

Masarykova univerzita

Přírodovědecká fakulta



ViBuCh

Vzdělávací ikurz pro budoucí chemiky

Vzdělávací ikurz pro budoucí chemiky

Řešení úkolů 3. série

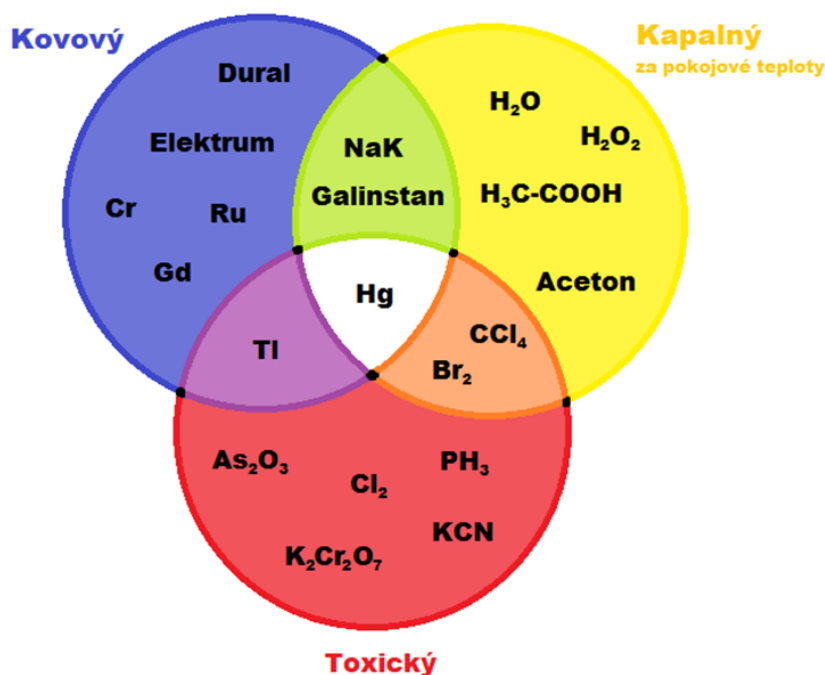
12. ročník (2021/2022)

S5 – A přece se kryjí! (pátá úvodní úloha)

Autorka: Anna Matějková (e-mail: anna-matejkova@seznam.cz)

6 bodů

1. Řešení:



(2,0 b.)

2. Řešení:

- (a) Aceton = propan-2-on
 As_2O_3 = oxid arsenitý
 Br_2 = brom
 CCl_4 = tetrachlormethan
 Cl_2 = chlor
 Cr = chrom
 Gd = gadolinium
 Hg = rtuť
 H_2O = voda/oxidan
 H_2O_2 = peroxid vodíku
 $\text{H}_3\text{C-COOH}$ = kyselina ethanová
 KCN = kyanid draselný
 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ = dichroman draselný
 PH_3 = fosfan
 Tl = thallium
 Ru = ruthenium

(b) Dural = Al, Cu (popř. ještě Mg, Mn jako příměsi)

Elektrum = Au, Ag (popř. ještě Cu)

Galinstan = Ga, In, Sn

NaK = Na, K

(c) Příklad:

As_2O_3 – jed proti hlodavcům, čerění skla

Cl_2 – chemické syntézy, (dnes zakázaná) bojová látka

Galinstan – tekutá zrcadla do teleskopů, náplň teploměrů místo rtuti

Tl – impregnace dřeva, polovodiče

(2,5 b.)

3. Individuální řešení, příklad: Nikotin (oranžová), Některé amalgámy (zelená), Kadmium (fialová).

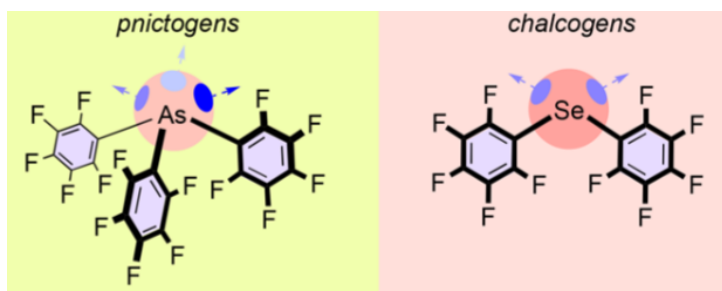
(1,5 b.)

S6 – A přece se drží (šestá úvodní úloha)

Autor: Matúš Chvojka (e-mail: mchvojka@mail.muni.cz)

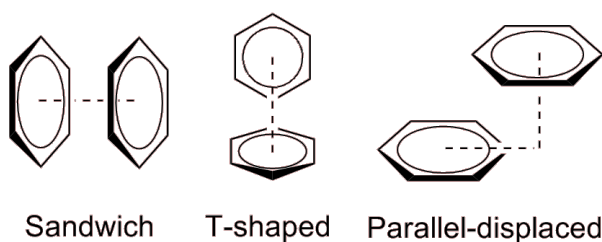
7 bodů

1. Například vazba O–O v molekule H_2O_2 má disociační energii přibližně 142 kJ mol^{-1} . (1,0 b.)
2. Například trinitromethan nebo methantrikarbonitril. (1,0 b.)
3. Chalkogenová (selen, telur), pnictogenová (arsen antimon) a tetrelová (cín, germanium) vazba. Lehčí prvky těchto skupin jsou příliš malé na to, aby se na nich mohla vytvořit efektivní σ -díra. Těžší prvky naopak nejsou téměř využívané pro tento účel. Vazba je ve směru σ^* orbitalu, jak je ukázáno na obrázku. Vhodným substituentem na donorovém atomu je například pentafluorfenyl. Akceptorem může být libovolný anion.¹



(1,5 b.)

4. Vlevo je zobrazeno možné uspořádání při interakci molekuly benzenu a molekuly hexafluorbenzenu, zbývající dva případy jsou pro dvě molekuly benzenu.



