

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №21

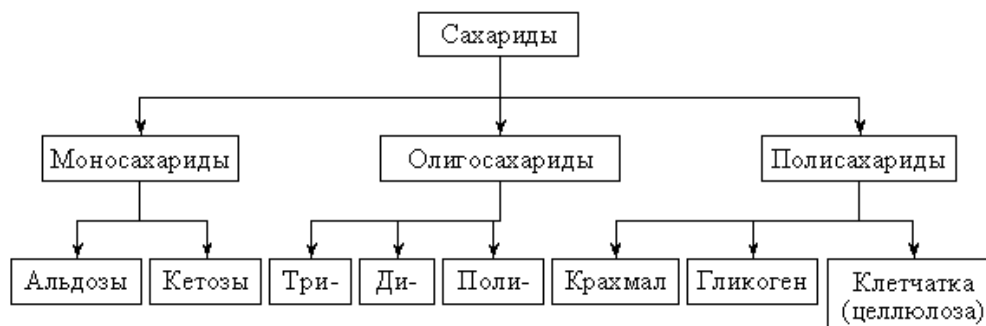
Тема: Углеводы: моносахариды, олиго- и полисахариды

Учебно-целевые задачи: Сформировать знания принципов строения и основных химических превращений важнейших углеводов во взаимосвязи с их биологическими функциями

Вопросы к занятию:

1. Общая характеристика и классификация углеводов.
2. Моносахариды, их стереоизомерия (D и L-ряды).
3. Цикло-оксотаутомерия. Формулы Хеурса, мутаротация.
4. Химические свойства моносахаридов: реакции по $>C=O$, OH-связи.
5. Глюкозидный гидроксил. Пентозы (ксилоза, рибоза) и гексозы (глюкоза, фруктоза, галактоза).
6. Олигосахариды. Дисахариды: лактоза, сахароза (строение, состав, цикло-оксотаутомерия).
7. Восстанавливающие и невосстанавливающие дисахариды. Виды O-гликозидной связи.
8. Полисахариды: крахмал, гликоген, целлюлоза, декстрины.
9. Гетерополисахариды и их роль в биологии и медицине.

Углеводы входят в состав клеток и тканей растительных и животных организмов. По массе углеводы составляют основную часть органического вещества на Земле. Углеводы в живой природе имеют большое значение как источники запасной энергии в метаболических процессах (в растениях – крахмал; в животных организмах – гликоген); структурные компоненты клеточных стенок растений (целлюлоза), бактерий (мурамин), грибов (хитин); составные элементы ряда жизненно важных веществ (нуклеиновые кислоты, коферменты, витамины). Некоторые углеводы и их производные являются лекарственными средствами. Углеводы составляют значительную долю пищи млекопитающих. Человек употребляет в сутки около 500 г углеводов.



Представитель углеводов – глюкоза – содержится в растительных соках, плодах, фруктах и особенно в винограде. Она является обязательным компонентом крови и тканей животных и человека. Уровень содержания глюкозы в крови человека постоянен и находится в пределах 3,3 – 5,5 ммоль/л. Во всем объеме крови взрослого человека содержится 5 – 6 г глюкозы. Такого количества достаточно для покрытия энергетических затрат

организма в течение 15 минут его жизнедеятельности. Пополнение содержания глюкозы в крови происходит за счет резервных углеводов (гликогена), запасаемых в печени и тканях. При некоторых патологических состояниях, например при заболевании сахарным диабетом, содержание глюкозы в крови повышается, и избыток ее выводится с мочой.

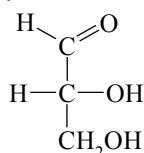
Источником углеводов для всех растений является фотосинтез. Животные организмы получают моносахариды из растительных источников, а затем используют их.

§ 1 Классификация углеводов

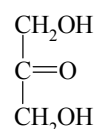
1. Моносахариды – это простейшие углеводы, которые не гидролизуются (глицериновый альдегид, рибоза, глюкоза).
2. Дисахариды подвергаются гидролизу и образуют два моносахарида (лактоза, сахароза, мальтоза).
3. Олигосахариды – сложные углеводы, при гидролизе дают от 2 до 10 молекул моносахаридов.
4. Полисахариды – высокомолекулярные углеводы, при гидролизе образуют сотни и тысячи молекул моносахаридов (крахмал, гликоген, гиалуроновая кислота, гепарин) и их производных.

Моносахариды являются полигетерофункциональными соединениями, в молекулах которых одновременно содержатся одна группа (альдегидная или кетонная) и несколько гидроксильных групп. Таким образом, с химической точки зрения моносахариды – это полигидроксиальдегиды или полигидроксикетоны.

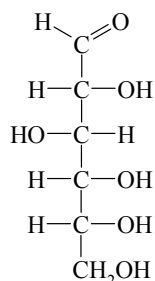
По характеру функциональных групп моносахариды делятся на Альдозы и Кетозы.



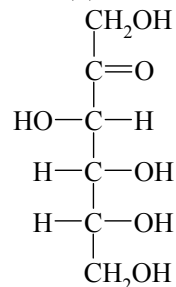
глицериновый альдегид (альдоза)



диоксиацетон(кетоза)



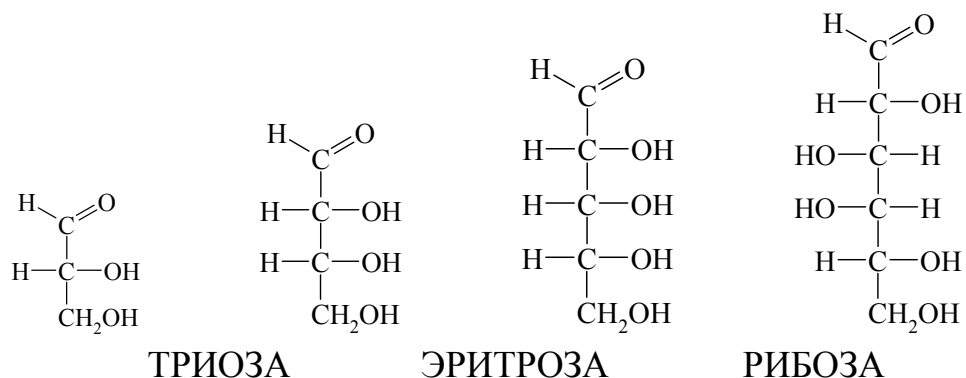
глюкоза (альдоза)



фруктоза (кетоза)

Изомеры глюкозы:

количеству углеродных атомов моносахариды делятся на триозы, тетрозы, пентозы, гексозы, гептозы.



ГАЛАКТОЗА

D- и L-моносахариды.

Природные сахара являются D-(+)-энантиомерами.

В молекулах моносахаридов обычно содержатся несколько ассиметрических (хиральных) центров, что служит причиной существования большого числа стереоизомеров. Э. Фишер и русский химик Розанов М.А. приписывали условно конфигурации D – и L – глицеральдегиду; как показали дальнейшие исследования, эти предположения совпадали с истинными конфигурациями (рисунок 21.1).

Рисунок 21.1

Стереоизомеры D – и L - глицеральдегида

$\begin{array}{c} \text{CHO} \\ \vdots \\ \text{H} \blacktriangleleft \text{C} \blacktriangleright \text{OH} \\ \vdots \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	← ЭНАНТИОМЕРЫ →	$\begin{array}{c} \text{CHO} \\ \vdots \\ \text{HO} \blacktriangleleft \text{C} \blacktriangleright \text{H} \\ \vdots \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
D(+)-глицериновый альдегид		L(-)-глицериновый альдегид

В соответствии с R, S – номенклатурой D – конфигурация соответствует R – глицеральдегиду, а α - S – глицеральдегиду.

Можно получить ряд альдоз с введением группы CH(OH) между альдегидной группой и хиральным атомом углерода одного из энантиомеров глицеральдегида. При этом образуются две диастереомерные тетразы, каждая из которых имеет R – конфигурацию при C₃ – углеродном атоме, но отличную конфигурацию при втором углеродном атоме.

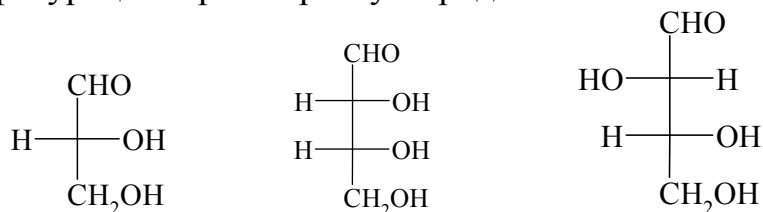
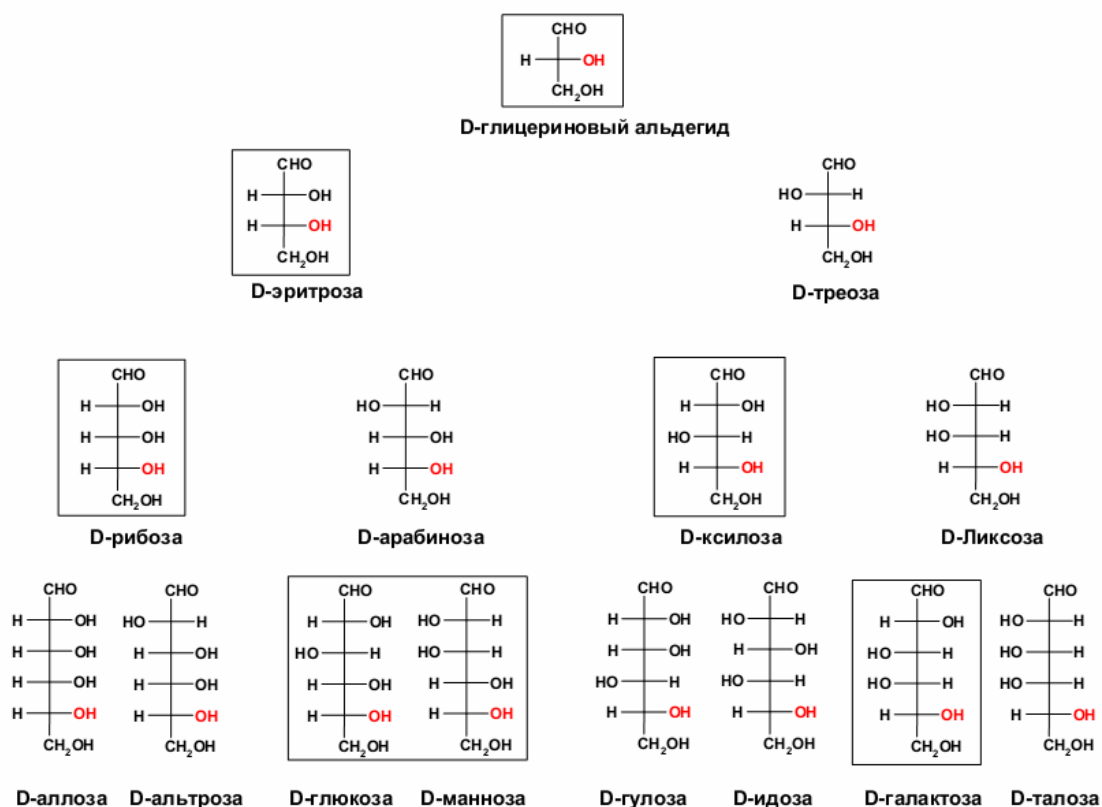


Схема 21.1 Семейство D-альдоз

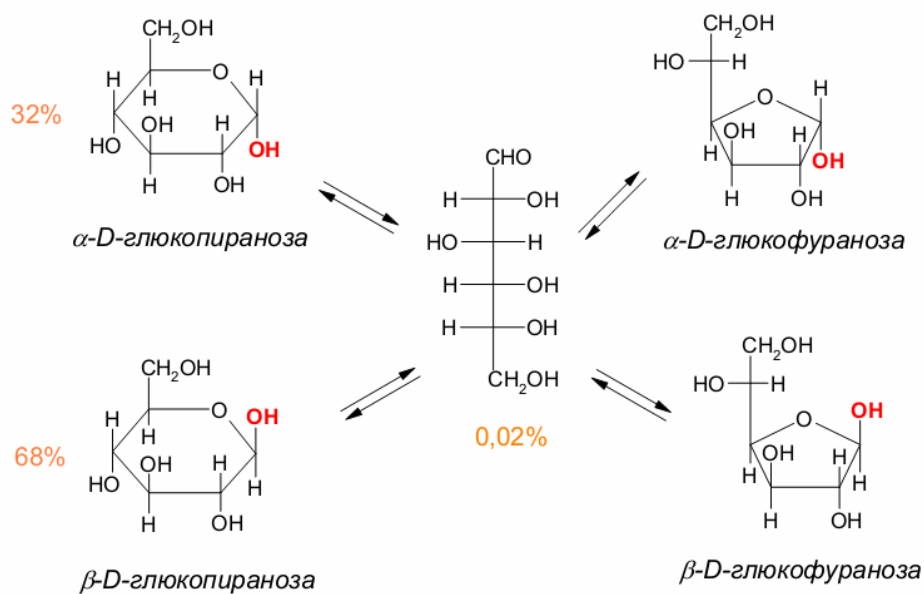


§ 2 Циклические структуры моносахаридов

Моносахариды могут существовать в циклической форме. Впервые предложение о циклическом строении глюкозы было высказано нашим соотечественником А.А. Колли (1870), а затем развито немецким ученым Б. Толленсом (1883).

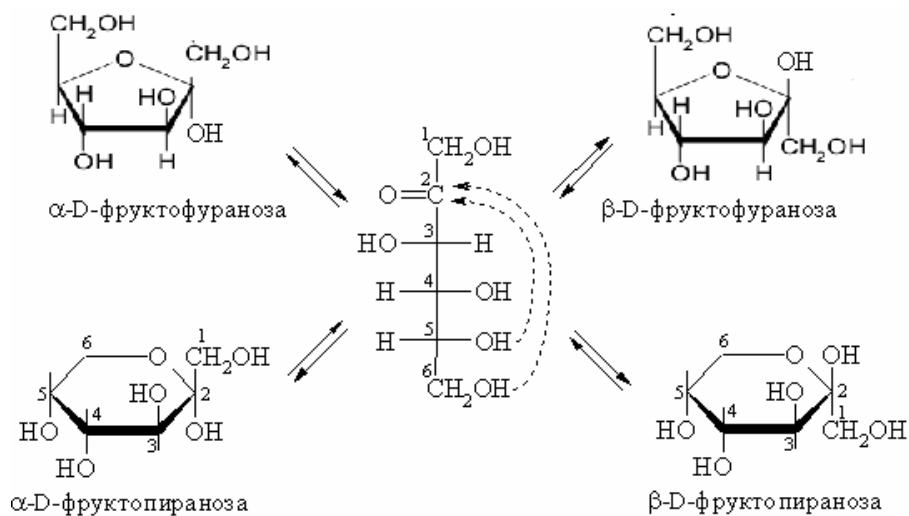
Пяти – и шестиуглеродные цепи углеводов могут иметь клешневидную конформацию и поэтому является возможным сближение в пространстве (в молекуле моносахарида) двух функциональных групп – альдегидной (или кетонной) и гидроксильной у С – 4 или С – 5. за счет их внутримолекулярного взаимодействия по механизму нуклеофильного присоединения образуется циклический полуацеталь (рисунок 21.2, 21.3).

