

***Copyright* Stefan E. Boiadjev, PhD**
© 2018

27. Хидроксиди- и хидрокситрикарбоксилни киселини. Оксо-, алдехид- и поликарбоксилни киселини. Участници в цикъла на Кребс. Пирогроздена, оксалоцетна, винена и лимонена киселини. Кетонно, естерно и киселинно разпадане на алкилацетацетати (ретро-Клайзен).

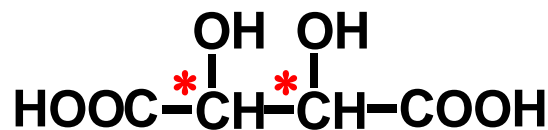
Характеристика: Съдържат повече от една –ОН и –СООН групи или С=О и –СООН групи.

Разнообразието им е огромно, но ще опишем само най-важните и разпространени в природата представители.

Тривиалните наименования са по-удобни и все още се употребяват повсеместно.

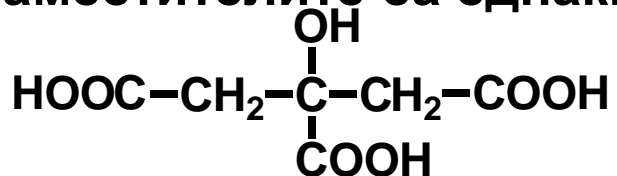


хидроксипутандиова к-на
ябълчена
малат

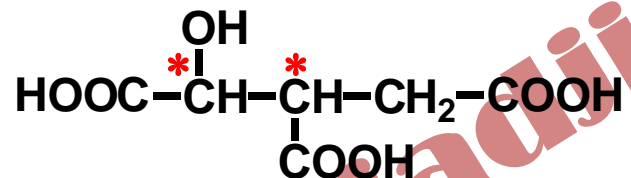


2,3-дихидроксипутандиова к-на
винена
тартарат

В лимонената к-на няма стереогенен център защото два от заместителите са еднакви.



3-карбокси-3-хидроксипентандиова к-на
лимонена; **цитрат**

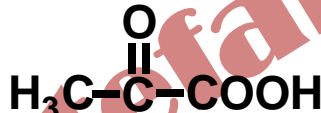


3-карбокси-2-хидроксипентандиова к-на
изолимонена; **изоцитрат**

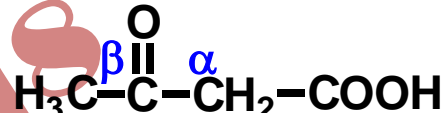
Наименования на алдехид- и кетокарбоксилни к-ни – с **представка формил- или оксо-**, когато присъства по-старша група, като –COOH.



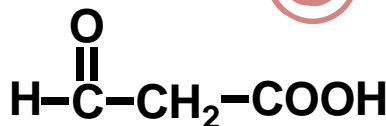
оксоетанова к-на;
глиоксалова
глиоксалат



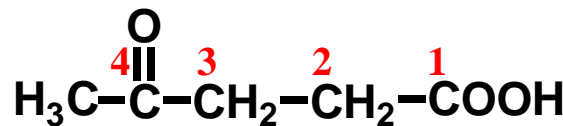
2-оксопропанова к-на
пирогроздена
пируват



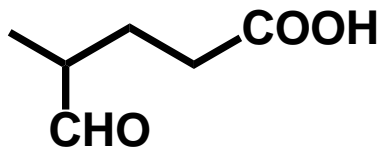
3-оксобутанова к-на
ацетоцетна
ацетацетат



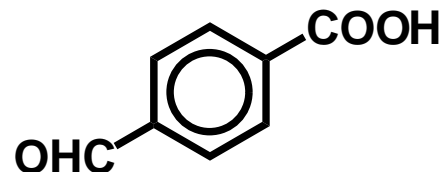
3-оксопропанова к-на
формиоцетна



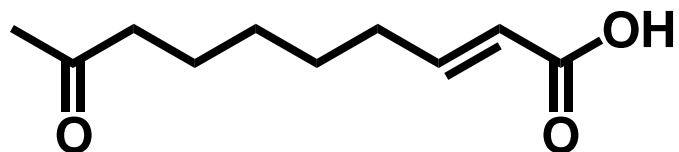
4-оксопентанова к-на
левулинова



4-формилпентанова
киселина



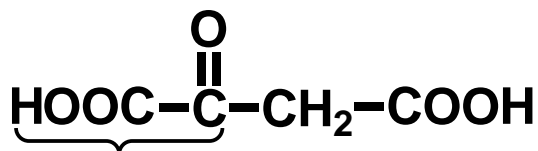
4-формилбензоена
киселина



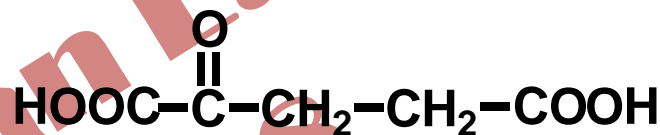
(E)-9-оксодек-2-енова к-на

Феромон в медоносните пчели, който е един от факторите за привързаността на пчелите-работници към кралицата.

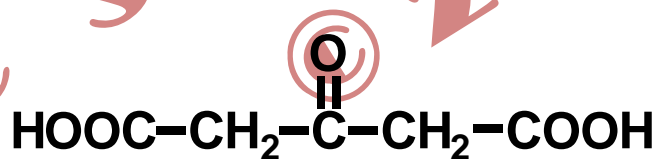
Наименования на оксодикарбоксилни киселини



2-оксобутандиова к-на
оксалоцетна



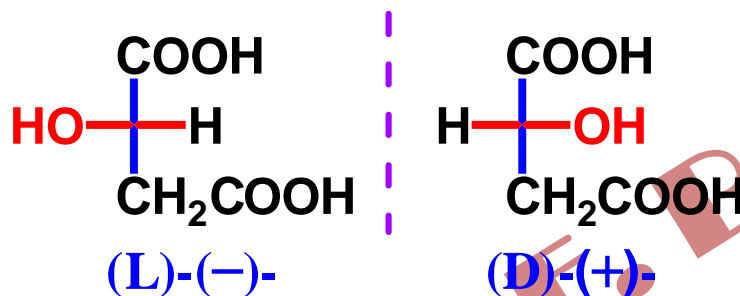
2-оксопентандиова к-на
 α -кетоглутарова



3-оксопентандиова к-на
ацетондикарбоксилна к-на

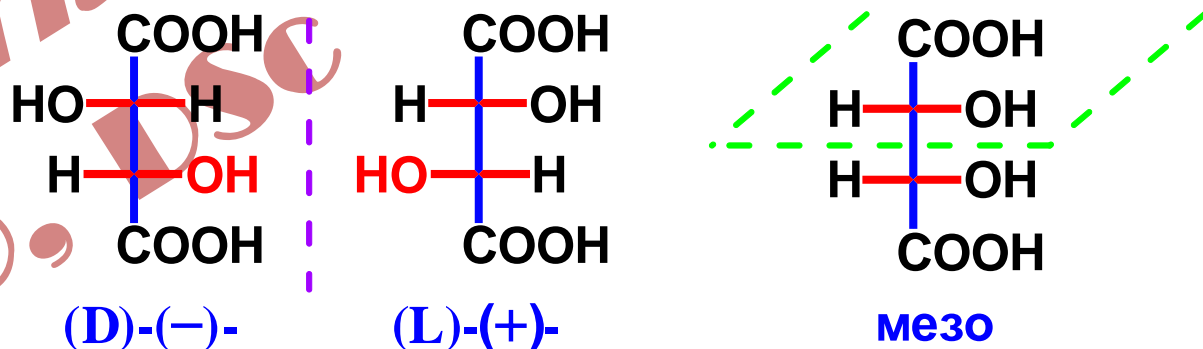
Стереизомери

Ябълчената к-на, подобно на млечната, има един хирален С атом и съществува като **два енантиомера**.



Винената к-на има два хирални центъра и теоретично трябва да формира 4 стереоизомера (**брой стереоизомери = 2ⁿ**, n е броят хирални елементи). Поради наличие на молекулна равнина на симетрия, един от тях е идентичен с огледалния си образ.

Зато винената к-на съществува в **три стереоизомерни форми** – два енантиомера, D- и L- , и техен оптично неактивен мезо-диастереоизомер.





Недостатък на L-/D- системата: Означението описва конфигурацията само на един, най-отдалечения от най-окислената група във Фишера проекция, хирален С атом. Конфигурацията на останалите се запаметява, но системата е все още валидна за въглехидрати, за които е била създадена.

Отбележете! Няма никаква връзка между означението на конфигурацията **L-** или **D-** и знака на оптичното въртене **(+)** или **(-)**.

Ябълчена киселина Природен е L-(-)-енантиомерът. Той се среща в кисели плодове (вишни, ябълки, грозде), в плодови сокове и в кисела, тръпчива храна. Нейна сол и естер се нарича **малат** (да не се обърква с малеат, от малеинова киселина).

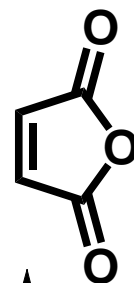
Химични превръщания на ябълчена киселина:

Стрелката сочи посоката на биохимичните редокс реакции

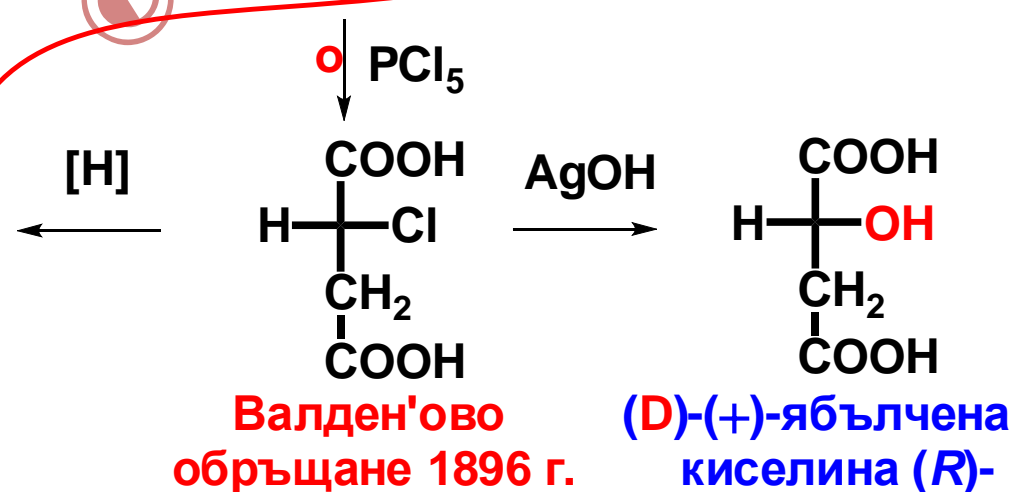
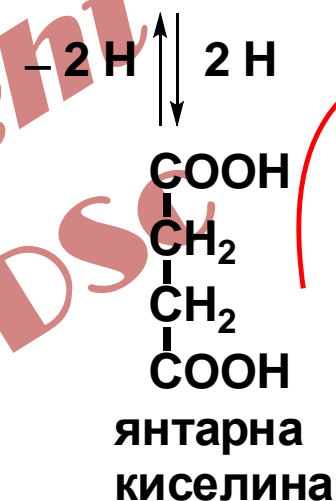
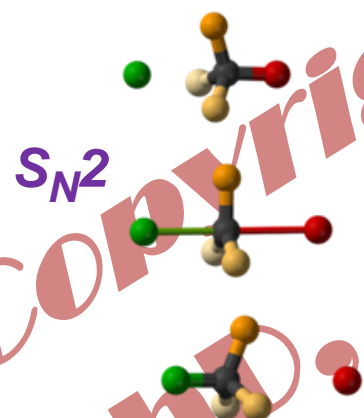
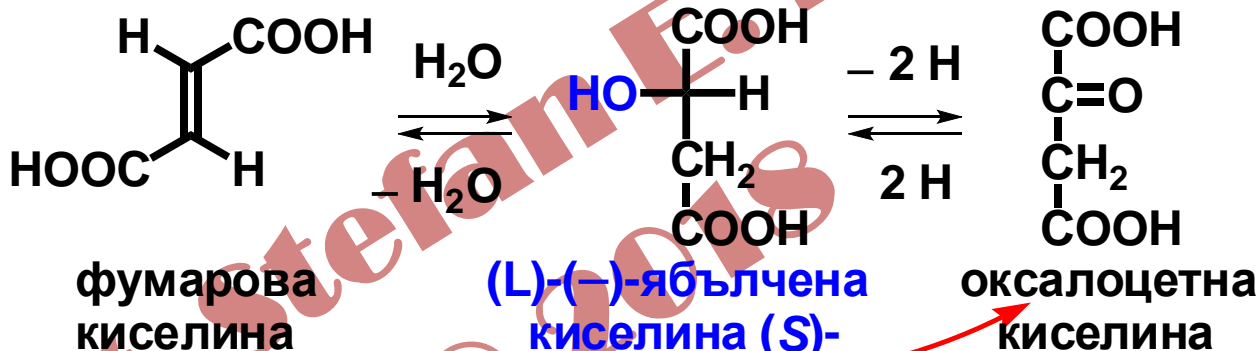
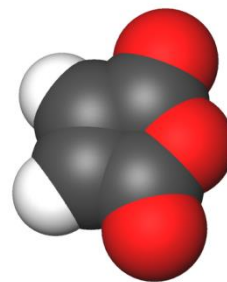
сукцинат / фумарат

фумарат / малат

малат / оксалацетат в цикъла на Кребс.



