

Супрамолекулярная химия
в живой природе.

Валиномицин. Родопсин.

Тетрапиррольные
макроциклы

Калий-натриевый

Калий-натриевый насос - ~~вероятно~~ ^{важнейший} механизм сопряженного активного трансмембранного транспорта ионов натрия (из клетки) и ионов калия (внутри клетки). Этот механизм обеспечивает концентрационный градиент и трансмембранную разность потенциалов.

Существование управляемой трансмембранной разности потенциалов мембраны является основой многих функций: возбуждения, возникновения потенциалов действия, проведения нервных импульсов, управления возбудимостью мембран, сокращения мышцы, секреции клеток желез, трансмембранного обмена веществ, восприятия, переработки информации и формирования управляющих воздействий, а также многих других неспецифических и специфических функций клеток, тканей, органов и систем органов.

Таблица 2.1. Содержание Na^+ и K^+ в некоторых биологических системах

Местонахождение	Концентрация, ммоль·кг ⁻¹	
	K^+	Na^+
Внутриклеточная жидкость человека (например, эритроциты)	92	11
Межклеточная жидкость человека (например, плазма крови)	5	152
Нерв (внутри)	300	10
Нерв (снаружи)	22	440

В норме, когда клетка готова к работе, у неё уже есть электрический заряд на поверхности мембраны. Он называется **мембранный потенциал покоя**.

Потенциал покоя - это разность электрических потенциалов между внутренней и наружной сторонами мембраны, когда клетка находится в состоянии физиологического покоя. Его средняя величина составляет -70 мВ (милливольт).

"Потенциал" - это возможность, он сродни понятию "потенция".

Электрический потенциал мембраны - это её возможности по перемещению электрических зарядов, положительных или отрицательных. В роли зарядов выступают заряженные химические частицы - ионы натрия и калия, а также кальция и хлора. Из них только ионы хлора заряжены отрицательно (-), а остальные - положительно (+). Таким образом, имея электрический потенциал, мембрана может перемещать в клетку или из клетки указанные выше заряженные ионы.

Сущность потенциала покоя - это преобладание на внутренней стороне мембраны отрицательных электрических зарядов в виде анионов и недостаток положительных электрических зарядов в виде катионов, которые сосредотачиваются на её наружной стороне, а не на внутренней.

Внутри клетки - "отрицательность", а снаружи - "положительность".

Такое положение вещей достигается с помощью трёх явлений: (1) поведения мембраны, (2) поведения положительных ионов калия и натрия и (3) соотношения химической и электрической силы.

1. Поведение мембраны

В поведении мембраны для потенциала покоя важны три процесса:

- 1) **Обмен** внутренних ионов натрия на наружные ионы калия. Обменом занимаются специальные [транспортные структуры мембраны: ионные насосы-обменники](#). Таким способом мембрана перенасыщает клетку калием, но обедняет натрием.
- 2) **Открытые калиевые ионные каналы**. Через них калий может как заходить в клетку, так и выходить из неё. Он выходит в основном.
- 3) **Закрытые натриевые ионные каналы**. Из-за этого натрий, выведенный из клетки насосами-обменниками, не может вернуться в неё обратно. Натриевые каналы открываются только при особых условиях - и тогда потенциал покоя нарушается и смещается в сторону нуля (это называется *деполяризацией* мембраны, т.е. уменьшением полярности).

2. Поведение ионов калия и натрия

Ионы калия и натрия по-разному перемещаются через мембрану:

- 1) Через ионные насосы-обменники [натрий насильно выводится из клетки, а калий затаскивается в клетку](#).
- 2) Через постоянно открытые калиевые каналы калий выходит из клетки, но может и возвращаться в неё обратно через них же.
- 3) Натрий "хочет" войти в клетку, но "не может", т.к. каналы для него закрыты.

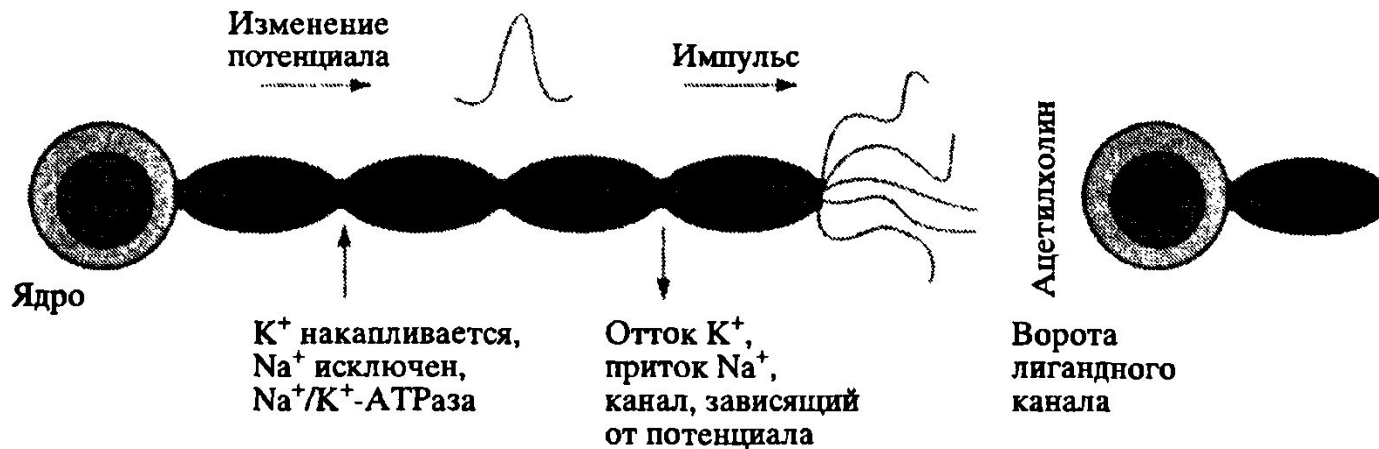
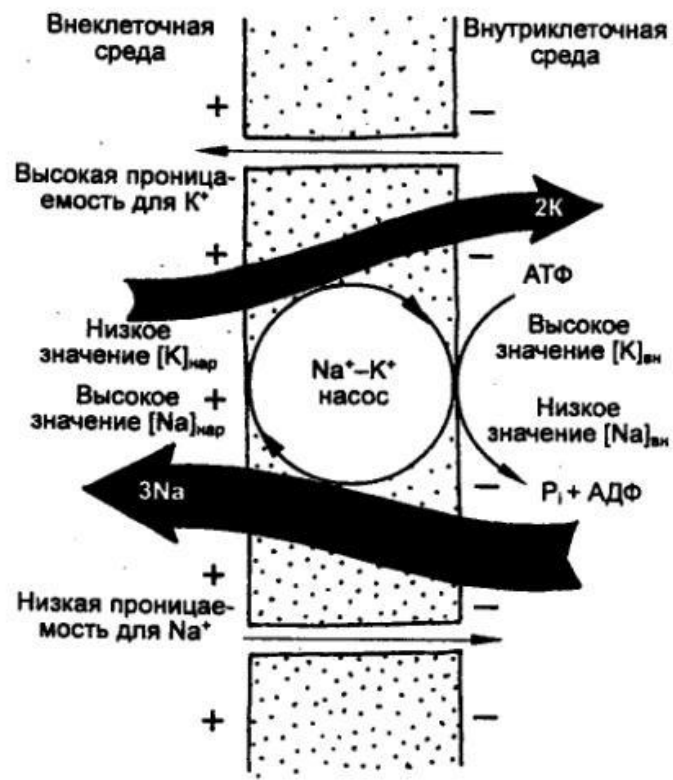
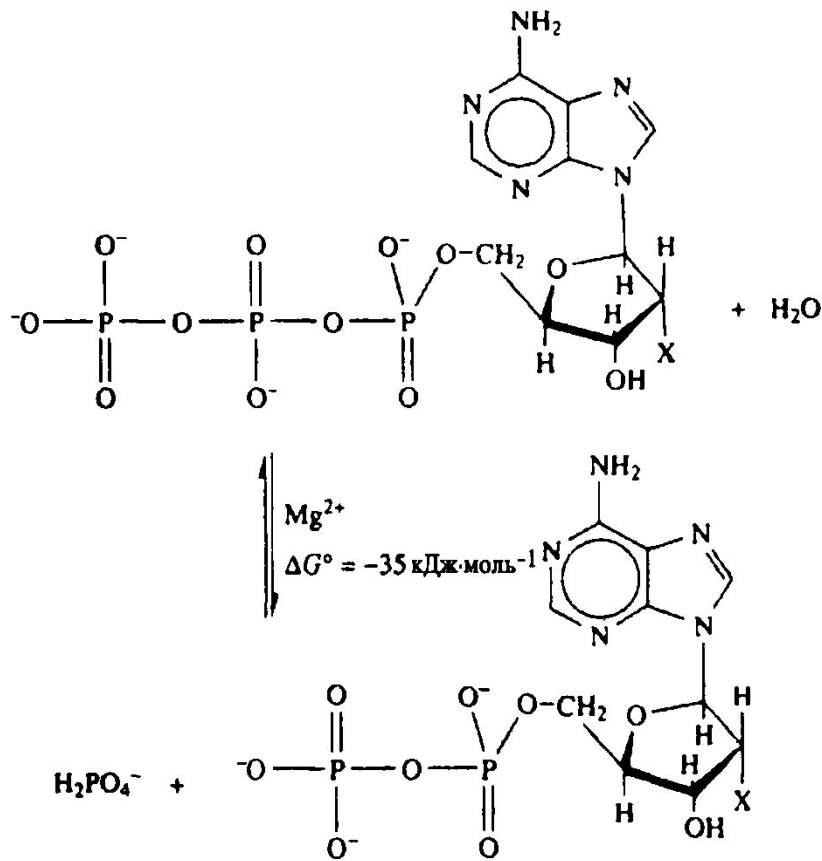
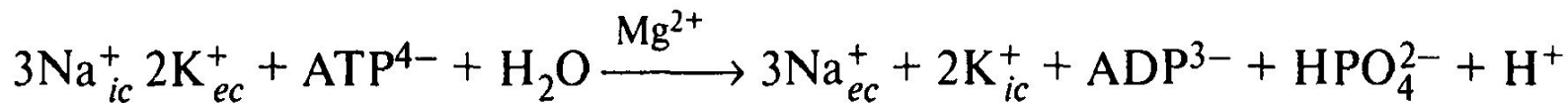