Рисунок 21.2



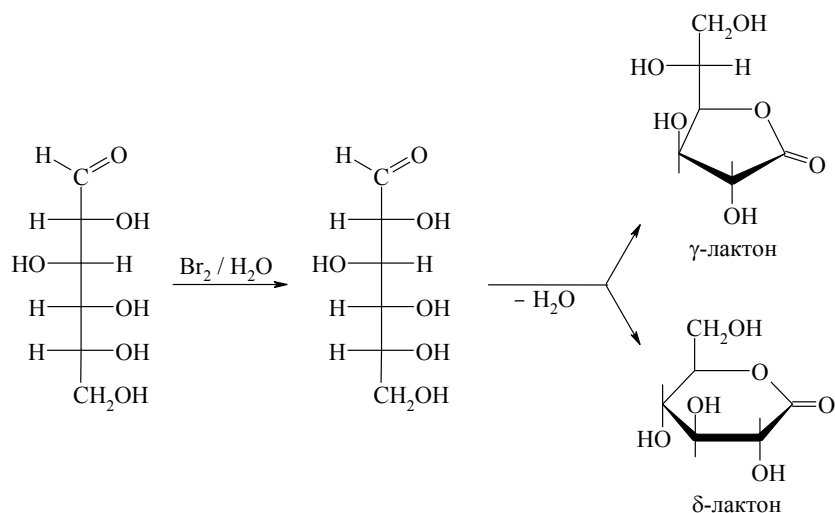
Гидроксил при первом углеродном атоме, образующийся в результате циклизации, называется полуацетальным. Для D – глюкозы характерен пиранозный цикл.

Рисунок 21.3

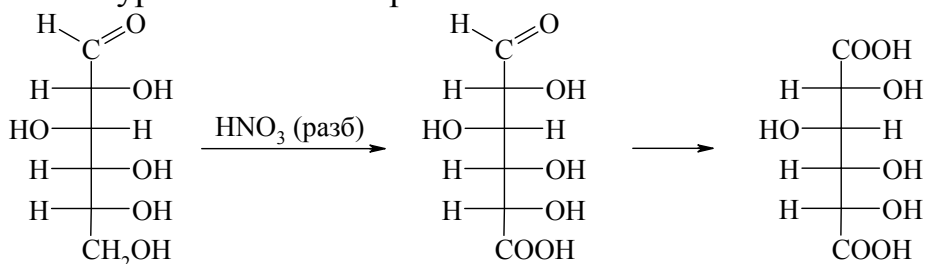


§ 3 Химические свойства моносахаридов

1. Реакции окисления глюкозы в нейтральной, кислой среде (HOBr) – образуются гликоновые кислоты (из Д-глюкозы – Д-гликоновая кислота)



2. С помощью сильного окислителя – разбавленной азотной кислоты образуются глюкуроновая и гликаровая кислоты:

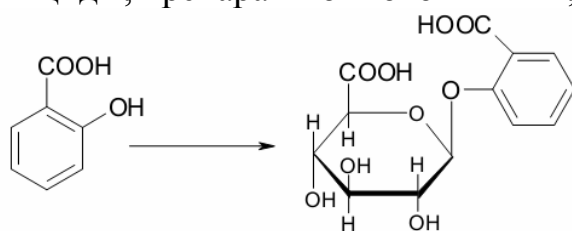


Д – глюкоза

Д – глюкуроновая кислота

Д – гликаровая кислота

Уроновые кислоты выполняют важную биологическую функцию – вывод из организма ксенобиотиков и токсичных веществ. Ксенобиотики – чужеродные для организмов соединения (промышленные загрязнения, пестициды, препараты бытовой химии, лекарственные средства и т. п.).



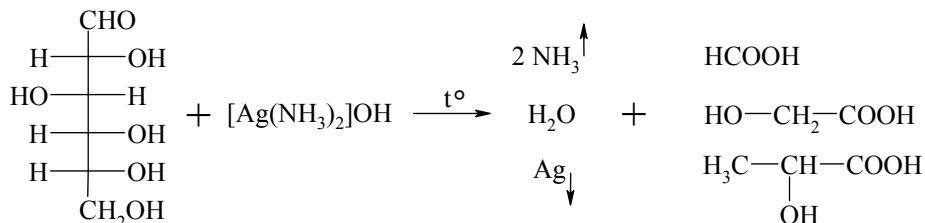
салициловая кислота

глюкуронид салициловой кислоты

Глюкурониды хорошо растворимы в воде и выводятся с мочой, отсюда происходит название уроновых кислот (лат. *urina* - моча). Уроновые кислоты также являются компонентами метаболического пути уроновых кислот, в ходе которого синтезируется аскорбиновая кислота (у человека не синтезируется) и являются мономерами различных полисахаридов (пектиновые вещества, гепарин, гиалуроновая кислота, хондроитин, гепарин и т.д.).

3. Окисление глюкозы в щелочной среде. Моносахариды в щелочной среде неустойчивы, поэтому при их окислении получается смесь карбоновых кислот с меньшим числом атомов «С»:

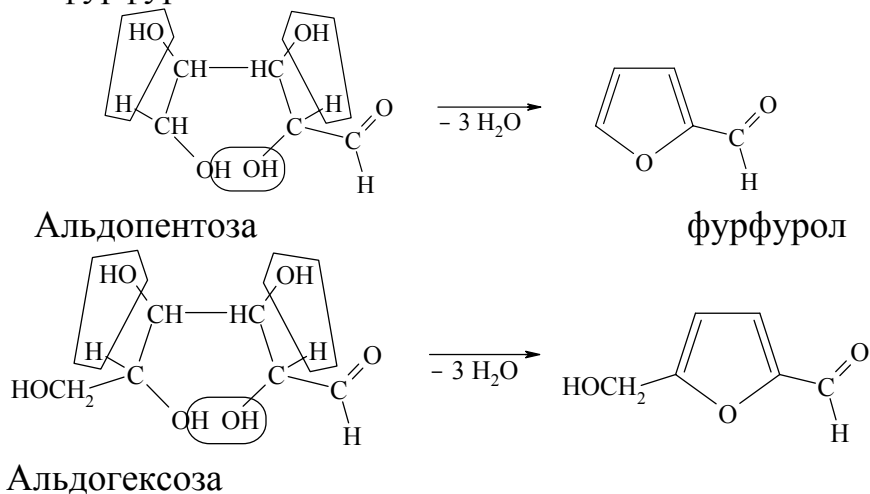
Реакция Толленса



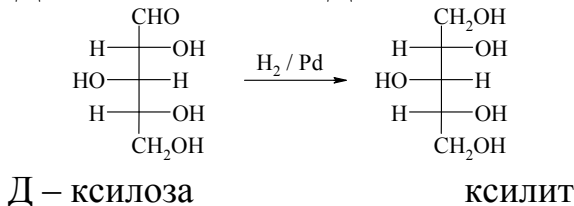
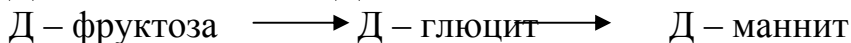
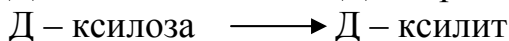
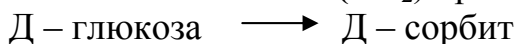
Моносахариды окисляются реактивом **Троммера**, $(\text{Cu}(\text{OH})_2)$ и реактивом **Фелинга** (медный алкогольат сегнетовой соли), содержащими катионы меди (II). Принцип действия реактивов одинаков и основан на восстановлении одновалентной меди (I) Cu_2O из двухвалентной меди и выпадении Cu_2O в осадок:



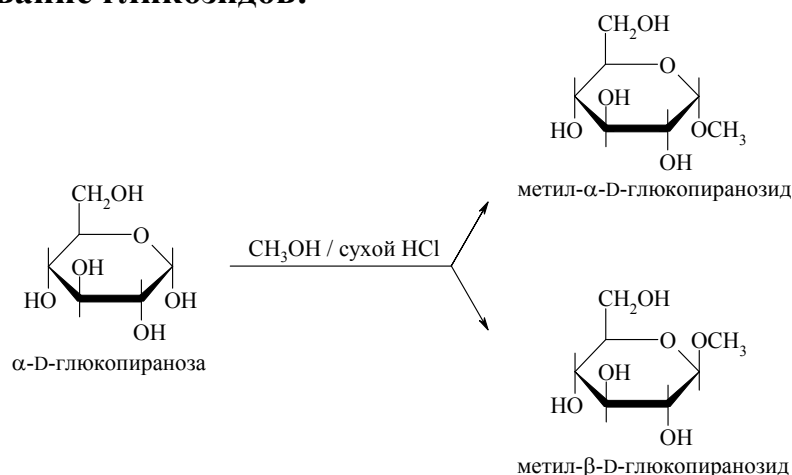
4. Дегидратация. При нагревании с минеральными кислотами (HCl), происходит дегидратация моносахаридов (отщепление трех молекул воды). Альдопентозы образуют фурфурол, альдо- и кетогексозы – 5-гидроксиметилфурфурол:



5. Восстановление (с H_2) приводит к образованию многоатомных спиртов:

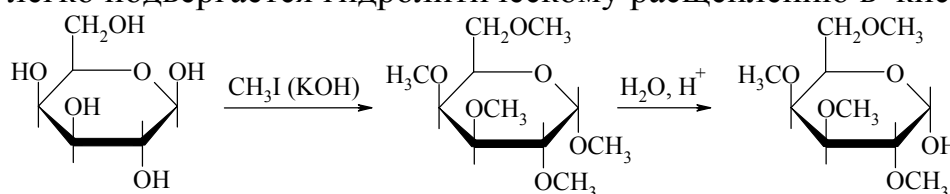


1. Образование гликозидов:



2. Образование простых эфиров.

Получаются при взаимодействии спиртовых гидроксильных групп моносахаридов с алкилгалогенидами (метилюдид, этилиодид и др.). Одновременно в реакцию вступает и гликозидная гидроксильная группа, образуя гликозид. Простые эфиры не гидролизуются, а гликозидная связь легко подвергается гидролитическому расщеплению в кислой среде.



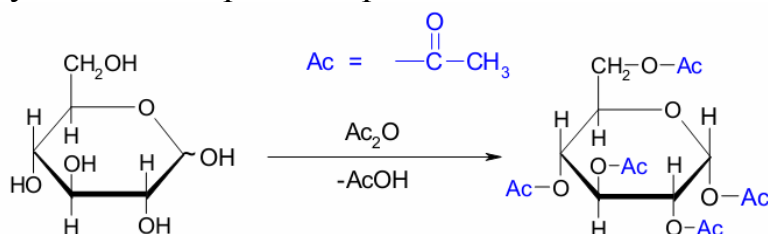
β-D-галактопираноза метил-2,3,4,6-тетра-¹-O-метил 2,3,4,6-тетра-O-метил

Д – галактопиранозид

Д-галактопираноза

3. Образование сложных эфиров

Одним из способов образования сложных эфиров является взаимодействие спиртов и ацилирующих агентов, таких как ангидриды кислот и хлорангидриды. Аналогичным образом моносахариды легко ацилируются ангидридами кислот. Например, взаимодействие глюкозы с уксусным ангидридом приводит к пентаацетильного производного:

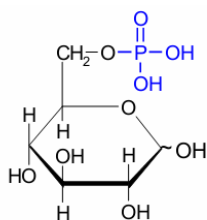


D-глюкопираноза

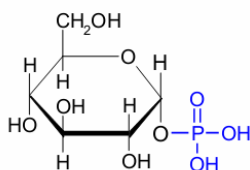
1,2,3,4,6-пентаацетал-D-глюкопираноза

Наибольшее значение имеют эфиры моносахаридов и фосфорной кислоты. Фосфаты рибозы и дезоксирибозы являются структурными компонентами и нуклеиновых кислот – ДНК и РНК. Фосфаты глюкозы, фруктозы и других моносахаридов имеют большое значение в биологической химии. Гликолиз, брожение, цикл Кальвина (темновая фаза фотосинтеза),

пентозофосфатный цикл, синтез ди- и полисахаридов идут с участием фосфатов.

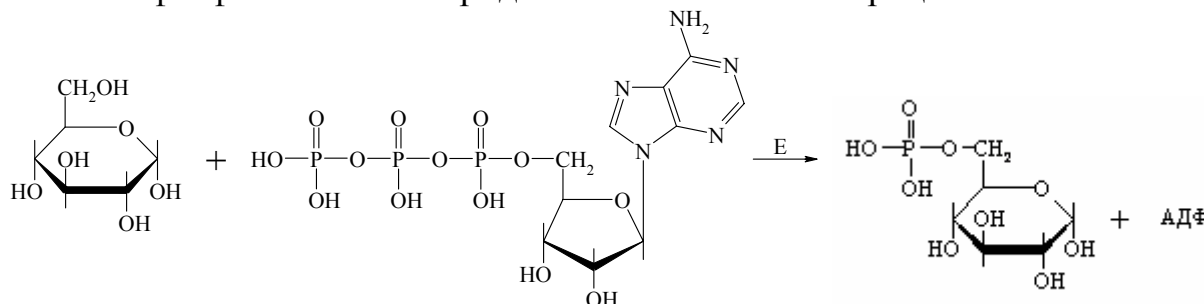


D-глюкозо-6-фосфат



D-глюкозо-1-фосфат

Участие фосфатов моносахаридов в биохимических процессах



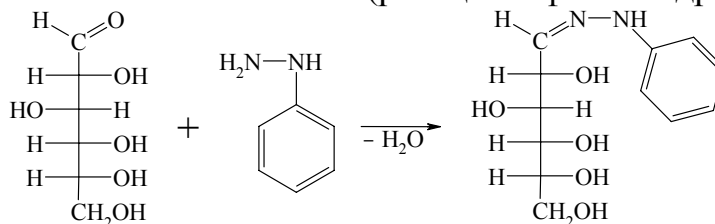
D-глюкопираноза

АТФ

6 – фосфат -*D*-глюкопиранозы

Эфиры серной кислоты являются структурными элементами хондроитин-сульфата (полисахарид соединительной ткани) и гепарина (антикоагулянт).

