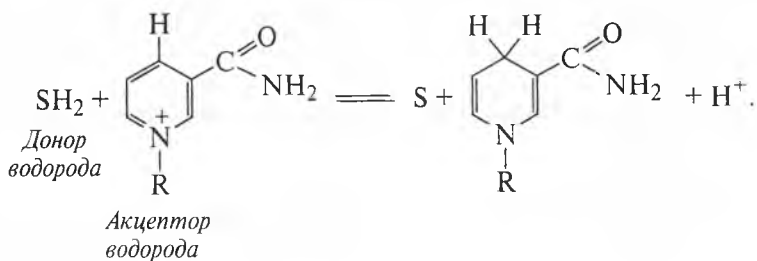
Таблица 3.10. Содержание витамина В<sub>5</sub> в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание витамина В <sub>5</sub> , мг на 100 г	Продукт	Содержание витамина В <sub>5</sub> , мг на 100 г
Сушеные белые грибы	61,60	Креветки	5,58
Свиная печень	19,20	Крабы	5,58
Говяжья печень	18,50	Ячмень	5,23
Телячья печень	17,0	Овес	4,69
Дрожжи	15,20	Шампиньоны	3,90
Куриная печень	15,20	Форель	3,34
Зайчатина	12,03	Яйца	3,11
Лосось	10,53	Кукуруза	2,57
Курица	10,21	Рис	1,90
Соя	9,03	Картофель	1,62
		Зеленый горошек	1,36

**Биохимические функции.** И никотиновая кислота, и никотинамид участвуют в синтезе *никотинамиддинуклеотида (НАД)* и *никотинамиддинуклеотидфосфата (НАДФ)* — коферментов дегидрогеназ:



*НАД-зависимые дегидрогеназы* катализируют реакции окисления веществ путем дегидрирования:





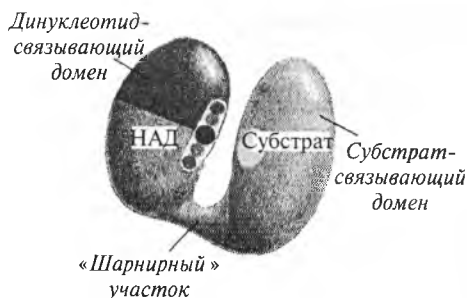
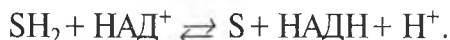


Рис. 3.3. Схематическое изображение НАД-зависимой дегидрогеназы

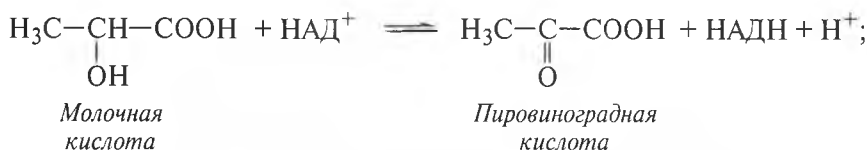
Из двух атомов водорода ( $2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ ), отщепляемых от молекулы субстрата, к  $\text{НАД}^+$  присоединяются один протон (второй протон уходит в окружающую среду) и два электрона, в результате

чего утрачивается частичный положительный заряд на пиридиновом цикле  $\text{НАД}^+$ :

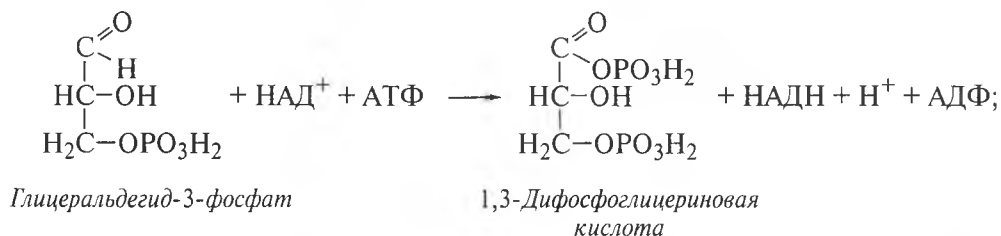


Схематичное строение НАД-зависимой дегидрогеназы представлено на рис. 3.3, откуда видно, что пространственная структура НАД-зависимых дегидрогеназ представляет собой два отдельных домена, соединенных гибким «шарнирным» участком. Первый домен связывает НАД, а второй — субстрат. НАД-зависимые дегидрогеназы катализируют следующие типы реакций:

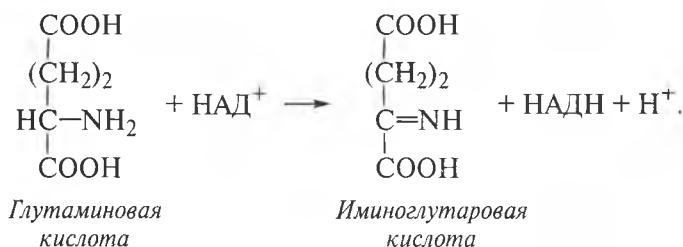
1) дегидрирование гидроксильных групп; например, *лактатдегидрогеназа* катализирует дегидрирование молочной кислоты с образованием пировиноградной кислоты:



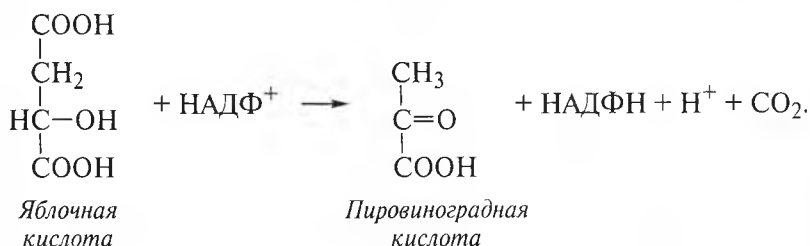
2) дегидрирование альдегидных групп, например в следующей реакции:



3) дегидрирование аминогрупп; например, *глутаматдегидрогеназа* катализирует реакцию дегидрирования глутаминовой кислоты:



НАДФ-зависимые дегидрогеназы отличаются от НАД-зависимых по типу катализируемых биохимических реакций. Например, НАДФ-зависимая малатдегидрогеназа катализирует одновременно с дегидрированием и декарбоксилирование яблочной кислоты:

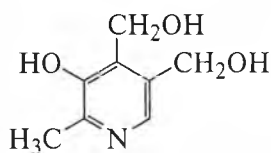


НАДФН, в отличие от НАДН, не может передавать водород в дыхательную цепь; этот водород используется в восстановительных реакциях.

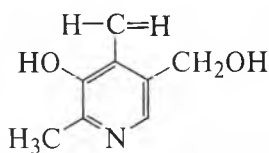
**Гиповитаминоз В<sub>5</sub>.** Недостаточность витамина В<sub>5</sub> вызывает заболевание *пеллагрой*\* (от итал. *pelle agra* — шершавая кожа). Главный симптом этой болезни — дерматит. Кожа краснеет, становится шершавой, покрывается пузырями, трещинами и т. д. При пеллагре возникают также расстройства нервной системы, вплоть до психических заболеваний.

### 3.5.5. ВИТАМИН В<sub>6</sub> (ПИРИДОКСИН)

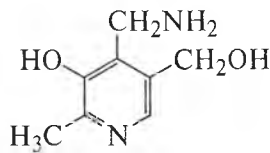
**Химическая природа.** В группу витамина В<sub>6</sub>, или *пиридоксина*, входят три производных 3-гидроксипиридина, обладающих одинаковой биохимической активностью: *пиридоксол*, *пиридоксаль* и *пиридоксамин*:



*Пиридоксол*



*Пиридоксаль*



*Пиридоксамин*

Витамин В<sub>6</sub> синтезируется различными микроорганизмами и зелеными растениями из продуктов гликолиза — глицеральдегид-3-фосфата, дигидроксиацетонфосфата или пирувата. Микроорганизмы кишечника жвачных животных активно синтезируют витамин В<sub>6</sub>. Микрофлора кишечника человека тоже синтезирует витамин В<sub>6</sub>, но в недостаточных количествах.

Содержание витамина В<sub>6</sub> в распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.11.

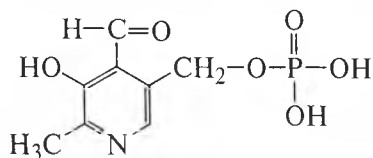
\* Именно антипеллагрическая функция дала второе обозначение витамину — РР (от лат. *pellagra preventiva*).

Таблица 3.11. Содержание витамина В<sub>6</sub> в некоторых продуктах питания

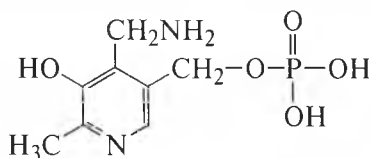
Продукт	Содержание витамина В <sub>6</sub> , мг на 100 г	Продукт	Содержание витамина В <sub>6</sub> , мг на 100 г
Лосось	0,98	Яичный желток	0,30
Овес	0,96	Бананы	0,27
Грецкие орехи	0,80	Зеленый болгарский перец	0,22
Телячья печень	0,80	Арахис	0,21
Говяжья печень	0,80	Фасоль	0,20
Дрожжи	0,70	Картофель	0,19
Куриная печень	0,70	Лук-порей	0,15
Свинина	0,47	Форель	0,14
Пшеница	0,45	Капуста	0,14
Авокадо	0,38		

Витамин В<sub>6</sub> разрушается при нагревании и длительном кипячении продуктов питания, большом потреблении сахара и алкоголя, в результате длительного приема сульфаниламидных препаратов и ряда антибиотиков, угнетающих рост кишечных микробов, синтезирующих пиридоксин.

**Биохимические функции.** Биологическая активность витаминов группы В<sub>6</sub> связана с их превращением в организме в коферменты оксидоредуктаз, гидролаз, лиаз и изомераз — *пиридоксальфосфат* (ПЛФ) и *пиридоксаминфосфат* (ПАФ):



Пиридоксальфосфат  
(ПЛФ)



Пиридоксаминфосфат  
(ПАФ)

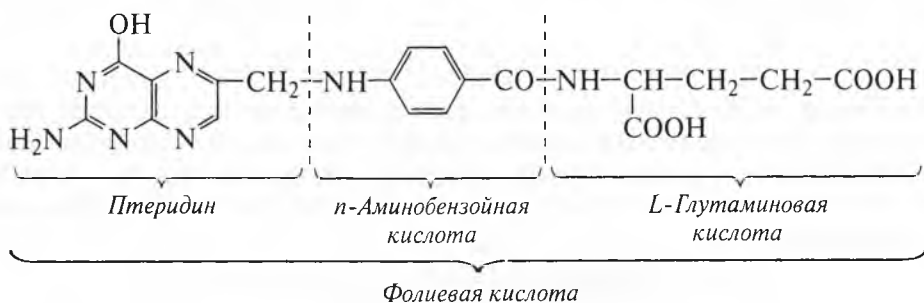
Биохимические функции пиридоксальфосфата связаны с его участием в процессе усвоения белков и жиров: активный транспорт свободных аминокислот через клеточные мембраны и реакции трансаминирования и декарбоксилирования аминокислот (см. главу 12).

**Гипо- и гипervитаминоз В<sub>6</sub>.** Причины возникновения многочисленных нарушений в обмене веществ, связанных с дефицитом пиридоксина, обусловлены большой распространенностью пиридоксальзависимых ферментов. Гиповитаминоз В<sub>6</sub> проявляется в резком нарушении обмена белков и липидов, и как следствие этого развиваются атеросклероз, различные дерматиты и нарушаются процессы кроветворения.

Употребляемый в предельных дозах витамин В<sub>6</sub> может вызвать невриты и понижение сопротивляемости организма инфекциям.

### 3.5.6. ВИТАМИН В<sub>9</sub> (В<sub>с</sub>, ФОЛАЦИН)

**Химическая природа.** Витамин В<sub>9</sub> — *фолиевая кислота*, или *фолацин* (от лат. *folium* — лист), — состоит из трех структурных единиц: остатков птеридина, *n*-аминобензойной кислоты (ПАБК) и L-глутаминовой кислоты:



Фолиевая кислота ограниченно растворима в воде, но хорошо растворяется в разбавленных спиртовых растворах; имеет характерные спектры поглощения в УФ-области. Витамин В<sub>9</sub> не устойчив к нагреванию и действию света, разрушается алкоголем и антибиотиками.

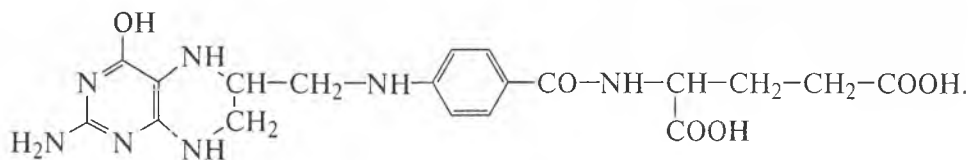
Содержание фолиевой кислоты в некоторых продуктах питания приведено в табл. 3.12.

Таблица 3.12. Содержание витамина В<sub>9</sub> в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание витамина В <sub>9</sub> , мкг на 100 г	Продукт	Содержание витамина В <sub>9</sub> , мкг на 100 г
Дрожжи	1200,0	Апельсины	26,64
Пророщенная пшеница	520,0	Лосось	26,0
Говяжья печень	242,0	Баклажаны	25,42
Свиная печень	200,0	Цветная капуста	24,80
Фенхель	93,0	Вермишель	21,23
Свекла	70,20	Шампиньоны	20,0
Шпинат	66,30	Клубника	18,0
Яйца	65,0	Бананы	14,74
Соя	44,0	Огурцы	14,40
Помидоры	37,05	Зеленый горошек	13,20
Мандарины	37,0	Белый хлеб	12,93
		Морковь	6,56

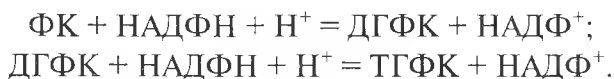
**Биохимические функции.** Фолиевая кислота как самостоятельное соединение не проявляет биологической активности, но является предшественником коферментов, выполняющих важные биохимические функции. Активной коферментной формой витамина В<sub>9</sub> является восстанов-

ленная фолиевая кислота — *тетрагидрофолиевая кислота* (ТГФК, или Н<sub>4</sub>-фолат):

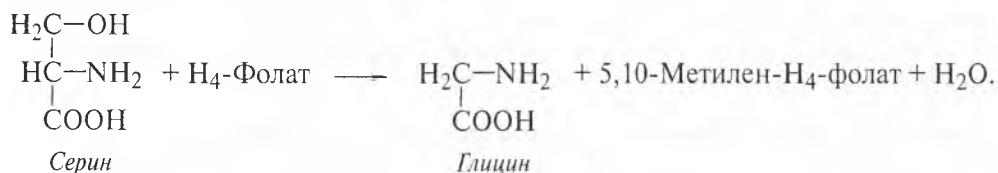


*Тетрагидрофолиевая кислота* (ТГФК, или Н<sub>4</sub>-фолат)

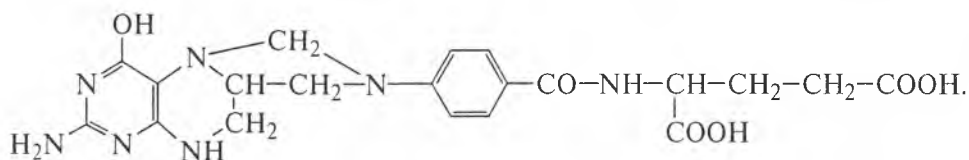
Н<sub>4</sub>-Фолат образуется в результате восстановления птеридинового фрагмента в молекуле фолиевой кислоты за счет разрыва двух двойных связей и присоединения четырех атомов водорода в положениях 5, 6, 7 и 8. Процесс восстановления протекает в две стадии при участии НАДФ-зависимых дегидрогеназ:



Н<sub>4</sub>-Фолат участвует в реакциях переноса одноуглеродных фрагментов. Например, он акцептирует одноуглеродный фрагмент серина в реакции



5,10-Метилен-Н<sub>4</sub>-фолат имеет следующее строение:



*5,10-Метилен-Н<sub>4</sub>-фолат*

Н<sub>4</sub>-Фолат играет важную роль в биосинтезе пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеиновых и некоторых аминокислот. Таким образом, Н<sub>4</sub>-фолат влияет на генетический аппарат клеток. Как противоанемический фактор фолиевая кислота принимает участие в процессах кроветворения. Кроме того, витамин В<sub>9</sub> оказывает влияние на обмен белков, играет важную роль в формировании эритроцитов в костном мозге и обеспечении нормального роста организмов.

Антибактериальное действие сульфаниламидных препаратов основано на том, что они являются антиметаболитами по отношению к *p*-аминобензойной кислоте, участвующей в биосинтезе фолиевой кислоты в микроорганизмах.

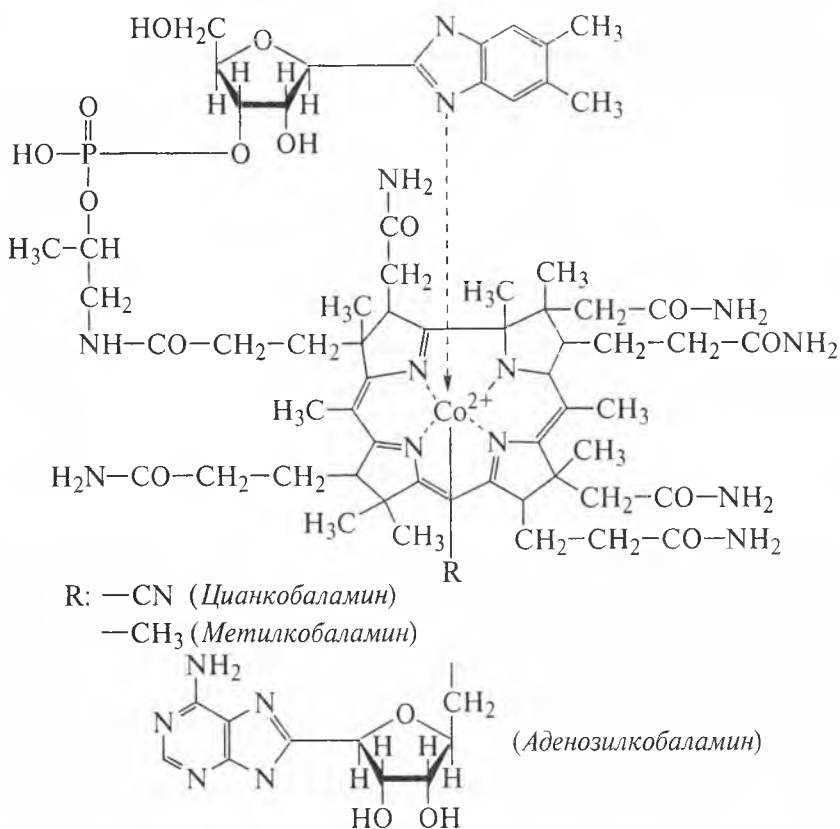
**Гиповитаминоз В<sub>9</sub>.** Гиповитаминоз В<sub>9</sub> возникает сравнительно редко, но способен вызывать *макроцитарную анемию*, которая сопровождается увеличением размеров эритроцитов, а также снижением их концентрации в кровотоке.

### 3.5.7. ВИТАМИН В<sub>12</sub> (КОБАЛАМИН)

**Химическая природа.** Впервые химическое строение витамина В<sub>12</sub> было выяснено с помощью рентгеноструктурного анализа (1955—1969 гг.). Полный синтез витамина В<sub>12</sub> был проведен Р. Вудвордом в США и А. Эшенмозером в Швейцарии и потребовал 10 лет напряженной работы почти 130 (!) химиков. А в 1994 г. под наблюдением А. И. Скотта и его сотрудников значительную часть этой работы выполнили всего за 15 ч 12 ферментов.

В молекуле *витамина В<sub>12</sub> — кобаламина* — можно выделить две главные составные части: «планарный макроцикл» и нуклеотид, расположенный в плоскости, почти перпендикулярной плоскости циклического фрагмента.

Макроциклическая часть кобаламина представлена корриновой системой, схожей с порфириновой (см. главу 5). Отличие коррина от порфина — простейшего порфирина — заключается в том, что коррин состоит из частично восстановленных пиррольных гетероциклов, причем пиррольные кольца А и Д соединены непосредственно связью между α-положениями. Координационный узел молекулы витамина В<sub>12</sub> образован ионом  $\text{Co}^{2+}$ , связанным одной ковалентной и тремя координационными связями с атомами азота реакционного центра лиганда коррина:



По пятому координационному положению иона  $\text{Co}^{2+}$  присоединен нуклеотид, необычность структуры которого заключается в том, что в качестве основания выступает 5,6-диметилбензимидазол, расположенный над плоскостью корринового кольца, к которому посредством  $\alpha$ -гликозидной связи присоединен рибозо-3'-фосфат. При этом рибозо-3'-фосфат образует сложноэфирную связь с 1-амино-2-пропанолом, который соединен амидной связью с карбоксильной группой пропионовой кислоты — заместителем корринового цикла.

Обычно витамин  $\text{B}_{12}$  выделяют из микробной массы или животных тканей, используя растворы, содержащие цианид-ионы. Так образуется *цианкобаламин*, в котором роль шестого лиганда иона  $\text{Co}^{2+}$  играет анион  $\text{CN}^-$ . Однако сам цианкобаламин биологически неактивен. В состав  $\text{B}_{12}$ -зависимых ферментов входит *дезоксиаденозилкобаламин* (шестым лигандом выступает остаток 5'-дезоксиаденозина) или *метилкобаламин* (шестой лиганд — метильный радикал).

Цианкобаламин кристаллизуется в виде темно-красных игл, довольно хорошо растворим в воде, спиртах, фенолах, карбоновых кислотах. Витамин  $\text{B}_{12}$  разрушается под действием солнечных лучей, излишнего кипячения продуктов, от употребления алкоголя, под действием пекарских дрожжей.

Содержание витамина  $\text{B}_{12}$  в распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.13.

**Таблица 3.13. Содержание витамина  $\text{B}_{12}$  в некоторых продуктах питания**

Продукт	Содержание витамина $\text{B}_{12}$ , мкг на 100 г	Продукт	Содержание витамина $\text{B}_{12}$ , мкг на 100 г
Телячья печень	80,0	Форель	2,54
Говяжья печень	70,0	Баранина	2,46
Куриная печень	40,0	Телятина	1,85
Свиная печень	25,0	Говядина	1,80
Сельдь	4,86	Яйца	1,70
Яичный желток	3,80	Творог	0,93
Лосось	3,0	Треска	0,77
Свинина	2,78	Молоко	0,36

**Биохимические функции.** Метилкобаламин присутствует в цитоплазме, а дезоксиаденозилкобаламин находится в митохондриях клеток. Метилкобаламин служит коферментом в реакциях трансметилирования, которые протекают в процессе синтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Дезоксиаденозилкобаламин участвует в метаболизме метилмалоновой кислоты, которая синтезируется в организме из жирных кислот с нечетным числом атомов углерода, а также из аминокислот с разветвленной углеродной цепью. Основное значение витамина  $\text{B}_{12}$  обусловлено его антианемическим действием.

**Гиповитаминоз В<sub>12</sub>.** Недостаток витамина В<sub>12</sub> в рационе наблюдается только у строгих вегетарианцев (веганов); в печени хранятся значительные запасы витамина, поэтому его дефицит обычно не развивается даже при выраженных нарушениях всасывания в кишечнике (за исключением тех случаев, когда эти нарушения сохраняются очень длительное время). Авитаминоз В<sub>12</sub> вызывает *пернициозную анемию* (от лат. *perniciosus* — губительный, опасный), основными признаками которой являются потеря аппетита, снижение массы тела, слабость, боли в области желудка. Эта болезнь впервые была описана более 100 лет назад и долгое время считалась неизлечимой. Первые случаи выздоровления отмечены в 1926 г., когда для лечения применили сырую печень. В 1948 г. из печени был впервые выделен витамин В<sub>12</sub>, который и оказывал исцеляющее действие. Его содержание в печени оказалось очень небольшим — около 1 мкг в 1 г печени. Введение витамина В<sub>12</sub> быстро излечивает пернициозную (злокачественную) анемию. Однако большое значение имеет способ введения витамина: прием витамина энтерально (т. е. через пищеварительный тракт) не излечивает болезнь, в то время как прием витамина парентерально (внутривенно, минуя желудочно-кишечный тракт) действует очень эффективно. Дело в том, что для усвоения витамина В<sub>12</sub> в желудочно-кишечном тракте необходимо особое вещество — *фактор Касла*, которое по химической структуре представляет собой гликопротеин. Фактор Касла у здоровых людей синтезируется в клетках желудка и секретруется в желудочный сок. Он избирательно связывает витамин В<sub>12</sub> (в стехиометрическом соотношении 1 : 1); затем, уже в кишечнике, этот комплекс присоединяется к специфичным рецепторам мембраны и осуществляется транспорт витамина через клеточные мембраны, т. е. всасывание.

Витамин В<sub>12</sub> — единственный из витаминов, который синтезируется исключительно микроорганизмами. Через почву он попадает в растения, а затем с растениями — в организмы животных. Для человека основным эффективным источником витамина В<sub>12</sub> служит животная пища. Наиболее богата витамином печень — около 100 мкг на 100 г печени; в говядине содержится около 5 мкг витамина на 100 г мяса.

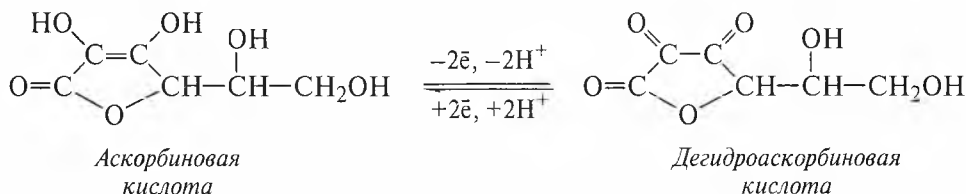
Последние исследования, проведенные в связи с распространением вегетарианства как одной из форм здорового образа жизни, показали, что дети, которых с рождения кормят только растительной пищей, отстают от своих сверстников как в физическом, так и в умственном развитии. Одна из причин этого — отсутствие в растениях достаточного количества витамина В<sub>12</sub>, необходимого помимо прочего для работы мозга.

### 3.5.8. ВИТАМИН С (АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА)

**Химическая природа.** Химическая структура *витамина С* была установлена в 1933 г., и в этом же году его синтез был осуществлен Т. Рейхштейном (Швейцария). Витамин С — *аскорбиновая кислота* — по своей химической природе представляет лактон гексоновой кислоты со структурой, близкой к структуре L-глюкозы. Благодаря наличию двух асимметрических атомов углерода в положениях 4 и 5 аскорбиновая кислота образует четыре оптических изомера и два рацемата.



Витамин С представляет собой кристаллическое вещество, легко растворимое в воде с образованием кислых растворов. Аскорбиновая кислота — довольно сильная кислота ( $pK_a^1 = 4,2$ ); ее кислотный характер обусловлен наличием в ее молекуле двух обратимо диссоциирующих гидроксильных групп:



Аскорбиновая кислота обладает также ярко выраженными восстановительными свойствами.

Аскорбиновая кислота и особенно ее дегидроформа являются неустойчивыми соединениями. Наиболее быстро витамин С разрушается в присутствии окислителей в нейтральной или щелочной среде при повышенной температуре с образованием дикетогулоновой кислоты, не обладающей витаминной активностью. Поэтому при различных видах кулинарной обработки пищи, изготовлении овощных и фруктовых консервов часть витамина С обычно теряется. Особенно быстро витамин С инактивируется в присутствии следов солей тяжелых металлов (железа, меди, цинка) за счет образования с ними устойчивых комплексов. Несмотря на это в настоящее время разработаны способы приготвления консервированных фруктов и овощей с сохранением их полной витаминной активности. Для этого используются различные стабилизирующие вещества — консерванты. Особо следует отметить, что витамин С легко разрушается при курении — каждая выкуренная сигарета разрушает 25 мг витамина С.

Содержание витамина С в распространенных продуктах питания приведено в табл. 3.14.

Таблица 3.14. Содержание витамина С в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание витамина С, мг на 100 г	Продукт	Содержание витамина С, мг на 100 г
Облепиха	270,0	Апельсины	50,0
Черная смородина	180,0	Цветная капуста	45,26
Зеленый болгарский перец	139,0	Шпинат	42,50
Петрушка	96,0	Красная смородина	40,0
Фенхель	86,49	Крыжовник	35,0
Шиповник	84,50	Лимоны	33,92
Брокколи	71,50	Дыня	30,0
Киви	69,60	Грейпфрут	26,40
Хрен	62,01	Зеленый салат	25,50

Продукт	Содержание витамина С, мг на 100 г	Продукт	Содержание витамина С, мг на 100 г
Капуста	60,50	Малина	24,0
Клубника	58,20	Помидоры	20,90
		Квашеная капуста (без сока)	20,0

**Биохимические функции.** В организме сопряженная окислительно-восстановительная пара — аскорбиновая кислота и дегидроаскорбиновая кислота — является активным антидотом свободнорадикальных механизмов, протекание которых усиливается при патологических состояниях. Аскорбиновая кислота также участвует в процессах превращения ароматических аминокислот в некоторые нейромедиаторы, в синтезе ряда стероидных гормонов (кортикостероидов), в процессах кроветворения, в образовании белка соединительной ткани коллагена, в восстановлении ионов  $\text{Fe}^{3+}$  до  $\text{Fe}^{2+}$  и во многих других биохимических процессах.

Биохимические функции витамина С отличаются следующими особенностями:

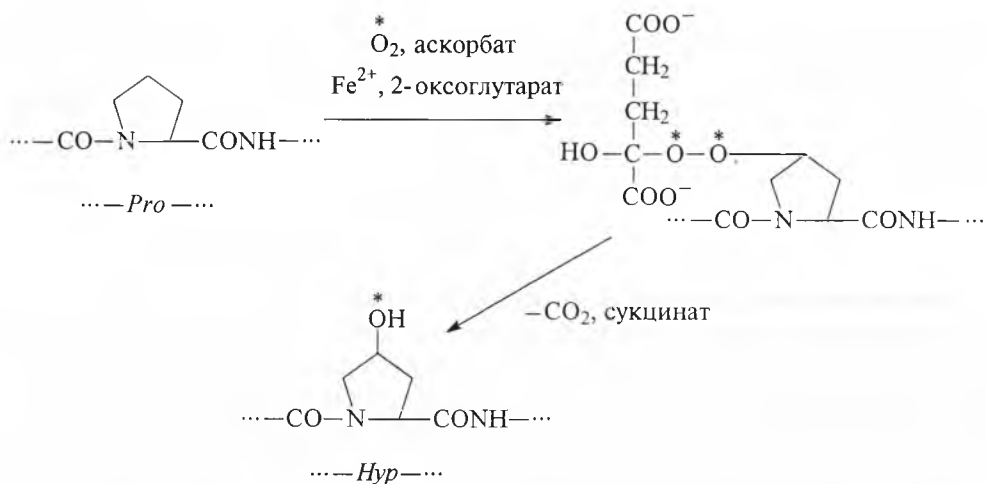
1) отсутствие в биологическом действии коферментных функций (отсутствие ферментной системы, в которую витамин С входил бы в качестве структурного компонента);

2) участие в синтезе белковой части большинства ферментов, чем и объясняется широкий спектр биологического действия витамина С;

3) отсутствие путей биосинтеза витамина в организме человека в отличие от большинства животных.

Рассмотрим более подробно одну из самых важных функций аскорбиновой кислоты — ускорение процесса посттрансляционного гидроксилирования остатков пролина и лизина коллагена — наиболее распространенного белка животного мира. Формирование четвертичной трехспиральной структуры физиологически активного коллагена возможно только при условии наличия в его аминокислотной последовательности гидроксилированных остатков пролина и лизина. Гидроксипролин (*Hyp*) и гидроксилизин (*Hyl*) не имеют соответствующих кодонов, поэтому гидроксилирование остатков пролина (*Pro*) и лизина (*Lys*) в процессе биосинтеза коллагена происходит посттрансляционно (см. главу 11). Около половины всех остатков пролина гидроксилируется в основном до 4-гидроксипролина, но встречается также и 3-гидроксипролин. Гидроксилирование *Pro* и *Lys* катализируется *пролилгидроксилазой* и *лизилгидроксилазой* — ферментами, которые функционируют при участии аскорбиновой кислоты, ионов  $\text{Fe}^{2+}$  и 2-оксоглутарата. К настоящему времени установлено, что реакция скорее всего протекает через образование промежуточного пероксиглутарата, который далее взаимодействует с *Pro* и *Lys*, как это показано на рис. 3.4 для *Pro*.

Фермент высокоселективно действует на остатки пролина, занимающего третье положение в триплете *Gly—X—Pro* перед последующим остатком глицина. Очевидно, роль аскорбиновой кислоты заключается в сохранении восстановленного состояния кофактора гидроксилазы — иона  $\text{Fe}^{2+}$ .



**Рис. 3.4.** Предположительный механизм посттрансляционного гидроксирования пролина при участии аскорбиновой кислоты

Таким образом, коллаген, синтезированный при недостатке или отсутствии витамина С, не способен к образованию полноценных волокон, что является причиной поражений кожи, ломкости сосудов и других признаков, характерных для цинги.

Биосинтез аскорбиновой кислоты осуществляется у всех видов животных, кроме морской свинки, нескольких видов птиц и приматов, включая человека. Возникает вопрос: если аскорбиновая кислота так важна для здоровья человека, то почему она не синтезируется в его организме? Предположение о происхождении такой «биологической несправедливости» сделал Л. Полинг — выдающийся американский биохимик (1902—1994 гг.). Он предположил, что 25 млн лет назад общий предок человека и приматов жил в местности, где фрукты и овощи были особенно богаты витамином С. В этих условиях мутация, лишившая предка человека возможности синтезировать витамин С (предположительно в результате утраты соответствующего фермента), не оказалась фатальной. В пище было достаточно витамина С, чтобы восполнить его потерю. Фактически эта утрата могла даже оказаться выгодной: энергию, затрачиваемую на синтез витамина С, организм предка человека мог использовать для других, более важных целей. Однако когда приматы (и, соответственно, предки человека) покинули свою тропическую долину, их здоровье ухудшилось из-за сокращения потребления витамина С. Поступление витамина с пищей было недостаточным для удовлетворения потребностей организма по сравнению с тем его количеством, который когда-то в нем синтезировался. Именно поэтому, считал Полинг, современным людям необходимо постоянно получать витамин С с пищей.

**Гиповитаминоз С.** Не только при полном отсутствии аскорбиновой кислоты в пище, но даже при частичном ее недостатке в организме могут возникнуть серьезные расстройства метаболизма: нарушение обмена веществ, понижение свертываемости крови, тяжелые формы малокровия, дисфункция желудочно-кишечного тракта. Организм при этом быстро

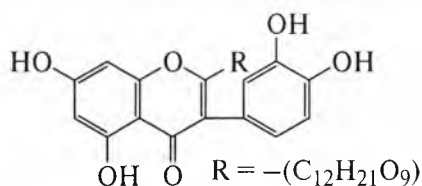
теряет свой иммунитет при борьбе с различными инфекциями. Все это приводит к заболеванию, называемому цингой (скорбуту), которое проявляется в нарушении образования соединительных тканей, повышенной ломкости сосудов и как следствие — возникновении кровоизлияний, а также в развитии анемий. Молекулярный механизм возникновения главного симптома цинги — нарушения образования соединительных тканей — рассматривался ранее.

Сигналами гиповитаминоза витамина С служат быстрая утомляемость, чувство общей разбитости, отсутствие аппетита, вялость кишечника, мышечная слабость. Ежедневная доза витамина С для мужчины до 110 мг, а для женщины до 80 мг. Физиологическая потребность в аскорбиновой кислоте повышается при недостатке в питании полноценных белков, при многих заболеваниях сердечно-сосудистой и пищеварительной систем, почек, при ревматизме, инфекциях, анемиях, травмах, обширных ожогах, хирургических операциях.

Лекарственные способности витамина С при борьбе с различными заболеваниями изучались и изучаются в настоящее время во всем мире. Впервые этой проблемой заинтересовался Л. Полинг, и он достиг блестящих результатов. На собственном примере он показал, что достаточно большие дозы витамина С (до 10 г), принимаемые регулярно, помогают бороться с раковыми опухолями, сердечно-сосудистыми заболеваниями и др. В 1990 г. Национальный институт рака созвал Международную конференцию по витамину С. На конференции было сделано много докладов о роли витамина С в обмене веществ, о его способности препятствовать возникновению и росту опухолей, увеличивать продолжительность жизни, уменьшать токсичность противораковых лекарственных препаратов и повышать эффективность других методов лечения рака. «Это было замечательно, это было великое событие!», — сказал Л. Полинг, когда конференция завершила свою работу.

### 3.5.9. ВИТАМИН Р (ФЛАВОНОИДЫ)

**Химическая природа.** По своему химическому строению витамин Р представлен группой родственных соединений, имеющих общий дифенилпропановый углеродный «скелет» *хромона* или *флавона*. К ним относятся растительные полифенольные соединения, так называемые *биофлавоноиды*: *катехины*, *лейкоантоцианы*, *флавононы*, *флавонолы* (в том числе и *рутин*), *антоцианы*, *флавоны*; все они являются продуктами растительного происхождения, в животных тканях такие соединения не синтезируются. Всего в природных объектах обнаружено более 2000 таких веществ. В качестве примера приведем структуру *рутина*, строение и свойства которого наиболее изучены:



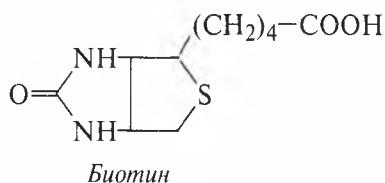
*Рутин*

**Биохимические функции.** Соединения, образующие группу витамина Р, в процессе метаболизма превращаются в фенольные кислоты, которые используются организмом для синтеза убихинона и ряда других ароматических биосоединений. Многие особенности механизмов их действия еще пока не изучены, но известно, что они обладают сосудукрепляющим и активирующим действием, способствуют поддержанию в хорошем состоянии коллагена, выполняющего роль «цемента» между всеми клетками. Отмечается выраженный синергизм действия витамина Р с витамином С.

**Гиповитаминоз Р.** Недостаточность витамина Р проявляется в повышенной ломкости стенок кровеносных сосудов, увеличении проницаемости капилляров, появлении мелкоточечных кровоизлияний. Соединения группы витамина Р малотоксичны. Так как биофлавоноиды повышают усвояемость и эффективность витамина С, предохраняя его от окисления, их следует принимать вместе, причем потребность в витамине Р составляет половину потребности в витамине С.

### 3.5.10. ВИТАМИН Н (БИОТИН)

**Химическая природа.** Молекула *витамина Н* — *биотина* — состоит из имидазольного и тиофенового колец. Ее можно рассматривать как циклическое производное мочевины с боковой цепью, представляющей собой остаток валериановой кислоты:



В молекуле содержится три асимметрических атома углерода, что обуславливает существование восьми стереоизомеров.

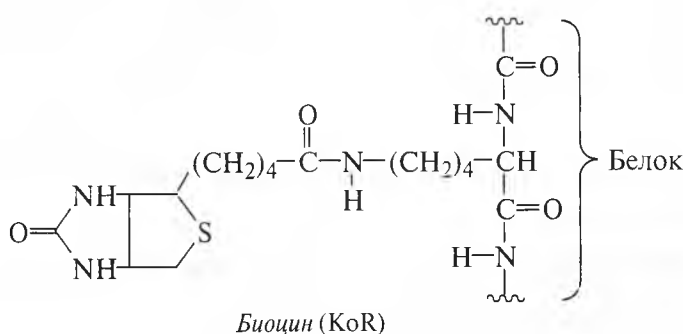
Содержание биотина в некоторых продуктах питания приведено в табл. 3.15.

Таблица 3.15. Содержание витамина Н в некоторых продуктах питания

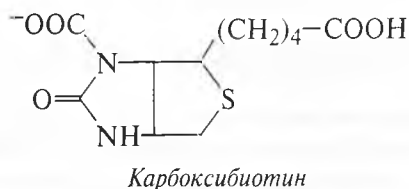
Продукт	Содержание витамина Н, мкг на 100 г	Продукт	Содержание витамина Н, мкг на 100 г
Говяжья печень	100,0	Бананы	3,35
Дрожжи	60,0	Морковь	3,28
Яичный желток	57,0	Йогурт	3,0
Телячья печень	50,0	Клубника	2,91
Свиная печень	30,0	Черная смородина	2,40
Овсяные хлопья	20,0	Фенхель	2,33
Шампиньоны	11,20	Курица	2,0
Творог	6,02	Брусника	1,88

Продукт	Содержание витамина Н, мкг на 100 г	Продукт	Содержание витамина Н, мкг на 100 г
Шпинат	5,87	Облепиха	1,80
Соя	4,0	Апельсины	1,50
Фасоль	3,72	Черника	1,08
Молоко	3,50	Вишня	0,40

**Биохимические функции.** В организме биотин образуется из олеиновой кислоты, он также широко распространен в природе (содержится в различных микроорганизмах, растениях, животных). Биохимические функции биотина сводятся к образованию им амидной связи с  $\epsilon$ -аминогруппой лизина, в результате чего образуется  $\epsilon$ -N-биотиниллизин или *биоцин* (известен также как *коэнзим R*), входящий в активный центр биотинзависимых ферментов. Это и определяет биологическую активность витамина Н:



Биотинзависимые ферменты катализируют реакции  $\beta$ -карбоксилирования или фиксации  $CO_2$ , тем самым они способствуют усвоению тканями организма гидрокарбонат-ионов. При этом образуется *карбоксибиотин*:



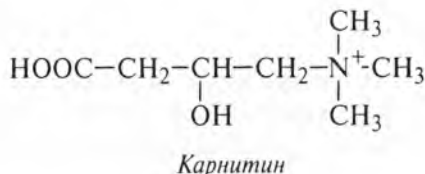
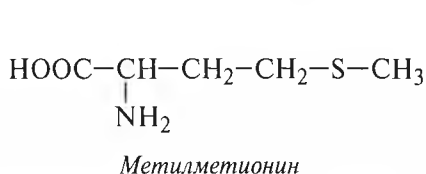
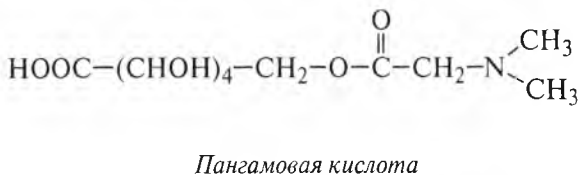
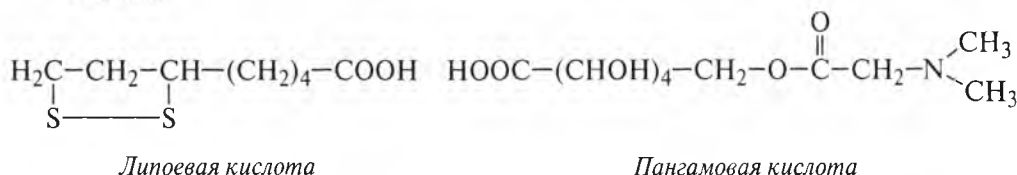
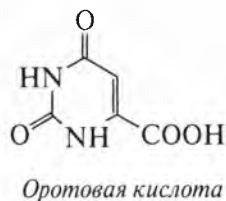
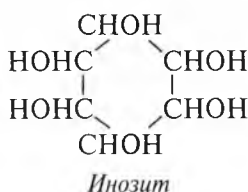
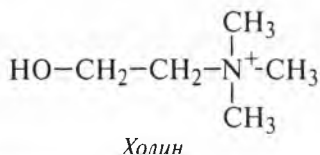
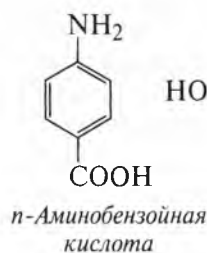
Биотинзависимые ферменты катализируют также реакции транскарбоксилирования, при которых карбоксилирование одного субстрата осуществляется за счет одновременного декарбоксилирования другого соединения.

**Гиповитаминоз Н.** При гиповитаминозе биотина нарушаются следующие функции печени животных: синтез цитруллина из орнитина,  $NH_3$  и  $CO_2$ ; включение  $CO_2$  в пуриновые основания; карбоксилирование пропионовой кислоты с образованием янтарной кислоты; включение  $CO_2$  в ацетоксусную кислоту. Дефицит биотина может привести к крайнему истощению, утомлению, депрессии, выпадению волос.

Поясним, что возникающие при употреблении сырых куриных яиц токсикозы вызваны образованием специфического комплекса биотина с *авидином* — гликопротеином белка куриных яиц, в результате чего развивается биотиновая недостаточность.

### 3.6. ВИТАМИНОПОДОБНЫЕ ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВЕЩЕСТВА

К витаминоподобным водорастворимым веществам можно отнести такие соединения, как *n*-аминобензойная кислота, холин, инозит, оротовая, липоевая и пангамовая кислоты, метилметионин и карнитин:



#### 3.6.1. *n*-АМИНОБЕНЗОЙНАЯ КИСЛОТА (ВИТАМИН H<sub>1</sub>)

*n*-Аминобензойная кислота входит в состав фолиевой кислоты, активирует синтез пуриновых и пиримидиновых оснований, влияет на функцию щитовидной железы, является фактором роста и развития организмов. Действует как антиоксидант. Обладает солнцезащитными свойствами и часто используется в мазях против солнечных ожогов. Может вызвать аллергическую реакцию у людей, пользующихся солнцезащитными лосьонами. Разрушается в организме антибиотиками и алкоголем. Широко распространена во многих пищевых продуктах (печень, почки, сердце, грибы, дрожжи и др.).

#### 3.6.2. ХОЛИН (ВИТАМИН В<sub>4</sub>)

Холин участвует в синтезе фосфатидов, ацетилхолина и является донором метильных групп в реакциях трансметилирования. Холином богаты мясо и продукты, получаемые из злаковых растений. У человека гипо-

витаминоз холина не описан. В медицинской практике используется препарат холина для лечения поражений печени, вызванных различными заболеваниями и интоксикациями.

### 3.6.3. ИНОЗИТ (ВИТАМИН В<sub>8</sub>)

*Инозит* широко распространен в растительных и животных тканях; в растениях образуется циклизацией молекулы глюкозы, содержится преимущественно в виде эфира фосфорной кислоты — *фитина*. Источником инозита являются мясные продукты, хлеб, картофель, некоторые овощи и фрукты. Суточная потребность человека в инозите составляет 1—1,5 мг. Гиповитаминоз инозита практически не встречается.

### 3.6.4. ОРОВАЯ КИСЛОТА (ВИТАМИН В<sub>13</sub>)

*Оровая кислота* усиливает рост микроорганизмов и высших животных. Является единственным циклическим соединением, включающимся в пиримидиновые нуклеотиды после введения его в организм извне, чем стимулирует рост растений и животных. Источниками витамина могут быть печень, молоко и дрожжи. При вскармливании недоношенных детей, при заболеваниях печени и сердца применяют оротат калия.

### 3.6.5. ЛИПОВАЯ КИСЛОТА (ВИТАМИН N)

*Липовая кислота* выполняет специфическую коферментную роль в реакциях окислительного декарбоксилирования  $\alpha$ -кетокислот, при переносе ацильных остатков и в других процессах. Липовая кислота широко распространена в растениях и микроорганизмах. Ориентировочная суточная потребность человека в липовой кислоте составляет 1—2 мг. Ее применяют при атеросклерозе, некоторых заболеваниях печени, сахарном диабете, различных интоксикациях.

### 3.6.6. ПАНГАМОВАЯ КИСЛОТА (ВИТАМИН В<sub>13</sub>)

*Пангамовая кислота* подобно метионину служит источником подвижных метильных групп. Участвует в биосинтезе метилированных соединений: холина и холидинфосфатидов, креатина и др. Витамин В<sub>13</sub> улучшает тканевое дыхание, повышает использование кислорода в тканях и участвует в окислительных процессах, способствует синтезу белков. Действует как антиоксидант и способствует выведению токсинов, попадающих в организм из загрязненной окружающей среды. Содержится во многих продуктах питания, но потребность в ней человека неизвестна; в лечебных целях пангамовую кислоту используют в дозе 0,1—0,3 мг.

### 3.6.7. МЕТИЛМЕТИОНИН (ВИТАМИН U)

*Метилметионин* является активной формой аминокислоты метионина. Участвует в синтезе холина и креатинина, оказывает стимулирующее воздействие при лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, гастритов. Содержится в соках сырых овощей, особенно в капустном соке.



### 3.6.8. КАРНИТИН (ВИТАМИН В<sub>7</sub>)

*Карнитин* участвует в переносе длинноцепочечных ацилов жирных кислот через мембраны митохондрий. Стимулирует внешнесекреторную функцию поджелудочной железы, оказывает положительный эффект на сперматогенез и подвижность сперматозоидов. Содержится в мясных и прочих продуктах. При карнитиновой недостаточности происходит поражение скелетных мышц. Применение больших количеств карнитина облегчает течение этого заболевания.

### 3.7. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИТАМИНОВ. АНТИВИТАМИННОЕ ДЕЙСТВИЕ

Между витаминами, как и между другими индивидуальными химическими соединениями, возможны различные взаимодействия, которые могут по-разному отражаться на биологической активности того или иного витамина. Например, один витамин может влиять на метаболизм другого витамина, участвовать наряду с ним в одной или нескольких стадиях единого биохимического процесса и т. д. Так, никотиновая кислота и тиамин антагонизируют друг с другом, аскорбиновая кислота и биофлавоноиды обнаруживают синергизм, а витамины К и Е, К и А по некоторым аспектам своего действия заменяют друг друга. Сведения об особенностях взаимодействия витаминов являются основой для их рационального применения и создания эффективных поливитаминных комплексов. В настоящее время создана обширная группа препаратов, содержащих большой набор разных витаминов.

Аналоги витаминов, способные замещать витамины в ферментах, по химической структуре, как правило, являются производными витаминов, но не способны выполнять их функции в реакциях ферментативного катализа. Такие соединения называются *антивитаминами*. Примерами антивитаминов могут служить сульфаниламидные препараты, которые включаются вместо ПАБК в структуру фолиевой кислоты, синтезирующейся в микроорганизмах, и блокируют функции фолатзависимых коферментов. В итоге прекращается размножение чувствительных к сульфаниламидам микроорганизмов. На антивитаминном действии сульфаниламидных препаратов основано их применение в медицинской практике для лечения инфекционных заболеваний. Для лечения лейкозов и других форм рака применяют птеридин и его производные, которые вытесняют фолиевую кислоту из фолатзависимых ферментативных реакций, блокируя тем самым синтез нуклеиновых кислот, что проявляется в торможении деления клеток. Таким образом, специфическое действие антивитаминов позволило использовать их в медицинской практике для лечения бактериальных инфекций и опухолевых заболеваний.

### 3.8. ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИТАМИНОВ

Методы качественного и количественного определения витаминов в биологических объектах — важная задача экспериментальной биохимии. С помощью этих методов выясняют обеспеченность потребности орга-

низма в том или ином витамине, содержание витаминов в пищевых продуктах и др.

Качественный анализ витаминов проводят в основном с помощью характерных цветных реакций витаминов с рядом химических соединений (табл. 3.16). Например, при добавлении к рыбьему жиру концентрированной серной кислоты появляется красно-фиолетовое окрашивание, которое затем переходит в красно-бурое, — данная реакция позволяет определить витамин А. Качественная реакция на тиамин (витамин В<sub>1</sub>) основана на взаимодействии последнего с диазореактивом в щелочной среде с появлением оранжевой окраски реакционной смеси вследствие образования сложного координационного соединения тиамина с диазобензосульфокислотой. Для выяснения обеспеченности организма каким-либо витамином часто определяют соответствующий витамин или продукт его метаболизма в сыворотке крови, моче и других биожидкостях.

Количественный анализ витаминов проводят с помощью простых методов количественного анализа, в основном методом титриметрии. Например, определение витамина С осуществляют путем титрования иссле-

Таблица 3.16. Качественные реакции на некоторые витамины

Витамин	Реактив	Результат взаимодействия
Витамин А	Трихлорид сурьмы	Синее окрашивание
	УФ-свет	Золотисто-коричневая флуоресценция
Витамин D	Перманганат калия	Коричневое окрашивание
	УФ-свет	Темное окрашивание
Витамин Е	Трихлорид сурьмы	Коричневое окрашивание
	Дипиридилферрохлорид	Ярко-красное окрашивание
	УФ-свет	Темное окрашивание
Витамин К	Феррицианид калия	Ярко-синее окрашивание
	УФ-свет	Темное окрашивание
	Лейкометиленовый синий	Синее окрашивание
Тиамин	Гексацианоферрат(III) калия, УФ-свет	Синяя флуоресценция
	Висмутйодид калия	Красно-оранжевое окрашивание
Пиридоксин	2,6-Дихлорохинонхлороимид	Синее окрашивание
	Фенилгидразин	Желтое окрашивание
Никотиновая кислота	Пикрилхлорид	Красное окрашивание
Пантотеновая кислота	β-Нафтохинон-4-сульфонат	Интенсивное желтое окрашивание
Аскорбиновая кислота	2,6-Дихлорофенолиндофенол	Бесцветные продукты

дуемой пробы раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до слабого розового окрашивания. Данная реакция основана на окислении аскорбиновой кислоты 2,6-дихлорфенолиндофенолом.

Поскольку ряд витаминов обладает способностью поглощать лучи света определенной длины волны, то удобным методом определения витаминов является спектрофотометрический. Например, витамин А интенсивно поглощает свет в области 328 — 330 нм, что используется как для качественного, так и для количественного его определения.

В биохимической практике для анализа витаминов широко используются биологические методы анализа, основанные на определении того минимального количества витамина, которое при добавлении к искусственной диете, лишенной только исследуемого витамина, предохраняет животное от развития гиповитаминоза. Данное минимальное количество витамина принимается за единицу. Кроме того, широкое распространение получили также микробиологические методы анализа, основанные на измерении скорости роста бактерий, которая пропорциональна концентрации витамина в исследуемом материале.

## Контрольные вопросы и задания

1. Назовите основные этапы в истории открытия витаминов как важного класса биологически активных веществ.
2. Какие соединения называют витаминами?
3. В чем состоят особенности функционирования витаминов в живых организмах?
4. Какие формы патологических состояний, связанных с дисбалансом витаминов, могут возникнуть в организме?
5. Какие признаки положены в основу классификации витаминов?
6. Чем различаются витамины и витаминоподобные соединения?
7. Проанализируйте данные табл. 3.1 — 3.15 и сделайте вывод об оптимальных соотношениях витаминов в пище и о том, какие продукты должны составлять рацион здорового человека.
8. В чем заключаются особенности химического строения и биохимические функции следующих витаминов: а) А; б) В<sub>3</sub>; в) D; г) В<sub>5</sub>; д) К; е) В<sub>6</sub>; ж) Е; з) В<sub>9</sub>; и) В<sub>1</sub>; к) В<sub>12</sub>; л) В<sub>2</sub>; м) С?
9. В чем состоят особенности химического строения и биохимические функции следующих витаминоподобных соединений: а) коэнзим Q; б) оротовая кислота; в) витамин F; г) липоевая кислота; д) *п*-аминобензойная кислота; е) пангамоновая кислота; ж) холин; з) метилметионин; и) инозит; к) карнитин?
10. Какие функции выполняет витамин А в молекулярном механизме фотохимического акта зрения?
11. Какие типы биохимических реакций катализируют ферменты, коферментами которых являются следующие производные витаминов: а) коэнзим Q; б) тиаминдифосфат (ТДФ); в) флавинмонопнуклеотид (ФМН) и флавинадениндинуклеотид (ФАД); г) кофермент А; д) пиридоксальфосфат и пиридоксаминфосфат; е) дезоксиадеинозилкобаламин; ж) метилкобаламин; з) биотин?
12. Поясните биохимические основы применения витамина С в качестве лекарственного препарата.
13. Какие соединения называют антивитаминами? Приведите примеры.
14. Какие принципы лежат в основе химического анализа витаминов? Приведите примеры соответствующих методов.

---

## Глава 4

### Биометаллы

#### 4.1. ИОНЫ МЕТАЛЛОВ В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ

В настоящее время уже совершенно очевидна роль металлов в важнейших биологических процессах. Функции металлов и их соединений в живых организмах чрезвычайно многообразны. Процессы, происходящие в организмах с участием ионов металлов и металлосодержащих соединений, являются предметом изучения всех наук о жизни. Ведущая роль здесь принадлежит *бионеорганической химии*. Долгое время не привлекавшая внимания ученых, сейчас она стремительно развивается.

**Бионеорганическая химия**, возникшая на стыке неорганической химии и биологии, занимается исследованием роли металлов, их соединений, изучением молекулярных особенностей и физико-химических закономерностей процессов взаимодействия ионов металлов с биолигандами (белками, в том числе ферментами, витаминами, нуклеиновыми кислотами, гормонами, лекарственными препаратами и др.) как *in vivo*, так и *in vitro*.

Основной задачей бионеорганической химии является изучение и освещение вопросов, связанных с распространением и ролью химических элементов в живой природе. Главное внимание при этом уделяется установлению взаимосвязей между электронной структурой и физико-химическими свойствами ионов металлов и их ролью в осуществлении сложнейших биохимических процессов. Широко исследуются пути синтеза, строение, устойчивость и реакционная способность металлосодержащих биологических структур, как низко-, так и высокомолекулярных. Кроме того, в задачи бионеорганической химии входят формирование экспериментальных подходов к изучению роли тех или иных химических элементов в жизни организмов, моделирование биохимических процессов, установление механизмов действия лекарственных препаратов, решение вопросов, связанных с эффективным использованием микроудобрений, защитой окружающей среды от загрязнения токсичными соединениями и т. д.

Итак, бионеорганическая химия является пограничной областью между неорганической химией и науками о жизни и представляет собой ту сферу научной деятельности, в которой химики могли бы применить свои знания и на примере модельных систем объяснить поведение неорганических объектов в биологических процессах, что способствовало бы развитию биохимии в целом.

Основной задачей настоящей главы является рассмотрение вопросов, связанных с распространением в живой природе и биологической ролью

металлов и их соединений. Химия биогенных неметаллов рассматривается в других главах настоящего пособия, а более подробная информация о биохимических функциях всех элементов излагается в специальной литературе.

Одни биохимические процессы предъявляют весьма жесткие требования к иону металла и осуществляются под действием лишь строго определенных ионов в фиксированной степени окисления, другие процессы значительно менее специфичны, и для них возможна замена одного металла другим.

Ионы металлов в живых организмах находятся или в гидратированном (сольватированном) состоянии, или в виде координационных соединений с биолигандами (в основном белками). Как указывалось в главе 2, каталитическая активность многих ферментов зависит от присутствия того или иного иона металла. Особую актуальность приобретают вопросы, касающиеся особенностей взаимодействия между ионами металлов и органическими лигандами. Избыток или недостаток таких металлов, вступление токсичных веществ или вирусов — потенциальных комплексообразующих соединений — в конкуренцию за металл с полезными комплексообразующими лигандами (компонентами клеток) приводят к нарушению нормальных процессов в организмах и различным заболеваниям.

На долю металлов приходится всего около 3 % от массы тела человека, тем не менее они имеют огромное биологическое значение.

Десять металлов, жизненно необходимых для организма, получили название **«металлы жизни»**. К ним относятся: *кальций, калий, натрий, магний, железо, цинк, медь, марганец, молибден и кобальт*.

Содержание некоторых металлов в живых организмах меняется с возрастом. Так, содержание кадмия в почках и молибдена в печени к старости понижается, а ванадия, хрома и ряда других микроэлементов увеличивается. Максимальное содержание цинка наблюдается в период полового созревания, затем оно понижается и к старости доходит до минимума.

Следует отметить, что металлы и их соединения, которые в оптимальных количествах являются жизненно необходимыми, при более высоких концентрациях могут проявлять токсические свойства. Под *токсичностью* понимают меру любого аномального изменения функций организма под воздействием токсичного агента при заданных внешних условиях. Известно также, что многие из неорганических веществ, токсичных в физиологических дозах, могут быть биологически важными при низких концентрациях, например выполнять функции стимуляторов биопроцессов. Это свойство ряда веществ с успехом применяется в гомеопатии.

На биологическую активность и токсичность соединений металлов значительное влияние оказывает их растворимость в воде и липидных слоях клеточных мембран. Так, металлическая ртуть и метилртуть адсорбируются через кожные покровы вследствие растворимости в липидах. Простые соли «металлов жизни», как правило, хорошо растворимы в воде. Важно помнить, что аномальные эффекты токсичности в большей степени проявляются в случае растворимых солей, чем в случае малорастворимых. Нерастворимые оксиды менее токсичны, чем растворимые соли (хлориды, нитраты) того же металла. Неорганические соединения различных

металлов в порядке уменьшения их токсичности можно расположить в следующий ряд:

*Нитраты > Хлориды > Бромиды > Ацетаты > Иодиды > Перхлораты > Сульфаты > Фосфаты > Карбонаты > Фториды > Гидроксиды > Оксиды.*

Кроме того, на токсический эффект и эффективность биологического действия образующих соль катионов и анионов может влиять гидролиз солей, протекающий в биологических жидкостях. Биологические жидкости млекопитающих обычно имеют слабощелочную реакцию (рН 7,4), но в некоторых случаях значения рН могут варьироваться в значительных пределах: так, в жидкостях желудочно-кишечного тракта рН изменяется от 1,0 (в желудке) до 8,0 (в кишечнике). Ниже приведены значения рН некоторых биологических жидкостей:

Биологическая жидкость	рН (в норме)
Сыворотка крови .....	7,40 ± 0,05
Слюна .....	6,35—6,85
Чистый желудочный сок .....	0,9—1,1
Моча .....	4,8—7,5
Спинно-мозговая жидкость .....	7,40 ± 0,05
Сок поджелудочной железы .....	7,5—8,0
Жидкость тонкого кишечника .....	7,0—8,0
Желчь в протоках .....	7,4—8,5
Желчь в пузыре .....	5,4—6,9
Молоко .....	6,6—6,9
Слезная жидкость .....	7,4 ± 0,1
Внутриклеточная жидкость кожных покровов .....	6,2—7,5
Внутриклеточная жидкость печени .....	6,4—7,4

Гидролиз солей при рН жидкостей отделов кишечника, протекающий с образованием малорастворимых соединений, препятствует нормальному всасыванию ионов. Растворимые при значениях рН биосред соли щелочных и щелочноземельных металлов подвергаются электролитической диссоциации, в результате чего катионы металлов существуют в гидратированной форме. Растворимые соли элементов IIIA—VA групп Периодической системы элементов Д. И. Менделеева в зависимости от рН среды подвергаются гидролизу до нерастворимых гидроксидов или основных солей. Освобождающиеся при гидролизе ионы водорода понижают рН, что ведет к нарушению кислотно-основного равновесия во внутренней среде организма и вызывает *ацидоз*. Повышение рН в результате гидролиза с участием анионов также приводит к нарушению кислотно-основного равновесия и называется *алкалозом* (о причинах данных патологических нарушений см. также главу 15). Гидролиз по катиону металла не происходит, если имеет место комплексообразование с биолигандами, например белками плазмы крови. При этом токсичность иона металла значительно снижается. В тех случаях, когда вследствие гидролиза образовались основные соли или гидроксиды, из-за низкой растворимости в воде такие соединения могут длительное время находиться в организме, что вызывает пролонгированное токсическое действие металла.

Токсичными могут оказаться даже «металлы жизни», если их концентрация в окружающей среде достаточно высока и они присутствуют в легко доступных для организма формах, т. е. в виде соединений, легко растворимых в воде или липидных фазах. Поэтому разделение элементов, попадающих в организм из окружающей среды, на токсичные и нетоксичные весьма условно. Так, известно, что введение в организм с пищей избытка такого «нетоксичного» металла, как железо, вызывает *сидероз*; избыток другого «металла жизни» — меди — приводит к отравлениям и тяжелым заболеваниям.

В этой связи важно отметить, что многие заболевания связаны с аномальным содержанием некоторых металлов в почве, водоемах той или иной географической зоны. Территории, в почвах которых содержание химического элемента отличается от среднего, названы *биогеохимическими провинциями*. Существуют биогеохимические провинции с пониженным и с повышенным содержанием какого-либо элемента, например биогеохимические провинции с повышенным содержанием стронция (Восточная Сибирь), меди (Башкортостан), молибдена (некоторые районы Армении), с пониженным содержанием иода (Ивановская область, некоторые районы Украины), кобальта (Ярославская область).

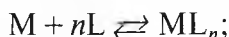
Как уже упоминалось выше, биологическая активность ионов металлов существенно зависит от наличия в биосредах природных лигандов, так как комплексообразование существенно изменяет реакционную способность иона металла. В большинстве случаев именно в составе комплексных соединений с биолигандами ионы металлов транспортируются и депонируются в организме и участвуют в ферментативных процессах. Физиологическое действие многих лекарственных препаратов, являющихся активными лигандами, обусловлено образованием соответствующих координационных соединений. В связи с этим в данной главе целесообразно напомнить некоторые положения координационной химии, знание которых потребуются в дальнейшем при обсуждении биологической активности и токсичности металлов и их соединений.

## 4.2. БИОКОМПЛЕКСЫ МЕТАЛЛОВ

**Биокомплексы металлов** — это координационные соединения, выполняющие в организме определенные биохимические функции, в соответствии с которыми их условно можно подразделить на *транспортные* (ионофоры) и *аккумуляторные* формы (накопители), а также *активаторы* инертных молекул или *биокатализаторов*.

Ионы биогенных *s*-металлов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  и др.) образуют неустойчивые координационные соединения только с лигандами определенного строения. Амфотерные *p*-металлы (Al, Sn, Pb) также образуют различные координационные соединения с биолигандами. Но наиболее прочные координационные соединения образуются при участии ионов *d*-металлов. В процессах жизнедеятельности человека особая роль принадлежит комплексам  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+(3+)}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{2+}$ .

Изучение координационных свойств различных реагентов обычно начинают с определения *констант устойчивости*, что позволяет создать достаточно полный справочный материал, в том числе по устойчивости комплексов с биолигандами и лекарственными препаратами. Для определения констант устойчивости комплекса состава  $ML_n$  ( $M$  — металл,  $L$  — лиганд) изучают обратимый процесс образования этого комплекса:



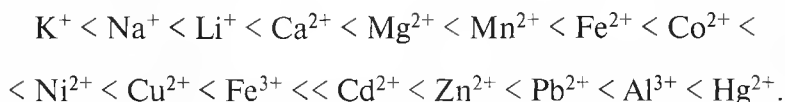
$$K_y^\circ = \frac{a_{ML_n}}{a_M a_L^n} = \frac{[ML_n]}{[M][L]^n} \frac{\gamma_{ML_n}}{\gamma_M \gamma_L^n} = K_y^c \frac{\gamma_{ML_n}}{\gamma_M \gamma_L^n},$$

где —  $K_y^\circ$  и  $K_y^c$  — стандартная и концентрационная константы устойчивости комплекса  $ML_n$  соответственно;  $a_{ML_n}$ ,  $a_M$  и  $a_L$  — активности металлокомплекса, иона металла и лиганда соответственно;  $[ML_n]$ ,  $[M]$  и  $[L]$  — равновесные концентрации металлокомплекса, иона металла и лиганда соответственно;  $\gamma_{ML_n}$ ,  $\gamma_M$  и  $\gamma_L$  — коэффициенты активности металлокомплекса, иона металла и лиганда соответственно.

Для определения  $K_y^\circ$  координационных соединений либо используют значения активностей всех участников реакции, либо прибегают к экстраполяционным процедурам, основанным, как правило, на приближениях, вытекающих из теории Дебая — Хюккеля для сильных электролитов. По значениям констант устойчивости комплекса ( $K_y$ ) с помощью уравнения изотермы реакции нетрудно рассчитать стандартную свободную энергию образования комплекса ( $\Delta G^\circ$ ):

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_y^\circ.$$

Сравнительный анализ данных характеристик для ряда координационных соединений позволяет оценить их устойчивость в зависимости от химической природы ионов металлов и лигандов. Для большинства биолигандов, имеющих в своем составе азот- и кислородсодержащие донорные группы, способность к образованию координационных соединений выражается в подчинении стабильности комплексов расширенному ряду Ирвинга—Вильямса. В соответствии с положениями данной теории ионы металлов по возрастанию способности к комплексообразованию расположены в следующий ряд:



Для комплексов с однотипными лигандами эта закономерность, как правило, соблюдается настолько строго, что ее можно использовать для проверки экспериментальных данных и установления строения новых соединений, т. е. типа координации.



### 4.3. КОНЦЕПЦИЯ ЖЕСТКИХ И МЯГКИХ КИСЛОТ И ОСНОВАНИЙ (ЖМКО)

Весьма полезной для прогнозирования эффективности связывания ионов металлов с биолигандами оказалась концепция жестких и мягких кислот и оснований (ЖМКО), в соответствии с которой ионы металлов (кислоты) и лиганды, содержащие донорные атомы (основания), делятся на «жесткие» и «мягкие». В основе концепции ЖМКО заложены следующие основные положения.

1. Соединения следует рассматривать как молекулярные комплексы кислот и оснований Льюиса, а химические реакции в большинстве своем можно трактовать как кислотно-основные взаимодействия.

2. Все кислоты и основания могут быть разделены на «жесткие», «мягкие» и «промежуточные».

3. Реакции протекают таким образом, что жесткие кислоты предпочитают связываться с жесткими основаниями, а мягкие кислоты — с мягкими основаниями; кислотно-основное взаимодействие с участием промежуточных кислот и оснований требует специального рассмотрения.

В табл. 4.1 приведена классификация кислот и оснований в соответствии с концепцией ЖМКО. Согласно теории ЖМКО, *жесткие кислоты* — это катионы, изоэлектронные атомам инертных газов ( $s^2p^6$ ).

Таблица 4.1. Классификация кислот и оснований в рамках концепции ЖМКО

Кислоты		
жесткие	промежуточные	мягкие
$H^+$ , $Li^+$ , $Na^+$ , $K^+$ $Be^{2+}$ , $Mg^{2+}$ , $Ca^{2+}$ , $Sr^{2+}$ , $Mn^{2+}$ $Al^{3+}$ , $Sc^{3+}$ , $Ga^{3+}$ , $In^{3+}$ , $La^{3+}$ , $Nd^{3+}$ , $Ce^{3+}$ , $Gd^{3+}$ , $Lu^{3+}$ , $Cr^{3+}$ , $Co^{3+}$ , $Fe^{3+}$ , $As^{3+}$ , $CH_3Sn^{3+}$ $Si^{4+}$ , $Ti^{4+}$ , $Zr^{4+}$ , $Th^{4+}$ , $U^{4+}$ , $Ce^{4+}$ , $Hf^{4+}$ , $WO^{4+}$ , $Sn^{4+}$ $UO_2^{2+}$ , $(CH_3)_2Sn^{2+}$ , $VO^{2+}$ , $MoO^{3+}$ $Be(CH_3)_2$ , $BF_3$ , $B(OR)_3$ , $Al(CH_3)_3$ , $AlCl_3$ , $AlH_3$ $RPO^{2+}$ , $ROPO^{2+}$ , $ROSO^{2+}$ , $SO_3$ $I^{7+}$ , $I^{5+}$ , $Cl^{7+}$ , $Cl^{6+}$ $RCO^+$ , $CO_2$ , $NC^+$ $HX$ (молекулы, образующие $H$ -связи) $H_2O$ , $OH^-$ , $F^-$ , $CH_3COO^-$ , $PO_4^{3-}$ , $SO_4^{2-}$ , $Cl^-$ , $CO_3^{2-}$ , $ClO_4^-$ , $NO_3^-$ , $ROH$ , $RO^-$ , $R_2O$ , $NH_3$ , $RNH_2$ , $N_2H_4$	$Fe^{2+}$ , $Ni^{2+}$ , $Cu^{2+}$ , $Zn^{2+}$ , $Pb^{2+}$ , $Sn^{2+}$ , $Sb^{3+}$ , $Bi^{3+}$ , $Rh^{3+}$ , $Ir^{3+}$ , $B(CH_3)_3$ , $SO_2$ , $NO^+$ , $Ru^{2+}$ , $Os^{2+}$ , $R_3C^+$ , $C_6H_5^+$ , $GaH_3$	$Cu^+$ , $Ag^+$ , $Au^+$ , $Tl^+$ , $Hg^+$ $Pd^{2+}$ , $Co^{2+}$ , $Pt^{2+}$ , $Hg^{2+}$ $CH_3Hg^+$ , $Co(CN)_5^{2-}$ , $Pt^{4+}$ , $Te^{4+}$ $Tl^{3+}$ , $Tl(CH_3)_3$ , $BH_3$ , $Ga(CH_3)_3$ $GaCl_3$ , $GaI_3$ , $InCl_3$ $R^+$ , $RSe^+$ , $RTe^+$ $I^+$ , $Br^+$ , $HO^+$ , $RO^+$ $I_2$ , $Br_2$ , $ICN$ Тринитробензол и др. Хлоранил, хиноны и др., $(CN)_2C=C(CN)_2$ $O$ , $Cl$ , $Br$ , $I$ , $N$ , $RO^*$ , $RO_2$ Атомы металлов $R_2S$ , $RSH$ , $RS^-$ , $I^-$ , $SCN^-$ , $S_2O_3^{2-}$ , $R_3P$ , $R_3As$ , $(RO)_3P$ , $CN^-$ , $RNC$ , $CO$ , $C_2H_4$ , $C_6H_6$ , $H^-$ , $R^-$

Они отличаются малыми размерами и имеют высокосимметричное плотное электронное облако, которое слабо поляризуется под действием внешнего электростатического поля анионов. Это катионы групп IA, IIA, IIIA, IVA, а также катионы некоторых *d*-элементов. К *мягким кислотам* относятся катионы *d*-элементов с невысоким зарядом. Электронная оболочка мягких кислот имеет большие размеры и легко поляризуется.

Лиганды, содержащие атомы элементов с высокой электроотрицательностью, например  $F^-$ , являются *жесткими основаниями*. Легко поляризуемые лиганды, например  $I^-$ ,  $R-S^-$ ,  $R-Se^-$ , относятся к *мягким основаниям*. Некоторые лиганды, преимущественно связываемые ионами металлов, представлены ниже:

Ионы металлов	Биолиганды
$K^+$ .....	Однозарядные или нейтральные кислородсодержащие доноры
$Ca^{2+}$ , $Mg^{2+}$ , $Mn^{2+}$ .....	Карбокси-, фосфор- и азотсодержащие доноры
$Fe^{2+}$ , $Co^{3+}$ .....	$-SH$ , $-NH_2$ , карбоксилаты, порфирин
$Fe^{3+}$ .....	Карбоксилаты, тирозин, $-NH_2$ , порфирины
$Cu^+$ .....	$-SH$ (цистеин)
$Cu^{2+}$ .....	Амины, карбоксилаты
$Zn^{2+}$ .....	Имидазол, цистеин
$Mo^{2+}$ , $Cd^{2+}$ , $Hg^{2+}$ , $Pb^{2+}$ .....	$-SH$

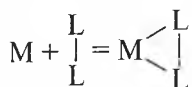
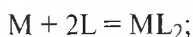
Таким образом, основное положение теории ЖМКО гласит, что наиболее устойчивые координационные соединения образуются между жесткой кислотой и жестким основанием или мягкой кислотой и мягким основанием. Анализ данных, представленных в табл. 4.1, позволяет установить ряд важных закономерностей. Так, становится очевидным, что ионы металлов, проявляющих высокую биологическую активность, являются в основном жесткими или промежуточными кислотами. Более того, важнейшие компоненты клетки или те группы в них, которые выступают как потенциально связывающие по отношению к биометаллам, относятся к жестким основаниям (так, азотсодержащие доноры являются жесткими основаниями, а серосодержащие — мягкими). Другими словами, любая биологическая система является жесткой. Как правило, мягкие кислоты токсичны. Например, известно, что соли свинца, ртути, кадмия и таллия — высокотоксичные вещества. Ионы  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Hg_2^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Tl^+$ , выступая в роли мягких кислот, в физиологических условиях образуют наиболее прочные связи с мягкими основаниями, главным образом белками и другими биосоединениями, содержащими группы  $-SH$  и  $-SR$ . Отсюда становится понятной необратимая инактивация тиосодержащих ферментов перечисленными ионами металлов, в то время как более жесткие кислоты (например, ион  $Mn^{2+}$ ) активируют данные ферменты.

Таким образом, использование принципов теории ЖМКО позволяет более наглядно представить многие биологические явления, например

такие, как отравление организмов ионами *d*-металлов, поэтому применение теории ЖМКО особенно плодотворно при выборе *антидотов*.

В живой природе широко распространены *полидентатные лиганды* («многозубные», от лат. *dentis* — зуб), к которым в первую очередь относятся белки и нуклеиновые кислоты. Молекулы многих лекарственных препаратов также могут выступать в роли полидентатных лигандов.

Координационные соединения, образуемые полидентатными лигандами, или *хелатами* (от лат. *kela* — клешня), имеют ряд физико-химических особенностей, обусловленных так называемым *хелатным эффектом*. Хелатный эффект проявляется в том, что константа образования комплекса  $M(LL)$ , где  $M$  — катион металла, а  $LL$  — бидентатный лиганд, намного больше, чем константа образования комплекса  $ML_2$ , где  $L$  — монодентатный лиганд, близкий по химическому строению лиганду  $LL$ :



Первостепенную роль для жизни организмов играют координационные соединения с *макроциклическими биолигандами*. В таких лигандах донорные атомы входят в состав единого цикла. Наиболее распространены в природе тетрадентатные лиганды — порфирины и близкие им по структуре корриноиды (производные коррина) (см. главы 3, 5). Стабильность макроциклических лигандов намного выше, чем аналогичных лигандов нециклического строения. Это явление по аналогии с хелатным эффектом названо *макроциклическим эффектом*. Подробную информацию о физико-химических основах хелатного и макроциклического эффектов можно узнать из специальной литературы по химии координационных соединений.

Успехи в определении содержания металлов *in vivo* позволили прийти к выводу, что многие патологические состояния организма сопровождаются соответствующими нарушениями металло-лигандного обмена на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. В связи с этим большое внимание уделяется вопросу о возможности применения индивидуальных координационных соединений в качестве лекарственных препаратов. Комплексы металлов с лекарственными препаратами обычно выполняют транспортную и аккумулирующую роль, а также выступают как функционирующие модели активного центра ферментных систем. В общем случае *in vivo* потенциальный хелатирующий агент (лекарственный препарат) конкурирует за ион металла с большим числом других биолигандов. Исследования в этой области позволили подобрать широкую группу синтетических хелатообразующих агентов — детоксикантов. Действие детоксикантов основано на их способности прочно связывать и быстро выводить из организма токсичные металлы (например, Hg, Pb, Cd, Bi, Be и др.) в составе стабильных и малотоксичных соединений. Что касается радиоактивных металлов, комплексообразование служит практически

единственным средством, позволяющим эффективно выводить их из организмов.

Рассмотрим общие биохимические и токсические характеристики металлов *s*-, *p*- и *d*-блоков Периодической системы и их биологически активных неорганических и некоторых органических соединений.

4.4. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ *s*-МЕТАЛЛОВ

Среди *s*-металлов наиболее важные биохимические функции выполняют катионы металлов 3-го и 4-го периодов. По содержанию в живых организмах, в том числе и в организме человека, элементы IА группы *натрий* и *калий* принадлежат к олигобиогенным элементам в отличие от *лития*, *рубидия* и *цезия*, которые относятся к ультрамикробиогенным элементам. Соединения щелочных металлов входят в состав тканей и жидкостей организмов человека, животных и растений. Натрий и калий относятся к *жизненно необходимым* элементам. Физиологическая и биохимическая роль лития, рубидия и цезия выяснена недостаточно, и они могут быть отнесены к *примесным* элементам.

Катионы *s*-металлов 3-го и 4-го периодов, а также некоторые неорганические анионы являются основными компонентами, определяющими физико-химические свойства биологических жидкостей. Электролитный состав жидкостей организма характеризуется главным образом содержанием Na, K, Mg, Ca, S, C, P, Cl и некоторых других элементов в виде соответствующих ионов и различается для внутриклеточной и внеклеточной жидкостей (рис. 4.1).

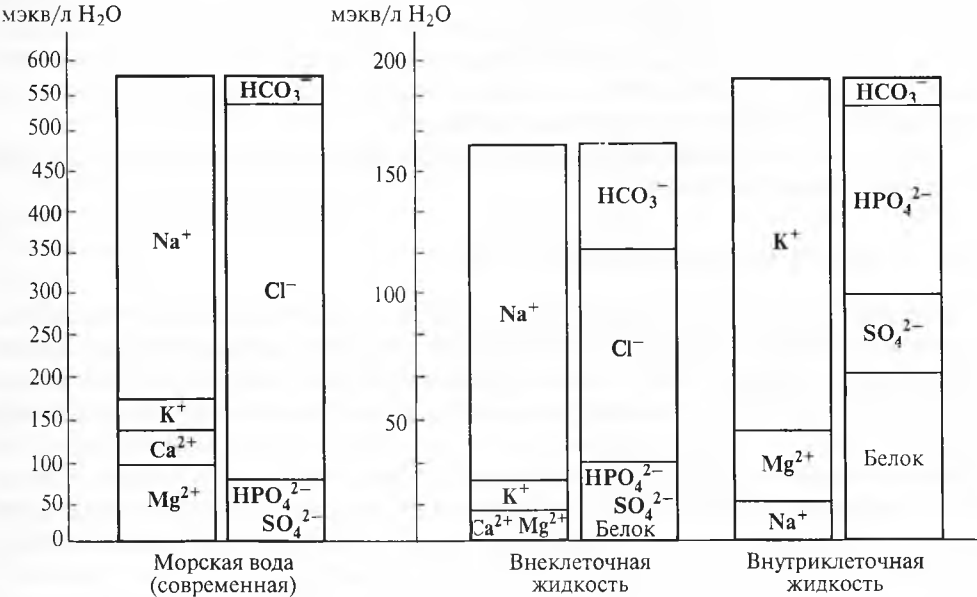


Рис. 4.1. Состав современной морской воды, внутри- и внеклеточной жидкостей организма человека

Состав внеклеточной жидкости близок к составу морской воды в предкембрийскую эпоху, когда появились животные с замкнутой системой кровообращения. С тех пор соленость моря продолжала возрастать, тогда как состав внеклеточной жидкости остался постоянным. Основным катионом во внеклеточной жидкости является ион  $\text{Na}^+$ , а из анионов преобладают  $\text{Cl}^-$  и  $\text{HCO}_3^-$ . Внутри клеток преобладают катион  $\text{K}^+$  и анион  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Для соблюдения физико-химического закона электронейтральности, которому подчиняется любой живой организм в целом, некоторый недостаток неорганических анионов компенсируется анионами органических кислот (молочной, лимонной и др.) и кислых белков, несущих отрицательный заряд при физиологических значениях pH. Если вне клетки органические анионы компенсируют незначительную нехватку отрицательного заряда, то внутри клетки они должны компенсировать около 25 % положительных зарядов, создаваемых неорганическими катионами. Поскольку клеточные мембраны легко проницаемы для воды, то они могут разрушаться при незначительных различиях в давлении жидкости внутри и снаружи клеточной мембраны. Поэтому осмотическое давление внутри клетки должно быть равно таковому во внеклеточной жидкости, т. е. живая клетка подчиняется закону *изоосмоляльности*. Повышенное содержание катионов по отношению к концентрации анионов во внеклеточных жидкостях в сравнении с внутриклеточными средами приводит к тому, что наружная поверхность мембран клеток оказывается заряжена положительно относительно ее внутренней поверхности, и это имеет огромное биологическое значение (см. главу 15). В биологических жидкостях концентрацию осмотически активных частиц (независимо от их заряда, размера и массы) выражают в единицах осмоляльности — миллиосмолялах на 1 кг воды. Так как главные катионы и анионы внутриклеточных жидкостей многозарядные, то (при одинаковых осмолялностях) концентрация электролитов, выраженная в миллиэквивалентах на 1 л, будет значительно выше внутри клетки, чем во внеклеточных жидкостях, где в основном содержатся однозарядные ионы.

Кратко рассмотрим главные биологические функции щелочных и щелочноземельных металлов.

#### 4.4.1. s-МЕТАЛЛЫ IА ГРУППЫ (Na, K)

**Натрий.** В организме взрослого человека содержание катионов  $\text{Na}^+$  составляет около 100 г. Из этого количества 44 % находится во внеклеточной жидкости и 9 % — во внутриклеточной жидкости, остальное приходится на костную ткань, являющуюся местом депонирования ионов натрия в организме. Благодаря обменным процессам скелет является донором или акцептором ионов натрия, что способствует поддержанию постоянства их концентрации в жидкостях организма. Катионы натрия являются основными однозарядными катионами плазмы крови, лимфы, спинномозговой жидкости и любой межтканевой жидкости. Основная роль катионов натрия заключается в участии в работе «*ионного насоса*», или  $(\text{Na}^+, \text{K}^+)\text{-насоса}$ , по поддержанию определенного состава и осмотического давления биожидкостей, особенности функционирования кото-

рого рассматриваются в главе 15. В сравнении с катионом  $K^+$  ион  $Na^+$  имеет меньший ионный радиус и большую плотность положительного заряда, вследствие чего электростатическое поле иона  $Na^+$  сильнее притягивает и удерживает молекулы воды. Поэтому сольватная оболочка иона  $Na^+$  значительно больше, чем иона калия. По этим причинам ионы  $Na^+$  задерживают большое количество воды (15 г NaCl задерживают в организме до двух литров жидкости). Совместно с анионами  $HCO_3^-$ ,  $HPO_4^{2-}$ ,  $H_2PO_4^-$  и анионами органических кислот катионы натрия способствуют поддержанию кислотно-основного равновесия в биосистемах. При взаимодействии с биолигандами ионы  $Na^+$  могут образовывать координационные соединения. Вместе с ионами калия, кальция, магния и хлора ионы натрия участвуют в процессах передачи нервных импульсов (см. главу 16) и поддержания нормальной возбудимости мышечных клеток (см. главу 17).

Суточная потребность организма в натрии, поступающем с пищей в основном в виде поваренной соли, составляет около 1 г, хотя среднесуточное потребление этого элемента достигает 4—7 г. Непрерывное избыточное потребление NaCl способствует развитию гипертонии. Содержание натрия в некоторых продуктах питания приведено в табл. 4.2.

Таблица 4.2. Содержание натрия в некоторых продуктах питания

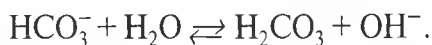
Продукт	Содержание натрия, мг на 100 г	Продукт	Содержание натрия, мг на 100 г
Поваренная соль	38 183	Зеленые оливки	820
Сельдь	3230	Ржаной хлеб	512
Икра	2000	Белый хлеб	418
Кукурузные хлопья	1000	Морковный сок	226
Ветчина	960	Молоко	50

В медицинской практике широкое применение находят перечисленные ниже препараты, основанные на соединениях натрия.

**Изотонический раствор NaCl** (0,9 %) используют для растворения и разбавления инъекционных препаратов, а также как простой кровезаменитель при больших потерях воды организмом или при различных отравлениях.

**Гипертонические растворы NaCl** (3, 5 и 10 %), которые вследствие большого осмотического давления обезвоживают клетки, способствуют плазмолизу бактерий (антимикробное действие). Применяют наружно при лечении гнойных ран, воспалительных процессов в полости рта и в случаях обширных ожогов.

**Питьевая сода**, или **натрия гидрокарбонат**  $NaHCO_3$ , в водных растворах в результате гидролиза по аниону проявляет слабощелочные свойства, с чем и связано его антимикробное действие:



Данный препарат в виде водного раствора применяют для понижения кислотности желудочного сока, для нейтрализации кислот, попавших на

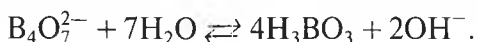
кожу и слизистые, как отхаркивающее средство (в микстурах), для ингаляции, а также для полоскания полости рта и глаз при воспалении слизистых. Применение соды для снижения кислотности желудочного сока вызывает побочные эффекты, так как выделяющийся при реакции



диоксид углерода раздражает рецепторы слизистой оболочки и вызывает вторичное усиление секреции, а также может способствовать перфорации стенки желудка при язвенной болезни.

**Декагидрат сульфата натрия  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (глауберова соль)** применяется в качестве слабительного средства. Эта соль медленно всасывается в кишечнике, что приводит к поддержанию повышенного осмотического давления в полости кишечника в течение длительного времени. В результате осмоса происходят накопление воды в кишечнике и его опорожнение.

**Декагидрат тетрабората натрия  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (бура)** применяют наружно как антисептическое средство при полоскании, спринцевании и смазывании. Антисептическое действие буры основано на повышении pH среды вследствие щелочного гидролиза по аниону и одновременного образования противомикробного средства — борной кислоты:



**Радиоактивный изотоп  $^{24}\text{Na}$**  применяют в качестве метки для определения скорости кровотока и лечения некоторых форм лейкемии.

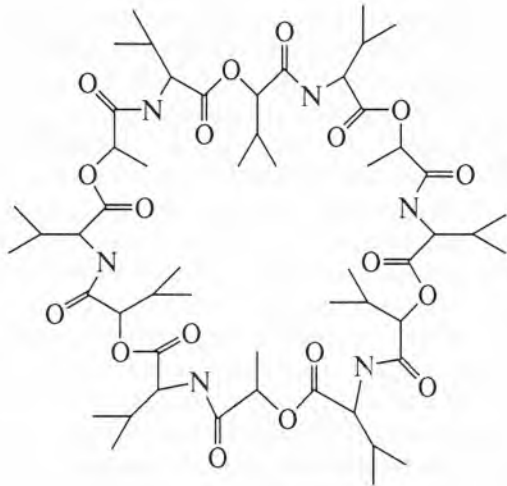
Токсичность NaCl при избыточном поступлении его в организм обусловлена создаваемым им высоким осмотическим давлением, что приводит к образованию отеков за счет задержки в организме избыточного количества воды. Минимальная летальная доза NaCl составляет приблизительно 500 г для организма человека средней массы (70 кг).

Токсичность других солей натрия, как правило, определяется токсичностью их анионов.

**Калий.** Большой ионный радиус  $\text{K}^+$  в сравнении с  $\text{Na}^+$  обуславливает более низкие значения энергии гидратации ионов калия. Такие относительно небольшие различия в электронном строении вызывают существенные различия в биологических свойствах данных ионов. В отличие от ионов  $\text{Na}^+$  ионы  $\text{K}^+$  в основном сосредоточены во внутриклеточных жидкостях, причем в большинстве случаев калий является антагонистом натрия.

Содержание калия в организме взрослого человека массой 70 кг составляет около 160 г, причем 96 % калия содержится внутри клеток и только 2 % — во внеклеточной жидкости. Ионы калия участвуют в поддержании осмотического давления, в процессах активации ферментов, сокращения мышц, нормального функционирования сердечной мышцы, проведения нервных импульсов, в обменных реакциях. Комплексообразование с ферментами играет важную роль в транспорте ионов калия. Антибио-

тики, подобные *валиномицину*, образуют устойчивые координационные соединения с ионами калия, в то время как натрий лишь незначительно связывается этими полидентатными кислородсодержащими лигандами. Вследствие этого валиномицин можно рассматривать как биохимическую модель переносчика ионов калия через плазматические мембраны:



*Валиномицин*

**Хлорид калия KCl** применяют 4 — 5 раз в день по 1 г при *гипокалиемии* (пониженное содержание калия в организме), возникающей в результате длительного применения мочегонных средств и после операций.

Механизм токсического действия соединений калия аналогичен таковому для соединений натрия. Среднесуточное потребление калия с пищей взрослым человеком составляет 2 — 3 г. Содержание калия в распространенных продуктах питания приведено в табл. 4.3.

Таблица 4.3. Содержание калия в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание калия, мг на 100 г	Продукт	Содержание калия, мг на 100 г
Пшеничные отруби	1400	Шпинат	544
Белая фасоль	1300	Клубника	490
Пророщенная пшеница	900	Белые грибы	486
Семена подсолнечника	700	Картофель	440
Дрожжи	630	Черная смородина	330
		Соя	250



#### 4.4.2. s-МЕТАЛЛЫ IIA ГРУППЫ (Mg, Ca)

Из элементов IIA группы Периодической системы наиболее важными для живых организмов являются *магний* и *кальций*. Необходимо заметить, что формально по общему содержанию в организме человека кальций и магний можно отнести к макроэлементам. Однако основная масса кальция (99 %) и магния (60 %) сосредоточена в костной ткани, составляющей скелет человека. По содержанию в остальных частях тела кальций и магний можно рассматривать как типичные микроэлементы.

**Магний.** В организме взрослого человека содержится около 19 г магния (59 % в костной ткани, дентите и эмали зубов). Ежесуточное потребление магния 0,7 г. Содержание магния в некоторых продуктах питания приведено в табл. 4.4. Ион  $Mg^{2+}$ , так же как и  $K^{+}$ , является внутриклеточным катионом. В биологических жидкостях и тканях организма магний находится как в виде гидратированного иона, так и в связанном с белками состоянии. Вследствие меньшего, чем у иона  $Ca^{2+}$ , ионного радиуса и большей энергии ионизации ион магния в сравнении с ионом  $Ca^{2+}$  образует более прочные связи с органическими лигандами и поэтому является более распространенным активатором ферментов. Магний стабилизирует ДНК, катализирует транскрипцию РНК, участвует в образовании активных форм АТФ и АМФ в виде комплексов  $MgATP^{2-}$ ,  $MgAMP^{-}$ , которые выполняют роль донора фосфатной группы во многих ферментативных реакциях. В отличие от большего по размеру иона кальция (координационные числа 6, 7, 8) ион магния образует шестикординационные соединения регулярной структуры, которые играют огромную роль в жизнедеятельности растительных и животных организмов. Так, ион магния является комплексообразователем в пигменте зеленых растений — хлорофилле, строение и биохимические функции которого рассмотрены в главах 5 и 13.

Таблица 4.4. Содержание магния в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание магния, мг на 100 г	Продукт	Содержание магния, мг на 100 г
Тыквенные семечки	534	Овес	129
Семена подсолнечника	400	Кукуруза	120
Льняное семя	350	Лесные орехи	67
Пророщенная пшеница	250	Шпинат	51
Овсяные хлопья	140	Ежевика	30
Арахис	126	Капуста	17

Ион кальция обычно выступает в роли антагониста иона магния в биохимических процессах. Достаточно близкие физико-химические свойства ионов  $Mg^{2+}$  и  $Mn^{2+}$  позволяют последнему выступать в роли синергиста иона магния. Оба эти катиона активируют фосфатазы.

Некоторые соединения магния используются в медицинской практике.

**Оксид магния**  $\text{MgO}$  (жженая магнезия), **основной карбонат магния**  $\text{Mg}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{MgCO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (белая магнезия) применяются для уменьшения кислотности желудочного сока.

**Сульфат магния**  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (горькая соль, или магнезия) используется при гипертонии как слабительное и желчегонное средство, а также как успокаивающее средство для центральной нервной системы.

Токсический эффект солей магния плохо изучен.

**Кальций.** Общее содержание кальция в организме человека составляет около 1 кг (99,0 % в костной и зубной тканях). Хотя суточная потребность организма в кальции не превышает 0,5 г, ежедневное потребление кальция должно составлять не менее 1 г, так как только 50 % вводимого с пищей кальция усваивается организмом человека. Содержание кальция в распространенных продуктах питания приведено в табл. 4.5.

Таблица 4.5. Содержание кальция в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание кальция, мг на 100 г	Продукт	Содержание кальция, мг на 100 г
Мак	1448	Молоко	120
Сыр	1300	Простокваша	118
Кунжут	975	Кефир	118
Инжир сушеный	218	Капуста	116
Овечье молоко	190	Сливки	70
Нежирный йогурт	140	Яйца	57
Шпинат	125	Сельдь	50

Сравнительно плохое всасывание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  является следствием образования в желудочно-кишечном тракте труднорастворимого фосфата  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  и кальциевых солей жирных кислот  $(\text{RCOO})_2\text{Ca}$ . Содержание кальция в организме регулируется гормональной системой (см. главу 9). Соединения кальция служат главным строительным материалом скелета организма. В костях и зубах взрослого человека около 1 кг кальция находится в виде нерастворимого кристаллического минерала — гидроксипатита  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ .

В отличие от ионов магния ионы кальция преобладают во внеклеточной жидкости. В жидкостях организма кальций находится как в ионизированном виде, так и в связанном с белками, углеводами и другими биолигандами состоянии.

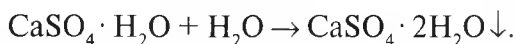
Как отмечалось выше, существенные различия в физико-химических свойствах магния и кальция (координационные числа 6 и 6, 7, 8, энергии ионизации 740 и 590 кДж/моль для магния и для кальция соответственно) обуславливают тот факт, что ион  $\text{Ca}^{2+}$  обычно выступает в роли антагониста иона  $\text{Mg}^{2+}$ . Способность иона  $\text{Ca}^{2+}$  образовывать несимметричные комплексные соединения различного строения позволяет ему легко приспосабливаться к окружающим донорным атомам биолигандов и служить мостиком между лигандами. Поэтому ионы кальция подавляют активность

многих ферментов, активируемых ионами магния, например АТФазы. При длительном введении в организм избыточных количеств солей магния наблюдается усиленное выделение кальция из костной ткани и белков, поэтому при отравлении солями кальция в медицинской практике используется хлорид магния. Синергизм ионов магния и кальция наблюдается в активации небольшого числа ферментов, однако, как правило, ион магния активирует внутриклеточные, а ион кальция — внеклеточные ферменты.

**Хлорид кальция**  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  применяют как противовоспалительное и противоаллергическое средство, для снятия сердечно-сосудистого спазма, для улучшения свертываемости крови, при переломах костей и ревматизме.

**Органические соединения кальция:** глюконат, глицерофосфат, аденозинтрифосфат, пантотенат кальция и др., применяются как общеукрепляющие средства.

**Гипс**  $2\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  широко используется в травматологии и стоматологии, так как при замешивании его с водой образуется нерастворимый  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ :



В результате происходит быстрое затвердевание массы, сопровождающееся некоторым увеличением ее объема, что используется для фиксации при переломах костей, при изготовлении слепков в стоматологии и для других целей.

**Гидроксиапатит**  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$  и **ортофосфат кальция**  $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$  находят применение в травматологии для изготовления композитных биоматериалов, используемых в качестве имплантируемой костной ткани. Биокерамика на основе гидроксиапатита и ортофосфата кальция химически активна в физиологических условиях, поэтому спустя несколько лет после имплантации место протеза занимает вновь образовавшаяся костная ткань.

## 4.5. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ *p*-ЭЛЕМЕНТОВ

Среди *p*-элементов в биологических системах наиболее распространены неметаллы *водород, углерод, азот, кислород, фосфор, сера и хлор*, важные биологические функции выполняют микроэлементы *иод, кремний, бор, селен, фтор, мышьяк и бром*.

*p*-Металлы в большинстве случаев токсичны для организма, что с точки зрения концепции ЖМКО объясняется тем, что, проявляя свойства мягких кислот, их ионы образуют прочные связи с кислород- и серосодержащими группами таких биолигандов, как белки (в том числе ферменты), нуклеиновые кислоты и т. д.

Рассмотрим особенности биохимических свойств некоторых *p*-элементов.

#### 4.5.1. *p*-МЕТАЛЛЫ IIIA ГРУППЫ (Al, Tl)

**Алюминий.** Алюминий относится к примесным микроэлементам. Его содержание в организме человека около 60 мг, из которых 30 % приходится на кости скелета, остальное количество концентрируется в крови, легких, печени, почках, оболочке мозга, волосах и ногтях. За счет образования нерастворимых форм с неорганическими и органическими фосфатами алюминий влияет на развитие эпителиальной и соединительной тканей, на регенерацию костных тканей и на обмен фосфора. Алюминий оказывает воздействие на ферментативные процессы. В большинстве случаев катион  $\text{Al}^{3+}$  замещает ионы  $\text{Mg}^{2+}$  и  $\text{Ca}^{2+}$  — активаторы ферментов. Избыток алюминия в организме тормозит синтез гемоглобина, так как за счет высокой комплексообразующей способности алюминий блокирует активные центры ферментов, участвующих в кроветворении.

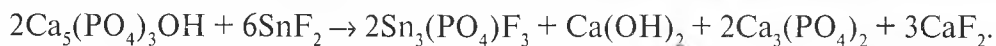
**Таллий.** Таллий — наиболее тяжелый элемент IIIA группы, для которого в отличие от остальных элементов данной группы характерно образование достаточно устойчивых соединений со степенью окисления +1. Поэтому в восстановительных физиологических условиях  $\text{Tl}^{3+}$  переходит в  $\text{Tl}^+$ . Химические свойства иона  $\text{Tl}^+$  в некоторых случаях подобны свойствам ионов  $\text{Rb}^+$  и  $\text{K}^+$ , что обусловлено близкими значениями ионных радиусов. Ионы  $\text{Tl}^+$  могут замещать ионы  $\text{K}^+$  в некоторых ферментативных системах (оба иона нечувствительны к pH среды, многие их соли хорошо растворимы в воде). В ряде случаев наблюдается сходство в биохимическом поведении ионов  $\text{Tl}^+$  и  $\text{Ag}^+$ , в основе которого лежит способность к образованию малорастворимых осадков при взаимодействии с хлоридами, а также координационных соединений близкого строения. Таллий относится к примесным микроэлементам. Токсичность таллия весьма высока и обусловлена тем, что подобно ионам  $\text{Ag}^+$  ион  $\text{Tl}^+$  образует прочные соединения с серосодержащими лигандами. В результате подавляется активность ферментов, имеющих сульфгидрильные HS-группы. Даже весьма незначительные количества таллия при попадании в организм вызывают выпадение волос.

#### 4.5.2. *p*-МЕТАЛЛЫ IVA ГРУППЫ (Sn, Pb)

**Олово.** В организме человека содержится около 17 мг олова, и его относят к примесным микроэлементам. Олово может попадать в организм человека с кислыми продуктами, консервированными в жестяных банках, покрытых слоем олова. В кислой среде металлическое олово переходит в растворимые формы, содержащие ионы  $\text{Sn}^{2+}$ , которые оказывают ингибирующее действие на ряд HS-содержащих ферментов, чем и обусловлена токсичность соединений данного элемента. Тем не менее было установлено, что в малых количествах соединения олова оказывают стимулирующее действие на развитие организмов крыс, что позволяет сделать предположение о необходимости олова и для организма человека.

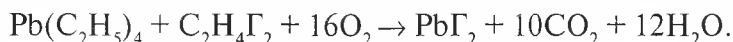
В медицинской практике находят применение пломбировочные и другие материалы, содержащие олово. Например, применение фторида олова против кариеса зубов основано на превращении гидроксиапатита

$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  в  $\text{Sn}_2(\text{PO}_4)(\text{OH})$  (при низкой концентрации  $\text{SnF}_2$ ) или  $\text{Sn}_3(\text{PO}_4)\text{F}_3$  (при высокой концентрации  $\text{SnF}_2$ ):



**Свинец.** В физиологических условиях преобладают гидратированные формы иона  $\text{Pb}^{2+}$  при  $\text{pH} < 6,0$  (в желудке) и гидратированного гидроксида  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  при  $\text{pH} > 6,0$ . Ионы  $\text{Pb}^{2+}$  образуют довольно прочные соединения с серой, что вызывает блокирование HS-содержащих ферментов. Весьма стабильны соединения  $\text{Pb}^{2+}$  с нуклеотидами. Указанные свойства лежат в основе токсического действия свинца.

Органические соединения свинца обладают чрезвычайной токсичностью. Например, используемые в топливе двигателей внутреннего сгорания алкильные соединения свинца в процессе горения образуют летучие галогениды свинца, которые в атмосфере создают аэрозоли в концентрации 10—50 мкг/м<sup>3</sup> (Г — галоген):



В результате в атмосфере некоторых городских районов содержание свинца в тысячу раз превышает естественный уровень. С пищей, водой и воздухом в организм городского жителя может ежедневно попадать до 100 мкг свинца. Существуют многочисленные доказательства постепенного накопления свинца в живых организмах в результате повседневного загрязнения окружающей среды. Свинец депонируется в основном в скелете (до 90 %) в форме труднорастворимого фосфата  $\text{Pb}_3(\text{PO}_4)_2$ . Безопасным для человека считается суточное поступление 0,2—2 мг свинца. Присутствие ионов свинца в организме влияет на синтез белка, вызывает развитие кариеса, смещает энергетический баланс клетки и нарушает работу генетического аппарата. Многие факторы говорят в пользу денатурационного механизма действия ионов свинца на белки организма. Одним из известных симптомов отравления свинцом является анемия.

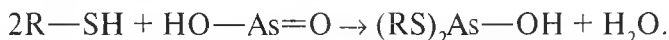
В медицинской практике в качестве наружных вяжущих антисептических средств нашли применение *тригидрат ацетата свинца*  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  и *оксид свинца*  $\text{PbO}$ .

#### 4.5.3. p-ЭЛЕМЕНТЫ VA ГРУППЫ (As)

**Мышьяк.** Высокая токсичность соединений мышьяка обусловлена кислотно-основными и окислительно-восстановительными процессами, лежащими в основе превращений между его различными химическими формами.

По содержанию в организме человека мышьяк относится к микроэлементам. Главным образом мышьяк концентрируется в волосах, мозговой ткани и мышцах. Процесс накопления мышьяка в волосах и костях протекает в течение определенного времени, после чего он практически не

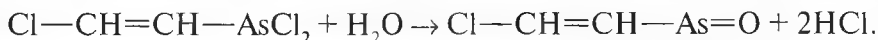
выводится из организма. Эта особенность используется в судебной экспертизе при выяснении возможности отравления мышьяком. Высокая токсичность соединений мышьяка(III) объясняется их способностью блокировать сульфгидрильные группы ферментов и других биологически активных веществ (липоевая кислота, цистеин и др.):



Известно, что инкубация соединений As(V) животными тканями приводит к его восстановлению до соединений As(III), причем в данных процессах участвуют сульфгидрильные группы биосоединений. Арсенаты ( $H_2AsO_4^-$ ,  $HAsO_4^{2-}$ ) играют роль аналогов фосфатов и конкурируют с ними в процессах окислительного фосфорилирования в клетках, ингибируя при этом работу ряда ферментов. Арсенаты и продукты их превращения образуют устойчивые соединения с аминокислотами, белками, нуклеиновыми кислотами. Арсин, попадая в организм, вследствие высокого значения редокс-потенциала действует как сильнейший восстановитель. В первую очередь он взаимодействует с гемом крови, в результате чего образуется метгемоглобин, не способный к присоединению кислорода (см. главу 5):



Чрезвычайно ядовитый газ — *люизит* (синтезирован в 1917 г.) представляет собой органическое соединение мышьяка, которое поражает легкие, кожу и другие органы. Причем продукт гидролиза люизита нелетуч и обладает нарывным действием:



*Люизит*

Противоядие для люизита было найдено во время второй мировой войны. Это 2,3-димеркаптопропанол-1  $HS-CH_2-CH(SH)-CH_2-OH$ , который, взаимодействуя с люизитом, образует нетоксичное соединение.

Обнаружено, что в микроскопических дозах мышьяк может оказывать положительное (стимулирующее) биологическое действие на организмы млекопитающих.

#### 4.5.4. p-ЭЛЕМЕНТЫ VIA ГРУППЫ (Se)

**Селен.** Селен — микроэлемент, который в последнее время некоторые исследователи относят к жизненно необходимым. Содержание селена в распространенных продуктах питания приведено в табл. 4.6. В организме взрослого человека содержится около 13 мг селена, который в основном концентрируется в печени и почках. Несомненна связь селена и серы в живых организмах: доказано, что селен как аналог серы замещает ее в различных серосодержащих биомолекулах. Однако возникающее при избытке селена замещение HS-групп на HSe-группы может приводить к ингибированию ферментов, ответственных за клеточное дыхание. Избыточ-

ное содержание в кормах сельскохозяйственных животных селенитов и селенатов приводит к возникновению различных заболеваний; с другой стороны, в небольших количествах селен является необходимым компонентом пищи крыс, цыплят, ягнят, кроликов.

**Таблица 4.6. Содержание селена в некоторых продуктах питания**

Продукт	Содержание селена, мг на 100 г	Продукт	Содержание селена, мг на 100 г
Фисташки	450	Рис	40
Сельдь	140	Говядина	35
Пророщенная пшеница	110	Капуста	18
Белые грибы	100	Чечевица	11
Соя	60	Молоко	9
Креветки	41	Бананы	4,4
		Апельсины	3,5

Установлено, что недостаток селена ведет к уменьшению концентрации фермента *глутатионпероксидазы*, в результате чего усиливаются процессы окисления липидов и серосодержащих аминокислот. Селен входит в состав активных центров нескольких ферментов. Например, в активном центре глутатионпероксидазы содержится остаток необычной аминокислоты — *селеноцистеина* (см. главу 1). Глутатионпероксидаза защищает клетки от разрушающего действия органических пероксидов  $\text{ROOH}$  и пероксида водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Вероятно, в механизме действия этих ферментов селенгидрильная группа обладает определенными преимуществами перед сульфгидрильной.

Компенсация недостатка селена в организме путем введения селенита натрия  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  предохраняет ткани от некроза. Известна способность селена защищать организм от токсического действия кадмия и ртути вследствие более сильного сродства  $\text{HSe}$ -групп к ионам данных металлов по сравнению с  $\text{HS}$ -группами активных центров биомолекул. Интересным представляется недавно установленный факт взаимосвязи между высоким содержанием селена в рационе питания человека и низкой смертностью от рака.

В больших дозах селен токсичен для организма. Распад соединений селена в тканях приводит к образованию высокотоксичного, имеющего чесночный запах *диметилселена*  $\text{H}_3\text{C}-\text{Se}-\text{CH}_3$ .

## 4.6. БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ *d*-МЕТАЛЛОВ

*d*-Блок Периодической системы включает 32 элемента 4—7-го больших периодов, для которых строение внешних электронных оболочек атомов можно выразить общей формулой  $(n-1)d^a ns^b$ , где  $a = 0 + 10$ ,  $b = 1; 2$ .

Для  $d$ -металлов наиболее характерно образование координационных соединений с разнообразными, в том числе и биогенными, лигандами, что в основном и определяет их биологическую активность. Наличие  $d$ -орбиталей, лишь частично заполненных электронами, позволяет катионам этих металлов взаимодействовать с лигандами — анионами или электродонорными молекулами. Геометрия образующихся комплексов  $ML_n$  зависит от природы иона металла-комплексобразователя. Комплекс может иметь структуру тетраэдра, плоского квадрата, тригональной бипирамиды или октаэдра. При анализе структуры, физико-химических и биохимических свойств этих комплексов особое внимание обращается на природу связи  $M-L$  и на геометрию комплекса  $ML_n$ . В координационных соединениях ионы  $d$ -металлов способны образовывать кроме  $\sigma$ -связей прямые и обратные дативные  $\pi$ -связи. Это обуславливает высокую комплексообразующую способность и непостоянство координационных чисел  $d$ -металлов. Как правило, в биоконкомпексах это четные координационные числа от 4 до 8, реже 10 и 12.

Можно утверждать, что в биосистемах свободных ионов  $d$ -металлов практически нет, так как они или гидролизуются, или находятся в составе координационных соединений. Чаще всего  $d$ -элементы участвуют в биохимических реакциях в составе комплексов с лигандами — аминокислотами, пептидами, белками, гормонами, нуклеиновыми кислотами и т. д. Наиболее распространенные металлоферменты, такие, как карбоангидраза, ксантинооксидаза, цитохромы и др., представляют собой биоконкомпексы  $d$ -металлов. Простетические группы гемоглобина, трансферрина и других сложных белков также представляют собой хелатные комплексы  $d$ -металлов (см. главу 5).

Жизненно необходимые металлы Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Mo («металлы жизни») входят в состав различных металлоферментов, катализирующих кислотно-основные и окислительно-восстановительные биохимические реакции.

Многие соединения  $d$ -элементов, особенно производные Cd, Hg, V, Ag, Ni и Zn, оказывают на живые организмы токсическое действие, механизмы которого будут рассмотрены на конкретных примерах далее.

#### 4.6.1. $d$ -МЕТАЛЛЫ IB ГРУППЫ (Cu, Ag, Au)

IB группу  $d$ -элементов составляют *медь, серебро и золото*. Все три элемента участвуют в образовании координационных соединений (координационные числа от 2 до 6) и имеют высокое сродство к серо- и азотсодержащим лигандам. Медь является компонентом ряда функциональных белков, участвующих в окислительно-восстановительных биопроцессах. Серебро образует нерастворимые комплексы с белками и аминокислотами. Соединения золота неустойчивы и распадаются в тканях. Медь выполняет специфические функции в составе ферментов, тогда как серебро и золото не являются необходимыми для живых организмов.

**Медь.** В биосредах возможно существование твердых частиц элементной меди,  $Cu_2O$ ,  $CuO$  и  $Cu(OH)_2$ . В координационных соединениях меди донорные группы биогенного лиганда содержат преимущественно ато-



мы азота, серы и кислорода. Поэтому медь присутствует во многих белках, большинство из которых выполняет функции ферментов.

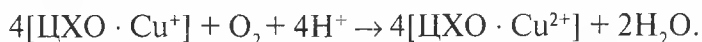
В организме взрослого человека обнаруживается около 100 мг меди, причем  $\frac{1}{3}$  этого количества содержится в мышечной ткани. Богаты медью печень и мозг (табл. 4.7).

Таблица 4.7. Содержание меди в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание меди, мг на 100 г	Продукт	Содержание меди, мг на 100 г
Телячья печень	8,0	Лесные орехи	0,55
Устрицы	5,0	Шампиньоны	0,32
Говяжья печень	3,0	Яичный желток	0,30
Свиная печень	3,0	Петрушка	0,30
Гречка	0,70	Брусника	0,26
Пшеница	0,63	Картофель	0,15
Чечевица	0,60	Зеленый горошек	0,10

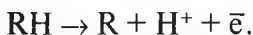
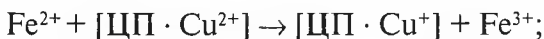
В настоящее время известно около 25 медьсодержащих белков и ферментов. В медьсодержащих ферментах медь находится в степени окисления +1, и кислород легко окисляет ее до степени окисления +2. Поэтому ряд ферментов (оксигеназы и гидролазы) катализируют процессы взаимодействия кислорода с субстратом, причем гидролазы катализируют реакции присоединения к субстрату одного атома кислорода, а оксигеназы — двух атомов с образованием в молекуле субстрата пероксидной цепочки. В данном процессе ион  $\text{Cu}^+$  является донором электронов, а кислород играет роль их акцептора.

Имеется большая группа медьсодержащих оксидаз, которые катализируют окислительно-восстановительные реакции с переносом протонов или электронов от окисляемого вещества непосредственно к молекулярному кислороду. Для них характерно высокое сродство к  $\text{O}_2$ , а также высокое значение окислительно-восстановительных потенциалов. К оксидазам относится такой важный дыхательный фермент, как *цитохром-оксидаза* (ЦХО), которая катализирует заключительный этап тканевого дыхания и осуществляет перенос электронов к кислороду (см. также главы 5 и 11):



Очень важным медьсодержащим белком, который присутствует в плазме крови млекопитающих, является *церулоплазмин* (ЦП) — «голубая» оксидаза. ЦП содержит 8 атомов меди на одну молекулу белка. В окисленном церулоплазмине четыре атома меди имеют степень окисления +2, а остальные четыре находятся в степени окисления +1. Церулоплазмин участвует в окислении железа(II), параллельно идет процесс окисления вос-

становленных субстратов (RH) с образованием свободнорадикальных промежуточных продуктов:

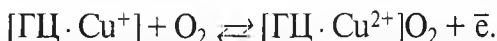


В то же время ЦП катализирует восстановление кислорода до воды:



Вместе с тем ЦП транспортирует ионы меди в органы и ткани, тем самым регулируется баланс меди в организме и при необходимости обеспечивается ее выведение.

Одним из медьсодержащих белков является *гемоцианин* (ГЦ). Это сложное внутрикомплексное соединение с белком, центральным атомом которого является ион меди в степени окисления +1 (см. также главу 5). Он содержится в крови некоторых морских животных (ракообразные и моллюски) и участвует в процессе связывания и освобождения кислорода:



Цвет гемоцианина в окисленной форме (оксигенированный гемоцианин) — синий, поэтому цефалоподы (крабы и устрицы) — единственные представители фауны с «голубой» кровью.

Медь вместе с железом участвует в кроветворении; при дефиците меди в организме нарушается обмен железа между плазмой крови и эритроцитами, что может привести к разрушению эритроцитов. Недостаток меди в организме приводит к тяжелым отклонениям в обмене веществ: медная анемия, нарушение координации движений и др. В больших концентрациях растворимые соли меди (например, сульфат) очень токсичны, поскольку при попадании значительных количеств данных соединений в организм ионы меди(II) образуют нерастворимые хелаты с белковыми молекулами, что приводит к их денатурации.

**Серебро.** Элементное серебро в биологических средах является практически единственной устойчивой формой серебра. Однако за счет процессов комплексообразования расширяется область существования в биосредах одновалентного серебра. Координационное число серебра может быть равно 2 (*sp*-гибридизация) и 4 (*sp*<sup>3</sup>-гибридизация). Первому соответствует линейная, а второму — тетраэдрическая конфигурация координационного узла.

Серебро — примесный элемент растительных и животных организмов, не играющий какой-то определенной роли в их жизнедеятельности. В организме взрослого человека содержится не более 1 мг серебра, которое концентрируется в печени, гипофизе, эритроцитах и пигментной оболочке глаза.

Как и все тяжелые металлы, серебро, попадая в организм, проявляет токсическое действие, которое обусловлено образованием комплексов с

белками (например, серосодержащими), что приводит к их денатурации и потере биологической активности.

Как правило, все используемые в медицине соединения серебра — препараты наружного действия. Их применение основано на вяжущих, прижигающих и бактерицидных свойствах данных соединений. Из неорганических соединений наиболее широко применяют нитрат серебра (ляпис).

Серебро также используется для получения «серебряной» воды, которая применяется в фармацевтической промышленности для стерилизации и увеличения сроков хранения ряда лекарственных препаратов. В пищевой промышленности также используется бактерицидное действие ионов  $\text{Ag}^+$  путем введения растворимых солей серебра в некоторые продукты питания, питьевую и минеральную воду.

В небольших количествах серебро используют для получения сплава (медь, серебро, олово), применяемого в стоматологии в качестве пломбировочного материала.

**Золото.** В водном растворе при физиологических условиях устойчивы только комплексные соли одно- и трехзарядных ионов золота, например  $\text{Na}_3[\text{Au}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]$ .

В организме взрослого человека обнаруживается менее 10 мг золота, около 50 % которого концентрируется в костной ткани. Золото не является необходимым для жизни элементом, но в той или иной степени может стимулировать некоторые биохимические процессы.

Препараты золота (простые соли и комплексные соединения) используются для лечения инфекционных и некоторых других заболеваний.

#### 4.6.2. *d*-МЕТАЛЛЫ ПБ ГРУППЫ (Zn, Cd, Hg)

ПБ группу Периодической системы образуют *цинк, кадмий и ртуть*, внутренние электронные орбитали атомов которых целиком заполнены, в результате чего отсутствуют *d*-электроны, играющие роль валентных. Для двухзарядных ионов этих металлов характерны образование хелатных комплексов и высокое сродство к сульфгидрильным группам, которое существенно уменьшается в ряду  $\text{Hg} > \text{Cd} > \text{Zn}$ . В этом же порядке уменьшается токсичность соединений данных металлов.

**Цинк.** В биологических средах устойчивы комплексы цинка, которые он образует с аминокислотами, пептидами и белками, нуклеотидами за счет взаимодействия с фрагментами биомолекул, содержащими в качестве электронодонорных атомов серу, кислород и азот. В цинкзависимых ферментах и цинксодержащих биоконкомпексах ион металла не участвует в окислительно-восстановительных процессах за счет переноса электронов.

В организме взрослого человека содержится 1,4—2,3 г цинка, который распределен в костях (20 %), плазме (6 %), мышцах (65 %), эритроцитах, печени, поджелудочной железе.

В связи с важной биологической ролью цинк относят к «металлам жизни». Он входит в состав более 40 ферментов, которые катализируют гидролиз пептидов, белков, некоторых эфиров и альдегидов. Наиболее изученным из них является карбоангидраза.

Случаи недостаточности цинка в организме неизвестны, так как потребность в цинке компенсируется за счет поступления продуктов, содержащих белки: мясо, печень, молоко, яйца. Содержание цинка в некоторых продуктах питания приведено в табл. 4.8.

**Таблица 4.8. Содержание цинка в некоторых продуктах питания**

Продукт	Содержание цинка, мг на 100 г	Продукт	Содержание цинка, мг на 100 г
Устрицы	50,0	Телятина	2,79
Пророщенная пшеница	12,0	Свинина	2,36
Телячья печень	8,0	Креветки	2,30
Свиная печень	6,0	Какао-порошок	2,14
Семена подсолнечника	5,10	Чечевица	1,51
Овес в зернах	4,50	Яйца	1,40
Овсяные хлопья	4,40	Мargarин	0,17
		Цветная капуста	0,16

**Кадмий.** По конфигурации внешней электронной оболочки и склонности к образованию комплексов с биолигандами кадмий напоминает цинк, но в то же время проявляет большее сродство к сульфгидрильным группам. Поэтому кадмий замещает цинк в некоторых металлоферментных комплексах, чем и обусловлена его токсичность. Кадмий имеет высокое сродство к гемоглобину, нуклеиновым кислотам и поэтому способен вызывать нарушения их метаболизма. Введение кадмия в организм ингибирует ферменты, содержащие сульфгидрильные группы.

В организме взрослого человека содержится около 50 мкг кадмия на 1 кг массы тела: треть этого количества — в почках, остальное количество — в печени, легких, поджелудочной железе.

Табачный дым — один из источников отравления кадмием. В 20 сигаретах содержится 15—18 мкг кадмия (отметим, что попадание в организм 50—60 мг кадмия вызывает смерть).

**Ртуть.** Среди элементов данной группы у ртути (мягкая кислота) сродство к сульфгидрильным группам выражено наиболее ярко. При взаимодействии ионов ртути с сульфгидрильными группами образуются слабо диссоциирующие нерастворимые соединения. Блокирование сульфгидрильных групп приводит к подавлению активности ферментов и денатурации белков. Известно более ста ферментов, содержащих HS-группы, активность которых может быть подавлена ионами ртути.

С точки зрения токсикологии наиболее опасны металлоорганические соединения ртути, особенно алкилртутные соединения с короткой углеводородной цепью: метил-, этил- и пропилртуть. В алкилртутных соединениях связь иона ртути с атомом углерода является очень устойчивой: она не разрушается водой, кислотами и основаниями. Опасность представляют также неорганические соединения ртути: наиболее токсична металлическая ртуть, растворимые соли ртути(I) и ртути(II), неустойчи-

вые комплексы ртути с лигандами, способными замещаться на органические биолиганды, содержащие сульфгидрильные группы.

Из-за близости ионных радиусов ионы ртути, как и ионы кадмия, могут замещать ионы кальция, вызывая патологию в костных тканях.

Ртуть не является необходимым элементом для жизни человека. В организме взрослого человека содержится около 13 мг ртути, причем 70 % из них приходится на жировую и мышечную ткани.

Для человека представляет опасность употребление в пищу некоторых видов рыб (особенно хищных), моллюсков, организмы которых способны аккумулировать различные химические формы ртути из водоемов. Фунгициды, изготовленные на основе алкилированных соединений ртути, являются еще одним источником поступления ртути в организмы не только грызунов, хищных птиц, но и человека.

#### 4.6.3. d-МЕТАЛЛЫ IVБ И VB ГРУПП (Ti, V)

Из элементов IVБ и VB групп биологическую активность главным образом проявляют *титан* и *ванадий*. Специфическая необходимость остальных элементов для жизни животных и растительных организмов незначительна или не выяснена до конца. Относительно низкая токсичность связана с ограниченной растворимостью химических форм элементов, существующих при физиологических условиях, и низкой концентрацией их соединений в природе.

Преобладающими формами ванадия в биологических средах являются ванадил-ион  $VO^{2+}$  и анион  $HV_2O_5^-$ .

Ванадий содержится в организме взрослого человека в основном в мягких тканях. Соединения ванадия издавна использовались как стимуляторы при анемии, а также при туберкулезе, сифилисе, неврастении, ревматизме.

Ванадий влияет на синтез жирных кислот, фосфолипидов, окисление глюкозы до диоксида углерода и превращение ее в гликоген. Таким образом, соединения ванадия действуют подобно гормону инсулину (см. главу 9). Ион  $VO^{2+}$  активирует гидролиз АТФ. Активация, вероятно, происходит за счет образования хелатного комплекса  $VO^{2+}$  с анионной формой АТФ.

Известно, что ванадий ингибирует 13 ферментативных систем. Токсичность ионов, содержащих ванадий в степени окисления +5, связана с их высокой окислительной способностью, которая может быть снижена за счет введения аскорбиновой кислоты. В данном случае защитное действие витамина С заключается в том, что он восстанавливает соединения пентавалентного ванадия до менее токсичных ионов ванадия(IV) и ванадия(III), с которыми аскорбиновая кислота образует хелатные комплексы.

#### 4.6.4. d-МЕТАЛЛЫ VIБ ГРУППЫ (Cr, Mo)

Среди элементов VIБ группы Периодической системы биологической активностью обладают *хром* и *молибден*, которые по содержанию в организмах являются микроэлементами.

**Хром.** Хром относится к биогенным элементам, содержится в растительных и животных организмах. Общая масса хрома в организме взрослого человека составляет приблизительно 6 мг.

В физиологических условиях наиболее устойчивыми формами хрома являются  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Cr}(\text{OH})_3$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ,  $\text{CrO}_4^{2-}$ . В кислой среде желудочного сока происходит восстановление  $\text{Cr}(\text{VI})$  до  $\text{Cr}(\text{III})$ :

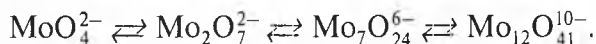


В кишечнике при  $\text{pH} > 7$   $\text{Cr}(\text{III})$  переходит в малорастворимые полиядерные гидроксоаquaкомплексы. Хелатные комплексы и растворимые соли хрома(III) переходят в кровь, где происходит присоединение хрома к железосвязывающим белкам (трансферритин, альбумин и др.). Хром взаимодействует с ДНК и участвует в увеличении активности гормона инсулина. Соединения хрома(VI) значительно токсичнее (вызывают раздражение кожи и появление дерматитов), чем соединения хрома(III).

**Молибден.** Устойчивые в биологических жидкостях формы молибдена — соединения со степенью окисления молибдена +5 и +6. Координационные соединения молибдена имеют различную геометрию и координационные числа 4, 5 и 6.

Молибден — один из десяти «металлов жизни». Он является единственным элементом из числа тяжелых металлов и из всех элементов пятого периода, который природа выбрала в качестве важного микрокомпонента живых организмов. Благодаря набору различных степеней окисления и разнообразию форм существования стало возможным участие молибдена в биохимических процессах. В организме человека обнаружено около 9 мкг молибдена, из них 5 мкг — в костях, 2 мкг — в печени.

Уникальная функция молибдена — способность катализировать реакции, в которых одновременно участвуют два протона и два электрона. Комплексы  $\text{Mo}(\text{V})$  легко окисляются. В крови преобладает  $\text{Mo}(\text{VI})$ , который способен существовать в составе устойчивых изополимолибдатов следующего состава:



Известно, что молибденсодержащие ферменты (оксидазы, дегидрогеназы) участвуют в реакциях переноса молекулярного кислорода, что обусловлено способностью молибдена образовывать с ним прочные комплексы, например  $[\text{Mo}(\text{оксалат})(\text{H}_2\text{O})_2\text{O}_2]^{2-}$ . Кроме того, молибден образует комплексы с галогенидами, тиоцианатами, цианатами и лигандами, содержащими сульфгидрильные группы.

Молибден входит в состав семи ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции, связанные с переносом кислорода, обменом сложных белков в организмах растений и животных.

#### 4.6.5. d-МЕТАЛЛЫ VIII ГРУППЫ (Mn)

Из элементов VIII группы Периодической системы в живой природе наиболее распространен *марганец* (рений лишь в небольших количествах содержится в земной коре, а *технеций* — радиоактивный элемент, кото-

рый практически не встречается в природе, он получен искусственным путем).

**Марганец** — один из десяти «металлов жизни». Он является важным биогенным элементом, который необходим для нормального протекания многих биохимических процессов. Содержание марганца в некоторых продуктах питания приведено в табл. 4.9. В органах и тканях взрослого человека содержится около 20 мг марганца.

**Таблица 4.9. Содержание марганца в некоторых продуктах питания**

Продукт	Содержание марганца, мг на 100 г	Продукт	Содержание марганца, мг на 100 г
Черный чай	73,40	Шиповник	1,20
Пророшенная пшеница	10,0	Свекла	0,85
Черника	3,23	Арахис	0,77
Соевая мука	3,0	Шпинат	0,68
Семена подсолнечника	2,20	Красная смородина	0,60
Грецкие орехи	1,90	Брусника	0,42
Ячмень	1,65	Соя	0,35
Петрушка	1,62	Бананы	0,34

Вследствие гидролиза катионов  $Mn^{2+}$  и образования малорастворимых основных солей абсорбция марганца(II) в желудочно-кишечном тракте незначительна. В щелочной среде кишечника под действием окислителей  $Mn^{2+}$  окисляется в  $Mn^{3+}$ , который абсорбируется с участием хелатирующих биолитандов.

В организме марганец образует комплексы с белками, нуклеиновыми и аминокислотами, которые являются составной частью металлоферментов. Из ферментов, содержащих марганец, известны *аргиназа*, *холинэстераза*, *пируваткарбоксилаза* и др. Доказано участие марганца в биосинтезе хлорофилла, витамина С, витаминов группы В и других биосоединений.

#### 4.6.6. d-МЕТАЛЛЫ VIII ГРУППЫ (Fe, Co, Ni)

Наибольшей биологической активностью среди элементов VIII группы Периодической системы обладают *железо*, *кобальт* (важнейшие биогенные элементы) и *никель*, которые образуют триаду железа. Металлы двух других триад (платины, палладия) не являются жизненно необходимыми.

**Железо.** В организме человека содержится 5 г железа, большая часть которого (75 %) сосредоточена в виде гемового комплекса в гемоглобине крови, а также в миоглобине мышц и некоторых других гемсодержащих ферментах (см. главу 5). Железо присутствует во всех клетках живого организма и играет решающую роль в его жизнедеятельности. Содержание железа в некоторых продуктах питания приведено в табл. 4.10.

Таблица 4.10. Содержание железа в некоторых продуктах питания

Продукт	Содержание железа, мг на 100 г	Продукт	Содержание железа, мг на 100 г
Свиная печень	22,0	Лисички	6,50
Черный чай	16,0	Семена подсолнечника	6,50
Соевая мука	11,0	Овес	5,80
Пророщенная пшеница	9,0	Оленина	3,25
Пшено	9,0	Чечевица	3,20
Телячья печень	8,0	Соя	3,10
Свиные почки	8,0	Шпинат	2,98
Яичный желток	7,0	Фенхель	2,51
Говяжья печень	7,0	Говядина	2,35

Недостаток железа в организме вызывает анемию, причиной чего может быть низкая абсорбция железа организмом. На абсорбцию железа влияют различные факторы: количество и химические формы железа в пище, присутствие в пище веществ, ускоряющих (короткоцепные жирные кислоты, аминокислоты, цитраты, аскорбаты, фруктоза) или ингибирующих (ионы  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ) процесс абсорбции. Простые соли  $Fe(II)$  легче, чем соли  $Fe(III)$ , абсорбируются организмом (в связи с меньшим значением  $pK$  гидролиза иона  $Fe^{2+}$ ). В пище железо содержится в двух формах — гемовой и негемовой. Одна из причин развития железодефицитной анемии — недостаточное использование продуктов, содержащих гемовое железо.

**Кобальт.** Координационные числа кобальта в биоконплексах с плоской и октаэдрической конфигурацией равны 4 и 6 для  $Co^{2+}$  и 6 для  $Co^{3+}$ . Особенно большое сродство имеют ионы  $Co^{2+}$  и  $Co^{3+}$  к лигандам, содержащим в качестве электронодонорных атомов кислород, азот и серу.

Кобальт присутствует в растительных и животных тканях. В организме взрослого человека содержится около 1,2 мг кобальта. Большая часть этого количества находится в костях и мышцах (главным образом в составе витамина  $B_{12}$  — см. главу 3).

Благодаря участию витамина  $B_{12}$  в различных ферментативных процессах кобальт влияет на обмен углеводов, белков, липидов и минеральных соединений, а также принимает участие в процессах кроветворения.

Ион  $Co^{2+}$  активирует ряд ферментов и может замещать в них ион  $Zn^{2+}$  без снижения их активности. Избыток кобальта в организме ингибирует процесс абсорбции железа, блокируя железотранспортные системы, и подавляет потребление кислорода в митохондриях. Токсичность кобальта может быть также связана с инактивацией им сульфгидрильных групп белков тканей организма.

**Никель.** Наиболее распространенной и устойчивой химической формой в биосистемах является  $Ni(II)$ . Координационное число никеля чаще всего равно 4, и соответствующие комплексы имеют плоскоквадратное



строение. С биолигандами никель может образовывать также шестикординированные октаэдрические комплексы, а в комплексе с альбумином никель(II) имеет координационное число 5. В биологических средах могут существовать малорастворимые и потому малотоксичные соединения  $\text{Ni}(\text{OH})_2$  и  $\text{NiO}$ . Вследствие гидролиза токсичность растворимых солей никеля резко снижается при  $\text{pH} > 6,0$ .

В организме взрослого человека содержится около 10 мг никеля, причем 18 % этого количества находится в кожных покровах, а также в плазме, где он связан с альбумином.

По сравнению с железом и кобальтом никель играет менее важную биологическую роль, что, вероятно, связано с уменьшением химической активности элементов в триаде железа при переходе от Fe к Ni.

Биологическая роль никеля заключается в том, что он входит в состав *уреазы*, катализирующей гидролитическое расщепление мочевины на аммиак и диоксид углерода — заключительную стадию *орнитинового цикла* (см. главу 12). Возможно, никель образует координационное соединение с аммиаком или принимает участие в каталитическом процессе аналогично цинку в *карбоксипептидазе*.

Ион  $\text{Ni}^{2+}$  обладает сравнительно сильным сродством к серосодержащим донорным лигандам, за счет взаимодействия с которыми данный ион может ингибировать ряд ферментов. Эти факторы определяют относительную токсичность никеля.

## Контрольные вопросы и задания

1. Какие вопросы решает бионеорганическая химия и какие задачи перед ней стоят?
2. Какие химические формы ионов различных металлов преобладают в живых организмах?
3. Проанализируйте данные по распространенности химических элементов в биологических объектах. Какие металлы относят к «металлам жизни»?
4. Что понимают под токсичностью химических элементов и их соединений?
5. Перечислите основные факторы, которые определяют биологическую активность и токсичность металлов и их соединений.
6. Какие соединения относятся к биоккомплексам металлов и в чем заключаются особенности их строения?
7. Поясните преимущества использования концепции жестких и мягких кислот и оснований для объяснения особенностей физико-химического и биохимического поведения ионов металлов в биосистемах.
8. Проанализируйте взаимосвязь электронного строения, биофункций и возможных причин токсичности металлов, принадлежащих следующим группам Периодической системы химических элементов Д. И. Менделеева: а) IA; б) IB; в) IIA; г) IIB; д) IIIA; е) IVB и VB; ж) IVA; з) VIB; и) VA; к) VIIB; л) VIA; м) VIIIB.

## Глава 5

# Порфирины и родственные соединения

### 5.1. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ И ИЗУЧЕНИЯ ПОРФИРИНОВ

Предположение о существовании близкого генетического единства между красящими веществами крови и зеленых растений было высказано еще в 70-х годах XIX в. (К. А. Тимирязев). Справедливость этого предположения была подтверждена последующими исследованиями по изучению строения, физико-химических свойств и биологических функций природных порфиринов. Оказалось, что и *гем* крови, и *хлорофилл* растений являются металлокомплексами циклических тетрапиррольных пигментов.

Химией хлорофилла интересовался Я. Берцелиус в начале XIX в., но историю порфиринов обычно отсчитывают с 1880 г., когда впервые под действием кислот из гемоглобина крови были получены соли железа и раствор, из которого затем выделен *гематопорфирин*. При действии щелочей и кислот на хлорофилл был получен краситель с аналогичными свойствами — филопорфирин.

Первые подробные исследования химического строения порфиринов провели в 1896—1901 гг. профессор М. В. Ненцкий и его ученики. В результате было установлено, что молекулы порфиринов-лигандов ( $H_2P$ ) построены из пиррольных колец (90-е годы XIX в.). В это же время впервые был осуществлен синтез металлопорфиринов (MP) и тем самым заложен фундамент изучения порфиринов как активных полидентатных лигандов.

В 20—30-х годах XX в. бурно развивается Мюнхенская школа порфиринов, которую возглавил Г. Фишер. Важнейшими достижениями этой школы явились полный синтез гемина (1929 г.) и установление структурной формулы хлорофилла (1940 г.).

