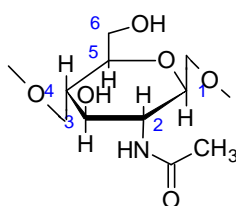


### Задача 1

#### Иммобилизация на хитозане

Ферменты, биологические белковые катализаторы, обладают как рядом преимуществ (высокие скорости процессов и селективность), так и некоторыми недостатками, например невысокая стабильность белков при повышенных температурах или добавлении некоторых веществ, сложность отделения от продуктов реакции и др. Для практического применения перспективными оказались иммобилизованные ферменты, то есть закрепленные на носителе. В качестве носителей для иммобилизации применяются различные органические и неорганические матрицы. Как пример биосовместимого и нетоксичного носителя используют хитин и его производное хитозан. Хитин – это полисахарид с молекулярной массой  $3 \times 10^4$  и более, мономерным звеном хитина является N-ацетил-D-глюкозамин:



На рисунке изображена структурная формула N-ацетил-D-глюкозамина в проекции Хеуорса

1. Изобразите N-ацетил-D-глюкозамин в линейной форме в проекции Фишера, если глюкоза – это альдогексоза.

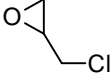
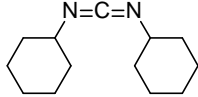
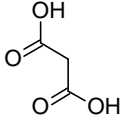
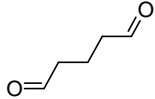
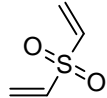
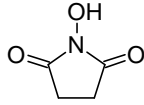
Хитозан получают из хитина путем деацетилирования. Реакция протекает в жестких условиях – при обработке 40–49 %-ным водным раствором NaOH при температуре 110–140 °C в течение 4–6 часов. Однако и в этих условиях степень деацетилирования (доля амидных групп в расчете на одно элементарное звено) не достигает единицы, составляя обычно 0,8–0,9.

2. Напишите уравнение протекающей реакции.

Для ковалентной иммобилизации (закрепления) ферментов на носителях используют так называемые бифункциональные сшивающие реагенты. Реакции

проводят в разбавленных водных буферных растворах, диапазон используемых значений pH 5–9.

3. Среди перечисленных в таблице реагентов выберите те, которые подходят для ковалентной иммобилизации ферментов на хитозане, принимая во внимание, что обычные белки обладают следующими функциональными группами:  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CONH}_2$ . Поскольку даже в таких мягких условиях возможно протекание нежелательных процессов, то для каждого выбранного реагента приведите схемы одной целевой (не менее двух продуктов, где это возможно) и одной побочной реакции. Какой реагент будет образовывать соединения, нестабильные в водной среде? Фермент можно обозначить буквой E с функциональной группой, например E-OH или E-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>.

Эпихлоргидрин		Дициклогексилкарбодиимид	
Малоновая кислота		Глутаровый альдегид	
Дивинилсульфон		N-гидроксисукцинимид	

Содержание фермента (нагрузку) в полученном препарате можно оценить различными способами, в том числе по данным аминокислотного анализа. Этот метод дает информацию о количестве каждой из 20 аминокислот в анализируемом образце. Зная аминокислотный состав белка (сколько остатков каждой аминокислоты в белке), его молекулярную массу, а также массу образца, отданного на анализ, можно рассчитать нагрузку. Например, если в белке два остатка аланина, а по данным аминокислотного анализа определили 2 нмоль аланина в образце массой 1 грамм, то это означает, что нагрузка составляет 1 нмоль белка на грамм иммобилизованного препарата.

4. Определите нагрузку белка (**в мг/г**) по данным аминокислотного анализа, приведенным в таблице. Известно, что на анализ отдали 0,25 мг образца трипсина, иммобилизованного на хитозане. Молекулярная масса трипсина 23800.

