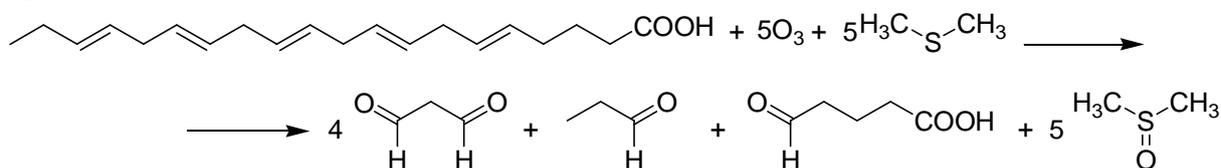


Задача 23. Необычные пути окисления жирных кислот: перекисное окисление

Решение

1.



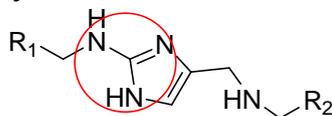
2. Поскольку соединение **X** образуется при восстановительном озоноллизе ПНЖК, оно содержит только углерод, водород и кислород, а значит, все четыре атома азота, входящие в состав соединительного фрагмента, происходят из боковых радикалов двух аминокислот (боковых – потому что во фрагмент никак нельзя вписать пептидные связи -NH-CO-).

Существуют шесть канонических аминокислот, содержащих азот в составе радикала: аспарагин, глутамин, лизин, гистидин, аргинин и триптофан.

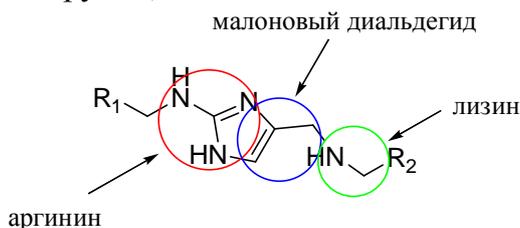
Триптофан вписать в представленный фрагмент не представляется возможным. Глутамин и аспарагин отпадают по той же причине, что и пептидные связи, так как фрагмент не содержит СО-групп, непосредственно связанных с атомами азота и радикалами R_1 и R_2 (восстановление амида до амина в условиях неферментативной реакции с малоновым диальдегидом невозможно).

Если предположить, что одна из этих аминокислот гистидин (имидазольный фрагмент достаточно легко видеть в составе шивки), то, во-первых, абсолютно непонятно, куда собственно включилось соединение **X** (должно содержать не или три или пять атомов углерода), а во-вторых, невозможно объяснить природу оставшихся двух атомов азота, разобщенных имидазольной группой.

В рассмотрении остаются две аминокислоты: лизин и аргинин и, соответственно, 2 возможные комбинации с их участием: Arg-Arg и Arg-Lys (Lys-Lys отпадает, так как включает в шивку только два атома азота). Тогда одной из канонических аминокислот, участвующих в формировании представленного фрагмента модифицированного белка, является аргинин, гуанидиновая группа которого определяется в составе шивки согласно приведенному рисунку:

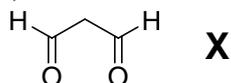


Оставшийся атом азот может принадлежать только лизину, так как он связан с двумя CH_2 -группами (в противном случае для второго аргинина хотя бы частично обнаруживалась гуанидиновая группа). В итоге:

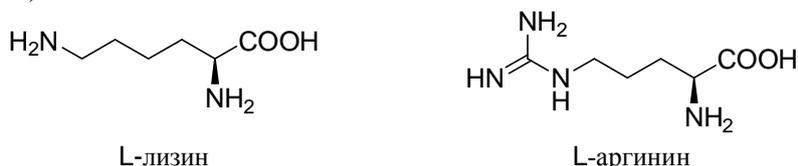


X однозначно соответствует малоновому диальдегиду – позиция его трех атомов углерода показана на представленном выше рисунке. При этом второй продукт, полученный при озоноллизе тимнодоновой кислоты и содержащий столько же атомов угле-