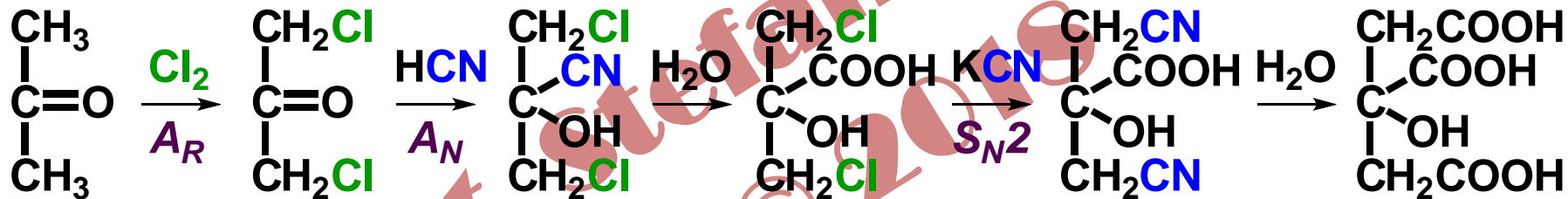
малеинов анхидрид



Лимонена киселина (сол и естер – цитрат)

Серия биохимични реакции носят нейното име – цикъл на Кребс или цикъл на лимонената киселина или цикъл на трикарбоксилните киселини.

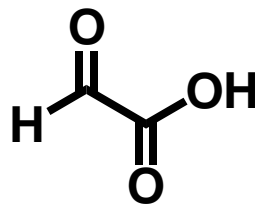
Структурата на лимонената киселина е била доказана чрез синтез от ацетон, след двойно α -хлориране, A_N към $C=O$ на CN^- , хидролиза, S_N2 с CN^- и отново хидролиза на нитрилите.



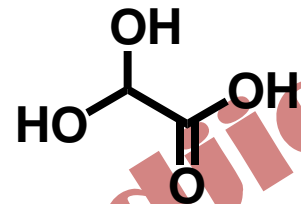
Тя се добавя като „лимонтозу“ към храни, напитки и фармацевтични препарати.

Оксомонокрбоксилни киселини

Глиоксалова (глиоксалат);
оксоетанова киселина



глиоксалова к-на



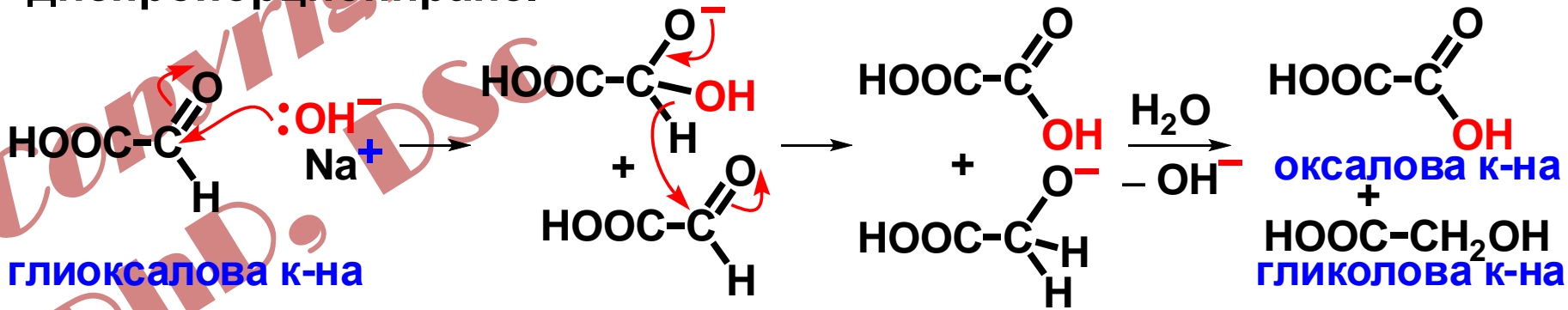
хидрат

Силна киселина поради **-I ефект** на $-CHO$ групата. Поради същия ефект от страна на $-COOH$, стабилната форма е хидрат от A_N присъединяване на вода към $-CHO$.

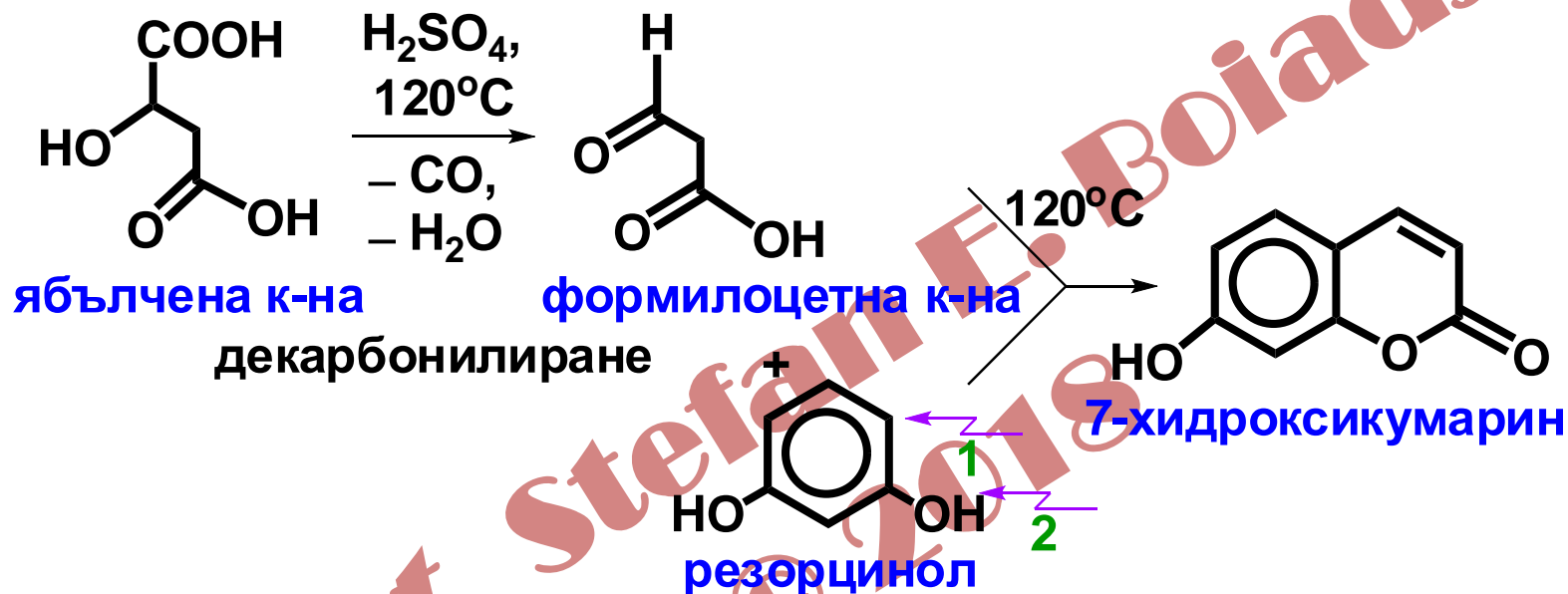
Съединението се среща в кисели зелени плодове, ябълки, грозде и др., но изчезва след узряването им.

Глиоксалатът участва като междинно съединение в глиоксалатния цикъл в бактерии, плесени и растения, който превръща мастни киселини във въглехидрати.

В алкална среда претърпява реакция на Каницаро – диспропорциониране.



Формилоцетна киселина Тя не съществува в природата. Дори нейните естери са нестабилни. Може да се образува *in situ*, например от ябълчена киселина и да се използва в синтез.



Показаната циклизация (по Pechmann) до производно на кумарин протича през: 1) $\text{S}_{\text{E}}\text{Ar}$; 2) $\text{A}_{\text{N}}\text{-E}$ (до естер); $-\text{H}_2\text{O}$.

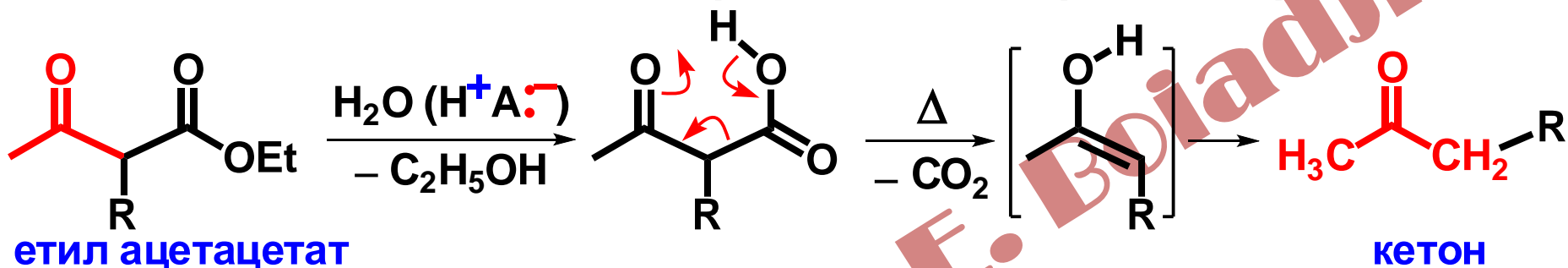
Пируватът е важна пресечна точка на няколко метаболитни пътища.

Съединението се получава метаболитно от глюкоза (от 1 мол – 2 мола в 10 стадия) чрез **гликолиза** (както аеробна, така и анаеробна). Пируватът влиза в **цикъла на Кребс** (на лимонената киселина) чрез ацетилСоА. По-нататъшното окисление дава редуцираните коензими NADH и FADH₂, които се използват в синтез на АТР. От АТР се предоставя енергия на клетките в аеробни организми.

Пируват може да се превърне във въглехидрати, в мастни киселини или в енергия, като се използва ацетилСоА влизащ в цикъла на Кребс, и до аланин и етанол.

Ацетоцетна киселина; 3-оксобутанова киселина (сол, естер – ацетацетат)

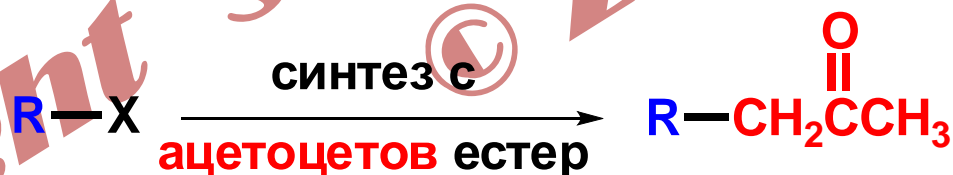
Киселината е нестабилна и термично се декарбоксилира.



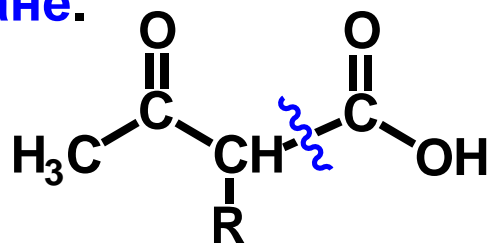
Именно това свойство се използва в „синтез с ацетацетат“.

Солите и естерите са стабилни.

