

## **ЗАНЯТИЕ № 6**

**Тема: Химия биологически активных соединений. Нуклеозиды и нуклеотиды. Нуклеиновые кислоты: ДНК и РНК. Структура и биологическая роль.**

**Учебно-целевые задачи:** Изучить строение нуклеозидов, нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Научиться осуществлять гидролиз биоорганических фракций, содержащих нуклеопротеины, а также идентифицировать компоненты нуклеопротеинов в гидролизате фракций.

**Перечень практических навыков.**

- ✓ самостоятельно работать со справочной и учебной литературой, превращать прочитанное в средство для решения типовых задач;
- ✓ активно использовать номенклатурные правила по органической и неорганической химии и номенклатуру органических и неорганических соединений;
- ✓ на основании периодического закона и строения электронных оболочек атомов прогнозировать свойства и взаимодействие химических элементов и их соединений, применяемых в фармации, и решать соответствующие этим превращениям количественные задачи;
- ✓ проводить простой учебно-исследовательский эксперимент на основе овладения основными приемами техники работ в лаборатории, выполнять расчеты, оформлять результаты, формулировать выводы
- ✓ методикой планирования и проведения эксперимента, включающего синтез и способы идентификации полученных веществ,

В 1869 году швейцарский исследователь Ф. Мишер впервые выделил из ядер лейкоцитов человека не известное ранее вещество. Он назвал это вещество нуклеином (от лат. nucleus – ядро). Затем в лаборатории под руководством Мишера подобные вещества были выделены из эритроцитов птиц, рептилий, из дрожжей и ряда других природных объектов. Позднее Ф. Мишер установил, что открытый им нуклеин представляет собой смесь нуклеиновых кислот. Так были открыты нуклеиновые кислоты и новая группа сложных белков – нуклеопротеины, содержащие в качестве простетической группы нуклеиновые кислоты.

Таким образом, исследование химического строения нуклеиновых кислот началось с работ Мишера, а далее было продолжено К.А. Косселем (1879 г.), который обнаружил в нуклеиновых кислотах азотсодержащие гетероциклические основания. Первым выделенным гетероциклическим основанием, присутствующим в нуклеиновых кислотах, был гуанин (ранее выделенный из перуанского гуано – помета птиц, ценного азотистого удобрения). Впоследствии из нуклеиновых кислот были выделены тимин (из клеток тимуса быка), цитозин (от греч. cytos – клетка) и аденин (от греч. aden – железа). В результате проведенных исследований русский химик Ф. Левен установил, что в состав нуклеиновых кислот входят азотсодержащие гетероциклические основания (производные пурина и пиримидина), фосфорная кислота и углеводный компонент - рибоза или дезоксирибоза.

Таким образом, нуклеиновые кислоты – это полимерные биомолекулы, мономерами которых служат нуклеотиды, состоящие из азотсодержащих гетероциклических оснований, моносахарида (пентозы) и фосфорной кислоты.

В 40–50-х гг. XX века были получены первые экспериментальные доказательства важнейшей роли дезоксирибонуклеиновой кислоты – ДНК в явлениях наследственности и изменчивости у микроорганизмов. И только в ходе последующих исследований ДНК были открыты рибонуклеиновые кислоты – РНК, играющие первостепенную роль в биосинтезе белков.

Собственно, установление химического строения ДНК и РНК послужило толчком для развития нового направления в биологии – молекулярной биологии, решающей

задачу исследования на молекулярном уровне таких общебиологических явлений, как наследственность, изменчивость и эволюция.

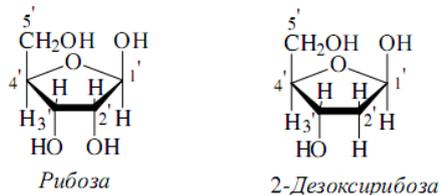
Таким образом, в течение практически целого века (начиная с конца XIX и заканчивая серединой XX века) было доказано, что нуклеиновые кислоты являются важнейшими компонентами всех клеток живых организмов. Выявлено, что с участием нуклеиновых кислот происходит биосинтез белков, являющихся материальной основой всех жизненных процессов и, в конечном итоге, формируют фенотипические признаки все организмов. Информация, определяющая особенности первичной структуры белков, «записана» в молекулах ДНК, с помощью которых и передается от родительских клеток к дочерним. Молекулы РНК служат незаменимыми и обязательными участниками самого механизма биосинтеза белков и других биопроцессов.

Исследование нуклеиновых кислот и нуклеопротеинов позволяет понимать механизмы возникновения инфекционных заболеваний, поскольку по химической природе функциональная часть любого вируса есть ни что иное, как нуклеопротеин. Поэтому борьба с многочисленными вирусными заболеваниями невозможна без глубокого познания строения и свойств нуклеиновых кислот. И, наконец, сами мономерные звенья нуклеиновых кислот – нуклеотиды – играют важную самостоятельную роль в метаболизме: некоторые из них – коферменты, другие – аккумуляторы энергии в клетке, третьи – циклические нуклеотиды – регуляторы обмена веществ. Особенности функционирования нуклеиновых кислот, нуклеотидов и родственных соединений рассматриваются на страницах настоящего пособия.

## §2. Нуклеозиды, нуклеотиды, нуклеиновые кислоты

При полном жестком кислотном гидролизе (72% HClO<sub>4</sub>, 100<sup>0</sup>C или 25% HCOOH, 75<sup>0</sup>C) нуклеиновых кислот образуются пуриновые и пиримидиновые основания (гетероциклические азотистые основания), моносахарид пентоза (рибоза или дезоксирибоза в фуранозной форме) и фосфорная кислота. Рассмотрим особенности химического строения и физико-химических свойств данных соединений как главных компонентов нуклеиновых кислот и их предшественников – нуклеозидов и нуклеотидов.

**Моносахариды.** Все нуклеиновые кислоты в зависимости от входящего в их состав моносахарида можно подразделить на два основных типа. Если в состав нуклеиновой кислоты входит рибоза, то она называется рибонуклеиновой кислотой (РНК), а если 2-деоксирибоза, то дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК). Пентозы в нуклеиновых кислотах всегда присутствуют в β-D-фуранозной форме:

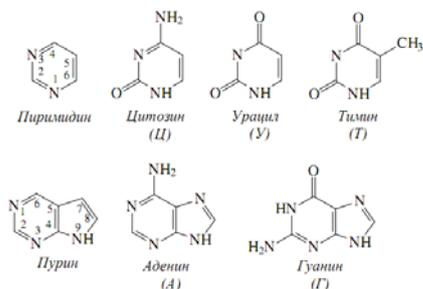


Атомы углерода в структурных формулах пентоз нумеруются цифрами со знаком «штрих», чтобы отличить их от атомов углерода, входящих в состав азотистого основания (например, 5-й атом углерода обозначают C-5' или 5'). Замена атома водорода на гидроксильную группу при C-2' рибозы является одной из основных причин существенных различий в свойствах ДНК и РНК. Очевидно, вследствие таких изменений в природе заместителя происходит упрочнение связи между 2-м и 3-м атомами углерода в пентозе, что приводит к увеличению устойчивости молекулы ДНК как хранителя наследственной информации. Кроме того, отсутствие кислорода у C-2' дезоксирибозы способствует более компактной упаковке молекулы ДНК в пространстве, что позволяет ей, несмотря на относительно большие размеры,

занимать малый объем в клетке и ядре (особенности пространственной организации молекул ДНК и РНК рассматриваются далее).

**Азотистые основания.** Химическое строение и физико-химические свойства азотистых оснований определяют особенности пространственной организации молекул нуклеиновых кислот в условиях живых клеток и, что особенно важно, их биологическое поведение, т.е. способность хранить и передавать наследственную информацию.