Химическое строение порфиринов и родственных соединений долгое время оставалось загадкой для ученых. В 1913 г. Ф. Кюстером была предложена структурная формула для порфиринов, в которой четыре пиррольных кольца связаны между собой метиновыми мостиками в цикл, названный *порфин*. Сейчас достоверность этой формулы не вызывает сомнений, однако в то время она показалась настолько необычной, что Г. Фишер выступил с резкой критикой такой структуры, после чего в 1921 г. Ф. Кюстеру пришлось отказаться от предложенной им формулы. И лишь впоследствии сам Г. Фишер подтвердил правильность формулы Кюстера на основании многочисленных экспериментальных данных.

Применение рентгеноструктурного анализа в середине XX в. позволило выявить трехмерную структуру *миоглобина* (Д. Кендрию) и *гемоглобина* (М. Перутц) — важнейших порфиринсодержащих белков, служащих переносчиками кислорода в организмах животных. Определение пространственной структуры этих белков послужило огромным стимулом для развития молекулярной биологии и смежных наук (например, белковой кристаллографии).

Крупнейшим успехом органической химии XX столетия был полный синтез хлорофилла, осуществленный в 1960 г. Р. Вудвордом с сотрудниками. Этот 30-стадийный синтез позволил окончательно подтвердить установленную ранее структуру хлорофилла.

Начиная с середины XX в. и по настоящее время активно ведутся систематические исследования порфиринов и родственных им структур с целью выяснения молекулярных основ механизмов их функционирования в живых организмах, а также с целью поиска практических аспектов использования их полезных свойств (каталитической и хромофорной активности, полупроводниковых свойств и др.). Учеными многих стран были синтезированы разнообразные структуры как самих порфиринов, так и их производных — фталоцианинов, моноаза-, диаза- и тетраазапорфиринов, тетрабензопорфиринов и ряда других, не менее интересных производных.

В 60-х годах XX столетия на стыке химии, физики и биологии сформировался мощный фундамент, создавший условия для развития новой науки — *супрамолекулярной химии*. Супрамолекулярную химию можно определить как химию молекулярных ансамблей и межмолекулярных связей. Одними из наиболее широко изучаемых объектов супрамолекулярной химии являются природные и синтетические  $H_2P$ ,  $MP$  и их разнообразные производные. Так, модельные синтетические порфирины позволяют ученым справиться с глобальной задачей биохимии — выяснением физико-химической природы процессов, благодаря которым осуществляется самосборка молекулярных ансамблей в биологических системах (мультиферментные ансамбли, органеллы клеток и др.). С другой стороны, благодаря имеющимся в настоящее время теоретическим разработкам стало возможным проводить целенаправленный синтез порфиринов с заданными практическими свойствами.

## 5.2. ОБЩИЕ АСПЕКТЫ ХИМИИ И БИОХИМИИ ПОРФИРИНОВ

В соответствии с современными представлениями о развитии живой материи можно утверждать, что порфирины и родственные им структуры служили одними из ключевых соединений в химической эволюции биологически активных веществ. Так, экспериментальные исследования, проведенные американским ученым К. Фолсом, показали, что при воздействии лучистой энергии или электрического разряда на смесь первичных газов, составлявших древнюю атмосферу Земли, на первом этапе образуются небольшие органические молекулы. Среди них выделяются пиррольные гетероциклы, а затем обнаруживается полимерный материал, способ-

ный к прямому использованию энергии. Очевидно, что развитие химической эволюции осуществлялось по пути дальнейшего усовершенствования химической структуры светочувствительных соединений — *пигментов*, или *биохромов* (см. также раздел «Заключение» настоящего пособия). Косвенным подтверждением этого являются результаты достижений в области химии и биохимии  $H_2P$  и родственных им соединений, представляющих неотъемлемую часть всей совокупности биологически активных веществ. С точки зрения биохимии  $H_2P$  и родственные структуры — это достаточно большая и разветвленная группа природных субстратов, участвующих в общих путях метаболизма животных и растительных организмов.

Интенсивное развитие исследований в области химии и биохимии порфиринов и родственных соединений объясняется уникальностью выполняемых ими биологических функций, которые, в свою очередь, не могут быть объяснены без знания особенностей химического строения и физико-химических свойств данной группы соединений.

**Порфирины** — это важный класс макроциклических тетрапиррольных лигандов, созданных природой в долгом эволюционном процессе для осуществления важнейших биологических функций живой материи — таких, как:

- фотосинтетическая;
- дыхательная;
- ферментативная и ряд других.

К настоящему времени обнаружено достаточно большое число природных порфиринов. Широкое распространение порфиринов в живой природе, несомненно, связано с большой инвариантностью их химического строения, что обусловлено возможностью усложнения молекулы **порфина** — простейшего порфирина — по двум направлениям (рис. 5.1):

1) за счет замещения атомов водорода в 1—8 положениях пиррольных колец ( $\alpha$ -пиррольное замещение) или в  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -положениях метиновых мостиков (*мезо-замещение*) макроцикла (в соответствии с номенклатурой порфиринов по Фишеру);

2) путем изменения самого макроцикла за счет введения гетероатомов, гидрирования и конденсации дополнительных циклов.

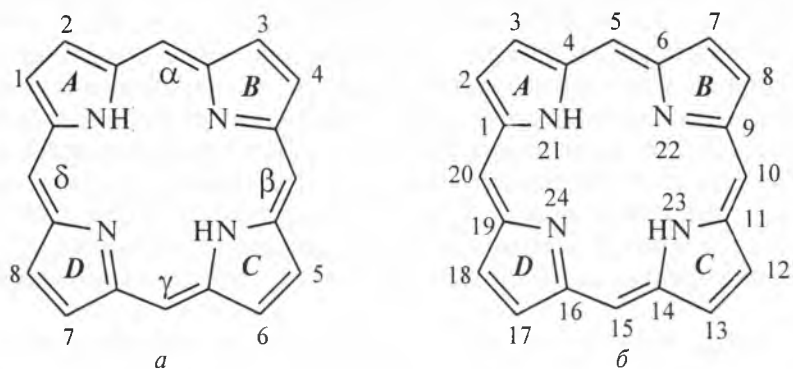


Рис. 5.1. Структурная формула порфина и схема нумерации атомов и колец;

*a* — по Фишеру; *б* — по номенклатуре IUPAC

Такие преобразования приводят к возникновению новых соединений, сохраняющих главные свойства молекул порфиринов: ароматический характер, стабильность, хромофорную активность, хелатирующую способность по отношению к ионам различных металлов, которые в итоге и определяют биологическую активность порфиринов и их производных.

Специфические особенности молекулярной структуры  $H_2P$  заключаются в следующем:

- большая протяженность молекулы в плоскости;
- наличие сплошного замкнутого в цикл (или в циклы) контура сопряжения  $\pi$ -электронов и участие в контуре сопряжения  $\pi$ -электронов гетероатомов;
- наличие на периферии макроциклических молекул функциональных заместителей различной природы.

Вследствие этих причин молекулы порфиринов имеют ряд следующих особенностей: планарность макроцикла;  $NH$ -таутомерия, проявляющаяся в миграции относительно подвижных протонов координационного центра ( $H_2N_4$ ) от одного атома азота к другому; наличие макроциклического эффекта, обеспечивающего устойчивое электронное и ядерное экранирование координационного центра.

Сопряженная макроциклическая  $\pi$ -система молекул  $H_2P$  образована 24 центрами  $\pi$ -электронов, включающими 20 атомов углерода и 4 атома азота. Два иминных атома азота поставляют в  $\pi$ -систему макроцикла по два  $p_z$ -, а два третичных атома азота — по одному  $p_z$ -электрону. Такая сопряженная система, состоящая из 26  $\pi$ -электронов, удовлетворяет правилу ароматичности Хюккеля ( $4n + 2$ , где  $n$  — целое число). Сильное поляризующее (ауксохромное) воздействие на  $\pi$ -систему макроцикла могут оказывать протонодонорные частицы или ионы металлов, координирующие порфирин.

Важнейшей особенностью порфиринов является их высокая хромофорная активность, обуславливающая наличие характерных электронных спектров поглощения (ЭСП) в видимой области. Порфирины — производные порфина получили свое название от греч. *porphyreos* — пурпурный из-за характерной окраски. Поскольку тетрапиррольный макроцикл представляет собой плоскую высокосопряженную систему, возбуждение электрона происходит очень быстро. Перераспределение заряда, сопровождающее возбуждение электрона, неизотропно, что приводит к появлению нескольких дипольных моментов, обуславливающих возникновение ряда интенсивных полос поглощения в большинстве случаев в диапазоне 470 — 700 нм, т. е. полос интенсивного красного, пурпурного или зеленого цвета. Очень интенсивная полоса *Soret*, находящаяся приблизительно при 400 нм, обусловлена симметричным расположением четырех пиррольных N-атомов; она чрезвычайно характерна для тетрапиррольного макроцикла (рис. 5.2).

Одним из основных свойств порфиринов является их способность образовывать координационные соединения с различными ионами металлов; при этом порфирины выступают в роли высокоселективных лигандов. Реакции комплексообразования представляют собой замещение атомов водорода в иминогруппах координационного центра порфирина

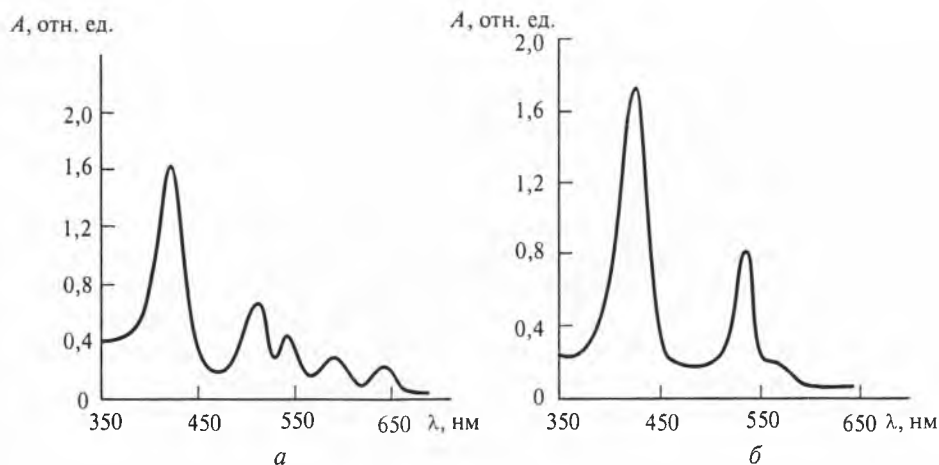


Рис. 5.2. Характерные электронные спектры поглощения лиганда (*а*) и металлокомплекса порфирина (*б*). *A* — оптическая плотность

на ион металла с одновременным его связыванием двумя координационными связями с третичными атомами азота двух других пиррольных колец. Реакции комплексообразования порфиринов возможны благодаря наличию в их молекулах координационной полости  $N_4$ , имеющей радиус около  $2 \text{ \AA}$ , что позволяет координировать ионы металлов  $M^{2+}$ ,  $M^{3+}$ ,  $M^{4+}$  и даже ионы с большей степенью окисления. Именно продукты реакций комплексообразования  $H_2P$ , т. е. их металлокомплексы —  $MP$ , обладают многообразными структурными и химическими особенностями, высокой биохимической и каталитической активностью. Ион металла в металлопорфинах либо занимает центр полости  $N_4$ , образуя плоский координационный узел  $MN_4$ , либо оказывается приподнятым над плоскостью макроцикла и образует координационные узлы различной геометрии — от тетрагональной пирамиды  $(L)MN_4$  (рис. 5.3, *а*) и октаэдра  $(L_1)(L_2)MN_4$  (рис. 5.3, *б*) до более сложных геометрических структур.

Выход центрального иона металла из плоскости координационного узла  $MN_4$  происходит, как правило, при донорно-акцепторном взаимо-

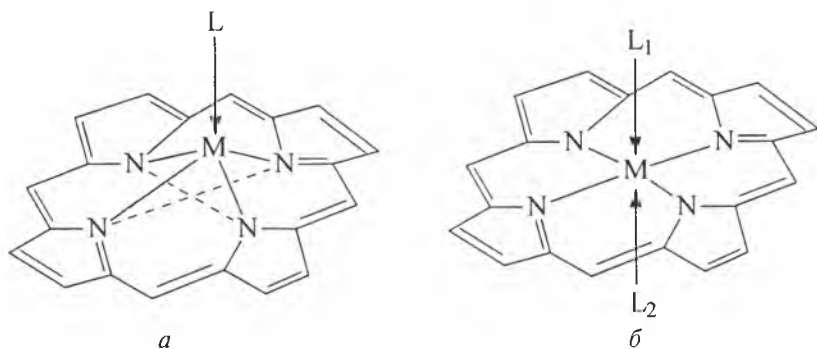


Рис. 5.3. Геометрическое строение металлопорфиринов:

*а* — тетрагональная пирамида  $(L)MN_4$ ; *б* — октаэдр  $(L_1)(L_2)MN_4$

действии с дополнительным лигандом, что играет глобальную биохимическую роль в функционировании природных хромопротеинов: гемоглобина и миоглобина (см. ниже). Именно в составе металлокомплексов порфирины выполняют ряд своих важнейших биологических функций. Свободные порфириновые лиганды  $H_2P$  в живых организмах присутствуют в относительно небольших количествах.

Из природных металлопорфиринов, особенности химического строения и биологических функций которых будут рассмотрены ниже, жизненно необходимыми являются  $MP$ , содержащиеся в *гемоглобине крови*, *хлорофилле*, *цитохромах*, *каталазе*, *пероксидазе* и других хромопротеинах. Особо следует отметить витамин  $B_{12}$  (*кобаламин*), структуру которого составляет координированный ионом  $Co^{2+}$  порфириноподобный макроцикл *коррин*, состоящий из четырех частично гидрированных пиррольных колец (см. главу 3). Некоторые металлопорфирины в виде красящего начала встречаются в яичной скорлупе, маховых перьях животных и других тканях.

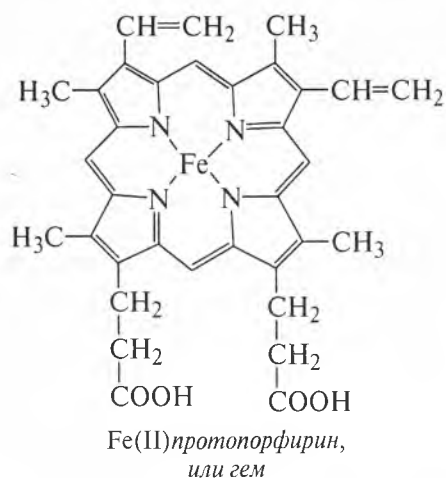
## 5.3. ГЕМОПРОТЕИНЫ

### 5.3.1. МИОГЛОБИН И ГЕМОГЛОБИН

Главными гемсодержащими белками (гемопротеинами) являются миоглобин и гемоглобин.

#### 5.3.1.1. ХИМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ

Простетическая группа наиболее известных природных дыхательных пигментов — белка крови *гемоглобина (Hb)* и мышечного белка *миоглобина (Mb)* — по химической структуре представляет собой макроциклический комплекс железа(II) с протопорфирином IX:



Такой комплекс традиционно называется *гемом*. Периферийные заместители лиганда протопорфирина IX представлены четырьмя метиль-

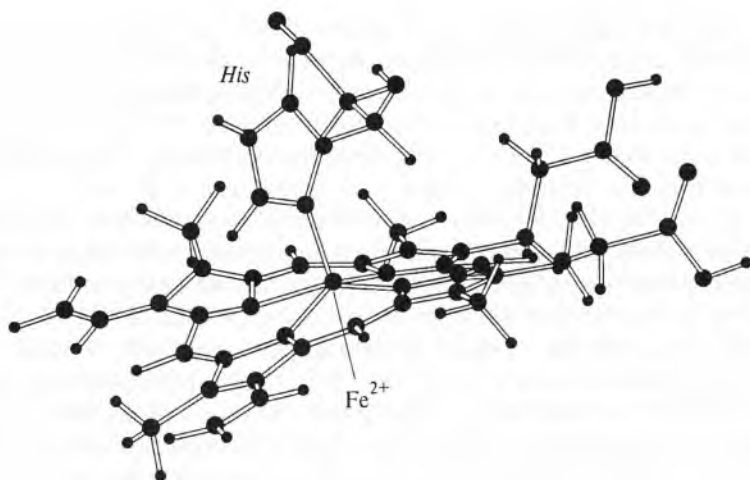


Рис. 5.4. Пространственная структура гема и расположение проксимального остатка гистидина (*His*) в пятом координационном положении иона  $\text{Fe}^{2+}$

ными, двумя винильными и двумя пропионатными группами. В принципе возможно 15 вариантов пространственного расположения этих заместителей, но живая природа остановилась только на одном из таких изомеров — протопорфирине IX. В геме ион  $\text{Fe}^{2+}$  с помощью четырех равноценных связей присоединен к атомам азота пиррольных колец. Гем имеет брутто-формулу  $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_4\text{Fe}$  и молекулярную массу 616.

Атом железа(II) в составе протопорфирина IX координационно ненасыщен (имеет вакантные *d*-орбитали) и способен присоединять один или два дополнительных электронодонорных или электроноакцепторных лиганда по оси, перпендикулярной плоскости макроцикла. В таких случаях координационное число  $\text{Fe(II)}$  равно 5 или 6. Такой тип координации у МР называется *аксиальным* (от греч. *αξον* — ось), а соответствующие координируемые дополнительные лиганды — *аксиальными*. Именно это свойство гема и определяет способность молекул гемоглобина и миоглобина к присоединению молекулярного кислорода и других лигандов, лежащую в основе жизненно необходимых функций данной группы сложных белков. Формирование и стабилизация пространственной структуры гемоглобина и миоглобина происходят благодаря образованию аксиальных связей между  $\text{Fe(II)}$  и аминокислотными остатками полипептидных цепей этих хромопротеинов. При этом аминокислотный остаток гистидина занимает пятое координационное положение  $\text{Fe(II)}$  в составе МР (рис. 5.4). Такой остаток гистидина получил название **проксимальный** (от лат. *proximus* — ближайший). Второй остаток гистидина глобиновой полипептидной цепи — **дистальный гистидин** (от лат. *disto* — отстою) находится близко к кислородсвязывающему участку гема, но не имеет непосредственной связи с ним.

Рассмотрим особенности химического строения и пространственной организации гемоглобина и миоглобина.



**Гемоглобин** (от греч. *haimatos* — кровь и лат. *globus* — шар) составляет примерно 95 % сухой массы эритроцитов — красных кровяных клеток — и выполняет функцию переносчика молекулярного кислорода и диоксида углерода кровью. По причине важнейшей биологической значимости гемоглобин именуют *V.I.P.* — *Very Important Protein*. Гемоглобин можно считать именно тем белком, структура, свойства и функции которого на протяжении последних 50 лет наиболее активно изучались по сравнению с другими белками. Не зря гемоглобин называют «*атомом водорода*» современной биохимии, имея в виду, что изучение гемоглобина сыграло в биохимии ту же роль, что и изучение атома водорода в физике и химии.

В норме концентрация гемоглобина в крови мужчин колеблется от 13,3 до 18 % (мас.), у женщин — от 11,7 до 15,8 % (мас.) (в среднем 13,7).

Гемоглобин — это тетрамерный белок, состоящий из четырех субъединиц, каждая из которых состоит из гема и одной молекулы белкового компонента — глобина (рис. 5.5). Модель трехмерной четвертичной структуры гемоглобина была показана на рис. 1.14. Молекулярная масса гемоглобина человека составляет 64 500.

В нормальном гемоглобине А (HbA) здорового взрослого человека имеется две пары идентичных по аминокислотному составу белковых цепей: две  $\alpha$ -цепи содержат по 141 остатку аминокислот, а две  $\beta$ -цепи — по 146 аминокислотных остатков. Поэтому формулу гемоглобина схематично обозначают как  $2\alpha 2\beta$ . Таким образом, белковая часть гемоглобина содержит 574 аминокислотных остатка. Причем  $\alpha$ -полипептидная цепь гемоглобина заканчивается комбинацией аминокислотных остатков *Val—Leu*; а  $\beta$ -полипептидная цепь — комбинацией *Val—His—Leu*.

Благодаря строго упорядоченной четвертичной структуре гемоглобин имеет почти правильную форму шара диаметром 55 Å. Четыре полипептидные цепи тетрамерного глобина расположены в виде тетраэдра. Четыре гема, по одному у каждой субъединицы, находятся в углублениях на внешней стороне глобул. Каждый гем связан силами Ван-дер-Ваальса примерно с 60 атомами белка, а также донорно-акцепторной связью с имидазольным кольцом проксимального гистидина. Причем карбоксильные группы порфирина взаимодействуют с основными группами глобина, а

винильные группы гема повернуты к внутренней гидрофобной части полипептидной цепи. Каждая  $\alpha$ -цепь вступает в контакт с обеими  $\beta$ -цепями за счет универсальных и специфических взаимодействий между радикалами аминокислотных остатков, в то время как взаимодействия между двумя  $\alpha$ - или двумя  $\beta$ -цепями незначительны.

В отличие от гемоглобина **миоглобин** (от греч. *mys* — мышца и лат. *globus* — шар) — небольшой глобулярный белок с молекулярной массой 17 000. Молекула миоглобина состоит из одного гема и одной полипептидной цепи, содержащей 153 аминокислотных остатка. Таким образом, формально



Рис. 5.5. Модель  $\alpha$ -субъединицы гемоглобина человека

миоглобин можно рассматривать как  $\frac{1}{4}$  часть молекулы гемоглобина. Особенно богаты миоглобином мышцы морских животных, способных длительное время находиться под водой.

### 5.3.1.2. БИОХИМИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ

**Транспорт кислорода гемоглобином.** Важнейшей функцией крови является ее способность к переносу молекулярного кислорода из легких в ткани и диоксида углерода из тканей в легкие. Необходимо отметить, что кровь является хотя и жидкой, но тканью, так как состоит из клеточного и межклеточного веществ (состав крови приведен в табл. 5.1). Дыхательная функция крови сформировалась в долгом процессе эволюции в период перехода от анаэробного существования организмов к аэробному. В ходе эволюции у позвоночных животных выработались два основных механизма, обеспечивающие постоянное снабжение клеток достаточным количеством кислорода. Первый — это система кровообращения, в результате деятельности которой к клеткам активно поставляется кислород. Если бы система кровообращения отсутствовала у аэробных организмов, то их размеры не превышали бы миллиметра, поскольку из-за низкой скорости самопроизвольной диффузии кислорода его поступление в организм не удовлетворяло бы потребностям клеток. Появление в процессе эволюции гемопротеинов — это второе важнейшее приспособление, позволившее преодолеть ограничения, накладываемые низкой растворимостью кислорода в воде, и благодаря этому повысить эффективность снабжения клеток кислородом.

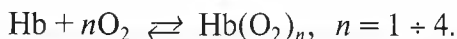
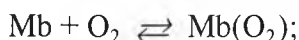
Таблица 5.1. Состав крови человека

Компоненты крови	Состав крови	Функции
Клетки крови (форменные элементы), 45 %	Эритроциты (красные кровяные тельца)	Перенос $O_2$ и $CO_2$
	Лейкоциты (белые кровяные тельца)	Защитная функция (клеточный иммунитет)
	Тромбоциты (кровяные пластинки неклеточного строения)	Защитная функция (участие в свертывании крови)
Межклеточное вещество (плазма крови), 55 %	Вода (90 %); белки (8 %); углеводы, жиры, витамины, гормоны, минеральные соли и другие вещества (2 %)	Поддержание иммунитета, питание клеток организма, регуляция функций организма

Детали механизма связывания кислорода миоглобином и гемоглобином довольно сложны, но хорошо изучены. Рассмотрим молекулярные основы этого механизма.

В одном эритроците находится около 400 млн молекул гемоглобина, каждая из которых способна присоединять четыре молекулы  $O_2$ : по одной на каждую субъединицу тетрамера. Миоглобин, находящийся в красных мышцах, способен к присоединению одной молекулы  $O_2$ . Гемоглобин или миоглобин, к которым присоединен кислород, называются соот-

ветственно **оксигемоглобином** и **оксимоглобином**. Схематично реакции присоединения кислорода к миоглобину и гемоглобину можно записать следующим образом:



Связывание кислорода миоглобином и гемоглобином есть не что иное, как процесс аксиальной координации молекулярного лиганда (в данном случае  $\text{O}_2$ ) на координационно ненасыщенном  $\text{Fe}(\text{II})$  в составе гема. Остановимся на механизме присоединения  $\text{O}_2$  к  $\text{Fe}(\text{II})$  в составе гема с электронных позиций. Кристаллическое поле N-донорных атомов порфирина и аксиальных лигандов (имидазол гистидина и  $\text{O}_2$ ) переводит  $t_{2g}^4 e_g^2$ -конфигурацию иона  $\text{Fe}^{2+}$  в  $t_{2g}^6 e_g^0$ . На вакантные  $e_g$ -орбитали переходят  $\sigma$ -электронные пары имидазола и кислорода (рис. 5.6). Молекула  $\text{O}_2$ , являясь  $\pi$ -акцептором, связывается с  $\text{Fe}(\text{II})$  также за счет обратной дативной  $\pi$ -связи. Координированный ион железа(II) поставляет  $t_{2g}$ -электронную пару на вакантную  $\pi^*$ -разрыхляющую орбиталь молекулы кислорода. Образованию  $\pi$ -связи  $\text{Fe}(\text{II}) \rightarrow \text{O}_2$  благоприятствует высокая электронодонорная способность  $\pi$ -системы макроцикла порфирина и проксимального имидазола. Таким образом, все вышесказанное свидетельствует о создании природой оптимальных условий для связывания гемом такого слабого  $\sigma$ -донора (но  $\pi$ -акцептора), как  $\text{O}_2$ , в то время как многие более сильные  $\sigma$ -доноры в данных условиях не способны к такому взаимодействию (поэтому вода с гемом связана слабо). С электронных позиций можно также

объяснить присутствие в геме именно иона железа(II), а не какого-либо другого металла. Для эффективного связывания иона металла с  $\text{O}_2$  в составе гема необходимыми являются следующие условия: 1) участие незамкнутых  $d$ -орбиталей атома металла; 2) координационная ненасыщенность атома металла в составе МР. За исключением иона  $\text{Co}(\text{III})$ , никакие другие металлы в составе МР не отвечают сразу обоим указанным условиям.

Важно отметить, что из-за низкой диэлектрической проницаемости среды внутри «гемового кармана» глобул гемоглобина при взаимодействии молекулярного кислорода с гемом степень окисления иона железа (+2) не изменяется (в отличие от свободного гема). Таким образом, глобин предохраняет железо(II) в геме от окисления. Это явление носит название **эффекта белковой защиты**. Процесс присоединения кислорода к гему правильнее называть не окислением, а **окси-**

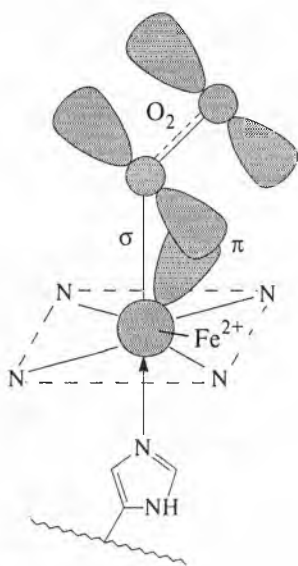


Рис. 5.6. Взаимодействие электронных орбиталей  $\text{O}_2$  и иона  $\text{Fe}^{2+}$

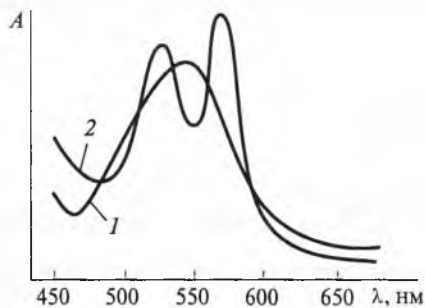


Рис. 5.7. Электронный спектр поглощения гемоглобина (1) и его изменение в процессе оксигенации (2)

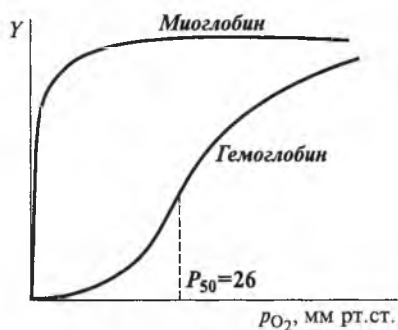


Рис. 5.8. Кривые оксигенации для гемоглобина и миоглобина

генацией, показывая тем самым, что данное взаимодействие не сопровождается окислительно-восстановительным процессом.

Оксигенация гемоглобина сопровождается существенными изменениями в характере ЭСП (рис. 5.7).

Взаимодействие миоглобина с кислородом имеет более простую природу, чем в случае тетрамерного гемоглобина. В этом и проявляются функциональные отличия между процессами функционирования миоглобина и гемоглобина в живых организмах, особенности которых рассмотрены ниже.

**Кооперативный эффект** связывания кислорода гемоглобином обеспечивает быстрое насыщение гемоглобина кислородом в легких. Гемоглобин, связывающий до четырех молекул кислорода (по одной гему каждой из четырех субъединиц), отличается от миоглобина по форме кривой насыщения кислородом, или *кривой оксигенации*. В случае миоглобина кривая оксигенации имеет *гиперболическую* форму, а в случае гемоглобина — *сигмоидную* (рис. 5.8). Сигмоидность формы кривой означает, что связывание кислорода гемоглобином происходит кооперативно, т. е. присоединение кислорода к одному гему облегчает его присоединение к остальным гемам в составе тетрамера. Сродство гемопротеинов к кислороду характеризуют величиной  $P_{50}$ , численно равной парциальному давлению кислорода, при котором 50 % участков связывания кислорода находятся в состоянии полного насыщения. Для миоглобина  $P_{50}$  составляет обычно 1 мм рт. ст., а для гемоглобина — 26 мм рт. ст.

Рассмотрим кривые оксигенации с количественных позиций. Константа равновесия процесса диссоциации оксимиоглобина на миоглобин и кислород определяется как

$$K = \frac{[\text{Mb}][\text{O}_2]}{[\text{Mb}(\text{O}_2)]},$$

где  $[\text{Mb}]$ ,  $[\text{O}_2]$  и  $[\text{Mb}(\text{O}_2)]$  — равновесные концентрации миоглобина, кислорода и оксимиоглобина соответственно,

а степень насыщения миоглобина кислородом ( $Y$ ) может быть представлена как

$$Y = \frac{[\text{Mb}(\text{O}_2)]}{[\text{Mb}(\text{O}_2)] + [\text{Mb}]}$$

Произведя подстановку  $[\text{Mb}(\text{O}_2)] = \frac{[\text{Mb}][\text{O}_2]}{K}$  из первого уравнения во второе, получаем зависимость степени насыщения миоглобина кислородом от парциального давления последнего

$$Y = \frac{[\text{O}_2]}{[\text{O}_2] + K} = \frac{p_{\text{O}_2}}{p_{\text{O}_2} + P_{50}},$$

где  $p_{\text{O}_2}$  — парциальное давление кислорода.

Графически это уравнение выражается гиперболой, и кривая диссоциации оксимиоглобина, рассчитанная по этому уравнению при  $p_{50} = 1$  мм рт. ст., соответствует экспериментальной кривой, полученной для миоглобина.

Как отмечалось выше, для гемоглобина кривая оксигенации имеет сигмоидную форму и не может быть описана приведенными выше уравнениями, что свидетельствует о кооперативном связывании кислорода молекулой гемоглобина. Рассмотрим крайний случай — присоединение четырех молекул  $\text{O}_2$  к одной молекуле гемоглобина с образованием оксигемоглобина. Константа равновесия такого процесса будет равна

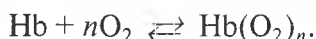
$$K = \frac{[\text{Hb}][\text{O}_2]^4}{[\text{Hb}(\text{O}_2)_4]},$$

где  $[\text{Hb}]$ ,  $[\text{O}_2]$  и  $[\text{Hb}(\text{O}_2)_4]$  — равновесные концентрации гемоглобина, кислорода и оксигемоглобина соответственно,

а степень насыщения гемоглобина кислородом составит

$$Y = \frac{(p_{\text{O}_2})^4}{(p_{\text{O}_2})^4 + (P_{50})^4}.$$

Графически последнее уравнение описывается сигмоидной кривой. Однако расчетная кривая идет круче, чем кривая, полученная экспериментально. Другими словами, процесс одновременного присоединения 4 молекул кислорода к гемоглобину является крайней ситуацией. В действительности кривые, построенные по данным, определенным для процесса связывания кислорода гемоглобином, описываются уравнением, соответствующим гипотетическому процессу



Степень насыщения в этом случае составит

$$Y = \frac{(p_{O_2})^n}{(p_{O_2})^n + (P_{50})^n}$$

После преобразований получим

$$\frac{Y}{1-Y} = \left( \frac{p_{O_2}}{P_{50}} \right)^n$$

Прологарифмируем это уравнение:

$$\lg \left( \frac{Y}{1-Y} \right) = n \lg P_{50}$$

Зависимость  $\lg [Y/(1-Y)]$  от  $\lg(p_{O_2})$  выразится прямой с тангенсом угла наклона  $n$  (рис. 5.9). Такой график называется *графиком Хилла*, а величина  $n$  в точке полунасыщения кислородом ( $Y=0,5$ ) — *коэффициентом Хилла*.

Миоглобин дает линейный график Хилла с  $n = 1,0$ , тогда как в случае гемоглобина  $n = 2,8$ . Такие результаты свидетельствуют о том, что в отличие от миоглобина, к которому молекулы кислорода присоединяются независимо друг от друга, в гемоглобине четыре гема работают согласованно: присоединение кислорода к одной субъединице гемоглобина увеличивает сродство к кислороду остальных субъединиц.

Кооперативный эффект связывания кислорода гемоглобином имеет структурную природу и может быть объяснен на основе данных конформационного анализа. В геме гемоглобина за счет стерического отталкивания, возникающего между проксимальным остатком гистидина и атомами азота пиррольных колец порфиринового цикла, аксиальный лиганд вытягивает ион  $Fe^{2+}$  из плоскости порфиринового макроцикла на  $0,75 \text{ \AA}$ . При взаимодействии с кислородом ион  $Fe^{2+}$  возвращается в плоскость порфирина (рис. 5.10). При этом высокоспиновое пирамидальное состояние координационного узла гема переходит в октаэдрическое искаженное состояние. Дистальный остаток гистидина не взаимодействует с молекулой  $O_2$ , но обеспечивает оптимальные условия для ее эффективного связывания. Одновременно с ионом железа происходит перемещение остатка проксимального гистидина, что, в свою очередь, вызывает конформационные изменения белка данной субъединицы и полипептидных цепей остальных субъединиц гемоглобина. В результате этого после присоединения первой молекулы  $O_2$  к субъединице гемоглобина активные центры — гемы выходят из глобул наружу, благодаря чему

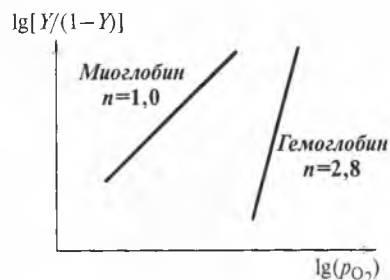


Рис. 5.9. График Хилла для связывания кислорода миоглобином и гемоглобином

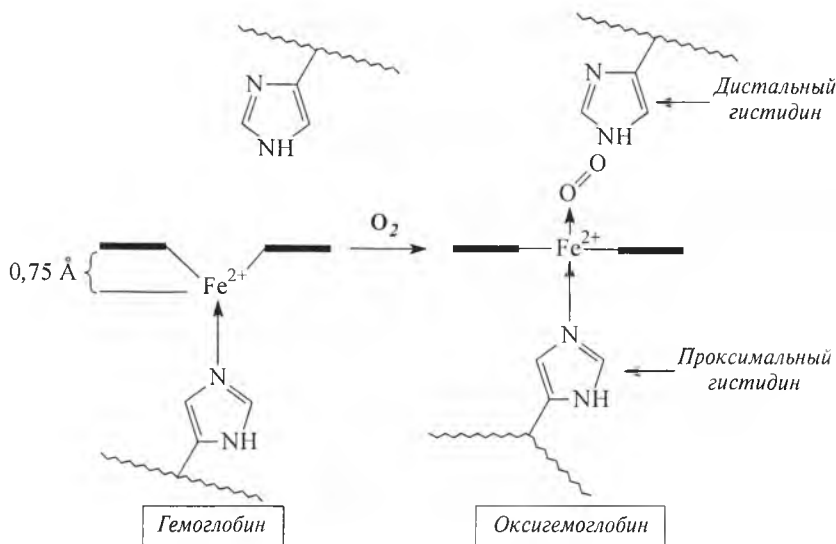


Рис. 5.10. Связывание кислорода гемом в составе гемоглобина

увеличивается сродство остальных субъединиц к  $O_2$  (рис. 5.11). Последующее присоединение кислорода к гемоглобину происходит с более высокой скоростью: четвертая молекула  $O_2$  связывается с гемоглобином примерно в 300 раз легче, чем первая. Такое явление есть не что иное, как аллостерический механизм связывания кислорода гемоглобином.

Конформационные изменения в полипептидной цепи глобина при взаимодействии с кислородом вызывают различия в пространственной организации гемоглобина и его окси-формы. Четвертичная структура гемоглобина обозначается как **Т-форма** (от англ. *tense* — напряженная), тогда как четвертичная структура оксигемоглобина — как **Р-форма** (от англ. *relaxed* — релаксированная). Обозначения Т и R обычно используются при описании четвертичных структур аллостерических белков, причем Т-форма всегда имеет меньшее сродство к субстрату. Схематично различия между пространственными структурами Т- и R-форм гемоглобина представлены на рис. 5.12.

Миоглобин находится в глубине мышечной ткани, где имеется низкое парциальное давление кислорода. В связи с этим гиперболический вид кривой насыщения кислородом миоглобина выражает важный биологический смысл, а именно: поскольку сродство к кислороду у миоглобина в

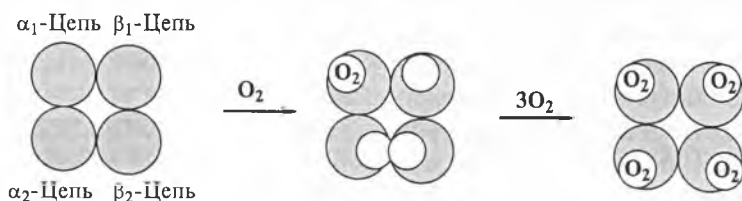


Рис. 5.11. Кооперативный эффект связывания кислорода тетрамерным гемоглобином

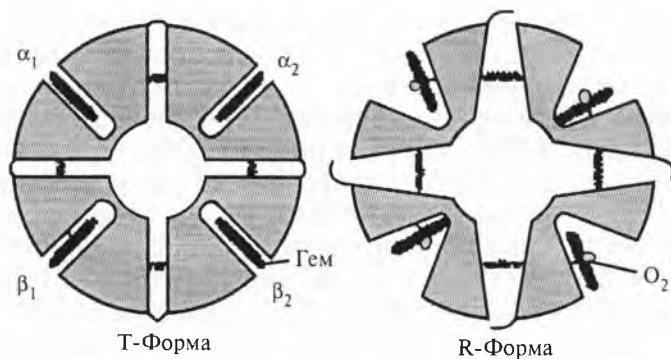
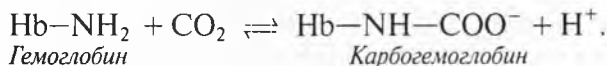


Рис. 5.12. Пространственные структуры R- и Т-форм гемоглобина

5 раз больше, чем у гемоглобина, миоглобин способен создавать кислородный резерв, который расходуется по мере необходимости, восполняя временную нехватку кислорода в тканях организма.

**Транспорт диоксида углерода гемоглобином.** Гемоглобин не только переносит кислород от легких к периферическим органам и тканям, но и осуществляет транспорт диоксида углерода от тканей к легким. Гемоглобин связывает  $\text{CO}_2$  сразу после высвобождения кислорода; примерно 15 %  $\text{CO}_2$ , присутствующего в крови, переносится молекулами гемоглобина, причем молекула  $\text{CO}_2$  присоединяется не к самому гему, а к  $\text{NH}_2$ -группам полипептидной цепи глобина — так образуется *карбогемоглобин*:



Нужно отметить, что свободный гемоглобин обладает значительно большим сродством к  $\text{CO}_2$ , чем оксигемоглобин.

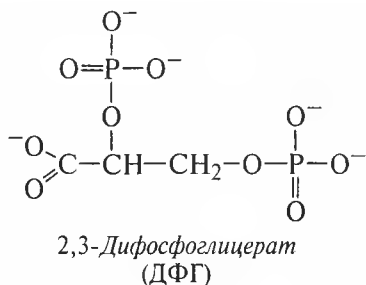
**Эффект Бора.** Сродство гемоглобина к кислороду зависит от pH окружающей среды, тогда как для миоглобина такой зависимости не наблюдается. Снижение pH в физиологических пределах сдвигает кривую насыщения гемоглобина кислородом вправо, т. е. сродство к кислороду уменьшается при повышении кислотности среды. Увеличение содержания  $\text{CO}_2$  (при постоянном значении pH) также уменьшает сродство гемоглобина к кислороду. В тканях активно протекают метаболические процессы (например, в результате интенсивной работы мышц), в результате чего образуется много  $\text{CO}_2$  и органических кислот, что вызывает понижение pH крови. Повышение содержания  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}^+$  в капиллярах активно метаболизирующих тканей способствует высвобождению  $\text{O}_2$  из оксигемоглобина. После освобождения от  $\text{O}_2$  гемоглобин присоединяет  $\text{H}^+$  и  $\text{CO}_2$  (при этом протоны связываются ионизированными карбоксильными группами глобина). Этот важный механизм был открыт в 1904 г. К. Бором.

Противоположный эффект, обнаруженный 10 лет спустя Д. Холдейном, имеет место в капиллярах легких. Здесь высокое содержание  $\text{O}_2$  способствует отщеплению  $\text{H}^+$  и  $\text{CO}_2$  от гемоглобина аналогично тому, как высокая концентрация  $\text{H}^+$  и  $\text{CO}_2$  в активно метаболизирующих тканях

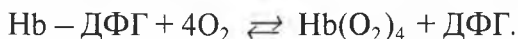


способствует высвобождению  $O_2$ . Такая взаимосвязь между процессами обратимого присоединения  $O_2$ ,  $H^+$  и  $CO_2$  известна как **эффект Бора**. Молекулярный механизм эффекта Бора также рассматривается в главе 15.

**Влияние дифосфоглицерата на сродство гемоглобина к кислороду.** В центре тетрамера гемоглобина имеется полость, образуемая аминокислотными остатками полипептидных цепей всех четырех субъединиц. В гемоглобине, в отличие от оксигемоглобина, между отдельными глобулами имеются дополнительные ионные связи, стабилизирующие протомеры в составе тетрамера. Вследствие этого размеры центральной полости меняются: увеличиваются в гемоглобине и уменьшаются в оксигемоглобине. В центральную полость гемоглобина (в отличие от оксигемоглобина) может входить 2,3-дифосфоглицерат (ДФГ) — соединение, синтезируемое в эритроцитах из промежуточного продукта окисления глюкозы — 1,3-дифосфоглицерата:



При физиологических значениях pH крови ДФГ существует в виде многозарядного аниона. Поэтому он присоединяется к гемоглобину за счет образования пяти дополнительных ионных связей с пятью положительно заряженными группами  $\beta$ -полипептидных цепей и тем самым оказывает сильное влияние на сродство гемоглобина к кислороду. Молярная концентрация ДФГ в эритроцитах примерно такая же, что и концентрация гемоглобина. В отсутствие ДФГ значение  $P_{50}$  для гемоглобина составляет 1 мм рт. ст. (как и для миоглобина), в присутствии ДФГ величина  $P_{50}$  становится равной 26 мм рт. ст. Таким образом, ДФГ снижает сродство гемоглобина к кислороду в 26 раз. С определенной степенью приближения процесс присоединения кислорода к гемоглобину в присутствии ДФГ можно выразить следующим уравнением:



Изменение уровня содержания ДФГ в эритроцитах имеет существенное значение. Например, через два дня пребывания человека на высоте 4500 м над уровнем моря концентрация ДФГ в его эритроцитах возрастает с 4,5 до 7,0 ммоль/л и соответственно снижается сродство к кислороду гемоглобина. В результате, с одной стороны, из-за снижения  $P_{50}$  уменьшается насыщение артериальной крови кислородом, с другой стороны количество транспортируемого кислорода возрастает, так как больше кислорода высвобождается в капиллярные сети. При спуске с гор на уровень моря значения концентрации ДФГ и  $P_{50}$  возвращаются к исходным.

### 5.3.1.3. ПРОИЗВОДНЫЕ ГЕМОГЛОБИНА

Молекулы гемоглобина и миоглобина взаимодействуют не только с кислородом, но и с другими молекулярными и ионными лигандами — такими, как молекулы *оксида углерода*, *воды*, *цианид-ионы* и др. На рис. 5.13 схематично показаны пути образования некоторых производных гемоглобина. Из-за высокого сродства к полярным электронодонорным молекулам или ароматическим молекулам токсичных веществ гемоглобин и миоглобин образуют с ними достаточно прочные комплексы и в результате этого теряют способность связывать и переносить кислород.

Так, сродство гемоглобина к оксиду углерода CO примерно в 300 раз выше, чем к кислороду, что объясняется способностью CO наряду с образованием обратных дативных  $\pi$ -связей (за счет  $2p_x$ - и  $2p_y$ -разрыхляющих орбиталей) выступать в роли  $\sigma$ -донора. Этим и объясняется высокая токсичность угарного газа, который блокирует гемоглобин, не давая ему участвовать в переносе кислорода. Попадая в легкие с воздухом, оксид углерода быстро диффундирует через альвеолярно-капиллярные мембраны, растворяется в плазме крови и проникает в эритроциты, где взаимодействует как с гемоглобином, так и с его окси-формой. Причем в тетрамерном гемоглобине одни протомеры оказываются занятыми CO, а другие — O<sub>2</sub>. В таких «смешанных» межмолекулярных структурах молекулы O<sub>2</sub> удерживаются прочнее, чем в оксигемоглобине, не содержащем CO, в результате высвобождение O<sub>2</sub> в ткани затрудняется. Поэтому наряду с блокированием части гемов в гемоглобине при отравлении CO происходит также нарушение функции свободных от CO гемов. Из-за высокого содержания CO в табачном дыме в крови курильщиков всегда присутствует небольшое количество карбоксигемоглобина. В **карбоксигемоглобине** ион железа имеет степень окисления 2+. Признаки отравления при различном содержании карбоксигемоглобина в крови человека приведены в табл. 5.2.

Под действием окислителей (например, нитритов) из гемоглобина образуется **метгемоглобин**, в котором ион железа приобретает степень окисления 3+ и теряет способность присоединять молекулярные лиганды, в том числе кислород. Протестическая группа метгемоглобина носит название **гематина** или **гемина**, если аксиальными лигандами являются анио-

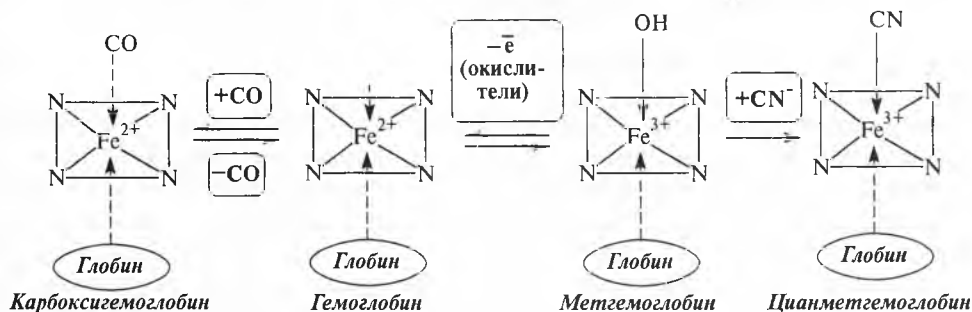


Рис. 5.13. Схема образования производных гемоглобина

**Таблица 5.2. Признаки отравления при различном содержании карбоксигемоглобина в крови человека**

Содержание СО в воздухе, млн <sup>-1</sup> (объемные части)	Содержание карбоксигемоглобина в крови, %	Клинические симптомы
60	10	Ослабление зрения, легкая головная боль
130	20	Боли в голове и теле, утомляемость, временная потеря сознания
200	30	Потеря сознания, паралич, нарушение дыхания и других жизненных функций организма
660	50	Полная потеря сознания, паралич, остановка дыхания
750	60	В течение часа наступает летальный исход

ны  $\text{OH}^-$  или  $\text{Cl}^-$  соответственно. В результате нормальных метаболических процессов в эритроцитах всегда образуется небольшое количество метгемоглобина, который затем восстанавливается в гемоглобин под действием *метгемоглобинредуктазы*, так что в цельной крови здорового человека содержание метгемоглобина не превышает 2 % от общего содержания гемоглобина. Высокие концентрации метгемоглобина вызывают кислородное голодание тканей. Однако метгемоглобин обнаруживает и другие свойства. Он легко связывает цианид-ионы с образованием **цианметгемоглобина**, что частично защищает организм от смертельного действия цианидов. Токсичность цианидов обусловлена тем, что анионы  $\text{CN}^-$  в качестве аксиальных лигандов легко присоединяются к иону  $\text{Fe}^{3+}$  гема цитохромов дыхательных цепей (см. ниже), встроенных в митохондриальные мембраны клеток. Цианид-ионы являются частицами, изоэлектронными молекуле СО, но из-за наличия отрицательного заряда связь  $\text{Fe}^{3+}-\text{CN}^-$  приобретает дополнительный электростатический характер, что способствует очень прочному связыванию аниона. В результате связывания с цианид-ионами цитохромы теряют способность участвовать в переносе электронов за счет обратимого окисления иона железа, и работа дыхательных цепей клеток останавливается. Поэтому для лечения отравлений цианидами применяют *метгемоглобинообразователи* (например, тот же нитрит натрия). В результате за счет потери части гемоглобина крови восстанавливается функционирование цитохромов и самих дыхательных цепей.

#### 5.3.1.4. ФОРМЫ ГЕМОГЛОБИНОВ

Еще недавно считалось, что гемоглобин взрослого человека представлен единственным соединением. Известно было также, что в эмбриональный период жизни в организме присутствует особенный тип гемоглобина — гемоглобин F ( $\text{HbF}$ ), более устойчивый к действию щелочей, чем нормальный гемоглобин. Работы Л. Полинга и его сотрудников, а также других исследователей показали, что гемоглобин взрослого человека и при нормальных, и при патологических состояниях может быть представлен группой соединений схожего строения. Было открыто много нормаль-

ных и патологических типов гемоглобина, что позволило в новом свете представить метаболизм гемоглобина и указать пути исследования патогенеза некоторых заболеваний — анемий. Было установлено, что определенные патологии вызваны наличием гемоглобина особого типа, характерного для данной формы анемии. Поэтому идентификация типов гемоглобина имеет большое значение не только для диагностики, но и для решения вопросов о патогенезе анемии на биохимическом уровне. Анемии, вызванные появлением патологического типа гемоглобина, называются *гемоглобинопатиями*, или *гемоглобинозами*.

Выяснилось, что у человека имеется три основных типа нормального гемоглобина (физиологические типы гемоглобинов): *эмбриональный* — **U (HbU)**, *фетальный* — **F (HbF)** и *гемоглобин взрослого человека* — **A (HbA)**. HbU (назван по начальной букве англ. слова *uterus* — матка) встречается в эмбрионе между 7-й и 12-й неделями жизни, затем он исчезает и появляется фетальный (от лат. *fetus* — плод) — HbF, который после третьего месяца становится основным гемоглобином плода. Гемоглобин F обладает более высоким сродством к кислороду, чем гемоглобин A взрослых людей. Именно благодаря этому возможен оптимальный перенос кислорода от HbA матери к HbF плода. Более высокое сродство HbF к кислороду подтверждается также тем, что он связывает ДФГ менее прочно, чем гемоглобин A. Вслед за HbF постепенно появляется нормальный гемоглобин взрослого человека HbA (по начальной букве лат. слова *adultus* — взрослый). Количество HbF постепенно уменьшается, так что в момент рождения 80 % гемоглобина эритроцитов представляет собой HbA и только 20 % — HbF. После рождения фетальный гемоглобин продолжает убывать и на 2—3-м году жизни составляет всего 1—2 % от общего содержания гемоглобина. Такое же количество HbF сохраняется и у взрослого человека. Количество HbF, превышающее 2 %, считается патологическим для детей старше 3 лет и для взрослого человека.

Кроме нормальных типов гемоглобина в настоящее время открыто свыше ста его патологических (аномальных, мутантных) вариантов. Сначала они обозначались латинскими буквами. Вскоре выяснилось, что букв алфавита просто не хватит для обозначения всех патологических типов гемоглобина. Поэтому для обозначения новых патологических форм гемоглобина стали использовать имена пациентов, больниц, лабораторий, названия мест и округов, с которыми связаны их открытия. Как нормальные, так и патологические типы гемоглобина различаются не по структуре молекулы хромофора, а по аминокислотной последовательности (первичной структуре) глобина. Разница может заключаться как в изменении целых пар полипептидных цепей в молекуле гемоглобина, так и в замене в первичной структуре белка одного аминокислотного остатка на другой.

Рассмотрим структурные особенности гемоглобинов H, F, Бартс, A<sub>2</sub> и U. Вместо нормальной структуры HbA — 2α2β — гемоглобин H имеет структуру 4β, что означает, что обе α-полипептидные цепи замещены двумя новыми β-полипептидными цепями. У гемоглобинов F, Бартс и A<sub>2</sub> появляются две новые полипептидные цепи, обозначаемые γ и δ, а у гемоглобина U — новая цепь, обозначаемая ξ. Структура HbF — 2α2γ, гемоглобина Бартс — 4γ, HbA<sub>2</sub> — 2α2δ, гемоглобина U — 2α2ξ. Патологические

гемоглобины, состоящие из четырех одинаковых полипептидных цепей со структурами 4 $\alpha$  и 4 $\delta$ , до сих пор не наблюдались *in vivo*. Замена аминокислотных остатков в полипептидных цепях глобина на другие встречается у большинства типов аномальных гемоглобинов. Так, например, единственная разница между HbS и HbA состоит в том, что у последнего на 6-м месте в  $\beta$ -полипептидной цепи вместо *глутаминовой кислоты* находится *валин*, а различие между HbI и HbA заключается в том, что на 16-м месте в  $\alpha$ -полипептидной цепи HbA лизин замещен аспарагиновой кислотой.

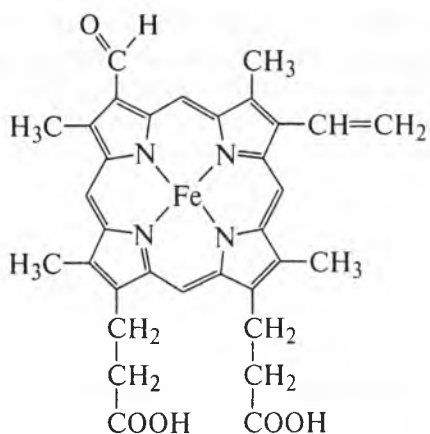
Когда аномалия связана с замещением аминокислоты в  $\alpha$ -полипептидной цепи, то говорят об  $\alpha$ -цепной аномалии, в  $\beta$ -полипептидной цепи — о  $\beta$ -цепной аномалии, в  $\gamma$ -полипептидной цепи — о  $\gamma$ -цепной аномалии (патологические варианты HbF), в  $\delta$ -цепи — о  $\delta$ -цепной аномалии (патологические варианты HbA<sub>2</sub>).

### 5.3.1.5. ГЕМОГЛОБИН ПРИ СЕРПОВИДНО-КЛЕТОЧНОЙ АНЕМИИ

В отличие от HbA в гемоглобине HbS остаток глутаминовой кислоты  $\beta$ -полипептидной цепи глобина замещен на валин. Остаток валина располагается на поверхности белковой глобулы гемоглобина. Замещение полярного остатка глутаминовой кислоты на неполярный валин приводит к появлению на поверхности  $\beta$ -субъединицы гидрофобного участка, который не гидратируется окружающим водным раствором. Этот участок присутствует как в окси-, так и в дезоксиформе HbS (в то время как в HbA он отсутствует). Кроме того, на поверхности HbS существует участок, комплементарный гидрофобному участку  $\beta$ -субъединицы и способный с ним прочно связываться. В окси-HbS этот участок маскируется другими аминокислотными группами. Когда окси-HbS теряет кислород, его гидрофобный участок связывается с комплементарным участком на другой молекуле HbS. Таким образом, происходит полимеризация HbS, при этом каждая молекула гемоглобина контактирует с 4 соседними молекулами с образованием трубчатых волокон. Волокна HbS механически деформируют эритроцит, придавая ему серповидную форму, что приводит к лизису клеток и множеству вторичных клинических проявлений. В HbA также имеется рецепторный участок, способный взаимодействовать с гидрофобным участком окси- или дезокси-HbS. Присоединение гидрофобного HbS к HbA сопровождается образованием соответствующего димера, но не приводит к образованию полимера, поскольку сам HbA не имеет гидрофобного участка и потому не может связывать следующую молекулу гемоглобина.

### 5.3.2. ХЛОРОКРУОРИН, ГЕМОЦИАНИН, ГЕМОЭРИТРИН И ГЕМОВАНАДИН

**Хлорокруорин** является соединением, родственным гемоглобину. Он переносит кислород по зеленой крови очень ограниченной группы многощетинковых червей. Протетическая группа хлорокруорина — *хлорокруорогем* отличается от гема тем, что в его молекуле вместо винильной группы при 3-м атоме углерода находится формильная группа:



Хлорокруорогем

Других существенных различий между строением хлорокруорина и гемоглобина не наблюдается. Окси- и дезоксиформы хлорокруорина почти не отличаются по окраске, но для этого пигмента характерен сильный дихроизм, и его окраска меняется от красной до зеленой при разбавлении раствора. Лишь у очень небольшого числа видов животных хлорокруорин придает телу зеленую окраску.

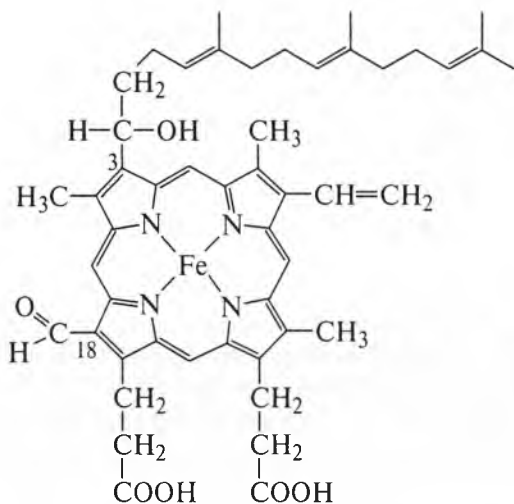
**Гемоцианин, гемоэритрин и гемованадин** являются пигментами крови или дыхательными пигментами у небольшого числа беспозвоночных. Они представляют собой металлопротеины, не содержащие гема или других металлопорфиринов (поэтому их названия выбраны довольно неудачно). Например, гемоцианины брюхоногих моллюсков представляют собой крупные белки с молекулярной массой  $9 \cdot 10^6$ . Их функциональной единицей, которая связывает одну молекулу  $O_2$ , служит пара ионов  $Cu^{2+}$ , окруженная компактно свернутым полипептидом. Молекула гемоцианина содержит 100—150 таких функциональных единиц.

### 5.3.3. ЦИТОХРОМЫ

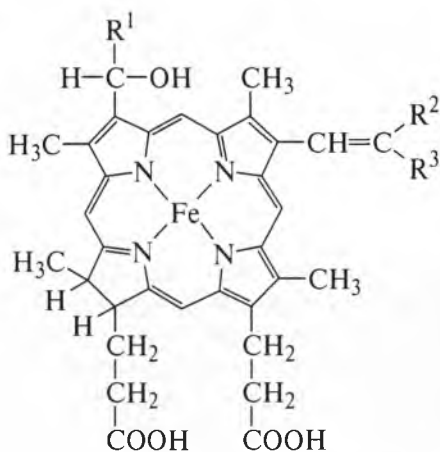
**Цитохромы** представляют собой группу гемопротеинов, у которых в отличие от гемоглобина и миоглобина гемовый ион  $Fe^{2+}$  способен подвергаться обратимому окислению. Легкая обратимость переходов  $Fe^{3+} + e^- \rightleftharpoons Fe^{2+}$  создает возможность переноса электронов от одного цитохрома к другому. Это свойство придает цитохромам важное биологическое значение в процессах переноса электронов по дыхательной цепи (см. главу 10). Цитохромы присутствуют в клетках всех живых организмов. Название «цитохромы» происходит от греч. *kytos* — клетка и *chroma* — цвет и дословно переводится как «клеточная окраска». К настоящему времени выявлено и довольно хорошо изучено большое число цитохромов. По химической природе простетической группы и способу ее присоединения к белкам цитохромы можно разделить на четыре главные группы — цитохромы *a*, *b*, *c* и *d*.

Простетическая группа цитохрома *b* представляет собой гем — протопорфирин железа(II). Цитохром *a* содержит так называемый гем *a*, отли-

чающийся от гема гемоглобина и миоглобина наличием формильной группы при С-18 вместо метильной группы и модификацией винильной группы при С-3 путем присоединения к ней  $C_{15}$ -фарнезилизопреноидной цепи. Ниже показана структура гема *a* и простетической группы цитохрома *d*:



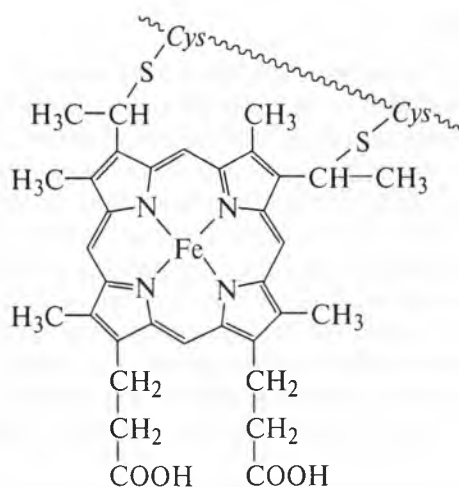
Гем *a*



Простетическая группа  
цитохрома *d*

Название «цитохром *d*» применяется к цитохромам с дигидропорфириновой (хлориновой) простетической группой, содержащей ион  $Fe^{2+}$ ; боковые заместители у молекулы хлорина могут варьироваться.

В группу цитохрома *s* входят все цитохромы, у которых боковые цепи гема присоединены к полипептидной цепи белка за счет ковалентных связей:



Связь гема с белковой частью в цитохроме *s*

Индивидуальные цитохромы отдельных групп обозначают нижними индексами, например цитохром  $b_6$ , или в их название входит максимальная длина волны в электронном спектре поглощения, например цитохром  $b-550$ .

Цитохромы жизненно необходимы для нормального функционирования дыхательных цепей клеток, но они не выполняют функцию пигментов, отвечающих за окраску организмов.

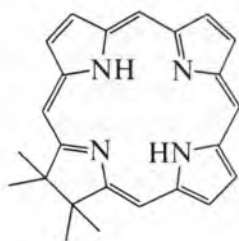
#### 5.3.4. ПЕРОКСИДАЗА, КАТАЛАЗА

Гем в качестве простетической группы необходим также для проявления каталитической активности некоторых других ферментов. К числу таких гемсодержащих ферментов относятся *пероксидаза* и *каталаза*, выделенные из различных растительных и животных организмов. Например, пероксидаза хрена с молекулярной массой 44 000 содержит один гем и катализирует окисление фенолов пероксидом водорода. Каталаза, выделенная из печени быка, имеет молекулярную массу 248 000 и содержит четыре гема. Этот фермент катализирует разложение пероксида водорода до воды с чрезвычайно высокой скоростью.

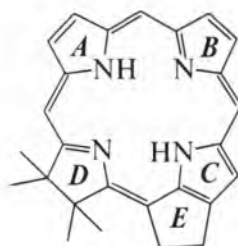
#### 5.4. ХЛОРОФИЛЛЫ

В отличие от гемсодержащих белков животных в растениях содержатся магний(II)порфириновые комплексы, придающие листьям зеленую окраску и участвующие в процессах фотосинтеза. Название «хлорофилл» происходит от греч. *chloros* — зеленый и *phyllon* — лист.

Все зеленые ткани высших растений содержат в своих фотосинтетических органеллах — хлоропластах — два вида хлорофилла: *a* и *b*. Простейшим предшественником этих соединений служит *форбин* — производное *хлорина*, в молекуле которого в отличие от порфина имеется добавочное кольцо *E*:



Хлорин  
(дигидропорфин)

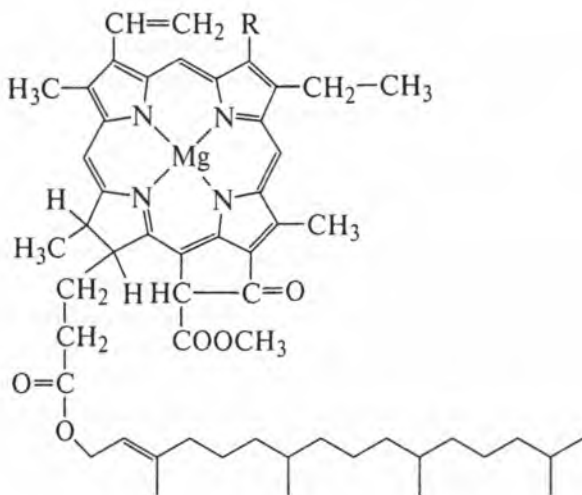


Форбин

Молекулы хлорофиллов *a* и *b* различаются лишь заместителем R при C-7. В хлорофилле *a* — это метильная группа, а в хлорофилле *b* — формильная группа. Другими важными особенностями химической структуры хлорофилла являются наличие в качестве атома металла — комплек-



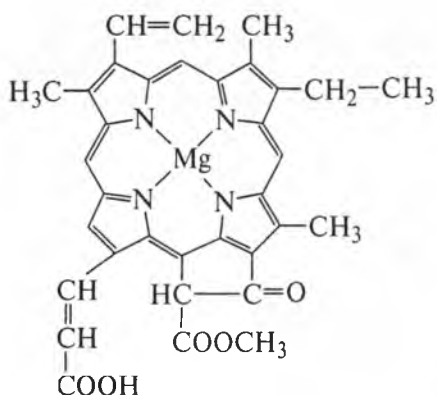
сообразователя  $Mg(II)$  и этерификация С-17-пропионатного заместителя изопреноидным спиртом *фитолом*:



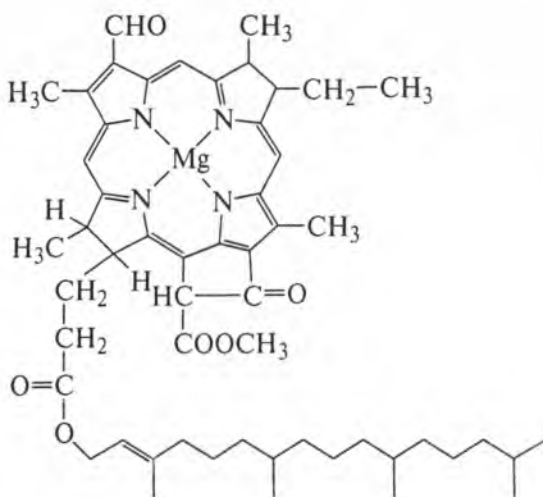
*Хлорофилл а*:  $R = -CH_3$

*Хлорофилл b*:  $R = -CHO$

Хлорофилл *а* присутствует во всех водорослях. Кроме хлорофилла *а* водоросли некоторых классов содержат также другие хлорофиллы, незначительно отличающиеся по природе периферийных заместителей, например хлорофиллы *с* и *d*:

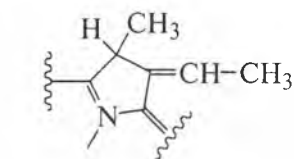


*Хлорофилл с*



*Хлорофилл d*

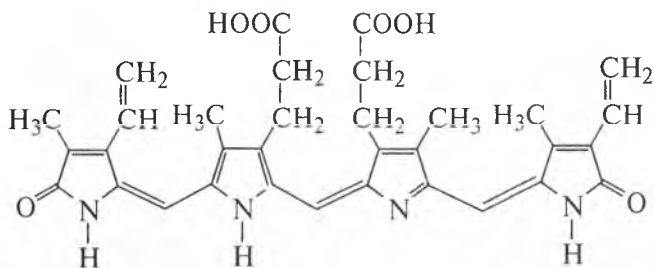
Фотосинтезирующие бактерии содержат *бактериохлорофиллы*, например тетрагидропорфины — *бактериохлорофилл а* и *бактериохлорофилл b*.

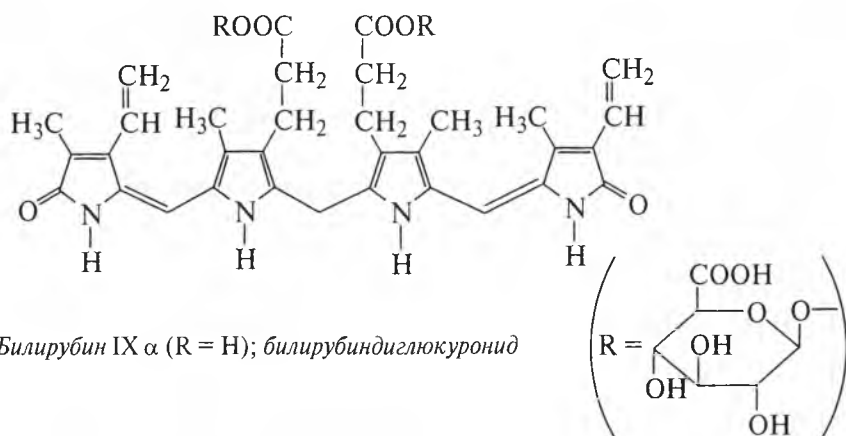
CC(=C)CC(C)C(C)=CC(C)C(C)=CCO

Фарнезол

CC(C)=CCCCC(C)=CCCCC(C)=CCCCC(C)=CCO

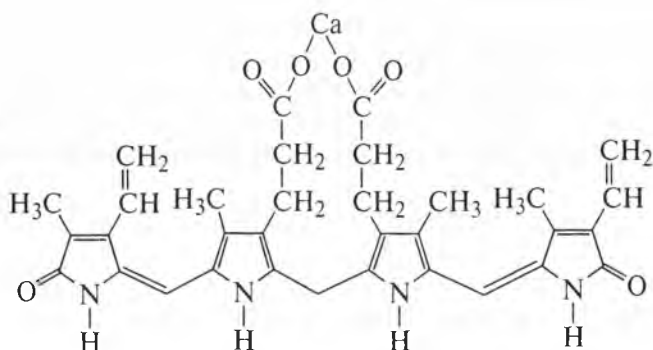
Геранилгераниол





Желчные пигменты являются продуктами окислительного расщепления гема крови, причем первичным продуктом катаболизма гема (см. главу 12) является биливердин, который специальным ферментом быстро восстанавливается до билирубина. Оба соединения нерастворимы в воде и в комплексе с белками попадают в печень, где в процессе конъюгации переводятся в водорастворимую форму путем реакции с *глюкуроновой кислотой* (см. главу 6). Водорастворимые глюкорониды выводятся из организма. Если этот процесс нарушается, происходит увеличение концентрации билирубина в крови, кожные покровы тела окрашиваются в желтый цвет и развивается заболевание, именуемое *желтухой*. Чаще всего причинами возникновения желтухи являются нарушение функций печени и потеря способности конъюгировать желчный пигмент (подробнее см. главу 12).

Как кислоты желчные пигменты образуют с большинством ионов нещелочных металлов нерастворимые в воде соли, причем кальциевая соль билирубина (билирубинат кальция) наряду с холестерином является компонентом желчных камней:

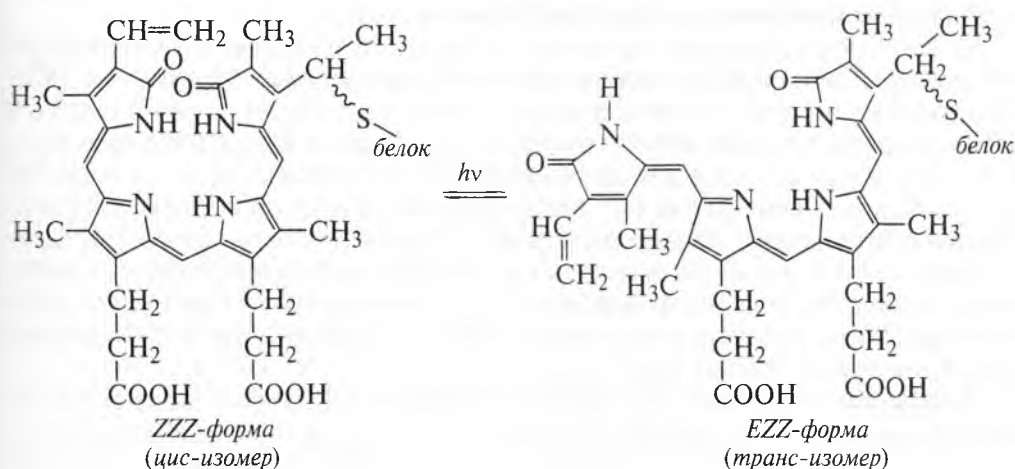


Билирубинат кальция

Обзор известных биохимических и медицинских исследований свидетельствует о значительном прогрессе в понимании биохимических функций желчных пигментов, достигнутом за последние 10—15 лет. В част-

ности, представления о билирубине как о балластном продукте метаболизма и токсическом агенте дополнились новыми сведениями, что позволило считать нормальные физиологические концентрации данного пигмента в тканях и органах организмов жизненно необходимыми. В частности, антиоксидантная функция билирубина продемонстрирована при самых различных патологиях — ишемии-реперфузии, атеросклерозе, геморрагическом инсульте, анафилактических реакциях, химическом мутагенезе. Доказано, что единственная молекула билирубина способна обезвреживать до десяти тысяч молекул пероксида водорода, постоянно образующегося в организме в результате пероксидного окисления липидов клеточных мембран. Это открытие может лечь в основу новых методов лечения кардиологических, онкологических и нейродегенеративных заболеваний.

Важную роль линейные тетрапирролы играют в растениях, где образуют комплексы с белками, называемые *фитохромами*. В составе фитохрома тетрапиррол может находиться в двух взаимопревращающихся конформациях, которым соответствуют формы фитохрома  $P_r$  и  $P_{fr}$ . В первой тетрапиррол имеет стереохимию ZZZ-формы, в которой все межпиррольные связи представлены Z-изомерами. При освещении видимым светом одна из связей переходит в *транс*-положение (EZZ-форма). Данный переход сопровождается изменением конформации связанного с тетрапирролом белка, что, в свою очередь, инициирует в растении ряд светозависимых процессов: синтез хлорофилла, образование и развитие листьев и т. д. (совокупность этих явлений называется *фотоморфогенезом*):



У представителей низших форм жизни, не способных к фотосинтезу (некоторые бактерии, беспозвоночные), линейные тетрапирролы встречаются редко и обычно выполняют роль пигментов (голубые, красные и другие красители).

## 5.6. ПОЛУЧЕНИЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОРФИРИНОВ

Расширяющееся применение порфиринов и их производных в различных областях науки и техники, в том числе для фотодинамической терапии рака и развития методов иммуно-флуоресцентного анализа, обусловило необходимость разработки эффективных способов их получения.

**Получение порфиринов.** В настоящее время существует ряд технологий, позволяющих получать тетрапиррольные пигменты как экстракцией из животных и растительных тканей, так и направленным микробиологическим синтезом с применением мутантных и генноинженерных штаммов бактерий и одноклеточных водорослей. Такие способы получения выгодно отличаются от препаративного органического синтеза порфиринов, поскольку гарантируют чистоту образующихся продуктов от вредных примесей.

Растительное сырье (обычно листья шпината и крапивы) применяют для получения хлорофиллов *a* и *b*. Биомасса некоторых одноклеточных зеленых водорослей и фотосинтезирующих бактерий служит источником выделения хлорофилла *a* и бактериохлорофилла *a*. Бактерии, низшие грибы и дрожжи используются для выделения гемсодержащих ферментов — каталазы, цитохромов *c* и *b*. Гем, как правило, получают из крови крупного рогатого скота.

Все большее применение находят методы получения порфиринов путем направленного микробиологического синтеза с использованием видов и штаммов организмов, секретирующих в культуральную среду различные промежуточные соединения биосинтеза функциональных тетрапирролов (протопорфирина, коррина, билинов и др.).

Успехи молекулярной биологии и генетики открывают совершенно новые возможности для получения тетрапиррольных соединений. Использование операции клонирования соответствующих генов позволяет резко увеличить количество ферментов, участвующих в метаболизме порфиринов, и уже сегодня значительно повышает эффективность искусственного синтеза витамина  $B_{12}$ , гема и других природных тетрапирролов. Синтез проводится в контролируемых условиях путем смешения различных ферментов, необходимых для получения целевого продукта. Такого рода технологии активно разрабатываются и осваиваются учеными многих стран мира и позволяют получать кроме порфиринов многие другие биологически активные вещества.

**Порфирины в фотодинамической терапии рака.** В настоящее время порфирины вызывают большой интерес как весьма перспективные средства в терапии злокачественных новообразований. В течение последних десятилетий сформировался соответствующий клинический подход, именуемый *фотодинамической терапией* (ФДТ). Метод ФДТ раковых опухолей появился в конце 1970-х годов. В его основе заложено свойство раковой клетки концентрировать некоторые красители — *фотосенсибилизаторы* (ФС), которые при кратковременном облучении низкоэнергетическим лазером (на длине волны, соответствующей одному из максимумов по-

глощения ФС, как правило длинноволновому) переходят в возбужденное состояние, что индуцирует процессы образования синглетного кислорода. В результате взаимодействия синглетного кислорода с клеточными субстратами (например, холестерином, ненасыщенными липидами, гетероароматическими аминокислотами) из них образуются свободные радикалы. Их последующее окисление кислородом через образование пероксидных радикалов, гидропероксидов приводит к гибели раковой клетки без затрагивания здоровых клеток организма.

Одной из актуальных задач оптимального проведения фотодинамической терапии является поиск ФС, способных обеспечить эффективное практическое использование данного метода. По мере накопления экспериментального и клинического материала были сформулированы основные требования к оптимальному ФС, включающие биологические (токсические и фармакокинетические), фотофизические и химико-технологические критерии. Прежде всего это:

- 1) низкая темновая и световая токсичность в терапевтических дозах;
- 2) высокая селективность накопления в тканях злокачественных новообразований и быстрое выведение фотосенсибилизатора из кожи и эпителиальной ткани;
- 3) сильное поглощение в спектральном диапазоне, где биологические ткани имеют наибольшее пропускание (красный и ближний ИК-диапазоны);
- 4) оптимальное соотношение между величинами квантового выхода флуоресценции и квантового выхода интерконверсии, последний из которых определяет способность ФС к генерации синглетного кислорода (в то же время способность ФС флуоресцировать обуславливает его диагностические возможности и облегчает контроль накопления и выведения его из тканей);
- 5) высокий квантовый выход синглетного кислорода в условиях облучения;
- 6) доступность получения или синтеза ФС, однородный химический состав;
- 7) хорошая растворимость в воде, липидах или разрешенных для внутривенного введения жидкостях и кровезаменителях;
- 8) стабильность при световом воздействии и хранении.

Порфирины более всех других фотосенсибилизаторов удовлетворяют перечисленным требованиям. К первому поколению подобных ФС, с помощью которых были успешно вылечены многие тысячи больных, относятся гематопорфирины. ФС второго поколения являются синтетические порфирины: бензопорфирины, фталоцианины, нафтоцианины, которые имеют максимум поглощения при  $\lambda = 630 \div 800$  нм.

В клинической практике уже успешно себя зарекомендовали такие препараты на основе порфиринов, как «Фотогем» и «Радахлорин».

## Контрольные вопросы и задания

1. Изложите хронологию основных этапов исследования порфиринов.
2. Каковы основные функции, выполняемые порфиринами в живой природе?
3. В чем заключаются особенности химического строения и физико-химических свойств порфиринов и их металлокомплексов?

4. Проанализируйте особенности структурно-пространственной организации кислородпереносящих белков — миоглобина и гемоглобина.

5. Что такое аксиальная координация на металлопорфинах; в чем состоит ее биологический смысл?

6. В чем заключаются эффекты белковой защиты и кооперативного связывания кислорода гемоглобином?

7. Объясните особенности связывания CO, CO<sub>2</sub>, CN<sup>-</sup> и других молекул и ионов гемсодержащими белками.

8. Назовите причины возникновения аномальных форм гемоглобинов и анемии.

9. Расскажите о различиях в строении и функциях хлорокруорина, гемоцианина, гемоэритрина, гемованадина, цитохромов и хлорофиллов.

10. В чем заключается роль природных линейных тетрапиррольных пигментов в растительном и животном мире?

11. Перечислите основные способы получения и направления практического использования порфиринов.

12. Какие физико-химические свойства порфиринов лежат в основе их применения в фотодинамической терапии раковых опухолей?

## Глава 6

### Углеводы

#### 6.1. СТРОЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ

**Углеводы**, или **сахара**, — это вещества, состав которых можно выразить общей формулой  $C_x(H_2O)_y$ , где параметры  $x$  и  $y$  больше или равны трем. Однако существуют углеводы, качественный и количественный состав которых не отвечает приведенной формуле. Согласно этой формуле вещества данного класса формально можно рассматривать как соединения углерода с водой. Отсюда и сложившееся исторически название этих соединений — *углеводы*. В действительности сложное строение молекул углеводов не отражается данной брутто-формулой. Молекулы углеводов содержат одновременно гидроксильные, альдегидные или кетогруппы, поэтому углеводы можно рассматривать как гидроксикальдегиды или гидроксикетоны и их производные.

Углеводы широко распространены в живых организмах. В биосфере углеводов больше, чем всех других вместе взятых природных органических соединений. В растительном мире на их долю приходится 80 — 90 % (мас.) в расчете на сухое вещество, в животном — около 2 % (мас.). В растениях углеводы образуются в результате фотосинтеза, который протекает за счет использования солнечной энергии с участием зеленого пигмента растений — хлорофилла (см. главы 5 и 13). Углеводы, образующиеся в растениях, переходят в организмы животных с растительной пищей. Массовая доля углеводов в пище человека может достигать 70 %. В процессе пищеварения углеводы подвергаются разложению с участием специфических ферментов; конечными продуктами данного процесса являются диоксид углерода и вода (см. главу 13).

Большая распространенность углеводов в живой природе объясняется их важными биологическими функциями: *энергетической, пластической, защитной, опорной* и др.

**Энергетическая функция** углеводов как незаменимых факторов питания заключается в том, что углеводы являются главным источником, который снабжает организм человека энергией для совершения внутренней и внешней работы. Примерно 50 — 60 % всей потребности организма в энергии удовлетворяется за счет углеводов: 1 г усвояемых организмом человека углеводов в результате биологического окисления дает ~16,9 кДж энергии. Ведущая роль в энергетическом обмене организма принадлежит *глюкозе*.



**Пластическая функция** углеводов связана с тем, что они активно используются в синтезе многих важных для организма веществ: нуклеиновых кислот, некоторых органических кислот, а из них — аминокислот и далее белков, липидов и других биологически значимых соединений.

**Защитная функция** углеводов проявляется в том, что они являются основными компонентами оболочек растительных клеток, участвуют в построении наружного скелета (внешней оболочки) насекомых и ракообразных, в образовании клеточных стенок бактерий и клеточных мембран всех живых организмов (в виде сложных молекулярных комплексов с белками).

**Опорная функция** заключается в том, что *целлюлоза* и другие полисахариды оболочек растительных клеток образуют прочный остов растений, тем самым защищая их от внешних воздействий. В комплексе с белками углеводы входят в состав хрящевых тканей и других соединительных тканевых образований, выполняющих опорные функции у человека и животных.

Кроме того, углеводы принимают активное участие во многих процессах жизнедеятельности. Углеводсодержащие соединения служат маркерами для узнавания молекулами и клетками друг друга, обеспечивая антигенную специфичность внутренних сред организма (см. главу 18). Целлюлоза, не перевариваясь в желудочно-кишечном тракте животных, вызывает механическое раздражение кишечника и в результате способствует его перистальтике, улучшая тем самым пищеварение. Углеводы — источники энергии, необходимой для нормальной работы нервной системы. Например, ткань головного мозга в качестве энергетического материала использует преимущественно глюкозу (в количественном соотношении примерно в 2 раза больше, чем мышечная ткань, и в 3 раза больше, чем почки). От углеводов в определенной степени зависит нормальная деятельность поджелудочной железы и надпочечников. Некоторые углеводсодержащие биополимеры являются рецепторами для связывания различных токсинов, бактериальных клеток, вирусов, гормонов. Углеводы выполняют также функцию запасных питательных веществ: они способны откладываться в организме в виде полисахаридов — *гликогена* (у чело-



Рис. 6.1. Классификация углеводов

века и животных), *крахмала* и *фруктозанов* (у растений), которые расходятся организмом по мере необходимости. Некоторые *гетерополисахариды*, такие, как *гепарин* и *гепарансульфат*, выполняют кофакторные функции.

В соответствии с химическим строением углеводы подразделяют на моно-, ди- и полисахариды (рис. 6.1). Рассмотрим особенности химического строения и физико-химических свойств биологически важных представителей углеводов.

## 6.2. МОНОСАХАРИДЫ

**Химическое строение.** *Моносахариды*, или *монозы*, — это органические гетерофункциональные соединения, содержащие одновременно несколько гидроксильных и карбонильную группы. По числу атомов углерода в молекулах моносахариды подразделяются на *триозы* ( $C_3$ ), *тетрозы* ( $C_4$ ), *пентозы* ( $C_5$ ), *гексозы* ( $C_6$ ), *гептозы* ( $C_7$ ) и т. д. В большинстве случаев при обозначении различных представителей моносахаридов используют их тривиальные названия (*глюкоза*, *фруктоза*, *галактоза*), состоящие из двух частей: корень указывает на определенное свойство сахара или его происхождение, а окончание «-оза» — на его принадлежность к классу углеводов.

Большое число функциональных групп обуславливает у молекул моносахаридов несколько видов изомерии (структурная, пространственная и оптическая) и таутомерии.

**Таутомерия.** Под *таутомерией* понимается явление одновременного существования нескольких форм одного соединения, находящихся в равновесии. Таутомерные формы вещества — *таутомеры* — не могут быть выделены в индивидуальном виде из таутомерных смесей.

**Структурная изомерия** моносахаридов проявляется в том, что их карбонильная группа может присутствовать в виде альдегидной или кетогруппы, а также участвовать в образовании циклических таутомеров.

Таутомеры моносахаридов являются или *полигидроксиальдегидами* (*альдозами*), или *полигидроксикетонами* (*кетозами*).

За счет ОН-групп у атомов углерода С-4 или С-5 в случае альдоз и С-5 или С-6 в случае кетоз моносахариды легко вступают в обратимую внутримолекулярную реакцию присоединения по карбонильной группе с образованием термодинамически более устойчивых циклических таутомеров: *полуацеталей* или *полукеталей*. Пятичленные циклические таутомеры называются *фуранозами*, а шестичленные — *пиранозами* по аналогии с известными гетероциклическими соединениями фураном и пираном:

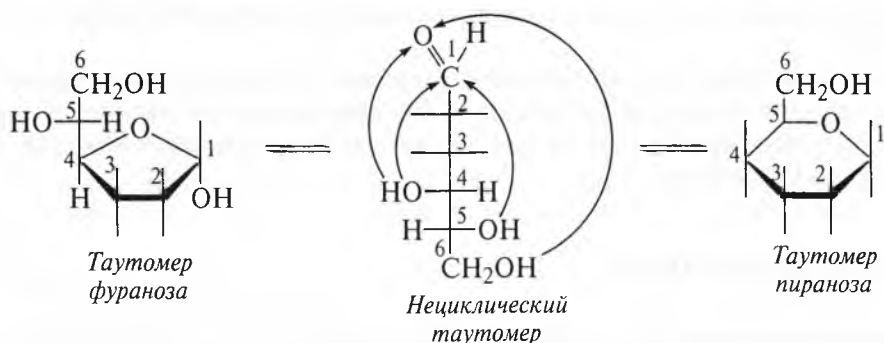


Фуран



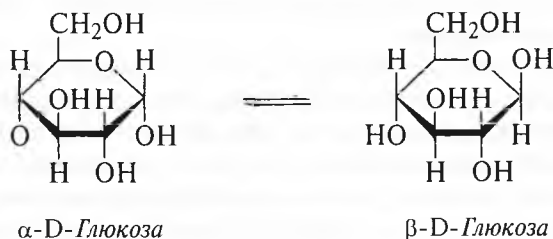
Пиран

Для изображения циклических таутомеров используют следующие графические формулы:



Для моносахаридов ряда пентоз обычно характерен фуранозный цикл, а для гексоз — пиранозный. Из данных рентгеноструктурного анализа сделан вывод о том, что пиранозы преимущественно существуют в виде конформации «кресло», а фуранозы — в виде конформации «конверт», как это показано на рис. 6.2.

В зависимости от расположения ОН-группы у полуацетального атома углерода в циклической молекуле, различают два циклических таутомера, способные переходить друг в друга, —  $\alpha$ - и  $\beta$ -таутомеры (аномеры). Особенности строения данных таутомеров для глюкозы можно представить следующим образом:



У  $\alpha$ -аномера полуацетальный гидроксил и гидроксил последнего хирального атома углерода расположены по одну сторону от углеродного цикла, а у  $\beta$ -аномера — по разные стороны.

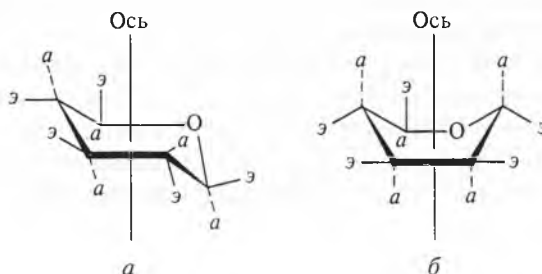
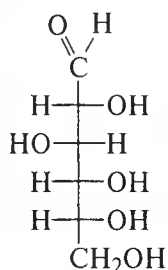


Рис. 6.2. Конформации гексоз:

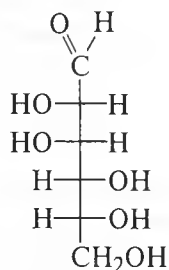
а — «кресло»; б — «конверт».

Обозначение связей: а — аксиальная, э — экваториальная

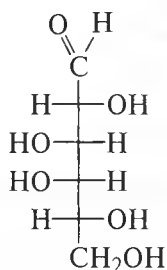
**Пространственная изомерия.** Различное взаимное расположение в пространстве гидроксильных групп и атомов водорода обуславливает существование у моносахаридов пространственных изомеров, называемых *диастереоизомерами*. Например, у гексоз общей формулы  $C_6H_{12}O_6$  среди альдоз возможно существование 8 диастереоизомеров — *глюкоза, манноза, галактоза, аллоза, альтроза, гулоза, идоза, талоза*, а среди кетоз — 4 диастереоизомеров, в том числе *фруктозы* и др. В живых организмах альдогексозы в основном представлены диастереоизомерами *глюкозой, маннозой, галактозой*, а кетогексозы — *фруктозой*.



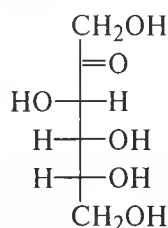
*Глюкоза*



*Манноза*

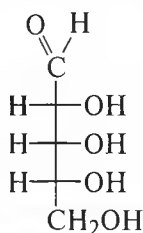


*Галактоза*

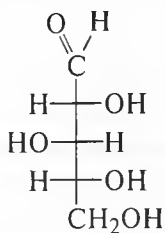


*Фруктоза*

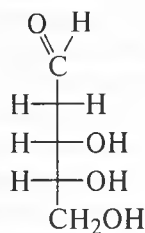
Среди альдопентоз наибольшее биологическое значение имеют диастереоизомеры — *рибоза, ксилоза* и *2-дезоксирибоза* (последняя является производной рибозы, у которой отсутствует  $\text{OH}$ -группа при 2-м атоме углерода):



*Рибоза*

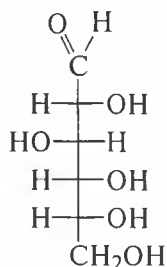


*Ксилоза*

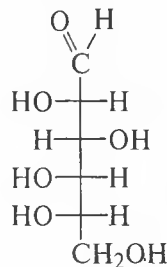


*2-Дезоксирибоза*

**Оптическая изомерия.** Каждый диастереоизомер может существовать в виде двух оптических изомеров, называемых *D*- и *L*-*энантиомерами*. Например, оптические изомеры глюкозы характеризуются следующими особенностями молекулярной структуры:



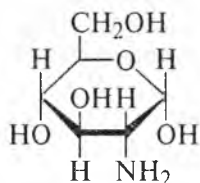
*D-Глюкоза*



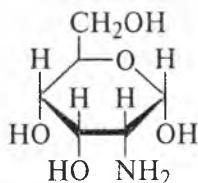
*L-Глюкоза*

В отличие от природных аминокислот, существующих в L-конфигурации, природные углеводы обычно находятся в форме D-энантиомеров.

**Производные моносахаридов.** Моносахариды, молекулы которых вместо одной или нескольких гидроксильных групп содержат аминогруппы, называют *аминосахарами*. Среди них наиболее распространенными в живой природе являются *2-аминоглюкоза* и *2-аминогалактоза*:



2-Аминоглюкоза



2-Аминогалактоза

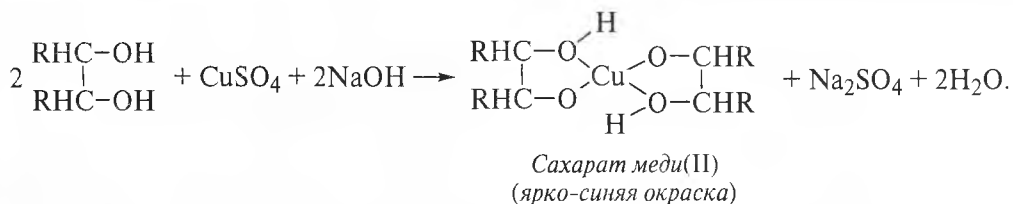
Они встречаются в организмах животных и в растениях в виде N-ацетилпроизводных, являющихся структурными компонентами гетерополисахаридов — *хитина*, *гепарина*, *гиалуроновой кислоты* и др.

Кроме того, в природе распространены разнообразные *гликозиды*, которые образуются по типу простых эфиров при взаимодействии полуацетального или полукетального (гликозидного) гидроксила с гидроксильной группой другого соединения — *агликона*, в качестве которого, как правило, выступают спирты. Многие гликозиды обладают своеобразным вкусом, ароматом, находят применение в пищевой промышленности, а также в медицине (*сердечные гликозиды*).

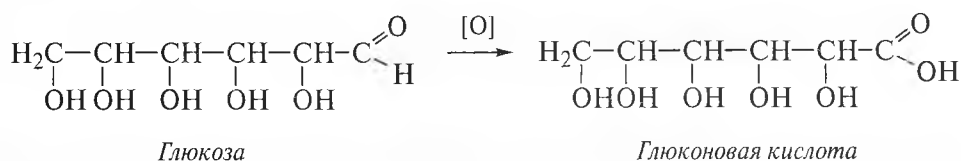
**Физико-химические свойства.** Моносахариды — это легкорастворимые в воде твердые кристаллические бесцветные вещества. Как правило, моносахариды имеют сладкий вкус. Причем если сладкий вкус сахарозы принять за 100 %, то соответствующая относительная величина для фруктозы составит 173 %, для глюкозы — 74, ксилозы — 40 и лактозы — 16 %. Водные растворы моносахаридов характеризуются нейтральным значением pH. Для моносахаридов характерны *кисотно-основные*, *хелатирующие*, *электрофильно-нуклеофильные*, *окислительно-восстановительные* и другие свойства.

**Кисотно-основные свойства** самих моносахаридов выражены довольно слабо в отличие от их производных — сложных эфиров фосфорной или серной кислот. Так, монофосфаты любых моносахаридов за счет диссоциации гидроксильных групп фосфатного остатка проявляют свойства двухосновных кислот с  $pK_a^I = 0,6 \div 1,6$  и  $pK_a^{II} = 5,5 \div 6,5$ . Поэтому в любых биологических средах они полностью ионизированы по первой ступени, а при pH 7,4 — в значительной степени и по второй. Моносульфаты моносахаридов общей формулы  $R-OSO_3H$  проявляют еще более сильные кислотные свойства ( $pK_a < 0,4$ ), поэтому в биологических средах при pH около 7,4 их сульфогруппа всегда ионизирована полностью. Анионы фосфатов и сульфатов моносахаридов сосредоточены в основном во внутриклеточных жидкостях и в отличие от самих моносахаридов не способны проходить через клеточные мембраны, что имеет важное значение при протекании биохимических реакций.

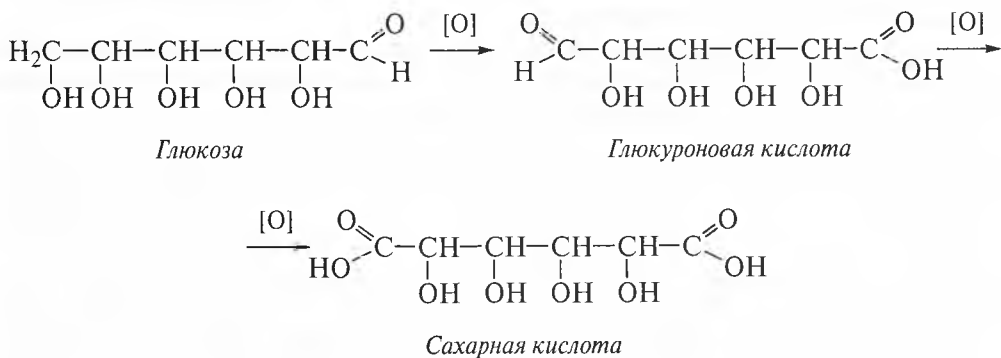
Хелатирующие свойства характерны как для самих моносахаридов, так и для их производных, причем склонность к комплексообразованию у фосфатов и сульфатов моносахаридов резко возрастает по сравнению с самими моносахаридами. При этом из-за невысокой поляризуемости фосфатных и сульфатных групп они могут образовывать малоустойчивые комплексы с катионами  $K^+$  и  $Na^+$  и более устойчивые комплексы с катионами  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ . За счет комплексообразования моносахариды могут участвовать в поддержании металло-лигандного баланса в организме. Типичный комплекс моносахарида с двухзарядным катионом металла выглядит следующим образом:



В мягких условиях в нейтральной или слабокислой среде окисление моносахаридов приводит к образованию соответствующих гидроксикислот:



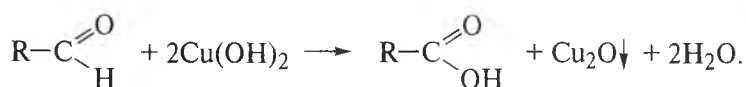
В жестких условиях (например, при окислении азотной кислотой) вместе с альдегидной группой окисляется и гидроксильная, находящаяся в конце цепи; при этом сначала гидроксильная группа окисляется до альдегидной и образуется *глюкуроновая кислота*, а при дальнейшем окислении — *сахарная*:



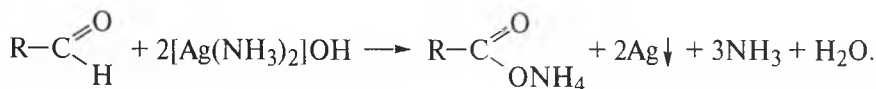
Глюкуроновая кислота используется организмом для химической модификации токсичных ароматических или алициклических соединений

путем *конъюгации*; в результате образуются растворимые в воде и поэтому малотоксичные соединения, которые легко выводятся из организма.

Все альдозы (а также дисахариды, имеющие свободную альдегидную группу) способны, окисляясь в щелочной среде, восстанавливать ионы  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Bi}^{3+}$  и др. Это свойство положено в основу качественных методов обнаружения моносахаридов в биологических объектах (*реакции Троммера, Фелинга, Толленса, Ниляндера, Гайнеса, Бенедикта* и др.). Например, для осуществления реакции Троммера к исследуемому раствору приливают щелочь  $\text{NaOH}$  и раствор  $\text{CuSO}_4$  до появления голубого осадка  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ . Затем реакционную смесь нагревают до кипения, в результате чего выпадает красный осадок оксида меди(I):



Реакция Толленса проводится со свежеприготовленным аммиачным комплексом серебра(I): к нему приливают испытываемый раствор и наблюдают появление «серебряного зеркала» — осадка металлического серебра на стенках пробирки:



Все характерные свойства моносахаридов, предназначенные живой природой для осуществления ими различных биологических функций, хорошо видны из реакций, протекающих при обмене моносахаридов в живой клетке (см. главу 13).

**Отдельные представители.** Из *триоз* ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ ) наиболее распространены *глицеральдегид* и *дигидроксиацетон*. Эфиры триоз с фосфорной кислотой образуются в организме животных, растений и бактерий как промежуточные продукты в сложных процессах взаимопревращений моносахаридов (гликолиз, фотосинтез и др.).

Из *тетроз* ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_4$ ) известна *D-эритроза*, образующаяся в качестве промежуточного продукта при фотосинтезе и в пентозофосфатном цикле окисления углеводов в виде эфира фосфорной кислоты.

Представители *пентоз* ( $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$ ) в свободном виде встречаются очень редко, чаще всего они входят в состав более сложных углеводов, нуклеиновых кислот и других органических соединений. Например, *L-арабиноза* входит в состав гемицеллюлоз, пектиновых веществ, полисахаридов бактерий, растительных гликозидов. *D-Ксилоза* («древесный сахар») обнаруживается у растений в свободной форме, в составе гемицеллюлоз, в отрубях, древесине, кукурузных кочерыжках, откуда ее получают для кондитерской промышленности и используют при изготовлении ксилита (заменитель сахара для больных диабетом). *D-Рибоза* и *D-дезоксирибоза* содержатся в нуклеиновых кислотах и в свободных нуклеотидах (см. главу 8),

а продукт их восстановления — спирт *рибитол* является составной частью некоторых витаминов.

Многие представители группы *гексоз* ( $C_6H_{12}O_6$ ) находятся в природе в свободном виде и играют важную роль в жизни всех организмов.

**D-Глюкоза** («крахмальный сахар», «виноградный сахар» или «кукурузный сахар») в свободном виде присутствует в зеленых частях растений, ягодах, фруктах, меде, в крови человека и животных (от 0,07 до 0,11 %). Как наиболее распространенный углевод животных глюкоза играет роль связующего звена между пластическими и энергетическими функциями углеводов, так как используется в организмах для синтеза всех других моносахаридов и наоборот — для превращения разных моносахаридов в глюкозу. Кроме того, глюкоза может синтезироваться в организме из аминокислот, а также из глицерина, входящего в состав триацилглицеринов. Глюкоза входит в состав большого числа полисахаридов, гликозидов. Она находит широкое применение в пищевой и текстильной (как восстановитель при крашении и печатании) промышленности, а также в медицине.

**D-Фруктоза** («плодовый сахар») содержится в свободном виде в плодах, зеленых частях растений, нектаре цветов, меде. Применение фруктозы в составе низкокалорийных продуктов питания обусловлено двумя ее свойствами: она на 73 % слаще сахарозы и лучше растворяется в воде, чем глюкоза и сахароза.

**D-Галактоза** входит в состав дисахаридов (*лактоза*), трисахаридов (*рафиноза*) и полисахаридов как растительного, так и животного происхождения.

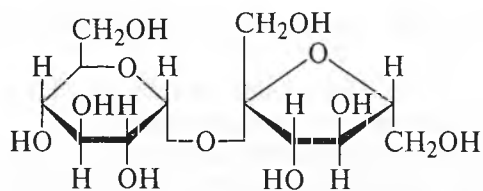
### 6.3. ОЛИГОСАХАРИДЫ

**Химическое строение.** Природные олигосахариды построены из двух или более (до десяти) одинаковых или разных моносахаридных остатков, соединенных *гликозидной связью*.

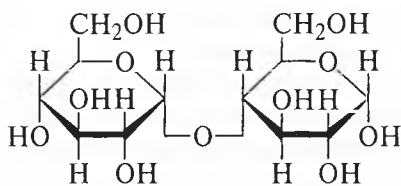
Существует несколько принципов построения номенклатуры олигосахаридов. По одному из них названия звеньев в цепи олигосахаридов записываются подряд, между ними ставят стрелку и цифрами отмечают атомы углерода соседних моносахаридных остатков, соединенные гликозидной связью. При этом окончание «-оза» в названиях моносахаридов заменяют на «-ил», если они не содержат свободного полуацетального гидроксила. Если такой гидроксил сохраняется, то остается окончание «-оза».

Из олигосахаридов наиболее широко распространены в природе *дисахариды*, молекулы которых могут быть построены из двух гексоз, двух пентоз или гексозы и пентозы. Простейшими природными дисахаридами являются: обычный «свекловичный сахар» или «тростниковый сахар» — *сахароза*; «солодовый сахар» — *мальтоза* и изомерная ее форма — *изомальтоза*; «молочный сахар» — *лактоза*; продукт неполного гидролиза целлюлозы — *целлобиоза*:

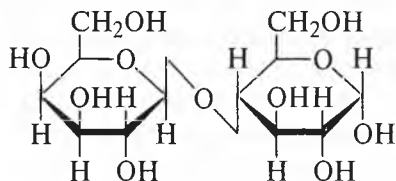




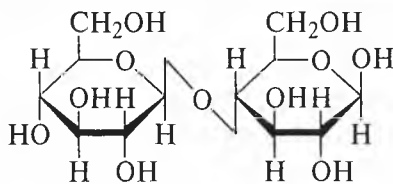
*Сахароза*



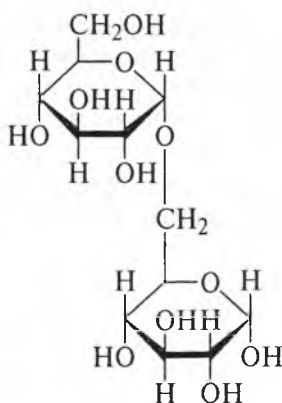
*Мальтоза*



*Лактоза*



*Целлобиоза*



*Изомальтоза*

Всем этим дисахаридам можно приписать общую брутто-формулу  $C_{12}H_{22}O_{11}$ .

**Сахароза** [ $\alpha$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-фруктофураноза] состоит из остатков D-глюкозы (таутомер  $\alpha$ -пираноза) и D-фруктозы (таутомер  $\beta$ -фураноза), связанных  $\alpha$ -1,2-гликозидной связью за счет полуацетальных гидроксильных групп этих моносахаридов.

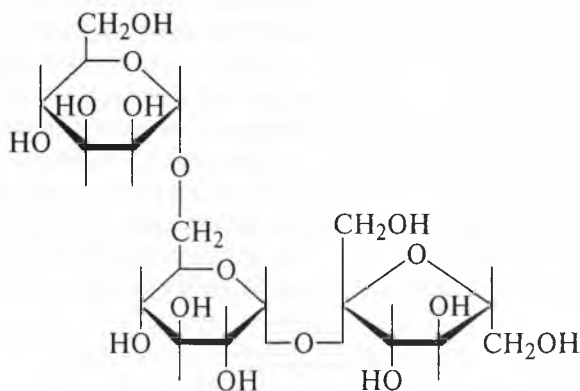
**Мальтоза** [ $\alpha$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-глюкопираноза] построена из двух остатков глюкозы, один из которых в виде пиранозного таутомера за счет  $\alpha$ -гликозидного гидроксильной группы связан с гидроксильной группой у C-4 второго остатка глюкозы. Следовательно, в мальтозе остатки двух молекул D-глюкозы связаны  $\alpha$ -1,4-гликозидной связью.

**Изомальтоза** [ $\alpha$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-глюкопираноза] отличается от мальтозы тем, что  $\alpha$ -гликозидный гидроксильной группы связан с гидроксильной группой у C-6 второго остатка глюкозы  $\alpha$ -1,6-гликозидной связью.

В **лактозе** [ $\beta$ -D-галактопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-глюкопираноза]  $\beta$ -гликозидный гидроксильной группы остатка D-галактозы связан с гидроксильной группой у C-4 остатка D-глюкозы  $\beta$ -1,4-гликозидной связью.

В отличие от мальтозы в *целлобиозе* [ $\beta$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-глюкопираноза], также являющейся димером глюкозы, имеется  $\beta$ -1,4-гликозидная связь.

Из *трисахаридов* можно отметить *рафинозу*, *генцианозу* и *мелецитозу*, которые выполняют функцию резервных и транспортных углеводов растений. *Рафиноза*, содержащаяся в горохе и бобах, имеет молекулярную формулу  $C_{18}H_{32}O_{16}$  [ $\alpha$ -D-галактопиранозил-(1 $\rightarrow$ 6)- $\alpha$ -D-глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-фруктофураноза] и содержит моносахаридные остатки, связанные за счет полуацетальных гидроксильных групп:



Рафиноза

Рафиноза не переваривается в желудочно-кишечном тракте из-за отсутствия соответствующих ферментов. Поэтому она в неизменном виде попадает прямо в толстую кишку, где подвергается расщеплению микроорганизмами (включая бактерии *E. coli*) с образованием больших количеств водорода, диоксида углерода и метана, что вызывает метеоризм.

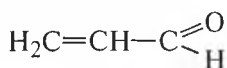
**Физико-химические свойства.** Олигосахариды хорошо растворяются в воде и обладают сладким вкусом. Состав олигосахаридов можно определить по продуктам их кислотного или ферментативного гидролиза, в результате которого образуется смесь моносахаридов.

В зависимости от характера связывания моносахаридных остатков различают две группы олигосахаридов: *восстанавливающие* и *невосстанавливающие*. К восстанавливающим принадлежат дисахариды, в молекулах которых моносахаридные остатки связаны за счет полуацетального гидроксильного остатка одного моносахарида и спиртового гидроксильного остатка (чаще в положениях 4 или 6) другого моносахарида. Благодаря сохранению у второго моносахарида свободного гликозидного гидроксильного остатка такие дисахариды способны к раскрытию цикла с воссозданием открытого таутомера с альдегидной группой, за счет чего они могут быть восстановителями, например участвовать в реакциях мягкого окисления альдегидной группы катионами  $Ag^+$  и  $Cu^{2+}$ .

**Отдельные представители.** Дадим краткую характеристику дисахаридов, наиболее распространенных в живых организмах.

*Сахароза* чрезвычайно широко распространена в растениях (листьях, стеблях, корнях, фруктах, ягодах, клубнях). Она является транспортной

формой углеводов большинства растительных организмов и запасной формой у ряда растений, которые используются в качестве исходного сырья при получении сахарозы (сахарная свекла и сахарный тростник). Сахароза легко подвергается гидролизу в кислой среде, что связано с наличием в ее молекуле фуранозной формы фруктозы. Скорость гидролиза сахарозы примерно в 1000 раз выше, чем скорость гидролиза других природных дисахаридов. По действием специфического фермента — сахаразы — в кишечнике животных сахароза гидролизуется с образованием равных количеств D-глюкозы и D-фруктозы, при этом наблюдается явление *инверсии*, заключающееся в смене направления вращения плоскости поляризации. В данном случае инверсия объясняется тем, что сахароза, имеющая удельное вращение  $[\alpha]_D^{20} = +66,5^\circ$ , распадается на глюкозу ( $[\alpha]_D^{20} = +52,5^\circ$ ) и фруктозу ( $[\alpha]_D^{20} = -92^\circ$ ), что приводит к смене знака оптического вращения на отрицательный. Продукт инверсии сахарозы называется *инвертным сахаром*; он является основной составной частью меда. При нагревании и частичном разложении сахарозы получают окисленные продукты, в том числе легколетучий *акролеин*, едкий запах которого обуславливает аромат жаркого, дыма и т. п., и другие соединения, образующие твердую смесь сложного состава, известную всем под названием *карамель*:



*Акролеин*

*Мальтоза* образуется при гидролизе крахмала под действием специфического фермента —  $\beta$ -амилазы. Содержится в большом количестве в солоде и солодовых экстрактах, откуда и получила свое название «солодовый сахар». Мальтоза под действием фермента мальтазы гидролизуется в кишечнике животных, образуя две молекулы глюкозы. *Изомальтоза* образуется в результате гидролиза крахмала из фрагментов, содержащих остатки глюкозы, соединенные  $\alpha$ -1,6-гликозидной связью.

*Лактоза* содержится в больших количествах в молоке, почему и получила свое тривиальное название «молочный сахар». Так, в коровьем молоке ее содержится 4,0—5,5 %, а в женском — 5,5—8,4 %. Лактоза под действием лактазы подвергается гидролизу с образованием галактозы и глюкозы. Если в организме наблюдается пониженное содержание лактазы (что может быть вызвано генетическими факторами, желудочно-кишечными, инфекционными заболеваниями и др.), то негидролизованная лактоза поступает в нижние отделы тонкого кишечника, где сбрасывается кишечной флорой с образованием газов (*метеоризм*) и кислот; последние вследствие осмотического действия привлекают большое количество воды в кишечник, в результате чего возникает диарея. Особенно опасна временная недостаточность лактазы у грудных детей, поскольку молоко составляет основу их питания.

*Целлобиоза* составляет структурную основу целлюлозы (клетчатки). Целлобиоза лишь частично переваривается в кишечнике человека под действием фермента целлюлазы, синтезируемой кишечной микрофлорой, но легко гидролизуется в желудке травоядных животных благодаря присут-

ствию у них в пищеварительном тракте микроорганизмов, способных гидролизовать  $\beta$ -1,4-гликозидную связь.

## 6.4. ПОЛИСАХАРИДЫ

*Полисахаридами* называются высокомолекулярные углеводы, мономерами которых служат моносахариды и их производные, обычно связанные между собой 1,4- или 1,6-гликозидными связями. Гликозидная природа полисахаридов обуславливает их гидролиз в кислой среде и высокую устойчивость в щелочной. Полный гидролиз приводит к образованию соответствующих моносахаридов. Полисахариды, состоящие из остатков моносахаридов одного вида, называют *гомополисахаридами*. Важнейшие из них — *крахмал, гликоген, целлюлоза и хитин*. Крахмал и гликоген — активные участники физиологических процессов в организмах животных, а крахмал, целлюлоза и хитин являются структурными компонентами растений. Если полисахариды состоят из разных моносахаридов, то их называют *гетерополисахаридами*. К ним относятся *гиалуроновая кислота, хондроитин-сульфаты, гепарин и гепарансульфаты* и другие соединения, выполняющие специфические функции в растительных и животных тканях.

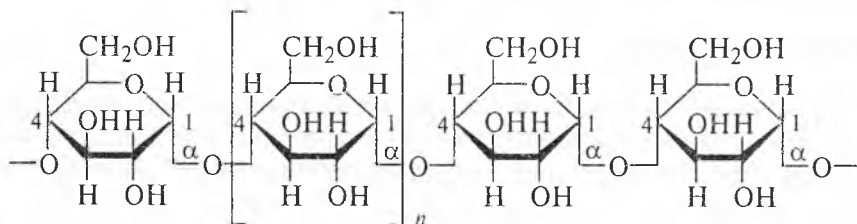
Молекулярная масса полисахаридов колеблется от  $10^4$  до  $10^9$ . Макромолекулы полисахаридов имеют высокий уровень структурной организации, который во многом не выяснен. Полисахариды в отличие от моносахаридов и олигосахаридов не обладают сладким вкусом, в большинстве случаев не образуют видимых кристаллических форм и не растворяются в воде. Полисахариды как многоатомные спирты образуют в щелочной среде с катионами меди комплексы синего цвета. Однако растворы полисахаридов не дают реакции «серебряного зеркала», так как число концевых пиранозных остатков, выступающих в роли восстановителей, невелико в сравнении с размерами самих полимерных молекул.

Рассмотрим особенности строения и функций основных биологически значимых представителей природных полисахаридов.

**Крахмал.** *Крахмал* — гомополисахарид, содержащийся в цитоплазме клеток растений в форме крупных гранул диаметром 10 — 40 нм. Крахмал представляет собой белое аморфное вещество. В результате кислотного или ферментативного гидролиза крахмал распадается до молекул его мономера — D-глюкозы. Крахмал нерастворим в холодной воде и частично растворяется в горячей. Это объясняется тем, что крахмал представляет собой смесь двух полисахаридов: *амилозы* (10 — 20 %) и *амилопектина* (80 — 90 %). Амилоза хорошо растворима в теплой воде и не образует крахмального клейстера. Амилопектин с трудом растворяется в горячей воде, при этом получается вязкий раствор (крахмальный клейстер), который при охлаждении застывает в гелеобразную массу. Молекулярные массы амилозы и амилопектина различны:  $(1,5 \div 5) \cdot 10^5$  и  $10^6 - 10^9$  соответственно. При этом цепь амилозы включает от 1 до 3 тыс. D-глюкозных остатков, а у амилопектина — от 6 тыс. до 6 млн.

Различия в свойствах амилозы и амилопектина обусловлены особенностями их молекулярного строения. Амилоза состоит из длинных нераз-

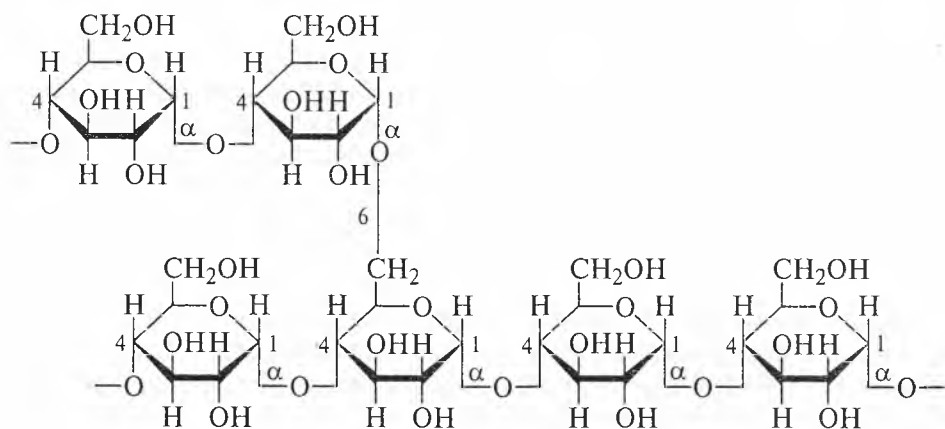
ветвленных цепей, в которых D-глюкозные остатки, как в мальтозе, соединены  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями:



Фрагмент молекулы амилозы

Макромолекула амилозы свернута в спираль диаметром около 1 нм, причем на каждый виток спирали приходится по 6 остатков глюкозы (рис. 6.3). Во внутренний канал спирали могут входить подходящие по размеру молекулы, в результате чего образуются молекулярные комплексы — *комплексы включения*, или *клатраты*. Например, молекулярный иод дает с амилозой комплекс включения синего цвета, что используется при аналитическом определении крахмала.

Амилопектин в отличие от амилозы имеет разветвленное строение. В цепи D-глюкозные остатки соединены  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями, а в точках разветвления —  $\alpha$ -1,6-гликозидными связями:



Фрагмент молекулы амилопектина

Между точками разветвления располагается около 20 — 25 глюкозных остатков, а разветвления содержат от 15 до 45 остатков глюкозы (рис. 6.4). Отдельные участки полигликозидных цепочек амилопектина скручены в спираль подобно амилозе. Поэтому при добавлении иода к амилопектину последний окрашивается, но не в синий, а в фиолетовый цвет. Вследствие разветвленности цепи и большой молекулярной массы амилопектин в горячей воде набухает, образуя крупные мицеллы, связанные между собой в пространственную сетку, т. е. возникает связно-дисперсная система — гель.

Таким образом, крахмал представляет собой ассоциативный комплекс амилозы и амилопектина, макромолекулы которых соединены между собой водородными связями непосредственно, а также с помощью гидратной воды.

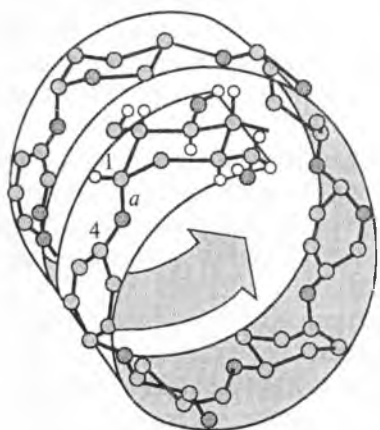


Рис. 6.3. Схематическое изображение пространственной структуры амилозы

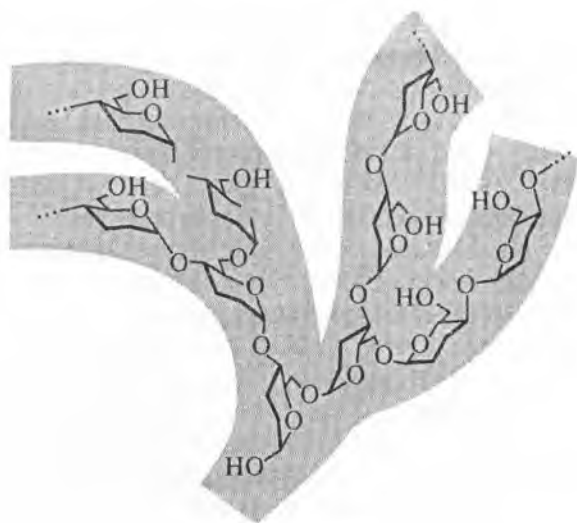
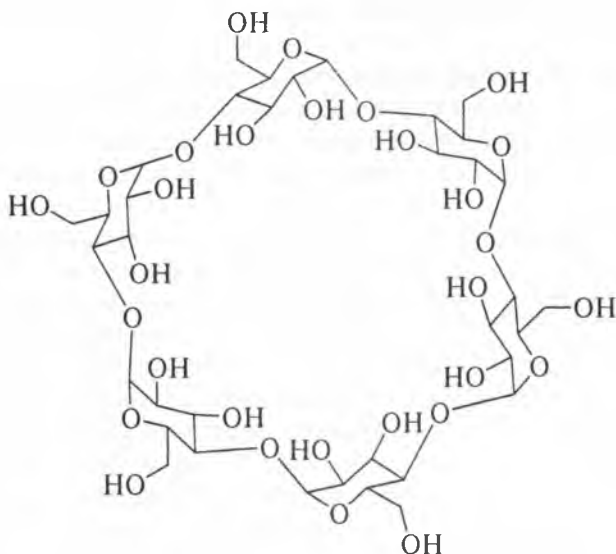


Рис. 6.4. Схематическое изображение пространственной структуры амилопектина

При гидролизе крахмала нагреванием в присутствии минеральных кислот или ферментов в качестве промежуточных продуктов образуются *декстрины* — полисахариды, которые имеют меньшую молекулярную массу и лучше растворимы в воде, чем крахмал. Среди декстринов различают:

- 1) *амилодекстрины* — дают с иодом фиолетово-синее окрашивание;
- 2) *эритродекстрины* — окрашиваются иодом в красно-бурый цвет;
- 3) *ахродекстрины* и *мальтодекстрины* — не дают окраски с иодом.

Циклические аналоги природных декстринов — *циклодекстрины* являются интересными объектами супрамолекулярной химии:



$\alpha$ -Циклодекстрин

Молекулы циклодекстринов в пространстве имеют форму усеченного конуса, благодаря чему они образуют комплексы включения со многими соединениями за счет слабых ван-дер-ваальсовых и гидрофобных взаимодействий. Циклодекстрины хорошо растворимы в воде, поэтому с ними удобно работать. Возможно, используя циклодекстрины в качестве строительных блоков для наноструктур, можно найти применение этим соединениям в сборке наноустройств.

Крахмал находит широкое применение в медицине и во многих отраслях промышленности. Во многих случаях исходным сырьем для получения крахмала служит картофель: его клубни в среднем содержат 15—25 % крахмала в расчете на сырую массу. Семена зерновых культур (например, кукурузы) в среднем содержат 40—60 % крахмала.

**Гликоген.** *Гликоген* — главный резервный полисахарид высших животных и человека («животный крахмал»). Он является структурным и функциональным аналогом амилопектиновой фракции крахмала, но в отличие от амилопектина имеет более разветвленные цепи. Между точками разветвления содержится 8—10 остатков D-глюкозы; в целом молекула гликогена несколько симметричнее, плотнее и компактнее, чем молекула амилопектина (рис. 6.5).

Молекулярная масса гликогена колеблется в пределах  $3 \cdot 10^5$ — $1 \cdot 10^8$ . Гликоген с пониженной молекулярной массой хорошо растворим в горячей воде, а с большой молекулярной массой — труднорастворим. Подобно амилопектину гликоген в растворе дает цветную реакцию с иодом, но окраска образующегося молекулярного комплекса красно-фиолетовая.

При кислотном и ферментативном гидролизе гликогена образуются в основном глюкоза, мальтоза и изомальтоза.

Высокая разветвленность полисахаридной цепи у молекул амилопектина и гликогена способствует тому, что эти полисахариды способны эффективно связывать большое количество глюкозы, подобные процессы протекают в клетках животных и растений под действием ферментов (см. главу 13).

**Декстраны** играют роль резервных полисахаридов у дрожжей и бактерий, их молекулы с молекулярной массой до  $5 \cdot 10^8$  состоят из остатков D-глюкозы, связанных 1,6-гликозидными связями. Точки разветвления могут быть образованы 1,2-, 1,3- и 1,4-связями, что обуславливает различие между отдельными представителями декстранов. Декстраны и их производные обладают антигенной активностью, широко применяются в качестве кровезаменителей, антикоагулянтов, а продукты их химической модификации (*сефадексы*, *сефароза*) используются в химических и биохимических лабораториях для разделения смесей веществ.

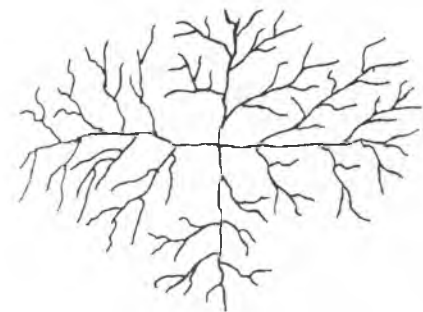
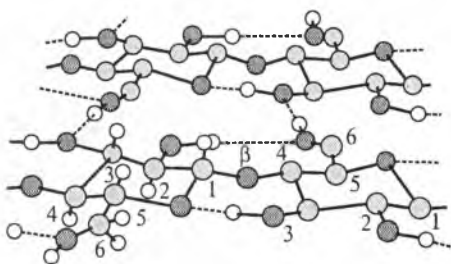


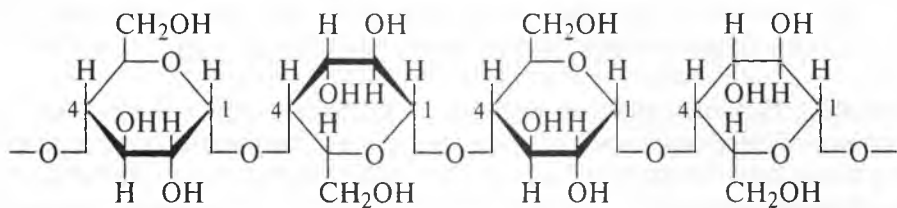
Рис. 6.5. Схематическое изображение молекулы гликогена

**Целлюлоза.** *Целлюлоза* (от лат. *cellula* — клетка), или *клетчатка*, — наиболее широко распространенный структурный по-

Рис. 6.6. Схема образования водородных связей в целлюлозе



лисахарид растительного мира с молекулярной массой  $10^5 - 2 \cdot 10^6$ . Имеет брутто-формулу  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Мономером целлюлозы служит остаток D-глюкозы. В отличие от крахмала в макромолекуле целлюлозы остатки глюкозы связаны  $\beta$ -1,4-гликозидными связями и образуют молекулярную цепь, не имеющую разветвлений.  $\beta$ -Конфигурация гликозидной связи приводит к тому, что макромолекула целлюлозы имеет строго линейное нитевидное строение:



Фрагмент молекулы целлюлозы

Вследствие линейного строения целлюлоза не образует с иодом соединений включения. Длинные нитевидные макромолекулы диаметром 4—10 нм, взаимодействуя друг с другом за счет поперечных водородных связей (рис. 6.6), образуют очень плотные волокна диаметром до 20 нм.

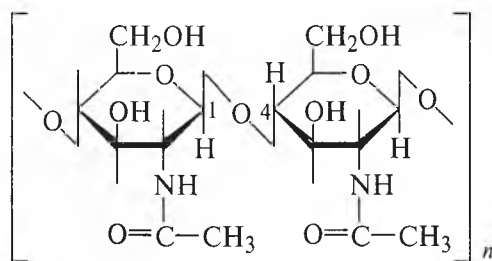
Отрыв индивидуальной макромолекулы целлюлозы от этих волокон весьма затруднен, поэтому целлюлоза нерастворима в воде и химически достаточно инертна. Все эти особенности строения и свойств целлюлозы делают ее структурным полисахаридом. Из целлюлозы состоят клеточные стенки растений. В состав древесины входит от 50 до 70 % целлюлозы.

В мягких условиях целлюлоза не проявляет выраженных кислотно-основных и окислительно-восстановительных свойств. Комплексообразующие свойства целлюлоза проявляет только в жестких условиях, что используется для ее растворения в горячих водных растворах солей.

Целлюлоза имеет очень большое практическое значение. Она составляет основную массу хлопчатобумажных тканей, бумаги, искусственного шелка, некоторых пластмасс, взрывчатых веществ, эмульгаторов и др.

**Хитин.** Хитин — структурный полисахарид низших растений (грибов) и беспозвоночных животных, построенный из остатков N-ацетил-D-глюкозамина, связанных между собой  $\beta$ -1,4-гликозидными связями в неразветвленную полисахаридную цепь:





Фрагмент молекулы хитина

Из-за наличия N-ацетильной группы межмолекулярные связи между цепями хитина более прочные, чем в целлюлозе, поэтому хитин нерастворим в воде, щелочах, разбавленных кислотах и органических растворителях.

Хитин никогда не встречается в свободном состоянии. Обычно он входит в состав кутикулы или наружного скелета членистоногих и некоторых других беспозвоночных животных, а также клеточных оболочек грибов в связанном состоянии, роль второго компонента при этом обычно выполняют белки, неорганические соли ( $\text{CaCO}_3$  и др.), липиды, пигменты.

**Пектины.** Пектиновые вещества присутствуют в растениях в виде нерастворимого *протопектина*, а также в виде растворимого *пектина* в соке плодов и овощей. Нерастворимый протопектин представляет собой метиловый эфир *полигалактуроновой кислоты*, соединенный с *галактаном* клеточной стенки растений. Наряду с галактуроновой кислотой в построении основной цепи участвуют молекулы *L-арабинозы*, *D-галактозы* и *L-рамнозы*. Протопектин переходит в растворимый пектин после действия на него разбавленных кислот или фермента протопектиназы. Такие процессы наблюдаются при созревании плодов, что приводит к улучшению их вкусовых качеств. На гидролизе пектиновых веществ ферментами особых микроорганизмов основан процесс предварительной обработки льна. Способность пектина в присутствии сахара в кислых средах образовывать гели используется в кондитерской промышленности при производстве желе, мармелада, пастилы. В настоящее время разрабатываются методики создания пленок из природных пектиновых веществ на поверхности фруктов, овощей и других пищевых продуктов с целью увеличения срока их хранения. Пектиновые вещества полезны для человека в связи с тем, что они регулируют работу кишечника, обладают детоксикационным действием, например при ртутных отравлениях.

**Агар-агар.** Высокомолекулярный полисахарид, содержится в некоторых морских водорослях (анфельция и др.) и представляет собой смесь *агарозы* и *агаропектина*, образованных остатками D-галактозы и ее производными. Агар-агар хорошо растворяется в воде при нагревании. Водные растворы застывают в виде геля, поэтому агар-агар широко используется в бактериологии для приготовления твердых питательных сред и в кондитерской промышленности для изготовления желе, мармелада.

**Глюкозаминогликаны (мукополисахариды)** содержат чередующиеся парные звенья, состоящие из остатков аминокислот и *гексуроновых кислот*,

реже — моносахаридов, обладающих большой молекулярной массой. Они образуют основное вещество внеклеточного матрикса соединительной ткани животных. Основными представителями являются *гиалуроновая кислота*, *хондроитинсульфаты*, *кератинсульфаты*, *гепарин* и *гепарансульфат*.

*Гиалуроновая кислота* содержится в стекловидном теле глаза, суставной жидкости, коже в свободном или ассоциированном с белками состоянии в виде высоковязких растворов, чем и определяется устойчивость тканей к проникновению инфекционных носителей. Многие бактерии вырабатывают защитную капсулу из гиалуроновой кислоты. Гиалуроновая кислота способна связывать ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$ , что и определяет способность межклеточного вещества участвовать в регуляции обмена воды и электролитов.

*Хондроитинсульфаты* являются основными компонентами хрящевой ткани, сухожилий, роговицы глаза; обладают антикоагулирующим действием, стабилизируют волокно коллагена.

*Кератинсульфаты* присутствуют в роговице глаза и основном веществе хрящевой ткани.

*Гепарин* и *гепарансульфат* отличаются от ранее описанных представителей данной группы гетерополисахаридов локализацией и функциями в животных тканях. Гепарин впервые был обнаружен в печени, что и отражено в его названии (от греч. *hepatos* — печень). Обычно присутствует на поверхности многих клеток, синтезируется в тучных клетках, содержится в коже, легких, слизистой оболочке желудка. Выполняет функции антикоагулянта. Принимает участие в обмене липидов, в том числе и холестерина. В медицинской практике используется при лечении тромбозов, в качестве стабилизирующего агента при переливании крови, при сердечно-сосудистых заболеваниях и др. Гепарансульфат присутствует на поверхности тромбоцитов и некоторых других клеток и выполняет антикоагулирующие функции.

## Контрольные вопросы и задания

1. Какие соединения относят к классу углеводов и на каких принципах основана их классификация?
2. Охарактеризуйте особенности строения и биологических функций углеводов.
3. Какие виды изомерии характерны для моносахаридов? Проиллюстрируйте ответ на примере молекулы глюкозы.
4. В чем состоят особенности физико-химических и биохимических свойств моносахаридов?
5. Перечислите, дайте характеристику и опишите биологические функции основных представителей моносахаридов.
6. В чем заключаются особенности строения, номенклатуры и физико-химических свойств природных дисахаридов типа мальтозы и сахарозы?
7. При гидролизе каких природных дисахаридов наблюдается инверсия и почему?
8. В чем заключаются различия молекулярного строения гомо- и гетерополисахаридов?
9. Приведите характеристики основных представителей класса гомополисахаридов, выполняющих резервные функции в живых организмах.
10. Опишите особенности строения и биологические функции природных гетерополисахаридов.

## Глава 7

### Липиды

#### 7.1. СТРОЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ

**Липиды** — это органические соединения, как правило, нерастворимые в воде, но растворимые в органических растворителях.

Липиды крайне разнообразны по своему химическому строению и свойствам. В зависимости от способности к гидролизу липиды подразделяют на **омыляемые** и **неомыляемые**.

В свою очередь, в зависимости от особенностей химического строения омыляемые липиды подразделяют на простые и сложные. При гидролизе простых липидов образуются два вида соединений: спирты и карбоновые кислоты. К простым омыляемым липидам относятся *жиры* и *воски*. К сложным омыляемым липидам относятся *фосфолипиды*, *сфинголипиды* и *гликолипиды*, которые при гидролизе образуют три или более видов соединений.

К неомыляемым липидам относятся *стероиды*, *терпены*, *жирорастворимые витамины* (см. главу 3), *простагландины* (см. главу 9).

Биологические функции липидов крайне разнообразны. Они являются: главными компонентами биомембран; запасным, изолирующим и защищающим органы и ткани материалом; наиболее калорийной частью пищи; важным и обязательным компонентом диеты человека и животных; регуляторами транспорта воды и солей; иммуномодуляторами; регуляторами активности некоторых ферментов; эндогормонами; передатчиками биологических сигналов. Этот список увеличивается по мере изучения липидов. Поэтому для понимания сути многих биологических процессов нужно иметь представление о липидах на таком же уровне, как о белках, нуклеиновых кислотах и углеводах. Рассмотрим подробнее главные функции, выполняемые липидами в живых организмах: *энергетическую*, *структурную* и *защитную*.

**Энергетическая функция** липидов (жиров) заключается в том, что они являются важными поставщиками энергии для совершения живыми организмами как внутренней, так и внешней работы. В результате биологического окисления 1 г жира выделяется 39 кДж энергии (это примерно вдвое больше, чем при окислении белков или углеводов).

**Структурная функция** обусловлена тем, что липиды в составе молекулярных комплексов с белками являются структурными компонентами клеточных мембран и органелл.

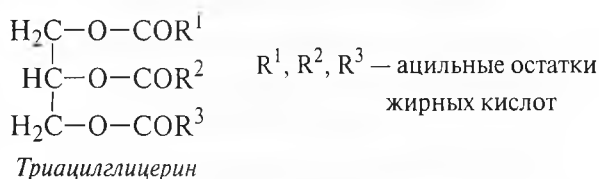
**Защитная функция:** жировая ткань задействована в процессах терморегуляции организма, т. е. защищает его в холод и в жару (*терморегуляторная функция*), она же предохраняет жизненно важные органы (почки, сердце, кишечник и др.) от случайных сотрясений при падениях, ударах, ушибах и т. д.

Жиры участвуют также в обменных процессах, откладываются «про запас» в так называемых жировых депо; участвуют в передаче нервных импульсов и в создании межклеточных контактов.

