

IChO 1986

Теоретические задачи и решения · Лейден, Нидерланды · 7 теоретических задач с полными решениями

eulersolve.org/icho/1986/

Задача 1: Противоопухолевые комплексы платины(II): изомеры, гидролиз и связывание с ДНК

Соединения, содержащие двухвалентную платину и имеющие общую формулу $\text{PtX}_2(\text{amine})_2$ ($\text{X} = \text{Cl}_2, \text{SO}_4^{2-}$, малонат и т. д.), привлекли большой научный интерес благодаря своей биологической активности, особенно в связи с их свойствами, позволяющими использовать их для лечения опухолей. Наиболее известное соединение, применяемое в клинической практике, — $\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$. Это соединение, в котором платина имеет плоскую квадратную координацию, существует в виде двух геометрических изомеров, из которых лишь один обладает противоопухолевой активностью.

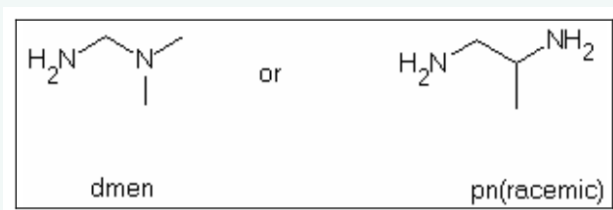
1.1 Изобразите пространственные структуры двух возможных изомеров.

1.2 Сколько изомеров имеет $\text{PtBrCl}(\text{NH}_3)_2$? Изобразите их все.

Аминные лиганды можно заменить одним лигандом, содержащим два донорных атома (N). В этом случае получают хелатный лиганд, например 1,2-диаминоэтан (en).

1.3 Покажите графически, что $\text{PtBrCl}(\text{en})$ имеет только одну устойчивую структуру.

Путём метилирования лиганда en можно получить его замещённые производные dmen или pn (рацемический).



1.4 Приведите пространственные структуры всех изомеров следующих соединений: $\text{PtCl}_2(\text{dmen})$, $\text{PtCl}_2(\text{pn})$, $\text{PtBrCl}(\text{dmen})$ и $\text{PtBrCl}(\text{pn})$.

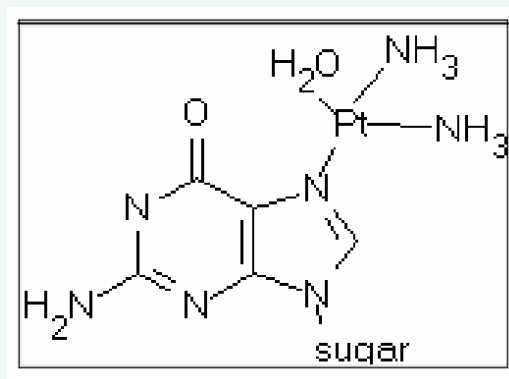
Эти соединения могут изомеризоваться в водном растворе за счёт отщепления лиганда и временного замещения более сильных лигандов слабым лигандом — водой. Cl^- и Br^- замещаются сравнительно легко, тогда как заместить аминные лиганды труднее: для этого обычно требуется нагревание.

1.5 Рассматривая каждый из изомеров в предыдущих вопросах а-д, укажите, какие изомеры могут превращаться друг в друга при комнатной температуре. Приведите как исходную молекулу, так и продукты.

1.6 $\text{PtCl}_2(\text{en})$ реагирует с Br^- в молярном соотношении 1:2 при комнатной температуре. Образования какого соединения и в какой доле вы ожидаете? Можно считать, что связи $\text{Pt}-\text{Br}$ и $\text{Pt}-\text{Cl}$ одинаково прочны и что гидролиз не оказывает мешающего влияния.

1.7 Используя уравнение химического равновесия, покажите, что в крови гидролиз практически не происходит, а в клетках происходит. Примечание: $\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$ гидролизуется с образованием и 2Cl^- . В клетках концентрация Cl^- низкая, а в крови — довольно высокая.

После гидролиза в опухолевой клетке образуется реакционноспособный ион платины, с которым по-прежнему связаны две группы NH_3 , что было установлено при исследовании мочи пациентов, получавших это соединение. По-видимому, реакционноспособный ион платины связывается с клеточной ДНК, причём связывание происходит через один из атомов N гуанина.



Благодаря наличию у платины двух реакционноспособных центров и двух нереакционноспособных лигандов NH_3 она может дополнительно образовать вторую связь с ДНК. Исследования показали, что это происходит, в частности, со вторым гуаниновым основанием той же цепи ДНК.

1.8 Покажите расчётами, какой из двух изомеров в вопросе а) может образовать эту связь. (Примечание: расстояние $\text{Pt}-\text{N} = 210$ пм, расстояние между основаниями ДНК = 320 пм).

Условие переведено с официального английского текста.

Ответы

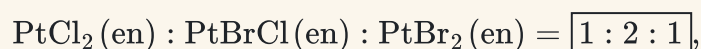
Названия структур и их стереохимические SMILES приведены по отдельности в решении.

- 1.1:** Два изомера: **цисплатин**, в котором аммиачные лиганды расположены рядом, и **трансплатин**, в котором аммиачные лиганды расположены напротив друг друга.
- 1.2:** Два изомера: цис- и транс-диамминбромидохлоридоплатина(II).
- 1.3:** Один конфигурационный изомер: два донорных атома азота en занимают соседние положения; бромид и хлорид занимают оставшиеся соседние положения.
- 1.4:** Числа изомеров:

Соединение	Число	Взаимосвязь
$\text{PtCl}_2(\text{dmen})$	1	Одна конфигурация
$\text{PtCl}_2(\text{pn})$	2	Одна пара энантиомеров

Соединение	Число	Взаимосвязь
PtBrCl(dmen)	2	Два геометрических расположения
PtBrCl(pn)	4	Две пары энантиомеров

- **1.5:** Два разногоалогенидных изомера с dmen взаимопревращаются. Для разногоалогенидных комплексов с pn два расположения галогенидов взаимопревращаются **отдельно в пределах каждой конфигурации атома углерода, *R* или *S***. Никакие другие различные изомеры из перечисленных выше не взаимопревращаются в результате предусмотренного условием обмена галогенидов при комнатной температуре.
- **1.6:** Равновесная смесь платиносодержащих соединений имеет состав



что соответствует **25%, 50% и 25%** соответственно. - **1.7:** При акватации высвобождается хлорид. Высокая концентрация хлорида в крови сдвигает равновесие в сторону исходного комплекса; более низкая концентрация хлорида в клетках благоприятствует акватации.

Отношение активностей диаквакомплекса и исходного комплекса изменяется пропорционально $\alpha_{\text{Cl}^-}^{-2}$. - **1.8: Цисплатин** подходит для образования предполагаемой сшивки между соседними гуанинами: его два центра связывания обеспечивают расстояние между донорными атомами приблизительно **297 пм**, по сравнению с **420 пм** для трансплатина и заданным расстоянием в ДНК **320 пм**.

Решение

При рассмотрении приведённых ниже структур учитываются **конфигурационные изомеры**, без учёта быстро взаимопревращающихся конформаций хелатных циклов.

В SMILES → обозначает координационную связь от донорного атома к металлу. Платина представлена как Pt^{2+} , а координированные галогениды сохраняют свои формальные отрицательные заряды. Дескриптор плоской квадратной геометрии @SP1 располагает соседние атомы 1 и 3 напротив друг друга, а соседние атомы 2 и 4 — напротив друг друга в соответствии с их порядком в SMILES. Эти строки задают координационную геометрию и конфигурацию атома углерода; они не фиксируют неплоскую конформацию цикла.

Ниже используются следующие лиганды и простые частицы:

Название	SMILES
Аммиак	N
Вода	O
Хлорид-ион	[Cl-]
Бромид-ион	[Br-]
Этан-1,2-диамин, en	NCCN
<i>N, N</i> -Диметилэтан-1,2-диамин, dmen, как следует из метилирования en	NCCN(C)C
(<i>R</i>)-Пропан-1,2-диамин, (<i>R</i>)-pn	NC[C@@H](C)N
(<i>S</i>)-Пропан-1,2-диамин, (<i>S</i>)-pn	NC[C@H](C)N

Рацемический $\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$ содержит равные количества своих R - и S -энантиомеров.

1.1 — Два изомера $\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$

Расположите платину в центре квадрата, а четыре её донорных атома — сверху, справа, снизу и слева, все в одной плоскости.

Название	Лиганды по часовой стрелке, начиная с положения над платиной	SMILES
Цисплатин , цис-диамминдихлоридоплатина(II)	$\text{NH}_3, \text{NH}_3, \text{Cl}, \text{Cl}$	<chem>[NH3]->[Pt@SP1+2](<-[NH3])(<-[Cl-])<-[Cl-]</chem>
Трансплатин , транс-диамминдихлоридоплатина(II)	$\text{NH}_3, \text{Cl}, \text{NH}_3, \text{Cl}$	<chem>[NH3]->[Pt@SP1+2](<-[Cl-])(<-[NH3])<-[Cl-]</chem>

Два аммиачных лиганда расположены под углом 90° в цис-изомере и 180° в транс-изомере. Этим исчерпываются все возможности расположения двух пар одинаковых лигандов в плоском квадрате.

1.2 — Изомеры $\text{PtBrCl}(\text{NH}_3)_2$

Два одинаковых аммиачных лиганда снова могут располагаться рядом или напротив друг друга.

Название	Лиганды по часовой стрелке, начиная с положения над платиной	SMILES
цис-Диамминбромидохлоридоплатина(II)	$\text{NH}_3, \text{NH}_3, \text{Br}, \text{Cl}$	<chem>[NH3]->[Pt@SP1+2](<-[NH3])(<-[Br-])<-[Cl-]</chem>
транс-Диамминбромидохлоридоплатина(II)	$\text{NH}_3, \text{Br}, \text{NH}_3, \text{Cl}$	<chem>[NH3]->[Pt@SP1+2](<-[Br-])(<-[NH3])<-[Cl-]</chem>

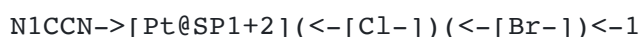
Перестановка бромиды и хлорида при любом из этих расположений не создаёт дополнительного изомера: полученный рисунок можно совместить с исходным поворотом молекулы. Таким образом, существуют **два изомера**.

1.3 — Почему $\text{PtBrCl}(\text{en})$ имеет одну устойчивую конфигурацию

Короткий мостик $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ лиганда en образует с платиной пятичленный хелатный цикл. Два его донорных атома азота должны занимать соседние координационные положения; транс-расположение несовместимо с устойчивым хелатом en .

Для требуемого рисунка поместите один атом азота над платиной, а другой — справа от неё. Соедините их цепью $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, проходящей снаружи этого угла. Поместите хлорид под платиной, а бромид — слева от неё.

Продукт — **бромидохлоридо(этан-1,2-диамин)платина(II)**:



Два конца en эквивалентны. Следовательно, перестановка бромиды и хлорида даёт эквивалентную структуру, поэтому остаётся **один конфигурационный изомер**.

1.4 — Все изомеры четырёх комплексов с замещёнными хелатными лигандами

Используйте следующую общую схему изображения:

- Поместите донорный атом N_a над платиной, а донорный атом N_b — справа от неё.
- Соедините их углеродным скелетом лиганда.
- Поместите два галогенида снизу и слева от платины.
- Таким образом, нижний галогенид находится в транс-положении к N_a , а левый галогенид — в транс-положении к N_b .

Для **dmen** N_a — донорный атом первичной аминогруппы, а N_b — донорный атом диметиламиногруппы. Для **pn** N_a связан с концевым метиленовым атомом углерода, а N_b — со стереогенным атомом углерода.

Обозначим расположения различных галогенидов следующим образом:

A : Cl в транс-положении к N_a , Br в транс-положении к N_b ,
 B : Br в транс-положении к N_a , Cl в транс-положении к N_b .

Полный набор:

Название и обозначение	Конфигурация	SMILES
Дихлоридо(dmen)платина(II)	Единственная конфигурация	<chem>N1CCN(C)(C)->[Pt@SP1+2](<-[Cl-])(<-[Cl-])<-1</chem>
Дихлоридо[(R)-pn]платина(II)	R	<chem>N1C[C@@H](C)N->[Pt@SP1+2](<-[Cl-])(<-[Cl-])<-1</chem>
Дихлоридо[(S)-pn]платина(II)	S	<chem>N1C[C@H](C)N->[Pt@SP1+2](<-[Cl-])(<-[Cl-])<-1</chem>
Бромидохлоридо(dmen)платина(II), D_A	Расположение A	<chem>N1CCN(C)(C)->[Pt@SP1+2](<-[Cl-])(<-[Br-])<-1</chem>
Бромидохлоридо(dmen)платина(II), D_B	Расположение B	<chem>N1CCN(C)(C)->[Pt@SP1+2](<-[Br-])(<-[Cl-])<-1</chem>
Бромидохлоридо[(R)-pn]платина(II), $P_{R,A}$	R, A	<chem>N1C[C@@H](C)N->[Pt@SP1+2](<-[Cl-])(<-[Br-])<-1</chem>
Бромидохлоридо[(S)-pn]платина(II), $P_{S,A}$	S, A	<chem>N1C[C@H](C)N->[Pt@SP1+2](<-[Cl-])(<-[Br-])<-1</chem>
Бромидохлоридо[(R)-pn]платина(II), $P_{R,B}$	R, B	<chem>N1C[C@@H](C)N->[Pt@SP1+2](<-[Br-])(<-[Cl-])<-1</chem>
Бромидохлоридо[(S)-pn]платина(II), $P_{S,B}$	S, B	<chem>N1C[C@H](C)N->[Pt@SP1+2](<-[Br-])(<-[Cl-])<-1</chem>

Для явного пространственного описания стереоцентра pn приоритеты его заместителей располагаются в следующем порядке:

азот аминогруппы > метилен-аминогруппа > метильная группа > водород.