Входящие в состав нуклеиновых кислот азотистые основания по химическому строению являются либо производными пурина – пуриновые основания, либо пиримидина – пиримидиновые основания. Напомним, что молекула пурина представляет собой два сконденсированных кольца пиримидина и имидазола. В зависимости от распространенности оснований в нуклеиновых кислотах выделяют главные и редкие или минорные пуриновые и пиримидиновые основания. К главным пуриновым основаниям относятся аденин (А) и гуанин (Г); а к главным пиримидиновым – цитозин (Ц), урацил (У) и тимин (Т). Главные азотистые основания имеют следующее химическое строение:

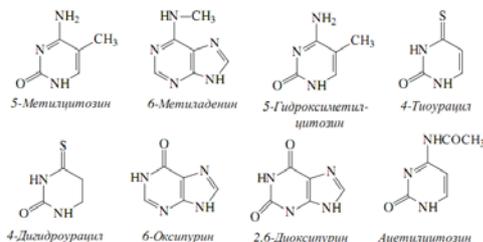


Аденин, гуанин, цитозин и тимин входят в состав молекул ДНК. В отличие от ДНК, в РНК вместо тимина присутствует урацил. Одинаковые и отличающиеся структурные компоненты молекул ДНК и РНК приведены в таблице 1.

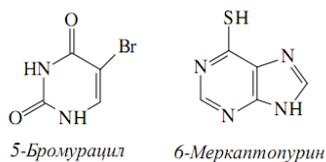
Таблица 1. Одинаковые и отличающиеся компоненты ДНК и РНК.

Одинаковые компоненты	Отличающиеся компоненты	
А	в ДНК:	в РНК:
Г	2-Дезоксирибоза	Рибоза
Ц	Т	У

Как было отмечено выше, кроме главных азотистых оснований в нуклеиновых кислотах присутствуют редкие, или минорные основания, содержащиеся в небольших количествах. К настоящему времени обнаружено свыше 60 минорных оснований. Например, в ДНК высших организмов присутствует 5-метилцитозин, а в некоторых бактериальных ДНК, наряду с 5-метилцитозином, встречаются небольшие количества 6-метиладенина. В ДНК Т-четных фагов *E. coli* цитозин заменен на 5-гидроксиметилцитозин. Особенно много минорных оснований (4-тиоурацил, 5,6-дигидроурацил, 2,6-диоксипурин, 6-оксипурин, ацетилцитозин и др.) содержится в транспортных РНК:



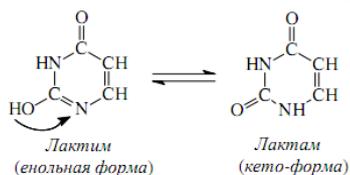
Из азотистых оснований неприродного происхождения можно отметить 5-бромурацил (сильный мутаген) и 6-меркаптопурин (противоопухолевое средство):



В отличие от аминокислот, свободные азотистые основания не встречаются в живых организмах в больших количествах и не выполняют других самостоятельных биофункций кроме предшественников биосинтеза нуклеотидов.

Предполагается, что минорные основания представляют собой одну из ветвей развития пуриновых и пиримидиновых оснований в ходе биохимической, а затем и биологической эволюции. Но, в отличие от главных азотистых оснований, минорные основания в процессе эволюции не получили широкого распространения. По-видимому, это обстоятельство связано с особенностями физико-химических свойств данных молекул. Азотистые основания плохо растворимы в воде, однако в составе нуклеозидов и нуклеотидов их растворимость заметно увеличивается. Пуриновые и пиримидиновые основания характеризуются высокой температурой плавления ( $>300^{\circ}\text{C}$ ). Рентгеноструктурный анализ пуриновых и пиримидино-оснований показал, что молекулы пиримидинов имеют плоское, а молекулы пуринов – псевдоплоское строение. Пурины и пиримидины представляют собой слабые основания с  $pK_a \sim 9,5$  (для азота шестичленного ароматического кольца). Важной особенностью пуриновых и пиримидиновых оснований (за исключением аденина) является их способность к лактам-лактимной таутомерии.

Так, урацил может находиться в форме как лактима, так и лактима:



**Нуклеозиды и нуклеотиды.** В нуклеиновых кислотах пуриновые основания через 9-й атом, а пиримидиновые – через 1-й атом образуют N-гликозидную связь с пентозой (рибозой в РНК и дезоксирибозой в ДНК). Такие соединения, в которых азотистые основания связаны с рибозой или дезоксирибозой посредством N-гликозидной связи называются нуклеозидами, а их эфиры с фосфорной кислотой – нуклеотидами (рис.2).

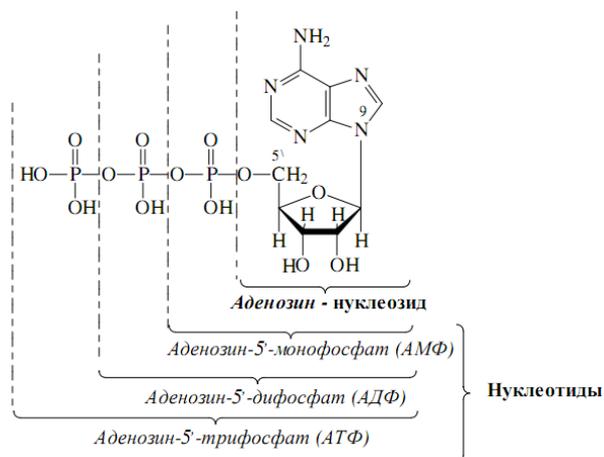


Рис. 2 Химическое строение нуклеотидов и нуклеозидов

Например, если аденин присоединен к рибозе, то образовавшееся соединение представляет собой нуклеозид аденозин. Если аденозин этерифицировать фосфорной кислотой в 5'-м положении, то образуется 5'-адениловая кислота (аденозин-5'-монофосфат), если в 3'-м положении – то 3'-адениловая кислота (адениозин-3'-монофосфат). Фосфорная кислота может также этерифицировать углевод по 2'- или 3'-

положениям. Кроме того, этерификация фосфорной кислотой приводит к образованию ди- и трифосфорных эфиров нуклеозидов, которые выполняют самостоятельную роль в обмене веществ и энергии в живых организмах. В результате образуются нуклеозидди- и нуклеозидтрифосфаты. Если в состав нуклеозида входит дезоксирибоза, то перед названием соответствующего нуклеотида ставится приставка дезокси (сокращенно д-), например, д-АТФ – это дезоксиаденозин-5'-трифосфат. Номенклатура нуклеозидов и нуклеотидов отражена в таблице 2.

По сравнению с исходными азотистыми основаниями кислотные-основные свойства нуклеотидов довольно сильно выражены, что объясняется легкой диссоциацией гидроксильных групп остатка (остатков) фосфорной кислоты в случае нуклеозидмонофосфатов (нуклеозидди- и трифосфатов, соответственно).

Таблица 2 Номенклатура нуклеозидов и нуклеотидов.

Азотистые основания	Нуклеозиды	Нуклеотиды	Сокращенное обозначение нуклеотидов
АДЕНИН	Аденозин	Аденозинмоно(ди-, три-)фосфат	АМФ, АДФ, АТФ
ГУАНИН	Гуанозин	Гуанозинмоно(ди-, три-)фосфат	ГМФ, ГДФ, ГТФ
ЦИТОЗИН	Цитидин	Цитидинмоно(ди-, три-)фосфат	ЦМФ, ЦДФ, ЦТФ
УРАЦИЛ	Уридин	Уридинмоно(ди-, три-)фосфат	УМФ, УДФ, УТФ
ТИМИН	Тимидин	Тимидинмоно(ди-, три-)фосфат	ТМФ, ТДФ, ТТФ

**Нуклеиновые кислоты.** Нуклеиновые кислоты представляют собой полинуклеотиды, построенные из мономеров – мононуклеотидов, число которых в молекуле колеблется от нескольких десятков до сотен миллионов. С помощью различных методов (химических, ферментативных, спектроскопических и др.) было доказано, что нуклеиновые кислоты всех типов живых организмов представляют собой линейные полимеры, имеющие неразветвленное строение. Такое описание нуклеиновых кислот может привести к представлению, будто нуклеиновые кислоты – это длинные одноцепочечные молекулы, однако в действительности их молекулы представляют собой структуры со сложной пространственной организацией (рис.).

