

ХИМИЯ И ЖИЗНЬ

Задача 1

Пептиды: синтез и определение последовательности аминокислот.

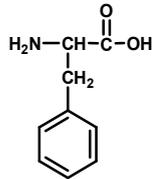
«Белки – это ключевые компоненты всех живых организмов...Если мы хотим понять и научиться контролировать то, что происходит в организме, мы должны прежде всего узнать состав, структуру и функции каждого отдельно взятого белка».

Брюс Меррифилд

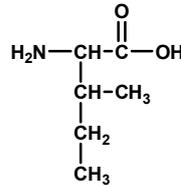
Пептидный синтез.

Пептиды заданного строения не удается получать прямой конденсацией α -аминокарбоновых кислот, так как уже при реакции двух разных α -аминокислот могут быть получены четыре различных дипептида.

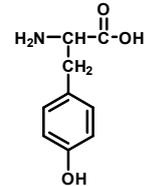
- Ниже приведены названия, структурные формулы и обозначения трех аминокислот. Изобразите трипептиды (слева изображается NH_2 -группа, а справа COOH), которые получатся при прямой конденсации эквимольной смеси этих трех аминокислот и содержат все три разные аминокислоты. Какие группы полученных пептидов могут быть заряженными в водных растворах при нейтральных значениях pH?



Фенилаланин (Phe)



Изолейцин (Ile)



Тирозин (Tyr)

Чтобы получить пептиды заданного строения, аминогруппу одной α -аминокислоты и карбоксильную группу другой аминокислоты необходимо временно блокировать защитными группами. Кроме того, требуется активация карбоксильной группы, которая должна вступить в образование пептидной связи, так как карбоновые кислоты обычно реагируют с аминами только с образованием солей.

Изящный метод синтеза пептидов был разработан Брюсом Меррифилдом (1962 г, Нобелевская премия по химии 1984 г) с использованием твердофазных носителей (схема). Для этого сополимер стирола и дивинилбензола, содержащий хлорметильные группы, помещают в колонку, и через колонку пропускают раствор соли N-(трет-бутилоксикарбонил)- α -аминокислоты, которая при этом ковалентно связывается с поверхностью носителя. После снятия защитной группы проводят конденсацию со второй N-защитенной аминокислотой с помощью дициклогексилкарбодиимида (ДЦК). Многократное повторение отдельных стадий пептидного синтеза позволяет получить пептид за-

данного строения, фиксированный на поверхности носителя. В заключение полученный пептид отщепляют от полимерной матрицы с помощью раствора бромоводорода в трифторуксусной кислоте.

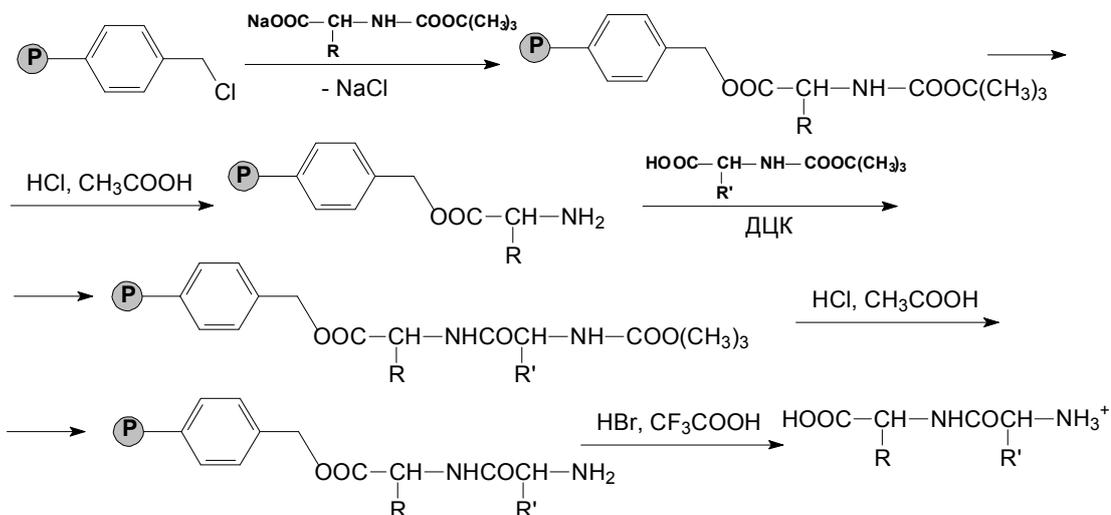


Схема твердофазного синтеза пептидов по Меррифилду.