Если водород направлен от наблюдателя, первые три группы следуют по часовой стрелке для R и против часовой стрелки для S .

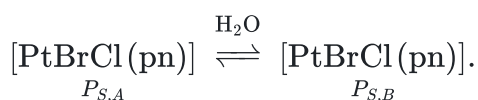
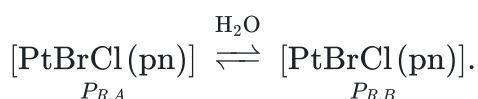
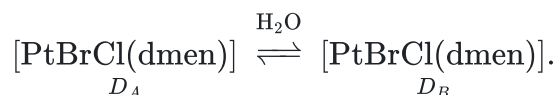
Числа изомеров следуют непосредственно:

- $\text{PtCl}_2(\text{dmen})$: Хлориды одинаковы, а dmen не имеет конфигурационно стереогенного центра. Существует **один** изомер.
- $\text{PtCl}_2(\text{pn})$: Хлориды одинаковы, но pn имеет один стереогенный атом углерода. Существуют **два** изомера, образующие пару R/S -энантиомеров.
- $\text{PtBrCl}(\text{dmen})$: Два донорных атома азота различаются, поэтому расположения A и B различны. Существуют **два геометрических изомера**.
- $\text{PtBrCl}(\text{pn})$: Каждое расположение галогенидов возможно при любой из двух конфигураций атома углерода. Существуют **четыре изомера**, образующие пары энантиомеров $(P_{R,A}, P_{S,A})$ и $(P_{R,B}, P_{S,B})$.

1.5 — Взаимопревращения при комнатной температуре

В рамках принятой в задаче модели замещения обмен при комнатной температуре сохраняет каркас связей платина–азот. Он также сохраняет конфигурацию атома углерода pn.

Временное замещение галогенидов водой с последующим повторным связыванием галогенидов может изменить то, какой галогенид занимает каждое из доступных положений. Поэтому возможны следующие суммарные изомеризации; обозначения относятся к полностью заданным структурам из 1.4:



Эти суммарные уравнения сбалансированы: вода участвует в обмене, но в целом не расходуется.

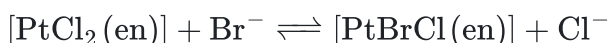
Для полноты рассмотрим остальные случаи:

Ранее рассмотренный комплекс	Результат только обмена галогенидов
цис-/транс- $\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$	Взаимопревращения нет: взаимное расположение аммиачных лигандов остаётся неизменным.
цис-/транс- $\text{PtBrCl}(\text{NH}_3)_2$	Взаимопревращения нет: перестановка галогенидов не меняет взаимного расположения аммиачных лигандов.
$\text{PtBrCl}(\text{en})$	Получается тот же конфигурационный изомер.
$\text{PtCl}_2(\text{dmen})$	Получается тот же конфигурационный изомер.
$R/S\text{-PtCl}_2(\text{pn})$	Взаимопревращения нет: обмен галогенидов не приводит к обращению конфигурации стереогенного атома углерода.

Аналогично, $P_{R,A}$ или $P_{R,B}$ в результате этого процесса не превращается ни в один из S -изомеров.

1.6 — Реакция $\text{PtCl}_2(\text{en})$ с двумя эквивалентами бромидов

Сбалансированные уравнения равновесий обмена имеют вид



и



Дополнительные структуры и их названия:

Название	SMILES
Дихлоридо(этан-1,2-диамин)платина(II)	<chem>N1CCN->[Pt@SP1+2](<-[Cl-])(<-[Cl-])<-1</chem>
Дибромидо(этан-1,2-диамин)платина(II)	<chem>N1CCN->[Pt@SP1+2](<-[Br-])(<-[Br-])<-1</chem>

Разногалогенидный комплекс был указан в 1.3.

Изначально на каждый моль комплекса платины приходится два моля хлорида, и добавляют два моля бромида. Таким образом, суммарные количества обоих галогенидов равны.

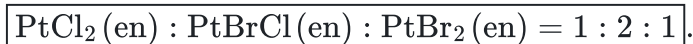
В предполагаемом приближении одинакового сродства и независимых центров равные суммарные количества означают равные равновесные концентрации свободных галогенидов. Поэтому каждое из двух галогенидных положений с вероятностью $1/2$ занято любым из галогенидов:

$$P(\text{два хлорида}) = \left(\frac{1}{2}\right)^2 = \frac{1}{4},$$

$$P(\text{по одному каждого}) = 2 \left(\frac{1}{2}\right) \left(\frac{1}{2}\right) = \frac{1}{2},$$

$$P(\text{два бромида}) = \left(\frac{1}{2}\right)^2 = \frac{1}{4}.$$

Следовательно,



На моль исходного комплекса платины конечные количества составляют соответственно 0.25, 0.50 и 0.25 mol, а также по 1.0 mol свободного хлорида и свободного бромида.

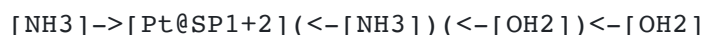
Множитель два для смешанного комплекса учитывает два эквивалентных способа распределения по положениям; он **не** означает существования двух различных разногалогенидных изомеров с en.

1.7 — Гидролиз в крови и в клетках

При явном указании замещающих лигандов воды суммарное равновесие акватации имеет вид



Для цисплатина продуктом является **ион цис-диамминдиакваплатины(II)**:



Константа равновесия равна

$$K = \frac{a_{[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}} a_{\text{Cl}^-}^2}{a_{[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]} a_{\text{H}_2\text{O}}^2}.$$

Принимая активность воды приблизительно равной единице, получаем

$$\boxed{\frac{a_{[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}}}{a_{[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]}} = \frac{K}{a_{\text{Cl}^-}^2}}.$$

Таким образом:

- **Кровь:** высокая активность хлорида подавляет акватацию вследствие эффекта общего иона.
- **Клетки:** более низкая активность хлорида благоприятствует образованию реакционноспособного аквакомплекса.

Например, десятикратное уменьшение активности хлорида увеличивает это отношение активностей диаквакомплекса и исходного комплекса в $10^2 = 100$ раз. Приведённые данные устанавливают направление эффекта; для численного определения долей гидролизированных форм потребовались бы константы равновесия и концентрации.

1.8 — Какой изомер может образовать сшивку между двумя гуанинами?

Показанный атом связывания — **N7** гуанина. Гуанин в виде свободного основания, приведённого для справки, имеет SMILES:

Nc1nc2[nH]cnc2c(=O)[nH]1

В ДНК его положение N9 связано с сахаром. Всей молекуле ДНК нельзя приписать единственную строку SMILES без указания её последовательности и структуры.

После акватации два замещаемых лиганда занимают положения, первоначально занятые хлоридами. Поэтому два центра связывания гуанина расположены в цис-положениях у цисплатина и в транс-положениях у трансплатина.

Для двух связей платина–азот длиной r , образующих угол θ , расстояние между атомами азота равно

$$d = \sqrt{r^2 + r^2 - 2r^2 \cos \theta} = 2r \sin \frac{\theta}{2}.$$

Используем $r = 210$ pm:

Для **цисплатина**, $\theta = 90^\circ$:

$$d_{\text{cis}} = \sqrt{2}(210 \text{ pm}) \approx \boxed{297 \text{ pm}}.$$

Для **трансплатина**, $\theta = 180^\circ$:

$$d_{\text{trans}} = 2(210 \text{ pm}) = \boxed{420 \text{ pm}}.$$

Заданное расстояние между основаниями ДНК составляет 320 pm, что гораздо ближе к расстоянию для цис-изомера. Эквивалентно, точное расстояние между донорными атомами 320 pm при двух связях длиной 210 pm потребовало бы угла

$$\theta = 2 \arcsin \left(\frac{320}{420} \right) \approx 99^\circ,$$

который близок к углу при цис-расположении.

Таким образом, **цисплатин — изомер, согласующийся с предполагаемой сшивкой между близко расположенными гуанинами одной цепи ДНК**, причём приближённое сравнение расстояний подразумевает некоторую структурную перестройку.

Решение проверено по официальному решению. Там, где это решение расходится с официальным, в официальном решении есть ошибка или опечатка.

Задача 2: Трифосфат натрия в моющих средствах: комплексообразование с Ca^{2+} и Mg^{2+}

Соединение $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ используют в качестве добавки к моющим средствам для связывания присутствующих в воде ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , чтобы предотвратить осаждение их солей жирных кислот на белье.

2.1 Изобразите строение ионов $(\text{P}_3\text{O}_{10})^{5-}$ и $(\text{P}_3\text{O}_9)^{3-}$, предполагая, что связи P-P отсутствуют.

2.2 Предполагая октаэдрическую координацию иона Mg^{2+} , изобразите строение иона $\text{Mg}(\text{P}_3\text{O}_{10})(\text{H}_2\text{O})_n^{3-}$ и укажите значение n .

Комплексные ионы, образованные Mg^{2+} и Ca^{2+} с трифосфатом, хорошо растворимы в воде. Они, среди прочего, способствуют бурному росту водорослей в поверхностных водах. Их можно было бы удалить осаждением в виде нерастворимого соединения.

2.3 Предложите несколько вариантов ионов, с помощью которых можно осадить трифосфаты, связанные с Ca^{2+} или Mg^{2+} .

2.4 Рассчитайте массу $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ (в граммах), необходимую для снижения содержания Ca^{2+} в 20 литрах водопроводной воды (0.225 г/л) в стиральной машине до допустимого максимума 0.02 г/л. Влиянием pH, осаждением $\text{Ca}(\text{OH})_2$ и возможным влиянием других положительных ионов можно пренебречь. Даны следующие сведения:

$$K_1 = \frac{[\text{Ca}^{2+}][\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}]}{[\text{CaP}_3\text{O}_{10}^{3-}]} = 1.0 \times 10^{-6}$$

Молярная масса $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ равна 366 g mol^{-1} , молярная масса Ca равна 40 g mol^{-1} .

Условие переведено с официального английского текста.

Ответы

- 2.1 Трифосфат(5-),** $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$, имеет открытую цепь из трёх атомов фосфора, соединённых кислородными мостиками. SMILES: [O-]P(=O)([O-])OP(=O)([O-])OP(=O)([O-])[O-].
- Циклотрифосфат(3-),** также называемый триметафосфатом, $\text{P}_3\text{O}_9^{3-}$, имеет шестичленное кольцо из чередующихся атомов фосфора и кислорода. SMILES: [O-]P1(=O)OP(=O)([O-])OP(=O)([O-])O1.
- 2.2 $n = 1$. Акватрифосфатомagneзат(II)-ион,** $[\text{Mg}(\text{P}_3\text{O}_{10})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$, содержит пять донорных атомов кислорода трифосфата и один донорный атом кислорода воды, расположенных октаэдрически вокруг магния. SMILES с указанием донорно-акцепторных связей: [Mg+2]1234(<-[OH2])<-[O-]P(=O)([O-]->1)OP(=O)([O-]->2)OP(=O)([O-]->3)[O-]->4.
- 2.3** Подходящими качественными примерами являются **ионы железа(III),** Fe^{3+} , [Fe+3], и **ионы алюминия(III),** Al^{3+} , [Al+3], которые могут осаждать трифосфат в составе малорастворимых твёрдых веществ.

- **2.4** Требуемая минимальная масса **трифосфата натрия**, $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, составляет 37.6 g, то есть приблизительно 38 g. Ионная запись SMILES: $[\text{Na}^+] \cdot [\text{Na}^+] \cdot [\text{Na}^+] \cdot [\text{Na}^+] \cdot [\text{Na}^+] \cdot [\text{O}^-] \text{P}(=\text{O})([\text{O}^-]) \text{OP}(=\text{O})([\text{O}^-]) \text{OP}(=\text{O})([\text{O}^-]) [\text{O}^-]$.

Решение

2.1 — Строение фосфатных ионов

Каждый атом фосфора(V) имеет приблизительно тетраэдрическое окружение из атомов кислорода. Тетраэдры соединяются через мостиковые атомы кислорода, образуя связи $\text{P}-\text{O}-\text{P}$.

Три отдельных тетраэдра содержат двенадцать позиций для атомов кислорода. Использование одного атома кислорода совместно двумя атомами фосфора уменьшает число отдельных атомов кислорода на один.

Поэтому для **трифосфата**, $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$, необходимы два кислородных мостика:

$$12 - 2 = 10.$$

Структура представляет собой открытую цепь $\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}$. В обычной структуре Льюиса:

- Каждый концевой атом фосфора имеет одну группу $\text{P}=\text{O}$, две концевые группы O^- и один мостиковый атом кислорода.
- Средний атом фосфора имеет одну группу $\text{P}=\text{O}$, одну концевую группу O^- и два мостиковых атома кислорода.

Таким образом, имеются пять отрицательно заряженных концевых атомов кислорода, а общий заряд равен 5—. Чтобы изобразить ион, нарисуйте три соединённых тетраэдра с атомами фосфора в центрах и разместите на них эти концевые группы. «Открытая цепь» описывает порядок соединения атомов; цепь не обязательно должна быть прямой или плоской.

Для **циклотрифосфата**, $\text{P}_3\text{O}_9^{3-}$, необходимы три мостика:

$$12 - 3 = 9.$$

Нарисуйте замкнутое шестичленное кольцо с чередующимися атомами фосфора и кислорода. Каждый атом фосфора несёт одну дополнительную концевую группу $\text{P}=\text{O}$ и одну концевую группу O^- . Три отрицательно заряженных атома кислорода дают общий заряд 3—.

Локализованные двойные связи и заряды — условные обозначения в структурах Льюиса; вследствие резонанса связи и заряд распределяются между концевыми атомами кислорода.

2.2 — Комплекс магния

В предполагаемой идеализированной модели трифосфат является **пентадентатным**: все пять концевых атомов кислорода, формально несущих отрицательный заряд, координируются с одним ионом магния(II), Mg^{2+} , $[\text{Mg}+2]$.