## 7.2. ПРОСТЫЕ ОМЫЛЯЕМЫЕ ЛИПИДЫ

К простым омыляемым липидам, как было сказано, относятся нейтральные жиры и воски.

**Нейтральные жиры.** Нейтральные жиры — это наиболее распространенные в живой природе липиды. По химическому строению они представляют собой *триацилглицерины* — сложные эфиры глицерина и высших жирных монокарбоновых кислот:



Все природные жиры содержат один и тот же спирт — глицерин, и наблюдаемые различия в биохимических и физико-химических свойствах между жирами обусловлены строением боковых радикалов ( $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3$ ), являющихся остатками жирных кислот. Липиды, обнаруженные в организме человека, содержат разнообразные жирные кислоты (табл. 7.1). В настоящее время известно свыше 800 природных жирных кислот. Для обозначения жирных кислот в биохимии принято использовать упрощенные числовые символы, которые задают параметры химического строения кислоты, а именно: первое число — это число атомов углерода в ее молекуле, число после двоеточия — это число двойных связей, а числа в скобках указывают на атомы углерода, при которых располагается двойная связь. Например, числовой код молекулы олеиновой кислоты — 18:1 (9) означает, что в ее состав входит 18 атомов углерода и имеется одна двойная связь, расположенная между 8-м и 9-м атомами углерода.

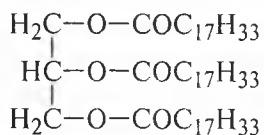
Жирные кислоты, встречающиеся в составе природных липидов, как правило, содержат четное число атомов углерода, имеют неразветвленное строение (линейная цепь) и подразделяются на насыщенные, моно- и полиненасыщенные. Из насыщенных жирных кислот наиболее часто встречаются *пальмитиновая*, *стеариновая* и *арахиновая* кислоты; из мононенасыщенных — *олеиновая*; а из полиненасыщенных — *линолевая*, *линоленовая* и *арахидоновая* кислоты. Ненасыщенные природные жирные кислоты имеют *цис*-конфигурацию, придающую углеводородной цепи укороченный и изогнутый вид, что имеет важное биологическое значение.

Таблица 7.1. Жирные кислоты, наиболее распространенные в липидах человека

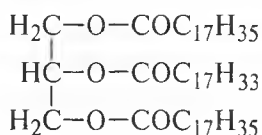
Название	Формула	Числовой код
<i>Насыщенные жирные кислоты</i>		
Масляная	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	4 : 0
Лауриновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	12 : 0
Миристиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	14 : 0
Пальмитиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	16 : 0
Стеариновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	18 : 0
Арахидиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	20 : 0
Бегеновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$	22 : 0
Лигноцериновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	24 : 0
<i>Ненасыщенные жирные кислоты</i>		
Пальмитоолеиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	16 : 1 (9)
Олеиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18 : 1 (9)
Линолевая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18 : 2 (9, 12)
$\alpha$ -Линоленовая	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	18 : 3 (9, 12, 15)
$\gamma$ -Линоленовая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$	18 : 3 (6, 9, 12)
Арахидоновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	20 : 4 (5, 8, 11, 14)
Нервоновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$	24 : 1 (15)

Содержание ненасыщенных жирных кислот в природных триацилглицеринах выше, чем насыщенных. В связи с тем что в отличие от насыщенных ненасыщенные жирные кислоты имеют более низкую температуру плавления, содержащие их нейтральные жиры остаются жидкими даже при температуре ниже  $5^\circ\text{C}$ . Поэтому преобладание в нейтральных жирах ненасыщенных жирных кислот особенно полезно для организмов, существующих в условиях низких температур. Ненасыщенные жирные кислоты (олеиновая, линолевая) преобладают также в растительных жирах, называемых *маслами*. За счет высокого содержания насыщенных жирных кислот животные жиры при комнатной температуре имеют твердую консистенцию. Жидкие жиры могут быть превращены в твердые путем гидрирования двойных связей ненасыщенных жирных кислот в присутствии катализаторов. Как правило, гидрирование проводят при температуре  $175\text{—}190^\circ\text{C}$ , небольшом избыточном давлении и в присутствии никеля в качестве катализатора. Такой процесс используется в пищевой промышленности при изготовлении пищевых жиров. Так, маргарин представляет собой смесь гидрированных жиров с добавлением молока и других веществ.

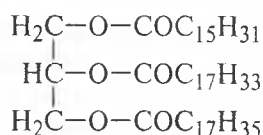
Триацилглицерины могут содержать одинаковые (простые триацилглицерины) или разные (сложные триацилглицерины) ацильные остатки:



*Триолеинглицерин*



*Олеодистеаринглицерин*



*Олеопальмитостеаринглицерин*

Природные жиры представляют собой смесь разнообразных триацилглицеринов, в которой массовая доля смешанных триацилглицеринов очень высока. Например, молочный жир в основном образован олеопальмитобутирилглицерином.

В связи с тем что животные и растительные жиры представляют собой смеси сложных триацилглицеринов (табл. 7.2), находящихся в разных полиморфных кристаллических формах, они плавятся в определенном температурном интервале.

**Таблица 7.2. Характеристика животных и растительных жиров**

Характеристики	Говяжий жир	Свиной жир	Сливочное масло	Подсолнечное масло
Содержание насыщенных жирных кислот, %(мас.):				
пальмитиновой	24—29	27—30	24—29	6—9
стеариновой	27—30	13—18	9—13	1,6—4,6
других	2—3	0,8—1	8—17	2
Содержание ненасыщенных жирных кислот, %(мас.):				
олеиновой	41—42	37—44	19—34	24—40
линолевой	37—44	8—9	2—5	46—72
других	3—3,5	1,5—2	4	1
$T_{\text{пл}}, ^\circ\text{C}$	42—52	22—48	28—36	−16 ÷ −19
Иодное число, мг $\text{I}_2$ на 100 г	32—47	45—66	25—42	119—145

Таким образом, свойства жиров определяются качественным составом жирных кислот и их количественным соотношением. Для характеристики свойств жира используют такие константы (жировые числа), как *кислотное число*, *иодное число* и др.

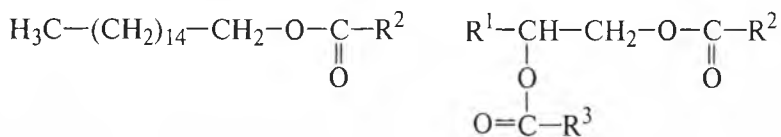
*Кислотное число* определяется массой КОН (мг), которая необходима для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира. Кислотное число является важным показателем качества природных жиров: его увеличение при хранении жировых продуктов свидетельствует о происходящих в жире процессах гидролиза.

*Иодное число* — масса иода (мг), связываемая 100 г жира, — дает представление о содержании в жире ненасыщенных жирных кислот.

Жиры практически нерастворимы в воде и хорошо растворимы в органических растворителях. Однако в присутствии *поверхностно-активных веществ* (ПАВ), таких, как желчные кислоты, белки, мыла, шампуни, они могут образовывать устойчивые эмульсии в воде. На этом свойстве основаны процессы усвоения жиров в организме и моющее действие растворов ПАВ. Устойчивой, сложной (эмульсия и суспензия) природной дисперсной системой является молоко, в котором частички жидких и твердых жиров стабилизированы белками. Низкая электро- и теплопроводность жиров обусловлена их неполярной природой, и именно поэтому жиры для многих живых организмов служат защитой как от охлаждения, так и от перегрева.

Под действием света, кислорода воздуха и влаги, при контакте с металлическими поверхностями жиры в процессе хранения подвергаются окислению и гидролизу и приобретают неприятный вкус и запах (*прогоркание*) за счет образования альдегидов и кислот с короткими цепями, например масляной кислоты. Процесс прогоркания предотвращают добавлением антиоксидантов, наиболее активным и нетоксичным из которых является витамин Е.

**Воски.** Воски — продукты различного происхождения, которые присутствуют в организмах животных, в микроорганизмах и растениях. Воски состоят главным образом из сложных эфиров высших насыщенных и ненасыщенных монокарбоновых кислот и высших одно- или многоатомных спиртов жирного (реже ароматического) ряда, причем и кислоты, и спирты обычно содержат четное число атомов углерода (16 — 36). Кроме того, воски могут содержать небольшое количество свободных жирных кислот, многоатомных спиртов, насыщенных углеводородов, душистых и красящих веществ. В общем случае химическое строение восков может быть представлено в виде



*Воски*

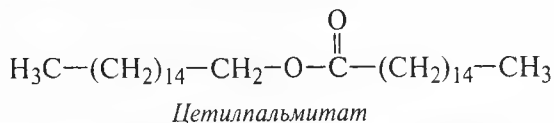
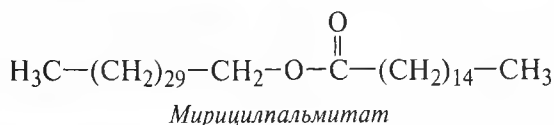
(R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> и R<sup>3</sup> — остатки жирных кислот)

Сложные эфиры восков подвергаются омылению труднее, чем жиры. Они также растворяются только в органических растворителях. Температуры плавления большинства восков лежат в интервале 40 — 90 °С, и их можно формировать при нагревании.

Воски подразделяются на *природные* и *животные*. У многих растений воски составляют 80 % всех липидов. Растительные воски обычно содержат помимо эфиров с большой молекулярной массой еще и значительное количество насыщенных углеводородов. Покрывая тонким слоем листья, стебли и плоды, воски защищают растения от вредителей и болезней, а также от лишней потери воды. Растительные воски применяются в фармакологии, технике, а также в бытовых и косметических целях.

Примерами животных восков служат: *пчелиный воск*, содержащий кроме высших эфиров до 15 % высших карбоновых кислот (C<sub>16</sub> — C<sub>36</sub>) и около

12—17 % высших углеводов ( $C_{21}—C_{35}$ ); *ланолин* — сложная смесь различных восков, кислот и спиртов, покрывающая шерсть овец; в отличие от других восков ланолин образует устойчивые эмульсии с водой при ее избытке; *спермацет* — смесь эфиров мирицилового и цетилового спирта и пальмитиновой кислоты, содержится в черепной полости кашалота и служит ему звукопроводом при эхолокации:



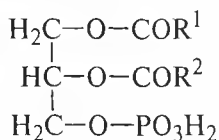
Животные воски используются в фармакологии и косметологии для приготовления различных кремов и мазей, а также для изготовления кремов для обуви.

### 7.3. СЛОЖНЫЕ ОМЫЛЯЕМЫЕ ЛИПИДЫ

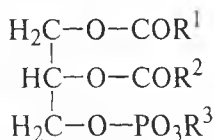
Сложные омыляемые липиды подразделяют на *фосфо*-, *сфинго*- и *гликолипиды*. Сложные омыляемые липиды являются сложными эфирами глицерина или сфингозина и жирных кислот. Но в отличие от простых липидов в молекулах сложных липидов присутствуют остатки фосфорной кислоты или углеводов.

Сложные омыляемые липиды — это эффективные поверхностно-активные вещества, содержащие одновременно как гидрофобные, так и гидрофильные фрагменты. Рассмотрим особенности химического строения основных представителей сложных омыляемых липидов.

**Фосфолипиды.** Природные фосфолипиды являются производными *фосфатидной кислоты*, состоящей из остатков глицерина, фосфорной и жирных кислот. Фосфолипиды содержат два остатка жирных кислот ( $R^1$  и  $R^2$ ) и дополнительный полярный радикал ( $R^3$ ), представленный, как правило, остатком азотистого основания и соединенный эфирной связью с фосфатной группой:



*Фосфатидная  
кислота*



*Фосфолипид*

Главными представителями природных фосфолипидов являются *фосфатидилэтаноламин* (*кефалин*) ( $R^3$  — остаток этаноламина), *фосфатидилхолин* (*лецитин*) ( $R^3$  — остаток холина), *фосфатидилсерин* ( $R^3$  — остаток серина) и *фосфатидилинозит* ( $R^3$  — остаток инозита).



Все перечисленные выше соединения обладают избирательной растворимостью в органических растворителях. Так, они практически нерастворимы в ацетоне, что используется для отделения фосфолипидов от других липидов. За счет двойных связей в углеводородных цепях ненасыщенных жирных кислот фосфолипиды легко окисляются кислородом воздуха, меняя при этом окраску от светло-желтой до коричневой.

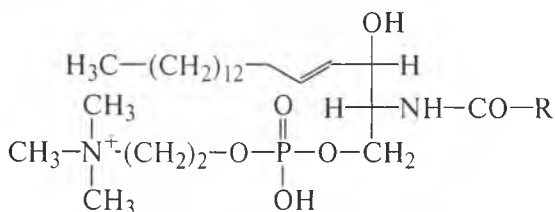
Фосфолипиды составляют основу липидного бислоя биологических мембран (см. главу 15) и очень редко встречаются в составе запасных отложений жиров. Преимущественное участие фосфолипидов в формировании клеточных мембран объясняется их способностью выступать в роли поверхностно-активных веществ и образовывать молекулярные комплексы с белками — *хиломикроны*, *липопротеины* (см. ниже). В результате межмолекулярных взаимодействий, удерживающих друг возле друга углеводородные радикалы, образуется внутренний гидрофобный слой мембраны. Полярные фрагменты, расположенные на внешней поверхности мембраны, образуют гидрофильный слой. Благодаря полярности молекул фосфолипидов обеспечивается односторонняя проницаемость клеточных мембран. В связи с этим фосфолипиды широко распространены в растительных и животных тканях, особенно в нервной ткани человека и позвоночных животных. В микроорганизмах они являются преобладающей формой липидов.

Все перечисленные свойства фосфолипидов обуславливают эффект снижения пограничного натяжения на внутренних стенках альвеол, что облегчает диффузию молекулярного кислорода и способствует его проникновению через клеточные мембраны и последующему присоединению к гемоглобину. Альвеолы клетки синтезируют и продуцируют специфическую слизь, которая состоит из 10 % белков и 90 % фосфолипидов, гидратированных водой. Эту смесь называют «легочный сурфактант» (от англ. *surface active agent* — поверхностно-активный агент).

Различия в строении радикала  $R^3$  практически не влияют на биохимические свойства фосфолипидов. Так, и *фосфатидилэтанолламины* (*кефалины*), и *фосфатидилсерины* участвуют в формировании мембран клеток. *Фосфатидилхолины* в большом количестве содержатся в желтках яиц птиц (по этой причине и получили свое название *лецитины* от греч. *lecitos* — желток), в мозговой ткани человека и животных, в соевых бобах, семенах подсолнечника, зародышах пшеницы. Причем *холин* (витаминоподобное соединение) может присутствовать в тканях и в свободном виде, выполняя роль донора метильных групп в процессах синтеза различных веществ, например метионина. Поэтому при недостатке холина наблюдается нарушение обмена веществ, которое приводит, в частности, к жировому перерождению печени. Производное холина — *ацетилхолин* — является медиатором нервной системы. Фосфатидилхолины широко используются в медицине при лечении заболеваний нервной системы, в пищевой промышленности как биологически активные добавки (в шоколад, маргарин), а также в качестве антиоксидантов. *Фосфатидилинозиты* представляют интерес как предшественники *простагландинов* — биохимических регуляторов; особенно высоко их содержание в нервных волокнах спинного мозга. *Инозит*, как и холин, является витаминоподобным соединением (см. главу 3).

CCCCCCCCCCCCC/C=C/[C@H](O)[C@@H](N)CO
$$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{NH}_2$$

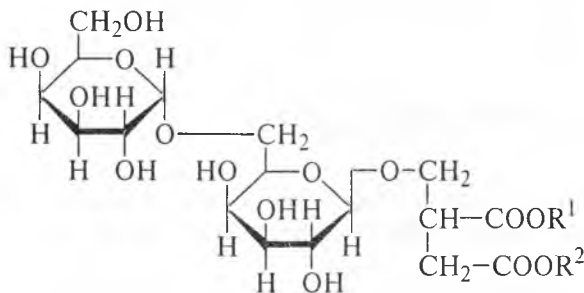
Самыми распространенными сфинголипидами являются *сфингомиелин*:



R — остаток жирной кислоты

**Гликолипиды.** Гликолипиды могут быть сложными эфирами как глицерина — *гликозилдиацилглицерины*, так и сфингозина — *гликосфинголипиды*. В состав молекул гликолипидов входят остатки углеводов, чаще D-галактоза.

*Гликозилдиацилглицерины* содержат один или два остатка моносахарида (D-галактоза или D-глюкоза), связанные с ОН-группой глицерина β-гликозидной связью:

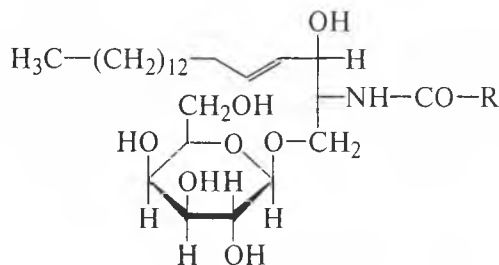


$R^1$  и  $R^2$  — ацильные остатки жирных кислот

Гликозилдиацилглицерины были выделены из листьев растений (по-видимому, они специфически связаны с хлоропластами), где их концентрация примерно в 5 раз превышает концентрацию фосфолипидов в фотосинтетических бактериях. В животных тканях соединения подобного рода не обнаружены.

**Гликосфинголипиды** содержат один или несколько остатков углеводов, и в зависимости от их числа различают *цереброзиды* и *ганглиозиды*.

*Цереброзиды* имеют следующее химическое строение:



*Цереброзид*

R — остаток жирной кислоты

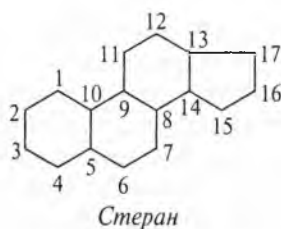
Остаток гексозы в цереброзидах присоединен  $\beta$ -гликозидной связью. Из жирных кислот, обнаруженных в цереброзидах, чаще всего встречаются нервоновая, цереброновая и лигноцериновая ( $C_{24}$ ). *Цереброзидсульфатиды* — производные цереброзидов, образующиеся при их этерификации серной кислотой по третьему атому углерода гексозы, присутствуют в белом веществе мозга.

*Ганглиозиды* в отличие от цереброзидов имеют более сложное строение: их молекулы содержат гетероолигосахариды, образованные остатками D-глюкозы, D-галактозы, N-ацетилглюкозамина и N-ацетилнейраминовой кислоты. Все ганглиозиды являются кислыми соединениями и так же, как и цереброзиды, активно участвуют в контроле и регуляции межклеточных контактов, рецепции пептидных гормонов, вирусов, бактериальных токсинов. В связи с тем что структура и состав ганглиозидов контролируются генетически, они обладают высокой тканевой специфичностью и выполняют функции антигенов клеточных поверхностей.

## 7.4. НЕОМЫЛЯЕМЫЕ ЛИПИДЫ

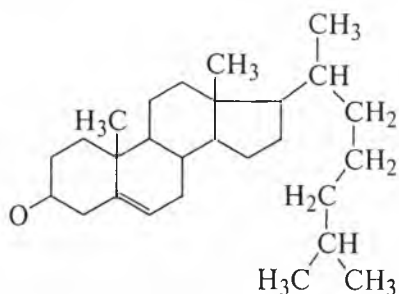
Рассмотрим особенности химического строения и биохимических функций наиболее важных представителей неомыляемых липидов — стероидов и терпенов.

**Стероиды.** К стероидам относится обширный класс природных веществ, в основе молекул которых лежит конденсированный остов, называемый *стераном*:

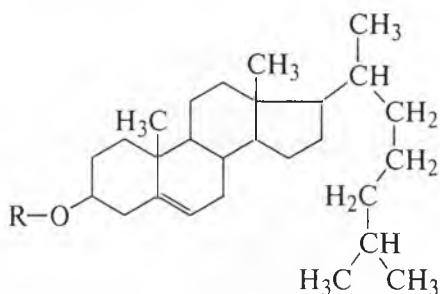


Наиболее распространенным среди многочисленных биологических соединений стероидной природы является *холестерин*.

**Холестерин** — одноатомный спирт (*холестерол*); он проявляет свойства вторичного спирта и алкена. Около 30 % холестерина в организме содержится в свободном виде, остальное количество — в виде ацилхолестеринов, т. е. сложных эфиров холестерина и высших карбоновых кислот, как насыщенных (пальмитиновой и стеариновой), так и ненасыщенных (линолевой, арахидоновой и др.):



*Холестерин*



*Эфиры холестерина*

R — остатки жирных кислот

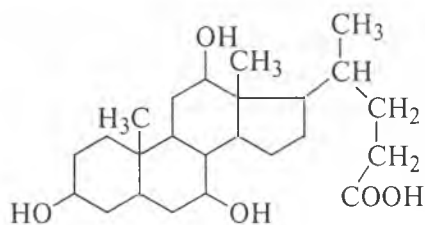
Общее содержание холестерина в организме человека составляет 210—250 г. В больших количествах он содержится в головном и спинном мозге, является компонентом биомембран. Содержание холестерина в некоторых продуктах питания приведено в табл. 7.3.

**Таблица 7.3. Содержание холестерина в некоторых продуктах питания**

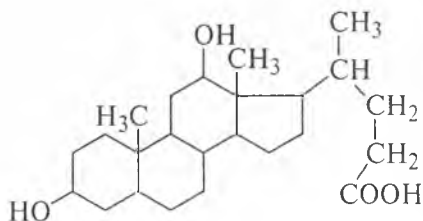
Продукт	Содержание холестерина, мг на 100 г	Продукт	Содержание холестерина, мг на 100 г
Свиные мозги	2000	Омары	200
Телячьи мозги	2000	Сливки	109
Яичный желток	1260	Макароны	74
Яйца	400	Телятина	72
Свиная печень	340	Свинина	63
Говяжья печень	270	Говядина	60
Сливочное масло	240	Маргарин	10

Важнейшая биохимическая функция холестерина обусловлена тем, что он играет роль промежуточного продукта в синтезе многих соединений стероидной природы: в плаценте, семенниках, желтом теле и надпочечниках происходит превращение холестерина в гормон прогестерон, который является начальным субстратом сложной цепи биосинтеза стероидных половых гормонов и кортикостероидов (см. главу 9).

Другие пути использования холестерина в организме связаны с образованием витамина D (см. главу 3) и необходимых для пищеварения желчных кислот — *холевой* и *7-дезоксихолевой*:

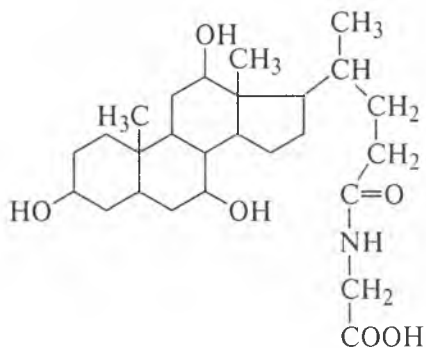


*Холевая кислота*

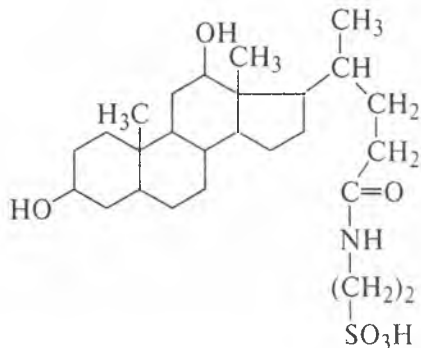


*7-Дезоксихолевая кислота*

В организме холевая кислота, образуя амиды по карбонильной группе с глицином и таурином, превращается в *глицинхолевую* и *таурохолевую* кислоты:



*Глицинхолевая кислота*



*Таурохолевая кислота*

Анионы этих кислот являются эффективными поверхностно-активными веществами. В кишечнике они участвуют в процессах эмульгирования жиров и тем самым способствуют их всасыванию и перевариванию (см. главу 14). Желчные кислоты используют в качестве лекарственных препаратов, предотвращающих образование и растворение уже имеющихся желчных камней, которые состоят из холестерина и билирубина.

Транспорт нерастворимых в жидкостях организма липидов, в том числе и холестерина, осуществляется в составе особых частиц — *липопротеинов*, представляющих собой сложные по составу комплексы с белками. В крови обнаружено несколько форм липопротеинов, которые различаются плотностью (табл. 7.4): *хиломикроны*, *липопротеины очень низкой плотности* (ЛОНП), *липопротеины низкой плотности* (ЛНП) и *липопротеины вы-*

Таблица 7.4. Липопротеины крови человека

Тип липопротеина	Плотность, г/мл	Молекулярная масса	Диаметр, нм	Содержание в плазме крови, г/л
Хиломикроны	0,5	$(1 \div 10) \cdot 10^9$	30—500	1—2
ЛОНП	0,5—1,0	$(5 \div 100) \cdot 10^6$	30—75	1—1,5
ЛНП	1,0—1,6	$(2 \div 4) \cdot 10^6$	20—25	2—4
ЛВП	1,6—1,1	$(0,2 \div 0,6) \cdot 10^6$	10—15	1—3

Таблица 7.5. Примерный состав липопротеинов крови человека (в %)

Липопротеины	Белки	Триацилглицерины	Холестерин		Фосфолипиды
			эфиры	свободный	
Хиломикроны	2	85	4	2	7
ЛОНП	10	50	15	7	18
ЛНП	25	7	40	7	21
ЛВП	45	5	20	5	25

сокой плотности (ЛВП). Липопротеины можно разделить с помощью ультрацентрифугирования.

Липопротеины представляют собой сферические частицы, гидрофильная поверхность которых представляет собой слой ориентированных фосфолипидов и белков, а ядро образовано гидрофобными молекулами триацилглицеринов и эфиров холестерина (рис. 7.1). Примерный состав липопротеинов крови человека представлен в табл. 7.5.

Триацилглицерины и холестерин под действием ферментов (например, *липопротеинлипаза*) высвобождаются из хиломикронов и затем потребляются жировой тканью, печенью, сердцем и другими органами.

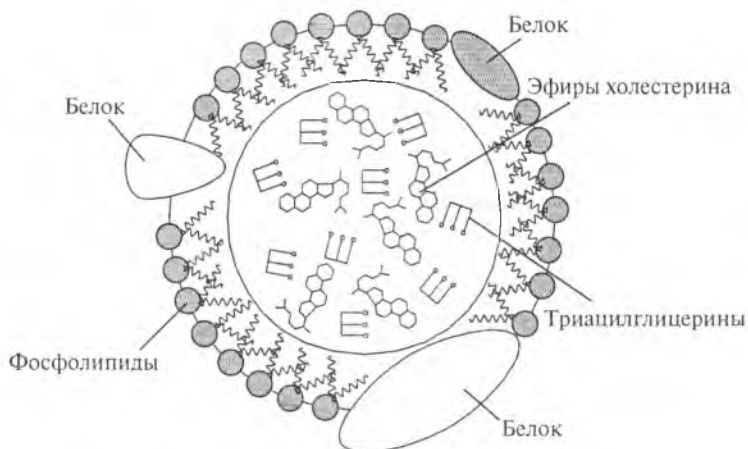
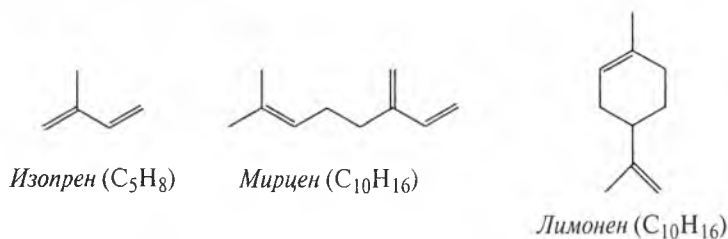


Рис. 7.1. Схематическое строение липопротеина

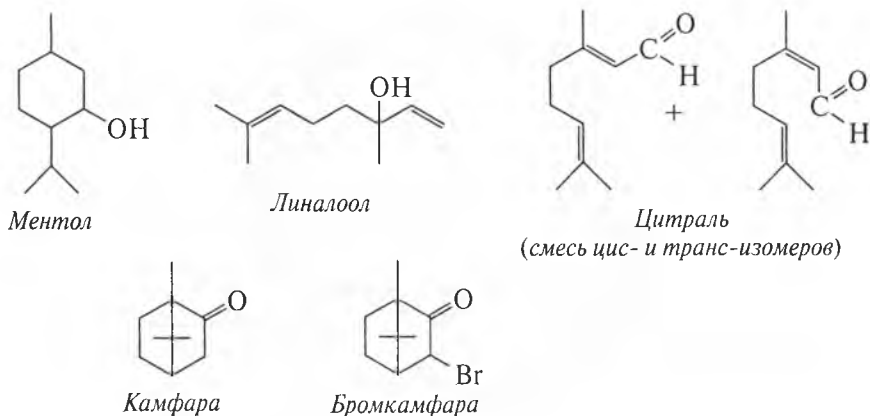
При некоторых нарушениях обмена веществ или высоких концентрациях холестерина в крови повышается концентрация ЛОНП и ЛНП, что ведет к их агрегации и отложению на стенках сосудов (*атеросклероз*), в том числе в артериях сердечной мышцы (ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда).

**Терпены.** Терпены — это ряд биологически активных углеводов и их кислородсодержащих производных, углеродный скелет которых состоит из нескольких звеньев изопрена  $C_5H_8$ . Поэтому общая формула для большинства терпенов —  $(C_5H_8)_n$ . Терпены могут иметь ациклическое или циклическое (би-, три- и полициклическое) строение. В качестве примера приведем молекулярные структуры терпенов с общей формулой  $C_{10}H_{16}$  (*мирцен* и *лимонен*):



Терпены содержатся в высших растениях, ими богаты смола хвойных деревьев, сок каучуконосов. Так, мирцен содержится в эфирных маслах хмеля и благородного лавра, а лимонен — в живице сосны, citrusовых плодах, мяте и других растениях. Примером смеси терпенов является широко используемый скипидар — продукт перегонки смолы хвойных деревьев.

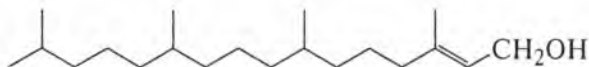
В состав эфирных масел входят производные терпенов, содержащие гидроксильные, альдегидные или кетогруппы, — *терпеноиды*. Среди них большое применение находят *ментол* (содержится в масле мяты, от которой и получил свое название: от лат. *menta* — мята), *линалоол* (жидкость с запахом ландыша), *цитраль*, *камфара*:



К терпенам относятся *смоляные кислоты*, которые имеют общую формулу  $C_{20}H_{30}O_2$  и составляют  $\frac{4}{5}$  смолы хвойных растений (*живица*). При

переработке живицы получают твердый остаток смоляных кислот — *канифоль*, которая служит сырьем для многих отраслей промышленности.

Кроме того, терпеновые группировки (изопреноидные цепи) входят в структуру многих сложных биологически активных соединений, таких, как каротиноиды (см. главу 3), *фитол* и др.:



*Фитол*

Фитол в свободном виде в природе не встречается, но входит в состав молекул хлорофилла, витаминов А, Е и других биосоединений.

*Каучук* и *гутта* являются политерпенами, в молекулах которых остатки изопрена соединены «голова к хвосту».

### Контрольные вопросы и задания

1. Какие соединения называются липидами, на чем основана их классификация и какие функции они выполняют в организмах животных и в растениях?
2. Перечислите особенности химического строения, физико-химических и биохимических свойств нейтральных жиров — триацилглицеринов.
3. Объясните взаимосвязь структуры и биологических свойств основных представителей природных и животных восков.
4. Какие соединения относятся к группе омыляемых сложных липидов и в чем заключается отличие их химического строения от химического строения нейтральных жиров?
5. Назовите особенности строения и биологических функций основных представителей следующих групп омыляемых сложных липидов: а) фосфолипиды; б) сфинголипиды; в) гликолипиды.
6. Какие соединения образуют группу неомыляемых липидов?
7. Объясните особенности химического строения и свойств неомыляемых липидов группы: а) стероидов; б) терпенов.



---

## Глава 8

### Нуклеиновые кислоты

#### 8.1. ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ И ИЗУЧЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

В 1869 г. швейцарский исследователь Ф. Мишер впервые выделил из ядер лейкоцитов человека не известное ранее вещество. Он назвал это вещество *нуклеином* (от лат. *nucleus* — ядро). Затем в лаборатории под руководством Ф. Мишера подобные вещества были выделены из эритроцитов птиц, рептилий, из дрожжей и ряда других природных объектов. Позднее Ф. Мишер установил, что открытый им нуклеин представляет собой смесь нуклеиновых кислот. Так были открыты **нуклеиновые кислоты** и новая группа сложных белков — **нуклеопротеины**, содержащие в качестве простетической группы нуклеиновые кислоты.

Исследование химического строения нуклеиновых кислот, начатое Ф. Мишером, далее было продолжено К. А. Косселем (1879 г.), который обнаружил в нуклеиновых кислотах азотсодержащие гетероциклические основания. Первым выделенным гетероциклическим основанием, присутствующим в нуклеиновых кислотах, был **гуанин** (ранее выделенный из перуанского гуано — помета птиц, ценного азотистого удобрения). Впоследствии из нуклеиновых кислот были выделены **тимин** (из клеток тимуса быка), **цитозин** (от греч. *cytos* — клетка) и **аденин** (от греч. *aden* — железа). В результате проведенных исследований русский химик Ф. Левен установил, что в состав нуклеиновых кислот входят азотсодержащие гетероциклические основания (производные пурина и пиримидина), фосфорная кислота и углеводный компонент — рибоза или дезоксирибоза.

Итак, **нуклеиновые кислоты** — это биополимеры, мономеры которых (**нуклеотиды**) состоят из азотсодержащих гетероциклических оснований, моносахарида (пентозы) и фосфорной кислоты.

В 40 — 50-х годах XX в. были получены первые экспериментальные доказательства важнейшей роли **дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК)** в явлениях наследственности и изменчивости у микроорганизмов. И только в ходе последующих исследований ДНК были открыты **рибонуклеиновые кислоты (РНК)**, играющие первостепенную роль в биосинтезе белков.

Собственно, установление химического строения ДНК и РНК послужило толчком для развития нового направления в биологии — **молекулярной биологии**, решающей задачу исследования на молекулярном уровне таких общебиологических явлений, как наследственность, изменчивость и эволюция.

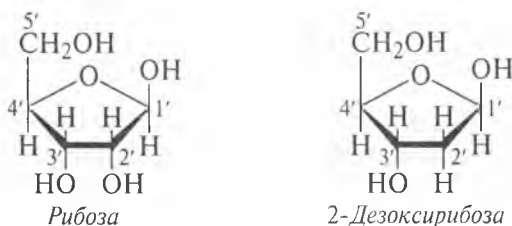
Таким образом, в течение практически целого века (начиная с конца XIX и заканчивая серединой XX в.) было доказано, что нуклеиновые кислоты являются важнейшими компонентами всех клеток живых организмов. Установлено, что с участием нуклеиновых кислот происходит биосинтез белков, являющихся материальной основой всех жизненных процессов, и в конечном счете формируются фенотипические признаки всех организмов. Информация, определяющая особенности первичной структуры белков, «записана» в молекулах ДНК, с помощью которых и передается от родительских клеток к дочерним. Молекулы РНК служат незаменимыми и обязательными участниками самого механизма биосинтеза белков и других биопроцессов.

Исследование нуклеиновых кислот и нуклеопротеинов позволяет понимать механизмы возникновения инфекционных заболеваний, поскольку по химической природе функциональная часть любого вируса есть не что иное, как нуклеопротеин. Поэтому борьба с многочисленными вирусными заболеваниями невозможна без глубокого познания строения и свойств нуклеиновых кислот. И наконец, сами мономерные звенья нуклеиновых кислот (нуклеотиды) играют важную самостоятельную роль в метаболизме: некоторые из них — коферменты, другие — аккумуляторы энергии в клетке, третьи — регуляторы обмена веществ (циклические нуклеотиды). Особенности функционирования нуклеиновых кислот, нуклеотидов и родственных соединений рассматриваются ниже.

## 8.2. НУКЛЕОЗИДЫ, НУКЛЕОТИДЫ, НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

При полном жестком кислотном гидролизе (72%-я  $\text{HClO}_4$ , 100 °С или 25%-я  $\text{HCOOH}$ , 75 °С) нуклеиновых кислот образуются *пуриновые* и *пиримидиновые основания* (гетероциклические азотистые основания), моносахарид *пентоза* (рибоза или дезоксирибоза в фуранозной форме) и *фосфорная кислота*. Рассмотрим особенности химического строения и физико-химических свойств данных соединений как главных компонентов нуклеиновых кислот и их предшественников — нуклеозидов и нуклеотидов.

**Моносахариды.** Все нуклеиновые кислоты в зависимости от входящего в их состав моносахарида можно подразделить на два основных типа. Если в состав нуклеиновой кислоты входит рибоза, то нуклеиновая кислота называется *рибонуклеиновой кислотой (РНК)*, а если 2-дезоксирибоза — то *дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК)*. Пентозы в нуклеиновых кислотах всегда присутствуют в  $\beta$ -D-фуранозной форме (см. главу 6):

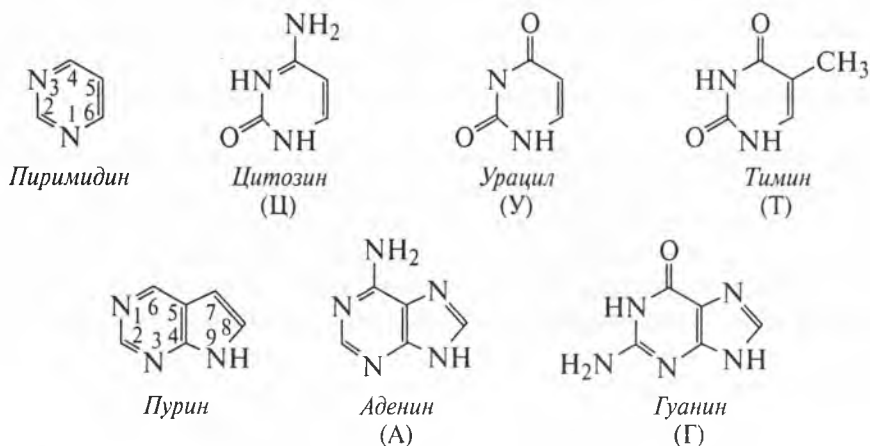


Атомы углерода в структурных формулах пентоз нумеруются цифрами со знаком «штрих», чтобы отличить их от атомов углерода, входящих в состав азотистого основания (например, 5-й атом углерода обозначают С-5' или 5').

Замена атома водорода на гидроксильную группу при С-2' рибозы является одной из основных причин существенных различий в свойствах ДНК и РНК. Очевидно, вследствие таких изменений в природе заместителя происходит упрочнение связи между 2-м и 3-м атомами углерода в пентозе, что приводит к увеличению устойчивости молекулы ДНК как хранителя наследственной информации. Кроме того, отсутствие кислорода у С-2' дезоксирибозы способствует более компактной упаковке молекулы ДНК в пространстве, что позволяет ей, несмотря на относительно большие размеры, занимать малый объем в клетке и ядре (особенности пространственной организации молекул ДНК и РНК рассматриваются далее).

**Азотистые основания.** Химическое строение и физико-химические свойства азотистых оснований определяют особенности пространственной организации молекул нуклеиновых кислот в условиях живых клеток и, что особенно важно, их биологическое поведение, т. е. способность хранить и передавать наследственную информацию.

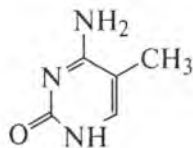
Входящие в состав нуклеиновых кислот азотистые основания по химическому строению являются либо производными **пурина** — **пуриновые основания**, либо **пиримидина** — **пиримидиновые основания**. Напомним, что молекула пурина представляет собой два сконденсированных кольца пиримидина и имидазола. В зависимости от распространенности оснований в нуклеиновых кислотах выделяют *главные* и *редкие* (или *минорные*) пуриновые и пиримидиновые основания. К главным пуриновым основаниям относятся **аденин (А)** и **гуанин (Г)**, а к главным пиримидиновым — **цитозин (Ц)**, **урацил (У)** и **тимин (Т)**. Главные азотистые основания имеют следующее химическое строение:



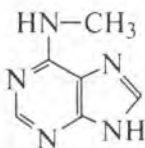
Аденин, гуанин, цитозин и тимин входят в состав молекул ДНК. В отличие от ДНК в РНК вместо тимина присутствует урацил. Одинаковые и различающиеся структурные компоненты молекул ДНК и РНК приведены ниже:

	ДНК	РНК
Одинаковые компоненты .....	А, Г, Ц	А, Г, Ц
Различающиеся компоненты .....	2-Дезоксирибоза, тимин (Т)	Рибоза, урацил (У)

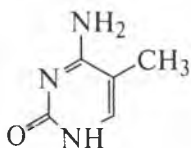
Как было отмечено выше, кроме главных азотистых оснований в нуклеиновых кислотах присутствуют редкие, или минорные, основания, содержащиеся в небольших количествах. К настоящему времени обнаружено свыше 60 минорных оснований. Например, в ДНК высших организмов присутствует *5-метилцитозин*, а в некоторых бактериальных ДНК наряду с 5-метилцитозином встречаются небольшие количества *6-метиладенина*. В ДНК Т-четных фагов *E. coli* цитозин заменен на *5-гидроксиметилцитозин*. Особенно много минорных оснований (*4-тиоурацил*, *5,6-дигидроурацил*, *2,6-диоксипурин*, *6-оксипурин*, *ацетилцитозин* и др.) содержится в транспортных РНК:



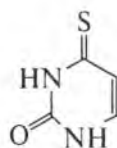
5-Метилцитозин



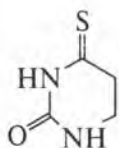
6-Метиладенин



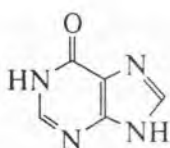
5-Гидроксиметил-  
цитозин



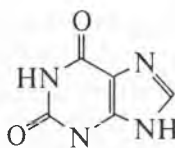
4-Тиоурацил



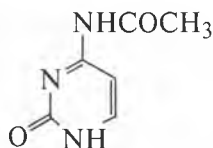
4-Дигидроурацил



6-Оксипурин

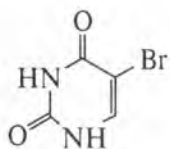


2,6-Диоксипурин

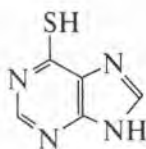


Ацетилцитозин

Из азотистых оснований неприродного происхождения можно отметить *5-бромурацил* (сильный мутаген) и *6-меркаптопурин* (противоопухолевое средство):



5-Бромурацил



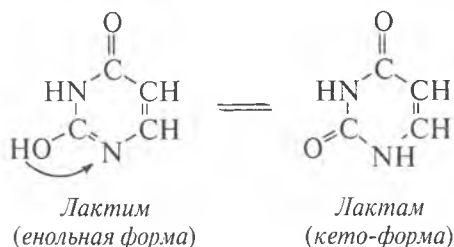
6-Меркаптопурин

В отличие от аминокислот свободные азотистые основания не встречаются в живых организмах в больших количествах и не выполняют других самостоятельных биофункций, кроме предшественников биосинтеза нуклеотидов (см. главу 11).

Предполагается, что минорные основания представляют собой одну из ветвей развития пуриновых и пиримидиновых оснований в ходе биохимической, а затем и биологической эволюции. Но в отличие от главных азотистых оснований минорные основания в процессе эволюции не по-

лучили широкого распространения. По-видимому, это обстоятельство связано с особенностями физико-химических свойств данных молекул.

Азотистые основания плохо растворимы в воде, однако в составе нуклеозидов и нуклеотидов (см. ниже) их растворимость заметно увеличивается. Пуриновые и пиримидиновые основания характеризуются высокой температурой плавления ( $> 300\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Рентгеноструктурный анализ пуриновых и пиримидиновых оснований показал, что молекулы пиримидинов имеют плоское, а молекулы пуринов — псевдоплоское строение. Пурины и пиримидины представляют собой слабые основания с  $pK_a \approx 9,5$  (для азота шестичленного ароматического кольца). Важной особенностью пуриновых и пиримидиновых оснований (за исключением аденина) является их способность к лактам-лактимной таутомерии. Так, урацил может находиться в форме как лактима, так и лактама:



Нужно отметить, что в большинстве случаев резонансная энергия амидной группы (или амидных групп) играет более значительную роль, чем резонансная стабилизация ароматического кольца, поэтому лактамная форма превалирует. В составе нуклеиновых кислот все оксопроизводные азотистых оснований находятся в форме лактамов. Таутомерное равновесие зависит от температуры, pH среды, свойств растворителя и степени связывания с белками и другими молекулами. Например, в нейтральной среде при pH 7,0 преобладает лактамная форма урацила. Таутомерия азотистых оснований играет важную роль в молекулярных механизмах функционирования нуклеиновых кислот, в частности, она является причиной некоторых мутаций.

Пуриновые и пиримидиновые основания интенсивно поглощают свет в УФ-области спектра благодаря наличию  $\pi$ -электронного сопряжения. Максимум поглощения лежит около 260 нм (для сравнения: у белков — около 280 нм). Положение максимума поглощения зависит от химического строения гетероцикла, т. е. от природы заместителей в гетероциклическом ядре. Важно отметить, что максимум поглощения незначительно зависит от структуры углеводного остатка, поэтому спектроскопические свойства азотистых оснований с успехом используются для количественного определения нуклеиновых кислот в растворах и биосредах, для ультрафиолетовой микроскопии живых тканей и для выявления мутагенных эффектов при УФ-облучении.

**Нуклеозиды и нуклеотиды.** В нуклеиновых кислотах пуриновые основания через 9-й атом цикла, а пиримидиновые — через 1-й атом цикла образуют **N-гликозидную связь** с пентозой (рибозой в РНК и дезоксирибозой в ДНК). Такие соединения, в которых азотистые основания связаны с

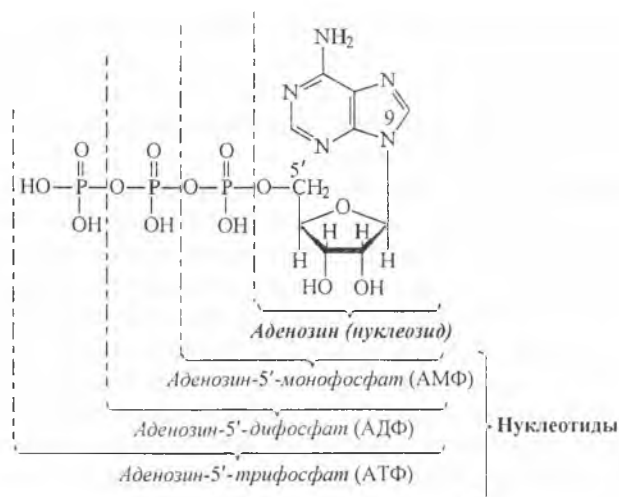


Рис. 8.1. Химическое строение нуклеозидов и нуклеотидов

рибозой или дезоксирибозой посредством N-гликозидной связи, называются **нуклеозидами**, а их эфиры с фосфорной кислотой — **нуклеотидами** (рис. 8.1).

Например, если аденин присоединен к рибозе, то образовавшееся соединение представляет собой нуклеозид **аденозин**. Если аденозин этерифицировать фосфорной кислотой в 5'-м положении, то образуется **5'-адениловая кислота** (аденозин-5'-монофосфат), если в 3'-м положении — то 3'-адениловая кислота (аденозин-3'-монофосфат). Фосфорная кислота может также этерифицировать углевод по 2'- или 3'-положениям. Кроме того, этерификация фосфорной кислотой приводит к образованию ди- и трифосфорных эфиров нуклеозидов, которые выполняют самостоятельную роль в обмене веществ и энергии в живых организмах. В результате образуются **нуклеозидди-** и **нуклеозидтрифосфаты**. Если в состав нуклеотида входит дезоксирибоза, то перед названием соответствующего нуклеотида ставится приставка **дезокси** (сокращенно «д-»), например д-АТФ — это дезоксиаденозин-5'-трифосфат. Номенклатура нуклеозидов и нуклеотидов отражена в табл. 8.1.

Таблица 8.1. Номенклатура нуклеозидов и нуклеотидов

Азотистые основания	Нуклеозиды	Нуклеотиды	Сокращенное обозначение нуклеотидов
Аденин	Аденозин	Аденозинмоно(ди-, три-)фосфат	АМФ, АДФ, АТФ
Гуанин	Гуанозин	Гуанозинмоно(ди-, три-)фосфат	ГМФ, ГДФ, ГТФ
Цитозин	Цитидин	Цитидинмоно(ди-, три-)фосфат	ЦМФ, ЦДФ, ЦТФ
Урацил	Уридин	Уридинмоно(ди-, три-)фосфат	УМФ, УДФ, УТФ
Тимин	Тимидин	Тимидинмоно(ди-, три-)фосфат	ТМФ, ТДФ, ТТФ

По сравнению с исходными азотистыми основаниями у нуклеотидов кислотно-основные свойства довольно сильно выражены, что объясняется легкой диссоциацией гидроксильных групп остатка (остатков) фосфорной кислоты в случае нуклеозидмонофосфатов (нуклеозидди- и нуклеотидтрифосфатов соответственно).

**Нуклеиновые кислоты.** *Нуклеиновые кислоты* представляют собой полинуклеотиды, построенные из мономеров — мононуклеотидов, число которых в молекуле колеблется от нескольких десятков до сотен миллионов. С помощью различных методов (химических, ферментативных, спектроскопических и др.) было доказано, что нуклеиновые кислоты всех типов живых организмов представляют собой линейные полимеры, имеющие неразветвленное строение. Такое описание нуклеиновых кислот может привести к представлению, будто нуклеиновые кислоты — это длинные одноцепочечные молекулы, однако в действительности эти молекулы представляют собой структуры со сложной пространственной организацией (см. ниже).

Роль соединительного мостика между нуклеотидами в молекулах нуклеиновых кислот выполняет 3',5'-фосфодиэфирная связь, соединяющая С-3'-атом пентозы одного нуклеотида с С-5'-атомом пентозы другого нуклеотида (рис. 8.2). Для удобства описания задается определенное направление полинуклеотидной цепи. Поскольку на одном из ее концов остается свободной 5'-ОН-группа (*начало цепи*), а на другом 3'-ОН-группа (*конец цепи*), то направление полинуклеотидной цепи записывают в виде 5' → 3'.

Нуклеиновые кислоты имеют сходство с белками в том, что из разных нуклеотидов (подобно аминокислотам) можно построить огромное количество нуклеиновых кислот, но в природе реализуются далеко не все возможные варианты.

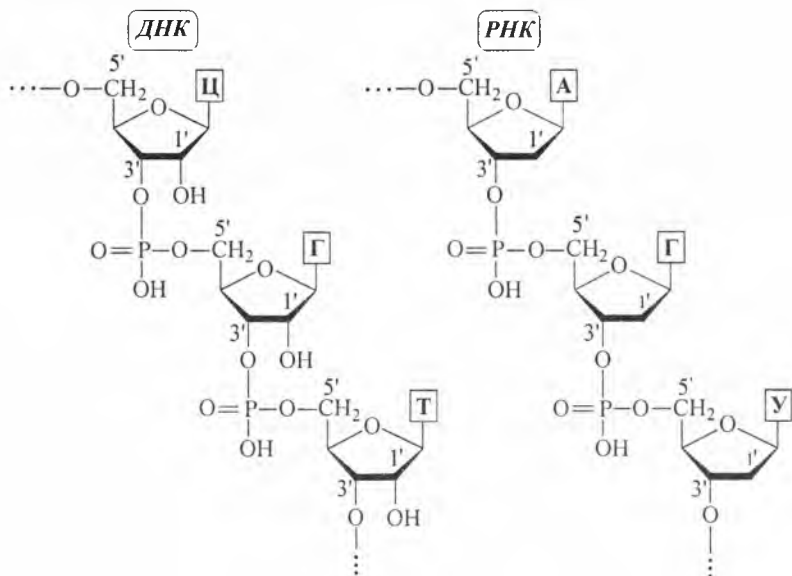


Рис. 8.2. Строение участков полинуклеотидной цепи ДНК и РНК

### 8.3. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛ ДНК

Как известно, основная биологическая роль ДНК сводится к хранению и передаче наследственной информации. Поэтому основное требование, которое природа предъявила к ДНК, заключается в стабильности ее молекулярной структуры в физиологических условиях, обеспечивающей сохранность генетической информации. Несомненно, это возможно при определенной пространственной организации молекул ДНК, исследование особенностей которой позволяет наиболее четко представлять механизмы функционирования нуклеиновых кислот *in vivo*.

**Первичная структура ДНК.** Последовательность чередования нуклеотидов в полинуклеотидной цепи ДНК составляет ее *первичную структуру*. Для обозначения последовательности первичной структуры полинуклеотидной цепи используют однобуквенные символы образующих ее нуклеотидов, которые идентичны символам соответствующих азотистых оснований.

Определение первичной структуры ДНК — крайне сложная и трудная задача, так как размеры молекул огромны и при этом она построена всего лишь из четырех типов нуклеотидов. Большие успехи в изучении структуры ДНК были достигнуты в результате работ Э. Чаргаффа с сотрудниками, которым впервые с помощью хроматографического метода (1950 г.) удалось определить нуклеотидный состав молекул ДНК, выделенной из различных природных объектов. Оказалось, что ДНК, выделенные из разных источников, существенно отличались по количественному нуклеотидному составу (табл. 8.2), но во всех случаях нуклеотидный состав молекул ДНК подчиняется универсальным закономерностям, которые получили название *правил Чаргаффа*. Вот эти правила:

#### *Правило 1-е*

Суммарное содержание пуриновых нуклеотидов равно суммарному содержанию пиримидиновых:

$$A + G = C + U + T.$$

#### *Правило 2-е*

Содержание тимина равно содержанию аденина:

$$T = A.$$

#### *Правило 3-е*

Содержание гуанина равно содержанию цитозина:

$$G = C.$$

#### *Правило 4-е*

Суммарное содержание аденина и цитозина равно суммарному содержанию гуанина и тимина:

$$A + C = G + T.$$

Такие соотношения не свойственны РНК.



Таблица 8.2. Нуклеотидный состав ДНК, выделенной из различных источников (в %)

Азотистое основание	Биологические объекты		
	печень человека	морковь	<i>E. coli</i>
А	30,0	26,7	23,8
Г	19,5	23,1	26,0
Ц*	19,9	23,2	26,4
Т	30,3	26,9	23,8
А/Т	1,00	0,99	1,00
Г/Ц	0,98	1,00	0,98
Пурины/Пиримидины	0,99	0,99	0,99

\* Включая 5-метилцитозин.

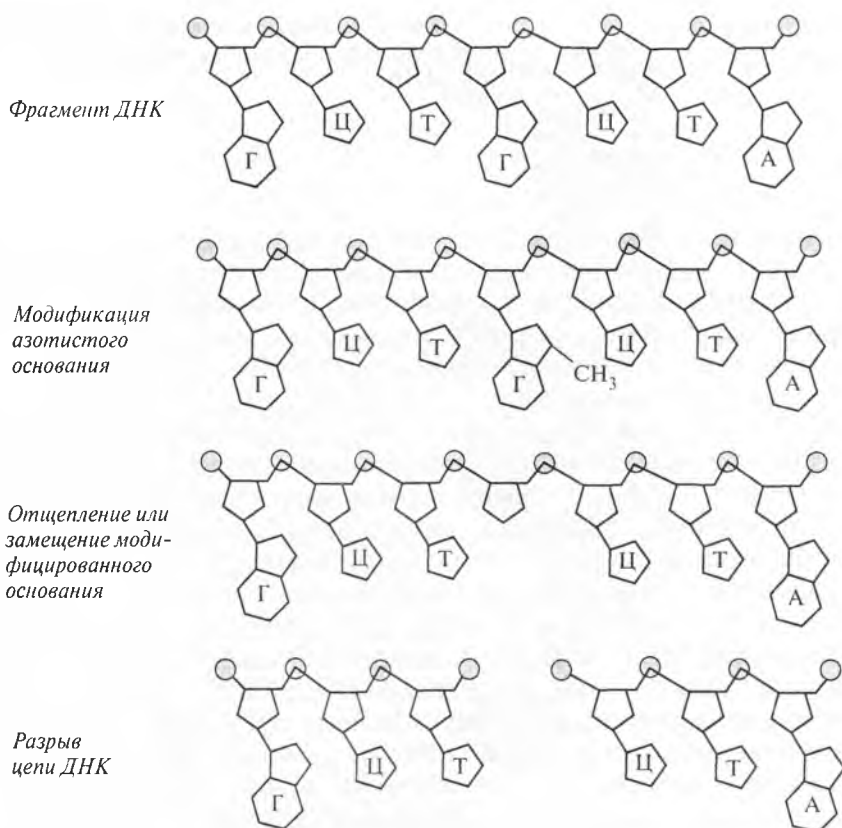
Отношение суммарного содержания гуанина и цитозина к суммарному содержанию аденина и тимина, характеризующее нуклеотидный состав данного вида ДНК, называют *коэффициентом специфичности*. Каждая ДНК имеет индивидуальный коэффициент специфичности, который, как правило, изменяется от 0,3 до 2,8.

При изучении нуклеотидного состава ДНК были получены данные, которые помогли установить ее пространственную структуру (см. ниже).

Наблюдавшийся в конце XX в. быстрый прогресс в различных областях молекулярной биологии во многом обусловлен появлением эффективных методов определения первичной структуры ДНК. К таким методам относится селективная химическая модификация различных типов азотистых оснований в составе ДНК с последующим расщеплением межнуклеотидных связей в модифицированных звеньях. Реакции селективной модификации по каждому типу азотистых оснований проводятся таким образом, чтобы в каждой молекуле ДНК в среднем модифицировалось только одно звено данного типа. Поскольку все звенья данного типа в составе молекулы эквивалентны и реагируют с модифицирующим агентом с одинаковыми скоростями, то в итоге каждое звено этого типа окажется частично модифицированным. Дальнейшая обработка ДНК вторичным амином или щелочью приводит к отщеплению модифицированных азотистых оснований от цепи ДНК и разрыву полинуклеотидной цепи в местах отщепления гетероциклов. Все перечисленные операции схематично представлены на рис. 8.3.

Кроме метода химической модификации нуклеиновых кислот в настоящее время широко применяется метод секвенирования ДНК с помощью высокоспецифичных ферментов — *рестриктаз* — на отдельные фрагменты, а также использование ДНК-полимеразы — фермента синтеза ДНК *in vivo* (см. главы 11 и 19).

Набор реакций, применяемых в настоящее время для химической модификации ДНК, достаточно велик, и его полное рассмотрение выходит за рамки материала настоящего пособия.



**Рис. 8.3.** Селективная химическая модификация азотистых оснований в молекуле ДНК

**Вторичная структура ДНК.** Расшифровка вторичной структуры ДНК — одно из крупнейших достижений молекулярной биологии и биохимии, благодаря которому был раскрыт механизм передачи наследственной информации в ряду поколений. В 1953 г. американский биохимик Д. Уотсон и английский физик Ф. Крик на основании большого числа экспериментальных данных (картины дифракции рентгеновских лучей на нити ДНК) предложили модель структуры молекулы ДНК, существующей в водном растворе. В основе модели Уотсона и Крика заложены следующие основные положения.

1. Молекулы ДНК построены из двух полинуклеотидных цепей, ориентированных антипараллельно и по всей длине связанных друг с другом водородными связями (причем в образовании водородных связей участвует каждый мононуклеотид).

2. Водородные связи между цепями образуются за счет специфических взаимодействий остатка аденина одной цепи с остатком тимина другой цепи (пара  $A \cdots T$ ) и остатка гуанина одной цепи с остатком цитозина другой цепи (пара  $G \cdots C$ ). Образование водородных связей в парах  $A \cdots T$  и  $G \cdots C$  показано на рис. 8.4. Основания, образующие пару, являются комплементарными друг другу в том смысле, что возникновение водородных

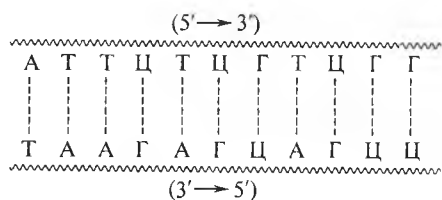


Рис. 8.4. Комплементарные пары азотистых оснований, стабилизирующие двойную спираль ДНК

связей между ними более вероятно, чем при других сочетаниях (например, Ас Г или Ас Ц). Комплементарность объясняется структурно-стерическими эффектами функциональных заместителей, которые имеют различное геометрическое расположение относительно плоскости гетероциклического кольца, а также пространственной структурой молекулы ДНК в целом.

3. Первичная структура одной цепи молекулы ДНК в составе двойной цепи комплементарна первичной структуре другой цепи. Это положение легко понять на примере схемы, приведенной на рис. 8.5. Если в положении  $n$  (считая с 5'-конца) первой цепи находится остаток аденина, то в положении  $n$  (считая с 3'-конца) второй цепи находится комплементарный ему остаток тимина, а не другое азотистое основание. То же относится к цитозину и гуанину. Таким образом, зная первичную структуру одной цепи ДНК и используя принцип комплементарности азотистых оснований, можно легко записать первичную структуру другой цепи.

4. Обе цепи закручены относительно общей оси в спираль — **двойная спираль**, или **дуплекс** (рис. 8.6). При этом цепи могут быть разделены только путем раскручивания; такие спирали называют **плектонемическими** (от лат. *plexus* — сплетение). Азотистые основания обращены внутрь спирали; их плоскости перпендикулярны оси спирали и параллельны друг другу, образуя внутри спирали стопку оснований. Между основаниями в этой стопке возникают гидрофобные или **стекинг**-взаимодействия, которые наряду с водородными связями способствуют стабилизации структуры двойной спирали в пространстве. Азотистые основания упакованы очень плотно и не контактируют с окружающим водным раствором.

Пентозофосфатные части располагаются по периферии, образуя ковалентный остов спирали с обращенными наружу гидрофильными фосфатными группами, как правило, ионизированными в условиях рН физиологических жидкостей. Именно взаимодействие гидрофильных пентозофосфатных групп с окружающим водным раствором определяет сте-

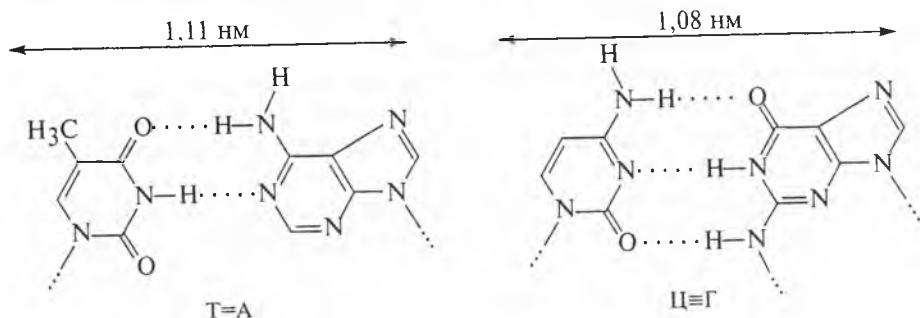
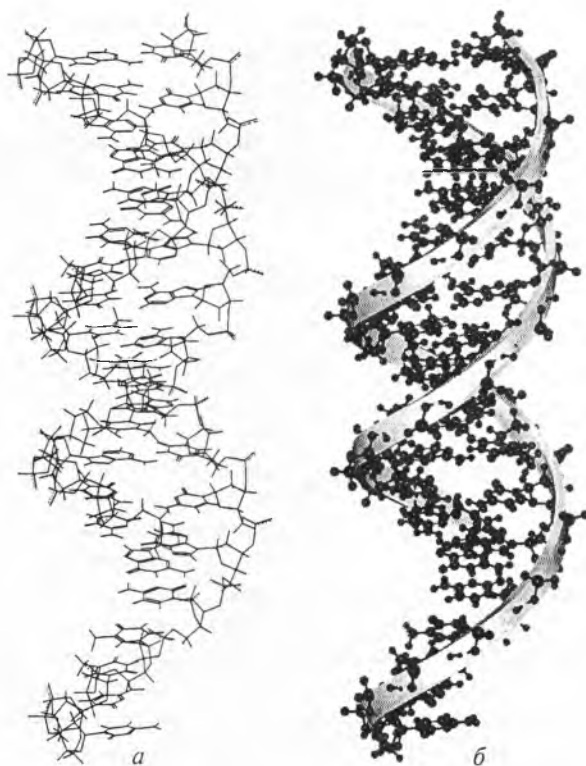


Рис. 8.5. Схема образования водородных связей между пуриновыми и пиримидиновыми основаниями в составе ДНК



**Рис. 8.6. Двойная спираль ДНК:**

*а* — скелетная модель; *б* — молекулярная модель

пень гидратации молекул ДНК. В зависимости от степени гидратации молекулы ДНК могут существовать в двух формах: А и В. А-Форма (кристаллическая) существует при условии, когда содержание воды не превышает 40 %, и образуется при дегидратации В-формы ДНК. Один оборот спирали ДНК в А-форме содержит примерно 11 нуклеотидов (рис. 8.7, *а*). В-Форма (паракристаллическая) представляет собой классическую уотсон-криковскую двойную спираль, содержащую примерно 10 нуклеотидов на один оборот спирали (рис. 8.7, *б*). Образование В-формы наблюдается в более разбавленных растворах, т. е. когда содержание воды превышает 40 %. Две эти формы отличаются не только числом нуклеотидов на один оборот спирали, но и другими структурными особенностями. Предположительно, *in vivo* преобладает В-форма ДНК. Обнаружена еще и Z-форма ДНК, модель которой была предложена А. Ричем и его сотрудниками. Z-Форма представляет собой левозакрученную двуспиральную ДНК, содержащую 12 нуклеотидов на один оборот спирали. Предполагается, что Z-форма ДНК участвует в процессе кроссинговера\* эукариот, а также в регуляции генной активности.

\* Кроссинговер (от англ. *crossingover* — перекрест) — взаимный обмен частями между парными (гомологичными) хромосомами, обуславливающий образование новых комбинаций генов — их рекомбинацию.

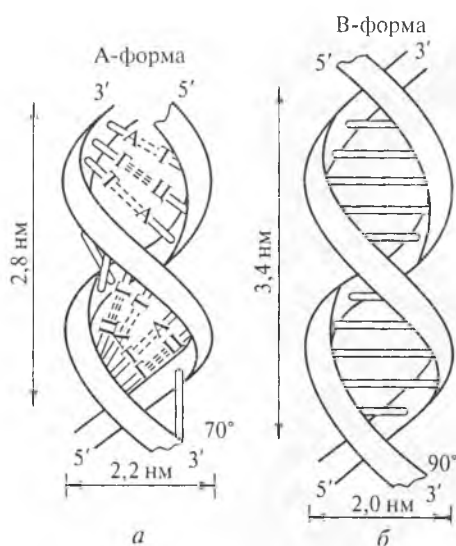


Рис. 8.7. А- и В-формы ДНК (а и б соответственно)

**Третичная структура ДНК.** В частицах вирусов, клетках бактерий и высших организмов молекулы ДНК плотно «упакованы» и образуют довольно сложные структуры. Например, в хромосоме *E. coli* содержится молекула ДНК длиной более 1 мм, хотя длина самой клетки не превышает 5 мкм. Вирусную ДНК можно отнести к сравнительно мелким полимерным биомолекулам, но если ее вытянуть, то она окажется во много раз длиннее, чем сам вирус. Сопоставление среднего диаметра молекулы гемоглобина (65 Å),

длины молекулы одного из самых длинных белков — коллагена (3000 Å) с длиной молекулы ДНК подчеркивает огромные размеры молекул нуклеиновых кислот. Для измерения длины молекул нуклеиновых кислот в биохимии введена специальная единица длины, равная 1000 пар нуклеотидов в случае двухцепочечных молекул нуклеиновых кислот — **т.п.н.** или **kb** (от англ. *kilobase* — тысяча) либо 1000 нуклеотидов в случае одноцепочечных молекул — **т.н.** или **kb**. Так, участок длины одноцепочечной ДНК величиной в 1 kb имеет контурную длину 0,34 мкм и массу около 660 000.

Выделенные из вирусных частиц молекулы ДНК имеют либо *линейную*, либо *кольцевую* форму. Линейные молекулы ДНК *in vivo* свертываются в *плотный клубок*. В таком состоянии они более устойчивы к деградации. Например, кольцевая форма ДНК находится в фаге φX174. Кольцевую ковалентно-связанную структуру имеют двухцепочечные ДНК бактерий, вирусов, плазмид, митохондрий и др. Двухцепочечные кольцевые ДНК

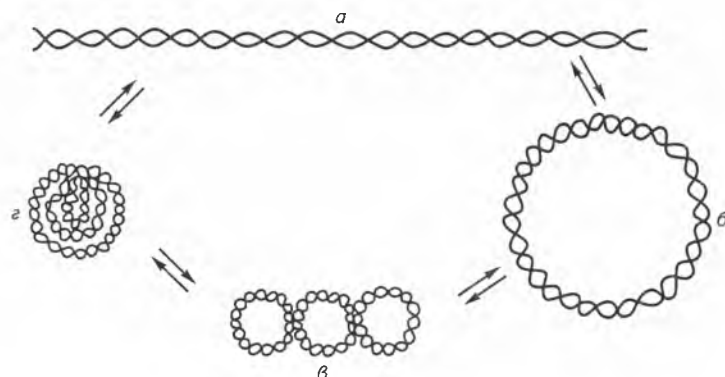


Рис. 8.8. Третичная структура молекул ДНК:

а — линейная; б — кольцевая; в — суперспирализованная (суперкольцевая); г — компактный клубок

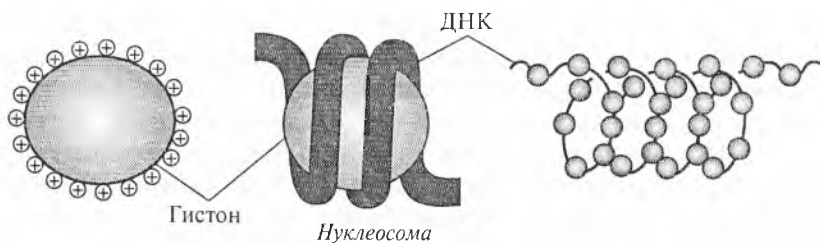


Рис. 8.9. Схема укладки молекул ДНК в нуклеосомах

легко переходят в *суперспирализованное состояние*, которое обеспечивает более плотную упаковку громадной молекулы ДНК в малом объеме ядра или клетки. Представление о возможных третичных структурах ДНК дает рис. 8.8.

Третичная структура ДНК эукариот также проявляется в многократной суперспирализации молекулы, однако в отличие от прокариот она осуществляется в составе комплексов ДНК с белками (нуклеопротеины). Основная нуклеопротеиновая структура, содержащая ДНК, — это *хроматин* (деоксирибонуклеопротеин). Структурная организация хроматина сложна и изучена далеко не полностью. Примерно  $\frac{2}{3}$  массы хроматина приходится на белки, остальное количество — на ДНК. Кроме того, в состав хроматина входит до 10 % РНК. Половина всех белков хроматина — это гистоны. На электронно-микроскопических фотографиях хроматина легко можно рассмотреть образования, напоминающие бусы. Каждая бусина содержит 8 молекул гистонов и намотанную на них (примерно полтора витка) молекулу ДНК длиной около 150 нуклеотидных пар. Такую структуру называют *нуклеосомой* (рис. 8.9). При таком способе укладки длина молекулы ДНК уменьшается примерно в 7 раз по сравнению с вытянутой спирализованной молекулой.

Длина молекул ДНК в среднем составляет около 3 — 5 см, а длина хромосом — всего несколько микрометров. Следовательно, степень укладки ДНК в хромосомах благодаря дополнительному скручиванию нуклеосомной нитки бус достигает нескольких тысяч. Высшие уровни укладки ДНК еще недостаточно хорошо изучены.

В препаратах ДНК, выделенных из природных объектов, в малых количествах обнаруживаются кремний, магний, кальций, стронций и ряд других микроэлементов, которые, по-видимому, участвуют в стабилизации пространственной структуры ДНК. Предполагают также, что в некоторых случаях кремний в форме кремниевой кислоты может заменять фосфатные остатки в молекуле ДНК, что, по-видимому, играет некую биологическую роль.

#### 8.4. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОЛЕКУЛ РНК

В связи с тем что молекулы РНК имеют одноцепочечную структуру, их состав в отличие от ДНК не подчиняется правилам Чаргаффа. Поэтому как вторичная, так и третичная структуры РНК не регулярны по

строению. Поскольку все РНК являются копиями одной из цепей ДНК, то копирование участков, содержащих *палиндромы*, т. е. последовательности нуклеотидов, повторяющиеся в обратном порядке, приводит к образованию так называемых «шпилек» в пространственной структуре РНК. Молекулы РНК в отличие от ДНК характеризуются большим структурным и функциональным разнообразием. По особенностям строения и выполняемым биологическим функциям различают три основных типа РНК, которые рассмотрены ниже.

**Рибосомные РНК (рРНК)** — компоненты рибосом. На долю рРНК приходится около 80 % всей РНК клетки. Обнаружено три вида рРНК: 28s-рРНК (*s* — коэффициент седиментации), молекулярная масса около 1,5 млн (содержит примерно 4000 нуклеотидных остатков); 18s-рРНК, молекулярная масса около 700 000; 5s-рРНК, молекулярная масса около 30 000 (примерно 100 нуклеотидных остатков). Молекула рРНК имеет вторичную структуру в виде спиральных участков, соединенных изогнутой одиночной цепью (рис. 8.10). Третичная структура рРНК имеет форму палочки или клубка и составляет скелет рибосомы. Снаружи на нее наниваются рибосомные белки.

**Транспортные РНК (тРНК)** составляют около 15 % всей клеточной РНК. Обнаружено около десятка видов тРНК, различающихся по первичной структуре. Молекулярная масса тРНК составляет около 25 000. Характерной особенностью тРНК является наличие в ней редких (минорных) оснований. Вторичная структура тРНК имеет вид «клеверного листа» (рис. 8.11).

Она образуется вследствие внутрицепочечного комплементарного спаривания нуклеотидов отдельных участков тРНК. Участки тРНК, не образующие водородных связей между нуклеотидами, в пространстве организованы в петли или в линейные звенья. В молекуле тРНК выделяют следующие участки: *акцепторный участок*, состоящий из 4 линейно расположенных нуклеотидов; *антикодонавая петля*, обычно образуемая 7 нуклеотидами; *псевдоуридиловая петля*, состоящая из 7 нуклеотидов и обязательно содержащая остаток псевдоуридиловой кислоты; *D-петля*, состоящая обычно из 8—10 нуклеотидных остатков, среди которых обязательно имеется несколько остатков дигидроурацила; *добавочная петля*, которая различна по размерам и составу у разных тРНК. Третичная структура тРНК уже имеет форму не клеверного листа, а *локтевого сгиба* (рис. 8.12), так как «лепестки» петель клеверного листа заворачиваются на «тело» молекулы, удерживаясь дополнительными внутримолекулярными вандерваальсовыми взаимодействиями.

Третичная структура тРНК уже имеет форму не клеверного листа, а *локтевого сгиба* (рис. 8.12), так как «лепестки» петель клеверного листа заворачиваются на «тело» молекулы, удерживаясь дополнительными внутримолекулярными вандерваальсовыми взаимодействиями.

**Матричные РНК (мРНК)** составляют около 2 % всей РНК клетки. Имеется огромное количество типов мРНК, которые различаются по первичной структуре. Причем такое разнообразие мРНК не меньше, чем чис-

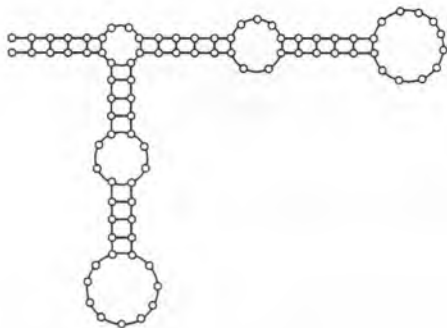


Рис. 8.10. Вторичная структура рРНК



Рис. 8.11. Вторичная структура тРНК

ло белков в организме. Вторичная структура мРНК представляет собой изогнутую цепь, а третичная подобна нити, намотанной на катушку, роль которой играет особый транспортный белок — *информофер*.

Суммирование знаний о функциях РНК позволяет говорить о необыкновенной многофункциональности этого биополимера в живой природе. Основные биохимические функции РНК сводятся к следующим.

1. *Генетическая репликативная функция*: структурная возможность копирования (репликации) линейных последовательностей нуклеотидов через комплементарные последовательности. Функция реализуется при вирусных инфекциях и аналогична главной функции ДНК в жизнедеятельности клеточных организмов — редупликации генетического материала.

2. *Кодирующая функция*: программирование белкового синтеза линейными последовательностями нуклеотидов. Это та же функция, что и у ДНК. И в ДНК, и в РНК одни и те же триплеты нуклеотидов кодируют 20 аминокислот белков, и последовательность триплетов в цепи нуклеиновой кислоты есть программа для последовательной расстановки 20 видов аминокислот в полипептидной цепи белка.

3. *Структурная функция*: формирование уникальных трехмерных структур. Компактно свернутые молекулы малых РНК принципиально подобны трехмерным структурам глобулярных белков, а более длинные молекулы РНК могут образовывать и более крупные биологические частицы или их ядра.

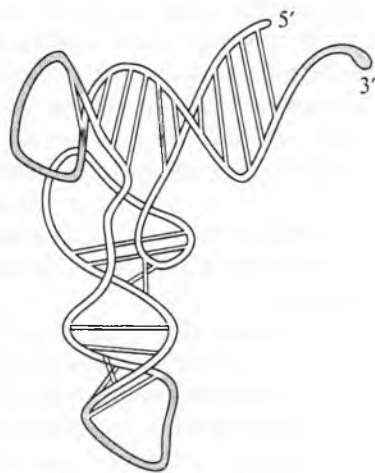


Рис. 8.12. Третичная структура тРНК



4. *Функция узнавания*: высокоспецифические пространственные взаимодействия с другими макромолекулами (в том числе белками и другими РНК) и с малыми лигандами. Эта функция, пожалуй, главная у РНК. Она основана на способности полимера сворачиваться уникальным образом и формировать специфические трехмерные структуры. Функция узнавания является также базой для специфического катализа.

5. *Каталитическая функция*: специфический катализ химических реакций рибозимами. Данная функция аналогична каталитической функции белков-ферментов.

В целом РНК способна выполнять функции обоих принципиально важных для жизни биополимеров — ДНК и белков. Поэтому неудивительно, что перед современной наукой встал вопрос: а не могли ли возникновение и самодостаточное существование мира РНК предшествовать появлению жизни в ее современной ДНК-белковой форме?

## 8.5. ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ПОЛИНУКЛЕОТИДОВ

Вопросы разработки методов синтеза олиго- и полинуклеотидов в последнее время привлекают большое внимание исследователей. Это связано с тем, что синтетические олигонуклеотиды стали использоваться для идентификации фрагментов природных нуклеиновых кислот, изучения их химических свойств, а также как инструмент исследования в молекулярной биологии и молекулярной генетике (для расшифровки генетического кода, функционирования генома, процессов взаимодействий нуклеиновых кислот с белками, в том числе ферментами нуклеинового обмена, антибиотиками и т. д.).

При разработке методик химического синтеза полидезоксирибо- и полирибонуклеотидов перед химиками-синтетиками встают те же проблемы, что и в синтезе полипептидов. Подбор условий оптимального синтеза направлен на достижение высоких выходов на отдельных стадиях в цепи последовательных превращений, включающих процессы: запрограммированного наращивания полинуклеотидной цепи; введения на каждой из стадий защитных групп для предотвращения побочных реакций; конденсации и деблокирования. Например, в синтезе рибонуклеотидов часто требуется блокировать одну из вторичных гидроксильных групп в положении 2', что делает возможным селективное фосфорилирование соседней вторичной гидроксильной группы в положении 3'. Рассмотрим теоретические основы некоторых приемов, используемых в синтезе полинуклеотидов.

Блокирование аминогруппы аденина, гуанина или цитозина может оказаться необходимым для предотвращения образования фосфамидов при фосфорилировании. В настоящее время для блокирования аминогрупп азотистых оснований используют ацильную, N-диметиламинометиленовую и другие группы. Блокирование гидроксильной группы пентозы наиболее важно для сведения к минимуму выхода побочных продуктов и изомеров. С этой целью используют монометокситритильную, ацильную, *трет*-бутилдиметилсилильную, тетрагидропиранильную и

другие защитные группы. Блокирование фосфатных групп осуществляется введением 2,2,2-трихлорэтильной, ароматических (остатков фенола, *o*-фенола, анилина) и других групп. После завершения реакции синтеза защитные группы можно удалить в мягких условиях, не затрагивающих целостности фосфодиэфирной связи.

Образование фосфодиэфирной связи — термодинамически невыгодный процесс, поэтому для его осуществления необходимо сначала перевести нуклеотиды в активное состояние, а затем ввести конденсирующий агент, способный активировать фосфатную группу. Чаще всего исходными соединениями при образовании фосфодиэфирной связи служат нуклеозид-3'-фосфат и нуклеозид со свободной 5'-ОН-группой. В этом случае фосфорилируется более реакционноспособная первичная гидроксильная группа. Для фосфорилирования нуклеозидов, как правило, применяют хлорфосфаты.

Твердофазный синтез олигонуклеотидов не достиг такого же высокого уровня, как твердофазный синтез полипептидов, из-за проблем, связанных с подбором подходящей нерастворимой матрицы. Практическим стимулом для развития твердофазного синтеза полидезоксирибонуклеотидов послужило их промышленное использование в генной инженерии, т. е. в технологии рекомбинантных ДНК (см. главу 19).

## 8.6. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Уникальные биохимические и физико-химические свойства нуклеиновых кислот определяются их высокой молекулярной массой, особенностями химического состава и структурной организации на различных уровнях надмолекулярного строения.

Среди характерных физико-химических свойств нуклеиновых кислот (и их растворов) следует выделить самые главные: *кислотно-основные свойства, хелатирующую способность, способность к денатурации; оптические, коллоидные, осмотические свойства и высокую вязкость растворов*. Кроме того, нуклеиновые кислоты в среде живой клетки могут находиться в жидкокристаллическом состоянии, что является крайне важным при описании их биохимических свойств.

При растворении в воде нуклеиновые кислоты набухают и образуют вязкие растворы коллоидного типа. Растворимость нуклеиновых кислот главным образом определяется гидрофильностью фосфатных групп, а также особенностями надмолекулярной упаковки.

**Кислотно-основные свойства.** В физиологических условиях среды ( $\text{pH} \approx 7,4$ ) фосфатные группы в молекулах ДНК и РНК полностью ионизированы, поэтому в условиях внутренней среды живых организмов нуклеиновые кислоты существуют в форме полианионов, так как имеют множество отрицательно заряженных групп.

Фосфатные группы нуклеиновых кислот сильно полярны и характеризуются значениями  $\text{p}K^1 < 2$ . Поверхность нуклеиновых кислот в целом

несет отрицательный заряд, так как внешние фосфатные группы полностью ионизированы уже при рН 4 (рН внутриклеточной среды близок к нейтральному значению). Именно поэтому нуклеиновые кислоты склонны к взаимодействию с полиаминами, у которых между атомами азота содержатся две или три метиленовые группы. Большой интерес вызывает кислотно-основное взаимодействие нуклеиновых кислот с белками, в результате которого, собственно, и формируются сложные белки — нуклеопротеины. Особенно эффективными оказываются взаимодействия нуклеиновых кислот с белками, имеющими основной характер ( $pI > 8$ ), так как в биосредах суммарный заряд этих белков положителен. Как уже отмечалось ранее, ДНК образует комплексы с гистонами, входящими в состав хромосом. Гистоны электростатически взаимодействуют с отрицательно заряженными фосфатными группами, расположенными по периферии двойной спирали ДНК, и образуют достаточно прочный комплекс, в котором ДНК оказывается стабилизированной дополнительно. Вследствие изменения ионного состава среды, в которой находится данный комплекс, может происходить дестабилизация ДНК, чем и определяется регуляторная роль гистонов в функционировании генома.

Надо отметить, что кислотно-основные свойства нуклеиновых кислот обусловлены не только наличием в них фосфатных групп, но и присутствием азотистых оснований. Кислотно-основные свойства гетероциклических оснований влияют главным образом на состояние и прочность водородных связей и стэкинг-взаимодействий, стабилизирующих вторичную структуру ДНК.

**Хелатирующая способность.** В водных растворах нуклеиновые кислоты проявляют свойства активных полидентатных лигандов. Полидентатность нуклеиновых кислот обусловлена наличием ионизированных фосфатных групп и полярных групп азотистых оснований (карбонильных, имино- и др.), способных к образованию координационных связей с катионами металлов. С помощью ионизированных фосфатных групп нуклеиновые кислоты хелатируют катионы щелочных и щелочноземельных металлов, причем с катионами щелочных металлов нуклеиновые кислоты образуют лабильные, а с катионами щелочноземельных металлов ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) — более прочные комплексы. За счет взаимодействия с полярными группами азотистых оснований нуклеиновые кислоты образуют достаточно стабильные комплексы с катионами *d*-металлов (см. также главу 4).

**Способность к денатурации.** Все внешние факторы, которые приводят к ослаблению или нарушению водородных связей или стэкинг-взаимодействий, вызывают денатурацию нуклеиновых кислот. При этом происходит нарушение вторичной и третичной структуры нуклеиновых кислот, но сохраняется первичная структура молекул (рис. 8.13). Факторы, вызывающие денатурацию нуклеиновых кислот, абсолютно те же, что и факторы, приводящие к денатурации белков, но интенсивность денатурирующего действия конкретного фактора в случае нуклеиновых кислот может быть иной. При денатурации ДНК ее двойная спираль полностью или частично разделяется (раскручивается) на составляющие цепи.

Контроль за процессом денатурации ДНК можно осуществлять с использованием ряда методов. Чаще всего измеряют поглощение в УФ-об-

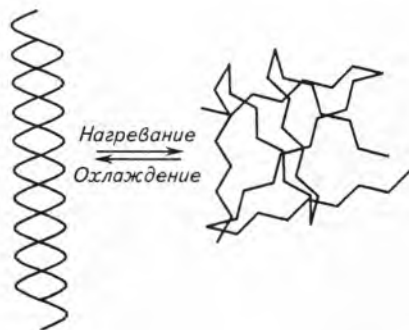


Рис. 8.13. Изменение вторичной структуры ДНК в процессе денатурации

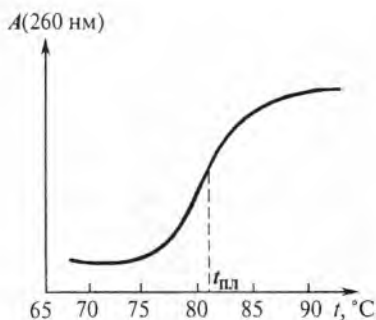
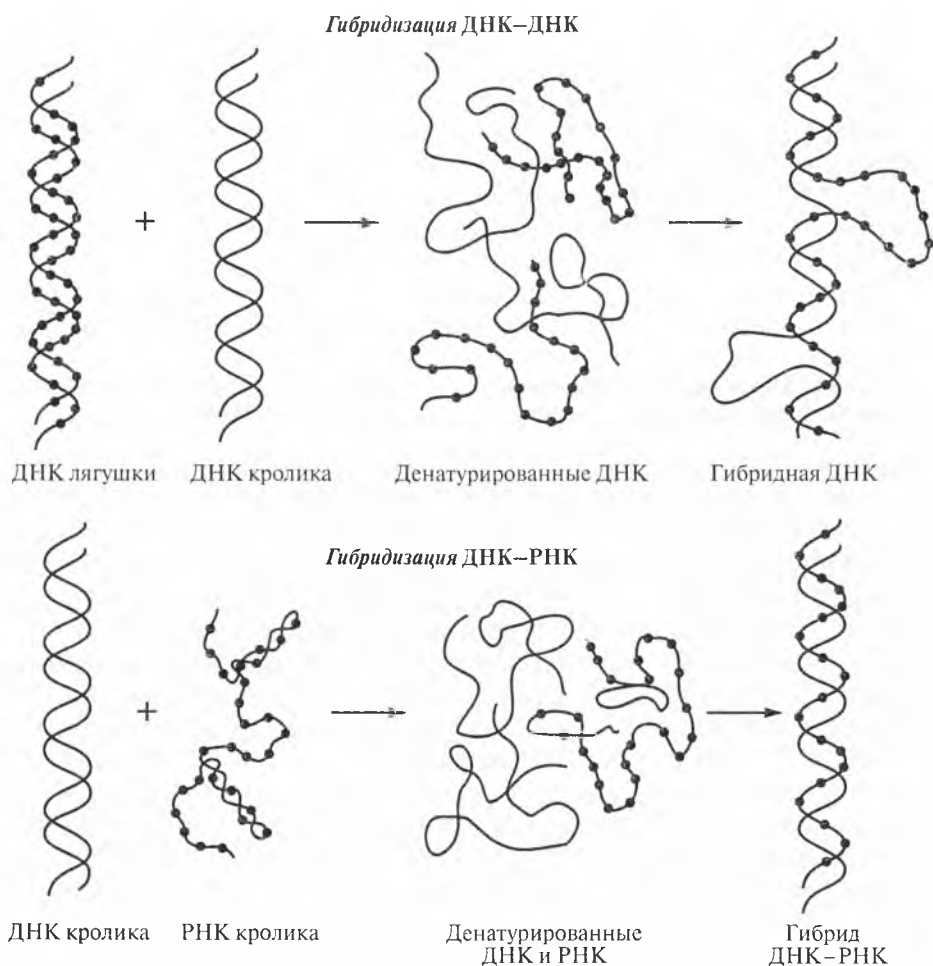


Рис. 8.14. График денатурации (плавления) ДНК

ласти спектра. Интенсивность поглощения света пуриновым и пиримидиновым основаниями зависит от того, присутствуют ли они в свободном состоянии или входят в состав полинуклеотидов. При образовании двухспиральной структуры ДНК интенсивность поглощения света каждым основанием уменьшается (гипохромный эффект). Разрушение двухцепочечной спирали ДНК при денатурации вызывает увеличение интенсивности поглощения УФ-света пуриновыми и пиримидиновыми основаниями (гиперхромный эффект). Если относительное поглощение при 260 нм отложить по оси ординат, а температуру (как фактор денатурации) — по оси абсцисс, то получается S-образная кривая (рис. 8.14). Она показывает, что при нагревании ДНК ведет себя подобно кристаллам: двухцепочечная молекула «расплетается» на составляющие ее цепи *в пределах небольшого температурного интервала*. Поэтому денатурацию ДНК нередко называют *плавлением*, а температуру, при которой ДНК денатурирована на 50 %, — температурой плавления  $T_{пл}$ . Нужно отметить, что  $T_{пл}$  зависит от относительного содержания пар гуанин — цитозин и аденин — тимин, поскольку первая пара более прочная. S-Образные профили плавления показывают, что денатурация ДНК — процесс кооперативный, т. е. каждое предшествующее изменение повышает вероятность последующего. Так, если в определенном месте спирали происходит нарушение водородных связей, то это приводит к нарушению стэкинг-взаимодействий, что облегчает разрыв последующих водородных связей, и т. д.

Так как при денатурации нуклеиновых кислот их первичная структура сохраняется, то данный процесс может иметь обратимый характер. На способности нуклеиновых кислот восстанавливать свою нативную конформацию после денатурации (*ренативация*) основан чрезвычайно важный метод определения степени гомологичности, или родственности, нуклеиновых кислот. Этот метод называют *молекулярной гибридизацией*. Сущность этого метода (рис. 8.15) сводится к следующему: сначала смешиваются растворы ДНК, выделенных из организмов разного вида (например, лягушки и кролика); затем эти растворы нагревают (для денатурации ДНК), а потом охлаждают. При этом возникают двухспиральные структуры разного состава: наряду с двухспиральными молекулами, идентичными исходным ДНК, могут образовываться гибридные ДНК, содер-



**Рис. 8.15. Молекулярная гибридизация ДНК–ДНК и ДНК–РНК**

жащие одну полинуклеотидную цепь из ДНК лягушки, а другую — из ДНК кролика. Такие гибридные молекулы несовершенны: спирализованные участки в них чередуются с неспирализованными, в которых полинуклеотидные цепи не комплементарны друг другу. Изучение гибридизации ДНК — ДНК позволило биологам сделать вывод, что первичная структура ДНК характеризуется видовой специфичностью.

Сходным образом может происходить гибридизация ДНК — РНК: в этом случае гибридная структура содержит одну дезоксирибонуклеотидную цепь и одну рибонуклеотидную. При гибридизации ДНК и РНК, выделенных из одного и того же организма, образуются совершенные гибриды. Иначе говоря, вся РНК организма комплементарна ДНК того же организма. Это означает, что все соображения относительно видовой специфичности ДНК в равной степени применимы и к РНК.

**Жидкокристаллическое состояние нуклеиновых кислот.** Для нуклеиновых кислот характерна определенная ориентационно-пространственная

организация нуклеотидов, каждый из которых анизотропен, причем при образовании комплементарной пары азотистых оснований в полинуклеотидной цепи анизотропные свойства усиливаются. Следовательно, при описании свойств двойной спирали ДНК роль анизотропии становится весьма существенным фактором. Для крупных молекул ДНК, молекулярная масса которых достигает  $10^9$ , вполне естественно, что в растворе отдельные фрагменты молекулы могут находиться в жидкокристаллическом состоянии. Число таких фрагментов и их ориентация в пространстве сильно влияют на состояние ДНК в клетке и на ее биологические функции.

Кроме того, различные жидкокристаллические состояния могут формироваться в системах полинуклеотиды — вода или нуклеопротеины — вода. В таких системах могут происходить множественные переходы из одного жидкокристаллического состояния в другое, которые будут изменять биологические функции системы в целом под действием направленного поля или самопроизвольно. В настоящее время установлено, что жидкокристаллические состояния нуклеиновых кислот или их молекулярных комплексов с белками играют важную роль в процессах передачи наследственной информации и биосинтеза новых нуклеиновых кислот и белков на молекулярном уровне.

Заканчивая рассмотрение физико-химических свойств нуклеиновых кислот, следует отметить последние данные об электрической проводимости ДНК. До настоящего времени этот вопрос неоднократно поднимался в научной литературе, но различные эксперименты давали противоречивые результаты. Последние исследования показали, что при определенных условиях ДНК хорошо проводит ток. Оказалось, при температуре выше 1 К сопротивление одной молекулы ДНК составляет около 100 кОм, а при охлаждении ниже 1 К в ДНК возникает так называемая замещающая сверхпроводимость, связанная с потоком «дырок» и электронов, при этом сопротивление ДНК резко уменьшается. К сожалению, до сих пор природа этого явления остается для ученых загадкой.

## 8.7. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И НУКЛЕОТИДОВ

Нуклеиновые кислоты, прежде всего ДНК, являются материальными носителями наследственной информации и определяют видовую специфичность организма, сложившуюся в ходе биологической эволюции. Важно уяснить, что носителями наследственной (генетической) информации являются именно пуриновые и пиримидиновые основания, подобно тому, как боковые заместители аминокислот определяют пространственное строение и функциональные свойства белков. Сочетания трех рядом стоящих нуклеотидов в цепи ДНК называются *триплетами оснований*, или *кодонами*. Сумма всех кодонов ДНК составляет *генетический код* (см. главу 12). Молекула ДНК организована в клетке в структурные единицы — *гены*. Гены, в свою очередь, локализованы в хромосомах, которые находятся в ядре животных или растительных клеток. Именно ген содержит информацию, определяющую фенотипический признак орга-

низма: цвет глаз и волос, рост, пол и др. Вся совокупность ДНК, содержащихся в клетке, называется **геномом**. Наука, объектом исследования которой является совокупность всей наследственной информации организма, т. е. наука о геноме, называется **геномикой**. В последнее время эта наука претерпевает бурное развитие.

Количество генов в геноме человека оценивается в 100 000. Размеры генома и число генов в различных организмах приведены в табл. 8.3. Нужно отметить, что большинство генов из генома «молчит» (у человека примерно  $\frac{4}{5}$  общего количества генов неактивны), т. е. не кодирует молекулярные процессы, жизненно необходимые для клетки и организма в целом.

**Таблица 8.3. Размеры геномов и число генов в различных организмах**

Вид (организм)	Размер генома (млн пар оснований)	Предполагаемое число генов
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0,53	482
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,83	727
<i>Escherichia coli</i> (бактерия)	4,72	4307
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (дрожжи)	12,50	6000
<i>Caenorhabditis elegans</i>	100	13 100
<i>Arabidopsis thaliana</i>	150	20 000
<i>Oryza sativa</i> (рис)	430	30 000
<i>Sorghum bicolor</i>	760	30 000
<i>Zea mays</i> (кукуруза)	2,00	30 000
<i>Triticum aestivum</i> (пшеница)	16,00	30 000
<i>Homo sapiens</i> (человек)	3,00	100 000

Генетическая информация передается от родительской клетки к дочерней путем **репликации** — точного воспроизведения ДНК *in vivo*. Генетическая информация, заложенная в ДНК, в процессе **транскрипции** «переписывается» в полинуклеотидную последовательность мРНК. Матричная РНК, в свою очередь, взаимодействует с соответствующими специфическими аминоксил-тРНК, в результате чего происходит последовательное присоединение аминокислот. Перевод генетической информации из РНК в специфическую аминокислотную последовательность белка называется **трансляцией**.\*

Схематически процесс передачи генетической информации представлен на рис. 8.16. Механизмы репликации, транскрипции и трансляции рассматриваются в главах 11 и 12.

\* Термины репликации, транскрипции и трансляции можно легко усвоить, если провести аналогию с процессом создания книги. При печатании тиража в типографии готовят много копий, или реплик (**репликация**). Если из книги переписывают отрывок, это соответствует **транскрипции**. Если книга написана на другом языке, ее переводят (**трансляция** от нуклеотидов к аминокислотам).

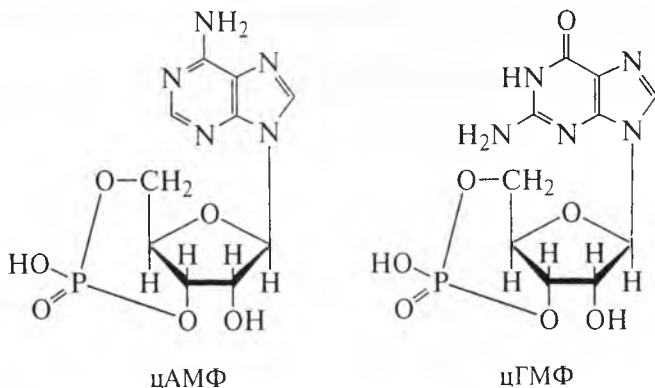
Хотелось бы особо отметить важную биологическую роль *аденозинтрифосфорной кислоты* (АТФ), которая является универсальным «хранилищем» химической энергии, обеспечивая тем самым практически все процессы синтеза ряда биологически активных веществ *in vivo* (см. главу 10). В сущности, везде, где есть жизнь, присутствует и АТФ. После смерти организма синтез АТФ прекращается, и молекулы данного соединения претерпевают ряд химических превращений до инозинмонофосфата (ИМФ) — вещества, вкус которого слегка напоминает вкус мяса.

Ангидридная структура трифосфатной цепи АТФ обуславливает ее высокую энергоемкость, а нуклеозидная часть молекулы служит для связывания с различными ферментами. Более простые производные фосфорной кислоты, имеющие ангидридную природу (например, ацетилфосфат, дифосфат), наряду с АТФ характеризуются повышенной энергоемкостью. Реакционную способность и повышенную энергоемкость ангидридов можно объяснить конкуренцией фосфорильной и карбонильной групп за несвязанные электроны одного и того же атома кислорода. В результате гидролиза такая конкуренция ослабляется, что приводит к большей стабилизации. Для ангидридов фосфорной кислоты образование продуктов гидролиза выгодно потому, что при этом уменьшается электростатическое отталкивание между отрицательными зарядами в ди- и трифосфатной цепи. Молекула АТФ способна передавать свою потенциальную энергию множеству других биологически важных соединений. Так, например, энергия образования пептидной связи *in vivo* обеспечивается за счет энергии АТФ.

Следует также подчеркнуть важную роль циклических нуклеотидов 3',5'-циклоаденозинмонофосфата (цАМФ) и 3',5'-циклогуанозинмонофосфата (цГМФ), которая состоит в регуляции межклеточных процессов коммуникации (см. главу 9):



Рис. 16. Схема переноса генетической информации



Межклеточная коммуникация осуществляется главным образом по нескольким механизмам, заключающимся в передаче электрических



импульсов в нервной системе (см. главу 16) и в передаче информации через химических посредников, роль которых выполняют гормоны и нейромедиаторы. Всегда в регуляции этих процессов в большей или меньшей степени принимают участие циклические нуклеотиды, которые синтезируются из высокоэнергетических предшественников (АТФ, ГТФ) с участием ферментов *аденил-* и *гуанилциклаз*. На любой из названных выше процессов цАМФ и цГМФ влияют противоположным образом: если цАМФ прекращает реакцию, то цГМФ эту реакцию стимулирует. Следует пояснить, что циклофосфатное кольцо в цАМФ и цГМФ — это высокоэнергетическая структура; изменение свободной энергии при гидролизе этих соединений в физиологических условиях (приблизительно на 12,5 кДж/моль) отличается от соответствующей величины для нециклических форм.

## Контрольные вопросы и задания

1. Перечислите основные исследования, результаты которых способствовали выяснению химического строения и биологических функций нуклеиновых кислот.
2. Какие соединения образуются в результате полного кислотного гидролиза нуклеиновых кислот? В чем заключается основное различие химического строения ДНК и РНК?
3. Производными каких органических соединений являются азотсодержащие гетероциклические основания, входящие в состав нуклеиновых кислот?
4. В чем заключается отличие молекул РНК от молекул ДНК по качественному составу азотистых оснований?
5. Перечислите известные вам главные и минорные азотистые основания, входящие в состав нуклеиновых кислот.
6. Какими особенностями химического строения и физико-химических свойств обладают пуриновые и пиримидиновые основания?
7. Какие соединения называют нуклеозидами, а какие — нуклеотидами?
8. Сформулируйте правила Чаргаффа.
9. Какие положения легли в основу модели вторичной структуры ДНК Уотсона и Крика?
10. В чем состоят различия в структуре А-, В- и Z-форм ДНК?
11. В чем заключаются особенности «упаковки» молекул ДНК в клетках? Перечислите основные виды третичной структуры ДНК.
12. Расскажите о структурно-функциональной организации РНК.
13. Охарактеризуйте физико-химические свойства нуклеиновых кислот.
14. Какие факторы вызывают денатурацию нуклеиновых кислот и с помощью каких методов и подходов исследуется процесс денатурации ДНК?
15. На чем основан метод молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот и каково значение он имеет для биологических исследований?
16. Сформулируйте основные биологические функции ДНК и РНК.
17. В чем заключается роль АТФ и циклических нуклеотидов в биохимических процессах?

# Глава 9

## Гормоны

### 9.1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ГОРМОНАХ

Учение о гормонах выделено в самостоятельную науку — *эндокринологию*, которая, в частности, занимается изучением химического строения и молекулярных механизмов действия веществ, выступающих в роли интеграторов и регуляторов процессов метаболизма в живых организмах. Такие вещества называются *гормонами*.

**Гормоны** — это жизненно необходимые соединения, синтезируемые в клетках желез внутренней секреции и активно влияющие на все виды метаболических процессов в живых организмах.

Термин *гормон* (от греч. *hormao* — возбуждаю, привожу в движение) был введен в 1905 г. У. Бэйлиссом и Э. Старлингом при описании действия *секретина* — вещества, синтезируемого двенадцатиперстной кишкой и стимулирующего выделение сока поджелудочной железой.

Можно выделить три уровня регуляции метаболизма (рис. 9.1), обеспечивающие тонкое согласование всех биохимических процессов в организме. Организм очень чутко реагирует на все сигналы и изменения внешней и внутренней сред за счет последовательного протекания цепи разнообразных химических реакций. Такая последовательность строго регулируется нервной и эндокринной системами, причем гормоны в этой регуляции занимают промежуточное место между центральной нервной системой (ЦНС) и действием ферментов.

Установлено, что гормоны оказывают специфическое действие тремя способами:

- 1) воздействуют на скорость биосинтеза ферментов и других белков;
- 2) изменяют скорость ферментативных реакций;
- 3) влияют на проницаемость клеточных мембран по отношению к различным соединениям.

Гормоны синтезируются и секретируются клетками желез внутренней секреции (эндокринными железами), которые имеются у всех позвоночных животных, а также у высокоразвитых беспозвоночных — головоногих моллюсков, ракообразных, насекомых. Клетки эндокринных желез окружены сетью кровеносных и лимфатических капилляров. Поэтому секретируемые клетками эндокринных желез гормоны поступают в кровь (или гемолимфу) и быстро оказывают свое высокоспецифическое действие на определенные органы и ткани. Это отличает *эндокринные железы* от *экзокринных желез*, выделяющих свои секреты через выводные протоки.

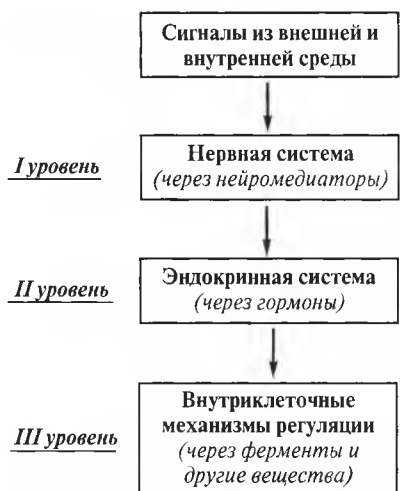


Рис. 9.1. Иерархия регуляторных систем

Каждый из гормонов влияет на метаболические процессы в сложном взаимодействии с другими гормонами; в целом гормональная система и ЦНС совместно обеспечивают жизнедеятельность организма как единого целого в условиях окружающей среды. По этому поводу биохимиками сформулирован постулат: «*гормоны — дирижеры жизни*», который можно сопоставить с аналогичным тезисом для ферментов: «*ферменты — эликсиры жизни*».

Особенности специфики биохимического действия гормонов на органы и ткани организма можно сформулировать следующим образом:

1) *дистанционность действия* — гормоны, как правило, регулируют обмен и функции клеток на значительном расстоянии от места их синтеза;

2) *строгая специфичность действия* — даже очень близкие по химической структуре аналоги гормонов не дают нужного биологического эффекта (проявление структурной комплементарности);

3) *высокая биологическая активность* — гормоны действуют при ничтожно малых концентрациях в жидкостях организма ( $10^{-6} — 10^{-12}$  моль/л);

4) *относительно небольшой период полужизни* (обычно менее часа) — в результате этого эффективное действие гормонов, направленное на поддержание определенного состояния организма, возможно лишь при непрерывном синтезе и секреции их в течение всего требуемого времени.

Нужно отметить, что отдельные группы клеток вырабатывают *гормоны местного действия*, которые влияют на биохимические реакции, протекающие непосредственно в месте их образования. Такие гормоны часто называют *гормонаоидами* или *парагормонами* (*гистамин, серотонин, брадикинин* и др.). К числу парагормонов относятся также *простагландины*.

Важно отметить, что ни один гормон не осуществляет ни ферментативных, ни коферментных функций, т. е. действие гормонов сводится к регуляции уже имеющихся биохимических процессов.

Химическое строение практически всех обнаруженных в организмах гормональных веществ к настоящему времени изучено в деталях. Исходя из химического строения, гормоны млекопитающих можно разделить на три группы: 1) *пептидные и белковые*; 2) *производные аминокислот*; 3) *стероидные*.

По локализации биосинтеза в организме различают *гипофизарные, гипоталамические, половые гормоны, кортикостероиды* (гормоны коры надпочечников), *гормоны щитовидной железы* (тиреоидные гормоны) и т. д.

Поскольку большая часть гормонов является сложными по структуре соединениями, их химические названия довольно громоздки. В связи с этим, как правило, используют тривиальные названия гормонов, которые отражают их биологическую функцию (пролактин, вазопрессин) или

указывают на источник синтеза гормона (инсулин от лат. *insula* — островок).

Ниже приведена классификация гормонов по их химическому строению:

Пептидные и белковые гормоны	Производные аминокислот	Стероидные гормоны
Кортикотропин	Адреналин	Альдостерон
Соматотропин	Норадреналин	Кортизол
Тиротропин	Трииодтиронин	Тестостерон
Пролактин	Тироксин	Эстрадиол
Лютропин		Прогестерон
Окситоцин		Кальцитриол
Паратгормон		
Кальцитонин		
Инсулин		
Глюкагон		

## 9.2. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ

Как уже отмечалось выше, гормоны служат химическими посредниками, переносящими соответствующую информацию (сигнал) от ЦНС к строго определенным и высокоспецифичным *клеткам-мишеням* соответствующих органов или тканей. Узнающими центрами клеток-мишеней, с которыми связывается гормон, являются высокоспецифичные рецепторы. Роль таких рецепторов, как правило, выполняют гликопротеины, специфичность которых обусловлена природой углеводного компонента. Рецепторы большинства гормонов (белковых и производных аминокислот) находятся в плазматической мембране клеток.

Рассмотрим основные биохимические события, обеспечивающие перенос сигналов от ЦНС к органам и тканям (рис. 9.2).

Под влиянием раздражителей в ЦНС возникают сигналы — нервные импульсы, которые затем поступают в гипоталамус или через спинной мозг в мозговое вещество надпочечников. В гипоталамусе синтезируются первые гормоны «дистанционного» действия — так называемые *нейрогормоны*, или *рилизинг-факторы* (от англ. *release* — освобождать). Затем нейрогормоны достигают гипофиза, где регулируют (усиливают или тормозят) выделение *тропных гормонов*, которые, в свою очередь, контролируют процессы синтеза гормонов периферическими железами. Мозговое вещество надпочечников под действием сигналов из ЦНС выделяет адреналин и ряд других гормональных веществ. Таким образом, гипоталамус и мозговое вещество надпочечников находятся под прямым контролем ЦНС, в то время как другие эндокринные железы связаны с ЦНС лишь опосредованно — через гормоны гипоталамуса и гипофиза.

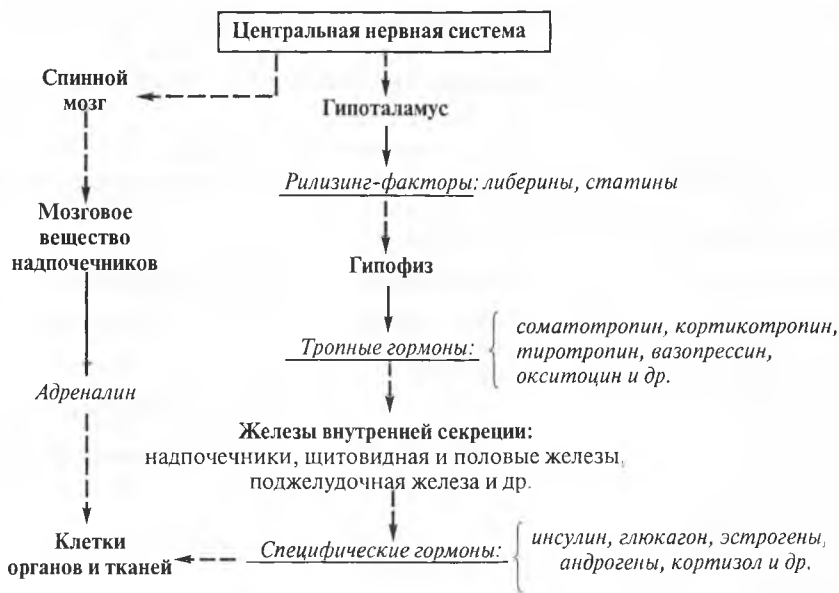


Рис. 9.2. Взаимосвязь нервной и гормональной систем организма. Сплошные стрелки обозначают синтез гормона, пунктирные — влияние гормона на органы-мишени

В результате такой передачи сигнала из ЦНС эндокринные железы организма синтезируют специфические гормоны, которые и оказывают регулирующее воздействие на различные функции органов и тканей.

В свою очередь, между железами внутренней секреции существуют сложные взаимодействия, среди которых можно выделить следующие основные типы:

1) *взаимодействия по принципу положительной прямой или отрицательной обратной связи*; например, тиреотропный гормон, вырабатываемый в гипофизе, стимулирует образование гормонов щитовидной железы (положительная прямая связь), однако повышение концентрации гормонов щитовидной железы выше нормы тормозит образование тиреотропного гормона гипофиза (отрицательная обратная связь);

2) *синергизм и антагонизм гормональных влияний*; например, как адреналин, синтезируемый надпочечниками, так и глюкагон, выделяемый поджелудочной железой, вызывает увеличение содержания глюкозы в крови за счет распада гликогена в печени (*синергизм*), но среди группы женских половых гормонов прогестерон ослабляет, а эстрогены усиливают сократительные функции мускулатуры матки (*антагонизм*).

В настоящее время известно несколько механизмов действия гормонов, основными из них являются следующие: 1) *мембранный*; 2) *мембранно-внутриклеточный* (косвенный); 3) *цитозольный* (прямой). Кратко рассмотрим особенности каждого.

**Мембранный механизм действия** редко встречается в изолированном виде. Он заключается в том, что гормон взаимодействует с рецепторными белками мембраны клетки, изменяя их конформацию, в результате из-

меняется (как правило, увеличивается) проницаемость мембраны для некоторых биомолекул (глюкозы, аминокислот, неорганических ионов и др.). В этом случае гормон выступает в качестве аллостерического эффектора транспортных систем клеточной мембраны. Затем поступившие в клетку вещества оказывают влияние на протекающие в ней биохимические процессы, например, ионы изменяют электрический потенциал клеток.

**Мембранно-внутриклеточный механизм действия** характерен для пептидных гормонов и адреналина, которые не способны проникать в клетку и влияют на внутриклеточные процессы через химического посредника, роль которого в большинстве случаев выполняют циклические нуклеотиды — циклический 3',5'-АМФ (цАМФ), циклический 3',5'-ГМФ (цГМФ) — и ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Химическое строение циклических нуклеотидов рассмотрено в предыдущей главе. Циклические нуклеотиды синтезируются *гуанилатциклазой* и кальцийзависимой *аденилатциклазой*, которые встроены в мембрану и состоят из трех взаимосвязанных фрагментов (рис. 9.3): наружного узнающего мембранный рецептор R, обладающего стереохимическим сродством к данному гормону; промежуточного N-белка, имеющего участок связывания и расщепления ГТФ; каталитической части С, представленной собственно аденилатциклазой, в активном центре которой может протекать реакция:



При взаимодействии гормона с рецептором изменяется конформация сопряженного N-белка, в результате происходит замещение ГДФ в неактивном белке на ГТФ. Комплекс ГТФ—N-белок активирует аденилатциклазу и запускает синтез цАМФ из АТФ. Аденилатциклаза поддерживается в активном состоянии до тех пор, пока существует комплекс гормон — рецептор. Благодаря этому происходит многократное усиление сигнала: на одну молекулу гормона внутри клетки синтезируется 10–100 молекул

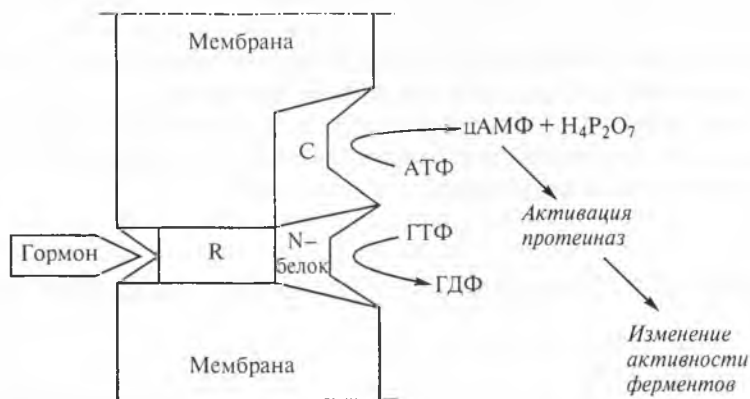


Рис. 9.3. Схема мембранно-внутриклеточного механизма действия гормонов

цАМФ. Сходный механизм реализуется и через цГМФ. Влияние циклических нуклеотидов на биохимические процессы прекращается под действием специальных ферментов — *фосфодиэстераз*, разрушающих как сами циклические нуклеотиды, так и соединения, образующиеся в результате их действия, — *фосфопротеины*. Нециклические формы АМФ и ГМФ инактивируют данные процессы.

Препараты лекарственного действия — производные ксантинов (кофеин, эуфиллин и др.), проникая внутрь клетки, ингибируют фосфодиэстеразы, в результате чего они имитируют эффект, оказываемый на обмен веществ природными гормонами.

**Цитозольный механизм действия** характерен для гормонов, имеющих липофильную природу и способных проникать внутрь клеток через липидный слой мембраны (стероидные гормоны, тироксин). Эти гормоны, проникая внутрь клетки, образуют молекулярные комплексы с белковыми цитоплазматическими рецепторами. Затем в составе комплексов со специальными транспортными белками гормон транспортируется в клеточное ядро, где вызывает изменение активности генов, регулируя процессы транскрипции или трансляции (см. главы 11 и 12). Таким образом, в то время как пептидные гормоны влияют на постсинтетические события, стероидные гормоны оказывают воздействие на геном клетки.

### 9.3. ГОРМОНЫ ПЕПТИДНОЙ (БЕЛКОВОЙ) ПРИРОДЫ И ГОРМОНЫ — ПРОИЗВОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТ

**Гормоны гипоталамуса.** В клетках гипоталамуса синтезируются особые пептидные гормоны (*релизинг-факторы*) — *либерины* и *статины*. Либерины обладают активирующим, а статины — подавляющим действием на секрецию гормонов гипофиза. Примеры гипоталамической регуляции некоторых функций гипофиза представлены на рис. 9.4.

Гормонам гипоталамуса принадлежит ключевая роль в системе гормональной регуляции организма. По химическому строению они представляют собой низкомолекулярные пептиды, часто отличающиеся необычным строением. Например, *тиреолиберин* — трипептид, состоящий из остатков циклической пироглутаминовой кислоты, гистидина и пролинамида, соединенных пептидными связями; в отличие от классических пептидов он не содержит свободных амино- или карбоксильных групп у N- и C-концевых аминокислотных остатков:

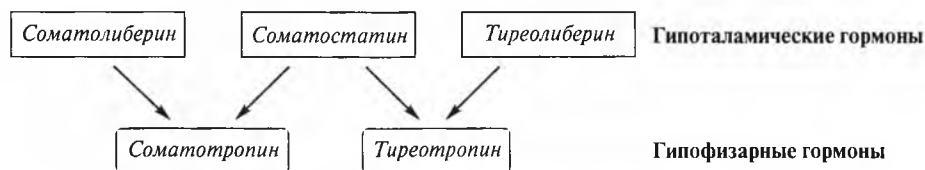
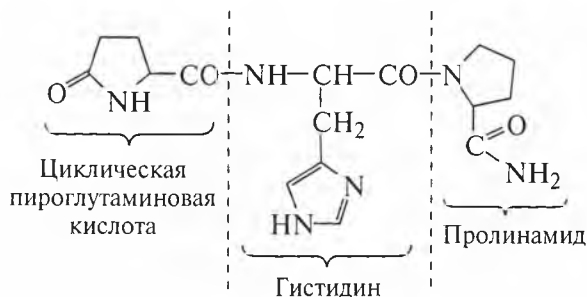
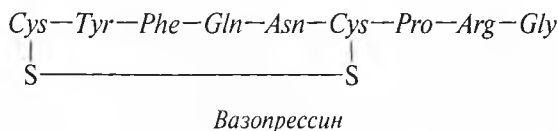


Рис. 9.4. Схема гипоталамической регуляции некоторых функций гипофиза



*Люлиберин* — декапептид. *Соматостатин* состоит из 14 аминокислотных остатков и содержит одну дисульфидную группу. В настоящее время выделено около 10 гормонов гипоталамуса, которые действуют в минимальных концентрациях.

**Гормоны гипофиза.** В гипофизе синтезируются тропные гормоны — *тропины* (от греч. *tropos* — поворот, направленность), оказывающие стимулирующее действие на эндокринные железы. К ним относится гормон роста — *соматотропин*, представляющий собой полипептид, содержащий 191 аминокислотный остаток. Соматотропин оказывает влияние практически на все клетки и отвечает за нормальный рост организма. Среди других синтезируемых гипофизом гормонов отметим: *липотропины*, оказывающие специфическое жиромобилизующее действие; *лютропин*, отвечающий за половое созревание; антидиуретический гормон *вазопрессин*, представляющий собой нонапептид следующего строения:



При повышении осмотического давления тканевой жидкости вазопрессин активно секретируется клетками гипофиза в кровь и увеличивает скорость реабсорбции воды из первичной мочи, в результате чего моча становится более концентрированной и тем самым понижается диурез. Благодаря действию вазопрессина сохраняется необходимый организму объем жидкости, при этом количество выводимого NaCl не изменяется. Вследствие реабсорбции воды осмотическое давление внеклеточной жидкости уменьшается, т. е. ликвидируется стимул, который вызвал секрецию вазопрессина.

При некоторых патологиях, связанных с повреждением гипоталамуса или гипофиза (опухоли, травмы, инфекционные заболевания), синтез и выделение вазопрессина снижаются, в результате чего развивается несахарная форма диабета, которая сопровождается резким увеличением выделения мочи организмом.

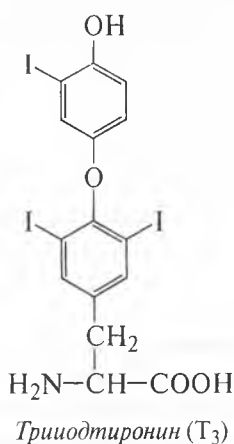
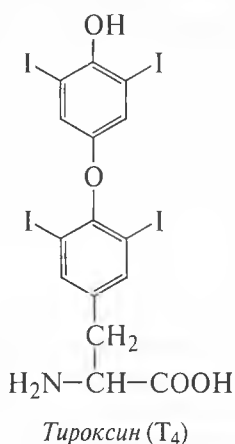


Кроме вазопрессина в гипофизе синтезируется *окситоцин* — циклический нонапептид, отличающийся от вазопрессина лишь двумя аминокислотными остатками. Окситоцин оказывает инсулиноподобное действие, вызывающее повышение потребления глюкозы; он также стимулирует сокращение мышц матки, активирует лактацию.

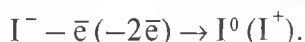
Кроме того, в гипофизе обнаружено более 50 нейропептидов, названных эндогенными морфинами — *эндорфинами*. Эти вещества пептидной природы являются продуктами частичного протеолиза гормонов гипофиза. Установлено, что они являются медиаторами синапсов и влияют на функции нейронов (см. главу 16). Многие нейропептиды обладают обезболивающим действием, эффективность которого во много раз превышает эффект действия морфина (см. главу 20). Обезболивающее влияние иглоукалывания также связано с действием эндорфинов, которые активно синтезируются организмом при механическом воздействии на специфические зоны. Эндорфины влияют на поведенческие реакции, процессы памяти, сна, обучения.

**Гормоны щитовидной железы.** Щитовидная железа синтезирует и секретирует как гормоны — производные аминокислот — тиреоидные гормоны, так и пептидные гормоны — *кальцитонин* и *паратгормон*.

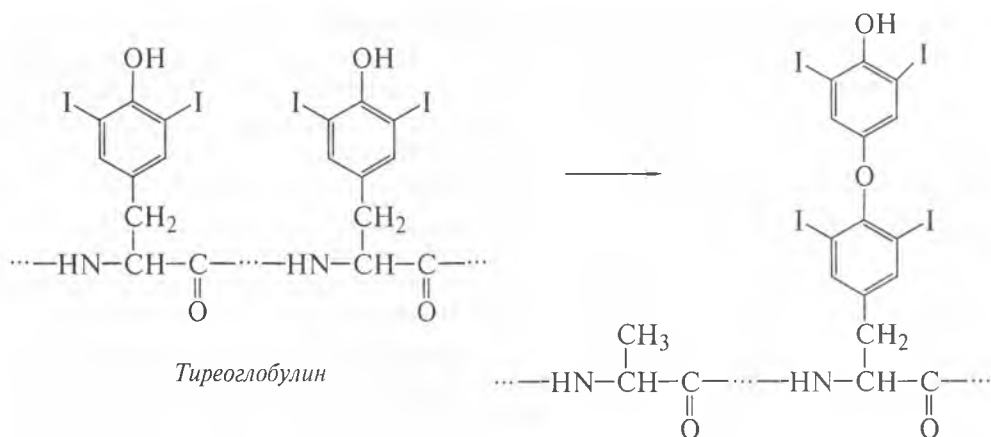
**Тиреоидные гормоны**, или *иодтиронины*, регулируют энергетический обмен и влияют на дифференциацию и деление клеток, определяя тем самым рост и развитие организма. Иодтиронины представляют собой иодированные производные L-тиронина:



Синтез иодтиронинов в организме включает стадию образования из иодида «активных» форм иода под действием иодпероксидазы:



Акцептором электронов служит H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Иодирование происходит по некоторым участкам тирозина в молекуле *тиреоглобулина* — белка, участвующего в синтезе иодтиронинов. Затем происходит конденсация двух иодированных остатков тирозина на полипептидной цепи тиреоглобулина:



Связь между способностью иодтиронинов контролировать рост клеток и влиять на энергетический обмен объясняется тем, что они действуют по двум механизмам: 1) через цитозольные рецепторы на хромосомы клеточного ядра, увеличивая тем самым число митохондрий в клетках; 2) через цАМФ — активируют окислительные ферменты. В результате создаются благоприятные условия для интенсивного аэробного образования энергии за счет мобилизации энергетических ресурсов организма. Перечисленные молекулярные процессы, запускаемые иодтиронинами, внешне проявляются в нормальном росте и правильном развитии тканей и органов, а специфика действия обнаруживается в повышенном расходе кислорода и выделении тепловой энергии.

При гиперфункции щитовидной железы наблюдается интоксикация организма иодтиронинами (*базедова болезнь*), сопровождающаяся повышенным распадом углеводов, жиров, аминокислот, вызывающим повышение температуры тела, потерю массы, повышенную возбудимость. Недостаток иодтиронинов в детском возрасте приводит к развитию кретинизма, а во взрослом — к снижению скорости основного обмена веществ, температуры тела, ослаблению памяти. Одной из форм недостаточности иодтиронинов является *эндемический зоб* — болезнь, связанная с недостаточным поступлением иода в организм и проявляющаяся в увеличении размеров щитовидной железы за счет разрастания соединительной ткани; при этом продукция иодтиронинов не возрастает.

В настоящее время более 1,5 млрд жителей планеты испытывают дефицит иода (из-за недостаточного содержания его в питьевой воде). В частности, в нашей стране от дефицита иода страдают более 35 % населения. Распространенным способом решения этой проблемы является иодирование поваренной соли (1—2,5 г иодида калия на 100 кг). Однако избыточное потребление иодированных продуктов может вызвать гиперфункцию щитовидной железы, поскольку неорганический иод полностью поглощается щитовидной железой. Наиболее эффективными представляются препараты, содержащие иод в составе органических соединений, таких, как белки, поскольку именно в такой форме иод находится в крови человека. Такие препараты называются «*iodum-intellectus*» («умный иод»):

**Таблица 9.1. Содержание иода в некоторых продуктах питания**

Продукт	Содержание иода, мг на 100 г	Продукт	Содержание иода, мг на 100 г
Соль	335,0	Тунец	32,90
Мидии	130,0	Лосось	32,0
Камбала морская	116,80	Шампиньоны	14,40
Треска	102,40	Шпинат	10,20
Сельдь	50,0	Брокколи	9,80
Палтус	45,50	Морковь	8,20
Морской окунь	38,30	Капуста	6,60

т. е. при дефиците иод активно усваивается из них организмом, а при избытке — выводится из организма, не поступая в щитовидную железу.

Содержание иода в некоторых продуктах питания приведено в табл. 9.1.

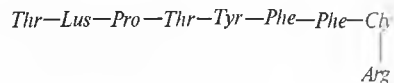
Как было сказано, в клетках щитовидной железы помимо иодтиронинов синтезируются пептидные гормоны — *кальцитонин*, содержащий 32 аминокислотных остатка, и *паратгормон*, включающий 84 аминокислотных остатка. Кальцитонин и паратгормон регулируют обмен кальция и фосфатов. Причем кальцитонин проявляет свое действие при увеличении концентрации кальция в крови, а паратгормон — при снижении.

Кальцитонин предупреждает возможное повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в крови путем торможения процесса выхода  $\text{Ca}^{2+}$  из костной ткани.

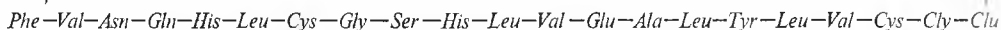
Паратгормон увеличивает реабсорбцию  $\text{Ca}^{2+}$  и уменьшает реабсорбцию фосфатов; в результате ионы  $\text{Ca}^{2+}$  аккумулируются, а фосфаты выводятся из организма.

**Гормоны поджелудочной железы.** Исключительно важное значение среди гормонов, синтезируемых в поджелудочной железе, имеют *инсулин* и *глюкагон*.

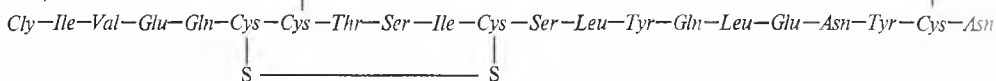
Мономерный инсулин состоит из 51 аминокислотного остатка и имеет две цепи: короткую (*А-цепь*), содержащую 21 аминокислотный остаток, и длинную (*В-цепь*), состоящую из 30 аминокислотных остатков. А- и В-це-



**В-цепь**



**А-цепь**



**Рис. 9.5. Первичная структура инсулина человека**

пи соединены между собой с помощью двух дисульфидных мостиков, как это показано на рис. 9.5. До поступления в кровь инсулин накапливается В-клетками в виде гексамера, стабилизированного за счет образования комплекса с цинком(II), в образовании координационных связей которого принимают участие остатки гистидина (рис. 9.6).

Для проявления биологической активности в молекуле инсулина обязательно должны присутствовать дисульфидные связи и С-концевой остаток аспарагина. При разрушении связей —S—S— и протеолизе инсулин полностью инактивируется. Рецепторы инсулина обнаружены во многих типах клеток организма. Комплекс инсулин —

рецептор обладает способностью резко изменять проницаемость клеточных мембран для глюкозы, аминокислот, ионов  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ , тем самым ускоряя их транспорт во внутриклеточное пространство. Кроме того, инсулин влияет на синтез и распад гликогена в печени и мышцах, синтез жиров в печени и жировой ткани и другие биосинтетические процессы, в которых используется глюкоза. Все инициируемые инсулином изменения направлены на ускоренное использование глюкозы, что приводит к снижению ее концентрации в крови; в этом и проявляется наиболее яркий эффект физиологического действия инсулина.

При дефиците инсулина развивается *сахарный диабет* — одно из распространенных заболеваний (в мире насчитывается около 100 млн больных диабетом). Причиной дефицита инсулина является снижение скорости его синтеза, что, в свою очередь, может быть спровоцировано различными эндокринными нарушениями, механизм которых во многом еще не изучен. При сахарном диабете катаболические пути обмена преобладают над анаболическими, в результате чего в крови возрастает содержание глюкозы, которая плохо усваивается тканями. Вследствие этого в организме мобилизуются липиды, ускоряются процессы окисления жирных кислот, выделяется большое количество кетоновых тел, понижающих pH крови, что в итоге может привести к гибели организма. При пониженном содержании инсулина в крови диагностируется инсулинозависимый диабет, или *диабет I типа*, который поддается лечению инсулином. Но есть формы диабета, при которых содержание инсулина в крови находится в пределах нормальных значений, это так называемый инсулинонезависимый диабет, или *диабет II типа*. Эта форма диабета, по-видимому, вызвана нарушением не синтеза инсулина, а повреждениями в других звеньях инсулиновой регуляции.

*Глюкагон*, так же как и инсулин, синтезируется клетками поджелудочной железы и является пептидным гормоном, состоящим из 29 аминокислотных остатков. Глюкагон стимулирует мобилизацию гликогена и жи-

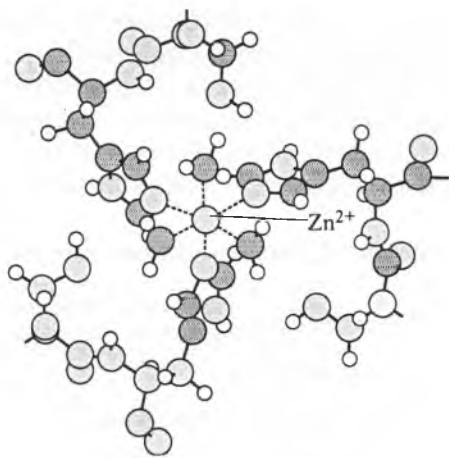


Рис. 9.6. Структура октаэдрического комплекса цинка(II) с тремя мономерами инсулина

ров в организме, тем самым увеличивая концентрацию глюкозы в крови. В этом отношении он проявляет сходство с адреналином и норадреналином. Глюкагон, как и адреналин, действует на внутриклеточные механизмы регуляции через аденилатциклазную систему.

Таким образом, глюкагон и инсулин являются гормонами-антагонистами (табл. 9.2) и выполняют одну из ключевых ролей в обмене веществ.

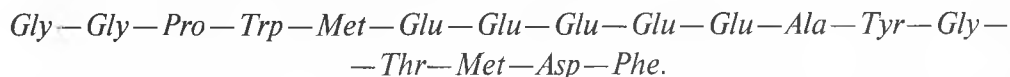
Таблица 9.2. Антагонизм физиологического действия инсулина и глюкагона\*

Путь метаболизма	Действие инсулина	Действие глюкагона	Путь метаболизма	Действие инсулина	Действие глюкагона
Синтез гликогена	↑	↓	Мобилизация гликогена	↓	↑
Синтез жиров	↑	↓	Мобилизация жиров	↓	↑
Синтез белков	↑	↓	Биосинтез глюкозы	↓	↑

\* Стрелка, направленная вверх, означает увеличение скорости метаболического процесса, вниз — уменьшение.

**Гормоны желудочно-кишечного тракта.** К гормонам, основной функцией которых является стимулирование работы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), относятся *секретин*, *гастрин*, *мотилин*, *панкреатический полипептид*, *энтероглюкагон* и др. Поскольку специальных эндокринных желез в ЖКТ нет, клетки, синтезирующие его гормоны, локализованы в различных участках. Например, секретин синтезируется в двенадцатиперстной кишке, мотилин — в тонком кишечнике и т. д. Главной особенностью гормонов ЖКТ является множественность их молекулярных форм. Рассмотрим биохимические функции гормонов ЖКТ на примере гастринна, секретина и мотилина.

*Гастрин* синтезируется G-клетками слизистой желудка и представляет собой смесь трех молекулярных форм, отличающихся числом аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Первичная структура гастринна 17 может быть записана в виде



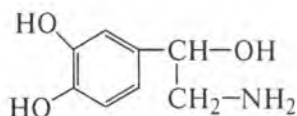
Биохимическая роль гастринна состоит в стимуляции выделения соляной кислоты из эпителиальных клеток желудка. Кроме того, установлено, что гастрин активирует секрецию некоторых пептидаз — ферментов гидролиза белков — в ответ на поступление в желудок пищи.

*Секретин* — пептид, содержащий 27 аминокислотных остатков, синтезируется в двенадцатиперстной кишке и так же, как и гастрин, служит активатором секреции пептидаз.

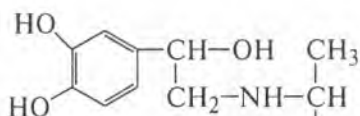
*Мотилин* состоит из 22 аминокислотных остатков, синтезируется слизистой кишечника и выполняет биохимические функции, сходные с функциями гастринна и секретина.

**Гормоны надпочечников.** Мозговое вещество надпочечников вырабатывает катехоламины: *адреналин*, *норадреналин*, *изопропиладреналин*. По

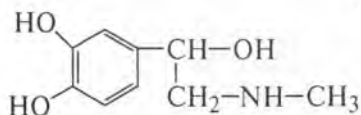
химической структуре данные гормоны являются производными L-тирозина, в молекулах которых имеются дополнительные гидроксильные группы в бензольном кольце и при  $\beta$ -углеродном атоме, а карбоксильная группа при  $\alpha$ -углеродном атоме отсутствует:



*Норадреналин*



*Изопропиладреналин*



*Адреналин*

Основной путь биосинтеза данного вида гормонов основан на следующей цепи превращений:

Тирозин → Диоксифенилаланин (ДОФА) → Диоксифенилэтиламин (дофамин) → Норадреналин → Адреналин.

Секреция адреналина вызывается стрессовыми состояниями и низким содержанием глюкозы в крови. Адреналин стимулирует аденилатциклазу в органах-мишенях и инициирует изменения в обмене углеводов и липидов, подобные тем, которые вызывает глюкагон. Кроме того, адреналин действует на функцию сердечно-сосудистой системы, вызывает сосудосуживающий эффект, повышает кровяное давление и частоту сердечных сокращений. Действия адреналина и норадреналина немного различаются. Так, норадреналин в отличие от адреналина лишь в малой степени увеличивает содержание глюкозы в крови.

## 9.4. СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ

Стероидные гормоны представляют собой группу родственных соединений, близких по химическому строению. Все стероидные гормоны образуются в организме из холестерина и имеют стерановую структуру (см. главу 7). Рассмотрим основные группы стероидных гормонов.