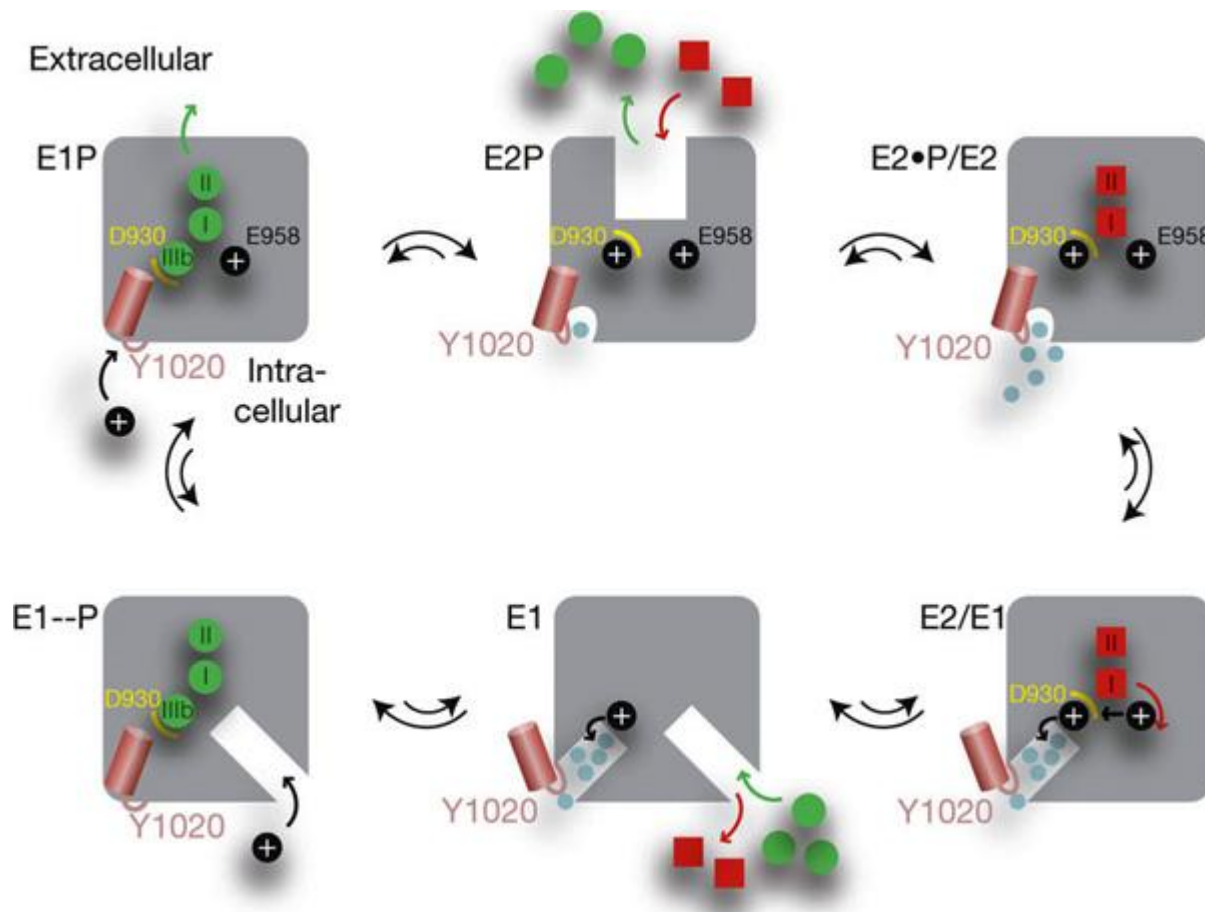
Рис. 2.1. Способ передачи нервного импульса. При концентрационных градиентах, порожденных Na^+/K^+ -АТРазой, открытие ионного канала вызывает пассивный отток K^+ и приток Na^+ , что приводит к небольшому «всплеску» электрического тока (нервный импульс) и изменению мембранного потенциала. На конце нервной клетки (аксон) электрический сигнал преобразуется в химический за счет триггерного вброса гормона, например ацетилхолина (разд. 2.6). В свою очередь, гормон по триггерному механизму открывает ионный канал с лигандным затвором в аксоне следующего нерва и перезапускает нервный импульс в виде электрического тока, разрешая протекание пассивного потока K^+ и Na^+ через следующую мембрану



Суммарный процесс выглядит следующим образом:



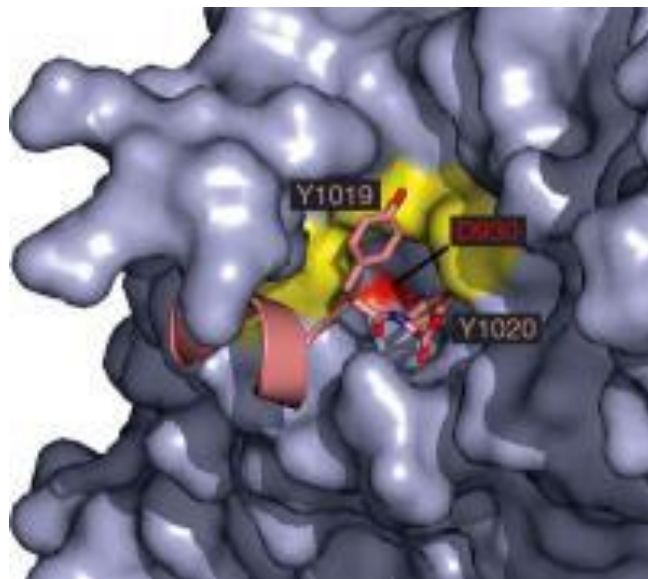
(*ic* – внутриклеточный, *ec* – внеклеточный).



Зеленые кружки — ионы натрия, красные квадратики — ионы калия, черные кружки с плюсом внутри — протоны, голубые шарики — вода, красный цилиндр — С-конец белка; римскими цифрами показаны сайты связывания ионов, E1P, E2P и так далее — так называются состояния насоса; D930 — остаток аспартата, с которым связывается один из протонов, E958 — остаток глутамата, с которым связывается другой протон, Y1020 — остаток тирозина, расположенный на С-конце белка; extracellular — внеклеточное пространство, intracellular — внутриклеточное пространство. Изображение взято из статьи в *Nature*.

Пусть вначале в насосе «сидят» три иона натрия на своих сайтах связывания и один протон на глутаматном остатке. Ионы натрия могут выйти во внеклеточное пространство только тогда, когда С-конец белка поменяет свое положение и перестанет затыкать ионный канал и по этому каналу пойдет вода, которая протонирует остаток аспартата (где находится сайт связывания для натрия). Когда ионы натрия выходят во внеклеточное пространство, им на смену приходят ионы калия. Тот протон, который был на глутамате, переходит на аспартат, а тот, что был на аспартате, покидает белок по открытому ионному каналу. Ионы калия входят во внутриклеточное пространство по одному каналу, а протон, который был на аспартате, — по другому. На смену ионам калия приходят ионы натрия. На глутаматный остаток «садится» протон, и цикл повторяется.

На рисунке в правой части изображён ключевой участок этого транспортного белка. Это полость, ведущая от С-конца белка к аминокислоте аспартату, куда сядет цитоплазматический протон. *Палочка* указывает на аспартат (D930), показанный *красным*; Y1019 и Y1020 — остатки тирозина; *желтым цветом* показаны участки, мутации в которых вызывают гемиплегическую мигрень с сильными головными болями. Изображение взято из статьи в *Nature*.