Для октаэдрической координации необходимы шесть донорных атомов. Вода, H_2O , о, предоставляет недостающий донорный атом:

$$5 + n = 6 \quad \implies \quad \boxed{n = 1}.$$

Заряд равен

$$(+2) + (-5) + 0 = -3,$$

поэтому комплекс имеет формулу $[\text{Mg}(\text{P}_3\text{O}_{10})(\text{H}_2\text{O})]^{3-}$.

Точный рисунок можно построить следующим образом:

1. Поместите магний в центр октаэдра.
2. Разместите донорный атом кислорода, связанный со средним атомом фосфора, в верхней аксиальной вершине, а атом кислорода воды — в противоположной аксиальной вершине.
3. Разместите четыре отрицательно заряженных атома кислорода, связанные с двумя концевыми атомами фосфора, в четырёх экваториальных вершинах. Два донорных атома, принадлежащие каждому концевому атому фосфора, занимают соседние вершины.
4. Сохраните два кислородных мостика, соединяющих три атома фосфора.

Три атома кислорода, условно изображаемые в составе групп $\text{P}=\text{O}$, и два мостиковых атома кислорода в этой модели не участвуют в координации. Стрелки в приведённой записи SMILES обозначают координационные связи, направленные от кислорода к магнию; октаэдрическое расположение задаётся приведённым выше описанием. В реальных комплексах возможна и другая дентатность, но в идеализированной модели, в которой координируются все пять отрицательно заряженных атомов кислорода, $n = 1$.

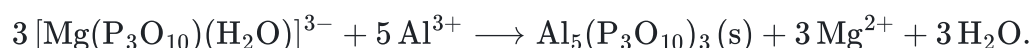
2.3 — Осаждение

Ионы железа(III) и алюминия(III) обладают высоким сродством к донорным атомам кислорода фосфатов и могут образовывать малорастворимые твёрдые вещества, содержащие трифосфат. Осаждение выводит трифосфат из растворимых комплексов кальция или магния.

Формально записывая нерастворимые трифосфаты трёхвалентных металлов как $\text{Fe}_5(\text{P}_3\text{O}_{10})_3$ и $\text{Al}_5(\text{P}_3\text{O}_{10})_3$, получаем следующие примеры уравнений с расставленными коэффициентами:



и

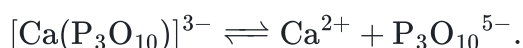


Любой из этих осаждающих катионов можно использовать для любого из комплексов ионов, обуславливающих жёсткость воды. Эти уравнения описывают идеализированную стехиометрию вытеснения и осаждения; точный состав твёрдой фазы зависит от условий в растворе.

2.4 — Требуемая масса трифосфата натрия

Указанное предельное содержание кальция относится к **свободному кальцию(II)**, Ca^{2+} , $[\text{Ca}+2]$. Комплексообразование снижает концентрацию свободных ионов, при этом кальций остаётся в растворе.

Равновесие описывается уравнением



Состав трифосфатного комплекса кальция(II) задаётся записью SMILES $[\text{Ca}+2] \cdot [\text{O}-] \text{P}(=\text{O}) ([\text{O}-]) \text{OP}(=\text{O}) ([\text{O}-]) \text{OP}(=\text{O}) ([\text{O}-]) [\text{O}-]$; в этой записи опущены координационные связи, расположение которых для расчёта не требуется.

Исходная общая концентрация кальция равна

$$c_{\text{Ca,tot}} = \frac{0.225 \text{ g L}^{-1}}{40 \text{ g mol}^{-1}} = 5.625 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}.$$

При минимальной дозировке конечная концентрация свободных ионов кальция равна допустимому максимуму:

$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{0.020 \text{ g L}^{-1}}{40 \text{ g mol}^{-1}} = 5.00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}.$$

Поскольку каждый комплекс содержит один ион кальция, из материального баланса по кальцию получаем

$$\begin{aligned} &= c_{\text{Ca,tot}} - [\text{Ca}^{2+}] \\ &= 5.625 \times 10^{-3} - 5.00 \times 10^{-4} \\ &= 5.125 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}. \end{aligned}$$

Для установления заданного равновесия некоторая часть трифосфата должна оставаться свободной. Используя данную константу диссоциации и выражая концентрации в mol L^{-1} , получаем

$$\begin{aligned} &= K_1 \frac{[\text{CaP}_3\text{O}_{10}^{3-}]}{[\text{Ca}^{2+}]} \\ &= (1.0 \times 10^{-6}) \frac{5.125 \times 10^{-3}}{5.00 \times 10^{-4}} \\ &= 1.025 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}. \end{aligned}$$

Следовательно, требуемая общая концентрация трифосфата равна

$$\begin{aligned} c_{\text{triphosphate,tot}} &= [\text{CaP}_3\text{O}_{10}^{3-}] + [\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}] \\ &= 5.13525 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}. \end{aligned}$$

Каждый моль трифосфата натрия даёт один моль трифосфата. Таким образом, используя указанную молярную массу, получаем

$$\begin{aligned} m &= (20 \text{ L})(5.13525 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1})(366 \text{ g mol}^{-1}) \\ &= 37.59003 \text{ g}. \end{aligned}$$

Следовательно,

$$m(\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}) \approx 37.6 \text{ g} \quad (\text{около } 38 \text{ g}).$$

Решение проверено по официальному решению.

Задача 3: Модель «частица в ящике» для сопряжённых красителей и ретиналя

Чтобы объяснить, почему красители имеют окраску, их можно рассматривать как стержнеобразные одномерные молекулы, вдоль которых распределены электроны. Длины волн электронов должны соответствовать доступному пространству длиной l . При поглощении света электрон переходит из состояния с более низкой энергией в состояние с более высокой энергией. Разность энергий задаётся выражением:

$$\Delta E = h \times \text{coverlambd} \quad \text{где } \lambda = \frac{h}{p}$$

3.1 Приведите общее выражение для возможных длин волн электрона как функции длины l .

В модели «частица в ящике» рассматриваются только изменения кинетической энергии электронов.

3.2 Приведите выражение для возможных энергий электронов в молекуле (как функции l).

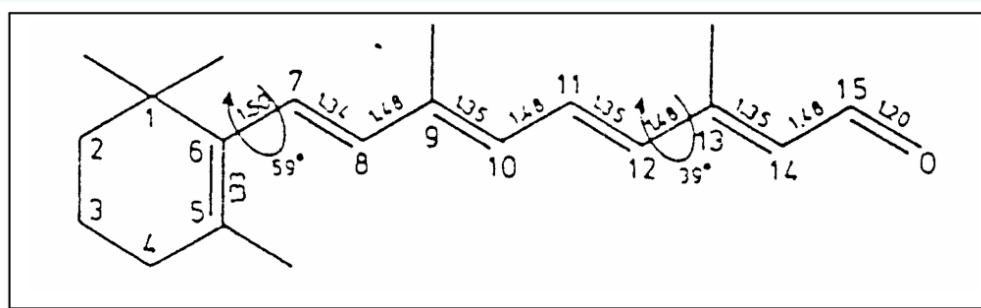
3.3 Покажите, что для цепи длиной l , содержащей k электронов, поглощение с наибольшей длиной волны происходит при:

$$\lambda = \frac{8mcl^2}{h(k+1)} \quad \text{для чётных значений } k$$

3.4 Выведите выражение для длины волны первого электронного перехода как функции числа атомов С для чётных значений n .

3.5 Рассчитайте минимальное число атомов С (в сопряжённых системах), необходимое для появления видимой окраски. Длина связи С-С составляет 142 пм.

Сетчатка глаза человека содержит родопсин — вещество, поглощающее свет.



Участок молекулы, включающий атомы С с 7 по 12, является плоским. Угол между связями С5-С6, С7-С8, С11-С12 и С13-С14 составляет около 39°. Согласно теории «частица в ящике», фрагмент с С7 по С12 должен поглощать свет с длиной волны около 213 нм. В действительности поглощение ретиналя происходит при 308 нм.

3.6 Используя упомянутые выше теории, объясните причину большей длины волны, наблюдаемой на практике.

3.7 Когда ретиналь связывается с опсином с образованием родопсина, поглощение происходит при длине волны около 600 нм. Какие атомы белок должен принудительно расположить в одной плоскости? Подтвердите это расчётом.

Условие переведено с официального английского текста.

Ответы

- **3.1** $\lambda_{e,j} = \frac{2l}{j}$, где $j = 1, 2, 3, \dots$
- **3.2** $E_j = \frac{j^2 h^2}{8m_e l^2}$.
- **3.3** Возбуждению с наименьшей энергией соответствует переход $j = k/2 \rightarrow k/2 + 1$, что даёт $\lambda_{\max} = \frac{8m_e c l^2}{h(k+1)}$.

- **3.4** Если a — длина связи углерод–углерод, то $l = (n - 1)a$ и $k = n$, поэтому

$$\lambda_{\text{first}} = \frac{8m_e c a^2}{h} \frac{(n - 1)^2}{n + 1}.$$

- **3.5** $n_{\min} = 10$ атомов углерода в сопряжённой системе. Предсказанная длина волны поглощения составляет приблизительно 490 nm; восемь атомов углерода дают 362 nm.
- **3.6** Скручивание уменьшает, но не устраняет перекрывание орбиталей. Поэтому делокализация распространяется за пределы C7–C12, понижая энергию возбуждения и увеличивая длину волны поглощения.
- **3.7** В рамках указанной модели весь сопряжённый скелет — **атомы с C5 по C15 и концевой атом кислорода на рисунке** — должен лежать в одной плоскости. Он содержит 12 электронов сопряжённой системы, распределённых на протяжении приблизительно 1.54 nm, что даёт $\lambda \approx 600 \text{ nm}$.

Решение

Обозначим через λ_e длину волны де Бройля электрона, а через λ_{ph} — длину волны поглощённого фотона. Два необходимых соотношения имеют вид

$$p = \frac{h}{\lambda_e}, \quad \Delta E = \frac{hc}{\lambda_{\text{ph}}}.$$

Для численных расчётов используем

$$h = 6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}, \quad m_e = 9.109 \times 10^{-31} \text{ kg}, \quad c = 2.998 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}.$$

3.1

Для частицы, ограниченной непроницаемыми стенками при $x = 0$ и $x = l$, волновая функция должна обращаться в нуль на обеих границах. Таким образом, в ящике укладывается целое число полувольт:

$$l = j \frac{\lambda_{e,j}}{2}.$$

Следовательно,

$$\lambda_{e,j} = \frac{2l}{j}, \quad j = 1, 2, 3, \dots$$

Соответствующие стоячие волны пропорциональны $\sin(j\pi x/l)$. Значение $j = 0$ дало бы тождественно нулевую волновую функцию и поэтому исключается.

3.2

Разрешённые значения модуля импульса равны

$$p_j = \frac{h}{\lambda_{e,j}} = \frac{jh}{2l}.$$

Если принять потенциальную энергию внутри ящика равной нулю, энергия будет полностью кинетической:

$$E_j = \frac{p_j^2}{2m_e}.$$

Следовательно,

$$E_j = \frac{j^2 h^2}{8m_e l^2}, \quad j = 1, 2, 3, \dots$$

3.3

На каждом пространственном энергетическом уровне могут находиться два электрона с противоположными спинами. Для чётного числа k электронов в основном состоянии заняты уровни

$$j = 1, 2, \dots, \frac{k}{2}.$$

При возбуждении с наименьшей возможной энергией электрон переходит с высшего занятого уровня на низший незанятый уровень:

$$\frac{k}{2} \longrightarrow \frac{k}{2} + 1.$$

Этот переход между соседними уровнями является дипольно разрешённым. Его энергия равна

$$\begin{aligned} \Delta E_{\min} &= E_{k/2+1} - E_{k/2} \\ &= \frac{h^2}{8m_e l^2} \left[\left(\frac{k}{2} + 1 \right)^2 - \left(\frac{k}{2} \right)^2 \right] \\ &= \frac{h^2(k+1)}{8m_e l^2}. \end{aligned}$$

Поскольку наибольшая длина волны фотона соответствует наименьшей энергии возбуждения,

$$\lambda_{\max} = \frac{hc}{\Delta E_{\min}} = \frac{8m_e c l^2}{h(k+1)}.$$

3.4

Неразветвлённая сопряжённая цепь, содержащая n атомов углерода, имеет $n - 1$ связей вдоль своего скелета. Используя контурную длину цепи в качестве длины одномерного ящика, получаем

$$l = (n - 1)a,$$

где a — одинаковая для всех связей длина связи углерод–углерод. Каждый атом углерода сопряжённой системы даёт один π -электрон, поэтому $k = n$.

Подстановка в результат пункта 3.3 даёт

$$\lambda_{\text{first}}(n) = \frac{8m_e c a^2 (n - 1)^2}{h(n + 1)}, \quad n \text{ чётное.}$$

При $a = 142 \text{ pm} = 1.42 \times 10^{-10} \text{ m}$

$$\frac{8m_e c a^2}{h} = 6.648 \times 10^{-8} \text{ m} = 66.48 \text{ nm}.$$

Отсюда

$$\lambda_{\text{first}}(n) = (66.48 \text{ nm}) \frac{(n - 1)^2}{n + 1}.$$

3.5

Если принять приблизительно 400 nm за коротковолновую границу видимого света, необходимо выполнение условия

$$66.48 \frac{(n-1)^2}{n+1} \geq 400.$$

Равенство даёт $n \approx 8.60$. Поскольку n должно быть чётным, первое подходящее значение — $n = 10$. Проверим соседние чётные значения:

Число атомов углерода в сопряжённой системе n	Длина ящика l	Длина волны первого поглощения
8	994 pm	362 nm
10	1278 pm	490 nm

Таким образом, восемь атомов углерода всё ещё дают поглощение в ультрафиолетовой области, а десять — в видимой:

$$n_{\min} = 10.$$

Использование 380 nm вместо 400 nm в качестве границы видимой области даёт то же минимальное значение.