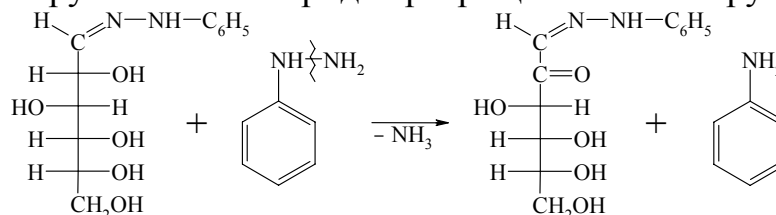
4. **Образование озона глюкозы (реакция с фенилгидразином).**



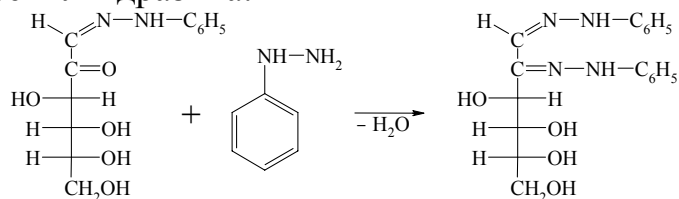
D – глюкоза

фенилгидразон *D* – глюкозы

Далее фенилгидразон окисляется второй молекулой фенилгидразина, который при этом восстанавливается, превращаясь в анилин и аммиак, при этом спиртовая группа моносахарида превращается в кетогруппу:



Продукт окисления фенилгидраза взаимодействует с третьей молекулой фенилгидразина с образованием озона, содержащего в молекуле уже два остатка фенилгидразина:



ОЗОН ГЛЮКОЗЫ

10. Важнейшим свойством моносахаридов является их **ферментативное брожение**, т.е. распад молекул на осколки под действием различных ферментов. Брожению подвергаются в основном гексозы в присутствии ферментов, выделяемых дрожжевыми грибами, бактериями или плесневыми грибами. В зависимости от природы действующего фермента различают реакции следующих видов:

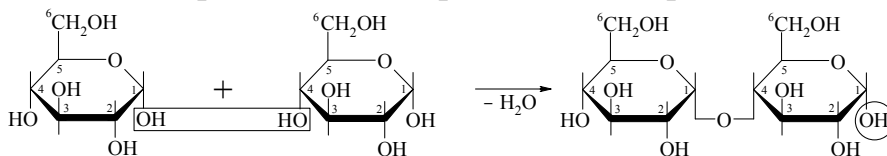
- а) спиртовое брожение $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$
этанол
- б) молочно-кислое брожение $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CH_3-CH(OH)-COOH$
молочная кислота
- в) масляно-кислое брожение $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow C_3H_7COOH + 2CO_2 + 2H_2O$
масляная кислота
- г) лимонно-кислое брожение $C_6H_{12}O_6 + O_2 \longrightarrow$
 $\longrightarrow HOOC-CH_2-C(OH)(COOH)-CH_2-COOH + 2H_2O$
лимонная кислота
- д) ацетон-бутанольное брожение $2C_6H_{12}O_6 \longrightarrow C_4H_9OH + CH_3-CO-CH_3 + 5CO_2 + 4H_2$
бутанол ацетон

В живом организме в процессе метаболизма глюкоза окисляется с выделением большого количества энергии:



11. Образование дисахаридов:

Обращая схема строения дисахарида:

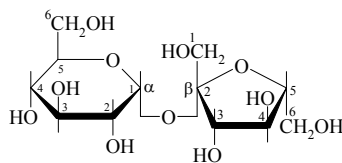


§4. Олигосахариды. Восстанавливающие и невосстанавливающие дисахариды

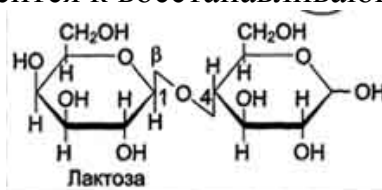
Олигосахариды содержат несколько (от двух до десяти) остатков моносахаридов, соединённых гликозидной связью. Дисахариды - наиболее распространённые олигомерные углеводы, встречающиеся в свободной форме, т.е. не связанной с другими соединениями. По химической природе дисахариды представляют собой гликозиды, которые содержат 2 моносахарида, соединённые гликозидной связью в α - или β -конфигурации. В пище содержатся в основном такие дисахариды, как сахароза, лактоза и мальтоза.

Сахароза - дисахарид, состоящий из α -D-глюкозы и β -D-фруктозы, соединённых α,β -1,2-гликозидной связью. В сахарозе обе аномерные OH-группы остатков глюкозы и фруктозы участвуют в образовании гликозидной связи. Следовательно, сахароза не относится к восстанавливающим сахарам. Сахароза - растворимый дисахарид со сладким вкусом. Источником сахарозы служат растения, особенно сахарная свёкла, сахарный тростник. Последнее

объясняет возникновение тривиального названия сахарозы - "тростниковый сахар". **Сахароза**-невосстанавливающий дисахарид: α - Д - глюкопиранозил - 1,2 β - Д - фруктофуранозид:



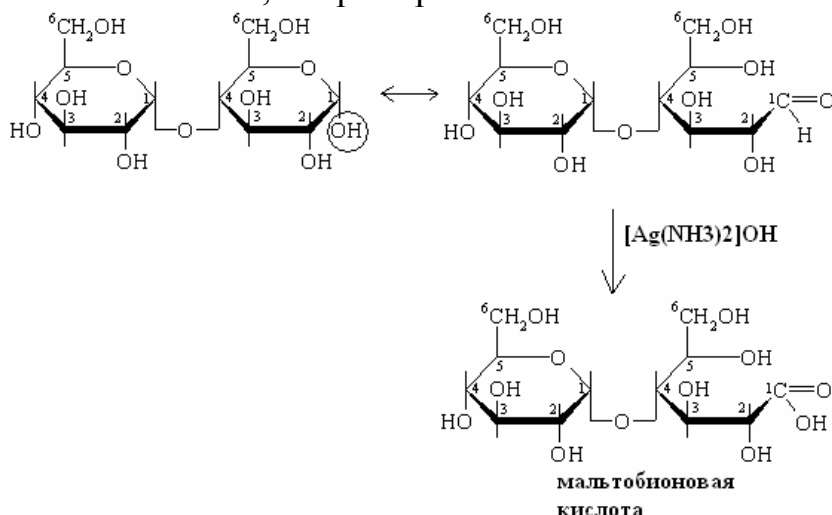
Лактоза - молочный сахар; важнейший дисахарид молока млекопитающих. В коровьем молоке содержится до 5% лактозы, в женском молоке - до 8%. В лактозе аномерная ОН-группа первого углеродного атома остатка D-галактозы связана β -гликозидной связью с четвертым углеродным атомом D-глюкозы (β -1,4-связь). Поскольку аномерный атом углерода остатка глюкозы не участвует в образовании гликозидной связи, следовательно, лактоза относится к восстанавливающим сахарам.



Мальтоза поступает с продуктами, содержащими частично гидролизованный крахмал, например, солод, пиво. Мальтоза также образуется при расщеплении крахмала в кишечнике. Мальтоза состоит из двух остатков D-глюкозы, соединённых α -1,4-гликозидной связью.

Мальтоза - восстанавливающий дисахарид, его международное (систематическое) название α - Д(+)-глюкопиранозил-1,4 α - Д(+)-глюкопираноза)

Основным свойством восстанавливающих дисахаридов является способность восстанавливать окислители, например

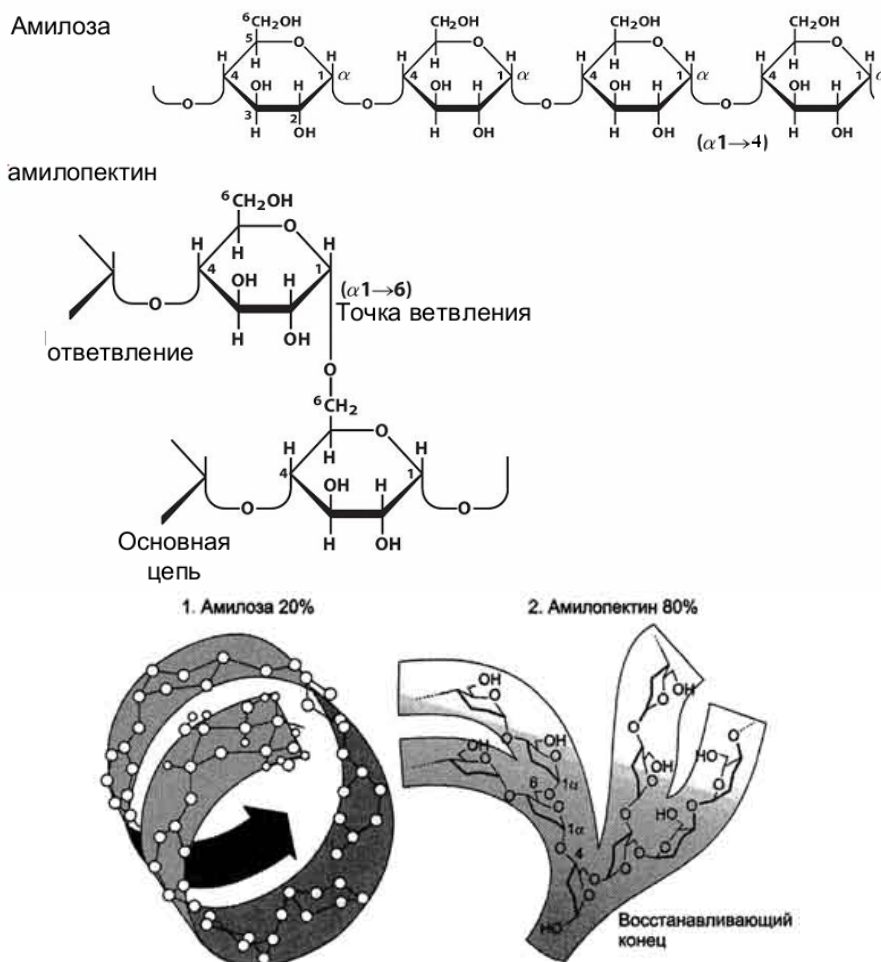


Также восстанавливающие углеводы образуют эфиры, озоны, могут быть восстановлены.

§ 4 Полисахариды. Гомополисахариды

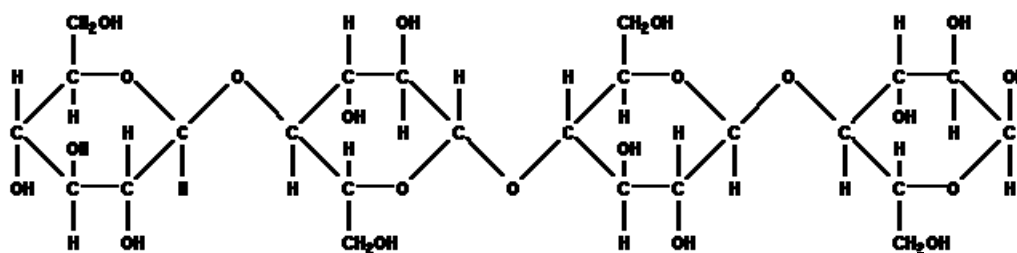
Крахмал ($C_6H_{10}O_5$)_n – представляет собой смесь двух гомополисахаридов, построенных из - Д – глюкозы: амилозы (10-20%) и амилопектина (80-90%). В амилозе глюкопиранозные остатки связаны α - 1,4 гликозидной связью. Цепь амилозы линейная, включает 200-1000 глюкозных остатков, молекулярная масса 40000 – 160000.

Амилопектин имеет разветвленное строение. Моносахаридные звенья связаны α -1–6 гликозидной связью. Молекулярная масса амилопектина достигает 1-6 млн. Кислотный гидролиз крахмала даёт только α - Д-глюкозу.



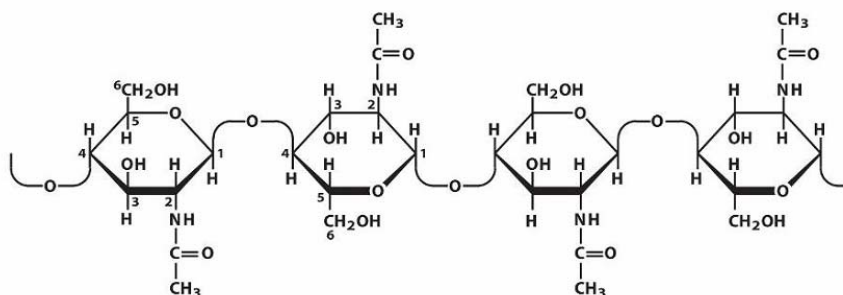
Гликоген (животный крахмал) в животных организмах является структурным и функциональным аналогом растительного крахмала. По строению он подобен амилопектину, но имеет ещё большее разветвление цепей. Сильное разветвление молекулы способствует выполнению гликогеном энергетических функций, так как только при наличии большого числа концевых остатков можно обеспечить быстрое отщепление нужного количества молекул глюкозы.

Целлюлоза (клетчатка) – наиболее широко распространенный полисахарид растительного мира, имеет линейное строение. Мономером является β – Д(+)-глюкоза. β – 1,4 гликозидные связи не гидролизуются в организме человека.



Хитин - второй (после целлюлозы) по распространенности природный биополимер, добываемый из полностью возобновляемого природного сырья. Он входит в состав опрных тканей и внешнего скелета членистоногих (ракообразных и паукообразных), насекомых, оболочек клеток микроорганизмов и грибов, где хитин находится в комплексе с белками и минеральными солями.

Хитин представляет собой линейный полисахарид, неразветвленные цепи которого состоят из элементарных звеньев 2-ацетонида-2-дезоксид-Д-глюкозы, соединенных 1,4-б-гликозидной связью.

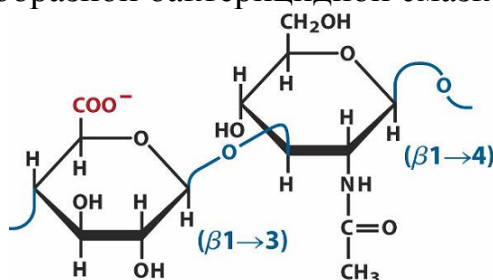


1. Гетрополисахариды

Это сложные углеводы, состоящие из двух и более моносахаридов, чаще всего связаны с белками или липидами.

Гиалуроновая кислота.

Линейный полимер, состоит из глюкуроновой кислоты и ацетилглюкозамина. Входит в состав клеточных стенок, синовиальной жидкости, стекловидного тела, обволакивает внутренние органы, является желеобразной бактерицидной смазкой.