(1,0 b.)

5. Čím silnější bude interakce prostředí s nabitými částicemi, tím menší bude interakce nabitých částic navzájem.

 vodný roztok NaCl, voda, DMSO, MeOH, THF, CHCl_3 , hexan, vakuum

Za každou položku mimo správné pořadí –0,2 bodu.

(1,5 b.)

¹J. Am. Chem. Soc. **2019**, 141, 810–814

6. Dá se toho dosáhnout rozpojením libovolné kovalentní vazby, nejslabší by měly být C–C vazby v crown-etheru. Jejich disociační energie je okolo 350 kJ mol^{-1} .

(1,0 b.)

A3 – Malé, ale šikovné! – Cesta za superenzymy*Autor: Daniel Pluskal (e-mail: pluskal.daniel@gmail.com)*

12 bodů

1. Při **substituční** bodové mutaci dochází k záměně jednoho nukleotidu v sekvenci nukleové kyseliny za jiný. Následkem substituční mutace může (ale nemusí) být změna smyslu kodonu (změna kódované aminokyseliny) anebo zisk/ztráta smyslu kodonu (kodon se smyslem se změnil na kodon nesmyslný, tedy STOP kodon, či naopak).

Při **indelové** bodové mutaci dochází buďto ke vmezeření nového nukleotidu (inzerce) anebo jeho plné ztrátě (deleci). Následkem indelových mutací je změna čtecího rámce, což má na gen/organismus výrazně více destruktivní vliv, než mutace substituční, kdy může dojít např. ke knock-outu celého genu. Výjimkou jsou případy, kdy je indelová mutace tzv. kompenzovaná (proběhne zároveň inzerce a delece anebo proběhne počet inzercí/delecí dělitelný třemi), kdy ke změně čtecího rámce nedochází.

V přírodě dochází významně častěji k mutacím **substitučním**. Zprv proto, že substituční mutace probíhá o dost snadněji (je mnohem snadnější báze mírně chemicky pozměnit nebo omylem vyměnit než načisto vyštěpit/přidat), zadruhé pak, protože substituční mutace většinou neznamenaají úplnou ztrátu funkce genu vedoucí např. ke změně fenotypu neslučitelné se životem organismu (mnoho indelových mutací prostě „vymře“).

(0,5 b.)

2. Genetik o zjištění biochemika pochyboval, protože **záměna lysinu na aspartát by vyžadovala minimálně dvě substituční mutace zároveň** a navíc blízko sebe, a proto je takováto přímá změna (tedy z generace na generaci) značně nepravděpodobná. Daleko pravděpodobnější by bylo, kdyby lysin mutoval nejprve na např. kys. glutamovou nebo asparagin první substituční mutací a až potom na kys. asparagovou druhou substituční mutací. Pro genetika by proto byly uvěřitelnější záměny aminokyselin proveditelné pouze z kodonu pro lysin jednou substituční mutací, což jsou konkrétně záměny na **arginin, asparagin, glutamin, isoleucin, methionin** nebo **threonin** (viz Tabulka 1 na konci řešení).

(1,0 b.)

3. Extrémní prostředí si žádají extrémní řešení. Proto extremofilní organismy, obývající prostředí s mimořádně vysokou či nízkou teplotou, iontovou silou, pH, toxickými kontaminanty apod. musí být pro přežití a prosperitu v takovém nehostinném prostředí dobře uzpůsobené. Ke změnám ve fenotypu dochází zejména evolucí proteinů a enzymů buďto pro nerušenou činnost v takto extrémních podmínkách anebo pro nějakou práci s daným prostředím, např. kompenzace extrémně nízkého pH, metabolizace či jiná neutralizace toxických sloučenin a podobně. Pokud tedy chceme enzymy s kuriózními vlastnostmi, **více než často se vyplatí se podívat do příslušně kuriózního prostředí, jestli už příroda náhodou takový enzym nevyvinula za nás.**

(0,5 b.)

4. Enzymy **homologní** jsou produkty genů odvozené od jednoho společného (ancestrálního) genu, jsou tedy evolučně příbuzné. Následkem různé evoluce daného genu v příbuzných organismech, avšak obývajících různá prostředí (tedy vystavených různému selekčnímu tlaku), případně duplikací a rozrůžňováním ancestrálního genu v rámci jednoho organismu,

tak vznikají enzymy, které si jsou sekvenčně blízké a mohou, nicméně nemusí zastávat stejnou funkci. Takové rozrůžňování se označuje termínem *divergentní evoluce*. Příkladem homologních enzymů jsou např. trypsin, chymotrypsin a elastasa (všechno serinové proteasy, nicméně s různou substrátovou specifitou). **Algoritmy pro alignment, např. BLAST, příbuznost enzymů/genů identifikují právě na základě jejich homologie.**

Enzymy **analogické** jsou takové enzymy, u kterých se naprosto nezávisle vyvinula stejná funkce. Takové enzymy tak obvykle nesdílí ani sekvenční, ani strukturní podobnost, byť např. architektura aktivního místa může být podobná. Nezávislému vývoji stejných znaků u nepříbuzných organismů se říká *konvergentní evoluce*, kdy příkladem analogických enzymů jsou např. chymotrypsin (živočišná serinová proteasa) a subtilisin (bakteriální serinová proteasa) anebo karbonátanhydrazy α (lidská), β (z ruduch) a γ (archebakteriální).

(0,5 b.)