3.6

На рисунке изображён **ретиаль** со всеми двойными связями полиеновой цепи в транс-конфигурации, представленный записью SMILES

O=C/C=C(\C)/C=C/C=C(\C)/C=C/C1=C(C)CCCC1(C)C.

Эта запись SMILES задаёт порядок соединения атомов и конфигурацию двойных связей; она не задаёт показанные на рисунке торсионные углы вокруг одинарных связей.

Ограничение ящика участком C7–C12 предполагает, что электроны сопряжённой системы не могут выходить за пределы этого фрагмента. Однако соседние двойные связи отделены от него одинарными связями, вокруг которых молекула скручена. Скручивание на указанный угол уменьшает перекрывание соседних p -орбиталей, но не сводит его к нулю.

Следовательно, электронные состояния распространяются за пределы C7–C12 на соседние сопряжённые группы. Большая эффективная длина делокализации понижает энергию первого возбуждения, поэтому

$$\Delta E \downarrow \implies \lambda_{\text{ph}} = \frac{hc}{\Delta E} \uparrow.$$

Это качественно объясняет, почему наблюдаемая длина волны 308 nm больше указанного предсказанного значения 213 nm для изолированного фрагмента. Одна лишь простая модель и значения торсионных углов не позволяют определить точную наблюдаемую длину волны.

3.7

Чтобы обеспечить максимальное сопряжение в рамках модели, белок должен расположить весь сопряжённый скелет в одной плоскости:

- двойную связь кольца C5=C6;
- атомы углерода цепи C7–C15;

- концевой карбонильный атом кислорода на приведённом рисунке.

Таким образом, в соответствующей плоскости находятся **C5–C15 и O**. Насыщенные атомы углерода кольца C1–C4 и атомы углерода метильных групп не принадлежат этой сопряжённой электронной системе.

Имеется шесть сопряжённых двойных связей: пять двойных связей углерод–углерод и одна двойная связь углерод–кислород. Поэтому

$$k = 6 \times 2 = 12 \text{ электронов.}$$

Суммирование обозначенных длин связей вдоль сопряжённой цепи от C5 до O даёт приблизительно

$$l = l_{5,6} + l_{6,7} + \dots + l_{14,15} + l_{15,O} \simeq 1.54 \text{ nm.}$$

Следовательно, предсказанная длина волны поглощения равна

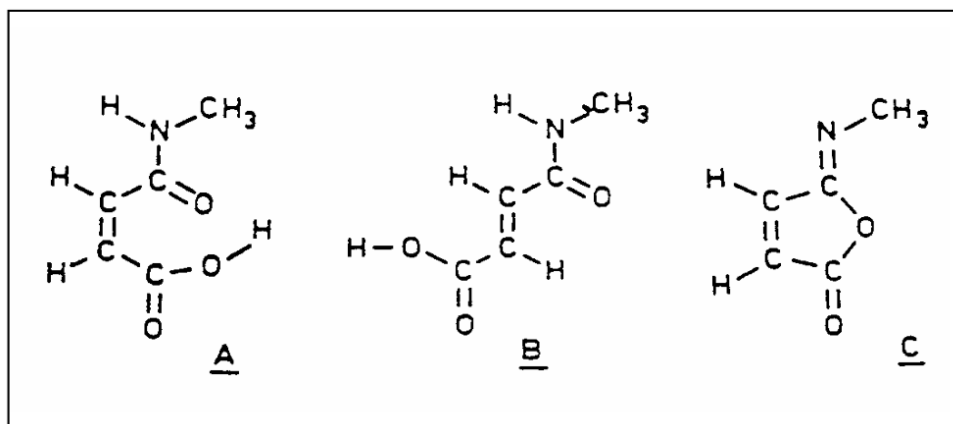
$$\begin{aligned} \lambda_{\max} &= \frac{8m_e c l^2}{h(k+1)} \\ &\simeq \frac{8(9.109 \times 10^{-31} \text{ kg})(2.998 \times 10^8 \text{ m s}^{-1})(1.54 \times 10^{-9} \text{ m})^2}{(6.626 \times 10^{-34} \text{ J s})(13)} \\ &\simeq 6.0 \times 10^{-7} \text{ m} \\ &= \boxed{6.0 \times 10^2 \text{ nm}}. \end{aligned}$$

Это согласуется с приведённым в условии значением около 600 nm.

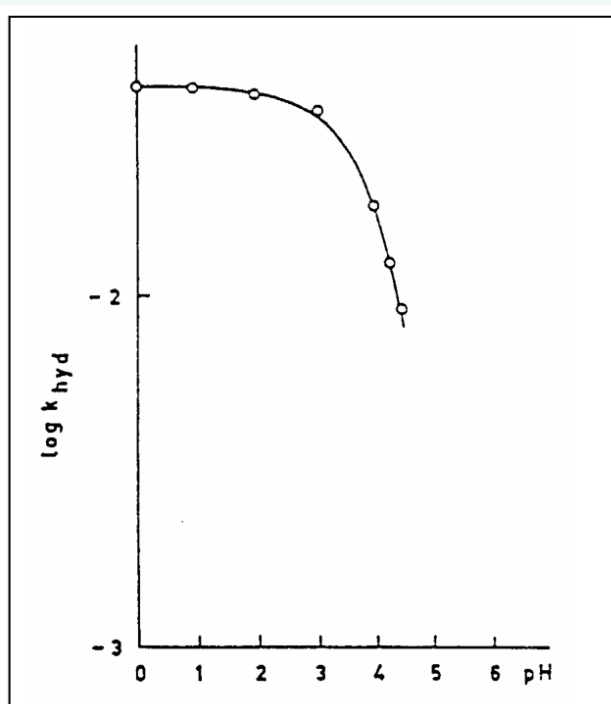
Решение проверено по официальному решению.

Задача 4: Внутримолекулярный катализ гидролиза амидов (модель фермента)

Высокая эффективность ферментативного катализа обусловлена главным образом образованием комплекса фермента с реагентом, в котором реагирующая группа занимает благоприятное для реакции положение относительно каталитических групп фермента. Исследования проводят с модельными соединениями, в которых каталитическая группа введена вблизи реакционного центра молекулы. В качестве примера рассмотрим гидролиз амидной связи в соединении **A**. Эта реакция протекает в воде при 39 °C и pH = 2 более чем в миллион раз быстрее, чем гидролиз соединения **B**.



Зависимость константы скорости k_{hyd} от pH для гидролиза **A** при 39 °C показана на рисунке ниже.



Дополнительное наблюдение:

При добавлении воды к изоимиду **C** происходит быстрая реакция, в результате которой первоначально образуется **A**. Затем происходит гидролиз **A**. Амидную карбонильную группу в **A** метят изотопом ^{13}C и проводят гидролиз в H_2^{18}O при pH = 2 и 39 °C. Образующуюся при гидролизе дикарбоновую кислоту выделяют, превращают в дисеребряную соль и полностью декарбоксилируют бромом в безводной реакционной среде. Образующийся диоксид углерода представляет собой смесь частиц с массами 44, 45, 46 и 47, образующихся в равных количествах.

4.1 Почему гидролиз **A** протекает настолько быстрее, чем гидролиз **B**?

4.2 Объясните, почему скорость гидролиза **A** не зависит от pH в диапазоне от pH = 0 до pH = 2.

4.3 Почему k_{hyd} столь быстро уменьшается при значениях pH выше 3?

4.4 Приведите подробный механизм реакции гидролиза **A**. Укажите, какая стадия реакции определяет её скорость.

4.5 Покажите, что дополнительные наблюдения согласуются с механизмом реакции, приведённым в пункте d.

Условие переведено с официального английского текста.

Ответы

- **4.1:** Цис-расположение групп в **A** позволяет соседней карбоксильной группе участвовать в реакции с образованием пятичленного циклического интермедиата. Транс-расположение групп в **B** препятствует этому благоприятному пути реакции.
- **4.2:** Соседняя карбоксильная группа преимущественно протонирована и служит внутримолекулярным источником необходимого протона. Поэтому скорость приближается к предельному значению, не зависящему от pH.
- **4.3:** Ионизация карбоксильной группы подавляет этот путь реакции. Приближённо,

$$k_{\text{hyd}} = \frac{k_0}{1 + 10^{\text{pH} - \text{p}K_a}}.$$

- **4.4:** Обратимая циклизация приводит к образованию тетраэдрического интермедиата. Медленное расщепление связи C–N при содействии протона приводит к образованию **малеинового ангидрида**, $\text{O}=\text{C}1\text{O}C(=\text{O})\text{C}=\text{C}1$, который быстро гидролизуетс до **малеиновой кислоты**, $\text{O}=\text{C}(\text{O})/\text{C}=\text{C}\backslash\text{C}(=\text{O})\text{O}$.
- **4.5:** Гидратация **C** может приводить к тому же тетраэдрическому интермедиату, который легко превращается обратно в **A**. При последующем гидролизе через симметричный ангидрид поступающий атом кислорода-18 с равной вероятностью оказывается в любой из двух карбоксильных групп, что даёт диоксид углерода с номинальными массами 44, 45, 46, 47 в соотношении 1 : 1 : 1 : 1.

Решение

4.1 — Причина ускорения

Два исходных соединения:

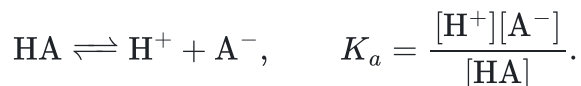
Соединение	Название и конфигурация двойной связи	SMILES
A	N-Метилмалеаминовая кислота; карбоксильная и амидная группы находятся в цис-положении	<chem>CNC(=O)/C=C\C(=O)O</chem>
B	N-Метилфумарамовая кислота; карбоксильная и амидная группы находятся в транс-положении	<chem>CNC(=O)/C=C/C(=O)O</chem>

В **A** соседняя карбоксильная группа может приблизиться к амидной карбонильной группе и участвовать во **внутримолекулярном нуклеофильном замещении у ацильного центра**. Замыкание цикла приводит к образованию благоприятного пятичленного интермедиата. Карбоксильная группа также предоставляет протон, способствующий отщеплению азотсодержащей группы.

Такое расположение обеспечивает как благоприятную взаимную ориентацию, так и высокую эффективную локальную концентрацию участвующей группы. В **В** двойная связь удерживает два заместителя по разные стороны. Соответствующий пятичленный цикл не может образоваться при сохранении транс-конфигурации этой двойной связи. Следовательно, для **В** недоступен внутримолекулярный путь, обеспечивающий сильное ускорение реакции.

4.2 — Область независимости от pH

Обозначим нейтральное соединение **A** как **HA**, а его сопряжённое основание, **N-метилмалеамат**, $\text{CNC}(=\text{O})/\text{C}=\text{C}\backslash\text{C}(=\text{O})[\text{O}^-]$, как A^- . Равновесие между ними имеет вид



Здесь ион водорода — это H^+ , $[\text{H}^+]$.

Для эффективного пути реакции необходима **протонированная карбоксильная группа**: она обеспечивает атаку соседней группы совместно с внутримолекулярным переносом протона. Дополнительный ион гидроксония в превращении, определяющем скорость реакции, не требуется.

Пренебрегая гораздо более медленным фоновым гидролизом, обозначим через k_0 предельную константу скорости первого порядка для этого пути реакции. Тогда

$$v = k_0[\text{HA}] = k_{\text{hyd}}([\text{HA}] + [\text{A}^-]),$$

так что

$$k_{\text{hyd}} = k_0 \frac{[\text{H}^+]}{K_a + [\text{H}^+]} = \frac{k_0}{1 + 10^{\text{pH} - \text{p}K_a}}.$$

В диапазоне pH от 0 до 2 преобладает нейтральная кислота, поэтому

$$[\text{H}^+] \gg K_a \implies k_{\text{hyd}} \approx k_0.$$

Это объясняет наличие плато.

4.3 — Уменьшение при pH выше 3

С повышением pH всё большая доля **A** превращается в карбоксилат-анион. Хотя атом кислорода карбоксилатной группы нуклеофилен, группа утратила кислотный протон, необходимый для эффективного пути, в котором перенос протона сопряжён с расщеплением амидной связи.

Поэтому доля реакционноспособной нейтральной кислоты резко уменьшается. В пределе высоких pH

$$k_{\text{hyd}} \approx k_0 \frac{[\text{H}^+]}{K_a},$$

и, следовательно,

$$\log_{10} k_{\text{hyd}} \approx \log_{10} k_0 + \text{p}K_a - \text{pH}.$$

Таким образом, наклон идеализированной нисходящей ветви приближается к -1 : повышение pH на единицу приводит приблизительно к десятикратному уменьшению этого вклада в скорость.

4.4 — Подробный механизм и стадия, определяющая скорость

Важные циклические частицы:

Обозначение	Частица	SMILES
T	Циклический тетраэдрический интермедиат, 5-гидрокси-5-(метиламино)фуран-2(5H)-он	<chem>CNC1(O)OC(=O)C=C1</chem>
T_N	Форма T , образующаяся при переносе протона, с аммониевой группой и алкоголятным атомом кислорода	<chem>C[NH2+]C1([O-])OC(=O)C=C1</chem>
D	Малеиновый ангидрид	<chem>O=C1OC(=O)C=C1</chem>

Временная стереохимическая конфигурация тетраэдрического атома углерода не влияет на рассуждение; в SMILES для **T** и **T_N** она не указана.

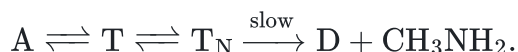
Обратимое внутримолекулярное присоединение. Гидроксильный атом кислорода соседней карбоксильной группы атакует атом углерода амидной карбонильной группы. Карбонильные π -электроны смещаются на кислород. Перенос протона от участвующей карбоксильной группы к бывшему карбонильному атому кислорода даёт **T**.