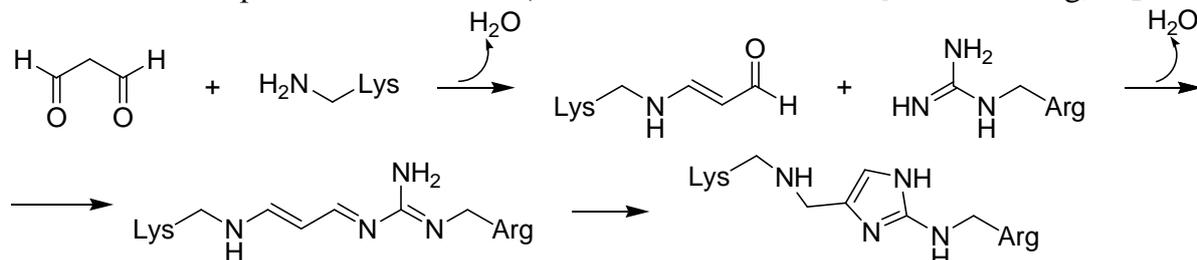
рода, – пропаналь не подходит на роль **X**, так как, во-первых, он не может образовываться при перекисном окислении большинства ПНЖК, а во-вторых, невозможно предложить механизм его участия в формировании сшивки (проще говоря, одной карбонильной группы недостаточно).



Структуры L-лизина и L-аргинина (L – потому что аминокислотные остатки входят в состав белка):



3. Механизм образования сшивки (для большей ясности R_1 заменен Arg, R_2 – Lys):

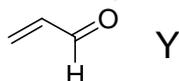


4. Исходя из формулы лизина, его аддукт с соединением **Y** содержит на шесть атомов углерода больше, чем исходная каноническая аминокислота. Молекула **Y** содержит три атома углерода (столько же, сколько и **X**), а значит, при образовании FDP-лизина происходит присоединение к остатку лизина двух молекул **Y**.

Так как образование остатка FDP-лизина сопровождается выделением эквимольного количества воды, то брутто-формула соединения **Y**:

$$\mathbf{Y} = (\text{FDP-лизин} - \text{лизин} + \text{H}_2\text{O})/2 = (\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{N}_2 - \text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_2\text{N}_2 + \text{H}_2\text{O})/2 = \text{C}_3\text{H}_4\text{O}.$$

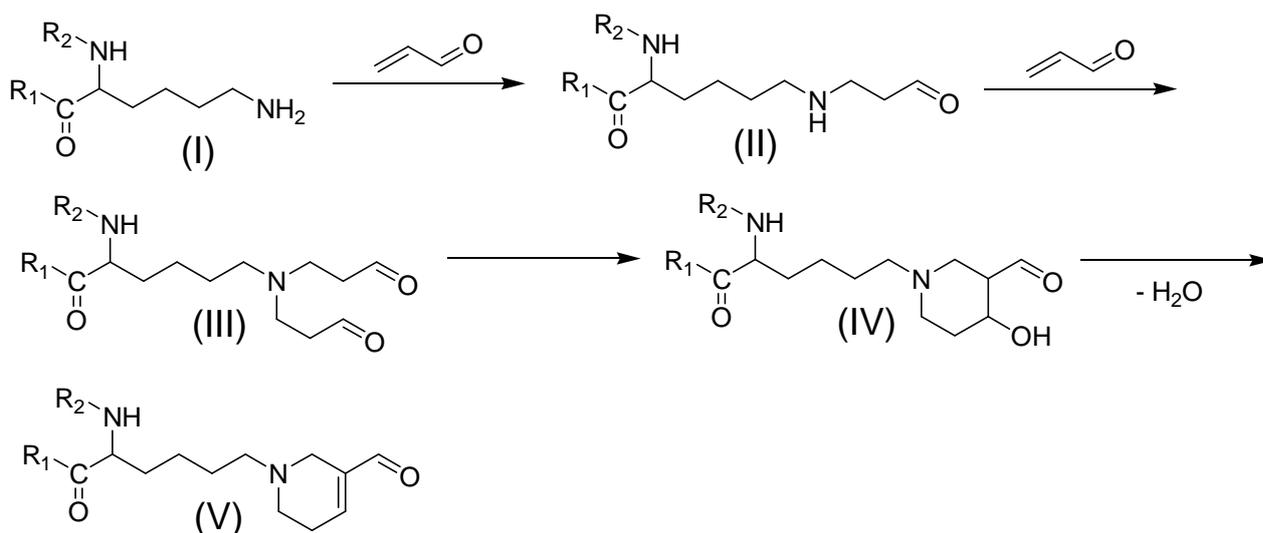
Y, исходя из структуры FDP-лизина, содержащего карбонильную группу, является альдегидом (собственно то, что в ходе перекисного окисления липидов образуются альдегиды, было показано в вопросе 1). Тогда **Y** – это акролеин (радикал C_2H_3 , присоединенный к карбонилу, – это только винил).