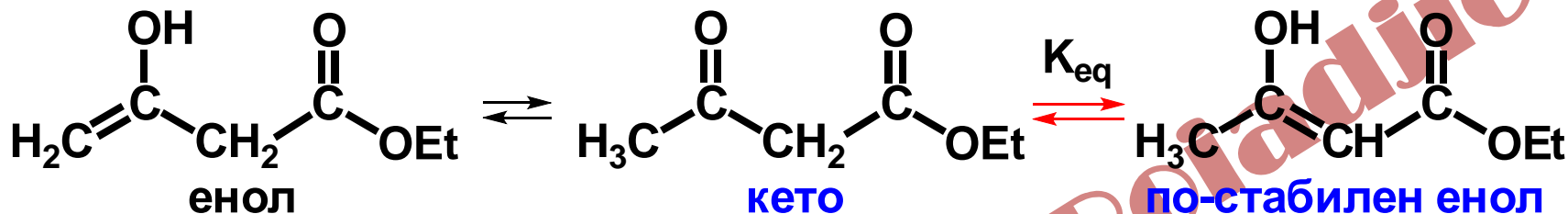
По същество «ацетоцетен синтез» е удължаване веригата в алкил- или ацилхалогенид с $-\text{CH}_2\text{COCH}_3$ или с $-\text{CHR}\text{COCH}_3$.



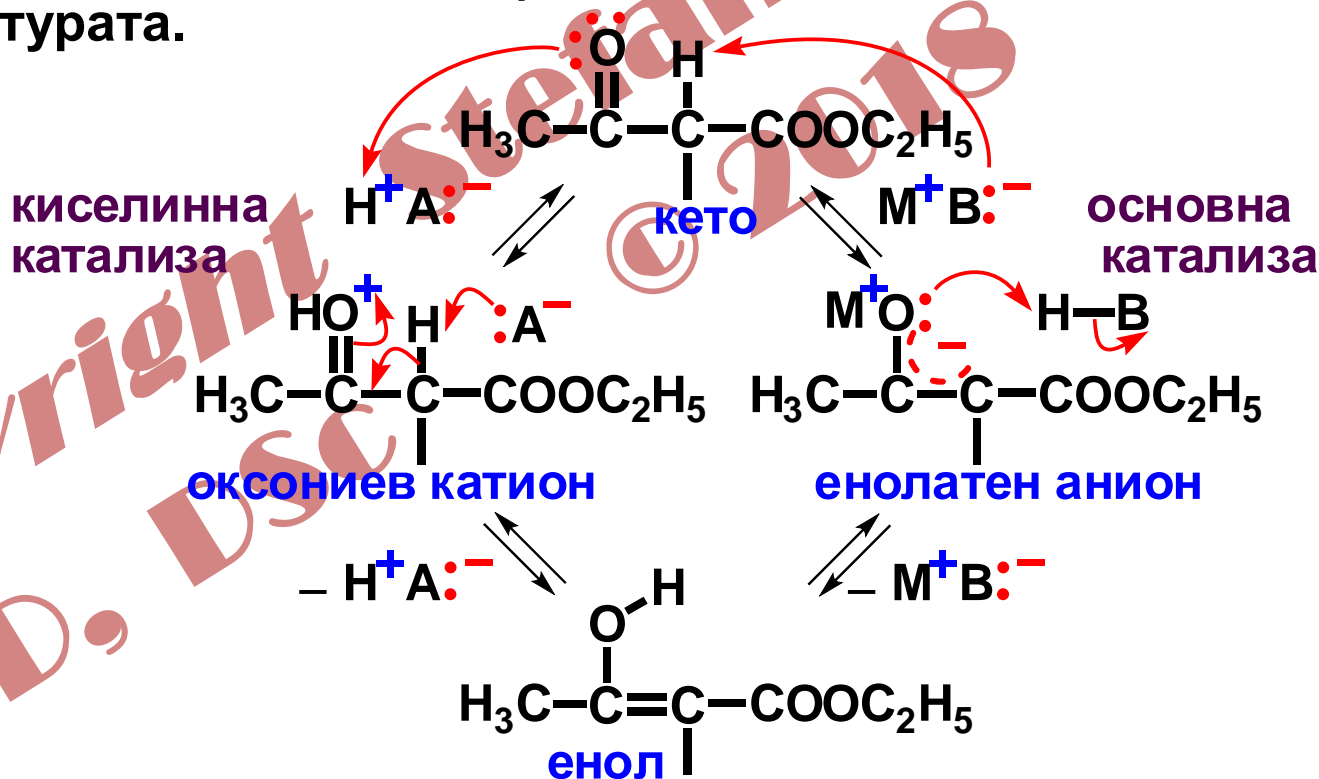
Преобразуването на междинния β -кетоестер в желания кетон се нарича **кетонно разпадане**.



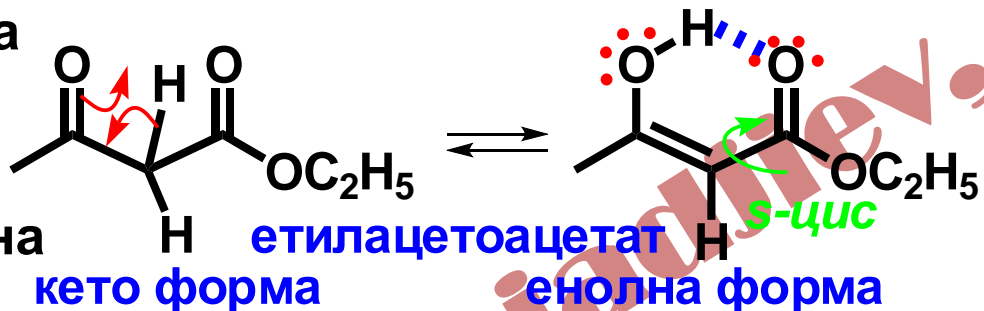
Етил ацетацетатът е най-типичният, класически, пример за кето-енолна тавтомерия (прототропна изомерия).



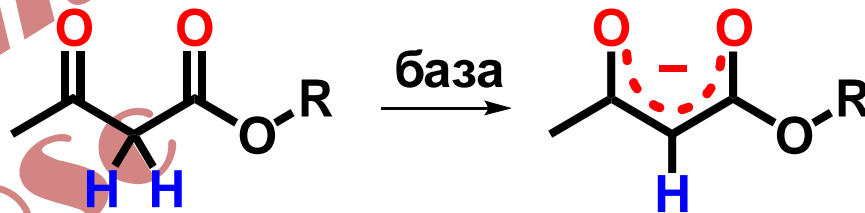
Тавтомерното превръщане се катализира както от киселини (ляво), така и от основи (дясно). Двете форми присъстват винаги и тяхното съотношение, K_{eq} , зависи от разтворителя и температурата.



По-стабилна е енолната форма на етил ацетацетат с делокализирана π -система и с вътрешномолекулулна водородна връзка, в 6-атомен пръстен, реализирана в *s*-цис конформация.

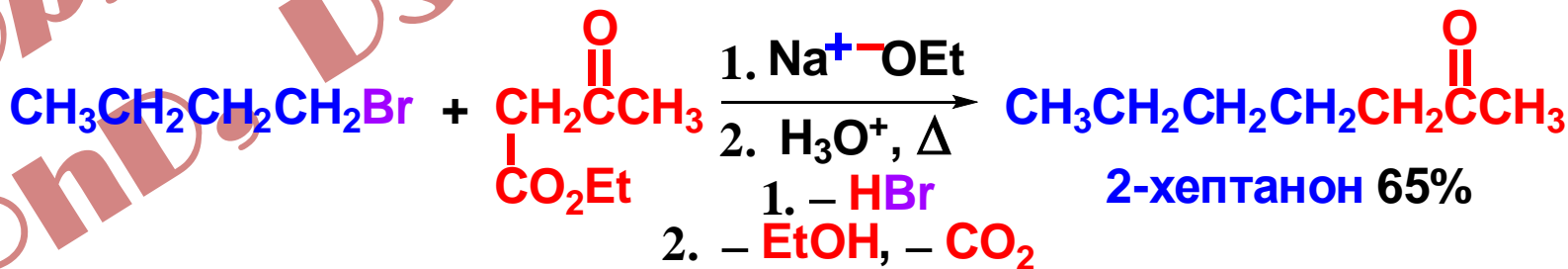
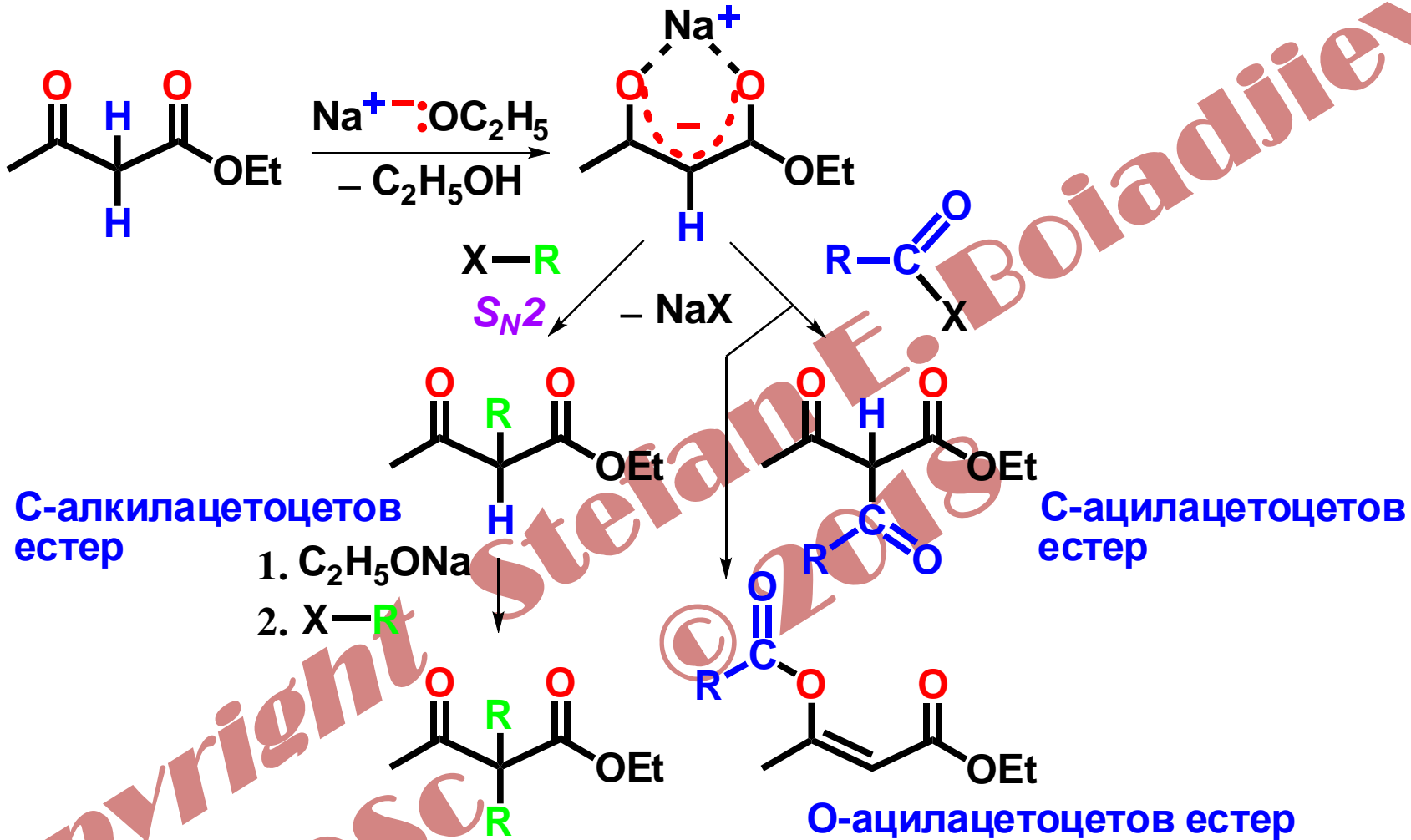


Първична причина за класическия успех на «ацетацетния синтез» е C-H киселинността на двойно активираната $-\text{CH}_2-$ група (α - към две $\text{C}=\text{O}$). Дори сравнително слаби основи могат да депротонират тази CH_2 група и полученият енолатен анион е стабилизиран чрез делокализация.

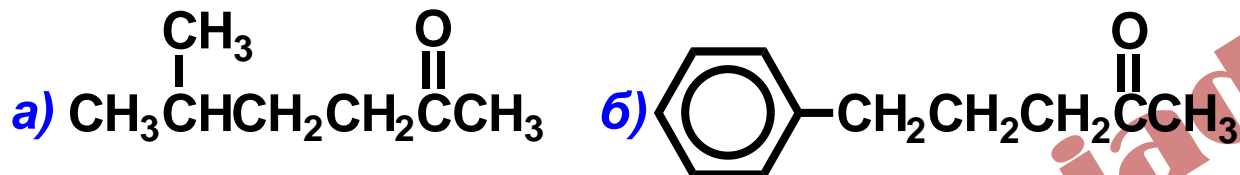


Веднъж получен, амбидентният анион (отрицателен заряд на C или на O) може да бъде алкилиран, ацилиран, да се присъедини по Михаел и да се преобразува по друг начин.