Вновь образовавшийся цикл последовательно включает бывший амидный карбонильный атом углерода, два атома углерода двойной связи, исходный карбоксильный атом углерода и участвующий атом кислорода. Следовательно, он является пятичленным.

Расщепление амидной связи при содействии протона. Перенос гидроксильного протона в **T** на азот приводит к распределению зарядов, представленному формой **T_N**. Затем алкоголятный атом кислорода вновь образует карбонильную группу, одновременно с чем разрывается связь C–N, высвобождается **метиламин**, CN, и образуется малеиновый ангидрид **D**.

Эти процессы переноса протона и разрыва связи могут быть сопряжёнными; они не обязательно предполагают наличие заметной концентрации отдельного интермедиата **T_N**.

Последовательность превращений, ведущая к продукту, имеет вид

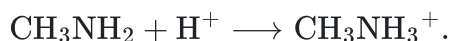


Стадией, определяющей скорость образования продукта, является расщепление связи C–N при содействии протона, приводящее к ангидриду. Быстрое обратное превращение тетраэдрического интермедиата в **A**, обсуждаемое в 4.5, согласуется с таким отнесением.

Быстрый гидролиз ангидрида. Вода, O, атакует карбонильную группу ангидрида. Присоединение и перенос протона дают тетраэдрический гидрат, **5,5-дигидроксифуран-2(5H)-он**, O=C1OC(O)(O)C=C1. Восстановление карбонильной группы с разрывом связи ацил–кислород раскрывает цикл и даёт малеиновую кислоту:



При pH 2 высвободившийся метиламин протонируется с образованием **метиламмония**, C[NH3+]:



Суммарное уравнение реакции с уравненными коэффициентами в этих кислых условиях имеет вид



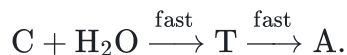
Двойная связь сохраняет цис-конфигурацию на всех стадиях.

4.5 — Согласованность с дополнительными наблюдениями

Гидратация изоимида.

Соединение **C** — это **N-метилмалеиновый изоимид**, C/N=C1\OC(=O)C=C1; эта запись SMILES представляет конфигурацию иминной группы, изображённую в условии.

Присоединение воды к его имидоильному атому углерода, сопровождающееся переносом протона на азот, даёт тот же тетраэдрический интермедиат **T**:



Соответствующее уравнение материального баланса в молекулярных формулах имеет вид



В **T** восстановление амидной карбонильной группы с разрывом связи ацил–кислород в цикле регенерирует **A**. Этот путь быстрее, чем расщепление связи C–N, ведущее к продукту. Поэтому из **C** первоначально образуется **A**, после чего протекает более медленная реакция образования ангидрида, в точности как и наблюдается.

Отслеживание меток углерода-13 и кислорода-18.

Исходное вещество — **A**, меченное ^{13}C по амидному карбонильному атому углерода, CN[13C](=O)/C=C\C(=O)O. Его внутримолекулярная реакция даёт **малеиновый ангидрид**, меченный ^{13}C по карбонильному атому углерода, O=[13C]1OC(=O)C=C1.

Принципиально важно, что при образовании ангидрида **кислород растворителя не включается** в его состав. Кислород-18 вводится при последующей реакции с **водой**, меченной **кислородом-18**, [18OH2].

Два карбонильных центра немеченого скелета малеинового ангидрида эквивалентны. Если пренебречь небольшими изотопными эффектами, вода атакует каждый из центров с вероятностью 1/2. Каждая молекула продукта содержит один атом углерода-13 и один вновь включённый атом кислорода-18.

Центр, атакуемый меченой водой	Образующийся изотопмер малеиновой кислоты	Массы диоксида углерода, получаемого из двух его карбоксильных групп
Карбонильная группа с углеродом-13	Метки в одной карбоксильной группе: <chem>O=[13C]([18OH])/C=C\C(=O)O</chem>	47 и 44
Карбонильная группа с углеродом-12	Метки в разных карбоксильных группах: <chem>O=[13C](O)/C=C\C(=O)[18OH]</chem>	45 и 46

Немеченые атомы кислорода в этих SMILES продуктов соответствуют исходным атомам кислорода-16 в идеализированном изотопном балансе.

Превращение в дисеребряную соль — **малеат дисеребра**, [Ag+].[Ag+].[O-]C(=O)/C=C\C(=O)[O-], с сохранением меток — не меняет принадлежности атомов кислорода к каждому карбоксильному атому углерода. Последующее декарбоксилирование **бромом**, BrBr, в безводной среде высвобождает эти карбоксильные фрагменты в виде диоксида углерода.

Образующиеся изотопологи:

Изотополог диоксида углерода	SMILES	Номинальная масса / u	Доля от общего количества диоксида углерода
Диоксид углерода с углеродом-12 и кислородом-16, $^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$	[16O]= [12C]= [16O]	$12 + 16 + 16 = 44$	1/4
Диоксид углерода с углеродом-13, $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$	[16O]= [13C]= [16O]	$13 + 16 + 16 = 45$	1/4
Диоксид углерода с одной меткой кислорода-18, $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$	[16O]= [12C]= [18O]	$12 + 16 + 18 = 46$	1/4
Диоксид углерода, меченный углеродом-13 и кислородом-18, $^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$	[16O]= [13C]= [18O]	$13 + 16 + 18 = 47$	1/4

Для n_0 молей гидролизованного **A** по каждому пути превращается $n_0/2$ молей, причём на каждый моль образуется по одному молю каждого компонента соответствующей пары диоксида углерода. Следовательно,

$$n_{44} = n_{45} = n_{46} = n_{47} = \frac{n_0}{2}, \quad n_{\text{всего}} = 2n_0.$$

Поэтому

$$n_{44} : n_{45} : n_{46} : n_{47} = 1 : 1 : 1 : 1.$$

Прямой гидролиз исключительно по исходной амидной карбонильной группе привёл бы к включению кислорода-18 только вместе с углеродом-13 и дал бы массы 47 и 44. Дополнительные, столь же распространённые массы 45 и 46 подтверждают гидролиз через симметричный ангидрид.

Решение проверено по официальному решению.

Задача 5: Молочная кислота, её дилактид и полилактид, а также гербицид Barnon

Бактериальное превращение сахарозы приводит к образованию (S)-(+)-2-гидроксипропановой кислоты (L-(+)-молочной кислоты), две молекулы которой образуют циклический сложный эфир. Этот дилактид можно полимеризовать с получением полилактида, который используется в хирургии.

5.1 Приведите пространственные структуры и проекции Фишера L-(+)-молочной кислоты и её дилактида.

5.2 Изобразите структуру рассмотренного выше полилактида (не менее трёх звеньев). Какова его тактичность (изо-, синдио- или атактическая)?

5.3 Изобразите изомерные дилактиды, образующиеся из рацемической молочной кислоты. Укажите конфигурацию хиральных центров.

L-(+)-Молочная кислота используется для получения гербицида Barnon, применяемого против овсяга. При этом (+)-молочную кислоту этерифицируют пропан-2-олом, а затем гидроксильную группу обрабатывают метансульфонилхлоридом. Полученный продукт далее вводят в реакцию S_N2 с 3-фтор-4-хлорфениламином, в которой метансульфонатная группа отщепляется в виде $CH_3SO_3^-$. Наконец, с помощью бензоилхлорида вводят бензоильную группу.

5.4 Изобразите проекции Фишера последовательно образующихся продуктов реакций.

Условие переведено с официального английского текста.

Ответы

- **5.1** L-(+)-Молочная кислота — это **(S)-2-гидроксипропановая кислота**, $C[C@H](O)C(=O)O$. В её проекции Фишера CO_2H находится сверху, CH_3 — снизу, гидроксил — слева, а водород — справа. Её циклический диэфир — **L,L-лактид, (3S,6S)-3,6-диметил-1,4-диоксан-2,5-дион**, $C[C@H]1OC(=O)[C@H](C)OC1=O$.
- **5.2** Продукт представляет собой **изотактический поли(L-лактид)**: каждый стереогенный атом углерода имеет конфигурацию *S*. Фрагмент из трёх повторяющихся звеньев имеет вид $*O[C@H](C)C(=O)O[C@H](C)C(=O)O[C@H](C)C(=O)*$, где * обозначает продолжение цепи.
- **5.3** Существуют **три стереоизомерных лактида**: приведённый выше L,L-лактид, (*3S*, *6S*); его энантиомер **D,D-лактид, (3R,6R)-3,6-диметил-1,4-диоксан-2,5-дион**, $C[C@H]1OC(=O)[C@@H](C)OC1=O$; и **мезо-лактид, (3R,6S)-3,6-диметил-1,4-диоксан-2,5-дион**, $C[C@H]1OC(=O)[C@H](C)OC1=O$. Обозначение (*3S*, *6R*) соответствует тому же мезо-соединению.
- **5.4** Последовательно образуются следующие продукты:

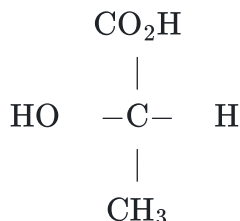
Стадия	Продукт	Стереохимическая запись SMILES
1	Изопропиловый эфир (2S)-2-гидроксипропановой кислоты	<chem>C[C@H](O)C(=O)OC(C)C</chem>
2	Изопропиловый эфир (2S)-2-[(метилсульфонил)окси]пропановой кислоты	<chem>C[C@H](OS(=O)(=O)C)C(=O)OC(C)C</chem>
3	Изопропиловый эфир (2R)-2-[(4-хлор-3-фторфенил)амино]пропановой кислоты	<chem>C[C@H](Nc1cc(F)c(Cl)cc1)C(=O)OC(C)C</chem>
4	Barnon , изопропиловый эфир (2R)-2-[бензоил(4-хлор-3-фторфенил)амино]пропановой кислоты	<chem>C[C@H](N(c1cc(F)c(Cl)cc1)C(=O)c1ccccc1)C(=O)OC(C)C</chem>

Решение

5.1 — Молочная кислота и её дилактид

Во всех приведённых ниже проекциях Фишера **горизонтальные связи направлены к наблюдателю, а вертикальные — от наблюдателя.**

Проекция Фишера L-(+)-молочной кислоты имеет вид



Таким образом, её тетраэдрическая пространственная структура задаётся направленными к наблюдателю гидроксильной и водородной, тогда как карбоксильная и метильная группы в этой проекции направлены от наблюдателя.

Порядок старшинства по правилам CIP:

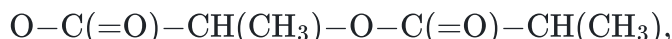


Карбоксильный атом углерода старше метильного, поскольку список связанных с ним атомов — кислород, кислород, кислород, тогда как у метильного атома углерода это водород, водород, водород. С учётом того, что водород направлен к наблюдателю, получаем указанную конфигурацию *S*.

Две молекулы молочной кислоты образуют две сложноэфирные связи с отщеплением двух молекул **воды**, O :



Продукт представляет собой шестичленный циклический диэфир L,L-лактид. Последовательно пронумеруем атомы его кольца:



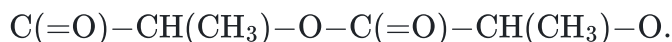
начиная с кислорода в положении 1 и замыкая связь от последнего атома углерода к этому атому кислорода. Стереогенные атомы углерода находятся в положениях 3 и 6. При этерификации их конфигурации сохраняются, что даёт (*3S*, *6S*).

Точное перспективное изображение можно построить следующим образом:

- Нарисуйте шестиугольник с $\text{O}1$ в верхней вершине и пронумеруйте атомы по часовой стрелке.
- При $\text{C}2$ и $\text{C}5$ находятся карбонильные атомы кислорода.
- При обоих атомах, $\text{C}3$ и $\text{C}6$, изобразите связь с метилом штриховым клином, направленным от наблюдателя, а связь с водородом — сплошным клином, направленным к наблюдателю.

При таком способе изображения две метильные группы находятся в **цис-положении**.

Для циклической проекции Фишера запишите следующую последовательность атомов кольца вертикально сверху вниз:



Соедините нижний атом кислорода с верхним карбонильным атомом углерода внешней замыкающей связью. На **обоих** стереогенных перекрестиях расположите **водород слева, а метил справа**. Тогда у каждого перекрестия сверху будет карбонильный атом углерода, а снизу — сложноэфирный атом кислорода, что даёт конфигурацию *S* у обоих центров. Это задаёт конфигурацию без указания конкретной конформации кольца.

5.2 — Структура и тактичность полилактида

Раскрытие лактидных колец приводит к образованию полиэфирной основной цепи



Здесь явно показаны три повторяющихся лактильных звена. Каждый изображённый центр $\text{CH}(\text{CH}_3)$ имеет конфигурацию *S*, что отражено в записи SMILES фрагмента в разделе «Ответы».

Каждая молекула лактида даёт два повторяющихся лактильных звена. Если не учитывать концевые группы, зависящие от инициатора, сбалансированное стехиометрическое уравнение для повторяющихся звеньев имеет вид



При обычной полимеризации с раскрытием цикла разрывается сложноэфирная связь у ацильной группы, без замещения при стереогенном атоме углерода. Поэтому конфигурации сохраняются, и на этой стадии полимеризации не отщепляется никакая низкомолекулярная молекула.

Поскольку все стереогенные повторяющиеся звенья имеют одинаковую конфигурацию, полимер является **изотактическим**.

5.3 — Лактиды из рацемической молочной кислоты

Рацемическая молочная кислота содержит равные количества кислоты с конфигурацией *S* и **D-(R)-молочной кислоты**, $\text{C}[\text{C}@\text{H}](\text{O})\text{C}(=\text{O})\text{O}$.

Попарное сочетание двух конфигураций даёт *SS*, *RR*, *SR* и *RS*. Два положения в кольце эквивалентны, поэтому *SR* и *RS* описывают одно мезо-соединение. Следовательно, существуют три различных стереоизомера.