Механизмы ионного транспорта

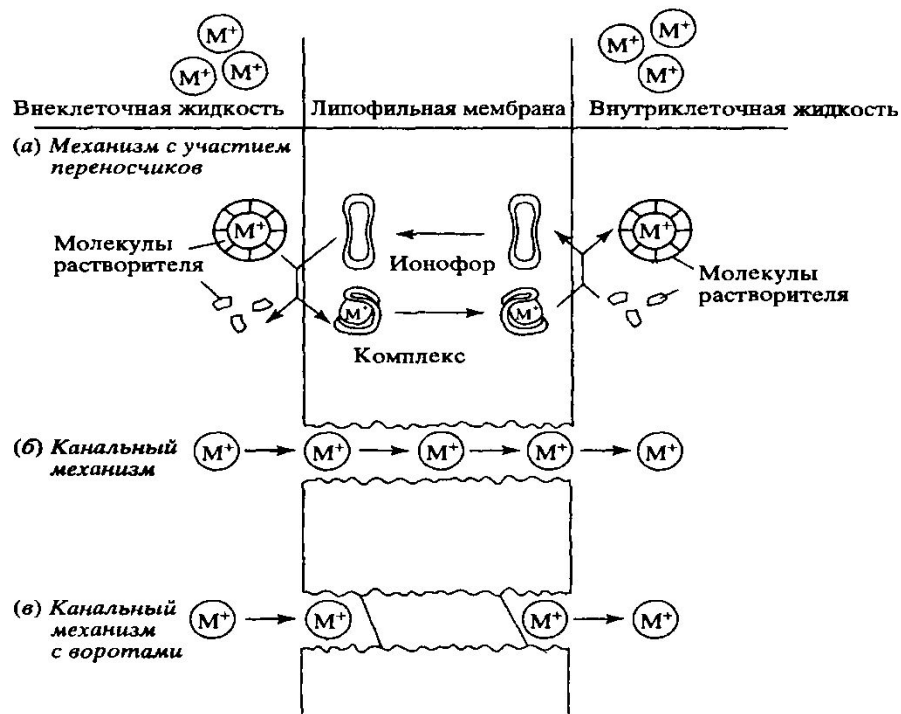
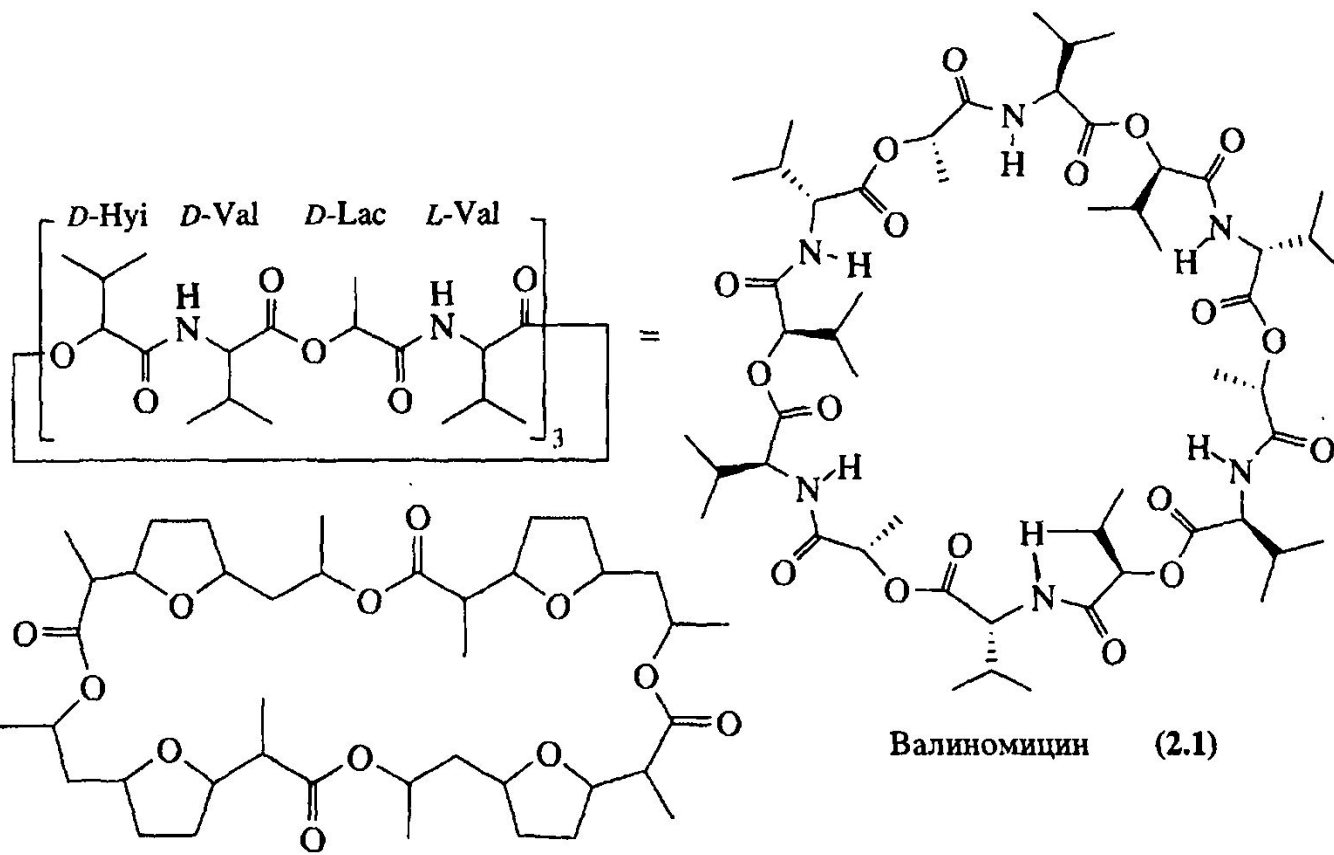


Рис. 2.4. Механизмы транспорта ионов через биологические мембраны: (а) с участием переносчиков, (б) канальный и (в) канальный с воротами.

Переносчик капсулирует ион щелочного металла, удаляя большинство или все связанные с ним молекулы воды. После этого переносчик, имеющий липофильную поверхность, проходит сквозь мембрану и на другом ее конце отдает ион обратно в водный раствор. Первоначально канал представляет собой гидрофильное отверстие, пронизывающее мембрану. Ионы могут быстро пересечь канал, не теряя своей сольватной сферы на протяжении почти всего пути, пока открыты ворота (активированные изменением потенциала или действием гормонов), и ион может пройти через селективный фильтр (который различает ионы Na^+ и K^+). (Воспроизведено с разрешения *Kaim W. and Schwederski B. Bioinorganic chemistry: Inorganic elements in the chemistry of life. Chichester: J.Wiley, 1994*)

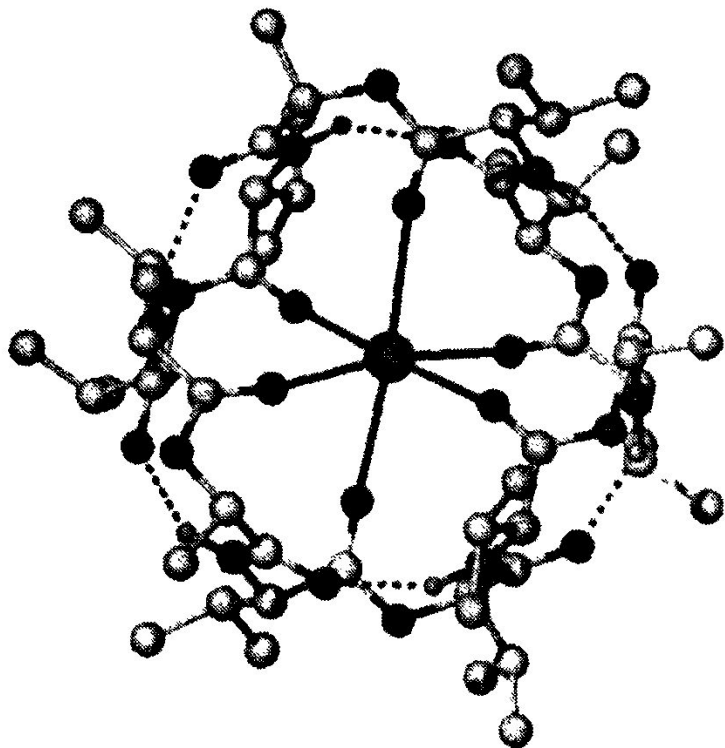


Ноактин (2.2)

Валиномицин (2.1)

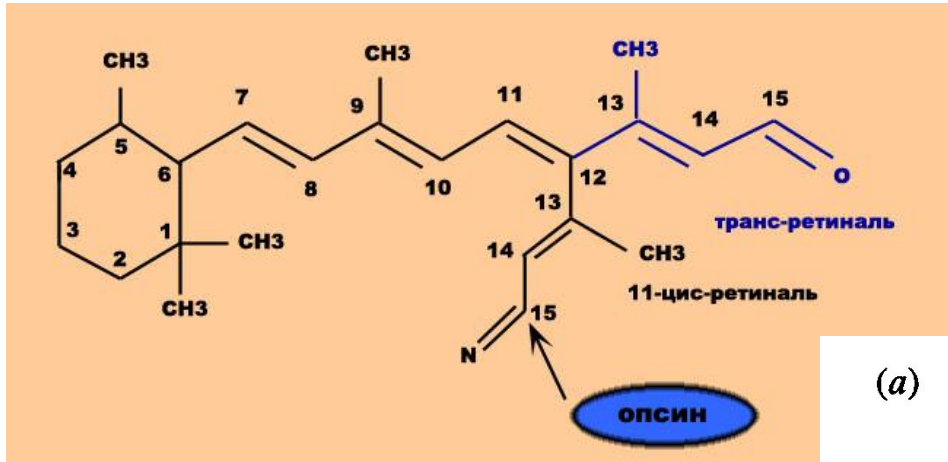
Транспорт ионов металлов по механизму с участием переносчиков требует лиганда-переносчика, способного и селективно связывать катион металла, и заслонять его от липофильного участка мембраны. Такие переносчики ионов называют *ионофорами*. Среди них наиболее известны природные продукты валиномицин (2.1) и нонактин (2.2).

Валиномицин был впервые выделен из бактерии *Streptomyces fulvissimus* в 1955 г., а в 1967 г. было установлено, что он катализирует обмен K^+ и H^+ через мембрану митохондрии внутри клеток по механизму с участием переносчика, не изменяя концентрацию Na^+ . Химически валиномицин представляет собой циклический депсипептид, состоящий из трижды повторяющихся четырех аминокислотных остатков (2.3): *L*-валина (Val), *D*-гидроксиизовалериановой кислоты (Hvi), *D*-валина и *L*-молочной кислоты (Lac). Водородное связывание типа $N-H \cdots O=C$ как с эфирными, так и с амидными карбонильными группами играет важную роль в конформации валиномицина (т.е. его предорганизации), которая помогает пептидной цепи «укутать» катион металла. И валиномицин, и нонактин селективны к K^+ , поскольку они способны сворачиваться таким образом, чтобы образовывать почти октаэдрическую структуру сильными (неполяризуемыми, согласно теории жестких и мягких кислот и оснований; HSAB-теория; Дополнение 3.2) донорами – карбонильными атомами кислорода, в точности соответствующую размеру катиона K^+ . Катионы Rb^+ и Cs^+ слишком велики, тогда как для связывания катиона Na^+ ионо-

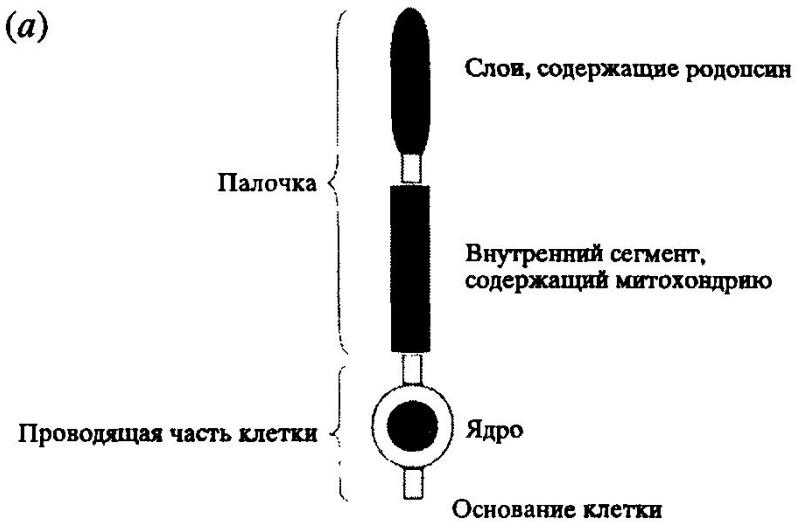


Кристаллическая структура
K⁺-комплекса валиномицина.