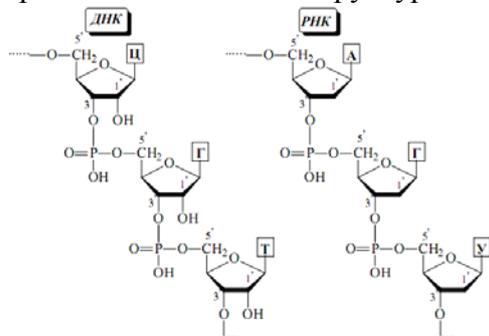


Рис. 3 Строение участка полинуклеотидной цепи ДНК и РНК

Роль соединительного мостика между нуклеотидами в молекулах нуклеиновых кислот выполняет 3',5'-фосфодиэфирная связь, соединяющая С-3'-атом пентозы одного нуклеотида и С-5'-атомом пентозы другого нуклеотида. Для удобства описания задается определенное направление полинуклеотидной цепи. Поскольку на одном из ее концов остается свободной 5'-ОН-группа (начало цепи), а на другом 3'-ОН-группа (конец цепи), то направление полинуклеотидной цепи записывают в виде 5'→3'. Нуклеиновые кислоты имеют сходство с белками в том, что из разных нуклеотидов (подобно аминокислотам) можно построить огромное количество нуклеиновых кислот, но в природе реализуются далеко не все возможные варианты.

### §3. Структурно-функциональная организация молекул днк

Как известно, основная биологическая роль ДНК сводится к хранению и передаче наследственной информации. Поэтому основное требование, которое Природа

предъявила к структуре молекул ДНК, заключается в стабильности ее структуры в физиологических условиях, обеспечивающей сохранность генетической информации. Несомненно, это возможно при определенной пространственной организации молекул ДНК, исследование особенностей которой позволяет наиболее четко представлять механизмы функционирования нуклеиновых кислот *in vivo*.

**Первичная структура ДНК.** Последовательность чередования нуклеотидов в полинуклеотидной цепи ДНК составляет ее первичную структуру. Для обозначения последовательности первичной структуры полинуклеотидной цепи используют однобуквенные символы образующих ее нуклеотидов, которые идентичны символам соответствующих азотистых оснований.

Определение первичной структуры ДНК – крайне сложная и трудная задача, так как размеры молекул огромны, но при этом она построена всего лишь из четырех типов нуклеотидов. Большие успехи в изучении структуры ДНК были достигнуты в результате работ Э. Чаргаффа с сотрудниками, которым впервые с помощью хроматографического метода (1950 г.) удалось определить нуклеотидный состав ДНК, выделенной из различных природных объектов.

Оказалось, что ДНК, выделенные из разных источников, существенно отличались по количественному нуклеотидному составу (табл. 22.4), но во всех случаях нуклеотидный состав молекул ДНК подчиняется универсальным закономерностям, которые получили название правил Чаргаффа (табл. 4).

#### П Р А В И Л А Ч А Р Г А Ф Ф А

<i>1 правило</i>	<i>2 правило</i>	<i>3 правило</i>	<i>4 правило</i>
Суммарное содержание пуриновых нуклеотидов равно суммарному содержанию пиримидиновых:	Содержание тимина равно содержанию аденина:	Содержание гуанина равно содержанию цитозина:	Количество аденина и цитозина равно количеству гуанина и тимина:
$A + G = C + U + T$	$A = T$	$G = C$	$A + C = G + T$

**Вторичная структура ДНК.** Расшифровка вторичной структуры ДНК – одно из крупнейших открытий молекулярной биологии, поскольку благодаря ему был раскрыт механизм передачи наследственной информации в ряду поколений. В 1953 г. американский биохимик Д. Уотсон и английский физик Ф. Крик на основании большого числа экспериментальных данных (картины дифракции рентгеновских лучей на нити ДНК) предложили модель структуры молекулы ДНК, существующей в водном растворе. В основе модели Уотсона и Крика заложены следующие основные положения:

1. Молекулы ДНК построены из двух полинуклеотидных цепей, ориентированных антипараллельно и по всей длине связанных друг с другом водородными связями (причем в образовании водородных связей участвует каждый мононуклеотид).

2. Водородные связи между цепями образуются за счет специфических взаимодействий остатка аденина одной цепи с остатком тимина другой цепи (пара А···Т) и остатка гуанина одной цепи с остатком цитозина другой цепи (пара Г···Ц). Образование водородных связей в парах А···Т и Г···Ц показано на рисунке 5

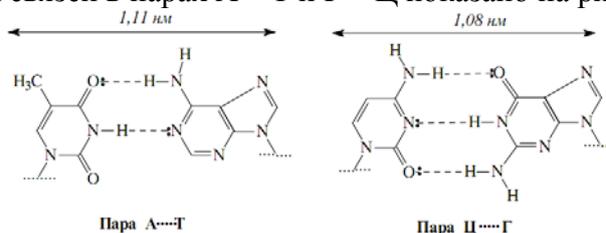
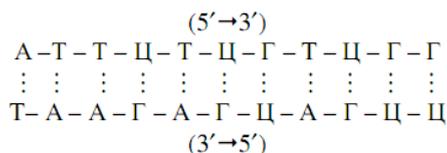


Рис. 5 Комплементарные пары азотистых оснований, стабилизирующие двойную спираль ДНК

Основания, образующие пару, являются комплементарными друг другу в том смысле, что возникновение водородных связей между ними наиболее вероятно, чем при других сочетаниях (например, А с Г или А с Ц). Комплементарность объясняется эффектами функциональных заместителей, которые имеют различное геометрическое расположение относительно плоскости гетероциклического кольца, а также пространственной структурой молекулы ДНК в целом.

3. Первичная структура одной цепи молекулы ДНК в составе двойной цепи комплементарна первичной структуре другой цепи. Это положение легко понять на примере следующей схемы:



Если в положении  $n$  (считая с 5'-конца) первой цепи находится остаток аденина, то в положении  $n$  (считая с 3'-конца) второй цепи находится комплементарный ему остаток тимина, а не другое азотистое основание. Таким образом, зная первичную структуру одной цепи ДНК и используя принцип комплементарности азотистых оснований, можно легко записать первичную структуру другой цепи.

4. Обе цепи закручены в спираль – двойная спираль или дуплекс, которая имеет общую ось (рис. ). При этом цепи могут быть разделены только путем раскручивания (такие спирали называют плектономическими). Азотистые основания обращены внутрь спирали; их плоскости перпендикулярны оси спирали и параллельны друг другу, образуя внутри спирали стопку оснований. Между основаниями в этой стопке возникают гидрофобные, или стэкинговские взаимодействия, которые, наряду с водородными связями, способствуют стабилизации структуры двойной спирали в пространстве. Азотистые основания упакованы очень плотно и не контактируют с окружающим водным раствором. Пентозофосфатные части располагаются по периферии, образуя ковалентный остов спирали с обращенными наружу гидрофильными фосфатными группами, как правило, ионизированными в условиях рН физиологических жидкостей. Именно взаимодействие гидрофильных пентофосфатных групп с окружающим водным раствором определяет степень гидратации молекул ДНК. В зависимости от степени гидратации молекулы ДНК могут существовать в двух формах: А и В. А-форма (кристаллическая) существует при условии, когда содержание воды не превышает 40% и образуется при дегидратации В-формы ДНК.



Рисунок 6. Схематичное изображение двойной спирали ДНК

Предполагается, что Z-форма ДНК участвует в процессе кроссинговера эукариот, а также в регуляции генной активности.

Один оборот спирали ДНК в А-форме содержит примерно 11 нуклеотидов. В-форма (паракристаллическая) представляет собой классическую уотсон-криковскую двойную спираль, содержащую примерно 10 нуклеотидов на один оборот спирали. Образование В-формы наблюдается в более разбавленных растворах, т.е. когда содержание воды превышает 40 %.

Две эти формы отличаются не только числом нуклеотидов на один оборот спирали, но и другими структурными особенностями. Предположительно, *in vivo* преобладает В-форма ДНК. Обнаружена еще и Z-форма ДНК, модель которой была предложена А. Ричем и его сотрудниками. Z-форма представляет собой левозакрученную двуспиральную ДНК, содержащую 12 нуклеотидов на один оборот спирали.

