



Masarykova univerzita

Přírodovědecká fakulta



# Vzdělávací ikurz pro budoucí chemiky

Zadání 3. série

8. ročník (2017/2018)

Korespondenční seminář ViBuCh probíhá pod záštitou [Ústavu chemie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity](#) a [Národního centra pro výzkum biomolekul](#).

Recenze úloh:

Matúš Chvojka (C3), Erik Kalla (C3 + S6), Petr Stadlbauer (S5), Simona Krupčíková (C3), Štefan Malatinec (Z3), Jozef Prieboj (A3), Milan Říha (A3) a Tomáš Slanina (B3)

© 2018 Pavla Fialová, Matúš Chvojka, Simona Krupčíková, Dominik Madea, Miroslava Palacková, Milan Říha a Tomáš Vranka

© 2018 Masarykova univerzita

## Úvodník

Milí vibušníci!

Hoříte už touhou po dalších zajímavých úlohách? Další, v tomto ročníku už třetí, série vás opět zavede do zákoutí vědeckých objevů vašich hrdinů. Pes Žeryk už pro vás chystá program na Jarní setkání a láme si hlavu nad syntézou a bezpečností fluorovaných látek, s Sherlockem Holmesem a Dr. Watsonem se vydáte na procházku do přírody, která je plná rostlin obsahujících jedovaté látky, a dvorní analytici konečně přijdou na klobouk přesnému složení osudných granátů.

Dále se dozvítíte, jak je možné z aminokyselin syntetizovat peptidy, seznámíte se s karbenovými komplexy přechodných kovů a nebo si zahrájete chemické šipky.

Jaro už se pomalu blíží a s ním také poslední možnost podávání přihlášek ke studiu na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity, a to do konce února. Pokud jste se v minulosti stali úspěšnými řešiteli ViBuChu, nebo se jimi po třetí sérii stanete, tedy získáte 100 bodů, můžete požádat o prominutí přijímacích zkoušek na všechny chemické obory studijního programu Chemie. Neusněte na vavřínech a bojujte až dokonce!

Za celý tým ViBuChu

Pavla Fialová

## S5 – Chemické šipky (pátá úvodní úloha)

Autor: Miroslav Brumovský (e-mail: mbrumovsky@chemi.muni.cz)

3,5 bodu

Dva zapálení studenti chemie, Jirka a Martin, se rozhodli zpríjemnit si přestávku ve škole netradiční hrou. Na nástěnku ve třídě připevnili periodickou soustavu prvků, kterou před několika lety dostali od učitele na základní škole, a ze skříně plné všeho možného třídního harampádí vytáhli šest házecích šipek. „Řeknu ti tři vlastnosti, které charakterizují jeden chemický prvek,“ povíděl Jirka Martinovi, „když ho strefíš, dostaneš 3 body, když ne, dostaneš tolik bodů, kolik vlastností bude odpovídat prvku, který trefíš. Pak se vystřídáme.“



Jirka postupně řekl Martinovi vlastnosti charakterizující tři prvky:

- První prvek je kov, který je za normálních podmínek kapalný. Tento prvek tvorí slitiny nazývající se amalgámy.
- Druhý prvek je nekov rozpustný v etheru, který může tvořit polymerní allotropickou modifikaci.
- Třetí prvek je kov stříbrné barvy, který Mendělejev nazval ekabor.

Martin k jednotlivým vlastnostem trefil měď, uhlík a skandium. Potom si s Jirkou vyměnili role a Martin popsal tři prvky s následujícími vlastnostmi:

- První prvek je reaktivní kov, který má za normálních podmínek nejmenší hustotu ze všech pevných prvků.
- Druhý prvek je kov s teplotou tání 1555 °C za normálního tlaku, který má značnou schopnost absorbovat plynný vodík.
- Třetí prvek je silně radioaktivní transuran pojmenovaný po Japonsku.

Jirka postupně trefil sodík, platinu a ununtrium.