Родопсин как супрамолекулярное фотонное устройство

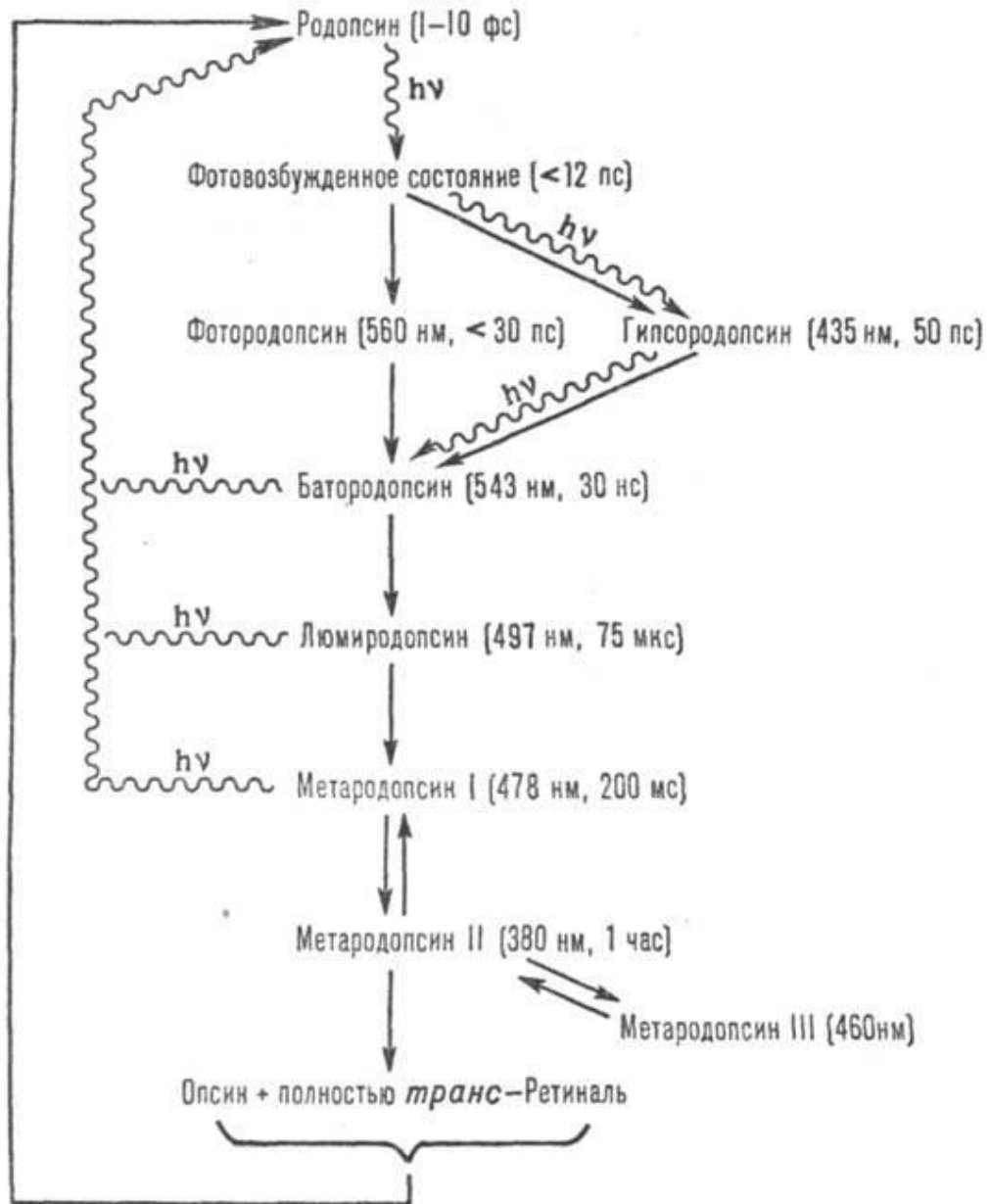


(a)



Клетки палочек лучше изучены и имеют все черты супрамолекулярного устройства. Светособирающая часть клетки палочки содержит фоточувствительный красноватый пигмент, называемый родопсином (визуально пурпурный). Он состоит из комплекса белка (опсин) и альдегида витамина А (каротин), называемого ретиналем. Спектр поглощения родопсина чувствителен к длинам волн, которые излучаются при низком уровне освещения; при фотовозбуждении комплекс опсина и ретиналя (азометиновая функция $C=NH^+$) претерпевает Цис-транс--изомеризацию. Это вызывает деградацию циклического гуанозинмонофосфата (cyclic guanosine monophosphate, cGMP), что необходимо для поддержания всегда существующего энергопоглощающего потока Na^+ ионов, включающего в себя «темновой ток» клетки, и, следовательно, для закрытия трансмембранных каналов. Это, в свою очередь, является причиной ощутимой гиперполяризации внутри клетки и приводит к усилению исходного светового сигнала и генерации нервного импульса.

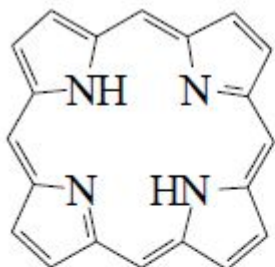
Родопсин - гликопротеин (мол. м. ок. 40 тыс.; полипептидная цепь состоит из 348 аминокислотных остатков), содержащий хромофорную группу (хромофор). В молекуле родопсина находится ок. 60% гидрофобных аминокислотных остатков. В N-концевой области родопсина расположены две олигосахаридные цепи, ковалентно связанные с остатками аспарагина. Известна первичная структура родопсинов, выделенных из разл. источников. Хромофор большинства родопсинов-остаток 11-цис-ретинала (см. Витамин А), связанный альдиминной связью с аминогруппой остатка лизина (у быка он находится в положении 296). Спектр поглощения у этих белков имеет три максимума-ок. 500, 350 и 280 нм. Первые два максимума обусловлены хромофором, третий-в осн. белковой частью молекулы. При поглощении кванта света начинается многоступенчатый процесс обесцвечивания, или фотолиза, родопсина (рис.2); квантовый выход фотолиза 0,67. На первой стадии (до образования батородопсина) происходит изомеризация хромофора из 11-цис-формы в полностью транс-форму, а на стадии батородопсина начинаются конформац. изменения белка, сначала в месте расположения хромофора, а затем и в др. местах молекулы. Это приводит к образованию др. промежут. продуктов, различающихся по спектральным св-вам.



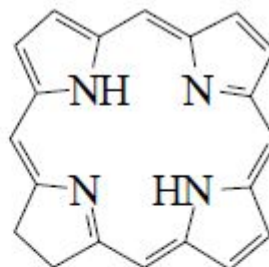
Плазматич. мембрана наружного сегмента в темноте высоко проницаема для ионов Na^+ , благодаря чему эти ионы быстро проникают внутрь наружного сегмента (высокий градиент в мембране концентрации ионов Na^+ поддерживает Na^+ , K^+ -аденозинтрифосфатаза), диффундируют далее во внутр. сегмент и затем выводятся с помощью Na^+ , K^+ -насоса за счет энергии АТФ. Предполагают, что мол. механизм блокирования Na^+ -каналов инициируется метародопсином II (активированный родопсин), к-рый взаимодействует с трансдуцином (G-белок, мол. м. 42 тыс.). Последний м. б. связан с гуанозиндифосфатом или гуанозинтрифосфатом (соотв. ГДФ и ГТФ). В трансдуцине, связанном с активированным родопсином, происходит обмен ГДФ на ГТФ. Одна молекула активированного родопсина до ее дезактивации способна активировать ок. 500 молекул трансдуцина. Трансдуцин с ГТФ активирует одну молекулу фосфодиэстеразы, к-рая за время одного цикла разлагает ок. 1000 молекул циклич. гуанозинмонофосфата (цГМФ). Уменьшение концентрации цГМФ приводит к закрытию натриевых цГМФ-регулируемых каналов, поток Na^+ уменьшается, мембрана гиперполяризуется. Возникновение такой поляризации запускает р-ции световой адаптации клетки по принципу обратной связи. Закрытие Na^+ -каналов блокирует проникание Ca^{2+} в наружный сегмент, в то же время выход Ca^{2+} в результате Na^+ - Ca^{2+} -обмена продолжается. Это приводит к активации гуанилатциклазы и частично, по-видимому, к ингибированию фосфодиэстеразы. В результате этого концентрация цГМФ увеличивается и Na^+ -каналы открываются.

Тетрапиррольные макроциклы

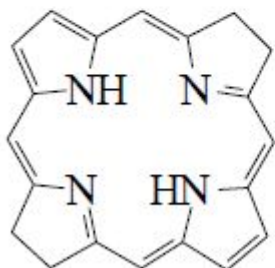
Тетрапиррольные пигменты – порфирины, хлорофиллы и кобаламины играют исключительно важную роль в жизни животных, растений и бактерий. Эти ярко окрашенные соединения содержат в своем составе макроцикл, состоящий из четырех молекул пиррола. У порфиринов, имеющих красный цвет, пирролы соединены между собой метиновыми мостиками и макроцикл носит название “порфин” (1). В хлорофиллах, для которых характерна зеленая окраска, частично гидрированы один или два пиррола и молекула носит название “хлорин” (2) и “бактериохлорин” (3). Для кобаламинов, важнейшим среди которых является витамин B12, все четыре кольца частично гидрированы и вместо одного метинового мостика этот цикл называется кор



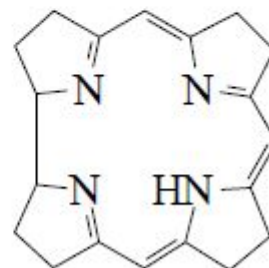
1



2



3



4

двумя пирролами.

Самые распространенные макроциклические соединения такого типа:

- хлорофиллы, содержащие лабильные в других случаях Mg^{2+} , важны как накопители энергии при фотосинтезе;
- кобаламины – активная форма витамина B_{12} , включающая частично сопряженную корриновую циклическую систему (рис. 2.10, *a*);
- гем-комплексы, состоящие из центрального атома железа и замещенного порфиринового лиганда, как в Fe-протопорфирине IX (рис. 2.10, *б*), – активного центра, связывающего O_2 в гемоглобине; гемы обнаружены также во многих ферментах, например в цитохромах, для которых O_2 является субстратом;
- комплекс порфирината никеля(II) – кофермент F450 (рис. 2.10, *в*) – найден в организмах, производящих метан; независимость функционирования этих комплексов от функционирования белков делает их хорошими кандидатами для катализа «первого часа», т.е. для возникновения жизни.