**Третичная структура ДНК.** В частицах вирусов, клетках бактерий и высших организмов, молекулы ДНК плотно «упакованы» и образуют довольно сложные структуры. Например, в хромосоме *E. coli* содержится молекула ДНК длиной более 1 мм, хотя длина самой клетки не превышает 5 мкм. Вирусную ДНК можно отнести к сравнительно мелким полимерным биомолекулам, но если ее вытянуть, то она окажется во много раз длиннее, чем сам вирус. Сопоставление среднего диаметра молекулы гемоглобина (65 Å), длины молекулы одного из самых длинных белков – коллагена (3 000 Å) с длиной молекулы ДНК подчеркивает огромные размеры молекул нуклеиновых кислот. Для измерения длины молекул нуклеиновых кислот в биохимии введена специальная единица длины, равная 1 000 пар нуклеотидов в случае двухцепочечных молекул нуклеиновых кислот – т.п.н. или kb (от англ. kilobase – тысяча) или 1000 нуклеотидов в случае одноцепочечных молекул – т.н. или kb. Так единица длины одноцепочечной ДНК величиной в 1 kb имеет контурную длину 0,34 мкм и массу около 660 000.

Выделенные из вирусных частиц молекулы ДНК имеют либо линейную, либо кольцевую форму. Линейные молекулы ДНК *in vivo* свертываются в плотный клубок. В таком состоянии они более устойчивы к деградации. Кольцевую ковалентно-связанную структуру имеют двухцепочечные ДНК бактерий, вирусов, плазмид, митохондрий и др. Двухцепочечные кольцевые ДНК легко переходят в суперспирализованное состояние, которое обеспечивает более плотную упаковку громадной молекулы ДНК в малом объеме ядра или клетки. Представление о возможных третичных структурах ДНК дает рисунок.

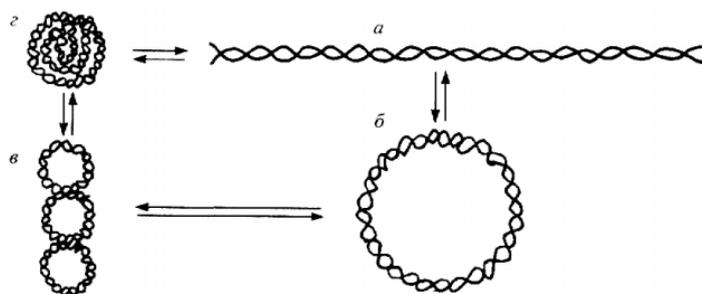


Рисунок 7. Третичная структура молекул ДНК: а) линейная, б) кольцевая, в) суперспиральная (суперкольцевая), г) компактный клубок.

#### §4. Структурно-функциональная организация молекул рнк

В связи с тем, что молекулы РНК имеют одноцепочечную структуру, их состав, в отличие от ДНК, не подчиняется правилам Чаргаффа. Поэтому, как вторичная, так и третичная структуры РНК не регулярны по строению. Поскольку все РНК являются копиями одной из цепей ДНК, то копирование участков, содержащих палиндромы, т.е. последовательности нуклеотидов, повторяющихся в обратном порядке, приводит к образованию так называемых «шпилек» в молекулах РНК. Молекулы РНК, в отличие от ДНК, отличаются большим структурным и функциональным разнообразием. По особенностям строения и выполняемым биологическим функциям различают три основных типа РНК:

1. Рибосомные РНК (рРНК) – компоненты рибосом. На долю рРНК приходится около 80% всей РНК клетки. Молекула рРНК имеет вторичной структуры в виде спиральных участков, соединенных изогнутой одиночной цепью (рис.). Третичная структура рРНК имеет форму палочки или клубка и составляет скелет рибосомы. Снаружи на нее нанизываются рибосомные белки.

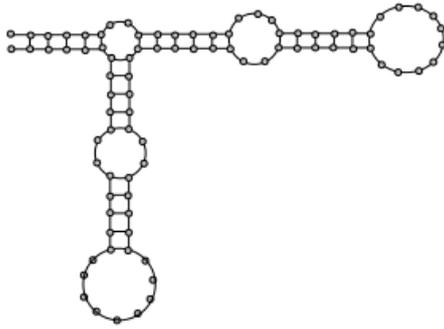


Рисунок 8. Вторичная структура р-РНК

2. Транспортные РНК (тРНК) составляют около 15% всей клеточной РНК. Обнаружено около десятка видов тРНК, различающихся по первичной структуре. Молекулярная масса тРНК составляет около 25 000. Характерной особенностью тРНК является наличие в ней редких (минорных) оснований. Вторичная структура тРНК имеет вид «клеверного листа» (рис. 9).

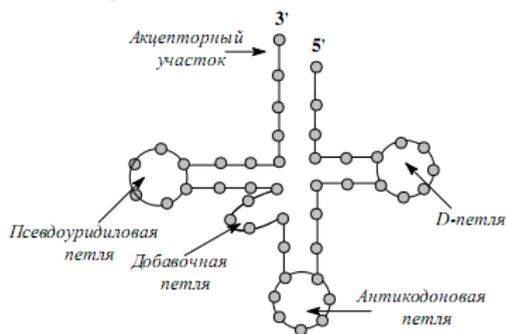


Рисунок 9. Вторичная структура тРНК

Она образуется вследствие внутрицепочечного комплементарного спаривания нуклеотидов отдельных участков тРНК. Участки тРНК, не образующие водородных связей между нуклеотидами, в пространстве организуются в петли или в линейные звенья. В молекуле тРНК выделяют следующие участки: акцепторный участок, состоящий из 4-х линейно расположенных нуклеотидов; антикодонавая петля, обычно образуемая 7-ю нуклеотидами; псевдоуридиловая петля, состоящая из 7 нуклеотидов и обязательно содержащая остаток псевдоуридиловой кислоты; D-петля, состоящая обычно из 8-10 нуклеотидных остатков, среди которых обязательно имеется несколько остатков дигидроурацила; добавочная петля, которая различна по размерам и составу у разных тРНК. Третичная структура тРНК уже имеет форму не клеверного листа, а локтевого сгиба, так как «лепестки» петель клеверного листка заворачиваются на «тело» молекулы, удерживаясь дополнительными внутримолекулярными ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями.

3. Матричные РНК (мРНК) составляют около 2% от всей РНК клетки. Имеется огромное количество мРНК, которые различаются по первичной структуре. Причем такое разнообразие мРНК не меньше, чем число белков в организме. Вторичная структура мРНК представляет собой изогнутую цепь, а третичная подобна нити, намотанной на катушку, роль которой играет особый транспортный белок – информофер.

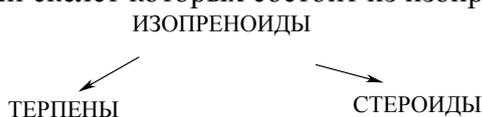
## Тема: Химия биологически активных соединений. Неомыляемые липиды: стероиды и стероидные гормоны

**Учебно-целевые задачи:** Изучить химический состав простых и сложных липидов. Провести качественные реакции на терпены ( $\alpha$ -пинен), стерины (холестерин, витамин D<sub>2</sub>, желчные кислоты).

### Перечень практических навыков.

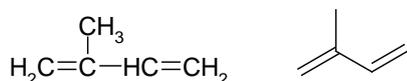
- ✓ самостоятельно работать со справочной и учебной литературой, превращать прочитанное в средство для решения типовых задач;
- ✓ активно использовать номенклатурные правила по органической и неорганической химии и номенклатуру органических и неорганических соединений;
- ✓ на основании периодического закона и строения электронных оболочек атомов прогнозировать свойства и взаимодействие химических элементов и их соединений, применяемых в фармации, и решать соответствующие этим превращениям количественные задачи;
- ✓ проводить простой учебно-исследовательский эксперимент на основе овладения основными приемами техники работ в лаборатории, выполнять расчеты, оформлять результаты, формулировать выводы
- ✓ методикой планирования и проведения эксперимента, включающего синтез и способы идентификации полученных веществ,

Изопреноиды – обширный класс природных веществ растительного и животного происхождения, углеродный скелет которых состоит из изопреновых фрагментов.