5. Při **screeningu** identifikuje a vybírá chtěné změny ve vlastnostech enzymů/organismů racionálně proteinový inženýr – vezme mutantní knihovnu, proměří nějakou vlastnost či jejich kombinaci pro každou mutantní variantu zvlášť a na základě výsledků takového plošného měření si vybírá, co se mu líbí. Výhodou je samozřejmě to, že přesně víme, co vybíráme pro další kola řízené evoluce anebo finální použití, obrovskou nevýhodou je samozřejmě to, že je metoda extrémně pracná jak z hlediska velkého množství mutantních variant k proměření (s tímto nám však v dnešní době už pomáhá robotika či mikrofluidika), tak z hlediska toho, že musíme najít nějakou rozumně měřitelnou vlastnost nebo jejich co nejmenší množinu, na základě které si troufneme říci: „Ano, tenhle enzym se vyvinul takovým směrem, jakým já chci“.

Při **selekci** necháváme výběr prospěšných mutací na přirozeném výběru. V jednom prostředí společně kultivujeme organismy nesoucí různě mutované geny. Zhoubné mutace své organismy oslabují, prospěšné mutace jim naopak pomáhají přežít a přerůst ostatní organismy. Po kultivaci tedy získáme kulturu, ve které převládá pouze jedna, případně několik málo mutantních variant, které proteinový inženýr získá naservírované jako na talíři. Největší nevýhodou tohoto přístupu je jeho neuniverzálnost – aby selekce vůbec mohla fungovat, musí být funkce našeho enzymu nějak spojena s přežitím daného organismu, a to navíc pozitivně. Selekcce je tedy omezena pro inženýrství enzymů neutralizujících škodliviny, syntetizujících živiny apod. Další nevýhodou je to, že dostaneme pouze a jenom to, co nám příroda vybrala a nevidíme průběh procesu – v mutantní knihovně mohla být nějaká extrémně prospěšná mutace, která ale byla utlačena třeba z důvodu, že startovala ve slabší buňce – my to nevíme a nikdy se to nedozvíme. Výhodou je samozřejmě extrémně vysoká kapacita a relativní jednoduchost metody, a také to, že nepotřebujeme prakticky žádné specializované vybavení (jako např. zmiňované robotické či mikrofluidické platformy).

(1,0 b.)

6. Tento úkol byl sice o něco více matematický/kombinatorický, měl nicméně sloužit pro demonstraci toho, jak obrovské mutantní knihovny mohou teoreticky být; v praxi samozřejmě nikdy neprozkoumáme možnosti všechny a tak je i přes systematický přístup úspěch stále ještě do jisté míry dílem náhody. Pro výchozí protein o 320 aminokyselinových residuech máme $\binom{320}{2}$ možností, jak vybrat dvě různé pozice v aminokyselinovém řetězci a pro každý z těchto výběrů máme 19×19 možností pro substituční mutaci. Finální počet možných variant je tedy

$$\binom{320}{2} \times 19^2 = 18425440$$

Pro soubor všech možných sekvencí je výpočet jednodušší, výsledný počet kombinací je však mnohem, mnohem vyšší. Pro každou z 320 pozic řetězce máme 20 možných aminokyselinových residuí a různých sekvencí takového řetězce tak teoreticky je

$$20^{320} \approx 2,14 \times 10^{416}$$

Nepředstavitelně velké číslo, reprezentující 2,14 set miliard možných kombinací pro ještě relativně krátký polypeptidový řetězec, a to ještě ani nepočítáme s jeho posttranslačními úpravami. No prostě fuj.

První, realistická mutagenizní knihovna by nám při výkonu 2500 analyzovaných mutantních variant za sekundu trvala oskenovat asi 7371 sekund, tedy zhruba **2,05 hodiny**. To není zase tak hrozné, co? Jen si tady odložím informaci o tom, že takto rychlá analýza je extrémně komplikovaná a možná pouze v případě dobře kooperujících systémů, kdy se reálněji dosažitelné rychlosti analýz pohybují kolem 100 s^{-1} (a analýza knihovny by tak trvala cca 2,13 dne – pořád žádná katastrofa).

Druhá, kompletní knihovna všech možných sekvencí, by oproti tomu při našem výkonu trvala oskenovat asi **$2,7 \times 10^{405}$ let**. S tolika „miliard“ se už vypisovat nebudu, jen zmíním, že stáří vesmíru je odhadováno na pouze asi $13,8 \times 10^9$ let a zbytek nechám na Vaší představivosti.

(1,0 b.)

7. Pro epPCR naprosto klíčovou „chybou“ je **použití *Taq* polymerasy**. Té narozdíl od moderních inženýrských DNA polymeras chybí tzv. 3'→5' exonukleasová aktivita a neumí tak provádět proofreading, tedy opravovat po sobě chyby.

Další možností je **zvýšení koncentrace MgCl_2** v reakční směsi oproti běžné PCR anebo **přídavek MnCl_2** . Kromě toho, že přítomnost MgCl_2 v PCR směsi je nutností (Mg^{2+} je kofaktorem polymerasových reakcí), dvoumocné kationty hořčíku a manganu přispívají k chybovosti *Taq* polymerasy snižováním specifity párování bází a stabilizaci jejich nekomplementárních interakcí.

Dále můžeme **zvýšit koncentraci *Taq* polymerasy, snížit množství templátové DNA anebo zvýšit počet cyklů PCR**. Všechny tyto změny jsou založené spíše na statistickém zvýšení pravděpodobnosti mutací nežli na nějakém konkrétním chemickém mechanismu: zkrátka, čím více *Taq* polymerasy/méně vstupní DNA/více reakčních cyklů, tím více proběhne replikací již replikovaných DNA řetězců a tím více se mohou mutace v průběhu PCR hromadit.

Na podobném principu pracuje i „chyba“ **zvýšení vstupní koncentrace jednoho či více deoxyribonukleotidtrifosfátů (dNTPs) resp. jejich přídavek** v nevyváženém poměru. Mechanismus je opět triviální: čím více jednoho z dNTPs, tím větší pravděpodobnost, že jej *Taq* polymerasa naváže místo toho správného nukleotidu. Tohoto se využívá zejména, pokud chceme mutace směřovat určitým směrem (např. chceme, aby mutace nebyly zcela náhodné, ale aby nejvíce probíhaly substituce A na G; prostě přidáme více dGTP a méně dATP).

