

17. PORFIRYNY I POCHODNE

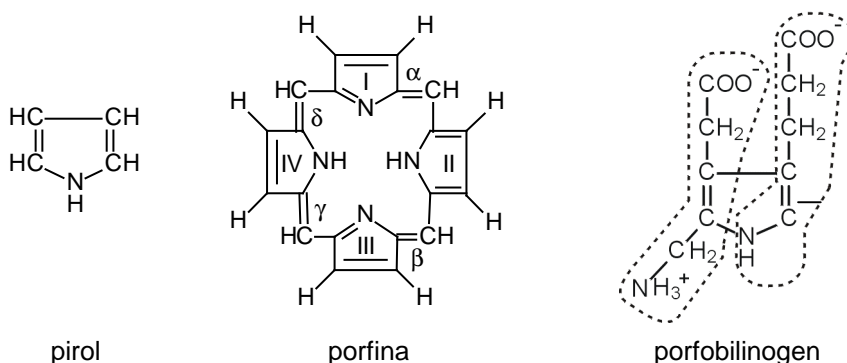
Iwona Żak

Porfiryiny są makrocyklicznymi związkami, utworzonymi z czterech pierścieni pirolowych, połączonych jednowęglowymi mostkami metinowymi.

Pirol jest pięcioczłonowym, heterocyklicznym związkiem aromatycznym, który zawiera sześć elektronów π w cyklicznym sprzężonym układzie nakładających się pięciu orbitali p (każdy z czterech atomów C dostarcza 1 elektron π , atom azotu o hybrydyzacji sp^2 dostarcza wolną parę elektronową, czyli dwa). Wolna para elektronowa atomu azotu w pirolu jest mniej reaktywna ponieważ jest częścią sekstetu aromatycznego. W wyniku tego pirol jest znacznie mniej zasadowy i mniej nukleofilowy niż aminy alifatyczne. Atomy węgla pirolu natomiast są „bogatsze” w elektrony i bardziej nukleofilowe niż atomy węgla jedyne go wiązania podwójnego jakiegoś związku, dlatego pierścień pirolowy jest reaktywniejszy wobec elektrofili.

Pirol można otrzymać w wyniku działania na furan amoniakiem w obecności tlenku glinu jako katalizatora i w temperaturze 400°C.

W organizmie pirol powstaje w postaci porfobilinogenu, który jest produktem reakcji kondensacji dwóch cząsteczek kwasu δ -aminolewulinowego (na poniższym rysunku pojedyncze cząsteczki δ -aminolewulinianu w obrębie porfobilinogenu, zaznaczono poprzez wykropkowanie). Reakcję katalizuje syntaza porfobilinogenu.

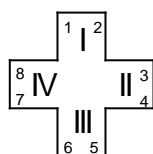


Wszystkie porfiryny zawierają makrocykliczny układ zwany porfiną, który nie występuje w przyrodzie w stanie wolnym, lecz analogi porfiry z podstawionymi łańcuchami bocznymi (do pierścieni pirolowych) są związkami bardzo istotnymi dla procesów życiowych. Typowymi przedstawicielami są hemy i chlorofile. Rodzaj łańcuchów bocznych w porfirynach może być różny, zwykle występują podstawniki zarówno o krótszym, jak i dłuższym łańcuchu alifatycznym.

Typowe podstawniki boczne porfiryn

$-\text{CH}_2-\text{COO}^-$	grupa acetylowa (I)
$-\text{CH}_3$	grupa metylowa (I)
$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$	grupa propylowa (II)
$-\text{CH}=\text{CH}_2$	grupa winylowa (I)

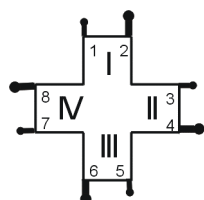
Strukturę porfiryn można przedstawiać za pomocą uproszczonych wzorów Fischera. Cyfry rzymskie oznaczają numer pierścienia pirolowego, natomiast arabskie numery atomów węgla pierścieni pirolowych, do których przyłączone są podstawniki (łańcuchy alifatyczne).