### §1. Терпены и терпеноиды

Терпены и терпеноиды - важнейшие компоненты эфирных масел. Название Терпены происходит от лат. «turpentine» — скипидар. Терпены — класс углеводородов, природных органических веществ, т.н. вторичные метаболиты растений. В очень больших количествах терпены содержатся в растениях семейства хвойные, особенно - в живице и смоле. Позже оказалось, что терпены — основной компонент смол и бальзамов, так, скипидар получают из сосновой, еловой или пихтовой живицы. Химики рассматривают терпены, как производные изопрена, т. е. формально состоящими из блоков C<sub>5</sub>H<sub>8</sub> с общей формулой (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>)<sub>n</sub> (т.н. «изопреновое правило»).



Звенья изопрена могут формировать цепочки и циклы. Тривиальная классификация терпенов производится по числу изопреноидных блоков в молекуле:

\*Монотерпены, C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>,

\*Сесквитерпены, C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>,

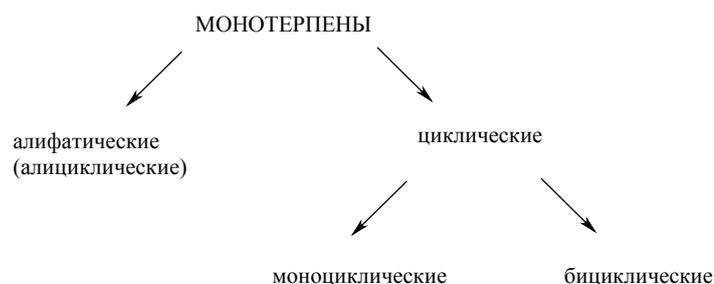
\*Дитерпены, C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>,

\*Тритерпены, C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>,

\*Тетратерпены, C<sub>40</sub>H<sub>60</sub>

Сопутствующие обычно терпены их производные часто наз. терпеноидами, по характеру функц. групп они разделяются на спирты, альдегиды, кетоны, сложные эфиры, пероксиды, к-ты и т.д. [напр., *борнеол*, *камфора*, (-)-*мен-тол*, *терпинеолы*].

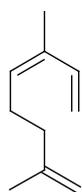
Каждый ряд терпенов разделяется на группы:



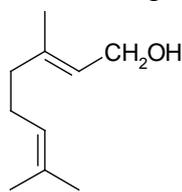
Некоторые терпены (цитраль, гераниол, ментол, лимонен), которые включены в международную классификацию GRAS (Generally Recognized As Safe), уменьшают рост раковых клеток, снижают уровень холестерина, ингибируют рост микроорганизмов и грибов. Три терпена – ментол, гераниол и фарнезол – являются сертифицированными добавками к табаку.

**Монотерпены** – состоят из двух изопреновых звеньев.

1) алифатические, или ациклические, – соединения с открытой цепью углеродных атомов; монотерпены этой группы включают три двойные связи.



оцимен (базилик)



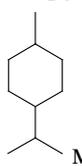
гераниол (гераниевое и розовое масла)

Гераниол – в основном используется в парфюмерии, но и как репеллент (отпугивающий насекомых). Однако, не смотря на то, что он отпугивает комаров, мух, вшей, тараканов и клещей, гераниол продуцируется железами медоносных пчел – пчелы «метят» богатые нектаром цветки и вход в улей.

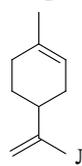
2) Карбоциклические – содержат одно или несколько колец углеродных атомов. По числу колец различают:

а) **моноциклические** – производные насыщенного ментана, его ненасыщенные (ментадиены, в т. ч. лимонен, терпинены, терпинолен и др.) и кислородсодержащие производные;

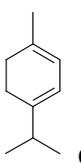
**лимонен** - относится к приятнопахнущим терпенам, с запахом лимона. Содержится в лимонном и тминном масле. Оптически активен. Рацемическая смесь d,l-лимоненов называется дипентеном. В природе существует в виде D-изомера (запах цитрус), L-изомер пахнет скипидаром



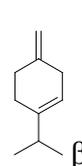
ментан



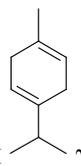
лимонен



α-терпинен

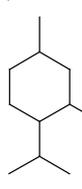


β-терпинен

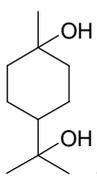


γ-терпинен

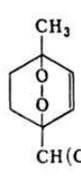
(лимонное масло)



ментол



терпин



аскаридол

**Ментол** – основной источник: масло различных сортов перечной мяты.

Применяют – компонент зубных паст и эликсиров, жевательной резинки. При втирании в кожу и нанесении на слизистые оболочки ментол вызывает раздражение нервных окончаний, сопровождающееся ощущением холода, легкого жжения и покалывания, оказывает легкое местное обезболивающее действие; обладает также слабыми антисептическими свойствами. Наружно назначают как болеутоляющее

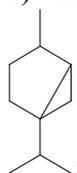
(отвлекающее) средство. При мигрени применяют также в виде карандаша ментолового. При воспалительных заболеваниях верхних дыхательных путей (насморк, фарингит, ларингит, трахеит и др.) назначают ментол для смазываний и ингаляций, а также в виде капель в нос.

**Терпин** выделяют из сосновых или еловых опилок в виде терпингидрата. В деревянный оцинкованный ящик с крышкой вместимостью около тонны засыпают опилки, заливают 25 % серную кислоту и скипидар. Перемешивают лопатами и оставляют на месяц при температуре ок 30 С. Уже через неделю терпингидрат вместе с опилками образуют твердую массу, которую при разгрузке ящика взламывают ломом.

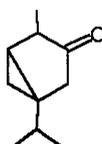
Терпингидрат применяют как отхаркивающее средство (таблетки).

Аскаридол - единственное пероксидное соед., встречающееся в природе: содержится в нек-рых эфирных маслах, в наиб. кол-вах - в масле из семян цитварной полыни (*Chenopodium anthelminticum*), откуда аскаридол. и выделяют вакуум-ректификацией. Аскаридол может быть получен фотоокислением 4-изопропил-1-метил-1,3-циклогексадиена ( $\alpha$ -терпинена). Применяют его как инициатор полимеризации и как противоглистное ср-во в медицине. ЛД<sub>50</sub> 0,2 г/кг (крысы, перорально); смертельная доза для ребенка 5 г.

б) бициклические монотерпены – производные ;

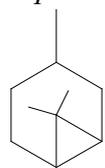


туйан (можжевельник)

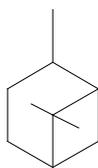


Туйон (полынь горькая) – обладает

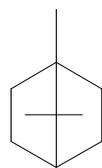
наркотическим действием.



каран

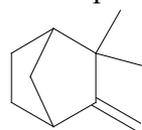


пинан



камфан (борнан)

Борнан в природе не встречается, но широко распространен в природе камфен - содержится в скипидарах хвойных пород, особенно в хвойных эфирных маслах, а также в кипарисовом, лавандовом, лимонном, фенхельном, валериановом и др. маслах

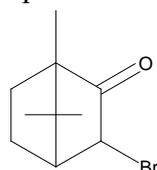


**камфен**

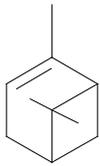
Взаимодействие камфена с бромистоводородной и хлористоводородной кислотами приводит к соответствующим изоборнилгалогенидам.

Последний при омылении р-ром NaOH превращают в изоборнеол и дальнейшим окислением в камфару.

**Обыкновенная камфара** находится в камфорном дереве, произрастающем в Японии и Китае, в различных его частях; чем старше дерево, тем больше в нем камфары; употребляют для добывания растения приблизительно 200-летнего возраста. Очищенная камфара усиливает сердечную деятельность, возбуждает центр. нервную систему, стимулирует дыхание и кровообращение. Камфара - кардиотонич. и аналептич. ср-во, компонент камфорного спирта и др. местных раздражающих и антисептич. препаратов; применяется в виде масляного р-ра.



В медицине используется также **3-бромкамфора** – успокаивающее и снотворное

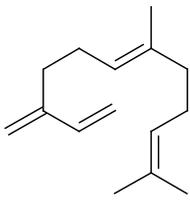


Наиболее важным и хорошо изученным представителем этой группы является  **$\alpha$ -пинен** – его используют для лечения мышечных болей (отвлекающее). Он широко распространен в природе и содержится в скипидарах и маслах, полученных из большинства хвойных деревьев. Скипидар получают перегонкой сосновой смолы с водяным паром. Твердый остаток смолы называют канифолью.