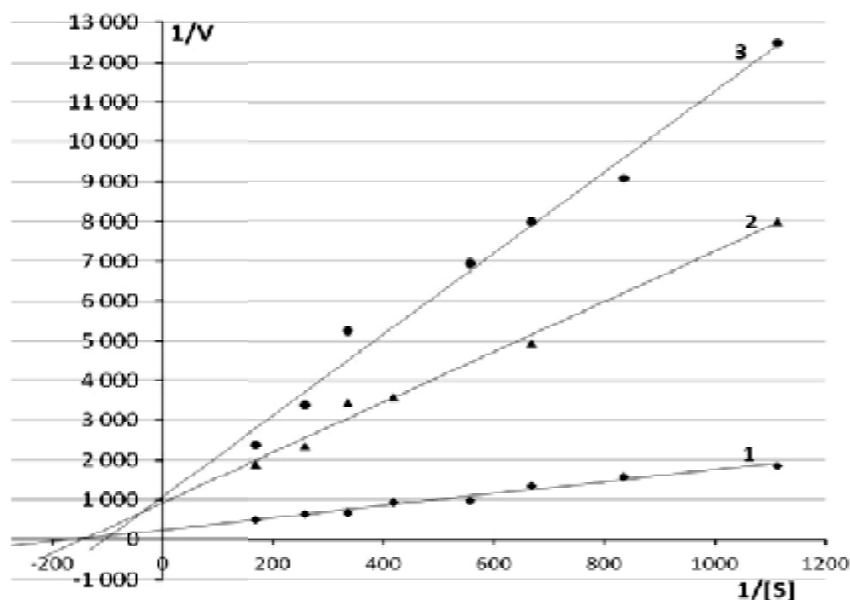
Аминокислота	число остатков аминокислоты в трипсине	количество аминокислоты, найденное в образце, нмоль
аспарагиновая кислота (Asp)	28	4,983
треонин (Thr)	19	2,995
глицин (Gly)	35	7,314
пролин (Pro)	9	1,471
лейцин (Leu)	16	2,814
аргинин (Arg)	4	0,735

Скорость ферментативной реакции описывается уравнением Михаэлиса–Ментен:

$$V = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_M + [S]},$$

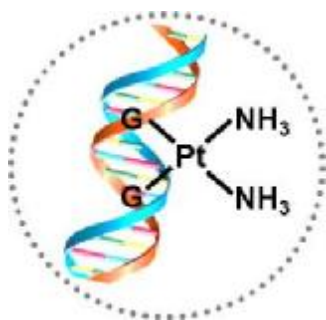
где  $V_{\max}$  – максимальная скорость реакции при данной концентрации фермента,  $K_M$  – константа Михаэлиса, описывающая сродство фермента к субстрату и равная такой концентрации субстрата, при которой достигается скорость, равная половине максимальной. Чем меньше константа Михаэлиса, тем выше сродство фермента к субстрату. При иммобилизации вследствие диффузионных затруднений доступ субстрата к ферменту затруднен, и кажущееся константа связывания фермента с субстратом ухудшается. Трипсин – протеаза поджелудочной железы, фермент, способный катализировать гидролиз амидных связей. Для его изучения используются как небольшие субстраты, например  $C_6H_5-CO-Arg-NH-C_6H_4-NO_2$  (Bz-Arg-pNA), так и белки, например казеин.

5. На графике приведена кинетическая зависимость скорости гидролиза Bz-Arg-pNA немодифицированным трипсином в растворе (кривая 1) в координатах Лайнуивера–Берка ( $1/V$  от  $1/[S]$ ). Другие две кривые соответствуют зависимости гидролиза казеина и Bz-Arg-pNA трипсином, иммобилизованным на хитозане. Определите, какая кривая соответствует гидролизу белка казеина, а какая – гидролизу Bz-Arg-pNA. Ответ обоснуйте.



## Задача 2

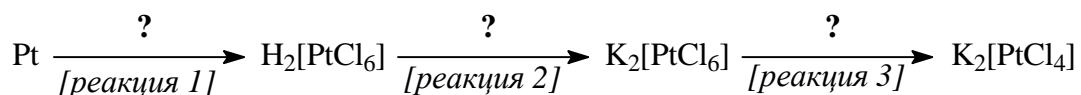
### Бионеорганическая химия платины



Одной из важнейших областей применения платины является создание противоопухолевых препаратов на основе соединений этого металла. В Новосибирском государственном университете была основана известная школа химиков, специализирующихся на синтезе и исследовании

координационных соединений платины с биоорганическими лигандами. Значительный вклад в развитие этих научных исследований внесла Заслуженный профессор России Людмила Фёдоровна Крылова, памяти которой посвящается эта задача.