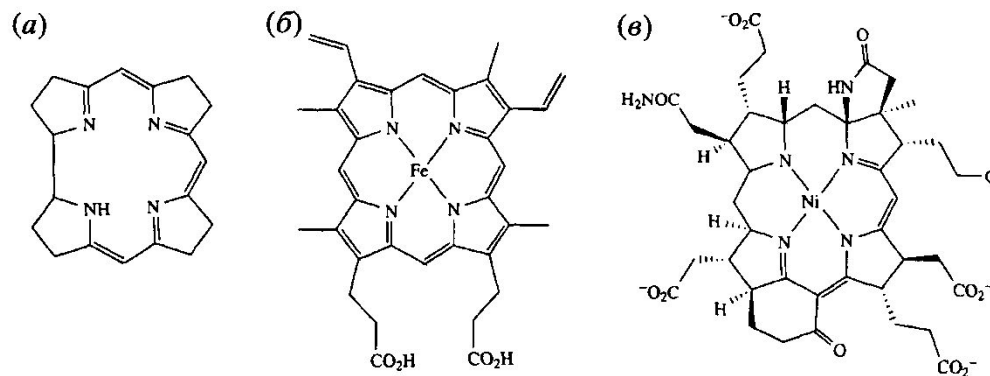


Рис. 2.10. Биологические тетрапиррольные макроциклические соединения: (*a*) коррин, (*б*) гем (Fe-протопорфирин IX), (*в*) кофермент F450

СВОЙСТВ

- Их плоская (или почти плоская) циклическая система очень стабильна.
- Тетрапиррол может связывать даже высоколабильные ионы металлов, как и тетрадентатные хелатные лиганды, которые после депротонирования несут единственный (корриновый) или двойной отрицательный заряд. Только в случае одновременного разрыва всех связей металл–лиганд комплекс может диссоциировать (ср. хелатный и макроциклический эффекты).
- Обычно макроциклические лиганды вполне селективны к радиусу того иона металла, с которым они будут связываться (предпочтительнее связываются те, которые соответствуют размеру полости) В этом отношении тетрапирролы особенно селективны благодаря жесткости сетки сопряженных двойных связей.
- Большинство тетрапирролов содержит сопряженную π -систему. Порфирины, имеющие 18 π -электронов во внутреннем 16-членном кольце, подчиняются правилу Хюккеля для ароматических систем (ароматические системы содержат $4n+2$ π -электронов; для полностью сопряженных тетрапирролов $n = 4$). Это некоторым образом объясняет термическую стабильность циклической системы и часто приводит к интенсивному окрашиванию. Поэтому многие тетрапирролсодержащие биологические системы называют пигментами. Более того, это означает, что продукты окисления и восстановления, которые образуются в некоторых биологических процессах, могут быть вполне стабильными из-за делокализации возникающих зарядов.
- Макроцикл содержит четыре координирующих атома в плоскости и два доступных участка на октаэдрическом металлическом центре, пригодных для связывания экстралигандов (субстрат и управляющий лиганд).

Биосинтез порфиринов

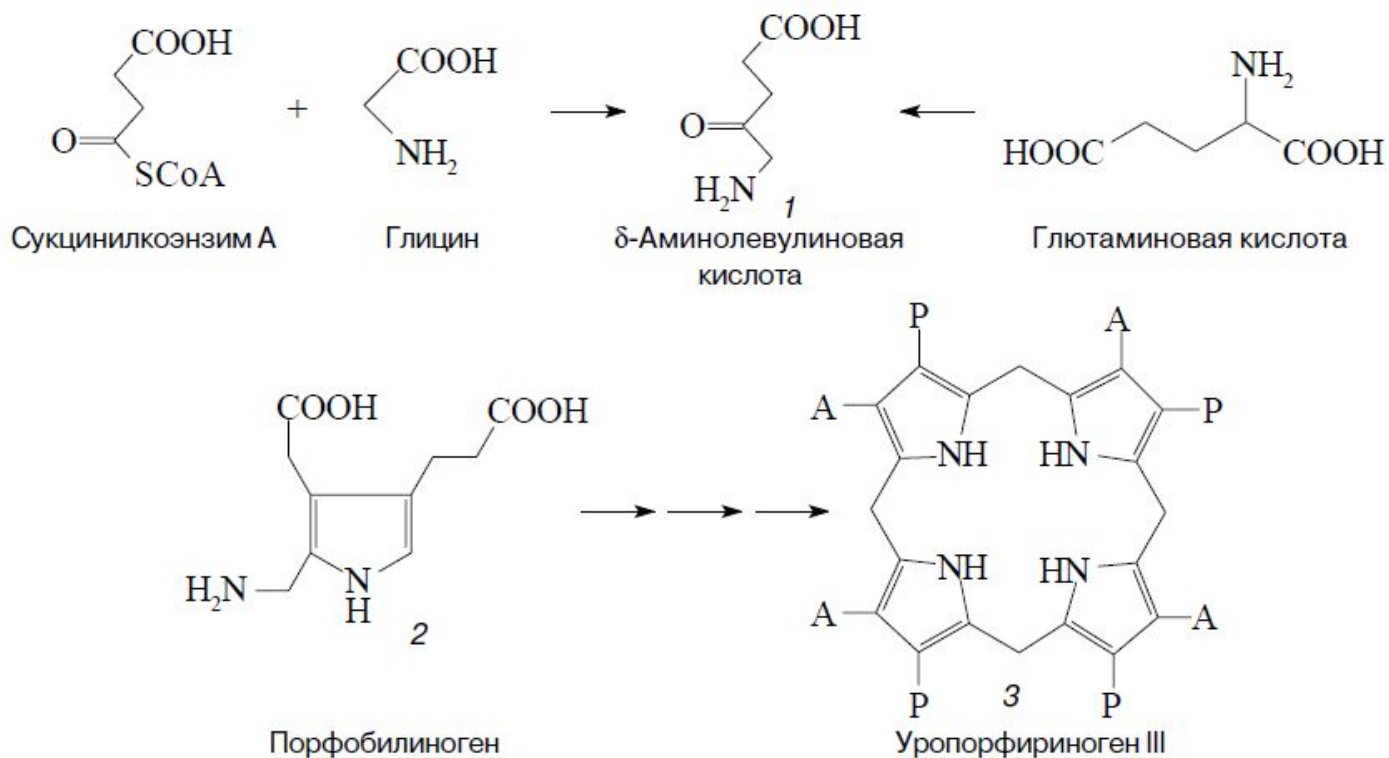


Схема 1. Начальный этап биосинтеза тетрапиррольных пигментов (А и Р – остатки уксусной и пропионовой кислот соответственно)

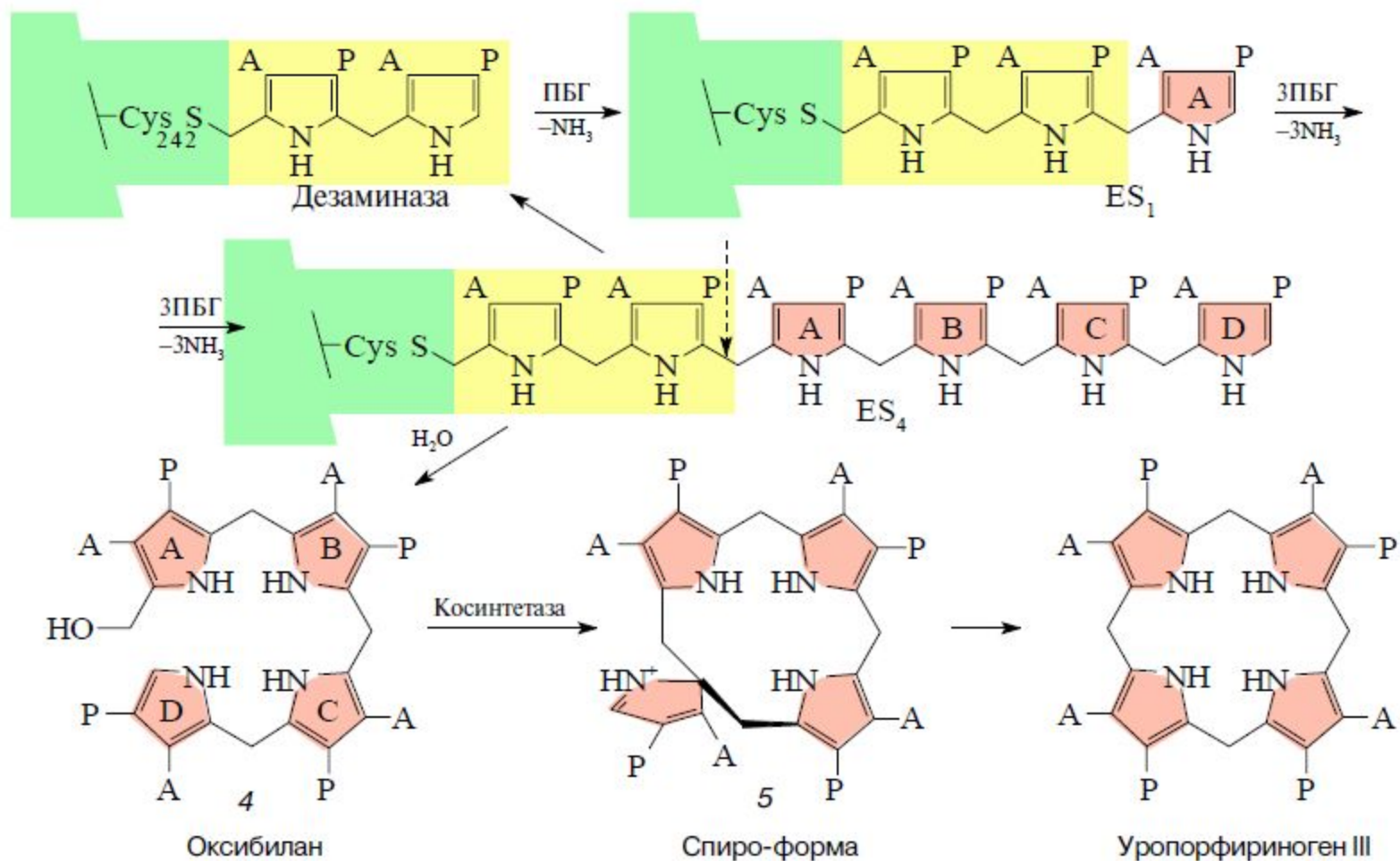


Схема 2. Нарастание полипиррольной цепи на ферменте дезаминаза (E) (показано присоединение одной (ES₁) и четырех (ES₄) молекул ПБГ), отщепление оксибилина и замыкание его в Уро'ген III в присутствии косинтетазы ; обращением кольца D через спиро-соединение