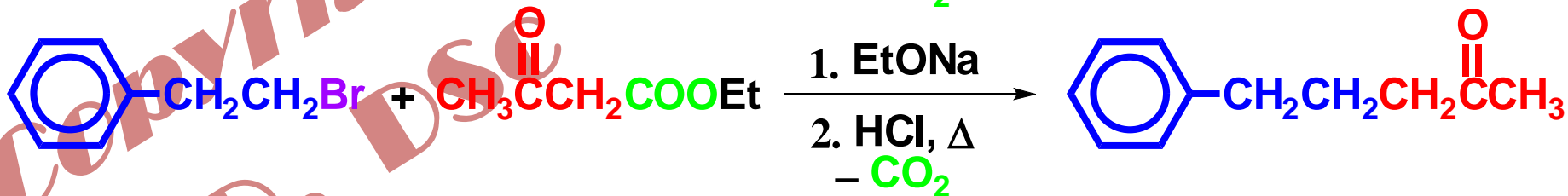
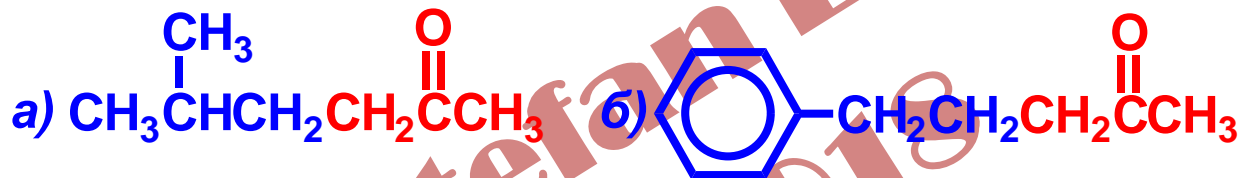
Реактантност на аниона от етил ацетацетат и конкретен пример:



Кои алкилхалогениди бихте използвали за получаване на кетоните чрез «ацетацетен синтез»?



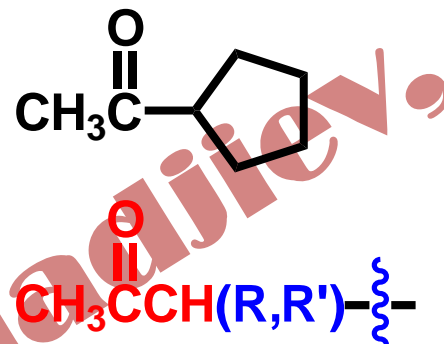
Първо се идентифицира фрагментът $-\text{CH}_2\text{COCH}_3$, който се внедрява от етил ацетацетата. Останалата част от кетонната молекула принадлежи на изходния алкилхалогенид.



Отговори: а) изопропилйодид или бромид;
 б) (2-бромоетил)бензен, или (2-йодоетил)бензен.

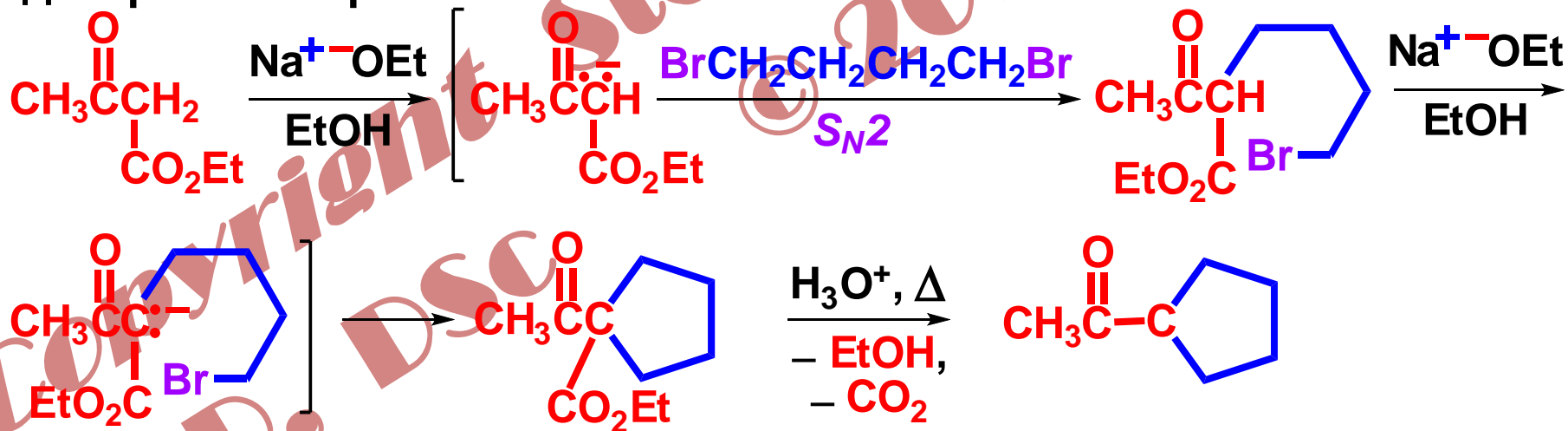
Как може да се синтезира метил
циклопентилкетон чрез «ацетацетен синтез»?

От предишните примери е ясно, че в крайния
продукт от етил ацетацетат остава α,α -дизаместен
въглероден атом във фрагмента:



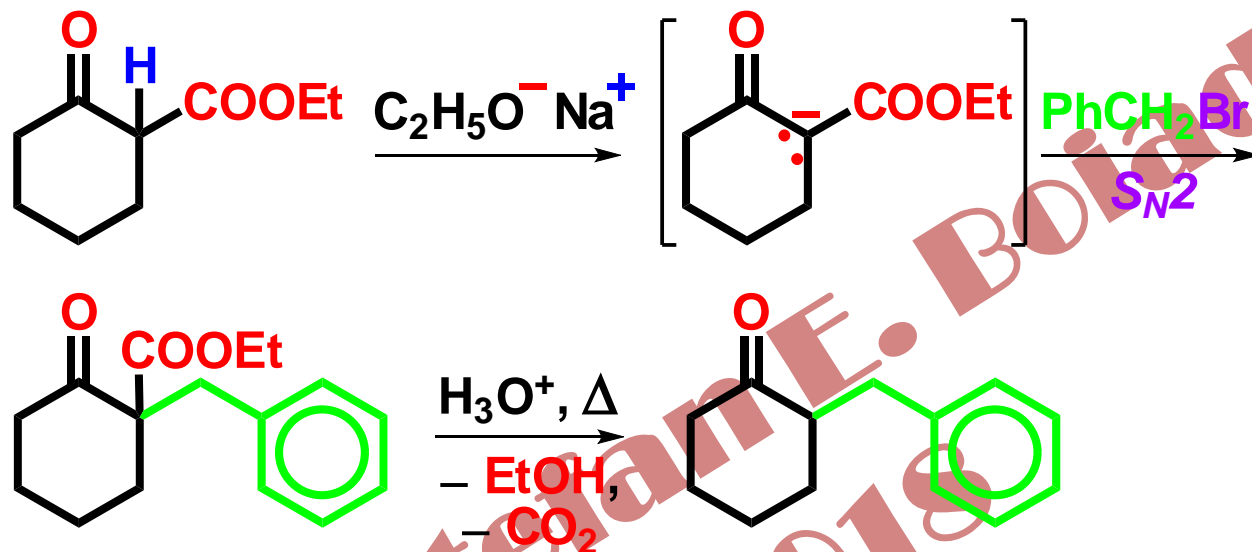
Останалите 4 метиленови групи са принадлежали на
диалкилиращия агент – 1,4-дибромобутан (или йодо).

Синтезът на необходимия кетон се реализира чрез двойно
депротониране-алкилиране на етил ацетацетат, второто –
вътрешномолекулуно, последвано от хидролиза и
декарбосилиране:



Необходимо е голямо разреждане в реакцията с дибромида за да
се потисне междумолекулно алкилиране.

Освен етил ацетацетат, и други β -кетоестери реагират по същия начин:

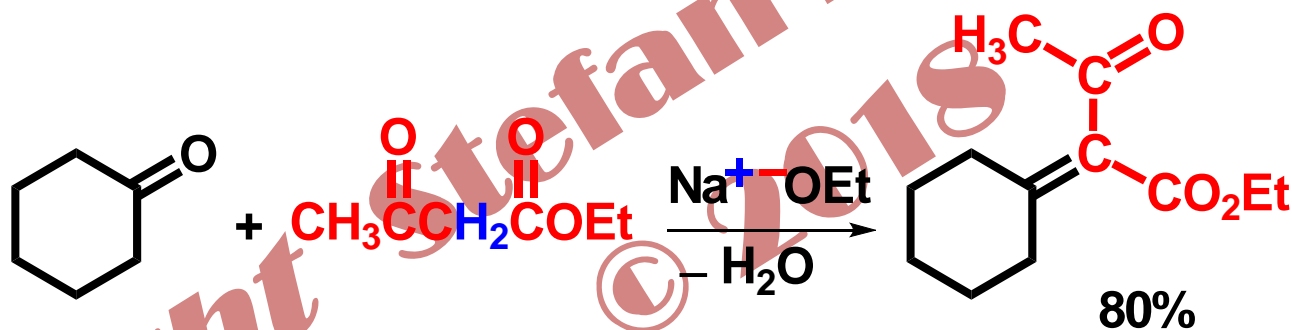


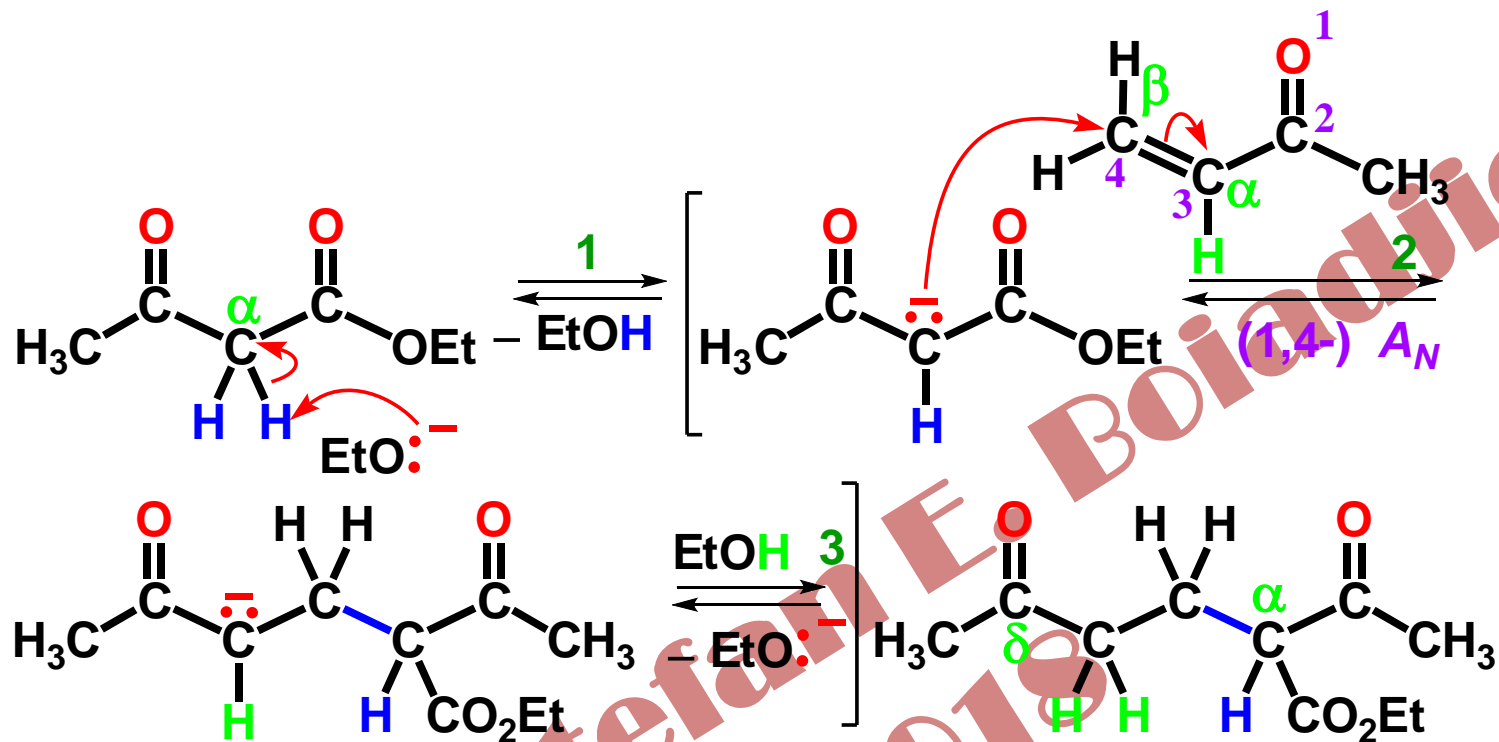
2-бензилциклохексанон 77%

Изходният β -кетоестер може да се синтезира чрез Дикманова кондензация.