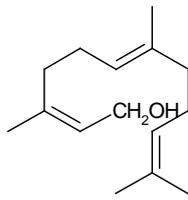
**Сесквитерпены** - группа *терпенов*, в которую входят углеводороды состава  $C_{15}H_{24}$ , а также их кислородные производные (спирты, альдегиды, кетоны), наз. часто сесквитерпеноидами; распространены в растениях, найдены в секреторных выделениях насекомых.

Сесквитерпены разделяются по числу углеродных колец и двойных связей: алифатические имеют 4 двойные связи, моноциклические-3, бициклические-2, трициклические-1, тетрациклические-0.

К алифатическим сесквитерпенам относятся соед. типа фарнезана,



фарнезен

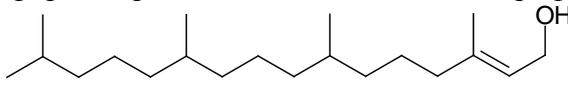


фарнезол (запах липы)

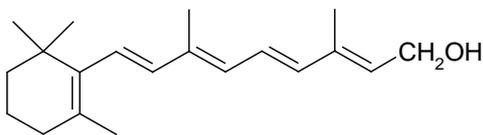
Фарнезол содержится в неролиевом, цитронелловом, розовом и мн. других цветочных маслах. Применяют как душистое в-во и фиксатор в парфюмерии, как сырье для получения репеллентов.

#### Дитерпены и Тетратерпены

К производным дитерпенов относятся, например, ациклический спирт фитол, сложный эфир которого — составная часть хлорофилла и циклический ретинол



фитол



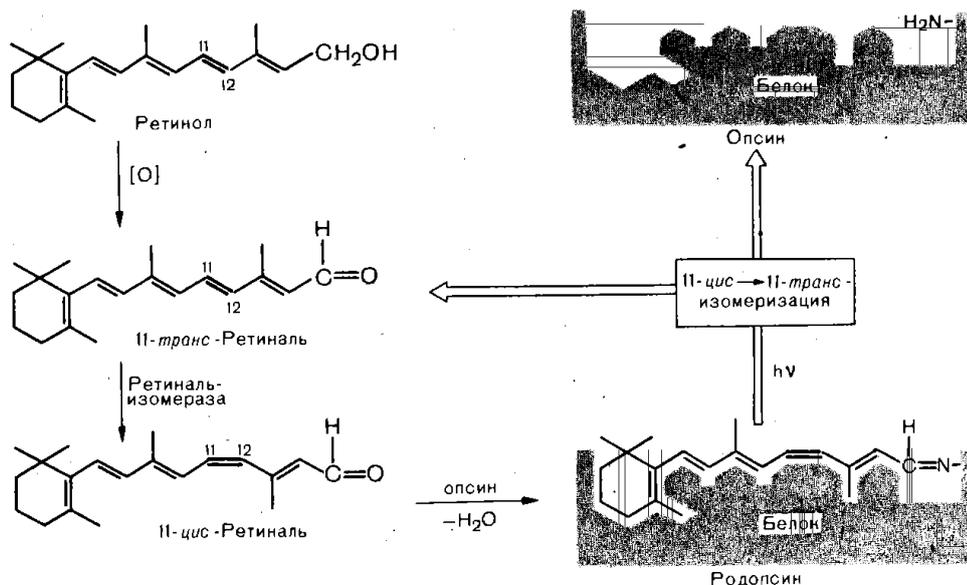
ретинол (вит А)

Витамин А участвует в окислительно-восстановительных процессах, регуляции синтеза белков, способствует нормальному обмену веществ, функции клеточных и субклеточных мембран, играет важную роль в формировании костей и зубов, а также жировых отложений; необходим для роста новых клеток, замедляет процесс старения. Он имеет огромное значение для фоторецепции, обеспечивает нормальную деятельность зрительного анализатора, участвует в синтезе зрительного пигмента сетчатки и восприятию глазом света.

Витамин А принимает участие в синтезе стероидных гормонов (включая прогестерон), сперматогенезе, является антагонистом тироксина - гормона щитовидной железы.

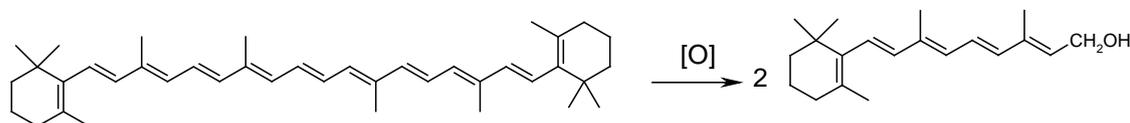
Как витамин А, так и  $\beta$ -каротин, будучи мощными антиоксидантами, являются средствами профилактики и лечения раковых заболеваний, в частности, препятствуя повторному появлению опухоли после операций.

Самым известным симптомом гиповитаминоза А является так называемая "куриная слепота" (ночная слепота или гемералопия) - резкое ухудшение зрения при пониженной освещенности.

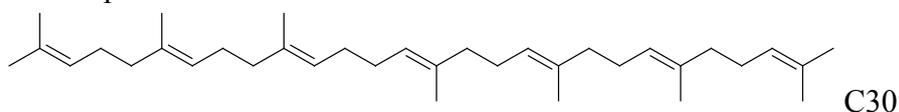


Роль ретинола в процессе зрительного восприятия изучена достаточно хорошо. В организме он окисляется в альдегид 11-транс-ретинол, который под действием фермента ретинальэстеразы превращается в 11-цис-ретинол, а затем связывается с белком палочек сетчатки опсином в иминосоединении с образованием светочувствительного пигмента родопсина. При поглощении света в результате фотоизомеризации ретинольный компонент родопсина переходит в 11-транс-ретинол, его конформация существенно изменяется, и он отделяется от опсина. Эта реакция служит пусковым механизмом, обеспечивающим возбуждение палочек сетчатки глаза. Среднему взрослому человеку следует ежедневно потреблять около 3300 МЕ витамина А. 1 мкг = 3,33 МЕ (Международные единицы).

Образуется в результате окислительного расщепления β-каротина - тетра-терпена:



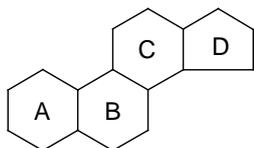
**Тритерпен** сквален найден в печени акулы. Установлено, что тритерпеновую структуру имеют также стеринны и гормоны, так, показано образование стероидного гормона холестерина из сквалена.



Используется в косметологии как компонент в увлажняющих кожу кремах.

## §2. Стероиды

Большой класс природных биологически активных соединений содержащих в структуре циклопентанпергидрофенантрен.



Стеран (гонан)

Согласно принятой номенклатуре, четыре кольца в молекуле стероидов обозначаются заглавными буквами латинского алфавита А, В, С, D. Стеран (гонан) имеет 6 хиральных центров, т.е. может существовать в виде 64 изомеров. Однако благодаря

высокой стереоспецифичности биоорганических реакций в природе встречаются стереоизомеры только одной конфигурации для каждого кольца.

Стероиды подразделяют на стерины, желчные кислоты, стероидные гормоны, стероидные сапонины, сердечные гликозиды и стероидные алкалоиды.

### Стерины (стеролы).

Стерины, обнаруженных практически во всех растениях, грибах и животных.