Для также отвечающего формуле $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}$ метилкетена $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{C}=\text{O}$ невозможно предложить механизм образования FDP-лизина, учитывая химические свойства этого класса соединений (так, FDP-лизин не содержит метильных групп, которые обязательно бы имелись в составе аддукта в таком случае).

5.

На первом этапе происходит нуклеофильное присоединение свободной ϵ -аминогруппы остатка лизина **I** (α -аминогруппа участвует в образовании пептидной связи) к двойной связи (C-3) акролеина с образованием производного вторичного амина (**II**) и сохранением карбонильной группы. Интермедиат **II** взаимодействует со второй молекулой акролеина по реакции Михаэля с образованием **III**, который в результате альдольной конденсации превращается в **IV**, что в ходе последующей дегидратации (кетоновая конденсация) приводит к аминокислотному остатку FDP-лизина (**V**).



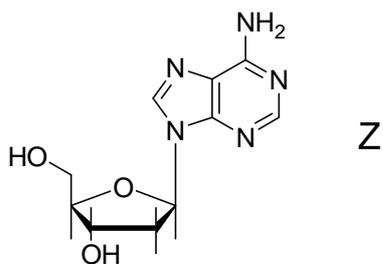
На первом этапе происходит нуклеофильное присоединение свободной ϵ -аминогруппы остатка лизина **I** (α -аминогруппа участвует в образовании пептидной связи) к двойной связи (С-3) акролеина с образованием производного вторичного амина (**II**) и сохранением карбонильной группы. Интермедиат **II** взаимодействует со второй молекулой акролеина по реакции Михаэля с образованием **III**, который в результате альдольной конденсации превращается в **IV**. Последующая дегидратация (суммарно – кротоновая конденсация) **IV** приводит к аминокислотному остатку FDP-лизина (**V**).

6. Оба пика в масс-спектре **Z1** соответствуют монопротонированным фрагментам. Определим, потерей какого фрагмента нуклеозида обусловлен пик с меньшим отношением m/z , т.е. найдем разницу $307 - 191 = 116$. С учетом строения нуклеозида подобную массу имеет остаток дезоксирибозы, т.е. происходит фрагментация по наиболее уязвимой N-гликозидной связи (остаток рибозы и традиционные азотистые основания имеют иные молекулярные массы). Следовательно, **Z** – дезоксирибонуклеозид, входящий в состав ДНК.

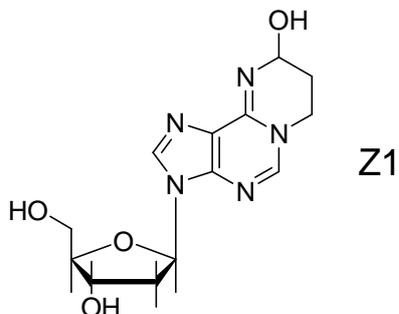
Тогда второй компонент **Z1**, азотистое основание, имеет молекулярную массу 191. В виду интактности остатка дезоксирибозы (согласно FAB-MS), соединение **Y** модифицирует традиционное азотистое основание в составе **Z**, для определения которого составим следующую таблицу (учтите, что **Z1** – единственный продукт реакции акролеина и нуклеозида **Y**).

Количество остатков (N) акролеина (молекулярная масса 56) в составе аддукта	1	2	3
Молекулярная масса азотистого основания в составе Z ($191 - N \cdot 56$)	135	79	23

Подходит один вариант – азотистое основание аденин ($M=135$, $N=1$). Отсюда **Z** – дезоксиаденозин:



7. Указанный в условии фрагмент может быть вписан в молекулу дезоксиаденозина только одним способом:



Следует заметить, что так как вещества реагируют в эквимольных количествах, то никаких других модификаций азотистого основания, помимо той, что изображена в условии, более невозможно.