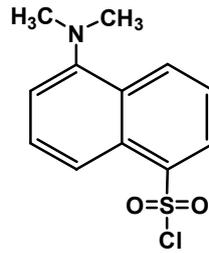
Определение последовательности аминокислот.

Метод определения первичной структуры белков и пептидов предложенный П. Эдманом в 1950 году основан на последовательном расщеплении пептидных связей (начиная с N-конца молекулы) действием фенилизотиоцианата (ФИТЦ, $C_6H_5-N=C=S$).

Реакция протекает в несколько стадий: сначала при pH 9 и температуре 40°C ФИТЦ реагирует с пептидом, образуя фенилтиокарбамоильное производное, затем при добавлении трифторуксусной кислоты происходит образование двух продуктов: производного 2-анилино-5-тиазолинона и пептида, укороченного на один остаток аминокислоты. Относительно неустойчивое производное (2-анилино-5-тиазолинон) непригодно для идентификации аминокислоты. Оно может быть превращено в изомерный 1-фенилимидазолидин (тиогидантоин) при слабом нагревании в кислой среде.

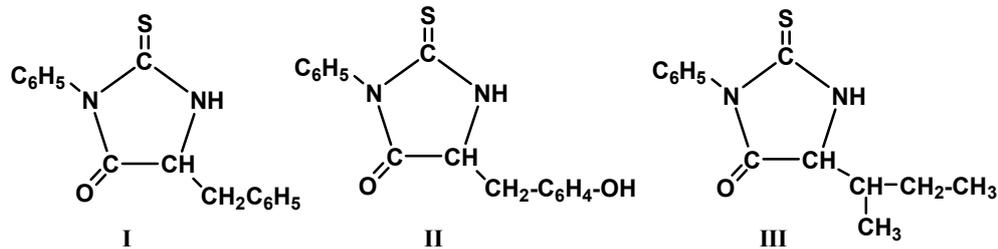
Анализ аминокислотной последовательности пептидов и белков этим методом проводят как вручную, так и в автоматическом режиме с помощью секвенатора. При работе вручную используют метод прямой идентификации тиогидантоиновых производных при помощи хроматографии, или метод Эдмана в сочетании с дансированием. Суть этого метода состоит в том, что после каждого цикла отщепления N-концевой аминокислоты в виде тиогидантоинового производного, вновь открывшуюся аминокислоту определяют при помощи реакции аликвоты пептида с избытком дансилхлорида (1-диметиламинонафталин-5-сульфохлорида) в щелочной среде (с последующим гидролизом

этого модифицированного пептида до аминокислот), затем оставшуюся часть пептида подвергают дальнейшему расщеплению по методу Эдмана.



Дансилхлорид

2. Напишите формулу трипептида и назовите его, если при его деградации по Эдману получены фенилтиогидантоиновые производные в следующей последовательности:



3. Приведите схему твердофазного синтеза (по методу Меррифилда) трипептида, определенного в задании 2, из соответствующих защищенных аминокислот и необходимых реагентов.
4. Напишите уравнения реакций, протекающие при последовательной деградации по Эдману трипептида, определенного в задании 2.
5. Каковы будут химические структуры веществ, получающихся после реакций:
- трипептида, определенного в задании 2 с избытком дансилхлорида;
 - дипептида, определенного в задании 4 с избытком дансилхлорида;
 - аминокислоты, полученной на второй стадии деградации по Эдману (см. задание 4) с дансилхлоридом.

