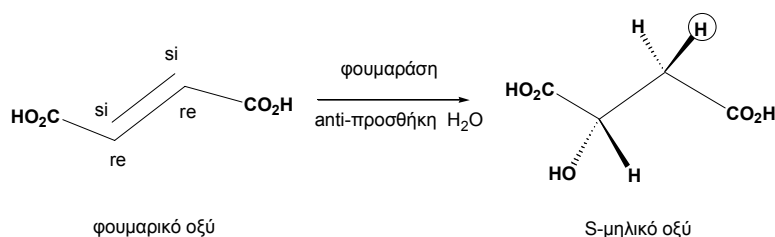
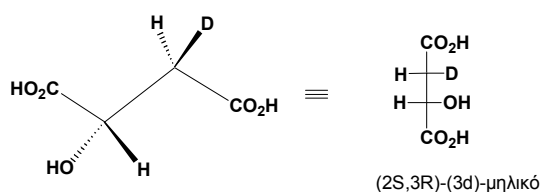


## ΣΤΕΡΕΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ ΤΟΥ ΚΥΚΛΟΥ KREBS.

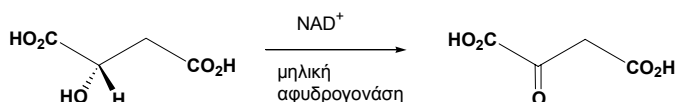
Η προσθήκη νερού στο φουμαρικό οξύ.



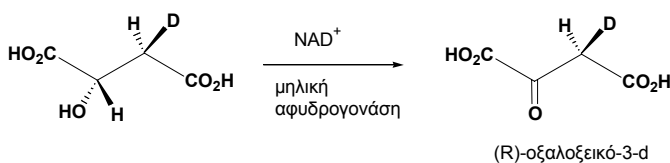
Η anti- προσθήκη νερού στο δ.δ. του φουμαρικού οξέος παράγει το (S)-μηλικό οξύ, εναντιοεκλεκτικά. Η προσθήκη του υδροξυλίου γίνεται από την πίσω όψη του δ.δ. όπως είναι σχεδιασμένος πιο πάνω (si όψη). Η συμμετρία του μορίου είναι τέτοια ώστε οι δύο εναντιοτοπικές όψεις του κάθε άνθρακα του δ.δ. είναι ισοδύναμες (ομοτοπικές) με αυτές του άλλου άνθρακα και μάλιστα προς την ίδια πλευρά του δ.δ. , ώστε συνολικά ο δ.δ. να παρουσιάζει δύο εναντιοτοπικές όψεις SiSi και ReRe. Η στερεοεπιλογή που ασκεί το ένζυμο στην εισαγωγή της υδροξυλομάδας οδηγεί σε μια μοναδική δομή για τον άνθρακα C2 του μηλικού, συγκεκριμένα την (S) όπως φαίνεται και στο σχήμα. Η στερεοειδίκευση της ενυδάτωσης είναι anti , δηλαδή και το άτομο H του νερού εισέρχεται και αυτό από προσδιορισμένη πλευρά του άλλου άνθρακα και συγκεκριμένα τη Re. Εν τούτοις, η προέλευση του κάθε υδρογόνου της μεθυλενομάδας που δημιουργείται συγκαλύπτεται από την ομοιότητα τους, όμως υπάρχει (είναι διαστερεοτοπικά) και μπορεί να γίνει ορατή με κατάλληλη ισοτοπική επισήμανση. Εάν δηλαδή χρησιμοποιηθεί D<sub>2</sub>O στην αντίδραση ενυδάτωσης το μηλικό οξύ που θα προκύψει θα έχει την ακόλουθη δομή:



Η οξειδωση του L-μηλικού προς οξαλοξικό

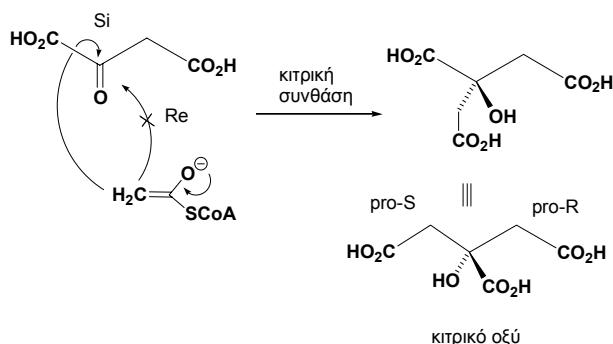


Στην αντίδραση αυτή χάνεται η στερεοχημεία στον άνθρακα C2 αφού το οξαλοξικό οξύ είναι αχειρικό. Εν τούτοις η προέλευση των δύο υδρογόνων της μεθυλενομάδας έχει παραμείνει.



Εάν χρησιμοποιηθεί για την αντίδραση διαστερεοεκλεκτικά επισημασμένο L-μηλικό από την αντίδραση ενυδάτωσης της φουμαράσης, το οξαλοξικό που θα παραχθεί θα είναι εναντιοεκλεκτικά επισημασμένο στη μεθυλενομάδα.

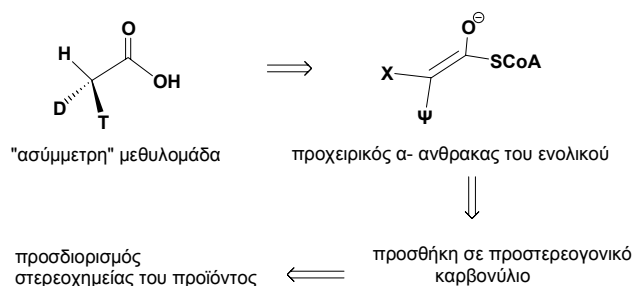
### Η σύνθεση του κιτρικού οξέος.



Εναντιοεκλεκτική (Si) προσθήκη ενολικού AcSCoA στο καρβονύλιο του οξαλοξικού.

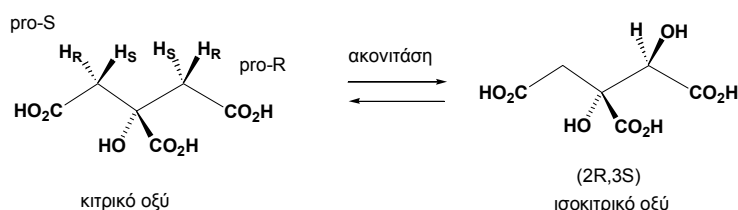
Η προσθήκη της καρβοξυμεθυλομάδας του AcSCoA στις εναντιοτοπικές όψεις του καρβονυλίου υπό τον έλεγχο του ενζύμου (κιτρική συνθάση) γίνεται εναντιοεκλεκτικά. Επειδή όμως η νεοεισαγόμενη ομάδα είναι ίδια με προϋπάρχουσα δε δημιουργείται νέος χειρικός άνθρακας (το κιτρικό οξύ είναι βεβαίως αχειρικό). Μολονότι αυτό δεν είναι ορατό άμεσα η προέλευση των όμοιων κλάδων (—CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H) είναι διαφορετική. Ο αριστερός κλάδος (όπως είναι σχεδιασμένο το μόριο) προέρχεται από το AcSCoA και είναι ο pro-S κλάδος. Ωστε το κιτρικό αν και αχειρικό μόριο έχει διαφορετικά (από λειτουργική άποψη) και τα τέσσερα άτομα H των μεθυλενομάδων.

Ο κλάδος pro-S που προέρχεται από το ενολικό πυρηνόφιλο συγκαλύπτει και μια άλλη στερεοεκλεκτική αντίδραση. Το ενολικό AcSCoA προσεγγίζει το καρβονύλιο με τη ίδια πάντα πλευρά του, αλλά η εκλεκτικότητα αυτή δεν παράγει ορατό στερεοχημικό αποτέλεσμα (η μεθυλενομάδα του ενολικού δεν συνιστά προστερογονικό κέντρο). Για να μελετηθεί η στερεοχημεία μιας τέτοιας αντίδρασης είναι αναγκαία μια εναντιοεκλεκτική διπλή επισήμανση στα υδρογόνα της μεθυλομάδας, με δευτέριο και τρίτιο ταυτόχρονα.