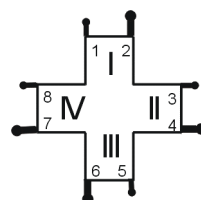
uproszczony wzór Fischera porfiryny

Rozmieszczenie podstawników bocznych jest podstawą istnienia porfiryn w czterech typach izomerycznych (typ I symetryczny i typy II, III, IV – asymetryczne).

Biologicznie ważne izomeryczne typy porfiryn



typ I symetryczny



typ III asymetryczny

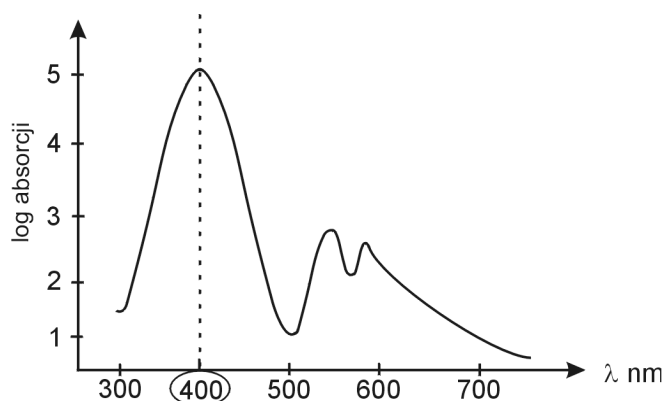
Asymetryczne rozmieszczenie podstawników w typie III porfiryn występuje we wszystkich biologicznie ważnych porfirynach. Tego typu porfiryny określane są też jako porfiryny IX, wynika to z faktu, że wykryto je jako dziewiątą formę izomeryczną.

Symetryczne rozmieszczenie podstawników w typie I porfiryn występuje tylko w tych, które powstają w warunkach patologicznych, np. we wrodzonej porfirii erytropoetycznej.

Asymetryczne typy II i III porfiryn otrzymano jedynie syntetycznie i nie mają żadnego znaczenia biologicznego, dlatego nie zostały przedstawione ich wzory.

Cząsteczki porfiryn są płaskie, bardzo trwałe i silnie zabarwione. Tworzą kompleksy z jonami metali (żelaza lub magnezu) umiejscowionymi w środku struktury cząsteczki porfiryny, dzięki temu, że jony metali przejmują pary elektronowe od atomów azotu piroli. Porfiryny pochłaniają światło i posiadają charakterystyczne widma absorpcyjne zarówno w części widzialnej, jak i nadfioletowej.

Wszystkie porfiryny, niezależnie od rodzaju posiadanych podstawników bocznych, wykazują maksimum absorpcji przy długości fali około 400 nm, pasmo to określane jest mianem pasma Soreta.