Используя пронумерованный шестиугольник и способ построения циклической проекции Фишера, указанные в 5.1, получаем:

Лактид	Конфигурация	Перспективное изображение: связи с метилом при C3, C6	Циклическая проекция Фишера: положения метила при C3, C6
L,L- Лактид	(3 <i>S</i> , 6 <i>S</i>)	Оба клина штриховые, от наблюдателя	Справа, справа
D,D- Лактид	(3 <i>R</i> , 6 <i>R</i>)	Оба клина сплошные, к наблюдателю	Слева, слева
мезо- Лактид	(3 <i>R</i> , 6 <i>S</i>)	Сплошной клин, штриховой клин	Слева, справа

У каждого центра водород занимает положение, противоположное метилу.

Соединения *SS* и *RR* являются **энантиомерами**. Соединение *RS* **ахирально и представляет собой мезо-форму**, а также является диастереомером каждого из членов энантиомерной пары. При указанном способе изображения шестиугольника две его метильные группы находятся в транс-положении.

Каждая реакция образования имеет стехиометрию конденсации, приведённую в 5.1: две молекулы молочной кислоты дают одну молекулу лактида и две молекулы воды.

5.4 — Последовательно образующиеся продукты синтеза Barnon

Пусть Ar обозначает **4-хлор-3-фторфенильную группу**, в которой фтор находится в положении 3, а хлор — в положении 4 относительно атома углерода, связанного с азотом.

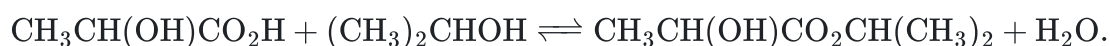
Для каждого продукта изобразите проекцию Фишера с $\text{CO}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ сверху и CH_3 снизу.

Горизонтальные заместители:

Продукт	Слева	Справа	Конфигурация
Изопропиллактат	ОН	Н	<i>S</i>
Его метансульфонатный эфир	$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{O}$, связанная через кислород	Н	<i>S</i>
Продукт замещения анилином	Н	NHAr , связанная через азот	<i>R</i>
N-Бензоилированный продукт, Barnon	Н	$\text{N}(\text{Ar})\text{C}(=\text{O})\text{C}_6\text{H}_5$, связанная через азот	<i>R</i>

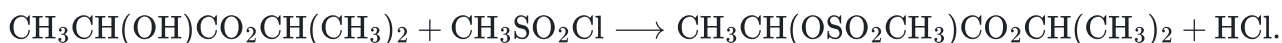
В приведённых ниже сбалансированных уравнениях явно показаны эквиваленты кислоты; в условии задачи не указано основание, связывающее кислоту.

Стадия 1: этерификация. Реакция с **пропан-2-олом**, $\text{CC}(\text{O})\text{C}$, даёт изопропиловый эфир *S*-молочной кислоты:



Реакция протекает по карбоксильной группе. Ни одна связь при стереогенном атоме углерода не замещается, поэтому его конфигурация остаётся *S*.

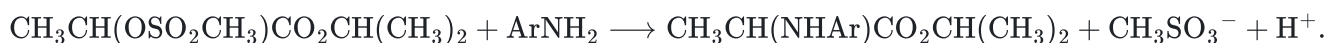
Стадия 2: метансульфонилирование. Спирт реагирует с **метансульфонилхлоридом**, $\text{CS}(=\text{O})(=\text{O})\text{Cl}$:



Формально кислотным побочным продуктом является **хлороводород**, Cl .

Гидроксильный атом кислорода образует связь с серой; исходная связь между кислородом и стереогенным атомом углерода остаётся неизменной. Поэтому конфигурация сохраняется: *S*.

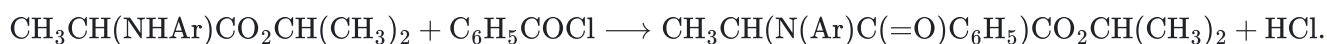
Стадия 3: нуклеофильное замещение. Нуклеофилом служит **4-хлор-3-фторанилин**, Nc1cc(F)c(Cl)cc1 . Его атом азота атакует стереогенный атом углерода со стороны, противоположной уходящей группе:



Уходящая группа — **метансульфонат**, $\text{CS}(=\text{O})(=\text{O})[\text{O}^-]$. **Ион водорода**, $[\text{H}^+]$, формально учитывает депротонирование азота после замещения.

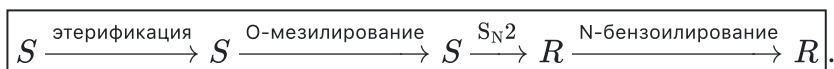
Атака с тыльной стороны приводит к **вальденовскому обращению**. Как в субстрате, так и в продукте заместитель с гетероатомом имеет наивысшее старшинство, за ним следуют карбонильный атом углерода сложноэфирной группы, метил и водород. Таким образом, обращение конфигурации изменяет обозначение с *S* на *R*. Если вертикальные группы в проекции Фишера оставить на своих местах, водород теперь находится слева, а аминозаместитель — справа.

Стадия 4: бензоилирование. Вторичный амин реагирует с **бензоилхлоридом**, $O=C(Cl)C_6H_5$:



При бензоилировании связанный с азотом водород замещается бензоильной группой с образованием третичного амида. При стереогенном атоме углерода замещения не происходит, поэтому его конфигурация остаётся *R*.

Таким образом, полная последовательность конфигураций имеет вид



Решение проверено по официальному решению.

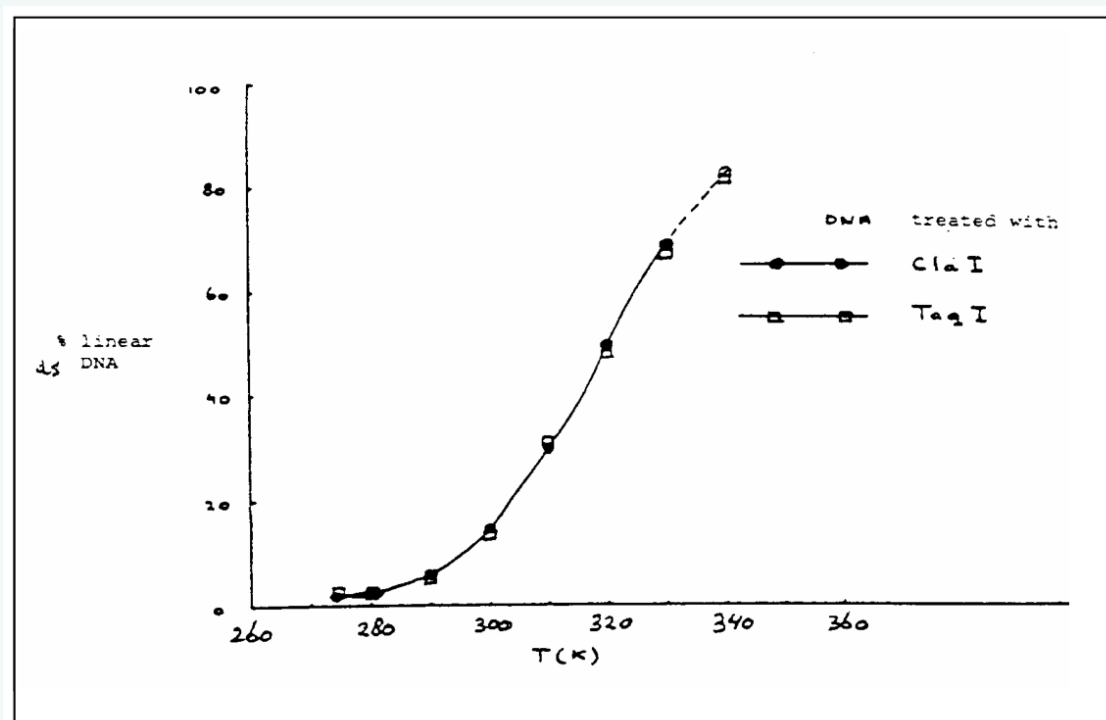
Задача 6: Эндонуклеазы рестрикции Cla I и Taq I и рекомбинантная ДНК

В технологии рекомбинантной ДНК специфические эндонуклеазы способны распознавать и гидролизовать фосфоэфирную связь в каждой из двух цепей. Например, Cla I гидролизует связь между двумя нуклеотидами в последовательности:



6.1 Приведите последовательность оснований комплементарной цепи в направлении 5' – 3' и укажите стрелками места гидролиза под действием Cla I.

6.2 Сколько раз в среднем эта последовательность будет встречаться в одной цепи молекулы ДНК, содержащей 10^5 пар оснований? Можно считать, что все четыре основания встречаются одинаково часто и случайным образом распределены в обеих цепях.



Taq I гидролизует длинную двухцепочечную молекулу ДНК до фрагментов, длина которых в среднем составляет 256 пар оснований. Оказывается, что образующиеся при расщеплении фрагменты имеют тиминные (Т) 3'-концы и цитозинные (С) 5'-концы.

6.3 Какова длина последовательности, распознаваемой Taq I?

6.4 Приведите две возможные последовательности оснований (в направлении 5' - 3'), образующие сайт узнавания Taq I (он, очевидно, должен обладать некоторой симметрией).

ДНК фага, существующая в форме замкнутого кольца, содержит лишь одну последовательность 5'-pApTpCpGpApT-3' в каждой из двух цепей. После обработки ClaI устанавливается равновесие:



6.5 Схематически изобразите кольцевую и линейную молекулы. Укажите основания, прилегающие к месту расщепления в обеих цепях. Укажите также 3'- и 5'-концы.

На рис. 1 представлена зависимость процентного содержания линейной ДНК от температуры, измеренная в растворе 0.15 M NaCl с цитратным буфером при pH = 6.5. При использовании Taq I в качестве расщепляющего фермента получается такая же кривая.

6.6 Является ли реакция в записанном направлении эндотермической или экзотермической? Объясните свой ответ.

6.7 Используя приведённую информацию, покажите, какая из двух последовательностей оснований в ответе на **6.4** является правильной.

6.8 Как выглядела бы кривая для Taq I, если бы сайт узнавания соответствовал другому варианту из d)?

Большую молекулу ДНК разрезают на фрагменты с помощью Cla I. Один фрагмент выделяют, очищают и смешивают в соотношении 1:1 с ДНК фага, также расщеплённой Cla I. При этом в результате реакции могут образовываться рекомбинантные молекулы:



6.9 Будет ли энтальпия этой реакции положительной, отрицательной или приблизительно равной нулю? Объясните свой ответ.

6.10 Какое сочетание температуры, концентрации ДНК и ионной силы (высоких или низких в каждом случае) обеспечит максимальное процентное содержание рекомбинантных молекул?

Условие переведено с официального английского текста.

Ответы

- **6.1:** Комплементарная цепь, записанная в направлении $5' \rightarrow 3'$, также имеет вид $5'-AT \downarrow CGAT-3'$. Cla I образует двухнуклеотидные **липкие 5'-CG-концы**.
- **6.2:** Приблизительно **24 вхождения** в одной цепи: $10^5/4^6 \approx 24.4$.
- **6.3:** **Четыре нуклеотида в каждой цепи**, что соответствует сайту узнавания длиной четыре пары оснований.

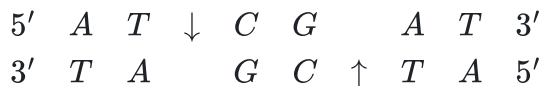
- **6.4:** 5'-Т ↓ CGA-3' и 5'-GAT ↓ C-3'.
- **6.5:** Разрезание в единственном сайте превращает кольцевую двухцепочечную ДНК в одну линейную молекулу с **выступающим участком 5'-CG на каждом конце**, концевыми 5'-фосфорилированными остатками C и концевыми остатками Т с 3'-гидроксильными группами.
- **6.6:** Переход кольцевая → линейная является **эндотермическим**, $\Delta H > 0$.
- **6.7:** Taq I распознаёт 5'-TCGA-3' и расщепляет связь $T \downarrow C$.
- **6.8:** Альтернативный вариант дал бы аналогичную возрастающую кривую, **сдвинутую в сторону более низких температур**.
- **6.9: Отрицательная энтальпия**, $\Delta H < 0$, для ассоциации разомкнутых, расщеплённых молекул посредством их липких концов.
- **6.10: Низкая температура, низкая концентрация ДНК и высокая ионная сила.** Разбавление подавляет образование цепочек, содержащих несколько молекул ДНК; чрезмерное разбавление подавляло бы также первоначальную ассоциацию ДНК фага с фрагментом.

Решение

6.1

Символы оснований обозначают остатки аденина, А (Nc1ncnc2[nH]cnc12); тимина, Т (Cc1c[nH]c(=O)[nH]c1=O); цитозина, С (Nc1cc[nH]c(=O)n1); и гуанина, G (Nc1nc2[nH]cnc2c(=O)[nH]1). Записи SMILES в этом предложении описывают соответствующие свободные азотистые основания.

А образует пару с Т, а С — с G. Цепи антипараллельны, поэтому сайт узнавания и места расщепления при совмещении цепей имеют вид



Чтение нижней цепи от её собственного 5'-конца даёт



Таким образом, ATCGAT — **обратно-комплементарный палиндром**. Смещённые относительно друг друга разрезы оставляют двухнуклеотидные выступающие участки 5'-CG.

При каждом расщеплении гидролизуетсся фосфодиэфирная связь с образованием 3'-гидроксильного и 5'-фосфатного концов. Сбалансированное уравнение, в котором R и R' обозначают содержащие сахар участки ДНК, имеет вид



В этом уравнении использовано одно из возможных состояний протонирования концевой фосфатной группы; последующий обмен протонами регулируется буфером. На каждый двухцепочечный разрез расходуются **две молекулы воды**. SMILES воды — O; обобщённые фосфодиэфирная и фосфомоноэфирная группы имеют SMILES $*OP(=O)([O-])O^*$ и $*OP(=O)([O-])O$ соответственно, где * обозначает неуказанный участок ДНК.