След като се запознахме с алдолната кондензация, следва да се уточни кога се очаква успешна смесена алдолна реакция. Когато между два карбонилни компонента единият е много по-киселинен (етил ацетацетат) от другия (циклохексанон) и лесно се превръща в енолатен йон, то смесената алдолна кондензация между тях се очаква да е успешна.

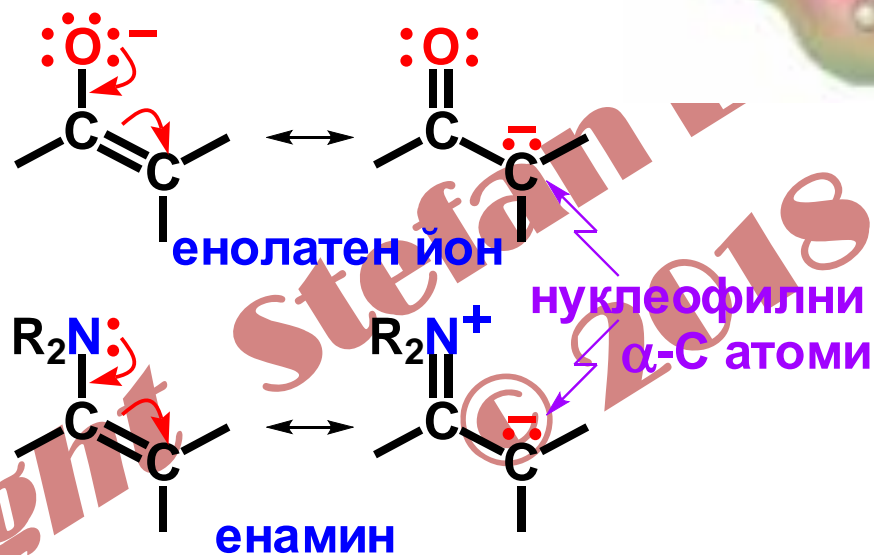
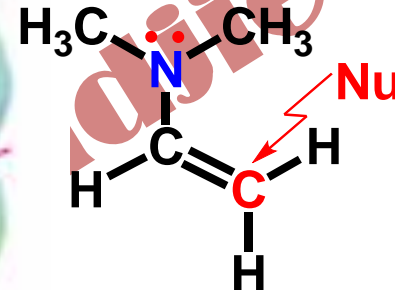
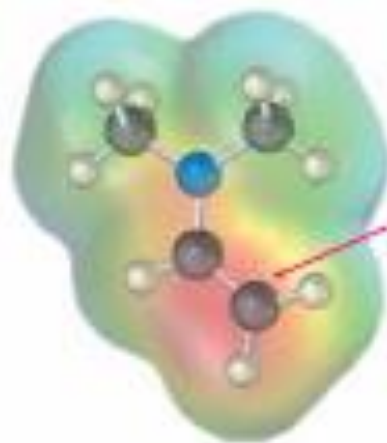
Такъв е следният случай на алдолна реакция от типа на реакцията на Кнъовенагел.





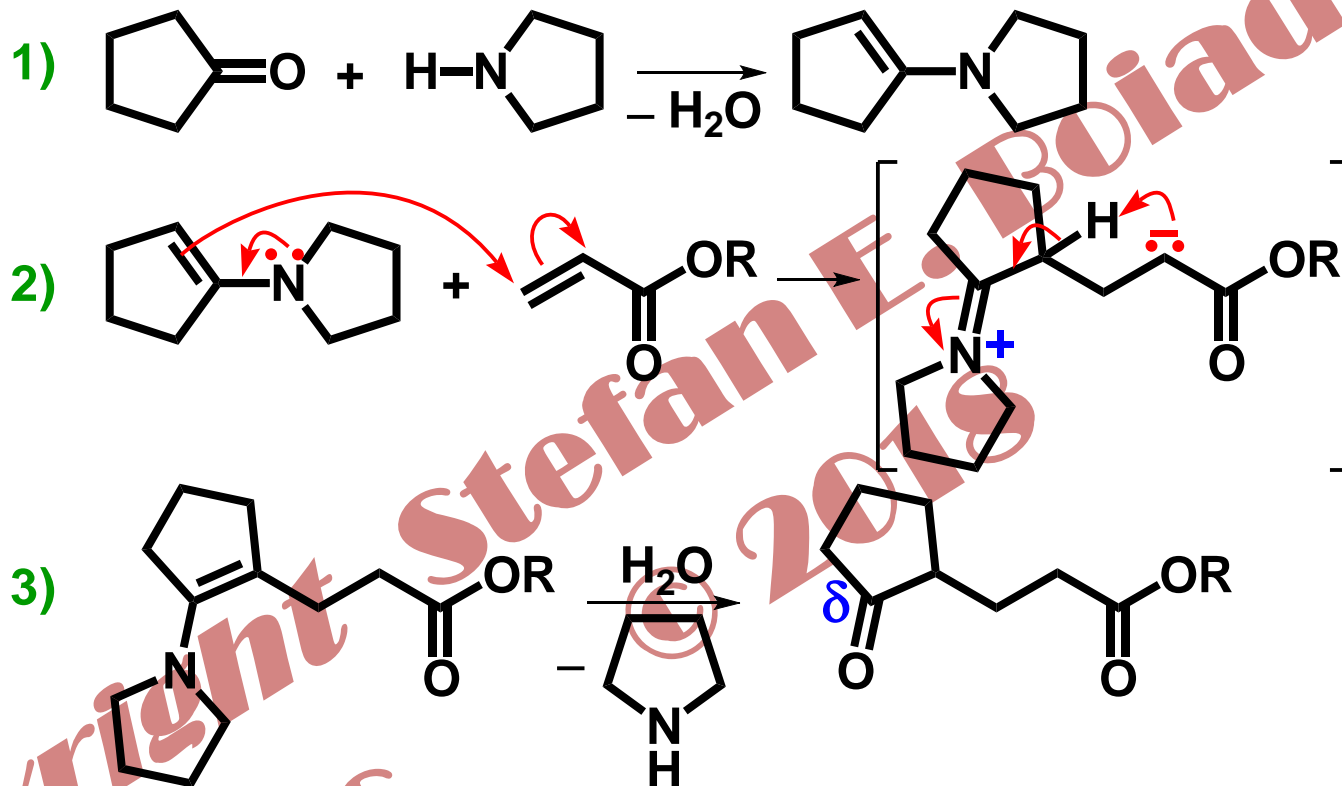
Реакцията на Михаел (Тема 21) протича чрез присъединяване на нуклеофилен енолатен йон (в случая, стабилизирани от етил ацетацетат), донор, към β -въглерода на едно α,β -ненаситено карбонилно съединение. Механизмът е: **1)** основа отнема CH киселия α -протон в β -кетоестера и се генерира енолатен йон; **2)** той, Nu , се присъединява (1,4-спрегнато, реакция на Михаел) към електрофила, α,β -ненаситения винил метилкетон и се образува нов енолатен анион; **3)** той се протонира от разтворителя или от изходния кетоестер и дава крайния продукт (δ -кетоестер или 1,5-дикетон).

Освен енолатни йони, в някои от вече разгледаните реакции, може да участват и други **C нуклеофили**, напр. **енамин**. Енамин може да се алкилира (с алкилхалогенид, по Михаел), ацилира и др.



Енаминът е електронно подобен на енолатен йон. Орбитално взаимодействие на свободната електронна двойка на азота с *p*-орбиталите в двойната връзка води до увеличена електронна плътност на **α-въглеродния атом**. Той е нуклеофилен.

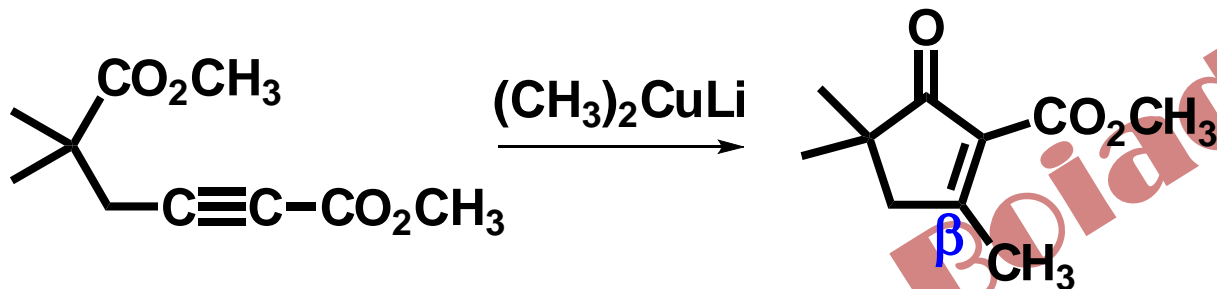
Нуклеофилността на α -въглерода в един енамин се използва в реакцията на Г. Сторк, по която може да се синтезират δ -кетоестери по общата последователност:



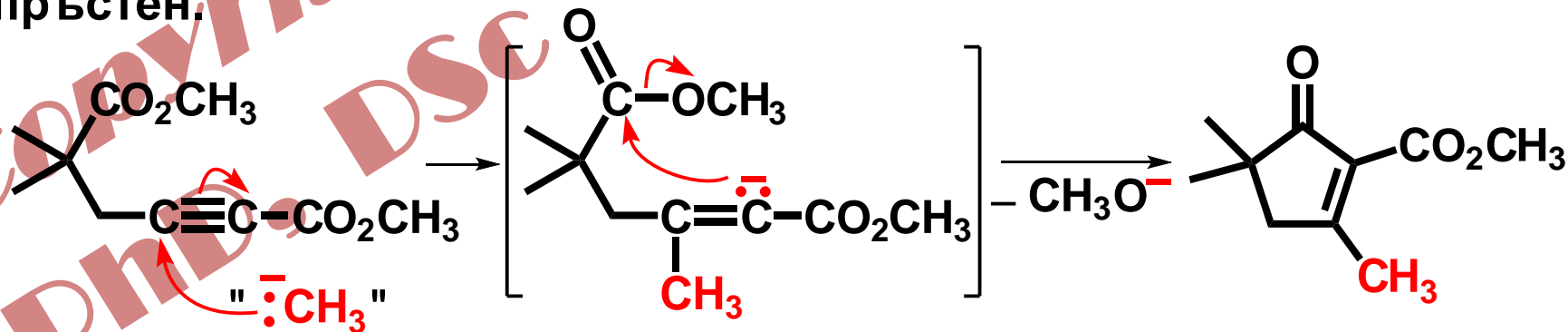
- 1) синтез на енамин от алдехид или кетон с α -H атом и вторичен амин (A_N-E);
- 2) подобно на Михаел 1,4-присъединяване към α,β -ненаситено карбонилно съединение;
- 3) хидролиза на енамина обратно до кетон.

Възможен тестов / изпитен въпрос.

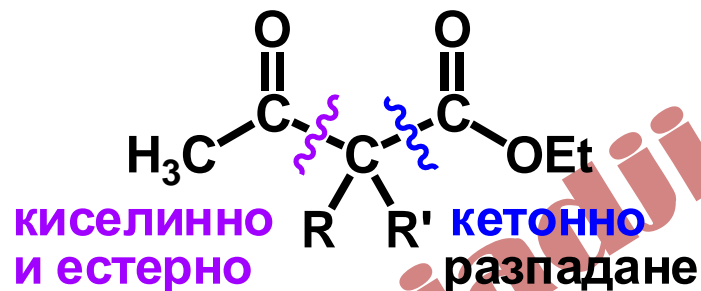
Предложете правдоподобен механизъм на реакцията:



В продукта има една CH_3 група в повече от изходния α,β -ненаситен, алкинов естер, която е свързана с β -C и отсъства $-\text{OCH}_3$ от алкановия естер. Литиевият диметилкупрат доставя еквивалент на нуклеофилна метилова група, която атакува края на спрегнатата система, както в реакцията на Михаел. Вместо протониране, междинният енолатен йон атакува вътрешномолекулно отдалечената естерна карбонилна група с елиминиране на CH_3O^- йон и затваряне на цикло-2-пентенонов пръстен.