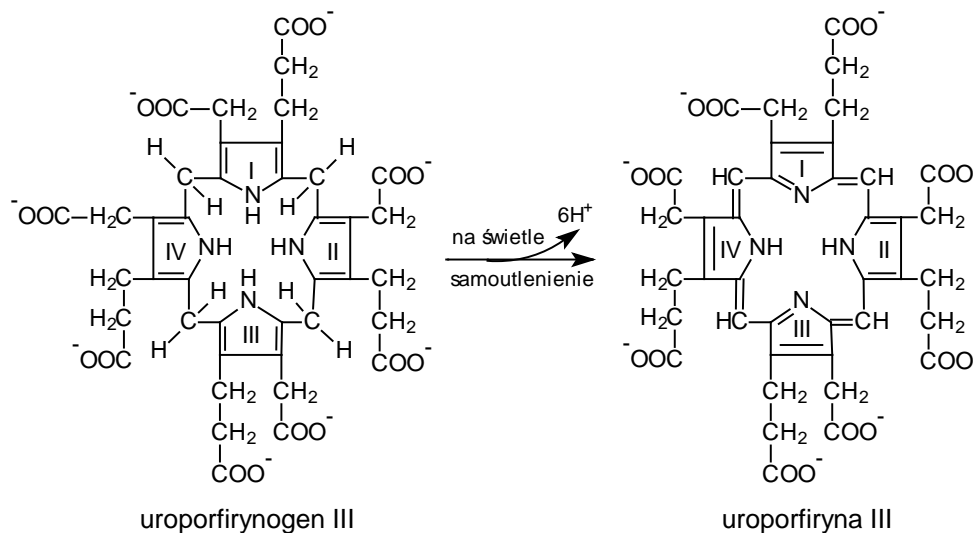


widmo absorpcyjne porfiryn

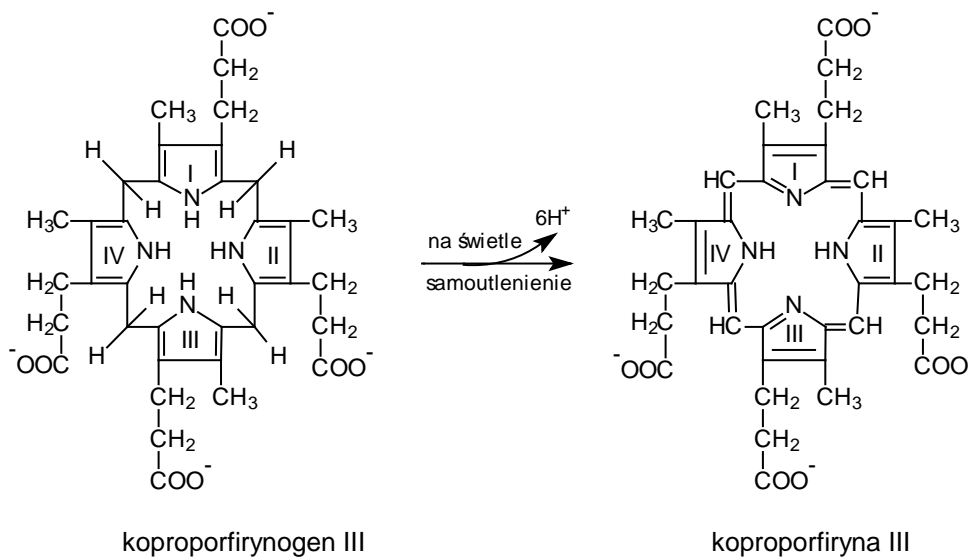
Roztwory porfiryn po naświetleniu światłem nadfioletowym wykazują silną, charakterystyczną czerwoną fluorescencję, którą wykorzystuje się do wykrywania nawet śladowych ilości wolnych porfiryn. Z punktu widzenia diagnostyki klinicznej ważne jest wykrywanie w materiale biologicznym obecności uroporfiryn i koproporfiryn, ponieważ związki te w zwiększonych ilościach wydalane są z organizmu w przypadku stanu patologicznego, zwanego porfirią.

Uroporfiryna i koproporfiryna są metabolitami pośrednimi szlaku biosyntezy hemu. Barwna uroporfiryna III powstaje w cytoplazmie z bezbarwnego

uroporfirynogenu III pod wpływem światła w reakcji samoutlenienia, tworzącej mostki metinowe w tej porfirynie.



W podobnej reakcji powstaje barwna koproporfiryna III z bezbarwnego koproporfirynogenu III.