Když už jsme u těch dNTPs, další možností je přídavek některých jejich **syntetických derivátů** (např. dITP, dPTP, 8-oxo-dGTP a další). Tyto analogy mají určitou specifitu vůči

některému z klasických nukleotidů a tak je *Taq* polymerasa občas při replikaci použije, protože prostě proč ne. Mají ale tu vlastnost, že se následnou reakcí či při opravných mechanismech buňky vymění za nukleotid, který už k nukleotidu původního řetězce komplementární není a hle, mutace.

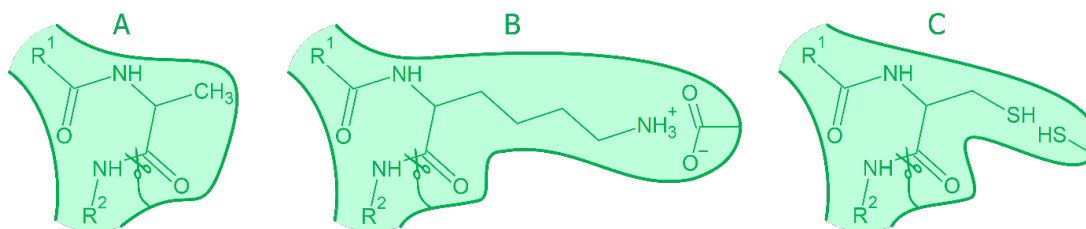
Poslední z těch populárnějších možností je **snížení teploty pro nasedání primerů**. Při nižší teplotě má DNA tendenci lépe hybridizovat, a tak hybridizuje s kdečím, byť sekvence toho kdečeho k té její není zcela komplementární.

(1,5 b.)

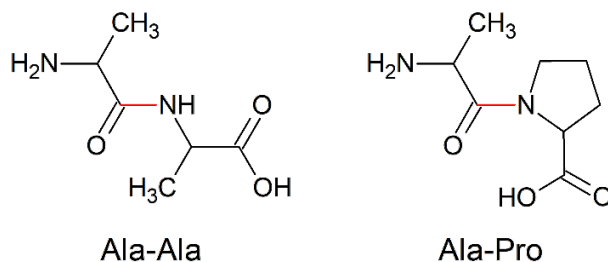
8. Vymyšlenasa je místně specifická proteasa, která rozpoznává určitou aminokyselinu a bezprostředně za ní štěpí peptidovou vazbu. Divoký typ vymyšlenasy má takový tvar vazebného místa, které rozpoznává velké, nepolární aminokyseliny (Trp, Phe, Tyr).

Úpravou do formy A se vazebné místo vymyšlenasy značně zmenšilo a vejdu se do něj pouze aminokyseliny s malým postranním řetězcem, bude tedy nejspíše štěpit za **glyciny** anebo **alaniny**.

Forma B má vazebné místo naopak prohloubené, avšak zúžené, a navíc se na jeho dně nachází záporně nabitá karboxyskupina. Forma B tedy bude štěpit aminokyseliny s dlouhým, ale málo objemným postranním řetězcem, které jsou při rozumném pH nabitě kladně, tedy za **lysiny** anebo **argininy**. Forma C má vazebné místo opět maličké a navíc se v něm nachází thiolová skupina. V tomto případě se přímo nabízí vazba **cysteinu**, který se do vazebného místa zároveň pěkně vejde a zároveň by jeho vazba mohla být pevná, protože může dojít ke vzniku disulfidového můstku.



Aminokyselina, která, když by se nacházela bezprostředně za tou rozpoznávanou, by mohla činnost vymyšlenasy narušit, je **prolin**. Jako jediný z proteinogenních aminokyselin obsahuje prolin ve své páteři nikoliv primární, ale sekundární aminoskupinu (v některých zdrojích je proto prolin nesprávně/zastarale označován termínem „iminokyselina“) a tak jsou s ním spojeny kdejaké extrabuřty. Peptidové vazby, kterých se prolin účastní svým aminovým dusíkem, jsou proto netypické (viz níže, peptidová vazba je vyznačena červeně), vyžaduje speciální způsob štěpení a i soudě dle schematických znázornění aktivních míst vymyšlenasy a jejich variant by se taková struktura do aktivního místa zkrátka nevešla.



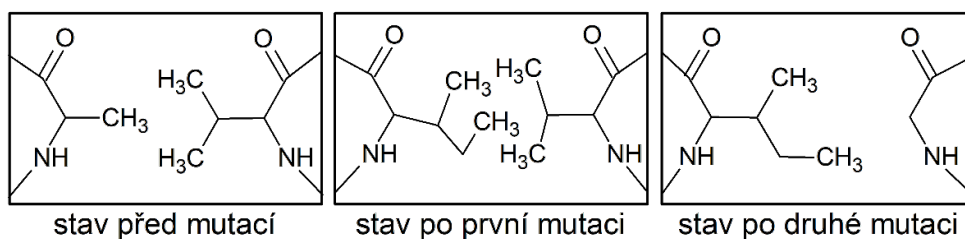
Jen pro zajímavost, vymyšlenas a její varianty A a B jsou inspirovány skutečnými enzymy chymotrypsinem, trypsinem a elastasou.

(2,0 b.)

9. **Glycin má ze všech aminokyselin bezkonkurenčně nejmenší postranní řetězec** (–H). Malá velikost postranního řetězce je často kritická proto, aby mohl polypeptidový řetězec dělat těsné ohyby anebo se mohl co nejvíce přiblížit jiné části řetězce. Vzhledem k tomu, že žádná jiná aminokyselina neumožňuje taková alotria jako glycin, je velmi těžké jej v těchto případech nahradit, aby přitom nedošlo k narušení struktury a tím i funkce celého proteinu.

(1,0 b.)