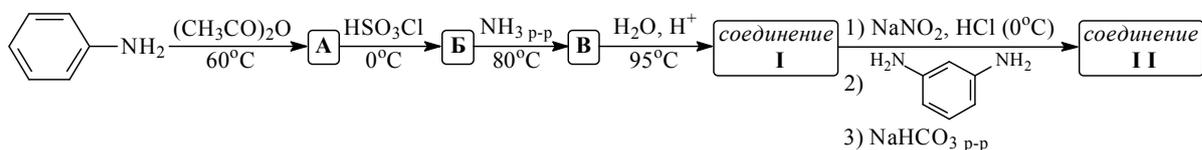
Задача 2

*Микробы появились на свет с изобретением микроскопа.
Михаил Генин.*

Антибиотики: жизнь против жизни?!

Настоями разных трав, предотвращающими нагноение ран, люди пользовались еще в глубокой древности, но о действующих началах этих лекарственных снадобий – химических соединениях, обладающих бактерицидными свойствами, мы узнали совсем недавно. Сейчас современную медицину невозможно представить без антибактериальных препаратов (антибиотиков) – тех самых соединений, которые нам выписывают врачи для предотвращения ужасных последствий размножения болезнетворных бактерий.

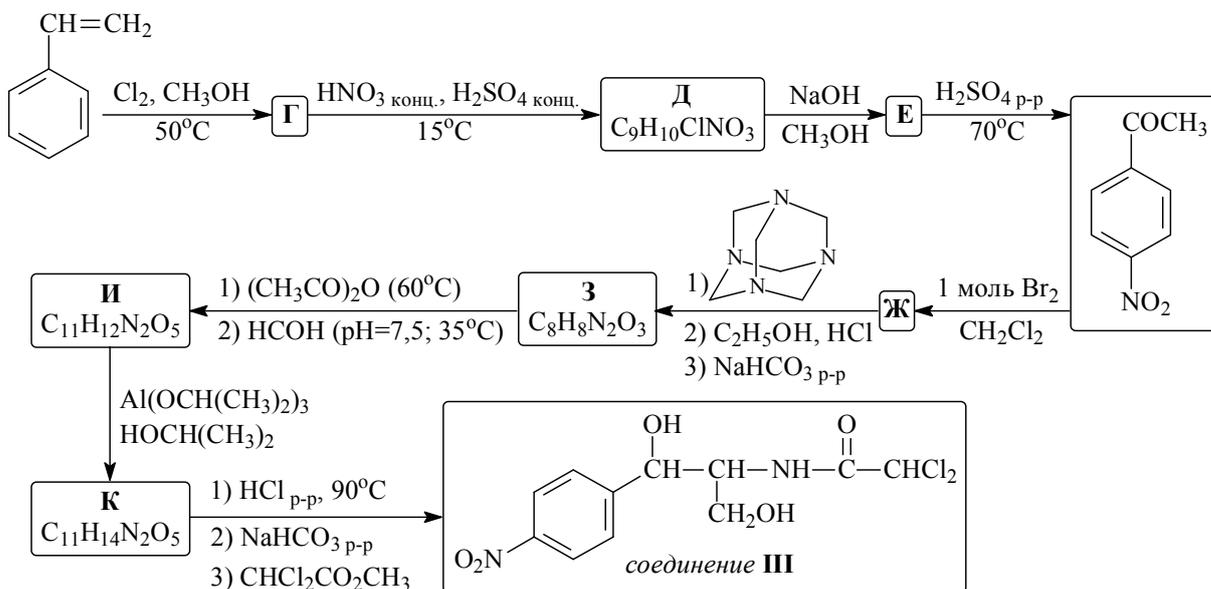
Начало эры химиотерапии бактериальных инфекций связано с довольно простым по химической структуре органическим соединением **I**. Антибактериальная активность **I** впервые была обнаружена на его производном **II**, применявшемся в то время в качестве красного красителя. В лаборатории соединения **I** и **II** можно получить по следующей схеме.



Вопросы.