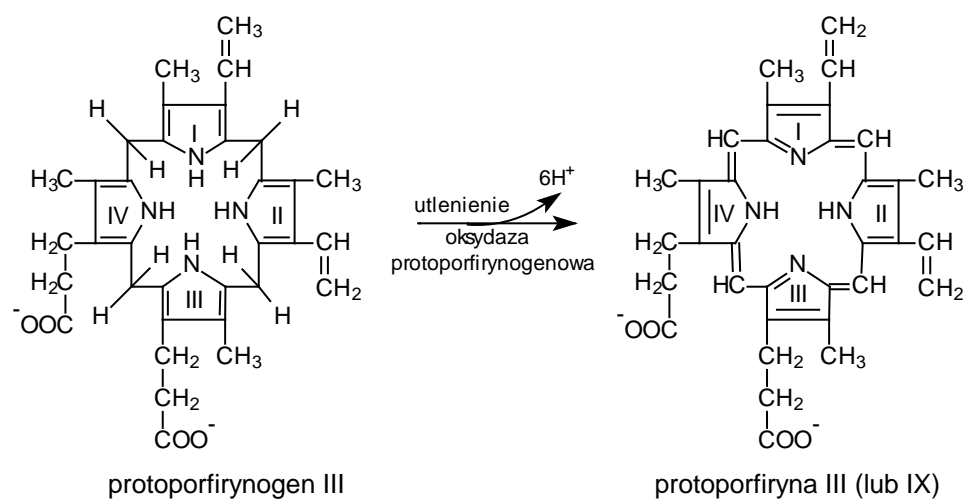
Uroporfirynogen III jest wspólnym prekursorem dla wszystkich hemów, chlorofili oraz witaminy B₁₂.

Uroporfirynę III wykryto pierwotnie w moczu, lecz nie jest to jedyne miejsce jej występowania w organizmie. Koproporfirynę III stwierdzono pierwotnie w kale, obecna jest również w moczu.

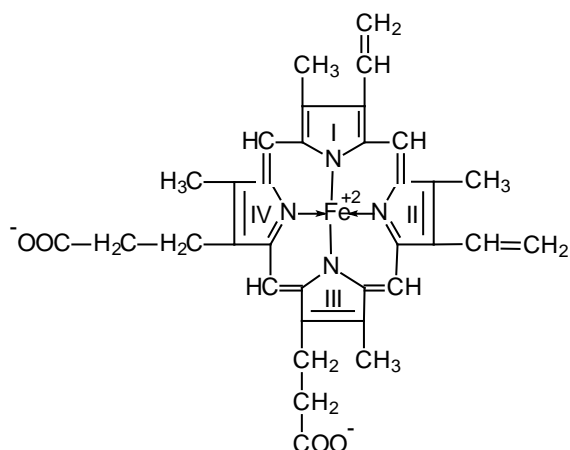
Koproporfirynogen III powstaje z uroporfirynogenu III w cytoplazmie komórki w reakcji dekarboksylacji, która przekształca wszystkie boczne podstawniki acetylowe uroporfirynogenu w podstawniki metylowe koproporfirynogenu. W stanach patologicznych pojawiają się uroporfiryna I i koproporfiryna I, które powstają na tych samych zasadach, jak ich fizjologiczne izomery typu III.

Koproporfirynogen III w mitochondriach przekształcany jest w protoporfirynogen III w reakcji oksydacyjnej dekarboksylacji, przekształcającej dwie grupy propylowe pierścieni pirolowych (I i II) w grupy winylowe. Reakcję katalizuje oksydaza koproporfirynowa, która może działać wyłącznie na koproporfirynogen III, fakt ten wyjaśnia zupełny brak w materiale biologicznym protoporfirynogenu I i protoporfiryny I.

Barwna protoporfiryna III powstaje w mitochondriach z bezbarwnego protoporfirynogenu III w enzymatycznej reakcji utlenienia, tworzącej mostki metinowe w tej porfirynie.



Wstawienie do cząsteczki protoporfiryny IX centralnego jonu metalu, mianowicie żelaza lub magnezu, determinuje dalsze przekształcenie porfiryny albo w kierunku hemu, albo chlorofili. Dalsze modyfikacje prowadzące do chlorofili polegają na dołączeniu piątego pierścienia pirolowego, połączeniu jednego podstawnika bocznego z długim hydrofobowym izoprenoidem, cząsteczką fitolu oraz usunięciu pewnych wiązań podwójnych w niektórych pierścieniach pirolowych.