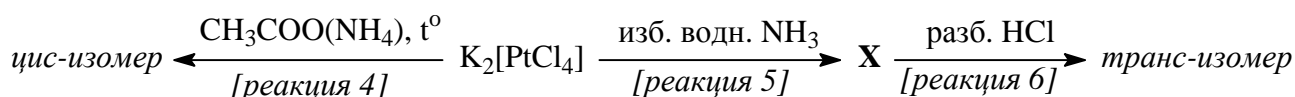
Научные исследования Людмилы Фёдоровны преимущественно были посвящены изучению взаимодействия комплексов платины (II) с аминокислотами. В качестве исходных соединений были использованы тетрахлороплатинат (II) калия и изомерные дихлородиамминокомплексы платины (II). Первое из этих исходных соединений можно получить из металлической платины по следующей схеме:



1. Напишите уравнения реакций 1–3, заменив знаки вопроса (?) соответствующими реагентами и условиями проведения.

Изомерные дихлородиамминокомплексы платины(II) можно получить следующим образом. *Цис*-дихлородиамминплатина образуется при нагревании  $\text{K}_2[\text{PtCl}_4]$  с водным раствором ацетата аммония [реакция 4].

Для синтеза *транс*-изомера тетрахлоуплатинат(II) калия сначала обрабатывают избытком водного раствора аммиака [реакция 5], в результате чего образуется соединение **X** (содержание, масс. %: Pt – 55,40; N – 15,91; Cl – 20,14; H – 4,01). При взаимодействии соединения **X** с разбавленным раствором HCl получается *транс*-дихлородиамминплатина [реакция 6]. Отметим, что реакция 6 демонстрирует, что эффект *транс*-влияния хлорид-ионов выше, чем молекул аммиака. Эта реакция идёт в полном соответствии с правилом *транс*-влияния (правилом Черняева), суть которого состоит в том, что лиганды, расположенные в *транс*-положении к координированным анионам, замещаются значительно легче, чем лиганды, расположенные в *транс*-положении к нейтральным молекулам.



2. Приведите структурные формулы изомерных дихлородиамминокомплексов платины (укажите, какой из них *цис*-, а какой *транс*-изомер).

3. Установите состав соединения **X**. Напишите его координационную формулу, заключив внутреннюю сферу в квадратные скобки.

4. Напишите уравнения реакций 4–6.

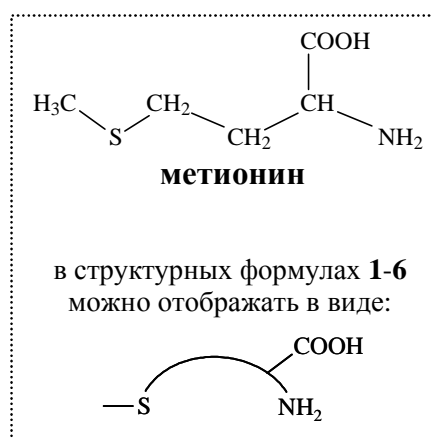
5. Соединение **X**, а также упомянутые *цис*- и *транс*-дихлородиамминокомплексы имеют собственные исторические («именные») названия. Приведите их.

6. *Цис*-дихлородиамминплатина – первое соединение платины, для

которого была обнаружена противоопухолевая активность. Несмотря на то, что с этого момента прошло уже более 40 лет, оно до сих пор используется в медицинской практике (торговый препарат «цисплатин»). Попробуйте кратко (2–3 предложения) объяснить механизм биологической активности этого соединения. Если Вы сразу не сможете ответить на этот вопрос, посмотрите внимательно на рисунок в начале этой задачи.

### Взаимодействие комплексов платины (II) с метионином

Рассмотрим взаимодействие комплексов платины(II) с представителем аминокислот – метионином. Для получения осадка соединения **1** водный раствор метионина нагревают на водяной бане с  $K_2[PtCl_4]$  в мольном соотношении 1 : 1. Если к осадку **1** добавить ещё раствор 1 моль метионина, образуется соединение **2**.



В водном растворе соединения **1** и **2** проявляют свойства сильных кислот. При обработке вещества **1** раствором КОН оно растворяется, а затем из реакционного раствора медленно выпадает осадок соединения **3**, которое представляет собой незаряженный комплекс, не содержащий гидроксид-ионов и имеющий полимерное строение. Полная нейтрализация раствора соединения **2** щёлочью приводит к образованию соединения **4**, которое в водном растворе является неэлектролитом и также не содержит гидроксид-ионов в своем составе.