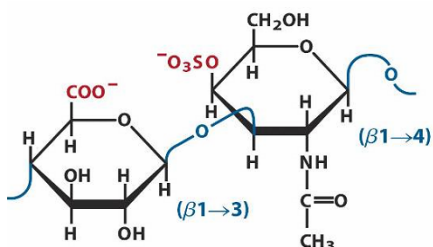
Гиалуроновая кислота связывает воду, поэтому межклеточное пространство приобретает характер желеобразного «матрикса», способного поддерживать клетки. Структура гиалуроновой кислоты в виде геля является своеобразным биологическим фильтром, задерживая крупные частицы и молекулы, попавшие в организм. В клетках организма содержится специальный фермент – гиалуронидаза, который, выделяясь в межклеточное пространство, может повышать межклеточную проницаемость. Поэтому

гиалуронидазу называют фактором проницаемости. В здоровом организме гиалуроновая кислота и гиалуронидаза находятся в равновесии. При некоторых заболеваниях активность фермента повышается и гиалуроновая кислота разрушается. Гиалуронидазу секретируют некоторые патогенные микроорганизмы, это способствует распространению патологического процесса на соседние ткани. Препараты этого фермента используются в медицинской практике для рассасывания рубцов.

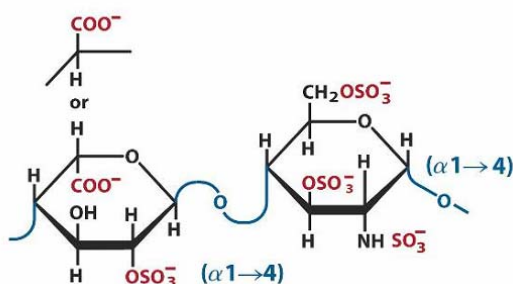
Глюкуроновая кислота содержится в разных органах. Много ее в коже, стекловидном теле глаза, хрящах, синовиальной жидкости суставов. В тканях и жидкостях гиалуроновая кислота образует комплекс с белком. Однако доля белка колеблется от 2 до 20 – 30 %.

Хондроитинсульфаты.

Разветвленные полимеры, состоят из глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина. Служат основными структурными компонентами хрящевой ткани, сухожилий, роговицы глаза; содержатся также в костях и коже.



Гепарин – естественный антикоагулянт (противосвертывающее средство), синтезируется в печени. Он обнаруживается на поверхности многих клеток, однако является внутриклеточным компонентом тучных клеток.



В отличие от остальных гетерополисахаридов, гепарин не является структурным компонентом межклеточного вещества. Он вырабатывается тучными клетками соединительной ткани и выделяется при их распаде (цитоллизе) в межклеточное пространство и кровеносное русло. В крови гепарин нековалентно соединяется со специфическими белками. Комплекс гепарина с гликопротеинами плазмы проявляет противосвертывающую активность.

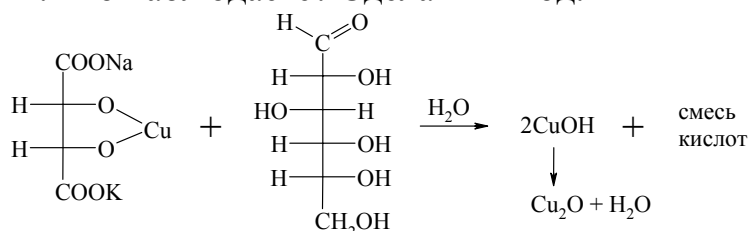
§ 5 Лабораторная работа "Углеводы"

Опыт № 1 Реакция Толленса (реакция «серебряного зеркала»)

Реакцию проделать с раствором глюкозы. Что наблюдаете? Записать уравнения реакций, сделать вывод. (см. Альдегиды).

Опыт № 2 Реакция Фелинга (реакция на восстанавливающие свойства углеводов)

Реакцию проделать с глюкозой, мальтозой и лактозой. В 3 пробирки взять по 5 капель соответствующих углеводов. Добавить по 4 капли реактива Фелинга. Нагреть. Что наблюдаете? Сделать вывод.

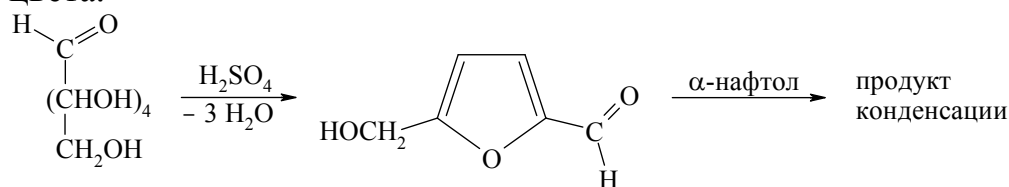


Опыт № 3 Реакция глюкозы с $\text{Cu}(\text{OH})_2$

В пробирку взять 5 капель CuSO_4 и 20 капель NaOH . К свежесозданному осадку прибавить 3 капли глюкозы. Написать уравнения хим. реакций. Сделать вывод.

Опыт № 4 Реакция Молиша – универсальная на все углеводы

Реакцию проделать с глюкозой, лактозой, сахарозой и крахмалом. К 3-4 каплям р-ра углевода добавить 2-5 капель р-ра альфа – нафтола и наслоить по стенке конц. H_2SO_4 до образования фиолетового кольца. Реакция основана на образовании оксиметилфурфурона из гексоз при дегидротации и который при концентрации с альфа-нафтолом даёт продукт фиолетового цвета.



Опыт № 5 Ферментативный гидролиз крахмала

В 2 пробирки взять по 1 мл р-ра крахмала. В одну добавить 0,5 мл слюны, в другую 0,5 мл воды. Через 3 минуты в обе пробирки добавить по капле йода. Что наблюдаете? Сделать вывод. Записать схему гидролиза крахмала под воздействием амидазы слюны

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №22

Тема: Нуклеозиды и нуклеотиды. Нуклеиновые кислоты: ДНК и РНК.

Строение 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.

Вопросы к занятию:

1. Пуриновые и пиримидиновые основания. Лактим-лактаманная таутометрия.
2. Нуклеозиды: строение, строение и номенклатура. Рибонуклеозиды и дезоксирибонуклеозиды.
3. Нуклеотиды: строение и номенклатура.
4. Нуклеиновые кислоты: строение и биороль.
5. Строение нуклеозидомоно-, ди-, трифосфатов. Аденозинтрифосфат.
6. Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Первичная и вторичная структура нуклеиновых кислот.
7. Рибонуклеиновая кислота (РНК), её строение.
8. Роль ДНК и РНК в биохимических процессах.

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, 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.

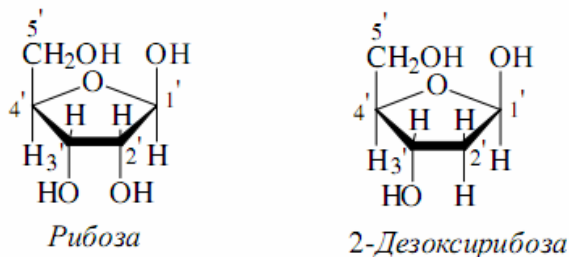
Исследование нуклеиновых кислот и нуклеопротеинов позволяет понимать механизмы возникновения инфекционных заболеваний, поскольку по химической природе функциональная часть любого вируса есть ни что иное, как нуклеопротеин. Поэтому борьба с многочисленными вирусными заболеваниями невозможна без глубокого 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_4 , 100°C или 25% HCOOH , 75°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.

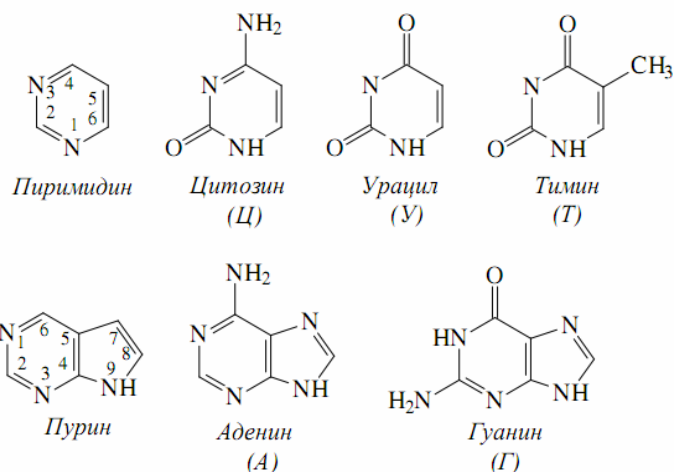
Моносахариды. Все нуклеиновые кислоты в зависимости от входящего в их состав моносахарида можно подразделить на два основных типа. Если в состав нуклеиновой кислоты входит рибоза, то она называется рибонуклеиновой кислотой (РНК), а если 2-дезоксирибоза, то дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК). Пентозы 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 С-5' или 5'). Замена атома водорода на гидроксильную группу при С-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 С-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:

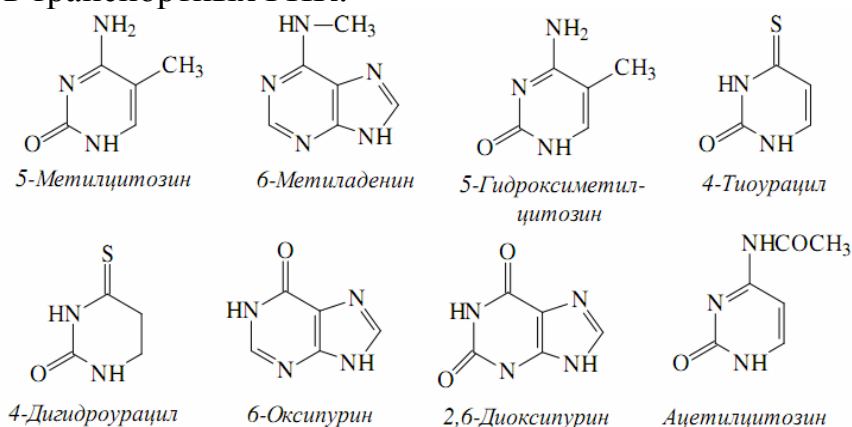


Аденин, гуанин, цитозин и тимин входят в состав молекул ДНК. В отличие от ДНК, в РНК вместо тимина присутствует урацил. Одинаковые и отличающиеся структурные компоненты молекул ДНК и РНК приведены в таблице 22.1.

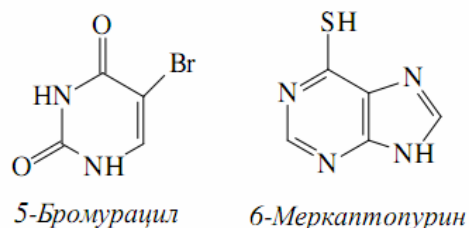
Таблица 22.1 Одинаковые и отличающиеся компоненты ДНК и РНК.

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-диоксипуриин, 6-оксипуриин, ацетилцитозин и др.) содержится в транспортных РНК:



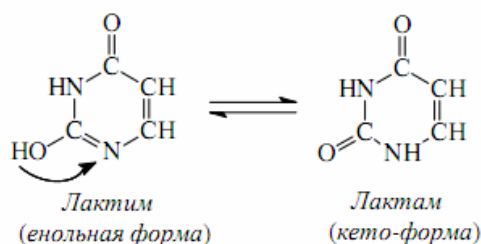
Из азотистых оснований неприродного происхождения можно отметить 5-бромурацил (сильный мутаген) и 6-меркаптопуриин (противоопухолевое средство):



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 лактама:



Нуклеозиды и нуклеотиды. В нуклеиновых кислотах пуриновые основания через 9-й атом, а пиримидиновые – через 1-й атом образуют N NN 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.

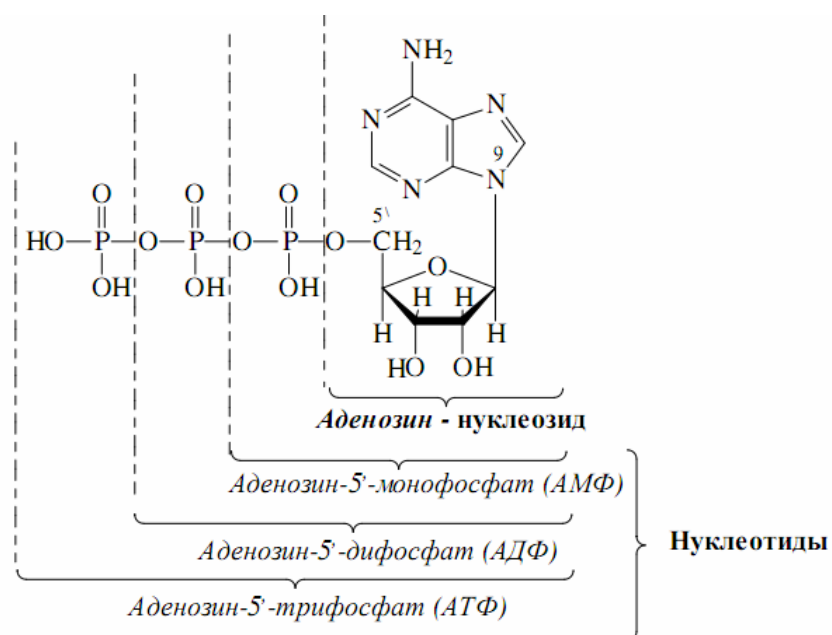


Рисунок 22.1. Химическое строение нуклеотидов и нуклеозидов

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 кислотно-основные свойства нуклеотидов довольно сильно выражены, что объясняется легкой диссоциацией гидроксильных групп остатка (остатков) фосфорной кислоты в случае нуклеозидмонофосфатов (нуклеозидди- и трифосфатов, соответственно).

Таблица 22.2 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 – моонуклеотидов, 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).

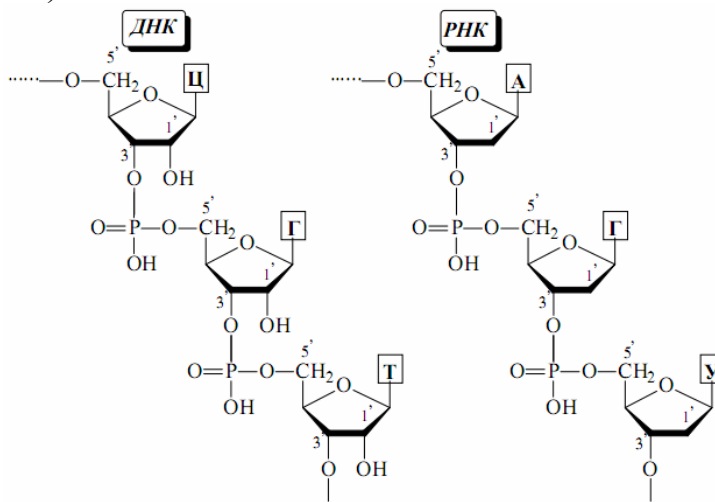


Рисунок 22.2. Строение участка полинуклеотидной цепи ДНК и РНК

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 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), но во всех случаях нуклеотидный состав молекул ДНК подчиняется универсальным закономерностям, которые получили название правил Чаргаффа (табл. 22.3).

Таблица 22.3. Правила Чаргаффа

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. 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 моонуклеотид).