10. Opět narážíme na fakt, že struktura enzymu je naprosto klíčová pro jeho funkci. První mutace zapříčiňuje ztrátu vydumanasové aktivity, protože postranní řetězec isoleucinu (butan-2-yl) je výrazně větší, než postranní řetězec alaninu (methyl). Protože se tato mutace nachází uvnitř struktury vydumanasy, kde jsou řetězce sbalené zpravidla natěsně, tato „nafukující“ mutace vydumanasu pravděpodobně přinutila změnit tvar, aby se do ní nový postranní řetězec vešel, čímž ale došlo i ke ztrátě její funkce. Druhá mutace naopak vyměnila valin s objemnějším postranním řetězcem (isopropylem) na glycin, jež postranní řetězec postrádá (resp. na místě postranního řetězce má vodík). Nabízí se tedy vysvětlení, že **druhá mutace byla kompenzující**: vymizením původně prostorově náročnějšího postranního řetězce valinu vznikl prostor pro postranní řetězec mutovaného isoleucinu, vydumanasa se tak mohla sbalit do své aktivní konformace a zase začít vesele pracovat (situace znázorněna níže).



(1,0 b.)

11. Řešení:

- Pokud je nějaké aminokyselinové residuum napříč celou enzymovou rodinou vysoce konzervované, s vysokou pravděpodobností to není náhoda a znamená to, že právě v tomto místě je právě tato jedna aminokyselina naprosto nezbytná. Společně s tím má zrovna histidin vysoce unikátní vlastnosti (jeho postranní řetězec může být při rozumném pH jak protonovaný, tak deprotonovaný), což dále zvyšuje pravděpodobnost jeho důležitosti. Saturační mutagenese vysoce konzervovaného histidinového residua by pravděpodobně vedla ke ztrátě či výraznému snížení tomatasové aktivity či její stability a **první poznámka je tak bez pochyby dílem špiona**.
- Asparagin a glutamin jsou aminokyseliny, která při vyšších teplotách moc rády deaminují a mění se tak na kys. asparagovou resp. glutamovou, jejichž postranní řetězce mají výrazně odlišné vlastnosti. Pokud tedy můžeme residua citlivá na vyšší teplotu vyměnit za jiná, která odvedou stejnou práci, ale jsou robustnější, je pravděpodobné,

že teplotní stabilitu vylepšíme a **druhá poznámka je dílem proteinového inženýra.**

3. Cystein je aminokyselina, která velmi často hraje klíčovou roli při udržování proteinu pohromadě. A proč? Protože může relativně jednoduše tvořit pevnou kovalentní vazbu, tzv. disulfidový můstek, s jiným cysteinem. Tato interakce hraje v případě extracelulárních enzymů, jako je tomatasa, významnou roli. Když jsou dva sekvenčně vzdálené cysteiny v trojrozměrné struktuře proteinu blízko, velmi často se jedná právě o tento případ a náhradou takových cysteinů za seriny bychom potenciálně odstranili stabilizující disulfidový můstek. **Třetí poznámka je tak dílem špiona.** (U intracelulárních proteinů disulfidové můstky až tak důležité nejsou; uvnitř buněk panuje redukční prostředí vlivem přítomnosti glutathionu, tripeptidu, který sám thiolovou skupinou disponuje a existuje rovnováha mezi disulfidovými můstky protein-S-S-protein a protein-S-S-glutathion.)
4. Popsané změny ve struktuře aktivního místa jsou krásnou ukázkou toho, co přesně nedělat. Kdybychom zvýšili pevnost vazby produktu reakce, ten by po skončení reakce o to hůře opouštěl aktivní místo, tím zpomaloval vstup další molekuly substrátu a brzdil tak celkový průběh reakce. Transitní stav reakce je přechodovým stavem mezi substrátem a produktem reakce; pokud bychom snížili pevnost jeho vazby, substrát by se tím méně ochotně do transitního stavu dostával a tím méně se přeměňoval na produkt. Takovou změnou bychom tedy efektivně zvýšili aktivační energii reakce a tím zpomalili její průběh. Pro zvýšení aktivity tomatasy by bylo žádoucí naopak snížit pevnost vazby produktu a zvýšit pevnost vazby transitního stavu reakce. **Čtvrtá poznámka je rozhodně dílem špiona.**
5. Fenylylalanin, aminokyselina s vysoce nepolárním postranním řetězcem, vystavený na povrchu proteinu, u kterého požadujeme rozpustnost ve vodě, tedy polárním rozpouštědle. To nezní jako moc dobrá kombinace. Záměnou fenylylalaninu za serin, aminokyselinu o poznání polárnější, ale přesto nenabitou, tedy může z hlediska rozpustnosti tomatasy ve vodě jen pomoci. **Pátá poznámka je dílem proteinového inženýra.**
6. B-faktor je ve zjednodušení veličina, který nám pro jednotlivé atomy říká, jak moc jsme si v krystalografické struktuře jisti jejich přesnou polohou. Pokud je B-faktor nízký, znamená to, že daný atom pevně drží na určitém místě a máloco s ním hne. Pokud je B-faktor naopak vysoký, znamená to, že má atom určitou volnost, může více rotovat, vibrovat a dělat další skopičiny, které jsou teplotně závislé, a spíš tak při vyšších teplotách udělá nějakou neplechu. Pro teplotní stabilitu je tedy dobré se snažit jednotlivé aminokyseliny a jejich postranní řetězce co nejvíce přikurtovat, což znamená, že **šestá poznámka je dílem proteinového inženýra**; je však potřeba mít se na pozoru, protože s takovým zvyšováním rigidity může současně docházet ke snižování enzymové aktivity, pokud je flexibilita daného regionu žádoucí pro samotnou reakci.

(2,0 b.)