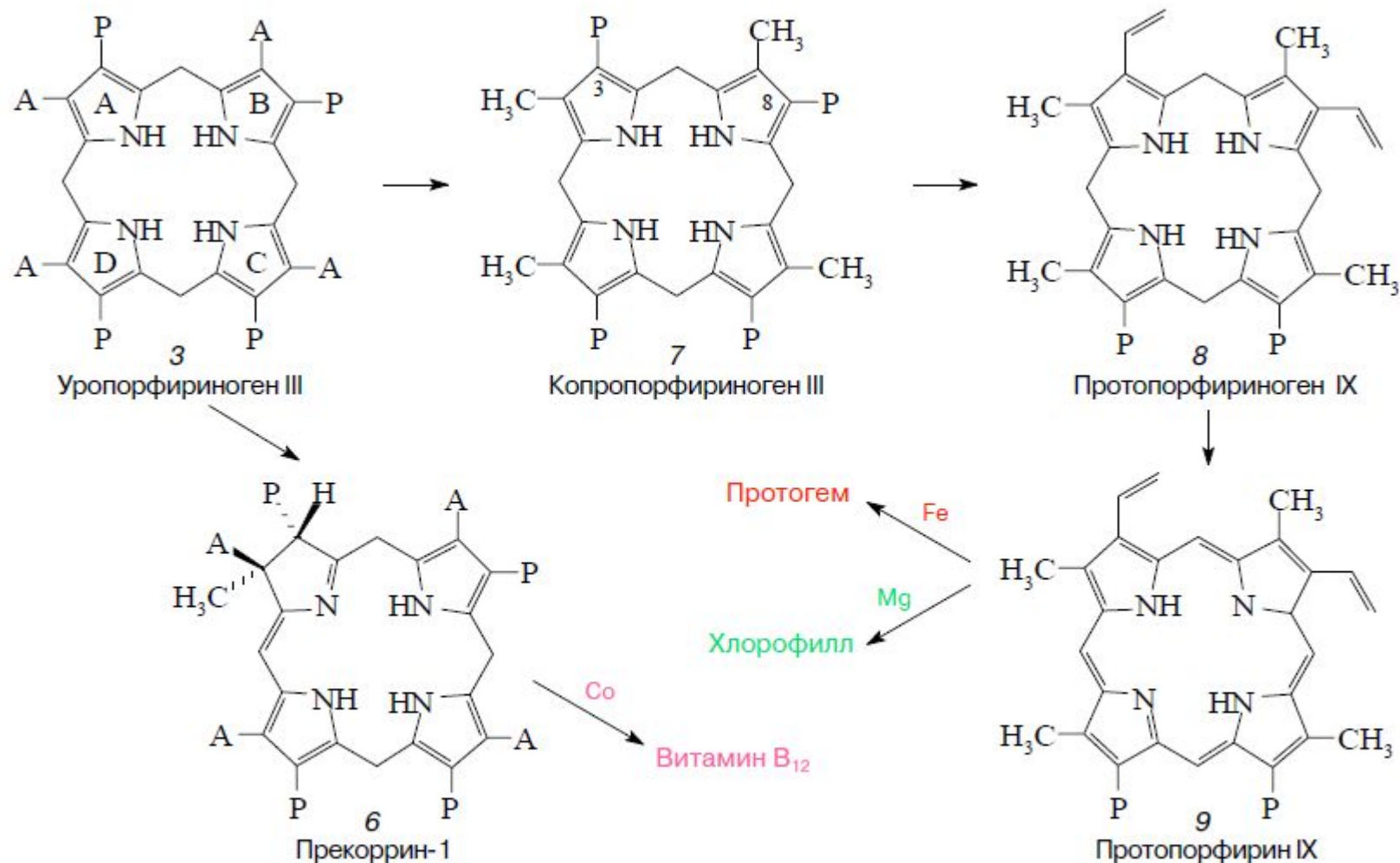
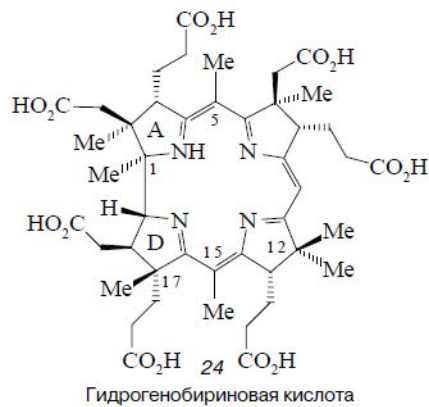
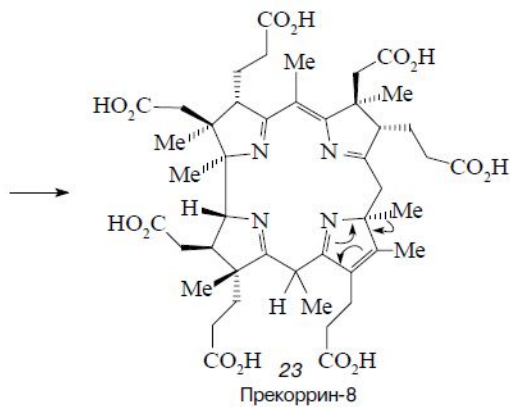
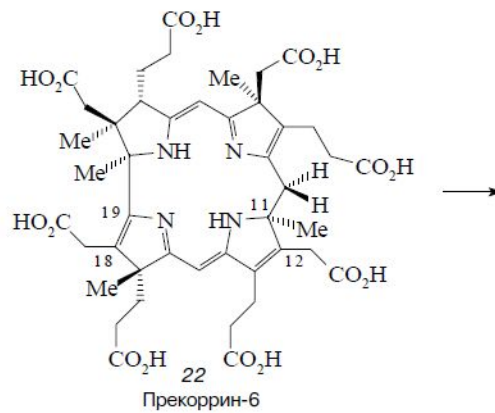
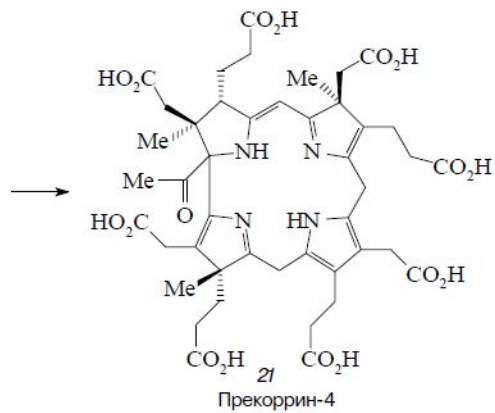
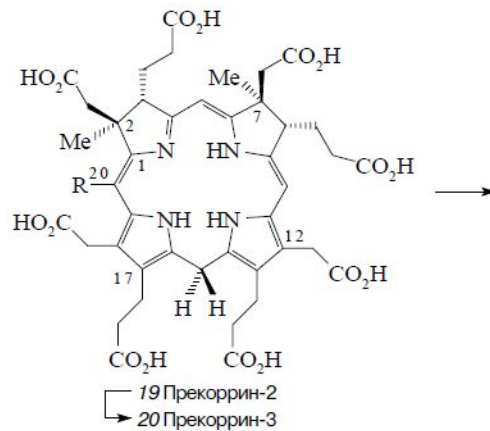