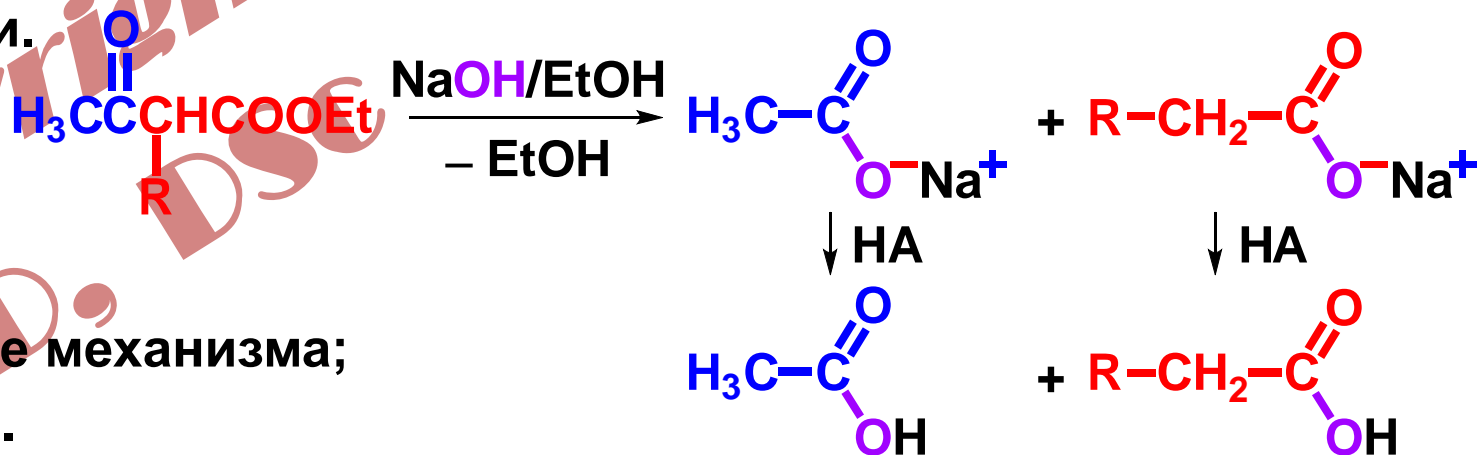


Кетонно, естерно и киселинно разпадане на алкил ацетацетати (ретро-Клайзен)



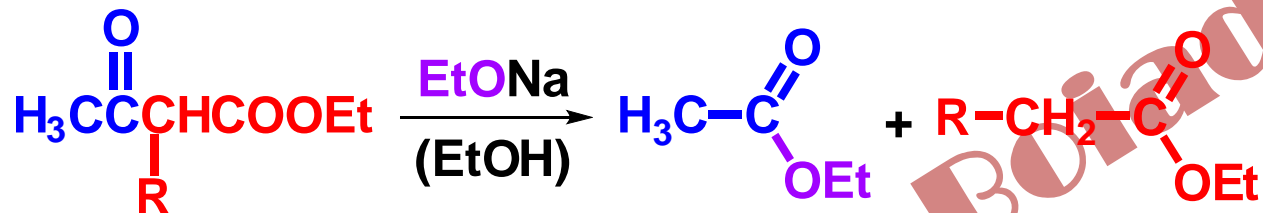
Кетонното разпадане на алкил ацетацетати се постига чрез загряване с вода и разрежена минерална киселина (или с разрежена алкална основа при стайна температура за да не се разкъса връзката $\text{CH}_3\text{CO}-\text{C}_\alpha$). Хидролизира се естерът и β -кетокиселината декарбоксилира по вече показан механизъм.

Киселинно разпадане – под действие на концентрирана алкохолна алкална основа. Разкъсва се връзката $\text{CH}_3\text{CO}-\text{C}_\alpha$. Методът може да служи за синтез на моно- и дизаместени оцетни киселини.

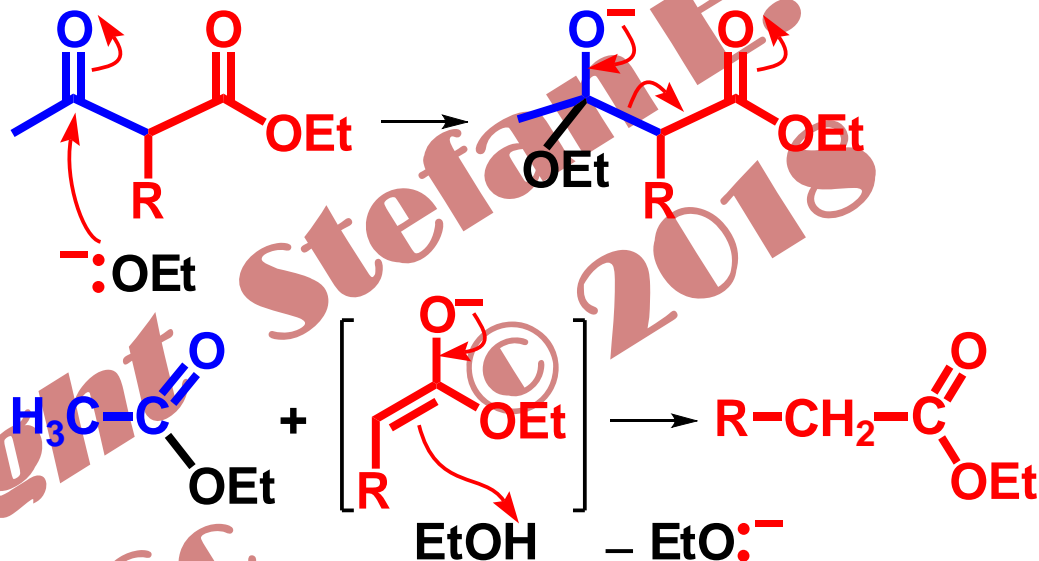


Обсъдете механизма;
 OH^- е Nu.

Естерно разпадане – става с каталитично количество EtONa в абс. EtOH при загряване. Пак се разкъсва $\text{CH}_3\text{CO}-\text{C}_\alpha$ връзката, но естерните групи се запазват.



Механизъм:



Реакцията е ценна за синтез на моно- и дизаместени етилацетати.

Естерното разпадане, както и киселинното, са реакции, обратни на Клайзеновата кондензация. Тя е обратима и равновесна реакция.

Естерното разкъсване на етил ацетацетат (или на вече моно- или диалкилиран ацетоцетов естер) се нарича „ретро-Клайзенова“ кондензация.



левулинова к-на 5-аминолевулинова к-на

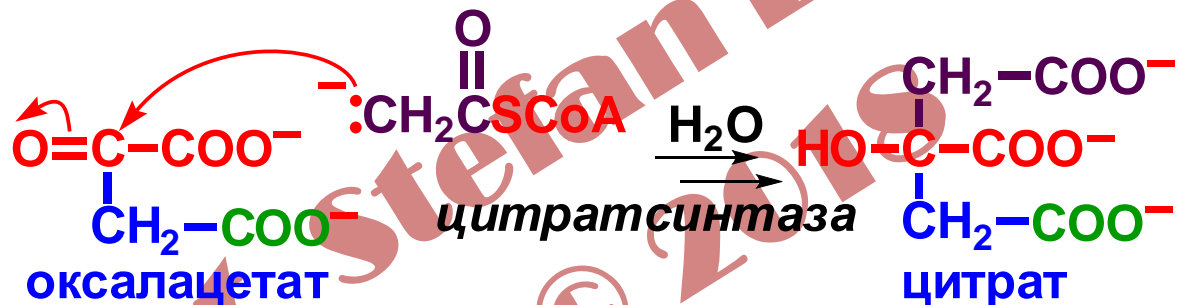
Левулинова киселина Този представител на γ -кетокиселините носи наименованието си от левулоза (старото на фруктоза), от която е била първоначално получена (1840 г.). Може да се изолира също след разграждане на нишесте и целулоза с неорганични киселини. С такива възобновяеми източници, левулиновата киселина е потенциален предшественик на редица съединения, синтезирани чрез „зелена химия“.

5-Аминолевулиновата киселина е първият предшественик в биосинтеза на порфириновия пръстен в хлорофил и в хем в хемоглобин.

Оксодикарбоксилни киселини. Участници в цикъл на Кребс.

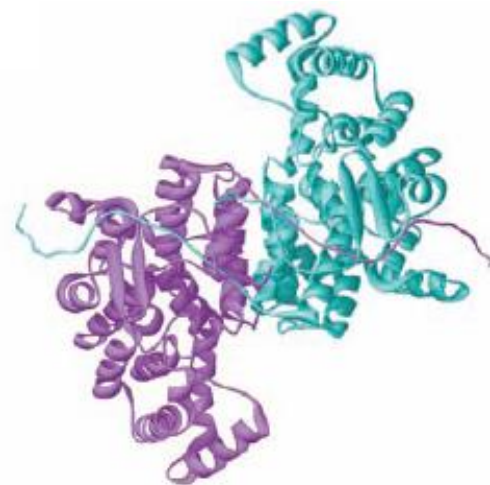
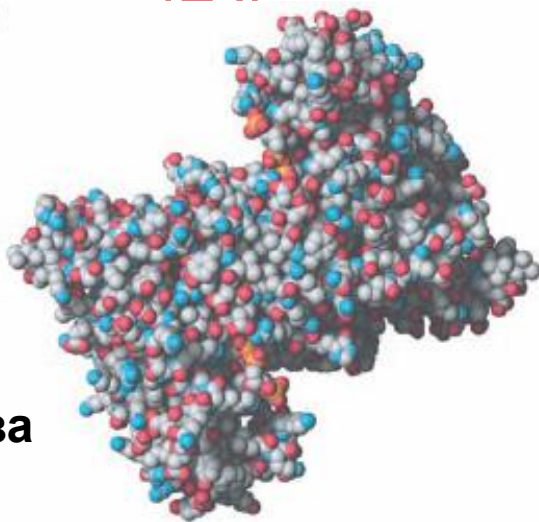
Оксалоцетна киселина Тя е „входящата точка“ в серия от 8 стадия в цикъл, необходими за крайното окисление на ацетилна група от катаболизма на мазнини и въглехидрати.

- 1) Алдолна кондензация * на ацетилна група от ацетилСоА към карбонилната група в оксалацетат води до **цитрат**, затова цикълът се нарича **«цикъл на лимонена киселина»** или **«цикъл на Кребс»** („цикъл на трикарбоксилни киселини“).



(* Всъщност се присъединява остатък от оцетна к-на, но е прието неточното „ацетилна група“)

X-ray на цитратсинтаза димер



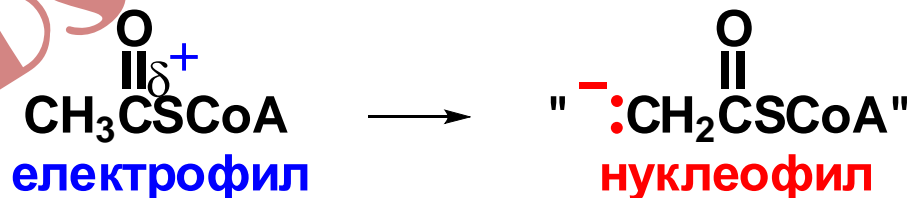
Ацетилната група в ацетилСоА произхожда от β -окисление на мазнини или от пируват, получен от глюкоза.

Гликолизата е разграждане на глюкоза до две молекули пируват.

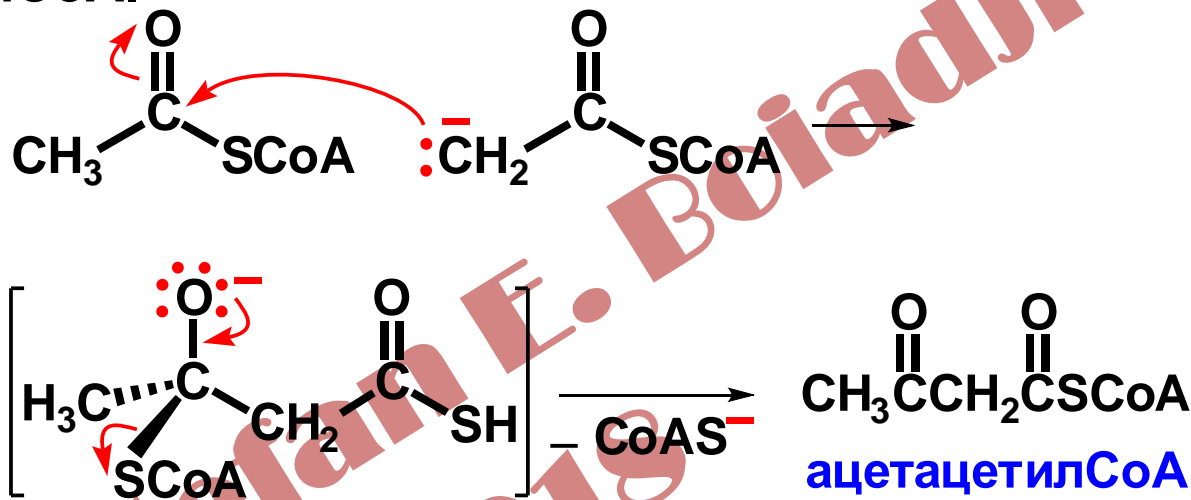


Чрез свързване с коензим А, пируватът се декарбоксилира до ацетилСоА, който влиза в цикъла на Кребс.