**Стероидные гормоны надпочечников.** В коре надпочечников вырабатываются *глюкокортикоиды*, *минералокортикоиды* (от лат. *cortex* — кора) и в небольших количествах *половые гормоны*: женские — *эстрогены* (от греч. *oistros* — страсть, ярость и *genos* — рождение) и мужские — *андрогены* (от греч. *andros* — мужчина и *genos* — рождение). Все эти гормоны синтезируются из холестерина с помощью цепи ферментативных реакций, схематично представленных на рис. 9.7. Рассмотрим основные биологические функции данного вида гормонов.

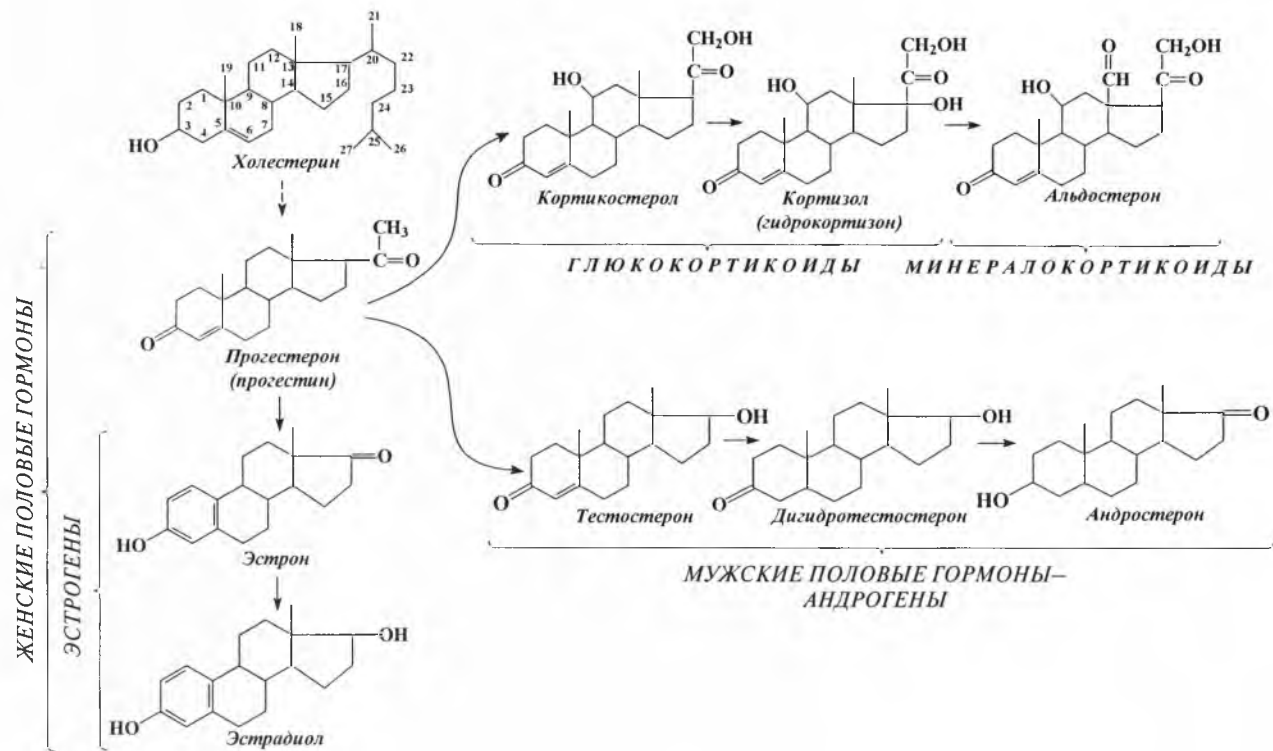
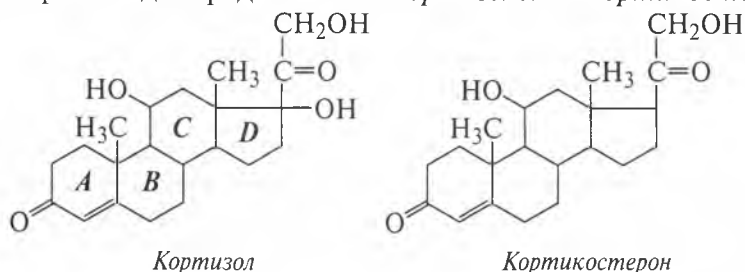


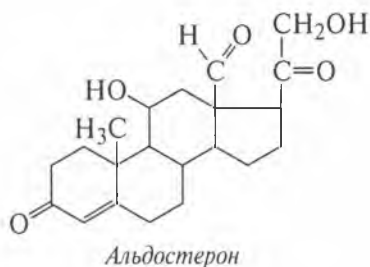
Рис. 9.7. Схема биосинтеза стероидных гормонов

Глюкокортикоиды представлены *кортизолом* и *кортикостероном*:



В цитоплазме клеток разных органов есть белковые рецепторы, способные избирательно присоединять глюкокортикоиды. После связывания с рецептором гормон перемещается внутрь клетки, где в составе транспортных комплексов с белками переносится в ядро и взаимодействует с хроматином, изменяя скорость транскрипции определенных генов, влияя тем самым на скорость синтеза соответствующих белков. Таким образом, глюкокортикоиды влияют на генетический аппарат клеток. Глюкокортикоиды преимущественно воздействуют на обмен углеводов: усиливают синтез *гликогенсинтетазы*, вследствие чего ускоряется синтез гликогена. Они также мобилизуют триацилглицерины из жировой ткани и подавляют синтез антител, уменьшая чувствительность организма к чужеродным веществам и предотвращая развитие аллергических реакций и воспалительных процессов. В результате действия глюкокортикоидов в крови повышается содержание глюкозы, аминокислот, жирных кислот, глицерина, кетонных тел.

Основным представителем минералокортикоидов является *альдостерон*, в молекуле которого присутствует альдегидная группа, что и нашло отражение в его названии:



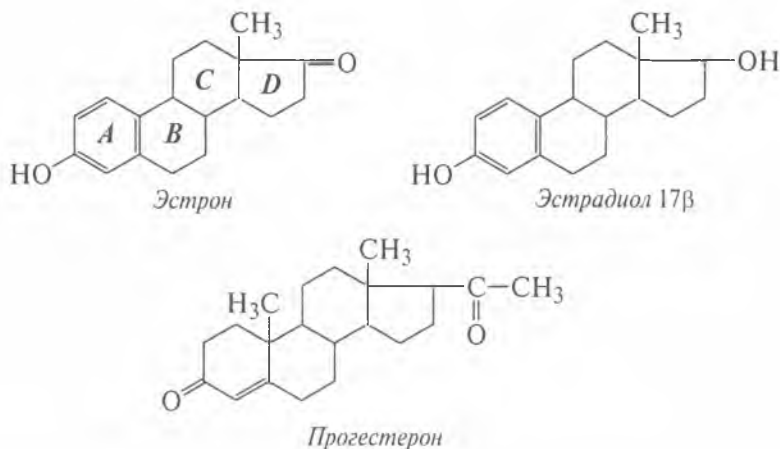
Альдостерон регулирует в организме баланс жизненно важных ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  и воды. Секретия альдостерона увеличивается при снижении концентрации  $\text{NaCl}$  в крови. В почках альдостерон увеличивает скорость реабсорбции ионов  $\text{Na}^+$  (и, опосредованно, ионов  $\text{Cl}^-$ ), что вызывает задержку  $\text{NaCl}$ , а следовательно, и воды в организме (вода удерживается ионами  $\text{Na}^+$  вторично) и способствует выведению ионов  $\text{K}^+$ . Тем самым устраняется стимул, вызвавший секретцию альдостерона.

**Половые гормоны.** Половые гормоны синтезируются в половых железах из общего предшественника — холестерина. Многие стадии синтеза половых гормонов совпадают, поэтому определенные количества женских



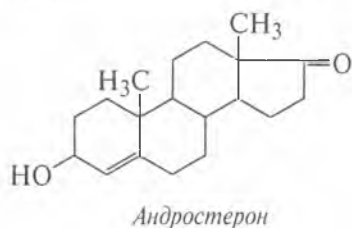
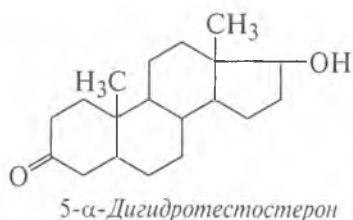
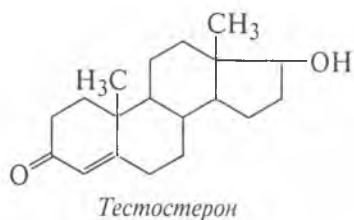
и мужских половых гормонов синтезируются как у мужчин, так и у женщин (см. рис. 9.7). Биологическое значение этого явления пока не до конца выяснено. Гормоны, характерные для противоположного пола, обычно образуются в меньших количествах и не накапливаются в эндокринных клетках.

Женские половые гормоны по особенностям химического строения и физиологическому действию делятся на **эстрогены** (*эстрадиол*, его производные — *эстрон* и *эстриол*) и **прогестины** (от лат. *pro* — раньше, *gestatio* — беременность), основным представителем которых является *прогестерон*.



В молекулах эстрогенов имеется та же кольцевая система, что и в прогестероне и андрогенах. Однако у молекул эстрогенов кольцо *A* имеет ароматическую природу и содержит гидроксильную группу в положении 3, а метильная группа между кольцами *A* и *B* в положении 10 отсутствует. Такие, на первый взгляд, незначительные отличия в химическом строении приводят к глобальным различиям в физиологических функциях данных соединений. Эстрогены обеспечивают формирование у организма половых признаков, психического статуса, полового инстинкта и детородной функции по женскому типу. Они индуцируют синтез специфических белков, определяющих характерные метаболические пути, сдвиги в росте и дифференциации клеток. Эффект прогестерона, как правило, возможен после предварительного действия на ткани эстрогенов и проявляется в тормозящем влиянии на ряд физиологических процессов в женском организме.

Мужские половые гормоны — **тестостерон**, **5-α-дигидротестостерон** и **андростерон** по химическому строению близки к прогестерону. Их молекулы не имеют ароматического кольца, причем в молекуле андростерона и дигидротестостерона отсутствуют двойные связи в циклическом фрагменте и упрощается строение заместителя в положении 17:



Андрогены проявляют высокую активность по отношению к различным тканям организма. Они действуют на хроматин ядра клеток-мишеней и увеличивают скорость синтеза белков, нуклеиновых кислот, структурных липидов и полисахаридов, вызывая *анаболический эффект* (возникновение положительного азотистого баланса в организме). Причем анаболический эффект у андрогенов выражен заметно сильнее, чем у эстрогенов. Вследствие анаболического эффекта усиливаются процессы наращивания мышечной массы и минерализации костной ткани (на фоне инициируемого андрогенами развития вторичных половых признаков по мужскому типу). Анаболический эффект андрогенов используется для создания и применения синтетических аналогов андрогенов — анаболических стероидов. Наиболее интересными из них являются соединения, обладающие значительным анаболическим действием на фоне ослабленного эндогенного эффекта. В настоящее время выяснено, что в химическом плане такие вещества являются норстероидами, у которых отсутствует метильная группа при 19-м атоме углерода стеранового кольца. Соотношение анаболической и андрогенной активности у них в 5—12 раз выше, чем у тестостерона. Однако нельзя забывать, что применение анаболических стероидов может быть опасным для здоровья, так как способно вызвать стойкие продолжительные нарушения в тонком механизме гормональной регуляции.

## 9.5. ПРОСТАГЛАНДИНЫ

**Простагландины** представляют собой вещества, выполняющие функции местных гормонов. По химической природе они являются производными арахидоновой кислоты. Первые два представителя простагландинов — простагландины  $G_2$  и  $H_2$  — содержат пероксидную группу (рис. 9.8).

Простагландин  $H_2$  служит предшественником простагландинов семейства  $E_2$ , семейства  $F_2$  и тромбоксанов  $A_2$  (содержат шестичленный гетероцикл).

К настоящему времени установлено, что простагландины синтезируются в клетках практически всех органов и тканей организмов человека и

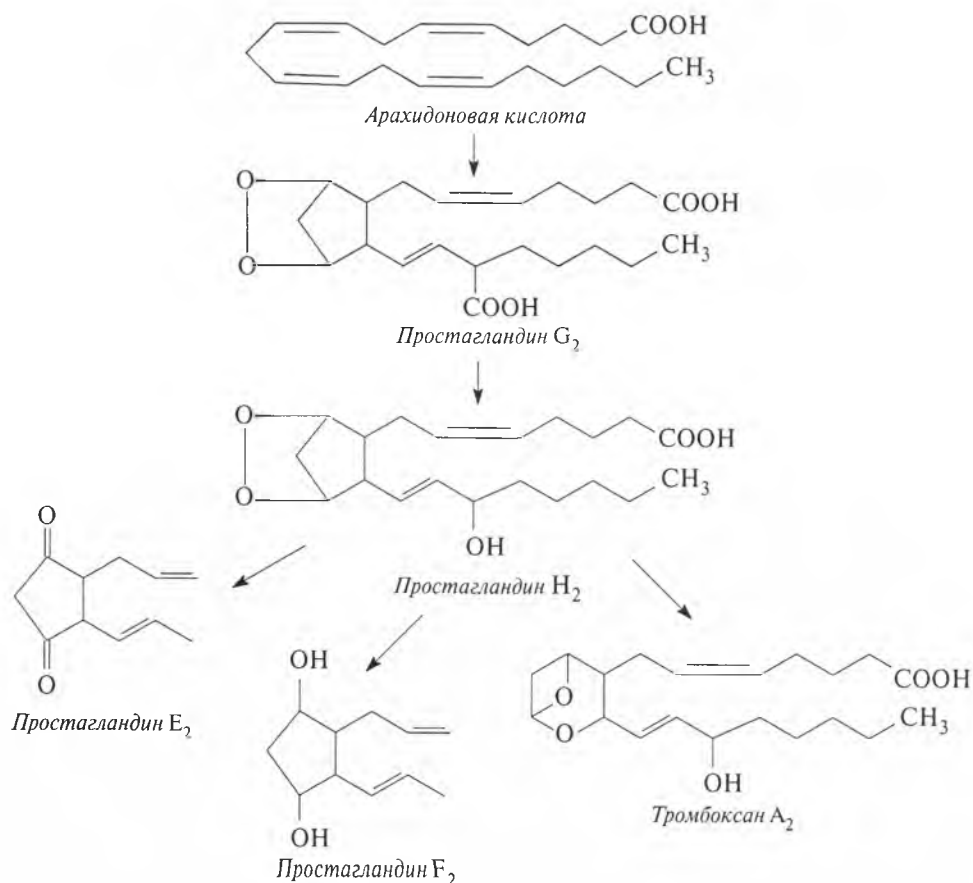


Рис. 9.8. Химическое строение семейства простагландинов

животных. Это короткоживущие, чрезвычайно нестабильные соединения, которые действуют в небольших количествах и оказывают биологический эффект по месту своего образования. Описано множество физиологических и фармакологических проявлений действия простагландинов на разные клетки. В частности, они участвуют в воспалительном процессе (усиливают воспалительную реакцию). Аспирин инактивирует ферменты, катализирующие превращения арахидоновой кислоты в простагландины, этим и объясняется его противовоспалительное действие (см. главу 20).

Простагландины и их синтетические аналоги применяются в качестве лекарственных препаратов в акушерстве для стимуляции родовой деятельности, предупреждения и лечения тромбозов, снижения артериального давления и т. д.

## 9.6. ФИТОГОРМОНЫ

К настоящему времени получен достаточно обширный материал по фитогормонам — соединениям, выполняющим функции гормонов в растениях. К ним можно отнести: **ауксины**, **цитокинины**, **абсцизины**, **гиббереллины** и **этилен**. Фитогормоны регулируют многие процессы жизне-

деятельности растений, начиная от прорастания семян и заканчивая созреванием плодов. В отличие от животных организмов в растениях не существует специальных органов, синтезирующих гормоны, тем не менее обнаружены некоторые органы растений, в которых наблюдается концентрирование гормонов. Например, ауксинами богаты верхушечные меристемы стебля, гиббереллинами — листья, цитокининами — корни и созревающие семена. Следует отметить и особенности биохимического действия фитогормонов: на более ранних стадиях развития растений преобладают цитокинины и гиббереллины, а на более поздних — ауксины.

Рассмотрим структурно-функциональные особенности основных представителей фитогормонов.

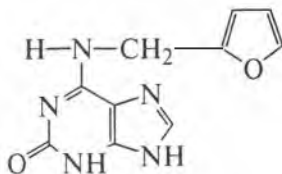
**Ауксины** — производные индола, основными из которых является *гетероауксин*, *индолилуксусная кислота* (ИУК), *нафтилуксусная кислота* (НУК) и др.:



*Индолил-3-уксусная кислота (ИУК)*

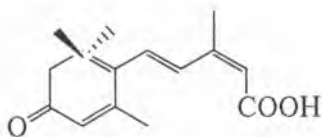
Ауксины необходимы в первую очередь для инициации репликации ДНК. Так, ИУК регулирует процессы, лежащие в основе морфогенеза: деление, рост и дифференциацию клеток.

**Цитокинины** — производные 6-аминопурина; синтезируются в корнях растений и транспортируются оттуда в места усиленного роста. Их функция заключается в стимуляции клеточного деления. Фурановое производное 6-аминопурина — *кинетин* — обладает всеми свойствами цитокининов, вследствие чего его часто относят к фитогормонам:



*Кинетин*

**Абсцизины** — производные *абсцизовой кислоты* (АБК), оптически активного сесквитерпеноида:

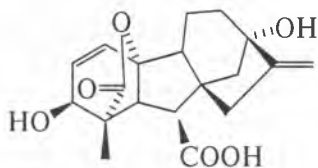


*Абсцизовая кислота (АБК)*

АБК выполняет следующие физиологические функции: 1) торможение роста тканей и органов растения (т. е. она выступает в качестве антагониста ростовых фитогормонов); 2) улучшение регуляции водного режи-

ма растения; 3) инициация процесса опадения созревших плодов; 4) предотвращение преждевременного прорастания семян в плодах. АБК часто называют «стресс-гормоном» ввиду ее исключительного действия при неблагоприятных для жизни растений условиях.

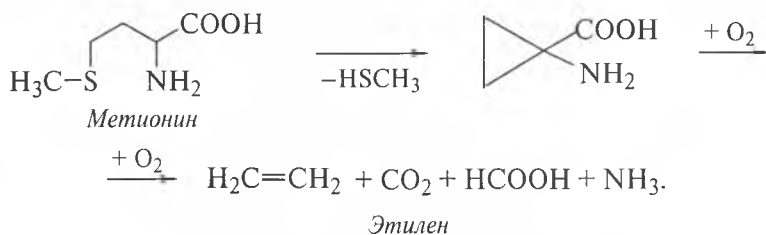
**Гиббереллины** представляют собой класс тетрациклических карбоновых кислот, из которых наиболее изучена *гибберелловая кислота* (ГК):



*Гибберелловая кислота* (ГК)

ГК стимулирует как деление клеток, так и их растяжение. Характерным действием ГК является ускорение деления клеток верхушечных меристем побега. Отмечено, что ГК оказывает физиологическое действие при ничтожно малых концентрациях ( $\sim 10^{-10}$  моль/л).

Гормональная функция в растениях одного из простейших углеводов — **этилена** — состоит в стимуляции процессов созревания и опадения плодов, листьев и цветов. Биогенетическим предшественником этилена в растительной клетке является аминокислота метионин, а промежуточным — продукт ее превращения 1-аминоциклопропанкарбоновая кислота. В присутствии кислорода метионин подвергается ферментативному превращению в этилен:



Благодаря перечисленным свойствам этилен применяют в сельском хозяйстве при сборе фруктов, для сокращения сроков созревания плодов, для индуцирования цветения ананасов, увеличения выхода латекса из гевеи и др.

Широкий спектр физиологической активности фитогормонов и достигнутые с их помощью успехи в реализации морфогенетического потенциала растений в настоящее время позволили считать фитогормональную функцию основным фактором управления морфогенезом *in vitro*. В последние годы накоплен огромный фактический материал, касающийся действия фитогормонов на разных этапах развития культуры изолированных клеток, тканей и органов. Сделаны важные обобщения, позволяющие приблизиться к пониманию физиологических особенностей морфогенеза. Но выяснение молекулярных механизмов действия фитогормонов — пока еще нерешенная задача биохимии растений.

## 9.7. ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ ГОРМОНОВ

В настоящее время разработаны методики химического синтеза многих непептидных и низкомолекулярных пептидных гормонов. Полипептидные и белковые гормоны выделяют путем экстракции из эндокринных желез крупного рогатого скота. Разработана методика получения некоторых гормонов (в том числе инсулина и гормона роста), основанная на принципах генной инженерии. Для этого ген, ответственный за синтез того или иного гормона, включают в геном бактерий, которые после этого приобретают способность синтезировать данный гормон. Так как бактерии активно размножаются, за короткое время оказывается возможным наработать довольно значительные количества нужного гормона (подробнее о методах генной инженерии см. главу 19).

Применение гормонов в терапевтических целях — одно из направлений практической медицины. Гормоны широко используются при заболеваниях, связанных с нарушениями эндокринной системы: при недостатке или отсутствии в организме того или иного гормона (например, инсулина); для усиления или подавления функции той или иной железы. Так, гормоны гипофиза могут быть использованы для стимуляции работы периферических желез внутренней секреции — коры надпочечников и щитовидной железы. Гормоны нашли широкое применение в акушерстве и гинекологии, например, окситоцин используется для усиления родовой деятельности. Стероидные половые гормоны или их аналоги применяют при нарушениях в половой сфере, в качестве противозачаточных средств и т. д. При воспалительных процессах, аллергических заболеваниях, ревматоидном артрите и ряде других заболеваний используются гормоны коры надпочечников.

### Контрольные вопросы и задания

1. Дайте определение гормонам как классу биологически активных соединений и поясните, какое место они занимают в общей системе регуляции метаболизма в организме.
2. В чем заключается специфика биохимического действия гормонов?
3. Назовите основные группы гормонов в зависимости от их химического строения и приведите примеры соединений, относящихся к каждой группе.
4. Объясните, в чем заключаются особенности межгормональных взаимодействий, основанных на принципах положительной прямой и отрицательной обратной связи, синергизма и антагонизма действия гормонов.
5. Рассмотрите взаимосвязь химического строения гормонов и механизма их действия: а) мембранного; мембранно-внутриклеточного; б) цитозольного.
6. Опишите особенности химического строения, биохимические функции и механизм действия гормонов: а) гипоталамуса; б) гипофиза; в) щитовидной железы; г) поджелудочной железы; д) надпочечников (катехоламины и стероидные гормоны).
7. В чем заключаются особенности химического строения веществ, выполняющих функции местных гормонов (простагландинов)?
8. Дайте краткую биохимическую характеристику фитогормонов.

## Раздел II

# ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ

*Важнейшим свойством живой материи является обмен веществ и энергии, благодаря которому осуществляются размножение, рост и функционирование живых организмов. В процессе обмена потребляемые с пищей вещества превращаются в собственные, специфические для данного организма соединения; кроме того, организм обеспечивается энергией для совершения внутренней и внешней работы.*

*Настоящий раздел состоит из шести глав, в которых рассматриваются основные вопросы обмена веществ и энергии в живых организмах.*

*В главе 10 обсуждаются общие аспекты обмена веществ и основы биоэнергетики, позволяющие понять природу метаболизма и его основные принципы. Показаны главные особенности общего пути распада питательных веществ в живых организмах (общего пути катаболизма).*

*Глава 11 посвящена обмену нуклеиновых кислот — главных носителей наследственной информации и метаболической индивидуальности живых организмов.*

*В главах 12—15 освещаются вопросы обмена жизненно необходимых соединений: аминокислот, белков, углеводов, липидов, воды и минеральных веществ. В главе 12 рассмотрен обмен белков и аминокислот, занимающий особое место в процессах метаболизма, что связано с уникальными биологическими функциями белков и специфической ролью аминокислот как основных источников азота для организмов человека и животных. Обмен углеводов обсуждается в главе 13. Известно, что углеводы занимают первое место среди веществ, служащих в качестве источника энергии для организма, а кроме того, они выполняют ряд других важных биологических функций. Обмен липидов описан в главе 14; особое внимание уделяется ряду специфических особенностей их метаболизма, связанных с химическим строением. Глава 15 посвящена рассмотрению процессов водно-минерального обмена и транспорта биологически активных соединений через клеточные мембраны; благодаря этим процессам поддерживается постоянство состава внутри- и внеклеточных жидкостей организма.*

# Глава 10

## Основы биоэнергетики. Общий путь катаболизма

### 10.1. ВВОДНЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ

Под *обменом веществ и энергии* понимают всю совокупность химических превращений веществ и энергии, обеспечивающих развитие, жизнедеятельность и самовоспроизведение живых организмов, их связь с окружающей средой и адаптацию к изменениям внешних условий. Такое расширенное определение обмена веществ позволяет наиболее четко представить, какую роль играет взаимосвязанная совокупность биохимических превращений в создании общебиологической картины живого мира.

Обмен веществ и энергии в биосистемах направлен на их самосохранение и самовоспроизведение и существует в неразрывном диалектическом единстве. В обмене веществ выделяют *внешний обмен*, включающий внеклеточное превращение веществ на путях их поступления в организм и выделения из него, и *промежуточный обмен*, происходящий внутри клеток. Собственно, под *метаболизмом* (от греч. *metabole* — перемена, превращение), как правило, понимают промежуточный обмен, т. е. превращение определенных химических веществ внутри биологических клеток с момента их поступления до образования конечных продуктов (например, метаболизм аминокислот, метаболизм углеводов и т. д.). Но подобное разграничение не является абсолютным, поэтому зачастую под метаболизмом понимают как внешний, так и промежуточный обмен веществ.

Вещества, служащие субстратами метаболизма, претерпевают в организме ряд ферментативных биохимических превращений. Последовательность биохимических реакций, направленных на модификацию того или иного субстрата до конечного продукта *in vivo*, называют *метаболическим путем* или — в случае замкнутых процессов — *циклом*. Промежуточные продукты метаболического пути или цикла называют *метаболитами*. Даже в таком простом организме, как бактериальная клетка *E. coli*, насчитывается несколько тысяч типов различных взаимосвязанных химических реакций. Упорядочение этих реакций может на первый взгляд показаться недостижимым. Однако при более глубоком анализе оказывается, что, несмотря на большое количество отдельных реакций, формирующих метаболизм организма в целом, число типов таких реакций относительно мало. Например, *in vivo* двойная связь в основном образуется в результате реакции дегидратации.

Метаболические пути принято разделять на *главные* и *специфические*. *Главные метаболические пути* являются общими для распада и синтеза молекул жизненно необходимых соединений и во многом схожи у большинства представителей живого мира. *Специфические метаболические пути* характерны для синтеза и распада индивидуальных мономеров, специфических биомолекул и т. д.

Различают две тесно взаимосвязанные стороны обмена веществ и энергии: *анаболизм* и *катаболизм* (рис. 10.1).





Рис. 10.1. Взаимосвязь катаболических и анаболических процессов:

1 — процессы пищеварения; 2, 4 — катаболические пути; 3 — анаболические пути; 5 — экзергонические реакции; 6, 7 — эндергонические реакции

**Анаболические превращения** (от греч. *anabole* — подъем) направлены на образование и обновление структурно-функциональных компонентов клетки, т. е. на синтез сложных биомолекул (коферменты, гормоны, белки, нуклеиновые кислоты и др.) из более простых. Это восстановительные, **эндергонические процессы**, протекающие с увеличением свободной энергии.

**Катаболические превращения** (от греч. *katabole* — сбрасывание, разрушение) направлены на расщепление сложных молекул (как поступивших с пищей, так и уже входящих в состав клеток) до простых компонентов (на конечных стадиях — преимущественно до диоксида углерода и воды). Это окислительные, **экзергонические процессы**, сопровождающиеся понижением свободной энергии.

Анаболические процессы протекают благодаря энергии, заключенной в химических связях молекул специфической группы *высокоэнергетических* соединений (АТФ и др.), в которых аккумулируется энергия, выделяемая в катаболических процессах. Необходимо отметить, что с химической точки зрения термин «высокоэнергетические соединения» не совсем корректен. В биохимии под высокоэнергетическими соединениями понимаются лабильные вещества, гидролиз которых в физиологических условиях сопровождается значительным понижением  $\Delta G$ . Выигрыш в свободной энергии используется для смещения равновесия в сопряженных термодинамически невыгодных биохимических процессах, например синтеза биополимеров. Так, АТФ является сопрягающим энергетическим звеном обеих сторон метаболизма — анаболизма и катаболизма. Такое энергетическое сопряжение представляет собой основной способ использования энергии в живых организмах. Примеры сопряженных биохимических реакций будут неоднократно обсуждаться на страницах данного раздела. Но не только АТФ, а и другие соединения, образующиеся в результате катаболизма и используемые в анаболических процессах для синтеза специфических биомолекул, выполняют роль субстратов, сопря-

гающих отдельные метаболические процессы. Такие сопрягающие пути (или циклы) катаболических и анаболических процессов носят название **амфиболических** (от греч. *amphibolia* — двусмысленность, или двойственность). Амфиболические пути придают обмену веществ значительную гибкость и экономичность с точки зрения использования энергии и материальных ресурсов.

Несмотря на то что обе стороны метаболизма сопряжены между собой во времени и пространстве, они строго локализованы в отдельных органеллах клетки и образуют самостоятельные метаболические пути. Локализация основных путей метаболизма в органеллах клетки отражена в следующей таблице:

Органелла клетки	Метаболический путь
Ядро	Синтез РНК
Митохондрии	Цепи биохимического окисления и окислительного фосфорилирования
Лизосомы	Гидролитические процессы
Рибосомы	Синтез белка
Эндоплазматическая сеть	Синтез биоллипидов
Мембраны	Транспорт различных молекул, ионов

Если бы эти пути совпадали или отличались лишь направлением процесса, то в обмене возникали бы бесполезные, так называемые *футильные* циклы. Образование таких циклов является причиной ряда заболеваний, при которых происходит бесполезный круговорот метаболитов вследствие реакций, протекающих в патологическом режиме.

Важнейшая черта биохимической формы движения материи заключается в саморегуляции совокупности биохимических превращений, образующих механизм, который обладает свойством обратной связи (положительной или отрицательной). Необходимо отметить, что каждая из биохимических реакций данного механизма в отдельности не обладает способностью к саморегулированию.

## 10.2. МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМОВ

Живые организмы используют различные источники питательных веществ и энергии. По источникам питания, а следовательно, и по особенностям метаболических систем различают *автотрофные*, *гетеротрофные* и *миксотрофные* организмы (табл. 10.1).

**Автотрофные** (от греч. *autos* — сам и *trophe* — пища, питание), или самопитающиеся, организмы используют низкомолекулярные неорганические соединения ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , соединения азота и серы) в качестве исходного материала для биосинтеза органических веществ. В зависимости от формы потребляемой энергии автотрофные организмы подразделяют

Таблица 10.1. Классификация живых организмов по особенностям метаболизма

Источник энергии	Тип организма	Представители
Солнечный свет	<i>Фототрофный</i>	Фотосинтезирующие органы высших растений, водоросли, бактерии
Окислительно-восстановительные реакции:	<i>Хемотрофный</i>	Клетки животных, бактерий, нефотосинтезирующие клетки бактерий
донор — органические вещества, акцептор — $O_2$	<i>Хемоорганотрофный (аэробный)</i>	То же
донор и акцептор — органические вещества	<i>Хемоорганотрофный (анаэробный)</i>	»
донор — неорганические вещества, акцептор — $O_2$	<i>Хемолитотрофный (аэробный)</i>	Бактерии
донор и акцептор — неорганические вещества	<i>Хемолитотрофный (анаэробный)</i>	»
донор — органические вещества, акцептор — смешанный (органические вещества и $O_2$ )	<i>Хемоорганотрофный (факультативно анаэробный)</i>	Клетки высших животных, бактерии
Смешанный — свет и окислительно-восстановительные реакции:	<i>Миксотрофный</i>	Фотосинтезирующие клетки растений в разные фазы — световую и темновую
свет и окислительно-восстановительные реакции органических веществ	<i>Миксоорганотрофный</i>	То же
свет и окислительно-восстановительные реакции неорганических веществ	<i>Миксолитотрофный</i>	Фотосинтезирующие бактерии

на *фотосинтезирующие* и *хемосинтезирующие*. **Фототрофные** организмы используют для биосинтеза энергию Солнца, а **хемотрофные** организмы способны к преобразованию и использованию энергии окислительно-восстановительных реакций, т. е. энергии, выделяемой при окислении различных соединений. Если в таких процессах окислительно-восстановительные пары образованы органическими соединениями, то такие организмы называют **хемоорганотрофными**, если неорганическими — **хемолитотрофными**.

**Гетеротрофные** (от греч. *heteros* — другой и *trophe* — пища) организмы используют в качестве источника питания уже готовые, т. е. синтезированные другими организмами органические вещества.

**Миксотрофные** (от лат. *mixtus* — смешанный) — это организмы, способные как к синтезу органических веществ, так и к использованию их в готовом виде. Например, эвглена зеленая на свету является автотрофом, а в темноте — гетеротрофом, т. е. способна использовать как энергию сол-

нечного света, так и (в темноте) энергию химических связей в молекулах различных соединений.

Организмы, использующие в качестве акцептора электронов кислород, относят к **аэробным** (от греч. *aer* — воздух), а не нуждающиеся в нем — к **анаэробным**. Обычно в клетках сочетаются оба типа энергетики, но существуют и так называемые **облигатные анаэробы** (некоторые микроорганизмы), для которых кислород вообще не нужен или является ядом.

Взаимосвязь живых организмов в питании и использовании источников энергии представлена в виде своеобразных энергетических циклов живой природы. Главными партнерами в этих циклах являются автотрофы, синтезирующие органические вещества из  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  с использованием солнечной энергии, и гетеротрофные животные, использующие в качестве энергетического материала продуцируемые автотрофами восстановленные органические соединения, содержащие ценное биохимическое топливо — водород.

### 10.3. ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ. ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ

**Биоэнергетика** — это раздел биохимии, задачей которого является изучение механизмов и закономерностей преобразования энергии в живых организмах.

Энергетическое состояние любой биосистемы можно охарактеризовать, используя основные законы химической термодинамики. Согласно I закону термодинамики энергия в ходе физико-химических процессов не исчезает и не возникает из ничего, а лишь переходит из одной формы в другую в строго эквивалентных количествах. Таким образом, применительно к биологическим системам I закон термодинамики можно сформулировать так: *в живой природе при осуществлении различных биохимических процессов общее количество энергии остается постоянным*. Но нужно отметить, что математическое выражение I закона термодинамики ( $Q = \Delta H + A$ ) справедливо лишь для идеально обратимых процессов, в то время как в природе полностью обратимых процессов не существует, поскольку устойчивое химическое равновесие для живых организмов равнозначно смерти. Направление биохимических реакций можно предсказать, используя II закон термодинамики, согласно которому самопроизвольно протекают реакции, сопровождающиеся увеличением энтропии  $S$ ; при этом свободная энергия  $\Delta G$  должна уменьшаться, т. е.  $\Delta G < 0$ . Экзергонические реакции протекают самопроизвольно за счет уменьшения свободной энергии. Эндергонические реакции — это несамопроизвольные процессы, которые сопровождаются увеличением свободной энергии ( $\Delta G > 0$ ), поэтому их протекание невозможно без подвода энергии извне.

Поясним, что под *стандартной свободной энергией биохимических реакций*  $\Delta G^\circ$  понимается ее изменение в реакциях, протекающих в следующих стандартных условиях: концентрации компонентов реакции 1 моль/л, температура 298 К, давление 101,325 кПа и рН среды 7,0. Для биохими-

ческих реакций, протекающих в физиологических условиях, рассчитывается величина  $\Delta G_{\text{ф}}$ , учитывающая фактические значения температуры, pH и концентраций компонентов в биосредах.

Как отмечалось выше, в клетках живых организмов имеет место сопряжение эндергонических и экзергонических процессов. Такое сопряжение возможно, если оба процесса имеют хотя бы одно общее промежуточное соединение и суммарный процесс характеризуется отрицательным значением  $\Delta G^\circ$ . Например, синтез сахарозы является эндергоническим процессом и не протекает самопроизвольно. Сопряжение этой реакции с экзергонической реакцией гидролиза АТФ через связующее промежуточное соединение — глюкозо-1-фосфат — приводит к тому, что суммарный процесс имеет  $\Delta G^\circ < 0$ :

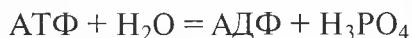
Глюкоза + Фруктоза = Сахароза +  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\Delta G^\circ = 20,9$  кДж/моль;

АТФ +  $\text{H}_2\text{O}$  = АДФ +  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\Delta G^\circ = -30,4$  кДж/моль

---

АТФ + Глюкоза + Фруктоза = Сахароза + АДФ +  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ,  $\Delta G^\circ = -9,5$  кДж/моль

В тепловых двигателях энергия, высвобождаемая в процессе окисления топлива, используется для выполнения работы за счет индуцированного температурного градиента. Живые клетки, состоящие в основном из органических молекул, не могут выдерживать существенных температурных градиентов. Поэтому в живых организмах энергия, высвобождаемая в процессе окисления, преобразуется в химическую энергию прежде, чем она рассеется в виде тепла. Это преобразование осуществляется путем сопряжения процессов окисления с синтезом высокоэнергетических соединений. Среди них главная роль принадлежит АТФ, выступающему посредником между системами, обменивающимися энергией и веществом. Так,  $\Delta G_{\text{ф}}$  реакции



составляет 50 кДж/моль. Эта величина незначительна по сравнению с энергией, которая высвобождается при полном окислении глюкозы ( $\Delta G^\circ = -166,5$  кДж/моль). Поэтому в клетках процессы окисления веществ протекают в несколько стадий. Затем энергия, аккумулированная в «высокоэнергетических» соединениях, используется на стадиях синтеза новых молекул и, наконец, выделяется в виде тепла в процессах их разрушения (гидролиза, полного окисления). В принципе, главное назначение энергии, генерируемой в процессе биологического окисления, заключается в поддержании организма в состоянии, удаленном от равновесия. Факторами, вызывающими смещение равновесия в метаболической цепи химических реакций в сторону образования конечных продуктов, являются: тепловые потери на каждой стадии процесса; быстрый отвод выделяющейся энергии за счет преобразования ее в энергию химических связей; низкие концентрации метаболитов, постоянно отводимых из зоны реакции; избыточные концентрации исходных пищевых веществ и кислорода; снижение энтропии веществ пищи в процессе окисления ( $\Delta S > 0$ ).

Если снабжение пищей и кислородом прекращается, то ничто не препятствует достижению равновесного состояния, в результате чего организм погибает.

## 10.4. ВЫСОКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

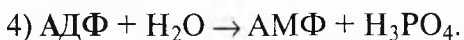
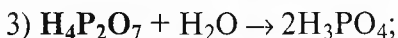
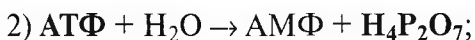
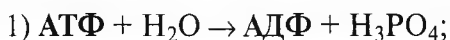
Энергия, высвобождаемая в катаболических процессах, аккумулируется в соединениях, как правило, являющихся ангидридами фосфорной кислоты. Не следует путать величину свободной энергии гидролиза фосфоангидридной связи, которая используется при описании биохимических процессов, с энергией связи, под которой понимается энергия, необходимая для ее разрыва. При гидролизе фосфоангидридной связи в физиологических условиях наряду с освобождением энергии протекают дополнительные процессы, связанные с образованием новых соединений (например, неорганических фосфатов), сольватацией продуктов и т. д.

Различают *высокоэнергетические* и *низкоэнергетические* фосфаты; условной границей для их разделения принято считать значение свободной энергии гидролиза фосфоангидридной связи  $\Delta G^{\circ} = -20$  кДж/моль. В табл. 10.2 приведены энергетические характеристики гидролиза некоторых биофосфатов. Следует отметить, что АТФ находится лишь в середине энергетической шкалы, однако сравнительно высокая термодинамическая неустойчивость позволяет этой молекуле выполнять функции ключевого энергетического посредника в обмене веществ. Большая энергоемкость и термодинамическая неустойчивость фосфоангидридных связей в АТФ по сравнению с другими биофосфатами объясняются особенностями ее химического строения (см. главу 8).

**Таблица 10.2.** Свободная энергия гидролиза некоторых высокоэнергетических и низкоэнергетических соединений в стандартных ( $\Delta G^{\circ}$ ) и физиологических ( $\Delta G_{\phi}$ ) условиях среды (в кДж/моль)

Соединение	Продукты гидролиза	$-\Delta G^{\circ}$	$-\Delta G_{\phi}$
Высокоэнергетические соединения			
Фосфоенолпируват	Пируват + $\text{H}_3\text{PO}_4$	61,7	66,7
1,3-Дифосфоглицерат	3-Фосфоглицерат + $\text{H}_3\text{PO}_4$	49,2	41,7
Креатинфосфат	Креатин + $\text{H}_3\text{PO}_4$	42,5	—
АТФ	АДФ + $\text{H}_3\text{PO}_4$	30,4	50,0
Ацетил-КоА	Ацетат + $\text{HSKoA}$	30,4	—
АДФ	АМФ + $\text{H}_3\text{PO}_4$	28,3	50,0
$\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$	$2\text{H}_3\text{PO}_4$	28,3	50,0
Глюкозо-1-фосфат	Глюкоза + $\text{H}_3\text{PO}_4$	20,8	—
Низкоэнергетические соединения			
Фруктозо-6-фосфат	Фруктоза + $\text{H}_3\text{PO}_4$	15,8	—
АМФ	Аденозин + $\text{H}_3\text{PO}_4$	14,1	—
Глюкозо-6-фосфат	Глюкоза + $\text{H}_3\text{PO}_4$	13,8	23,8
$\alpha$ -Глицеролфосфат	Глицерин + $\text{H}_3\text{PO}_4$	9,2	—

Существует несколько вариантов освобождения энергии при гидролизе фосфоангидридных связей АТФ (выделенные жирным шрифтом соединения являются высокоэнергетическими, остальные — низкоэнергетическими):



Наиболее часто встречается вариант 1 — отщепление от АТФ концевой фосфата, который затем гидратируется полярными молекулами воды или участвует в фосфорилировании другого соединения. Другой путь (вариант 2) — дифосфатное расщепление АТФ — используется в биохимических процессах реже. Также редко встречаются процессы, протекающие за счет гидролиза дифосфата (вариант 3), так как при этом освобождается только тепловая энергия. Пока еще не известны биохимические реакции, в которых используется энергия гидролиза АДФ (вариант 4), хотя данный процесс по количеству высвобождаемой энергии соизмерим с реакцией 1. Известно лишь, что гидролиз АДФ до АМФ и фосфата сопровождается выделением тепловой энергии.

Обращает на себя внимание тот факт, что изменение свободной энергии в процессе гидролиза фосфатной связи АТФ, АДФ и дифосфата в физиологических условиях значительно превышает значения  $\Delta G^\circ$  для аналогичных процессов в стандартных условиях. Для других соединений наблюдаются меньшие различия и не обязательно в сторону увеличения изменения свободной энергии.

Таким образом, аккумуляторами и источниками энергии в биосистемах являются ангидриды фосфорной кислоты, в результате сопряжения реакций гидролиза которых с эндергоническими процессами обеспечивается протекание анаболических процессов в живой природе.

## 10.5. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ

**Общие представления.** Гетеротрофные организмы человека и животных получают энергию за счет разложения органических веществ потребляемой ими пищи. Конечными продуктами распада пищевых веществ в организме человека и животных являются главным образом *диоксид углерода* и *вода*. Еще один из основных конечных продуктов обмена веществ — *мочевина*. Она не относится к числу термодинамически стабильных соединений. Образование мочевины связано с энергетическим обменом лишь косвенно и направлено на выведение избытка азота из организма (подробнее см. главу 12).

Термодинамически нестабильные вещества могут быть достаточно устойчивы кинетически. Например, глюкоза вне организма может сохраняться сколь угодно долго, в то время как в организме человека ежедневно

но может распадаться около 0,5 кг глюкозы. Кинетическая устойчивость соединений в живой клетке преодолевается в результате действия ферментов.

Основными питательными веществами, за счет которых организм человека обеспечивается энергией для осуществления биосинтетических процессов, являются углеводы и жиры (табл. 10.3). Меньшую роль в энергетическом обмене играют белки, однако при преимущественно белковом питании и при голодании их роль значительно возрастает.

**Таблица 10.3. Среднесуточное потребление энергии с веществами пищи у взрослого человека**

Вещество	Удельная калорийность		Среднее суточное потребление		
	ккал/г	кДж/г	г	ккал	кДж
Белки	4,1	17	80	328	1360
Жиры	9,3	39	100	930	3900
Углеводы	4,1	17	400	1640	6800
Всего	—	—	580	2898	12 060

Энергетическую характеристику продуктов питания принято выражать в калориях\*. Так как пища представляет собой смесь питательных веществ сложного состава, калорийность пищи указывается в расчете на 1 г (удельная калорийность), а не на 1 моль.

Энергетическую оценку большинства продуктов питания можно произвести по изменению энтальпии при их сгорании, поскольку согласно закону Гесса изменение энергии не зависит от пути реакции, а определяется только начальным и конечным состояниями системы. Конечные продукты окисления питательных веществ в организме абсолютно такие же, как и в случае сгорания этих веществ в калориметрической бомбе, что позволяет применять термохимические методы с целью получения энтальпийных характеристик процессов окисления питательных веществ.

Окисление органических соединений может быть связано:

- 1) с отрывом водорода от окисляемого субстрата;
- 2) с потерей электрона;
- 3) с замещением атомов на другие, более электроотрицательные атомы.

Все три типа реакций имеют место в живой клетке. Субстраты, образующиеся в ходе катаболизма белков, углеводов и липидов, подвергаются дегидрированию с участием *дегидрогеназ*.

Если акцептором водорода в реакциях дегидрирования служит не кислород, а какой-либо другой субстрат, то совокупность таких реакций называют **анаэробным окислением**. Анаэробное окисление — это процесс генерации водорода с участием никотинзависимых и флавинзависимых дегидрогеназ.

Если же акцептором водорода является кислород и в продуктах реакции присутствует вода, то такие реакции называют **аэробным окислением**,

\* Калорийность питательных веществ — это энергия, выделяющаяся при полном окислении 1 г питательных веществ до высших оксидов (1 кал = 4,1868 Дж).



или *тканевым дыханием*. Таким образом, тканевое дыхание — это распад органических веществ в живых тканях, сопровождающийся потреблением кислорода.

В процессе извлечения энергии из питательных веществ можно условно выделить три основные стадии, каждая из которых, как правило, представляет собой совокупность многочисленных биохимических реакций (табл. 10.4). В результате освобождение энергии в живой клетке происходит постепенно, через многочисленные промежуточные стадии, благодаря чему энергия может аккумулироваться в удобной для клетки химической форме, а точнее, в высокоэнергетических связях АТФ. Следует особо отметить тот факт, что в обычной клетке молекула АТФ расходуется в течение 1 мин после ее образования. В результате этого в покое человек расходует около 40 кг АТФ за сутки; но это количество резко возрастает во время физических нагрузок. Таким образом, сбалансированное, рациональное потребление пищевых веществ как источников энергии является залогом здоровья организма.

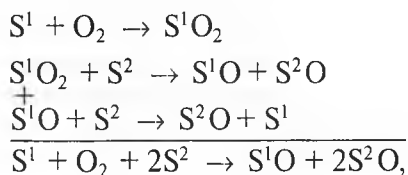
**Таблица 10.4. Стадии извлечения питательных веществ из компонентов пищи**

№ стадии	Название стадии	Краткая характеристика
I	Подготовительная	Гидролиз биополимеров до мономеров в кишечнике и внутри клеток. При этом высвобождается не более 1 % энергии субстратов, которая рассеивается в виде тепла
II	Образование полупродуктов метаболизма	Частичный распад мономеров до ключевых промежуточных продуктов: ацетил-КоА и нескольких кислот цикла Кребса — оксалоацетата, 2-оксoglутарата и др. Данный процесс протекает в митохондриях; при этом происходит освобождение около 20 % энергии субстратов; половина этого количества аккумулируется в АТФ, часть выделяется в виде тепла
III	Заключительная	Окончательный аэробный распад веществ до $\text{CO}_2$ и $\text{H}_2\text{O}$ . В этой стадии освобождается до 80 % энергии субстрата, которая в основном накапливается в АТФ и частично рассеивается в виде тепла

**Развитие представлений о биологическом окислении.** Первые представления о тканевом дыхании связаны с именем А. Л. Лавуазье (XVIII в.), который первым указал на то, что жизнь возможна только в присутствии кислорода, и отметил сходство между процессами горения угля и тканевым дыханием. Но уже тогда было очевидно, что биологическое окисление во многом отличается от процессов горения, а именно: оно протекает в необычных, очень «мягких» условиях: при сравнительно низкой температуре (37 °C), без образования пламени и в присутствии воды как главного компонента человеческого организма. Поэтому важной задачей, стоявшей перед учеными, являлось установление причин такого своеобразного течения окислительных процессов в живых организмах.

В разработку теоретических представлений о биологическом окислении большой вклад внесли русские ученые А. Н. Бах (1897 г.), В. И. Пал-

ладин (1907 г.), а также немецкий ученый К. О. Энглер (1897 г.). В результате обработки данных многочисленных исследований они предположили, что в процессе тканевого дыхания происходит активация молекул кислорода за счет энергии самоокисляющихся веществ с образованием пероксидов, которые затем разлагаются с участием других субстратов. Схему данного процесса можно записать в виде



где  $S^1$  и  $S^2$  — субстраты 1 и 2 соответственно.

А. Н. Бах впервые сформулировал идею о сопряжении окислительно-восстановительных процессов при тканевом дыхании. По А. Н. Баху, в процессе тканевого дыхания окисление с участием пероксидных соединений происходит под действием ферментов *пероксидаз*. В целом его идеи получили название *пероксидной теории дыхания Баха*.

В. И. Палладин развил теорию о дыхании как о системе ферментативных реакций, в которой особое значение уделяется окислению дыхательных субстратов путем дегидрирования.

В последующих работах были исследованы взаимосвязь тканевого дыхания с другими процессами обмена веществ, ферментная обеспеченность дыхательных процессов, механизмы аккумуляции и превращения энергии и т. д. Большой вклад в изучение этих вопросов внесли В. А. Энгельгардт, В. А. Белицер, С. Е. Северин, В. П. Скулачев, Г. Кребс, А. Ленинджер, П. Митчелл и ряд других известных ученых.

## 10.6. ДЫХАТЕЛЬНАЯ ЦЕПЬ

На современном этапе развития биохимии тканевое дыхание представляется в виде полиферментной цепи (*дыхательная цепь*) переноса электронов и ионов водорода от биологического субстрата к кислороду. Дыхательная цепь образована окислительно-восстановительными ферментами, расположенными в липидном слое внутренней мембраны митохондрий клеток (рис. 10.2).

Митохондрии обычно имеют форму цилиндра с закругленными концами длиной 1—4 мкм и диаметром 0,3—0,7 мкм. Они состоят из внешней и внутренней мембран, которые различаются по составу, свойствам и функциям. Внешняя мембрана легко проницаема для молекул с молекулярной массой до 5000, в то время как проницаемость внутренней мембраны строго ограничена и избирательна, что определяется наличием специфических транспортных систем. На долю ферментов дыхательной цепи приходится 30—40 % всех белков внутренней мембраны. Дыхательную цепь нередко называют *редокс-цепью* (окислительно-восстановительная

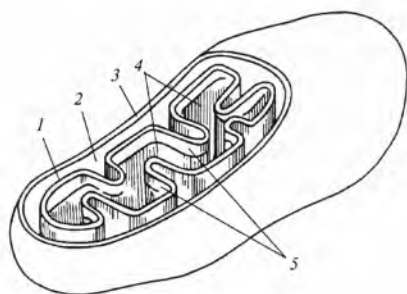
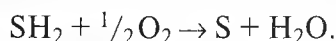


Рис. 10.2. Строение митохондрии:

1 — внутренняя мембрана; 2 — межмембранное пространство; 3 — наружная мембрана; 4 — матрикс; 5 — кристы

цепь), поскольку в ней многократно протекают процессы окисления—восстановления, а также *цепью переноса электронов, электроно-транспортной* или *электропереносящей цепью*. Это более широкие понятия, чем «дыхательная цепь», поскольку подобные системы функционируют в мембранах хлоропластов, ядер, микросом клеток.

Окисление биосубстрата (S) в процессе дыхания схематично можно представить следующим суммарным уравнением:

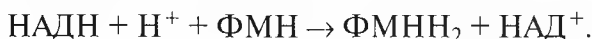


Этот процесс включает большое число стадий, в которых участвуют входящие в дыхательную цепь промежуточные переносчики электронов и ионов водорода. Основными компонентами дыхательной цепи являются: *никотинзависимые дегидрогеназы, флавинзависимые дегидрогеназы, цитохромы, убихинон* и некоторые металлопротеины (*железосерные белки*). Все перечисленные переносчики электронов и ионов водорода рассматриваются в главах 3 и 5.

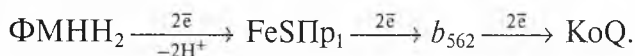
Водород от первичных доноров вводится в дыхательную цепь с участием НАД-зависимых и ФАД-зависимых дегидрогеназ. НАД-зависимые дегидрогеназы переносят водород с субстрата ( $\text{SH}_2$ ) на  $\text{НАД}^+$ , при этом образуется их восстановленная форма ( $\text{НАДН} + \text{H}^+$ ):



Далее два электрона и два протона переносятся от восстановленного ( $\text{НАДН} + \text{H}^+$ ) к ФМН, входящему в состав флавопротеина (ФлПр), встроенного в митохондриальную мембрану и пронизывающего ее от внешней до внутренней поверхности (рис. 10.3):



Благодаря этому восстановленный  $\text{ФМНН}_2$  переносит протоны от внутренней поверхности мембраны к внешней. На этом участке дыхательной цепи пути электронов и протонов расходятся: протоны выделяются в межмембранное пространство, а два электрона переносятся от  $\text{ФМНН}_2$  к связанному с ним железосерному белку  $\text{FeSPp}_1$ , а затем через цитохром  $b_{562}$  — на убихинон ( $\text{КоQ}$ ):



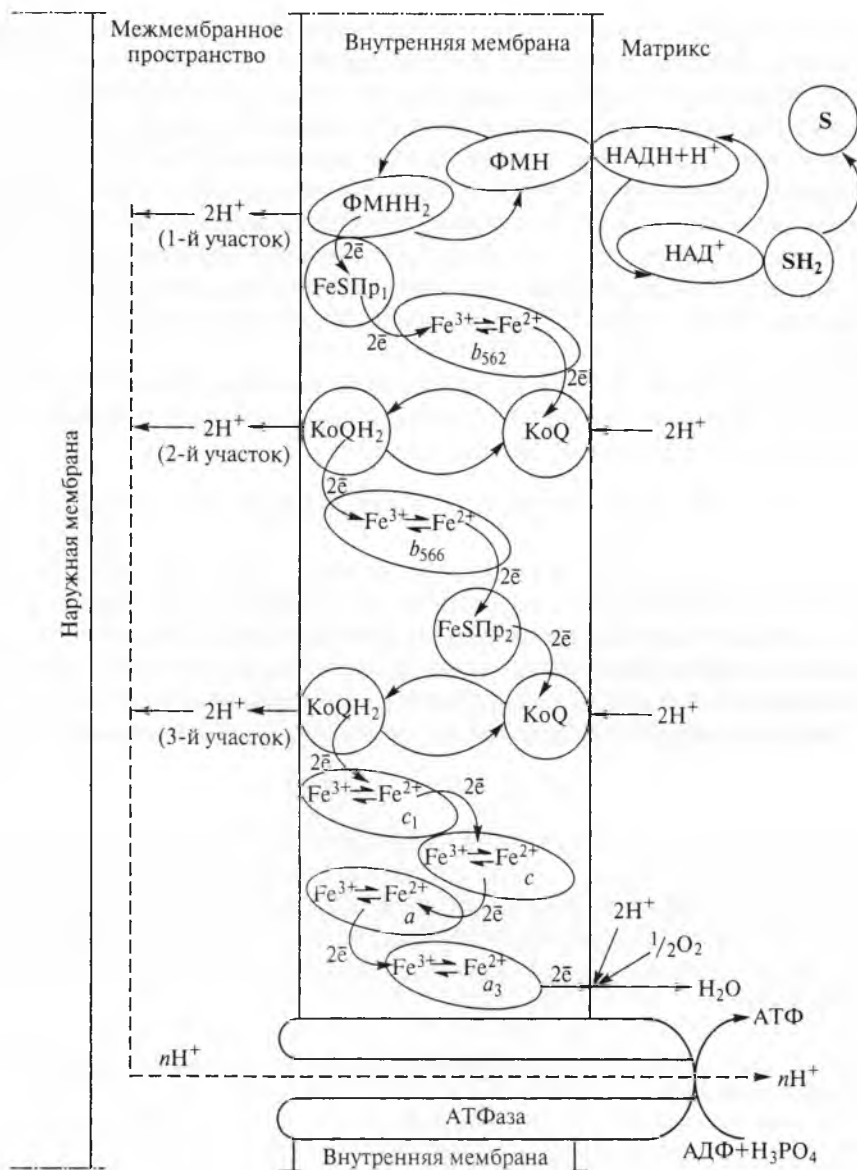
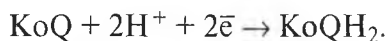


Рис. 10.3. Взаимосвязь митохондриального окисления и окислительного фосфорилирования в митохондриях

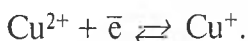
Убихинон присоединяет два протона из внешнего пространства митохондрий с образованием восстановленного  $\text{KoQH}_2$ :



Таким образом, замыкается первая петля (1-й участок) митохондриальной цепи. Необходимо отметить, что благодаря хорошей растворимости убихинона в липидном слое мембран он может мигрировать от одной

стороны мембраны к другой, перенося на себе водород. Далее разделение водорода на протоны и электроны повторяется (2-й участок), при этом два электрона через цитохром  $b_{566}$  и железосерный белок  $\text{FeSPr}_2$  возвращаются на внешнюю сторону мембраны и акцептируются окисленным  $\text{KoQ}$  совместно с двумя протонами из окружающей среды. Новый восстановленный  $\text{KoQH}_2$  опять участвует в переносе водорода через мембрану. При этом возврат пары электронов на внешнюю сторону мембраны осуществляется через систему последовательно сопряженных цитохромов (3-й участок). Напомним, что ион железа в геме цитохромов может попеременно менять свою степень окисления, присоединяя или отдавая электрон.

Комплекс цитохромов  $a$  и  $a_3$  действует как *цитохромоксидаза*, содержащая помимо гема ионы меди, которые тоже участвуют в переносе электронов, меняя при этом степень окисления:



Комплекс цитохромов переносит электроны на молекулу кислорода. Кислород, поступающий в митохондрии из крови, связывается с ионом железа в геме цитохрома  $a_3$  в молекулярной форме  $\text{O}_2$  (подобно тому, как он связывается с гемоглобином в процессе своего транспорта). Затем каждый из атомов молекулы  $\text{O}_2$  последовательно присоединяет по два электрона и два протона, восстанавливаясь при этом до молекулы воды:



Таким путем через дыхательную цепь электроны от субстрата достигают конечного акцептора — атмосферного кислорода. Образующаяся в результате такого процесса вода называется *метаболической*. Некоторые насекомые, например жуки-чернотелки, получают воду только в результате тканевого дыхания, поскольку их пищевой рацион практически не содержит воды.

**Таблица 10.5.** Значения окислительно-восстановительных потенциалов  $E^\circ$  основных компонентов дыхательной цепи

Восстановленная форма	Окисленная форма	$E^\circ$ , В
$\text{НАДН} + \text{H}^{+}$	$\text{НАД}^{+}$	-0,32
$\text{ФАДН}_2$	$\text{ФАД}$	-0,05
$\text{KoQH}_2$	$\text{KoQ}$	+0,04
Цитохром $b$ ( $\text{Fe}^{2+}$ )	Цитохром $b$ ( $\text{Fe}^{3+}$ )	+0,07
Цитохром $c_1$ ( $\text{Fe}^{2+}$ )	Цитохром $c_1$ ( $\text{Fe}^{3+}$ )	+0,23
Цитохром $c$ ( $\text{Fe}^{2+}$ )	Цитохром $c$ ( $\text{Fe}^{3+}$ )	+0,25
Цитохром $a$ ( $\text{Fe}^{2+}$ )	Цитохром $a$ ( $\text{Fe}^{3+}$ )	+0,29
Цитохром $a_3$ ( $\text{Fe}^{2+}$ )	Цитохром $a_3$ ( $\text{Fe}^{3+}$ )	+0,55
$\text{H}_2\text{O}$	$1/2\text{O}_2$	+0,82

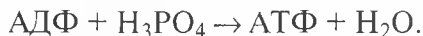
Таким образом, разделение водорода на протоны и электроны в мембране митохондрий напоминает работу переправы с помощью двух типов транспортных средств, т. е. цепь переноса электронов работает как протонный насос, перекачивающий ионы водорода из межклеточного пространства на наружную сторону мембраны.

Направление переноса электронов и ионов водорода в дыхательной цепи определяется окислительно-восстановительными потенциалами основных ее компонентов (табл. 10.5).

Следует пояснить, что при физиологических условиях (рН 7,4) стандартный окислительно-восстановительный потенциал системы  $\text{H}_2/2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$  равен  $-0,42$  В. Поэтому в дыхательной цепи перенос электронов и протонов от биосубстрата к кислороду ( $E^\circ = +0,82$  В) начинается НАД $^+$  ( $E^\circ = -0,32$  В).

## 10.7. ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ АДФ. МИТОХОНДРИАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ

В 1931 г. наш соотечественник В. А. Энгельгардт показал, что биологическое окисление сопряжено с фосфорилированием АДФ, т. е. энергия, выделяемая при окислении субстратов, используется для смещения равновесия в реакции фосфорилирования АДФ до АТФ. Суммарную реакцию окислительного фосфорилирования АДФ можно записать в следующем виде:



Энергетическое сопряжение реакций переноса водорода и синтеза АТФ происходит при участии митохондриальной мембраны и фермента  $\text{H}^+$ -АТФ-синтетазы.

Среди множества гипотез о механизме сопряжения фосфорилирования АДФ и дыхания заслуживает внимания *хемиосмотическая теория*, разработанная английским биохимиком П. Митчеллом (1961 г.). По мнению П. Митчелла, энергия переноса электронов и протонов через дыхательную цепь первоначально сосредотачивается в виде *протонного потенциала*, или *электрохимического градиента* концентраций ионов  $\text{H}^+$ , возникающего при их переносе через клеточную мембрану компонентами дыхательной цепи. Протонный потенциал  $\Delta\mu_{\text{H}^+}$  создается двумя компонентами: *осмотическим*, возникающим вследствие разности концентраций протонов ( $\Delta\text{pH}$ ) по сторонам мембраны, и *электрическим*, обусловленным разностью электрических потенциалов ( $\Delta\phi$ ) на поверхностях внутренней мембраны митохондрий:

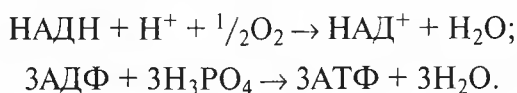
$$\Delta\mu_{\text{H}^+} = \Delta\phi + \Delta\text{pH}.$$

Расчеты показали, что дыхательная митохондриальная цепь создает протонный потенциал в  $0,25$  В. Этого вполне достаточно для синтеза одной молекулы АТФ. Из указанной величины протонного потенциала при-

мерно 0,2—0,22 В приходится на  $\Delta\phi$  и 0,03—0,05 В — на  $\Delta pH$ . Обратная диффузия протонов через мембрану является самопроизвольным процессом, при котором выделяется энергия, используемая для фосфорилирования АДФ. Синтез АТФ осуществляется  $H^+$ -АТФ-синтетазой (см. рис. 10.3), которая встроена в мембрану и состоит из цилиндрической части и собственно каталитического центра. Перенос протонов через  $H^+$ -АТФ-синтазу из зоны с большей концентрацией протонов в область с меньшей сопровождается выделением энергии, используемой в каталитической части фермента для смещения равновесия реакции фосфорилирования в сторону синтеза АТФ.

Отношение количества связанного фосфата к количеству поглощенного кислорода (О) называют **коэффициентом фосфорилирования** и обозначают как Р/О. Как было показано, коэффициент Р/О равен 3. Эта величина отражает теоретически возможный выход АТФ. В действительности часть энергии электрохимического потенциала используется не на синтез АТФ, а на перенос веществ через митохондриальную мембрану при участии ферментов *транслоказ*.

Суммарный результат окисления ( $НАДН + H^+$ ) и фосфорилирования АДФ в дыхательной цепи можно представить следующим образом:



Если в лабораторных условиях воспроизвести данные процессы без участия АДФ, то поглощения кислорода не будет наблюдаться. Процессы дыхания и синтеза АТФ начинаются сразу после внесения АДФ; по мере расходования АДФ скорость дыхания снижается и полностью прекращается, когда вся АДФ превратится в АТФ. Зависимость скорости дыхания митохондрий от концентрации АДФ называют **дыхательным контролем**. Дыхательный контроль имеет первостепенное значение в дыхании организмов, т. е. скорость дыхания задается фактическими затратами АДФ.

## 10.8. МИКРОСОМАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ

Микросомальное окисление осуществляется ферментными системами микросом печени и надпочечников (рис. 10.4). Механизм этого процесса отличается от митохондриального окисления тем, что в нем кислород используется не в биоэнергетических, а в пластических целях. Ферменты микросом способны использовать кислород для частичного окисления специфических органических соединений: стероидных гормонов, холестерина и других гидрофобных молекул. В результате молекулы потенциально токсичного (как правило, гидрофобного) вещества в процессе гидроксилирования в микросомах становятся более полярными, легче гидратируются водой и выводятся из организма. К сожалению, иногда наблюдается и обратный процесс. Так, окисление в микросомальной цепи малотоксичного *бензпирена*, который содержится в табачном дыме и коп-

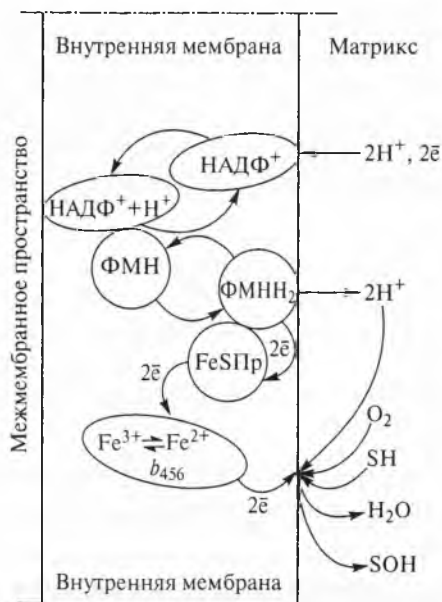
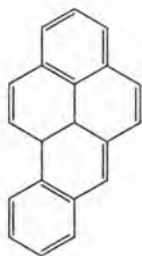
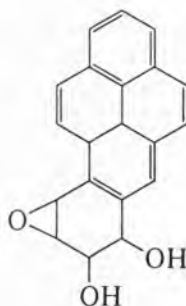


Рис. 10.4. Схема микросомального окисления

ченных продуктах, приводит к образованию *эпоксида бензпирена*, являющегося сильным канцерогеном:

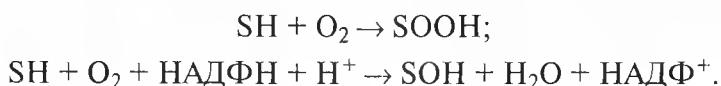


3,4-Бензпирен



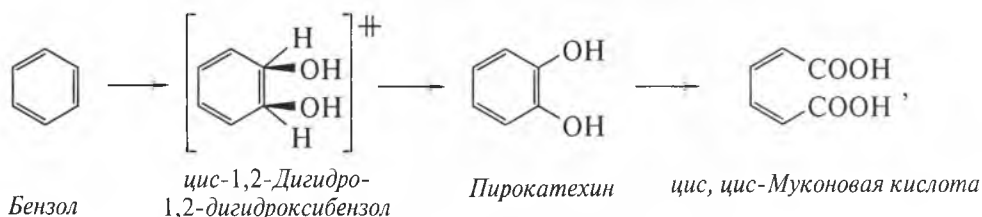
Эпоксид бензпирена

Ферменты микросом делятся на две группы: *монооксигеназы* и *диоксигеназы*, катализирующие реакции, в которых в молекулу субстрата включаются (с образованием органических пероксидов) один или два атома кислорода соответственно. В реакциях первого типа (*монооксигеназное окисление*) один атом кислорода из молекулы  $O_2$  расходуется на образование гидроксильной группы в субстрате, а второй восстанавливается, образуя воду. В восстановлении второго атома кислорода участвует НАДФН. Схематично реакции микросомального окисления можно представить следующим образом:





Механизм *диоксигеназного окисления* можно рассмотреть на примере гидроксилирования бензола. Вначале молекула бензола гидроксилируется под действием диоксигеназы с образованием *цис*-1,2-дигидро-1,2-дигидроксибензола, из которого в результате дегидрирования получается пирокатехин. Далее диоксигеназа разрывает пирокатехиновое ароматическое кольцо с образованием *цис*, *цис*-муконовой кислоты:



которая затем модифицируется в 3-оксидипиновую кислоту и включается в клеточный метаболизм в виде сукцинил-КоА.

## 10.9. ПОДДЕРЖАНИЕ ПОСТОЯННОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ОРГАНИЗМОВ В РЕЗУЛЬТАТЕ ОБМЕНА ЭНЕРГИИ И ТЕПЛОПРОДУКЦИИ

Процессы обмена веществ и энергии в живых организмах протекают в сложной, динамичной обстановке естественной среды их обитания и находятся под постоянным воздействием комплекса факторов. Поддержание устойчивого обмена веществ и энергии в изменяющихся условиях внешней среды невозможно без специальных механизмов адаптации. Рассмотрим биохимические основы механизма температурной адаптации, поскольку температурные условия оказываются одними из важнейших экологических факторов, влияющих на интенсивность обменных процессов.

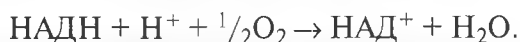
Температура относится к числу постоянно действующих факторов; ее значение определяется широкими географическими, сезонными и суточными условиями и параметрами. Так, температура на поверхности песка в пустыне может достигать порядка 60 °С, а минимальные температуры воздуха в Восточной Сибири доходят до –70 °С. Вообще, диапазон температур от +50 до –50 °С представляет собой фундаментальную характеристику температурных условий в биосфере, хотя имеются и отклонения от этих параметров.

Генеральная закономерность воздействия температуры на живые организмы выражается влиянием ее на скорость обмена веществ и энергии. Согласно общему для всех химических реакций правилу Вант-Гоффа повышение температуры ведет к пропорциональному возрастанию скорости реакции. В живых организмах химические реакции протекают с участием ферментов, активность которых зависит от температуры (см. главу 2). В результате ферментативного катализа возрастает скорость биохимических реакций и количественно меняется ее зависимость от внешней температуры. Как известно, величину температурного ускорения хи-

мических реакций удобно выражать *коэффициентом температурного ускорения*  $Q_{10}$ , показывающим, во сколько раз увеличивается скорость реакции при повышении температуры на  $10^\circ\text{C}$ :  $Q_{10} = k_{t+10}/k_t$ , где  $k_{t+10}$  и  $k_t$  — константы скорости при температуре  $t + 10$  и  $t$ .

Коэффициент температурного ускорения в реакциях для живых систем колеблется в довольно широких пределах даже для одних и тех же процессов, протекающих в разных диапазонах температур. Это объясняется тем, что скорость ферментативных реакций не является линейной функцией температуры. Так, у тропических растений при температуре ниже  $10^\circ\text{C}$  коэффициент  $Q_{10}$  приблизительно равен 3, но существенно уменьшается при возрастании температуры выше  $25 - 30^\circ\text{C}$ . У колорадского жука потребление кислорода в диапазоне  $10 - 30^\circ\text{C}$  характеризуется величиной  $Q_{10} = 2,46$ , а при температуре  $20 - 30^\circ\text{C}$   $Q_{10} = 1,8$ . Зависимость метаболизма рыб и многих других водных животных от температуры выражается в изменении величины  $Q_{10}$  от 10,9 до 2,2 в диапазоне температур от 0 до  $30^\circ\text{C}$ .

Рассмотрим некоторые из физиологических механизмов, обеспечивающих тепловой гомеостаз организма, а именно механизм *биохимической терморегуляции*. Биохимическая терморегуляция представляет собой регуляцию теплопродукции организма, поскольку тепловая энергия постоянно вырабатывается в организме в результате протекания процессов катаболизма. Например, суммарную реакцию окисления НАДН в дыхательной цепи можно представить следующим образом:



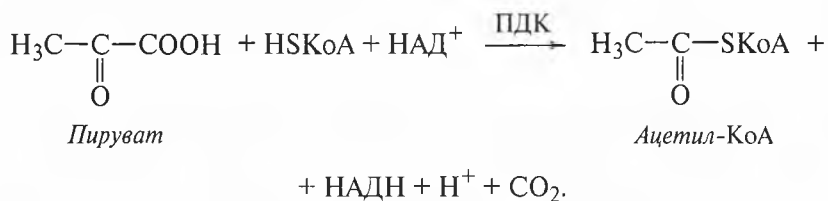
Суммарное изменение энергии в этой реакции равно  $-220$  кДж/моль. С учетом того, что при образовании одной высокоэнергетической связи в АТФ запасается примерно 50 кДж/моль, а коэффициент фосфорилирования равен 3, очевидно, что на этом этапе используется лишь 150 кДж/моль, а около 70 кДж/моль рассеивается в виде теплоты. Аналогично при использовании АТФ для совершения работы значительная часть энергии переходит в теплоту, особенно при напряженной физической работе. При этом много синтезируется и расходуется АТФ, и организм включает специальные механизмы для вывода избытка теплоты из организма. Напротив, при снижении температуры тела включается механизм несогласованного сокращения отдельных групп мышечных клеток (дрожание) для увеличения продукции теплоты. Необходимо отметить, что чем больше разность температуры тела и окружающей среды, тем больше теплоты отдается во внешнюю среду. Поэтому поддержание устойчивой температуры тела при снижении температуры среды требует соответствующего усиления процессов метаболизма и сопровождающего их теплообразования, что компенсирует теплопотери и приводит к сохранению общего теплового баланса организма, т. е. поддержанию постоянства температуры внутренней среды. Выделение энергии в виде теплоты сопровождается функциональную нагрузку всех органов и тканей и свойственно всем живым организмам.

## 10.10. ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА

В пище человека практически не содержится готовых первичных доноров водорода для дегидрогеназ; они образуются из пищевых веществ в ходе катаболизма. В едином катаболическом процессе можно выделить два типа путей: *специфические пути катаболизма* и *общий путь катаболизма* (ОПК). Под специфическими путями подразумевается распад органических соединений различных классов (белков, липидов, углеводов), составляющих основу питания. ОПК интегрирует все специфические пути и является их общим продолжением. Недаром в популярной научной литературе ОПК именуют как «биохимическая топка» или «метаболическая мельница». Схема общего и специфических путей катаболизма основных веществ пищи представлена на рис. 10.5.

В результате специфических путей катаболизма продукты переваривания пищевых веществ (моносахариды, глицерин, жирные кислоты, аминокислоты) превращаются всего в два соединения — *пировиноградную кислоту* и *ацетил-КоА*, которые затем направляются в *общий путь катаболизма*, включающий в себя процесс *декарбоксилирования пировиноградной кислоты* и *цикл трикарбоновых кислот*. Некоторые специфические пути включаются в общий путь на стадии *пирувата* (аниона пировиноградной кислоты), другие — на стадии *ацетил-КоА*. Ряд веществ поступает в общий путь катаболизма на промежуточных стадиях цикла трикарбоновых кислот. Именно общий путь катаболизма является источником основной массы первичных доноров водорода для дыхательной цепи.

**Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты.** Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты можно отразить следующим суммарным уравнением:



В результате этой реакции образуются ацетил-КоА, восстановленная форма (НАДН + H<sup>+</sup>) и диоксид углерода.

Данный процесс многостадийен и катализируется *пируватдегидрогеназным ферментативным комплексом* (ПДК). ПДК состоит из трех ферментов: *пируватдекарбоксилазы*, *ацетилтрансферазы* и *дегидрогеназы дигидролипоевой кислоты*. Кроме того, в реакциях участвуют пять коферментов: НАД, ФАД, тиаминдифосфат (ТДФ), липоевая кислота и HSCoA. Каждый фермент и, соответственно, кофермент катализирует определенную реакцию данного многостадийного процесса. Например, *дегидрогеназа дигидролипоевой кислоты* катализирует последнюю стадию окислительного декарбоксилирования, в результате которой дигидролипоевая кислота превращается в дегидролипоевую, что служит сигналом для связывания

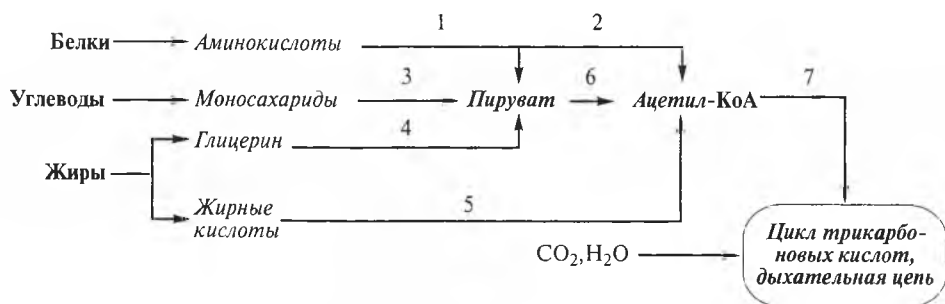


Рис. 10.5. Схема общего и специфических путей катаболизма:

1 — 5 — специфические пути катаболизма; 6, 7 — общий путь катаболизма

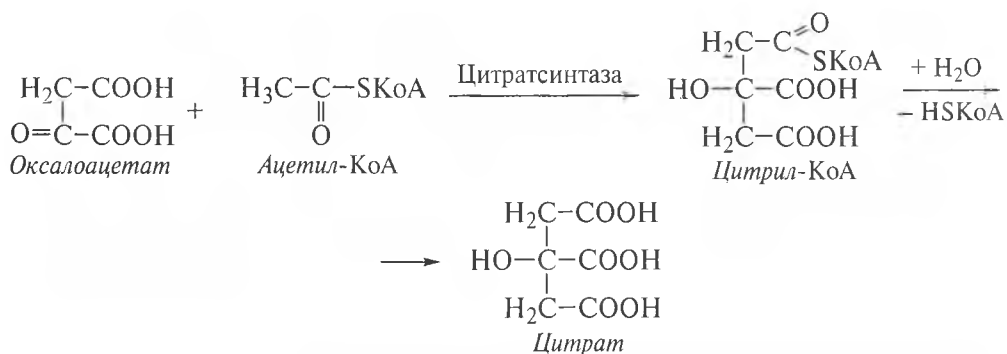
следующей молекулы пирувата с ПДК. Пируватдегидрогеназный комплекс представляет собой крупную надмолекулярную структуру с молекулярной массой 7—10 млн. Он работает подобно конвейеру, что делает процесс окислительного декарбоксилирования более эффективным. ПДК встроен во внутреннюю мембрану митохондрий. Пируват поступает к комплексу из межклеточного пространства, и сюда же высвобождаются ацетил-КоА и восстановленная форма ( $\text{НАДН} + \text{H}^+$ ).

**Цикл Кребса.** В результате окислительного декарбоксилирования пирувата образуется ацетил-КоА, полное окисление ацетильного остатка которого до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  осуществляется при участии мультиферментного ансамбля, обеспечивающего протекание серии реакций, образующих цикл, названный впоследствии *циклом Кребса*. За открытие цикла английский биохимик Г. Кребс в 1953 г. стал лауреатом Нобелевской премии. Цикл Кребса также называют *циклом лимонной кислоты* или *циклом ди- и трикарбоновых кислот*.

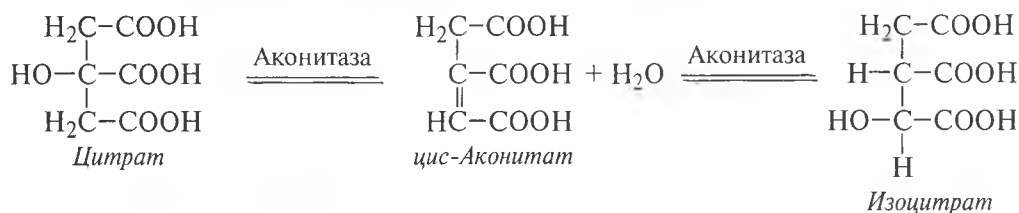
Цикл Кребса является тем главным центром, в котором сходятся многие метаболические пути. Это конечный путь окисления ацетильных групп (в виде ацетил-КоА), в которые в процессе катаболизма превращается большинство органических молекул, играющих роль клеточного «топлива».

Мультиферментный ансамбль цикла Кребса, так же как и дыхательная цепь переноса электронов, располагается во внутренней мембране митохондрий клеток. Цикл Кребса осуществляется в восемь стадий (отдельных реакций), которые представлены ниже. Необходимо отметить, что участвующие в цикле Кребса ди- и трикарбоновые кислоты представлены в митохондриях преимущественно в форме анионов ( $\text{pH} = 6 \div 7$ ), но для удобства восприятия реакций цикла Кребса приведены в виде молекул.

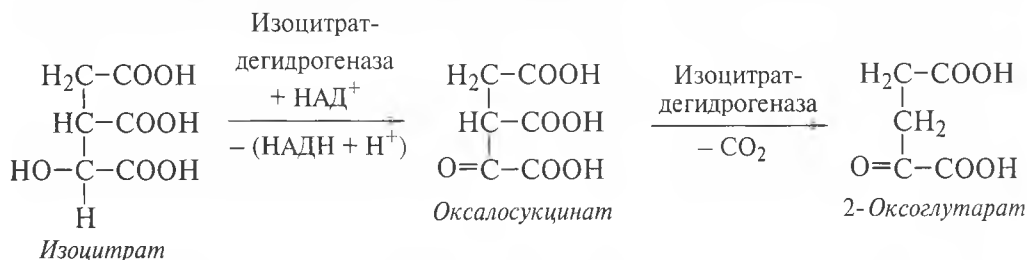
Стадия 1 представляет собой нуклеофильное присоединение ацетил-КоА по двойной связи оксалоацетата (аниона шавелевоуксусной кислоты) при участии *цитратсинтазы*. Образующийся цитрилкофермент А легко гидролизуетс до цитрата (аниона лимонной кислоты) и  $\text{HSCoA}$ :



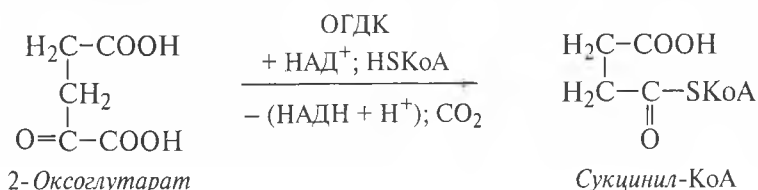
Стадия 2 заключается в изомеризации цитрата в изоцитрат (анион изолимонной кислоты) и осуществляется за счет двух последовательных реакций: дегидратации исходного цитрата и гидратации образующегося промежуточного продукта (*цис*-аконитовая кислота; анион — *цис*-аконитат). Данная реакция катализируется *аконитазой*:



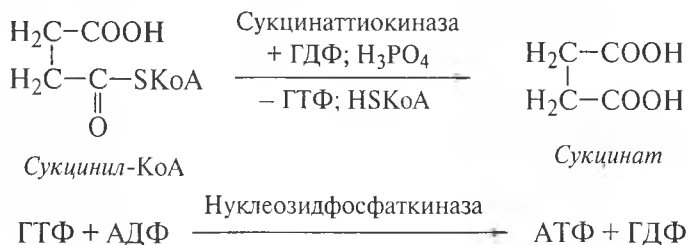
Стадия 3 — одновременное дегидрирование до оксалосукцината (анион щавелевойянтранной кислоты) и декарбоксилирование изоцитрата *изоцитратдегидрогеназой* в 2-оксоглутарат (анион 2-оксоглутаровой кислоты):



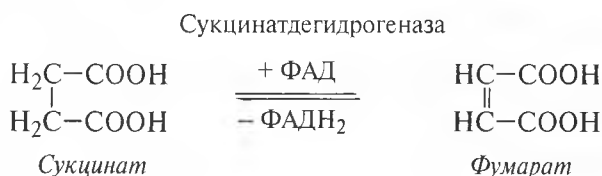
Стадия 4 является реакцией окислительного декарбоксилирования 2-оксоглутарата в сукцинил-КоА (сукцинил — ацильный остаток янтарной кислоты); это превращение катализирует *2-оксоглутаратдегидрогеназный комплекс* (ОГДК), сходный по структуре и катализируемым реакциям с пируватдегидрогеназным комплексом. Суммарную реакцию данного процесса можно записать в виде



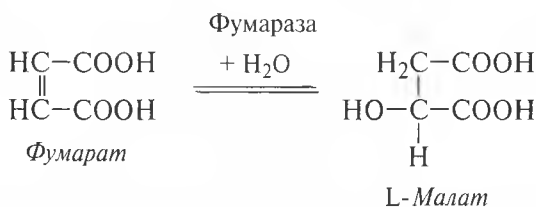
Стадия 5 — гидролиз сукцинил-КоА до сукцината (аниона янтарной кислоты). Данное превращение катализирует *сукцинаттиокиназа*. Связь, соединяющая ацильные остатки с HSKoA, является высокоэнергетической. В случае сукцинил-КоА энергия этой связи используется для образования высокоэнергетической связи в ГТФ. Энергия ГТФ может быть направлена на синтез одной молекулы АТФ при действии *нуклеозидфосфаткиназы*:



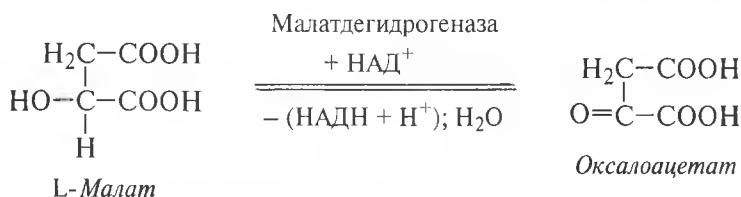
Стадия 6 представляет собой реакцию дегидрирования сукцината в фумарат (анион фумаровой кислоты) при действии *сукцинатдегидрогеназы* с участием окисленной формы ФАД:



Стадия 7 — стереоселективное присоединение молекулы воды по двойной связи фумарата с образованием исключительно L-малата (аниона L-оксиянтарной или яблочной кислоты); реакция катализируется *фумаразой*:



Стадия 8 заключается в регенерации оксалоацетата за счет дегидрирования L-малата *малатдегидрогеназой* и окисленной формой НАД:



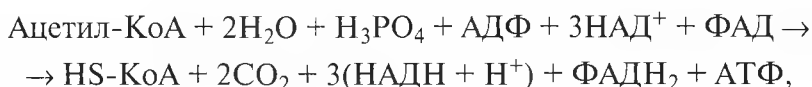


работать в обратном направлении. Если же количество оксалоацетата, синтезируемого из других биосубстратов с помощью вспомогательных механизмов (реакций), недостаточно для синтеза из него ацетил-КоА и цитрата, то цикл Кребса не успевает «сжигать» ацетильные остатки. Одним из самых распространенных путей биосинтеза оксалоацетата, необходимого для нормального осуществления цикла Кребса, является карбоксилирование пирувата, сопряженное с гидролизом АТФ:

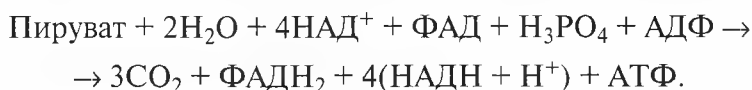


Данная реакция катализируется *пируваткарбоксилазой*, представляющей собой тетрамерный белок, содержащий прочно связанный ион  $\text{Mn}^{2+}$  и витамин Н (биотин), выполняющий коферментную функцию. В ходе реакции молекула  $\text{CO}_2$  вначале присоединяется к биотину, а затем переносится на пируват.

Суммарное уравнение цикла Кребса (т. е. превращений ацетил-КоА) имеет вид



а суммарное уравнение ОПК (включая окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты) будет выглядеть следующим образом:



В расчете на одну молекулу пирувата в ОПК образуется три молекулы  $\text{CO}_2$ : одна при окислительном декарбоксилировании пирувата и две за счет окисления ацетильного остатка непосредственно в цикле Кребса (при декарбоксилировании изоцитрата и при окислительном декарбоксилировании 2-оксоглутарата). Человек за сутки выделяет с выдыхаемым воздухом около 500 л  $\text{CO}_2$ , большая часть которого (около 90 %) образуется в ОПК. Важно отметить, что молекулярный кислород не принимает непосредственного участия в цикле Кребса, процессы окисления в нем осуществляются путем реакций присоединения, гидратации и дегидрирования.

Цикл Кребса обнаружен в клетках животных, растений, микроорганизмов. Он может работать не только в аэробных, но и в анаэробных условиях, например у фотосинтезирующих бактерий при наличии подходящего акцептора водорода. Анаэробные варианты цикла Кребса реализуются также в животных клетках, когда при недостаточном поступлении кислорода в ткани и органы млекопитающих восстановленная форма  $(\text{НАДН} + \text{H}^+)$  может расходоваться на восстановление фумарата до сукцината. Работа мультиферментного ансамбля цикла Кребса настолько надежна, что патологических состояний, связанных со сбоями в его реакциях, не обнаружено. Это указывает на важность реакций цикла Кребса для организма и хорошую защищенность его от внешних воздействий.



Таким образом, можно выделить следующие основные биохимические функции цикла Кребса:

**интегративная** — цикл Кребса выступает в роли метаболического интегратора, объединяющего специфические катаболические пути основных веществ пищи — углеводов, липидов и белков;

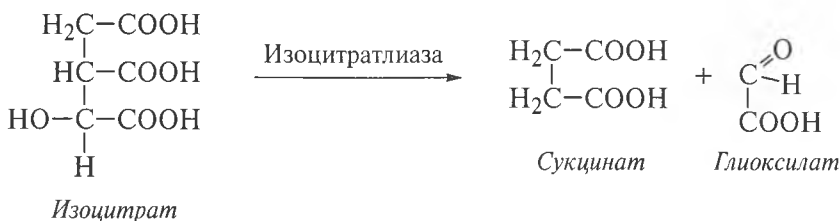
**амфиболическая** — цикл Кребса выполняет как катаболическую функцию (распад ацетильных остатков), так и анаболическую (субстраты цикла используются для синтеза других веществ, например, из оксалоацетата синтезируется аспарагиновая кислота, из сукцината — гем крови);

**энергетическая** — синтез АТФ; в результате реакций одного цикла Кребса образуется 12 молекул АТФ, одна из которых синтезируется непосредственно в цикле, а остальные — за счет окисления образовавшихся трех восстановленных молекул ( $\text{НАДН} + \text{H}^+$ ) и одной молекулы  $\text{ФАДН}_2$ , которое осуществляется в дыхательной цепи;

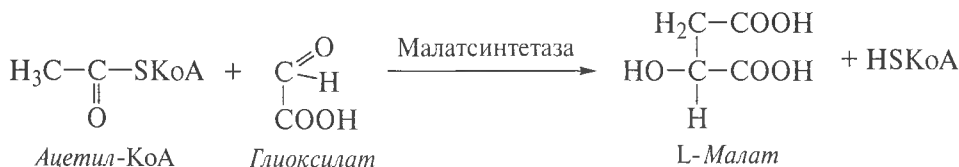
**водорододонорная** — цикл Кребса является генератором водорода для дыхательной цепи; в цикле образуются четыре пары атомов водорода, связанные с НАД и ФАД, которые затем используются в различных биохимических окислительно-восстановительных процессах.

**Глиоксилатный цикл.** В цикл Кребса входит достаточно много промежуточных соединений, изменение концентраций которых могло бы приводить к различным отклонениям в работе организма. Поэтому в организме существуют специальные ферментативные системы, регулирующие концентрации метаболитов цикла Кребса. Такую функцию, в частности, выполняет **глиоксилатный цикл**, который обнаружен у некоторых видов растений и микроорганизмов. Существование данного цикла у животных организмов пока остается под вопросом. Цикл был открыт Г. Кребсом в 1957 г.

Глиоксилатный цикл (рис. 10.7) представляет собой видоизмененный цикл Кребса, в котором вместо ферментов изоцитратдегидрогеназы и 2-оксоглутаратдегидрогеназного комплекса присутствует **изоцитратлиаза**, катализирующая распад изоцитрата до сукцината и глиоксилата (анион глиоксильной кислоты):



Затем при участии **малатсинтетазы** происходит конденсация ацетил-КоА с глиоксилатом с образованием L-малата:



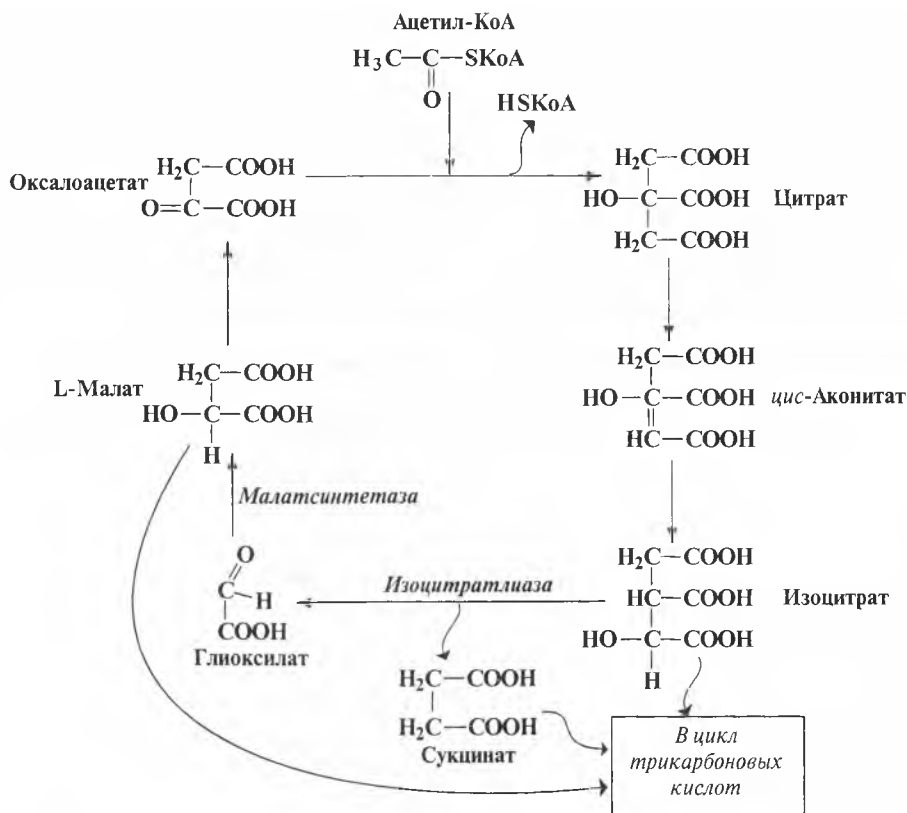


Рис. 10.7. Метаболиты глиоксилатного цикла

Таким образом, при каждом повторении глиоксилатного цикла в него включаются две молекулы ацетил-КоА и синтезируется одна молекула сукцината, которая может вступать в цикл Кребса.

Из глиоксилатного цикла в цикл Кребса могут также вступать L-малат и изоцитрат. В результате реакций глиоксилатного цикла два иона водорода поступают в дыхательную цепь, при этом синтезируются две молекулы АТФ, что особенно важно для организмов в условиях, когда единственным источником энергии могут быть только ацетильная группа или другие двухуглеродные соединения.

## 10.11. БАЛАНС БИОМАССЫ ПРИ ОБМЕНЕ ВЕЩЕСТВ

Для наиболее полной характеристики обмена веществ в целом и катаболизма в частности важно представлять соотношение между массами веществ, присутствующих в организме, потребляемых организмом и выделяющихся из него в процессе жизнедеятельности.

Анализ данных табл. 10.6 позволяет сделать главный вывод: масса веществ, поступивших в организм человека, равна массе веществ, выделившихся из организма в результате обмена. Следовательно, масса организ-

ма здорового человека является в норме относительно постоянной величиной, что позволяет рассматривать живой организм как термодинамическую открытую систему, находящуюся в стационарном (точнее, квазистационарном) режиме. С учетом этого суть различных биологических явлений (например, гомеостаза) можно интерпретировать на более высоком научном уровне. Общая масса органических веществ в теле человека составляет около 26 кг, большая часть из которых приходится на белки. Суточное потребление органических веществ с пищей составляет около 0,6 кг; следовательно, человек за 40 — 50 дней потребляет такую же массу органических веществ, которая содержится в его организме.

**Таблица 10.6. Суточный обмен веществ взрослого человека (все значения округлены)**

Вещества	Содержание в организме, г	Суточное потребление, г	Суточное выделение, г
O <sub>2</sub>	—	850	—
CO <sub>2</sub>	—	—	1000
Вода	42 000	2200	2600
Органические вещества:			
белки	15 000	80	—
липиды	10 000	100	—
углеводы	700	400	—
нуклеиновые кислоты	700	—	—
мочевина	—	—	30
Минеральные соли	3500	20	20
Всего	71 900	3650	3650

Между содержанием веществ в организме и величиной их суточного потребления нет какого-либо определенного соответствия. Например, для белков соотношение *содержание/потребление* равно примерно 180, а для углеводов оно менее 2, т. е. различие по этому коэффициенту между белками и углеводами почти стократное. Это связано в первую очередь с тем, что основная часть пищевых углеводов используется именно как источник энергии и распадается до конечных продуктов обмена, минуя стадию включения в структурно-функциональные компоненты клеток. В значительной мере это относится и к жирам.

## 10.12. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

Для изучения обмена веществ в биохимии применяют два подхода: исследования на целом организме (эксперименты *in vivo*) и исследования на изолированных частях организма, так называемые *дезинтегрирующие методы* (эксперименты *in vitro*).

Классическим примером исследований на целом организме являются эксперименты Ф. Кноопа по изучению биологического окисления жир-

ных кислот. В своих экспериментах Ф. Кнооп кормил лабораторных животных жирными кислотами с четным (1) и нечетным (2) числом атомов углерода, в молекулах которых один атом водорода в метильной группе был замещен на фенильный радикал:

1	2
$\text{C}_6\text{H}_5\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—COOH}$ Фенилмасляная кислота	$\text{C}_6\text{H}_5\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—COOH}$ Фенилпропионовая кислота
$\text{C}_6\text{H}_5\text{—CH}_2\text{—(CH}_2)_3\text{—CH}_2\text{—COOH}$ Фенилкапроновая кислота	$\text{C}_6\text{H}_5\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—COOH}$ Фенилвалериановая кислота

В первом случае с мочой животных всегда выводилась фенилуксусная кислота  $\text{C}_6\text{H}_5\text{—CH}_2\text{—COOH}$ , а во втором — бензойная кислота  $\text{C}_6\text{H}_5\text{—COOH}$ . На основании этих результатов Ф. Кнооп сделал вывод, что распад жирных кислот в организме происходит путем последовательного отщепления двухуглеродных фрагментов, начиная с атома углерода, у которого находится карбоксильная группа. Позднее этот вывод был подтвержден и другими методами. По существу, в данных исследованиях Ф. Кнооп применил метод мечения молекул: он использовал в качестве метки фенильный радикал, не подвергающийся химическим превращениям в организме. Начиная примерно с 40-х годов XX в. нашли широкое распространение в химии и применение в биохимических исследованиях методы радиоактивного мечения молекул. Например, путем скормливания лабораторным животным различных соединений, содержащих радиоактивный углерод  $^{14}\text{C}$ , было установлено, что холестерин синтезируется *in vivo* из уксусной кислоты, поскольку все атомы углерода, входящие в его молекулу, происходят из углеродных атомов ацетата. Этим же методом было доказано участие лимонной кислоты в реакциях цикла Кребса: мечением атома углерода одной из карбоксильных групп лимонной кислоты с помощью  $^{14}\text{C}$  было установлено, что данный изотоп участвует в образовании  $\text{CO}_2$ , который получается в результате декарбоксилирования 2-оксоглутаровой кислоты. В настоящее время с помощью радиоизотопного метода изучают время жизни белков и других структурно-функциональных компонентов клеток, т. е. скорость обновления тканей организма.

В исследованиях на целом организме изучают его потребности в пищевых веществах: если отсутствие в пище какого-либо вещества приводит к нарушению физиологических функций организма, то это свидетельствует о том, что данное вещество является незаменимым пищевым фактором. Сходным образом определяют и необходимые количества пищевых веществ.

При использовании дезинтегрирующих методов объектами исследования являются изолированные части организма — отдельные органы, ткани, субклеточные фракции, вплоть до очень простых биохимических систем, например таких, как система, содержащая индивидуальный фермент и его субстрат, или система, состоящая из фермента, субстрата и ингибитора. Разумеется, эти методы имеют ценность только как этап, необходимый для достижения конечной цели — понимания функционирования организма в целом.

Особого пояснения требует тот факт, что результаты биохимических исследований, проведенных на животных, во многих случаях могут быть перенесены и на организм человека. В молекулярных механизмах, обеспечивающих жизнь разных организмов, населяющих Землю, имеется много схожего. Такие фундаментальные процессы, как матричные биосинтезы, механизмы трансформации энергии, основные пути метаболических превращений и т. д., примерно одинаковы у всех организмов: от бактерий до высших животных. Поэтому многие результаты исследований, проведенных с такой, казалось бы, элементарной клеточной культурой, как *E. coli*, оказываются применимыми и к человеку. Подавляющую часть знаний в области биохимии человека ученые получают следующим образом: исходя из известных биохимических процессов у животных, строят гипотезу о наиболее вероятном механизме данного процесса в организме человека, а затем проверяют эту гипотезу прямыми исследованиями клеток и тканей организма. Такой подход позволяет проводить исследования на небольшом количестве биологического материала, что является одним из самых главных требований. Чаще всего в гуманных целях и с точки зрения экономичности используют ткани, удаляемые при хирургических операциях, клетки крови (эритроциты и лейкоциты), а также клетки тканей человека, выращиваемые в культуре *in vitro*. Развитие методов клинической биохимии (см. главу 21) для диагностики различных заболеваний и контроля за их течением также способствует более глубокому исследованию обмена веществ и позволяет открывать новые биохимические реакции. Например, изучение наследственных нарушений, в частности врожденного дефекта фермента, позволяет открывать новые ферменты и реакции, имеющие жизненно важное значение для организма.

## Контрольные вопросы и задания

1. Что понимают под обменом веществ и энергии в живых организмах, внешним и промежуточным обменом, метаболизмом, главными и специфическими метаболическими путями, анаболизмом и катаболизмом?
2. Каким образом анаболические и катаболические процессы разделены в живой клетке?
3. Приведите классификацию живых организмов по особенностям метаболизма (по источникам питания и использованию атмосферного кислорода).
4. Что является предметом изучения биоэнергетики? Какие особенности термодинамического описания биохимических процессов вы знаете?
5. Какие реакции называют эндергоническими, а какие — экзергоническими? В чем состоит биохимический смысл сопряжения этих процессов в живых организмах?
6. В чем проявляется высокая биохимическая активность высокоэнергетических соединений и чем она обусловлена?
7. Чем различаются понятия свободной химической энергии, определенной в стандартных и в физиологических условиях?
8. Какие особенности биологического окисления вы знаете и с чем они связаны?
9. Перечислите основные молекулярные компоненты дыхательной цепи и рассмотрите ее главные звенья.
10. Назовите основные особенности терморегуляции живых организмов и объясните ее взаимосвязь с метаболическими процессами.
11. Что подразумевают под общим путем катаболизма? Объясните роль цикла Кребса в процессах катаболизма органических молекул и перечислите его основные стадии и функции.
12. Какие биохимические функции выполняет гликолизатный цикл?
13. Какие методы исследования обмена веществ вам известны?

## Глава 11

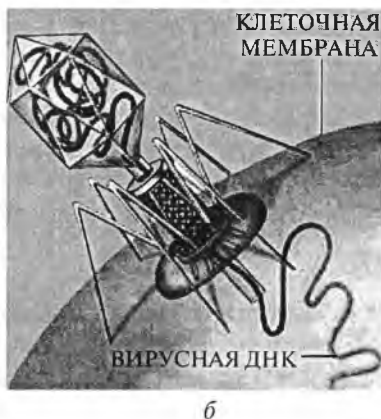
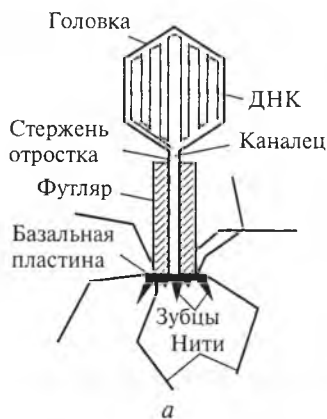
### Обмен нуклеиновых кислот

#### 11.1. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОСНОВА НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

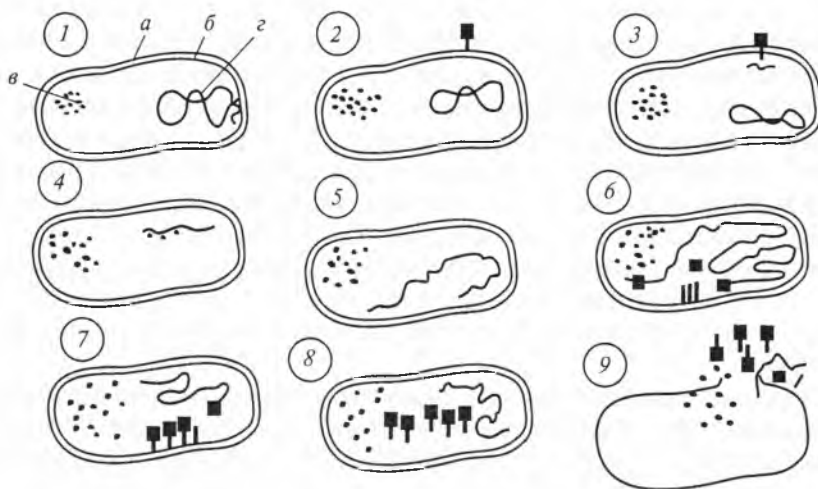
В настоящее время общепризнанным является тот факт, что передача наследственной информации в живых организмах осуществляется молекулами ДНК. В главе 8 отмечалось, что на рубеже XIX—XX вв. процессы передачи наследственной информации в живом мире ассоциировались с белками, что затормозило решение общебиологической проблемы наследственности. В 40—50-е годы XX в. появилось много экспериментальных указаний на то, что передачу признаков по наследству в живых организмах осуществляют именно молекулы ДНК. Самым наглядным доказательством этого явилось изучение молекулярных аспектов размножения вирусов, паразитирующих на бактериях, — *бактериофагов*. Примером тому может служить бактериофаг Т4, относящийся к семейству Т-четных бактериофагов и размножающийся в клетках кишечной палочки *E. coli*. Бактериофаг Т4 состоит из молекулы ДНК и белковой оболочки с довольно сложной морфологией (рис. 11.1). Фаг имеет головку икосаэдрической формы, в которой достаточно плотно упакована одна молекула ДНК, и полый цилиндрический хвост, от конца которого отходят шесть тонких нитей. Хвост имеет двойные стенки, т. е. представляет собой полую трубку.

Процесс заражения бактерии фагом — это сложная последовательность молекулярных событий, схематично представленных на рис. 11.2. Фаг присоединяется к поверхности клетки с помощью хвостовых нитей, при этом конец хвоста фиксируется на оболочке бактерии. Прикрепление фага к бактерии основано на комплементарном взаимодействии белков хвостовых нитей и конца хвоста с веществами стенки бактерии. После прикрепления хвоста нити к оболочке бактерии его наружная трубка сокращается, а внутренняя трубка проникает через оболочку бактерии и сквозь нее из головки внутрь бактерии «впрыскивается» ДНК фага, в то время как белковая оболочка остается на поверхности. Через некоторое время (всего лишь десятки минут) в бактерии обнаруживается уже несколько сотен фаговых частиц, имеющих и белковую оболочку, и ДНК внутри нее. Таким образом, можно заключить, что вся информация о структуре фага содержится в его ДНК.

Выяснив материальную природу наследственности, ученые перешли к более широкому и детальному исследованию молекулярных механизмов передачи наследственной информации у различных видов организ-



**Рис. 11.1.** Схематическое изображение бактериофага Т4 (а) и его взаимодействия с клеточной мембраной (б)



**Рис. 11.2.** Схема развития фага Т4 в кишечной палочке:

1 — неинфицированная бактерия (а — наружная мембрана и клеточная стенка, б — внутренняя мембрана, в — рибосомы, г — кольцевая бактериальная хромосома); 2 — фаг хвостовыми нитями прикрепляется к наружной стенке бактерии; 3 — инъекция ДНК фага в бактерию: фаг прокалывает оба слоя клеточной стенки за счет сокращения микромышцы хвоста; 4 — фаговые продукты модифицируют внутреннюю мембрану; разрушен бактериальный геном; активировались «ранние» гены фага: рибосомы бактерии-хозяина «считывают» с фаговой мРНК ферменты, которые необходимы для биосинтеза ДНК фага; 5 — биосинтез ДНК фага: копии ДНК соединяются в длинную цепочку; происходит «прочтение» «поздних» генов, продукты которых нужны для сборки новых фаговых частиц; 6 — независимая сборка головок и хвостов фага; 7 — сборка зрелых частиц фага на внутренней мембране бактерии; 8 — включается молекулярный механизм убийства бактерии (лизиса), так называемые «часы лизиса»: холин разрушает внутреннюю мембрану; 9 — фаговый лизосим разрушает прочную наружную оболочку бактерии, в результате чего из клетки выходит потомство фага, которое будет заражать следующие клетки

мов. Больше всего, естественно, привлекала идея выяснения путей переноса генетической информации у человека.

Изучение молекулярных процессов, лежащих в основе переноса наследственной информации, сопряжено со многими методологическими проблемами, которые обусловлены особенностями биосинтеза нуклеиновых кислот, протекающего только на готовой матрице (*матричный биосинтез*). Кроме того, учитывая огромное биологическое значение процессов, протекающих с участием нуклеиновых кислот, многие авторы предпочитают рассматривать их в отдельных разделах курса биохимии. В рамках настоящего пособия процессы переноса генетической информации в живых организмах рассматриваются, исходя из следующих соображений. Прежде всего учитывается, что биосинтезы нуклеиновых кислот представляют собой анаболические процессы, которые целесообразно рассматривать наряду с процессами анаболизма и катаболизма биосоединений данного и других классов. Кроме того, в настоящей главе обсуждается метаболизм нуклеотидов как строительных блоков нуклеиновых кислот. Таким образом, исследование путей биосинтеза нуклеиновых кислот, начиная с нуклеотидов и заканчивая полинуклеотидными цепями, включая их трансформацию, позволяет уяснить взаимосвязь между разными биомолекулами, что, по сути, составляет материальную основу биологической эволюции. Информация, касающаяся общих вопросов биоэнергетики и метаболизма, необходимая для усвоения материала по метаболизму нуклеиновых кислот, дана в предыдущей главе. В следующей главе «Обмен белков и аминокислот» изложен биосинтез белков (*трансляция*), который протекает на матрице РНК и отражает биологический принцип передачи наследственной информации по цепочке ДНК → РНК → белок.

## 11.2. БИОСИНТЕЗ НУКЛЕОТИДОВ

Прежде чем перейти к рассмотрению молекулярных механизмов переноса наследственной информации *in vivo*, остановимся на вопросах метаболизма нуклеотидов, которые не только являются субстратами биосинтеза ДНК и РНК, но и выполняют ряд важнейших биофункций в составе АТФ, НАД, НАДФ, ФМН, ФАД, HSKoA и других биосоединений (см. главы 2, 3, 8).

Практически все живые организмы синтезируют пиримидиновые и пуриновые нуклеотиды, используя для этого простые соединения: CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, аспартат, глицин, глутамин и рибозу. Существует два отдельных анаболических пути: один для пиримидинов, другой для пуринов.

**Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов.** Предшественником синтеза всех пиримидиновых нуклеотидов является *уридин-5'-монофосфат (УМФ)*. Путь биосинтеза УМФ представлен на рис. 11.3. На начальной стадии синтеза из низкомолекулярных предшественников — NH<sub>3</sub> (или аминогруппы глутаминовой кислоты) и CO<sub>2</sub> — образуется карбомилфосфат, вступающий затем в реакцию с аспартатом. В результате синтезируется карбомиласпартат, из которого путем циклизации и окисления образуется оротовая кислота (витамин B<sub>13</sub>). Таким образом формируется



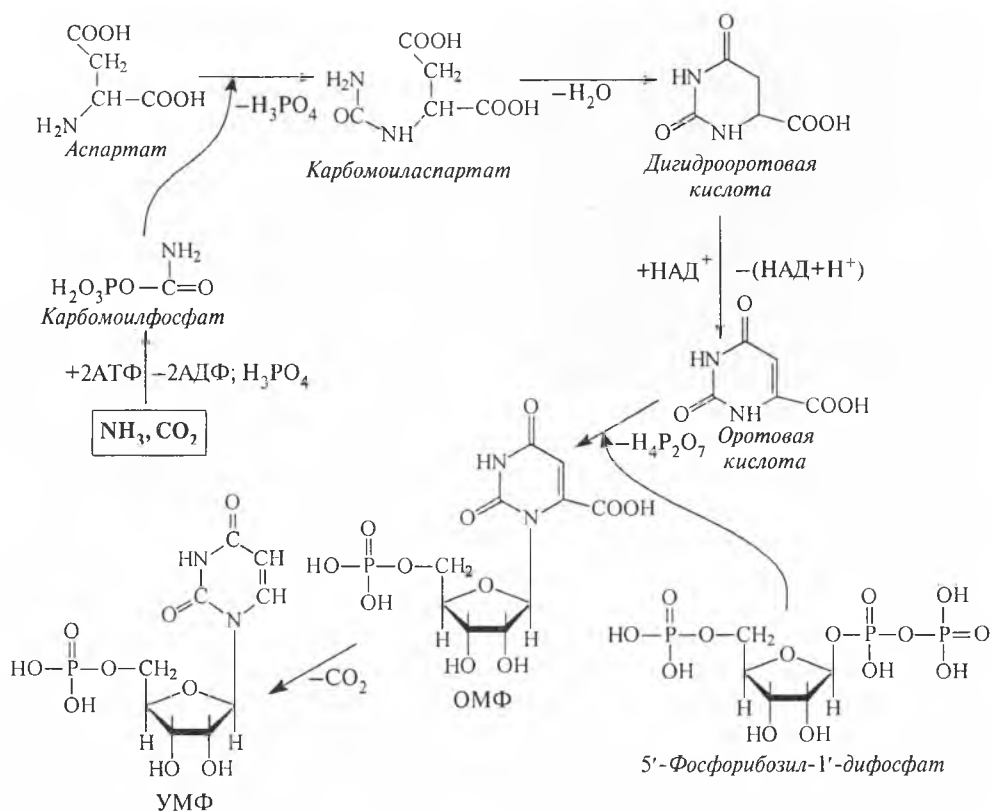
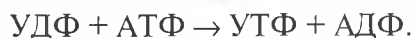


Рис. 11.3. Схема биосинтеза УМФ — предшественника пиримидиновых нуклеотидов

пиримидиновое кольцо. После этого к оротовой кислоте присоединятся рибозо-5'-фосфат, переносимый в форме 5'-фосфорибозил-1'-дифосфата, и образуется нуклеотид оротидин-5'-монофосфат (ОМФ), из которого декарбоксилированием получается УМФ.

Первые три реакции — образование карбомоилфосфата, карбомоиласпартата и дигидрооротовой кислоты — катализируются *карбомоилфосфат-синтетазой* — ферментом, содержащим активные центры для катализа каждого из субстратов. Превращение дигидрооротовой кислоты в оротовую катализируется соответствующей дегидрогеназой, а две последующие реакции — образование ОМФ и его декарбоксилирование до УМФ протекают под действием одного фермента.

Превращение УМФ в УТФ происходит под действием *киназ*; донором фосфатного остатка при этом служит АТФ:



Синтез УМФ регулируется по механизму отрицательной обратной связи: УТФ является аллостерическим ингибитором первого фермента

данной метаболической цепи — карбоамилфосфатсинтетазы. Такой механизм предотвращает избыточный синтез не только УМФ, но и всех других пиримидиновых нуклеотидов, поскольку последние синтезируются из УМФ.

Биосинтез цитозина происходит путем модернизации молекулярной структуры нуклеотидов: урацил превращается в цитозин под действием ЦТФ-синтетазы аминированием УТФ (в качестве донора аминогруппы в организмах птиц и млекопитающих выступает  $\text{NH}_3$ , а в бактериальных клетках — аминогруппа глутамина):

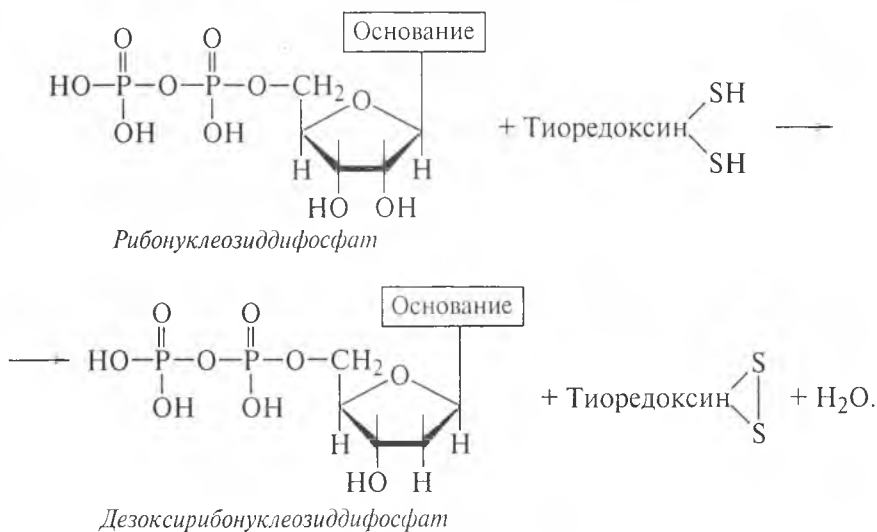


Тиминовые нуклеотиды образуются в реакции метилирования дезокси-УМФ под действием *тимидилатсинтетазы*. Донором одноуглеродного фрагмента служит метилен- $\text{H}_4$ -фолат:



Тимидилатсинтетаза ингибируется 5-фторурацилом и 5-фтор-2'-дезоксиуридином, что позволило применять эти вещества в качестве активных компонентов противораковых препаратов.

Биосинтез дезоксирибонуклеотидов, как и модификация урацила в цитозин, происходит на уровне нуклеотидов. Такое превращение осуществляется восстановлением рибозного остатка при участии специфической ферментативной системы. *Рибонуклеозидредуктаза* восстанавливает ОН-группу рибозы у второго атома углерода; субстратами фермента служат дифосфаты нуклеотидов. Донором водорода в этих реакциях является содержащий SH-группы белок *тиоредоксин*; водород используется для восстановления ОН-группы с образованием  $\text{H}_2\text{O}$ :



Другой компонент ферментативной системы превращения рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды — *тиоредоксинредуктаза* катализирует гидрирование окисленного тиоредоксина:

346

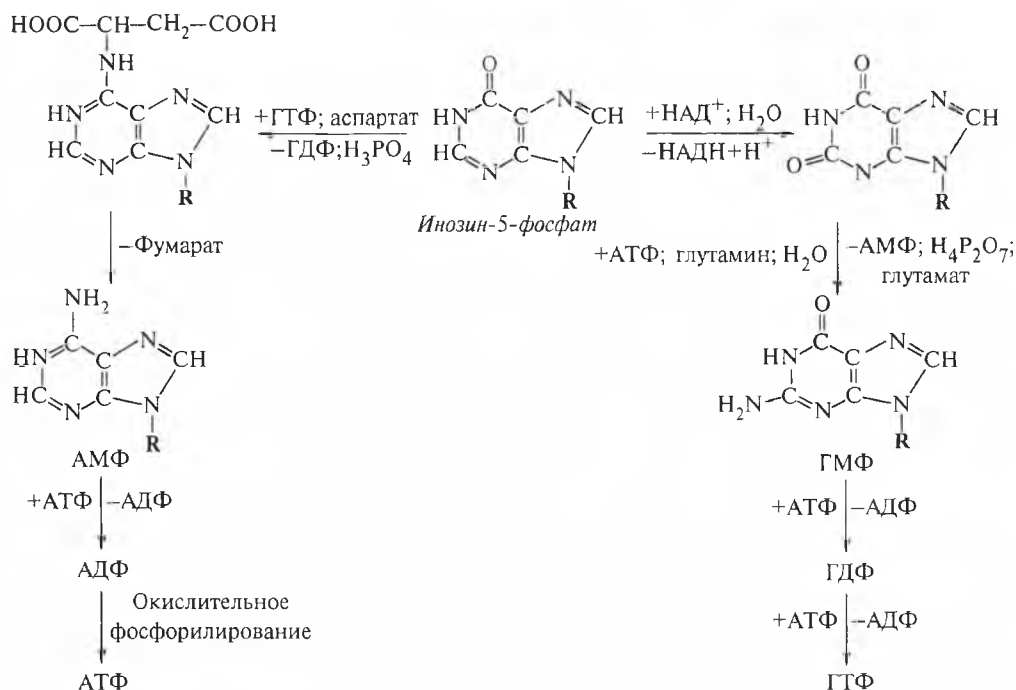


Рис. 11.5. Схема биосинтеза АТФ и ГТФ

Синтез начинается с образования 5-фосфорибозил-1-амин с участием АТФ. Затем к 5-фосфорибозил-1-амину присоединяется остаток глицина, и далее протекают реакции образования пуринового кольца с использованием метиновой группы метил-Н<sub>4</sub>-фолат, а также аминокруппы глутамин, СО<sub>2</sub>, аминокруппы аспарагиновой кислоты, формильного остатка формил-Н<sub>4</sub>-фолат. Суммарный процесс включает 10 отдельных ферментативных реакций.

Напомним, что ИМФ встречается в качестве минорного нуклеотида в тРНК. Но главная биохимическая роль этого соединения проявляется в том, что из ИМФ синтезируются все остальные пуриновые нуклеотиды. Схема биосинтеза АТФ и ГТФ представлена на рис. 11.5.

Кроме того, поскольку в результате катаболизма молекул ДНК и РНК в тканях организма постоянно образуются свободные аденин и гуанин, они при участии специфических ферментов повторно используются для синтеза нуклеотидов:



Регуляция биосинтеза пуриновых нуклеотидов осуществляется по механизму с отрицательной обратной связью: АТФ и ГТФ ингибируют фермент, катализирующий стадию образования 5-фосфорибозил-1-амин (лимитирующая стадия процесса).

### 11.3. БИОСИНТЕЗ ДНК (РЕПЛИКАЦИЯ)

Д. Уотсон и Ф. Крик не только разработали модель вторичной структуры ДНК, но и предложили гипотезу механизма биосинтеза ДНК путем удвоения — **репликации** (от позднелат. *replicatio* — повторение). Синонимы этого термина — аутопродукция, аутосинтез, редупликация. В своей знаменитой статье в журнале «Nature» Д. Уотсон и Ф. Крик отметили: «От нашего внимания не ускользнул тот факт, что специфическое спаривание, которое мы постулировали, позволяет предполагать возможный копирующий механизм для генетического материала». Согласно этому механизму двойная спираль ДНК ферментативным путем сначала разделяется вдоль на составляющие полинуклеотидные цепи, которые затем отделяются одна от другой. На каждой из старых цепей синтезируются новые цепи. При этом нуклеотиды новых цепей спариваются комплементарно с нуклеотидами старых цепей, причем старые цепи выступают в роли матриц. Необходимо отметить, что сохранение последовательности нуклеотидов в процессе репликации происходит благодаря высокой специфичности образования водородных связей между комплементарными пуриновыми и пиримидиновыми основаниями, заключающейся в том, что, например, аденин на одной цепи двойной спирали всегда будет находиться напротив и образовывать водородные связи с тиминам второй цепи. Если бы две цепи в составе двойной спирали были связаны ковалентно, то энергия, необходимая для разделения цепей, была бы весьма значительной. В результате репликации синтезируются две дочерние молекулы ДНК, совершенно идентичные по нуклеотидному составу родительской молекуле. В каждой дочерней молекуле одна цепь получена от родительской ДНК, а вторая синтезирована заново. Этот путь биосинтеза ДНК получил название **полуконсервативной репликации**.

Теоретически возможны еще два механизма разделения цепей в молекуле ДНК между дочерними клетками поровну, получившие название **консервативной** и **дисперсной репликации**. При консервативной репликации на двух неразделенных цепях родительской ДНК синтезируется новая молекула ДНК. Дисперсный механизм предполагает дробление молекул ДНК, в результате которого каждая отдельная цепь новых дочерних молекул содержит в себе участки как старой, так и новой цепи ДНК (рис. 11.6).

М. Месельсон и Ф. В. Шталь (1958 г.) в экспериментах над *E. coli* показали, что в клетке репликация ДНК происходит полуконсервативным способом. Они выращивали *E. coli* в синтетической среде, содержащей глюкозу и минеральные соли. Источник азота ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) вместо обычного легкого азота  $^{14}\text{N}$  содержал тяжелый изотоп  $^{15}\text{N}$ , в результате чего все азотсодержащие вещества бактерий, в том числе и ДНК, становились «тяжелыми». Затем бактериальные клетки отмывали и переносили на питательную среду, содержащую в качестве источника азота изотоп  $^{14}\text{N}$ , где происходил их дальнейший рост. При исследовании ДНК бактерий центрифугированием через равные промежутки времени было обнаружено, что после кратковременного роста, в течение которого число клеток удваивалось, обнаруживаемая ДНК содержала равные количества  $^{14}\text{N}$  и  $^{15}\text{N}$ . Это именно тот результат, которого следовало ожидать, исходя из полукон-

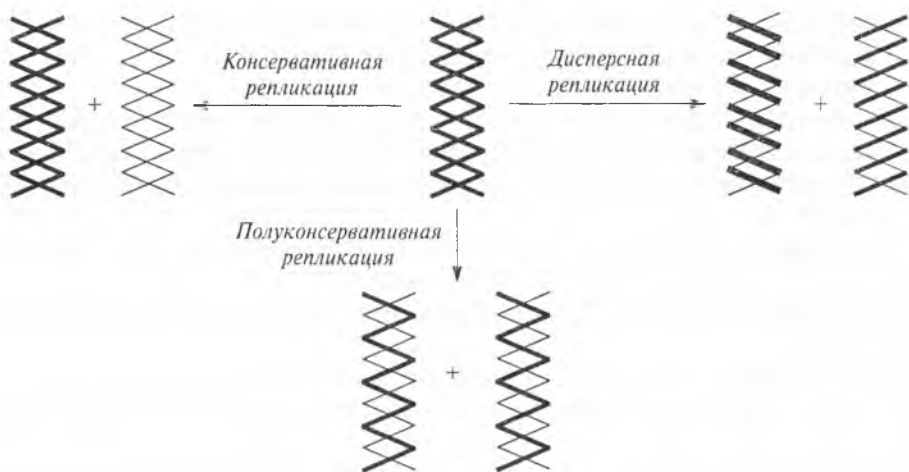


Рис. 11.6. Возможные способы репликации ДНК *in vivo*

сервативного механизма. После репликации ДНК, завершения двух циклов деления бактерий, обнаруживались две молекулы ДНК, одна из которых содержала  $^{15}\text{N}$  и  $^{14}\text{N}$ , а другая содержала в обеих цепях только  $^{14}\text{N}$ . Эти данные убедительно доказывают, что биосинтез ДНК происходит по механизму полуконсервативной репликации. Позднее было доказано, что и в клетках эукариот репликация ДНК происходит полуконсервативно.

**Механизм репликации.** Рассмотрим наиболее характерные черты механизма репликации. Синтез полинуклеотидных цепей при репликации катализируется ферментом ДНК-полимеразой. Подобные синтезы можно осуществить *in vitro*, используя ферменты, выделенные из организма: **ДНК-полимеразная реакция.** На ДНК-полимеразной реакции основан клинико-биохимический метод определения причин наследственных заболеваний и методы генной инженерии (см. главы 19 и 21).

Схематично процесс репликации можно отразить следующим уравнением:



Субстратами для данной реакции служат дезоксирибонуклеозидтрифосфаты. В ходе реакции от каждого из них отщепляется дифосфатный остаток. Использование в качестве субстратов в данной реакции дезоксирибонуклеозидтрифосфатов делает процесс образования фосфодиэфирных связей в молекуле ДНК термодинамически выгодным.

Репликация протекает только в присутствии уже готовой ДНК, которая выполняет роль матрицы — **матричная ДНК**, или **ДНК-матрица**. Поэтому процессы сборки новых цепей биополимеров на матрицах — молекулах нуклеиновых кислот — называют **матричными биосинтезами**. Первичная структура всех вновь синтезируемых молекул ДНК абсолютно идентична структуре ДНК-матрицы.

В ходе репликации расходуются одинаковые количества дАТФ и дТТФ, дГТФ и дЦТФ, поскольку в молекуле ДНК нуклеотидные остатки образуют комплементарные пары А...Т и Г...Ц.

Так как синтез полимерной цепи — это достаточно сложный процесс и его детальное рассмотрение выходит за рамки настоящего курса, не вдаваясь в подробности, ограничимся здесь лишь перечислением его основных этапов:

1) **инициация** — процесс образования первой связи между мономерными звеньями в создаваемой полимерной цепи;

2) **элонгация** — присоединение очередного мономера к растущей полимерной цепи;

3) **терминация** — прекращение роста полимерной цепи.

Данные этапы характерны практически для всех матричных биосинтезов.

Интересно отметить, что если бы инициация репликации происходила локально в одной точке хромосомы, то при скорости биосинтеза 50 нуклеотидов в минуту репликация одной молекулы ДНК потребовала бы 800 ч. Однако в реальности инициация синтеза ДНК происходит сразу в нескольких точках хромосомы, называемых *точками инициации репликации*, или *ориджинами* (от англ. *origin* — источник, начало, происхождение).

Репликация происходит при участии сложного набора ферментов, которые образуют так называемый **репликативный комплекс**. Так, например, раскручивание двойной спирали ДНК обеспечивается ферментами — **ДНК-хеликазами**. ДНК-хеликазы используют энергию гидролиза АТФ для раскручивания двойной спирали ДНК. В результате раскручивания молекулы ДНК образуется **репликативная вилка ДНК** (рис. 11.7).

Устранение суперспирализации молекул ДНК осуществляют *свивелазы*, или *релаксирующие белки*. Затем при участии ДНК-полимеразы синтезируются новые полинуклеотидные цепи. Фермент катализирует связывание мононуклеозидтрифосфата со свободной концевой группой 3'-ОН цепи ДНК, и таким образом, синтез происходит в направлении от 5'-конца к 3'-концу полинуклеотидной цепи. Поэтому на одной из цепей репликативной вилки новая цепь синтезируется непрерывно по мере раскручивания ДНК-матрицы. В активном центре всех ДНК и РНК-полимераз

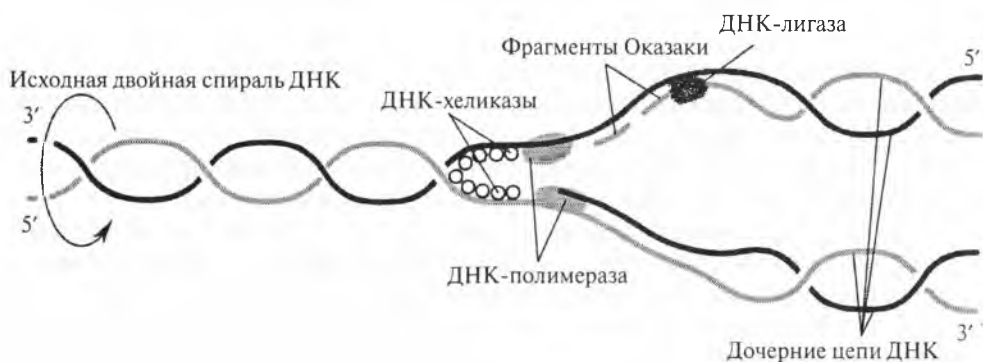


Рис. 11.7. Схематическое изображение «вилки», образующейся в процессе репликации ДНК

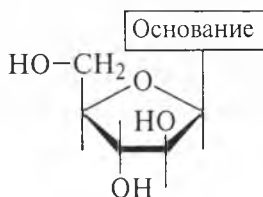
в качестве кофактора присутствует ион  $\text{Zn}^{2+}$ . Для взаимодействия полимераз с субстратами необходимо также присутствие ионов  $\text{Mg}^{2+}$ , которые поляризуют нуклеотиды (за счет образования координационных соединений) и тем самым повышают их реакционную способность. Активный центр ДНК-полимеразы фиксирует 3'-ОН-конец вновь синтезированной цепи ДНК и связывает следующий нуклеотид в подходящем пространственном расположении по отношению к себе. Такая ориентация обеспечивает надежное связывание любого следующего нуклеотида и направление синтезируемой цепи 3' → 5'. Вероятность включения основания, не комплементарного основанию матрицы ДНК, составляет менее  $10^{-4}$ . На другой ветви по мере раскручивания ДНК образуются короткие фрагменты — **фрагменты Оказаки** (открытые в 1968 г. Р. Оказаки), содержащие 1000—2000 нуклеотидов. Затем в результате действия ДНК-лигазы происходит объединение этих фрагментов в длинные полинуклеотидные цепи, т. е., собственно, в молекулы ДНК.

Синтезированная ДНК подвергается *пострепликационной достройке* — химической модификации под действием ферментов, использующих для метилирования некоторых остатков аденина и цитозина в качестве источника метильных групп S-аденозилметионин. При этом образуются 6-метиладенин и 5-метилцитозин (см. главу 8). Количество метилированных оснований невелико (1—8 %) и различается у разных видов организмов. Предполагают, что одной из возможных функций метилирования является регуляция генной активности, что позволяет объяснить сложный и загадочный механизм дифференциации клеток.

Выше перечислены лишь основные этапы репликации; на самом деле процесс репликации включает большее число стадий.

**Ингибирование репликации.** Ингибиторы репликации имеют важное значение в связи с их применением в разработке химиотерапии раковых заболеваний. Хотя такие препараты обладают нежелательной способностью к неселективному ингибированию синтеза ДНК как раковых, так и нормальных клеток, их ценность обусловлена тем, что при многих формах рака (например, лейкозах) скорость размножения раковых клеток гораздо больше роста нормальных клеток. Подобные препараты можно разделить на две группы: нуклеозидной и нуклеозидной природы.

Наиболее известными нуклеозидными препаратами являются соединения на основе арабинозы: *цитозинарабинозид* и *аденинарабинозид*:



*Цитозинарабинозид* (основание = Ц)

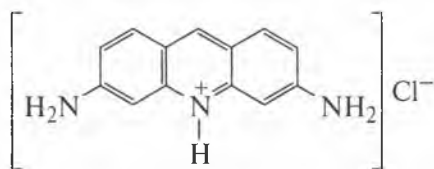
*Аденинарабинозид* (основание = А)

Оба соединения *in vivo* фосфорилируются до нуклеозидтрифосфатов, а затем ингибируют ДНК-полимеразу либо включаются в новообразо-

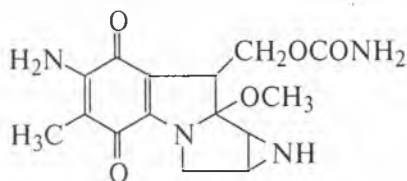


ванную молекулу ДНК. Такие превращения имеют летальные последствия, поскольку в структуре ДНК возникают различия, вызванные тем, что угол поворота цитозина относительно гликозидной связи отличается (вследствие стерического отталкивания от 2'-ОН-группы арабинозы) от угла поворота в случае 2-дезоксирибозы. Также был разработан высоко-селективный препарат 5-иод-5'-амино-2',5'-дидезоксиуридин, ингибирующий репликацию ДНК в вирусе герпеса и не затрагивающий при этом процесс репликации ДНК в клетках млекопитающих. К сожалению, это соединение не проявляет противовирусных свойств по отношению к онкогенным вирусам. Тем не менее поиск препаратов со сходной структурой может привести к созданию соединений, обладающих необходимой селективностью действия на ДНК этих вирусов.

Препараты ненуклеозидной природы, ингибирующие синтез ДНК путем связывания с двойной спиралью, представлены *акридинами* (например, *профлавин*) и различными антибиотиками (например, *митомицин С*, *адриамицин*, *дауномицин*):



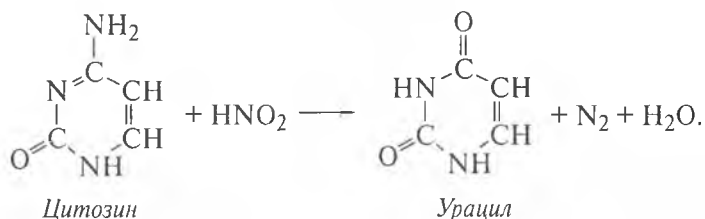
Профлавин



Митомицин С

Способность акридинов связываться с ДНК и РНК осуществляется за счет вовлечения плоской кольцевой системы профлавина между парами оснований в двойной спирали посредством стэкинг-взаимодействий, в результате чего формируется «стопочная структура». Сходным образом действуют и антибиотики, в чем и проявляется их противоопухолевое действие.