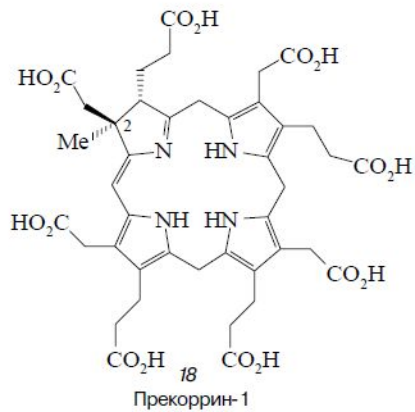
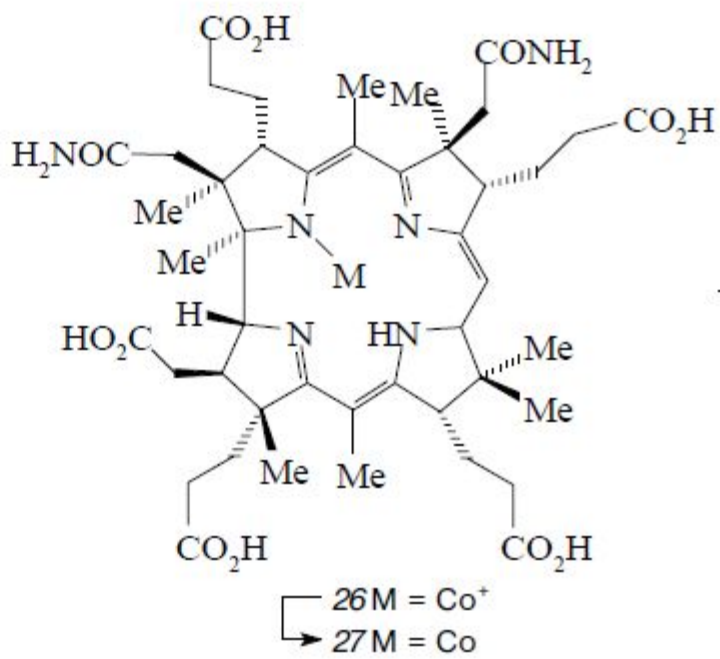
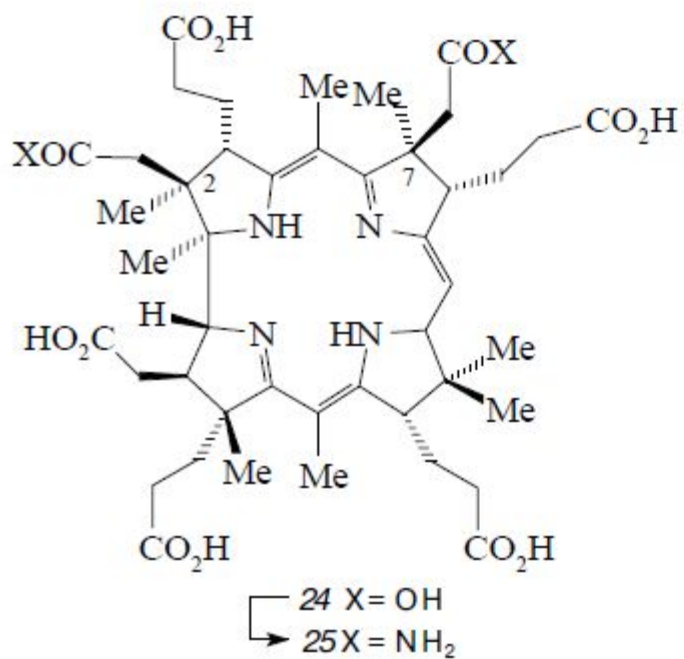
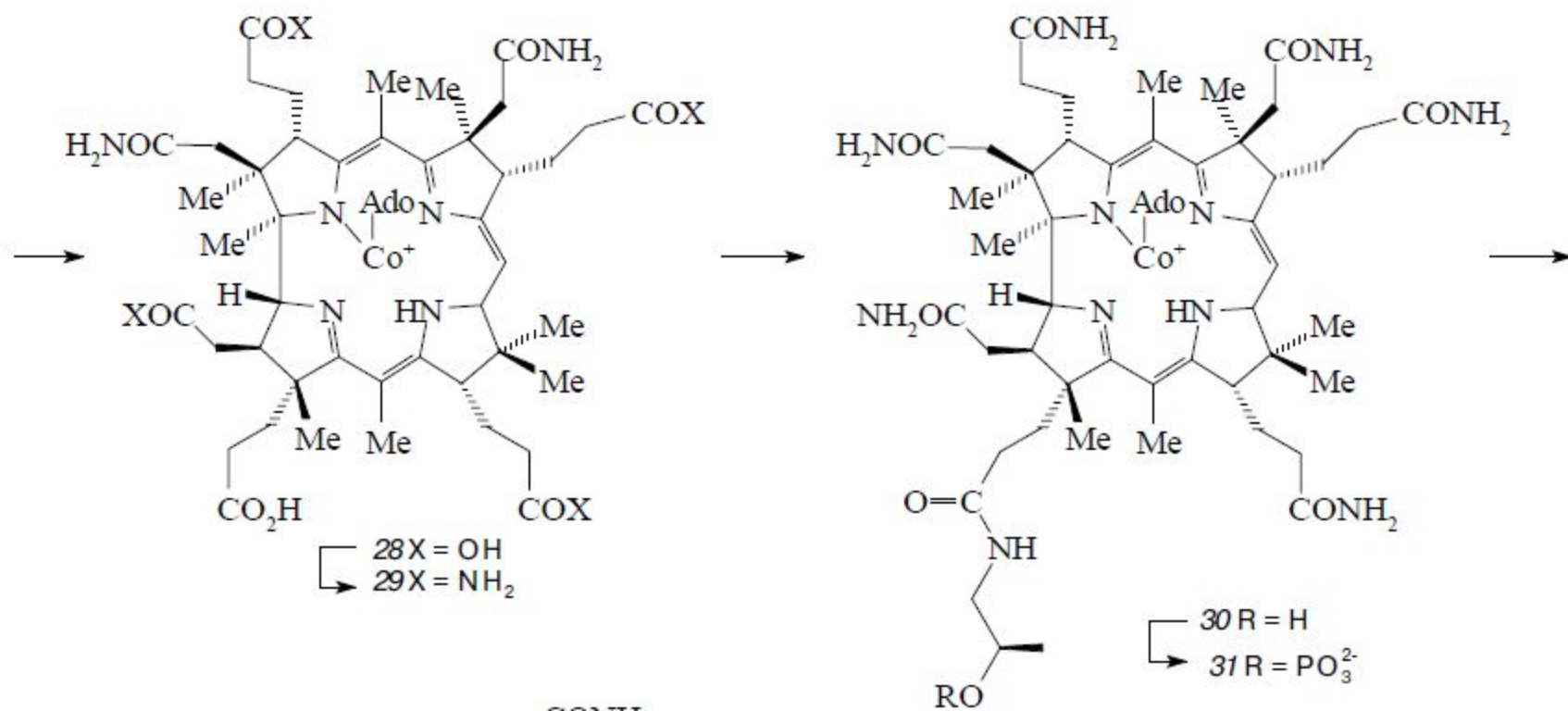
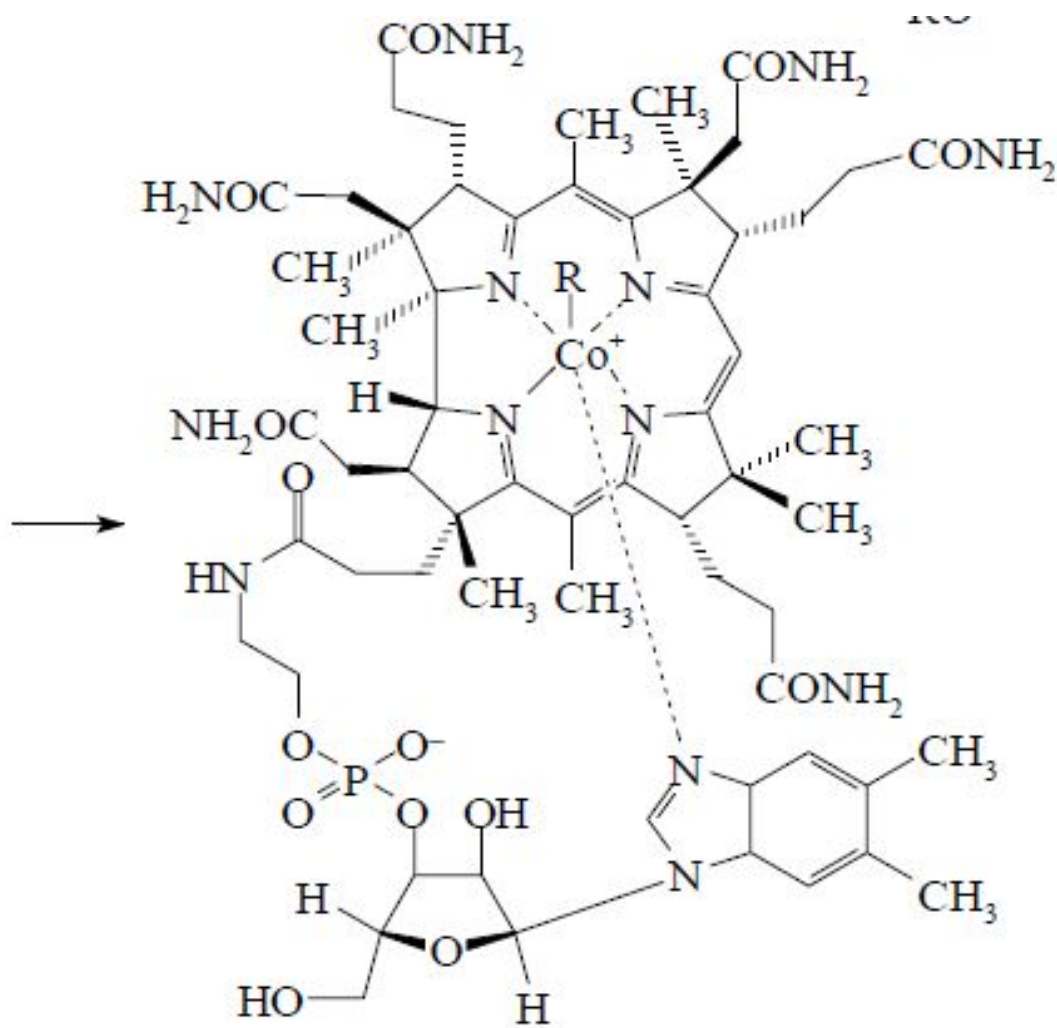