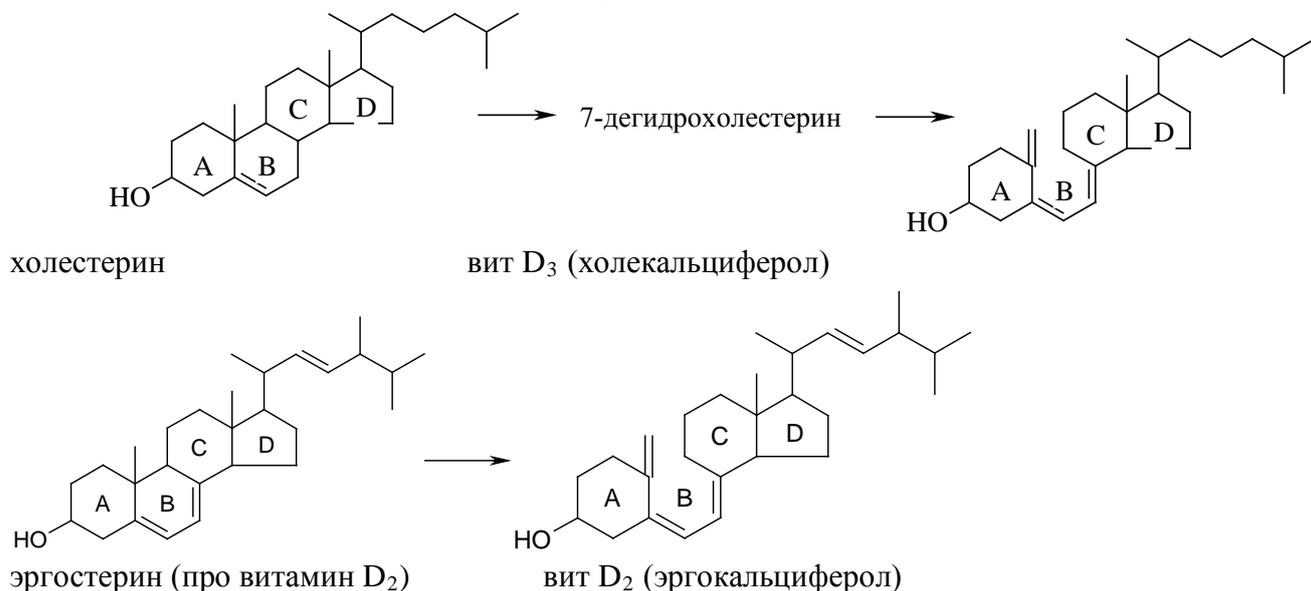
- Зоостерины. Это, в частности, известный всем **холестерин**, который служит исходным веществом для синтеза в организме всех стероидных гормонов.

Что касается холестерина, то на самом деле он крайне необходим для нормального функционирования целого ряда жизненно важных систем организма человека. Ведь он служит сырьем для производства всех стероидных гормонов, включая и половые стероиды. Другими словами, половые гормоны представляют собой не что иное, как видоизмененный холестерин. Частично он синтезируется в организме, частично - должен поступать с жирной пищей. Так у женщины, сидящих на безхолестериновой диете, пропадает менструация. Между прочим, современная бесхолестериновая диета ведет к раннему климаксу у женщин.

Всем известно, что холестерин может откладываться на стенках артериальных сосудов, сужая их просвет. И самое главное, несмотря на все эти титанические усилия, так и не удалось существенно снизить уровень заболеваемости атеросклерозом. Дело в количестве потребляемого холестерина. Нормальное содержание холестерина в крови 5,3-5,7 ммоль/л.

Конечно, избыток вреден – ведет к атеросклерозу. Но надо признать, что причины, по которым холестерин начинает атаковать стенки сосудов, до конца не выяснены. Женские половые гормоны (эстрогены) обладают антиатерогенным эффектом, то есть, исключают отложение холестерина на стенках сосудов. Именно поэтому женщины детородного возраста вполне защищены от атеросклероза.

Кроме того, из холестерина синтезируется известный витамин Д:



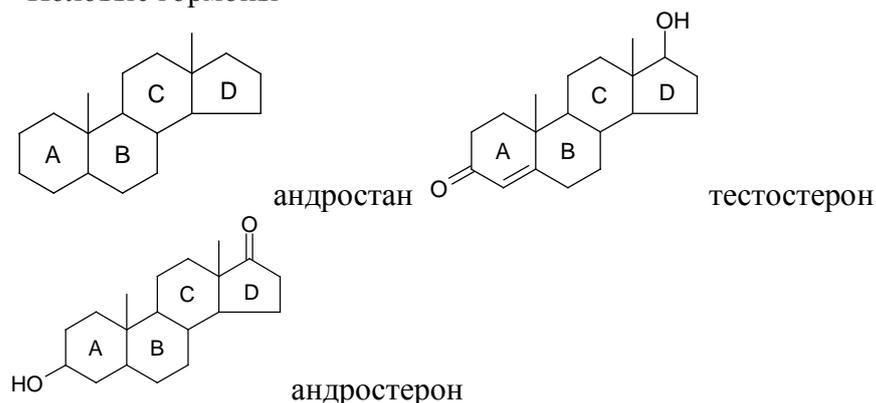
Витамин Д участвует в регуляции кальций-фосфорного обмена, усиливает всасывание Ca<sup>2+</sup> и фосфатов в кишечнике.

- Фитостерины содержатся в растениях - ситостерин

-Микостерины – стерины грибов

**Стероидные гормоны-** это стероиды, продуцируемые половыми железами (семенниками и яичниками) или влияющие на них. Сюда относятся андрогены, или мужские гормоны, главным из которых является тестостерон, и женские половые гормоны – эстрогены и прогестины (гестагены). Прогестины, включая прогестерон, участвуют в подготовке матки к беременности и в сохранении беременности.

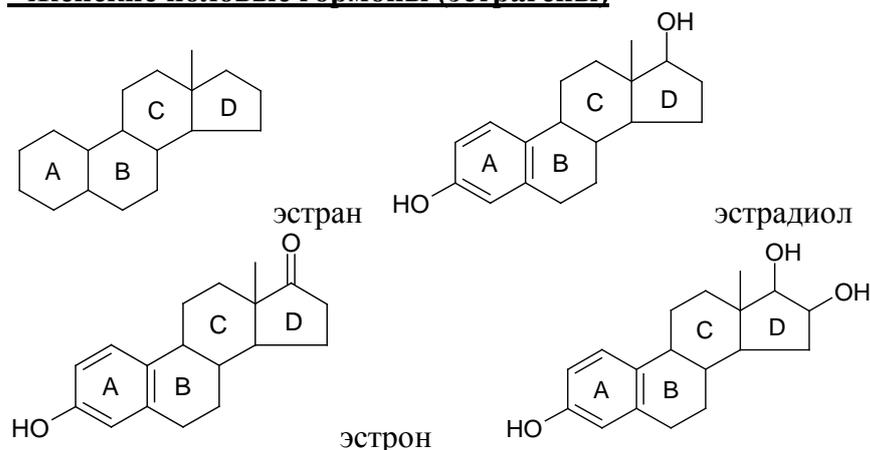
## - Половые гормоны



**Тестостерон** — наиболее важный представитель *андрогенов* (мужские половые гормоны). Он синтезируется клетками Лейдига в семенниках и контролирует развитие и функцию половых желез. Этот гормон отвечает также за развитие вторичных мужских половых признаков (развитие мускулатуры, волосяной покров и т.п.).

Андрогены благодаря их анаболической активности (проявляющейся в частности в наращивании мышечной и костной ткани) приобрели печальную известность среди спортсменов, для которых слово «стероид» стало означать именно мужские половые гормоны. Однако способность андрогенов, принимаемых в больших дозах, улучшать спортивную форму путем увеличения силы, выносливости и мускульной массы, остается предметом споров. Более того, избыточное употребление этих стероидов может вести к заболеванию печени и другим вредным побочным эффектам. Следствием "неправильного" действия анаболиков является гинекомастия (феминизация), или увеличение мужской груди и превращение ее в женскую. Другим "косметическим" действием анаболических стероидов является возникновение угрей. Причем угревая болезнь, возникающая на фоне "лекарственного бодибилдинга", не поддается обыкновенному лечению. Ну, а основным разочарованием является импотенция (хотя не всех это останавливает). В начале приема анаболиков отмечается усиление потенции и крепкая эрекция, но стоит только закончить прием этих средств, как наступает половое бессилие. Действие же стероидных анаболиков на детский организм вообще является сплошным побочным эффектом. Нарушения работы сердечно-сосудистой и мочевыводящей и половой систем.