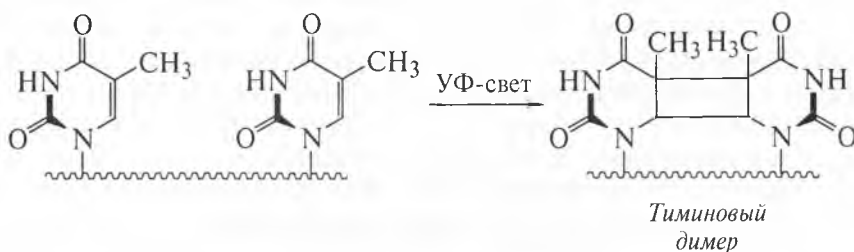
**Репарация повреждений ДНК.** Молекулы ДНК живых организмов неизбежно подвергаются воздействию различных вредных факторов, таких, как химические реагенты, УФ-излучение и др. В результате действия этих факторов в полинуклеотидной последовательности ДНК могут происходить обратимые и необратимые изменения. Рассмотрим *репарацию ДНК*, т. е. процесс устранения нарушений, возникших в химической структуре ДНК в одной из ее цепей. Так, взаимодействие с азотистой кислотой (точнее, ее производными — нитрозаминами  $R_2N-N=O$ , которые синтезируются в организме из  $HNO_2$  и иминов  $R_2NH$ ) вызывает дезаминирование аминогрупп гетероциклических оснований, входящих в молекулу ДНК. Например, дезаминирование цитозина приводит к образованию урацила:



В результате такого превращения в ходе последующей репликации возникнет дочерняя цепь, содержащая в одном звене вместо гуанина аденин. Таким образом, изменяется последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК, определяющая ее наследственные функции.

Для предотвращения таких повреждений существует специальный репаративный фермент — *урацил-ДНК-гликозидаза*, катализирующий гидролиз гликозидной связи между остатками урацила и дезоксирибозы в молекулах ДНК. В результате такого гидролиза в ДНК появляется фрагмент, содержащий дезоксирибозу, лишенную азотистого основания. Затем участки, в состав которых входят такие фрагменты, подвергаются действию специальной *эндонуклеазы*, которая гидролитически «выстригает» из цепи ДНК поврежденные фрагменты. На месте модифицированного участка возникает пустотное образование, которое застраивается с помощью фермента ДНК-полимеразы по информации, сохранившейся в неповрежденной цепи, в результате чего исходная структура спирали ДНК полностью восстанавливается.

Облучение УФ-светом вызывает другой тип химической модификации ДНК, а именно конденсацию двух соседних остатков тимина с образованием тиминовых димеров:



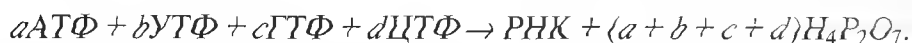
Клетки обладают способностью репарировать повреждения подобного типа, но этот механизм не всегда эффективен при большом количестве таких повреждений. От вредного УФ-излучения земные организмы защищает озоновый слой в верхних слоях атмосферы.

Существуют также необратимые, наследуемые изменения в структуре ДНК, т. е. **мутации** (от лат. *mutatio* — перемена). Мутации вызываются **мутагенами** — веществами, в результате действия которых в молекулах ДНК возникают мутации (к мутагенным факторам также можно отнести космическое, радиоактивное, УФ-излучение). Мутации можно определить как первичные молекулярные события, лежащие в основе изменчивости организмов, которые в сочетании с естественным отбором являются главной движущей силой биологической эволюции. В результате мутаций у организмов могут возникать полезные признаки, которые могут быть использованы, например, в сельском хозяйстве, медицине и других областях деятельности человека. Организмы, приобретшие в результате мутаций полезные признаки, могут быть использованы как исходный материал для селекции при выведении новых штаммов микроорганизмов, сортов растений и пород животных с ценными характеристиками. Нужно отметить, что при изменении только одного азотистого основания в по-

линуклеотидной последовательности ДНК (точечная мутация) генетическая информация в целом изменяется незначительно и мутанты могут продолжать свое существование. Резко выраженные изменения в генах происходят при нарушении последовательности большего числа оснований, что обычно бывает несовместимо с дальнейшим существованием мутанта.

#### 11.4. БИОСИНТЕЗ РНК (ТРАНСКРИПЦИЯ)

**Транскрипция** (от лат. *transcriptio* — переписывание) — это процесс, в результате которого генетическая информация, содержащаяся в ДНК, «переписывается» в одиночные цепи РНК. Процесс транскрипции был впервые продемонстрирован на примере хромосом *E. coli* по данным электронной микроскопии. Синтез РНК можно представить следующей схемой:

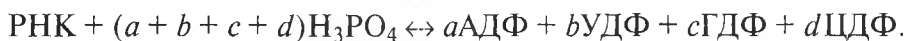


Субстратами для данной реакции служат рибонуклеозидтрифосфаты. Поэтому процесс связан с уменьшением свободной энергии. Реакция идет только в присутствии матричной ДНК (матрицей служит одна из цепей двойной спирали ДНК). Все вновь синтезированные молекулы РНК имеют структуру, комплементарную матрице ДНК. Так как РНК представляет собой одноцепочечную молекулу, то стехиометрические коэффициенты  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$  для всех четырех субстратов различны.

В биосинтезе РНК на матрице ДНК можно выделить несколько стадий, которые в целом составляют **цикл транскрипции**. Они подробно изучены у прокариот. Первая стадия транскрипции — инициация включает взаимодействие **РНК-полимеразы** с матрицей ДНК. РНК-полимераза может связываться с любым участком ДНК, при этом образуется неспецифический лабильный межмолекулярный комплекс. В результате серии актов ассоциации — диссоциации, т. е. последовательного образования и распада межмолекулярных комплексов РНК-полимеразы со случайными фрагментами в полинуклеотидной последовательности ДНК, образуется **промоторный участок**, имеющий последовательность нуклеотидов, узнаваемых РНК-полимеразой. В области промоторного участка сначала образуется закрытый стабильный комплекс ДНК с РНК-полимеразой. Затем происходит локальная денатурация ДНК, в результате чего РНК-полимераза получает прямой доступ к азотистым основаниям ДНК. Нарастание молекулы РНК (элонгация) происходит в результате перемещения РНК-полимеразы вдоль ДНК путем присоединения очередного рибонуклеотида, комплементарного тому дезоксирибонуклеотиду ДНК, который в данный момент находится в области активного центра РНК-полимеразы. Рибонуклеотиды присоединяются к 3'-ОН-концу последовательно, один за другим, в соответствии с матрицей ДНК. Скорость элонгации в клетках *E. coli* при 37 °С составляет 45 — 50 нуклеотидов в 1 с. Терминацию синтеза РНК вызывает определенная последовательность нуклеотидов в ДНК — **терминатор**, или **стоп-сигнал**. Как только синтез

достигает этого участка на ДНК, РНК-полимераза и синтезированная РНК отделяются от ДНК-матрицы. Так получаются первичные **транскрипты** — отдельные молекулы РНК, содержащие информацию одного гена.

Помимо РНК-полимеразы в клетках есть фермент *полинуклеотидфосфорилаза*, с помощью которого РНК можно синтезировать *in vitro*. Этот фермент *in vivo* катализирует фосфоролиз 3',5'-фосфодиэфирных связей в молекуле РНК, причем продуктами этой реакции являются нуклеозиддифосфаты:



Данная реакция обратима, поэтому при проведении ее *in vitro* в условиях избытка нуклеозиддифосфатов равновесие смещается в сторону образования РНК. При этом не требуется никакой матрицы. Но в результате такого синтеза последовательность присоединения нуклеотидов к растущей цепи РНК определяется случайностью, поэтому среди синтезированных молекул РНК вряд ли можно найти идентичные по структуре молекулы. Таким образом, использование матриц в биосинтезе нуклеиновых кислот (и белков) обеспечивает определенную, строго индивидуальную последовательность нуклеотидов (аминокислот) в полинуклеотидных (полипептидных) цепях, чего нельзя достичь в нематричном процессе. В этом и состоит принципиальное различие между процессами матричного и нематричного синтеза.

Все типы РНК (рРНК, тРНК, мРНК) синтезируются сходным образом. Поэтому для любой имеющейся в организме молекулы РНК можно найти (например, методом молекулярной гибридизации ДНК — РНК) участок ДНК, которому она строго комплементарна.

Первичные транскрипты, образующиеся в результате транскрипции РНК, проходят в ядре клетки посттранскрипционную доработку — **процессинг**. Эта доработка позволяет получать функционально активные рибонуклеиновые кислоты. Первичные транскрипты, как правило, имеют избыточные участки по концам нуклеотидной цепи, которые в результате процессинга отщепляются специфическими РНКазами (см. ниже).

Как было отмечено ранее, РНК выполняет роль переносчика информации от молекул ДНК к местам синтеза белков в клетке — рибосомам. Все типы РНК участвуют в биосинтезе белков, но их функции в данных процессах различны (см. главу 12). Переход потока наследственной информации от генотипа к фенотипу в живой клетке представляют с помощью классической схемы:



Например,



Важно отметить, что данная схема фактически представляет собой «центральную догму» молекулярной биологии, отражающую строгую

однонаправленность потока информации от ДНК к РНК, а затем к белкам. Обратный поток информации этой догмой долгое время отвергался. Но к настоящему времени стали известны процессы *обратной транскрипции*, что, в частности, связано с открытием фермента *обратной транскриптазы*, т. е. поток информации частично может идти в обратную сторону — от РНК к ДНК. Поэтому схему, отражающую суть центральной догмы молекулярной биологии, записывают в виде

$$\text{ДНК} \rightleftharpoons \text{РНК} \rightarrow \text{Белки.}$$

Правда, в настоящее время уже имеются факты, свидетельствующие о том, что и эта формула не безусловна. Например, открыто явление РНК-редактирования, в процессе которого в мРНК некоторые «ошибочные» нуклеотиды вырезаются и заменяются на «правильные». В результате этого на измененной РНК синтезируется «правильная» полипептидная цепь, которая не могла бы быть получена, если не были бы вырезаны «неверные» нуклеотиды. Таким образом, становится очевидным, что существует информация о «правильном» белке, по которой редактируется РНК. Установлено, что через обратную транскрипцию на редактированной мРНК может быть синтезирована и затем встроена в геном организма ДНК-копия редактированного гена, т. е. схему центральной догмы молекулярной биологии можно переписать в виде

$$\text{ДНК} \rightleftharpoons \text{РНК} \rightleftharpoons \text{Белки,}$$

показывая тем самым отсутствие барьера на пути передачи информации от белка к ДНК. Таким образом, доказывается объективная реальность наследования не только врожденных, но и приобретенных признаков у живых организмов.

## 11.5. КАТАБОЛИЗМ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И НУКЛЕОТИДОВ

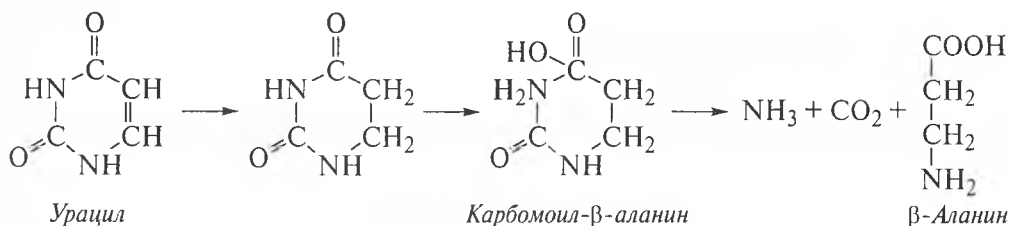
Гидролиз нуклеиновых кислот протекает под действием *нуклеаз* — *дезоксирибонуклеаз* (ДНКазы) и *рибонуклеаз* (РНКазы). Эти ферменты катализируют гидролиз внутренних (*эндонуклеазы*) или концевых (*экзонуклеазы*) 3',5'-фосфодиэфирных связей в молекулах ДНК или РНК.

Функции РНКаз в живой клетке крайне разнообразны. Так, РНКаз I гидролизует РНК разных типов до мононуклеотидов, используемых повторно в синтезе РНК. РНКазы II, III, IV и Р участвуют в процессинге всех видов РНК.

Группа ДНКаз также представлена разнообразными ферментами. Наибольшее значение из ДНКаз имеют *рестриктазы*, расщепляющие ДНК в строго определенных участках, образованных специфическими последовательностями нуклеотидов (4—6 нуклеотидов). Большое значение рестриктазы имеют в генетическом анализе и методе рекомбинантной ДНК, которые рассмотрены в главах 19, 21.

Хотя нуклеотиды могут быть повторно использованы в репликации и транскрипции, мы обсудим вопросы катаболизма нуклеотидов до конечных соединений — продуктов обмена. Остановимся на катаболизме рибонуклеотидов.

**Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов.** Катаболизм пиримидинов протекает по одному из нескольких механизмов, обнаруженных у разных видов организмов. Например, у человека реализуется механизм



Этот механизм включает дефосфорилирование и отщепление углеводного компонента от нуклеотидов с образованием тимина или урацила; затем происходит восстановление тимина или урацила с образованием полностью гидрированного гетероцикла. Расщепление цитозина происходит аналогично после того, как он дезаминируется в урацил. Раскрытие кольца в промежуточном продукте приводит к образованию карбомил-β-аланина, который далее гидролизует до  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$  и β-аланина. Все продукты либо выводятся из организма, либо повторно утилизируются в других метаболических процессах. Например, β-аланин может повторно быть использован в биосинтезе кофермента А.

**Катаболизм пуриновых нуклеотидов.** В большинстве организмов первичные процессы расщепления ГМФ и АМФ различны, но приводят к образованию одного продукта — ксантина (рис. 11.8). Гуанин из ГМФ непосредственно превращается в ксантин, тогда как образование ксантина из АМФ происходит через стадию превращения в инозин. Затем инозин гидролизует до гипоксантина, который затем окисляется до ксантина под действием *ксантиноксидазы*. В результате этой реакции образуется высокотоксичный супероксид — радикал  $\dot{\text{O}}_2$ , разрушение которого

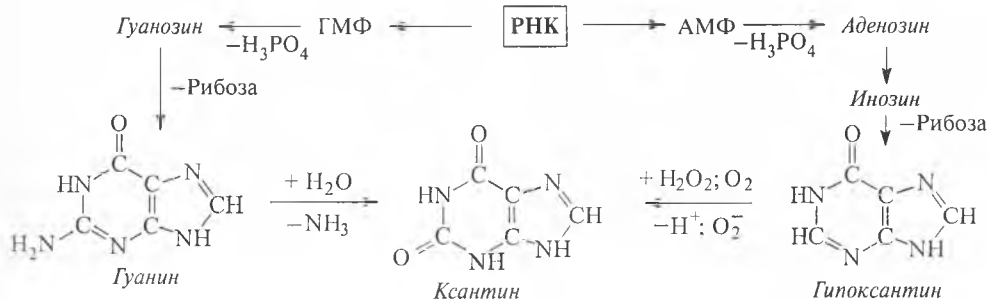


Рис. 11.8. Схема катаболического пути пуриновых нуклеотидов

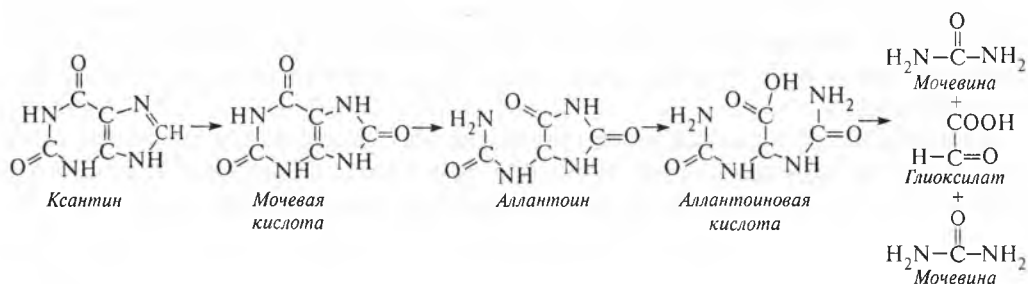
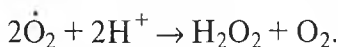


Рис. 11.9. Схема метаболизма ксантина

протекает с участием *супероксиддисмутазы*, катализирующей превращение:



Образующийся ксантин в зависимости от конкретного организма дальше может подвергаться различным превращениям (рис. 11.9). У большинства приматов (в том числе и человека), птиц, некоторых рептилий и насекомых ксантин под действием ксантинооксидазы превращается в *мочевую кислоту*, которая в качестве конечного продукта катаболизма пуринов выводится из организма. У всех остальных наземных животных конечным продуктом является *аллантоин*, который образуется в результате окисления мочевой кислоты. У амфибий и рыб аллантоин далее подвергается гидролизу с образованием *аллантоиновой кислоты*. Во многих микроорганизмах аллантоиновая кислота превращается в глиоксилат и мочевины (см. рис 11.9). Все эти реакции катализируются специфичными ферментами и являют собой яркую иллюстрацию диалектических принципов биохимического единства и разнообразия.

## 11.6. НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА НУКЛЕОТИДОВ

Поскольку пиримидиновые нуклеотиды не имеют специфических конечных продуктов обмена, то при состояниях, характеризующихся избыточным синтезом пиримидинов, как правило, нет выраженных клинических симптомов. Наиболее известным заболеванием, вызванным нарушением синтеза пиримидинов, является *оротатацидурия*, основным симптомом которой является повышенное выделение с мочой продукта неполного синтеза пиримидинов — оротовой кислоты. Для детей с этой патологией характерны отставание в развитии, мегалобластическая анемия и «оранжевая кристаллоурия», обусловленная образованием в моче кристаллов оротовой кислоты, имеющих оранжевый цвет. Для лечения таких детей используется уридин, который достаточно хорошо усваивается организмом, однако уридин становится еще одним незаменимым компонентом пищи.

Наиболее известным заболеванием, тесно связанным с нарушением обмена пуриновых нуклеотидов, является *подагра*. У больных с этой па-

тологией наблюдается повышенное содержание мочевой кислоты в крови и тканях. В норме концентрация мочевой кислоты в крови и других биологических жидкостях достаточно близка к насыщающей, поэтому повышение ее содержания в биологических жидкостях приводит к появлению в них кристаллов мочевой кислоты. Если кристаллы появляются в суставной жидкости, развиваются подагрические артриты. Выпадение кристаллов мочевой кислоты непосредственно в ткани вызывает асептическое воспаление с последующим инкапсулированием образовавшихся кристаллов и формированием подагрических узелков. При лечении подагры стремятся уменьшить в рационе количество продуктов, содержащих нуклеиновые кислоты или соединения группы пурина. Хороший эффект дает использование лекарственного препарата — аллопуринола. Аллопуринол в клетках под действием ксантиноксидазы окисляется до аллоксантина, который является мощным конкурентным ингибитором ксантиноксидазы. Образование ксантина и мочевой кислоты в клетках резко снижается, а из организма в качестве конечного продукта обмена пуринов начинает выделяться гипоксантин, растворимость которого в биологических жидкостях в несколько раз выше, чем растворимость мочевой кислоты.

## Контрольные вопросы и задания

1. Докажите главную роль ДНК в процессах переноса наследственной информации в живых организмах.
2. Каким образом в живых организмах синтезируются пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды?
3. Расскажите об основных молекулярных событиях, составляющих репликацию ДНК.
4. Какие соединения способны ингибировать биосинтез ДНК и где они применяются?
5. Что такое репарация ДНК и как она осуществляется в живых клетках?
6. Как возникают мутации? Что такое мутагенные факторы?
7. Каким образом синтезируется РНК в живой клетке? Приведите основные стадии процесса транскрипции.
8. Что из себя представляет катаболизм нуклеиновых кислот и нуклеотидов? Какие соединения являются конечными продуктами обмена нуклеотидов?
9. Объясните основные причины нарушений обмена нуклеотидов.



## Глава 12

### Обмен белков и аминокислот

#### 12.1. ДИНАМИКА БЕЛКОВ В ОРГАНИЗМЕ

Обмен белков и аминокислот играет важнейшую и незаменимую роль в жизни организмов. Изучение обмена белков позволяет детально понять глубокий смысл, заложенный в биологическом постулате, гласящем, что «организмы делаются белками». В этом постулате заключена та чрезвычайная биологическая значимость, которая присуща исключительно белковым соединениям (биологические функции белков рассматриваются в главе 1). Кроме того, для животных и человека аминокислоты — строительные блоки белковых молекул — являются главными источниками органического азота, который используется в первую очередь для синтеза специфических для организма белков и пептидов (рис. 12.1), а из них — азотсодержащих веществ небелковой природы (пуриновые и пиримидиновые основания, порфирины, гормоны и др.). При необходимости аминокислоты могут служить источником энергии для организма главным образом за счет окисления их углеродного скелета.

При нормальном питании (т. е. при наличии оптимальных количеств углеводов и липидов в пище) энергетическая роль аминокислот невелика, однако она может возрастать при преимущественно белковом питании, а также голодании.

Все виды обмена веществ подчинены глобальной задаче живого — воспроизведению себя и себе подобных путем программированного синтеза специфических белков из строительного материала (продуктов обмена углеводов, липидов, аминокислот) с использованием энергии углеводов и жиров.

Кажущееся постоянство химического состава живого организма поддерживается за счет равновесия между процессами синтеза и разрушения составляющих его компонентов, т. е. равновесия между катаболизмом и анаболизмом. В растущем организме такое равновесие смещено в сторону синтеза белков, т. е. анаболическая функция преобладает над катаболической. В организме взрослого человека в результате биосинтеза ежедневно обновляется до 400 г белка. Разные белки обновляются с различной скоростью — от нескольких минут до 10 и более суток, а такой белок, как коллаген, практически не обновляется за все время жизни организма. В целом период полураспада всех белков в организме человека составляет около 80 сут. Из них необратимо распадается примерно четвертая часть протеиногенных аминокислот (около 100 г), которая должна возобно-

латься за счет белков пищи, остальные аминокислоты частично синтезируются в организме. При недостаточном поступлении белков с пищей организм использует белки одних тканей (печени, мышц, плазмы и др.) для направленного синтеза белков других жизненно важных органов и тканей: сердечной мышцы и др. Биосинтез белков подчиняется лаконичной формуле «все или ничего», т. е. он осуществляется лишь при наличии в качестве исходных мономеров всех 20 природных аминокислот, причем каждой в нужном количестве. Длительное отсутствие и недостаточное поступление даже одной из 20 аминокислот приводит к необратимым изменениям в организме.

Белки и аминокислоты — это самые главные азотсодержащие соединения животных организмов — на их долю приходится более 95 % биогенного азота. С обменом белков и аминокислот неразрывно связано понятие **азотистого баланса (АБ)**, под которым понимают разность между количеством азота, введенного в организм с пищей ( $N_{\text{введ}}$ ), и количеством азота, выведенного из организма ( $N_{\text{вывед}}$ ) в виде конечных продуктов азотистого обмена, преимущественно мочевины:

$$\text{АБ} = N_{\text{введ}} - N_{\text{вывед}} \text{ (г/сут).}$$

При положительном азотистом балансе биосинтез белков преобладает над процессами их распада, т. е. из организма выводится меньше азота, чем поступает. **Положительный азотистый баланс** наблюдается в период роста организма, а также при выздоровлении после истощающих заболеваний. При **отрицательном азотистом балансе** распад белков преобладает над их синтезом, и азота из организма выводится больше, чем поступает. Такое состояние возможно при старении организма, голодании и различных истощающих заболеваниях. В норме у практически здорового взрослого человека наблюдается **азотистое равновесие**, т. е. количество азота, введенного в организм, равно количеству выделенного. Норма белка в питании при достижении азотистого равновесия составляет в среднем 100—120 г/сут.

Последовательное рассмотрение анаболических и катаболических путей белков и аминокислот целесообразно начать с первичного пути анаболизма данных соединений — процесса фиксации атмосферного азота.



Рис. 12.1. Основные пути метаболизма аминокислот

## 12.2. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО АЗОТА

Изучение строения, свойств и превращений азотсодержащих биологически активных веществ не имеет смысла без познания первичных путей образования данных соединений в биосфере, поскольку человек, животные и высшие растения не способны самостоятельно усваивать азот из единственного его природного источника на Земле — атмосферного воздуха, который содержит до 78,2 % (об.)  $N_2$ . Молекулярный азот, образованный исключительно важным биогенным элементом, отличается сравнительно высокой химической инертностью в условиях поверхности Земли, которая была преодолена природой с помощью специальных механизмов фиксации азота, созданных в процессе эволюции живого.

Фиксация азота в природе осуществляется с помощью двух механизмов.

Основной механизм направлен на превращение молекулярного азота в аммиак с помощью сложной ферментативной системы — **нитрогеназы**. Нитрогеназа содержится в клубеньковых бактериях, живущих в симбиозе с высшими растениями, и участвует в процессе *симбиотической фиксации* азота. Кроме того, в организмах свободноживущих азотфиксирующих бактерий (микобактерии, цианобактерии, азотобактер, спириллы и др.) нитрогеназа регулирует процессы *несимбиотической фиксации*. Значительная часть из 13 000 видов бобовых растений способна к симбиотической фиксации азота, причем в значительных количествах. Особенно эффективно этот процесс протекает у таких культурных растений, как горох, соя и др. Известно также около 250 видов растений других семейств, способных симбиотически фиксировать азот (ольха, лисохвост, облепиха и т. д.). Симбиотическая фиксация азота ежегодно может обогащать 1 га почвы на 200 — 300 кг азота, в то время как несимбиотическая — всего на 15 — 30 кг.

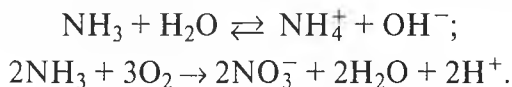
Для протекания процесса фиксации азота кроме нитрогеназы необходимы также сильные восстановители, АТФ в качестве источника энергии и ионы  $Mg^{2+}$ . В случае аэробных бактерий типа азотобактера доноры электронов и АТФ образуются в результате обмена углеводов. Фотосинтетические бактерии и сине-зеленые водоросли способны к образованию доноров электронов фотосинтетическим путем.

Нитрогеназа была впервые выделена в 1965 г. из анаэробных бактерий *Clostridium pasteurianum*, и ученым удалось выяснить многие детали ее структуры и механизма действия. Нитрогеназа состоит из двух белков — тетрамерного *молибдоферридоксина* ( $M = 200\,000 \div 250\,000$ ) и димерного *азоферридоксина* ( $M = 50\,000 \div 70\,000$ ), содержащих негемовое железо и лабильный сульфид. Фиксация молекулярного азота начинается с взаимодействия АТФ с азоферридоксинам, в результате чего АТФ гидролизуются до АДФ, а азоферридоксин претерпевает ряд конформационных изменений, в результате которых его окислительно-восстановительный потенциал понижается с  $-280$  до  $-400$  мВ, т. е. азоферридоксин становится более сильным восстановителем и передает электроны на молибдоферридоксин, где, собственно, и осуществляется восстановление  $N_2$

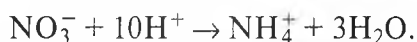
до  $\text{NH}_3$ . Суммарный процесс фиксации азота можно выразить следующей схемой:



Затем образующийся аммиак в результате жизнедеятельности нитрифицирующих бактерий либо гидратируется с образованием иона аммония, либо окисляется под действием кислорода и фермента нитрогеноксидазы в нитриты:

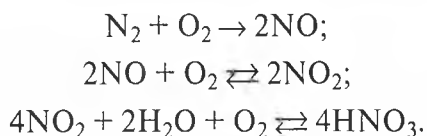


Растения усваивают нитриты и образующиеся из них нитраты, восстанавливая последние в ионы аммония с помощью *нитратредуктазы*:



Таким образом, растения и некоторые микроорганизмы усваивают молекулярный азот и его соединения, в которых он находится в степенях окисления  $4^+$  и  $5^+$ , и в них происходит восстановление азота до степени окисления  $3^-$ . Ионы аммония, хорошо растворимые в воде, являются главными формами транспорта азота у растений и предшественниками процессов биосинтеза азотсодержащих биосоединений. Как правило, первым этапом биосинтеза является аминирование кетокислот с образованием аминокислот, в частности, у человека и животных сначала образуется глутаминовая кислота, из которой затем синтезируются остальные 19 аминокислот.

Другой путь фиксации азота в условиях поверхности Земли и приземного слоя атмосферы осуществляется во время грозы, когда при электрическом разряде (молния) происходит взаимодействие атмосферного азота и кислорода с последующим образованием нитратов, которые с дождевой водой попадают в почву и водоемы. Химизм данных процессов следующий:



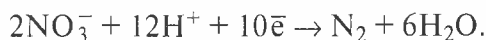
Фиксация молекулярного азота промышленным путем, т. е. синтез аммиака из молекулярных азота и водорода, требует огромных затрат энергии, высокой температуры и давления, а также наличия катализаторов. Поэтому можно только удивляться такой экономичности, универсальности и тому совершенству, с которыми осуществляет процесс фиксации азота живая материя. Исследованиями показана возможность фиксации атмосферного азота при комнатной температуре и нормальном атмосферном давлении в присутствии комплексов переходных металлов. Такие



Рис. 12.2. Биологический цикл азота

результаты могут быть использованы для моделирования в промышленных условиях ферментативных процессов, протекающих в азотфиксирующих микроорганизмах. Кроме того, методы современной генной инженерии позволяют создавать генетически модифицированные растения, содержащие гены нитрогеназы и по этой причине способные к фиксации азота воздуха.

Круговорот азота в природе замыкается в результате жизнедеятельности денитрофицирующих анаэробных бактерий почвы, восстанавливающих нитраты под действием *нитратазы* до молекулярного азота, который возвращается в атмосферу:



Резюмируя вышесказанное, биологический цикл азота можно представить схемой, изображенной на рис. 12.2.

### 12.3. БИОСИНТЕЗ БЕЛКОВ (ТРАНСЛЯЦИЯ)

В предыдущей главе были рассмотрены процессы биосинтеза и катаболизма нуклеиновых кислот — хранителей наследственной информации в живых организмах. В данной главе мы обсудим биосинтез белков как главный механизм реализации наследственной информации, заложенной в полинуклеотидных цепях нуклеиновых кислот.

Биосинтез белков называется *трансляцией* (от лат. *translatio* — передача). Трансляция — это преобразование информации, заложенной в полинуклеотидной последовательности мРНК в аминокислотную последовательность белка согласно генетическому коду. В ходе трансляции синтезируются все белки клетки.

**Генетический код.** Как показали результаты биохимических исследований, последовательность нуклеотидов в нуклеиновых кислотах одно-

значно определяет порядок расположения аминокислотных остатков в полипептидных цепях белковых молекул. В то же время химическая природа мономеров (нуклеотиды и аминокислоты) настолько различна, что они не могут непосредственно взаимодействовать друг с другом. К тому же в нуклеиновых кислотах варьируется всего 4 нуклеотида, в то время как в белках чередуются 20 остатков различных аминокислот. Отсюда можно сделать вывод, что для каждой аминокислоты существует своя последовательность нуклеотидов — *триплет оснований*, или *кодон*, который кодирует включение ее в полипептидную цепь белка. Данный вывод можно подтвердить простым математическим расчетом. Если бы кодон для каждой аминокислоты содержал два нуклеотида, то было бы возможно  $4^2 = 16$  сочетаний; такого числа кодонов явно недостаточно для кодирования 20 аминокислот. Если взять комбинацию из трех нуклеотидов, то получается  $4^3 = 64$  кодона. Таким образом, триплетный код достаточен для кодирования 20 аминокислот, входящих в состав природных белков.

Кодирование в нуклеиновых кислотах информации о структуре белков — явление само по себе уникальное (как в биологическом, так и в химическом плане). Способ кодирования генетической информации получил название *генетического кода* (его также называют *биологическим*, *нуклеотидным*, *аминокислотным кодом*).

Свойства генетического кода были исследованы впервые Ф. Криком и его сотрудниками, которые изучали белоксинтезирующие системы на мутантах бактериофага Т4. Ими было показано, что генетический код триплетен (т. е. одну аминокислоту кодирует триплет нуклеотидов). Затем последовали эксперименты, в ходе которых были разработаны методы определения состава кодонов (М. Ниренберг и И. Маттеи, 1961 г.). Так было выяснено, что триплет нуклеотидов УУУ (У — урацил) кодирует аминокислоту фенилаланин, а триплет ЦЦЦ (Ц — цитозин) — пролин.

К 70-м годам XX в. удалось полностью выяснить состав генетического кода (табл. 12.1).

Таблица 12.1. Генетический код

Первый нуклеотид	Второй нуклеотид				Третий нуклеотид
	У	Ц	А	Г	
У	Фенилаланин	Серин	Тирозин	Цистеин	У
	Фенилаланин	Серин	Тирозин	Цистеин	Ц
	Лейцин	Серин	Терминатор	Терминатор	А
	Лейцин	Серин	Терминатор	Триптофан	Г
Ц	Лейцин	Пролин	Гистидин	Аргинин	У
	Лейцин	Пролин	Гистидин	Аргинин	Ц
	Лейцин	Пролин	Глутамин	Аргинин	А
	Лейцин	Пролин	Глутамин	Аргинин	Г

Первый нуклеотид	Второй нуклеотид				Третий нуклеотид
	У	Ц	А	Г	
А	Изолейцин	Треонин	Аспарагин	Серин	У
	Изолейцин	Треонин	Аспарагин	Серин	Ц
	Изолейцин	Треонин	Лизин	Аргинин	А
	Метионин	Треонин	Лизин	Аргинин	Г
Г	Валин	Аланин	Аспарагиновая кислота	Глицин	У
	Валин	Аланин	Аспарагиновая кислота	Глицин	Ц
	Валин	Аланин	Глутаминовая кислота	Глицин	А
	Валин	Аланин	Глутаминовая кислота	Глицин	Г

Результаты работ по исследованию генетического кода являются одним из самых значительных достижений в понимании процессов жизни. Эти результаты можно резюмировать в следующих положениях.

1. Генетический код *триплетен*.

2. Генетический код *однозначен*, т. е. каждый кодон кодирует только одну аминокислоту. Исключение составляют только инициаторные кодоны АУГ и ГУГ. В начале трансляции они кодируют включение формилметионина, а находясь внутри цепи, АУГ кодирует метионин, а ГУГ — валин.

3. Генетический код является *вырожденным*, т. е. одной аминокислоте соответствует более чем один кодон (табл. 12.2). Например, для серина существует шесть, для глицина и аланина — по четыре, для многих других аминокислот — по два кодона. Исключение составляют триптофан и метионин, кодируемые одним кодоном.

Таблица 12.2. Вырожденность генетического кода

Название аминокислоты	Кодирующие кодоны	Название аминокислоты	Кодирующие кодоны
Аланин	ГЦА, ГЦЦ, ГЦГ, ГЦУ	Лизин	ААГ, ААА
Аргинин	АГА, АГГ, ЦГА, ЦГЦ, ЦГГ, ЦГУ	Метионин	АУГ
Аспарагиновая кислота	ГАУ, ГАЦ	Фенилаланин	УУЦ, УУУ
Аспарагин	ААЦ, ААУ	Триптофан	УГГ
Глутаминовая кислота	ГАА, ГАГ	Пролин	ЦЦА, ЦЦЦ, ЦЦГ, ЦЦУ
Цистеин	УГЦ, УГУ	Серин	АГЦ, АГУ, УЦА, УЦЦ, УЦГ, УЦУ
Глутамин	ЦАА, ЦАГ	Треонин	АЦА, АЦЦ, АЦГ, АЦУ

Название аминокислоты	Кодирующие кодоны	Название аминокислоты	Кодирующие кодоны
Глицин	ГГА, ГГЦ, ГГГ, ГГУ	Тирозин	УАЦ, УАУ
Гистидин	ЦАС, ЦАУ	Валин	ГУА, ГУЦ, ГУГ, ГУУ
Изолейцин	АУА, АУЦ, АУУ	Кодоны-терминаторы	УАА, УАГ, УГА
Лейцин	УУА, УУГ, ЦУА, ЦУЦ, ЦУГ, ЦУУ		

4. УАГ, УАА и УГА — *кодона-терминаторы*, кодирующие прекращение синтеза полипептидной цепи.

5. Самым значимым свойством генетического кода является его **универсальность**, т. е. он в основном одинаков у организмов, стоящих на разных уровнях развития: у человека, растений, вирусов, бактерий. Такая универсальность генетического кода легла в основу генной инженерии (см. главу 19). Например, рибосомы и молекулы тРНК в кишечной палочке *E. coli* могут осуществлять трансляцию цепи мРНК, кодирующей синтез гемоглобина, и синтезировать полноценный гемоглобин. Универсальность кода свидетельствует также о древности его происхождения и консервативности, в результате которой даже при длительной эволюции важнейшие особенности метаболизма сохраняются неизменными. Сходство генетического кода у разных организмов — это прямое доказательство того, что все живые организмы произошли от единого предка.

Механизмы репликации ДНК, транскрипции РНК и трансляции белка в общих чертах одинаковы у всех организмов. Эволюция шла не путем изменения основных биосинтетических процессов, а путем образования дополнительных генов для синтеза новых ферментов, новых белков, обладающих разнообразными структурами и функциями. Такой ход эволюции обеспечил огромное разнообразие живых существ на Земле.

**Механизм трансляции.** Как и другие матричные процессы, трансляция протекает в три этапа (инициация, элонгация и терминация), осуществляемые на рибосомах, состоящих из рРНК и белков. На первой стадии трансляции происходят активация аминокислот и присоединение их к соответствующим тРНК, а затем протекает сборка полипептидной цепи (что иногда называют собственно трансляцией).

Система для синтеза белков, т. е. полипептидных цепей со строго определенной первичной структурой, включает в себя порядка 200 макромолекул. Среди них выделяют молекулы, участвующие в активации аминокислот и переносе их на рибосомы (около 100), другие входят в состав рибосом (около 60), а в процессах, происходящих на рибосоме, принимает участие около 10 макромолекул. Различают *цитоплазматические*, *митохондриальные* и *пластидные* белоксинтезирующие системы; все они имеют сходную структурно-биохимическую организацию.

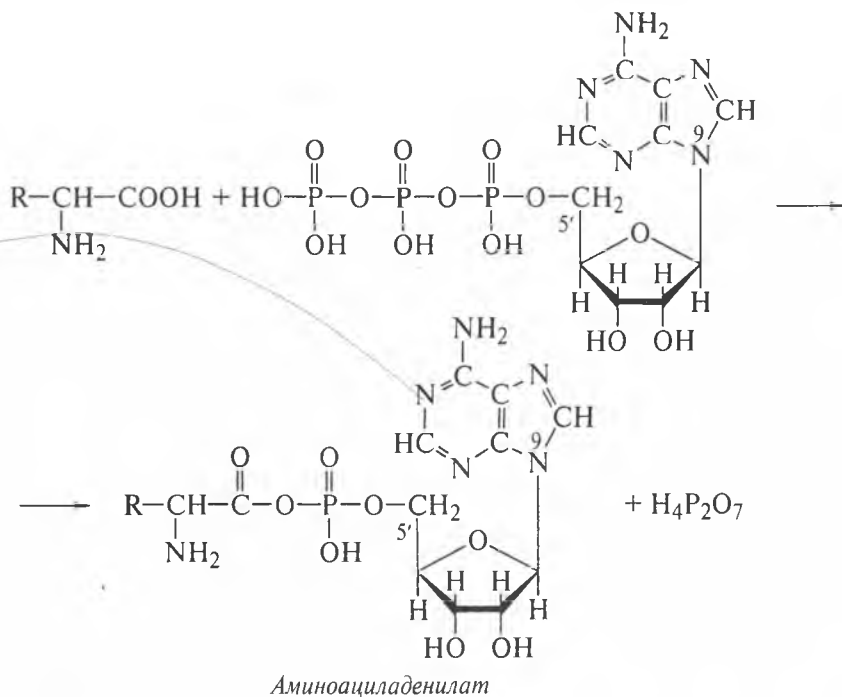
Активация аминокислот протекает за счет энергии гидролиза АТФ в растворимой части цитоплазмы. Аминокислоты активируются особыми



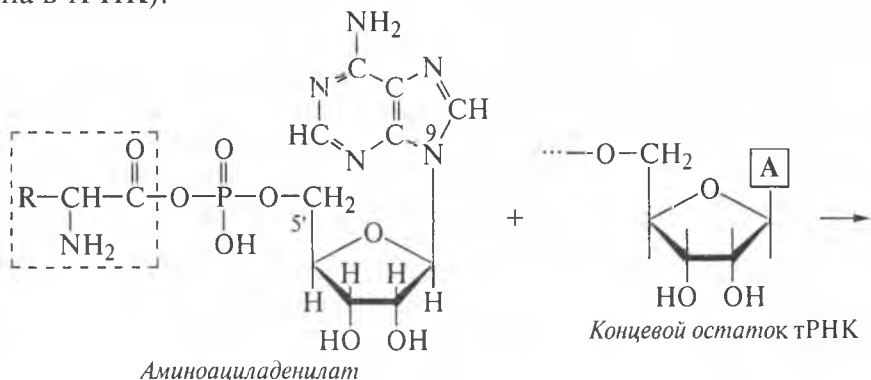
ферментами — *аминоацил-тРНК-синтетазами* и присоединяются к соответствующим тРНК:

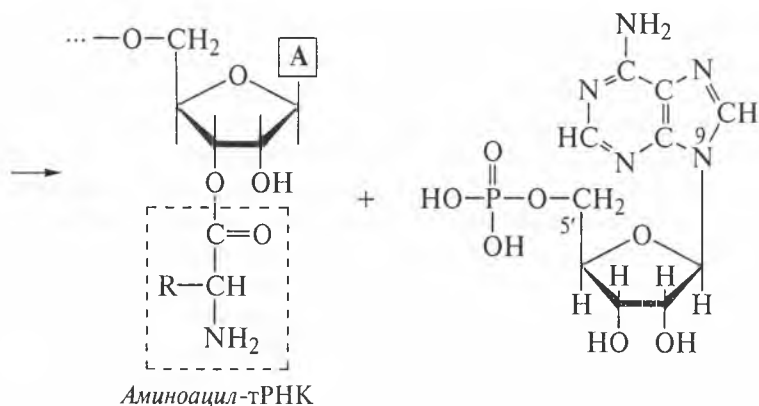


Реакция активации протекает в два этапа: сначала в результате взаимодействия АТФ и аминокислоты (COOH-группа аминокислоты связывается ангидридной связью с 5'-фосфатной группой АТФ с образованием пиррофосфата) образуется связанный с ферментом промежуточный продукт — *аминоациладенилат*:



Затем во второй реакции происходит перенос аминокислотного остатка на специфическую тРНК (при этом COOH-группа аминокислоты образует сложноэфирную связь с 3'-ОН-группой концевой остатка аденозина в тРНК):



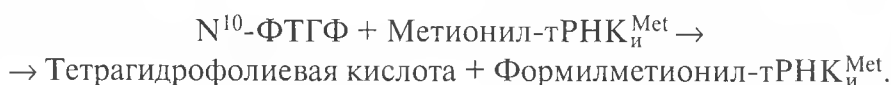


Общий итог реакции заключается в этерификации каждой аминокислоты соответствующей молекулой тРНК, т. е. в образовании **аминоацил-тРНК**. В ходе этого процесса каждая аминокислота активируется и связывается только со строго специфичной для нее тРНК.

По химической природе аминоацил-тРНК-синтетазы можно разделить на три основных типа: 1) состоящие из одной полипептидной цепи с молекулярной массой около 100 000 (такие, как валиновая, лейциновая); 2) олигомерные, состоящие из одинаковых субъединиц (например, метиониновая синтетаза, состоящая из четырех субъединиц с молекулярной массой около 45 000); 3) олигомерные, содержащие различные субъединицы (триптофановая, глициновая). Процесс «узнавания» тРНК аминоацил-тРНК-синтетазой протекает с высокой селективностью, чем определяется правильность чередования аминокислотных остатков в полипептидной цепи синтезируемого белка.

Далее аминоацил-тРНК-синтетазы переносятся на рибосомы, на которых осуществляется синтез полипептидной цепи. Молекулы тРНК при этом играют роль адапторов, при помощи которых аминокислоты включаются в определенном порядке в растущую полипептидную цепь.

На стадии инициации из отдельных компонентов собирается молекулярный аппарат для синтеза белка и протекают подготовительные процессы. В ходе инициации происходит сборка рибосом, которые являются организующими центрами процесса трансляции. Началом синтеза белка в мРНК является сочетание трех нуклеотидов: АУГ. Если эти нуклеотиды находятся внутри цепи мРНК, то они кодируют аминокислоту метионин. В клетках прокариот существуют две метиониновые тРНК: первая — тРНК<sub>а</sub><sup>Met</sup> акцептирует остатки метионина и включает их в полипептидную цепь; вторая — тРНК<sub>и</sub><sup>Met</sup> служит для инициации синтеза белков и называется *инициаторной*. Обе тРНК акцептируют аминокислоту метионин, образуя метионил-тРНК. Если метионин соединился с тРНК<sub>и</sub><sup>Met</sup>, то он вступает в реакцию трансформилирования. При этом формальдегидная группа переносится с N<sup>10</sup>-формилтетрагидрофолиевой кислоты (N<sup>10</sup>-ФТГФ) на метионил-тРНК<sub>и</sub><sup>Met</sup>:



Блокирование аминокруппы метионина формильным остатком позволяет этой аминокислоте первой занять определенное место в рибосоме и положить начало росту полипептидной цепи. В связи с тем что формилметионин приходит в рибосому первым, все полипептиды у прокариот начинаются с формилметионина. После окончания синтеза белка формильная группа отщепляется от него ферментом *деформилазой*, а в ряде случаев ферментом *пептидазой* отщепляется и метиониновый остаток.

Кроме инициаторной тРНК, мРНК и компонентов рибосомы (ее субъединиц) у прокариот для инициации необходимы еще ГТФ и три белка. Они называются *факторами инициации* (обозначаются как IF-1, IF-2 и IF-3) и обычно не входят в состав рибосомы. Механизм инициации включает присоединение иницирующего фактора IF-3 к меньшей 30-S-субъединице рибосомы; взаимодействие белкового фактора IF-2 с ГТФ с образованием межмолекулярного комплекса IF-2—ГТФ, к которому подходит формилметионил- тРНК<sub>и</sub><sup>Met</sup>. В результате образуется макромолекулярный комплекс, с которым реагирует 30-S-субъединица рибосомы, содержащая фактор IF-3, что приводит к образованию межмолекулярного комплекса: 30-S—ГТФ—IF-2-формилметионил- тРНК<sub>и</sub><sup>Met</sup>. К этому комплексу при участии иницирующего фактора IF-1 своим 5'-концом присоединяется мРНК. На заключительном этапе присоединяется 50-S-субъединица, при этом высвобождаются три фактора инициации, а также ГДФ и H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. В результате указанных процессов рибосома «собрана» и готова для синтеза полипептидной цепи. Так на стадии инициации собирается весь аппарат для синтеза полипептидной цепи. Факторы инициации повторно используются для инициации синтеза новых цепей.

В результате взаимодействия аминокруппы вновь поступившей в рибосому аминокислоты с карбоксильной группой предыдущей аминокислоты образуется пептидная связь. Эта реакция протекает по механизму нуклеофильного замещения (при этом вытесняется тРНК предыдущей аминокислоты) и катализируется ферментом *пептидилтрансферазой*, являющимся одним из белков 50-S-субъединицы рибосомы.

Так образуется пептидная связь. Затем осуществляется передвижение (транслокация) в рибосоме мРНК на один кодон. Для процесса передвижения требуется энергия гидролиза ГТФ и второй фактор элонгации — EF-G (или EF-2 у эукариот). В результате транслокации мРНК поступает в особый участок рибосомы, а вытесненная инициаторная тРНК<sub>и</sub><sup>Met</sup> уходит из нее. Затем на этом участке «заселяется» следующий кодон. Цикл повторяется при поступлении следующей аминоацил-тРНК; мРНК передвигается далее, ее кодоны «переводятся» на «язык» белков. Считывание информации с мРНК идет в направлении 5' → 3'. Цикл элонгации повторяется многократно, т. е. столько раз, сколько аминокислотных остатков входит в состав полипептидной цепи.

Элонгация заканчивается тогда, когда в рибосому на мРНК приходят сигналы окончания синтеза белка. Ими являются один или несколько кодонов-терминаторов: УАА, УАГ и УГА. Наличие их в любом участке мРНК приводит к окончанию белкового синтеза. В терминации участвуют различные белковые факторы.

Все освободившиеся компоненты белоксинтезирующей системы (субъединицы рибосом, тРНК, белковые факторы трансляции) используются вновь в очередном цикле трансляции. Реакции белкового синтеза протекают по типу конвейера, они синхронизированы и обеспечивают максимальную скорость и эффективность трансляции. Почти всегда на одной молекуле мРНК трансляцию осуществляют несколько рибосом, образуя полирибосомы (полисомы). У бактерий трансляция 5'-конца мРНК нередко идет уже тогда, когда еще не закончен синтез 3'-конца самой мРНК. Скорость роста полипептидной цепи очень велика. У бактерий она достигает 500 аминокислотных остатков в 1 мин, в клетках животных — примерно в 10 раз меньше. На образование пептидной связи расходуется свыше 100 кДж/моль энергии, хотя сама энергия пептидной связи составляет около 21 кДж/моль. Большие затраты энергии при синтезе полипептидов связаны, по-видимому, с необходимостью поддержания строгой упорядоченности и определенной последовательности включения аминокислот.

Функционально активные белки образуются в результате *посттрансляционных модификаций* полипептидных цепей. Эти модификации включают частичный протеолиз, реакции карбоксилирования, фосфорилирования, иодирования, гидроксилирования, ацилирования и гликозилирования. Кроме того, для формирования нативных пространственных структур белков необходимо как образование дисульфидных связей внутри цепи, так и наличие белков — *шаперонов*, обеспечивающих правильную укладку полипептидных цепей (см. главу 1). При образовании сложных белков протекают процессы высокоспецифичного присоединения простетических групп.

Регуляция трансляции довольно сложна у эукариот и объясняется теорией индукции — репрессии генов (Ф. Жакоб и Ж. Моно, 1961 г.). Данный материал выходит за рамки настоящего пособия и рассматривается в специальной литературе.

**Влияние антибиотиков на трансляцию.** На синтез полипептидной цепи могут влиять различные антибиотики. Несмотря на то что описанный выше механизм синтеза белка во многом универсален, в разных типах клеток существуют значительные различия в структуре рибосом и специфичности белковых факторов, участвующих в синтезе белка. В результате возникают различия в ингибировании трансляции отдельными антибиотиками. Следовательно, данные по ингибирующему действию трансляции отдельными антибиотиками должны относиться к конкретной клетке; аналогично, результаты, полученные *in vitro*, не должны переноситься непосредственно на процессы, протекающие *in vivo*. Индивидуальные антибиотики довольно специфично ингибируют разные стадии белкового синтеза. Так, *актиномицины* действуют на уровне транскрипции, связываясь с кодирующей цепью ДНК, а *пурамицин* ингибирует терминацию белкового синтеза.

## 12.4. ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ БЕЛКОВ

Пищевая ценность белков растительного и животного происхождения как критерий их физиологической значимости для организма определяется в первую очередь их аминокислотным составом (см. главу 1). Если в

белках пищи содержатся все незаменимые аминокислоты, то такие белки в плане питания относят к полноценным, остальные неполноценны. Примерная минимальная суточная потребность человека в незаменимых аминокислотах (она обычно вдвое меньше рекомендуемых значений) приведена в табл. 12.3.

**Таблица 12.3. Примерная минимальная суточная потребность организма человека в незаменимых аминокислотах\***

Аминокислота	Дети, мг на кг массы тела	Мужчины, г	Женщины <sup>4*</sup> , г
Гистидин	30	0	0
Триптофан	20	0,25	0,16
Фенилаланин <sup>2*</sup>	90	1,10	0,22
Лизин	100	1,80	0,50
Треонин	90	0,50	0,31
Метионин <sup>3*</sup>	45	1,10	0,35
Лейцин	150	1,10	0,62
Изолейцин	130	0,70	0,45
Валин	110	0,80	0,65

\* В определенных условиях необходимы небольшие количества аргинина.

<sup>2\*</sup> Тирозин снижает потребность в фенилаланине на 75 %, поскольку многие биохимические функции фенилаланина требуют его превращения в тирозин.

<sup>3\*</sup> Цистеин снижает потребность в метионине на 80 %.

<sup>4\*</sup> Во время беременности и кормления рекомендуется увеличивать количество поступающих с пищей аминокислот.

Существует международный «условный стандарт» аминокислотного состава полноценного белка, отвечающего физиологическим потребностям организма. По этому стандарту в состав полноценного белка должно входить не менее 31,4 % незаменимых аминокислот, остальные аминокислоты могут быть заменимыми. Требованиям этого стандарта наиболее полно удовлетворяет белок куриного яйца. Белки растительного происхождения, как правило, менее полноценны по сравнению с белками животного происхождения. По-видимому, справедливым является следующее положение: чем ближе аминокислотный состав пищевого белка к аминокислотному составу белка организма, тем выше его биологическая ценность. Белками богаты главным образом животные (мясо, рыба, молоко) и только некоторые растительные (горох, соя) продукты (табл. 12.4). В остальных продуктах питания белки содержатся в минимальных количествах.

В экономически неразвитых странах основу питания составляют растительные продукты, поэтому у населения возникает хроническая белковая недостаточность, которая особенно тяжело проявляется в детском возрасте. Данное заболевание называется *квашиоркор*, при нем начинает-

**Таблица 12.4. Содержание белков в некоторых пищевых продуктах**

Наименование продукта	Содержание белков, % (мас.)	Наименование продукта	Содержание белков, % (мас.)
Мясо	18—22	Гречневая крупа	11
Рыба	17—22	Пшено	10
Сыр	20—36	Орехи лесные	12
Яйца	13	Орехи кедровые	4
Молоко	3,5	Картофель	1,5—2,0
Хлеб ржаной	7,8	Капуста	1,1—1,6
Рис	8	Морковь	0,8—1,6
Горох	26	Свекла	1,6
Соя	35	Яблоки	0,3—0,4
Макаронные изделия	9—13	Вишня	1—1,1

ся гидролиз белков собственных тканей тела для поддержания нормального функционирования организма. В результате неполноценного питания у детей наблюдаются задержка роста, малокровие, поражение жизненно важных органов, нарушение секреции пищеварительных соков и другие сопутствующие заболевания. Перевод питания на мясную и молочную диету дает положительный эффект, в результате которого симптомы белковой недостаточности исчезают.

## 12.5. ГИДРОЛИЗ БЕЛКОВ В ПРОЦЕССЕ ПИЩЕВАРЕНИЯ

В связи с тем что для биосинтеза организм использует не готовые пищевые белки, а продукты их гидролитического расщепления — аминокислоты, процесс переваривания белков в организме «настроен» таким образом, чтобы лишить белки пищи их видовой и тканевой специфичности. До 97 % белков пищи под действием *протеолитических пищеварительных ферментов* желудочно-кишечного тракта (табл. 12.5) подвергаются многостадийному, селективному гидролизу, в результате которого образуются свободные аминокислоты, используемые в дальнейшем клетками организма для синтеза собственных, специфических белков. Белки опорных тканей — коллаген и эластин не подвергаются гидролизу. В процессах гидролиза сложных белков наряду с протеолитическими ферментами принимают участие ферменты, гидролизующие простетические группы углеводной, липидной и нуклеотидной природы.

Следует отметить, что источником аминокислот могут служить и собственные, специфические белки организма, которые постоянно подвергаются гидролитическому расщеплению до свободных аминокислот, что обеспечивает поддержание азотистого баланса. Однако аминокислоты, образующиеся в результате распада специфических белков организма, используются для синтеза новых белков в малой степени.

Таблица 12.5. Характеристика особенностей действия протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта (X — любой аминокислотный остаток)

Локализация процесса	Оптимум pH	Активация протеаз			Селективность действия
		профермент	активатор	активная форма фермента	
Желудок	1,5—2,0	Пепсиноген	HCl (медленно), пепсин (быстро)	Пепсин	—X—Tyr—, —X—Phe—, —Leu—Glu—
Тонкий кишечник	7,0—8,0	Трипсиноген	Энтеропептидаза	Трипсин	—Arg—X—, —Lys—X—
		Химотрипсиноген	Трипсин	Химотрипсин	—Trp—X—, —Phe—X—, —Tyr—X—
		Проеластаза	Трипсин	Эластаза	—Gly—Ala—
		Прокарбоксипептидазы А, В	Трипсин	Карбоксипептидазы А, В	$\begin{array}{c} \text{—X—NH—CH(R)} \\   \\ \text{COOH} \end{array}$
Пристеночный слой кишечника	7,0—8,0	—	—	Аминопептидазы, ди- и трипептидазы	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N—CH(R)} \\   \\ \text{CO—X—} \end{array}$ Ди- и трипептиды

*Протеолитические ферменты (пептидазы, протеазы, пептидгидролазы)* представляют собой группу ферментов, различающихся по субстратной специфичности: каждый из них гидролизует пептидную связь между строго определенными аминокислотными остатками в молекуле белка.

Протеолитические ферменты подразделяют на две группы: *эндопептидазы*, гидролизующие преимущественно пептидные связи, находящиеся внутри полипептидной цепи, и *экзопептидазы*, катализирующие гидролиз концевой пептидной связи с освобождением одной аминокислоты. Протеолитические ферменты синтезируются и выделяются в пищеварительный тракт в виде неактивных форм — *проферментов*, не способных переваривать собственные белки клеток. Затем проферменты в результате *частичного протеолиза* активизируются, переходя в активные формы — собственно ферменты, которые действуют на пищевые белки.

Таким образом, в результате последовательного действия протеолитических ферментов на пищевые белки происходит их постадийный гидролиз до свободных аминокислот, которые в дальнейшем вовлекаются в различные метаболические пути.

**Гидролиз белков эндопептидазами.** К настоящему времени наиболее изученными являются следующие эндопептидазы: *пепсин, ренин, трипсин, химотрипсин, эластаза*. Рассмотрим некоторые особенности действия этих ферментов.

В желудочном соке гидролиз белков происходит под действием пепсина (от греч. *pepsis* — пищеварение). Наличие пепсина в желудочном соке было показано еще в 1783 г. итальянским натуралистом Л. Спалланцани. В 1930 г. Дж. Нортроп получил пепсин в кристаллической форме (рис. 12.3).

В клетках слизистой оболочки желудка продуцируется пепсиноген — профермент пепсина, полипептидная цепь которого, содержащая 340 аминокислотных остатков и имеющая молекулярную массу около 40 000, обладает высокой устойчивостью в сильноокислой среде и характеризуется низким значением изоэлектрической точки ( $pI < 1$ ). В желудочном соке от пепсиногена отщепляется N-концевая часть молекулы, содержащая 42 аминокислотных остатка, в результате чего в остальной части молекулы вследствие конформационных перестроек формируется активный центр пепсина. Таким образом из профермента вырабатывается фермент — пепсин. Активация пепсиногена в пепсин может происходить как под действием соляной кислоты желудочного сока, так и под действием самого пепсина, т. е. автокаталитически. Причем реакция с участием соляной кислоты протекает довольно медленно, в то время как автокаталитический процесс имеет высокую скорость. Поэтому небольшое количество пепсина, медленно образующееся в результате действия соляной кислоты на пепсиноген, в дальнейшем служит



Рис. 12.3. Микрофотография кристаллов пепсина





Рис. 12.4. Модель активного центра эндопептидаз типа трипсина

затравкой для более быстрого синтеза пепсина из пепсиногена.

Под действием пепсина белки гидролизуются до пептидов, свободные аминокислоты при этом практически не образуются. В опытах *in vitro* пепсин способен гидролизовать белки до составляющих аминокислот, но этот процесс требует значительных затрат времени, несравнимо больших, чем то время, которое белки находятся в желудке *in vivo*. Пепсин гидролизует пептидные связи, образованные фенилаланином, триптофаном и тирозином. Оптимальное значение pH, при котором пепсин проявляет наибольшую активность, равно 1—2.

В клетках поджелудочной железы синтезируются проферменты следующих эндопептидаз: трипсина, химотрипсина и эластазы. В настоящее время полностью раскрыт механизм активации трипсиногена (профермента) с переводом его в активную форму — трипсин. Механизм активации сходен с таковым у пепсина и представляет собой частичный протеолиз: под действием *энтеропептидазы* от полипептидной цепи трипсиногена отрывается N-концевой гексапептид. В результате такого отрыва и сопутствующих конформационных изменений полипептидной цепи формируется активный центр трипсина (рис. 12.4, 12.5). Селективность действия трип-

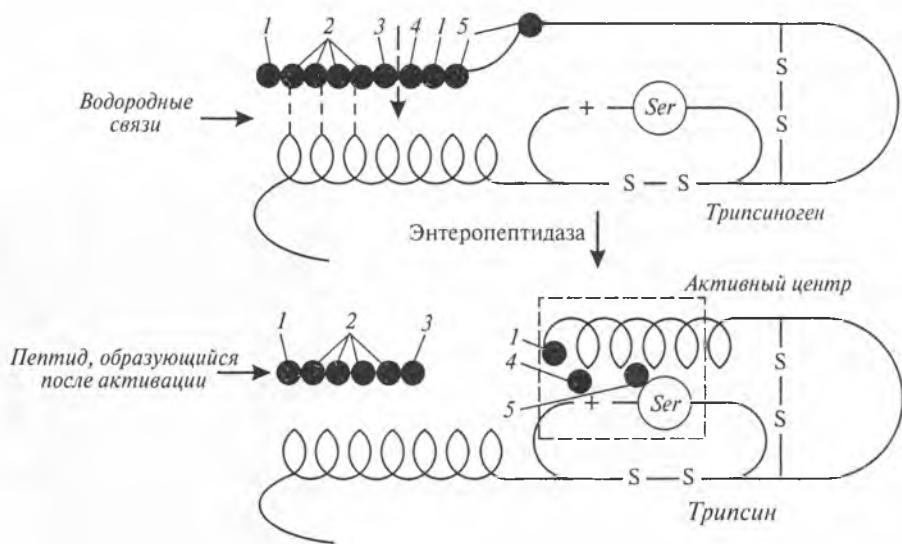


Рис. 12.5. Механизм активации трипсиногена в трипсин путем частичного протеолиза. Аминокислотные остатки:

1 — Val; 2 — Ala; 3 — Leu; 4 — Ile; 5 — His

сина заключается в гидролизе пептидных связей, образованных между остатками аргинина и лизина. Трипсин также активизирует и другие пептидазы поджелудочной железы по механизму частичного протеолиза, в результате чего получают химоотрипсин, карбоксипептидазы А и В, эластаза.

Химоотрипсин и различные его модификации наиболее активны по отношению к пептидным связям, образованным тирозином, фенилаланином и триптофаном.

Эластаза гидролизует пептидные связи между глицином, аланином и серином.

Химоотрипсин так же, как эластаза и пепсин, гидролизует белки до пептидов, но при этом образуется и некоторое количество свободных аминокислот.

В желудочном соке детей грудного возраста присутствует створаживающий молоко фермент ренин. При участии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  он превращает растворимые формы казеина молока в нерастворимые, что и составляет сущность процесса створаживания. Физиологическое значение створаживания молока заключается в задержании его в желудке на время, необходимое для переваривания белков. В желудке взрослых людей данный фермент практически отсутствует, и створаживание молока происходит за счет совместного действия кислой среды желудочного сока и пепсина.

**Гидролиз белков экзопептидазами.** Экзопептидазы представлены *карбоксипептидазами, аминопептидазами и дипептидазами*.

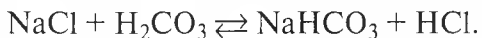
Карбоксипептидазы гидролизуют пептидную связь, образованную С-концевым аминокислотным остатком. Существует две разновидности карбоксипептидаз: карбоксипептидаза А и карбоксипептидаза В. Карбоксипептидаза А первоначально выделяется в виде прокарибоксипептидазы А, которая активизируется трипсином. Карбоксипептидаза А отщепляет от пептида преимущественно С-концевые аминокислотные остатки с ароматическими боковыми цепями (механизм каталитического действия карбоксипептидазы А описан в главе 2). Карбоксипептидаза В также выделяется в неактивной форме; затем, будучи активированной, она атакует С-концевые остатки, содержащие только аргинин и лизин.

Аминопептидазы представляют собой ферменты, синтезируемые клетками кишечника и действующие преимущественно внутри этих клеток. Аминопептидазы поочередно отщепляют от пептидов N-концевые аминокислотные остатки. Конкретным примером одной из аминопептидаз может служить лейцинаминопептидаза, которая активизируется ионами  $\text{Zn}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$  и проявляет слабую субстратную селективность.

Дипептидазы — это ферменты, синтезируемые клетками кишечника и гидролизующие дипептиды до свободных аминокислот. Примером дипептидазы может служить глицилглициндипептидаза, активируемая ионами  $\text{Co}^{2+}$  и  $\text{Mn}^{2+}$ .

**Пищеварительная функция соляной кислоты.** Ввиду исключительной биологической роли соляной кислоты следует остановиться на вопросах ее синтеза в организме. Хотя детально механизм этого процесса еще далеко не выяснен, имеются данные, что анионы  $\text{Cl}^-$ , образующиеся в резуль-

тате диссоциации NaCl в крови, диффундируют через мембраны в клетки, где взаимодействуют с ионами водорода, образующимися в результате диссоциации угольной кислоты:



Смещение равновесия в данной реакции в сторону синтеза соляной кислоты происходит, по-видимому, за счет использования энергии гидролиза АТФ. Затем соляная кислота секретируется в желудок, где выполняет разнообразные функции: активирует пепсиноген; создает оптимум рН для действия пепсина и других протеолитических ферментов; денатурирует пищевые белки, облегчая тем самым процесс их гидролиза; оказывает антимикробное действие, т. е. создает барьер для попадания болезнетворных бактерий в кишечник. От денатурирующего влияния соляной кислоты и гидролитического действия протеолитических ферментов собственные белки стенок желудка предохраняет специальный слизистый секрет, содержащий гликопротеины. При язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки в области язвы происходит разрушение клеток протеолитическими ферментами; механизм образования язвы пока детально не изучен.

## 12.6. ОСОБЕННОСТИ КАТАБОЛИЗМА АМИНОКИСЛОТ

Всасывание свободных аминокислот, образовавшихся в результате гидролиза белков, происходит в основном в тонком разделе кишечника. Данный процесс представляет собой активный транспорт молекул аминокислот, требующий энергии и зависящий от концентрации ионов  $\text{Na}^+$ . Обнаружено более пяти специфических транспортных систем, каждая из которых переносит наиболее близкие по химическому строению аминокислоты. Разные аминокислоты могут конкурировать друг с другом за участки связывания на встроженных в мембрану транспортных белках (см. главу 15). Таким образом, всосавшиеся в кишечнике аминокислоты попадают через портальную систему в печень, а затем поступают в кровь.

Дальнейший катаболизм аминокислот до конечных продуктов представляет собой совокупность реакций **дезаминирования**, **трансаминирования** и **декарбоксилирования**. При этом каждой индивидуальной аминокислоте соответствует свой специфический метаболический путь.

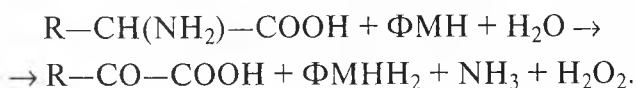
**Дезаминирование аминокислот.** Дезаминирование — это отщепление аминогрупп от аминокислот в форме аммиака. Именно с реакций дезаминирования чаще всего начинается катаболизм аминокислот. В живых организмах возможно четыре типа дезаминирования аминокислот (табл. 12.6).

Общим продуктом всех четырех типов дезаминирования является аммиак — довольно токсичное для клеток и тканей соединение, поэтому он подвергается обезвреживанию в организме (см. далее). Кроме аммиака продуктами дезаминирования (в зависимости от его типа) являют-

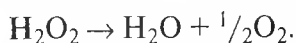
Таблица 12.6. Типы дезаминирования аминокислот

№	Тип дезаминирования	Уравнение реакции
1	Восстановительное	$\text{R}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH} \xrightarrow{+2\text{H}} \text{R}-\text{CH}_2-\text{COOH} + \text{NH}_3$
2	Гидролитическое	$\text{R}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH} \xrightarrow{+\text{H}_2\text{O}} \text{R}-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{COOH} + \text{NH}_3$
3	Внутримолекулярное	$\text{R}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH} \rightarrow \text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH} + \text{NH}_3$
4	Окислительное	$\text{R}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH} \xrightarrow{[\text{O}]} \text{R}-\underset{\text{O}}{\text{C}}-\text{COOH} + \text{NH}_3$

ся насыщенные и ненасыщенные, гидрокси- и кетокاربоновые кислоты. В результате дезаминирования за счет «потерянных» в форме аммиака аминогрупп уменьшается суммарное количество аминокислот. Для большинства живых организмов, в том числе и человека, характерно окислительное дезаминирование аминокислот, в то время как другие типы дезаминирования встречаются только у некоторых микроорганизмов. Окислительное дезаминирование L-аминокислот осуществляется оксидазами, присутствующими в печени и почках. Распространенным коферментом оксидазы L-аминокислот является ФМН, выполняющий роль переносчика водорода с аминокислоты на кислород. Суммарная реакция окислительного дезаминирования выглядит следующим образом:

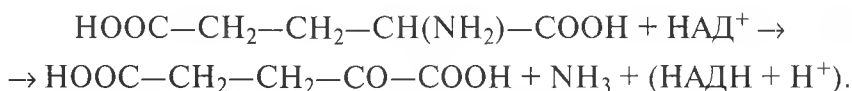


В ходе реакции образуется промежуточное соединение — иминокислота, которая затем гидратируется с образованием кетокислоты. Кроме кетокислоты и аммиака (основных продуктов дезаминирования) в данной реакции образуется еще и пероксид водорода, который затем разлагается на воду и кислород при участии *каталазы*:



Окислительное дезаминирование как самостоятельный процесс играет незначительную роль в превращении аминогрупп аминокислот; с большой скоростью дезаминируется только глутаминовая кислота. Данную реакцию катализирует фермент *глутаматдегидрогеназа*, коферментом которой выступает НАД или НАДФ. Активность глутаматдегидрогеназы регулируется аллостерическими модификаторами, в роли ингибиторов

выступают ГТФ и АТФ, а в роли активаторов — ГДФ и АДФ. Окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты можно представить следующей схемой:



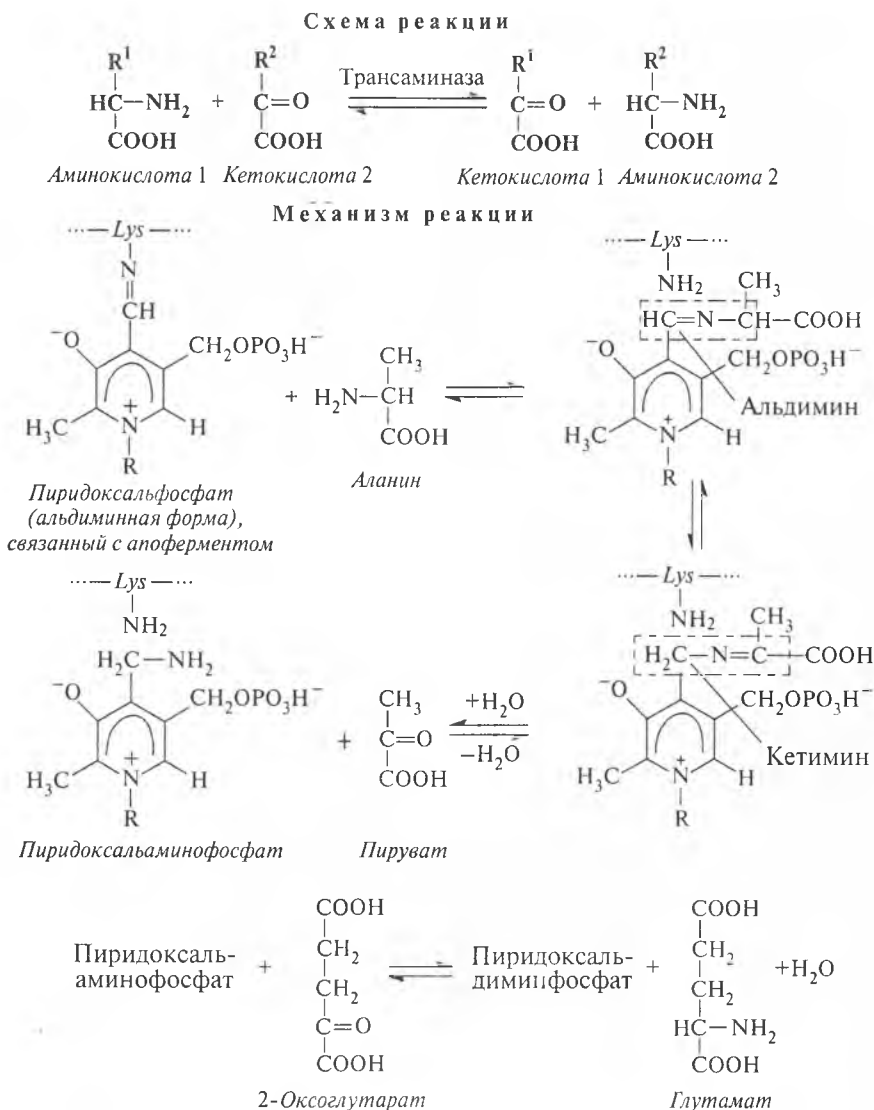
Данная реакция обратима, но в условиях живой клетки равновесие реакции смещено в сторону образования аммиака.

Другие, неокислительные типы дезаминирования характерны для серина, цистеина, треонина и гистидина. Остальные аминокислоты подвергаются трансдезаминированию.

**Трансдезаминирование.** Трансдезаминирование представляет собой основной путь катаболического распада аминокислот. По названию процесса нетрудно догадаться, что он протекает в два этапа. Первый — трансаминирование, а второй — собственно окислительное дезаминирование аминокислоты. Трансаминирование катализируется ферментами *амино-трансферазами*, называемыми также просто *трансаминазами*. В качестве кофермента аминотрансферазы выступает пиридоксальфосфат (витамин В<sub>6</sub>). Суть трансаминирования состоит в переносе аминогруппы с  $\alpha$ -аминокислоты на  $\alpha$ -кетокислоту (рис. 12.6). В начале процесса  $\text{NH}_2$ -группа аминокислоты взаимодействует с альдегидной группой пиридоксальфосфата с образованием промежуточных шиффовых оснований типа альдимины и затем его таутомерной формы кетимина (шиффово основание пиридоксоаминофосфата), который далее гидролизуетсся с образованием кетоаналога исходной аминокислоты и пиридоксальаминофосфата.

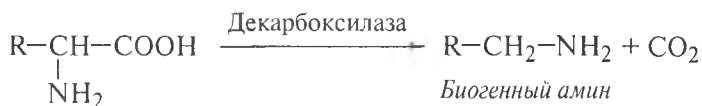
Таким образом, реакция трансаминирования является межмолекулярным окислительно-восстановительным процессом, в котором участвуют атомы углерода не только взаимодействующих аминокислот, но и пиридоксальфосфата. Акцептором  $\text{NH}_2$ -групп чаще всего выступает 2-оксоглутарат, при этом из него образуется глутамат. Значительно реже для этих целей используется пируват или оксалоацетат. В результате трансаминирования различных аминокислот (кроме лизина и треонина) все их аминогруппы локализуются в составе глутаминовой кислоты, а у некоторых организмов — аспаратата или аланина. В дальнейшем в результате окислительного дезаминирования аминогруппы, «собранные» в глутаминовой кислоте, отщепляются в форме аммиака (см. выше).

**Декарбоксилирование аминокислот.** Декарбоксилирование аминокислот представляет процесс отщепления карбоксильной группы от аминокислоты в форме  $\text{CO}_2$ . Декарбоксилированию в условиях живого организма могут подвергаться некоторые аминокислоты и их производные. Декарбоксилирование катализируется специальными ферментами — *декарбоксилазами*, коферментом которых (за исключением гистидиндекарбоксилазы) служит пиридоксальфосфат. Продуктами декарбоксилирования являются амины, обладающие биологической активностью, — *биогенные амины* (табл. 12.7). К этой группе соединений принадлежит большая часть нейромедиаторов (см. главу 16) и регуляторных факторов местного



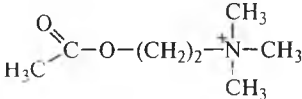
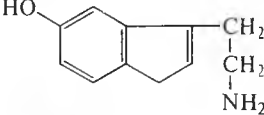
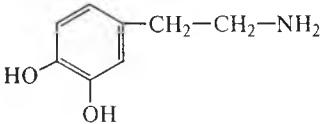
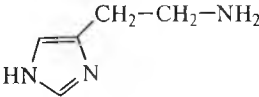
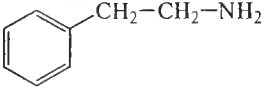
**Рис. 12.6. Механизм действия пиридоксальфосфата как кофермента трансаминаз**

действия (тканевые медиаторы, регулирующие обмен веществ). Реакцию декарбоксилирования произвольной аминокислоты можно представить в следующем виде:

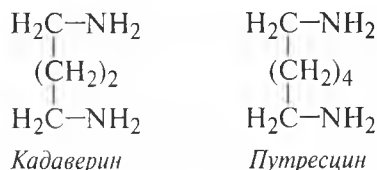


Из биогенных аминов, образующихся в результате декарбоксилирования аминокислот, наиболее важными являются *ацетилхолин, серотонин, дофамин, γ-аминомасляная кислота (ГАМК), гистамин и фенилэтиламин*.

Таблица 12.7. Предшественники, химическое строение и биологическая роль некоторых биогенных аминов

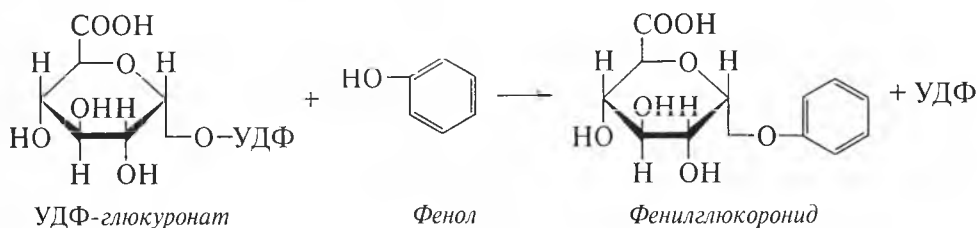
Аминокислоты	Продукты декарбоксилирования	Биологически активные амины	Химическое строение биогенного амина	Биологическая функция
Серин	Этаноламин	Ацетилхолин		Возбуждающий медиатор вегетативной нервной системы
Триптофан	Триптамин	Серотонин		Возбуждающий медиатор средних отделов мозга
Тирозин	—	Дофамин		Медиатор среднего отдела мозга
Глутаминовая кислота	γ-Аминomásляная кислота (ГАМК)	ГАМК	$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$	Тормозной медиатор высших отделов мозга
Гистидин	Гистамин	Гистамин		Медиатор воспаления, аллергических реакций, пищеварительный гормон
Фенилаланин	Фенилэтиламин	Фенилэтиламин		Обладает нейромедиаторной активностью

**Разложение аминокислот под действием бактерий.** Белки и продукты их гидролиза — пептиды и аминокислоты в кишечнике подвергаются воздействию не только собственных протеолитических ферментов организма, но и ферментов разнообразных бактерий. В отличие от ротовой полости и желудка в кишечнике имеются условия для развития так называемых гнилостных бактерий, поэтому здесь часть аминокислот до всасывания в кровь используется микробами в качестве источника питания. Декарбоксилирование аминокислот под действием бактерий приводит к образованию летучих и неприятно пахнущих, иногда ядовитых для организма аминов: *кадаверина*, *путресцина* и др.:



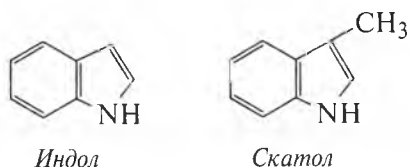
Процессы бактериального разложения аминокислот усиливаются при различных расстройствах пищеварения, в результате которых pH среды в кишечнике понижается до 3—5.

Цистин, цистеин и метионин при бактериальном разрушении образуют сероводород ( $\text{H}_2\text{S}$ ), метилмеркаптан ( $\text{CH}_3\text{SH}$ ) и другие серосодержащие соединения. Из тирозина в результате последовательных химических реакций, инициируемых микробами, могут образовываться крезол и фенол. Обезвреживание этих соединений происходит в печени в результате реакций конъюгации (от лат. *conjugatio* — соединение), т. е. связывания с серной или глюкуроновой кислотами с образованием нетоксичных парных кислот (например, фенолсерной кислоты). Наиболее распространена реакция конъюгации за счет присоединения глюкуроновой кислоты и образования глюкуронида. Донором глюкуроновой кислоты служит УДФ-глюкуронат; реакция катализируется *глюкуронилтрансферазой*. Конъюгация фенола с глюкуроновой кислотой происходит следующим образом:



В реакциях конъюгации могут участвовать также глицин, глутамин, ацетильный остаток.

В процессе декарбоксилирования триптофана образуются ядовитые вещества *индол* и *скатол*:





Они также подвергаются обезвреживанию конъюгацией с серной или глюкуроновой кислотами после предварительного окисления до соединений, содержащих гидроксильные группы (индоксила и скатоксила соответственно).

При реакциях окисления и конъюгации в молекулах обезвреживаемых веществ образуются гидрофильные группы, способствующие повышению растворимости в воде, что облегчает выведение вещества из организма. Кроме того, такая химическая модификация, как правило, снижает токсичность данных веществ.

## 12.7. КАТАБОЛИЗМ УГЛЕРОДНОГО СКЕЛЕТА АМИНОКИСЛОТ

Углеродный скелет аминокислот в процессе катаболизма претерпевает ряд химических изменений и превращается в соединения, которые включаются в общий путь катаболизма. Таких ключевых соединений всего семь: пируват, ацетил-КоА, ацетоацетил-КоА, 2-оксоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат и оксалоацетат (рис. 12.7). Такое небольшое разнообразие лишний раз подтверждает высокую экономичность метаболических превращений.

Аминокислоты, которые превращаются в пируват и промежуточные продукты цикла Кребса, могут в конечном счете образовывать оксалоацетат и использоваться для синтеза глюкозы (глюконеогенеза). Такие аминокислоты называют *глюкогенными*. Возможность синтеза глюкозы из глюконеогенных аминокислот обусловлена тем, что указанные промежуточные

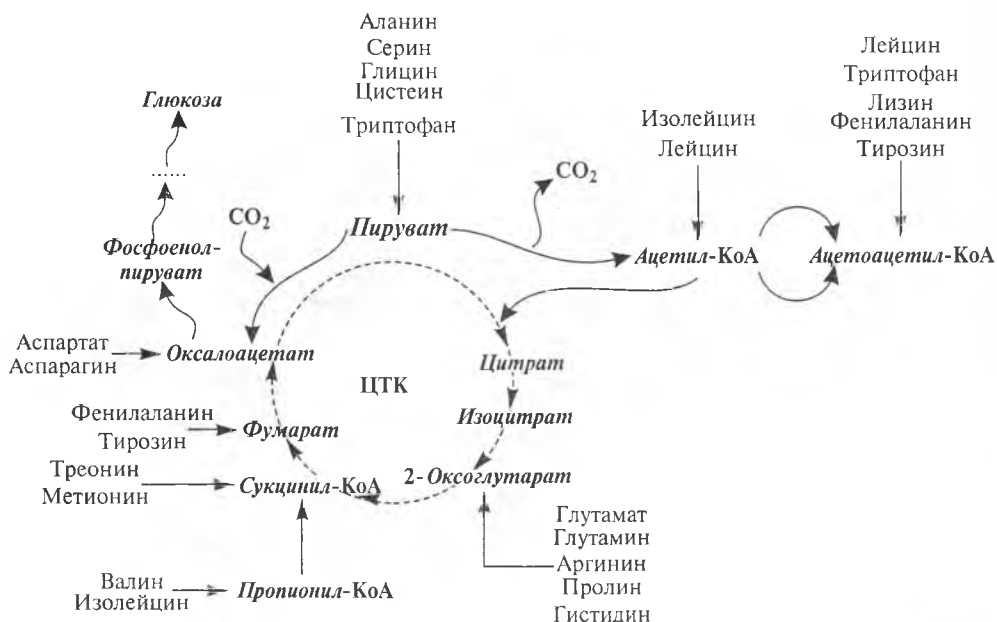


Рис. 12.7. Метаболические пути использования углеродного скелета аминокислот. ЦТК — цикл трикарбоновых кислот

продукты цикла Кребса могут превращаться в фосфоенолпируват, а затем в глюкозу (см. главу 13).

Аминокислоты, из которых в процессе катаболизма образуется ацетат или ацетил-КоА, называют **кетогенными**. Кетогенные аминокислоты в организме могут быть источниками кетоновых тел. Лизин может использоваться исключительно как кетогенная кислота.

Аминокислоты, углеводородные скелеты которых могут использоваться как для синтеза глюкозы, так и для синтеза кетоновых тел (*Tri*, *Phe*, *Tyr*, *Ile*), называют смешанными, или **глюкокетогенными**.

Нужно отметить, что при нормальной работе общего пути катаболизма и всех сопутствующих метаболических циклов полное окисление углеводородного скелета аминокислот до диоксида углерода и воды не играет заметной энергетической и пластической роли.

## 12.8. ОБМЕН АММИАКА

Как отмечалось выше, катаболизм аминокислот сопровождается образованием побочного продукта — аммиака. Аммиак даже в самых малых концентрациях является токсичным соединением для организма, что объясняется следующими причинами.

1. Повышенная концентрация аммиака сдвигает равновесие в глутаматдегидрогеназной реакции в сторону образования глутамата (см. выше), в результате чего снижается концентрация 2-оксоглутарата, что, в свою очередь, вызывает снижение скорости трансаминирования аминокислот и угнетение цикла Кребса.

2. В нервной ткани увеличение концентрации аммиака вызывает усиление синтеза глутамина в реакции



С одной стороны, в результате этого снижается концентрация глутамата, что вызывает нарушение обмена нейромедиаторов, в частности синтеза ГАМК, и может привести к появлению судорог. С другой стороны, накопление глутамина в больших концентрациях в нервных клетках приводит к повышению осмотического давления и может вызвать отек мозга.

3. В крови и цитозоле молекулы аммиака акцептируют протоны с образованием ионов аммония:



Накопление ионов  $\text{NH}_4^+$  нарушает перенос через клеточные мембраны некоторых ионов, в частности катионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , в результате чего возникают нарушения в работе ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ )-насоса (см. главу 15).

В организме существуют системы защиты от токсического воздействия аммиака. Возможны два пути реализации такой защиты: 1) аммиак выводится из организма во внешнюю среду, не успевая при этом проявить токсичность; 2) аммиак подвергается химической модификации с образова-

нием нетоксичных соединений. Наиболее распространенным путем обезвреживания аммиака является его химическая модификация с образованием нетоксичных форм.

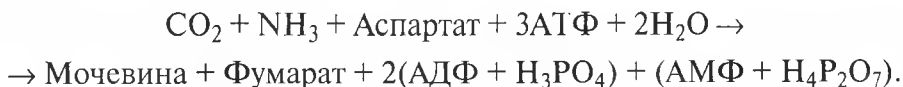
Одной из главных реакций химической модификации аммиака является синтез глутамина при участии *глутаматсинтетазы* с использованием энергии АТФ. Синтез глутамина происходит во многих органах и тканях, но особенно активно — в мышцах, мозге и печени. Образующийся в данном процессе глутамин используется для синтеза ряда соединений: аспарагина, пуриновых и пиримидиновых оснований и ряда других биосоединений.

Другим важным путем модификации аммиака является реакция *трансреаминирования*, т. е. реакция, обратная окислительному дезаминированию глутаминовой кислоты (см. выше). Но вклад этой реакции в сравнении с другими способами обезвреживания аммиака защитными системами организма, по-видимому, невелик.

У животных и человека основным путем обезвреживания аммиака является биосинтез мочевины — конечного продукта азотистого обмена. Биосинтез мочевины носит циклический характер, что было впервые доказано Г. Кребсом и К. Хенселантом в 1932 г. Существенную роль в цикле мочевины играет *орнитин*, поэтому весь процесс биосинтеза мочевины получил название *орнитинового цикла*.

**Орнитиновый цикл.** Начальной реакцией орнитинового цикла (рис. 12.8) является синтез карбомилфосфата из  $\text{NH}_3$  и  $\text{CO}_2$  с участием двух молекул АТФ. Эту реакцию катализирует *карбомилфосфатсинтетаза*, локализованная в митохондриях печени. Важно отметить, что в качестве донора азота для этого фермента может выступать только аммиак, а не какое-либо другое азотсодержащее соединение; в этом проявляется высокая специфичность карбомилфосфатсинтетазы. Затем карбомилфосфат (высокоэнергетическое соединение) взаимодействует с непротеиногенной аминокислотой орнитином, в результате чего образуется цитруллин; данная реакция катализируется *орнитинкарбомилтрансферазой*. Образовавшийся цитруллин переходит из митохондрий в цитозоль клеток печени, где реагирует с аспаратом (анионом аспарагиновой кислоты), превращаясь в аргининосукцинат (анион аргининоянтарной кислоты) при действии *аргининосукцинатсинтетазы* и при участии АТФ. Далее аргининосукцинат распадается на аргинин и фумарат под действием *аргининосукцинатлиазы*. Затем аргинин под влиянием *аргиназы* гидролизуется с образованием мочевины и орнитина. Таким образом, на этой стадии цикл замыкается.

Суммарное уравнение биосинтеза мочевины будет выглядеть следующим образом:



На синтез 1 моль мочевины расходуется 3 моль АТФ. При этом один из атомов азота мочевины образуется из аммиака, а другой — из аспарата. Суммарный процесс орнитинового цикла характеризуется значитель-

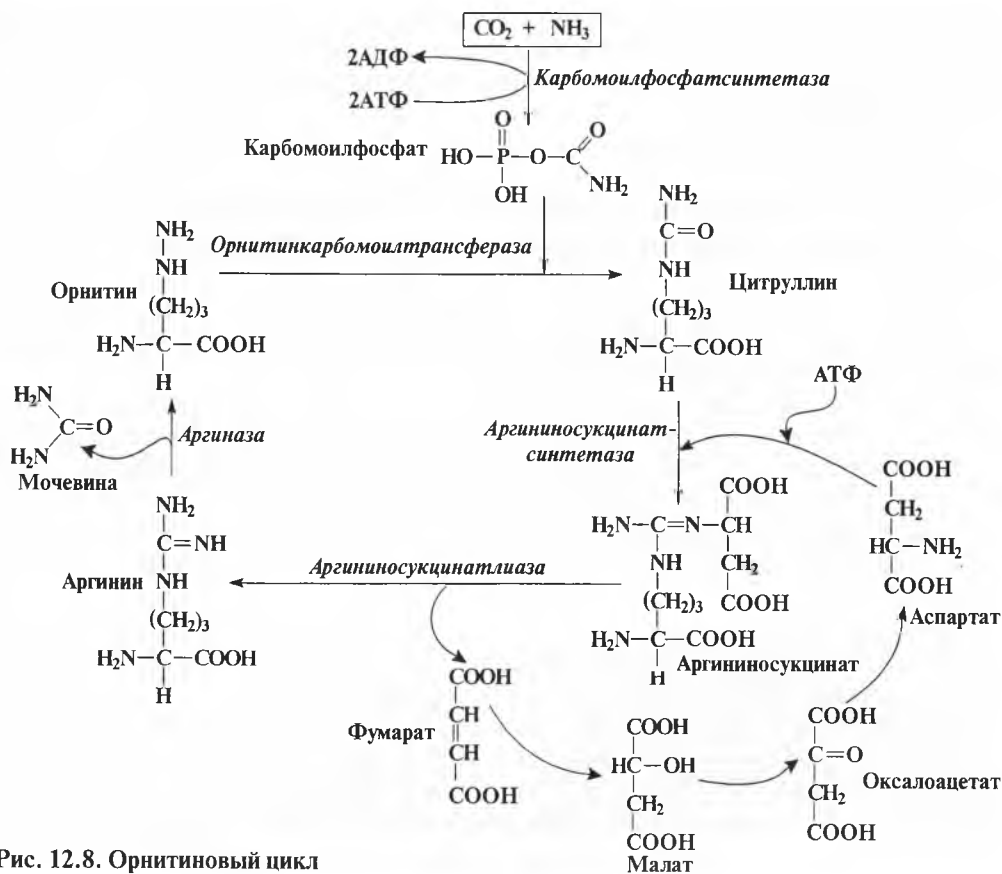


Рис. 12.8. Орнитиновый цикл

ным понижением свободной энергии ( $\Delta G^\circ = -40$  кДж/моль), поэтому всегда протекает в сторону образования мочевины — нетоксичного для организма соединения.

Как уже отмечалось выше, главным местом биосинтеза мочевины в организме является печень. Скорость синтеза мочевины возрастает при преимущественно белковом питании, благодаря чему поддерживается азотистый баланс в организме. В норме у практически здорового взрослого человека экскреция мочевины составляет около 25 г в сутки.

Нарушение биосинтеза мочевины может быть следствием недостаточности карбомилфосфатсинтетазы, катализирующей включение аммиака в орнитиновый цикл. Кроме того, известны случаи дефицита всех остальных ферментов цикла мочевины, а поскольку аммиак является токсичным веществом, то нарушения синтеза мочевины проявляются в виде расстройств нервной системы или развития комы.

## 12.9. БИОСИНТЕЗ ЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ

Заменимые аминокислоты синтезируются в организме в необходимых физиологических количествах. Исходными соединениями для синтеза заменимых аминокислот служат метаболиты катаболических путей угле-

водов, цикла Кребса и незаменимые аминокислоты (рис. 12.9). В первом и втором случаях углеродный скелет молекулы аминокислоты образуется из глюкозы, а аминогруппа вводится из других аминокислот с помощью трансаминирования.

Аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты образуются из метаболитов цикла Кребса — пирувата, оксалоацетата и 2-оксоглутарата соответственно. Глутамин образуется в результате аминирования глутаминовой кислоты при действии *глутаминсинтетазы*. Аспарагин синтезируется из аспарагиновой и глутаминовой кислот при участии *аспарагинсинтетазы*, серин — из 3-фосфоглицерата — промежуточного продукта гликолиза, глицин — из серина под действием *сериноксиметилтрансферазы*. Пролин образуется из глутаминовой кислоты.

Частично заменимые аминокислоты аргинин и гистидин синтезируются в организме в недостаточных количествах. Гистидин образуется из АТФ и рибозы, а аргинин синтезируется в реакциях орнитинового цикла. Условно заменимые аминокислоты тирозин и цистеин синтезируются с использованием незаменимых аминокислот: тирозин получается из фенилаланина под действием *фенилаланингидроксилазы*; цистеин — из метионина.

Неспособность животных, в том числе и человека, синтезировать незаменимые аминокислоты объясняется тем, что в их организмах отсутствуют кетокислоты, аминирование которых привело бы к образованию соответствующих аминокислот. Нужно отметить, что большинство бактерий и высших растений активно синтезирует эти аминокислоты и пути их биосинтеза у различных видов идентичны или близки. В путях биосинтеза незаменимых и заменимых аминокислот также есть существенные отличия: биосинтез незаменимых аминокислот включает в себя

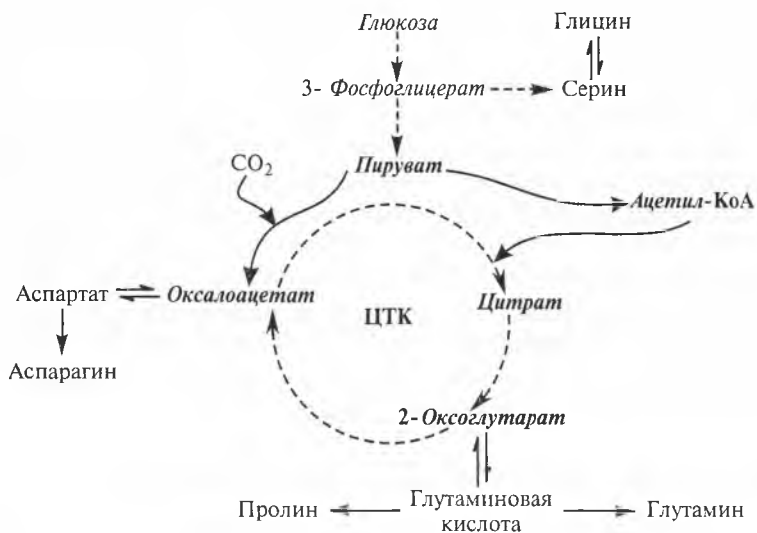


Рис. 12.9. Пути биосинтеза заменимых аминокислот. ЦТК — цикл трикарбоновых кислот

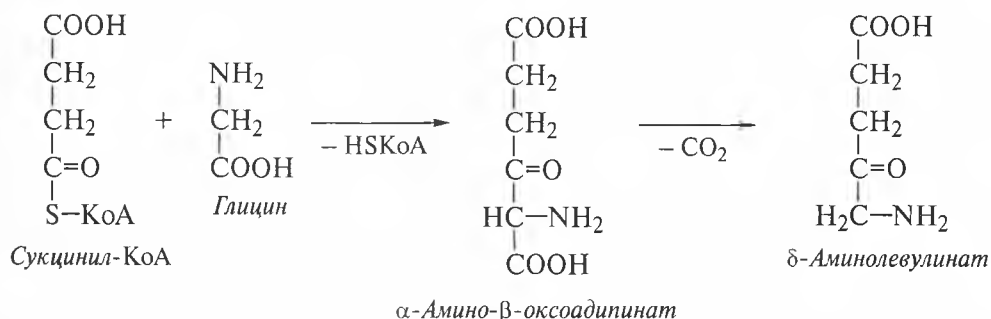
довольно большое число стадий — от 5 до 15, а заменимых — меньше 5. Кроме того, интересно отметить, что промежуточные продукты биосинтеза незаменимых аминокислот являются одновременно и предшественниками синтеза многих других биологически активных веществ.

## 12.10. ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ПРОСТЕТИЧЕСКИХ ГРУПП СЛОЖНЫХ БЕЛКОВ НА ПРИМЕРЕ ГЕМОГЛОБИНА

Как отмечалось в главе 1, сложные белки состоят из белков и простетических групп, имеющих различную химическую природу. Метаболические пути простетических групп глико-, липо- и нуклеопротеинов те же, что и для углеводов, липидов и нуклеиновых кислот (см. главы 11—14). В отличие от перечисленных соединений метаболические пути для простетических групп хромопротеинов, особенно гемопротеинов, имеют характерные особенности. Рассмотрим анаболизм и катаболизм простетических групп хромопротеинов на примере гема, обуславливающего биологическую активность многих представителей порфиринасодержащих белков (см. главу 5).

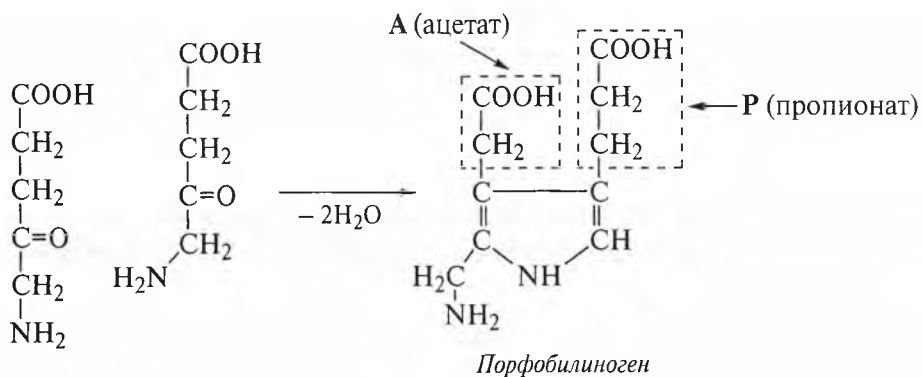
**Биосинтез гема.** Биосинтез гема осуществляется в эритроцитах, костном мозге, печени, почках, слизистой оболочке кишечника.

Первая стадия биосинтеза макроциклической системы порфирина заключается в конденсации глицина и сукцинил-КоА через промежуточный продукт  $\alpha$ -амино- $\beta$ -оксоадипинат (анион  $\alpha$ -амино- $\beta$ -оксоадипиновой кислоты) с образованием  $\delta$ -аминолевулината (аниона  $\delta$ -аминолевулиновой кислоты):



Данные превращения, осуществляемые в митохондриях, являются ключевыми в биосинтезе порфиринов и катализируются  $\delta$ -аминолевулинатсинтетазой, коферментом которой выступает пиридоксальфосфат.

На второй стадии, протекающей в цитоплазме клеток, из двух молекул  $\delta$ -аминолевулината реакцией конденсации синтезируется *порфобилиноген* — прямой предшественник порфиринов:



Следующие стадии ведут к синтезу тетрапиррольной системы порфирина (рис. 12.10). Для этого четыре молекулы порфобилиногена конденсируются с образованием линейного тетрапиррола — тетрапирролилметана (билана). Это соединение остается связанным с ферментом. Затем протекает ряд последовательных реакций, в результате которых из линейного тетрапирролилметана образуется циклический уropорфириноген III с асимметричным расположением боковых заместителей (циклизация происходит за счет потери аминогруппы в виде  $\text{NH}_4^+$ ). Данные реакции катализируются специфической *синтетазой* (необходимой для циклизации линейного тетрапиррола до уropорфириногена I с симметричным расположением заместителей) и *косинтетазой* (изомеризирующей одно из пиррольных колец с образованием асимметричного уropорфириногена III). Из уropорфириногена III декарбоксилированием боковых ацетатных заместителей образуется копропорфириноген III. Из последнего превращением метиленовых групп, связывающих пиррольные кольца в макрокольце порфирина, в метиновые и модификацией пропионатных заместителей в винильные группы синтезируется протопорфирин IX. Данный процесс, как и первая стадия биосинтеза, протекает в митохондриях. В результате реакции комплексообразования с участием *феррохелатазы* образуется гем, или протопорфирин железа (II). Ионы железа (II) транспортируются в плазме крови с помощью белка трансферрина.

Регуляция биосинтеза гема осуществляется по принципу отрицательной обратной связи: ферменты синтеза —  $\delta$ -аминолевулинатсинтетаза,  $\delta$ -аминолевулинатдегидратаза и феррохелатаза ингибируются продуктом синтеза — гемом. Важную роль в этих процессах играют ионы  $\text{Fe}^{2+}$ .

Обратим внимание на то, что все четыре атома азота, четыре метиновых мостика и четыре пиррольных атома углерода происходят из углеродного скелета глицина. Все остальные атомы углерода предоставляет сукцинил-КоА. Поскольку сукцинил-КоА является метаболитом цикла Кребса, то в конечном счете источником атомов углерода являются углеводы, липиды или любая аминокислота, способная перейти в метаболит цикла Кребса.

После того как гем синтезирован, осуществляются высокоспецифичные процессы связывания его с полипептидными цепями белков с образованием соответствующих хромопротеинов. Если белка недостаточно для того, чтобы связать образовавшийся гем, то происходит его окисле-

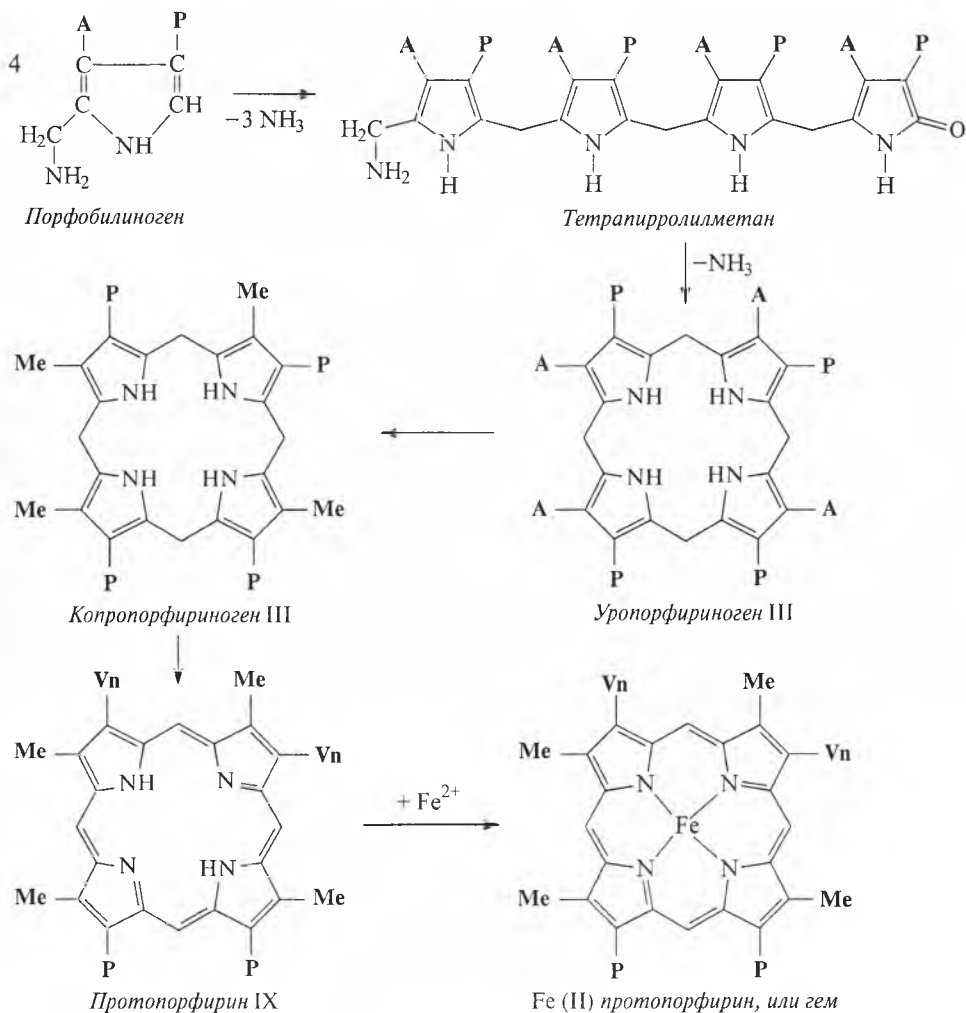


Рис. 12.10. Биосинтез гема из порфобилиногена (А — ацетил; Ме — метил; Р — пропионил; Vn — винил)

ние в гемин, который так же, как и гем, ингибирует ферменты рассмотренного выше биосинтеза.

**Катаболизм гема.** Эритроциты в среднем живут около 120 сут. Из разрушившихся эритроцитов в сутки освобождается в кровь примерно 8—9 г гемоглобина. Разрушение эритроцитов и катаболизм гемоглобина происходят главным образом в печени, селезенке и костном мозге.

В начале распада гемоглобина происходит отделение гема от глобина; затем глобин подвергается гидролизу до составляющих его аминокислот. Необходимо отметить, что высвободившийся из гемоглобина гем не используется повторно организмом: он полностью распадается с образованием железа и желчных пигментов, при этом железо реутилизируется, а желчные пигменты выводятся из организма. Строение и биологические функции желчных пигментов рассматриваются в главе 5.



Первой стадией распада гема является окислительное расщепление  $\alpha$ -метинового мостика порфирина с образованием биливердина (пигмент зеленого цвета) под действием *гемоксигеназы*. Для этой реакции необходим молекулярный кислород и ( $\text{НАДФН} + \text{H}^+$ ); при этом атом углерода метиновой группы гема окисляется, образуя оксид углерода. Затем  $\gamma$ -метиновый мостик биливердина восстанавливается при участии *биливердинредуктазы* и НАДФН с образованием красно-коричневого билирубина (рис. 12.11).

Превращение «гем  $\rightarrow$  билирубин» обуславливает изменение цвета сияющих на теле со временем с красного на желтый.

Билирубин в комплексе с сывороточным альбумином переносится в печень, где происходит его конъюгация с глюкуроновой кислотой. В отличие от самого билирубина его глюкуронид легко растворим в воде и быстро выводится с желчью в кишечник. Билирубин токсичен, особенно для тканей мозга, в то время как глюкурониды билирубина не токсичны. Таким образом, в результате конъюгации билирубина происходит его детоксикация и облегчается выведение из организма (см. также главу 5).

В кишечнике происходит гидролиз билирубинглюкоронидов с образованием свободного билирубина, который, восстанавливаясь, формирует бесцветные уробилиногены и стеркобилиногены (рис. 12.12), легко окисляющиеся кислородом воздуха с превращением в уробилины и стеркобилины, основная часть которых выводится с калом и мочой.

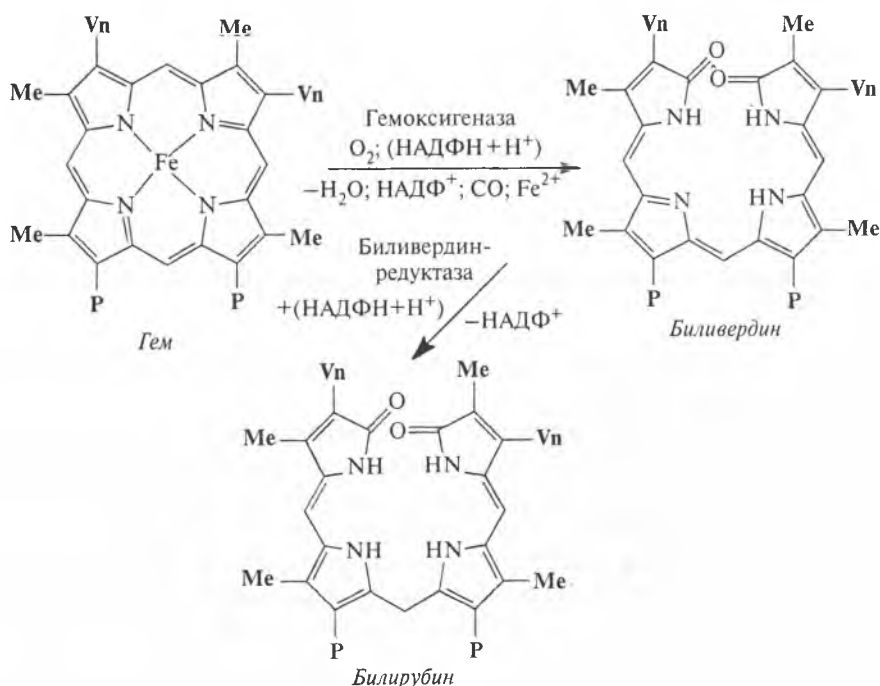


Рис. 12.11. Схема катаболизма гема с образованием желчных пигментов (Me, Vn, P — см. рис. 12.10)

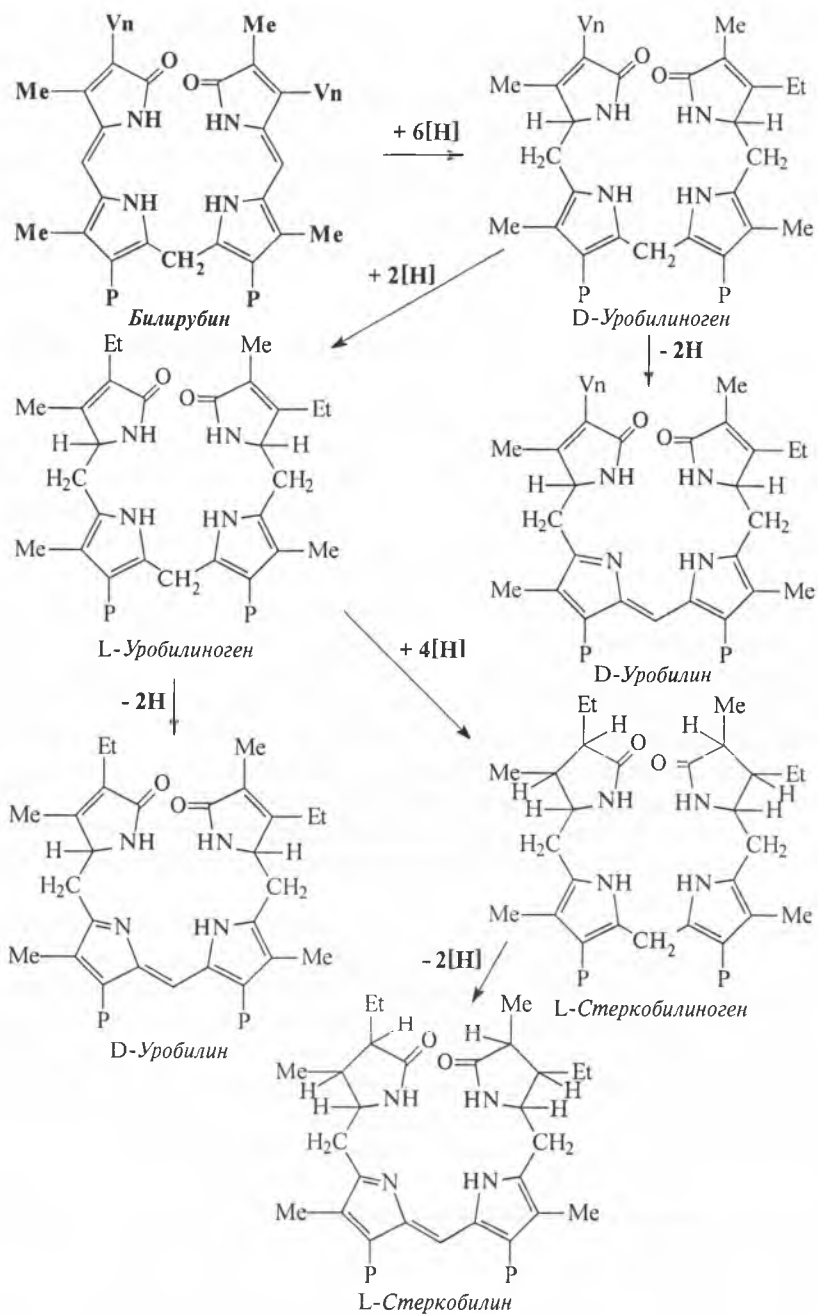


Рис. 12.12. Продукты катаболизма билирубина (Et — этил; Me, Vn, P — см. рис. 12.10)

Патологии катаболизма гемоглобина приводят в основном к заболеванию желтухой, симптомами которой является увеличение концентрации билирубина в крови, в результате чего на фоне сильной интоксикации организма кожа, слизистые оболочки, склеры глаз окрашиваются в

желтый цвет. Причинами желтухи могут быть увеличение скорости распада эритроцитов (гемолитическая желтуха), закупоривание желчных протоков (обтурационная желтуха), нарушение функций печени (печечно-клеточная желтуха) и вирусный гепатит. Признаки желтухи могут наблюдаться у новорожденных, что вызвано запаздыванием включения генов, кодирующих фермент глюкуронилтрансферазу, который катализирует конъюгацию билирубина с глюкуроновой кислотой. Генетические дефекты глюкуронилтрансферазы вызывают наследственные желтухи.

## 12.11. НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ

Нарушения переваривания и всасывания белков могут быть вызваны следующими причинами: 1) дефицит пепсина, который возникает при частичной резекции желудка за счет уменьшения секреции пепсиногена клетками слизистой (их количество сокращено); 2) дефицит пепсина вследствие низкой скорости превращения пепсиногена в пепсин при пониженной кислотности (низкое содержание соляной кислоты); в результате этого белки не полностью гидролизуются и вся нагрузка по их дальнейшему перевариванию ложится на тонкий отдел кишечника; 3) дефицит трипсина, энтеропептидазы, карбоксипептидазы, который возникает как результат смещения рН в сторону более кислой среды и ряда патологий; в результате негидролизованные белки и пептиды не могут всосаться в стенки кишечника и поступают в тонкий отдел, где подвергаются массовому гниению, при этом происходит аутоинтоксикация организма на фоне низкого содержания в крови аминокислот; 4) нарушение работы цикла всасывания аминокислот из-за дефицита любого фермента, катализирующего эти реакции.

Уровень свободных аминокислот в биологических жидкостях организма — важная характеристика, позволяющая определять наличие нарушений азотистого обмена в организме. Как следует из данных, представленных в табл. 12.8, аминокислотный состав мочи резко отличается от аминокислотного состава плазмы крови. Поэтому если содержание аминокислот в плазме крови у среднестатистического человека относительно постоянно, а содержание в моче имеет отклонения от нормы, то это первый признак нарушений белкового обмена в организме.

Таблица 12.8. Содержание свободных протеиногенных аминокислот в некоторых биожидкостях организма в норме

Аминокислоты	Содержание аминокислот		
	в плазме крови, мг/л	в моче, мг/сут	в спинномозговой жидкости, мг/л
Аланин	24—76	5—71	2,9
Аргинин	12—30	< 21	1,7
Аспарагин	6—44	34—92	3,0
Аспарагиновая кислота	0,1—3,0	2—29	0,4

Аминокислоты	Содержание аминокислот		
	в плазме крови, мг/л	в моче, мг/сут	в спинномозговой жидкости, мг/л
Валин	19—42	< 30	1,7
Гистидин	8—38	20—320	2,0
Глицин	8—54	53—737	1,1
Глутамин	46—97	40—103	32,5
Глутаминовая кислота	5,0—44	< 61	1,1
Изолейцин	7—42	4—30	0,6
Лейцин	10—52	2—25	1,3
Лизин	14—58	< 48	2,5
Метионин	2—10	3—14	0,4
Пролин	15—57	7—15	0,1
Серин	3—20	21—75	5,3
Тирозин	8—25	7—50	1,2
Треонин	9—36	—	5,7
Триптофан	4—30	—	0,3
Фенилаланин	7—40	3—41	1,5
Цистеин (цистин)	8—50	0—108	Следы

Молекулярные нарушения обмена аминокислот обычно имеют наследственный характер, при этом аминокислоты и их метаболиты оказывают токсический эффект на организм. В первую очередь это выражается в виде расстройства деятельности центральной нервной системы. Генетическим дефектом ферментов обмена аминокислот обусловлены *гипер-аминоацидемии* — повышенное содержание в крови отдельных аминокислот и *аминоацидурии* — появление аминокислот в моче. Типичный пример: фенилкетонурия — нарушение обмена фенилаланина как результат дефекта фенилаланингидроксилазы. Фенилаланин при этом не вовлекается в окислительно-восстановительный распад и накапливается в большом количестве в крови. Подобным образом проявляется и нарушение обмена триптофана, метионина, цистеина, тирозина и ряда других аминокислот. Вторичные *аминоацидурии* связаны с нарушением канальцевого транспорта аминокислот в почках. Нарушения обмена гемоглобина относятся либо к белковому компоненту, либо к гему. *Гемоглобинопатии* — аномалии, связанные с нарушением механизма синтеза белкового компонента гемоглобина при нормальной структуре гема. *Порфирии* — нарушения отдельных этапов синтеза гема ведут к накоплению в организме отдельных порфиринов или их предшественников. Они легко откладываются в коже, что приводит к фотосенсибилизации. Нарушения, связан-

ные с распадом гемоглобина, проявляются в виде *билирубинемии* — повышения содержания в крови билирубина. Клинически это может проявляться в виде желтушности кожи и слизистых оболочек (см. выше).

## Контрольные вопросы и задания

1. Объясните важнейшую биологическую функцию обмена аминокислот и белков; рассмотрите основные метаболические пути аминокислот.
2. Какие особенности биосинтеза и распада белков обуславливают азотистый баланс в организме? При каких условиях могут наблюдаться положительный, отрицательный азотистый баланс и азотистое равновесие?
3. В чем заключается сущность фиксации атмосферного азота? Какие ферменты принимают участие в данном процессе?
4. Опишите последовательность реакций трансляции белков. Что такое генетический код?
5. Чем определяется пищевая ценность белков? На основе данных, приведенных в табл. 12.3 и 12.4, дайте рекомендации относительно рационального белкового питания.
6. Какие ферменты гидролизуют пептидные связи в молекулах белков? В чем состоит механизм активации проферментов (на примере трипсина)?
7. В чем заключаются особенности действия эндо- и экзопептидаз? Приведите примеры.
8. Назовите свойства соляной кислоты, обуславливающие ее высокую биологическую значимость для переваривания белков.
9. Какие типы реакций составляют катаболизм белков?
10. В чем состоят особенности дезаминирования, трансаминарования и декарбоксилирования аминокислот? Какие ферменты принимают участие в этих процессах?
11. Что такое биогенные амины? Какую роль они выполняют в живой природе?
12. Приведите формулы соединений, образующихся в результате разложения белков и аминокислот под действием бактерий.
13. Рассмотрите обмен аммиака в живых организмах. Поясните отдельные стадии орнитинового цикла.
14. Какими путями синтезируются заменимые аминокислоты в организме человека?
15. Опишите особенности метаболизма простетических групп сложных белков на примере гемоглобина крови.
16. Перечислите причины, приводящие к нарушению обмена белков на молекулярном уровне.

---

## Глава 13

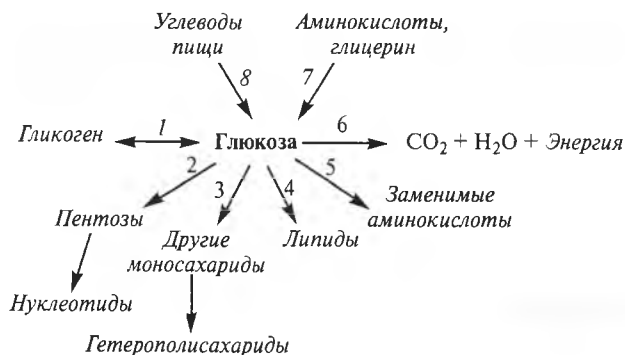
### Обмен углеводов

#### 13.1. ПРЕВРАЩЕНИЯ УГЛЕВОДОВ В ПРОЦЕССЕ ПИЩЕВАРЕНИЯ

В главе 6 были рассмотрены особенности химического строения и физико-химических свойств углеводов и показано, что углеводы в живых организмах выполняют ряд важных и уникальных биологических функций. Основная цель данной главы — раскрыть молекулярные механизмы, лежащие в основе метаболизма углеводов.

В пищеварительном тракте углеводы пищи подвергаются гидролитическому расщеплению на моносахариды под действием специфических ферментов — *гликозидаз*, катализирующих гидролиз гликозидных связей в полисахаридах. Гидролиз основных полисахаридов пищи — крахмала и гликогена — начинается в ротовой полости под действием гликозидаз слюны — *амилаз*. В настоящее время обнаружено три типа амилаз, различающиеся как по оптимуму pH среды, так и по конечным продуктам гидролиза:  $\alpha$ -*амилаза* катализирует гидролиз внутренних  $\alpha$ -1,4-гликозидных связей и действует в нейтральной или слабощелочной среде;  $\beta$ -*амилаза* катализирует отщепление от крахмала дисахаридов;  $\gamma$ -*амилаза* участвует в реакциях отщепления одного глюкозного остатка. Поскольку время нахождения крахмала в ротовой полости и пищеводе недостаточно для полного переваривания, то его расщепление здесь происходит лишь частично: в слабощелочных условиях под действием  $\alpha$ -амилазы слюны крахмал гидролизуются преимущественно до декстринов и лишь отчасти до мальтозы. Эти продукты гидролиза попадают в желудок, в соке которого отсутствуют ферменты, гидролизующие углеводы, а амилазы слюны прекращают свое действие из-за кислой реакции желудочного сока ( $\text{pH} = 1,5\div 2,5$ ).

Наиболее интенсивно процесс гидролиза углеводов протекает в двенадцатиперстной и тонкой кишке, где при  $\text{pH} \approx 7$  активно действуют *гликозидазы* разных типов. Здесь крахмал подвергается полному ферментативному гидролизу до мальтозы под действием *кишечной амилазы*, которая поступает в кишечник в составе сока поджелудочной железы. Далее образовавшиеся мальтоза, изомальтоза, а также поступающие с пищей лактоза и сахароза гидролизуются в кишечнике до соответствующих моносахаридов (глюкозы, галактозы и фруктозы) с помощью специфических гликозидаз — *мальтазы*, *изомальтазы*, *лактазы* и *сахаразы* соответственно.



**Рис. 13.1. Схема метаболических путей глюкозы:**

1 — депонирование и мобилизация гликогена; 2—5 — анаболические превращения глюкозы; 6 — катаболизм глюкозы; 7 — биосинтез глюкозы; 8 — гидролиз углеводов пищи с образованием глюкозы

Целлюлоза в организме человека гидролизруется до целлобиозы лишь частично (не более чем на 40 %) под действием *целлюлазы*, выделяемой микрофлорой кишечника.

Образовавшаяся в результате полного гидролиза смесь моносахаридов всасывается в клетки посредством активного транспорта через клеточные мембраны при участии ионов  $\text{Na}^+$ . Ионы  $\text{Na}^+$  необходимы также для активации АТФазы, благодаря чему ускоряется гидролиз АТФ и освобождается необходимая для процесса всасывания энергия.

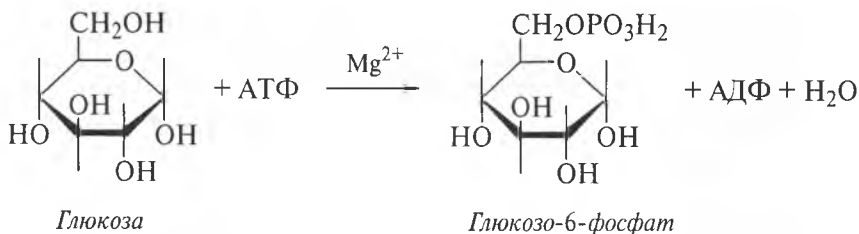
Активный транспорт обеспечивает перенос моносахаридов против градиента концентраций и осуществляется при низких концентрациях глюкозы или галактозы в кишечнике. Моносахариды способны также проникать через клеточные мембраны путем облегченной диффузии с участием специальных транспортных систем. Процессы транспорта биомолекул через клеточные мембраны рассмотрены в главе 15.

Транспорт через клеточные мембраны основного продукта гидролиза углеводов пищи — глюкозы — регулируется инсулином (гормоном, вырабатываемым поджелудочной железой), строение и биологические функции которого рассмотрены в главе 9.

Среди моносахаридов, образующихся в результате гидролиза пищевых углеводов, преобладает глюкоза, играющая промежуточную роль между энергетическими и пластическими функциями углеводов (рис. 13.1).

## 13.2. АКТИВАЦИЯ МОНОСАХАРИДОВ

Глюкоза и другие моносахариды после всасывания в клетки в результате взаимодействия с АТФ в присутствии ионов  $\text{Mg}^{2+}$  подвергаются фосфорилированию, т. е. образуют эфиры фосфорной кислоты:



В результате этой реакции синтезируются активированные формы глюкозы и других моносахаридов, которые значительно легче вступают в дальнейшие биохимические превращения. Кроме того, биохимический смысл данной реакции заключается в локализации глюкозы в клетке, поскольку в отличие от глюкозы для глюкозо-6-фосфата клеточные мембраны непроницаемы. Таким образом, глюкоза в форме глюкозо-6-фосфата остается локализованной во внутриклеточном пространстве, где и подвергается дальнейшим метаболическим превращениям.

Фосфорилирование моносахаридов катализируют специальные ферменты; в частности, фосфорилирование глюкозы осуществляется с участием *гексокиназы*. Активный центр гексокиназы обладает высоким сродством к молекулам глюкозы ( $K_M < 0,1$  ммоль/л), поэтому максимальная скорость фосфорилирования достигается уже при низких концентрациях глюкозы. Строгая специфичность связывания молекулы глюкозы в активном центре гексокиназы обусловлена ее доменной структурой. В свободной от субстрата гексокиназе два домена разделены глубокой щелью, куда попадает молекула глюкозы (рис. 13.2). При попадании глюкозы в междоменную щель домены поворачиваются относительно друг друга и молекула глюкозы оказывается «закрытой».

Фосфорилирование глюкозы строго регулируется по механизму отрицательной обратной связи, так как продукт реакции (глюкозо-6-фосфат) ингибирует гексокиназу. В клетках печени также присутствует фермент, катализирующий фосфорилирование глюкозы, — это *глюкокиназа*. Глюкокиназа отличается меньшим сродством к глюкозе ( $K_M \sim 10$  ммоль/л) и не ингибируется глюкозо-6-фосфатом. Благодаря этим свойствам глюкокиназа катализирует фосфорилирование глюкозы при высоких концентрациях данного моносахарида. Поэтому в процессе приема пищи и активного пищеварения значительная часть глюкозы в форме глюкозо-6-фосфата задерживается в печени, чем предотвращается чрезмерное увеличение концентрации глюкозы в крови.

Глюкозо-6-фосфат может подвергаться изомеризации под действием *фосфоглюкомутазы* в глюкозо-1-фосфат:

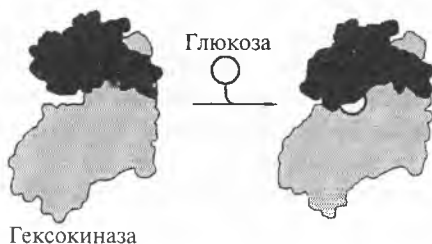
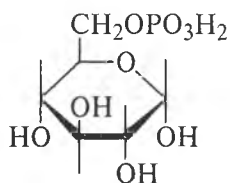


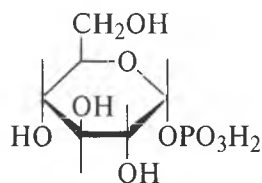
Рис. 13.2. Модель взаимодействия глюкозы с гексокиназой





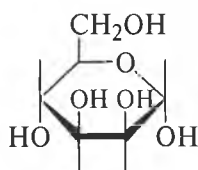
Глюкозо-6-фосфат

Фосфоглюкомутаза



Глюкозо-1-фосфат

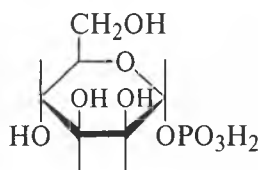
Другие моносахариды — галактоза и фруктоза фосфорилируются под действием специфических ферментов — *галактокиназы* и *фруктокиназы* соответственно:



Галактоза

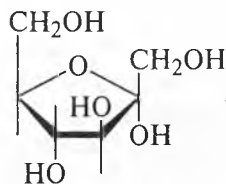
+ АТФ

Галактокиназа



Галактозо-1-фосфат

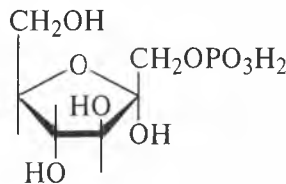
+ АДФ + H<sub>2</sub>O



Фруктоза

+ АТФ

Фруктокиназа



Фруктозо-6-фосфат

+ АДФ + H<sub>2</sub>O

Реакции фосфорилирования моносахаридов служат первым этапом их метаболических превращений.

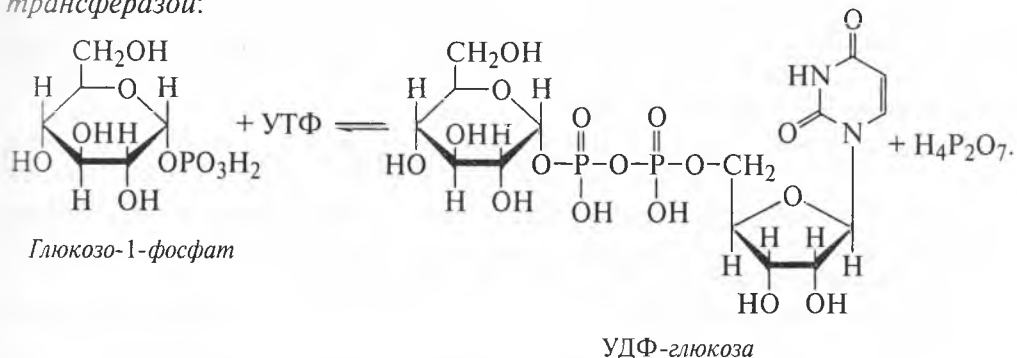
### 13.3. ОБМЕН ГЛИКОГЕНА

Значительная часть глюкозы, образующейся в результате гидролитического расщепления углеводов пищи в пищеварительном тракте, превращается в гликоген — резервный полисахарид, используемый организмом в качестве источника глюкозы в интервалах между приемами пищи (химическое строение и свойства гликогена рассматривались в главе 6). Необходимо отметить, что биосинтез гликогена из глюкозы имеет важное физиологическое значение, поскольку накопление легкорастворимой глюкозы в клетках могло бы привести к разрушению клеточной мембраны вследствие осмотического шока.

Биосинтез гликогена иначе называется **гликогеногенезом** (от *гликоген* и греч. *genesis* — происхождение, возникновение), а процесс его распада до глюкозы — **гликогенолиз** (от *гликоген* и греч. *lysis* — разложение, распад). Рассмотрим основные стадии данных процессов.

**Гликогеногенез.** Биосинтез гликогена из глюкозы представляет собой процесс наращивания глюкозных остатков на уже существующем фрагменте гликогена, выступающем в роли затравки. Источником глюкозных

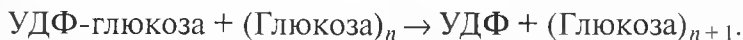
остатков служит активная форма глюкозы — уридиндифосфатглюкоза (УДФ-глюкоза), которая образуется из глюкозо-1-фосфата и уридинтрифосфата (УТФ) по реакции, катализируемой *глюкозо-1-фосфат-уридилтрансферазой*:



Данная реакция обратима, но при физиологических условиях равновесие смещено в сторону образования УДФ-глюкозы, поскольку образующийся дифосфат сразу же гидролизуется *дифосфатазой* до двух молекул ортофосфорной кислоты:



Следующая стадия биосинтеза гликогена представляет собой перенос глюкозного остатка с УДФ-глюкозы на молекулу затравочного гликогена под действием *гликогенсинтетазы*:



В ходе этой реакции образуются  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи в линейных участках молекулы гликогена. В физиологических условиях равновесие данной реакции преимущественно смещено в сторону синтеза гликогена.

Разветвления в цепях гликогена возникают в результате действия *трансгликозилазы*, катализирующей образование  $\alpha$ -1,6-гликозидных связей в точках ветвления. Этот фермент катализирует перенос фрагмента из нескольких глюкозных остатков с конца линейного участка гликогена ближе к его середине и присоединение фрагмента  $\alpha$ -1,6-гликозидной связью. Схематично механизм разветвления гликогена в процессе синтеза показан на рис. 13.3 (черточками на рисунке обозначены  $\alpha$ -1,6-гликозидные связи).

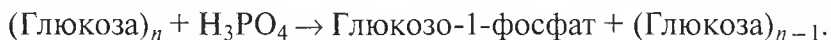
Таким образом, в результате гликогеногенеза синтезируются огромные молекулы гликогена с молекулярной массой от  $10^6$  до  $10^8$ . Непосредственно в клетке гликоген находится в виде блестящих кристаллических гранул, образованных одной или несколькими молекулами.



Рис. 13.3. Схематическое изображение разветвления гликогена в процессе биосинтеза. Черточками обозначены  $\alpha$ -1,6-гликозидные связи

Гликоген синтезируется практически во всех клетках организма, но наиболее интенсивно гликогеногенез протекает в печени и мышечной ткани.

**Гликогенолиз.** Распад гликогена происходит в результате процессов фосфоролиза и гидролиза. Процесс фосфоролиза происходит под действием фермента *гликогенфосфорилазы*, катализирующей фосфоролиз  $\alpha$ -1,4-гликозидных связей в гликогене:



Глюкозный остаток отщепляется в форме глюкозо-1-фосфата. В точках разветвления молекулы гликогена  $\alpha$ -1,6-гликозидная связь подвергается гидролизу под действием *амило-1,6-гликозидазы*.

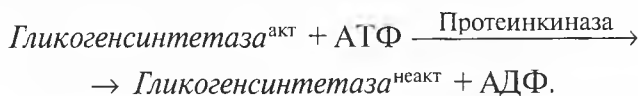
Глюкозо-1-фосфат, образующийся в результате гликогенолиза под действием *фосфоглюкомутазы*, изомеризуется в глюкозо-6-фосфат. В печени глюкозо-6-фосфат гидролизуется с участием *глюкозо-6-фосфатазы* до свободной глюкозы:



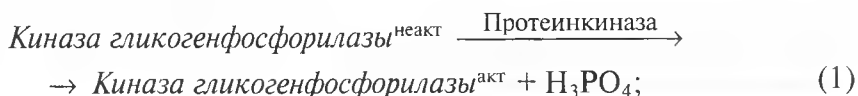
Образующаяся глюкоза поступает в кровь и в дальнейшем используется в других органах и тканях. В мышцах из-за отсутствия глюкозо-6-фосфатазы глюкозо-6-фосфат не гидролизуется, а используется в качестве источника энергии непосредственно в мышечных клетках, окисляясь аэробным или анаэробным путем.

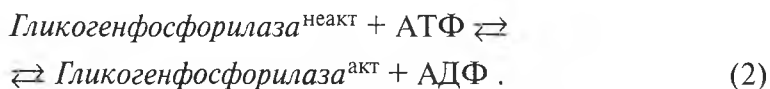
**Регуляция обмена гликогена.** Регуляция процессов биосинтеза и распада гликогена имеет очень важное физиологическое значение, поскольку одновременное активное протекание этих процессов привело бы к нерациональному использованию АТФ. Регуляция обмена гликогена осуществляется следующим образом: при включении биосинтеза гликогена автоматически выключается процесс его распада, и наоборот. Такую регуляцию осуществляют *гликогенсинтетаза* и *гликогенфосфорилаза*, существующие как в активной, так и в неактивной формах, взаимопревращающихся друг в друга.