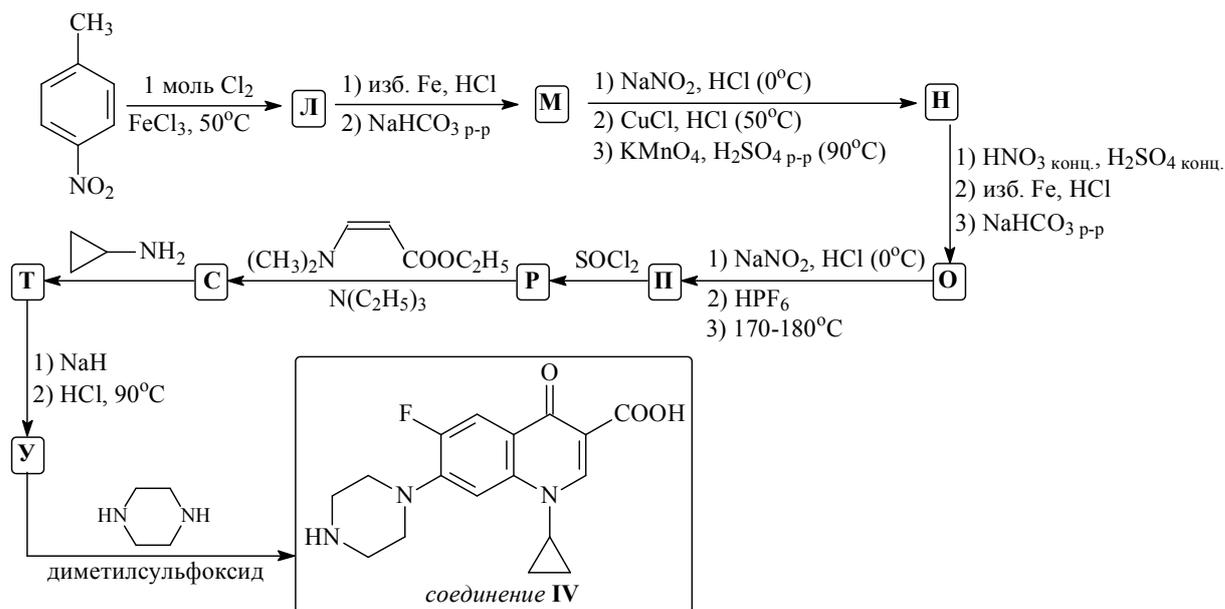
1. Приведите структурные формулы веществ **A-V**, соединений **I** и **II**.
2. Приведите тривиальные названия соединений **I** и **II**.
3. К какому классу антибиотиков относится соединение **I**? Кратко (2-3 предложения) поясните, на чем основан механизм его антибактериальной активности?

На самом деле, антибиотики существовали всегда – столько же, сколько существуют микроорганизмы. Бактерии и грибы вырабатывают специальные вещества для защиты своей территории обитания от конкурентов. Эти вещества смертельно опасны для врагов, но абсолютно безвредны для хозяина. Выделение антибиотиков из природных объектов – процесс весьма дорогостоящий, поэтому среди огромного разнообразия всех антибактериальных препаратов львиная их доля приходится на синтетические. Одним из таких синтезированных химиками антибиотиков является соединение **III** (впервые выделено из культур лучистого гриба *Streptomyces venezuelae*). Сейчас это вещество является действующим компонентом таких известных фармацевтических препаратов как левомецетин и синтомицин. Ниже приведена схема промышленного синтеза **III** из стирола.



4. Приведите структурные формулы веществ **G-K**.

Теперь настало время рассказать о принципиально новом классе сильнодействующих антибиотиков фторхинолонового ряда, не встречающихся в природе, без которых трудно представить современный арсенал антибактериальных химиотерапевтических средств. Антибиотики этого класса чрезвычайно эффективны, имеют широкий спектр действия, не токсичны и выводятся из организма в неизменном виде. Некоторые заболевания, ранее требовавшие госпитализации, теперь могут излечиваться после приема всего нескольких таблеток! Одним из наиболее известных препаратов этого класса является ципролет (ципрофлоксацин). Действующим компонентом этого лекарства является соединение **IV**, синтез которого можно осуществить по следующей схеме.



5. Приведите структурные формулы веществ **Л-У**.

Таким образом, благодаря последним достижениям синтетической химии сегодня мы достаточно надежно защищены от нашествия микробов, несмотря на их постоянные мутации и возникновение все новых, устойчивых к отдельным антибиотикам, штаммов микроорганизмов!