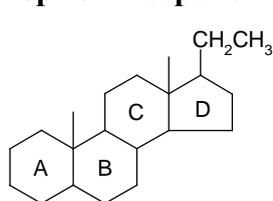
## - Женские половые гормоны (эстрагены)



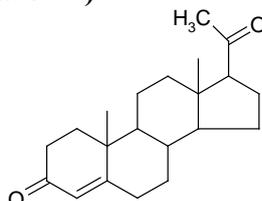
Например, **эстрадиол** регулирует менструальный цикл. В крови эстрогены находятся в виде комплексов с белками (нормальное содержание эстрагенов у человека менее 10 мкг/л как у женщин, так и у мужчин). Из организма они выводятся с мочой. У мужчин эстрагены выводятся равномерно, у женщин экскреция эстрагенов имеет два максимума — во время овуляции и в период максимальной активности *жёлтого тела*. Во время беременности, конц эстрагенов возрастает до 80 мкг/л. Эстрагены стимулирует

пролиферацию клеток слизистой матки, а также отвечает за развитие вторичных женских половых признаков (развитие молочных желез, характер жировых отложений и т.п.).

### Гормоны беременности (Гестагены)



прогестан

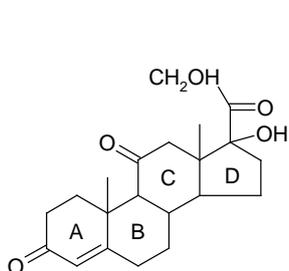


прогестерон

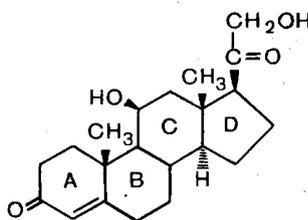
Женский половой гормон **прогестерон** образуется в желтом теле (*Corpus luteum*) яичников. Концентрация прогестерона в крови варьирует в соответствии с жизненным циклом. Прогестерон готовит слизистую оболочку матки к восприятию оплодотворенной яйцеклетки. После оплодотворения прогестерон начинает синтезироваться в плаценте, обеспечивая нормальное течение беременности.

**Кортикостероиды** Стероиды, выделяемые корой надпочечников, называются кортикоидами или кортикостероидами. Известно около 30 различных кортикоидов, подразделяемых на два обширных класса: минералокортикоидов и глюкокортикоидов. Первые регулируют минеральный, водно-солевой, обмен (например, химические процессы с участием натрия), вторые – углеводный (глюкозный) и белковый обмен.

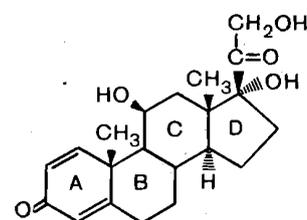
Функцией кортикоидов является в основном поддержание гомеостаза (постоянного, устойчивого внутреннего состояния организма), особенно в стрессовых ситуациях (при воспалительных процессах, обессоливании или голодании). Так, во время голодания кортикостероиды, стимулируя образование глюкозы из тканей тела, защищают жизненные функции мозга, зависящие от глюкозы как источника энергии. Одним из глюкокортикоидов, участвующих в поддержании гомеостаза, является кортизон, который широко используется при лечении артритов и других заболеваний как противовоспалительное средство.



кортизон



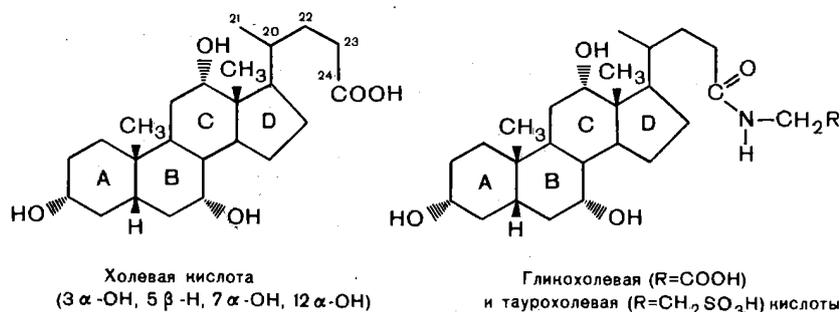
Кортикостерон



Преднизолон

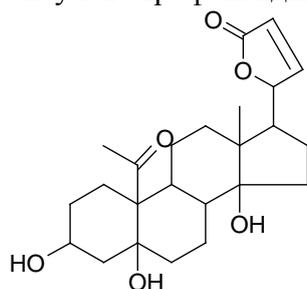
Кортикостерон действует как антагонист инсулина, повышая содержание глюкозы в крови. Преднизолон – синтетический кортикостероид, по действию превосходящий свои природные аналоги. Используется для лечения ревматизма, бронхиальной астмы и воспалительных процессов кожи. **Болезнь Аддисона** (президент США Кеннеди) обычно развивается медленно, в течение нескольких месяцев или лет, и симптомы её могут оставаться незамеченными или не проявляться до тех пор, пока не случится какой-либо стресс или заболевание, резко повышающее потребность организма в глюкокортикоидах. Наиболее частые симптомы болезни Аддисона: хроническая усталость, постепенно усугубляющаяся с течением времени; мышечная слабость; потеря веса и аппетита, депрессия. **Синдром гиперкортицизма** (*синдром Иценко-Кушинга, кушингоид*) включает в себя группу заболеваний, при которых происходит длительное хроническое воздействие на организм избыточного количества гормонов коры надпочечников, независимо от причины, которая вызвала повышение количества этих гормонов в крови. Наиболее ранним признаком болезни является ожирение, с типичным отложением жировой клетчатки в области лица, шеи, груди, живота., депрессии, психозы.

**Желчные кислоты** входят в состав желчи, важнейшей функцией которой является ускорение усвоения жиров в кишечнике (эмульгаторы). Они стимулируют моторику кишечника. Их бактериостатическое и противовоспалительное действие объясняет положительный эффект при местном применении желчи для лечения артритов. Почти все они – производные холановой кислоты, например холевая кислота, дезоксихолевая кислота и др.



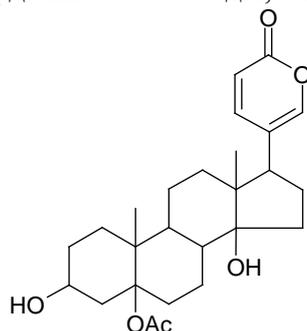
### Сердечные гликозиды

Карденолиды (гликозиды наперстянки) очень ядовитые вещества растительного происхождения, но в малых дозах они стимулируют сердечную деятельность. Используются для лечения сердечных и других заболеваний. Под действием кислот распадаются на сахара и агликон (стероид). Свободные агликоны сердечных гликозидов (генины) – сильные яды, которые в медицине не применяются; среди них наиболее хорошо изучен строфантин, его содержит ландыш.



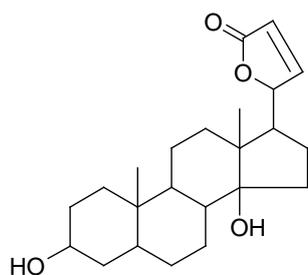
строфантин

Буфодиенолиды - Например, яды жаб, выделяемые кожными железами, используются в медицине. На сердце млекопитающих они оказывают такое же действие, как сердечные гликозиды, благодаря присутствующим в них стероидным буфогенинам.



буфоталин (европейская жаба)

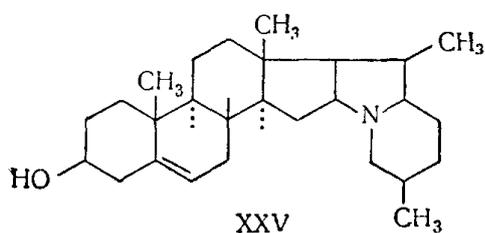
**Стероидные сапонины** – гликозиды растительного происхождения. Сапонины очень ядовиты для рыб. Для человека они ядовиты только при введении в кровь, а попадание их в желудочно-кишечный тракт безвредно. Сапонины при кислотном гидролизе распадаются на углеводы и агликоны – сапогенины. Для анализа и исследования стероидов большое значение имеет сапонин наперстянки – дигитонин, агликоном которого является стероидный сапогенин – дигитоксигенин.



ДИГИТОКСИГЕНИН

### Стероидные алкалоиды

Содержится в клубнях, листьях пасленовых (картофель). Токсичное вещество, используемое в с/х в качестве пестицида. Клубни картофеля, подвергшиеся облучению солнечными лучами, зеленеют. Сама по себе зеленая окраска указывает на присутствие хлорофилла, который не опасен, но это одновременно сигнал – такие клубни содержат повышенное содержание соланидина.



Соланидин