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 22.4.

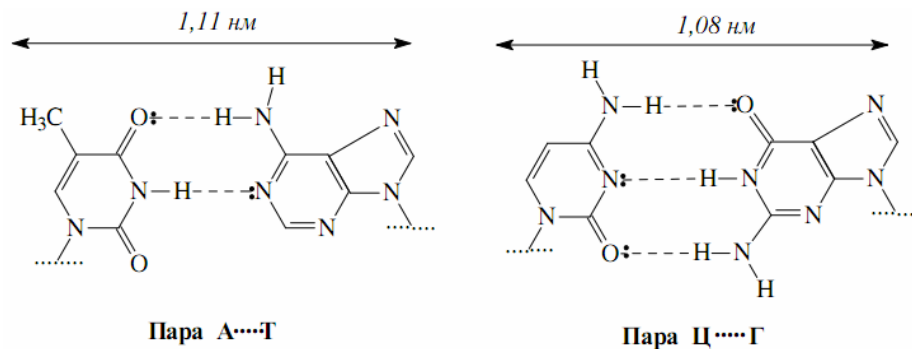
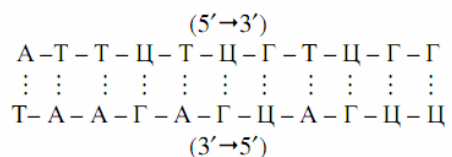


Рисунок 22.4. Комплементарные пары азотистых оснований, стабилизирующие двойную спираль ДНК

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. 22.4). При этом цепи могут быть разделены только путем раскручивания (такие спирали называют плектонемическими). 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 стэкинговзаимодействия, 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 содержания воды не превышает 40% и образуется при дегидратации В-формы ДНК.

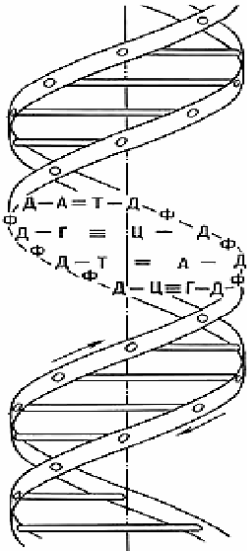


Рисунок 22.4. Схематичное изображение двойной спирали ДНК

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.

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

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 22.5.

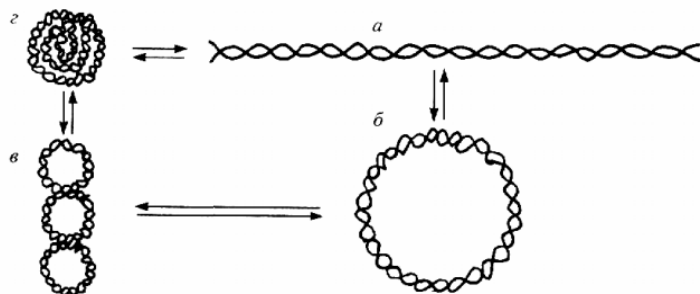


Рисунок 22.5. Третичная структура молекул ДНК: а) линейная, б) кольцевая, в) суперспиральная (суперкольцевая), г) компактный клубок.

§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. 22.6). Третичная структура рРНК имеет форму палочки или клубка и составляет скелет рибосомы. Снаружи на нее нанизываются рибосомные белки.

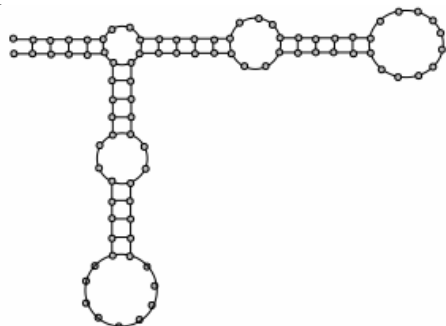


Рисунок 22.6. Вторичная структура р-РНК

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. 22.7).

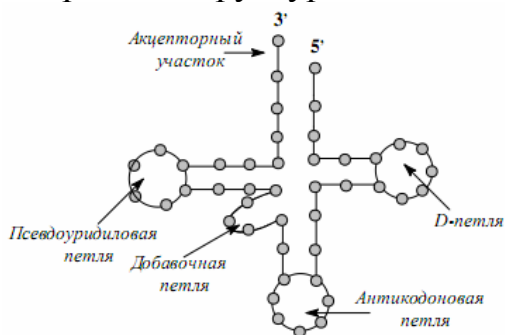


Рисунок 22.7. Вторичная структура тРНК

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; псевдоурициловая петля, состоящая из 7 нуклеотидов и обязательно содержащая остаток псевдоурициловой 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.

§ 5. Лабораторная работа «Гидролиз нуклеиновых кислот»

Опыт 1. Гидролиз фракции, содержащей нуклеопротеины. В пробирку для гидролиза (широкую длинную, снабженную пробкой с обратным холодильником) помещают 0,5 г пекарских дрожжей, добавляют 10 мл 1 М раствора серной кислоты. Пробирку закрывают пробкой с обратным холодильником. Содержимое пробирки кипятят над асбестовой сеткой в течение 60 мин. Затем содержимое пробирки охлаждают до комнатной температуры и фильтруют через бумажный фильтр.

Опыт № 2. Качественные реакции на компоненты нуклеопротеинов

в гидролизате фракции.

1. В пробирку помещают 0,5 мл фильтрата гидролизата и проводят биуретовую реакцию. О результатах наблюдений делают отметку в таблице

Качественные реакции на компоненты нуклеопротеинов (таблица 22.3).

Таблица 22.3

Результаты наблюдений

№ опыта	Реактив	Уравнение реакции	Результаты наблюдений
1			
2			
3			
4			

2. В пробирку помещают 0,5 мл фильтрата гидролизата, добавляют 2 капли концентрированного раствора аммиака, 0,5 мл 10 % раствора нитрата серебра. Через 5 мин наблюдают образование рыхлого бурого осадка. Эта реакция доказывает наличие в растворе пуриновых оснований.

3. В пробирку помещают 0,5 мл фильтрата гидролизата, добавляют 10 капель 1 М раствора гидроксида натрия и 6 капель 10 % раствора сульфата меди (II). Наблюдают появление мути. Содержимое пробирки нагревают до кипения. В таблице делают отметку о результатах наблюдений.

4. В пробирку помещают 0,5 мл фильтрата гидролизата, добавляют 2 мл насыщенного раствора молибдата аммония и 1 мл концентрированного раствора азотной кислоты. Содержимое пробирки перемешивают и кипятят 3–5 мин. Наблюдают появление лимонно-желтой окраски. Эта реакция доказывает наличие в растворе фосфорной кислоты.

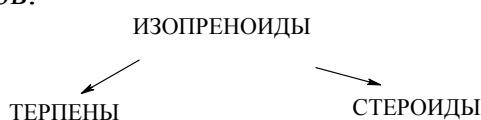
Тема: Неомыляемые липиды: стероиды и стероидные гормоны

Учебно-целевые задачи: Изучить химический состав простых и сложных липидов. Провести качественные реакции на терпены (α -пинен), стерины (холестерин, витамин D₂, желчные кислоты).

Вопросы к занятию:

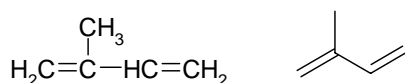
1. Терпены. Моно- и бициклические терпены. Пинен и камфара.
2. Основные группы стероидов: стерины – холестерин и витамины группы D; желчные кислоты; стероидные гормоны; половые гормоны

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 C₅H₈ с общей формулой (C₅H₈)_n (т.н. «изопреновое правило»).

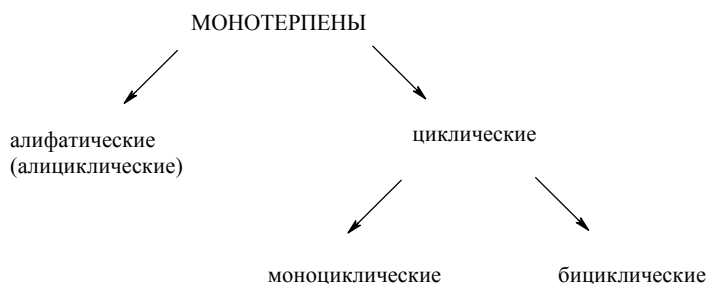


Звенья изопрена могут формировать цепочки и циклы. Тривиальная классификация терпенов производится по числу изопреноидных блоков в молекуле:

- *Монотерпены, C₁₀H₁₆,
- *Сесквитерпены, C₁₅H₂₄,
- *Дитерпены, C₂₀H₃₂,
- *Тритерпены, C₃₀H₄₈,
- *Тетратерпены, C₄₀H₆₀

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].

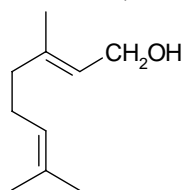
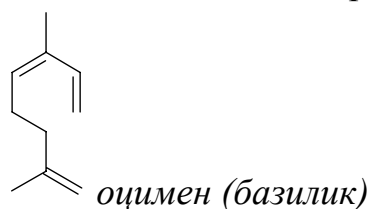
Каждый ряд терпенов разделяется на группы:



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.



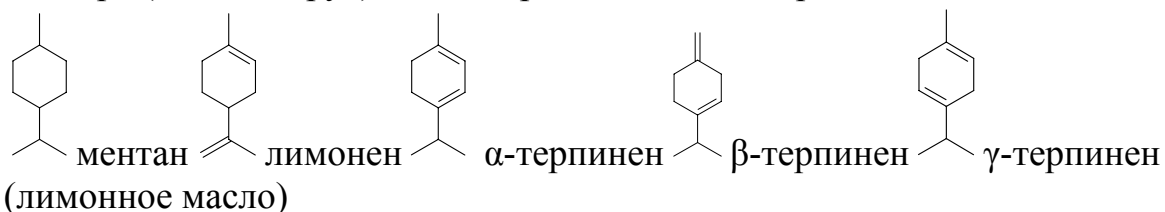
гераниол (гераниевое и розовое масла)

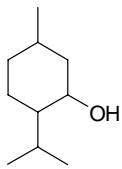
Гераниол – в основном используется в парфюмерии, но и как репеллент (отпугивающий насекомых). Однако, не смотря на то, что он отпугивает комаров, мух, вшей, тараканов и клещей, гераниол продуцируется железами медоносных пчел – пчелы «метят» богатые нектаром цветки и вход в улей.

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

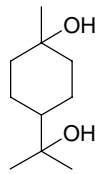
а) **моноциклические** – производные насыщенного ментана, его ненасыщенные (*ментадиены*, в т. ч. лимонен, *терпинены*, терпинолен и др.) и кислородсодержащие производные;

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

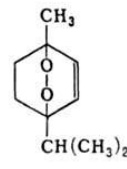




ментол



терпин



аскаридол

Ментол – основной источник: масло различных сортов перечной мяты.

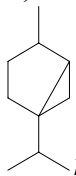
Применяют – компонент зубных паст и эликсиров, жевательной резинки. При втирании в кожу и нанесении на слизистые оболочки ментол вызывает раздражение нервных окончаний, сопровождающееся ощущением холода, легкого жжения и покалывания, оказывает легкое местное обезболивающее действие; обладает также слабыми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

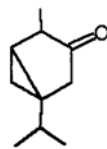
Терпингидрат применяют как отхаркивающее средство (таблетки).

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 (α -терпинена). Применяют его как инициатор полимеризации и как противоглистное ср-во в медицине. ЛД₅₀ 0,2 г/кг (крысы, перорально); смертельная доза для ребенка 5 г.

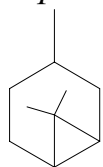
б) бициклические монотерпены – производные ;



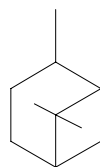
туйан (можжевельник)
наркотическим действием.



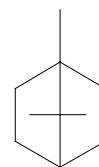
Туйон (полынь горькая)– обладает



каран

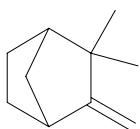


пинан



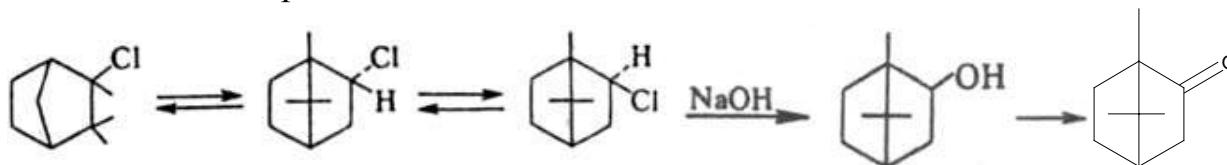
камфан (борнан)

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



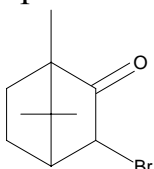
камфен

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

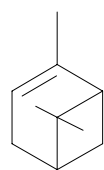


Последней при омылении р-ром NaOH превращают в изоборнеол и дальнейшим окислением в камфару.

Обыкновенная камфара находится в камфорном дереве, произрастающем в Японии и Китае, в различных его частях; чем старее 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

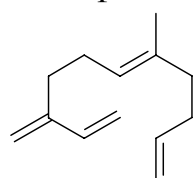


Наиболее важным и хорошо изученным представителем этой группы является **α-пинен** – его используют для лечения мышечных болей (отвлекающее). Он широко распространен в природе и содержится в скипидарах и маслах, полученных из большинства хвойных деревьев. Скипидар получают перегонкой сосновой смолы с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

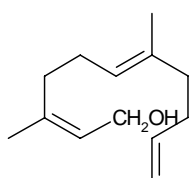
Сесквитерпены - группа *терпенов*, в которую входят углеводороды состава $C_{15}H_{24}$, а также их кислородные производные (спирты, альдегиды, кетоны), наз. часто сескви-терпеноидами; распространены в растениях, найдены в секреторных выделениях насекомых.