Природата използва ацетилСоА за синтез като дву-въглероден синтон (ацетатен фрагмент). АцетилСоА, като тиоестер е не само електрофилен акцептор, но може да е нуклеофилен донор, след загуба на киселинния α -H.



Първичните стъпки към биосинтез (анаболизъм) на стероиди, мазнини и други липиди са вид Клайзенова кондензация между две молекули ацетилСоА.

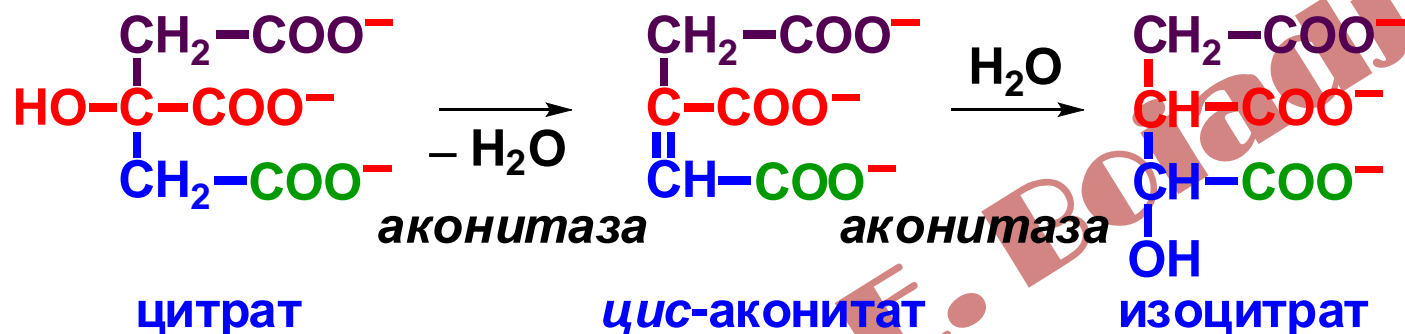


Ролята на ацетилСоА в катаболизма е да предостави 2 С атома за окисление до CO_2 . Защо е толкова **трудно да се окисли** един двувъглероден фрагмент на **оцетна киселина директно**?

Поради голямата стабилност на метиловата група в ацетата е **необходима много голяма енергия на активация**.

Природата е приспособила присъединяване на **ацетат към оксалацетат**, което дава **цитрат**. Той е податлив, след изомеризация, към **дехидрогениране (по същество – окисление)** и **декарбоксилиране**.

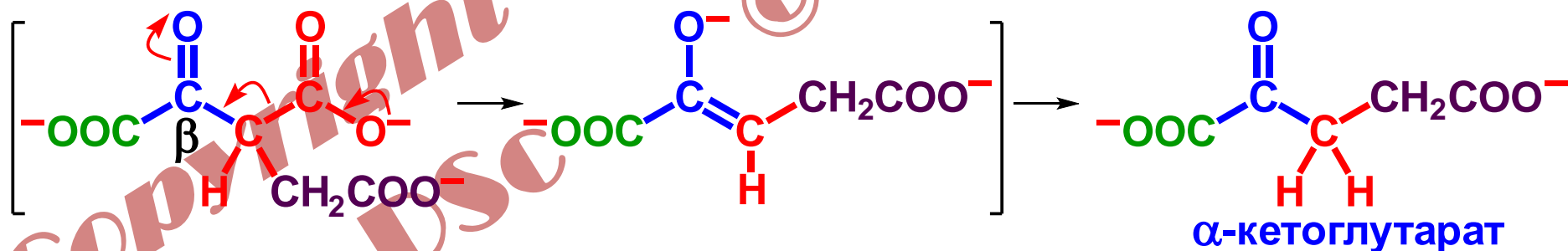
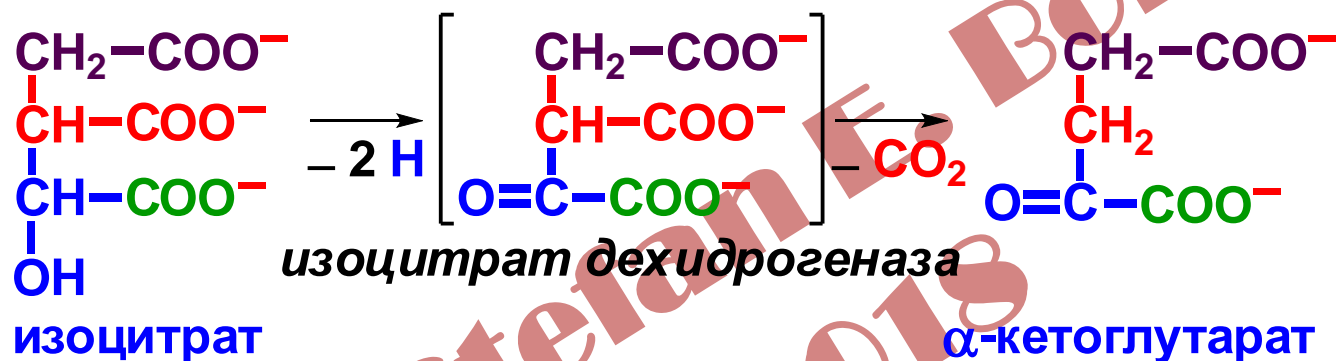
2) Цитратът е третичен алкохол и не може да се окисли. Затова се изомеризира до вторичния алкохол в **изоцитрат**.



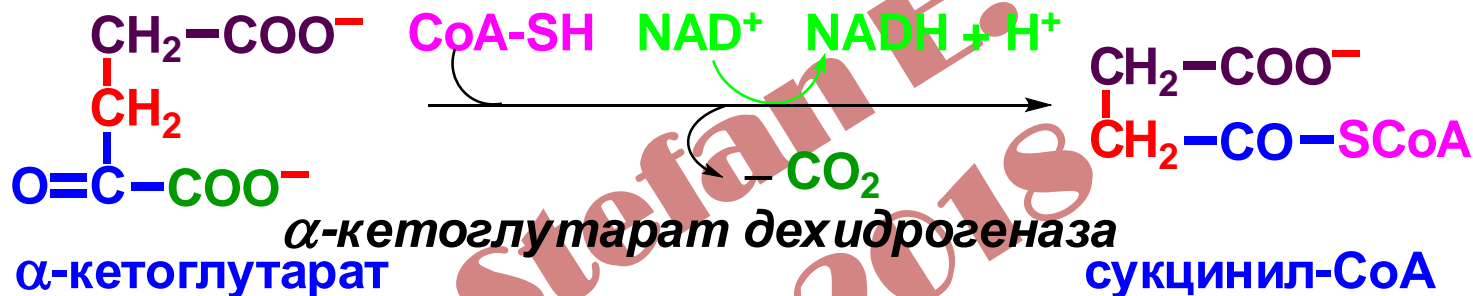
Дехидратирането на β -хидроксикиселината става по **E2** механизъм, а добавянето на вода е спрегнато нуклеофилно присъединяване.

Важно! Забележете, че дехидратирането е строго специфично **по отдалечения въглерод** в CH_2 от този в CH_2 , която дойде от ацетилCoA.

- 3) Изоцитратът, като вторичен алкохол, се окислява с NAD^+ до междинен кетон. Той се декарбоксилира, губейки CO_2 от **карбоксилатната група**, която е през един С атом, както е типично за β -кетокиселина. Продуктът е α -кетоглутарат.

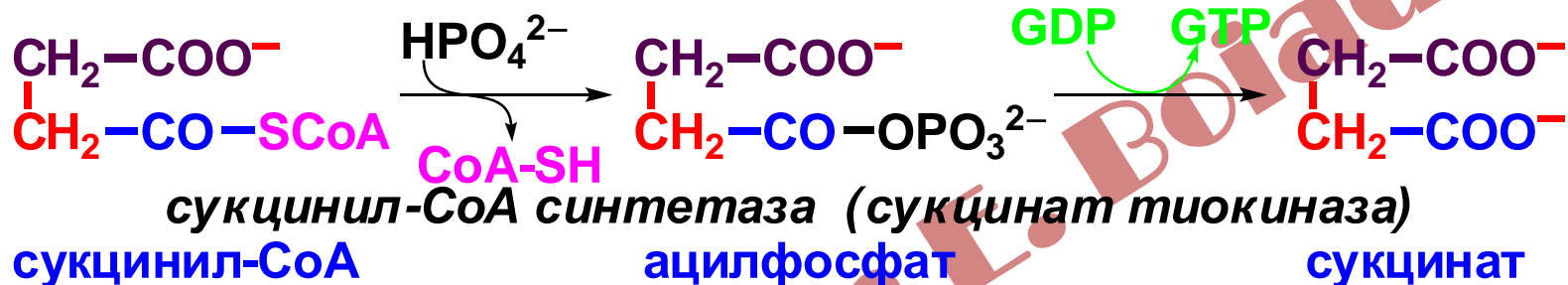


- 4) Трансформацията на α -кетоглутарат в **сукцинил-CoA** е многостадийен процес, аналогичен на превръщането на пируват в ацетил-CoA. И в двата случая една α -кетокиселина се декарбоксилира с участие на коензима тиамин пирофосфат.

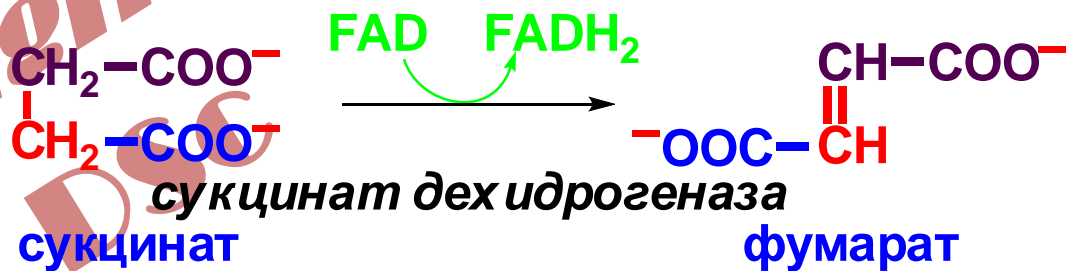


Отбележете отново! Загубата на CO_2 с втория напуснал C атом е отново отдалечена от първоначално внесения остатък $-\text{CH}_2\text{COO}^-$. Следователно, за неговото пълно окисление трябва още един, втори оборот в цикъла на Кребс.

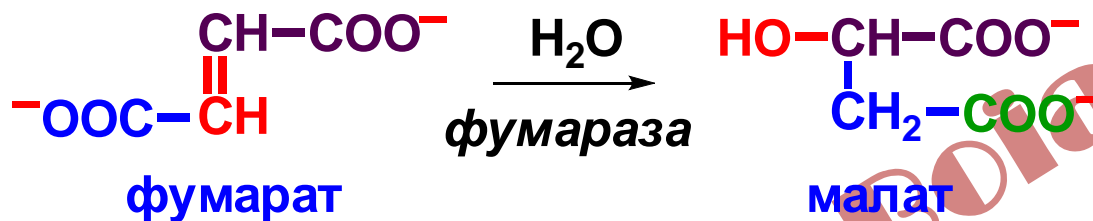
- 5) Сукцинил-CoA се хидролизира до **сукцинат**. Реакцията е спрегната с пренос на фосфатна група, която фосфорилира гуанозин дифосфат до гуанозин трифосфат.



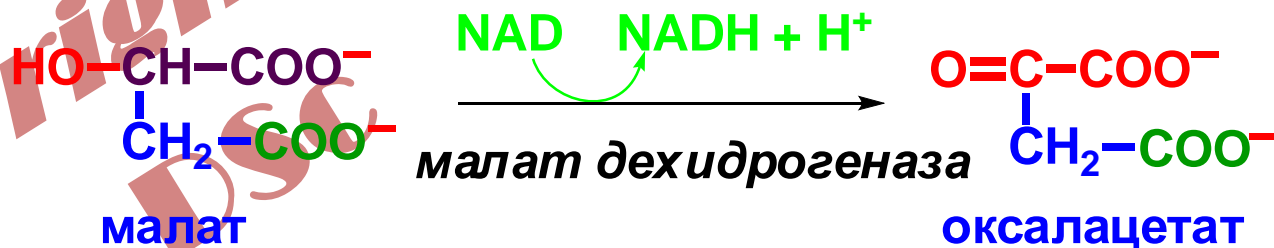
- 6) Сукцинатът се дехидрогенира (окислява) до **фумарат**.