Активная форма гликогенсинтетазы (*гликогенсинтетаза<sup>акт</sup>*) под действием цАМФ-зависимой протеинкиназы фосфорилируется с образованием неактивной формы (*гликогенсинтетаза<sup>неакт</sup>*):



Затем цАМФ-зависимая протеинкиназа фосфорилирует неактивную форму киназы *гликогенфосфорилазы<sup>неакт</sup>* (1), которая, в свою очередь, участвует в реакции фосфорилирования неактивной формы *гликогенфосфорилазы<sup>неакт</sup>* (2):





Дефосфорилирование ферментов происходит при участии *фосфопротеинфосфатазы*, катализирующей гидролиз фосфоангидридных связей.

Рассмотренный каскад реакций фосфорилирования запускается гормонами (адреналин, глюкагон), активирующими *аденилатциклазу* — первый фермент каскада. Аденилатциклаза, в свою очередь, запускает синтез цАМФ, что в дальнейшем приводит к фосфорилированию гликогенсинтетазы и т. д. В итоге аденилатциклаза оказывается именно тем ферментом, который одновременно усиливает гликогенолиз и подавляет гликогеногенез.

### 13.4. КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ

**Гликолиз.** Глюкоза — основной моносахарид, образующийся в результате гидролиза полисахаридов пищи, — подвергается многостадийному процессу *гликолиза* (от греч. *glykys* — сладкий и *lysis* — разложение, распад). Гликолиз — это специфический путь катаболизма глюкозы, представляющий собой совокупность ферментативных реакций, протекающих в цитозоле клетки под действием *гликолитического ансамбля ферментов*. Ферменты, составляющие гликолитический ансамбль, легко экстрагируются из живых клеток и способны катализировать реакции *in vitro*. С учетом химической природы промежуточных продуктов в гликолизе можно выделить три основных этапа:

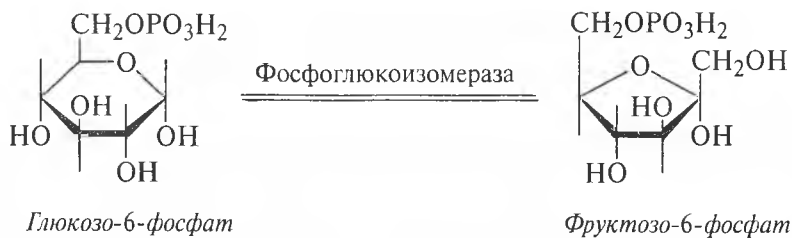
- 1) превращение гексоз;
- 2) превращение триоз;
- 3) превращение оксокарбоновых кислот.

Полная последовательность реакций гликолиза была выяснена благодаря работам большой группы ученых, среди которых следует отметить Л. А. Иванова, С. П. Костычева, А. Н. Лебедева, Г. Эмбдена, Я. О. Парнаса, О. Мейергофа. Установление особенностей гликолитического пути явилось важным достижением биохимической науки, впервые позволившим доказать, что биологические процессы имеют чисто химическую природу.

**Первый этап** гликолиза включает последовательное фосфорилирование глюкозы и превращение гексозы в триозу в результате четырех отдельных реакций (стадий).

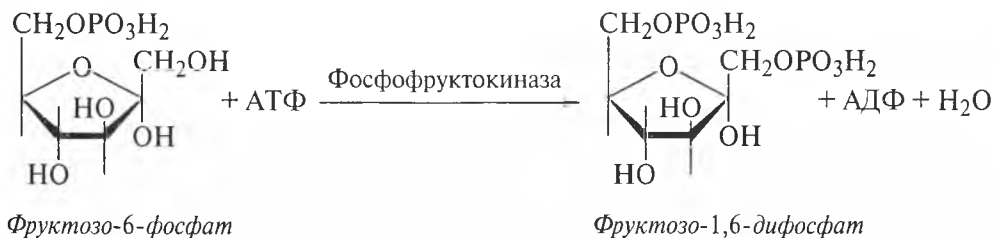
Стадия 1 служит пусковой реакцией гликолиза и представляет собой фосфорилирование глюкозы с переводом ее в активную форму — глюкозо-6-фосфат — под действием *гексо-* или *глюкокиназы* (см. выше). Необходимо отметить, что практически все киназы для проявления своей активности нуждаются в ионах  $\text{Mg}^{2+}$  или  $\text{Mn}^{2+}$ .

Стадия 2 — изомеризация глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат под действием *фосфоглюкоизомеразы*:



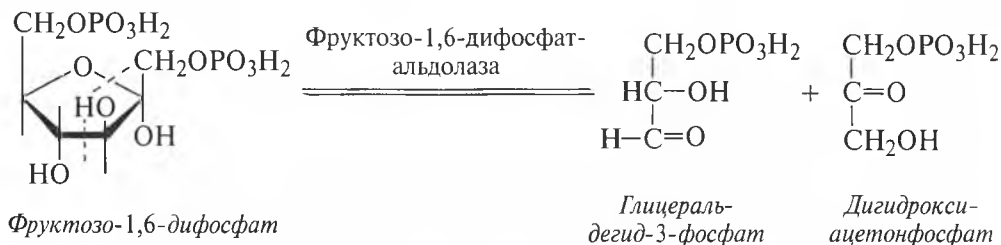
Данная реакция обратима, причем равновесие устанавливается при соотношении концентраций  $[\text{глюкозо-6-фосфат}]/[\text{фруктозо-6-фосфат}] = 7/3$ .

Стадия 3 — фосфорилирование фруктозо-6-фосфата с образованием фруктозо-1,6-дифосфата под действием *фосфофруктокиназы*:



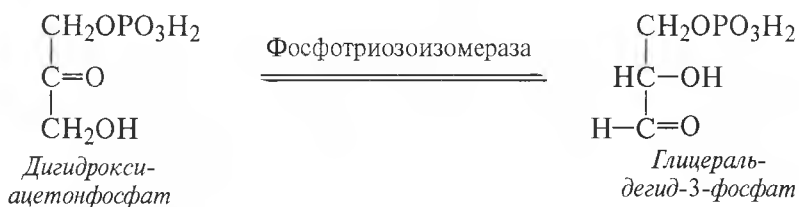
Эта реакция протекает со значительным понижением свободной энергии. Фосфофруктокиназа — «ключевой» фермент гликолиза: в физиологических условиях данная реакция практически полностью необратима и лимитирует скорость всего процесса. Необходимо отметить, что в начале данной реакции АТФ используется фосфофруктокиназой как субстрат, а затем — в качестве ингибитора, который связывается с аллостерическим центром фермента и прекращает синтез фруктозо-1,6-дифосфата.

Стадия 4 представляет собой альдольное расщепление фруктозо-1,6-дифосфата под действием *фруктозо-1,6-дифосфатальдолы* на две фосфотриозы: *дигидроксиацетонфосфат* и *глицеральдегид-3-фосфат*. Данная реакция протекает с незначительным изменением свободной энергии и обратима в физиологических условиях:



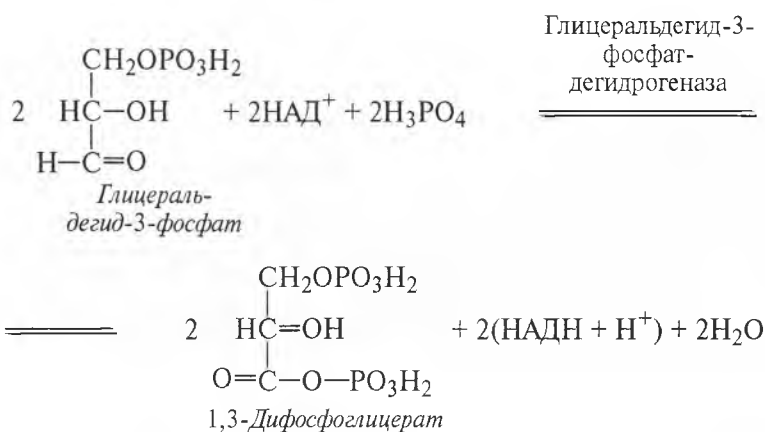
**Второй этап**, как и первый, включает четыре последовательные реакции, в результате которых из триоз образуется оксокарбоновая кислота.

Стадия 5 — это реакция изомеризации дигидроксиацетонфосфата в глицеральдегид-3-фосфат под действием фермента *фосфотриозоизомеразы*:



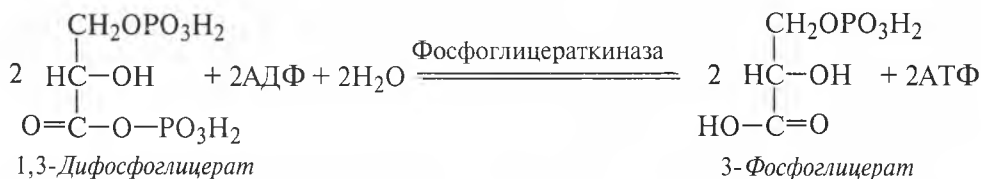
Данная реакция обратима, причем равновесие достигается, когда доля дигидроксиацетонфосфата составляет около 90 %. Смещение равновесия в сторону образования глицеральдегид-3-фосфата достигается путем постоянного понижения его концентрации за счет отвода из зоны реакции и активного использования на следующих стадиях гликолиза.

Стадия 6 — окисление глицеральдегид-3-фосфата до 1,3-дифосфоглицерата, сопряженное с фосфорилированием:



Данная реакция катализируется *глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназой*. Биохимическая значимость этой стадии заключается в образовании за счет окисления субстрата высокоэнергетического продукта. Данный процесс обратим, равновесие смещено влево.

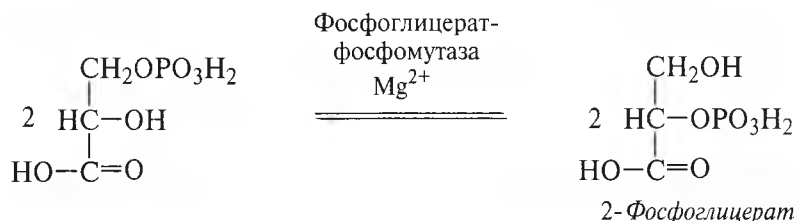
Стадия 7 — гидролиз 1,3-дифосфоглицерата с образованием 3-фосфоглицерата:



Реакция катализируется *фосфоглицераткиназой* и сопровождается значительным понижением свободной энергии. Равновесие сдвинуто впра-

во, что благоприятствует протеканию предыдущих реакций. При избыточной концентрации 3-фосфоглицерата реакция обратима.

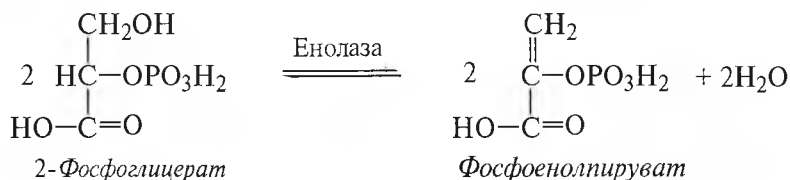
**Стадия 8** — изомеризация 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат:



Эта реакция обратима, протекает с небольшим понижением свободной энергии и катализируется *фосфоглицератфосфомутазой*.

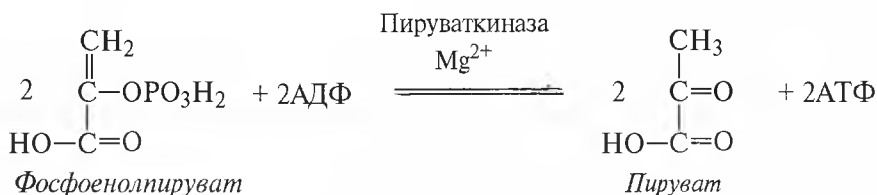
**Третий этап** гликолиза состоит из двух реакций, в результате которых из 2-фосфоглицерата образуется пируват.

**Стадия 9** — дегидратация 2-фосфоглицерата с образованием фосфоенолпирувата, катализируемая *енолазой*:



В результате этой реакции образуется высокоэнергетический фосфоенолпируват, свободная энергия в ходе реакции изменяется незначительно, и поэтому данный процесс обратим.

**Стадия 10** представляет собой кислотный гидролиз фосфоенолпирувата с образованием пирувата:



На этой стадии высокоэнергетическое соединение — фосфоенолпируват используется для синтеза АТФ. В физиологических условиях этот процесс необратим, так как сопровождается значительным понижением свободной энергии. Фермент, катализирующий данную реакцию, — *пируваткиназа* инактивируется продуктами реакции (АТФ и пируватом) по механизму отрицательной обратной связи.

Таким образом, в результате гликолиза из глюкозы образуется пируват, который затем подвергается дальнейшим превращениям, зависящим от условий, в которых они происходят. В аэробных условиях пируват вовлекается в общий путь катаболизма, а в анаэробных — превращается в лактат.

**Аэробное превращение пирувата.** В аэробных условиях образующийся в результате гликолиза пируват вовлекается в общий путь катаболизма — окислительное декарбоксилирование пирувата и цикл Кребса. В результате такого метаболического пути глюкоза полностью окисляется до диоксида углерода и воды. Процесс окисления глюкозы в аэробных условиях называют *аэробным гликолизом*. Физиологическое значение аэробного гликолиза заключается в использовании энергии, заключенной в химических связях молекул глюкозы, для синтеза АТФ. Из совокупности реакций, составляющих полный аэробный гликолиз (гликолиз, окислительное декарбоксилирование пирувата и цикл Кребса), синтез АТФ осуществляется на стадиях, указанных ниже:

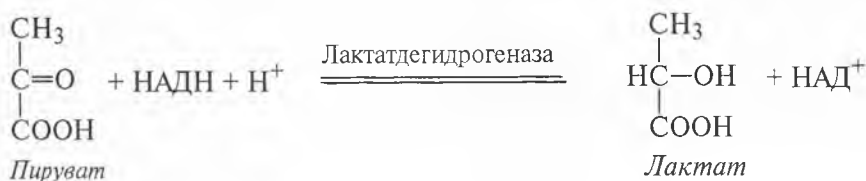
Стадии выработки АТФ в процессе гликолиза и общего пути катаболизма	Моль АТФ на 1 моль глюкозы
Реакции фосфорилирования — 7-я, 10-я стадии гликолиза и 5-я стадия цикла Кребса .....	6
Пять реакций дегидрирования с участием НАД <sup>+</sup> .....	30
Одна реакция дегидрирования с участием КоQ .....	4
Всего .....	40

Таким образом, в расчете на 1 моль глюкозы в аэробных условиях образуется 40 моль АТФ, из которых для составления полного энергетического баланса необходимо вычесть 2 моль АТФ, затрачиваемых на начальных реакциях гликолиза (1-я и 3-я стадии). В итоге чистый энергетический выход аэробного гликолиза составляет 38 моль АТФ на 1 моль глюкозы.

Энергия, выделяющаяся при аэробном гликолизе, составляет 2880 кДж/моль, а свободная энергия гидролиза АТФ в физиологических условиях — 50 кДж/моль. Нетрудно подсчитать максимально возможную эффективность использования глюкозы (КПД) в качестве энергетического материала живой клеткой: она составляет около 65 % всей энергии, выделяющейся при окислении глюкозы. В действительности эта величина может быть существенно ниже, что зависит от многих факторов.

Аэробный гликолиз может происходить во многих органах и тканях, но наибольшее значение он имеет для мозга. Мозг расходует около 100 г глюкозы в сутки, поэтому недостаток глюкозы, равно как и недостаточное поступление кислорода, проявляется прежде всего как симптомы неправильной работы ЦНС.

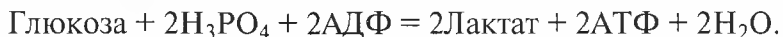
**Анаэробное превращение пирувата.** В анаэробных условиях в мышцах и тканях образовавшийся в результате гликолиза пируват под действием *лактатдегидрогеназы* восстанавливается в лактат (анион молочной кислоты):





Данная реакция обратима, однако из-за большего отрицательного значения изменения свободной энергии в физиологических условиях равновесие смещено в сторону образования лактата.

*Анаэробный гликолиз*, т. е. процесс катаболизма глюкозы в анаэробных условиях с образованием лактата, не нуждается в участии дыхательной цепи, и АТФ образуется в двух реакциях субстратного фосфорилирования. Суммарное уравнение гликолиза имеет следующий вид:



Энергия, выделяющаяся при анаэробном гликолизе, составляет примерно 195 кДж/моль, что существенно ниже энергетического выхода при аэробном гликолизе. Эффективность анаэробного гликолиза равна приблизительно 50 %. Ниже приведены значения скорости анаэробного гликолиза в различных тканях крысы:

Ткань	Скорость гликолиза, мкмоль лактата в час на мг сухой массы ткани
Сетчатка глаза .....	3,5
Почки:	
мозговой слой .....	1,2
корковый слой .....	0,3
Костный мозг .....	1,0
Плацента .....	0,7
Селезенка .....	0,35
Мозг .....	0,9
Сперматозоиды .....	0,35
Печень .....	0,15
Эритроциты .....	0,015

Роль анаэробного гликолиза возрастает в первые моменты интенсивной мышечной работы, затем он практически полностью сменяется аэробным процессом. Важно отметить, что при длительной мышечной работе в аэробном процессе в качестве энергетического ресурса в большей степени используется не глюкоза, а жирные кислоты (см. главу 14).

Таким образом, в анаэробных условиях, т. е. при кислородном голодании, в результате гликолиза в значительных количествах образуется «тупиковый» продукт — лактат, поскольку он не вступает ни в один биохимический процесс, кроме обратного превращения в пируват. Накопление молочной кислоты в клетке приводит к понижению рН и, как следствие, к уменьшению активности гликолитического ансамбля ферментов. в результате чего гликолиз останавливается.

**Взаимосвязь аэробного и анаэробного гликолиза.** Между аэробным и анаэробным гликолитическими путями существует тесная взаимосвязь, на которую указывают два явления: *эффект Пастера* и *эффект Кребтри*. названные в честь ученых, занимавшихся данными проблемами. Эффект Пастера заключается в подавлении анаэробного гликолиза в присутствии кислорода. Механизм эффекта Пастера до конца не выяснен, но его объясняют наличием конкуренции за неорганический фосфат и АДФ между процессами гликолиза и тканевого дыхания. Эффект Кребтри (обратный

пастеровскому) состоит в торможении аэробного дыхания избыточным количеством глюкозы, которая является «ловушкой» для фосфата. В результате повышается содержание АДФ, что позволяет гликолитическому ансамблю ферментов эффективно конкурировать за АДФ с дыхательными ферментами.

Одним из главных условий нормальной работы организма является поддержание в крови постоянной концентрации глюкозы (3,3 — 4,0 ммоль/л). Данный процесс находится под контролем нервно-гормональных механизмов. Единственным гормоном, снижающим концентрацию глюкозы в крови, является инсулин; обратный эффект вызывают адреналин, глюкагон, глюкокортикоиды (см. главу 9).

**Брожение.** Брожение было открыто Л. Пастером, который описал его как «*la vie sans l'air*» — «жизнь без воздуха». Брожение — это многостадийный ферментативный окислительно-восстановительный процесс превращения органических веществ, осуществляемый, как правило, в анаэробных условиях и направленный на обеспечение организмов энергией, необходимой для жизнедеятельности.

По сравнению с процессами, протекающими в присутствии кислорода, брожение — эволюционно более ранняя, но энергетически менее выгодная форма извлечения энергии из питательных веществ. Процессы брожения сформировались у простейших организмов в те времена, когда атмосфера Земли не содержала кислорода. Постепенно доля брожения в энергетическом обмене уменьшалась за счет развития более эффективного аэробного пути образования энергии. К брожению способны животные, растения и многие микроорганизмы (дрожжевые грибы, бактерии). Брожение является также жизненно важным процессом и для человеческого организма. Когда поступление кислорода оказывается недостаточным, например при крайнем физическом напряжении, мышечные клетки образуют лактат путем брожения. Кроме того, в организме человека есть ткани, которые слабо снабжаются кровью и кислородом (хрусталик и роговица глаза). В клетках этих тканей окислительный метаболизм выражен слабо, а энергия в основном образуется путем сбраживания глюкозы в лактат.

Брожению могут подвергаться спирты, карбоновые и аминокислоты, пурины, пиримидины, но чаще всего моносахариды (главным образом глюкоза). В зависимости от природы сбраживаемого субстрата и путей его метаболизма, которые могут быть различны у разных организмов, в результате брожения образуются спирты (этанол и др.), органические кислоты (молочная, масляная и др.), ацетон и некоторые другие органические соединения,  $\text{CO}_2$ , а в ряде случаев — молекулярный водород. В соответствии с основными образуемыми продуктами различают спиртовое, молочное, маслянокислое, лимоннокислое и другие виды брожения. Отсюда получили названия некоторые группы организмов (например, молочнокислые, маслянокислые бактерии).

Хотя различные типы брожения отличаются друг от друга конечными продуктами, но во многих стадиях совпадают с процессом гликолиза и протекают согласно схеме, представленной на рис. 13.4. Рассмотрим основные типы брожения.



Рис. 13.4. Суммарная схема процессов брожения

**Спиртовое брожение** характерно для дрожжевых грибов, оно осуществляется в анаэробных условиях и представляет собой расщепление глюкозы до этанола и диоксида углерода\*. Спиртовое брожение протекает в аналогичной гликолизу последовательности химических реакций, выражаемой следующим суммарным уравнением:

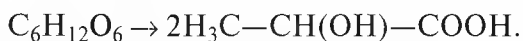


Согласно современным представлениям процесс спиртового брожения условно можно разделить на два этапа. На первом этапе происходит образование фруктозо-1,6-дифосфата из глюкозы с последующим расщеплением на две молекулы триозы, на втором — образование из триоз пирувата:



В дальнейшем пируват подвергается декарбоксилированию до ацетальдегида, последний восстанавливается до этанола при участии НАДН. Расщепление шестиуглеродной молекулы глюкозы в данном случае протекает в 10 последовательных стадий. Энергетический эффект спиртового брожения довольно низкий, поскольку более 90 % энергии глюкозы остается в двух молекулах этанола.

**Молочнокислое брожение** осуществляют молочнокислые бактерии\*\* аналогично процессу анаэробного гликолиза; используется в пищевой промышленности, в частности для приготовления молочнокислых продуктов:



Это суммарная реакция так называемого гомоферментативного молочнокислого брожения, в результате которого образуется единственный продукт — молочная кислота. Существует также гетероферментативное

\* Чаще всего для спиртового брожения используют дрожжи — представители рода *Saccharomyces*.

\*\* *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* и др.

брожение, в результате которого образуется не только молочная кислота, но и ряд других продуктов, например уксусная кислота, этанол и др. Эти отличия обусловлены протеканием гетероферментативного брожения по пентозофосфатному пути (см. далее).

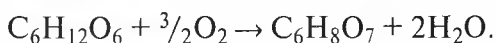
Молочнокислородное брожение имеет огромное значение в производстве молочных продуктов (сыры, сметана, творог, йогурт и др.).

Суммарная реакция **маслянокислого брожения**, вызываемого спорообразными бактериями (рода *Clostridium*), выглядит следующим образом:



В начале XX в. маслянокислородное брожение имело большое значение для промышленного получения ацетона и *n*-бутанола.

**Лимоннокислородное брожение** в отличие от предыдущих процессов осуществляется в аэробных условиях и используется при промышленном получении лимонной кислоты:

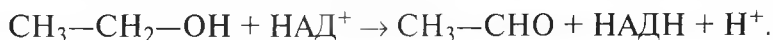


Существуют также пропионовокислородное, муравьинокислородное, гомоацетатное и метановое виды брожения, используемые в биотехнологии.

## 13.5. ЭТАНОЛ И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

Угрожающая тенденция роста потребления алкогольных напитков и, как следствие, увеличение числа людей, страдающих алкоголизмом, в настоящее время наблюдается во многих странах мира. В связи с этим полезно рассмотреть вопросы, касающиеся пути биотрансформации этанола в организме и его влияния на протекание метаболических процессов. Поскольку основное влияние этанол оказывает на обмен углеводов, мы рассматриваем эту проблему в настоящей главе.

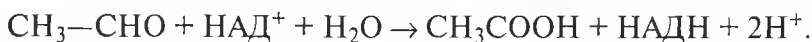
От 70 до 95 % поступившего в организм человека этанола окисляется в печени. Роль других органов в этом процессе незначительна. Вначале этанол подвергается дегидрированию под действием цинкзависимой *алкогольдегидрогеназы* в присутствии НАД:



Таким путем протекает окисление не менее 2/3 алкоголя, поступившего в организм. Остальная часть этанола окисляется как с помощью микросомальных ферментов окисления, так и в каталазной реакции. Алкогольдегидрогеназа обладает широкой субстратной селективностью — под ее действием в организме может окисляться не только этанол, но и другие спирты, а также альдегиды и кетоны. У значительного числа людей европейской расы (5 — 20 %) обнаруживаются аномальные формы алкогольдегидрогеназы, которые отличаются высокой степенью активности по отношению к этанолу. В результате после поступления этанола в

организме таких людей наблюдается быстрый подъем уровня ацетальдегида, вследствие высокой токсичности которого происходит резкая интоксикация организма.

Образовавшийся при окислении этанола ацетальдегид под действием *альдегиддегидрогеназы* и при участии НАД превращается в уксусную кислоту:



Эта реакция необратима и в основном протекает в микросомах и митохондриях гепатоцитов, а также в цитозоле клеток. Уксусная кислота, являясь естественным субстратом клеточных ферментов, образует ацетил-КоА, который затем вовлекается в цикл Кребса. Последствия избыточного образования уксусной кислоты при алкогольной интоксикации проявляются: во-первых, в усилении процессов биосинтеза с участием ацетил-КоА, что приводит к нерациональному использованию энергии; во-вторых, в накоплении в тканях восстановленных и снижении содержания окисленных форм НАД, что имеет принципиальное значение для понимания биохимической сущности алкогольного отравления. Для окисления 125 г этанола требуется столько же НАД, сколько потребляется при окислении 500 г глюкозы, т. е. того количества углеводов, которое расходуется организмом за сутки. В результате нарушаются жизненно важные обменные процессы, такие, как гликолиз, энергетический обмен, усиливается синтез жирных кислот и липидов, что, в частности, может приводить к жировому перерождению печени.

Можно выделить следующие главные пути и последствия включения в биохимические процессы этанола и продуктов его метаболизма: 1) нарушение (увеличение) соотношения концентраций  $[\text{НАДН}]/[\text{НАД}]$  и как следствие этого — резкие сдвиги в окислительно-восстановительных биохимических процессах; 2) образование высокотоксичного ацетальдегида; 3) отвлечение алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы от нормального метаболизма эндогенных субстратов, содержащих спиртовые и альдегидные группы; 4) накопление большого количества уксусной кислоты, что в условиях избытка восстановителей приводит к усилению синтеза липидов и существенным диспропорциям практически во всех метаболических путях.

Токсическое воздействие этанола на нервную систему, которое проявляется прежде всего в нарушении обмена нейромедиаторов, рассматривается в главе 16.

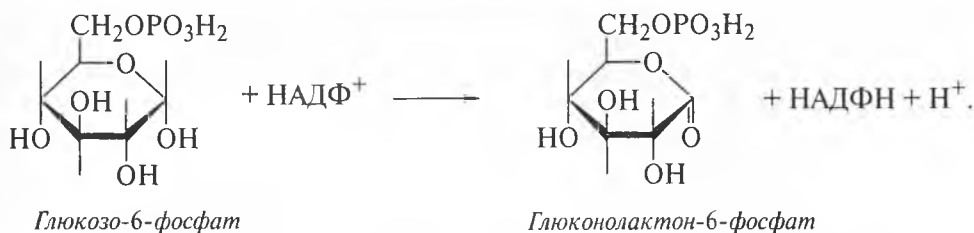
### 13.6. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ ОКИСЛЕНИЯ УГЛЕВОДОВ

Наряду с гликолизом и гликогенолизом в клетках существует еще и *пентозофосфатный путь* окисления углеводов, выполняющий наряду с катаболическими анаболические функции. Пентозофосфатный путь осуществляется в цитоплазме, ядрах и митохондриях клеток и представляет собой окислительный распад гексоз до пентоз и других моносахаридов с

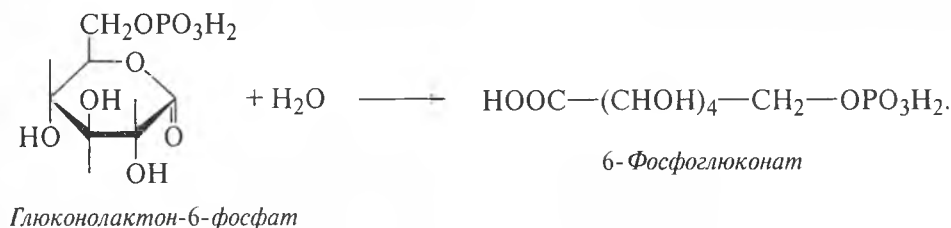
более короткой цепью. Ключевую роль в пентозофосфатном пути играют пентозофосфаты.

Пентозофосфатный путь можно разделить на два этапа: *окислительный* — окисление глюкозо-6-фосфата до пентозофосфатов и *неокислительный* — взаимопревращения трех-, четырех-, пяти-, шести-, семи- и восьмиуглеродных моносахаридов. Рассмотрим основные реакции этих этапов пентозофосфатного цикла.

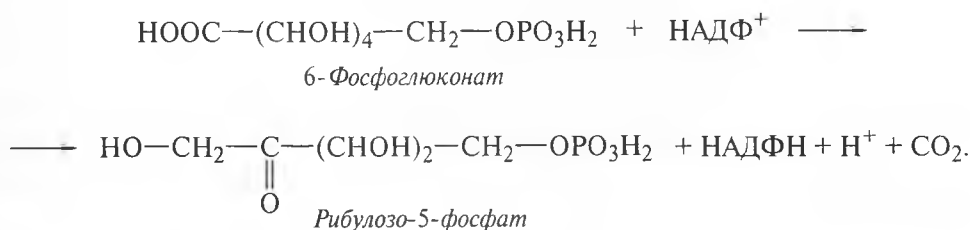
Первая реакция *окислительного этапа* — дегидрирование глюкозо-6-фосфата, катализируемое *глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой*, коферментом которой выступает НАДФ:



Образующийся глюконолактон-6-фосфат гидролизуется под действием *глюконолактазы* с образованием 6-фосфоглюконата (аниона 6-фосфоглюконовой кислоты):

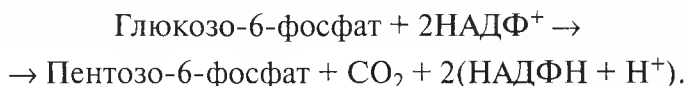


Вторая реакция окислительного этапа — одновременное дегидрирование и декарбоксилирование 6-фосфоглюконата под действием *фосфоглюконатдегидрогеназы*:

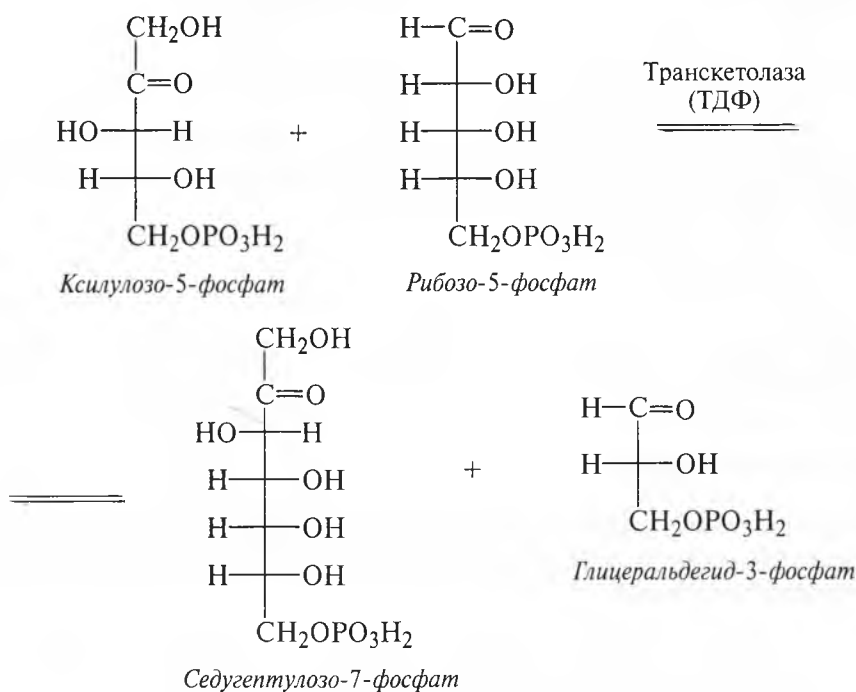


В результате этой реакции углеродная цепь укорачивается на один атом углерода и образуется фосфорилированная пентоза, которая затем под действием изомераз может превращаться в различные изомеры — рибозо-5-фосфат, ксилозо-5-фосфат. Таким образом, в результате окислительного этапа происходит укорачивание углеродной цепи в гексозе и образу-

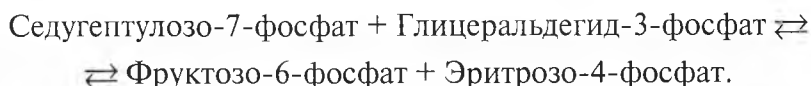
ются пентозы. При определенных условиях пентозофосфатный путь превращения углеводов на этом этапе завершается, тогда суммарное уравнение данного процесса имеет вид:



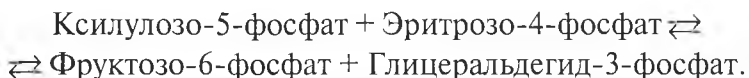
В других условиях пентозофосфатный путь не ограничивается окислительным и завершается **неокислительным этапом**, протекающим в анаэробных условиях. Основные реакции этой стадии катализируются специфическими ферментами — *транскетолазой* и *трансальдолазой*. Транскетолаза катализирует перенос гликоальдегидной группы от ксилулозо-5-фосфата к рибозо-5-фосфату, промежуточным переносчиком этой группы служит ТДФ:



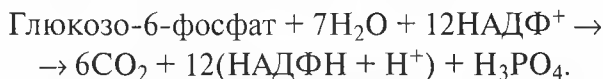
Далее трансальдолаза действует на продукты транскетолазной реакции. Она переносит группу дигидроксиацетона от седугептулозо-7-фосфата на глицеральдегид-3-фосфат, в результате чего образуется фруктозо-6-фосфат:



Эритрозо-4-фосфат представляет собой фосфорилированную тетрозу, которая используется во второй транскетолазной реакции:



Таким образом, посредством пентозофосфатного цикла может происходить полное окисление глюкозо-6-фосфата до диоксида углерода. Суммарное уравнение пентозофосфатного цикла, включающего окислительный и неокислительный этапы, имеет следующий вид:



Такое полное окисление глюкозо-6-фосфата происходит в тех клетках, где синтезируются большие количества липидов (печень, жировая ткань, молочные железы и др.), поскольку для их синтеза необходим НАДФН, эффективно образующийся в результате пентозофосфатного цикла. Чаще всего пентозофосфатный путь на одном из этапов с помощью трех ключевых соединений — глюкозо-6-фосфата, фруктозо-6-фосфата и глицеральдегид-3-фосфата — переходит в гликолиз.

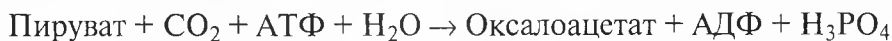
Подводя итог, можно выделить следующие главные биохимические функции пентозофосфатного цикла — амфиболическую и энергетическую. Амфиболическая функция цикла заключается в осуществлении распада углеводов и продуцировании НАДФН и пентозофосфатов, необходимых для биосинтеза многих соединений (жирные кислоты, холестерин, нуклеотиды и нуклеиновые кислоты). Энергетическая функция проявляется в подключении конечных продуктов данного цикла к гликолизу.

### 13.7. БИОСИНТЕЗ ГЛЮКОЗЫ

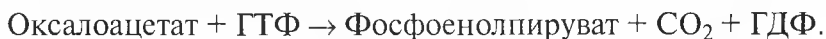
Гликолиз заканчивается образованием пирувата или лактата, которые при определенных условиях могут вновь превращаться в глюкозу. Из двух молекул лактата образуется одна молекула глюкозы, т. е. происходит обращение гликолиза, называемое *глюконеогенезом* (от *глюкоза*, греч. *neos* — новый и *genesis* — происхождение, возникновение). Глюконеогенез — это анаболический процесс, представляющий собой наиболее важный путь биосинтеза моносахаридов и полисахаридов у человека, животных и микроорганизмов. У фотосинтезирующих организмов глюконеогенез играет второстепенную роль.

Глюконеогенез в основном протекает по тому же пути, что гликолиз, но в обратном направлении. Однако три реакции гликолиза (см. выше) необратимы, и на этих стадиях реакции глюконеогенеза отличаются от реакций гликолиза.

Фосфорилирование пирувата в фосфоенолпируват достигается за счет последовательности реакций, катализируемых *пируваткарбоксилазой*

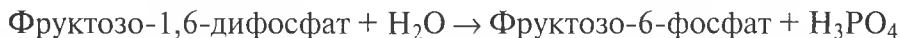


и *карбоксикиназой фосфоенолпирувата*





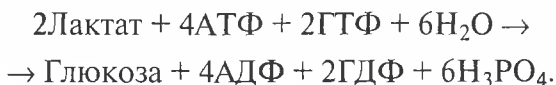
Две другие необратимые стадии катализируются *фосфатазой фруктозо-1,6-дифосфата*



и *фосфатазой глюкозо-6-фосфата*



Суммарное уравнение реакций глюконеогенеза будет выглядеть следующим образом:



В результате глюконеогенеза на синтез одной молекулы глюкозы расходуется шесть высокоэнергетических фосфоангидридных связей.

Глюкоза синтезируется не только из лактата и пирувата, но и из других соединений, способных превращаться в какой-либо из промежуточных продуктов глюконеогенеза (оксалоацетат, глицеральдегидфосфат). Важное значение имеет глюконеогенез из глицерина и аминокислот. В организме взрослого человека за сутки может синтезироваться около 80 г глюкозы. Физиологическое значение глюконеогенеза заключается как в возвращении лактата в метаболизм, так и в обеспечении глюкозой мозга при недостаточном углеводном питании.

### 13.8. ПАТОЛОГИИ, СВЯЗАННЫЕ С НАРУШЕНИЯМИ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ

Нарушения в обмене углеводов, как правило, связаны с низкой скоростью биосинтеза ферментов, участвующих в процессах анаболизма и катаболизма углеводов. Например, наследственная недостаточность лактазы, сахаразы и других ферментов, катализирующих гидролиз дисахаридов до моносахаридов, вызывает нарушения нормальных процессов всасывания моносахаридов в кровь, в результате чего последние не используются в катаболизме, а являются балластными продуктами, выводимыми с калом. *Эссенциальная фруктозурия* связана с пониженной концентрацией фосфофруктокиназы, в результате чего в крови и моче накапливается фруктоза, а также снижается концентрация последующих и конечных продуктов обмена углеводов.

Недостаток метаболитов, участвующих в обмене углеводов, приводит к различным заболеваниям. Например, *галактоземия* вызывается нарушением распада галактозы в печени из-за недостатка галактозо-1-фосфата.

Основным клинико-биохимическим показателем нарушений обмена углеводов является изменение концентрации глюкозы в крови. Увеличение содержания глюкозы в крови по сравнению с нормальными показателями проявляется в заболевании *гипергликемии*, которая может носить

как физиологический характер в случае приема богатой углеводами пищи, так и возникать в результате кратковременной физической нагрузки, когда вырабатываемые железами внутренней секреции адреналин и глюкокортикостероиды усиливают глюконеогенез и гликогенолиз. Физиологические гипергликемии обычно непродолжительны. Наиболее распространенной формой гипергликемии является сахарный диабет, обусловленный дефицитом инсулина в организме (см. главу 9).

Помимо сахарного диабета гипергликемии могут быть обусловлены повышенной секрецией соматотропного гормона, катехоламинов и глюкокортикоидов как результат заболеваний гипоталамуса и надпочечников.

Гипогликемия может носить физиологический характер как результат компенсаторного выброса инсулина. Патологическая гипогликемия может быть результатом: 1) гиперинсулинемии; 2) недостаточности ферментов, расщепляющих дисахариды в кишечнике; 3) заболеваний печени с торможением гликогеногенеза и глюконеогенеза; 4) дефицита глюкокортикоидов; 5) гипоксии.

### 13.9. ФОТОСИНТЕЗ УГЛЕВОДОВ

**Фотосинтез** (от *фото...* и *синтез*) представляет собой превращение зелеными растениями и фотосинтезирующими микроорганизмами лучистой энергии Солнца в энергию химических связей органических веществ — углеводов.

Фотосинтез — это единственный биохимический процесс, протекающий с увеличением свободной энергии и прямо или косвенно обеспечивающий доступной химической энергией все живые организмы, населяющие Землю (кроме хемосинтезирующих). Ежегодно в результате фотосинтеза на Земле образуется около 150 млрд т органического вещества, при этом усваивается 300 млрд т  $\text{CO}_2$  и выделяется около 200 млрд т свободного  $\text{O}_2$ . Благодаря фотосинтетической деятельности первых зеленых организмов в первичной атмосфере Земли появился кислород, возник озоновый экран, тем самым сформировались условия для биологической эволюции.

Основу фотосинтеза составляет последовательная цепь окислительно-восстановительных реакций, в ходе которых осуществляется перенос электронов от донора — восстановителя (вода, водород и др.) — к акцептору — окислителю ( $\text{CO}_2$ , ацетат) — с образованием восстановленных соединений (углеводов) и выделением молекулярного кислорода  $\text{O}_2$ .

Фотосинтез играет ведущую роль в биосферных процессах, приводя в глобальных масштабах к образованию органического вещества из неорганического. Фотосинтезирующие организмы, используя солнечную энергию в реакциях фотосинтеза, осуществляют связь жизни на Земле с Вселенной и определяют в конечном счете всю ее сложность и многообразие. Гетеротрофные организмы — животные, грибы, большинство бактерий, а также бесхлорофилльные растения и водоросли — обязаны своим существованием автотрофным организмам — растениям-фотосинте-

тикам, создающим на Земле органическое вещество и восполняющим убыль кислорода в атмосфере. Человечество все более осознает очевидную истину, впервые научно обоснованную знаменитыми биологами К. А. Тимирязевым и В. И. Вернадским: *экологическое благополучие биосферы и существование самого человечества зависят от состояния растительного покрова нашей планеты.*

**Фотосинтезирующие организмы.** Самый примитивный тип фотосинтеза осуществляют *солелюбивые галобактерии*, живущие в средах с высоким (до 30 %) содержанием хлорида натрия. Простейшими организмами, способными осуществлять фотосинтез, являются также *пурпурные* и *зеленые серобактерии*, а также *несерные пурпурные бактерии*. Фотосинтетический аппарат у этих организмов устроен гораздо проще (состоит из одной фотосистемы), чем у растений; кроме того, они не выделяют кислород, так как в качестве источника электронов используют соединения серы, а не воду. Фотосинтез такого типа получил название *бактериального*. Однако существуют *цианобактерии* (прокариоты, способные к фотоокислению воды и выделению кислорода), обладающие более сложной организацией фотосинтетического аппарата — двумя сопряженно работающими фотосистемами. У растений реакции фотосинтеза осуществляются в специализированных органеллах клетки — хлоропластах. У всех растений (от водорослей и мхов до современных голосеменных и покрытосеменных) прослеживается много общих черт в структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата.

**Фотосинтезирующие пигменты.** Основными пигментами, осуществляющими поглощение квантов света в процессе фотосинтеза, являются хлорофиллы, представляющие собой магний(II)порфириновые комплексы (см. главу 5). В различных организмах обнаружено несколько модификаций хлорофиллов, различающихся по химическому строению. Электронный спектр поглощения различных форм хлорофиллов охватывает видимую, ближнюю ультрафиолетовую и ближнюю инфракрасную области спектра (у высших растений от 350 до 700 нм, а у бактерий от 350 до 900 нм). Хлорофилл *a* является основным пигментом и присутствует во всех организмах, осуществляющих так называемый *оксигенный*, т. е. протекающий с выделением кислорода, фотосинтез.

У зеленых и эвгленовых водорослей, мхов и некоторых растений кроме хлорофилла *a* имеется также хлорофилл *b*, содержание которого составляет 20—25 % содержания хлорофилла *a*. Это дополнительный пигмент, расширяющий спектр поглощения света. У некоторых групп водорослей, в основном бурых и диатомовых, дополнительным пигментом служит хлорофилл *c*, а у красных водорослей — хлорофилл *d*. В пурпурных бактериях содержатся бактериохлорофиллы *a* и *b*, а в зеленых серных бактериях наряду с бактериохлорофиллом *a* содержатся бактериохлорофиллы *c* и *d*. В поглощении световой энергии участвуют и другие сопровождающие пигменты: у фотосинтезирующих эукариот это *каротиноиды* — желтые и оранжевые пигменты полиизопrenoидной природы, у цианобактерий и красных водорослей — *фикобилины* — пигменты с линейной тетрапиррольной структурой (см. главу 5). У галобактерий обнаружен специфичный пигмент — сложный белок бактериородопсин, близкий по

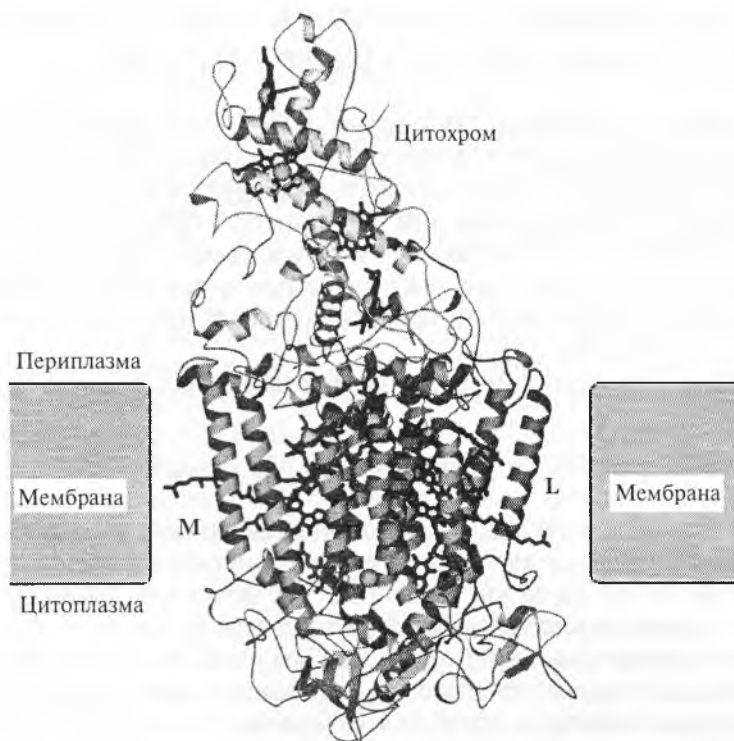


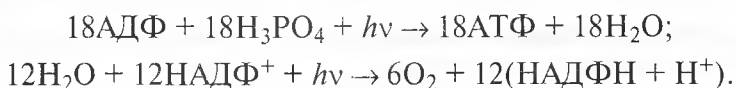
Рис. 13.5. Модель фотосинтетического реакционного центра. Субъединицы L и M связывают фотосинтетические пигменты — хлорофиллы, а также хиноны

химическому строению к родопсину — зрительному пигменту сетчатки глаза (см. главу 3).

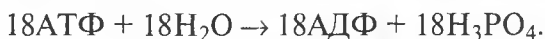
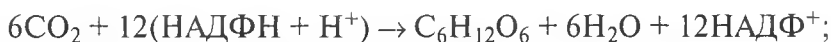
В клетках хлорофилл образует сложные агрегированные структуры с белками фотосинтетических (тилакоидных) мембран, или так называемые *светособирающие хлорофиллбелковые комплексы* (хлорофиллпротеины). Модель фотосинтетического реакционного центра приведена на рис. 13.5.

**Стадии фотосинтеза.** Процесс фотосинтеза состоит из двух последовательных и взаимосвязанных стадий: *световой*, или *энергетической*, и *темновой*, или *метаболической*.

На первой стадии (световой) происходит преобразование энергии квантов света, поглощенной фотосинтетическими пигментами, в энергию химических связей АТФ (*фотофосфорилирование*) и восстановление НАДФ (*фотовосстановление*):

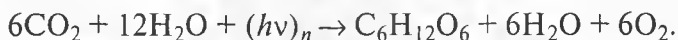


На второй стадии (темновой) образовавшиеся на свету АТФ и НАДФН используются для фиксации  $\text{CO}_2$  и его последующего восстановления до углеводов:



У всех фотосинтезирующих организмов фотохимические процессы световой стадии фотосинтеза происходят в особых энергопреобразующих мембранах, называемых тилакоидными, и организованы в электронотransпортную цепь. Темновые реакции фотосинтеза осуществляются вне тилакоидных мембран (у прокариот — в цитоплазме, у растений — в строме, т. е. водной среде, окружающей внутреннюю мембрану хлоропластов). Таким образом, световая и темновая стадии фотосинтеза разделены в пространстве и во времени.

Суммарное уравнение фотосинтеза можно представить следующим образом:



Следует еще раз отметить, что кислород включается в молекулы воды из диоксида углерода на темновой стадии процесса, а молекулярный кислород выделяется на световой стадии за счет фотоокисления воды, что не отражается в суммарном уравнении фотосинтеза.

Для восстановления 6 моль  $\text{CO}_2$  необходимо около 54 моль квантов света. Поскольку при фотосинтезе поглощается свет преимущественно красной области спектра, а энергия 1 моль квантов красного света составляет 172 кДж, затраты энергии на синтез 1 моль глюкозы будут равны  $54 \cdot 172 = 9288$  кДж. Из этого количества в молекуле глюкозы сохраняется только 2875 кДж, т. е. около 30 %, а остальная часть энергии рассеивается. При оценке эффективности синтеза глюкозы следует учитывать, что растения используют лишь около 1 % падающего на них света.

**Фотохимические реакции фотосинтеза. Общие представления о фотосистемах.** Фотохимический этап фотосинтеза включает в себя ряд последовательно протекающих процессов, локализованных в тилакоидных мембранах. Пигменты, специфически связанные с белками фотосинтетических мембран, и другие компоненты, необходимые для протекания реакций поглощения света и транспорта электронов, образуют надмолекулярные комплексы — *фотосистему I (ФС I)* и *фотосистему II (ФС II)*. В составе каждой фотосистемы различают: реакционный центр, в котором протекают очень быстрые реакции первичного разделения зарядов; комплекс компонентов, передающих электрон от реакционного центра (электрон-транспортная цепь); комплекс компонентов, осуществляющих работу по фотоокислению воды и восстановлению реакционного центра.

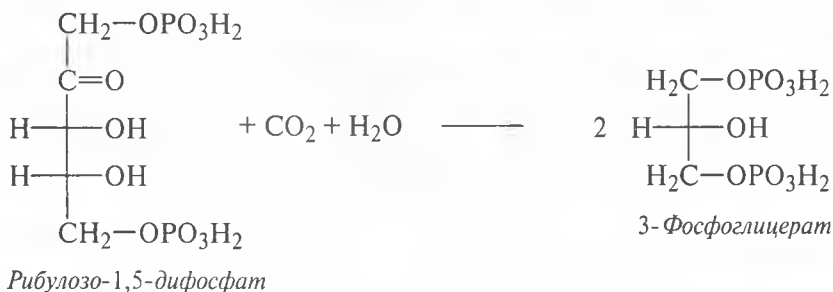
Первый этап сложного преобразования электромагнитного излучения (света) в свободную энергию химических связей включает поглощение фотонов *светособирающими комплексами (ССК)*, связанными с ФС I и ФС II (ССК I и ССК II соответственно). Затем энергия возбуждения мигрирует по пигментам ССК и захватывается специализированным реакционным центром ССК. Реакционные центры образованы самыми длинноволновыми формами хлорофилла *a* [с максимумом поглощения 700 нм ( $P_{700}$ ) в ФС I и 680 нм ( $P_{680}$ ) в ФС II]. Возбужденные  $P_{700}^*$  и  $P_{680}^*$  обладают

сильными восстановительными свойствами и быстро передают электрон на близко расположенную молекулу акцептора, а сами при этом окисляются. Эти реакции первичного разделения зарядов, происходящие в реакционных центрах ФС I и ФС II, являются единственными, в которых действительно происходит превращение энергии кванта света в химическую энергию. Дальнейший транспорт электронов осуществляется в соответствии с градиентом электрохимического потенциала компонентов электрон-транспортной цепи фотосинтеза, напоминающей по составу митохондриальную.

Одновременно с фотосинтетическим транспортом электронов происходит перенос протонов из стромы хлоропласта во внутритилакоидное пространство — возникает трансмембранный электрохимический градиент ионов водорода (рН-градиент), используемый затем комплексом фермента АТФ-синтетазы для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата в процессе фотосинтетического фосфорилирования. При нециклическом токе электронов и сопряженном с ним фотофосфорилировании происходит образование восстановителя НАДФН и АТФ. При альтернативных путях переноса электронов — циклическом и псевдоциклическом — образуется только АТФ.

**Темновые реакции фотосинтеза.** Метаболические варианты фотосинтетической фиксации  $\text{CO}_2$  у растений принято подразделять на  $\text{C}_3$ -путь,  $\text{C}_4$ -путь и САМ-путь *фотосинтеза*, рассматриваемые ниже. Образующиеся в темновых реакциях углеводы могут откладываться в виде крахмала в хлоропластах; выходить из хлоропластов и использоваться для образования нового структурного материала клеток; служить источником энергии для различных метаболических процессов; транспортироваться в запасающие органы растения.

**$\text{C}_3$ -путь фотосинтеза.** Восстановительный пентозофосфатный цикл фиксации  $\text{CO}_2$  ( $\text{C}_3$ -путь, или цикл Кальвина), открытый американскими учеными Э. Бенсоном и М. Кальвином в 50-е годы XX в., универсален и обнаруживается практически у всех автотрофных организмов (рис. 13.6). В этом цикле фиксация  $\text{CO}_2$  осуществляется на рибулозо-1,5-дифосфате при участии фермента *рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилазы*:



Первым стабильным продуктом этой реакции являются две молекулы 3-фосфоглицерата, которые затем в реакциях, аналогичных происходящим при глюконеогенезе, превращаются в фруктозо-6-фосфат. Фруктозо-6-фосфат в дальнейшем может превращаться в глюкозо-6-фосфат, глю-

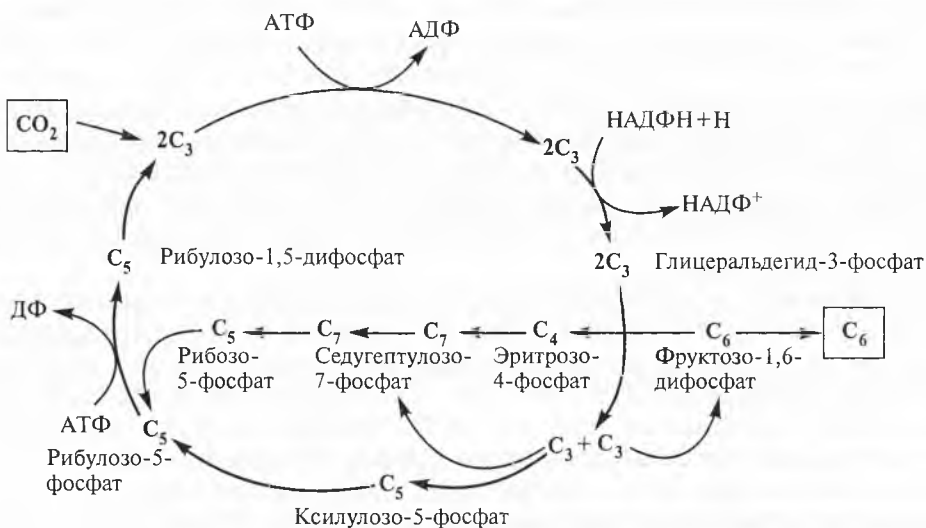


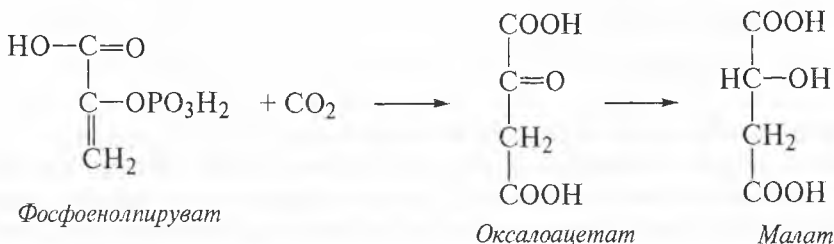
Рис. 13.6. Цикл Кальвина

козу и другие углеводы. Наряду с  $\text{CO}_2$  субстратом ключевого фермента — рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилазы может быть и  $\text{O}_2$ , при этом реализуется *гликолатный*, или  $\text{C}_2$ -*путь*, известный как *фотодыхание*.

Большинство растений осуществляют фотосинтез по  $\text{C}_3$ -пути. Типичные представители растений этой группы: горох, фасоль, конские бобы, шпинат, салат, капуста, пшеница, овес, рожь, ячмень, свекла, подсолнечник, тыква, томаты и другие одно- и двудольные семенные.

**$\text{C}_4$ -путь фотосинтеза.** У некоторых видов растений (в основном у тропических и у небольшого числа видов из умеренных широт) первыми стабильными соединениями при фиксации  $\text{CO}_2$  являются яблочная и аспарагиновая кислоты. Такие растения отличаются видимым отсутствием (или очень низким уровнем) фотодыхания, высокой скоростью фиксации  $\text{CO}_2$  в расчете на единицу поверхности листа, более высокой общей фотосинтетической продуктивностью, большой скоростью роста.

Для всех растений этой группы характерна катализируемая ферментом *фосфоенолпируваткарбоксилазой* фиксация  $\text{CO}_2$  на фосфоенолпирувате с образованием оксалоацетата, который затем превращается в яблочную (малат) или аспарагиновую (аспартат) кислоты:



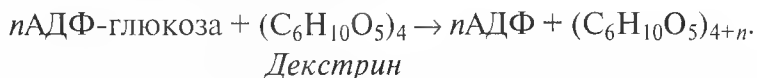
Образующиеся кислоты в дальнейшем подвергаются декарбоксилированию, а высвобождающийся при этом  $\text{CO}_2$  фиксируется через цикл Кальвина.

Типичными представителями группы растений, у которых осуществляется  $\text{C}_4$ -путь фотосинтеза, являются кукуруза, сахарный тростник, сорго, росичка кроваво-красная и другие злаки.

У суккулентных растений, произрастающих в условиях водного дефицита, фиксация  $\text{CO}_2$  осуществляется с помощью так называемого **САМ-пути**. Первичным продуктом фиксации  $\text{CO}_2$  является яблочная кислота, синтезирующаяся в темновой период. В дневное время осуществляется декарбоксилирование этой кислоты, а освобождающийся  $\text{CO}_2$  поступает в цикл Кальвина.

Возникновение  $\text{C}_4$ - и САМ-путей фотофиксации  $\text{CO}_2$  связано с воздействием на высшие наземные растения засушливого климата.  $\text{C}_4$ -Растения хорошо адаптированы к условиям с высокой интенсивностью света, повышенным температурам и засухе. Оптимальная температура для осуществления фотосинтеза у них выше, чем у  $\text{C}_3$ -растений. Они более экономно используют воду по сравнению с  $\text{C}_3$ -растениями. Поэтому  $\text{C}_4$ -растения наиболее многочисленны в зонах с высокими температурами.

**Биосинтез полисахаридов растений.** Избыток моносахаридов, образующихся в процессе фотосинтеза, используется растениями для синтеза крахмала и целлюлозы — главных растительных полисахаридов. Синтез крахмала в растениях катализируется несколькими ферментами (*крахмал-синтетазами*) и протекает с участием «затравки» декстрина, содержащего четыре и более остатков глюкозы. Источником глюкозы является АДФ-глюкоза (реже — УДФ-глюкоза):



Накапливающийся при фотосинтезе в листьях крахмал может легко переходить в сахарозу, которая является основной транспортной формой углеводов в растениях. В таком виде углеводы переносятся в семена, клубни, луковицы, где и откладываются в запас опять в виде крахмала или фруктозанов (инулин и др.).

Биосинтез целлюлозы осуществляется путем переноса гликозидных остатков с ГДФ-глюкозы на акцептор — «затравку» — с участием соответствующих ферментов.

**Фотосинтез и биосфера.** Автотрофные растения Мирового океана (занимающего площадь около 360 млн кв. км) по приблизительным подсчетам способны ежегодно переводить в органические вещества 20 — 155 млрд т углерода. При этом они используют всего 0,11 % падающей на поверхность Земли солнечной энергии. Наземные растения (растущие на площади около 150 млн кв. км) ежегодно фиксируют 16 — 24 млрд т углерода. В результате фотосинтеза на земном шаре ежегодно образуется более 150 млрд т углеводов. Кроме того, фотосинтез — это единственный процесс, восполняющий убыль из атмосферы молекулярного кислорода в результате дыхания, горения и производственной деятельности челове-



ка. Ежегодная биопродукция  $O_2$  составляет около 100 млрд т. Однако промышленное потребление  $O_2$  заметно увеличивается с каждым годом. Ежегодный дефицит кислорода составляет почти 10 млрд т. Одновременно регистрируется прирост количества  $CO_2$ , ежегодно составляющий до 1,5 % содержания его в атмосфере. Однако, как считают некоторые исследователи, повышение концентрации  $CO_2$  в атмосфере вызывает увеличение скорости фотосинтеза в растениях, что компенсирует избыточное накопление диоксида углерода и восполняет убыль кислорода в атмосфере.

## Контрольные вопросы и задания

1. Какие условия необходимы для гидролиза углеводов пищи в организмах млекопитающих?
2. Поясните взаимосвязь метаболических путей глюкозы с другими процессами обмена веществ.
3. В чем сущность и биологическое значение активации моносахаридов?
4. Назовите особенности и перечислите факторы регуляции процессов гликогеногенеза и гликогенолиза.
5. Опишите основные стадии гликолиза, включая аэробное и анаэробное превращение пирувата.
6. Объясните роль анаэробного превращения пирувата для организма и суть эффектов регуляции взаимосвязи аэробного и анаэробного гликолиза.
7. В чем заключаются особенности различных типов брожения?
8. Рассмотрите пути биотрансформации, а также возможные причины отрицательного воздействия этанола и продуктов его метаболизма на организм человека.
9. В чем заключается специфика функций пентозофосфатного пути окисления углеводов?
10. Какие заболевания вызываются нарушениями обмена углеводов?
11. Рассмотрите окислительно-восстановительные процессы главных стадий фотосинтеза. В чем состоит биологическая значимость данного процесса?

---

## Глава 14

### Обмен липидов

#### 14.1. ПРЕВРАЩЕНИЯ ЛИПИДОВ В ПРОЦЕССЕ ПИЩЕВАРЕНИЯ

Особенности химического строения и физико-химических свойств липидов и их биологически важных производных рассматривались в главе 7. Настоящая глава содержит общие сведения о молекулярных основах метаболизма липидов, т. е. их динамического состояния в организмах.

Липиды, представляющие большую биологическую ценность для организма человека (триацилглицерины, фосфолипиды, холестерин и др.), поступают в него как компоненты пищи биологического происхождения.

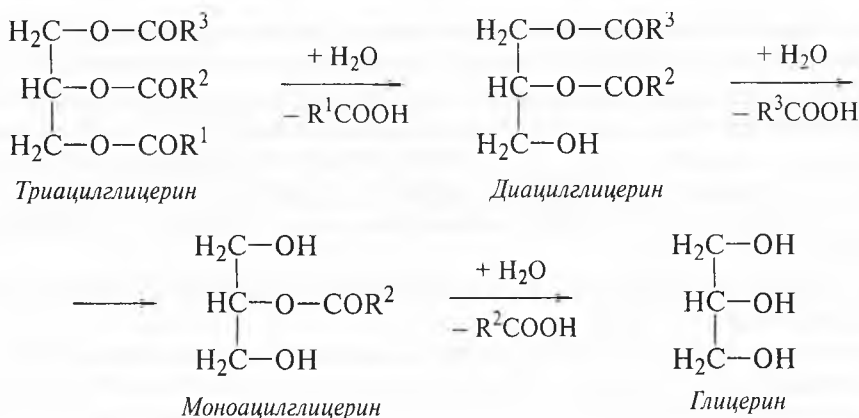
Для переваривания липидов в желудочно-кишечном тракте необходимы следующие условия:

- 1) наличие гидролизующих липиды *липолитических ферментов*;
- 2) оптимальное для проявления высокой каталитической активности липолитических ферментов значение рН среды (соответствующее нейтральной или слабощелочной среде);
- 3) наличие эмульгаторов.

Все перечисленные условия создаются в кишечнике человека. Слюнные железы не способны продуцировать ферменты, гидролизующие жиры, вследствие чего в ротовой полости заметного переваривания жиров не происходит. В желудке взрослого человека переваривания жиров также не происходит, так как рН желудочного сока близок к 1,5, а оптимум рН среды для действия желудочного липолитического фермента *липазы* находится в пределах 5,5—7,5. Следует отметить, что рН желудочного сока у новорожденных детей составляет около 5, что способствует перевариванию эмульгированных триацилглицеринов молока желудочной липазой. В кишечнике происходят нейтрализация соляной кислоты желудочного сока бикарбонатами кишечного сока и эмульгирование жиров. Эмульгирование липидов осуществляется выделяющимися в процессе нейтрализации пузырьками  $\text{CO}_2$  с участием натриевых или калиевых солей желчных кислот — холевой, 7-дезоксихолевой, глицинхолевой, таурохолевой и др. (см. главу 7) в качестве поверхностно-активных веществ. Желчные кислоты поступают в кишечник из желчного пузыря в составе желчи. Эмульгированию способствуют также соли жирных кислот (мыла), образующиеся при гидролизе липидов. Но основная роль поверхностно-активных веществ в эмульгировании жиров принадлежит желчным кислотам.

Анионы желчных кислот резко уменьшают поверхностное натяжение на границе раздела фаз жир — вода, стабилизируют образовавшуюся эмульсию и образуют с жирными кислотами транспортный комплекс, в составе которого осуществляется их всасывание в стенки кишечника. Кроме того, желчные кислоты выполняют функцию активаторов липолитических ферментов.

Триацилглицерины, составляющие основную массу липидов пищи, гидролизуются под действием *панкреатической липазы*, которая поступает в кишечник в неактивном виде, а затем активируется желчными кислотами. Активная липаза имеет гидратированный гидрофильный участок и гидрофобную головку, контактирующую с триацилглицеринами на поверхности раздела фаз, где и происходит поэтапный гидролиз:



В ходе гидролиза на первых стадиях быстро гидролизуются сложноэфирные связи 1 и 3, а затем медленно идет гидролиз 2-моноацилглицерина. Образующийся 2-моноацилглицерин затем может всасываться стенкой кишечника и использоваться на *ресинтез* специфических для данного вида организмов триацилглицеринов (см. ниже).

В гидролизе фосфолипидов принимают также участие *фосфолипазы*. Поступающие с пищей эфиры холестерина, которыми богаты некоторые продукты (желток яиц, сливочное масло, икра и др.), гидролизуются *холестеролэстеразой* до свободного холестерина и жирных кислот. Холестеролэстераза проявляет свою активность только в присутствии желчных кислот.

Продукты гидролитического расщепления всех пищевых липидов всасываются в кишечнике. Глицерин и жирные кислоты с короткой углеродной цепью (до 10—12 атомов С) хорошо растворимы в воде и переходят в кровь в виде водного раствора. Длинноцепочечные жирные кислоты (более 14 атомов С) и моноацилглицерины нерастворимы в воде, поэтому всасываются при участии желчных кислот, фосфолипидов и холестерина, образующих в кишечнике смесь состава 12,5 : 2,5 : 1,0 соответственно. В результате формируются мицеллы из продуктов гидролиза липидов, окруженных гидрофильной оболочкой из холестерина, фосфолипидов и желчных кислот. В последующем мицеллы распадаются, желчные кислоты снова возвращаются в кишечник, совершая 5—6 таких циклов ежедневно.



Рис. 14.1. Наиболее характерные метаболические пути жирных кислот

Липиды, прежде чем поступить в лимфу, подвергаются в кишечной стенке **ресинтезу**, т. е. превращению в триацилглицерины. Важность этого процесса заключается в том, что вновь синтезированные специфические жиры отличаются по физико-химическим показателям от пищевых липидов и наиболее пригодны для данного организма. Поскольку все различия в составе триацилглицеринов определяются составом жирных кислот, то при ресинтезе липидов используются собственные жирные кислоты с длинной цепью, которые синтезируются в кишечнике из предшественников (лишь часть всосавшихся жирных кислот пригодна для ресинтеза). Жирные кислоты образуют ацил-КоА, а затем ацильные остатки переносятся на моноацилглицерин при участии *трансацилаз* с последовательным образованием из моноацилглицерина ди- и триацилглицеринов.

Транспорт холестерина и ресинтезированных липидов осуществляется в составе липопротеинов, белковая часть которых (аполипопротеин) придает им растворимость в водных средах (см. главу 7).

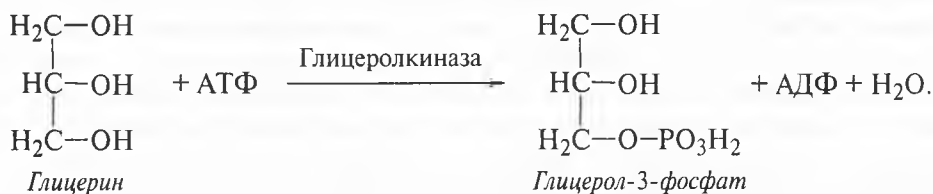
Основные метаболические пути жирных кислот, образующихся при гидролизе триацилглицеринов пищи, представлены на рис. 14.1.

## 14.2. ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ГИДРОЛИЗ ЛИПИДОВ

В тканях происходит непрерывное обновление липидов. Период полупревращения триацилглицеринов, играющих важную энергетическую роль в организме, колеблется от 2 до 18 сут. Другие липиды (фосфо-, сфинго-, гликолипиды и холестерин) преимущественно выполняют роль компонентов биологических мембран и обновляются менее интенсивно. Обновление липидов требует их предварительного внутриклеточного ферментативного гидролиза — **липолиза**.

Принято считать, что триацилглицерины выполняют в обмене липидов роль, аналогичную той, которую выполняет гликоген в обмене углеводов, а высшие жирные кислоты по своей энергетической ценности напоминают глюкозу. При физической нагрузке и других состояниях организма, требующих повышенных энергетических затрат, увеличивается потребление триацилглицеринов жировой ткани как энергетического резерва. Однако в качестве источника энергии могут использоваться только свободные жирные кислоты. Поэтому триацилглицерины сначала гидролизуются до глицерина и свободных жирных кислот под действием специфических тканевых липаз. Этот процесс контролируется центральной нервной системой и запускается с помощью ряда гормонов (адреналин, норадреналин и др.), которые активируют гормоночувствительную *триацилглицеринлипазу*. Триацилглицеринлипаза расщепляет триацилглицерин на диацилглицерин и жирную кислоту. Затем при действии *ди- и моноацилглицеринлипаз* происходит дальнейший липолиз до глицерина и жирных кислот.

Образующийся в результате липолиза глицерин может участвовать в глюконеогенезе или включаться в гликолиз с предварительным образованием глицерол-3-фосфата под действием *глицеролкиназы* и при участии АТФ:



Затем под действием дегидрогеназы глицерол-3-фосфат превращается в триозофосфаты, которые, собственно, и вовлекаются в глюконеогенез или гликолиз.

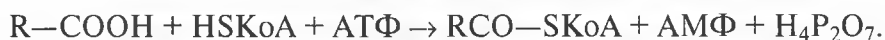
Жирные кислоты в составе белкового комплекса с альбумином крови поступают в клетки различных тканей и органов, где подвергаются окислению.

### 14.3. БИООКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Окисление жирных кислот в организмах — чрезвычайно важный процесс, он может протекать по  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\omega$ -углеродным атомам жирных кислот. Основной путь окисления жирных кислот как в животных, так и в растительных тканях — это  $\beta$ -окисление.

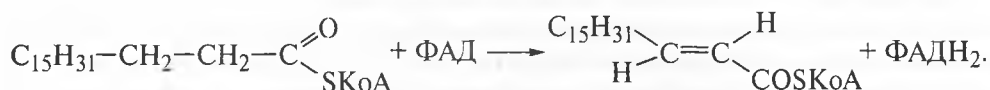
**$\beta$ -Окисление жирных кислот.**  $\beta$ -Окисление жирных кислот было впервые изучено в 1904 г. Ф. Кноопом. В дальнейшем было установлено, что  $\beta$ -окисление осуществляется только в митохондриях. Благодаря работам Ф. Линена с сотрудниками (1954—1958 гг.) были выяснены основные ферментативные процессы окисления жирных кислот. В честь ученых, открывших данный путь окисления жирных кислот, процесс  $\beta$ -окисления получил название *цикла Кноопа — Линена*.

По современным представлениям процессу окисления жирных кислот предшествует их активация в цитоплазме с участием *ацил-КоА-синтетазы* и с использованием энергии АТФ:

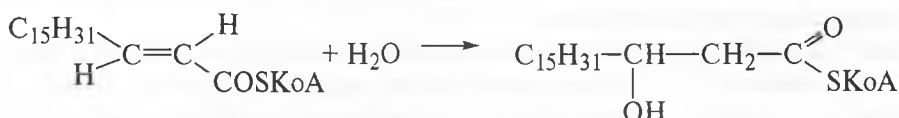


В форме ацил-КоА жирные кислоты поступают в митохондрии, в матриксе которых они подвергаются  $\beta$ -окислению, включающему приведенные ниже ферментативные окислительно-восстановительные реакции.

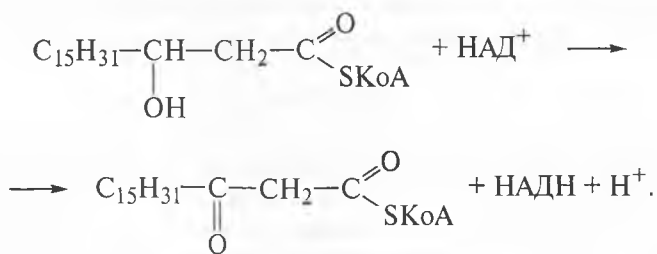
Первой реакцией на пути расщепления жирных кислот является дегидрирование с образованием *транс*-2,3-ненасыщенных производных, катализируемое различными ФАД-содержащими *ацил-КоА-дегидрогеназами*:



Вторая реакция — гидратация двойной связи — катализируется *еноил-КоА-гидратазой*:

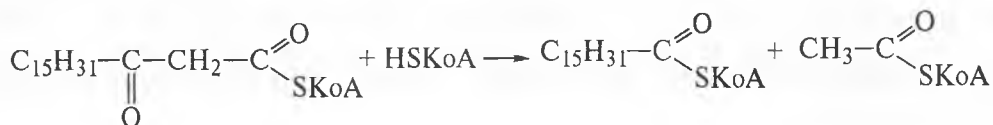


Третья реакция — дегидрирование спиртового фрагмента, которое осуществляется соответствующей дегидрогеназой и окисленной формой кофермента НАД:



В результате окисления образуется  $\beta$ -оксокислота, из-за чего весь процесс в целом и получил название  $\beta$ -окисления.

Четвертая (последняя) реакция, катализируемая *тиолазой*, сопровождается окислительно-восстановительным расщеплением связи  $C_\alpha-C_\beta$  с отщеплением ацетил-КоА и присоединением остатка КоА по месту разрыва межуглеродной связи:



Эта реакция носит название *тиолиза* и является экзергонической, поэтому равновесие в ней всегда смещено в сторону образования продуктов.

Последовательное повторение этого цикла реакций приводит к полному распаду жирных кислот с четным числом атомов углерода до ацетил-КоА. В результате этого процесса образуются ацетил-КоА, ФАДН<sub>2</sub> и НАДН. Далее ацетил-КоА вступает в цикл Кребса, а восстановленные коферменты — в дыхательную цепь.

Особенности окисления жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов заключаются в том, что наряду с обычными продуктами окисления образуется одна молекула  $\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—CO—SKoA}$  (пропионил-КоА), которая в процессе карбоксилирования переводится в сукцинил-КоА, поступающий в цикл Кребса.

Особенности окисления ненасыщенных жирных кислот определяются положением и числом двойных связей в их молекулах. До места двойной связи ненасыщенные жирные кислоты окисляются так же, как и насыщенные. Если двойная связь имеет ту же *транс*-конфигурацию и расположение, что и еноил-КоА, то далее окисление идет по обычному пути. В противном случае в реакциях участвует дополнительный фермент, который перемещает двойную связь в нужное положение и изменяет конфигурацию молекулы кислоты.

При  $\beta$ -окислении жирных кислот выделяется большое количество энергии. При полном окислении одного моля жирной кислоты, содержащей  $2n$  атомов углерода, образуется  $n$  молей ацетил-КоА и  $(n - 1)$  моль (ФАДН<sub>2</sub> + НАДН). Окисление ФАДН<sub>2</sub> дает 2АТФ, а при окислении НАДН образуется 3АТФ. Полное сгорание одного моля ацетил-КоА приводит к образованию 12 моль АТФ.

С учетом того что 1 моль АТФ затрачивается на активацию жирной кислоты, баланс АТФ при полном окислении жирной кислоты с четным числом атомов углерода можно выразить следующей формулой:

$$[5(n - 1) + 12n - 1]\text{АТФ} = (17n - 6)\text{АТФ}.$$

Например, моль пальмитиновой кислоты, содержащей 16 атомов углерода, при окислении дает 130 моль АТФ. Таким образом, энергетическая ценность жирных кислот намного выше, чем глюкозы. Однако в процессе окисления глюкозы образуется оксалоацетат, который облегчает включение ацетильных остатков жирных кислот в цикл Кребса. В связи с этим в биохимической литературе бытует выражение, что «жиры сгорают в пламени углеводов».

Цикл  $\beta$ -окисления жирных кислот схематически изображен на рис. 14.2.

**$\alpha$ -Окисление жирных кислот.** Наряду с  $\beta$ -окислением жирные кислоты с достаточно большим числом атомов углерода ( $\text{C}_{13}\text{—C}_{18}$ ) могут подвергаться  $\alpha$ -окислению. Этот тип окисления особенно характерен для растительных тканей, но может происходить и в некоторых тканях животных.  $\alpha$ -Окисление имеет циклический характер, причем цикл состоит из двух реакций.

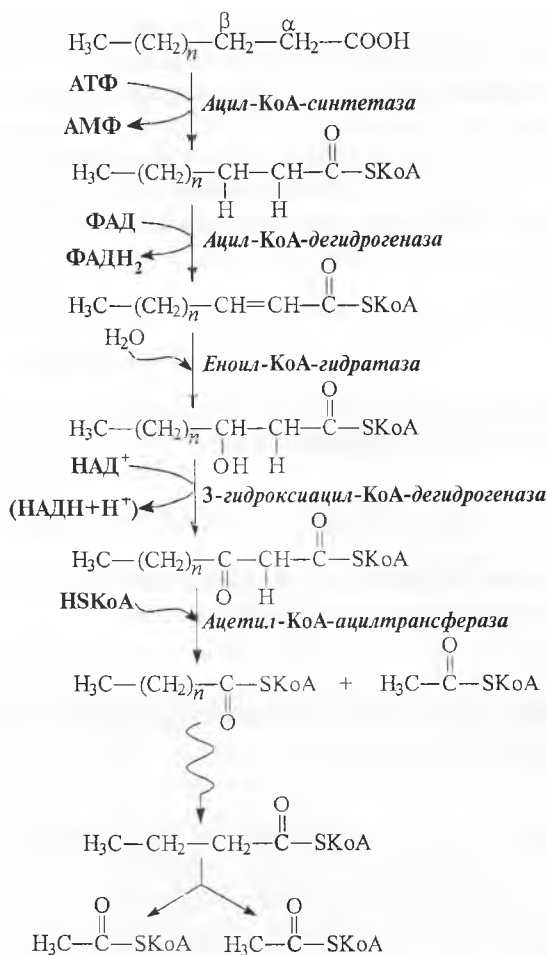


Рис. 14.2. Схема  $\beta$ -окисления жирных кислот

Первая реакция заключается в окислении жирной кислоты пероксидом водорода в соответствующий альдегид и  $\text{CO}_2$  с участием специфической пероксидазы:



В результате этой реакции углеводородная цепь укорачивается на один атом углерода.

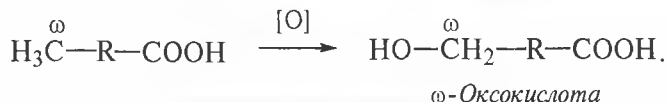
Суть второй реакции заключается в гидратации и окислении образовавшегося альдегида в соответствующую карбоновую кислоту под действием *альдегиддегидрогеназы*, содержащей окисленную форму кофермента НАД:



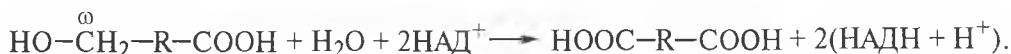


Затем цикл  $\alpha$ -окисления повторяется снова. В сравнении с  $\beta$ -окислением  $\alpha$ -окисление энергетически менее выгодно.

**$\omega$ -Окисление жирных кислот.** В печени животных и у некоторых микроорганизмов существует ферментная система, обеспечивающая  $\omega$ -окисление жирных кислот, т. е. окисление по концевой  $\text{CH}_3$ -группе, обозначаемой буквой  $\omega$ . Сначала под действием монооксигеназы происходят гидроксилирование с образованием  $\omega$ -оксокислоты:



Затем  $\omega$ -оксокислота окисляется в  $\omega$ -дикарбоновую кислоту под действием соответствующей дегидрогеназы:

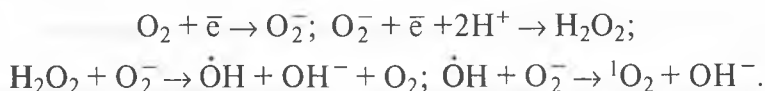


Полученная таким образом  $\omega$ -дикарбоновая кислота укорачивается с любого конца с помощью реакций  $\beta$ -окисления.

## 14.4. СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ. АНТИОКСИДАНТЫ

Наряду с нормальными процессами метаболизма липидов, а именно  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\omega$ -окислением жирных кислот, в организме могут протекать свободнорадикальные реакции окисления как жирных кислот, так и остатков жирных кислот в составе липидов под действием активных форм кислорода. Рассмотрим механизмы образования активных форм кислорода, инициирующих процессы пероксидного окисления липидов.

Молекулярный кислород  $\text{O}_2$  сравнительно мало реакционноспособен в своем основном триплетном состоянии, но при некоторых условиях из него могут образовываться высокоактивные в химическом отношении формы — такие, как супероксид-ион  $\text{O}_2^-$ , пероксид-ион  $\text{O}_2^{2-}$  (в составе  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), гидроксид-радикал  $\dot{\text{O}}\text{H}$  и синглетный кислород  $^1\text{O}_2$  по следующим механизмам:



Все радикальные формы кислорода образуются в клетках организма в реакциях самопроизвольного окисления ряда соединений в результате: 1) неправильной работы ферментов дыхательной цепи, прежде всего цитохромов; 2) окисления гемоглобина в миоглобин, при этом образуется супероксид-ион; 3) образования промежуточных продуктов неполного восстановления кислорода в составе фермент-субстратных комплексов.

Радикальные формы кислорода способны взаимодействовать с различными биосоединениями; прежде всего это нуклеиновые кислоты, белки и липиды. Наиболее хорошо изучено их разрушающее действие на липиды.

За счет взаимодействия кислородных радикалов с определенными метиленовыми группами ненасыщенных жирных кислот получают свободнорадикальные группы  $\dot{\text{H}}\text{C}<$ , способные присоединять молекулярный кислород с образованием пероксидных радикалов жирных кислот:



Пероксидные радикалы, в свою очередь, могут дегидрировать следующую молекулу жирной кислоты:



Такие реакции протекают по цепному механизму и после первой стадии продолжают уже независимо от иницирующих факторов. Нужно отметить, что пероксиды жирных кислот — нестабильные соединения и распадаются с образованием альдегидов.

Пероксидное окисление липидов приводит к деструктивным изменениям в клетках, что связано с накоплением продуктов, способных инактивировать ферменты мембран, нарушать взаимодействия между белками и липидами в мембранах, образовывать межмолекулярные ковалентные сшивки между молекулами липидов или липидов и белков, изменять вязкость липидной фракции, что препятствует образованию фермент-субстратных комплексов и т. д. Для снижения уровня активности пероксидного окисления липидов существуют антиоксиданты, к которым можно отнести витамины Е, С,  $\beta$ -каротин, кофермент Q и гемсодержащие ферменты: супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза. Но при активизации процессов пероксидного окисления липидов (как следствие\* простудных и легочных заболеваний, атеросклероза, инфаркта миокарда, инсульта мозга, диабета, язвы желудка, туберкулеза, остеохондроза, злокачественных опухолей и др.) возможно подавление активности антиоксидантных веществ, и тогда в клетках происходят вышеописанные процессы, которые с клеточных мембран переходят на цитоплазматические структуры. В результате происходят денатурация белков, снижение активности ферментов, повреждается геном. Такое явление носит название *окислительный стресс*, который завершается гибелью клетки путем *некроза* (разрушения клеточных структур) или *апоптоза* (запрограммированной гибели).

\* Не исключено, что перечисленные заболевания являются не только причиной, но и следствием свободнорадикального окисления.

Существует несколько подходов к классификации антиоксидантов. Как правило, антиоксиданты — это полифункциональные соединения, антирадикальная активность которых выражена в разной степени. Поэтому среди антиоксидантов различают соединения, основная биохимическая функция которых заключается в подавлении свободнорадикального окисления (например, токоферолы), и соединения, которые также обладают антиоксидантным действием, но основная функция которых не связана с антиокислительной активностью (например, антибиотики).

Кроме того, существуют вещества, которые сами по себе слабо или вообще не тормозят свободнорадикального окисления, но заметно усиливают действие истинных биоантиоксидантов (например, лимонная и аскорбиновая кислоты). К этой группе относятся токоферол, убихинон, сульфгидрильные соединения, селен, адреналин и др.

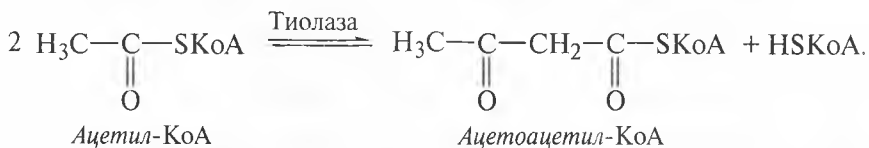
По механизму действия среди веществ, подавляющих свободнорадикальное окисление, различают: 1) антирадикальные ингибиторы (например, фенолы); 2) антиоксиданты, разрушающие пероксиды (например, сульфгидрильные соединения); 3) вещества, связывающие катализаторы (например, металлы переменной валентности); 4) тушители — соединения, инактивирующие синглетный кислород (например, токоферолы, каротиноиды).

К настоящему времени разработаны пути синтеза искусственных антиоксидантов, как правило, аналогов биологически активных веществ. Биологический спектр применимости синтетических антиоксидантов зависит от их влияния на систему природных антиоксидантов и на интенсивность свободнорадикального окисления липидов. Изучение таких физико-химических параметров антиоксидантов, как антирадикальная активность, позволяет не только определить область их использования в биологии и медицине, но и вести направленный поиск биологически активных соединений.

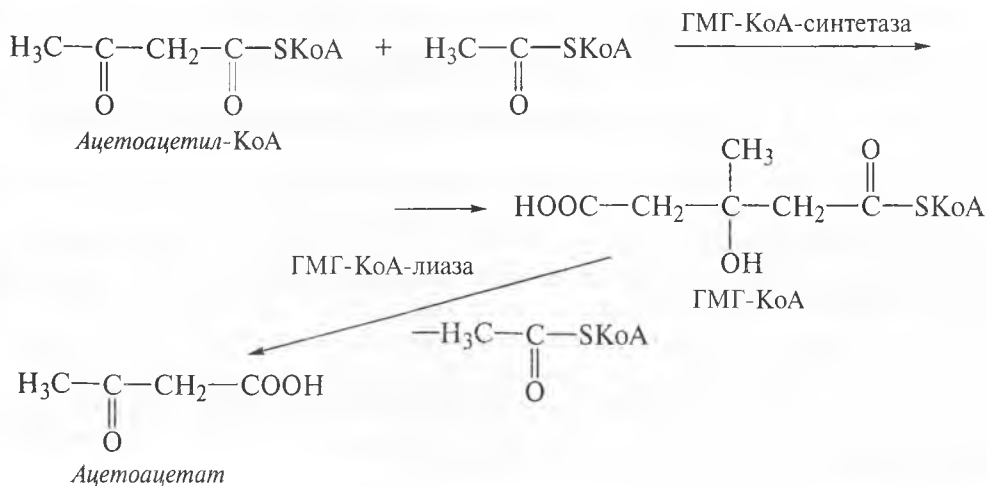
## 14.5. БИОСИНТЕЗ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ

Окисление жирных кислот в нормальном режиме протекает без существенного накопления промежуточных продуктов, в частности ацетил-КоА. Однако при некоторых патологических состояниях организма (сахарный диабет) и при резких отклонениях в режиме нормального питания (голодание, диеты) происходит накопление в крови так называемых **кетонových** или **ацетоновых тел**. К ним относятся три вещества: **ацетоуксусная кислота (ацетоацетат)**,  **$\beta$ -гидроксимасляная кислота ( $\beta$ -гидроксибутират)** и **ацетон**. Они являются недоокисленными промежуточными продуктами распада жирных кислот и в основном образуются в печени из ацетил-КоА. В нормальном режиме работы метаболических путей кетонные тела с кровью доставляются к периферическим органам, где окисляются в цикле Кребса. Но потеря организмом способности к утилизации этих веществ (**кетоз**) приводит к их значительному накоплению в крови (**кетонемия**) и в моче (**кетонурия**), что является диагностическим признаком ряда заболеваний.

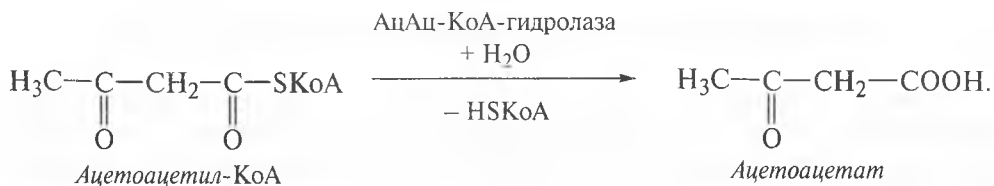
Ацетоацетат синтезируется следующим образом. Сначала из двух молекул ацетил-КоА по реакции, катализируемой *ацетил-КоА-ацетилтрансферазой* (*тиолазой*), образуется ацетоацетил-КоА:



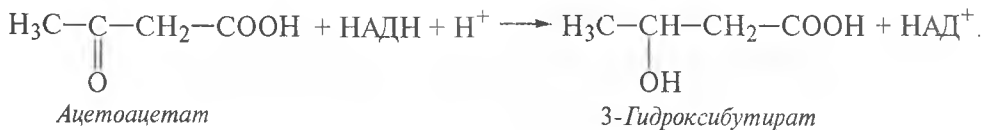
Синтезированный таким образом ацетоацетил-КоА может превращаться в свободный ацетоацетат двумя путями. Он может взаимодействовать еще с одной молекулой ацетил-КоА под действием *гидроксиметилглутарил-КоА-синтетазы* (ГМГ-КоА-синтетаза) с образованием  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА), который затем при участии *гидроксиметилглутарил-КоА-лиазы* (ГМГ-КоА-лиаза) распадается на ацетоацетат и ацетил-КоА:



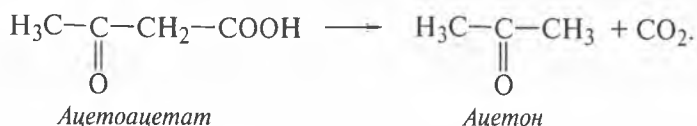
Кроме того, ацетоацетил-КоА может превращаться в свободную ацетоксусную кислоту, отщепляя путем деацилирования HSKoA при участии *ацетоацетил-КоА-гидролазы* (АцАц-КоА-гидролаза):



При восстановлении ацетоацетата образуется 3-гидроксимасляная кислота (анион — 3-гидроксипутират):



Ацетон образуется из ацетоацетата при декарбоксилировании, катализируемом *ацетоацетатдекарбоксилазой*:



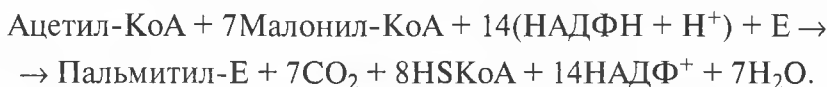
Содержание индивидуальных кетоновых тел в крови колеблется: если в печени содержится много гликогена, то предпочтительно образуется 3-гидроксимасляная кислота; когда гликогена мало, преобладает ацетоацетат.

## 14.6. БИОСИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

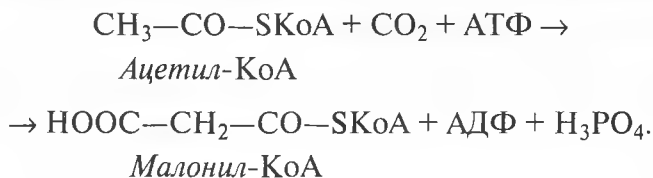
Биосинтез жирных кислот и липидов играет важную роль в жизнедеятельности организмов. Именно в виде жирных кислот и триацилглицеринов сохраняется основное количество энергетических ресурсов организмов животных, в то время как энергоресурсы, откладываемые в форме углеводов, незначительны.

В клетках организма жирные кислоты синтезируются из ацетил-КоА, образующегося из избыточной глюкозы пищи, которая не была использована организмом на энергетические нужды. В качестве восстановителя в биосинтезе жирных кислот принимает участие НАДФН, синтезируемый в основном в пентозофосфатном пути распада углеводов (см. главу 13). Нужно отметить, что хотя все реакции  $\beta$ -окисления жирных кислот обратимы, этот путь не используется организмом с целью их синтеза. Биосинтез жирных кислот осуществляется в цитоплазме клеток и катализируется целым полиферментным надмолекулярным ансамблем — *пальмитилсинтетазой*, состоящей из семи ферментов.

Суммарная реакция биосинтеза жирных кислот в цитоплазме имеет следующий вид (Е — пальмитилсинтетаза):



Из данного уравнения можно видеть, что для синтеза жирной кислоты требуется всего одна молекула ацетил-КоА, служащая «затравкой». Непосредственным источником синтеза является малонил-КоА, который образуется из ацетил-КоА по реакции



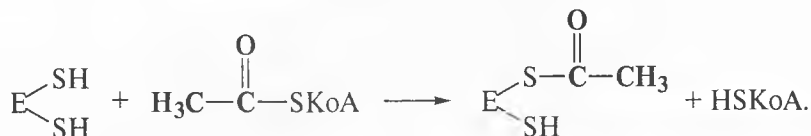
Эта реакция катализируется биотинзависимым ферментом — *ацетил-КоА-карбоксилазой*. Функция биотина сводится к переносу диоксида углерода на субстрат.

Пальмитилсинтетаза представляет собой многофункциональный ансамбль белков: в центре полиферментного ансамбля находится ацилпереносящий белок (АПБ), содержащий свободную SH-группу; шесть остальных ферментов располагаются по периметру, причем один из них также содержит SH-группу. Поэтому пальмитилсинтетазу можно обозначить как

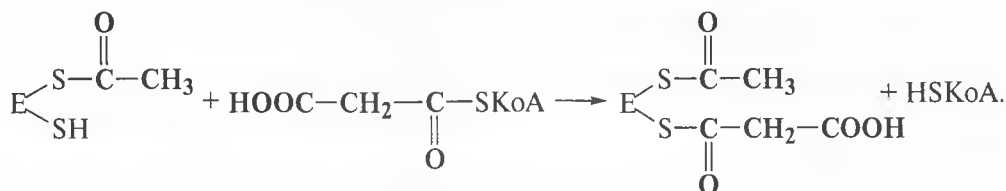


Процесс синтеза жирной кислоты описывается рядом последовательных реакций (ацетильный остаток выделен жирным шрифтом>):

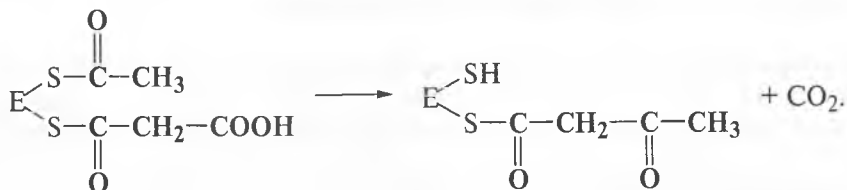
1. Перенос ацетила с ацетил-КоА на синтетазу:



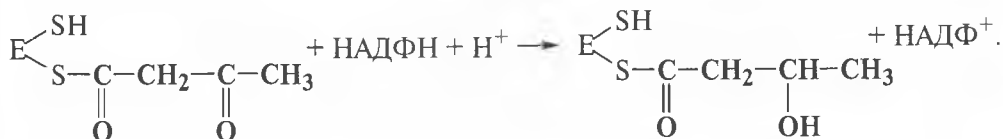
2. Перенос малонила с малонил-КоА на синтетазу:



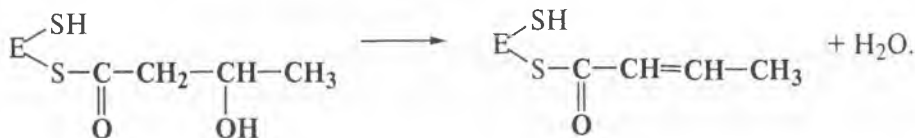
3. Конденсация ацетила с малонилом и декарбоксилирование образовавшегося продукта:



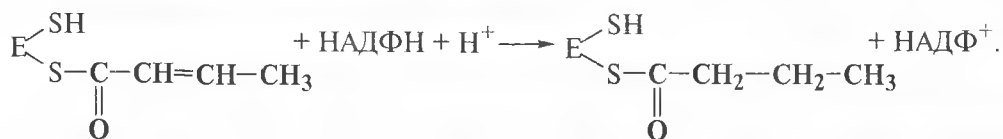
4. Первое восстановление промежуточного продукта с участием НАДФН:



5. Дегидратация промежуточного продукта:



6. Второе восстановление промежуточного продукта с участием НАДФН:



Затем синтезированный бутирил перемещается на ту SH-группу, с которой был связан затравочный ацетил, а на освободившуюся SH-группу поступает новый малонильный остаток из малонил-КоА.

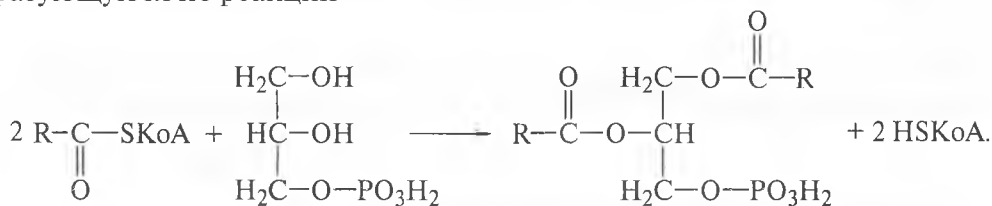
Далее цикл повторяется. После семи оборотов цикла синтезируется пальмитил-Е, который при участии пальмитилдеацилазы гидролизуется до пальмитиновой кислоты и фермента (Е). Пальмитиновая кислота — это основной продукт биосинтеза, однако в небольших количествах могут образовываться и другие жирные кислоты.

Жирные кислоты с разветвленной углеродной цепью синтезируются из продуктов метаболизма аминокислот с разветвленной цепью (валин, изолейцин и лейцин) через ацильные производные КоА путем удлинения цепи и при участии АПБ. Особенности биосинтеза полиненасыщенных жирных кислот представляют интерес в связи с их витаминоподобными функциями (см. главу 3). Некоторые полиеновые кислоты могут синтезироваться из олеиновой кислоты с помощью ряда последовательных реакций. Однако синтез полиненасыщенных кислот, содержащих двойные связи, расположенные между конечным метилом и седьмым атомом углерода, невозможен, поэтому они и являются незаменимыми в пищевом рационе.

Таким образом, биосинтез и поступление с пищей — два основных источника жирных кислот для организма человека и животных.

## 14.7. БИОСИНТЕЗ ТРИАЦИЛГЛИЦЕРИИОВ

Образующиеся в результате биосинтеза жирные кислоты в организмах животных и человека в свободном виде встречаются лишь в незначительных количествах, а присутствуют главным образом в виде триацилглицеринов. Синтез триацилглицеринов происходит в печени и жировой ткани из КоА-производных жирных кислот через фосфатидную кислоту, образующуюся по реакции



*Фосфатидная кислота*

Фосфорилирование глицерина осуществляется *глицеролкиназой* за счет энергии АТФ. Глицерол-3-фосфат может образовываться и при восстановлении диоксиацетонфосфата.

Гидролиз фосфатидной кислоты *фосфатазой* приводит к образованию 1,2-диацилглицерина, который, реагируя с другой молекулой ацил-КоА, образует нейтральный триацилглицерин.

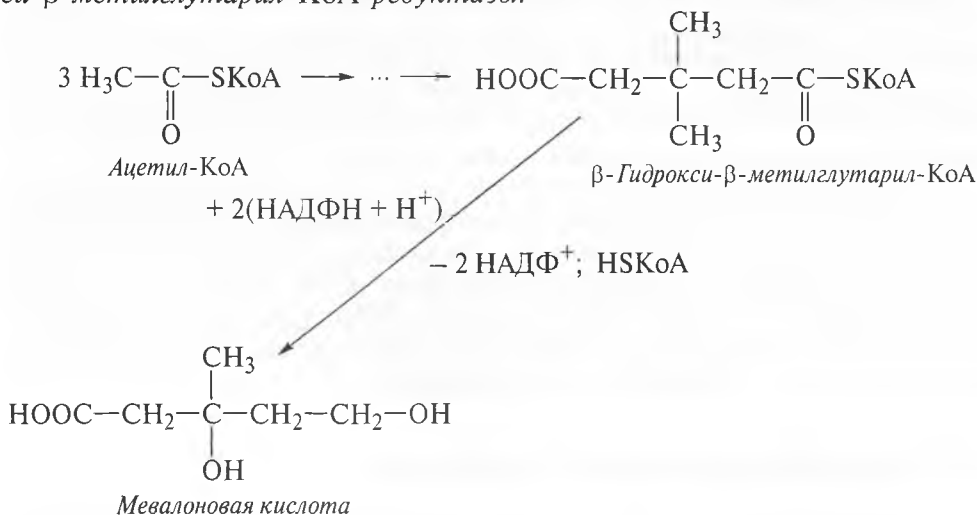
В слизистой кишечника триацилглицерины синтезируются из свободных кислот, моно- и диацилглицеринов, но эти процессы характерны только для слизистой оболочки кишечника. Перенос остатка жирной кислоты происходит через ацильное производное КоА.

## 14.8. БИОСИНТЕЗ ХОЛЕСТЕРИНА

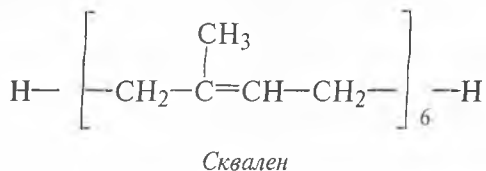
Холестерин — основной представитель неомыляемых стероидных липидов, строение и основные биологические функции которого рассмотрены в главе 5. Здесь мы остановимся на вопросах синтеза холестерина *in vivo*.

Молекула холестерина синтезируется из ацетилков, содержащихся в ацетил-КоА, что было доказано методом радиоактивного мечения молекул (см. главу 10). Одним из промежуточных продуктов синтеза холестерина является  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА, образующийся и при биосинтезе кетонных тел (см. выше).

Первая реакция биосинтеза холестерина — восстановление  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА в мевалоновую кислоту при участии  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА-редуктазы:

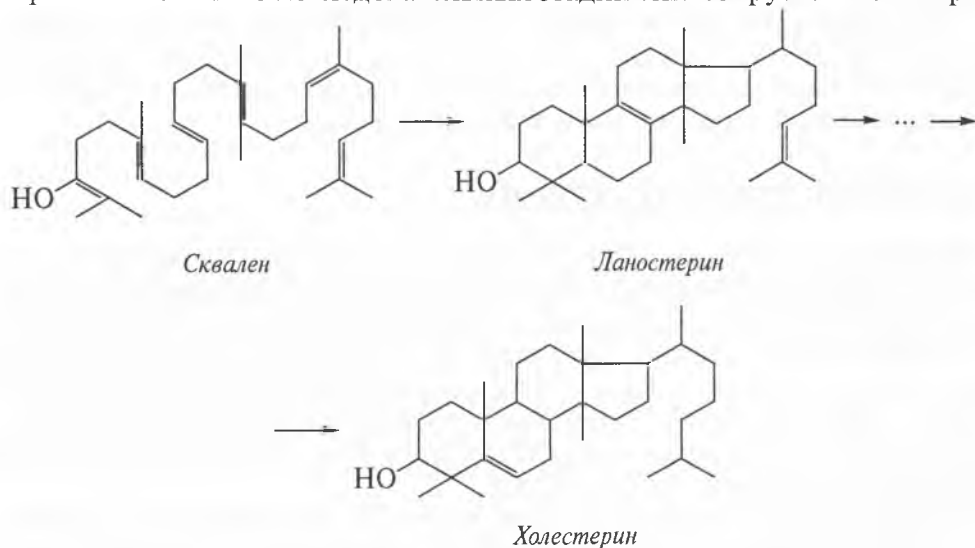


Мевалоновая кислота далее подвергается ряду химических превращений, в ходе которых отщепляется карбоксильная группа, а пятиуглеродные остатки шести молекул мевалоновой кислоты конденсируются, образуя сквален. Сквален представляет собой линейную симметричную молекулу, построенную из шести изопреновых остатков:





Затем сквален превращается в ланостерин, молекула которого имеет уже тетрациклическое строение, характерное для холестерина. Из ланостерина в несколько последовательных стадий синтезируется холестерин:



Подавляющая часть холестерина (около 80 %) синтезируется в печени; второе место занимают клетки тонкого кишечника, в которых образуется около 10 % всего холестерина организма; еще примерно 5 % добавляют клетки кожи. Ферменты, необходимые для биосинтеза холестерина, имеются практически во всех клетках. Общее количество холестерина, синтезируемого в организме в сутки, достигает 1,5 г.

Скорость синтеза холестерина регулируется по механизму отрицательной обратной связи. Основным пунктом регуляции является реакция образования мевалоновой кислоты — первая специфическая реакция биосинтеза холестерина: холестерин ингибирует  $\beta$ -гидрокси- $\beta$ -метилглутарил-КоА-редуктазу и подавляет ее синтез. При содержании 2 — 3 г холестерина в пищевом суточном рационе человека синтез собственного холестерина почти полностью прекращается.

## 14.9. НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ЛИПИДОВ

Патологические состояния, связанные с отклонениями от нормального режима протекания метаболических процессов с участием липидов, вызываются в первую очередь нарушениями их переваривания и всасывания в организме. Первым симптомом нарушения обмена липидов является *стеанорея*, т. е. появление липидов в кале. Различают три основных типа стеанореи: 1) *панкреатогенная стеанорея*, которая обусловлена низкой скоростью синтеза панкреатической липазы, что, в свою очередь, приводит к снижению интенсивности гидролиза триацилглицеринов в кишечном соке; 2) *гепатогенная стеанорея*, которая связана с нарушением поступления желчи в двенадцатиперстную кишку, в результате чего не происходит эмульгирования жиров, а следовательно, и их гидролиза ли-

пазой; 3) *энтерогенная стеаноррея*, которая обусловлена снижением метаболической активности слизистой оболочки тонкого отдела кишечника, в котором происходит ресинтез липидов.

Увеличение концентрации липопротеинов в крови приводит к возникновению *гиперлипопроотеинемии*, а понижение — к *гипопроотеинемии*. Гиперлипопроотеинемии обусловлены замедлением расщепления липопротеиновых комплексов вследствие недостаточности липопротеинлипазы или в результате гиперинсулинизма, индуцирующего в печени усиленный синтез триацилглицеринов из углеводов. Гиперлипопроотеинемия наряду с *гиперхолестеролемией* (увеличением содержания в крови холестерина) является основной причиной атеросклероза. Гиполипопроотеинемии связаны с нарушением переваривания и всасывания жиров в тонком отделе кишечника в результате дефицита липазы, а также с нарушениями продукции и поступления желчи. Кроме того, увеличение содержания тиреоидных гормонов (гипертиреоз) приводит к усилению катаболизма сывороточных липидов.

## Контрольные вопросы и задания

1. Опишите основные этапы переваривания жиров в процессе пищеварения.
2. В чем заключаются особенности транспорта холестерина и ресинтезированных жиров, жирных кислот?
3. Какие пути окисления жирных кислот реализуются в живых организмах?
4. Перечислите стадии цикла  $\beta$ -окисления жирных кислот и поясните, чем данный процесс отличается от  $\alpha$ - и  $\omega$ -окисления ацильных остатков.
5. Сопоставьте энергетическую ценность для живых организмов процессов биоокисления углеводов и жиров.
6. В чем заключаются особенности окисления жирных кислот с нечетным числом атомов углерода?
7. Изложите основные особенности процессов пероксидного окисления липидов и механизмов действия антиоксидантов.
8. Перечислите основные соединения, образующие группу кетонных тел; поясните причины их токсичности и опишите пути их образования в живых организмах.
9. Назовите стадии биосинтеза жирных кислот с участием пальмитатсинтетазы.
10. Опишите основные реакции биосинтеза холестерина.
11. Укажите основные причины, вызывающие различные формы заболеваний, связанных с отклонениями в протекании метаболических процессов с участием липидов.

## Глава 15

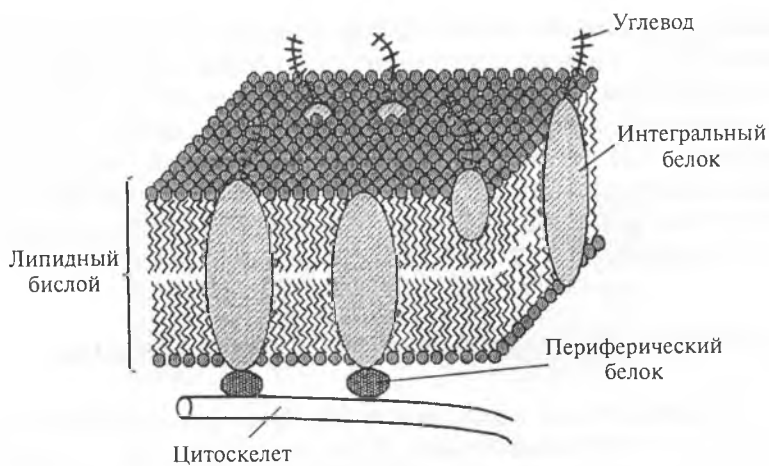
# Транспорт веществ через биомембраны. Водно-минеральный обмен

### 15.1. СТРОЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

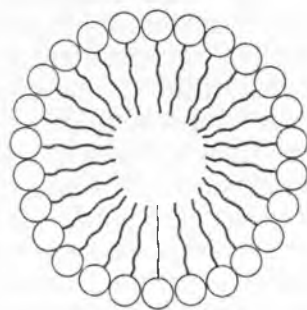
*Клеточные мембраны* представляют собой поверхностные периферические структуры, ограничивающие внутреннее содержимое клетки от внешней среды, а у эукариот, кроме того, разделяющие внутреннюю часть клетки на функционально значимые отсеки — компартменты (ядро и митохондрии). Основные функции клеточных мембран заключаются в изоляции клеток от межклеточной жидкости, создании внутренней архитектуры клетки, преобразовании энергии (ферменты дыхательной цепи), поддержании градиента концентраций различных веществ и электрохимического градиента, транспорте питательных веществ и продуктов жизнедеятельности организмов, передаче нервных импульсов и т. д.

Структурная организация мембран до сих пор до конца не выяснена и схематически описывается рядом гипотетических моделей, одна из которых — «жидкостно-мозаичная» модель показана на рис. 15.1. Эта модель демонстрирует также структуру липидного бислоя «хвост к хвосту», показанную отдельно на рис. 15.2.

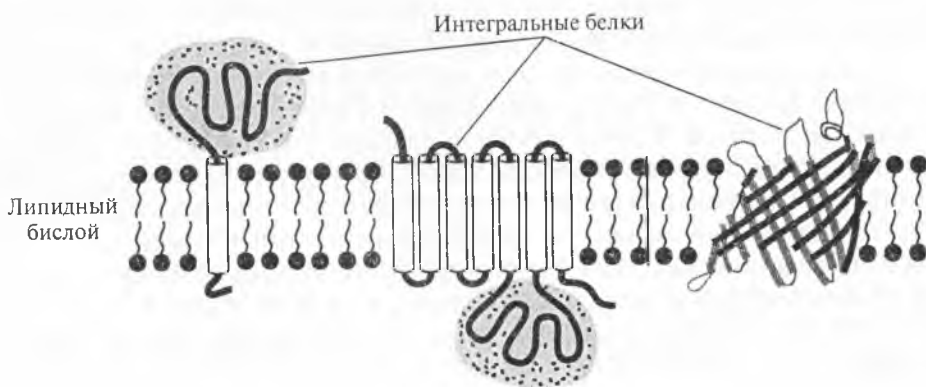
Толщина мембраны обычно составляет 4—10 нм. Состав мембран существенно зависит от их функций и типа клеток, однако во всех случаях основными составляющими являются липиды и белки, соотношение между которыми колеблется от 0,4 до 2,5. Липидная часть мембраны состоит из триацилглицеринов, стероидов, фосфо- и сфинголипидов (см. главу 7). Основу мембраны составляет липидный бислой, в котором гидрофильные концы фосфолипидов обращены к молекулам воды внутри и снаружи клетки, а гидрофобные хвосты жирных кислот — внутрь мембраны: «хвост к хвосту». Отдельные участки мембраны, образованные липидами с высоким содержанием насыщенных жирных кислот, находятся в жестком состоянии, другие участки, где содержится больше ненасыщенных жирных кислот, более пластичны. Холестерин, содержащийся между ацильными цепями липидного бислоя, препятствует его кристаллизации, т. е. поддерживает состояние текучести. Таким образом, мембрана не является статическим образованием, а благодаря жидкокристаллической структуре представляет собой двухслойный раствор, в котором часть липидов и белков способна диффундировать перпендикулярно или параллельно поверхности мембраны; первый (перпендикулярный) вид перемещения известен как «*флип-флоп*»-перескок.



**Рис. 15.1.** Схематическое изображение клеточной мембраны («жидкостно-мозаичная модель»)



**Рис. 15.2.** Упаковка липидов по принципу «хвост к хвосту»



**Рис. 15.3.** Белки в мембране. Серым цветом выделены внемембранные домены. Внутримембранные части белка практически не содержат нерегулярных участков цепи

Белковые компоненты мембран образованы глобулярными белками, гликопротеинами с молекулярной массой от 5000 до 250 000. В зависимости от прочности связывания с мембраной различают периферические и интегральные белки. Интегральные белки располагаются между липидами монослоя (рис. 15.3) или «пронизывают» весь бислой, часто возвышаясь над поверхностью мембраны. Периферические белки связаны с мембранами за счет межмолекулярных электростатических взаимодействий и водородных связей и зачастую контактируют с интегральными белками.

## 15.2. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ БИОМЕМБРАНЫ

Клеточные мембраны, как и внутриклеточные мембранные структуры, являются полупроницаемыми. Максимальной проникающей способностью обладают вода и растворенные в ней газы, причем липидный слой практически непроницаем для ионов и большинства полярных молекул.

Транспорт веществ через клеточные мембраны осуществляется тремя способами: *простой диффузией*, *облегченным* или *активным транспортом*.

**Простая диффузия** осуществляется за счет теплового движения частиц в направлении градиента их концентраций, и ее скорость зависит от величины этого градиента, коэффициента диффузии, температуры, значения коэффициента распределения. Такой перенос веществ осуществляется через поры мембран в белоксодержащих участках, которые проницаемы для малых молекул ( $\text{H}_2\text{O}$ , мочевины,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ), или через липидный слой мембраны, служащий растворителем для гидрофобных веществ (простые и сложные эфиры, высшие спирты, жирные кислоты и др.). Перенос вещества с помощью простой диффузии прекращается, когда градиент концентрации становится равным нулю. Однако большинство веществ проникает через биомембраны с помощью специфических транспортных систем. Простейшим процессом такого вида транспорта является облегченная диффузия.

**Облегченная диффузия** осуществляется без затрат энергии за счет переноса вещества через мембрану в направлении градиента концентраций с помощью специальных белков-переносчиков. К ним относятся ферменты — *транслоказы* и *пермиазы*, которые своим активным центром связывают вещество с одной стороны мембраны и переносят его на другую поверхность мембраны. В этом случае возможен также вариант диффузии, при которой после присоединения транспортируемого вещества меняется конформация белка-переносчика, вследствие чего в мембране открывается специальный канал, по которому вещество и проникает внутрь клетки. Таким образом, транспортные белки делятся на белки-переносчики и каналобразующие белки. Первые взаимодействуют с молекулой переносимого вещества и каким-либо способом перемещают ее сквозь мембрану. Каналообразующие белки (*порины*), напротив, формируют в мембране водные поры, через которые (когда они открыты) могут проходить вещества (обычно неорганические ионы подходящего размера и заряда). Модель структуры бактериального порина схематически показана

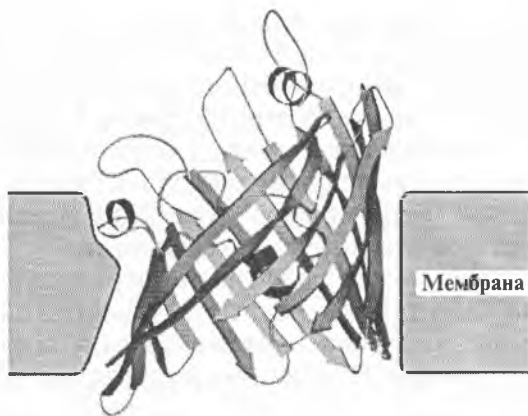


Рис. 15.4. Модель порина

на рис. 15.4. В высших организмах пориноподобные белки обнаружены в мембранах митохондрий и хлоропластов.

Каждый из транспортных белков предназначен для определенного класса молекул, а иногда и для определенной разновидности молекул.

Иногда транспорт какого-либо соединения с участием переносчика сопровождается параллельной транслокацией другого соединения в том же направлении — *симпорт* или в противоположном — *антипорт*. Примером симпорта может служить транспорт молекул глюкозы, при котором ионы  $\text{Na}^+$  связываются с белком мембраны и увеличивают его сродство к глюкозе. Поскольку внеклеточная жидкость содержит больше ионов  $\text{Na}^+$ , чем внутриклеточная, то вне клетки присоединение ионов  $\text{Na}^+$ , а следовательно, и глюкозы происходит чаще и молекулы глюкозы транспортируются внутрь клетки. Таким образом, наряду с пассивным транспортом ионов  $\text{Na}^+$  происходит симпорт глюкозы. Строго говоря, энергия, необходимая для работы данного механизма, запасается в процессе активного транспорта, т. е. при работе  $(\text{Na}^+, \text{K}^+)$ -насоса, механизм которого рассмотрен далее.

**Активный транспорт** осуществляется против градиента концентраций и требует наличия не только носителя, но и источника энергии, в качестве которого обычно выступает АТФ.

Для случая переноса заряженной частицы из отсека с концентрацией  $c_1$  в отсек с концентрацией  $c_2$  изменение свободной энергии определяется двумя вкладками, зависящими от создаваемой мембранной разности потенциалов  $(\Delta V)$  и концентраций:

$$\Delta G = RT \lg \frac{c_2}{c_1} + zF\Delta V,$$

где  $z$  — заряд транспортируемой частицы;  $R$  — универсальная газовая постоянная;  $T$  — температура.

Активный транспорт, связанный с переносом ионов из отсека с меньшей концентрацией  $c_2$  в отсек с большей концентрацией  $c_1$ , характеризу-

ется значением  $\Delta G > 0$  и сопряжен с притоком энергии в систему. При этом возникает мембранная разность потенциалов, которая в различных клетках достигает 60 — 80 мВ. Внутренняя сторона клеточной мембраны относительно наружной заряжена отрицательно. Создается биоэлектрический потенциал, который обеспечивает электрическую возбудимость нервных и мышечных клеток и служит движущей силой в процессах транспорта биологически активных молекул. В свою очередь, градиент концентрации различных ионов регулирует объем клеток.

Активный транспорт может служить для переноса одного вещества в одном направлении либо для переноса двух веществ в одном или в противоположных направлениях. В последнем случае он называется *сопряженным активным транспортом*. Примером типичного сопряженного активного транспорта является работа «натрий-калиевого» насоса, который локализован в плазматической мембране практически всех клеток организма и переносит ионы натрия и калия против градиента концентраций с использованием энергии гидролиза АТФ.

Для осуществления многих важных биологических процессов, в том числе передачи нервного импульса, необходимо постоянно поддерживать градиент концентраций ряда ионов по разные стороны мембран клеток, что требует затрат энергии. Так, например, концентрация ионов  $K^+$  внутри клетки примерно в 35 раз выше, чем вне ее, а концентрация ионов  $Na^+$  во внеклеточной жидкости в 15 раз больше, чем внутри клетки. Постоянство электролитного состава внутри и вне клетки поддерживается за счет активного транспорта ионов через клеточные мембраны, обладающие высокоселективной ионной проницаемостью. Поток различных ионов строго регулируется специфическими транспортными системами, среди которых главная роль принадлежит так называемому «ионному», или «*натрий-калиевому*» *насосу*, который обозначают как  $(Na^+, K^+)$ -насос. Он обеспечивает активный транспорт ионов  $K^+$  и  $Na^+$  через клеточные мембраны с использованием энергии гидролиза АТФ.

Составной частью  $(Na^+, K^+)$ -насоса, схематически изображенного на рис. 15.5, является  $Na^+, K^+$ -АТФаза — фермент, гидролизующий АТФ в присутствии ионов  $Na^+$ ,  $K^+$  и  $Mg^{2+}$  до АДФ и  $H_3PO_4$ .  $(Na^+, K^+)$ -Насос расположен в мембране клетки и представляет собой сложный белок, состоящий из четырех субъединиц. Он имеет две энергетически выгодные конформации. Одна из конформаций ( $E_1$ ) характеризуется наличием полости, обращенной внутрь клетки и обладающей высоким стереохимическим сродством к ионам  $Na^+$ ; другая конформация ( $E_2$ ) имеет полость вне клетки и обладает сродством к ионам  $K^+$ .

Связывание иона  $Na^+$  на внутренней поверхности мембраны с натриевым участком фермента запускает процесс гидролиза АТФ и фосфорилирования фермента, что, в свою очередь, приводит к изменению конформации с  $E_1$  на  $E_2$ , в результате чего три иона  $Na^+$  перебрасываются наружу. Вне клетки связывание ионов  $K^+$  с калиевым участком запускает процесс фосфорилирования белка, приводящий к изменению конформации с  $E_2$  на  $E_1$  и перебросу ионов калия внутрь клетки. Таким образом, при гидролизе одной молекулы АТФ выделяется энергия, достаточная для транспорта трех ионов  $Na^+$  из клетки и двух ионов  $K^+$  в клетку. Активный

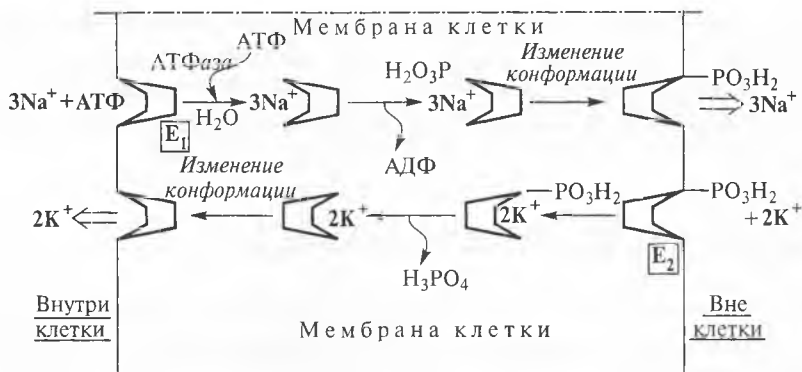


Рис. 15.5. Схема работы  $(\text{Na}^+, \text{K}^+)\text{-насоса}$

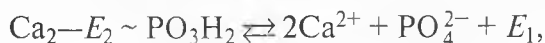
транспорт постоянно конкурирует с процессом самопроизвольной диффузии ионов в направлении градиента их концентраций.

Подобно ионам  $\text{Na}^+$  ионы  $\text{Ca}^{2+}$  активно выводятся из клетки с помощью  $\text{Ca}^{2+}\text{-АТФазы}$ . В большом количестве данный фермент содержится в мембранах эндоплазматического ретикулума. Цепь химических реакций, обеспечивающих транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  через мембрану, может быть записана в виде следующих уравнений:

на наружной стороне мембраны



на внутренней стороне мембраны



где  $E_1$  и  $E_2$  — различные конформации фермента-переносчика, переход которых из одной в другую связан с фосфорилированием при участии АТФ.

Активный транспорт протонов из цитоплазмы поддерживается двумя типами реакций: действием электронотранспортной цепи и гидролизом АТФ. Редокс-насос и гидролитический насос, перекачивающие ионы  $\text{H}^+$ , находятся в мембранах, способных превращать световую или химическую энергию в энергию  $\Delta\mu_{\text{H}^+}$  (плазматические мембраны прокариот, сопрягающие мембраны хлоропластов и митохондрий). Электрохимический градиент протонов может быть использован для сопряженного транспорта (*вторичный активный транспорт*) большого числа метаболитов — анионов, моносахаридов, аминокислот и т. д.

В сочетании с активным транспортом ионов через биомембраны проникают различные сахара, нуклеотиды и аминокислоты. Макромолекулы, такие как, например, белки, через мембрану не проходят. Они, а также более крупные частицы вещества транспортируются внутрь клетки посредством *эндоцитоза*. При эндоцитозе определенный участок мембраны захватывает, обволакивает внеклеточный материал, заключает его в мембранную вакуоль. Эта вакуоль — *эндосома* сливается в цитоплазме с



первичной лизосомой, и происходит переваривание захваченного материала. Эндоцитоз формально разделяют на *фагоцитоз* (поглощение клеткой крупных частиц) и *пиноцитоз* (поглощение растворов). Плазматическая мембрана принимает участие и в выведении веществ из клетки с помощью *экзоцитоза* — процесса, обратного эндоцитозу.

### 15.3. РЕЦЕПТОРНАЯ РОЛЬ БИОМЕМБРАН

Белки-переносчики внешней мембраны клетки являются также рецепторами, узнающими определенные ионы и взаимодействующими с ними. Такие чувствительные к отдельным веществам участки разбросаны по поверхности клетки или собраны в небольшие зоны. Роль многих клеточных рецепторов заключается не только в связывании специфических веществ, но и в передаче сигналов с поверхности внутрь клетки. Например, при действии гормона на клетку цепь событий разворачивается следующим образом: молекула гормона специфически взаимодействует с рецепторным белком мембраны и, не проникая в клетку, активирует фермент, синтезирующий цАМФ. Последний активирует или ингибирует внутриклеточный фермент или группу ферментов (см. главу 9).

Разнообразие и специфичность наборов рецепторов на поверхности клеток приводит к созданию очень сложной системы маркеров, позволяющих клеткам отличать «своих» от «чужих».

Роль транспорта веществ через мембраны имеет огромное значение в жизнедеятельности клеток и организма в целом. Большинство процессов, связанных с обеспечением клетки энергией и избавлением ее от продуктов распада, основано на описанных выше механизмах. Кроме того, специальные функции клеточной мембраны заключаются в получении клеткой внешних сигналов (примерами могут служить рассмотренные в главе 9 взаимодействия клетки с гормонами).

### 15.4. ВОДА: СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ

На страницах настоящего пособия неоднократно говорилось о том, что все процессы обмена протекают не изолированно, а в водно-минеральном растворе, составляющем более 60 % массы тела взрослого человека. Естественно, что особенности минерального обмена тесным образом взаимосвязаны с остальными видами обмена.

**Вода** (оксид водорода) — одно из важнейших для жизни неорганических соединений кислорода. Антуану де Сент-Экзюпери принадлежат замечательные слова: «Вода, у тебя нет ни вкуса, ни цвета, ни запаха, тебя невозможно описать, тобой наслаждаются, не ведая, что ты такое! Нельзя сказать, что ты необходима для жизни: ты — сама жизнь. Ты наполняешь нас радостью, которую не объяснишь нашими чувствами... Ты самое большое богатство на свете...».

Все биохимические реакции протекают в водной среде, поэтому жизнь без воды невозможна. Нет ни одного известного организма, который мог

бы обходиться без воды. Вода составляет примерно 60 % массы тела у мужчин и 55 % у женщин, что соответствует более высокому содержанию жира в женском организме. Вода в организме распределена следующим образом: 42 % воды приходится на *внутриклеточную* жидкость, а остальная часть — на *внечклеточную* жидкость. Внечклеточную жидкость, в свою очередь, подразделяют на *внутрисосудистую* и *межтканевую*, или *интерстициальную*, жидкость. Распределение воды по органам и тканям различно. На мускулатуру приходится  $\sim 1/2$ , на скелет  $\sim 1/8$ , на кровь  $\sim 1/20$  всей воды организма. В зависимости от того, в каком состоянии вода находится в организме, различают три ее формы:

- *свободная*, составляющая основу внутри- и внечклеточной жидкости;
- *связанная*, входящая в состав коллоидных и гелеобразных структур;
- *конституционная*, входящая в ближние сольватные оболочки белков, жиров, углеводов и других веществ (например, 1 г гликогена содержит в своем составе около 1,5 мл воды, а 1 г белка — 3 мл воды).

Вода служит не только средой, в которой протекают все биохимические процессы, но и активным участником этих процессов. При обезвоживании в организме происходят необратимые изменения и он погибает быстрее, чем лишенный пищи. Потеря 20 — 25 % воды вызывает гибель организма, в то время как потеря 50 % массы тела не приводит к его гибели.

Пища — основной источник воды для организма. Потребность в воде взрослого человека, по некоторым оценкам, составляет около 35 г в день на 1 кг массы тела (т. е. для человека массой 70 кг необходимо приблизительно 2 кг воды). Но как и любая потребность человека в биологически активных веществах, потребность в воде зависит от многих факторов: возраста, состояния организма (нормального, патологического), места жительства, погодных условий, физических нагрузок и др. Кроме того, в процессе окисления жиров, белков и углеводов выделяется так называемая *метаболическая* вода. При окислении 100 г углеводов образуется приблизительно 55 мл  $H_2O$ , 100 г белков — 41 мл  $H_2O$ , 100 г жира — 107 мл  $H_2O$ .

Какое количество воды поступает и образуется в организме, такое же количество должно из него выводиться. Ниже представлен приблизительный суточный баланс воды в организме человека (в мл)\*:

<i>Неизбежные потери</i>		<i>Источники поступления</i>	
Кожа .....	500	Метаболическая вода .....	400
Легкие .....	400	Минимум воды, поступающей	
Кишечник .....	100	с пищей .....	1100
Почки .....	500		
Итого .....	1500	Итого .....	1500

При дыхании через легкие потеря воды составляет  $\sim 400$  мл (при усиленной мышечной работе это количество возрастает примерно в 10 раз), через кожные покровы теряется около 500 мл воды в сутки. Желудочно-

---

\* Минимальное потребление воды, необходимос для поддержания водного баланса в организме, составляет примерно 1100 мл. В действительности с потребляемой пищей и жидкостями в организм поступает большее количество воды, и ее избыток выводится с мочой.

кишечный тракт выделяет приблизительно 8000 мл водного раствора пищеварительных соков (почти в 2 раза больше объема плазмы крови), большая часть которых всасывается обратно. Почки выделяют в сутки около 500 мл водно-электролитного раствора.

Незаменимая роль воды в жизни организмов связана с ее уникальными физико-химическими свойствами, которые обусловлены особенностями молекулярного строения. Выделим и рассмотрим основные свойства воды, которые делают ее уникальной средой организма.

Высокая теплоемкость [ $75,3 \text{ Дж}/(\text{моль} \cdot \text{К})$ ] и большая теплота испарения ( $40,8 \text{ кДж}/\text{моль}$ ), а также высокая теплопроводность, значения температуры кипения (последние измерения показывают, что температура в точке кипения воды равна  $99,975^\circ\text{C}$ ) и плавления ( $0^\circ\text{C}$ ) воды обеспечивают работу механизмов терморегуляции организма за счет процессов испарения, передачи тепла между различными тканями организма и позволяют сохранять постоянной температуру тела при изменении температуры окружающей среды.

Большое поверхностное натяжение воды ( $71,96 \cdot 10^{-3} \text{ Н/м}$ ) обеспечивает капиллярные явления, позволяющие питательным веществам поступать по капиллярам растений от корня к побегам и по сосудам в организм животных и человека.

Высокая диэлектрическая проницаемость ( $\epsilon^{298} = 78,25$ ) и большой дипольный момент молекул воды ( $1,82 \text{ Д}$ ), а также способность образовывать четыре водородные связи (две — как донор и две — как акцептор протонов) делают ее универсальным растворителем для электролитов и неэлектролитов, содержащих гидрофильные группы.

Вследствие диссоциации электролиты в водной среде находятся в виде гидратированных ионов, что обуславливает высокие скорости протекания биохимических процессов, большую скорость переноса ионов через клеточные мембраны и практически мгновенную передачу нервных импульсов. Благодаря этим свойствам вода участвует в образовании определенных структурных ассоциатов, определяющих структуру как самой

воды, так и ее растворов, содержащих неорганические электролиты и биополимеры (рис. 15.6). Наличие в воде ассоциатов, имеющих разную структуру и стабильность, обуславливает еще одну ее уникальную особенность — структурно-информационную память воды. Эта особенность воды, по мнению некоторых ученых, может определять причины не до конца изученных на настоящий момент изменений физико-химических свойств, биологических и физиологических функций биожидкостей, возникающих при воздействии астрогелиогеофизических факторов, гомеопатических препаратов или в процессе сеансов экстрасенсорики.



Рис. 15.6. Соотношение между различными формами воды в организме

Суммируя сказанное, можно выделить следующие главные биохимические функции воды:

- 1) растворитель и стабилизатор биологических молекул и ионов;
- 2) регулятор теплового баланса в организме;
- 3) транспортная;
- 4) механическая, способствующая сохранению внутриклеточного давления и формы клеток;
- 5) структурная;
- 6) синтетическая и гидролитическая — как субстрат в синтезе или разрушении биомолекул;
- 7) электронодонорная — как источник электронов при трансформации энергии.

В научной и медицинской практике широко используется **дистиллированная вода** — бесцветная прозрачная жидкость без запаха и вкуса, с  $pH = 5,2 \div 6,8$ , которая, в частности, применяется для приготовления многих лекарственных препаратов.

**Вода для инъекций**, или **апирогенная вода**, не содержит пирогенных веществ. **Пирогенные вещества** — это вещества бактериального происхождения — метаболиты или продукты жизнедеятельности бактерий, которые, попадая в организм, вызывают различные заболевания. Апирогенную воду получают двойной перегонкой (**бидистиллят**) с соблюдением асептических условий и используют в течение 24 ч.

## 15.5. МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН

Под **минеральным обменом** понимают взаимосвязанные процессы всасывания, распределения, усвоения, метаболизма и выделения из организма минеральных веществ. Напомним (см. главу 4), что минеральные или неорганические соединения в живом организме присутствуют в основном в трех различных формах: 1) растворенном состоянии в жидкостях организма в виде гидратированных ионов; 2) в составе комплексов с биолигандами; 3) в виде нерастворимых отложений (например, в составе костной ткани). Ионный состав некоторых биожидкостей приведен в табл. 15.1.

Таблица 15.1. Ионный состав некоторых биологических жидкостей (в ммоль/л)

Биожидкость	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Плазма крови	140	5	2,5	105	27
Цереброспинальная жидкость	140	3	1,3	120	21
Синовиальная жидкость	140	4	—	120	25
Асцитическая жидкость	135	3,5	1,8	105	30
Пот	75	5	2,5	75	—
Слезная жидкость	140	5	—	115	20
Слюна	60—100	7—20	1,5—4,0	60—80	10—20

Биожидкость	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Желудочный сок	20—60	6-7	—	145	—
Панкреатический сок	150	7	3	80	80
Моча	150	36	5	160	—

Минеральные вещества играют важную роль в поддержании кислотно-основного равновесия, осмотического давления, в работе системы свертывания крови, регуляции многочисленных ферментных систем и т. д. Таким образом, обмен минеральных веществ играет решающую роль в создании и поддержании гомеостаза.

Исходя из материала, изложенного в главе 4, можно выделить следующие главные функции минеральных веществ в организмах:

- 1) пластическая (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>);
- 2) поддержание осмотического давления (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>);
- 3) регуляция кислотно-основного равновесия в составе буферных систем биожидкостей (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>);
- 4) обеспечение коллоидного состояния тканевых структур (все элементы);
- 5) проведение нервного импульса (K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>);
- 6) регуляция активности ферментов (кофакторы, ингибиторы);
- 7) регуляция гормональной активности (иод, цинк и кобальт входят в состав гормонов).