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

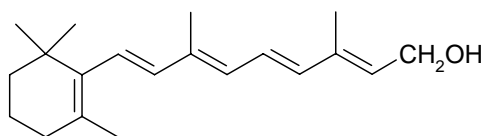
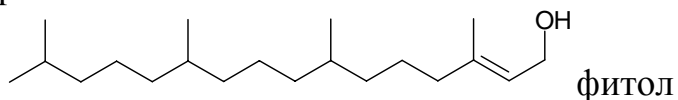


фарнезол (запах липы)

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

Дитерпены и Тетратерпены

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



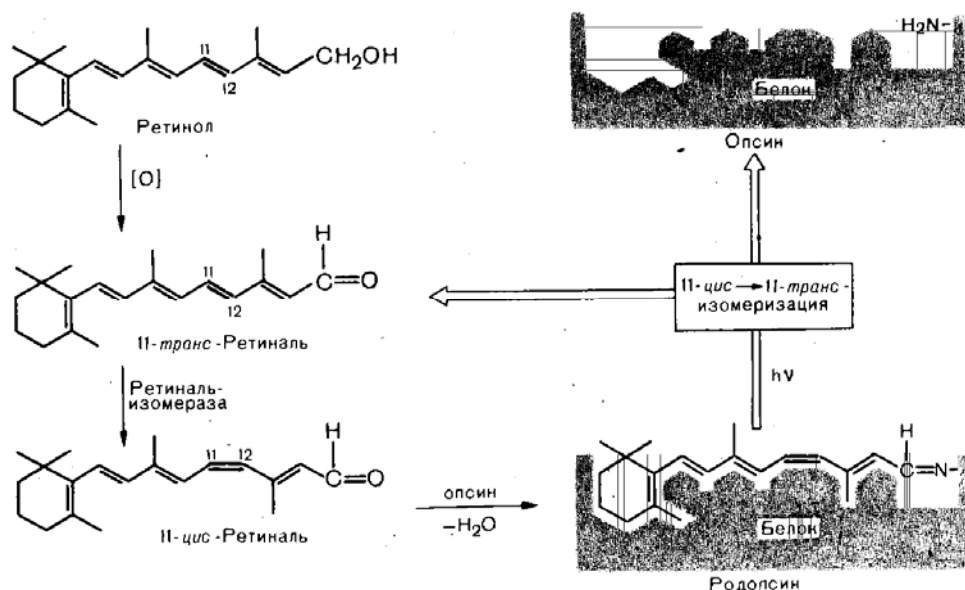
ретинол (вит А)

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 восприятии глазом света.

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

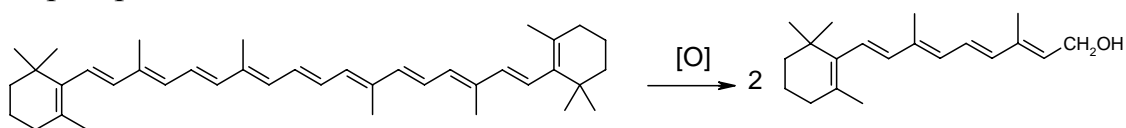
Как витамин А, так и б-каротин, будучи мощными антиоксидантами, являются средствами профилактики и лечения раковых заболеваний, в частности, препятствуя повторному появлению опухоли после операций.

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

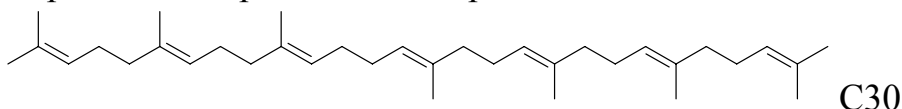


Роль ретинола в процессе зрительного восприятия изучена достаточно хорошо. В организме он окисляется в альдегид 11-транс-ретинол, который под действием фермента ретинолэстеразы превращается в 11-цис-ретинол, а затем связывается с белком палочек сетчатки опсином в иминосоединении с образованием светочувствительного 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:



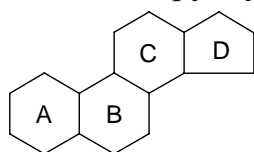
Три-терпен сквален найден в печени акулы. Установлено, что три-терпеновую структуру имеют также стеринны и гормоны, так, показано образование стероидного гормона холестерина из сквалена.



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 стеринны, желчные кислоты, стероидные гормоны, стероидные сапонины, сердечные гликозиды и стероидные алкалоиды.

Стерины (стеролы).

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

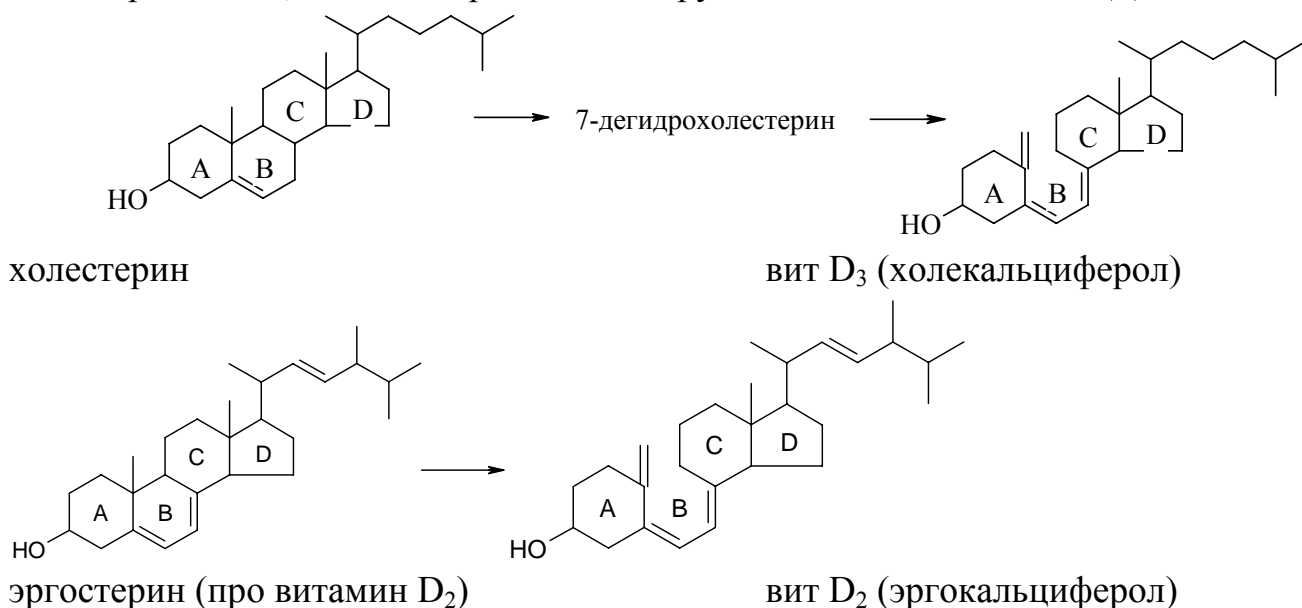
- Зоостерины. Это, в частности, известный всем **холестерин**, который служит исходным веществом для синтеза в организме всех стероидных гормонов.

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, сидящей 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:



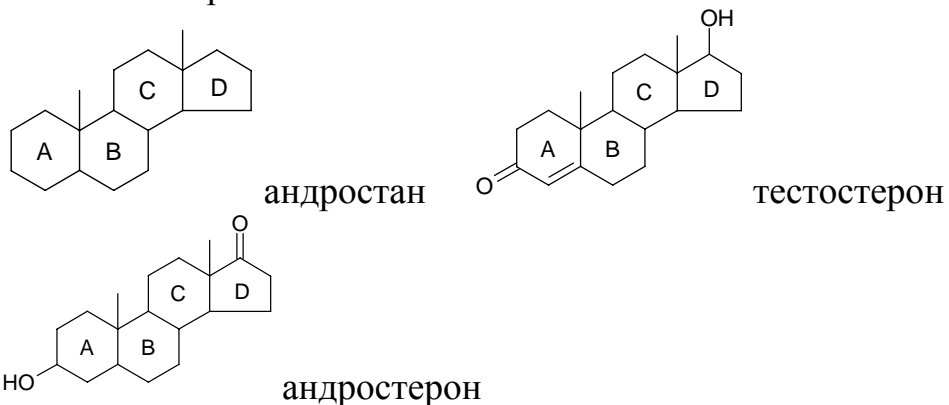
Витамин Д участвует в регуляции кальций-фосфорного обмена, усиливает всасывание Ca²⁺ и фосфатов в кишечнике.

- Фитостерины содержатся в растениях - ситостерин

-Микостерины – стеринны 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.

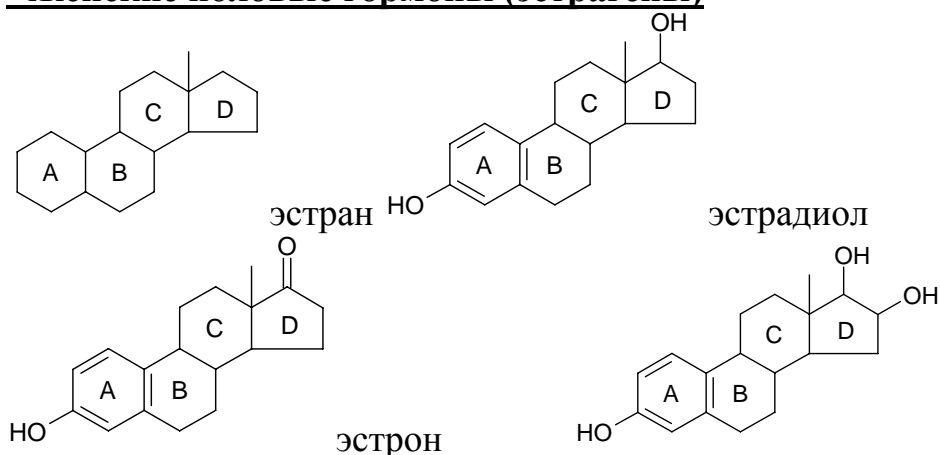
- Половые гормоны



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.).

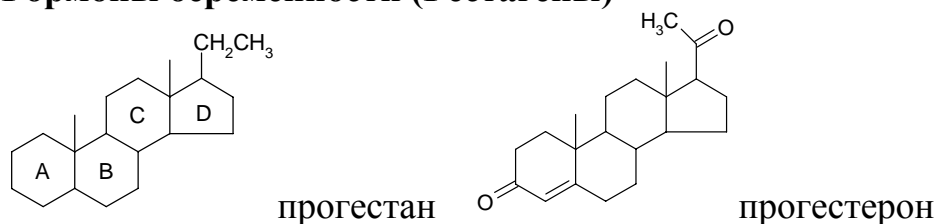
Андрогены благодаря их анаболической активности (проявляющейся в частности в наращивании мышечной и костной ткани) приобрели печальную известность среди спортсменов, для которых слово «стероид» стало означать именно мужские половые гормоны. Однако способность андрогенов, принимаемых в больших дозах, 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)



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.

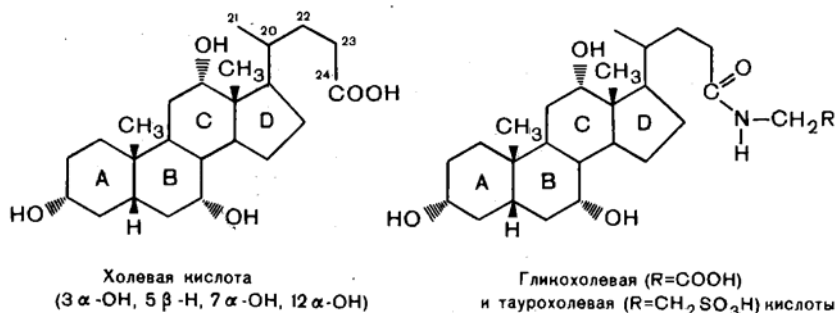
Функцией кортикоидов является в основном поддержание гомеостаза (постоянного, устойчивого внутреннего состояния организма), особенно в стрессовых ситуациях (при воспалительных процессах, обессоливании или голодании). Так, во время голодания кортикостероиды, стимулируя образование глюкозы из тканей тела, 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.



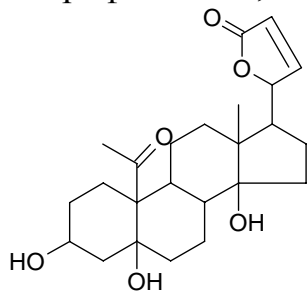
Кортикостерон действует как антагонист инсулина, повышая содержание глюкозы в крови. Преднизолон – синтетический кортикостероид, по действию превосходящий свои природные аналоги. Используется для лечения ревматизма, бронхиальной астмы и воспалительных процессов кожи. **Болезнь Аддисона** (президент США 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.



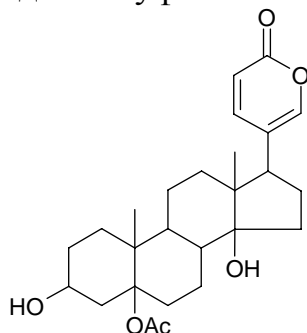
Сердечные гликозиды

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.



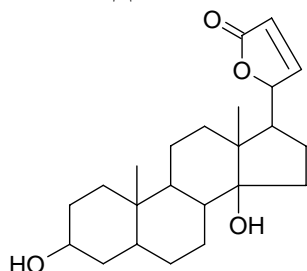
строфантин

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.

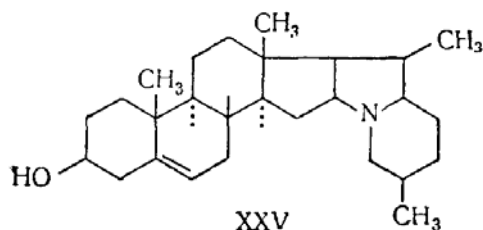


дигитоксигенин

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.

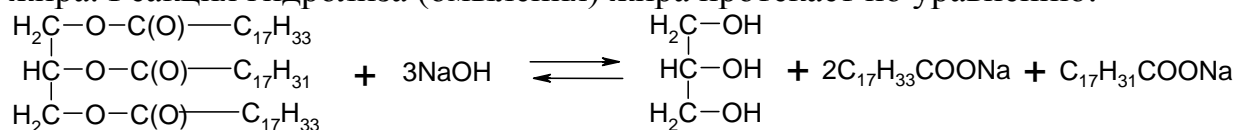


Соланидин

§ 4 Лабораторная работа «Качественные реакции на терпены и стероиды»

Опыт № 1. Омыление жира (1 опыт на группу)

В плоскодонную колбу вносят 15мл. подсолнечного масла или какого-нибудь другого жира, 10мл. этилового спирта и 10-12мл. 40% раствора едкого натра. Колбу закрывают пробкой со вставленной в неё длинной стеклянной трубкой для конденсации паров спирта, закрепляют в штативе и нагревают на водяной бане 25-30 минут. Происходит реакция омыления жира. Реакция гидролиза (омыления) жира протекает по уравнению:



Полученный прозрачный раствор, содержащий продукты омыления жира, сохранить для дальнейших опытов.

1. Обнаружение глицерина

В пробирку взять 5 капель 5% раствора CuSO_4 , добавить 3 капли 40% раствора NaOH и к осадку добавить 5-7 капель гидролизата. Что наблюдаете? Написать уравнение реакции.

2. Выделение свободных жирных кислот

В пробирку взять 5-7 капель гидролизата и добавить 3-4 капли 10% раствора H_2SO_4 . В случае омыления растительных масел жирные кислоты выделяются в виде маслянистого слоя. Написать уравнение реакции.