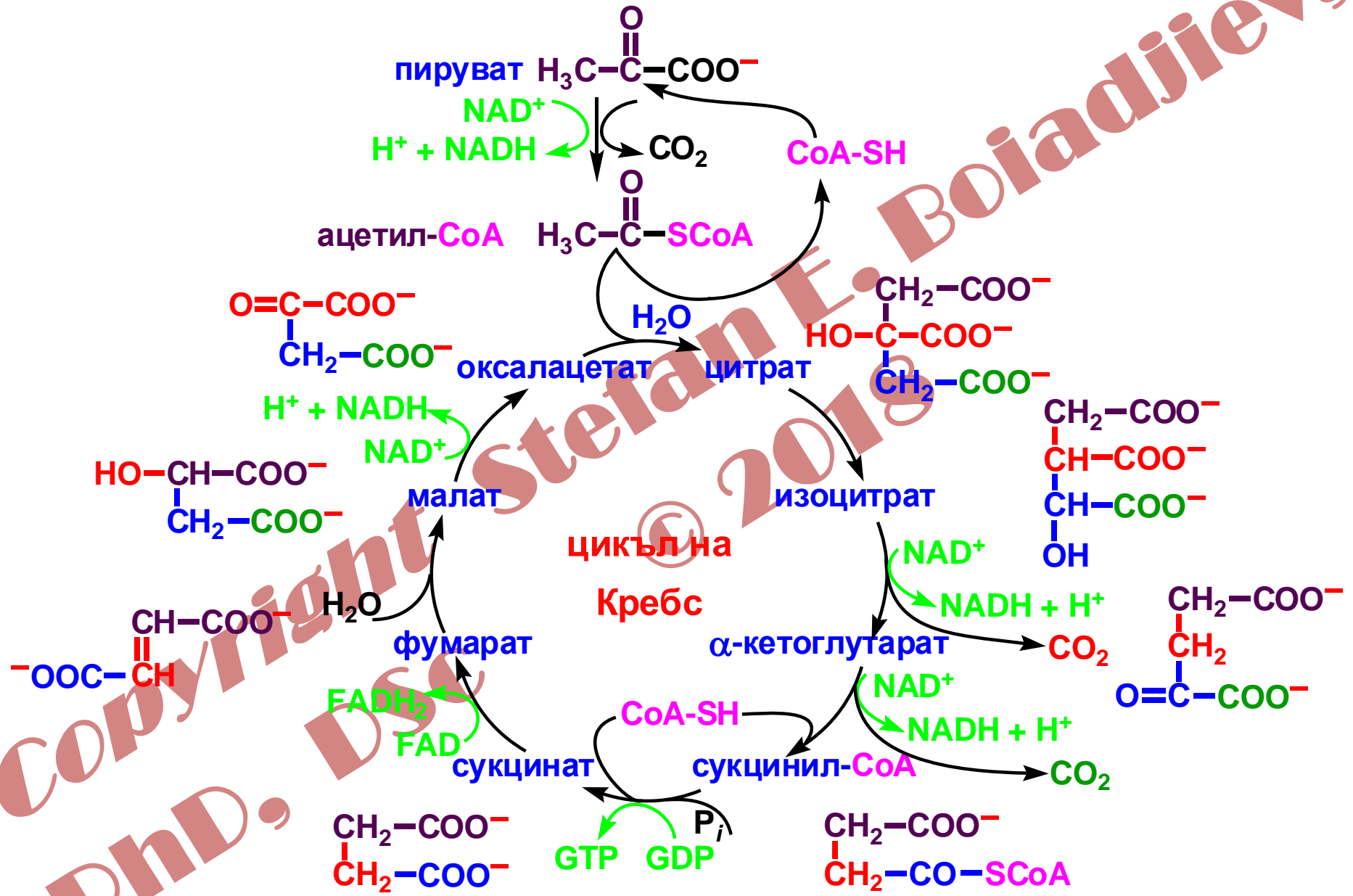
- 7) Спрегнато нуклеофилно присъединяване на вода към фумарата води до **малат**.



- 8) Малатът се дехидрогенира (окислява) от NAD^+ , с което се възстановява първоначалният **оксалацетат**. Той поема отново по кръговия път – централен в клетъчното дишане за „производство“ на енергия под формата на ATP.



Пълният цикъл на Кребс обикновено се представя:



Нобелова награда за физиология или медицина 1953



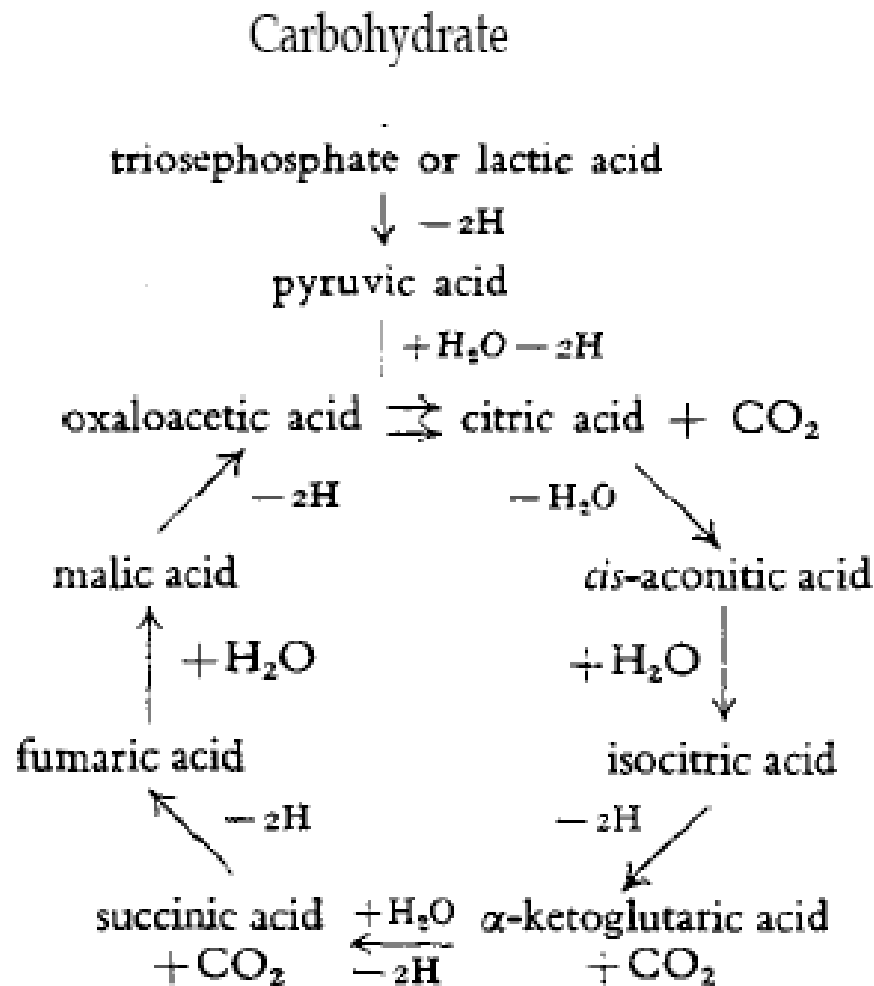
Сър Ханс А. Кребс 1900-1981
„за откритието му на цикъла
на лимонената киселина“



Фриц А. Липман 1899-1986
„за откритието му на коензим А
и неговата важност като
посредник в метаболизма“

Фиг. 2. от оригиналните статии по цикъла
на лимонената киселина (Krebs, Johnson
1937; Krebs 1943).

Из Нобеловата лекция на Ханс Кребс



Перспектива от един химик към цикъла на Кребс

- Два С атома влизат в цикъла. Две молекули CO_2 напускат.
- Четири двойки Н атома се отстраняват (3 редуцират NAD^+ и една – FAD).
- Четири двойки електрони се придвижват по електрон-преносната верига и редуцират в крайна сметка 2 O_2 до вода.
- Двата С атома в отделените молекули CO_2 не са същите от ацетил-СоА (декарбоксилиране “отдолу”); те ще се издишат след допълнителен цикъл.
- Енергетика (в лекциите по биохимия) – NADH и FADH_2 движат синтез на ATP (максимално ~38 молекули ATP от една молекула глюкоза; в действителност – преценката е 30 молекули ATP / една глюкоза).

Аеробно клетъчно дишане

Комплексният механизъм в аеробни организми е еволюирал до използване атмосферния кислород за краен електронен акцептор в дишането.

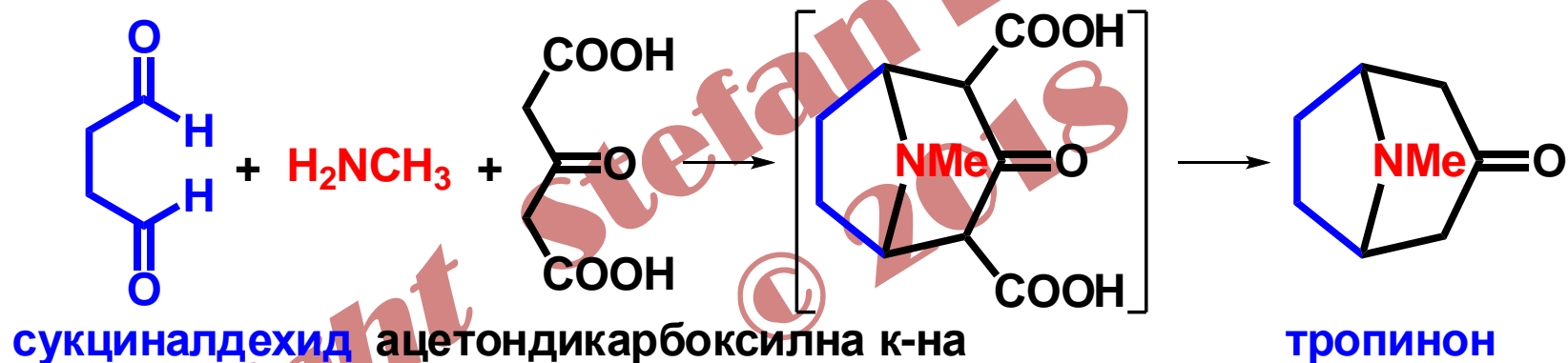
- ❑ В митохондриите пируватът се превръща в **ацетил-СоА** и CO_2 реакцията **пируват декарбоксилиране**.
- ❑ Ацетил-СоА встъпва в **цикъла на лимонената киселина**, в който се окислява напълно до CO_2 и H_2O , и се синтезира **NADH** (съответен на повече от изразходвания в гликолизата **АТР**).
- ❑ **NADH** се окислява до **NAD^+** чрез **електрон-транспортната верига** (ЕТВ), използвайки кислород за краен електронен акцептор. Реакцията създава трансмембранен електрохимичен **протонен градиент** на вътрешна митохондриина мембрана.
- ❑ Този градиент се използва за синтез на голямо количество **АТР** в реакцията **окислително фосфорилиране**.
- ❑ Движещата сила на ЕТВ е намаление свободната енергия на Гибс (тя може “да върши работа”).

Интересно – задавал ли Ви е някой (биохимик?) въпрос дали в еритроцитите се осъществява цикъла на Кребс?

Copyright
PhD, DSc

Stefan E. Bojadziev,
© 2018

Ацетондикарбоксилната киселина съдържа два силно активирани СН кисели центъра. Тя е била творчески използвана от сър **Р. Робинсън** (анелиране) в синтез на **тропинон**. С неговия изящен синтез в 1917 г. е постигната голяма стъпка към синтези на сложни алкалоиди. Синтезът показва възможността за тандемни реакции в един съд и използва аналогични на природните изходни съединения. Затова се счита за начало на **биомиметичен синтез** (много по-късно въведен термин).



Последователността започва с нуклеофилно присъединяване на метиламин към едната –СНО група и елиминиране на H_2O до имин. Към него се присъединява енолатен йон от ацетондикарбоксилната к-на (АДК). Междинният продукт формира нов имин, към който вътрешномолекулуно се присъединява вторият α -въглерод на АДК.

***Copyright* Stefan E. Boiadjev, PhD**
© 2018