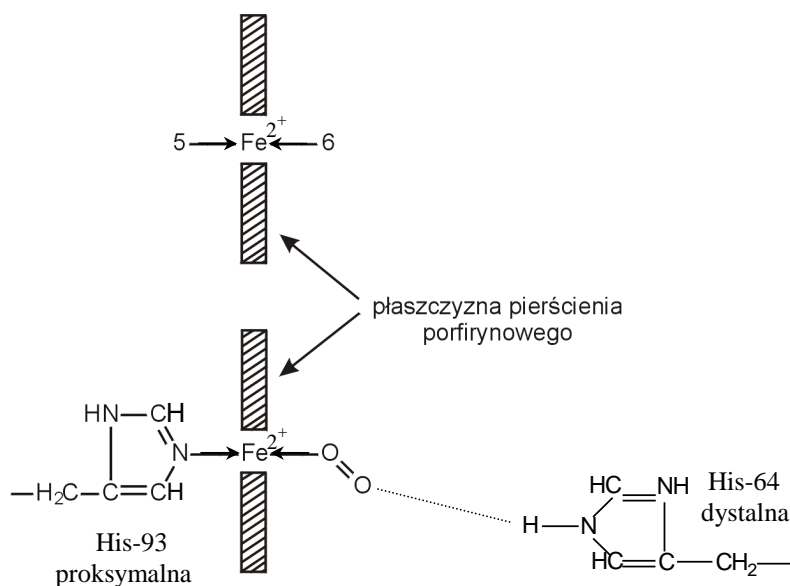
żelazoprotoporfiryna (hem)

Żelazoprotoporfiryna, czyli hem to grupa prostetyczna wszystkich hemoprotein, do których należą hemoglobiny, mioglobina, cytochromy i niektóre enzymy, mianowicie katalaza oraz peroksydaza. We wszystkich tych białkach ogólna struktura hemu jest podobna, natomiast różnią się strukturą łańcucha polipeptydowego, który jest specyficzny dla każdego typu białka. Poza tym, białka te różnią się wartościowością atomu żelaza w ich hemie. Atom żelaza występuje w postaci jonu żelazowego (+2) w hemach funkcjonalnej hemoglobiny, oksyhemoglobiny, mioglobiny i oksymioglobiny i tylko w tej postaci transportuje tlen. Atom żelaza przyjmuje postać jonu żelazowego (+3) w hemach methemoglobiny, w katalazie i peroksydazie. Żelazo w postaci jonu zmieniającego wartościowość (+2 lub +3) występuje w cytochromach, zależnie od ich aktualnego stanu funkcjonalnego, mianowicie po przyjęciu elektronu lub jego oddaniu.

Atom żelaza wiąże się z 4 atomami azotu piroli poprzez dwa wiązania kowalencyjne i dwa wiązania koordynacyjne. Poza tym, może tworzyć dwa dodatkowe wiązania, mianowicie każde po innej stronie płaskiej płaszczyzny hemu, które określa się jako piątą i szóstą pozycję koordynacyjną jonu żelaza Fe^{+2} .

Piątą pozycję koordynacyjną żelaza w hemie hemoglobiny i mioglobiny zajmuje reszta histydyny proksymalnej łańcucha polipeptydowego globiny, związana z nim kowalencyjnie.

W szóstej pozycji koordynacyjnej żelaza znajduje się miejsce dla cząsteczki tlenu lub tlenku węgla, a w nieutlenowanej hemoglobinie pozycja koordynacyjna 6 nie jest obsadzona.



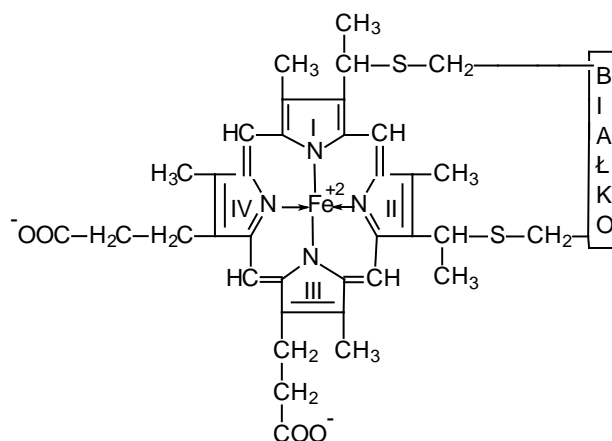
W hemie methemoglobiny, atom żelaza jest utleniony, a jego szósta pozycja koordynacyjna obsadzona jest cząsteczką wody.