3. Получение нерастворимого мыла

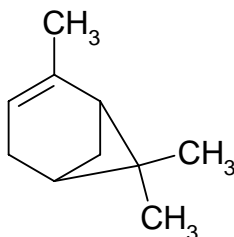
В две пробирки взять по 5-7 капель гидролизата, в одну из них прилить 3-4 капли 3% раствора ацетата свинца $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$, в другую – 3-4 капли 10% раствора сульфата кальция. В том и другом случае образуются плохо растворимые свинцовые и кальциевые соли жирных кислот. Написать реакции взаимодействия натриевой соли жирной кислоты с ацетатом свинца и сульфатом кальция.

4. Проба на содержание ненасыщенных кислот

В пробирку взять 5-7 капель бромной воды и прилить 5 капель гидролизата. Взболтать. Что наблюдаете? Написать реакцию действия бромной воды на олеиновую кислоту.

Опыт № 2. Некоторые свойства скипидара

Скипидар, получаемый из жидкой сосновой смолы, содержит терпен α -пинен имеющий следующее строение:

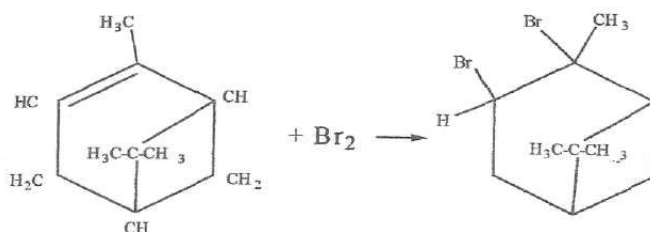


Он обладает свойствами непредельных углеводородов: присоединяет галогены и окисляется раствором перманганата калия.

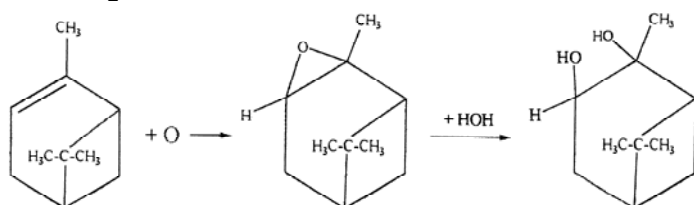
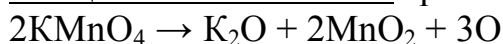
1. Действие бромной воды и KMnO_4 на скипидар

Наливают в одну пробирку 5–8 капель бромной воды, в другую 5–8 капель 1% раствора KMnO_4 . Прибавляют по 3 капли скипидара и встряхивают. Что наблюдаете?

Реакция присоединения брома к пинену протекает по уравнению:



Реакция окисления пинена протекает по уравнению:



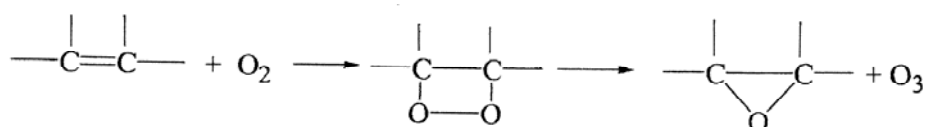
пинен

окись пинена

пинангликоль

2. Действие кислорода воздуха на скипидар

Окисляясь кислородом воздуха, терпены образуют нестойкие перекиси, которые в дальнейшем разлагаются, выделяя озон. Способность пинена превращать молекулярный кислород в озон является причиной дезинфицирующего действия скипидара и полезного действия воздуха хвойных лесов.



Перекись

окись

озон

Описание опыта: В пробирку наливают 4–5 капель скипидара, 5 капель 1% водного раствора KI и 2 капли свежеприготовленного 1% крахмала.

Содержание пробирки встряхивают и дают постоять. Оно постепенно окрашивается в синий цвет, что указывает на выделение йода из KI.

Запишите результаты опыта и схемы реакций:

а) пинен → перекись → окись → озон

пинена пинена

б) $KI + H_2O + O_3 \rightarrow KOH + I_2$

в) $I_2 + \text{крахмал} \rightarrow (\text{окрашивание})$

Опыт № 3. Качественные реакции на холестерин и жёлчные кислоты

1. Реакция Сальковского

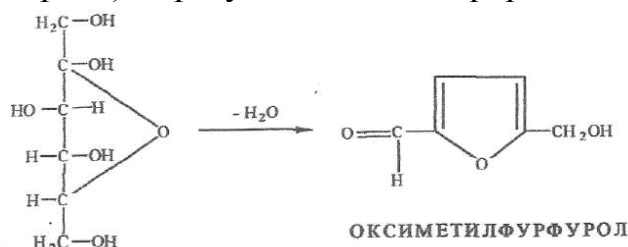
При добавлении к хлороформному раствору холестерина концентрированной серной кислоты образуется красное окрашивание.

Выполнение опыта: на сухое часовое стекло наносят 1 каплю раствора холестерина в хлороформе и 1 каплю концентрированной H_2SO_4 . Образуется красно-оранжевое окрашивание.

Холестерин (холестерол, холестен-5-ол, 3(3) наиболее распространённый представитель стероидов, содержится во всех животных липидах, крови, жёлчи.

2. Обнаружение жёлчных кислот в жёлчи

Жёлчные кислоты дают пурпурное окрашивание с оксиметилфурфулом. Последний образуется из фруктозы (входящей в состав сахарозы) в присутствии концентрированной серной кислоты.



Порядок выполнения опыта:

На сухое часовое стекло наносят 1 каплю жёлчи, 1 каплю 20% раствора сахарозы и хорошо перемешивают стеклянной палочкой. Рядом наносят 3 капли концентрированной серной кислоты. Через некоторое время на месте слияния капель наблюдается развитие красноватой, а затем фиолетовой окраски.

Опыт № 4. Качественная реакция на витамин D₂ (кальциферол)

На сухое часовое стекло наносят 1 каплю витамина D₂ или рыбьего жира и 2 капли раствора брома в хлороформе, перемешивают. Через некоторое время наблюдают зелёное окрашивание.

§ 5 Задания для самостоятельной работы

1. Написать реакции взаимодействия холестерина с Br_2 , H_2O ; олеиновой кислотой ($C_{17}H_{33}COOH$). Назвать образующиеся продукты.
2. Написать реакции получения сложных эфиров (реакции этерификации):

- а) между хеновой кислотой и бутанолом-2;
 - б) между литохеновой кислотой и пропанолом-2;
 - в) между хенодезоксикеновой кислотой и 2-метил, утанолом-2.
3. Написать уравнение реакции взаимодействия прогестерона с C_2H_5OH ; H_2O ; HCN .

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №24

Тема: Методы исследования органических соединений

Учебно-целевые задачи: Ознакомиться с методами исследования строения органических соединений.

Вопросы к занятию:

1. Физические методы исследования
2. Спектрохимические методы исследования
3. УФ-спектроскопия
4. ПМР-спектроскопия

Важнейшей способностью современной органической химии (и других областей химии) является использование физико-химических методов исследования. Наряду с классическими характеристиками веществ: элементный состав, плотность, температура плавления и кипения, показатель преломления, растворимость, активно используются структурные (рентгеноструктурный анализ, электронография, нейтронография) и спектроскопические методы в широком диапазоне, а также масс-спектроскопия и другие методы.

В основе определения химических свойств находится молекулярная и структурная формулы веществ и реакционная способность. Многие из химических свойств прямо или косвенно связаны с физическими свойствами. Физические величины имеют определенные числовые характеристики. Поэтому в плане определения химического строения можно говорить о соответствии или корреляции физических величин и характеристик химического строения. Особое значение физические методы имеют для целей определения состава веществ (в аналитических целях). Итак, физико-химические методы исследований основаны на измерении физических (главным образом ядерные, атомных, молекулярных) характеристик, обуславливающих химические индивидуальности определяемых компонентов. Такими характеристиками могут быть спектры испускания или поглощения электронного излучения, начиная с радиоволн и кончая γ -лучами, т.е. по всему электромагнитному спектру. Наиболее широкое распространение при исследовании органических веществ получили методы спектрального анализа: электронной, инфракрасной и ЯМР-спектроскопии.

Общая характеристика физических методов исследования веществ

Строгого разграничения физико-химических и физических методов исследования нет. Однако под физическими методами обычно понимают

методы, особенно современные, разработанные физиками и используемые в химии. Эти методы, естественно, не включают такие, как разделение перегонкой, перекристаллизацией, взвешивание, определение температур плавления и кипения, термохимические и электрохимические методы и т.п. Условно наиболее характерные черты физического метода исследования в химии можно представить в виде схемы 24.1.



Схема 1

В основе физического метода лежит взаимодействие падающего излучения, потока частиц или какого-либо поля с веществом и измерение результата этого взаимодействия. Если обозначить измеряемое физическое свойство как x , а падающее излучение как I_0 , то результат взаимодействия $I(x)$ будет содержать информацию о свойстве x . I_0 и $I(x)$ могут быть одной и той же природы. Направление стрелок от блока I_0 к блоку x показывает распространение излучения от источника к объекту исследования. Стрелка от блока x к блоку $I(x)$ означает результат взаимодействия, если известен физический закон этого взаимодействия и известно физическое свойство x . Такая последовательность означает прямую задачу физического метода.

Исследователей интересует и обратная задача: по результату взаимодействия найти свойство x .

В определенном смысле это две разные задачи и далеко не всегда знание решения прямой задачи дает решение обратной задачи. Решение обратной задачи определяет возможности метода, его чувствительность. В тех случаях, когда обратная задача имеет устойчивое решение, говорят, что такая задача корректно поставлена. Под устойчивостью решения подразумевается малое влияние небольших отклонений в $I(x)$ на величину x . Определяемое физическое свойство x может иметь различную природу: межатомное расстояние r , наборы частот колебаний атомов в молекуле $\sum k_i \nu$ или наборы частот электронных переходов $\sum \epsilon_{lj} \nu$ и т.п.

Вертикальная система блоков схемы 1 показывает, что некоторые физические свойства могут быть рассчитаны теоретически на основе классической физики или квантовой механики. Сравнение теории и эксперимента позволяет проверить модель, т.е. теоретического построения.

Верхний блок соответствует набору химических свойств веществ в понятиях химического строения. Зная физические свойства можно оценить некоторые химические свойства. И, наоборот, зная химическое строение, возможно предсказать некоторые физические свойства. Поэтому два блока – для x и теории химического строения – связаны двумя стрелками, направленными в противоположные стороны. Вторая особенность этой части схемы состоит в том, что стрелки имеют разрывы. Это означает отсутствие строгой функциональной связи между физическими величинами x и химическими свойствами. Такое соотношение величин можно назвать корреляцией. Химики используют в основном те физические свойства, которые необходимы для установления химических свойств.

Задача химика: организовать всесторонние исследования веществ и его химических превращений. При этом вещество необходимо охарактеризовать с помощью физических характеристик, в том числе и спектроскопических, что является нормой химического исследования.

§1. Классификация спектроскопических методов

В большинстве спектроскопических методах измеряют зависимость интенсивности излучения I , прошедшее через вещество или рассеянное веществом, от частоты ν , т.е. определяют функцию $I(\nu)$. Каждое вещество поглощает электромагнитное излучение, колебания которого имеют строго определенные частоты. При этом происходит изменение энергии молекулы, которое определяется соотношением:

$$\Delta E = E_{\text{к}} - E_{\text{н}} = h\nu,$$

где ΔE – изменение энергии системы;

$E_{\text{к}}$ и $E_{\text{н}}$ – энергии системы в начальном и конечном состояниях;

h – постоянная Планка;

ν – частота излучения.

Если энергия конечного состояния $E_{\text{к}}$ выше энергии начального состояния $E_{\text{н}}$ – ($\Delta E > 0$), то происходит поглощение энергии, и, наоборот, при $E_{\text{к}} < E_{\text{н}}$ ($\Delta E < 0$) – энергия излучается. Первый случай соответствует **спектрам поглощения**, второй – **спектрам излучения**. В таблице 1 приведены основные характеристики спектроскопических методов. Поглощение электромагнитного излучения связано с определенными изменениями в молекуле вещества, точнее, с ее переходом на более высокий энергетический уровень. Внутренняя энергия молекулы квантована. В связи с этим количество поглощаемой энергии может иметь только строго определенные значения, т.е. поглощается излучение только определенной частоты. Поглощение излучения, а, следовательно, и энергии происходит в том случае, если квант излучения соответствует разности между двумя энергетическими уровнями облучаемого вещества. Переходами между

уровнями энергии E_k и E_n «управляют» правила отбора. Это означает, что не все переходы возможны.

Таблица 1 – Основные характеристики спектроскопических методов

Излучение	λ , см	Длина волны λ , см	Частота ν , Гц	Энергия перехода E , эВ	Процессы, происходящие с частицами (метод)
Гамма-лучи	10^{-10}	$10^{-10} - 10^{-8}$	$4 \cdot 10^{20} - 3 \cdot 10^{18}$	$\sim 10^7$	Изменение в энергетическом состоянии ядер (γ -резонанс)
Рентгеновское	10^{-8}	$10^{-8} - 10^{-6}$	$10^{19} - 10^{16}$	$10^2 - 10^5$	Изменение в энергетическом состоянии внутренних электронов атомов (рентгеноскопия)
Ультрафиолетовое дальнее	10^{-5}	$10^{-6} - 2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{16} - 1,5 \cdot 10^{15}$	$\sim 10^2$	Изменение энергетического состояния внешних электронов (УФ)
Видимое ближнее	10^{-4}	$2 \cdot 10^{-5} - 3,8 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^{15} - 8 \cdot 10^{14}$	~ 10	--/-- внешних электронов (УФ)
Видимое дальнее	10^{-4}	$3,8 \cdot 10^{-5} - 7,8 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{14} - 4 \cdot 10^{14}$	~ 10	
Инфракрасное ближнее	10^{-4}	$7,8 \cdot 10^{-5} - 3 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{14} - 2 \cdot 10^{13}$	$\sim 10^{-1}$	Колебание атомов в молекуле (ИК и КР)
Инфракрасное дальнее	10^{-2}	$3 \cdot 10^{-4} - 3 \cdot 10^{-2}$	$2 \cdot 10^{13} - 3 \cdot 10^{11}$	$\sim 10^{-2}$	
Микроволновое	0	$3 \cdot 10^{-2} - 10^2$	$9 \cdot 10^{14} - 9 \cdot 10^{10}$	$\sim 10^{-5} - 10^{-3}$	Колебание атомов в кристаллической решетке (вращательные спектры молекул)
Короткие радиоволны	10^2	$10^2 - 3 \cdot 10^4$	$9 \cdot 10^9 - 9 \cdot 10^6$	$10^{-7} - 10^{-5}$	Изменение энергетического состояния спинов ядер и электронов (ЯМР, ЭПР, ЯКР)

Область интенсивного поглощения излучения называется **полосой**. Совокупность полос представляет собой **спектр поглощения**.