Взаимодействие метионина с изомерными дихлородиамминокомплексами платины(II) протекает по-разному. Так, при реакции *транс*-изомера с метионином в мольном соотношении 1 : 2 образуется соединение **5**, содержащее две молекулы координированного аммиака. Если в реакции с тем же самым количеством метионина (в соотношении 1 : 2) участвует *цис*-изомер, получается соединение **6**, во внутренней сфере которого остаётся лишь одна молекула аммиака.

На основании проведенных экспериментов было установлено:

– в соединениях **1–6** центральный атом Pt первоначально связывается посредством атома S;

– эффект *транс*-влияния атома серы в молекуле метионина значительно выше, чем атома азота аминогруппы;

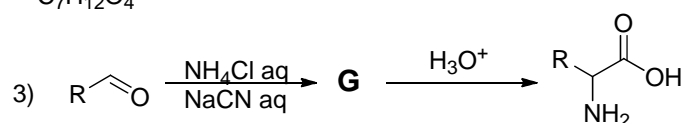
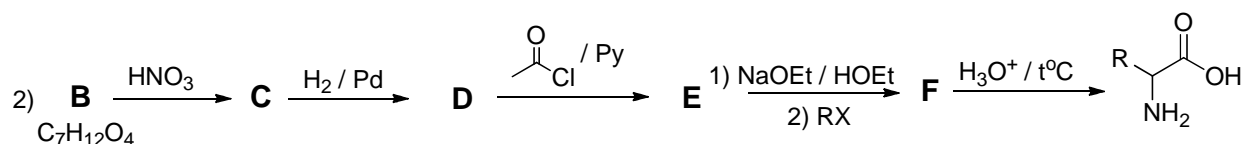
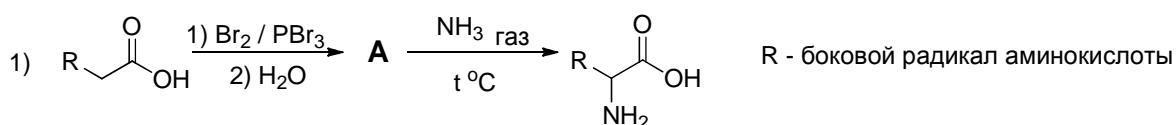
– карбоксильные группы молекулы метионина в описанных реакциях участвуют в комплексообразовании только в случае соединения **3**;

– за исключением соединения **5**, все остальные (**1, 2, 3, 4** и **6**) содержат в своем составе не менее одного циклического фрагмента.

**7.** Приведите структурные формулы соединений **1–6** (не забудьте указать внешнесферные ионы). Все структурные формулы должны полностью отражать порядок связей с центральным атомом Pt (II) в комплексном соединении. Для полимера **3** приведите структурную формулу мономерного фрагмента, содержащего два атома платины.