Tab. 1: Kodonová tabulka

		druhý nukleotid kodonu									
		U		C		A		G			
		Kodon	AMK	Kodon	AMK	Kodon	AMK	Kodon	AMK		
První nukleotid kodonu	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U	Poslední nukleotid kodonu
		UUC		UCC		UAC		UGC		C	
		UUA	Leu	UCA		UAA	STOP	UGA	STOP	A	
		UUG		UCG		UAG	STOP	UGG	Trp	G	
	C	CUU		CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U	
		CUC		CCC		CAC		CGC		C	
		CUA		CCA		CAA	Gln	CGA		A	
		CUG		CCG		CAG		CGG		G	
První nukleotid kodonu	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U	Poslední nukleotid kodonu
		AUC		ACC		AAC		AGC		C	
		AUA		ACA		AAA	Lys	AGA	Arg	A	
		AUG	Met	ACG		AAG		AGG		G	
	G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U	
		GUC		GCC		GAC		GGC		C	
		GUA		GCA		GAA	Glu	GGA		A	
		GUG		GCG		GAG		GGG		G	

B3 – trašlivě malé magnety

Autorka: Petra Pikulová (e-mail: pikulova@mail.muni.cz)

13 bodů

1. Řešení:

$$\delta = \frac{\nu - \nu_{ref}}{\nu_{ref}} \times 10^6 \text{ ppm} = \frac{400,001 \text{ MHz} - 400,0004 \text{ MHz}}{400,0004 \text{ MHz}} \times 10^6 \text{ ppm} = 1,5 \text{ ppm}$$

(0,5 b.)

2. Vnější magnetické pole indukuje proud elektronů, který vytvářejí své vlastní magnetické pole opačné vůči vnějšímu magnetickému poli. To, jak velké toto indukované pole je, závisí na chemickém okolí daného jádra.

(0,5 b.)

3. Magnetický moment elektronu je asi 658krát větší než magnetický moment protonu. Zároveň má proton největší magnetický moment z běžně měřených jader (oproti jádru ^{13}C asi čtyřikrát, viz gyromagnetické poměry obou jader).

$$\frac{|\gamma_{el}|}{|\gamma^1\text{H}|} = \frac{1,760859 \times 10^{11} \text{ rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}}{2,675222 \times 10^8 \text{ rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}}$$

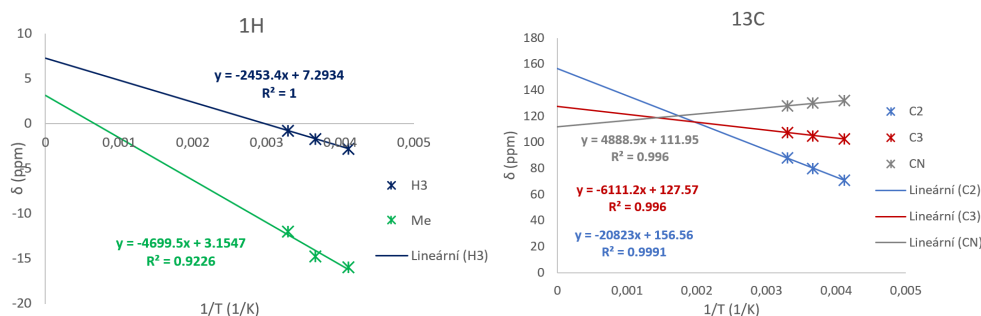
(0,5 b.)

4. U ^1H NMR spekter jsou chemici zvyklí na rozsah zhruba 0–12 ppm. Aromatické uhlíky typicky mívají posuny v oblasti 120–150 ppm (do tohoto rozsahu se vejdou i tři signály samotného pyridinu). Tyto rozsahy nejsou nijak striktní, už –16 ppm je ale pro proton dost neobvyklý chemický posun. Situace může být i mnohem extrémnější, chemické posuny protonů v paramagnetických látkách mohou dosahovat stovek ppm. A pokud vás napadlo, kde se ve spektru v obrázku 1 schovává signál uhlíku Me (z ligandu DMSO), tak ten je právě výrazně zastíněn a vyskytuje se někde okolo –100 ppm, tedy zcela mimo naměřenou oblast.

(1,0 b.)

5. Řešení:

T (K)	$1/T$ (1/K)	H3 (ppm)	Me (ppm)	C2 (ppm)	C3 (ppm)	CN (ppm)
303	0,0033	–0,8	–12	88	107,5	128
273	0,0037	–1,7	–14,7	80	105	130
243	0,0041	–2,8	–15,9	71	102,5	132



(1,0 b.)

6. Řešení:

	H3 (ppm)	Me (ppm)	C2 (ppm)	C3 (ppm)	CN (ppm)
Δ (ppm K)	-2453	-4700	-20823	-6111	4889
δ^{orb} (ppm)	7,3	3,2	157	128	112
δ^{hf} 293 (ppm)	-8,4	-16,0	-71,1	-20,9	16,7
δ^{tot} 293 (ppm)	-1,1	-12,9	85,5	106,7	128,7

Např pro H3:

$$\delta^{hf} (293 \text{ K}) = \frac{\Delta}{293 \text{ K}} = \frac{-2453,40 \text{ ppm K}}{293 \text{ K}} = 8,4 \text{ ppm}$$

$$\delta^{tot} (293 \text{ K}) = \delta^{orb} + \delta^{hf} (293 \text{ K}) = 7,29 \text{ ppm} - 8,37 \text{ ppm} = -1,1 \text{ ppm}$$

Pokud vám vyšly mírně odlišné hodnoty než mě, je to způsobeno nepřesným odečítáním posunů ze spektra (na mé i na vaší straně).

(1,5 b.)

7. d

(0,5 b.)