Для структурной идентификации последовательности узнавания можно представить как отдельные **5'-фосфорилированные олигодезоксинуклеотиды с 3'-гидроксильной группой**. Приведённые ниже записи SMILES кодируют природную стереохимию сахара и используют для записи нейтральные кислотные формы фосфатных групп. Они не кодируют спаривание цепей или спиральную структуру. Полные SMILES ДНК фага и рекомбинантной ДНК указать невозможно, поскольку остальные их последовательности не приведены.

5'-Фосфорилированный гексамер ДНК d(ATCGAT):

```
O=P(O)(O)OC[C@H]1O[C@@H](n2cnc3c(N)ncnc32)C[C@H]1OP(=O)(O)OC[C@H]1O[C@@H](n2cc(C)c(=O)[nH]c2=O)C[C@H]1OP(=O)(O)OC[C@H]1O[C@@H](n2ccc(N)nc2=O)C[C@H]1OP(=O)(O)OC[C@H]1O[C@@H](n2cnc3c(=O)[nH]c(N)nc32)C[C@H]1OP(=O)(O)OC[C@H]1O[C@@H](n2cnc3c(N)ncnc32)C[C@H]1OP(=O)(O)OC[C@H]1O[C@@H](n2cc(C)c(=O)[nH]c2=O)C[C@H]1O
```

6.2

Для заданной начальной позиции вероятность конкретной последовательности из шести оснований равна

$$p = \left(\frac{1}{4}\right)^6 = \frac{1}{4096}.$$

В линейной цепи, содержащей $N = 10^5$ нуклеотидов, имеется $N - 6 + 1$ возможных начальных позиций. Следовательно,

$$\mathbb{E}[n] = (10^5 - 5) \frac{1}{4096} = 24.4128 \dots \approx \boxed{24 \text{ вхождения}}.$$

Если пренебречь пятью концевыми позициями, получается 24.4141, то есть практически тот же результат. Среднее расстояние между вхождениями составляет приблизительно 4096 пар оснований.

Множитель два отсутствует: в вопросе речь идёт об одной цепи, а комплементарное вхождение соответствует тому же сайту двухцепочечной ДНК.

6.3

Для конкретной последовательности узнавания длиной m вероятность вхождения равна 4^{-m} . Следовательно, в длинной молекуле ДНК средняя длина фрагмента составляет приблизительно 4^m пар оснований.

Таким образом,

$$4^m = 256 = 4^4, \quad \boxed{m = 4}.$$

6.4

Концевой 3'-Т и концевой 5'-С означают, что расщепление происходит в положении



В палиндромном сайте узнавания из четырёх оснований первое и четвёртое основания комплементарны, как и второе и третье.

Возможны два расположения $T \downarrow C$:

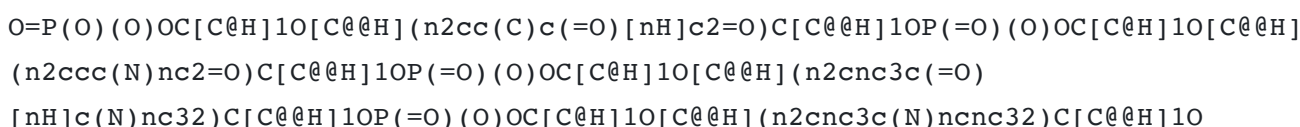
Положение $T \downarrow C$	Последовательность узнавания	Совмещённая комплементарная цепь
Первое–второе основания	5'-T ↓ CGA-3'	3'-AGC ↑ T-5'
Третье–четвёртое основания	5'-GAT ↓ C-3'	3'-C ↑ TAG-5'

Эта пара не может занимать две средние позиции, поскольку Т и С некомплементарны.

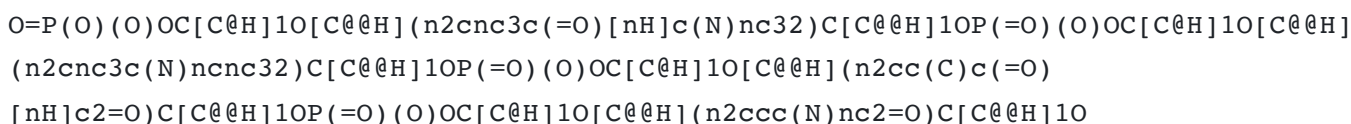
Следовательно, два возможных варианта образуют разные липкие концы:

- **TCGA:** двухнуклеотидные выступающие участки **5'-CG**.
- **GATC:** двухнуклеотидные выступающие участки **3'-AT**.

5'-Фосфорилированный тетрамер ДНК d(TCGA):



5'-Фосфорилированный тетрамер ДНК d(GATC):



6.5

На требуемой схеме следует показать следующее.

Для **исходной кольцевой молекулы** изобразите две непрерывные антипараллельные кольцевые цепи. В единственном сайте узнавания расположите спаренные основания и смещённые места расщепления в точности как в 6.1. У неповреждённого кольца нет свободных 3'- или 5'-концов; эти обозначения указывают направление цепей.

Для **линейной молекулы** разомкните оба сахарофосфатных остова в этих положениях и разъедините липкие концы. При чтении полученной двухцепочечной ДНК слева направо:

- Верхняя цепь начинается с 5'-pCGAT... и заканчивается на ...AT-3'.
- Нижняя цепь начинается с 3'-ТА... и заканчивается на ...TAGC-p-5'.

На левом конце начальный участок CG верхней цепи выступает за пределы нижней цепи. На правом конце концевой участок GC нижней цепи, читаемый слева направо, выступает за пределы верхней цепи. При чтении в собственном направлении $5' \rightarrow 3'$ этот выступающий участок также имеет последовательность CG.

Таким образом, каждый 5'-конец представляет собой **фосфорилированный С**, а каждый 3'-конец — **Т со свободной гидроксильной группой**.

После расщепления эти комплементарные выступающие участки могут снова спариваться с образованием **кольцевой молекулы со спаренными концами и двумя одноцепочечными разрывами остова**. Именно эта кольцевая форма участвует в зависящем от температуры равновесии:



Сам по себе отжиг не восстанавливает гидролизованные ковалентные связи; для ковалентного замыкания потребовалась бы дополнительная стадия лигирования.

6.6

Доля линейной ДНК возрастает с повышением температуры. Следовательно, нагревание благоприятствует прямому направлению,



поэтому это направление является **эндотермическим**:

$$\boxed{\Delta H > 0}.$$

Более формально, если f — доля линейных молекул, то

$$K = \frac{[\text{линейная ДНК}]}{[\text{кольцевая ДНК}]} = \frac{f}{1-f}.$$

График показывает, что K возрастает с температурой. Тогда из соотношения Вант-Гоффа,

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{\Delta H^\circ}{RT^2},$$

следует $\Delta H^\circ > 0$.

С физической точки зрения раскрытие кольца со спаренными концами нарушает спаривание оснований и стэкинг-взаимодействия в месте соединения липких концов. Этот вывод относится к **диссоциации концов**, а не к первоначальному гидролизу фосфодиэфирных связей.

6.7

Cla I образует выступающие участки 5'-CG. При их соединении образуются **две пары оснований G-C**.

Из двух возможных вариантов для Taq I:

- $T \downarrow CGA$ образует такие же выступающие участки 5'-CG.
- $GAT \downarrow C$ образует выступающие участки 3'-AT, которые образовали бы две пары A-T.

Следовательно, в рамках модели задачи одинаковые температурные кривые позволяют выбрать



Действительно, эта последовательность узнавания находится внутри сайта Cla I:



Следовательно, оба фермента расщепляют одни и те же связи в этом сайте.

6.8

Альтернативный сайт $GAT \downarrow C$ давал бы липкие концы AT. При их отжиге образовывались бы две пары A-T вместо двух пар G-C.

Каждая пара A-T содержит две водородные связи, тогда как каждая пара G-C — три. В предполагаемом сравнении соединение AT менее устойчиво и диссоциирует при более низкой температуре.

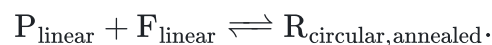
Поэтому искомую кривую следует описать как **аналогичную возрастающую, приблизительно сигмоидальную кривую, сдвинутую влево:**

- При заданной температуре в области перехода процентное содержание линейной ДНК было бы выше.
- Температура, при которой 50% ДНК находится в линейной форме, была бы ниже.

Приведённая информация не позволяет определить численную величину сдвига.

6.9

Пусть P обозначает разомкнутую ДНК фага, F — разомкнутый фрагмент, а R — целевую кольцевую рекомбинантную молекулу, содержащую по одной молекуле каждого из них:



Каждая молекула предоставляет два совместимых липких конца. При образовании рекомбинантного кольца возникают **два соединения липких концов**, каждое из которых содержит две пары G–C: всего образуются четыре новые пары G–C.

Спаривание оснований и стэкинг сопровождаются выделением теплоты, поэтому

$$\Delta H < 0.$$

В этой реакции отжига вода не выделяется. Одноцепочечные разрывы остова сохраняются, если затем не проводится стадия ковалентного лигирования.

6.10

Предполагаемое качественное сочетание условий:

низкая температура; низкая концентрация ДНК; высокая ионная сила.

- **Низкая температура:** Ассоциация липких концов экзотермична, поэтому охлаждение способствует образованию ассоциированной рекомбинантной молекулы.
- **Низкая концентрация ДНК:** После соединения одного конца ДНК фага с одним концом фрагмента два оставшихся конца оказываются связанными в пределах одной объединённой молекулы и могут замкнуть её в кольцо. При высокой концентрации они могут вместо этого встретить дополнительные молекулы ДНК и образовать более длинные цепочки. Разбавление подавляет эти дополнительные межмолекулярные встречи по сравнению с внутримолекулярным замыканием.
- **Высокая ионная сила:** Соль, например хлорид натрия ($[Na^+] \cdot [Cl^-]$), экранирует электростатическое отталкивание между отрицательно заряженными фосфатными группами остовов и стабилизирует спаренные липкие концы.

Следовательно, рассуждение о концентрации должно учитывать оба конца каждой молекулы.

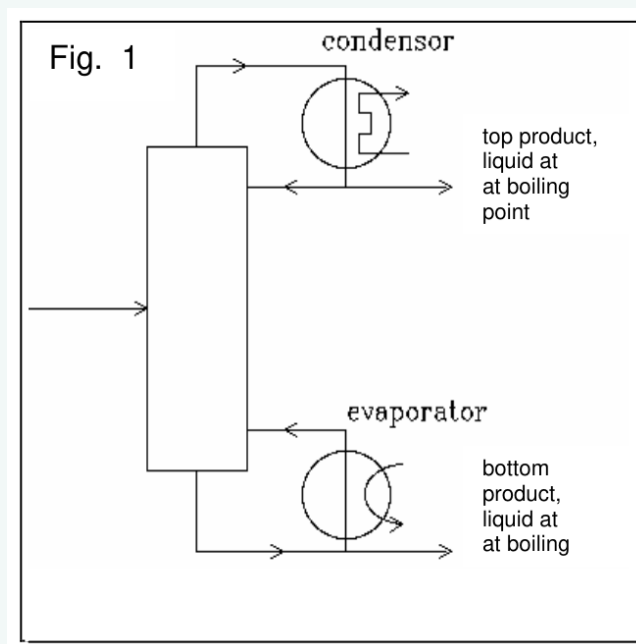
Применение закона действующих масс только к первой бимолекулярной ассоциации оставило бы без внимания образование цепочек.

«Низкая концентрация» **не** означает неограниченного разбавления: чрезмерное разбавление подавляет первоначальную встречу ДНК фага с фрагментом и способствует их отдельной самоциклизации. Подходящие условия — достаточно сильное разбавление, чтобы подавить образование мультимеров, но при этом сохранить возможность первоначальной ассоциации.

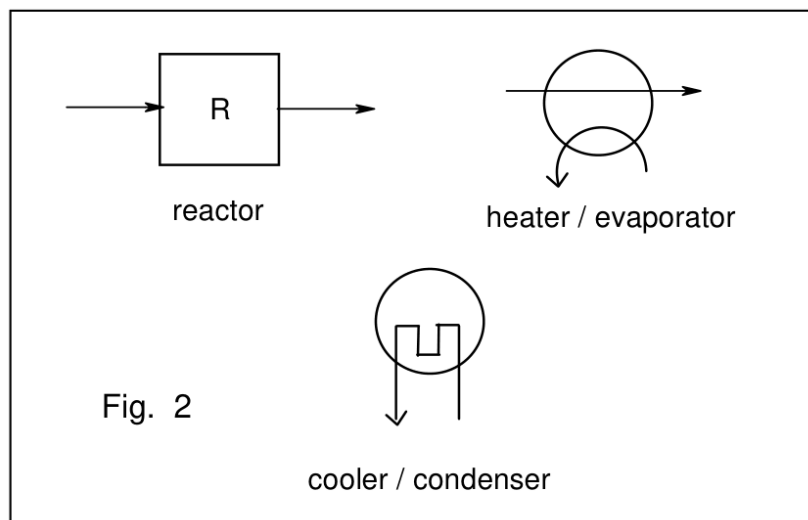
Решение проверено по официальному решению.

Задача 7: Непрерывный процесс $A + 2B \rightleftharpoons 2C$: технологическая схема и энергетический баланс

Константа равновесия реакции $A(g) + 2B(g) \rightleftharpoons 2C(g)$ равна $K_p = 10.0 \text{ MPa}^{-1}$. Исходные вещества подают при 25°C и нагревают до 100°C , при которой полностью устанавливается равновесие. Ниже 100°C скорость реакции пренебрежимо мала. Весь процесс осуществляется непрерывно в стационарном режиме. Температуры кипения A , B и C при 0.1 MPa составляют соответственно 40°C , 80°C и 60°C . Все три соединения имеют одинаковую теплоту испарения: $q \text{ J mol}^{-1}$. Теплоёмкостями A , B и C можно пренебречь. Ниже приведена принципиальная схема ректификации (рис. 1).