Wolny hem z jonem żelazawym okazuje się zdolny do wiązania tlenu, lecz tylko na bardzo krótki czas, ponieważ prawie równocześnie tworzą się struktury „kanapkowe” hem-O₂-hem i następuje utlenienie żelaza do jonu żelazowego, który nie może już wiązać tlenu.

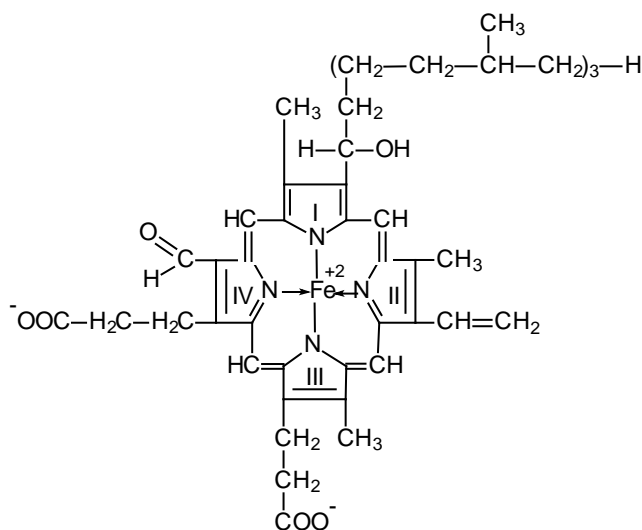
W hemoproteinach łańcuch polipeptydowy globiny właśnie zabezpiecza przed tworzeniem struktur „kanapkowych” hem-O₂-hem. W przypadku hemoglobiny, szczególną rolę w tym zakresie spełniają dwie reszty histydynowe globiny, zarówno związana kowalencyjnie z żelazem histydyna proksymalna, jak i dystalna, która nie jest bezpośrednio związana z żelazem.

Hem cytochromów c i c₁ wiąże się kowalencyjnie z dwoma bocznymi łańcuchami reszt cysteinowych białka poprzez wiązanie tioeterowe, powstające w wyniku reakcji między grupami winylowymi hemu a grupami -SH dwóch reszt cysteinowych.

Hem A oksydazy cytochromowej nie jest natomiast związany kowalencyjnie z białkiem, różni się też innymi cechami od hemów cytochromów c i c₁, posiada bowiem długi, piętnastowęglowy łańcuch węglowodorowy, zamiast jednej grupy winylowej, oraz grupę formylową, zamiast grupy metylowej.



hem cytochromów c i c₁

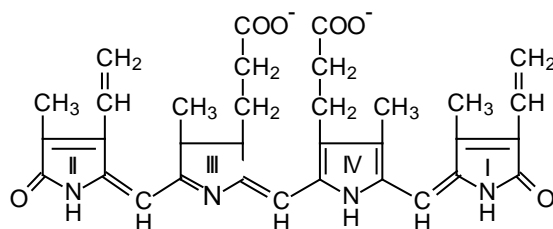


hem A oksydazy cytochromowej

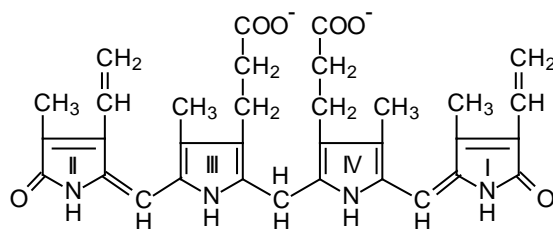
BARWNIKI ŻÓŁCIOWE

Barwniki żółciowe powstają w wyniku rozerwania makrocyklicznej struktury hemu i stanowią formę związków wydalniczych, w której usuwany jest z organizmu hem, głównie starych, eliminowanych z obiegu erytrocytów, ale również hem pochodzący z wszystkich innych hemoprotein. W reakcji oksydacyjnego rozszczepienia pierścienia żelazoporfirynowego, która zachodzi w układzie siateczkowo-śródbłonkowym, powstaje liniowy tetrapiol, zwany biliwerdyną, który jest