8. U atomů C2 a CN se znaménko hyperjemného posunu shoduje se znaménkem spinové hustoty (červená = záporná, modrá = kladná), které je vidět v obrázku 2. Pro atom C3 se ale z obrázku 2 zdá, že tato shoda neplatí. Ve skutečnosti na atomu C3 je záporná spinová hustota, a to díky polarizaci skrz σ -vazby, jen to v obrázku není vidět, protože nám kladná spinová hustota v π -prostoru „zavazí ve výhledu“. Takovéto obrázky spinové hustoty jsou velmi intuitivní a poučné, ale není v nich vidět všechno.

(0,5 b.)

9. Ha a Hb spolu interagují skrz takzvanou skalární interakci (nebo J -interakci, nepřímou spin-spinovou interakci) a navzájem se štěpí.

Při navázání RuLB do kavity se poruší symetrie cucurbit[7]urilu podle roviny procházející atomy Hc a jádra Ha a Ha', Hb a Hb' již nejsou chemicky ekvivalentní.

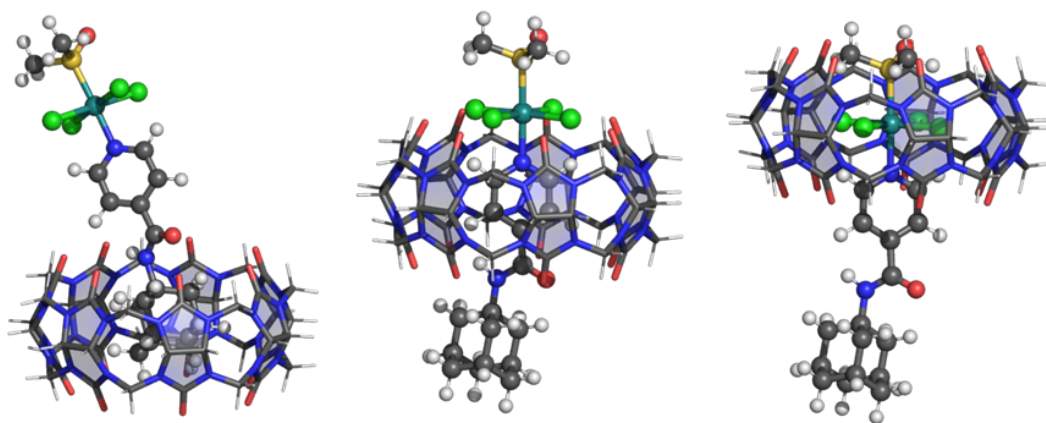
(1,0 b.)

10. Řešení:

Pseudokontaktní posun (ppm)				
Ha	Hb	Hc	Hb'	Ha'
-0,70	-0,35	-0,25	-0,25	-0,25

(0,5 b.)

11. Řešení:



(1,5 b.)

12. Hydrofobní adamantyl raději bude schovaný v kavitě, než aby byl vystaven vodě. Adamantyl se ve skutečnosti používá jako kotva, která s cucurbit[7]urilem zaručuje pevnou vazbu, protože má přesně ten správný tvar, aby pasovala do jeho kavity. V prostřední struktuře si můžeme všimnout, že chlory a kyslíky jsou v nepěkně těsném kontaktu.

(1,0 b.)

13. „Ruční“ výpočet:

$$x = 0,532462 \text{ Å}$$

$$y = 5,553105 \text{ Å}$$

$$z = 2,826287 \text{ Å}$$

$$r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2} = \sqrt{0,532462^2 + 5,553105^2 + 2,826287^2} \text{ Å} = 6,25367 \text{ Å}$$

$$\vartheta = \arccos\left(\frac{z}{r}\right) = \arccos\left(\frac{2,826287}{6,25367}\right) = 1,101857 \text{ rad}$$

$$\varphi = \arctan 2(x, y) = \arctan\left(\frac{y}{x}\right) = \arctan\left(\frac{5,553105}{0,532462}\right) = 1,47503 \text{ rad}$$

$$\chi_{ax} = \chi_{zz} - \frac{\chi_{xx} + \chi_{yy}}{2} = 0,025020 \text{ Å}^3 - \frac{0,039970 + 0,038891}{2} \text{ Å}^3 = -0,0144105 \text{ Å}^3$$

$$\chi_{rh} = \chi_{xx} - \chi_{yy} = (0,039970 - 0,038891) \text{ Å}^3 = 0,001079 \text{ Å}^3$$

$$\begin{aligned} \delta^{pc} &= \frac{1}{12\pi r^3} \left[\Delta\chi_{ax}(3 \cos^2 \vartheta - 1) + \frac{3}{2} \Delta\chi_{rh} \sin^2 \vartheta \cos 2\varphi \right] = \\ &= \frac{1}{12\pi 6,25367^3} \left[-0,0144105(\cos^2 1,101857 - 1) + \frac{3}{2} 0,001079 \sin^2 1,101857 \cos 2 \cdot 1,475203 \right] \end{aligned}$$

$$\delta^{pc} = 0,468 \text{ ppm}$$

Výsledky zprůměrované pro všechny ekvivalentní atomy:

Pseudokontaktní posun (ppm)				
	Exp (ppm)	Adamantyl (ppm)	Pyridin (ppm)	Ru (ppm)
Ha	-0,700	-0,516	2,352	0,593
Hb	-0,350	-0,223	0,903	0,959
Hc	-0,250	-0,188	0,323	1,156
Hb'	-0,250	-0,162	-0,153	0,958
Ha'	-0,250	-0,178	-0,501	0,597

(2,0 b.)

14. Ze znamének pseudokontaktních posunů z úkolu 13 je jasné, že kvalitativně odpovídá jedině model s cucurbiturilem navázaným na adamantylu. To odpovídá i naší chemické intuici (úkol 12).

(1,0 b.)

C3 – A máme tě!

*Autorky: Zuzana Bílková a Simona Rozárka Jílková
 (e-mail: rozarka.jilkova@recetox.muni.cz)*

12 bodů

1. Kvalitativní stanovení.

(0,4 b.)