Η διπλή επισήμανση είναι αναγκαία γιατί η δημιουργία του ενολικού, λόγω της εύκολης και ταχείας περιστροφής της επισημασμένης μεθυλομάδας, δεν θα γίνεται με στερεοεκλεκτική αποπρωτονίωση, αλλά θα εμφανίζει μόνο ισοτοπικά φαινόμενα.

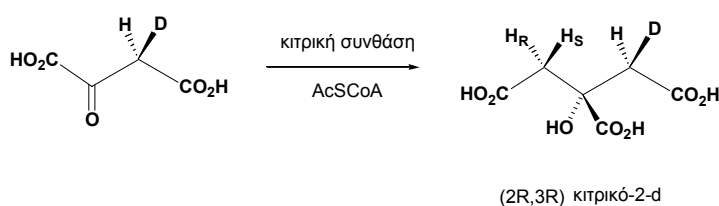
Η διαφοροποίηση των ατόμων υδρογόνου στην ενόλη κατά την αντίδραση της προσθήκης γίνεται ορατή με τη λειτουργία της επόμενης ενζυμικής αντίδρασης της ισομερίωσης προς ισοκιτρικό οξύ.



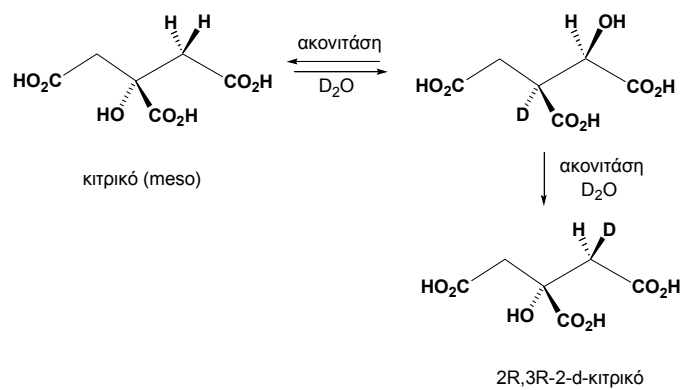
Η ταυτόχρονη δημιουργία δύο χειρικών κέντρων (2C,3C) και η παραγωγή ενός μόνο στερεοϊσομερούς (του (2R,3S)- εναντιομερούς του ισοκιτρικού) υπονοεί ότι στο μετασχηματισμό αυτό λειτουργεί μια διπλή επιλογή:

1. Μετασχηματίζεται μόνο η μεθυλενομάδα του pro-R κλάδου
2. Αντικαθίσταται μόνο το pro-R υδρογόνο ( $\text{H}_R$ ) της μεθυλενομάδας του επιλεγμένου κλάδου.

Από τις δομές των δύο συντακτικών ισομερών (όπως είναι σχεδιασμένες παραπάνω) είναι εμφανής η αντιπαράλληλία των δεσμών που εμπλέκονται στην αντίδραση: η υδροξυλομάδα ανταλλάσσει θέση αμοιβαία με το αντιπαράλληλο υδρογόνο και η μετατροπή αυτή είναι αντιστρεπτή, δηλαδή υπάρχει συνεχής αλληλομετατροπή αχειρικού κίτρικού και εναντιοκαθαρού ισοκιτρικού. Αυτό μπορεί να γίνει εμφανές και πάλι με χρήση ισοτοπικά επισημασμένου κίτρικού οξέος το οποίο μπορεί να συντεθεί αν ως υπόστρωμα της κίτρικής συνθάσης χρησιμοποιηθεί το εναντιοεκλεκτικά επισημασμένο (R)-οξαλοξικό-3-d.