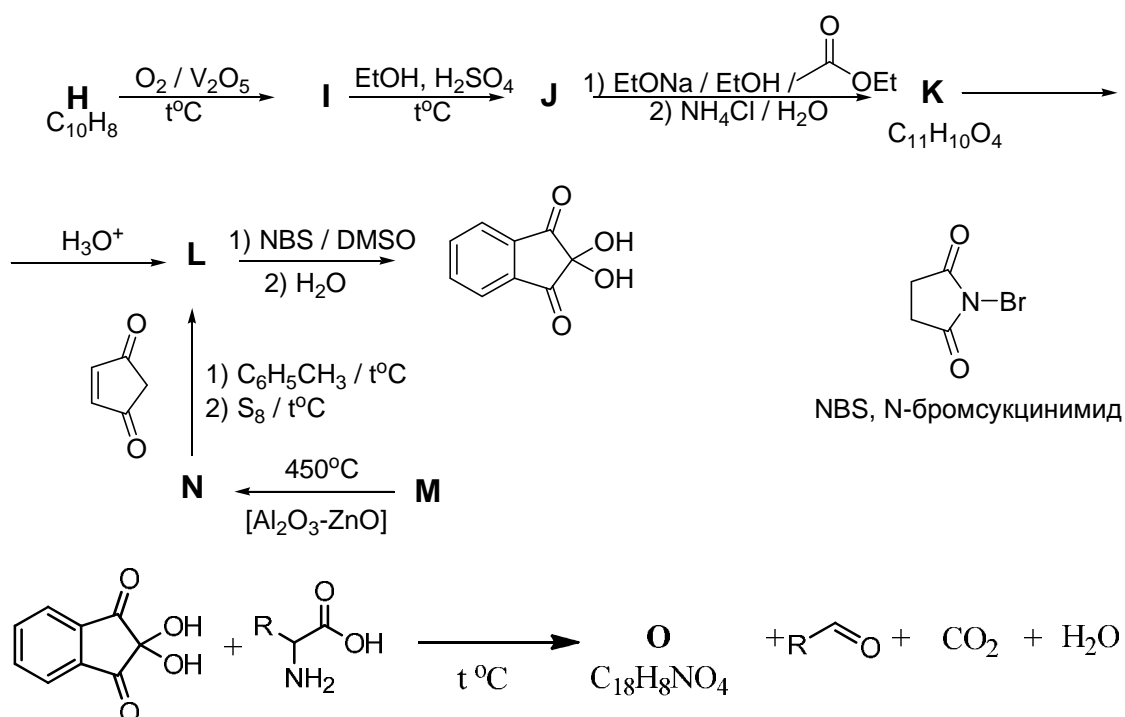
### Задача 3

Однажды преступник, хорошо знающий химию, решил обмануть правосудие и подбросить следствию липовые улики, а именно – отпечатки пальцев. Химик знал, что они остаются из-за кожных выделений, содержащихся на поверхностях пальцев. Сами по себе эти выделения состоят на 99 % из воды, остальная часть – хлорид натрия и органические соединения, среди которых – **смесь различных аминокислот**. Зная, что именно по ним отпечатки пальцев и проявляют, преступник решил заняться синтезом.

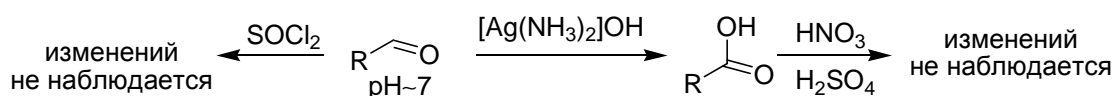


1. Расшифруйте схемы синтезов. **В** очень реакционноспособное вещество, легко образует металлопроизводные. Предположите, какой из путей синтеза наиболее удобен в исполнении. Свой ответ обоснуйте.

Химик-преступник провел необходимый синтез, используя реактив, купленный на «черном» рынке и имитировал «пот», при помощи которого оставил подложные отпечатки пальцев. Но не тут-то было. Среди экспертов-криминалистов, прибывших за уликами, также был опытный химик. Проявив подложные отпечатки нингидрином (схема получения которого и реакция с аминокислотой приведены ниже),



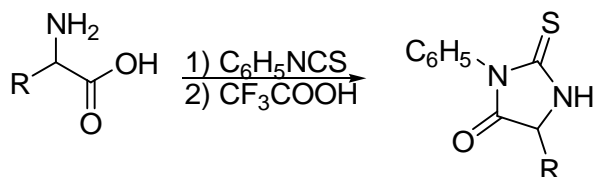
химик-криминалист заподозрил неладное, выделил получившийся альдегид и проанализировал его по следующей схеме:



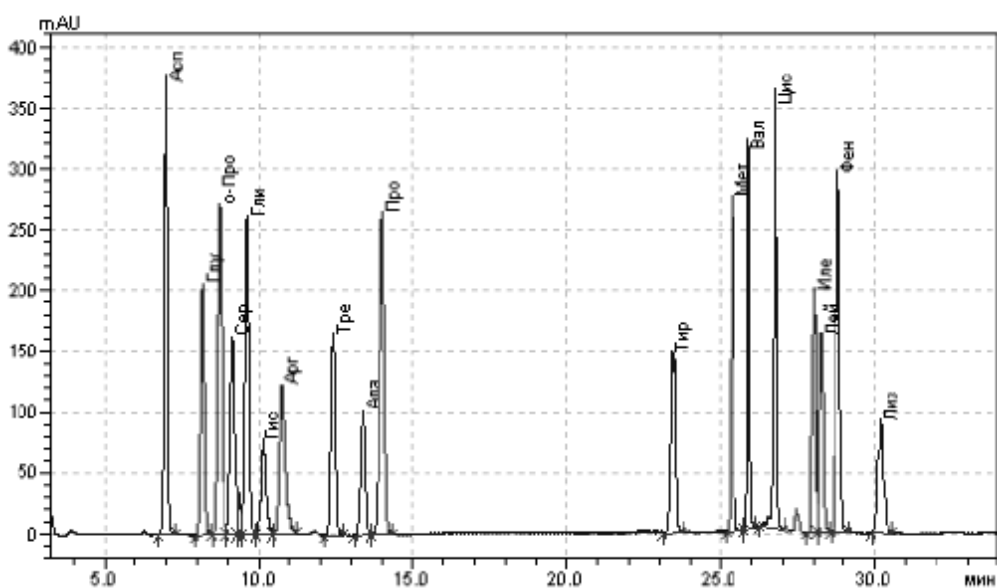
2. Расшифруйте приведенную схему синтеза нингидрина и укажите продукт его взаимодействия с аминокислотой. Превращение М в N – это известный промышленный процесс, разработанный С. В. Лебедевым. Напишите, на что надеялся криминалист, когда добавил смесь азотной и серной кислот. Объясните, на что указывает значение pH и отсутствие взаимодействия с SOCl<sub>2</sub>?



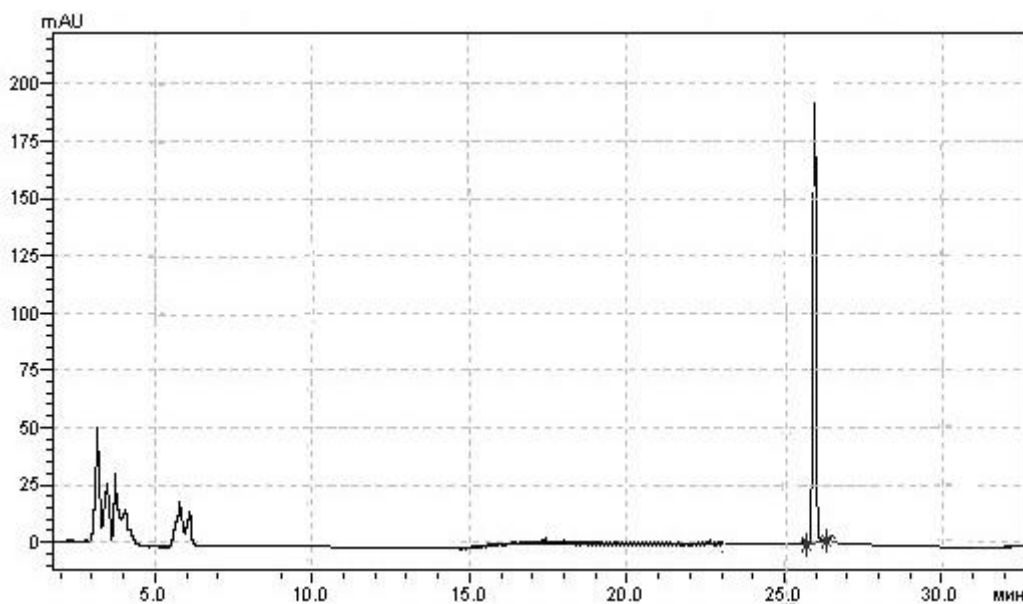
Для определения того, какая аминокислота (а может и смесь?..) была в составе найденных отпечатков, криминалист осуществил обратный синтез аминокислоты из альдегида и провел реакцию Эдмана:



Полученный тиогидантоин определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Сначала прибор калибруют с помощью стандартной смеси аминокислот,



а затем анализируют неизвестный образец. Хроматограмма неизвестного вещества представлена на рисунке ниже:



**3.** Укажите, какая аминокислота была детектирована. Считайте, что аминокислоты проходят по колонке за одинаковое время во всех экспериментах. Верхняя хроматограмма – калибровочная.

Но и это еще не все. По реактиву, который был куплен на черном рынке, был установлен химик-преступник (помните о том, что водный раствор данного соединения пахнет миндалем, а нейтрализовать его действие после попадания внутрь можно при помощи обычного сахара).

**4.** Укажите, какой реагент был куплен химиком-преступником.