Рассмотрим особенности основных метаболических путей минеральных веществ. Минеральные вещества поступают в организм в свободном или связанном виде. Большая часть минеральных веществ всасывается в кишечнике путем активного транспорта; в желудке всасываются только сольватированные ионы. Затем всосавшиеся минеральные соединения из желудочно-кишечного тракта поступают в кровь и лимфу, где связываются со специфическими транспортными белками. Из организма минеральные вещества выделяются главным образом в виде солей и ионов: с мочой — элементы натрия, калий, кальций, магний, хлор, кобальт, иод, бром, фтор; с калом — железо, кальций, медь, цинк, марганец, молибден и др.

Минеральный состав биологических жидкостей организма, а также основные и специфические функции важнейших неорганических форм различных биоэлементов рассмотрены в главе 3; здесь мы остановимся на вопросах регуляции кислотно-основного равновесия жидкостей организма с участием неорганических буферных систем.

**Регуляция кислотно-основного равновесия.** Кислотно-основное равновесие, обеспечивающее постоянство значений pH водных растворов организма, необходимое для нормального протекания биохимических процессов, обеспечивается буферными системами жидкостей организма (крови и тканей). Напомним, что буферная система представляет собой сопряженную кислотно-основную пару (донор-акцептор протонов), образованную слабой кислотой и ее солью или слабым основанием и солью с одно-

именным катионом. В живых организмах постоянство рН внутриклеточной жидкости поддерживается в основном за счет белковой (см. главу 1) и фосфатной буферных систем, а постоянство рН крови определяется работой гидрокарбонатной, фосфатной, белковой и гемоглобиновой буферных систем. Установлено, что состоянию нормы соответствует диапазон колебаний рН крови, равный 7,37 — 7,44, при средней величине 7,4. Коротко остановимся на особенностях работы вышеперечисленных буферных систем жидкостей организма.

**Гидрокарбонатная буферная система** — одна из наиболее управляемых и мощных (10 % буферной емкости крови) буферных систем крови. Составляет из угольной кислоты  $\text{H}_2\text{CO}_3$  (донор протона) и бикарбонат-иона  $\text{HCO}_3^-$  (акцептора протона). Поведение данной буферной системы с учетом уравнения Гендерсона — Хассельбаха можно описать следующим образом:

$$\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-;$$

$$\text{pH} = \text{p}K_{\text{H}_2\text{CO}_3} + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}.$$

Так как  $\text{p}K_{\text{H}_2\text{CO}_3} = 6,3$ , то данная буферная система наиболее эффективно работает, когда рН крови изменяется в кислой области и поддерживает физиологическое значение рН крови при соотношении  $[\text{HCO}_3^-] : [\text{H}_2\text{CO}_3] = 20 : 1$ . Механизм действия данной системы заключается в том, что при выделении в кровь кислых продуктов метаболизма (органические кислоты) равновесие сдвигается в сторону образования угольной кислоты. Последующее снижение концентрации  $\text{H}_2\text{CO}_3$  достигается в результате ускоренного выведения  $\text{CO}_2$  через легкие (гипервентиляция). При выделении в кровь основных продуктов они взаимодействуют с угольной кислотой с образованием воды и бикарбонатов, избыток которых выводится почками. В то же время в результате гиповентиляции легких в крови задерживается избыточное количество углекислого газа, который, растворяясь в воде, компенсирует израсходованную на нейтрализацию угольную кислоту. Таким образом, соотношение  $[\text{HCO}_3^-] : [\text{H}_2\text{CO}_3]$  и рН крови не изменяются.

**Фосфатная буферная система** состоит из ионов  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (донор протонов) и  $\text{HPO}_4^{2-}$  (акцептор протонов):

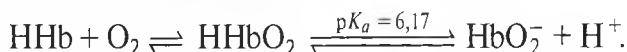
$$\text{H}_2\text{PO}_4^- \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HPO}_4^{2-};$$

$$\text{pH} = \text{p}K_{\text{H}_2\text{PO}_4^-} + \lg \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}.$$

При физиологических значениях рН крови соотношение  $[\text{HPO}_4^{2-}] : [\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  при  $\text{p}K_{\text{H}_2\text{PO}_4^-} = 6,86$  составляет 4 : 1. На эту систему приходится лишь 1 % буферной емкости крови, и она эффективна при  $\text{pH} = 6,1 \div 7,7$ . Органические фосфаты также обладают буферными свойствами, но их

мощность меньше, чем мощность фосфатной буферной системы, образованной неорганическими фосфат-анионами.

**Гемоглобиновая буферная система** — это основная и наиболее мощная (75 % буферной емкости) эритроцитарная буферная система крови. Она состоит из неионизированного гемоглобина  $\text{Hb}$  (слабая органическая кислота, донор протонов) и калиевой соли гемоглобина  $\text{KHb}$  (сопряженное основание, акцептор протонов). Действие гемоглобиновой и бикарбонатной буферных систем строго взаимосвязано, что имеет важное биологическое значение. В тканевых капиллярах такое взаимодействие обеспечивает сохранение бикарбонатов, т. е. щелочных резервов крови. В легких гемоглобин вытесняет из бикарбонатов угольную кислоту и тем самым понижает щелочные резервы крови. Константа диссоциации кислотных групп белка гемоглобина меняется в зависимости от степени насыщения его кислородом (см. главу 5). Оксигенация гемоглобина приводит к сдвигу  $pK_a$  ряда кислотных групп гемоглобина с 7,71 до 6,17, т. е. оксигемоглобин является более сильной кислотой, чем неоксигенированный гемоглобин. Таким образом, присоединение кислорода способствует диссоциации кислотных групп в гемоглобине:



Физиологическое значение этих реакций очень велико.

Диоксид углерода, образующийся в процессе обмена веществ, поступает из тканей в кровь (рис. 15.7). Повышение парциального давления  $\text{CO}_2$  в крови способствует его проникновению в эритроциты, где  $\text{CO}_2$  под действием *карбоангидразы* (на рис. 15.7 обозначена Е) гидратируется с образованием  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , которая диссоциирует по первой ступени. Освободившийся протон присоединяется к иону  $\text{HbO}_2^-$ , входящему в состав  $\text{KHbO}_2$ . Редуцированный  $\text{Hb}$  теряет сродство к  $\text{O}_2$  и отдает его в плазму, а затем

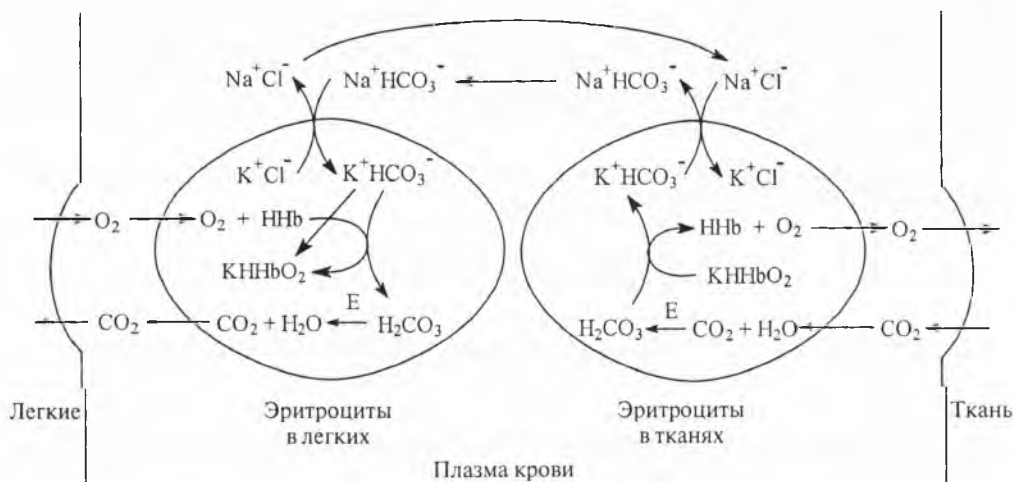
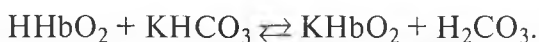


Рис. 15.7. Схема участия гемоглобина эритроцитов в транспорте  $\text{O}_2$  и  $\text{CO}_2$ ; Е — фермент карбоангидраза

в ткани. Положительный заряд высвободившихся ионов  $K^+$  компенсируется присутствующими в клетке эритроцита анионами  $HCO_3^-$  и  $Cl^-$ . Избыток анионов  $HCO_3^-$ , возникший в результате диссоциации  $H_2CO_3$ , выводится из эритроцита в плазму крови, где взаимодействует с ионами  $Na^+$ , замещая при этом хлорид-анион в  $NaCl$ . В дальнейшем содержание  $HCO_3^-$  в плазме крови регулируется гидрокарбонатной буферной системой. Противоположный процесс протекает в капиллярах легких. В альвеолах парциальное давление кислорода выше, чем парциальное давление  $CO_2$  в венозной крови. Кислород поступает в кровь, а затем в эритроциты, где взаимодействует с гемоглобином. Кислотные группы белковой части оксигемоглобина диссоциируют с образованием протонов и аниона  $HbO_2^-$ , который вытесняет анион из  $KHCO_3$ :



Диоксид углерода, образующийся при разложении угольной кислоты, выводится в плазму крови, а затем в легкие. Уменьшение концентрации гидрокарбонат-ионов в эритроцитах компенсируется за счет поступления их из плазмы крови в процессе замещения на анионы  $Cl^-$ .

Таким образом, существует тесная взаимосвязь между снабжением тканей кислородом и выведением из них углекислого газа благодаря участию гемоглобина в обоих процессах, что составляет молекулярную основу эффекта Бора (см. главу 5).

**Нарушения кислотно-основного равновесия.** Все буферные системы препятствуют нарушению кислотно-основного равновесия в организме. Но оно может нарушиться при накоплении продуктов метаболизма, например кетоновых тел или органических кислот. Это патологическое состояние называется *метаболическим ацидозом*. Он сопровождается снижением концентрации щелочных резервов крови, так как кислоты вытесняют из гидрокарбонатов угольную кислоту. *Газовый ацидоз* наблюдается вследствие накопления угольной кислоты в организме, из-за чего происходит увеличение концентрации щелочных резервов крови. Накопление щелочных веществ в крови называют *алкалозом*, который имеет те же формы — *метаболическую* и *газовую*. Первая сопровождается накоплением основных веществ крови, вторая развивается при гипервентиляции легких, приводящей к повышенному выведению  $CO_2$  из организма.

## Контрольные вопросы и задания

1. Опишите особенности структурной организации клеточных мембран. Из каких биомолекул состоят мембраны клеток?
2. Какие виды транспорта биомолекул через клеточные мембраны вам известны?
3. К какому виду транспорта относится перенос ионов калия и натрия через мембрану клетки с помощью ( $Na^+$ ,  $K^+$ )-насоса?
4. В чем заключается рецепторная функция биомембран?
5. Обоснуйте взаимосвязь физико-химических свойств и биологических функций воды.
6. Что понимают под обменом минеральных веществ?
7. Какие системы регуляции кислотно-основного равновесия обеспечивают постоянство значений pH водных растворов живых организмов и в чем заключаются особенности их действия?



---

---

## Раздел III

# МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ВАЖНЕЙШИХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

*В настоящем разделе рассматриваются молекулярные основы важнейших физиологических процессов функционирования нервной, мышечной, иммунной систем, которые наряду с дыханием, фоторецепцией и другими процессами метаболизма обеспечивают жизнь организмов в условиях окружающей среды.*

*В главе 16 излагаются химические аспекты структурно-функциональной организации нервной системы, при этом особое внимание обращается на химические основы возникновения и передачи нервных импульсов, молекулярной рецепции, кратко рассматриваются современные представления о механизмах памяти, обучения, эмоций и ощущений (вкуса, запаха). Содержание данной главы логически взаимосвязано с содержанием последующих глав раздела.*

*Глава 17 раскрывает молекулярные механизмы процессов мышечного сокращения, при этом особое внимание обращается на сформировавшуюся в ходе эволюции уникальную роль белков в генерировании движения живых организмов.*

*Химические аспекты формирования иммунных реакций живых организмов на внутренние и внешние воздействия раскрываются в главе 18.*

## Глава 16

### Биохимия нервной системы

#### 16.1. НЕРВНАЯ СИСТЕМА И ЕЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

Наука стремится понять природу и человека. Но возможности понимания «самих себя» закодированы в особых способах функционирования мозга — наиболее сложного органа, являющегося источником и координатором всех наших мыслей, эмоций, ощущений, поведения, памяти и, наконец, самоосознания. Исследование мозга — это единственный пример в научном эксперименте, в котором инструмент должен исследовать самого себя. Если отбросить философские вопросы, касающиеся поня-

тий «сознание», «ум», «понимание», и взглянуть на мозг как на многоклеточную структуру, то на настоящем этапе развития науки можно убедительно доказать, что для досконального изучения этой системы с успехом может быть применен весь арсенал биохимических средств. Последние десятилетия ознаменовались стремительным прогрессом в области познания структурно-функциональной организации нервной системы и ее высшего отдела — головного мозга — самой сложной из живых структур на Земле. Практически все основные аспекты изучения нервной системы — такие, как строение и механизмы функционирования нервных клеток и передачи через них химических сигналов, молекулярные процессы, лежащие в основе эмоций, обучения и памяти и, наконец, механизмы воздействия различных биологически активных веществ (нейромедиаторов, наркотиков, ядов, лекарственных препаратов) на нервные клетки и организм в целом, — являются проблемами *нейрохимии*. Эта непрерывно развивающаяся и увлекательная область науки должна быть неотъемлемой частью мировосприятия любого современного ученого-химика.

Мозг человека состоит из  $10^{11}$  взаимосвязанных *нервных клеток* — *нейронов*. В составе нервной системы миллиарды нервных клеток выполняют роль передающих сигналы устройств, соединенных многими метрами живых проводов с тысячами заранее определенных «слушателей».

*Нейрон* является функциональной единицей нервной системы. Основная функция нейрона состоит в распространении и интеграции кодированной информации. Элементарным проявлением активности нейрона служит его *возбуждение*, которое сопровождается химическими, электрохимическими и тепловыми изменениями. Нейроны (рис. 16.1) характеризуются неправильными очертаниями и состоят из *тела клетки*, *концевых пластинок* и *отростков*, которые, как

«живые провода», образуют нейронные цепи. Каждый нейрон связан с другими нейронами нервной ткани с помощью двух типов отростков — *аксонов* и *дендритов*. Аксон — главный длинный отросток, а дендриты — короткие отростки центральной части нейрона. Дендриты передают возбуждение к нейрону, а аксоны — к периферии. Отростки представляют собой полые трубки, образованные мембраной и наполненные цитоплазмой, которая движется внутри аксона по направлению к пластинкам, увлекая за собой белки-ферменты, синтезирующиеся в теле нейрона и катализирующие синтез *нейромедиаторов* в концевых пластинках. Нейромедиаторы — это вещества, благодаря которым происходит передача возбуждения от одного нейрона к другому. Нейромедиаторы запасаются в *синаптических пузырьках*



Рис. 16.1. Схематическое изображение нейрона

(везикулах) и, будучи защищенными мембраной, не проявляют биологической активности. В настоящее время общее признание получила *везикулярная гипотеза* освобождения нейромедиатора, по которой передача возбуждения от одной нервной клетки к другой происходит за счет химического агента нейромедиатора, который концентрируется в синаптических везикулах (диаметром около 50 нм) и выделяется из них посредством экзоцитоза.

Синаптические пузырьки расположены в окончаниях аксона — *синапсах*, имеющих форму луковицы. В настоящее время под синапсом понимают специфическое место контакта (межклеточного мембранного соединения) одной возбудимой клетки с другой, в котором происходит процесс передачи информации путем изменения потенциала мембраны. В таких синапсах одна клетка (*пресинаптическая*) обладает способностью синтезировать и выделять нейромедиатор в окружающую среду, а другая (*постсинаптическая*) — взаимодействовать с ним и реагировать на такое взаимодействие специфической реакцией в виде изменения своего мембранного потенциала. Синапс одного аксона соединяется с дендритным концом другого, образуя соединение с узким (20 — 30 нм) зазором, называемым *синаптической щелью*, где с помощью нейромедиаторов происходит передача возбуждения от одной клетки к другой. В головном мозге человека общее число межнейронных контактов — синапсов — составляет порядка  $10^{13}$  —  $10^{14}$ . Более половины поверхности нейрона, включая дендриты и аксоны, занято синапсами. Дендриты имеют входные синапсы, содержащие рецепторы медиаторов, т. е. участки белковой поверхности, обладающие стереохимическим сродством к молекулам медиаторов.

Аксоны периферических нервов покрыты миелиновой оболочкой, образующей клетки Шванна, в то время как аксоны ЦНС не покрыты миелином. Миелин представляет собой остаток мембран мертвых клеток. Около 78 % миелина составляют липиды (фосфолипиды, цереброзиды и холестерин), а остальное количество (приблизительно 22 %) — белки трех типов: гликопротеины, основные белки и белки с высокой молекулярной массой. Такой состав миелина придает мембране нейрона хорошие термо- и электроизоляционные свойства.

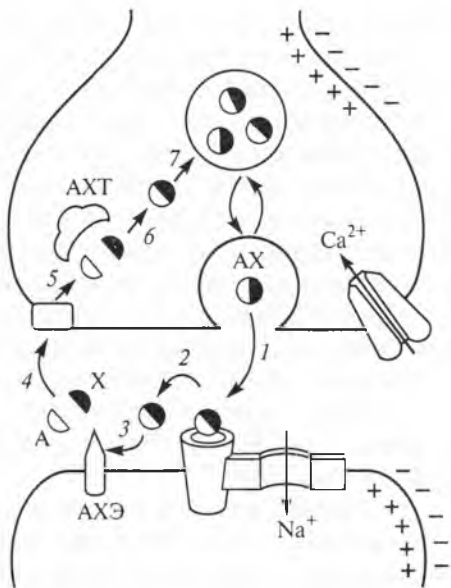
В общем случае механизм функционирования нервной системы можно представить следующим образом. Поток афферентных импульсов поступает в мозг от органов чувств, а также от мышц, сухожилий, сердца, кровеносных сосудов, желез, где имеются нервные окончания, реагирующие на изменения конформации белков вследствие физических воздействий, химического состава среды, давления, температуры. В результате в мозге формируется поток ответных афферентных импульсов, в конечном счете регулирующих функции отдельных органов и поведение организма в целом.

## 16.2. МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ И ПЕРЕДАЧИ НЕРВНОГО ИМПУЛЬСА

В самом общем виде комплекс сложнейших биохимических и биофизических молекулярных процессов, происходящих в синапсе, представлен на рис. 16.2. Эта схема касается синапсов, в которых синаптическая

**Рис. 16.2. Последовательность процессов при синнагической передаче возбуждения нейромедиатора — ацетилхолина (АХ):**

1 — перемещение АХ из синаптических везикул путем экзоцитоза в синаптическую щель и его взаимодействие с ацетилхолиновыми рецепторами постсинаптической мембраны; 2 — освобождение АХ из ацетилхолиновых рецепторов; 3 — разделение АХ под действием ацетилхолинэстеразы (АХЭ) на ацетат (А) и холин (Х); 4 — поступление Х и А путем активного транспорта обратно в нервное окончание; 5, 6 — синтез АХ из Х и А при участии ацетилхолинтрансферазы (АХТ); 7 — поступление АХ в синаптические везикулы



передача осуществляется с помощью таких медиаторов, как *ацетилхолин, глутамат,  $\gamma$ -аминомасляная кислота, глицин и биогенные амины* (классические медиаторы). Везикулярная теория постулирует следующую последовательность молекулярных процессов, происходящих в возбужденном нейроне:

- 1) достижение содержания медиаторов в синаптических везикулах нервных окончаний около 100 ммоль/л;
- 2) освобождение везикулярного медиатора путем слияния мембраны везикулы с пресинаптической мембраной (*экзоцитоз*);
- 3) рециклизация везикул за счет работы активных транспортных систем.

Типичный экзоцитоз сопровождается полным слиянием везикулы с пресинаптической мембраной и выбрасыванием нейромедиатора в синаптическую щель. Процесс освобождения медиатора зависит от присутствия ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . В покое внутриклеточная концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$  ничтожно мала и поддерживается системами активного транспорта кальция из нервного окончания. При возбуждении нейрона происходят кратковременное открытие кальциевых каналов и поступление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в нервное окончание. Эти ионы взаимодействуют со специфическими белками синаптической везикулы и пресинаптической мембраны, инициируя тем самым экзоцитоз и освобождение медиаторов. Для осуществления экзоцитоза необходимо создание критической (достаточно высокой) концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  около везикул в очень короткий промежуток времени, поэтому вероятность освобождения медиатора невелика: из 50 готовых для экзоцитоза везикул возбуждается не более одной.

Процесс рециклизации везикул достаточно быстрый, он занимает не более 1 мин и обеспечивается активным транспортом медиатора внутрь везикулы за счет электрохимического градиента, формируемого протонным насосом, встроенным в везикулярную мембрану.

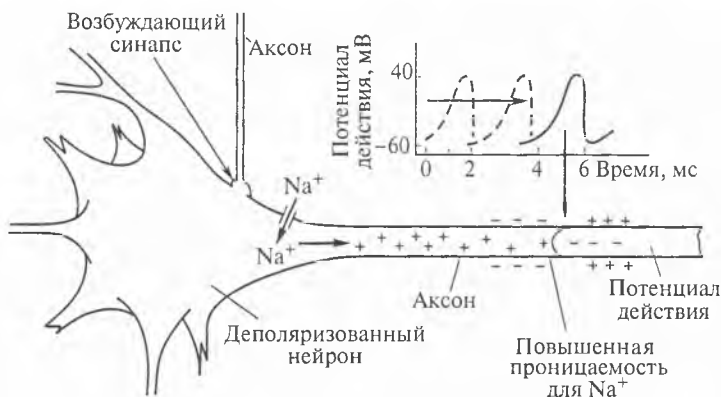
Процесс передачи импульса от аксона одного нейрона на рецепторную поверхность другого в синаптической щели (*синаптическая передача*) имеет чисто химическую природу. Он заключается в том, что посыла-

ющая сигнал клетка выделяет на рецепторную поверхность воспринимающего нейрона молекулы нейромедиатора — молекулярного посредника. Нейромедиатор замыкает цепь в синаптической щели, восстанавливая структурный разрыв между передающей и воспринимающей клетками. Это происходит благодаря тому, что молекулы нейромедиаторов за счет специфических и универсальных взаимодействий образуют молекулярные комплексы с рецепторной белковой поверхностью, что вызывает ряд конформационных изменений в структуре белка и, как следствие, изменение проницаемости мембраны по отношению к различным ионам.

Протеканию данных процессов способствует особый состав мембраны нейрона. Двойной липидный слой мембраны в своей внешней части образован сфинголипидами, которые (особенно сульфатиды) способны создавать кольцевое окружение функциональных белковых агрегатов (например,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы) и облегчать избирательный транспорт ионов через мембрану.

Нейроны, как и все живые клетки, обладают свойством «электрической полярности»: за счет работы ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ )-насоса внутренняя поверхность мембраны нейрона заряжена отрицательно относительно ее наружной поверхности. В результате устанавливается динамическое равновесие, при котором электрохимический трансмембранный градиент равен нулю, а распределение зарядов неравномерно: на внутренней поверхности мембраны образуется избыток отрицательных зарядов, снаружи — избыток положительных, т. е. возникает трансмембранная разность электрических потенциалов — *потенциал покоя*, величина которого составляет 60 — 70 мВ. Присоединение нейромедиатора открывает мембранные каналы, что позволяет ионам  $\text{Na}^+$  беспрепятственно и в больших количествах проникать внутрь клетки. В результате всего за 0,001 с внутренняя поверхность нейрона оказывается заряженной положительно. Это кратковременное состояние перезарядки нейрона называется *потенциалом действия*, или *нервным импульсом* (рис. 16.3). Потенциал действия достигает 50 — 170 мВ; таким образом, общая амплитуда изменения потенциала от значения в состоянии покоя до максимального значения при раздражении нерва составляет примерно 100 — 150 мВ. В форме потока ионов  $\text{Na}^+$  деполяризация распространяется вдоль аксона как волна активности. По мере распространения волны деполяризации участки аксона претерпевают также последовательную реверсию.

Таким образом, потенциал действия можно описать как поток положительно заряженных ионов натрия, проникающих через мембрану внутрь нейрона и движущихся вдоль аксона. Главное преимущество электрического пути проведения импульса состоит в том, что сигнал распространяется на большие расстояния быстро и без затухания. Достигая окончания аксона, волна деполяризации вызывает выброс молекул медиатора из синаптических пузырьков, и механизм передачи нервного импульса опять приобретает тонкую химическую природу. Нейрон быстро восстанавливает электрохимическое равновесие и возвращается к состоянию с отрицательным потенциалом внутри клетки до следующего сигнала. Таким образом, чрезвычайно малая продолжительность синаптического сопряжения между соседними нейронами позволяет передавать через си-



**Рис. 16.3. Схема деполяризации нейрона и изменение потенциала действия во времени**

наптическую щель за 1 с несколько сотен нервных импульсов, причем все импульсы имеют приблизительно одинаковую амплитуду (см. выше). Информация, полученная аксоном, выражается в числе импульсов в единицу времени (*частота кодирования*).

Импульс, передающийся посредством нейромедиаторов через синаптическую щель, может быть двух типов: возбуждающий действие последующих нейронов или ингибирующий эффект возбуждения других нейронов. Два этих состояния (возбуждение и торможение) различаются химической природой выпущенных из синаптических пузырьков нейромедиаторов.

### 16.3. ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА И ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ

Как отмечалось выше, при коммуникации нервных клеток основные единицы информации передаются специфическими химическими посредниками — синаптическими медиаторами, которые могут оказывать как возбуждающее, так и тормозящее воздействие за счет механизмов, связанных с конформационной и электрической регуляцией свойств мембраны. Количество нейромедиаторов, открытых к настоящему времени, достаточно велико. Уже известно более 30 видов нейромедиаторов различной природы, и число вновь открытых соединений данной группы продолжает увеличиваться с каждым годом.

В ЦНС в небольших количествах содержатся низкомолекулярные нейромедиаторы с простой химической структурой — аминокислоты (первая группа нейромедиаторов). Так,  $\alpha$ -аминокислоты (глутаминовая, аспарагиновая) оказывают на нейроны возбуждающее действие;  $\gamma$ -аминокислоты ( $\gamma$ -аминомасляная кислота — ГАМК) вызывают тормозящий эффект. Такого рода аминокислоты либо поступают в организм с пищей, либо синтезируются в соответствующих нейронах.

Другая группа нейромедиаторов, включающая ацетилхолин и биогенные амины (серотонин, дофамин, норадреналин), образуется путем глубоких химических перестроек аминокислот в процессе их метаболизма (см. главу 12). Их концентрации в ЦНС в 1000 раз ниже, чем медиаторов аминокислотной природы.

Нейромедиаторы третьего типа — пептидные (вазопрессин, окситоцин и др.) — обладают очень высокой селективностью и мощностью действия, хотя и содержатся в ЦНС в очень низких концентрациях. Среди них выделяется группа веществ наркотического действия — *эндорфины* (морфиноподобные пептиды) и *энкефалины*. Действие этих веществ (при эмоциональных нагрузках, депрессии, перевозбуждении, в процессах ощущения и интеграции боли) на клеточном и поведенческом уровне сходно с действием наркотика морфина (см. главу 20). Такое сходство позволяет понять успокоительный эффект действия наркотиков и дает научное объяснение китайской практике иглоукалывания, в процессе использования которой, очевидно, стимулируется эндогенный синтез соответствующих нейромедиаторов. Предполагают также, что действие на мозг ряда биоактивных веществ (наркотиков, транквилизаторов, противосудорожных средств) может имитировать эффект каких-то пока не открытых природных медиаторов, оказывающих обезболивающее действие. Вероятно, рецепторы нейронов не в состоянии отличить «поддельный» медиатор от истинного в силу их высокого структурного сходства или по ряду других причин. В настоящее время многие исследователи проводят активный поиск веществ, обладающих таким типом активности. Согласно приближенным оценкам, возможно существование сотен эндогенных медиаторов.

Важнейшая область биохимических исследований, которой занимается *нейрохимическая патология*, связана с химическим анализом причин, вызывающих патологию мозга, возникающую под влиянием следующих факторов: 1) дефицит или избыток известного или еще не обнаруженного медиатора; 2) аномалии в химической структуре медиаторов и рецепторных поверхностей клеток; 3) разрыв в нормальной цепи ферментативных реакций, ведущий к синтезу необычных, чужеродных организму биологически активных веществ, и др.

## 16.4. ХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАМЯТИ

От всех перечисленных выше явлений, имеющих конкретную физико-химическую природу и образующих в итоге нервную систему организма, зависит способность мозга управлять поведением и осуществлять психическую деятельность, т. е. способность живого существа воспринимать окружающую его действительность и адаптироваться к ней, для того чтобы воспроизвести потомство, поддержать существование рода и т. д. В результате этого можно заключить, что молекулярные явления, лежащие в основе психической деятельности живых существ, составляют фундаментальную и неотъемлемую часть эволюционного процесса.

Память не сосредоточена в одном, строго локализованном участке мозга, подобном центрам зрения или слуха. Субстратом памяти являются

нейроны. Познание как процесс отражается на химизме мозговых нейронов и проявляется, например, в изменении содержания уридина в РНК, степени метилирования ДНК, фосфорилирования сложных белков ядер клеток, синтезе новых белков, нейромедиаторов, РНК и других биологически активных молекул. Принято выделять три формы биологической памяти: *генетическая* (ее носитель — ДНК), *иммунологическая* (включает генетическую, но имеет более высокий уровень) и *нейрологическая*. Последняя форма памяти наиболее сложная, в ней условно разделяют *кратковременную* и *долговременную* формы. В основе кратковременной памяти лежит циркуляция импульсов информации по замкнутым цепям нейронов. Включение белков долговременной памяти обеспечивается примерно через 10 мин после прихода информации в клетку и заключается в целенаправленном синтезе РНК, специфических белков и установлении новых синаптических связей; именно синтезированные в результате этого процесса биологически активные молекулы являются хранилищем информации в организме.

## 16.5. ХИМИЯ ОЩУЩЕНИЙ

В основе всех ощущений лежат химические явления, определяющие активность нейронов центральной нервной системы.

**Ощущение вкуса.** Ощущение вкуса может служить примером *хеморецепции*. Язык взрослого человека содержит около 9000 вкусовых сосочков, каждый из которых состоит из 50 — 100 специализированных клеток-посредников, соединенных с нейронами и отвечающих за восприятие четырех основных вкусовых ощущений (сладкий, соленый, кислый и горький вкус), вызываемых различными веществами.

Необходимыми условиями проявления вещества какого-либо вкуса являются: достаточно хорошая растворимость в воде и наличие определенного пространственного расположения в молекуле атомов, обладающих выраженными донорно-акцепторными свойствами.

Ответственные за **сладкий вкус** фрагменты молекул называются *глюкофорами*. Предполагается, что структура глюкофора соответствует структуре белка-рецептора клетки-посредника. Когда «сладкая» молекула взаимодействует (в основном за счет водородных связей) с соответствующими радикалами белка, происходит изменение его надмолекулярной структуры. Возникший в результате этого сигнал передается с клетки-посредника на сопряженный с ней нейрон и далее через систему нейронов — в мозг. В настоящее время предложено несколько моделей структурно-функциональной организации глюкофоров. Одна из них представлена на рис. 16.4.

«Сладкий вкус» у молекулы, обладающей звеном представленной здесь формы, наблюдается только в том случае, если расстояние между атомами, вступающими в донорно-акцепторное взаимодействие с соответствующими радикалами рецептора, составляет  $3 \cdot 10^{-8}$  см. В этой модели в качестве электроноакцепторных атомов могут выступать кислород и азот. Такой «ключ» в структуре глюкофора хорошо подходит к «замку» соответ-



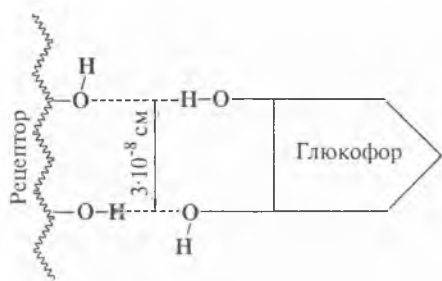


Рис. 16.4. Модель структурно-функциональной организации глюкофора

козы, что, вероятно, связано с наличием в ее молекуле двух глюкофоров, ориентация которых предпочтительна для взаимодействия сразу с двумя рецепторами. Крахмал, хотя и содержит множество глюкофоров, не дает сладкого вкуса, так как большие размеры его полимерной молекулярной цепи не позволяют отдельным остаткам глюкозы приблизиться к рецепторам и сформировать нужную структуру. Сладкий вкус вызывают молекулы многоатомных спиртов (этиленгликоль, глицерин, сорбит), ряда  $\alpha$ -аминокислот. Но у аминокислот, в молекулах которых аминогруппа удалена от  $\alpha$ -карбоксильной группы ( $\gamma$ -аминокислоты), сладкий вкус, как правило, отсутствует. Вкус может зависеть также и от стереохимии аминокислот. Так, все D-аминокислоты — «сладкие», а соответствующие L-аминокислоты могут вызвать сладкий, горький вкус или быть безвкусными. Растворы некоторых солей (соли бериллия, тетраацетат свинца) также обладают сладким вкусом. Аналогичный эффект дает очень разбавленный раствор NaCl.

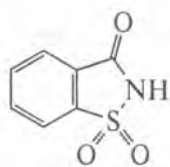
Первым среди соединений, способных выступать в роли заменителя сахаров, был открыт *сахарин* (1879 г.). Сахарин представляет собой имид *o*-сульфобензойной кислоты (бесцветные кристаллы), который в 400—500 раз слаще сахарозы, но имеет неприятный металлический привкус. Сахарин не включается в метаболические процессы и выводится из организма с мочой в неизменном виде. В середине XX в. он использовался в виде натриевой соли, хорошо растворимой в воде. Если в молекуле сахараина провести метилирование NH-группы, то сладкий вкус утрачивается, из чего следует, что атом водорода, входящий в состав этой группы, участвует в донорно-акцепторном взаимодействии с рецептором. Другим представителем искусственных заменителей сахаров является *цикламат*, который в 30 раз слаще сахарозы. Однако в процессе метаболизма он дает циклогексиламин — производное циклогексана, обладающее канцерогенными свойствами, в связи с чем во многих странах его применение запрещено.

Большие преимущества имеются у пептидных соединений, проявляющих сладкий вкус, одним из них является *аспартам* (торговое название — *нутрисвит*), представляющий собой производное двух природных аминокислот: аспарагиновой и фенилаланина. Это соединение в 100—200 раз слаще сахарозы и является источником необходимых для организма аминокислот. Однако, как и все пептиды, он чувствителен к нагреванию, под

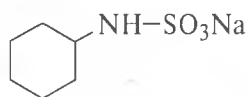
ствующего рецептора. Остальная часть молекулы данного вещества, которая, как правило, представлена углеводородной группировкой, должна быть не слишком объемной, чтобы не создавать стерических препятствий для доступа глюкофора к рецепторной поверхности белка. Наилучшим образом удовлетворяет этим требованиям циклическая форма молекулы фруктозы, вкус которой ощущается как наиболее сладкий из сахаров. Сахароза в 1,5 раза слаще глю-

действием которого медленно разлагается. Поэтому подслащенные аспартамом безалкогольные напитки имеют ограниченный срок годности.

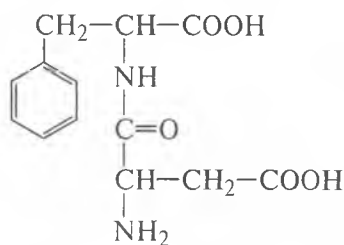
Формулы сахараина, цикламата и аспартама имеют вид:



Сахарин



Цикламат



Аспартам

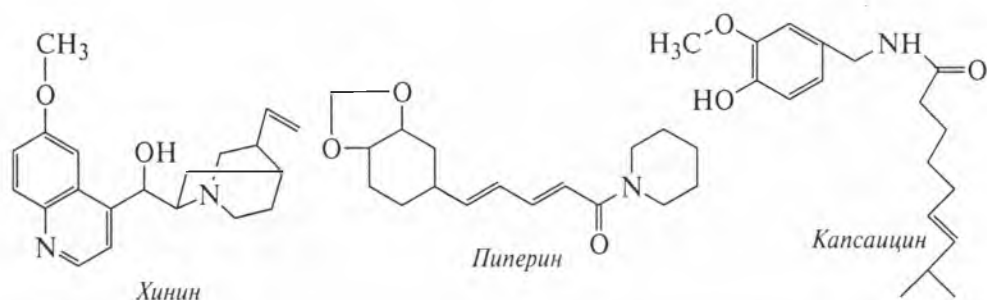
**Кислый вкус** обусловлен присутствием ионов водорода, образующихся при диссоциации различных кислот (например, уксусной, угольной или фосфорной), добавляемых к напиткам типа колы для улучшения вкусовых качеств. Предполагают, что вкусовые рецепторы, расположенные на боковой части языка, содержат большое количество ионизированных при pH ротовой полости карбоксильных групп ( $-\text{COO}^-$ ). В кислой среде кислотно-основное равновесие смещается в сторону образования протонированной формы белка ( $-\text{COOH}$ ). В результате изменяются суммарный заряд на поверхности белка и его надмолекулярная структура. Изменение формы белковых молекул инициирует соответствующий сигнал, поступающий через нейронные цепи в мозг.

**Горький вкус** часто обусловлен присутствием азотсодержащих органических веществ — алкалоидов, которые, как правило, ядовиты, и способность обнаруживать их по вкусу выработалась у человека, вероятно, в процессе эволюции. Для проявления веществом горького вкуса необходимы следующие условия: растворимость в воде, наличие в молекуле нескольких amino- или нитрогрупп, ориентированных в определенном порядке. И наконец, в молекулах таких веществ ответственное за горький вкус звено должно иметь структуру, напоминающую таковую у глюкофора, но отличающуюся от последней тем, что расстояние между атомами, вступающими в донорно-акцепторное взаимодействие с рецептором, вдвое меньше, чем в глюкофоре. Это яркий пример того, как небольшие изменения в структуре молекул могут вызвать резкие изменения их вкусовых свойств.

Добавление к аперитивам горьких веществ стимулирует выделение слюны, что способствует перевариванию поступающих продуктов (в первобытные времена выделение слюны было защитной реакцией организма на яд, имеющий, как правило, горький вкус). Примером таких веществ может служить хинин, добавляемый в напитки типа тоник.

**Жгучий, пряный и холодный вкус** являются вариантами химического моделирования боли. Многие специи стимулируют во рту окончания болевых нейронов, которые по системе сигналов, передаваемых через тонкие («быстрая» боль) и толстые («медленная» боль) нервные волокна, доставляют информацию в головной мозг. В ответ на такие сигналы клетки мозга синтезируют нейромедиаторы — *анальгетики* пептидной природы: эндорфины и энкефалины. В основе механизмов действия таких веществ

лежит все тот же принцип «ключ — замок». Жгучий вкус вызывают многие алкалоиды — такие, как пиперин (действующее начало белого и черного перца), капсаицин (содержится в красном и зеленом перце):



Приятное ощущение, испытываемое после приема одобренной жгучими специями пищи, приписывается способности этих соединений стимулировать образование в клетках мозга успокаивающих эндорфинов.

Ощущение холода во рту, вызываемое такими соединениями, как ментол, обусловлено тем, что молекулы этих веществ являются «ключом» к тем же белковым рецепторам, которые за счет изменения своей конформации реагируют на понижение температуры. Взаимодействуя с молекулами ментола, такие рецепторы активизируются при более высокой температуре, инициируя сигнал в соответствующих нейронах мозга. В результате в присутствии ментола теплые предметы, находящиеся в полости рта, ЦНС организма человека воспринимает как холодные.

Последние исследования японских ученых показали наличие специального рецептора «умами», ответственного за вкус мясной пищи. Он состоит из двух белковых молекул, одна из которых реагирует также на горькое и сладкое. Человеческий рецептор «умами» наиболее чувствителен к глутаминовой кислоте, натриевая соль которой издавна применяется в качестве приправы.

**Ощущение запаха.** Ощущение запаха также является примером *хеморецепции*. Органы обоняния человека гораздо чувствительнее, чем вкусовые органы. Их работа обеспечивается 50 млн белковых рецепторов, расположенных на площади  $\sim 5 \text{ см}^2$  эпителия носа. Эти рецепторы представляют собой оголенные нервные окончания. Этим обоняние отличается от других органов чувств, в которых в качестве буфера между внешним миром и нейронами ЦНС выступают клетки-посредники, преобразующие поступающий извне сигнал. Обоняние — одно из самых древних и примитивных органов чувств, с помощью которого ЦНС имеет непосредственный контакт с внешним миром. Кроме того, происходящие при хеморецепции процессы тесно связаны с лимбической системой — центром управления эмоциями. Этим объясняется мощное, часто подсознательное влияние запахов на состояние человека.

Обладающие запахом молекулы — *осмофоры* должны иметь строго определенную структуру, быть летучими и растворимыми в водном растворе белков, углеводов и электролитов, покрывающем нервные окончания в носу. Осмофор взаимодействует с определенным фрагментом белка,

изменяет его конформацию и, таким образом, стимулирует подачу сигнала в мозг. По-видимому, механизм «ключ — замок» работает и в этом случае. Но специфичность и разнообразие вариантов его реализации очень велико. Установлено, что в обонятельном эпителии существует не менее 30 различных типов белков-рецепторов. Выяснена структура активных фрагментов некоторых из них (рис. 16.5).

Для инициирования соответствующего сигнала достаточно, чтобы структуре активного центра рецептора соответствовало пространственно-химическое строение даже части молекулы осмофора. Если молекула осмофора достаточно гибкая, то она может взаимодействовать с несколькими белками-рецепторами и вызывать ощущения смешанного запаха. Пока активный центр рецептора занят молекулой осмофора, другие молекулы не могут образовать с данным рецептором соответствующий комплекс, и носовая полость перестает чувствовать запах.

Влияние структуры молекул осмофоров на их свойства можно оценить на следующих примерах. Бензальдегид, как и синильная кислота, вызывает ощущение запаха горького миндаля. Фенилэтаналь, незначительно отличающийся по молекулярной структуре от бензальдегида, вызывает запах гиацинта.

Типичный фруктовый запах имеют многие сложные эфиры, содержащие около семи атомов углерода и образующиеся во фруктах при расщеплении длинноцепочечных жирных кислот. Например, изоамиловый эфир уксусной кислоты и этиловый эфир 2-метилбутановой кислоты характеризуются одинаковым элементным составом  $C_7H_{14}O_2$  и образуются в яблоках при созревании, придавая им специфический запах.

Из производных пиридина 2-ацетилпиридин служит родоначальником запаха поп-корна, а 2-метокси-5-метилпиразин придает специфический запах плодам арахиса. Сернистыми соединениями, подобными ди-

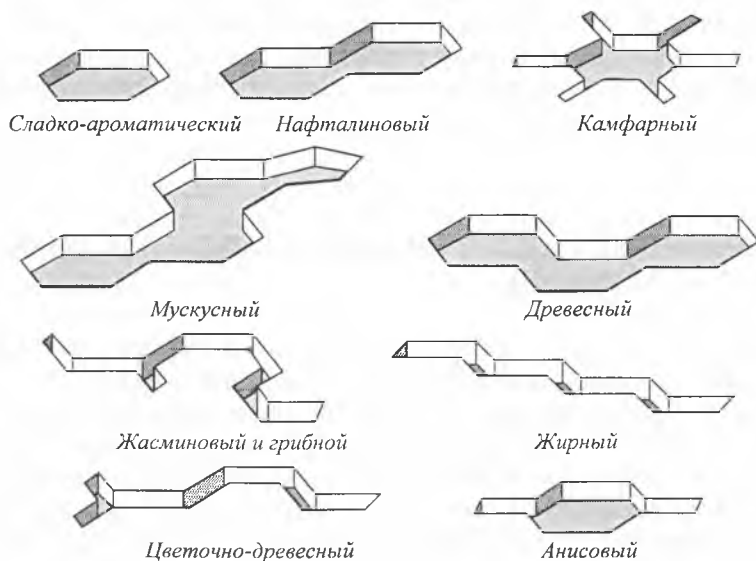
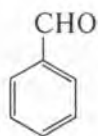


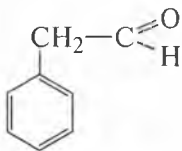
Рис. 16.5. Предполагаемые формы рецепторов различных запахов

аллилсульфиду, обусловлен резкий запах чеснока и лука. В клетках таких растений содержится большое количество цистеина. Стоит разрезать растение, т. е. механически разрушить клетки, как ферменты мгновенно вступают в контакт с их содержимым и катализируют метаболические процессы превращения серосодержащих аминокислот в летучие молекулы указанных соединений (фурил-2-метандиол и диаллилдисульфид).

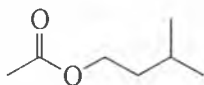
Формулы названных соединений имеют вид:



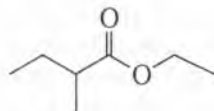
Бензальдегид



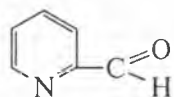
Фенилэтаналь



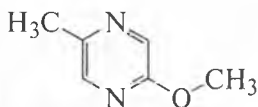
Изоамиловый эфир  
уксусной кислоты



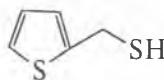
Этиловый эфир 2-метил-  
бутановой кислоты



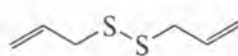
2-Ацетилпиридин



2-Метокси-  
5-метилпирозин



Фурил-2-  
метантиол



Диаллилдисульфид

Квинтэссенцией запаха растений являются эфирные масла, получаемые отгонкой с паром и экстракцией и содержащие вещества, молекулы которых в основном включают около 10 атомов углерода и зачастую являются производными изопрена — терпенами (см. главу 7). Такие соединения обладают умеренной летучестью и достаточным разнообразием структур; фактически они являются крошечными ароматическими фрагментами каучука. К этой группе соединений относится *каврон* — активный компонент мяты колосовой (вкусовая добавка жевательной резинки) и его зеркальный изомер, имеющий запах тмина. Это еще один яркий пример строгой взаимосвязи структуры молекул и их биохимических свойств.

## 16.6. ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОЙ КОММУНИКАЦИИ МЕЖДУ ОРГАНИЗМАМИ

Насекомые и некоторые низшие растения в процессе эволюции смогли выработать системы химической сигнализации между особями, играющие огромную роль в их жизни. Химическими посредниками в переносе информации между особями одного вида выступают соединения, относящиеся к различным классам и различающиеся по строению и функциям. Для таких соединений предложен термин **феромоны** (более общий английский термин *semiochemicals*), или **экзогормоны**, в отличие от рассмотренных в главе 9 **эндогормонов**, регулирующих функции клеток и органов внутри данного организма.

Рассмотрение феромонов в данной главе вызвано их действием на органы чувств, так как феромоны переносят информацию на уровне нервных систем различных организмов. Понятие «феромонная коммуникация» включает в себя более употребительный, но и более узкий термин — «хеморецепция». Хотя молекулярные механизмы биологического действия феромонов остаются далеко не выясненными, их следует относить скорее к дальнедействующим нейромедиаторам, нежели к классическим гормонам, являющимся посредниками между эндокринной системой организма и ферментами. Специальные разделы двух областей исследований — *химической этологии* и *химической экологии* — занимаются изучением и практическим использованием веществ, определяющих многие стороны взаимоотношений между отдельными индивидуумами, видами и сообществами животных и растительных организмов. Так, изучение феромонной коммуникации жуков имеет особое значение для разработки экологически чистых способов борьбы с вредными их видами.

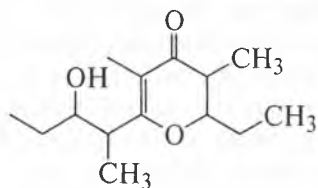
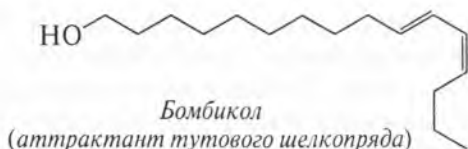
Внешние антенные рецепторы организма способны уловить и безошибочно идентифицировать единичные молекулы специфического феромона на фоне бесконечного многообразия молекул других соединений, присутствующих в окружающей среде в количествах порядка молей, т. е. при соотношении сигнал/шум около  $10^{-24}$ . В результате микроскопического (в ряде случаев даже мономолекулярного) сигнала в организме происходят глобальные биохимические изменения, влияющие на его рост и развитие в целом.

Феромоны используются жуками и другими насекомыми в различных целях. В настоящее время выделено 30 типов феромонов, отличающихся своим назначением. С помощью феромонов организмы способны передавать информацию о присутствии особей того или иного вида (сигнал «свой — чужой»), о месте нахождения самца или самки (половые аттрактанты), о наличии источника пищи и маршруте к нему (агрегационные феромоны и маркеры следа), о приближении опасности (феромоны тревоги) и о многом другом.

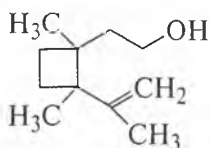
Интересны способы обеспечения видовой специфичности феромона. В состав феромона, как правило, входят несколько химических веществ. Обычно это органические соединения с низкой молекулярной массой — от 100 до 300. Видовые различия данных смесей достигаются одним из трех способов: 1) одинаковый набор веществ с разным их соотношением для каждого вида; 2) одно или несколько общих веществ, но разные дополнительные вещества для каждого вида; 3) специфический состав смеси для каждого вида.

Рассмотрим типичные примеры, показывающие разнообразие структур и функций феромонов насекомых и низших растений.

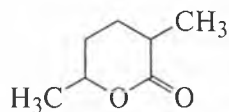
Эффективность взаимодействия между особями насекомых на больших расстояниях поразительна. Самка бабочки тутового шелкопряда испускает аттрактант *бомбикол*, который способен вызывать ответную реакцию самца на расстоянии до 10 км. Половые аттрактанты многих насекомых имеют довольно простую структуру — ациклические спирты с длинной углеводородной цепью:



*Аттрактант  
табачного жука*

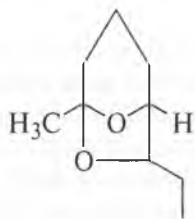


*Аттрактант  
жука-долгоносика*

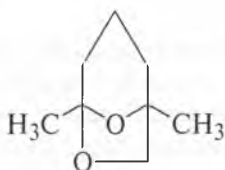


*Аттрактант  
пчелы-плотника*

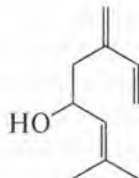
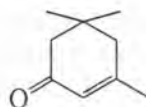
Массовые атаки насекомых, приводящие к гибели растений, опустошению лесов и полей, уничтожению продовольственных запасов, провоцируются феромонами агрегации, которые испускаются особями, обнаружившими запасы пищи. Сначала самка жука, найдя подходящее растение или другой источник пищи, привлекает к себе самцов с помощью полового аттрактанта, например *бrevicомина*, затем самцы начинают выделять смесь феромонов, сигнализирующих о наличии источника пищи, в состав которой входят следующие изопреноиды:



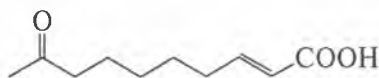
*Бревикомин*



*Изопреноиды, входящие в смесь феромонов жука-лубоеда*



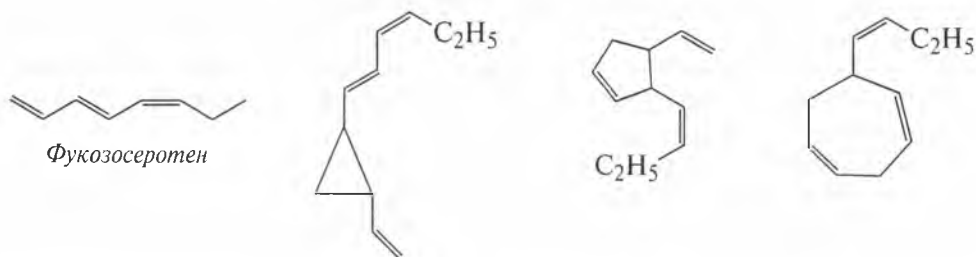
Особенно важно функционирование канала химической информации для поддержания жизнедеятельности коллективных насекомых. Так, идеальный порядок социальной жизни пчелиного улья поддерживается вырабатываемым пчелиной маткой довольно простым соединением, называемым «королевским веществом»:



Данное соединение выполняет функцию многоцелевого регулятора: полового аттрактанта для самцов, регулятора репродуктивной функции других самок и инстинктов пчел к строительству сотовых ячеек, выкармливанию матки, подавлению агрессии по отношению к другим особям и т. д.

Строгая иерархия муравьиной колонии также поддерживается за счет коммуникаций между отдельными особями с использованием химического канала связи.

Необыкновенно разнообразен набор природных веществ, продуцируемых низшими растениями и выполняющих функции медиаторов между отдельными особями. Так, в цикле полового размножения морских водорослей мужские половые клетки сближаются с женскими половыми клетками благодаря наличию в водной среде медиаторов полового размножения, например алкатриена — фукозосеротена  $C_{18}H_{12}$ . Подобный механизм широко используется многими видами низших растений, при этом для выполнения сигнальных функций используются разнообразные углеводороды:



Эти углеводороды имеют крайне низкую растворимость в воде, что свидетельствует о фантастически высокой эффективности передачи сигнала между растениями. Установлено, что положительный отзыв на сигнал может наблюдаться уже при пороговой концентрации  $6,5 \cdot 10^{-12}$  моль/л. Расчеты показывают, что для создания привлекающего эффекта достаточно, чтобы на одну женскую половую клетку морской водоросли приходилось от одной до десяти молекул феромона.

Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о существовании химического канала обмена информацией между особями разных видов. Так, семена некоторых растений-паразитов (сорняков) могут находиться в почве в состоянии спячки десятки лет, но немедленно начинают прорастать, как только рядом появляются корни растения-хозяина, которые вырабатывают химические вещества — факторы прорастания семян сорняка. Накоплено много фактов, указывающих на огромную роль химических веществ как регуляторов взаимоотношений между насекомыми и растениями. Одним из типичных примеров являются алкалоиды, продуцируемые в значительных количествах различными растениями и обладающие ярко выраженной активностью по отношению к животным. Во многих случаях они выполняют функции защиты растений от поедания насекомыми (*антифиданты*).

Очевидно, что знание языка химической коммуникации (словаря сигналов) совершенно необходимо для установления разумных и обоюдно полезных отношений человека с окружающей средой. Ведь использование синтетических феромонов — один из самых экологически безопасных методов борьбы с вредными насекомыми. Входящие в состав феромонов химические вещества не ядовиты и используются в таких малых количествах, которые не могут повлиять на человека и окружающую среду. И самое главное: благодаря строгой видовой специфичности феромоны воздействуют только на нужный вид, но не оказывают влияния на другие организмы.



## 16.7. ДЕЙСТВИЕ ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ НА НЕРВНУЮ СИСТЕМУ

В предыдущих разделах уже обсуждались структурно-функциональные закономерности, лежащие в основе токсического действия на живые объекты различных по строению органических и неорганических соединений. В дополнение к этому следует остановиться на особенностях воздействия на организм человека простейших одноатомных спиртов — этанола и метанола.

С нейрохимической точки зрения этанол является депрессантом и по эффекту воздействия на организм человека напоминает анестезирующее средство. Хотя и создается впечатление, что этанол возбуждает нервную систему, в действительности его действие основано на растормаживании коры головного мозга.

Как уже отмечалось ранее, среди веществ, выполняющих роль нейромедиаторов головного мозга, большое значение имеет  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК). Рассмотрим подробнее особенности действия ГАМК на рецепторы нейронов.

Молекула ГАМК, поступая в синаптическую область, за счет кислотно-основных взаимодействий обычно присоединяется к соответствующим радикалам аминокислотных остатков белка нейронов мозга. В результате происходит ингибирование активности нейрона, обусловленное искажением локальной структуры белковой клеточной мембраны. Вследствие структурных изменений в мембране открываются образованные спиральными белками каналы, способные пропускать внутрь клетки анионы  $\text{Cl}^-$ . В результате естественная разность потенциалов на мембране нервной клетки повышается, и нейрон теряет способность воспринимать и передавать потенциал действия (нервный импульс) при обычных концентрациях активирующих нейромедиаторов.

Молекула этанола способна взаимодействовать с соответствующими аминокислотными группами, расположенными на белковой поверхности того же рецептора по соседству с ГАМК, причем присоединение молекулы этанола вызывает усиление взаимодействия ГАМК с белком. В ре-

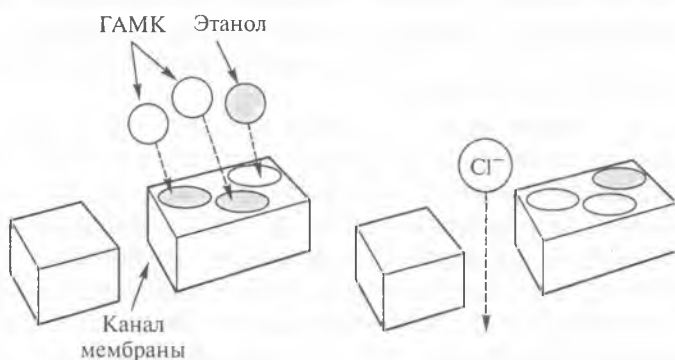
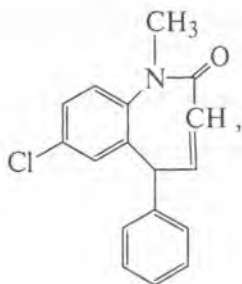


Рис. 16.6. Схема взаимодействия этанола и ГАМК с рецепторной поверхностью нейрона

зультате увеличивается искажение белковой мембраны, способствующее перебросу анионов  $\text{Cl}^-$  внутрь клетки. Таким образом, наличие этанола в жидкости, окружающий синапс нейронов головного мозга, ускоряет и упрочняет связывание ГАМК с рецепторной поверхностью белка и косвенно влияет на изменение (увеличение) разности потенциалов в мембране нейрона, т. е. в присутствии этанола нейроны головного мозга инактивируются в значительно большей степени (рис. 16.6).

Некоторые транквилизаторы и успокаивающие средства обладают схожим механизмом воздействия на нервные клетки мозга. Например, бензодиазепины, среди которых можно выделить диазепам (валиум)



Диазепам (валиум)

поступая в мозг, взаимодействуют с тем же белковым рецептором, к которому присоединяется ГАМК и этанол, но по другому активному центру и усиливают вызываемый ими эффект. Обычное действие транквилизаторов проявляется в подавлении чувства страха и беспокойства. Однако в результате совместного воздействия этанола и бензодиазепинов возникает сильнейший синергический эффект, который может привести к летальному исходу.

Применение этанола сопровождается также и другими физиологическими эффектами, например нарушением биосинтеза антидиуретических гормонов, что ведет к усилению водоотделения и обезвоживанию организма, расширением кровеносных сосудов кожных покровов, вызывающим усиление притока крови к коже и ощущение тепла. Влияние этилового спирта на обмен веществ рассмотрено в главе 11.

Метанол в первый момент поступления в организм и клетки мозга вызывает эффект, аналогичный описанному выше для этанола и обусловленный схожим механизмом действия на ЦНС. Высокая токсичность метанола по отношению к организму человека связана не с данным эффектом, а с продуктами метаболизма спирта. Если промежуточные метаболиты этанола — ацетальдегид и уксусная кислота являются естественными соединениями для организма, то накапливающиеся в организме в процессе окисления метанола формальдегид и муравьиная кислота обладают высокой токсичностью, так как для них отсутствуют соответствующие пути катаболизма. Токсичность данных соединений заключается в том, что они оказывают повреждающее действие на белки организма. Например, формальдегид, взаимодействуя с белками зрительного нерва, а также других узлов нервных клеток на периферии ЦНС, вызывает сле-

поту. Происходящий в присутствии формальдегида процесс полимеризации (по свободным аминогруппам) белков в соединения типа формальдегидных смол лишает их подвижности и биологической активности, что в конечном итоге ведет к гибели организма.

### **Контрольные вопросы и задания**

1. Опишите структурно-функциональную организацию нервной системы организма человека.
2. Какие молекулярные механизмы лежат в основе возникновения и передачи нервного импульса?
3. Перечислите основные классы соединений, обладающих нейромедиаторной активностью.
4. В чем заключаются особенности молекулярных процессов, лежащих в основе химии ощущений (вкуса и запаха)?
5. Расскажите об особенностях химического строения феромонов и механизмов химической коммуникации между организмами.
6. Какие молекулярные механизмы заложены в основе токсичного действия этанола и метанола на нервную систему?

## Глава 17

### Биохимия мышечного сокращения

#### 17.1. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

У человека мышцы составляют от 28 — 32 % (женщины) до 35 — 45 % (мужчины) массы тела. Мышцы образованы мышечной тканью, способной сокращаться под действием нервных импульсов; отсюда вытекает главная физиологическая роль мышц, которая заключается в способности к напряжению и сокращению, в результате чего организм приобретает возможность двигаться и сопротивляться воздействию на него механических сил. Различные формы подвижности в той или иной степени характерны практически для всех живых организмов. Но только у животных в ходе эволюции появились специализированные клетки и ткани, главной функцией которой является генерация движения, в основе которого лежит перемещение двух систем белковых нитей, образованных *актином* и *миозином* за счет энергии гидролиза АТФ.

Изучение физико-химических основ мышечного сокращения важно для понимания механизмов возникновения болезней, поражающих мышцы (мышечные дистрофии, изменения мышечных тканей при гиподинамии), а также для выбора эффективных методов тренировки спортсменов и других людей, профессия которых требует хорошей физической подготовки (например, космонавтов).

В зависимости от строения мышечных клеток различают:

1) *поперечно-полосатые скелетные мышцы* (к ним относится сердечная мышца);

2) *гладкие мышцы*.

Для эффективного преобразования энергии АТФ в механическую работу мышцы должны обладать строгой упорядоченной структурой. Действительно, упаковка сократительных белков в мышце подобна упаковке атомно-молекулярных частиц в кристаллах. Мышца представляет собой систему, состоящую из специфических клеток — *мышечных волокон* (рис. 17.1). Толщина отдельно взятого волокна составляет от 10 до 100 мкм, а его длина может быть равна длине самой мышцы (1—15 см). Вдоль мышечного волокна расположены строго упорядоченные специфические структуры цилиндрической формы (*миофибриллы*), образованные системами из перекрывающихся толстых и тонких белковых нитей, иначе называемых *филаментами*. Миофибриллы состоят из одинаковых повторяющихся элементов — *саркомеров*, ограниченных так называемыми *Z-пла-*

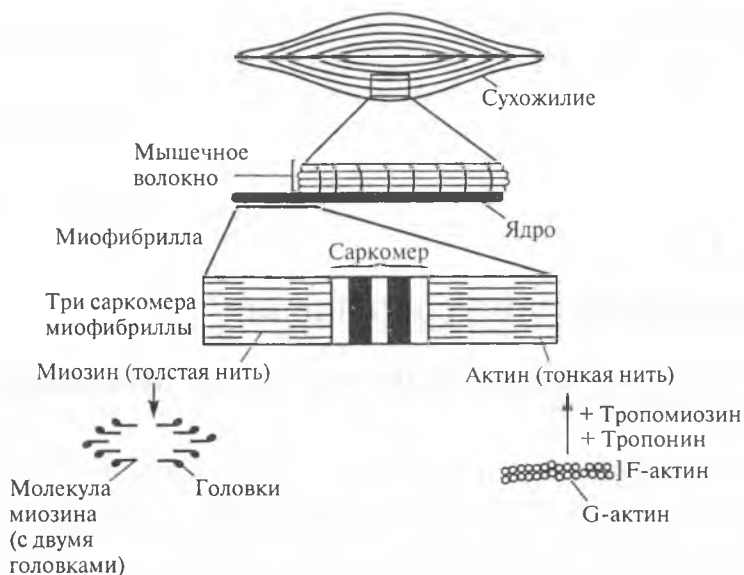


Рис. 17.1. Уровни организации скелетной мышцы. Пояснение в тексте

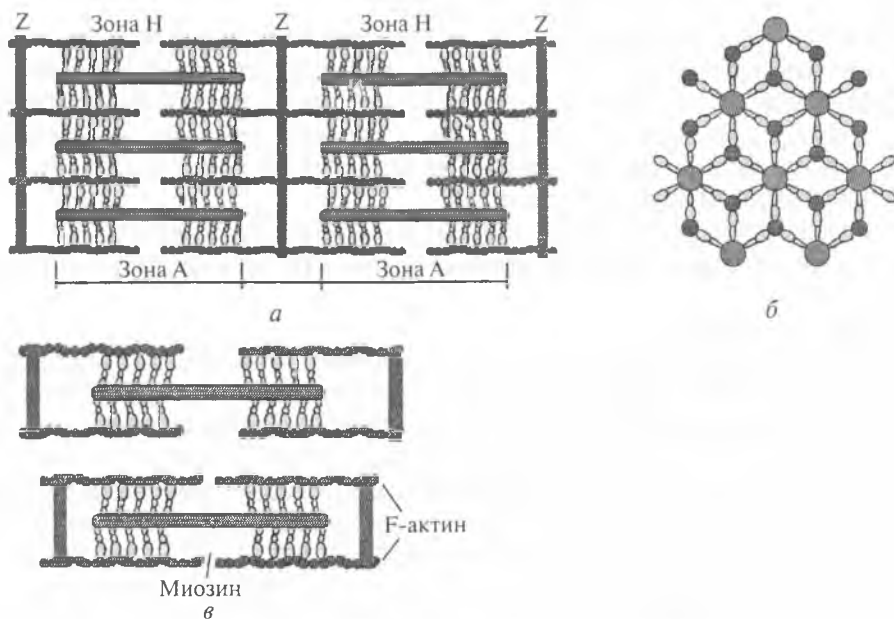


Рис. 17.2. Схематическое изображение строения саркомеров мышечного волокна:   
 а — продольный разрез; б — поперечный разрез в области пересечения толстых и тонких нитей; в — изменение длины саркомера в результате движения толстых и тонких нитей

стинками (рис. 17.2). Толстые нити, расположенные в середине саркомера, образованы белком **миозином**, а тонкие — **актином**. Поперечная полосатость мышц обусловлена чередованием в миофибриллах толстых (миозиновых) и тонких (актиновых) нитей. Миозиновые и актиновые нити являются главными компонентами всех мышечных сократительных систем организма.

Полный белковый состав скелетной мышцы представлен в табл. 17.1. Белки сократительной системы нерастворимы в воде, но их можно экстрагировать растворами солей. Растворимые белки (**миоген**) представляют собой смесь, в основном состоящую из гликолитических ферментов и миоглобина.

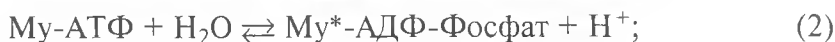
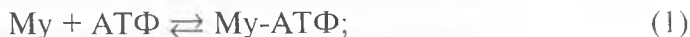
Таблица 17.1. Белковый состав скелетной мышцы

Белок	Молекулярная масса	Содержание белка, %
Миозин	460 000	55—60
Актин	46 000	20—25
Тропомиозин	70 000	15
Тропонин	76 000	5
Другие белки (миоген)	—	5—10

**Структура миозиновых нитей.** Миозин (сокращенно **My**) составляет почти половину (55 %) всех белков скелетной мышцы. В настоящее время известно около 10 различных видов молекул миозина. Рассмотрим строение наиболее изученного миозина скелетных мышц. Миозин состоит из шести субъединиц, две из которых представлены одинаковыми полипептидными цепями с высокой молекулярной массой (около 200 000) — «тяжелые» цепи миозина, а остальные четыре имеют молекулярную массу около 20 000 — «легкие» цепи миозина. Большая часть длины тяжелой цепи, начиная с С-конца, имеет конфигурацию  $\alpha$ -спирали, причем  $\alpha$ -спиральные участки обеих тяжелых цепей взаимодействуют между собой, что приводит к дополнительной спирализации и придает этой части молекулы миозина форму палочки (рис. 17.3). Противоположные N-концы каждой тяжелой цепи миозина имеют глобулярную форму, образуя «головки» молекулы. С каждой из головок за счет нековалентных межмолекулярных взаимодействий связаны по две легкие цепи. Обе легкие цепи миозина способны влиять на процесс взаимодействия миозина с актином и тем самым участвуют в регуляции мышечного сокращения.

Миозин обладает ярко выраженной ферментативной активностью. Он катализирует гидролиз АТФ, а выделяющаяся при этом энергия используется на сокращение мышцы. Активные центры миозина расположены в «головках» молекул.

Миозин (**My**) взаимодействует с АТФ по следующему механизму:





Химизм протекающих при этом процессов заключается в следующем: (1) — присоединение АТФ к миозину с образованием АТФ-миозинового комплекса; (2) — образование энергетически активной конформации миозина ( $\text{Му}^*$ ) через гидролиз комплекса  $\text{Му}-\text{АТФ}$ ; (3) — внутримолекулярное изменение конформации головки миозина; (4) — распад комплекса  $\text{Му}-\text{АДФ}-\text{Фосфат}$  на соответствующие продукты.

**Структура актиновых нитей.** Актиновые нити состоят из трех белков: *актина*, *тропомиозина* и *тропонина*.

Главным компонентом актиновых нитей является актин. Актин был открыт в 1948 г. Б. Штраубом (Венгрия) и назван так из-за своей способности к активации гидролиза АТФ. Актин — один из самых распространенных белков в клетках растительных и животных организмов. *Актин* (содержание в миофибриллах достигает 25 %) представляет собой глобулярный белок с молекулярной массой около 46 000 и диаметром глобулы

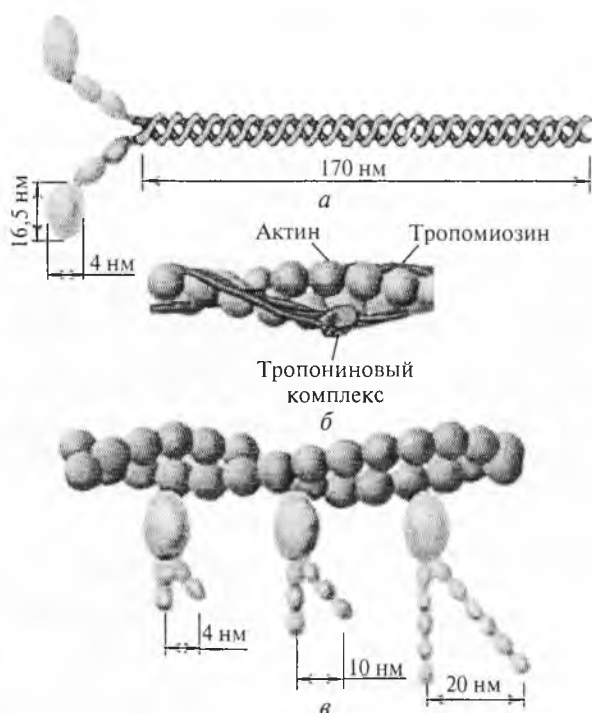


Рис. 17.3. Строение молекулы миозина (а) и тонкой нити (б). В расслабленной мышце тропомиозин препятствует взаимодействию головки миозина с актином. Внизу (в) схематически показано различие геометрических характеристик (размеров) моторных участков (трех разных типов) молекул миозина

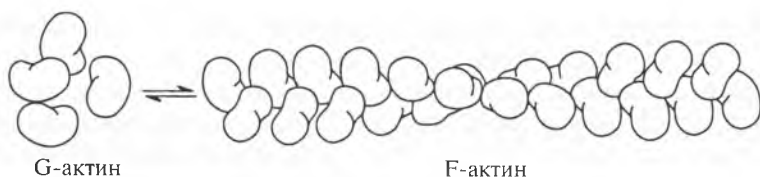


Рис. 17.4. Схематическое изображение полимеризации G-актина в F-актин

около 5 нм; такую мономерную форму актина называют *G-актин* (глобулярный актин). Молекулы G-актина взаимодействуют друг с другом с образованием фибриллярного актина — *F-актина* (рис. 17.4). Процесс полимеризации G-актина в F-актин можно инициировать введением одного или двухзарядных катионов металлов. Форма молекул F-актина напоминает нитки бус, скрученные друг с другом.

Рентгеноструктурный анализ показал, что F-актин представляет собой спираль диаметром около 70 Å из мономеров актина. В мышцах весь актин присутствует в составе F-формы. Актиновые нити в саркомере имеют постоянную длину и правильную ориентацию, при этом один из концов полимера F-актина (на котором скорость полимеризации больше) расположен в Z-диске, а другой (скорость полимеризации меньше) — в центральной части саркомера. Следовательно, нити актина, расположенные в левой и в правой частях саркомера, имеют противоположную направленность.

**Тропомиозин** (содержание в миофибриллах около 15 %) имеет форму палочек длиной около 40 нм; соединен с молекулами G-актина (1 молекула тропомиозина с 7 молекулами G-актина).

**Тропонин** (содержание в миофибриллах 5 %) — белок, состоящий из трех субъединиц глобулярной структуры. Тропонин за счет нековалентных межмолекулярных взаимодействий связан с тропомиозином и актином. Межмолекулярный комплекс *тропоин — тропомиозин — актин* выполняет важную функцию в процессе мышечного сокращения — обеспечивает сцепление миозиновых и актиновых нитей.

## 17.2. МЕХАНИЗМ МЫШЕЧНОГО СОКРАЩЕНИЯ

В 1993 г. впервые были выделены в кристаллическом виде изолированные головки миозина, что позволило установить их структуру и сформулировать гипотезу о механизме мышечного сокращения, состоящую в следующем.

Сокращение мышцы вызывается нервным импульсом, который через нервно-мышечный синапс с помощью нейромедиатора преобразуется в потенциал действия мышечного волокна. Потенциал действия вызывает освобождение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из *саркоплазматического ретикулума*, представляющего собой внутриклеточную мембранную систему, которая окружает мышечные волокна и транспортирует ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в пространство между актином и миозином и обратно. В результате в возбужденной мышце



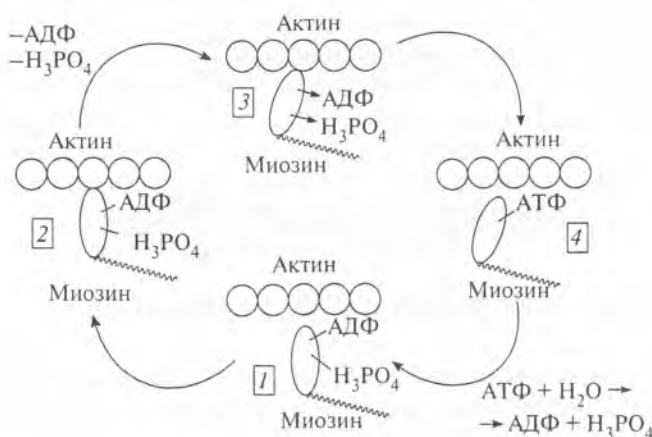
концентрация ионов  $\text{Ca}^{2+}$  возрастает до  $10^{-5}$  моль/л (по сравнению с  $10^{-7}$  моль/л для мышц, находящихся в покое).

Сокращение мышцы происходит за счет перемещения актиновых и миозиновых нитей навстречу друг другу. Движение актиновых нитей между миозиновыми является результатом сложного взаимодействия миозина, актина, тропомиозина и тропонина, которое осуществляется за счет энергии, выделяющейся в процессе одновременного гидролиза АТФ (рис. 17.5).

В миозиновых нитях различают три фрагмента, принимающие участие в механизме мышечного сокращения, а именно: активный центр для гидролиза АТФ, энергия которого преобразуется в механическую энергию движения; поверхности, комплементарные актиновым нитям, с помощью которых происходит сцепление актиновых и миозиновых нитей; рецепторы для восприятия регуляторных сигналов со стороны актиновых нитей.

Актиновые нити также имеют комплементарные поверхности для связывания с миозином и рецепторы, отвечающие за сокращение и расслабление мышцы. АТФазные центры головок миозина отличаются высоким сродством к АТФ, поэтому в мышечной ткани большая часть головок миозина содержит связанный АТФ. В присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$  на мономере актиновой нити открываются центры связывания миозиновых головок. Этот процесс происходит в результате присоединения ионов  $\text{Ca}^{2+}$  к  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающей субъединице тропонина.

Комплекс *тропонин—тропомиозин—актин* включает по одной молекуле тропонина и тропомиозина и семь молекул G-актина. Ионы  $\text{Ca}^{2+}$  вызы-



**Рис. 17.5.** Схематическое изображение циклического образования и распада актиномиозинового комплекса в процессе мышечного сокращения:

1 — «свободные» актин и головка миозина; 2 — присоединение головки миозина к актину; 3 — поворот головки миозина относительно актина (генерирование тянущего усилия) и выход АДФ и фосфата из активного центра миозина; 4 — связывание АТФ с активным центром миозина и отрыв последнего от актина; гидролиз АТФ, приводящий к повороту головки миозина в начальное положение

вают конформационные изменения во всем комплексе: на всех семи мономерах G-актина открываются центры связывания с головками миозина. Миозиновая головка присоединяется к ближайшему мономеру актина, благодаря чему происходит сцепление актиновых и миозиновых нитей.

Присоединение головки миозина к актину активируется АТФазным центром, при этом АТФ гидролизует, АДФ и неорганический фосфат покидают активный центр. В результате изменяется конформация миозина: возникает напряжение, стремящееся уменьшить угол между головкой и хвостом молекулы миозина. Далее АТФазный центр может присоединить новую молекулу АТФ, в результате чего сродство миозиновой головки к актину уменьшается. Миозин возвращается в исходное состояние, и начинается новый цикл взаимодействия с актином. Необходимо отметить, что каждая головка миозина генерирует очень маленькое тянущее усилие (в несколько пиконьютонов), но сумма этих маленьких усилий может создавать довольно большие напряжения. Сотни миозиновых головок каждой миозиновой нити, втягивая актиновую нить, работают одновременно. Предельное сокращение мышцы развивается в сотые доли секунды (порядка 0,02 с). Сила сокращения зависит от количества миозиновых головок, включенных в работу.

Мышца в покое эластична и способна к растяжению. Сокращенная мышца, напротив, не способна к растяжению, которому препятствует взаимодействие актиновых и миозиновых нитей.

### 17.3. ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ МЫШЕЧНОЙ РАБОТЫ

Мышца, работающая с максимальной активностью, потребляет в сотни раз больше энергии, чем в покое, причем переход от состояния покоя к состоянию максимального напряжения происходит за доли секунды. В связи с этим для мышцы в отличие от других органов оказались необходимыми механизмы быстрого варьирования в широких пределах скорости синтеза АТФ.

Основные процессы, обеспечивающие работу мышц энергией, заключаются в следующем: мобилизация гликогена печени и мышц; глюконеогенез из молочной кислоты; мобилизация депонированных жиров и поступление жирных кислот и кетоновых тел в мышцы. Мышечная активность сопровождается увеличением вентиляции легких и скорости кровотока, благодаря чему усиливается снабжение мышечной ткани кислородом. Перечисленные процессы повышают активность основных ферментов катаболизма и многократно увеличивают скорость синтеза АТФ.

Общее содержание АТФ в мышце составляет примерно 5 мкмоль на 1 г ее массы. При прекращении синтеза АТФ этого количества хватает примерно на 1 с работы. Отсюда следует, что каждую секунду в организме должно синтезироваться около 5 мкмоль АТФ на 1 г мышц. Исходя из этого, можно подсчитать, что если в течение 10 мин в работу включена приблизительно  $\frac{1}{3}$  мышц тела (примерно 10 кг), то за это время около 1,5 кг АТФ

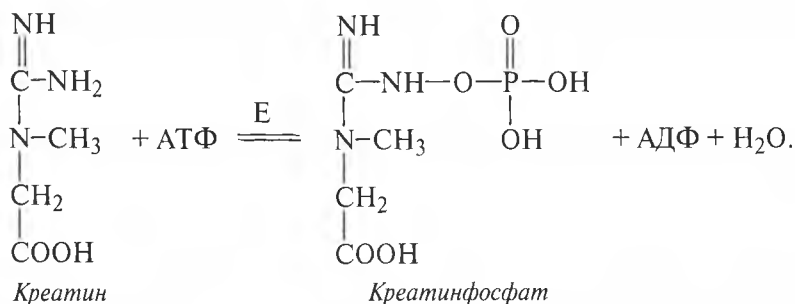
синтезируется и гидролизуется до АДФ. Конечно, это количество ориентировочное и существенно зависит от интенсивности мышечной работы.

Из изложенного выше ясно, что снабжение митохондрий кислородом становится лимитирующим звеном в процессах, определяющих мышечную активность. Поэтому активация анаэробного распада глюкозы имеет важное значение. Усиление гликолиза связано с действием аденилаткиназы, которая катализирует реакцию



Концентрация АДФ в работающей мышце несколько увеличена (соответственно снижению концентрации АТФ); кроме того, в результате действия аденилатциклазы повышается и концентрация АМФ, который является аллостерическим активатором фосфофруктокиназы — ключевого фермента гликолиза. Эти факторы, по-видимому, играют основную роль в ускорении гликолиза при интенсивной работе мышц.

В мышечной ткани присутствует **креатинфосфат**, который синтезируется из креатина и АТФ при действии **креатинкиназы** (Е):



Креатинфосфат в отличие от креатина является высокоэнергетическим соединением. Данная реакция легко обратима. Содержание креатинфосфата в покоейшей мышце в 3 — 8 раз больше, чем содержание АТФ; такое количество обеспечивает интенсивную работу мышц в течение 2 — 5 с. За это время человек может пробежать 15 — 50 м. При переходе от состояния покоя к работе ткани мышцы сначала используют наиболее быстрый путь генерации АТФ из креатинфосфата. Тем временем включаются другие механизмы: сначала каскадный механизм мобилизации гликогена в мышечных клетках, а затем и механизмы усиленного транспорта в мышцы субстратов окисления из печени и жировой ткани. При мышечной работе в первую очередь используются запасы углеводов, а при длительной работе постепенно увеличивается использование жиров. Кроме этого изменяется относительная интенсивность анаэробного и аэробного путей образования АТФ: кратковременная интенсивная работа (например, бег на 100 м) может совершаться почти целиком за счет гликолиза. При продолжительной работе вклад аэробного процесса увеличивается, а анаэробного — уменьшается.

## 17.4. ОСОБЕННОСТИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ

Сердечная мышца за сутки сокращается более чем 100 000 раз, перекачивая при этом около 7200 л крови. *Миокард*, или сердечная мышца [от греч. *mis (myos)* — мышца и *kardia* — сердце], по структуре и свойствам сходен с красными скелетными мышцами. Особенностью энергетического обмена сердечной мышцы является его почти полностью аэробный характер. При этом основными субстратами, поставляющими энергию, служат жирные кислоты: около 70 % потребляемого сердечной мышцей кислорода идет на окисление жирных кислот. Кроме того, используются глюкоза, молочная и пировиноградная кислоты. После приема пищи доля глюкозы в обеспечении сердца энергией увеличивается, а жирных кислот уменьшается; при физической работе возрастает доля молочной кислоты.

### Контрольные вопросы и задания

1. В чем заключаются особенности структурно-функциональной организации мышечной ткани?
2. Из каких белков состоит мышечная ткань? Какими характерными свойствами они обладают?
3. В чем заключается химизм мышечного сокращения?
4. За счет каких биохимических процессов работа мышц обеспечивается энергией?
5. Опишите особенности метаболизма сердечной мышцы.

---

---

## Глава 18

### Биохимия иммунной системы

#### 18.1. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

В ходе биологической эволюции организмы животных и растений выработали специальные факторы собственной защиты против вирусов, бактерий, простейших организмов и других патогенных факторов с целью сохранения своей целостности и биохимической индивидуальности. Способность организмов идентифицировать, нейтрализовать и удалять чужеродные ему химические соединения с целью обеспечения собственной целостности называется **иммунитетом** (от лат. *immunitas* — освобождение, избавление от чего-либо). Синонимы иммунитета — *невосприимчивость*, *сопротивляемость*, *резистентность*. Наука об иммунитете — *иммунология* наряду с изучением общебиологических основ иммунитета занимается исследованием химического строения, свойств и закономерностей взаимодействия **антител** и **антигенов**. Данная область иммунологии называется *иммунохимией*.

Иммунитет животных поддерживается за счет как неспецифических, так и специфических механизмов. Первые обеспечивают так называемый врожденный иммунитет, а также естественную индивидуальную неспецифическую сопротивляемость. К неспецифическим механизмам можно отнести: барьерную функцию эпителия кожи и слизистых оболочек; бактерицидное действие молочной кислоты и жирных кислот в выделениях потовых и сальных желез; бактерицидные свойства желудочного и кишечного соков; действие лизоцима, присутствующего в слезной жидкости, и др.

Формирование и поддержание приобретенного специфического иммунитета осуществляется *иммунной системой* (ИС) организма, которая распознает, перерабатывает и устраняет чужеродные антигены. В ИС входят: красный костный мозг, тимус, селезенка, лимфатические узлы, а также скопления лимфатической ткани в слизистых оболочках дыхательных, пищеварительных и мочевыделительных путей. Центральное место среди клеток ИС занимают различные субпопуляции и функциональные комплексы лимфоцитов — *иммуноциты*.

По формам иммунного ответа различают: 1) *гуморальный иммунитет* — образование циркулирующих в крови специфических антител; 2) *клеточный иммунитет* — появление повышенного количества избирательно реагирующих с данным антигеном Т-лимфоцитов; 3) *иммунологическая па-*

мать — появление долгоживущих Т- и В-лимфоцитов, которые при повторном появлении антигена способны к быстрому и усиленному иммунному ответу. Кроме того, существуют механизмы *иммунологической толерантности*, которая выражается в отсутствии ответа на данный антиген при повторной встрече с ним и возникновении аллергии — повышенной чувствительности к специфическому антигену.

**Антитела**, или **иммуноглобулины (Ig)**, — это группа белков, синтезируемых в организме в ответ на попадание в его внутреннюю среду частиц чужеродного вещества. Иммуноглобулины имеют характерные особенности строения, функций и биосинтеза. В совокупности работу иммунной системы человека обеспечивают около  $10^{20}$  молекул иммуноглобулинов.

**Антигены**, или **иммуногены**, — вещества, индуцирующие синтез антител, т. е. вызывающие *иммунный ответ*. Антигенами являются те молекулы, которые не принадлежат организму или образовались из собственных специфических молекул и клеток в результате их физиологического или патологического изменения. Функции эффективных антигенов обычно выполняют вещества белковой природы, полисахариды и нуклеиновые кислоты. Антигенами являются также ферменты, токсины, яды змей и пауков, вирусы и бактерии.

## 18.2. ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА АНТИТЕЛ

Антитела представляют собой олигомерные белки. К настоящему времени известно около десяти групп различных антител, среди которых у человека наиболее часто встречаются группы **IgG**, **IgA**, **IgM**, **IgD** и **IgE**. Структурную основу иммуноглобулинов составляют четыре полипептидные цепи, соединенные друг с другом с помощью дисульфидных мостиков. Две тяжелые цепи (*цепи H*) имеют молекулярную массу около 50 000 и содержат от 450 до 700 аминокислотных остатков каждая, а две легкие цепи (*цепи L*) включают около 200 аминокислотных остатков каждая и имеют молекулярную массу порядка 25 000 (рис. 18.1). Такую структуру обычно причисляют к мономерам. По различиям в первичной структуре легкие цепи делятся на два типа ( $\chi$  и  $\lambda$ ), а тяжелые — на пять типов (табл. 18.1). Именно в зависимости от типа тяжелой цепи, входящей в

Таблица 18.1. Характеристика основных групп иммуноглобулинов

Группы иммуноглобулинов	Типы тяжелой цепи H	Число цепей в молекуле*	Молекулярная масса
IgG	$\gamma$	$\chi_2\gamma_2$ или $\lambda_2\gamma_2$	150 000
IgA	$\alpha$	$(\chi_2\alpha_2)_n$ или $(\lambda_2\alpha_2)_n$ ( $n = 2, 3$ или $4$ )	360 000—720 000
IgM	$\mu$	$(\chi_2\mu_2)_5$ или $(\lambda_2\mu_2)_5$	950 000
IgD	$\delta$	$\chi_2\delta_2$ или $\lambda_2\delta_2$	160 000
IgE	$\epsilon$	$\chi_2\epsilon_2$ или $\lambda_2\epsilon_2$	190 000

\*  $\chi$  и  $\lambda$  — два типа легких цепей L;  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  — пять типов тяжелых цепей H.

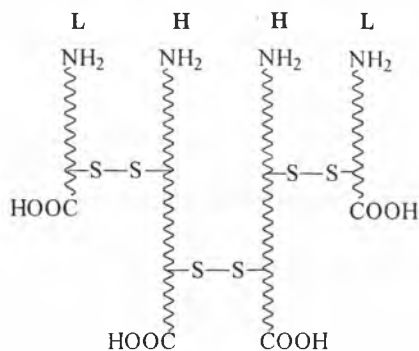


Рис. 18.1. Структурные особенности иммуноглобулинов



Рис. 18.2. Модель строения иммуноглобулина G

мономер, все иммуноглобулины делятся на несколько групп, перечисленных выше. Каждая группа включает в себя огромное число индивидуальных иммуноглобулинов, различающихся по первичной структуре. Модель строения иммуноглобулина G показана на рис. 18.2.

### 18.3. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИГЕН — АНТИТЕЛО

Организмы способны синтезировать гигантские количества специфических антител. Антитела начинают синтезироваться на 2 — 3-й день после первого контакта организма с антигеном. Концентрация антител в крови достигает максимума примерно через неделю, а затем снижается. Это так называемый *первичный иммунный ответ*. После первичного иммунного ответа в крови обнаруживаются антитела, которых не было до контакта с антигеном.

При повторном контакте с антигеном синтез антител начинается намного раньше и их количество обычно бывает больше (*вторичный иммунный ответ*). Следовательно, можно заключить, что в организме сохраняется информация о структуре того или иного антигена, когда-то проникнувшего в организм. Такая «память» организма называется *иммунологической*. В результате вторичного иммунного ответа повторное заражение микроорганизмом не успевает развиться в болезнь, т. е. организм приобретает иммунитет против этого заболевания. Именно на этом свойстве живых организмов и основана искусственная иммунизация с целью профилактики инфекционных заболеваний. Для лечения уже развившейся болезни применяют антитела, специфические для того вида микроорганизма, который вызвал заболевание.

Рассмотрим основные механизмы синтеза антител в ответ на проникновение в организм антигена. Для объяснения механизмов образования антител было предложено несколько теорий, из которых наиболее попу-

лярной является *клонально-селекционная теория*, выдвинутая М. Бернетом и Н. Ерне в 50-х годах XX в. Согласно этой теории в организме имеется исключительно многочисленная популяция лимфоцитов (порядка  $10^{12}$ ). Напомним, что центральная роль в иммунном ответе принадлежит лимфоцитам, среди которых различают долгоживущие тимусзависимые Т-лимфоциты и короткоживущие В-лимфоциты. Т- и В-лимфоциты осуществляют иммунологический надзор и формируют «память» в отношении чужеродного антигена. Вследствие контакта с антигеном лимфоциты, имеющие на своей поверхности белки-рецепторы антигена, подвергаются трансформации в плазматические клетки, способные синтезировать антитела. Таким образом, антиген избирательно стимулирует превращения тех клеток, у которых по отношению к нему имеются специфические рецепторы.

Процесс взаимодействия антитело—антиген отличается высокой селективностью (рис. 18.3), что наглядно демонстрируется в опытах с синтетическими антигенами. Низкомолекулярные вещества сами по себе не индуцируют синтез антител, но после их присоединения к молекуле белка стимулируется образование антител как к белку, так и к присоединенному низкомолекулярному веществу. Если в роли последнего выступают сходные по химической природе вещества, например *пара*-, *мета*- и *орто*-изомеры бензойной кислоты, то по отношению к каждому из них синтезируются специфические антитела, не реагирующие с другими изомерами. Избирательность взаимодействия обусловлена строгой комплементарностью между структурой активного центра антитела и структурой некоторого участка антигена.

Высокая специфичность взаимодействий антиген — антитело легла в основу *иммуноанализа* — полуколичественного метода определения содержания веществ, присутствующих в очень низких концентрациях. Из мно-

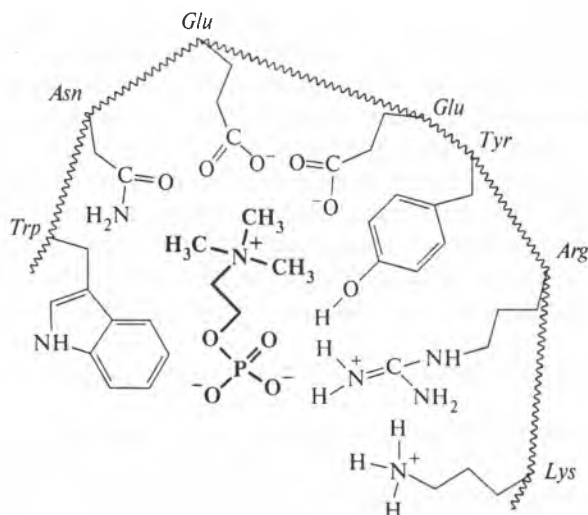


Рис. 18.3. Селективное взаимодействие антигена и связывающего его «кармана» антитела



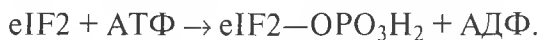
гих разработанных к настоящему времени методов иммуноанализа наиболее распространенными являются радиоиммунный анализ, хемилюминесцентный иммуноанализ и иммуноферментный анализ.

## 18.4. СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА

*Система комплемента* является частью иммунной системы и осуществляет неспецифическую защиту организма от бактерий и других проникающих в организм возбудителей болезней. Систему комплемента составляют около 20 белков плазмы крови, так называемых «факторов комплемента». Все реакции системы комплемента осуществляются, как правило, на поверхности микроорганизма. Белковые факторы комплемента с C1 по C9 инициируют классический путь активации комплемента, а факторы В и D участвуют в активации альтернативного пути. Инициация классического пути происходит благодаря взаимодействию компонента C1 с несколькими молекулами IgG или IgM на поверхности микроорганизма. Альтернативный путь инициируется связыванием фактора В, например, с бактериальным липополисахаридом (эндотоксином). И классический, и альтернативный пути активации комплемента ведут к расщеплению белкового компонента C3 на два фрагмента, меньший из которых участвует в развитии воспалительного процесса, а более крупный связывается за счет ковалентных связей с поверхностью бактериальной клетки и инициирует цепь реакций, ведущих в конечном счете к гибели бактерии.

## 18.5. ИНТЕРФЕРОНЫ

К интерферонам относят белки, синтезируемые клетками организмов в ответ на проникновение в них вирусных инфекций. Интерфероны относят к неспецифическим факторам противовирусного иммунитета. В организме человека обнаружено около десяти родственных интерферонов с молекулярной массой от 25 000 до 110 000. Синтез интерферонов индуцируется некоторыми компонентами вирусных частиц, в том числе и двухспиральной РНК, содержащейся во многих вирусах. Противовирусное действие интерферонов основано на индуцировании ими синтеза протеинкиназы, катализирующей фосфорилирование одного из белковых факторов инициации трансляции — фактора eIF2:



В результате этой реакции фактор инициации утрачивает активность и синтез белков в клетке прекращается. Таким образом, погибают клетка и находящиеся в ней вирусы. В настоящее время механизмы действия интерферонов в организмах изучены недостаточно.

Интерфероны используются для профилактики некоторых вирусных заболеваний и, кроме того, для подавления злокачественных опухолей.

В настоящее время интерфероны получают микробиологическим синтезом — ген методом генной инженерии встраивают в геном кишечной палочки, которая и осуществляет синтез интерферона.

## 18.6. ГРУППЫ КРОВИ

*Группы крови* — это передающиеся по наследству признаки крови, определяемые индивидуальным для каждой особи набором специфических веществ, получивших название *групповых антигенов*. Предположение об индивидуальных (групповых) различиях крови человека высказал в 1900 г. К. Ландштейнер. Группа крови не зависит от расовой принадлежности, возраста или пола и является индивидуальной биохимической особенностью человека. Данный фактор широко применяется в криминалистике и судебной медицине. Группа крови ребенка находится в строго определенной зависимости от групповой принадлежности крови родителей, что позволяет решить вопрос спорного отцовства. Не менее важным является тот факт, что совместимость крови донора с кровью реципиента является обязательным условием при переливании крови, так как в случае несовместимости групп крови развивается иммунная реакция, вызывающая серьезные последствия (шок и др.). Группы крови, обусловленные сочетанием различных антигенов, выявлены почти у всех видов теплокровных животных.

Принадлежность человека к той или иной группе крови определяется по наиболее распространенной системе АВ0. По системе АВ0 группа крови определяется наличием или отсутствием антигенов полисахаридной природы, так называемых агглютиногенов А и В, присутствующих на наружной поверхности созревающих мембран эритроцитов, и соответствующих им антител — агглютининов а и b — в плазме крови. При взаимодействии комплементарных агглютиногенов и агглютининов происходит слипание эритроцитов (*агглютинация*), которое сопровождается их последующим разрушением с выделением гемоглобина (*гемолиз*). Следует особо отметить, что одновременно в крови человека не могут содержаться какой-либо специфический антиген и комплементарное ему антитело, поскольку это привело бы к агглютинации эритроцитов. Групповые антитела не вырабатываются в ответ на введение антигенов, а присутствуют в крови постоянно. Однако в некоторых случаях у людей в течение жизни наблюдается образование специфических антител к антигенам А и В; это может происходить вследствие таких причин, как: 1) переливание несовместимой крови; 2) введение веществ, сходных по химической структуре с групповыми антигенами; 3) применение некоторых сывороток и вакцин; 4) инфекции; 5) при беременности в случае резус-конфликта, когда резус-фактор ребенка положительный, а матери — отрицательный.

Выделяют четыре группы крови системы АВ0, обозначаемые буквенными и цифровыми символами. Отсутствие обоих антигенов или антител обозначают цифрой 0. Первая группа крови содержит только антитела а и b и обозначается как 0ab; II группа крови содержит антиген А и антитело b и обозначается как Ab; III группа крови содержит антиген В и ан-

титело а и обозначается как Ba; IV группа крови содержит только антигены А и В и обозначается как АВ0.

Применение методов тонкого биохимического анализа позволило выявить неоднородность антигена А и определить его варианты: А<sub>1</sub>, А<sub>2</sub>, А<sub>3</sub>, А<sub>4</sub>, А<sub>5</sub>, А<sub>х</sub> и др. Антиген В более однороден, однако удалось описать и его редко встречающиеся варианты: В<sub>3</sub>, В<sub>w</sub>, В<sub>х</sub> и др. Кроме антигенов А и В в эритроцитах некоторых людей обнаруживаются специфические антигены, например антиген Н, часто встречающийся в эритроцитах людей, имеющих I группу крови.

За реализацию групповых факторов в эритроцитах крови человека отвечает одна группа аллельных генов — А, В и 0. У каждого человека содержится два из этих трех генов, причем гены А и В являются доминантными, а их отсутствие (0) имеет фенотипическое проявление только в случае *гомозиготности*. При одновременном наличии генов А и В они экспрессируются одновременно и независимо друг от друга (явление *кодоминантности*).

Определение понятия групп крови все время расширяется, и если до 1955 г. это понятие отождествлялось с групповыми антигенами, находящимися в эритроцитах, то с открытием полиморфности гаптоглобина началась эра сывороточных групп. В 1958 г. были открыты лейкоцитарные, а в 1959 г. — тромбоцитарные группы, и, наконец, с 1963 г. началось выявление в эритроцитах человека групп целого ряда ферментов. Еще в 1930 г. К. Ландштейнер высказал предположение о биохимической индивидуальности человеческой крови, и в настоящее время, по мнению многих ученых, понятие группы крови должно охватывать все генетически наследуемые факторы, выявляемые в крови человека.

**Методы определения групп крови.** В медицинской практике групповая принадлежность крови по системе АВ0 определяется реакцией агглютинации при помощи стандартных сывороток, содержащих антитела по отношению к антигенам (агглютиниnam) эритроцитов А и В.

Стандартные сыворотки двух различных серий каждой группы наносят на предметное стекло в 2 ряда по 3 капли в следующем порядке (слева направо): 0ab (I группа крови), Ab (II группа крови) и Ba (III группа крови). Исследуемую кровь наносят рядом с каждой сывороткой в объеме 0,01 мл, перемешивают кровь с сывороткой и наблюдают за ходом реакции в течение 5 мин при комнатной температуре. Реакция считается положительной при наличии агглютинации и отрицательной при отсутствии агглютинации. Испытуемая кровь принадлежит к той группе, с сывороткой которой не произошла агглютинация. В тех случаях, когда положительный результат получен с сыворотками всех трех групп, для исключения неспецифической агглютинации производится контрольное исследование со стандартной сывороткой АВ0 (IV), не содержащей групповых агглютининов. Отсутствие агглютинации в контрольной пробе доказывает принадлежность исследуемой крови к группе АВ (IV).

Возможность более быстрого и точного определения групп крови системы АВ0 дает применение моноклональных антител, так называемых *цоликлонов* анти-А и анти-В, являющихся продуктом гибридных клеточных линий. Цоликлоны не содержат антител иной специфичности и по-

этому не вызывают неспецифической полиагглютинации эритроцитов, а поскольку цоликлоны не являются продуктами клеток человека, исключено заражение препаратов вирусами гепатита и СПИДа.

## 18.7. ИММУНОДЕФИЦИТ. ПРОБЛЕМА СПИДА

СПИД, или синдром приобретенного иммунного дефицита (AIDS — *Acquired Immune Deficiency Syndrome*), — это патологическое состояние, при котором в результате поражения иммунной системы ослабляются защитные силы организма. СПИД наиболее характерен для ВИЧ-инфекции — заболевания, вызываемого вирусом иммунодефицита человека — ВИЧ (HIV — *Human Immune Deficiency Virus*). Впервые ВИЧ был обнаружен в 1959 г. в Заире, после чего второй случай выделения этого вируса (в США) датируется 1969 г. Заражение ВИЧ главным образом происходит при половых контактах (особенно часто — при гомосексуальных), передается от матери плоду во время беременности и родов, передается от матери ребенку и от ребенка матери при кормлении грудью, при переливании крови, инъекциях и т. д. Первые проявления болезни (лихорадка, гепатолиенальный синдром, воспаление лимфоузлов и др.) возникают в диапазоне от 3 сут до нескольких месяцев после заражения. Период вторичных проявлений, обусловленный непосредственным действием ВИЧ, длится от нескольких месяцев до 8—10 лет и завершается формированием СПИДа, который в течение 1—5 лет приводит больного к смерти.

ВИЧ принадлежит к числу так называемых ретровирусов, т. е. вирусов, в геноме которых закодированы РНК-зависимые транскриптазы (обратные транскриптазы). В результате репликация генома РНК-содержащих вирусов катализируется собственной обратной транскриптазой, которая упаковывается в белковую оболочку вируса — капсиду при каждой репликации вирусов в клетке-хозяине. Но в отличие от других ретровирусов (вирус саркомы кур Рауса, вирус полиомиелита) ВИЧ в своем геноме содержит пять дополнительных открытых участков, которые кодируют белки, оказывающие активирующее или подавляющее действие на белковый синтез и, возможно, на другие функции. Летальный эффект ВИЧ вызван тем, что, убивая специализированные Т-лимфоциты, он повреждает иммунную систему, поскольку без этих клеток В-лимфоциты не способны размножаться в ответ на проникновение в организм нового антигена. Молекулярный механизм летального действия ВИЧ таков: при инфицировании клеток ВИЧ его капсидный белок связывается с трансмембранным клеточным белком, после чего вирусный капсид сливается с мембраной клетки, а вслед за этим вирусная РНК освобождается в клетку, где она после конверсии в двухцепочечную ДНК включается в хромосому в качестве провируса. Белок, синтезируемый под генетическим контролем провируса, позволяет инфицированным Т-лимфоцитам сливаться с неинфицированными Т-лимфоцитами, что ведет к их разрушению. Следовательно, человек погибает от потери способности организма к иммунологической защите от тех инфекций, которые сами по себе не являются смертельными.

Кратко остановимся на самых актуальных вопросах, связанных со СПИДом. Во-первых, каким образом ВИЧ проник в организм человека? Во-вторых, каковы современные предпосылки к созданию эффективных лекарственных препаратов, действующих на ВИЧ (используемые в настоящее время препараты малоэффективны, поскольку способны положительно воздействовать только на сопутствующие изменения, а не на сам ВИЧ)?

Большинство ученых считают, что ВИЧ, а точнее некий вирус, мутировавший впоследствии в ВИЧ, передался человеку от человекообразных обезьян. Актуальным представляется вопрос о способе передачи ВИЧ-инфекции: либо ВИЧ передался с кровью больной обезьяны в процессе охоты на них аборигенов (случайное проникновение с кровью, употребление мяса в пищу), либо с помощью кровососущих насекомых. В качестве последних наиболее подходят не комары, а мухи-жигалки, которые, прокалывая кожу, сосут кровь через одну трубочку ротового аппарата, а слюну впрыскивают через другую; кроме того, мухи-жигалки соскребают кожу и едят из ранки, а в рану следующей жертвы впрыскивают часть крови, высосанной раньше. Эта кровь не переваривается, потому что хранится в специальном резервуаре, в котором отсутствуют пищеварительные ферменты. Как показали германские ученые (1922 г.), в таком резервуаре неплохо выживает ВИЧ, что может свидетельствовать в пользу механизма передачи ВИЧ-инфекции человеку через кровососущих насекомых. В дальнейшем эти исследования были подтверждены работами Б. Ханн с коллегами (1999 г.), описавшими заражение человека ВИЧ от шимпанзе. Но существуют и другие версии возникновения СПИДа у человека. По одной из них, ВИЧ попал в Европу в результате пересадок мужчинам с целью омоложения яичек инфицированных африканских шимпанзе. Интересным также представляется тот факт, что ВИЧ был обнаружен в замороженных тканях человека, умершего более 30 лет назад, т. е. вирус мутировал в организме человека задолго до вспышки заболевания в Африке (возможно, в течение сотен лет), что говорит о том, что ВИЧ-инфекция намного древнее, чем об этом принято думать.

Вопрос о разработке вакцины против СПИДа в настоящее время стоит крайне остро, так как, по мнению ученых, эпидемия СПИДа выходит на новый виток. По оценкам специалистов, занимающихся проблемой СПИДа, вакцина против него может появиться не раньше чем в 2010—2015 гг. Но уже сейчас созданы предпосылки к ее разработке, а именно ее прототипы. Вещество-прототип вакцины будущего прежде всего является антигеном, имитирующим фрагменты живого вируса. Антиген в составе вакцины должен хорошо стимулировать иммунитет человека и защищать его от многих разновидностей болезнетворного вируса. Кроме того, необходим совершенно чистый антиген, производство которого должно быть недорогим. Такой прототип вакцины против ВИЧ создали российские ученые, обратившие внимание на один из его белков — р24, который не меняется у разных видов ВИЧ. Второй белок, gp41, а вернее, его фрагмент, взяли в качестве мощного стимулятора иммунитета. Затем был создан искусственный ген, кодирующий синтез обоих белков, а с помощью генной инженерии удалось получить *in vitro* гибридную молекулу белка,

состоящую из двух частей — р24 и gp41. Действие этого белка проверили на лабораторных животных, и ожидания ученых оправдались: в крови животных было обнаружено множество антител против СПИДа. Теперь ученым предстоит более сложная задача: установить, сможет ли полученный антиген нейтрализовать живой вирус.

Кроме СПИДа в последние годы внимание ученых привлечено еще к одному инфекционному заболеванию — *гриппу птиц*, или *птичьему гриппу*. В 1997 г. в Гонконге впервые отмечен случай заражения людей птичьим гриппом, когда штамм H5N1 вызвал тяжелое респираторное заболевание у 18 человек, из которых 6 умерли. В начале февраля 2004 г. вирус птичьего гриппа H5N1 во Вьетнаме был обнаружен у свиней. Заболевание, ныне известное как «птичий грипп», — это инфекционная болезнь птиц, вызываемая одним из штаммов вируса гриппа типа А, который схож с вирусом обычного человеческого гриппа. Ученые предполагают, что ключевую роль в распространении инфекции играют перелетные птицы, особенно те, которые курсируют между Китаем и дальневосточными регионами России. Считается, что к данной инфекции восприимчивы все птицы, хотя некоторые виды менее восприимчивы, чем остальные. Так, мигрирующие водоплавающие птицы — чаще всего дикие утки — являются природным резервуаром вируса птичьего гриппа, и эти птицы меньше всего восприимчивы к инфекции. Особенно восприимчива к эпидемиям H5N1 домашняя птица, включая кур и индеек. Другие виды животных (кроме птиц и свиней) вирус обычно не поражает. Из 15 подтипов вируса птичьего гриппа особое беспокойство представителей Всемирной организации здравоохранения вызывает именно вирус H5N1. Это высокопатогенный вирус, опасный для людей. В настоящее время ведется интенсивная работа по созданию вакцины против птичьего гриппа.

## Контрольные вопросы и задания

1. В чем заключаются особенности структурно-функциональной организации иммунной системы?
2. Какова химическая структура антител?
3. Поясните причины возникновения первичного и вторичного иммунного ответов; опишите механизмы синтеза антител и селективного их действия на антигены.
4. Какие структурные различия определяют принадлежность крови человека к определенной группе? Дайте определения понятия «группа крови».
5. В чем заключаются методы биохимического анализа крови на групповую принадлежность?
6. Назовите наиболее актуальные проблемы, связанные с иммунодефицитом.

---

---

## Раздел IV

# ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ БИОХИМИИ

*В настоящем разделе рассмотрены прикладные направления биохимии — наиболее современные и перспективные области деятельности ученых.*

*Глава 19* знакомит читателя с основными понятиями, проблемами и перспективами такого новейшего направления биотехнологии, как генная инженерия. Изучение этой области практической науки особенно актуально в связи с ее последними грандиозными достижениями.

*В главе 20* рассмотрены основы биохимии лекарственных препаратов, начиная с их классификации и заканчивая характеристикой основных групп лекарственных средств и спецификой их биохимического действия. Материал главы является кратким экскурсом в основы фармацевтической химии и может быть использован не только в практической деятельности ученого, но и в повседневной жизни любого человека.

*Глава 21* содержит сведения об основах клинической биохимии — важной отрасли практической медицины, дающей возможность врачам выяснять молекулярные причины тех или иных заболеваний и установить оптимальные варианты их лечения.

## Глава 19

### Генная инженерия. Биотехнология

#### 19.1. ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК ВАЖНЕЙШИЕ ОТРАСЛИ СОВРЕМЕННОЙ ИНДУСТРИИ

Под *биотехнологией* (от греч. *bios* — жизнь, *techné* — искусство, мастерство и *logos* — слово, учение) понимают совокупность естественных и инженерных наук, использование которых позволяет из животных и растительных клеток, их органелл и биомолекул получать качественно улучшенные продукты медицинского и промышленного назначения, а также проводить другие полезные манипуляции. Биотехнология развивается на базе микробиологии, биохимии, молекулярной биологии, генетики, органической, аналитической и неорганической химии, а также опирается на

достижения таких дисциплин, как процессы и аппараты химической и пищевой промышленности.

Направление биохимических исследований, задачей которых является модификация генотипов с целью изменения фенотипов организмов, называется *генной инженерией*. Генная инженерия представляет собой современную производительную биотехнологию, использование которой дает человечеству надежду на решение глобальной проблемы питания (по прогнозам ученых, к концу XXI в. население Земли может увеличиться до 10 млрд человек, в то время как и при современной численности население в некоторых регионах испытывает недостаток в питании) и ряда других проблем. Цель настоящей главы — рассмотреть методы и основные направления развития генной инженерии и биотехнологий.

Дж. Уотсон и Ф. Крик, определив роль ДНК в процессе передачи наследственной информации в живых организмах, фактически заложили фундамент современной генной инженерии и биотехнологии. Буквально через 10 лет после знаменательного открытия структуры ДНК группа американских исследователей сообщила о выделении первой *гибридной* (или *рекомбинантной*) ДНК — молекулы, объединяющей в себе гены разных организмов.

В 1983 г. ученые вывели трансгенный табак, устойчивый к определенному виду вредителей, а уже через 4 года в массовую продажу поступили трансгенные растения, устойчивые к насекомым и гербицидам. Новая область биотехнологии позволила выводить новые культуры растений за 2—3 года, в то время как обычные методы селекции путем отбора и скрещивания давали возможность получать готовый продукт лишь за 10 и более лет. В настоящее время генная инженерия позволяет получать новые формы микроорганизмов, способных продуцировать полезные для животных и человека биологически активные продукты, в том числе и лекарственные вещества.

В качестве биотехнологических объектов чаще всего используются клетки микроорганизмов, растений или животных. Основные преимущества использования биологических клеток в биотехнологических целях заключаются в следующем:

1) клетки — это естественные продуценты белков, жиров, углеводов, витаминов, нуклеиновых кислот, аминокислот, антибиотиков, гормонов, антител, ферментов, спиртов и других биосоединений;

2) клетки отличаются очень быстрой воспроизводимостью (бактериальные — за 20—60 мин, дрожжевые — за 1,5—2 ч, животные — за 24 ч);

3) биосинтез сложных биомолекул (белков, антибиотиков, антигенов, антител и др.) значительно экономичнее и технологически доступнее, чем химический синтез; кроме того, в качестве сырья для биотехнологического синтеза используются отходы сельскохозяйственной и пищевой промышленности;

4) возможность проведения биотехнологического процесса в промышленных масштабах.

К настоящему времени сформированы следующие основные направления биотехнологии: *медицинская* (фармацевтическая, иммунная), *сельскохозяйственная* (ветеринарная, растений), *промышленная* (пищевая, лег-



кая промышленность, химическая, энергетическая) и экологическая (очистка, деградация).

Таким образом, генная инженерия занимает особую область в современной мировой индустрии и по праву считается биотехнологией будущего.

## 19.2. МЕТОДЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Биохимическая модификация генотипов при решении задач генной инженерии связана с изменением химической структуры хромосомной ДНК, а именно с перестройкой последовательности нуклеотидов в ее молекуле. Перестройка нуклеотидов, соответственно, меняет первичную структуру синтезирующейся в процессе транскрипции мРНК, а это, в свою очередь, ведет к изменению первичных структур синтезируемых в организме белков. Таким образом, в результате модификации молекулы ДНК в клетке запускается синтез нового белка, что приводит к появлению у организма новых фенотипических признаков и свойств. Сущность методов генной инженерии заключается в том, что в результате встраивания в генотип ранее отсутствующего гена можно заставить клетку синтезировать белки, которые она ранее не синтезировала.

Наиболее распространенным методом генной инженерии является создание *рекомбинантных*, т. е. содержащих чужеродный ген, бактериальных плазмид. Плазмиды — это кольцевые двухспиральные молекулы ДНК, содержащие несколько тысяч пар нуклеотидов. В исследованиях по генной инженерии обычно используют кишечную палочку *E. coli*. Получение рекомбинантных молекул ДНК включает ряд последовательных этапов:

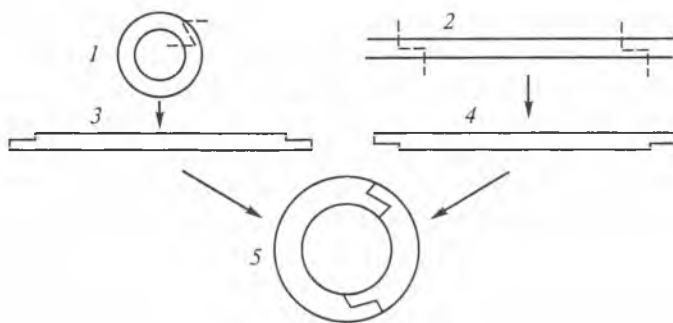
1) *рестрикция* молекул ДНК на более короткие фрагменты с участием ферментов *рестриктаз*;

2) *лигирование* — включение фрагмента с нужным геномом в плазмиду под действием ферментов *лигаз* (рис. 19.1);

3) *трансформация* — введение рекомбинантных плазмид в клетки бактерий, в результате чего последние приобретают набор определенных свойств; затем каждая из бактерий размножается и образует колонию из многих тысяч дочерних клеток — клонов (от греч. *klon* — веточка, побег, отпрыск), генетически идентичных родительской бактерии;

4) *скрининг* — отбор среди трансформированных бактерий клонов, несущих нужный ген, например ген человека.

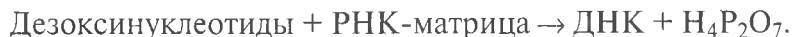
Все перечисленные этапы составляют сущность процесса клонирования, с помощью которого можно получить более миллиона копий любого фрагмента ДНК. Если клонированный фрагмент кодирует белок, то возможно экспериментально изучить молекулярный механизм регуляции транскрипции этого гена и наработать такой белок в нужном количестве. Внедрение подобных механизмов в многотоннажное производство с целью получения продуктов с набором полезных характеристик является одной из главных целей генной инженерии и биотехнологии вообще. Например, если ввести в генотип почвенных бактерий гены нитрифицирующих бактерий, то почвенные бактерии смогут переводить молекулярный азот воздуха в связанный азот почвы.



**Рис. 19.1. Процесс получения рекомбинантной ДНК:**

1 — плазмида; 2 — молекула ДНК, содержащая ген, выбранный для пересадки; в результате рестрикции (места рестрикции выделены пунктирной ломаной линией) образуются плазмидная ДНК (3) и ген (4), при лигировании которых формируется рекомбинантная молекула ДНК (5)

Поскольку выделение готового гена из генома клетки — довольно трудная задача, порой не выполняемая экспериментально, то для получения генов используют обратную транскрипцию с участием обратной транскриптазы. Данный фермент присутствует в частицах РНК-содержащих вирусов и катализирует синтез ДНК на матрице РНК:



Если при проведении реакции *in vitro* в инкубационную смесь добавить мРНК какого-либо белка, то синтезируется ген, комплементарный той мРНК, в которой закодирована первичная структура соответствующего белка.

### 19.3. ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ РАСТИТЕЛЬНЫЕ И ЖИВОТНЫЕ ПРОДУКТЫ

В настоящее время известно несколько сотен генетически модифицированных растительных продуктов. Самыми распространенными среди них являются соя, кукуруза, масличный рапс и хлопок. В некоторых странах для выращивания одобрены трансгенные картофель, помидоры, рис, кабачки и др. Экспериментально изучаются возможности генетической модификации подсолнечника, сахарной свеклы, табака, винограда и ряда других растений.

Чаще всего в результате генно-инженерной модификации растения приобретают устойчивость к гербицидам, насекомым или вирусам. Устойчивость растений к гербицидам проявляется в их невосприимчивости к смертельным дозам химикатов по сравнению с другими, генетически не модифицированными растениями. Таким образом, создается возможность для более эффективного выращивания тех или иных сортов растений, толерантных к гербицидам. В результате генетических модифика-

ций флора приобретает неуязвимость по отношению к насекомым и другим вредителям; например, непобедимый колорадский жук, съедая листик картофельной ботвы модифицированного растения, погибает. Это стало возможным благодаря тому, что в геном картофеля вводят ген природного токсина — земляной бактерии *Bacillus thuringiensis*.

Среди достижений в области генной инженерии растений следует отметить следующие: помидоры повышенной лежкости, которые очень долго сохраняются в недоспелом виде при температуре 12 °С, но при повышении температуры быстро дозревают; помидоры и арбузы квадратной формы для удобства их хранения и транспортировки; картофель с человеческим интерфероном крови, который повышает иммунитет, и т. д. Кроме того, в настоящее время ведутся разработки по созданию «умных растений», которые, изменяя свой цвет, способны сами предупреждать фермеров о недостатке влаги в почве и т. п.

Технология создания генетически модифицированных животных является одной из наиболее интенсивно развивающихся биотехнологий в последние 10 лет. Трансгенные животные широко используются как для решения большого числа теоретических задач, так и в практических целях в области биомедицины и в сельском хозяйстве. Некоторые научные проблемы не могли бы быть решены без создания трансгенных животных. Трансгенных лабораторных животных в качестве моделей используют для проведения исследований функций различных генов, регуляции их экспрессии, фенотипического проявления генов, инсерционного мутагенеза и т. д.

Трансгенные животные важны для различных биомедицинских исследований. Существует множество трансгенных животных, на организмах которых моделируют различные заболевания человека (рак, атеросклероз, ожирение и др.). Так, получение трансгенных свиней с измененной экспрессией генов, определяющих отторжение органов, позволит использовать этих животных для ксенотрансплантации (пересадки органов свиньи человеку).

В практических целях трансгенные животные используются различными зарубежными фирмами как коммерческие биореакторы, обеспечивающие производство разнообразных медицинских препаратов (антибиотиков, факторов свертываемости крови и др.). Кроме того, перенос новых генов позволяет получать трансгенных животных, отличающихся повышенными продуктивными свойствами (например, усиление роста шерсти у овец, понижение содержания жировой ткани у свиней, изменение свойств молока) или устойчивостью к различным заболеваниям, вызываемым вирусами и другими патогенами. В настоящее время человечество уже использует множество продуктов и материалов, получаемых с помощью трансгенных животных, среди них: медицинские препараты, человеческие органы и ткани, продукты питания.

#### **19.4. МЕТОДИЧЕСКИЙ И ЭТИЧЕСКИЙ АСПЕКТЫ КЛОНИРОВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА**

Эксперименты по клонированию животных ведутся довольно давно. Для их осуществления достаточно убрать из яйцеклетки ядро, имплантировать в нее ядро другой яйцеклетки, взятой из эмбриональной ткани, и

вырастить ее либо в пробирке, либо в чреве приемной матери. Таким путем была клонирована овечка Долли. Ядро из клетки вымени 6-летней взрослой овцы одной породы пересадили в безъядерное яйцо овцы другой породы. Развивающийся зародыш поместили в матку овцы третьей породы. Так как родившаяся овечка получила все гены от первой овцы-донора, то является ее точной генетической копией. Этот эксперимент открывает массу новых возможностей для клонирования элитных пород животных взамен многолетней селекции.

Также были проведены работы по продлению жизни нескольких типов человеческих клеток. Обычно клетка умирает, пережив около 7—10 процессов деления, а в результате проведенных работ удалось добиться 100 делений, что позволяет предвидеть в ближайшее время успехи генной инженерии в борьбе с процессом старения.

Вопрос о клонировании человека — один из наиболее актуальных в настоящее время. При обсуждении данной проблемы большое значение имеют два основных аспекта — методический и этический.

Для решения вопроса о возможности клонирования человека необходима полная методическая или техническая разработка клонирования взрослых млекопитающих, что требует расширить круг объектов исследований, включив в него кроме овец представителей и других видов животных. Данные работы начинают появляться уже сейчас; так, предпринимаются попытки клонирования коров и свиней. Разностороннее исследование процессов клонирования позволит ученым установить, не ограничивается ли возможность клонирования взрослых млекопитающих особенностями какого-либо одного или нескольких видов.

Существенной проблемой является повышение выхода жизнеспособных реконструированных эмбрионов и взрослых клонированных животных. Необходимым условием для решения данной проблемы является выяснение влияния методических приемов на продолжительность жизни и функциональные характеристики животных. Кроме того, для клонирования животных очень важно снизить риск дефективного развития реконструированной яйцеклетки, главной причиной которого может быть неполное репрограммирование генома донорского ядра. Необходимо отметить, что в природе встречаются случаи «естественного» клонирования человека — это однояйцевые, или монозиготные, близнецы — настоящие клоны с одним и тем же геномом, возникающие при разделении одной зиготы на ранней стадии.

Этическая сторона данной проблемы вызывает разнообразные дискуссии, главными темами которых являются следующие.

1. Становление личности не только базируется на биологической наследственности, но и определяется социокультурной средой. При клонировании индивида невозможно воссоздать все те условия воспитания и обучения, которые сформировали личность его прототипа. Однако все-таки если клон — близнец выдающейся личности, у него, возможно, имеется преимущество, заключающееся в том, что с самого начала жизни будет известно, какими способностями он наделен.

2. При бесполом размножении изначальная жесткая запрограммированность генома определяет меньшее разнообразие взаимодействий орга-

низма с окружающими изменчивыми условиями среды, поэтому клонирование может сократить генетическое разнообразие, что скажется на снижении иммунитета организмов и т. д. Но это положение — не более чем необоснованная реплика. Вполне очевидно, что клонирование человека будет производиться в очень скромных масштабах из-за предполагаемой высокой стоимости процедуры. Кроме того, большинство женщин не захотят быть матерями клонов. Пройдет много десятилетий, прежде чем общее количество клонов на планете достигнет хотя бы 1 млн человек, что в процентном выражении составит микроскопическую долю от общего числа населения и не окажет никакого воздействия на генетическое разнообразие людей. И даже в том случае, если на планете будет клонирован каждый человек, генетическое разнообразие практически не уменьшится.

3. Существует мнение, что клонирование может привести к созданию людей-монстров. Здесь следует уточнить, что при клонировании ДНК копируется без искажений, в результате чего появляется еще один человек-близнец существующего индивида, и, следовательно, он не может быть монстром или уродом. В этом и проявляется принципиальное отличие клонирования человека и животных от методов генной инженерии.

4. Взгляды церкви на клонирование как на узурпацию прав Божественного Творца также не кажутся убедительными. То, что человек может создать жизнь, значит, что он поистине несет в себе образ своего Творца. Любые успехи науки лишь прославляют Творца нашего разума, а не хулят его.

Остается только отметить, что в настоящее время клонирование живых людей (не тканей для медицинских целей) подавляющее большинство государственных деятелей признает нежелательным. Мнение же научной общественности (по крайней мере, ее значительной части) выразилось в Декларации в защиту клонирования и неприкосновенности научных исследований.

## 19.5. ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЕ ПРОДУКТЫ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ И ФАРМАКОЛОГИИ

Генная инженерия достигла большого прогресса в области создания новых полезных продуктов для медицинской и фармакологической промышленности. Наиболее существенные результаты представлены в табл. 19.1.

**Таблица 19.1. Использование результатов генной инженерии**

Генно-инженерный продукт	Биохимическая роль и сфера применения
Факторы крови	Ускорение образования сгустков крови, дефицитных у больных гемофилией. Использование подобных факторов устраняет риск, связанный с переливанием крови
Факторы иммунной системы	Стимуляция образования лейкоцитов. Применяют для лечения иммунодефицитов и при борьбе с инфекциями
Эритропоэтин	Стимуляция образования эритроцитов. Применяют для лечения анемий у больных с почечной недостаточностью

Генно-инженерный продукт	Биохимическая роль и сфера применения
Факторы роста	Стимуляция дифференциации и роста различных типов клеток. Применяют для ускорения лечения ран
Гормон роста человека	Применяют для лечения карликовости
Инсулин человека	Используется для лечения диабета
Интерферон	Препятствует размножению вирусов. Используется для лечения некоторых форм раковых заболеваний
Моноклональные антитела	Из-за высокой специфичности используются в диагностике. Применяют также для адресной доставки лекарственных препаратов, токсинов, радиоактивных и изотопных соединений к раковым опухолям и др.
Вакцины	Искусственно полученные вакцины (первой была получена вакцина против гепатита В). По многим показателям они лучше обычных вакцин

## 19.6. ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

Возможности генной инженерии позволяют воздействовать на гены с целью устранения причин наследственных заболеваний, изменения свойств организмов в нужном направлении, пересадки генов из одного организма в другой и привнесения тем самым в него новых полезных фенотипических признаков. Например, уже сейчас создаются новые организмы, сочетающие в себе свойства животных и растений. Но в связи со сложностью определения долговременных последствий генных манипуляций ученые с особой осторожностью осуществляют новые проекты в области генной инженерии. Есть несколько точек зрения на проведение подобных исследований; мы отметим наиболее характерные из них.

В настоящее время методы генной инженерии еще далеко не совершенны, так как нет механизмов управления процессом встраивания нового гена. Поэтому невозможно предвидеть место встраивания и эффекты от добавленного гена. Даже в случае известного местоположения гена в геноме имеющиеся в настоящее время сведения о ДНК еще не позволяют предсказывать результаты. Так, английским ученым А. Пустай (1998 г.) было показано, что употребление подопытными крысами генетически модифицированного картофеля привело к серьезным повреждениям их внутренних органов и иммунной системы, но самое главное — уменьшился объем их мозга. Ученым Дж. Лузи (1999 г.) было высказано предположение о том, что пыльца генетически модифицированной пшеницы, изначально содержащей небольшую долю пестицидов, способна убивать личинок бабочки-данаиды. По всем этим вопросам в научной сфере возникали серьезные дискуссии, которые до сих пор не привели к единому мнению и подходу в оценке результатов природного воздействия генетически модифицированных продуктов.

Применение генной инженерии к продуктам питания связано с тремя категориями риска: экологическими, медицинскими и социально-экономическими (табл. 19.2).

**Таблица 19.2. Экологические, медицинские и социально-экономические риски применения генной инженерии в питании населения**

Категория риска	Примеры
Экологический риск	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Появление супервредителей вследствие роста мутаций с целью приспособления насекомых к новым условиям окружающей среды.</li> <li>2. Нарушение природного баланса. Доказано, что многие генетически модифицированные растения смертельно опасны для грызунов и других животных.</li> <li>3. Выход трансгенов из-под контроля. В целях предотвращения «естественного» размножения трансгенов посадки генетически измененных культур нуждаются в строгой изоляции от других природных ландшафтов</li> </ol>
Медицинский риск	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Повышенная аллергеноопасность вследствие случайного занесения в геном модифицированных растений аллергенов.</li> <li>2. Возможная токсичность и опасность для здоровья, связанные с появлением принципиально новых белков (так как они являются гибридами белков растительного и бактериального происхождения), содержащихся в генетически модифицированных продуктах.</li> <li>3. Устойчивость к действию антибиотиков и, как следствие, появление антибиотикоустойчивых бактерий.</li> <li>4. Возникновение новых опасных вирусов в результате соединения генов, встроенных в геном вирусов, с генами инфекционных вирусов. Кроме того, вирусы могут стать менее видоспецифическими</li> </ol>
Социально-экономический риск	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Генетически модифицированные продукты — реальная угроза мелкому фермерскому хозяйству.</li> <li>2. Контроль над мировыми пищевыми ресурсами в руках небольшой группы людей.</li> <li>3. Лишение населения свободы выбора в приобретении продуктов</li> </ol>

Конечно, выше описаны вероятные, но не гарантированные варианты развития генной инженерии. А между тем успех в этой отрасли науки сможет радикально поднять производительность труда и способствовать решению многих существующих проблем, прежде всего — подъема уровня жизни каждого человека.

## Контрольные вопросы и задания

1. Каковы основные задачи генной инженерии?
2. В чем заключается сущность этапов основной методики генной инженерии и на каких положениях биохимии она базируется?
3. Какие полезные признаки могут приобретать растения в результате применения генно-инженерных приемов и методов?
4. В чем состоят методический и этический аспекты клонирования людей?
5. Какова роль генной инженерии в решении задач медицины и фармакологии?
6. Предложите план дискуссии на тему «Проблемы и перспективы генной инженерии».

---

---

## Глава 20

### Химия лекарственных веществ

#### 20.1. РОЛЬ ХИМИИ В РЕШЕНИИ ЗАДАЧ ФАРМАКОЛОГИИ

Одним из важнейших вкладов химии в благосостояние человечества является поиск и производство лекарственных средств. Сформировавшаяся в биохимии область *фармацевтической химии* представляет собой совокупность биохимических знаний, используемых в решении задач фармакологии.

*Фармакология* (от греч. *pharmakon* — лекарство и *logos* — учение) — это наука, изучающая действие лекарственных веществ на организм человека и животных. Современная фармакология имеет много различных направлений: изучение всасывания, распределения и биотрансформации лекарственных веществ в организме; выяснение биохимических механизмов их действия и т. д.

Создание высокоэффективных лекарственных препаратов — это комплексная проблема, решение которой невозможно без современных достижений препаративной органической и биоорганической химии. Если раньше отбор веществ, обладающих лечебными свойствами, происходил эмпирическим путем, то в настоящее время ученые ведут целенаправленный поиск новых лекарств, исходя из общих закономерностей взаимосвязи химической структуры соединений и их биологической активности. Проблема «структура—свойство» составляет научный фундамент поиска и создания лекарственных средств в рамках стремительно развивающегося направления *медицинской*, или *комбинаторной*, *химии*. Каждое новое лекарственное вещество должно пройти всесторонние исследования, которые позволяют понять его поведение в организме. По данным международной статистики, химикам приходится синтезировать и подвергнуть тщательным испытаниям от 5 до 10 тыс. химических соединений, чтобы отобрать один лекарственный препарат, эффективный против конкретного заболевания.

В настоящее время медицина обогащается все большим количеством новых лекарственных препаратов; вводятся все более совершенные методы их анализа, позволяющие достаточно точно установить содержание в них допустимых и недопустимых примесей.

Сами по себе лекарственные вещества известны с очень древних времен. Например, в Древней Руси мужской папоротник, мак и другие растения употреблялись как лекарства. И до сих пор 25—30 % лекарственных средств составляют различные отвары, настойки и экстракты растительных и животных организмов.



Таким образом, синтез новых лекарственных форм, изучение их метаболизма и другие прикладные исследования — это основная задача фармацевтической химии, решение которой направлено на улучшение здоровья населения.

## 20.2. МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВ

Все лекарственные вещества можно разделить на две большие группы: неорганические и органические. Те и другие получают из природного сырья или синтезируют в лабораторных или промышленных условиях.

Сырьем для получения неорганических препаратов являются горные породы, руды, газы, вода озер и морей, отходы химических производств.

Сырьем для синтеза органических препаратов служат природный газ, нефть, каменный уголь, сланцы и древесина. Нефть и газ — ценные источники сырья для синтеза углеводородов, являющихся полупродуктами при производстве органических веществ и лекарственных препаратов.

Для получения многих распространенных веществ, применяемых в медицинской практике, таких, как вазелин, вазелиновое масло, парафин, используются различные физические методы разделения нефти (сепарация, прямая перегонка и др.). Химические методы переработки нефти (крекинг, риформинг, пиролиз и др.) используются для получения промежуточных соединений — таких, как ароматические углеводороды (бензол, толуол, ксилолы), конденсированные ароматические углеводороды (нафталин, антрацен и др.), фенол и его производные, азотистые основания (пиридин и его гомологи), которые в последующем используются для синтеза лекарств.

Все перечисленные выше методы являются физико-химическими. Однако в настоящее время для получения многих лекарств широкое применение нашли биотехнологии. Например, иммобилизованные ферменты позволяют быстро, специфично и без побочных продуктов (являющихся главным недостатком химического синтеза) осуществлять синтез биологически активных веществ (о том, как иммобилизуют ферменты, см. главу 2). Так, иммобилизованная пенициллинамидаза используется для промышленного получения 6-аминопенициллановой кислоты, являющейся исходным сырьем в производстве новых *полусинтетических пенициллинов* широкого спектра действия (см. ниже). Производство гормональных препаратов — *кортизола* и *преднизолона* осуществляется в колонках, заполненных гранулами нерастворимого носителя с иммобилизованными ферментами.

Для получения белковых и пептидных препаратов могут быть использованы методы генной инженерии. Пересадкой генов, кодирующих биосинтез *инсулина*, *соматотропина*, *соматостатина* и других белково-пептидных гормонов, в ДНК кишечной палочки, были получены продукты деятельности пересаженных генов, т. е. соответствующие белковые препараты. Особую ценность представляет разработка промышленной биотехнологии производства инсулина, требующегося во все возрастающих количествах. Возможность его получения традиционным способом из

поджелудочных желез крупного рогатого скота ограничена, а химический синтез довольно трудоемок и пока далеко не совершенен.

На получении клеточных гибридов, которые могут производиться антителами *in vitro*, основан способ биотехнологии иммунных препаратов — *антител, интерферона* и др. В организм животного вводят соответствующее белковое вещество или заражают его вирусом (для производства интерферона), затем берут из него клетки селезенки, получают клеточные гибриды (гибридомы) и соответствующие иммунопрепараты. В настоящее время многие фармацевтические фирмы производят иммунопрепараты подобным способом.

### 20.3. КЛАССИФИКАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Лекарственные вещества классифицируют как по фармакологическим, так и по химическим признакам.

Для медицинской практики наиболее удобна фармакологическая классификация. Согласно этой классификации лекарственные средства разделены на группы в зависимости от их физиологического действия на организмы:

- 1) снотворные и успокаивающие (седативные);
- 2) сердечно-сосудистые;
- 3) анальгезирующие (болеутоляющие), жаропонижающие и противовоспалительные;
- 4) противомикробные (антибиотики, сульфаниламидные препараты, противотуберкулезные), противовирусные и др.;
- 5) местноанестезирующие;
- 6) антисептические;
- 7) диуретические;
- 8) гормональные;
- 9) витамины и др.

В основу химической классификации положены химическое строение и свойства веществ, причем в каждую химическую группу могут входить вещества с различной биологической активностью:

- 1) неорганические лекарственные вещества; их подразделяют, в свою очередь, как по группам химических элементов Периодической системы, так и по основным классам неорганических веществ;
- 2) органические лекарственные вещества; их подразделяют по основным классам органических веществ — алифатические, ациклические, ароматические, гетероциклические.

Химическая классификация удобна для химиков, специализирующихся в области синтеза лекарств.