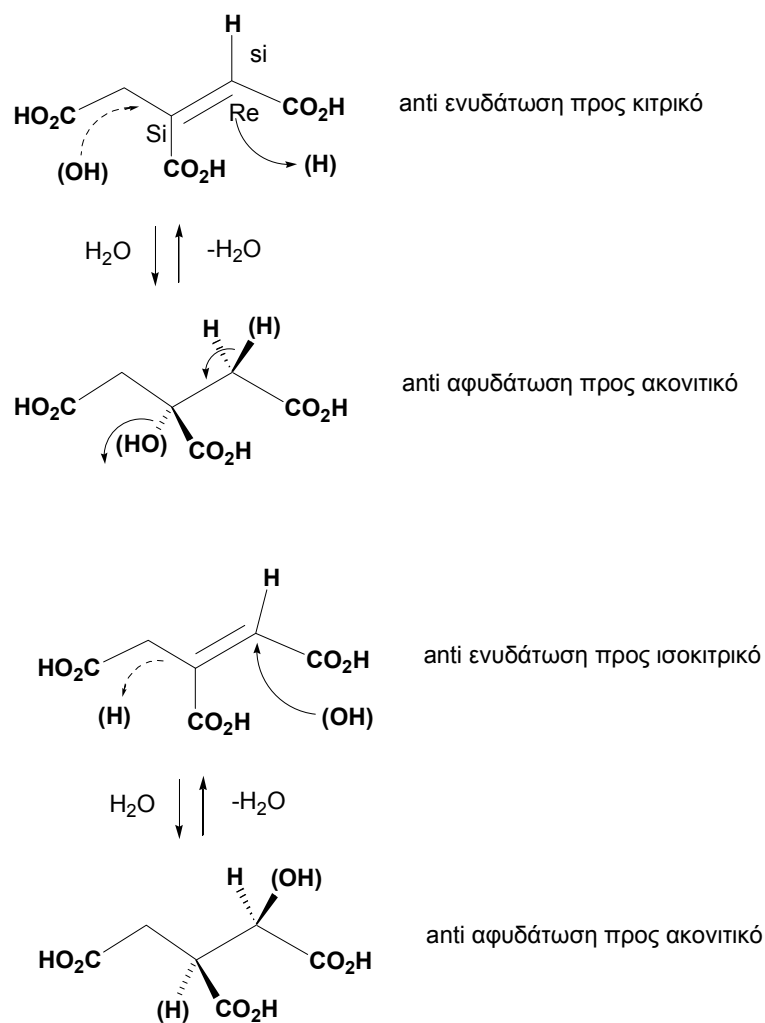


Ας σημειωθεί εδώ ότι ο δευτεριωμένος κλάδος του κίτρικού που προκύπτει κατέχει την ίδια θέση στο χώρο με τον pro-R κλάδο του κίτρικού, όμως τώρα δεν μπορεί να ονομάζεται pro-R γιατί είναι ήδη διαφορετικός του μη επισημασμένου κλάδου και κατ' επέκταση και ο 3C του μορίου είναι πλέον χειρικό και όχι προχειρικό κέντρο (R), αφού κατά C.I.P. ο δευτεριωμένος κλάδος έχει προτεραιότητα. Το ίδιο ακριβώς επισημασμένο κίτρικό οξύ (2R,3R-2-d) είναι και το μοναδικό ισομερές δευτεριωμένο κίτρικό που παράγεται από την επίδραση ακονιτάσης σε κοινό κίτρικό οξύ αλλά παρουσία οξειδίου του δευτερίου,  $\text{D}_2\text{O}$ .