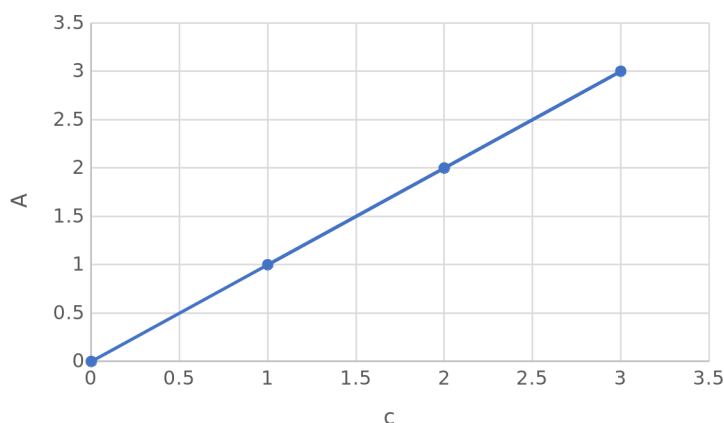
2. Kvantitativní stanovení.

(0,4 b.)

3. Výška a plocha píku

(0,8 b.)

4. Řešení:



(0,8 b.)

5. y = abundance, x = koncentrace.

(a) $y = ax + b$; $A = ac + b$.

(b) $x = \frac{y-b}{a}$; $c = \frac{A-b}{a}$.

(1,6 b.)

6. bychom získali roztoky o objemu 1 ml a zároveň nepipetovali méně jak 100 μl , je zapotřebí si vytvořit zředěnější zásobní roztok. Případně jste mohli využívat koncentrovanější roztoky z kalibrační řady. A byly brány za správné odpovědi i výpočty, kdy jste nedodrželi požadovaný objem. Při výpočtech můžeme využít např. rovnici, případně úvahu „kolikrát je nutné zředit“. Vypočtené objemy jsou uvedené v Tabulce 1.

Vzorový výpočet pro koncentraci 500 ng ml^{-1} :

$$c_{\text{zásobní}} \cdot V_{\text{zásobní}} = c_{500} \cdot V_{500}$$

$$V_{\text{zásobní}} = \frac{c_{500} \cdot V_{500}}{c_{\text{zásobní}}}$$

$$V_{\text{zásobní}} = \frac{500 \text{ ng ml}^{-1} \cdot 1 \text{ ml}}{1000 \text{ ng ml}^{-1}} = 0,5 \text{ ml}$$

$$V_{\text{rozpouštědlo}} = V_{500} - V_{\text{zásobní}}$$

$$V_{\text{rozpouštědlo}} = 1 \text{ ml} - 0,5 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$$

Tab. 1: Vypočtené objemy pro přípravu kalibračních roztoků.

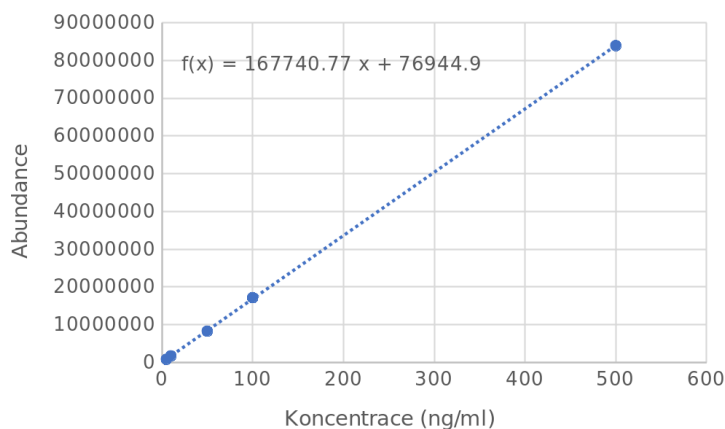
Koncentrace kalibračního roztoku (ng ml ⁻¹)	Objem zásobního roztoku (ml)	Objem rozpouštědla (ml)
500	0,5	0,5
100	0,1	0,9

Koncentrace kalibračního roztoku (ng ml ⁻¹)	Objem roztoku o koncentraci 100 ng ml ⁻¹ (ml)	Objem rozpouštědla (ml)
50	0,5	0,5
10	0,1	0,9

Koncentrace kalibračního roztoku (ng ml ⁻¹)	Objem roztoku o koncentraci 10 ng ml ⁻¹ (ml)	Objem rozpouštědla (ml)
5	0,5	0,5

(1,6 b.)

7. Vytvořeno v Excelu:



(1,6 b.)

8. Výpočet:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

$$c = \frac{9\,684\,485 - 76\,945}{167\,741} = 57,3 \text{ ng ml}^{-1}$$

(1,6 b.)

9. Nejprve si vypočteme koncentraci Analytíka v 1 ml vzorku, který byl měřen:

$$c = \frac{A - b}{a}$$

$$c = \frac{12\,814\,179 - 76\,945}{167\,741} = 75,9 \text{ ng ml}^{-1}$$

Poté si vypočteme množství, v měřeném vzorku:

$$m = c \cdot V$$

$$m = 75,9 \text{ ng ml}^{-1} \cdot 1 \text{ ml} = 75,9 \text{ ng}$$

Toto množství bylo ale pouze ve 3 ml acetonitrilu, vypočteme tedy celkové množství Analytíka:

75,9 ng	3 ml
x ng	5 ml

$$x = \frac{75,9 \text{ ng} \cdot 5 \text{ ml}}{3 \text{ ml}} = 126,5 \text{ ng} = 0,1265 \mu\text{g}$$

Nakonec vypočteme hmotnostní zlomek:

$$w(\text{Analytík}) = \frac{m(\text{Analytík})}{m(\text{půda})}$$

$$w(\text{Analytík}) = \frac{0,1265 \mu\text{g}}{5,27 \times 10^{-3} \text{ kg}} = 24,0 \mu\text{g kg}^{-1}$$

(3,2 b.)