Каждый тип изменений энергетических уровней молекулы происходит в определенной области частот колебаний. В органической химии для исследования строения молекул чаще всего используются следующие области, различающиеся энергией квантов:

а) наибольшая энергия требуется для возбуждения электронов эта энергия соответствует излучению в *ультрафиолетовой и видимой области (электронная спектроскопия)*;

б) меньшие затраты энергии необходимы для изменения колебательных уровней молекулы, связанных с изменением длин связей и углов между атомами; такие изменения вызывают поглощение в *инфракрасной области (колебательная спектроскопия)*;

в) еще меньшая энергия необходима для переориентации спинов ядер, которая может вызываться квантами *радиочастотного излучения (спектроскопия ядерного магнитного резонанса)*.

С точки зрения энергии переходов в молекуле принципиальной разницы между ультрафиолетовой и видимой областью нет. Выделение видимой части спектра в самостоятельную область обусловлено субъективными причинами – границами восприятия электромагнитного

излучения человеческим глазом. Электромагнитное излучение имеет двойную природу – оно обладает волновыми и корпускулярными свойствами. Излучение и поглощение энергии происходит квантами, энергия которых описывается уравнением:

$$\Delta E = h\nu = h \cdot \frac{c}{\lambda},$$

где c – скорость света в вакууме;

λ – длина волны.

Чем меньше длина волны λ , тем больше энергия электромагнитного излучения E , и наоборот. Из уравнения следует, что энергия кванта пропорциональна частоте ν и обратно пропорциональна длине волны λ . Частота имеет размерность Гц или с⁻¹, длина волны выражается в см, мкм (10⁻⁴ см, 10⁻⁶ м), нм (10⁻⁷ см, 10⁻⁹ м). Часто употребляют волновое число (также называемое частотой) $\bar{\nu}$ (см⁻¹):

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \left(\frac{1}{c}\right) \cdot \nu,$$

т.е. число волн, приходящихся на 1 см длины светового луча. Волновое число прямо пропорционально частоте; шкала волновых чисел прямо пропорциональна энергии квантов излучения. С помощью специальных устройств может быть получено излучение, имеющее определенную длину волны, и, соответственно, одинаковую энергию квантов. Такое излучение называют монохроматическим.

Таким образом, наиболее широко используемыми в органической химии и технологии спектральными методами являются УФ-спектроскопия, ИК-спектроскопия и спектроскопия ЯМР.

§1. Ультрафиолетовая (электронная) Спектроскопия

1.1. Основные принципы и законы

1.1.1. Поглощение электромагнитного излучения

Энергия фотонов ультрафиолетового и видимого диапазонов спектра достаточно высока (10–100 эВ или 120–1000 кДж/моль), чтобы перевести электроны органических молекул из основного состояния в возбужденное – со связывающей на разрыхляющие орбитали. Разность энергий между этими состояниями квантована, поэтому молекулы поглощают фотоны только строго определенной энергии. В УФ-области поглощают все органические вещества. Как правило, «рабочая» область составляет интервал 190–800 нм, главным образом от 200 до 380 нм. В этих областях прозрачен оптический материал для изготовления призм и кювет. Длины волн менее 190 нм (дальняя область УФ-спектра) малоприспособна для работы, так как в этой области поглощают компоненты воздуха – кислород и азот. Поэтому используются специальные вакуумные камеры, что обычно усложняет лабораторную практику. Необходимые для исследования количества вещества невелики –

около 0,1 мг. В связи с этим УФ-спектроскопия является одним из наиболее распространенных ФХМИ органических соединений. Электроны в атомах и молекулах занимают орбитали со строго определенной энергией. Уровень энергии атомных орбиталей определяется соответствующим набором квантовых чисел. Молекулярные орбитали могут рассматриваться как линейные комбинации атомных. Такая комбинация дает связывающую орбиталь ($\uparrow\downarrow$, электроны с антипараллельными спинами, нормальное состояние) и разрыхляющую орбиталь ($\uparrow\uparrow$, электроны с параллельными спинами, возбужденное состояние). В обычных органических молекулах присутствуют электроны σ - и π -связей, а также электроны неподеленных пар гетероатомов, или n -электроны. Их относительные энергетические уровни и сравнительные энергии возможных переходов в возбужденное состояние (*) представлены на рисунке 1, из которого следует, что наибольшая энергия кванта необходима для осуществления перехода $\sigma \rightarrow \sigma^*$, т.е. для возбуждения электронов наиболее прочной связи необходимы кванты света минимальной длины (менее 190 нм), при этом происходит разрыв связи. Энергия переходов $n \rightarrow \sigma^*$ и $\pi \rightarrow \pi^*$ меньше, и, следовательно, длина волны света, возбуждающего такой переход, соответственно больше (> 190 нм). Энергия n -уровня электронов выше энергий π -уровней, поэтому возбуждение вызывается квантами света еще большей длины волны. Наиболее информативными являются переходы $n \rightarrow \pi^*$ и $\pi \rightarrow \pi^*$, поскольку им соответствуют длины волн, попадающие в рабочий диапазон прибора. Исключения составляют переходы $\pi \rightarrow \pi^*$ изолированных двойных связей $C=C$ и $C=N$, а также тройных связей

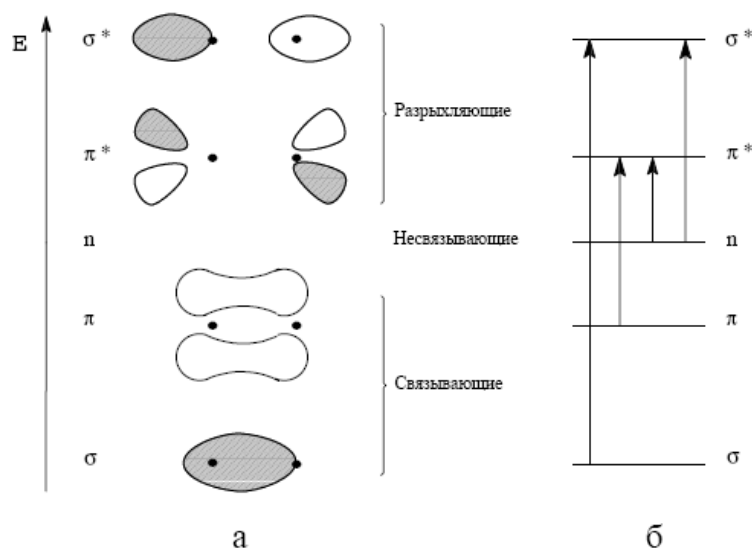


Рис. 1. а) Схематическое представление относительных энергий σ -, π -, π^* и σ^* -орбиталей; б) диаграмма возможных энергетических переходов.

1.1.2. Законы поглощения света

Основными характеристиками электронной полосы поглощения являются ее положение и интенсивность, связанную с количеством квантов, проходящих в единицу времени через единицу площади. Интенсивность поглощения монохроматического излучения, проходящего через вещество, определяется законом Бугера–Ламберта (1729 г.)

$$I = I_0 \cdot \exp^{-k \cdot l}, \quad (4)$$

где I_0 – интенсивность падающего монохроматического излучения;

I – интенсивность прошедшего монохроматического излучения;

l – толщина поглощающего слоя;

k – коэффициент поглощения, являющийся индивидуальной характеристикой вещества для каждой длины волны.

Обычно используют логарифмическую запись закона:

$$\lg \frac{I_0}{I} = k \cdot l, \quad (5)$$

где $k = 0,4343 \cdot k^*$;

$\lg \frac{I_0}{I}$ – оптическая плотность, обозначаемая D :

$$D = k \cdot l \quad (6)$$

Второй закон, сформулированный Бером, выражает связь между интенсивностью прошедшего излучения и концентрацией поглощающего вещества в растворе: поток параллельных лучей монохроматического излучения при прохождении через раствор поглощающего вещества концентрации c , ослабляется по закону:

$$I = I_0 \cdot \exp^{-k \cdot c \cdot l} \quad (7)$$

$$D = \lg \frac{I_0}{I} = k \cdot c \cdot l, \quad (8)$$

где $k = 0,4343k^*$, k^* и k – коэффициенты, характеризующие вещество.

Если c выражается в моль/л, а l – в см, то коэффициент поглощения k называется молярным (коэффициент экстинкции), л/(моль·см) и обозначается ε .

$$D = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (9)$$

В УФ-спектроскопии ε принят как мера интенсивности поглощения данным веществом монохроматического света, фактор вероятности, отражающий степень «разрешенности» или «запрещенности» данного электронного перехода. Величина ε зависит от природы вещества и длины волны поглощающего света.

1.1.3. Изображение спектров поглощения

Область интенсивного поглощения излучения называется полосой. Совокупность полос представляет собой спектр поглощения.

Спектральные данные записываются в виде кривой, где на оси абсцисс (x) откладывается фактор длины волны, а на оси ординат (y) фактор интенсивности. Обычно электронный спектр изображают в виде графика зависимости пропускания ($ID = \lg I_0$) от длины волны λ (нм) или ν (см⁻¹).

Также в качестве величины поглощения может быть и другие величины (см. рис. 24.2).

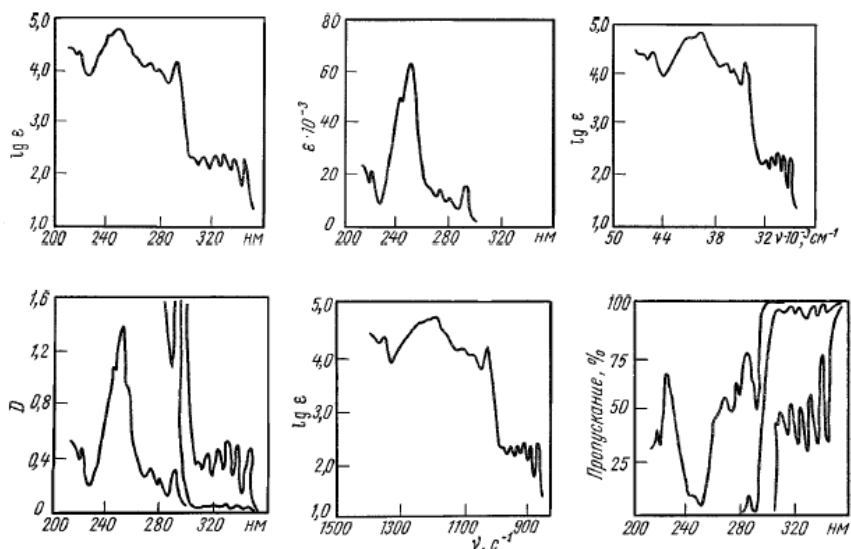


Рис. 2. Электронный спектр поглощения фенантрена в различных коллиниях

Электронные спектры поглощения обычно состоят из нескольких широких полос и не имеют узких пиков, так как любой электронный переход сопровождается изменениями во вращательных или колебательных состояниях молекул. В неполярных растворителях часто удается наблюдать тонкую структуру полос, тогда как в полярных средах в силу различных взаимодействий между растворителем и растворенным веществом детали тонкой структуры утрачиваются и наблюдается уширение полосы. Важной характеристикой полос является длина волны, при которой наблюдается максимум поглощения ($\lambda_{\text{макс}}$). При перекрывании полос измеряют длину волны, соответствующую точке перегиба.

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ №25

Тема: Итоговая работа №8

Учебно-целевые задачи: Контроль знаний по материалу части раздела 3

Вопросы к занятию:

1. Моносахариды и их классификация. D- и L-стереохимические ряды. Формулы Фишера и Хёуорса. Фуранозы и пиранозы; α - и β -формы. Циклооксотаутомерия. Конформации пиранозных форм.
2. Строение наиболее важных пентоз (рибоза, ксилоза), гексоз (глюкоза, манноза, галактоза, фруктоза), аминсахаров (глюкозамин, маннозамин), дезоксисахаров (2-дезоксирибоза). Их биороль.
3. O- и N-гликозиды. Гидролиз гликозидов. Фосфаты моносахаридов. Ацилирование аминсахаров. Окисление моносахаридов. Получение озазонов глюкозы. Восстановительные свойства альдоз. Ксилит, сорбит. Аскорбиновая кислота.
4. Олигосахариды. Дисахариды: мальтоза, лактоза, целлобиоза, сахароза. Строение, циклооксотаутомерия. Восстановительные свойства, гидролиз, биологическая роль.
5. Гомополисахариды: крахмал, гликоген, целлюлоза. Первичная структура, гидролиз. Амилоза, амилопектин. Понятие о гетерополисахаридах.
6. Гетероциклы с одним гетероатомом. Пиррол, индол, пиридин, холин. Понятие о строении тетрапиррольных соединений (порфин, гем). Производные пиридина (никотинамид, пиридоксаль). Производные 8-оксихинолина: антибактериальные средства комплексобразующего действия.
7. Гетероциклы с несколькими гетероатомами. Пиразол, имидазол, пиазин, пиримидин, тиазол, пурин. Барбитуровая кислота и её производные. Гидроксипурины (ксантин, мочева кислота, витамин В1).
8. Алкалоиды. Метилированные ксантины (теобромин, теофиллин, кофеин). Строение никотина, анабазина, эфедрина, морфина, хинина.
9. Нуклеиновые кислоты. Пиримидиновые и пуриновые основания. Лактим-лактаманная таутомерия. Комплементарность нуклеиновых оснований. Водородные связи в комплементарных парах.
10. Нуклеозиды и их гидролиз. Строение и гидролиз мононуклеотидов. Первичная структура нуклеиновых кислот. Фосфодиэфирная связь. ДНК и РНК: состав и гидролиз. Вторичная структура РНК и ДНК.
11. Строение АТФ, АДФ, АМФ. Строение НАД⁺ и его фосфата НАДФ⁺.
12. Неомыляемые липиды. Понятие о терпенах (мирцен, гераниол, цитраль, лимонен, ментол, пинены, камфора). Сопряжённые полиены (витамин А). Их биороль.
13. Стероиды и их биологическая роль (эстран, холан, холестерин). Стероидные гормоны: эстрогены, андрогены, кортикостероиды.
14. Методы выделения и очистки: экстракция, перекристаллизация, перегонка, хроматография. Критерии чистоты вещества: температура

плавления, температура кипения, плотность, показатель преломления, хроматографические данные. Химический функциональный анализ.

15. Электронная спектроскопия (УФ и видимая области): типы электронных переходов и их энергия; основные параметры полос поглощения, смещение полос (батохромный и гипсохромный сдвиги) и их причины.

16. Инфракрасная (ИК) спектроскопия: типы колебаний атомов в молекуле (валентные, деформационные); характеристические частоты.

17. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Протонный магнитный резонанс (ПМР): химический сдвиг, спин-спиновое расщепление.

18. Масс-спектрометрия: виды ионов (молекулярные, осколочные, перегруппировочные). Изотопный состав. Установление молекулярной формулы. Основные типы фрагментации. Установление молекулярной формулы. Основные типы фрагментации. Масс-спектральные серии ионов основных классов органических соединений.

19. Рентгенография.