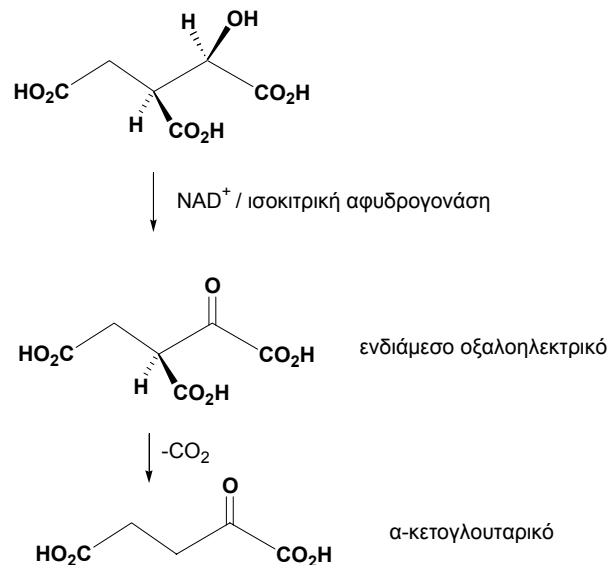
Η ενσωμάτωση δευτερίου ταυτόχρονα με τη μετακίνηση υδροξυλομάδας φαίνεται να υποδεικνύει μια αντιστρεπτή αντίδραση αφυδάτωσης αλκοόλης προς αλκένιο. Πράγματι, κατά την ενζυμική εξισορρόπηση κιτρικού-ισοκιτρικού, δημιουργείται και ένα ακόρεστο οξύ ως ενδιάμεσο της ισομερίωσης, το ακονιτικό οξύ.

Ωστε το ενδιάμεσο αυτό ακόρεστο οξύ θα προκύπτει με αφυδάτωση και των δύο ισομερών κιτρικών αλλά και η ενυδάτωση του θα παράγει και τα δύο.

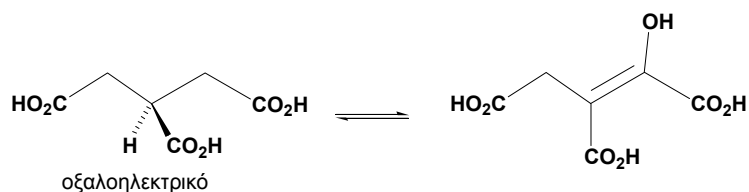


Ας σημειωθεί ότι είναι πάντα η Re όψη του 3C και η Re όψη του 2C του ακονιτικού που προσβάλλονται ανεξάρτητα από την τοποεκλεκτικότητα της ενυδάτωσης η οποία στην κατάσταση ισορροπίας είναι περίπου 9:1 υπέρ του κιτρικού.

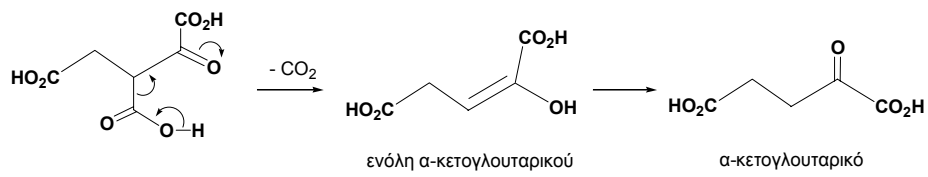
Τέλος, η οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του ισοκίτρικού παρουσία ισοκίτρικής αφυδρογονάσης και  $\text{NAD}^+$  παράγει το α-κετογλουταρικό, με ενδιάμεσο σχηματισμό οξαλοηλεκτρικού οξέος.



Η αντίδραση οξείδωσης απαλείφει το χειρικό κέντρο στον 2C του ισοκίτρικού αλλά και το εναπομένον κέντρο στον 3C λόγω της γεινιάσης δύο καρβονυλομάδων είναι στερεοχημικά ευκίνητο μέσω ενολικών μορφών π.χ.



Η αποκαρβοξυλίωση του οξαλοηλεκτρικού αφορά απομάκρυνση του καρβοξυλίου του 3C σε μια διάσπαση ρετροαλδολικού τύπου, ανάλογη με την εύκολη αποκαρβοξυλίωση των β-κετονοξέων.



Ωστε τελικά και σύμφωνα με τις αντιδράσεις που αναλύθηκαν πιο πάνω το καρβοξύλιο 1 του α-κετογλουταρικού προέρχεται αποκλειστικά από το καρβοξύλιο 4 του μηλικού.