Как фармакологическая, так и химическая классификации имеют свои недостатки. Недостатком фармакологической классификации является то, что в одну группу лекарственных веществ объединяются вещества различного химического строения и происхождения. Например, в группу сердечно-сосудистых средств объединены природные соединения гетероциклического ряда (алкалоиды — теофиллин, эуфиллин, дипрофил-

лин), синтетические препараты (дибазол, апрессин, дипрофен), сердечные гликозиды (препараты наперстянки, ландыша, горицвета). Также нелогичным представляется разделение по группам веществ, действующих на определенные органы. Например, кофеин действует не только на сердечную мышцу, но и на центральную нервную систему (ЦНС), а относится к группе сердечных средств.

Недостатком химической классификации является и то, что в некоторых случаях близкие по химическому строению вещества обладают различным физиологическим действием.

С учетом изложенных выше недостатков при рассмотрении основных групп лекарственных препаратов мы не будем прибегать к какой-либо одной классификации, чтобы избежать возможных противоречий.

## 20.4. ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Как и все вещества, поступающие в организм, лекарство сначала всасывается, затем распределяется по тканям и жидкостям организма и, наконец, либо выводится из организма, либо инактивируется путем химической модификации. Скорость протекания процессов, которые происходят при поступлении в организм какого-либо лекарственного вещества, изучает **фармакокинетика**. Количественная оценка биологического и терапевтического действия лекарств — задача **фармакодинамики**. Не так давно возникло новое научное направление — **фармакогенетика** — раздел фармакологии, изучающий зависимость лечебных и токсических эффектов лекарственных веществ не только от пола и возраста пациентов, но и от их генетических особенностей, например от этнической принадлежности.

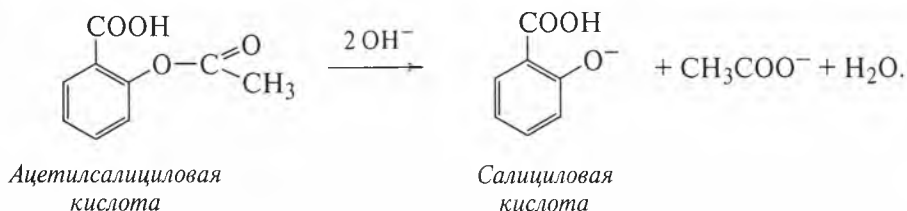
Метаболизм лекарственных препаратов сводится к кинетическим закономерностям протекания ферментативных процессов, так как превращение лекарств *in vivo* происходит с участием ферментов. Общий путь метаболизма лекарственных препаратов можно отразить схемой

*Лекарственное вещество → Метаболиты → Продукты метаболизма.*

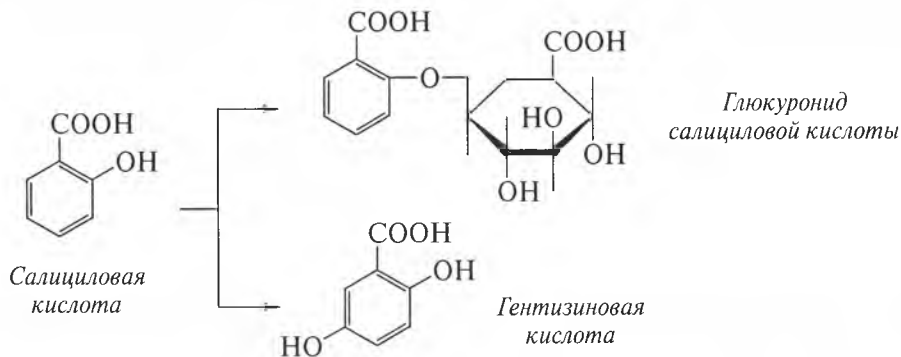
Биохимия изучает метаболизм лекарственных веществ, привлекая методы клинической биохимии: анализ лекарств и их метаболитов в биологических материалах, измерение активности и кинетики ферментов и т. д. Нужно отметить, что метаболизм лекарств зависит не только от таких факторов, как генетические, возрастные, органоспецифические, нейроэндокринные особенности организма, но и от способа введения лекарства в организм и от состояния внешней среды. Например, способ введения лекарства в организм определяет путь его метаболизма. Энтеральный способ введения лекарства обеспечивает его быстрый ферментативный гидролиз в желудочно-кишечном тракте, продукты которого при всасывании с кровью воротной вены сразу поступают в печень. Нужно отметить, что печень — это самый главный орган переработки неродственных организму

веществ, т. е. *ксенобиотиков*, к которым принадлежат и лекарства. Поэтому энтеральный способ введения лекарства обуславливает интенсивные метаболические превращения лекарственных средств и наиболее быстрый процесс их инактивации или выведения из организма. В связи с этим энтеральный способ введения более безопасен в отношении проявления токсических свойств препарата, но требует применения достаточно больших доз для развития терапевтического эффекта. При парентеральном способе введения лекарство вообще не проходит этап полостного метаболизма и не сразу поступает в печень. Поэтому скорость его метаболизма значительно ниже, а вероятность проявления побочного действия выше. Но этот способ имеет свои преимущества, которые заключаются в том, что для достижения максимального терапевтического эффекта требуется меньшее количество препарата (по сравнению с энтеральным способом).

Рассмотрим особенности метаболизма такого распространенного лекарственного препарата, как *ацетилсалициловая кислота* (аспирин), которая широко применяется в качестве жаропонижающего и обезболивающего средства (подробнее см. ниже). При введении в организм в желудочно-кишечном тракте ацетилсалициловая кислота не подвергается никаким изменениям, а в кишечнике под влиянием щелочной среды распадается, образуя анионы двух кислот: салициловой и уксусной:



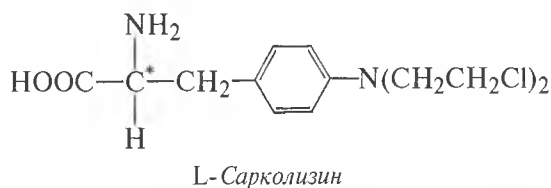
Далее анионы попадают в кровь и переносятся ею в различные органы и ткани. Салициловая кислота выводится из организма после конъюгации с глюкуроновой кислотой или глицином, а также в форме гентизиновой кислоты:



## 20.5. СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

У большинства лекарственных препаратов существует тесная взаимосвязь между пространственно-структурной организацией молекул и фармакологическим действием. Многие лекарственные препараты, полученные искусственным синтезом, существуют в виде смеси двух, а часто и большего числа пространственных изомеров, различающихся по биохимической активности. Последствия таких различий не всегда безопасны для организма. Распознавание стереоизомеров вводимого в организм лекарственного соединения может осуществляться на различных стадиях: при связывании с активными центрами ферментов и рецепторов, при транспорте через клеточные мембраны, в процессах поглощения в клетках и распределения между тканями. Все вышеперечисленные процессы — предмет изучения фармакокинетики и фармакодинамики. Выявление фармакокинетических и фармакодинамических особенностей отдельных стереоизомеров открывает перспективные направления совершенствования уже известных лекарственных препаратов. Необходимо отметить, что в настоящее время лишь 15 % синтетических препаратов, находящихся на европейских рынках, производится в форме отдельных изомеров, остальные 85 % представляют собой смеси изомеров.

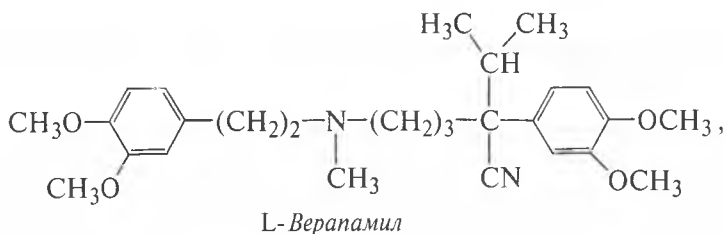
Одной из главных причин разной биохимической активности стереоизомеров лекарственных препаратов являются различия в их способности к поглощению внутренними средами организма. Эти различия связаны в первую очередь с особенностями строения и свойствами биологических мембран, поскольку последние построены из оптически активного, асимметрического материала. Кроме того, в мембранах существуют специальные транспортные системы, осуществляющие перенос биомолекул из внутренней среды клетки во внеклеточное пространство и наоборот. Некоторые транспортные системы имеют высокую стереоселективность по отношению к молекулам того или иного класса. Например, работа подобной транспортной системы обеспечивает увеличение примерно в 500 раз концентрации L-аминокислот внутри клеток по сравнению с внеклеточной средой. D-Аминокислоты такими системами не транспортируются. Например, L-сарколизин активен при лечении некоторых видов опухолей, а D-форма сарколизина неактивна, поскольку левовращающий изомер сарколизина проникает через мембраны с помощью систем активного транспорта L-аминокислот в отличие от правовращающего D-сарколизина:



В основе процессов связывания и поглощения лекарственных соединений клетками и тканями организма также, хотя в меньшей степени, за-

ложено явление стереоселективности. Так, при действии на поверхность изолированного сердца крысы равными количествами изомеров адреналина соотношение [L-изомер]/[D-изомер] внутри сердечной мышцы составляет уже  $11/1$ .

Клинико-биохимическое значение стереоселективных метаболических путей энантиомеров зависит от различий в силе их действия и токсичности. Если предположить, что два энантиомера лекарственного соединения в рацемической смеси обладают одинаковой биохимической активностью, то не имеет большого значения, который из них подвергается метаболизму первым. Но если энантиомеры отличаются силой действия и вызываемыми нежелательными побочными явлениями, то скорость метаболизма имеет принципиальное значение. Например, L-изомер *верапамила*

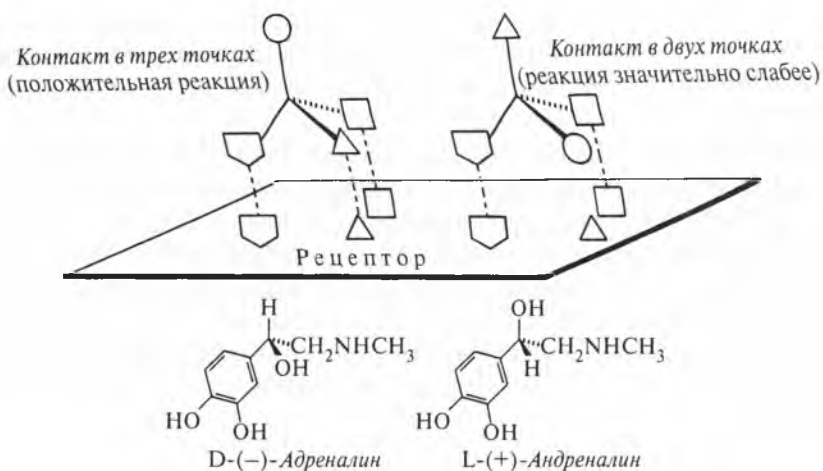


применяемого при сердечных заболеваниях, фармакологически в 8—10 раз активнее и быстрее метаболизируется в печени, чем D-изомер. Такие расхождения в путях биотрансформации L- и D-изомеров приводят к различному содержанию их в плазме крови. Отношение концентраций [D]/[L] в плазме равно 5 при пероральном приеме верапамила и 2 при внутривенном введении, т. е. когда препарат попадает в кровь, минуя печень. Этот факт позволяет объяснить большое различие между оптимальными пероральными (80—160 мг) и внутривенными (5—10 мг) дозами верапамила.

Отношение активности одного энантиомера к активности другого служит прямой характеристикой стереоселективности рассматриваемого соединения. Это отчетливо проявляется в случае совпадения центра оптической асимметрии молекулы и участка на ней, который комплементарен рецептору (*правило Пфейффера*).

Важно отметить, что из терапевтической практики известны случаи использования препаратов, состоящих из рацемических смесей, в которых один из стереоизомеров обладал ярко выраженным токсическим действием. Например, L-изомер препарата *талидомида* является мощным транквилизатором, а присутствующий в смеси в равных количествах D-изомер приводит к появлению уродства у новорожденных.

Заметим, что если вещество взаимодействует с рецептором лишь по двум центрам, то различия в биохимической активности его стереоизомеров ожидать не приходится. Однако если в одном изомере имеется группа, которая пространственно препятствует контакту вещества с рецептором по двум центрам, то различие между оптическими антиподами должно иметь место. Например, из двух стереоизомеров адреналина только у



**Рис. 20.1.** Взаимодействие энантимеров адреналина с соответствующими группами рецептора

одного все три группы ориентированы таким образом, что они могут соединяться с комплементарными группами рецептора (рис. 20.1). В этом случае будет наблюдаться максимальная фармакологическая активность, соответствующая D-(-)-адреналину. У L-(+)-адреналина спиртовая OH-группа ориентирована «неправильно» по отношению к рецептору, и данная молекула может взаимодействовать с рецептором только в двух точках. Поэтому природный D-(-)-адреналин обладает в десятки раз большей фармакологической активностью, чем искусственно синтезированный L-(+)-изомер.

Таким образом, изменения пространственного расположения одних и тех же атомно-молекулярных групп в биологически активных соединениях могут иметь столь же значительные последствия, как и изменения химической природы этих групп. Выявление особенностей влияния стерических факторов на биохимическую активность молекулы позволяет с помощью стереоспецифических методик синтеза получать лекарственные препараты, обладающие наибольшей эффективностью и/или наименьшей токсичностью. На стадии разработки лекарственных средств необходим сравнительный анализ терапевтической активности, токсичности, метаболизма, фармакодинамики и фармакокинетики индивидуальных стереоизомеров.

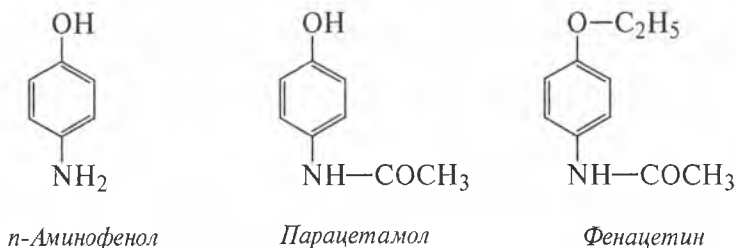
## 20.6. ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ГРУПП ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

### 20.6.1. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗОЛА

Бензол и большинство его монофункциональных производных довольно токсичны для живых организмов. Но некоторые из них нашли применение в качестве лекарств: например, *бензойная кислота* в виде натриевой соли (*бензоат натрия*) используется как отхаркивающее средство. Исход-

ными веществами для производства ряда лекарств служат гетерофункциональные производные, содержащие в бензольном кольце различные функциональные группы (гидрокси-, карбокси-, аминогруппы).

***n*-Аминофенол и его производные.** *n*-Аминофенол — сильнейший яд. Как бифункциональное соединение *n*-аминофенол образует производные по каждой функциональной группе в отдельности и одновременно по двум функциональным группам. Интерес представляют такие его производные, как *парацетамол* и *фенацетин*:



Оба эти соединения обладают анальгетическим и жаропонижающим действием. Парацетамол является *N*-ацетильным производным *n*-аминофенола. Фенацетин получают ацелированием этилового эфира *n*-аминофенола. Нужно отметить, что ранее фенацетин входил в состав широко известных лекарственных препаратов: *цитрамона*, *кофицила*, *аскофена*. Однако, как было установлено позднее, данное соединение токсично. Поэтому в настоящее время фенацетин заменен другими веществами, в частности парацетамолом.

Следует пояснить, что анальгетики (или обезболивающие средства) по особенностям воздействия на ЦНС подразделяют на две группы:

- 1) антагонисты нейромедиаторов нервных клеток в месте возникновения нервного импульса; они подавляют болевые ощущения в месте их возникновения на периферии организма;
- 2) антагонисты нейромедиаторов основных отделов ЦНС — головного и спинного мозга; они изменяют сигналы, поступающие к ним по болевым нервам.

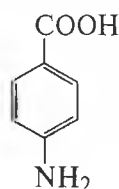
При действии многих анальгетиков второй группы характерны неблагоприятные побочные эффекты, проявляющиеся в «привыкании» организма и способности вызывать депрессию. Анальгетики первой группы лишены этих недостатков.

Толерантность (привыкание к лекарствам) проявляется в том, что болеутоляющее действие многих наркотиков (опиатов) со временем уменьшается, что делает необходимым постоянное увеличение вводимых доз препарата. Лекарственная зависимость (наркомания), т. е. синдром «я не могу жить без лекарства», имеет химическую природу, которая заключается в следующем. Опиаты ингибируют аденилатциклазу клеточной мембраны и снижают концентрацию цАМФ, а также блокируют высвобождение вещества Р — нейропептида, состоящего из 11 аминокислотных остатков и выполняющего роль медиатора нервного болевого пути. В результате понижается возбудимость клеток, что обеспечивает обезболивающий эффект. Клетка компенсирует ингибированный фермент синтезом

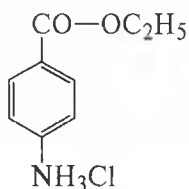


дополнительных его порций. Но более высокая концентрация фермента требует и более высоких концентраций опия для достижения того же ингибирующего и обезболивающего эффектов. Если затем ингибитор удалить, то концентрация цАМФ достигает очень высокого уровня, значительно больше, чем в норме. В результате метаболический баланс сдвигается и происходит нарушение деятельности клетки. Теперь клетка нуждается в наркотиках в качестве ингибиторов и становится зависимой от лекарства. Повышенная возбудимость клеток приводит к тому, что даже легкое прикосновение воспринимается как сильная боль.

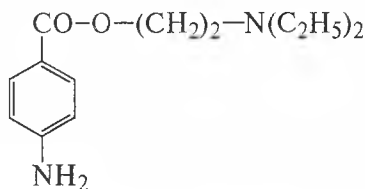
***n*-Аминобензойная кислота и ее производные.** ПАБК является одной из трех изомерных аминокислот, получаемых из толуола, и входит в состав фолиевой кислоты (см. главу 3). Отмечено, что эфиры ароматических кислот проявляют общее свойство: они в той или иной степени способны вызывать местную анестезию (анальгетики первой группы). Они действуют при непосредственном контакте с нервными волокнами и окончаниями, понижая или полностью подавляя их возбудимость. Это свойство особенно заметно выражено у *пара*-производных. В медицине в качестве анальгетиков используют *анестезин* (этиловый эфир *n*-аминобензойной кислоты) и *новокаин* ( $\beta$ -диэтиламиноэтиловый эфир ПАБК):



ПАБК



Анестезин



Новокаин

Оба вещества применяют в виде солей (гидрохлоридов), что связано с необходимостью повышения их растворимости в воде. Анестезин и новокаин по силе анестезирующего действия несколько уступают широко использовавшемуся ранее анальгетику второй группы *кокаину*. Новокаин в основе своей структуры имеет те же фрагменты, что и кокаин; это свидетельствует о том, что они действуют на схожие по структуре белковые рецепторы нейронов. «План» построения молекул этих соединений и схема их взаимодействия с рецептором клетки представлены на рис. 20.2.

**Сульфаниловая кислота и ее производные.** Сульфаниловая кислота является *n*-аминобензолсульфокислотой, существующей в растворе в виде биполярного иона. Амид сульфаниловой кислоты — *сульфаниламид*, известный под названием *стрептоцид*, является родоначальником группы лекарственных средств — сульфаниламидов, обладающих антибактериальной активностью. В медицине сульфаниламидные препараты получили широкое распространение в 30-х годах XX в. Молекулу сульфаниламида можно рассматривать как простейший ароматический амин — *анилин*, содержащий в бензольном кольце у 4-го атома углерода сульфаниламидную группу  $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ . Сульфаниламид впервые получен в 1842 г. нашим соотечественником Н. Н. Зининым. Азокраситель *пронтозил* (от лат. *prontozoa* — простейший организм) был синтезирован в 1932 г. в заводской

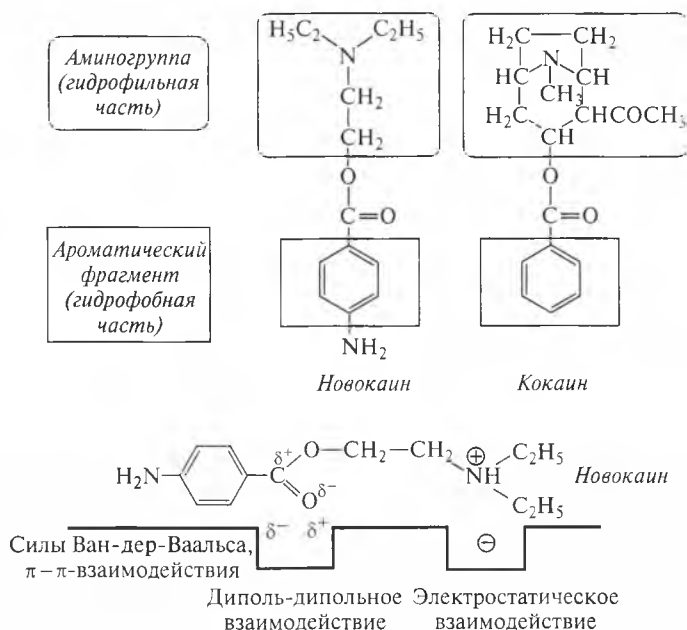
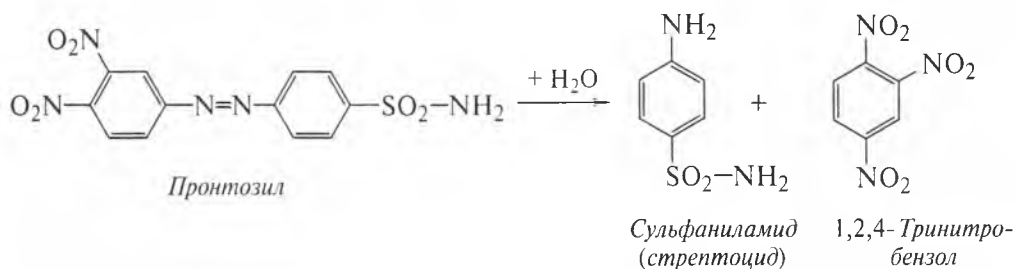


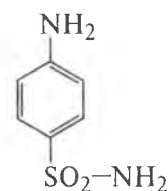
Рис. 20.2. Схема взаимодействия анальгетиков с белковым рецептором нейрона

лаборатории германской фирмы «Фарбениндустри», его антибактериальные свойства были обнаружены в 1934 г. немецким ученым Г. Домагком. В 1935 г. в Институте Пастера было установлено, что пронтозил в организме распадается на 1,2,4-тринитробензол и сульфаниламид:

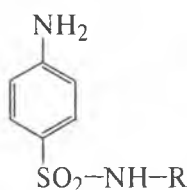


Все сульфаниламиды обязательно содержат сульфаниламидную группу. Замена ее на карбоксамидную ( $-\text{CO}-\text{NH}_2$ ) или нитрильную ( $-\text{CN}$ ) группу приводит к потере активности в отношении ряда инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями (стафилококками). Установлено также, что аминогруппа в *пара*-положении всегда должна оставаться незамещенной, а в бензольное кольцо нельзя вводить дополнительные заместители, так как они снижают антибактериальную активность. Амиды *о*- и *м*-аминсульфобензойных кислот не обладают антибактериальной активностью. В поисках более эффективных антибактериальных средств был осуществлен синтез свыше 5000 производных сульфаниламида. Однако лишь некоторые из них нашли практическое применение. Наиболь-

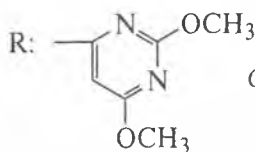
шую активность проявляют те производные, у которых радикал R представлен пиримидиновым, пиридазиновым, тиодиазольным и некоторыми другими гетероциклами.



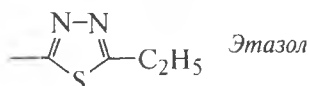
Сульфаниламид  
(стрептоцид)



Замещенный  
сульфаниламид



Сульфадиметоксин



Этазол

Антибактериальное действие сульфаниламидов основано на том, что они являются антиметаболитами по отношению к *p*-аминобензойной кислоте, участвующей в биосинтезе фолиевой кислоты в микроорганизмах (см. главы 2, 3). Амид сульфаниловой кислоты имеет структурное сходство с ПАБК (рис. 20.3). При наличии в бактериальной среде сульфаниламидов они конкурируют с ПАБК на стадии образования птероевой кислоты и связываются с ее птеридиновым фрагментом. Однако наличие сульфаниламидной группы препятствует дальнейшему взаимодействию с глутаминовой кислотой, и биосинтез фолиевой кислоты прекращается, что ведет к гибели микроорганизма.

Селективность антибактериального действия сульфаниламидов основана на том, что фолиевая кислота в организме человека не синтезируется. Таким образом, сульфаниламиды блокируют метаболические реакции, существенные только для определенных бактерий (пневмококки, стрептококки), и в то же время не оказывают заметного влияния на организм человека.

Нужно отметить, что в 1944—1945 гг. бурное развитие химии сульфаниламидов значительно затормозилось, так как было обнаружено, что у некоторых микробов выработалась сульфаниламидная устойчивость. В то же время появились новые группы лекарственных веществ — антибиотики, которые временно вытеснили сульфаниламиды. Однако полностью заменить сульфаниламиды антибиотиками не удалось. В последние годы интерес к сульфаниламидам снова возрос вследствие появления сульфаниламидных препаратов пролонгированного (длительного) действия. К этой группе лекарственных средств относятся *сульфадиметоксин*, *сульфапиридазин* и другие соединения, имеющие сложное химическое строение. В дальнейшем из сульфаниламидов

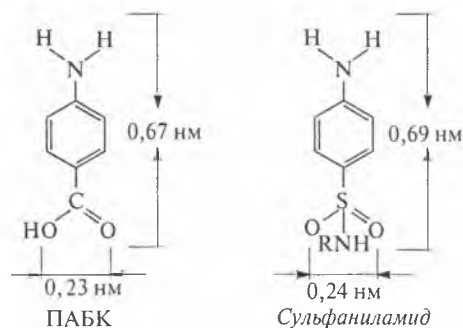
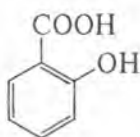


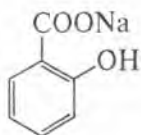
Рис. 20.3. Геометрические характеристики молекул ПАБК и сульфаниламида

продолженного действия были получены *дисульфамидные диуретики* (мочегонные средства), представляющие собой полизамещенный (содержащий много заместителей) 1,3-дисульфамидобензол, который понижает артериальное давление.

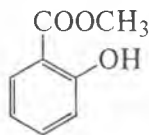
**Салициловая кислота и ее производные.** Салициловая кислота (*о*-гидроксibenзойная) относится к группе фенолокислот. В молекуле салициловой кислоты имеется внутримолекулярная водородная связь, стабилизирующая карбоксилат-ион. Это приводит к повышению кислотности ( $pK_a = 2,98$ ) салициловой кислоты по сравнению с бензойной ( $pK_a = 4,20$ ) и *п*-гидроксibenзойной ( $pK_a = 4,58$ ) кислотами. Салициловая кислота хорошо растворима в воде, но как сильная кислота вызывает раздражение пищеварительного тракта и поэтому применяется только наружно. Внутрь применяются ее производные — соли и эфиры. Салициловая кислота способна давать производные по каждой функциональной группе, из них практическое значение имеют салицилат натрия, сложные эфиры по  $\text{COOH}$ -группе (метилсалицилат, фенолсалицилат) и по  $\text{OH}$ -группе — *ацетилсалициловая кислота* (аспирин). Перечисленные производные (за исключением фенолсалицилата) обладают анальгетическим эффектом (анальгетики первой группы), жаропонижающим и противовоспалительным действием. Фенолсалицилат (салол) применяется только как дезинфицирующее средство. В природе ацетилсалициловая кислота не найдена, она впервые была синтезирована окислением салицилового альдегида, содержащегося в растении таволга. Здесь приведены формулы салициловой кислоты и ее производных, упомянутых выше:



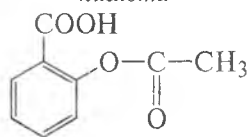
Салициловая  
кислота



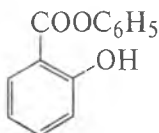
Салицилат натрия



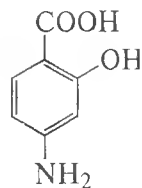
Метилсалицилат



Ацетилсалициловая  
кислота  
(аспирин)



Фенолсалицилат  
(салол)



*п*-Аминосалициловая  
кислота

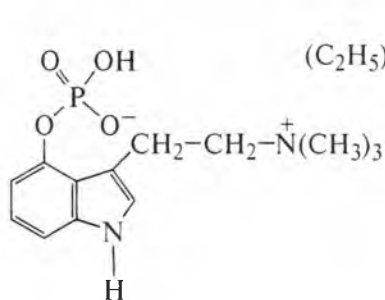
Из других производных салициловой кислоты большое значение имеет *п*-аминосалициловая кислота (ПАСК), обладающая противотуберкулезным действием. Интересно отметить, что другие изомеры данной кислоты не обладают лекарственным действием, а *м*-аминосалициловая кислота, напротив, является очень токсичным соединением. Противотуберкулезное действие ПАСК объясняется тем, что она является антагонистом необходимой для жизнедеятельности микроорганизмов ПАБК.

## 20.6.2. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

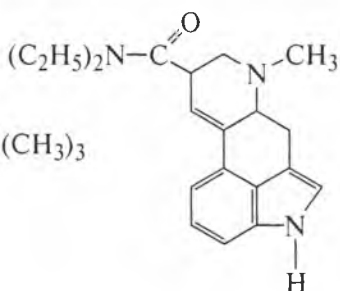
Среди разнообразных гетероциклических соединений ароматические гетероциклы нашли широкое распространение в природе, они же составляют структурную основу молекул многих лекарственных препаратов. Наибольшее значение из них имеют *пиррол*, *пиразол*, *имидазол*, *пиридин*, *пиримидин*, *фуран*, *тиофен*, *индол*, *хинолин*, *пурин*, *бензимидазол* и др.

Особенности строения и свойств производных пиррола — различных тетрапиррольных соединений порфиринового ряда — обсуждались ранее в главе 5.

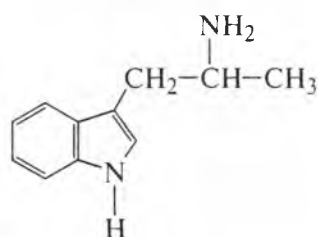
Многие производные индола также обладают разнообразной биохимической активностью. Среди них — аминокислота триптофан и нейромедиатор головного мозга серотонин, структура и функции которых рассматривались в предыдущих разделах. Некоторые низшие растения синтезируют родственные серотонину вещества, при введении которых в организм человека наблюдается резкое нарушение психической деятельности. Так, в грибах *Psilocybe aztecorum* содержится *псилоцибин* — вещество, вызывающее зрительные галлюцинации. Другой галлюциноген — *диэтиламид лизергиновой кислоты* (ЛСД) получают химическим путем из лизергиновой кислоты, выделяемой из спорыньи (грибок, поражающий злаковые растения). ЛСД — антагонист серотонина, его применение нарушает концентрацию серотонина в мозге, что и ведет к отклонению от нормального психического состояния. Синтетическое лекарственное средство индольного ряда —  $\alpha$ -*метилтриптамин* (*индопан*) — соединение, обладающее антидепрессивным и психоактивирующим действием. Общим структурным элементом серотонина и других психоактивирующих веществ данной группы является связанный с ядром индола остаток  $\beta$ -этиламина (сочетание его с ароматическим ядром характерно и для других соединений с психоактивирующим действием):



Псилоцибин

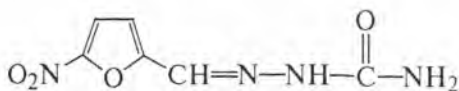


Диэтиламид лизергиновой кислоты  
(ЛСД)

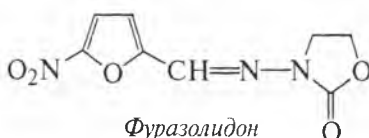


$\alpha$ -Метилтриптамин  
(индопан)

Среди производных фурана лекарственными свойствами обладают его иминозамещенные, среди которых можно выделить *фурацилин* и *фуразолидон*. Они эффективны при гнойно-воспалительных процессах, вызываемых микроорганизмами (дизентерии, брюшном тифе и др.):

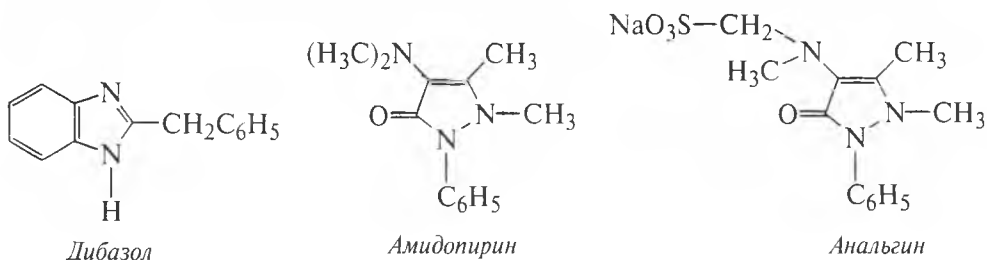


Фурацилин



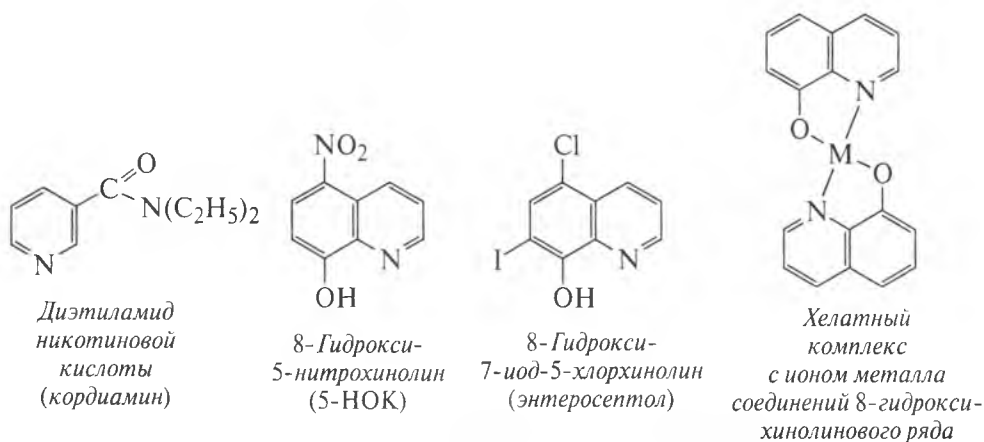
Фуразолидон

Гетероциклы с двумя гетероатомами: имидазол, бензимидазол, пиразол — также образуют ряд производных, имеющих большое биологическое значение. К ним относятся лекарственные средства бензимидазольного ряда, например понижающий кровяное давление *дибазол* (2-бензил-бензимидазол), *амидопирин* (1-фенил-2,3-диметил-4-диметиламинопиразолон), *анальгин* (сульфопроизводное амидопирина):



Амидопирин и анальгин относятся к анальгетикам первой группы и обладают жаропонижающим и болеутоляющим действием.

Группа пиридина, в которую помимо него входят хинолин, изохинолин, акридин, содержащие шестичленное кольцо с одним гетероатомом, образует большое число разнообразных производных, обладающих лекарственными свойствами. Среди них диэтиламид никотиновой кислоты — *кордиамин* — эффективный стимулятор ЦНС; 8-гидрокси-5-нитрохинолин (5-НОК), обладающий сильным антисептическим действием; 8-гидрокси-7-иод-5-хлорхинолин (*энтеросептол*) и др. Следует пояснить, что в основе биологического действия препаратов 8-гидроксихинолинового ряда лежит их способность к образованию прочных хелатных комплексов с ионами некоторых металлов (при их введении в организм происходит «связывание» микроэлементов, необходимых для жизнедеятельности кишечных бактерий):

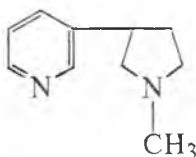


Природные производные различных гетероциклов образуют обширную группу *алкалоидов*, обладающих весьма специфическими лекарственными нейротропными свойствами, требующими особого внимания.

Алкалоидами называют гетероциклические азотсодержащие основания растительного происхождения, обладающие ярко выраженным физиологическим действием. Как правило, это третичные амины, которые содержатся в растениях в виде солей органических кислот: лимонной, яблочной, щавелевой, янтарной и др. Алкалоиды — бесцветные кристаллические вещества, плохо растворимые в воде и растворимые в органических растворителях (хлороформе, бензоле, эфире). Их соли, напротив, хорошо растворимы в воде и нерастворимы в органических растворителях.

К настоящему времени известно более 5000 алкалоидов. Установлено, что в основе их структуры лежит какой-либо гетероцикл. В качестве примера приведем некоторые из них.

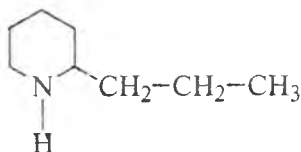
*Никотин* — пожалуй, самый известный и весьма токсичный алкалоид, содержание которого в листьях табака доходит до 8 %. Его молекула содержит связанные простой связью кольца пиридина и пирролидина:



*Никотин*

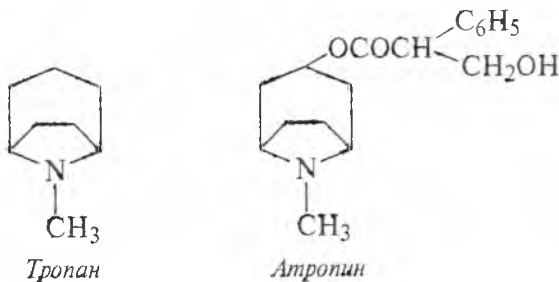
Воздействует на вегетативную нервную систему: суживает кровеносные сосуды.

*Кониин* — чрезвычайно токсичный алкалоид, содержащий пиперидиновое кольцо, парализует окончания двигательных и чувствительных окончательных нервов:



*Кониин*

*Атропин* и *кокаин* — производные тропана (структурная формула кокаина была приведена на рис. 20.2), представляющего собой конденсированное бициклическое соединение, в состав которого входят пирролидиновое и пиперидиновое кольца:

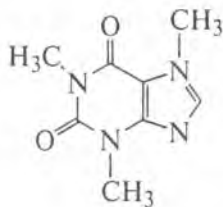


*Тропан*

*Атропин*

Атропин содержится в растениях семейства пасленовых — белладонне, дурмане, белене. Несмотря на высокую токсичность, благодаря способности расширять зрачок широко применяется в офтальмологии. Кокаин — одно из первых открытых наркотических средств, анальгетик второй группы.

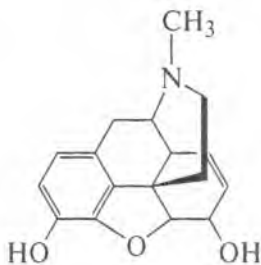
*Кофеин* относится к алкалоидам пуринового ряда и является производным ксантина (1,3,7-триметилксантин):



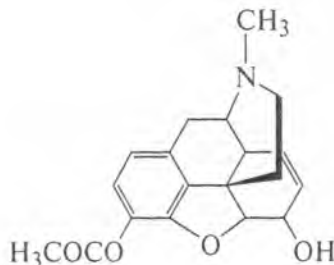
1,3,7-Триметилксантин  
(кофеин)

Его источником служат зерна кофе. Кофеин — эффективное средство, возбуждающее ЦНС и стимулирующее работу сердца.

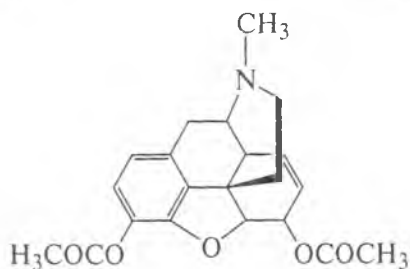
*Морфин*, *кодеин* и *героин* входят в группу алкалоидов опия, являющихся производными хинолина и изохинолина:



*Морфин*



*Кодейн*



*Героин*

Эти алкалоиды относятся к анальгетикам второй группы и обладают мощным наркотическим эффектом. Особенность действия морфина и его ацетильных производных кодеина и героина заключается в способности их молекул прочно связываться со специфическим рецептором нервной системы головного мозга, искажая или блокируя их нормальную деятель-



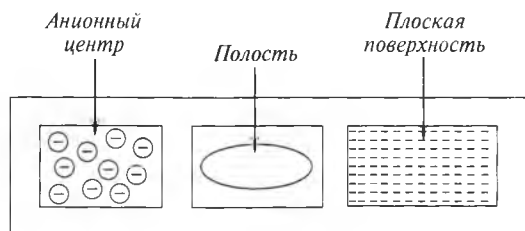
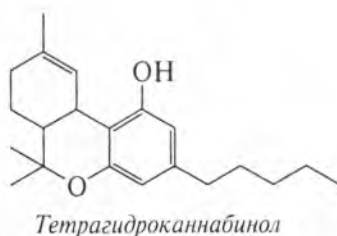


Рис. 20.4. Схема активного центра рецептора морфина

ность. Предполагаемая форма активного центра такого рецептора представлена на рис. 20.4.

Бензольное кольцо молекулы алкалоида за счет  $\pi$  —  $\pi$ -взаимодействий закрепляется на «плоской» поверхности рецептора, содержащей ароматические фрагменты аминокислот; соседние с бензольным кольцом атомы углерода укладываются в полость, закрепляясь в ней за счет универсальных взаимодействий; азот координируется над центром отрицательного заряда. Благодаря большому структурному соответствию молекула морфина гораздо прочнее связывается с нейронным рецептором, чем молекулы энкефалина или норадреналина, выполняющие роль нейромедиаторов в данных участках ЦНС (таламус, лимбическая система). Таким образом, морфин моделирует естественные болеутоляющие агенты организма. Этерифицированные аналоги морфина кодеин и героин обладают лучшей растворимостью в углеводах и жирах, поэтому быстрее преодолевают барьер между кровью и мозгом, а затем в процессе гидролиза эфирных связей превращаются в морфин. По этой причине эффект от наркотического действия кодеина и (особенно) героина выше, чем морфина. К алкалоидам, обладающим наркотическим эффектом, относится и *тетрагидроканнабинол*, который является действующим началом гашиша:



Гашиш представляет собой основу конопли и входит в состав ряда наркотиков. Под марихуаной, содержащей то же активное начало, что и гашиш, подразумевают высушенные и измельченные листья и цветы конопли.

### 20.6.3. АНТИБИОТИКИ

Интересно обсудить еще одну своеобразную группу лекарственных препаратов, образуемую антибиотиками.

**Антибиотики** (от греч. *anti* — против и *bios* — жизнь, т. е. дословно вещества, действующие против жизни микробов) — вещества, синтезируе-

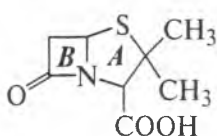
мые микроорганизмами и способные препятствовать жизни и развитию других микроорганизмов.

Открытие антибиотиков связано с именами английских исследователей А. Флеминга (1929 г.), впервые наблюдавшего противомикробную активность зеленой плесени, Х. Флори и Э. Чейна (1940 г.), которые выделили из этой плесени натриевую соль пенициллина. В нашей стране первый отечественный препарат пенициллина был получен в 1942 г.

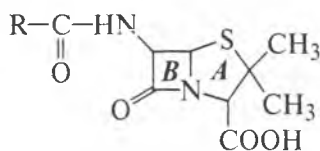
К настоящему времени описано более 2000 антибиотиков, но лишь 3 % из них нашли применение в медицине. По химической структуре антибиотики относятся к различным классам органических соединений. В большинстве своем они имеют сложную гетероциклическую структуру.

Синтез антибиотиков достаточно труден, поэтому в промышленных масштабах их получают микробиологическим путем. Широко развито также производство полусинтетических антибиотиков. Оно основано на химической модификации соединений, выделяемых из культуральной жидкости, вырабатываемой определенным штаммом микроорганизмов.

*Пенициллины* в основе своей структуры имеют пенициллановую кислоту, которая представляет собой два конденсированных гетероциклических кольца — пятичленное тиазолидиновое (A) и четырехчленное β-лактамное (B):



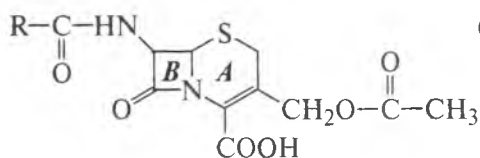
*Пенициллановая  
кислота*



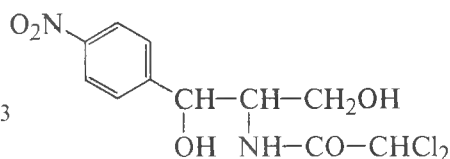
*Общая структурная формула  
пенициллинов как ацильных производных  
6-аминопенициллановой кислоты*

Природные и полусинтетические пенициллины представляют собой N-ацилированные различными кислотными радикалами производные 6-аминопенициллановой кислоты, которая может рассматриваться как дипептид. Основная особенность строения пенициллинов, долгое время препятствовавшая установлению их правильной структуры, заключается в наличии четырехчленного β-лактамного кольца, не встречавшегося ранее в природных соединениях. β-Лактамное кольцо очень лабильно, в мягких условиях оно подвергается гидролизу с разрывом связей C-7—N-4, что приводит к потере биологической активности.

*Цефалоспорины* близки по строению к пенициллинам и также содержат β-лактамное кольцо. Антибиотики цефалоспориновой группы являются производными 7-аминоцефалоспороновой кислоты:



*Общая структурная формула  
цефалоспоринов*

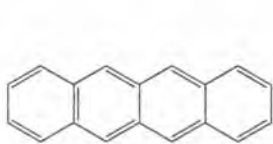


*Левомецетин*

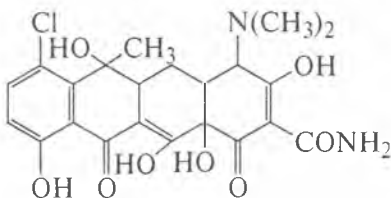
Они обладают широким спектром действия и тормозят рост некоторых штаммов бактерий, устойчивых к пенициллину.

Исследования в области антибиотиков постоянно приводят к открытиям новых классов этих соединений. Становится ясным, что антибиотики по химической структуре могут принадлежать не только к гетероциклическим соединениям, но и к другим классам органических веществ. Например, *граммицидин* относится к пептидам (см. главу 1), а *левомицетин* — к производным амининдола. Этот антибиотик имеет относительно простое строение и является пока единственным соединением данного класса, производимым полностью синтетическим путем.

Более сложную структуру имеют *тетрациклины*, представляющие собой производные частично гидрированного нафтацена — соединения, состоящего из четырех линейно конденсированных шестичленных карбоциклов. Примером тетрациклинового антибиотика служит *биомицин* — эффективный препарат при заболеваниях, вызванных микроорганизмами, устойчивыми к пенициллину и другим антибиотикам:



Нафтацен  
(тетрацен)



Биомицин

## Контрольные вопросы и задания

1. Перечислите основные задачи и направления фармакологии и фармацевтической химии. Какие физико-химические и биологические методы используются для получения лекарственных препаратов?

2. В чем заключаются преимущества и недостатки классификации лекарственных веществ по химическим и фармакологическим признакам?

3. Объясните особенности метаболизма лекарственных веществ на примере ацетилсалициловой кислоты.

4. Дайте краткую характеристику основных групп лекарственных препаратов — производных бензола, в том числе сульфаниламидов, и поясните особенности их биохимического действия.

5. Опишите механизмы действия анальгетиков первой и второй групп и химизм явления толерантности (привыкания к лекарственным препаратам).

6. Изложите особенности химического строения и воздействия на организм лекарственных препаратов на основе ароматических гетероциклических соединений: производных пиррола, пиразола, имидазола, пиридина, пиримидина, фурана, тиафена, индола, хинолина и бензимидазола.

---

---

## Глава 21

### Основы клинической биохимии

#### 21.1. КЛИНИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ КАК ВАЖНАЯ СОСТАВНАЯ ЧАСТЬ ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

**Клиническая биохимия** — это прикладной раздел биохимической науки, задачей которого является изучение биохимических процессов в организмах животных (преимущественно человека) с целью познания молекулярных механизмов возникновения и характера течения различных заболеваний. Такие сведения необходимы для объективной оценки состояния организма. Клиническая биохимия — это неотъемлемая часть практической медицины. Главной задачей клинико-биохимических лабораторий является обеспечение врача той информацией, которая нужна для диагностики и лечения заболевания. Такая информация представляет медицинскую ценность только в том случае, если она точна, соответствует клинической ситуации и правильно используется врачом для принятия соответствующих решений (постановка диагноза, выбор методов и средств лечения и т. д.). Необходимо отметить, что изучение причин заболевания (этиологии) и механизма его развития (патогенеза) — это достаточно трудная задача, поскольку биохимические методы, апробированные на отдельных клетках, тканях и органах, порой не применимы для организма в целом, так как могут принести ему значительный ущерб. Поэтому биохимические анализы широко используются в практической медицине только в тех случаях, когда заболевание имеет очевидную метаболическую основу (например, сахарный диабет, желтуха) или когда биохимические изменения являются следствием заболевания (например, почечная недостаточность).

Для клинико-биохимических исследований используются различные биологические материалы:

- 1) *жидкости внутренней среды организма*: кровь, спинномозговая жидкость, лимфа, внутрисуставная и внутриглазная жидкости;
- 2) *секретируемые жидкости организма*: моча, желчь, слюна, желудочный и кишечный соки, кал, пот, слезная жидкость, женское молоко и молозиво, семенная жидкость и др.;
- 3) *кусочки тканей организма* — биоптаты.

Предоставленный в лабораторию биоматериал должен соответствовать требованиям, которые предъявляются к биохимическому анализу. Например, для электрофоретического разделения белков нужна сыворотка, а для определения активности ренина — плазма крови. Иногда для сохранения

проб биожидкостей требуются консерванты, например фториды — для предотвращения потерь глюкозы вследствие гликолиза. Особая осторожность необходима при работе с пробами «повышенного риска», например, полученными от пациентов с гепатитами В и С или от носителей ВИЧ.

## 21.2. БИОХИМИЧЕСКИЕ АНАЛИЗЫ В КЛИНИКЕ

Биохимическое исследование представляет собой сложную последовательность лабораторных анализов, позволяющих получить максимально возможное число биохимических показателей, используемых в дальнейшем врачом. Биохимические анализы применяются в следующих целях.

1. *Диагностика*. Основанием для постановки диагноза могут быть: история болезни (если она доступна); обнаруживаемые при обследовании клинические проявления (симптомы) заболевания; результаты специальных исследований. Если исходя из истории болезни и результатов обследования не удастся поставить диагноз, то составляется краткий перечень вероятных диагнозов, а выбор между ними (дифференциальный диагноз) производится на основании биохимических или других исследований.

2. *Мониторинг*, который представляет собой контроль за течением заболевания и результативностью лечения. Для этого должен быть найден соответствующий биохимический показатель, например при сахарном диабете — концентрация глюкозы в крови. Очень часто данный подход позволяет выявить осложнения, к которым может приводить лечение, и широко используется для скрининга возможной токсичности лекарственных препаратов (особенно при испытании новых лекарств).

3. *Скрининг* — выявление болезни на доклинической стадии. Наиболее известным примером является массовое обследование всех новорожденных на фенилкетонурию (ФКУ), проводимое во многих странах.

4. *Прогноз* — получение информации о возможном исходе заболевания. Например, риск возникновения коронарной болезни сердца повышается при увеличении концентрации холестерина в плазме крови. Однако степень риска рассчитывается исходя из общих статистических данных, что не позволяет делать точный прогноз в отношении конкретного человека.

На биохимические показатели мало влияют пол, возраст пациентов, но эти факторы могут быть важны при стандартизации условий забора проб для анализов. Существенные в этом отношении факторы перечислены ниже:

Фактор	Зависимый показатель
Возраст	Щелочная фосфатаза
Пол	Половые гормоны
Беременность	Общий тироксин
Положение тела	Белки
Состояние питания	Глюкоза

Требования к биохимическим анализам абсолютно такие же, как и в любом аналитическом исследовании; наиболее существенными из них являются:

- 1) правильность и точность результатов, которые должны быть одинаковы при повторных анализах;
- 2) чувствительность — определение низких концентраций нужного вещества;
- 3) специфичность — инертность по отношению к другим веществам;
- 4) низкая стоимость, быстрота и простота исполнения.

На практике ни один метод не является идеальным, но специалист должен быть уверен в том, что полученные результаты анализа достаточно надежны, чтобы быть полезными для клиники. Для этого все используемые аналитические методы постоянно подвергаются строгим проверкам качества (стандартизации).

Когда клинико-биохимический анализ выполнен и подтверждена его точность, результаты могут быть представлены врачу. Применение новых компьютерных технологий позволяет представлять результаты лабораторных исследований с помощью компьютеров, подключенных к аналитической аппаратуре либо работающих независимо. Компьютерные возможности хранения и обработки данных существенно облегчают подготовку результатов, позволяющих врачу легко проследить тенденции изменений в результатах анализов.

### 21.3. НОРМА И ПАТОЛОГИЯ

Вопрос о норме и патологии в медицине и клинической биохимии — один из самых важных. Употребление слова «нормальный» связано с определенными трудностями. Например, эпидемиологические данные показывают, что существует взаимосвязь между повышенным риском развития ишемической болезни сердца и содержанием холестерина в плазме крови даже в области нормальных значений. «Ненормальный» результат анализа не всегда указывает на наличие патологии, так же как и «нормальный» результат — на ее отсутствие. Однако чем выше отклонение результата от нормального значения, тем больше вероятность того, что это связано с патологическим процессом.

На практике редко встречается абсолютное разграничение между нормальными значениями и наблюдаемыми при заболевании. Неоднозначные результаты должны быть уточнены дальнейшими исследованиями. Если диагноз больному ставится на основании единственного результата анализа, то очень важно, чтобы этот результат был гарантирован высокой эффективностью анализа. Например, при скрининге на ФКУ содержание фенилаланина в крови, определяющее положительный результат анализа, должно быть таким, чтобы выявлять всех детей с этим заболеванием. Но случаи определения результата по одному-единственному анализу для назначения лечения больного очень редки.

За «нормальные» биохимические показатели, как правило, берутся относительные концентрации (активности) биосоединений в жидкостях

Таблица 21.1. Некоторые биохимические показатели для взрослого человека в норме\*

Соединение	Значение показателя	Соединение	Значение показателя
Альбумин	35—50 г/л	Гемоглобин:	
Альдостерон	100—500 пмоль/л	мужчины	130—180 г/моль
Щелочная фосфатаза	30—90 МЕ/л	женщины	120—160 г/моль
NH <sub>3</sub>	10—47 мкмоль/л	H <sup>+</sup> в артериальной крови	35—46 нмоль/л (pH = 7,36 ± 7,44)
Амилаза	< 300 МЕ/л	Инсулин (натошак)	3—15 МЕ/л
Общий бикарбонат	22—30 ммоль/л	Mg <sup>2+</sup>	0,7—1,0 ммоль/л
Общий билирубин	3—20 мкмоль/л	Кислород (pO <sub>2</sub> ) в артериальной крови	11—15 кПа (85—105 мм рт. ст.)
Ca <sup>2+</sup>	2,2—2,6 ммоль/л	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0,8—1,4 ммоль/л
Диоксид углерода (pCO <sub>2</sub> ) в артериальной крови	4,5—6,0 кПа (35—46 мм рт. ст.)	K <sup>+</sup>	3,6—5,0 ммоль/л
Общий холестерин	< 5,2 ммоль/л	Общий белок	60—80 г/л
Cu <sup>2+</sup>	12—19 мкмоль/л	Na <sup>+</sup>	135—145 ммоль/л
Глюкоза (натошак)	2,6—6,0 ммоль/л	Тестостерон:	
Триидотиронин:		взрослые мужчины	9—30 нмоль/л
общий	1,2—2,9 нмоль/л	взрослые женщины	0,5—2,5 нмоль/л
свободный	3,0—8,8 пмоль/л	Мочевина	3,3—6,7 ммоль/л
		Zn <sup>2+</sup>	12—20 мкмоль/л

\* Все показатели приведены по книге: В. Дж. Маршалл. Клиническая биохимия: Пер. с англ. — М.; СПб.: Издательство БИНОМ; «Невский диалект», 2000, 368 с., и обозначают концентрацию веществ (активность ферментов) в сыворотке или плазме крови.

среднестатистического практически здорового взрослого человека (табл. 21.1).

Плазма — жидкая составляющая крови; сыворотка — жидкая составляющая крови без форменных элементов и фибрина, образующаяся при их отделении в процессе свертывания крови вне организма. По техническим причинам многие биохимические анализы лучше выполнять в сыворотке, хотя концентрации большинства подлежащих анализу веществ практически одинаковы в обеих жидкостях.

Оценивая результаты анализа с целью выявления патологии, нужно учитывать клинические обстоятельства и возможное влияние *биологической* и *аналитической* *вариабельности*. Аналитическая вариабельность — типичные значения стандартных отклонений для повторных измерений, выполняемых с помощью многоканального автоматического анализатора на одной пробе сыворотки с концентрациями в пределах нормальной области. Биологическая вариабельность — средние значения стандартных

**Таблица 21.2. Аналитическая и биологическая вариабельность наиболее распространенных биохимических показателей**

Определяемый показатель	Аналитическая вариабельность	Биологическая вариабельность
Na <sup>+</sup>	1,1 ммоль/л	2,0 ммоль/л
K <sup>+</sup>	0,1 ммоль/л	0,19 ммоль/л
HCO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	0,5 ммоль/л	1,3 ммоль/л
Мочевина	0,4 ммоль/л	0,85 ммоль/л
Ca <sup>2+</sup>	0,04 ммоль/л	0,04 ммоль/л
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0,04 ммоль/л	0,11 ммоль/л
Общий белок	1,0 г/л	1,66 г/л
Альбумин	1,0 г/л	1,44 г/л
Щелочная фосфатаза	4,0 г/л	15,0 МЕ/л

отклонений для повторных измерений, выполняемых через недельные интервалы в группе здоровых людей в течение 10 нед.

Примеры аналитической и биологической вариабельности наиболее распространенных биохимических показателей приведены в табл. 21.2.

Когда результат анализа сопоставляется с областью нормальных значений для здоровых людей, границы последней должны быть установлены по результатам, полученным у лиц одного и того же пола и возраста.

В арсенале любой клинико-биохимической лаборатории имеется много методик анализа, применение которых зависит от предполагаемого диагноза. Рассмотрение проблем клинико-биохимических исследований отдельных органов и систем организма выходит за рамки настоящего пособия, поэтому здесь мы остановимся лишь на наиболее интересном и перспективном направлении клинической биохимии: анализе ДНК при изучении механизмов возникновения наследственных заболеваний.

## 21.4. АНАЛИЗ ДНК

В настоящее время анализ ДНК является стандартной технической процедурой для исследования все возрастающего числа наследственных заболеваний. Анализ ДНК используется для исследования геномов потенциальных родителей, в результате чего он может дополнить генетическое консультирование в семьях, где были отмечены те или иные формы наследственных заболеваний. Даже в тех случаях, когда заболевание было диагностировано обычными биохимическими методами, есть возможность обследовать других членов семьи с помощью генетического анализа. В некоторых случаях (например, при мышечной дистрофии) генетический анализ позволил выявить продукт того или иного гена. Детальное обсуждение анализа ДНК выходит за рамки задач настоящего пособия; мы остановимся на основных методах и случаях применения данной клинико-биохимической процедуры.



Первым этапом анализа ДНК является экстракция ДНК из любой ткани, содержащей ядерные клетки с последующей ее очисткой. Далее геномную ДНК анализируют с помощью **полимеразной цепной реакции (ПЦР)** или подвергают расщеплению ферментами рестрикции — *рестриктазами*, распознающими специфические последовательности нуклеотидов и гидролизующими ДНК на ряд «фрагментов рестрикции». Последние могут быть разделены методом электрофореза или подвергнуты денатурации нагреванием до однонитевых фрагментов, которые затем переносят на нейлоновый фильтр или нитроцеллюлозную мембрану. Таким образом сохраняется пространственное расположение фрагментов ДНК относительно друг друга. Полученный материал анализируется с помощью ДНК-зонда, представляющего собой фрагмент одноцепочечной ДНК, как правило, помеченный радиоактивным изотопом  $^{32}\text{P}$  и содержащий специфическую последовательность оснований, комплементарную участку ДНК, который необходимо обнаружить. В качестве зонда можно использовать как нативную ДНК, специфичную гену (геномные зонды), так и синтетическую ДНК, полученную на основе РНК гена (комплементарная ДНК). Если анализируемая последовательность присутствует во фрагментах рестрикции, то зонд гибридизуется с ними, что можно обнаружить с помощью автордиографии.

**Полиморфизм длины фрагментов рестрикции.** Если имеется подходящий ДНК-зонд, то можно обнаружить прямым методом некоторые генетические болезни, возникающие вследствие мутаций (гемофилия, мышечная дистрофия и др.). Ответственный за болезнь, но неидентифицированный ген может быть обнаружен, если он находится вблизи последовательности ДНК, поддающейся определению. Во всем человеческом геноме примерно одно из 150 оснований является полиморфным, т. е. варьируется у разных индивидуумов. Каждое шестое из этих случайных изменений или порождает, или разрушает участок рестрикции. В результате этого потенциальные участки рестрикции присутствуют вдоль молекулы ДНК с интервалом примерно в 1000 пар оснований. Их наличие или отсутствие у разных людей приводит к тому, что ДНК в процессе рестрикции разрезается на фрагменты разной длины (полиморфизм длины рестрикционных фрагментов). Если при обследовании членов семьи обнаруживается взаимосвязь между полиморфизмом длины рестрикционных фрагментов и наследственным заболеванием, делается заключение, что данный участок рестрикции расположен вблизи от гена, ответственного за патологию. В таком случае присутствие данного типа полиморфизма можно использовать для предсказания наличия мутантного гена у другого члена семьи или в ткани плода. Однако использование этой техники для пренатальной диагностики требует предварительного обследования семьи.

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР).** Рассмотренный выше анализ полиморфизма длины фрагментов рестрикции требует довольно большого количества ДНК, что реализуется с помощью полимеразной цепной реакции. ПЦР позволяет избирательно копировать интересующую последовательность нуклеотидов в ДНК; эта методика позволяет исследовать эмбрион на носитель мутантного гена, поскольку единичную клетку можно извлечь из эмбриона без опасных последствий на очень ранней стадии

(8—16 клеток). Техника ПЦР заключается в том, что одноцепочечные олигонуклеотиды, комплементарные определенным участкам ДНК, смешиваются в растворе с данной ДНК, мононуклеотидами и ДНК-полимеразой. Температуру поднимают до 90 °С, что приводит к денатурации ДНК, затем понижают до 50 °С для связывания олигонуклеотидов с ДНК (отжиг) и вновь поднимают до 70 °С — оптимальной температуры действия ДНК-полимеразы. Цикл повторяют 30—40 раз, что теоретически приводит к синтезу  $10^{30}$ — $10^{40}$  копий матрицы ДНК.

Дальнейшее развитие приведенных выше методик при диагностике различных генетических расстройств позволит в дальнейшем проводить выявление предрасположенности организмов широкому кругу наследственных заболеваний. Такое знание может стать мощным инструментом медицины при установлении возможной патологии эмбриона, но при его применении мы сталкиваемся со значительными этическими проблемами.

## Контрольные вопросы и задания

1. В чем заключаются преимущества использования биохимических методов в практической медицине?
2. Перечислите основные факторы, оказывающие влияние на результаты показателей биохимических анализов.
3. Какие подходы и методы используются при оценке результатов биохимических анализов?
4. Какими причинами может быть обусловлена аналитическая и биохимическая вариабельность наиболее распространенных биохимических показателей?
5. Охарактеризуйте основные операции аналитического исследования ДНК. В каких целях проводится данный анализ?

---

---

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### 3.1. ПРОИСХОЖДЕНИЕ ЖИЗНИ. КОНЦЕПЦИИ БИОХИМИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ

В современной теории биологической эволюции вопрос о происхождении жизни на Земле принадлежит к числу наиболее дискуссионных. Сам факт возникновения жизни занимает умы многих исследователей, поскольку конечной и глобальной целью естествознания является познание жизни во всем ее многообразии, что, безусловно, невозможно без понимания сути и особенностей процесса ее происхождения. Подтверждением этому может служить высказывание А. И. Опарина: «На протяжении многих тысячелетий человек стремился познать окружающий мир и то место, которое он занимает в этом мире, на маленькой Земле или в большой Вселенной». В рамках теории эволюции происхождение жизни рассматривают в качестве самого первого, изначального процесса образования живых форм из простейших химических веществ, т. е. в виде химического эволюционного процесса.

Общепризнанной теорией происхождения жизни на Земле является теория, впервые предложенная в 1924 г. А. И. Опариным и описанная в его книге «Происхождение жизни». В дальнейшем эта теория неоднократно подвергалась уточнениям со стороны ее автора, многие другие ученые также внесли большой вклад в развитие данной теории. По Опарину, *Жизнь — это результат исторического односторонне направленного развития в виде постепенного усложнения органических веществ и развития их в более сложные формы и системы, обладающие свойствами живого*. Долгий исторический процесс развития жизни по Опарину можно представить так, как показано на рис. 3.1.

Формирование планеты Земля предположительно закончилось 4,5 — 5,0 млрд лет назад из облаков космической пыли. Пылевые частицы притягивались друг к другу в результате действия гравитационных сил. Состав древней атмосферы значительно отличался от современной: первоначально она состояла только из паров воды, водорода, аммиака и метана, в то время как современная атмосфера состоит почти на 80 % из азота, на 20 % из кислорода и содержит в небольших количествах диоксид углерода, инертные газы, а также водяные пары. Процесс образования воды (Мирового океана) на Земле происходил в результате конденсации водяных паров по мере остывания земной поверхности. Протекающие одновременно процессы испарения и конденсации воды на Земле привели к установлению своеобразного равновесия между агрегатными состояниями воды. Такое равновесие называют круговоротом воды в природе.

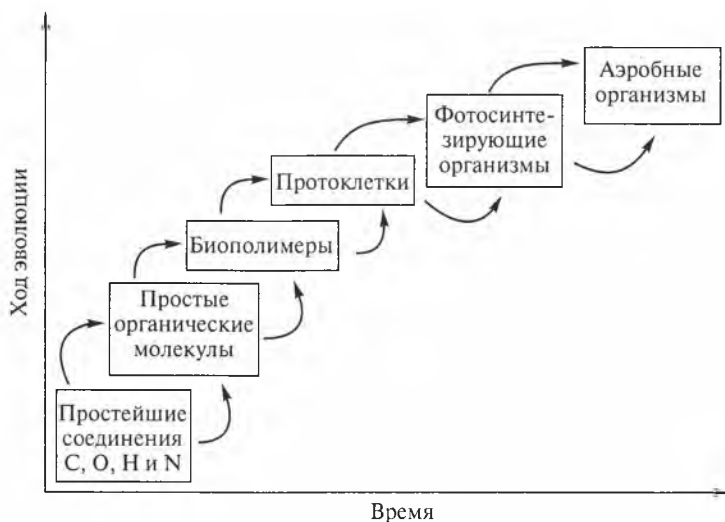


Рис. 3.1. Исторический процесс развития жизни по Опарину

Теория Опарина предполагает, что жизнь возникла в несколько стадий. Первая стадия — это процесс образования простейших углеводов. Вторая стадия — освобождение углеводов в атмосферу Земли, где они реагировали с парами воды, аммиаком и другими газами. Коротковолновое УФ-излучение и электрические разряды в атмосфере инициировали протекание этих реакций. УФ-излучение разлагало воду (фотоокисление) на водород и кислород. Водород уходил в космическое пространство, тогда как кислород окислял аммиак до молекулярного азота, а углеводороды — до спиртов, альдегидов, кетонов и органических кислот. Затем эти соединения с дождями выпадали из влажной, холодной атмосферы в моря и океаны, где они накапливались, а потом благодаря процессам полимеризации и конденсации становились близкими по строению к тем химическим соединениям, которые входят в состав живых организмов. Так возникли первые биологически активные химические полимерные соединения, подобные белкам и нуклеиновым кислотам. На третьей стадии образовывались так называемые *коацерватные* (от лат. *acervatus* — скрученный) капли, которые, достигая определенной величины, становились способными к обмену с окружающей средой. Затем в ходе эволюции эти коацерватные капли приобрели способность к самостоятельному существованию, т. е. они обособились от среды, и в них стали протекать элементарные химические превращения. На четвертой стадии у коацерватов совершенствовался химический обмен (первоначальный метаболизм), синтезировались и упорядочивались мембраны, происходила самосборка первичных носителей информации — нуклеопротеинов.

В результате отбора в условиях повышенной концентрации  $\text{CO}_2$  в среде возник биологический путь синтеза органического вещества — фото-

синтез. Опираясь на данные о времени возникновения цианобактерий, ученые, занимающиеся этой проблемой, предполагают, что это произошло около 3,5 млрд лет назад. Вслед за фотосинтезом наступило разделение организмов на растения и животные организмы (пятая стадия).

Близкие взгляды на происхождение жизни развивал Н. Г. Холодный. Он также считал, что в начале процесса эволюции живой материи образовывались углеводороды, а затем из них в результате окисления синтезировались органические кислоты, спирты и другие соединения, но в отличие от А. И. Опарина Н. Г. Холодный придерживался той точки зрения, что жизнь возникла не в Мировом океане, а в мелководьях после появления суши, что способствовало более интенсивной концентрации органических веществ и образованию коацерватов.

Достаточно близкие взгляды развивал английский ученый Д. Бернал. Он полагал, что неорганическими предшественниками были угольная кислота, неорганические фосфаты, аммиак, сероводород и что первичный синтез органических соединений заключался в образовании простых молекул из воды, метана и аммиака. Затем в результате полимеризации возникли более сложные структуры, напоминающие по организации простейшие биологические клетки. Схематически возникновение жизни по Д. Берналу можно представить так:

Атом → Молекула → Мономер → Полимер → Организм.

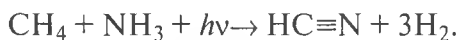
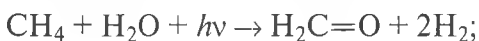
Но Д. Бернал считал, что конденсация органических молекул происходила не путем образования коацерватов, а путем адсорбции первых полимерных структур на минеральных частицах, причем эти процессы происходили не в океане, а в илистых пластах под водой, которые в зависимости от атмосферных условий периодически осушались или увлажнялись.

Будучи подкрепленной рядом экспериментальных доказательств, теория Опарина в наше время явилась фундаментальной основой для формирования дальнейших представлений о происхождении жизни. С положениями данной теории не согласны лишь «научные» креационисты, считающие, что Земля возникла 10 000 лет назад и имеет сверхъестественное происхождение, т. е. растения и животные образовались на планете прямо в их современном виде при участии сверхъестественных сил. Кроме того, в настоящее время существуют представления о возможности возникновения жизни в условиях геотермальных источников, предполагающие, что первым биополимером была молекула РНК. Представления о РНК как о первом биополимере (по времени возникновения) означают совершенно новые воззрения в теории возникновения жизни, постулирующие, что «жизнь началась с РНК». Располагаясь в трещинах вулканических пород, цеолиты (минералы, характеризующиеся трехмерной сеточной структурой) могли выступать в роли катализаторов в реакциях синтеза нуклеотидов и РНК из метана, аммиака и фосфатов, которые являются главными составляющими вулканической атмосферы. В последующем молекулы РНК развились в самореплицирующиеся структуры, которые затем стали изолированными и независимыми от цеолитов. На-

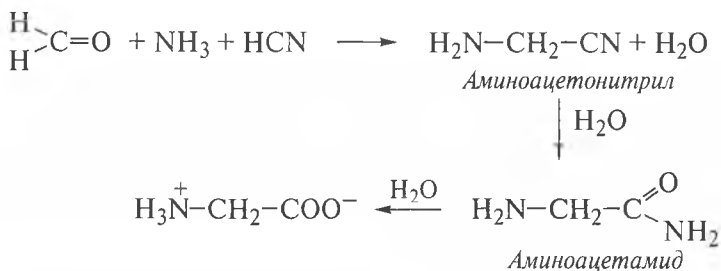
конец, они объединились с липидами, что способствовало подготовке их к жизни в океане, где и завершалось образование первичных живых форм.

Но тем не менее и на сегодняшний день теория А. И. Опарина является общепризнанной и имеет ряд преимуществ. Как и всякая теория, она постоянно развивается и совершенствует свою доказательную базу.

**Эксперименты по синтезу биомолекул.** Одним из важнейших доказательств верности теории Опарина являются результаты экспериментов, выполненные американским ученым С. Миллером еще в 1953 г. С помощью сконструированной им установки он пытался воссоздать древнюю атмосферу Земли, где в качестве источника энергии использовалась электрическая дуга. С. Миллеру удалось получить ограниченный набор соединений, из которых только половина представляла интерес с биологической точки зрения, причем около 1 % приходилось на рацемическую смесь трех аминокислот — глицина, аланина и аспарагиновой кислоты. На сегодняшний день путем дальнейшего развития и усовершенствования условий эксперимента, предложенного С. Миллером, уже получено семнадцать различных аминокислот. Приведем лишь некоторые реакции, которые протекают в данных условиях:



Образующиеся в этих реакциях циановодород и формальдегид, в свою очередь, являются только предшественниками более реакционноспособных соединений, таких, как аминокетонитрил и аминокетоамид, взаимодействие между которыми может привести к образованию аминокислот, пуринов, пиримидинов и моносахаридов, например:



Это превращение напоминает следующую широко известную реакцию синтеза:

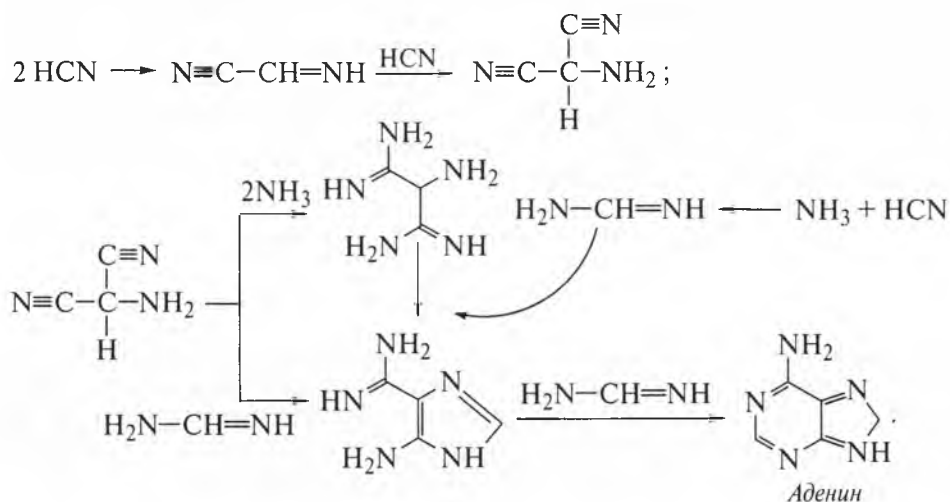


Гидролиз нитрила приводит к получению соответствующей аминокислоты.

Синтез компонентов нуклеиновых кислот впервые продемонстрирован в экспериментах, общие особенности которых заключаются в следу-

ющем. В процессе кипячения концентрированного раствора цианида аммония в колбе с обратным холодильником с низким выходом был получен аденин. Позднее было обнаружено, что облучение УФ-светом разбавленного раствора HCN приводит к образованию аденина и гуанина. Показано, что в качестве промежуточных соединений важную роль играют 4-амино-5-цианоимидазол и 4-аминоимидазол-5-карбоксамид. Кроме того, было установлено, что из HCN и NH<sub>3</sub> можно получить формамидин H<sub>2</sub>N—CH=NH.

Крайне простой путь синтеза аденина из HCN и NH<sub>3</sub> состоит из серии реакций, представленных ниже:



Л. Е. Оргелл с сотрудниками обнаружили, что в запаянной ампуле такое превращение происходит с 40%-м выходом. Возможно, что аденин был первым пуриновым основанием, образовавшимся на Земле; при этом интересно отметить, что именно этот компонент присутствует в АТФ и коферменте А, которые являются одними из главных участников многочисленных биохимических реакций.

Подтверждением тому, что HCN играл далеко не второстепенную роль при зарождении жизни, являются эксперименты по олигомеризации HCN в водных растворах. После образования из HCN тетрамера в результате фотохимической реакции появляется кольцевая имидазольная структура. В анаэробных условиях и в разбавленных водных растворах эта реакция протекает с достаточным количественным выходом.

Циановодород может также превращаться в цианацетилен и циановую кислоту — предшественники пиримидинов. Эти реакции были воспроизведены в лабораторных условиях. Уже в 1828 г. Ф. Велер получил из циановой кислоты и аммиака мочевины — первую «животную субстанцию», синтезированную из неорганических соединений. Весьма

вероятно, что аналогичные процессы первоначально проходили в водной среде, причем ионы  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$  выступали в роли кислотного или основного катализатора. Замечательно, что три основных азотсодержащих класса биомолекул — пурины, пиримидины и аминокислоты образуются при гидролизе олигомеров, которые непосредственно получены в разбавленных водных растворах  $\text{HCN}$ . Синтез всех этих биомолекул на первобытной Земле мог быть следствием постоянного образования  $\text{HCN}$  под действием электрических разрядов и УФ-излучения. Вероятно, цианистоводородная кислота растворялась в каплях дождя и переносилась ими на поверхность Земли, где могла происходить олигомеризация  $\text{HCN}$  с последующим медленным гидролизом; образующиеся в результате биомолекулы использовались затем примитивными формами жизни.

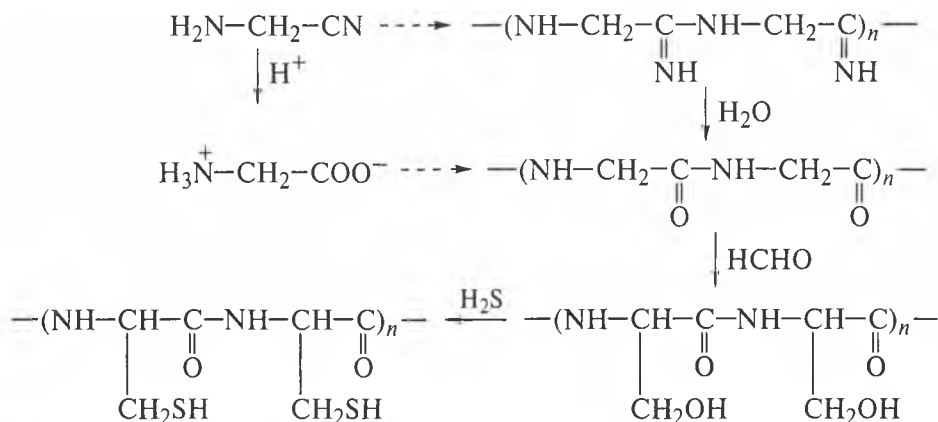
Для проведения лабораторных исследований необходимо знать условия реакций, протекавших на первобытной Земле, причем следует отметить, что ни белки, ни нуклеиновые кислоты самопроизвольно не образуются в водных растворах. Самоконденсация формальдегида, другого возможного предшественника живой материи, должна была бы привести к образованию сахаров, причем в присутствии метана реакция протекает через стадию фотолиза воды.

В общем случае конденсация таких небольших молекул, как  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HCN}$ ,  $\text{HCHO}$  и  $\text{HC}\equiv\text{C}-\text{CN}$ , приводила к образованию строительных блоков для синтеза полипептидов или белков, а также полинуклеотидов или нуклеиновых кислот. Считается, что современное состояние живых организмов определяется непрерывностью процесса биосинтеза белков, который происходил и на первобытной Земле. Кроме того, доказано, что полифосфаты, необходимые для синтеза нуклеиновых кислот, могут образовываться при простом нагревании ортофосфатов с мочевиной и ионами аммония. С помощью современных радиотелескопов большинство этих небольших молекул обнаружено также в межзвездных облаках, что делает такие предположения более вероятными.

Но еще до появления жизни на Земле должны были происходить процессы саморепликации ДНК. Разумно предположить, что фундаментальное значение для репликации нуклеиновых кислот и эволюции генетического кода имели специфические нуклео-нуклеиновые и нуклео-белковые взаимодействия. Согласно Р. Д. Мак-Элроу такие взаимодействия, вероятно, играли ключевую роль при образовании нуклеопротеинов и имели фундаментальное значение на ранних стадиях эволюции макромолекул.

**Концепция асимметричного мира.** Аминокислоты, полученные в экспериментах С. Миллера, представляли собой рацемические смеси. Более того, такие же рацемические смеси аминокислот были обнаружены в Мерчисонском метеорите, упавшем в Австралии в 1969 г. Каким образом и в результате чего сложные молекулы приобрели оптическую активность? Существует несколько различных версий, которые объясняют это явление. С. Акабори предположил следующие превращения при синтезе сложных полипептидов, которые были подтверждены экспериментально:





Важно отметить, что цианамид  $\text{H}_2\text{N}-\text{C}\equiv\text{N}$ , таутомерная форма карбодиимида  $\text{HN}=\text{C}=\text{NH}$ , мог бы играть роль примитивного конденсирующего агента в первых реакциях полипептидного синтеза. Наиболее вероятным представляется, что на первобытной Земле для реакций конденсации необходимы были высокоактивные в химическом плане соединения.

Эти процессы приводят к образованию рацемических смесей. Однако считается, что при спонтанной кристаллизации происходило их разделение. Наиболее вероятно, что такое разделение происходило случайно. Видимо, определяющую роль в разделении оптически активных соединений играли процессы селективного комплексообразования одного определенного стереоизомера с ионами металлов и активными фрагментами минералов, например природных асимметричных кристаллов кварца. В конце концов, стереоселективная полимеризация олефинов на поверхности металлов (катализаторы Циглера — Натта) представляет собой хорошо изученный промышленный процесс получения изотактических полимеров (структур, у которых центр стерической изомерии в каждом мономере имеет одну и ту же конфигурацию). Как известно, связывание ионов металлов весьма важно для многих биохимических процессов. Такое связывание играет существенную роль в поддержании нативной структуры белков и нуклеиновых кислот. Процесс отбора оптических изомеров мог происходить в результате каких-то физических явлений, например взаимодействия с радиоактивными элементами, воздействия радиации или космических лучей. Весьма заманчиво привлечь эти факторы для объяснения асимметричности, проявляющейся в процессе жизнедеятельности. Поясним, что асимметричными называются молекулы, не обладающие зеркальной симметрией (или не имеющие плоскости симметрии). Асимметричные молекулы, обладающие только одним элементом симметрии — осью  $\text{C}_1$ , составляют особую группу асимметричных молекул.

Вероятно, без асимметричных молекул жизнь была бы невозможна, так как оптическая активность считается необходимым условием для сворачивания белковой цепи в ту или иную конформацию, которая будет определять биологические функции данного белка.

**Химические доказательства теории Опарина.** Случайная ассоциация нескольких макромолекулярных структур, возникших из неорганических веществ, могла бы привести к благоприятной ситуации, обеспечивающей повышенную выживаемость. Как только в реакцию вступает единственная асимметричная молекула, важное значение приобретают стерические факторы. Таким образом, возник асимметрический синтез, а молекулярная эволюция привела к созданию все более сложных структур. Первыми примитивными катализаторами могли быть короткие полипептиды. Появление длинных полипептидных цепей благоприятствовало образованию трехмерной глобулярной конформации, стабилизируемой как гидрофобными, так и электростатическими взаимодействиями между компонентами молекулы; позднее эти цепи эволюционировали в ферменты. Такому макромолекулярному образованию требовалась молекулярная информация для самовоспроизведения. Вот те минимальные требования, которые должны были выполняться, чтобы появилась жизнь и возник примитивный метаболизм. Очевидно, что неполярные взаимодействия липидов и жирных кислот привели к образованию мицеллоподобных агрегатов, которые со временем превратились в мембраны соответствующих клеток. В своей теории А. И. Опарин постулировал, что ассоциация основных химических структур привела к образованию полимерных микросфер (коацерватов), и такие обособленные капельки сыграли важную роль в возникновении жизни.

Позднее американский биохимик Дж. Фокс описал экспериментальные условия, в которых термическая конденсация смеси аминокислот приводила к образованию полимеров. Такие смеси полипептидов в солевой воде образовывали протеиноидные микросферы, которые в присутствии АТФ проявляли многие черты поведения, характерного для клеток. Фактически «капли» Опарина и Фокса вели себя как термодинамически открытые системы, что составляет одно из фундаментальных свойств живой материи.

Однако ответы на многие вопросы о происхождении живой материи еще не найдены, и потребуются совместные усилия специалистов в области полимерной, органической и биологической химии, чтобы понять все таинственные моменты, связанные с возникновением жизни на Земле, а в дальнейшем, в эпоху полномасштабного изучения Вселенной, раскрыть все тайны мироздания.

## 3.2. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЛОГИКА ЖИВОГО

Итак, рассмотрев особенности химического строения основных биосоединений, их превращений и физико-химических процессов, лежащих в основе *Жизни* — совершенно уникального явления природы, — можно привести ряд обобщений и заключений, характеризующих молекулярную логику живого.

1. *Жизнь* представляет качественно особую, высшую форму движения материи. Создание жизни, по современным представлениям, это длительный физико-химический процесс самоорганизации, прошедший по пути

усложнения органических молекул и развития их в сложные системы, обладающие в конечном счете свойствами живого. Но нужно признать, что пока ученые не в состоянии дать исчерпывающий и однозначный ответ на вопрос: что такое Жизнь? Поэтому мы предпочитаем говорить лишь о некоторых характерных и универсальных признаках, которые присущи живой природе во всех ее формах и проявлениях.

2. Молекулы, образующие живую материю, достаточно просты по строению, но, несмотря на это, они способны выполнять уникальные функции, причем молекулы одного вида выполняют не одну, а несколько биологических функций. Например, аминокислоты служат не только структурными единицами белков, но и являются предшественниками многих гормонов, нейромедиаторов, алкалоидов и других биосоединений. Нуклеотиды, составляющие нуклеиновые кислоты, выполняют роль коферментов — переносчиков энергии. Интересно отметить, что незначительные различия в химической структуре биомолекул приводят к колоссальной разнице в их биохимических функциях. Так, эстрадиол (один из основных женских половых гормонов) отличается от тестостерона (мужского полового гормона) всего лишь отсутствием у первого одной метильной группы и нескольких атомов водорода. Таким образом, биологическое отличие женщин от мужчин создают метил и атомы водорода (!). Это яркий пример мощнейшего воздействия химического строения биомолекул на жизненные функции биологических видов. Множество таких примеров можно найти на страницах данного пособия.

3. Все живое происходит только от живого. Этот важнейший биологический постулат подтверждается также характерными особенностями физико-химических процессов, протекающих в живых организмах. Так, живые клетки представляют собой изотермические системы органических молекул, способных к самоорганизации, саморегуляции и самовоспроизведению. Протекающие в клетках химические процессы ускоряются за счет биокатализаторов — ферментов, которые синтезируются самими клетками. Самовоспроизведение клеток контролируется генетическим аппаратом, заключенным в самих же клетках. Исключение (по сравнению со свойствами клеток одноклеточных и многоклеточных организмов) составляют вирусы, представляющие собой неживые внеклеточные надмолекулярные структуры, способные к размножению лишь в живых клетках, биохимический аппарат которых они подчиняют для производства новых вирусных частиц.

4. Для всех организмов характерно единство метаболических процессов, которые подвержены непрерывному нейроэндокринному контролю, осуществляемому путем регуляции синтеза и изменения активности ферментов.

5. Живые организмы характеризуются чрезвычайно высокой экономичностью в использовании материальных и энергетических ресурсов. В клетках используется именно столько молекул, сколько требуется для синтеза необходимого количества нуклеиновых кислот, белков, липидов и углеводов. Несмотря на многовековой опыт ведения хозяйства и создание целых экономических школ, человечество вряд ли когда-нибудь придет к столь же рациональному использованию природных ресурсов.

6. Наследственным или генетическим материалом всех организмов является ДНК, в которой в форме генетического кода зашифрована информация о всех белках организма. Передача и реализация фенотипической информации о синтезе белков осуществляется в результате транскрипции и трансляции. Такой путь передачи информации (ДНК → РНК → Белок) получил название *центральной догмы биологии* (см. главу 11).

Таким образом, логика живого заключается в уникальной взаимосвязи молекулярных явлений в сложноорганизованных системах, обладающих свойствами живого.

### 3.3. НОБЕЛЕВСКИЕ ЛАУРЕАТЫ В ОБЛАСТИ БИОХИМИИ И СМЕЖНЫХ ОБЛАСТЕЙ НАУКИ

Международная Нобелевская премия присуждается ученым всех стран мира за выдающиеся открытия. Неудивительно, что большинство Нобелевских премий было вручено за научные достижения именно в области биохимии и смежных с ней областей естествознания, поскольку изучение биохимии представляет огромный интерес для исследователей всех стран мира. Такой интерес, несмотря на уже сделанные открытия в области познания молекулярных тайн жизни, вызван пониманием того, что все многообразие живого мира нельзя описать в рамках какой-либо одной или нескольких, даже самых универсальных теорий. Судя по числу Нобелевских премий (табл. 3.1), наибольший вклад в биохимическую науку внесли ученые Германии, США и Великобритании. Успехи российских ученых пока не отмечены данной наградой, однако это должно послужить лишь стимулом к развитию единой современной биохимической школы в России.

Таблица 3.1. Нобелевские лауреаты в области биохимии

Год	Страна	Нобелевские лауреаты	Тема открытий
1902	Германия	Фишер Э. Г.	Работы по синтезу углеводов, аминокислот и пуринов
1907	Германия	Бухнер Э.	Открытие спиртового брожения в дрожжевых экстрактах, что доказало возможность ферментативных реакций вне живого организма
1910	Германия	Коссель А.	Исследования по химии белков и других макромолекул клетки
1915	Германия	Вильштеттер Р. М.	Исследование растительных пигментов, установление химического строения хлорофилла
1922	Германия	Мейергоф О.	Открытие связи между потреблением кислорода мышечной тканью и образованием в ней молочной кислоты
1923	Канада	Бантинг Ф. Г., Маклеод Дж. Дж. Р.	Открытие инсулина

Год	Страна	Нобелевские лауреаты	Тема открытий
1927	Германия	Виланд Г.	Исследование строения желчных кислот
1928	Германия	Виндаус А.	Изучение строения стероидов и их связи с витаминами
1929	Великобритания	Хопкинс Ф. Г.	Открытие витаминов, стимулирующих рост организма (А и D)
1929	Великобритания Швеция	Гарден А. Фон Х.	Исследования ферментации, брожения сахаров и ферментов, участвующих в этом процессе
1929	Нидерланды	Эйкман Х.	Открытие витамина B <sub>1</sub>
1930	Германия	Фишер Х. Э.	Исследование химического строения гемоглобина и хлорофилла, синтез гема
1931	Германия	Варбург О. Г.	Открытие природы и функций дыхательных ферментов
1936	Великобритания Германия	Дейл Г. Х. Леви О.	Исследования химической природы передачи нервного импульса
1937	США	Сент-Дьердьи А.	Работы по биологическому окислению и выделению в кристаллическом виде витамина С
1937	Великобритания	Хоуорс У. Н.	Исследования углеводов и витамина С
1938	Германия	Кун Р.	Изучение каротиноидов и витаминов
1939	Германия	Бутенандт А.	Работы по половым гормонам
1937	Германия	Домагк К.	Открытие первого антибактериального препарата — прontosила
1943	Дания США	Дам Х. Дойзи Э. А.	Открытие витамина K <sub>1</sub> и установление его химической природы
1946	США	Самнер Дж. Б.	Первое получение фермента (уреазы) в кристаллическом виде и доказательство его белковой природы
1946	США	Стэнли У. М., Нортроп Дж.	Получение в кристаллическом виде ряда ферментов и вирусов
1947	США	Кори К. Ф., Кори Г. Т.	Открытие путей ферментативного превращения гликогена в организме
1947	Аргентина	Усай Б. А.	Открытие роли гормонов гипофиза в углеводном обмене
1947	Великобритания	Робинсон Р.	Исследование растительных алкалоидов и других биологически важных природных веществ
1948	Швеция	Тисемус А.	Разработка методов электрофоретического и адсорбционно-хроматографического анализа и их применения для разделения сывороточных белков

Год	Страна	Нобелевские лауреаты	Тема открытий
1950	США	Кендалл Э., Рейхштейн Т., Хенг Ф.	Исследование гормонов коры надпочечников
1952	США	Ваксман З.	Открытие стрептомицина
1953	Великобритания	Кребс Г. А.	Открытие цикла трикарбоновых кислот (цикл Кребса)
1953	США	Липман Ф. А.	Открытие кофермента А и его роли в обмене веществ
1955	Швеция	Теорелль А. Х. Т.	Изучение природы и механизма действия окислительных ферментов
1957	Италия	Бове Д.	Синтез и выяснение механизма действия фармакологических веществ, в том числе и нервно-паралитического действия
1957	Великобритания	Тодд А.	Синтез нуклеотидов и нуклеотидных коферментов
1958	США	Бидл Дж. У., Тейтем Э.	Открытие регуляции генами биохимических реакций
1958	Великобритания	Сенгер Ф.	Определение строения молекулы инсулина
1958	США	Лидерберг Дж.	Работы в области генетики бактерий и открытие генетической рекомбинации
1959	США	Очоа С., Корнберг А.	Исследование механизмов биосинтеза нуклеиновых кислот
1961	США	Калвин М.	Открытие последовательности химических превращений диоксида углерода в процессе фотосинтеза
1962	Великобритания	Кендрю Дж. К., Перутц М. Ф.	Установление строения миоглобина, гемоглобина методом рентгеноструктурного анализа
1962	Великобритания	Крик Ф. Х. К., Уилкинс М.	Установление структуры ДНК и ее роли в передаче наследственной информации
	США	Уотсон Дж. Д.	
1963	Великобритания	Хаксли А. Ф., Холджин А. Л.	Исследование ионных механизмов процессов передачи возбуждения и торможения нервными клетками
	Австралия	Эклс Дж. К.	
1964	США	Блох К. Э.	Открытия в области обмена жирных кислот и холестерина
	Германия	Линен Ф.	
1964	Великобритания	Кроуфут — Ходжкин Д.	Установление методом рентгеноструктурного анализа строения некоторых биологически активных веществ (витамина В <sub>12</sub> и других)
1965	Франция	Жакоб Ф., Львов А. М., Моно Ж. Л.	Исследования генетического контроля синтеза ферментов и вирусов

Год	Страна	Нобелевские лауреаты	Тема открытий
1965	США	Вудворд Р. Б.	Исключительный вклад в развитие органического синтеза (синтез стероидов, хлорофилла и других природных веществ)
1967	Швеция	Гранит Р., Уолд Дж.	Исследования физиологических и химических механизмов зрения
	США	Хартлайн Х.	
1968	США	Корана Х. Г., Ниренберг М. У., Холли Р. У.	Работы по расшифровке генетического кода и установлению его роли в биосинтезе белков
1969	США	Дельбрюк М., Лурия С. Э., Херши А. Д.	Исследования в области размножения вирусов и бактерий
1970	США	Аксельрод Дж.	Открытие и исследование нейромедиаторов
	Великобритания	Кац Б.	
	Швеция	Эйлер У. фон	
1970	Аргентина	Лелуар Л. Ф.	Открытие роли нуклеотидов в биосинтезе углеводов
1971	США	Сазерленд Э. У.	Исследования механизмов действия гормонов
1972	Великобритания	Портер Р. Р.	Установление химической структуры антител
	США	Эдельман Дж. М.	
1972	США	Анфинсен К. Б., Мур С., Стэйн У. Ф.	Изучение молекулярной структуры рибонуклеазы и ее связи с каталитической активностью
1975	США	Балтимор Д., Дульбекко Р., Темин Х. М.	Работы по генетике онкогенных вирусов и открытие фермента обратной транскриптазы
1975	Великобритания	Корнфорт Дж. У.	Работы по выяснению путей биосинтеза холестерина
1977	США	Гиймен Р., Шалли Э. В., Ялоу Р. С.	Открытия, связанные с секрецией пептидных гормонов мозга, разработка методов их определения
1978	Швейцария	Арбер В.	Открытие рестриктаз и их применение в молекулярной генетике
	США	Натанс Д., Смит Х.	
1978	Великобритания	Митчелл П.	Исследования процесса переноса энергии в клетках и разработка хемиосмотической теории
1980	США	Берг П.	Исследования молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот (рекомбинантным ДНК)
1980	США	Гилберт У.	Вклад в определение последовательности азотистых оснований в молекулах нуклеиновых кислот
	Великобритания	Сенгер Ф.	

Год	Страна	Нобелевские лауреаты	Тема открытий
1982	Великобритания	Клуг А.	Работы по комплексной микроскопии кристаллов и структуре нуклеопротеинов
1982	Швеция Великобритания	Бергстрем С., Самуэльсон Б. Вейн Дж. Р.	Открытия в области простагландинов и родственных им биологически активных соединений
1984	США	Меррифилд Р. Б.	Создание метода химического синтеза на твердых матрицах
1985	США	Браун М. С., Голдстейн Дж. Л.	Раскрытие механизма регуляции обмена холестерина в организме
1988	Германия	Дайзенхофер И., Михель Х., Хубер Р.	Определение трехмерной структуры фотосинтетического реакционного центра у пурпурных бактерий
1989	США	Олтмен С., Чек Т. Р.	Открытие ферментативной активности рибонуклеиновых кислот
1992	США	Фишер Э., Кребс Э.	Открытие роли фосфорилирования белков как регулирующего механизма клеточного метаболизма
1993	США	Муллис К.	Открытие метода полимеразной цепной реакции для получения новых молекул ДНК с помощью фермента ДНК-полимеразы
1993	Канада	Смит М.	Разработка метода направленного мутагенеза и его применение для установления структуры белков
1994	США	Гилман А., Родбелл М.	Открытие белков-посредников (G-белков), участвующих в передаче сигналов между клетками и внутри клеток, и выяснение их роли в молекулярных механизмах возникновения ряда инфекционных заболеваний (холера, коклюш)
1996	Австралия Швейцария	Доэрти П. Цинкернагель Р.	Открытие механизма распознавания клетками иммунной системы организма (Т-лимфоцитами) клеток, инфицированных вирусом
1997	США Великобритания	Бойер П. Уолкер Д.	Выяснение ферментативного механизма синтеза АТФ
1997	Дания	Ску Й.	Открытие фермента, осуществляющего перенос ионов через клеточные мембраны
1998	США	Фурчготт Р., Игнаро Л., Мурад Ф.	Открытие роли оксида азота как сигнальной молекулы в регуляции сердечно-сосудистой системы, приведшее к разработке препарата «Виагра»



Год	Страна	Нобелевские лауреаты	Тема открытий
1999	США	Блобель Г.	Открытие механизмов «внутренних сигналов» у белковых молекул, в перспективе позволяющее повысить эффективность препаратов белковой природы, таких как интерферон
2000	Швеция США	Карлссон А. Грингард П., Кандел Э.	Открытие роли протеинов в сигнальных механизмах нервной системы, имеющее важное значение для разработки лекарственных препаратов от болезней Паркинсона, Альцгеймера и ряда других
2001	США	Хартуэлл Л.	Открытие генов, контролирующих жизненный цикл клеток, что является актуальным для лечения злокачественных новообразований
2001	США Япония	Ноуэлс У., Шарплесс К. Б. Ноери Редзи	Исследования в области «хирального анализа», имеющие важное значение для синтеза лекарств
2001	Великобритания	Нерс П.	Открытие белка — киназы, пороговое содержание которого в клетке является сигналом для начала цикла клеточного деления, что важно для лечения злокачественных новообразований
2002	США Япония	Фенн Дж. Танака К.	За создание методов идентификации и структурного анализа биологических макромолекул
2002	Швейцария	Вютрих К.	За применение метода ЯМР для определения трехмерной структуры белков
2003	США	Агр П., Мак-Киннон Р.	За изучение механизма водно-солевого обмена между клетками человеческого организма
2004	США	Аксел Р., Бак Л.	За исследования молекулярных механизмов работы органов обоняния
2005	Австралия	Маршалл Б., Уоррен Р.	За открытие влияния бактерии <i>Helicobacter pylori</i> на возникновение гастрита и язвы желудка и двенадцатиперстной кишки
2006	США	Файр Э., Мелло К.	За открытие РНК-интерференции — подавления генов двухцепочечной РНК
2006	США	Корнберг Р.	За исследования механизма эукариотической транскрипции на молекулярном уровне

### 3.4. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ БИОХИМИИ XXI ВЕКА

Прогнозирование в науке — весьма рискованная вещь, тем не менее попытаемся сформулировать основные идеи и соображения, касающиеся развития биохимии (тех целей и задач, которые стоят перед этой наукой) в XXI в.

1. Исследования биохимических процессов, лежащих в основе действия болезнетворных микроорганизмов, позволят понять механизмы возникновения и разработать методы лечения многих заболеваний.

2. Биохимические методы, позволившие изучить и относительно полно раскрыть принципы работы печени, почек, иммунной и мышечной систем и других органов и систем организма, с большей степенью вероятности будут положены в основу изучения особенностей функционирования мозга. На сегодняшний день информация, установленная нейрехимиками, — всего лишь отдельные островки, открытые в океане нашего незнания.

3. Борьба с представлением о «*vis vitalis*» — «жизненной силе». До сих пор открывая и изучая те или иные сложные явления жизни, ученые, заходя в тупик, склонны к рассуждениям о мифической жизненной силе. Ученый-материалист Ф. Бэкон по этому поводу высказался так: «Малые знания удаляют нас от Бога, а большие — приближают к нему».

4. Клонирование и расшифровка генома дадут информацию, объем и значение которой постепенно будут возрастать. Использование биочипов, компьютерных банков данных поможет не утонуть в этой бездне информации. Биохимики будут определять функции продуктов генов, выяснять их возможные посттрансляционные модификации, взаимодействия между собой и т. д.

5. Очевидно, что взаимосвязь биохимической и химической наук будет усиливаться, что обусловлено двумя основными причинами. С одной стороны, «лаборатория живого организма» — давняя мечта химиков, направленная на обладание тем совершенством в осуществлении химических реакций, которое присуще лишь живой природе. С другой стороны, решение проблемы биогенеза средствами химии окажется такой же великой услугой химии биологии в раскрытии сущности жизни, какую получила сама химия на рубеже XIX и XX столетий от физики, разъяснившей сущность химических взаимодействий как обменного перераспределения электронов между атомами.

6. Исследование биохимии генно-инженерных систем (бактерий, культивируемых клеток млекопитающих, насекомых и растений), в том числе в экстремальных условиях, позволит выявить новые тенденции в развитии биотехнологий.

7. Несмотря на столь стремительное развитие наших знаний о биохимических системах и процессах, до сих пор, открывая и изучая те или иные сложные жизненные явления, ученые иногда склонны к рассуждениям о мифической жизненной силе\*. В связи с этим биохимикам предстоит решить те загадки природы, которые рассматривались ранее с точки зрения виталистических представлений.

---

\* Как здесь не вспомнить тот факт, что именно разоблачение «*vis vitalis*» — «жизненной силы» и привело к возникновению биохимии как отдельной ветви знания.

## Контрольные вопросы и задания

1. Какие современные теории происхождения жизни и биохимической эволюции вы знаете? Какие из них кажутся вам наиболее убедительными?

2. Приведите экспериментальные доказательства возможности синтеза биомолекул в условиях древней атмосферы.

3. В чем заключается сущность концепции асимметричного мира?

4. Какую доказательную базу имеют теория происхождения жизни Опарина и близкие к ней теории?

5. На основе изученного курса попытайтесь изложить молекулярную логику живого.

6. Проанализируйте материал, приведенный в табл. 3.1 «Нобелевские лауреаты в области биохимии». На основе этого анализа сделайте обзор наиболее выдающихся открытий в этой обширной области естествознания.

7. Сформулируйте основные цели и задачи биохимической науки в XXI в. Предложите план дискуссии на тему «Биохимия: вчера, сегодня, завтра».

---

---

## КРАТКИЙ СЛОВАРЬ БИОХИМИЧЕСКИХ ТЕРМИНОВ

В «Кратком словаре биохимических терминов» с целью преодоления затруднений, возникающих при чтении учебной, научной и научно-популярной литературы по биохимии и смежным областям знаний, в достаточно простой и доступной форме объяснены наиболее распространенные биохимические термины и понятия.

**Авитаминозы** — заболевания, вызванные длительным отсутствием витаминов в пище.

**Автотрофы** — организмы, синтезирующие из неорганических веществ все необходимые для жизни органические вещества.

**Аденозинтрифосфат (АТФ)** — нуклеотид, образованный аденозином и тремя остатками фосфорной кислоты; выполняет роль универсального аккумулятора биохимической энергии.

**Азотистый баланс** — разность между количеством азота, поступившего в организм с пищей и выводимого из него в виде конечных продуктов азотистого обмена.

**Активация ферментов** — увеличение активности ферментов под действием активаторов (ионы металлов, коферменты, субстраты и др.).

**Активный транспорт** — транспорт веществ против градиента их концентраций.

**Алкалоз** — увеличение рН крови за счет усиленного выведения из организма кислых веществ (накопления щелочных веществ).

**Аллостерическая регуляция ферментативной активности** — изменение конформации активного центра фермента в результате взаимодействия с аллостерическим эффектором (активатором или ингибитором), затрудняющим или усиливающим превращение субстрата.

**Альбумины** — простые белки плазмы крови, проявляющие высокую связывающую способность по отношению к различным низкомолекулярным соединениям.

**Аминокислоты** — карбоновые кислоты, у которых как минимум один атом водорода углеводородной цепи замещен на аминогруппу.

**Аминокислотный код** — см. **Генетический код**.

**Амфиболические пути (циклы)** — сопрягающие звенья между катаболическими и анаболическими путями.

**Анаболизм** — совокупность реакций, направленных на синтез и обновление структурно-функциональных компонентов клеток.

**Анаэробные организмы** — организмы, не использующие кислород в качестве акцептора электронов для окисления органических веществ.

**Анаэробный гликолиз** — ферментативный путь катаболизма глюкозы (см. **Гликолиз**) с последующим превращением пировиноградной кислоты в молочную (см. **Брожение**).

**Антибиотики** — группа антибактериальных веществ, используемых в качестве лекарственных препаратов.

**Антивитамины** — вещества, препятствующие нормальному действию витаминов вследствие разрушения, связывания последних и других процессов.

**Антигены (иммуногены)** — чужеродные организму вещества или вирусы, вызывающие **иммунный ответ** — синтез **антител (иммуноглобулинов)**.

**Антиоксиданты** — природные или синтетические соединения, замедляющие или предотвращающие окисление органических веществ.

**Антидоты** — лекарственные средства, предназначенные для обезвреживания попавших в организм ядов.

**Антипорт** — транспорт молекул вещества против градиента его концентрации — в направлении, противоположном транспорту другого вещества в направлении градиента концентрации последнего.

**Антитела (иммуноглобулины)** — группа белков, синтезируемых в ответ на попадание во внутреннюю среду организма молекул чужеродного вещества или вируса — **антигенов (иммуногенов)**.

**Апопротеины** — см. **Простые белки**.

**Апоптоз** — генетически запрограммированная клеточная гибель.

**Ацидоз** — понижение pH крови вследствие накопления в ней кислых веществ.

**Аэробные организмы** — организмы, использующие в качестве акцептора электронов для окисления органических веществ молекулярный кислород.

**Аэробный гликолиз** — ферментативный путь катаболизма глюкозы (см. **Гликолиз**) с последующим окислением пировиноградной кислоты в общем пути катаболизма до конечных продуктов —  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

**Бактериофаги** — вирусы, способные специфически поражать бактериальную клетку, размножаться в ней и вызывать ее гибель.

**Белки (протеины)** — биополимеры, мономерами которых являются  $\alpha$ -аминокислоты.

**Биогенные элементы** — химические элементы, постоянно содержащиеся в организмах в составе соединений, которые выполняют ряд важнейших биологических функций (O, C, N, H, Ca, P, K, Na, Cl, S, Mg, Fe).

**Биокомплексы металлов** — координационные соединения биолигандов с ионами металлов.

**Биологическая химия (биохимия)** — наука о входящих в состав организмов химических соединениях, их строении, свойствах, превращениях и биологических функциях.

**Биологическая система** — объект живого мира любой сложности.

**Биологический код** — см. **Генетический код**.

**Биологическое окисление** — совокупность протекающих в живых клетках ферментативных окислительно-восстановительных реакций, в резуль-

тате которых происходит расщепление веществ пищи и освобождаемая при этом энергия запасается в удобной для использования клетками форме — в виде высокоэнергетических соединений (АТФ).

**Бионеорганическая химия** — наука, задачей которой является изучение роли химических элементов и их неорганических соединений в процессах жизни.

**Биотехнология** — интеграция естественных и инженерных наук, которая при использовании клеток, клеточных структур и отдельных биомолекул позволяет получать улучшенные и более дешевые продукты медицинского и промышленного назначения или проводить различные генетические манипуляции для получения трансформированных геномов любых живых объектов — от вируса до человека.

**Биохромы** — см. **Природные пигменты**.

**Биоэнергетика** — раздел биохимии, задачей которого является изучение механизмов и закономерностей преобразования энергии в биосистемах.

**Брожение** — анаэробное образование энергии из углеводов.

**Витамеры** — сходные по структуре и биохимическим функциям соединения, обладающие витаминной активностью.

**Витаминология** — наука о витаминах как незаменимых пищевых факторах.

**Витаминоподобные соединения** — биологически активные вещества, выполняющие функции витаминов, но требующиеся организмам в сравнительно больших количествах.

**Витамины** — это низкомолекулярные органические соединения, синтез которых у организмов данного вида ограничен или отсутствует.

**Вторичная структура белка** — пространственная конфигурация полипептидной цепи, формируемая в результате нековалентных взаимодействий между функциональными группами аминокислотных остатков ( $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры белков).

**Вторичная структура ДНК** — пространственная конфигурация молекулы ДНК, стабилизированная за счет водородных связей между комплементарными парами азотистых оснований (см. **Двойная спираль ДНК**).

**Высокоэнергетические соединения** — органические производные фосфорной кислоты, при гидролизе фосфоангидридных связей которых высвобождается значительное количество свободной энергии.

**Гем** — координационное соединение протопорфирина IX с ионом железа(II); простетическая группа **гемопroteинов**.

**Гемоглобин** — сложный тетрамерный белок крови, простетической группой которого выступает **гем**; переносит кислород от органов дыхания к тканям и диоксид углерода от тканей к дыхательным органам.

**Гемопroteины** — сложные белки, простетической группой которых служит **гем** (гемоглобин, **цитохромы**).

**Генетический код** — способ кодирования в **нуклеиновых кислотах** информации о **первичной структуре белков**.

**Генная инженерия** — направление **молекулярной биологии**, задачей которого является целенаправленное конструирование новых, не суще-

ствующих в природе сочетаний генов путем использования генетических и биохимических методов.

**Геном** — все количество ДНК, содержащееся в клетке.

**Геномика** — наука о геномах.

**Генотип** — совокупность всех генов организма; определяет **фенотип**.

**Гены** — структурные образования молекул ДНК в **хромосомах**.

**Гетеротрофы** — организмы, использующие в качестве источника питания уже готовые органические соединения.

**Гидролазы** — ферменты, катализирующие гидролиз химических связей.

**Гипервитаминоз** — комплекс заболеваний, вызванных избыточным поступлением витаминов в организм с пищей.

**Гиповитаминоз** — комплекс заболеваний, вызванных недостаточным поступлением витаминов с пищей в организм.

**Гистоны** — тканевые белки, связанные с ДНК хроматина.

**Гликогеногенез** — ферментативный путь биосинтеза гликогена из глюкозы.

**Гликогенолиз** — ферментативный путь распада гликогена до глюкозы.

**Гликолиз** — ферментативный путь катаболизма глюкозы в живых организмах (см. **Анаэробный гликолиз**, **Аэробный гликолиз**).

**Гликопротеины** — сложные белки, простетическая группа которых представлена углеводами.

**Глобулины** — слабокислые или нейтральные белки плазмы крови, нерастворимые в воде.

**Глобулярные белки** — белки, имеющие цилиндрическую или сферическую форму; хорошо растворимы в воде.

**Глюконеогенез** — биосинтез глюкозы; протекает аналогично гликолизу, но в обратном направлении.

**Глютелины** — растительные белки, нерастворимые в воде, но растворимые в щелочах.

**Гомеостаз** — относительное постоянство значений концентраций, pH, температуры и давления внутренних сред организмов.

**Гормоны** — группа веществ, синтезируемых клетками желез внутренней секреции и оказывающих регулирующее действие на обменные процессы в организме.

**Группы крови** — типы крови, различающиеся у организмов одного и того же биологического вида по иммунологическим признакам.

**Дальтон** — единица массы, равная массе атома водорода (1 а.е.м.).

**Двойная спираль ДНК** — модель **вторичной структуры ДНК**, состоящая из двух антипараллельных полинуклеотидных цепей, связанных друг с другом водородными связями между комплементарными парами азотистых оснований А—Т и Г—Ц.

**Дегидрогеназы** — ферменты, катализирующие реакции дегидрирования.

**Дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК)** — нуклеиновые кислоты, содержащие в качестве углеводного компонента 2-дезоксирибозу.

**Денатурация белков** — явление разрушения нативной (вторичной, третичной и четвертичной) структуры белка под действием химических и физико-химических факторов.

**Денатурация нуклеиновых кислот** — явление разрушения нативной структуры нуклеиновых кислот под действием химических и физико-химических факторов.

**Детоксиканты** — вещества, способные к связыванию токсичных соединений с образованием малотоксичных форм и последующим их выводом из организма.

**Динамическая биохимия** — раздел биохимии, задачей которого является изучение обмена веществ и энергии в живых организмах.

**Дыхание** — совокупность физико-химических процессов, обеспечивающих поступление в организм кислорода и удаление диоксида углерода, а также использование кислорода клетками и тканями для окисления органических веществ с освобождением энергии, необходимой для их жизнедеятельности.

**Дыхательная цепь** — ферментативный комплекс, образованный **оксидоредуктазами**, локализованными в липидном слое внутренней мембраны митохондрий и осуществляющими перенос электронов и протонов от биосубстратов к  $O_2$ .

**Дыхательный контроль** — регулирующий механизм дыхания, основанный на зависимости потребления кислорода митохондриями от концентрации АДФ.

**Желчные кислоты** — соединения стероидной природы, выполняющие роль эмульгаторов липидов и активаторов **липолитических ферментов**.

**Желчные пигменты** — группа хромофоров линейной тетрапиррольной структуры (билирубин, биливердин и др.).

**Жизненно необходимые соединения** — основные химические компоненты организма, отсутствие которых в процессах метаболизма приводит к гибели организма.

**Жизненно необходимые элементы** — химические элементы, образующие **жизненно необходимые соединения**.

**Жиры (триацилглицерины)** — сложные эфиры жирных кислот и глицерина.

**Заменимые аминокислоты** — аминокислоты, синтезируемые организмами в количествах, достаточных для обеспечения нормальной жизнедеятельности.

**Изоионная точка** — истинное значение  $pH$ , при котором заряд биполярных электролитов (аминокислот, белков) равен нулю.

**Изомеразы** — ферменты, катализирующие реакции изомеризации.

**Изоферменты** — ферменты, катализирующие одну и ту же реакцию, но различающиеся по активности.

**Изоэлектрическая точка** — экспериментально определяемое значение  $pH$ , при котором заряд биполярных электролитов (аминокислот, белков) равен нулю.

**Иммунитет** — способность организмов идентифицировать, нейтрализовать и удалять чужеродные ему химические соединения и инфекционные агенты.



**Иммуногены** — см. **Антигены**.

**Иммуноглобулины** — см. **Антитела**.

**Иммунный ответ** — синтез антител в результате попадания в организм антигенов (иммуногенов).

**Иммунодефицит** — поражение иммунной системы, в результате которого ослабляются защитные силы организма.

**Иммунохимия** — раздел иммунологии, задачей которого является изучение строения, свойств и закономерностей взаимодействия **антител** и **антигенов**.

**Ингибирование ферментов** — уменьшение активности ферментов вследствие их взаимодействия с ингибиторами.

**Калорийность пищи** — энергия, выделяемая при полном окислении 1 г питательных веществ до высших оксидов (ккал/г).

**Канцерогены** — химические соединения, воздействие которых на организм приводит к возникновению опухолевых заболеваний (полициклические углеводороды, азокрасители, ароматические амины, нитрозамины и др.).

**Катаболизм** — совокупность реакций, направленных на распад сложных молекул, как поступивших с пищей, так и уже входящих в состав клеток организма, до более простых веществ (конечных продуктов обмена).

**Катехоламины** — биологически активные производные пирокатехина, обладающие нейрогормональной активностью (адреналин, норадреналин, дофамин).

**Кетоновые тела** — промежуточные продукты распада жирных кислот, образующиеся в печени из ацетил-КоА (ацетоацетат, ацетон,  $\beta$ -гидроксипутират).

**Киназы** — ферменты класса **трансфераз**, использующие АТФ в качестве донора фосфатного остатка.

**Клиническая биохимия** — раздел прикладной биохимии, задачей которого является разработка методик биохимического анализа с целью изучения возникновения заболеваний, их лечения и т. д.

**Кодон** — см. **Триплет оснований**.

**Комплементарность** — явление высокоизбирательного связывания биомолекул и биоструктур за счет специфических и универсальных взаимодействий, а также высокого стереохимического сродства.

**Кофакторы ферментов** — простетические группы сложных белков-ферментов (ионы металлов и **коферменты**).

**Коферменты** — кофакторы органической природы.

**Лиазы** — ферменты, катализирующие негидролитическое расщепление межуглеродных связей, отщепление групп с образованием двойной связи и др.

**Лигазы (синтетазы)** — ферменты, катализирующие химические взаимодействия между молекулами за счет энергии АТФ.

**Липолиз** — внутриклеточный гидролиз липидов.

**Липолитические ферменты** — ферменты, гидролизующие сложноэфирные связи в молекулах триацилглицеринов.

**Липопротеины** — сложные белки, простетическая группа которых представлена липидами.

**Макробиогенные элементы** — элементы, содержание которых в живых организмах составляет от  $10^{-2}$  % (мас.) и выше.

**Матричные биосинтезы** — синтез биополимеров (белков, нуклеиновых кислот) на матрице — нуклеиновой кислоте (**репликация, транскрипция, трансляция**).

**Микробиогенные элементы** — элементы, содержание которых в живых организмах колеблется от  $10^{-2}$  до  $10^{-5}$  % (мас.).

**Меланины** — группа пигментов черного или коричневого цвета, присутствующих в кожных покровах.

**Метаболизм** — внутриклеточный обмен веществ (в узком смысле); **обмен веществ и энергии** в живых организмах (в широком смысле).

**Метаболиты** — промежуточные продукты метаболического пути или цикла.

**Метаболическая вода** — вода, образующаяся в организме в результате метаболических превращений.

**Метаболические пути (циклы)** — последовательность биохимических реакций, направленных на превращения какого-либо субстрата до конечного продукта.

**Металлопорфирины** — координационные соединения порфиринов с ионами металлов (гем крови, хлорофилл растений).

**Металлопротеины** — сложные белки, содержащие в качестве простетической группы один или несколько ионов металлов.

**Миксотрофные организмы** — организмы, способные как к синтезу органических веществ, так и к их использованию в готовом виде.

**Минеральный обмен** — совокупность биохимических реакций с участием неорганических (минеральных) соединений.

**Миоглобин** — мышечный гемсодержащий белок; выполняет транспортную и запасную функции по отношению к кислороду.

**Молекулярная биология** — наука, изучающая фундаментальные биологические явления (наследственность, изменчивость) на молекулярном уровне.

**Молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот** — метод определения степени гомологичности нуклеиновых кислот, основанный на их способности к **ренативации**.

**Мультиферментные ансамбли (системы)** — надмолекулярные комплексы, включающие в себя десятки различных ферментов и катализирующие превращения многих субстратов (например, **пируватдегидрогеназный комплекс**).

**Мутагены** — химические и физико-химические факторы, вызывающие мутации.

**Мутации** — необратимые и наследуемые изменения в структуре ДНК под действием **мутагенов**.

**Надмолекулярные комплексы** — структуры, включающие в себя несколько макромолекул и стабилизированные за счет специфических и универсальных взаимодействий (например, **мультиферментные ансамбли**).

**Незаменимые аминокислоты** — аминокислоты, которые не синтезируются у данного вида организмов и должны поступать с пищей.

**Нейромедиаторы** — химические соединения, осуществляющие передачу нервного импульса в **синапсах**.

**Нейрохимия** — раздел биохимии, задачей которого является изучение функционирования нервной системы на молекулярном уровне.

**Непротеиногенные аминокислоты** — аминокислоты, не входящие в состав белков.

**Нуклеиновые кислоты** — высокомолекулярные соединения, мономерами которых служат **нуклеотиды**.

**Нуклеозиды** — соединения, в которых азотистые основания связаны с рибозой или дезоксирибозой посредством N-гликозидной связи.

**Нуклеотиды** — эфиры **нуклеозидов** с фосфорной кислотой.

**Нуклеопротеины** — сложные белки, простетическая группа которых представлена нуклеиновыми кислотами.

**Обмен веществ и энергии (метаболизм)** — совокупность превращений веществ и энергии в живых организмах, направленных на их рост, развитие и адаптацию к изменениям внешних условий.

**Общий путь катаболизма** — главный метаболический путь окисления продуктов специфических катаболических путей до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

**Оксигенация** — процесс взаимодействия гемоглобина или миоглобина с кислородом с целью транспорта последнего во внутренних средах организмов.

**Оксидоредуктазы** — группа ферментов, катализирующих окислительно-восстановительные реакции.

**Оптимум рН фермента** — значение рН среды, при котором фермент проявляет наибольшую активность.

**Органогены** — элементы, на которые приходится около 99 % всех атомов живых организмов (С, О, N, H).

**Орнитиновый цикл** — ферментативный путь биосинтеза мочевины из аммиака и диоксида углерода в организмах животных.

**Пептидная связь** — амидная связь ( $-\text{NH}-\text{CO}-$ ), образующаяся между amino- и карбоксильной группами аминокислот в результате реакции дегидратации.

**Пептиды** — полимеры, включающие до 50 аминокислотных остатков.

**Первичная структура белков** — последовательность соединения аминокислотных остатков в полипептидных цепях белков.

**Первичная структура нуклеиновых кислот** — последовательность соединения мононуклеотидов в нуклеиновых кислотах.

**Период биологического полуобновления** — время, за которое в живом организме половина данного вещества заменяется новыми молекулами.

**Пируватдегидрогеназный комплекс** — комплекс ферментов, катализирующих окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты.

**Порфирины** — тетрапиррольные макроциклические соединения; производные порфина.

**Провитамины** — вещества, из которых путем химической модификации получают **витамины**.

**Проламины** — группа простых белков, содержащихся в клейковине семян злаковых культур.

**Протетическая группа** — вещество небелковой природы, связанное с простым белком в составе сложного белка.

**Простые белки (апопротеины)** — белки, при полном гидролизе которых образуются только аминокислоты.

**Протамины** — гистоноподобные белки, связывающие ДНК в хроматине спермиев.

**Протеиногенные аминокислоты** — аминокислоты, являющиеся мономерами белков.

**Протеины** — см. **Белки**.

**Протеомика** — наука, изучающая полный набор белков живого организма.

**Проферменты** — неактивные формы ферментов, из которых путем химической модификации образуются собственно ферменты (активные формы).

**Процессинг РНК** — посттранскрипционная модификация РНК, в результате которой получают функционально активные молекулы.

**Рекомбинантная ДНК** — гибридная молекула ДНК, содержащая искусственно введенный ген.

**Ренативация** — процесс, обратный денатурации; возможен благодаря сохранению при денатурации первичной структуры белков и нуклеиновых кислот.

**Репарация ДНК** — исправление «ошибок» в первичной структуре ДНК в результате действия специальных репаративных ферментов.

**Репликация ДНК** — биосинтез новых ДНК на матрице материнской ДНК.

**Рибонуклеиновые кислоты** — нуклеиновые кислоты, углеводным компонентом которых является рибоза.

**Рибосомы** — органеллы клетки, состоящие из РНК и белков; участвуют в биосинтезе белков (см. **Трансляция**).

**Рилизинг-факторы** — гормоны пептидной природы, обладающие активирующим (либерины) или подавляющим (статины) действием на секрецию гормонов гипофиза.

**Секвенирование** — общее название физико-химических методов определения первичной структуры белков и нуклеиновых кислот.

**Симпорт** — транспорт молекул одного вещества совместно с молекулами другого вещества, причем последнее транспортируется против градиента его концентрации.

**Синапсы** — области контакта нервных клеток друг с другом.

**Синтетазы** — см. **Лигазы**.

**Склеропротеины** — фибриллярные белки опорных тканей организма.

**Сложные белки (холопротеины)** — белки, содержащие компонент небелковой природы — протетическую группу.

**Статическая биохимия** — раздел биохимии, задачей которого является изучение химического состава живых организмов и строения биологически активных веществ.

**α-Структура белков** — тип регулярной вторичной структуры глобулярных белков.

**β-Структура белков** — тип регулярной вторичной структуры фибриллярных белков.

**Температурный оптимум фермента** — температурный интервал, в котором данный фермент проявляет наибольшую активность.

**Тканевое дыхание** — аэробный распад органических веществ в живых тканях.

**Транскрипция** — биосинтез РНК на матрице ДНК.

**Трансляция** — биосинтез полипептидных цепей белков на матрицах РНК.

**Трансферазы** — группа ферментов, катализирующих перенос атомно-молекулярных групп.

**Третичная структура белков** — пространственная организация полипептидной цепи, формируемая в результате внутримолекулярных специфических и универсальных взаимодействий между радикалами аминокислотных остатков.

**Триплет оснований (кодон)** — сочетание трех рядом стоящих нуклеотидов в полинуклеотидной цепи ДНК и РНК.

**Ультрамикробиогенные элементы** — элементы, содержание которых в живых организмах ниже  $10^{-5}$  % (мас.).

**Фармакодинамика** — раздел фармацевтической химии, задачей которого является изучение метаболизма лекарственных препаратов.

**Фармакокинетика** — раздел фармацевтической химии, задачей которого является изучение закономерностей всасывания, распределения и выведения лекарственных препаратов из организмов.

**Фармацевтическая химия** — раздел фармакологии, задачей которого является изучение химического строения и физико-химических механизмов действия лекарственных средств.

**Фенотип** — совокупность всех признаков и свойств организма; формируется в результате взаимодействия **генотипа** и условий среды обитания.

**Ферменты** — биокатализаторы, образующиеся в клетках организма и представляющие собой **простые** или **сложные белки**.

**Фибриллярные белки** — белки, имеющие волокнистое строение и высокую механическую прочность; нерастворимы в воде.

**Физико-химическая биология** — комплекс наук, в совокупности изучающих биологические явления, основываясь на физических и химических законах.

**Флавопротеины** — сложные белки-ферменты, простетической группой которых являются производные витамина В<sub>2</sub> — флавинмоноклеотид (ФМН) и флавинадениндинуклеотид (ФАД).

**Фосфопротеины** — сложные белки, простетическая группа которых представлена остатками фосфорной кислоты; образуются в результате фосфорилирования белков.

**Фотосинтез** — сложный физико-химический процесс фиксации диоксида углерода и воды растениями с образованием кислорода и полисахаридов; происходит с участием **хлорофиллпротеинов**.

**Фототрофы** — организмы, использующие энергию Солнца для синтеза органических веществ.

**Функциональная биохимия** — раздел биохимии, задачей которого является изучение взаимосвязей между химической структурой, физико-химическими свойствами соединений и их биологической активностью.

**Хеморецепция** — способность организмов к ощущениям (вкуса, запаха и т. п.), вызываемым химическими соединениями.

**Хемотрофы** — организмы, использующие для биосинтеза энергию, выделяющуюся при окислении различных соединений.

**Хлорофиллы** — координационные соединения магния(II) и лигандов порфириновой природы.

**Хлорофиллпротеины** — **хромопротеины**, в роли простетической группы которых выступают **хлорофиллы**.

**Холопротеины** — см. **Сложные белки**.

**Хромопротеины** — группа сложных белков, простетическая группа которых представлена хромофорными соединениями (металлопорфиринами и др.).

**Хромосомы** — структурные элементы клеточного ядра, содержащие гены, организованные в линейном порядке.

**Цикл Кнопа — Линена** — метаболический путь окисления жирных кислот ( $\beta$ -окисление).

**Цикл Кребса** — метаболический путь, приводящий к полному разрушению ацетил-КоА до конечных продуктов —  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

**Цитохромы** — группа сложных белков-ферментов, простетической группой которых является **гем**; катализируют реакции переноса электронов в **дыхательной цепи**.

**Четвертичная структура белков** — способ укладки нескольких полипептидных цепей относительно друг друга в пространстве; характерна для олигомерных белков.

**Экзергонические реакции** — реакции, протекающие с понижением свободной энергии ( $\Delta G < 0$ ).

**Эндергонические реакции** — реакции, протекающие с увеличением свободной энергии ( $\Delta G > 0$ ).

**Эндокринология** — наука о гормонах.

**Энзимология (ферментология)** — наука о ферментах.

## ЛИТЕРАТУРА

- Антина Е. В., Чистяков Ю. В.* Химические основы жизни: текст лекций. — Иваново: Иван. гос. хим.-технол. акад., 1995. — 160 с.
- Березин Б. Д.* Координационные соединения порфиринов и фталоцианина. — М.: Наука, 1978. — 280 с.
- Березин Б. Д., Ениколопан Н. С.* Металлопорфирины. — М.: Наука, 1988. — 160 с.
- Березов Т. Т., Коровкин Б. Ф.* Биологическая химия. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 2002. — 704 с.
- Березовский В. М.* Химия витаминов. — 2-е изд. — М.: Пищевая промышленность, 1973. — 634 с.
- Биологические аспекты координационной химии / К. Б. Яцимирский, Ю. И. Браушко, Л. И. Бударин и др. / Под общ. ред. К. Б. Яцимирского.* — Киев: Наукова думка, 1979. — 268 с.
- Бохински Р.* Современные воззрения в биохимии: Пер. с англ. / Под ред. Е. Ю. Крынецкого, Н. Ф. Крынецкой. — М.: Мир, 1987. — 544 с.
- Брехман И. И.* Человек и биологически активные вещества. — 2-е изд., перераб. — М.: Наука, 1980. — 112 с.
- Бриттон Г.* Биохимия природных пигментов: Пер. с англ. / Под ред. Н. Н. Запрометова. — М.: Мир, 1986. — 424 с.
- Варфоломеев С. Д., Гуревич К. Г.* Биокинетика: практический курс. — М.: ФАИР-ПРЕСС, 1999. — 720 с.
- Геннис Р.* Биомембраны: молекулярная структура и функции: Пер. с англ. / Под ред. Л. И. Барсукова, А. Я. Мулкиджаняна, А. Л. Семейкиной, В. Д. Следя. — М.: Мир, 1997. — 621 с.
- Жеребцов Н. А., Попова Т. Н., Артюхов В. Г.* Биохимия. — Воронеж: Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2002. — 696 с.
- Квеситадзе Г. И., Безбородов А. М.* Введение в биотехнологию. — М.: Наука, 2002. — 284 с.
- Климов А. Н., Никольчева Н. Г.* Липиды, липопротеиды и атеросклероз. — СПб.: Изд-во «Питер», 1995. — 304 с.
- Кнорре Д. Г., Мызина С. Д.* Биологическая химия. — М.: Высшая школа, 2000. — 479 с.
- Кольман Я., Рем Е.* Наглядная биохимия: Пер. с англ. / Под ред. П. Д. Решетова, Т. И. Соркиной. — М.: Мир, 2004. — 469 с.
- Комов В. П., Шведова В. Н.* Биохимия. — М.: Дрофа, 2004. — 640 с.
- Координационные соединения металлов в медицине / Е. Е. Крисс, И. И. Волченкова, А. О. Григорьева и др. — Киев: Наукова думка, 1986. — 216 с.*
- Курганов Б. И.* Аллостерические ферменты. — М.: Наука, 1978. — 248 с.
- Мецлер Д.* Биохимия. Химические реакции в живой клетке: Пер. с англ. / Под ред. А. Е. Браунштейна, Л. М. Гиномана, Е. С. Северина. В 3-х т. — М.: Мир, 1980. — 1502 с.
- Мусил Я., Новакова О., Кунц К.* Современная биохимия в схемах: Пер. с англ. / Под ред. Е. М. Аваевой. — М.: Мир, 1984. — 216 с.
- Николаев А. Я.* Биологическая химия. — М.: Медицинское информационное агентство, 2001. — 496 с.
- Номенклатура ферментов / Под ред. А. Е. Браунштейна.* — М.: ВИНТИ, 1979. — 321 с.
- Общая токсикология / Под ред. Б. А. Курляндского, В. А. Филова.* — М.: Медицина, 2002. — 608 с.

- Овчинников Ю. А. Биоорганическая химия. — М.: Просвещение, 1987. — 815 с.
- Основы биохимии / А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит и др.: Пер. с англ. / Под ред. Ю. А. Овчинникова. В 3-х т. — М.: Мир, 1981. — 1878 с.
- Основы биохимии / А. А. Анисимов, А. Н. Леонтьева, И. Ф. Александрова и др. — М.: Высшая школа, 1986. — 551 с.
- Основы органической химии лекарственных веществ / А. Т. Солдатенков, Н. М. Колядина, И. В. Шендрик. — М.: Мир, 2003. — 192 с.
- Плакунов В. К. Основы энзимологии. — М.: Логос, 2002. — 128 с.
- Порфирины: структура, свойства, синтез / К. А. Аскаров, Б. Д. Березин, Р. П. Евстигнеева и др. — М.: Наука, 1985. — 333 с.
- Практическая химия белка: Пер. с англ. / Под ред. А. Дарбре. — М.: Мир, 1989. — 623 с.
- Проблема белка. В 2-х т. — Т. 1. Химическое строение белка / Е. М. Попов, П. Д. Решетов, В. М. Липкин и др. — М.: Наука, 1995. — 496 с.
- Проблема белка. В 2-х т. — Т. 2. Пространственное строение белка / Е. М. Попов, В. В. Демин, Е. Д. Шибанова. — М.: Наука, 1996. — 480 с.
- Румянцев Е. В., Антипина Е. В., Чистяков Ю. В. Химические основы жизни: Учебно-методическое пособие к лекционному курсу. — Иваново: Иван. гос. хим.-технол. ун-т, 2003. — 80 с.
- Семенов А. А. Очерк химии природных соединений. — Новосибирск: Наука, 2000. — 664 с.
- Слесарев В. И. Химия: основы химии живого. — СПб.: Химиздат, 2001. — 784 с.
- Современное естествознание: Энциклопедия. В 10 т. — Т. 8. Молекулярные основы биологических процессов. — М.: Изд. дом МАГИСТР-ПРЕСС, 2000. — 408 с.
- Спирин А. С. Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка. — М.: Высшая школа, 1986. — 304 с.
- Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, И. Эллиот и др.: Пер. с англ. / Под ред. В. Л. Друцы, О. Н. Королевой. — М.: Мир, 1991. — 544 с.
- Страйер Л. Биохимия: Пер. с англ. / Под ред. С. Е. Северина. В 3-х т. — М.: Мир, 1984. — 1985. — 936 с.
- Строев Е. А. Биологическая химия. — М.: Высшая школа, 1986. — 479 с.
- Токавкина Н. А., Бауков Ю. И. Биоорганическая химия. — М.: Медицина, 1985. — 480 с.
- Уильямс Д. Металлы жизни: Пер. с англ. / Под ред. М. Е. Вольпина. — М.: Мир, 1975. — 237 с.
- Уотсон Дж., Туз Дж., Куриц Д. Рекомбинантные ДНК. Краткий курс: Пер. с англ. / Под ред. А. А. Баева. — М.: Мир, 1986. — 287 с.
- Успехи химии порфиринов / Под ред. О. А. Голубчикова. В 4-х т. — СПб.: Изд-во НИИ химии СПбГУ. Т. 1, 1997. — 384 с. — Т. 2, 1999. — 336 с. — Т. 3, 2001. — 258 с. — Т. 4, 2004. — 286 с.
- Филлипович Ю. Б. Основы биохимии. — 4-е изд., перераб. и доп. — М.: Изд-во «Агар», 1998. — 512 с.
- Химическая энзимология / Под ред. И. В. Березина, К. Мартинека. — М.: Изд-во МГУ им. М. В. Ломоносова, 1983. — 278 с.
- Шабарова З. А., Богданов А. А. Химия нуклеиновых кислот и их компонентов. — М.: Химия, 1978. — 584 с.
- Шамин А. Н. История биологической химии. — М.: Наука, 1990. — 408 с.
- Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология: Пер. с англ. / Под ред. А. И. Арчакова, М. П. Кирпичникова, А. Е. Медведева, В. П. Скулачева. — М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2002. — 446 с.
- Яцимирский К. Б. Введение в бионеорганическую химию. — Киев: Наукова думка, 1976. — 143 с.



Учебное издание

Румянцев Евгений Владимирович,  
Антина Елена Владимировна,  
Чистяков Юрий Васильевич

## ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЖИЗНИ

Учебное пособие для вузов

Художественный редактор *В. А. Чуракова*  
Компьютерная верстка *Н. Н. Лопашова*  
Корректор *В. Н. Маркина*

Сдано в набор 03.05.2006. Подписано в печать 29.01.2007. Формат 70×100<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Бумага офсетная. Гарнитура Ньютон. Печать офсетная. Усл. печ. л. 45,5.  
Изд. № 068. Тираж 1500 экз. Заказ № 2252

Отпечатано с готовых диапозитивов  
в ОАО «Марийский полиграфическо-издательский комбинат»  
424002, г. Йошкар-Ола, ул. Комсомольская, 112

ISBN 978-5-9532-0426-2



9 785953 204262

351e.

ЦЕНА

351c  
382. c.