zielonym barwnikiem żółciowym. Ten rozpuszczalny w wodzie barwnik jest końcowym produktem rozkładu hemu u ptaków, gadów i płazów. U ludzi i innych ssaków biliwerdyna ulega redukcji do bilirubiny, czerwonepomarańczowego barwnika żółciowego. Widocznym dowodem tych reakcji rozkładu hemu są zmiany koloru siniaka w różnym czasie od wynacznienia krwi do tkanek. Cząsteczki bilirubiny są lipofilne, dlatego we krwi transportowane są w połączeniu z albuminą. Bilirubina jest bardzo skutecznym przeciwutleniaczem, w przeciwieństwie do biliwerdyny. Bilirubina unieszkodliwiając dwa rodniki hydroksylowe jest utleniana do biliwerdyny. Następnie biliwerdyna szybko ponownie ulega redukcji do bilirubiny. Bilirubina związana z albuminą wykazuje około 1/10 efektywności witaminy C w ochronie przed nadtlenkami rozpuszczalnymi w wodzie. Bilirubina to również szczególnie silny przeciwutleniacz w błonach białkowo-lipidowych, gdzie rywalizuje z witaminą E.

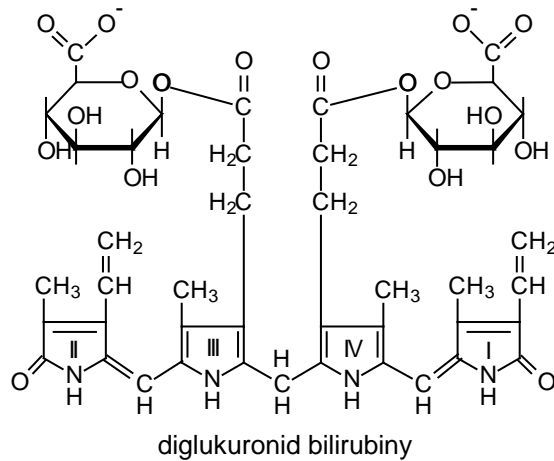


biliwerdyna

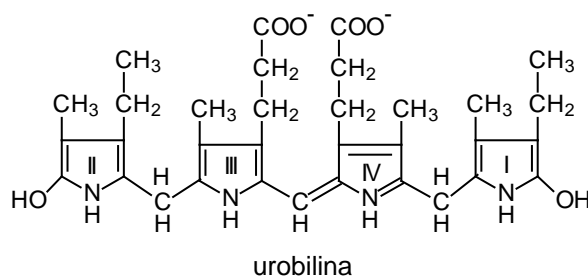


bilirubina

W wątrobie bilirubina sprzęgana jest z dwoma cząsteczkami kwasu glukuronowego. W wyniku tej reakcji powstaje diglukuronid bilirubiny, który charakteryzuje się zwiększoną polarnością i rozpuszczalnością w wodzie. W tej formie bilirubina wydzielana jest do żółci, a następnie do jelit.



W jelicie odłączany jest kwas glukuronowy, a bilirubina redukowana pod wpływem enzymów bakteryjnych do bezbarwnego liniowego tetrapirołu, zwanego urobilinogenem, który utlenia się do żółto zabarwionej urobiliny lub przekształca się do innych barwników pojawiających się w moczu i kale. W moczu stwierdza się urobilinę.



W kale i moczu obecne są również dipirolowe barwniki, tzw. mezobilifuscyny.