Схема 4. Общая схема образования протопорфирина IX и разветвление путей биосинтеза к зеленым пигментам и кобаламинам









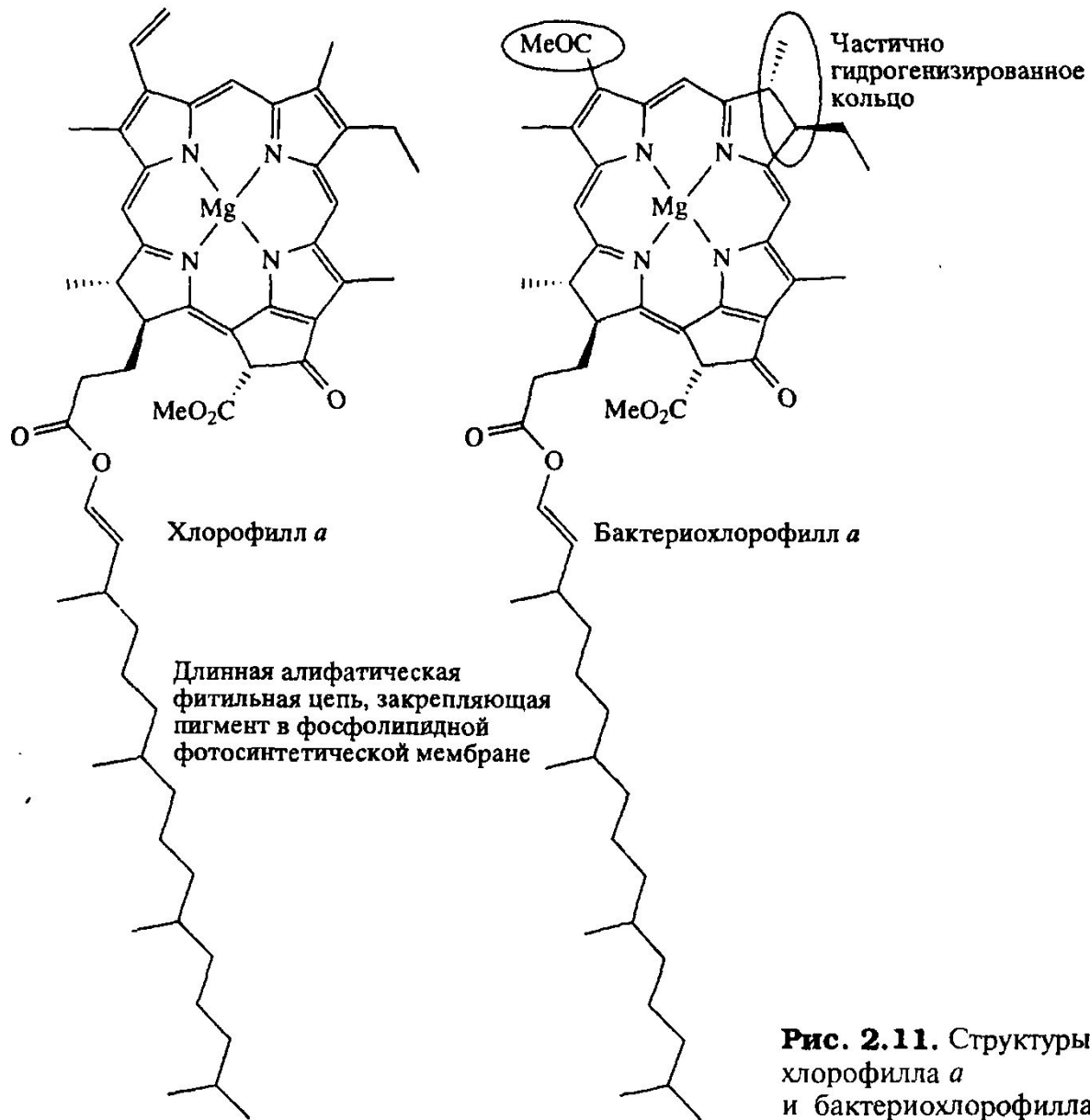
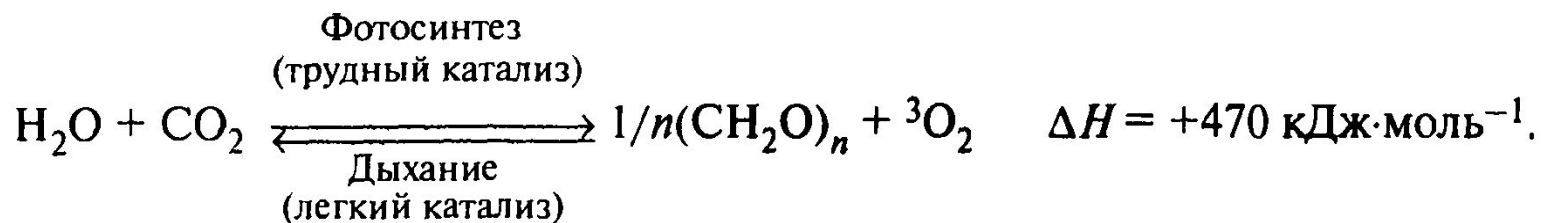


Рис. 2.11. Структуры хлорофилла *a* и бактериохлорофилла *a*



Фотосинтез осуществляется зелеными растениями, а также некоторыми видами бактерий и морских водорослей и, в зависимости от условий, в которых развивается организм, может включать окисление других субстратов, в частности H_2S или H_2 , вместо воды. У зеленых растений производительность фотосинтеза ~ 1 г глюкозы в 1 ч на 1 м² поверхности листьев. Несмотря на сравнительно неэффективное использование доступной энергии излучения (меньше 1%), глобальность цикла, происходящего на Земле, потрясает: каждый год из CO_2 и воды на свету образуется 200 млрд т углеводных эквивалентов (CH_2O)Л. Солнечный свет, достигающий поверхности Земли, включает видимый диапазон длин волн 380—750 нм), однако существует также значительный вклад от света больших длин волн (и потому меньшей энергии) — примерно до 1000 нм. Для эффективного фотосинтетического преобразования света в этом диапазоне энергий требуется множество различных пигментов (световых рецепторов или хромофоров), каждый из которых чувствителен к определенной части спектра. Эти пигменты включают хлорофилл а и бактериохлорофилл а (рис. 2.11), так же как и ряд родственных рецепторов, основанных на тетрапиррольных макроциклах и с гостем, и без гостя. Пигменты расположены в складчатой фотосинтетической мембране с большой площадью поверхности, а потому и с большим сечением захвата фотонов

Хлорофилл содержит полностью сопряженную тетрапиррольную пи-систему

18 пи-электронов) с низкоэнергетическим пи-пи*-переходом.

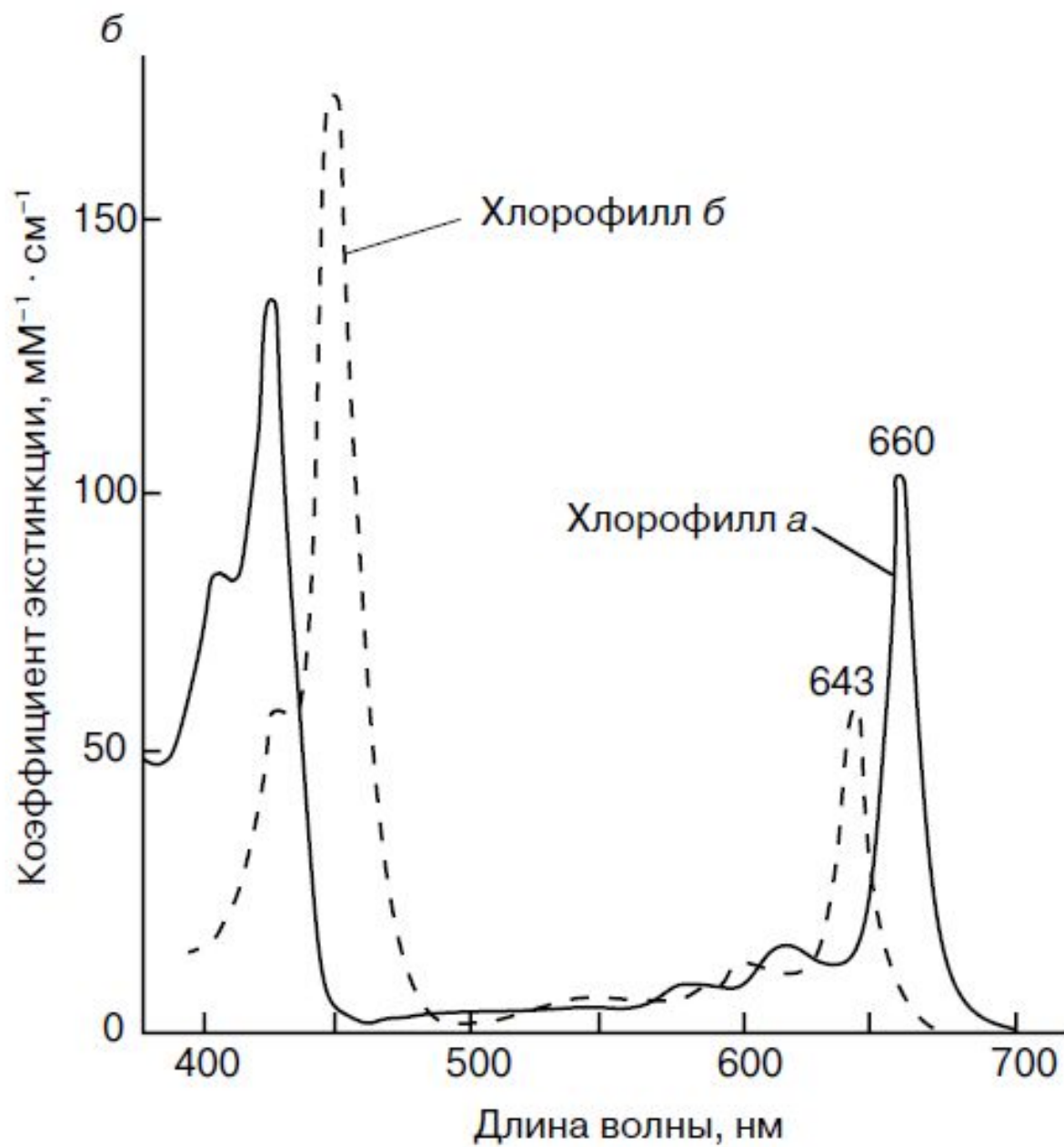
Коэффициент экстинкции велик ($\sim 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$) и на длинноволновом, и на коротковолновом крае спектра.

Комплементарные (дополняющие) цвета — голубой (при коротковолновом поглощении) и желтый (при длинноволновом поглощении) — комбинируются, давая характерный зеленый цвет свежих листьев (λ_{max} 455 и 630 нм). Бактериохлорофиллы

содержат два частично гидрогенизированных пиррольных кольца, и, следовательно, их поглощение сдвинуто в сторону больших длин волн,

достигая Координированный ион Mg^{2+} в хлорофилле играет роль посредника в расположении пигментов. Пигменты пространственно закрепляются в ближней инфракрасной (ИК-) области.

определенном месте с помощью длинной фитильной боковой цепи, глубоко погруженной в фотосинтетическую мембрану. Однако для жесткой фиксации пигментов два свободных аксиальных центра октаэдрического Mg^{2+} связываются с полипептидными боковыми цепями лигандов, приводя к трехточечному закреплению пигментов и, следовательно, к четко определенной пространственной ориентации.



Было установлено, что система “легко возбудимых” сопряженных связей порфиринового кольца обуславливает высокую способность хлорофилла к поглощению света. Так, миллиметровый слой 1 мМ раствора хлорофилла поглощает около 90% падающего на него красного или синего света (зеленый свет поглощается менее эффективно, что и определяет зеленый цвет растений). Для хлорофилла, как и для других пигментов, характерно относительно длительное время, около 10^{-8} сек, нахождения в возбужденном состоянии, что важно для участия хлорофилла в фотохимических реакциях. У многих других пигментов, например, у производных хлорофилла, у которых центральный атом магния заменен на медь или марганец, это время гораздо ниже вследствие чрезвычайно быстрого перехода энергии электронного возбуждения в тепло.

Почему именно магний?

- большое распространение в природе (соответствующее этой некаталитической «объемной» функции);
- недостаток окислительно-восстановительной активности (окислительно-восстановительная активность металла несовместима с межпигментной передачей электронов);
- сильная тенденция к гексакоординации;
- подходящие ионные радиусы;
- небольшая константа спаривания спин-орбиталей (в результате спин-орбитального взаимодействия путем интеркомбинационного перехода образуются долгоживущие триплетные возбужденные состояния, что приводит к процессам выделения света и тепла, конкурирующим с химическими реакциями).