Общее количество теплоты, затрачиваемое на каждую из двух ректификаций, составляет $3q \text{ J mol}^{-1}$ (верхнего продукта). Помимо ректификационных колонн (каждая со своим испарителем и конденсатором), имеются аппараты, показанные на рис. 2.



7.1 Нарисуйте технологическую схему процесса с указанием всех потоков, обеспечивающую максимально эффективное использование исходных веществ при минимально возможном числе аппаратов.

7.2 Выразите константу равновесия через степень превращения и общее давление для случая, когда питание реактора имеет стехиометрический состав. Чему равна степень превращения при общем давлении 0.100 МПа?

7.3 Пронумеруйте все потоки. Рассчитайте состав каждого потока в mol s^{-1} при скорости получения 1 моля С в секунду в условиях части b.

7.4 Каким образом условия реакции могут влиять на состав смеси, выходящей из реактора? (См. вопрос b.)

7.5 Процесс требует затрат энергии. Для условий b объясните, в каких местах технологической схемы, нарисованной в части a, следует подводить энергию. Выведите выражение для общего количества необходимой энергии.

Условие переведено с официального английского текста.

Ответы

- 7.1:** Объедините свежие и возвращаемые реагенты в одном испарителе, подайте пар в реактор, затем разделите выходящий поток в двух колоннах: сначала отберите А в качестве верхнего продукта; затем отберите С в качестве верхнего продукта из оставшейся смеси В/С. Верните в процесс все выделенные А и В. Отдельный конденсатор на выходе из реактора можно исключить, если первая колонна допускает подачу парового питания.

- 7.2:**

$$K_p = \frac{\alpha^2(3 - \alpha)}{P(1 - \alpha)^3}, \quad \alpha = \frac{1}{3} = 33.3\%.$$

- 7.3:** В mol s^{-1} свежее питание составляет 0.500 А + 1.00 В; рециркуляционный поток — 1.00 А + 2.00 В; питание реактора — 1.50 А + 3.00 В; выходящий из реактора поток — 1.00 А + 2.00 В + 1.00 С. Полная таблица пронумерованных потоков приведена ниже.

- **7.4:** Повышение давления увеличивает равновесную степень превращения. Влияние температуры зависит от энтальпии реакции, которая не указана. Ниже 100 °C состав практически фиксируется вследствие пренебрежимо малой скорости реакции.
- **7.5:** Для испарения требуется $4.50q \text{ J s}^{-1}$, а для каждой колонны — $3.00q \text{ J s}^{-1}$:

$$\dot{Q}_{\text{vaporization+distillation}} = 10.5q \text{ J s}^{-1}.$$

Дополнительная тепловая нагрузка реактора с учётом знака равна

$$\dot{Q}_R = (0.500 \text{ mol s}^{-1}) \Delta_r H_g,$$

где $\Delta_r H_g$ — энтальпия газофазной реакции в соответствии с записанным уравнением.

Решение

Символы A, B и C обозначают неуказанные соединения. Их химические названия и SMILES нельзя определить по приведённым данным.

7.1 — Технологическая схема

При 0.100 МПа температуры кипения указывают на следующий порядок летучести:

$$A (40^\circ\text{C}) > C (60^\circ\text{C}) > B (80^\circ\text{C}).$$

Используем следующую схему с номерами потоков, которые также используются в части 7.3:

1. Объединим свежее жидкое A, поток **1**, и свежее жидкое B, поток **2**, с двумя жидкими рециркуляционными потоками **6** и **9**.
2. Направим объединённый жидкий поток **3** через один общий нагреватель-испаритель. Выходящий из него газообразный поток **4** поступает в реактор при 100 °C.
3. Направим равновесный поток **5**, выходящий из реактора, в первую ректификационную колонну.
4. В первой колонне получим чистое A в качестве жидкого верхнего продукта, потока **6**, и вернём его в узел смешения питания. Кубовый продукт, содержащий B и C, поток **7**, направим во вторую колонну.
5. Во второй колонне отберём чистое жидкое C в качестве верхнего продукта, потока **8**, и вернём в процесс чистое жидкое B, кубовый продукт, в виде потока **9**.

Таким образом, температуры чистых жидких потоков на выходе составляют 40 °C для возвращаемого A, 60 °C для продукта C и 80 °C для возвращаемого B.

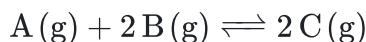
Полная рециркуляция обеспечивает полное суммарное использование исходных веществ, несмотря на неполное превращение при каждом проходе через реактор. Две обычные колонны с верхним и кубовым продуктами обеспечивают необходимое выделение продукта с промежуточной температурой кипения.

Для минимизации числа отдельных аппаратов поток 5 можно подавать в первую колонну в виде пара: её встроенный конденсатор обеспечивает необходимый отвод теплоты конденсации. Если для этой колонны требуется жидкое питание, между реактором и первой колонной следует установить один холодильник-конденсатор. Его входной и выходной потоки имеют одинаковый молярный состав.

Выделение А на первой стадии также обеспечивает меньшие затраты теплоты на ректификацию, как показано в части 7.5.

7.2 — Равновесная степень превращения

Пусть α — доля поступающего А, подвергшаяся превращению. Для стехиометрического питания реактора, первоначально содержащего n_0 моль А, $2n_0$ моль В и не содержащего С,



даёт следующие равновесные количества веществ:

$$n_A = n_0(1 - \alpha), \quad n_B = 2n_0(1 - \alpha), \quad n_C = 2n_0\alpha.$$

Суммарное количество равно

$$n_{\text{tot}} = n_0(3 - \alpha).$$

Следовательно,

$$p_A = P \frac{1 - \alpha}{3 - \alpha}, \quad p_B = P \frac{2(1 - \alpha)}{3 - \alpha}, \quad p_C = P \frac{2\alpha}{3 - \alpha}.$$

Подстановка в выражение для константы равновесия даёт

$$K_p = \frac{p_C^2}{p_A p_B^2} = \boxed{\frac{\alpha^2(3 - \alpha)}{P(1 - \alpha)^3}}.$$

При $P = 0.100 \text{ МПа}$

$$K_p P = (10.0 \text{ МПа}^{-1})(0.100 \text{ МПа}) = 1.00.$$

Поэтому

$$\begin{aligned} \alpha^2(3 - \alpha) &= (1 - \alpha)^3, \\ 3\alpha^2 - \alpha^3 &= 1 - 3\alpha + 3\alpha^2 - \alpha^3, \end{aligned}$$

и, следовательно,

$$\boxed{\alpha = \frac{1}{3} = 33.3\%}.$$

Равновесные мольные доли равны $y_A = 1/4$, $y_B = 1/2$ и $y_C = 1/4$. Для проверки:

$$K_p = \frac{(0.0250)^2}{(0.0250)(0.0500)^2} = 10.0 \text{ МПа}^{-1}.$$

7.3 — Материальные балансы пронумерованных потоков

Получение 1.00 mol s^{-1} вещества С требует следующей скорости изменения глубины реакции:

$$\dot{\xi} = \frac{\dot{n}_C}{2} = 0.500 \text{ mol s}^{-1}.$$

Поскольку реагирует одна треть поступающего А,

$$\dot{n}_{A,\text{in}} = \frac{\dot{\xi}}{\alpha} = \frac{0.500}{1/3} = 1.50 \text{ mol s}^{-1},$$

а стехиометрическое питание содержит

$$\dot{n}_{B,\text{in}} = 3.00 \text{ mol s}^{-1}.$$

Следовательно, из реактора выходит

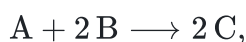
$$\begin{aligned}\dot{n}_{A,\text{out}} &= 1.50 - 0.500 = 1.00, \\ \dot{n}_{B,\text{out}} &= 3.00 - 2(0.500) = 2.00, \\ \dot{n}_{C,\text{out}} &= 2(0.500) = 1.00,\end{aligned}$$

все значения приведены в mol s^{-1} .

Полная таблица внешних потоков:

Поток	Описание	A, mol s^{-1}	B, mol s^{-1}	C, mol s^{-1}
1	Свежее жидкое А	0.500	0	0
2	Свежее жидкое В	0	1.00	0
3	Объединённое жидкое питание испарителя	1.50	3.00	0
4	Газообразное питание реактора	1.50	3.00	0
5	Выходящий из реактора поток в первую колонну	1.00	2.00	1.00
6	Верхний продукт первой колонны; рециркуляция А	1.00	0	0
7	Кубовый продукт первой колонны, поступающий во вторую колонну	0	2.00	1.00
8	Верхний продукт второй колонны; конечный продукт С	0	0	1.00
9	Кубовый продукт второй колонны; рециркуляция В	0	2.00	0

Свежее питание в точности восполняет израсходованные реагенты. Таким образом, общий материальный баланс соответствует



причём реагенты не выводятся из процесса в отходы.

7.4 — Влияние условий реакции

Для заданного стехиометрического питания

$$K_p P = \frac{\alpha^2(3 - \alpha)}{(1 - \alpha)^3}.$$

Правая часть возрастает с увеличением α в интервале $0 < \alpha < 1$. Поэтому при постоянной температуре повышение давления увеличивает степень превращения. Это согласуется с уменьшением числа молекул газообразных веществ с трёх молекул реагентов до двух молекул продукта.

Температура изменяет K_p . Уравнение Вант-Гоффа имеет вид

$$\frac{d \ln K_p}{dT} = \frac{\Delta_r H_g}{RT^2}.$$

Соответственно:

- Если прямая реакция эндотермическая, повышение температуры увеличивает равновесную степень превращения.
- Если она экзотермическая, понижение температуры увеличивает равновесную степень превращения.

Энтальпия реакции не указана, поэтому определить, какое из этих направлений изменения температуры применимо, невозможно. Кроме того, ниже 100 °C реакция протекает пренебрежимо медленно: охлаждение выходящего потока сохраняет его состав при разделении.

Изменение соотношения реагентов также изменяет равновесный состав; избыток одного реагента, как правило, повышает степень превращения другого. Катализатор или увеличение времени пребывания не могут изменить конечный равновесный состав после достижения равновесия.

7.5 — Потребность в энергии

Обозначим молярную теплоту испарения как

$$L = q \text{ J mol}^{-1}.$$

Поскольку теплоёмкостями пренебрегают, нагрев потоков питания до 100 °C не даёт вклада в затраты теплоты.

В общем испарителе испаряются все свежие и возвращаемые реагенты:

$$\dot{Q}_E = (1.50 + 3.00) \text{ mol s}^{-1} L = \boxed{4.50q \text{ J s}^{-1}}.$$

Первая колонна даёт 1.00 mol s^{-1} верхнего продукта A, поэтому её кипятильнику требуется

$$\dot{Q}_{D1} = (1.00 \text{ mol s}^{-1})(3L) = \boxed{3.00q \text{ J s}^{-1}}.$$

Вторая колонна даёт 1.00 mol s^{-1} верхнего продукта C:

$$\dot{Q}_{D2} = \boxed{3.00q \text{ J s}^{-1}}.$$

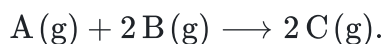
Таким образом, заданные тепловые нагрузки испарения и ректификации в сумме составляют

$$\dot{Q}_{\text{physical}} = (4.50 + 3.00 + 3.00)q = \boxed{10.5q \text{ J s}^{-1}}.$$

Иными словами, эти операции требуют $10.5q \text{ J}$ на моль C.

При альтернативной последовательности разделения — сначала отборе A + C в качестве верхнего продукта, затем их разделении — расходы верхних продуктов составили бы 2.00 и 1.00 mol s^{-1} . Суммарные тепловые нагрузки ректификации составили бы $9.00q$ по сравнению с $6.00q \text{ J s}^{-1}$ для выбранной последовательности.

В реакторе также необходимо поддерживать температуру 100 °C. Определим $\Delta_r H_g$ как молярную энтальпию реакции



Его потребность в теплоте с учётом знака равна

$$\dot{Q}_R = \dot{\xi} \Delta_r H_g = (0.500 \text{ mol s}^{-1}) \Delta_r H_g.$$

Следовательно, алгебраическая сумма тепловых нагрузок испарителя, кипятильников и реактора равна

$$\dot{Q}_E + \dot{Q}_{D1} + \dot{Q}_{D2} + \dot{Q}_R = 10.5q \text{ J s}^{-1} + (0.500 \text{ mol s}^{-1}) \Delta_r H_g.$$

Эндотермическая реакция требует дополнительного подвода теплоты к реактору; экзотермическая реакция требует отвода теплоты из него. При отсутствии рекуперации теплоты суммарная потребность в подводимой теплоте составляет

$$\dot{Q}_{\text{heating}} = 10.5q \text{ J s}^{-1} + \max[0, (0.500 \text{ mol s}^{-1})\Delta_r H_g].$$

Для проверки энергетического баланса отметим, что выходящий из реактора поток содержит 4.00 mol s^{-1} пара. В схеме с паровым питанием конденсатор первой колонны отводит $7.00q \text{ J s}^{-1}$: $4.00q$ за счёт конденсации этого питания плюс $3.00q$, подведённые в её кипяtilьнике. Второй конденсатор отводит $3.00q \text{ J s}^{-1}$. Отдельный конденсатор выходящего потока разделил бы первые $7.00q$ на $4.00q + 3.00q$, не изменив суммарного значения.

Следовательно, после вычитания теплоты, отводимой в конденсаторах, общий результирующий теплообмен составляет

$$\dot{Q}_{\text{net}} = 0.500q \text{ J s}^{-1} + (0.500 \text{ mol s}^{-1})\Delta_r H_g.$$

Решение проверено по официальному решению.