**Úkol 1:** Napište, jaké prvky měli Martin a Jirka trefit.

**Úkol 2:** Napište, kolik bodů hráči získali za jednotlivé hody.

**Úkol 3:** Spočítejte, kolik bodů získali oba hráči. Který vyhrál?

## S6 – Karbenové komplexy přechodných kovů (šestá úvodní úloha)

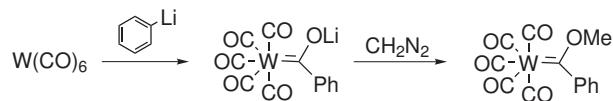
Autor: Matúš Chvojka (e-mail: 451024@mail.muni.cz)

3 body

*Komplexy přechodných kovů jsou důležitými reagenty a zejména katalyzátory jak v laboratorní syntéze, tak i v průmyslovém měřítku umožňující velké množství reakcí, ze kterých některé nejsou jiným způsobem ani uskutečnitelné. Jedním druhem komplexů přechodných kovů jsou „karbenové“ komplexy, ve kterých tvoří atom uhlíku s kovem formálně dvojnou vazbu.*

Vlastnosti těchto komplexů silně závisí na tom, jaký substituent nese karbenový atom uhlíku. Podle toho pak rozlišujeme dva typy těchto ligandů. Elektrofilní karbenové ligandy (Fischerovy) mají na atomu uhlíku elektronegativní substituenty nebo substituenty konjugačně stabilizující karben. Ve volném stavu (nekoordinovaný na atom kovu) by měl takovýto karben singletový stav. Formálně je pak považujeme za neutrální dvouelektronové donory. Nukleofilní karbenové ligandy (Schrockovy) nesou na atomu uhlíku pouze alkylové substituenty. Ve volném stavu by měl takovýto karben tripletový základní stav. Formálně je považujeme za dvouelektronové donory s nábojem  $2-$ . Jak už název naznačuje, ligandy prvního typu budou reagovat spolu s nukleofily (organokovy, aminy, thioly...) a ligandy druhého typu s elektrofily (estery a amidy karboxylových kyselin, ketony...). Celková reaktivita těchto karbenových ligandů taktéž závisí na elektronových a sterických poměrech na atomu kovu.

První karbenový komplex byl připraven E. O. Fischerem následovně:



**Úkol 1:** Je komplex koordinačně nasycený nebo nenasycený (spočítejte elektrony)? V jakém formálním oxidačním čísle je atom wolframu v komplexu? Jde o komplex Fischerova nebo Schrockova typu?

Největší využití karbenových komplexů najdeme v metatezi alkenů. Při této reakci dojde k „prestříhnutí“ a znovuspojení dvojné vazby alkenů, přičemž při reakci dvou různých alkenů si tyto alkeny vymění konce:



Na metatezi alkenů se nejčastěji používají komplexy Fischerova typu s  $\pi$ -donorními ligandy, přičemž  $\pi$ -donorní ligandy jsou ligandy, které  $\pi$ -vazbou s kovem dodávají elektrony atomu kovu. Příkladem jsou halogenidy ( $\text{Cl}^-$ ), alkoxidy ( $t\text{-BuO}^-$ ) nebo oxo ligand ( $\text{O}^{2-}$ ).

**Úkol 2:** Zkuste vysvětlit (např. zjednodušeným reakčním mechanismem) jak vznikl produkt při následující metatezi:



Navrhnete, jaký katalyzátor (komplex) by mohl být použit.

**Úkol 3:** Průběh reakce nukleofilních karbenových komplexů s elektrofily obsahující vazbu C=O je analogický s Wittigovou reakcí. Jaký bude produkt následující reakce?



## A3 – Organofluorová chemie

*Autoři:* Matúš Chvojka (e-mail: 451024@mail.muni.cz)  
 Simona Krupčíková (e-mail: 451234@mail.muni.cz)

10 bodů

Jarní setkání řešitelů a ex-řešitelů ViBuCh už pomalu klepe na dveře a Žeryk se tedy plnou silou pustil do vymýšlení programu pro účastníky.

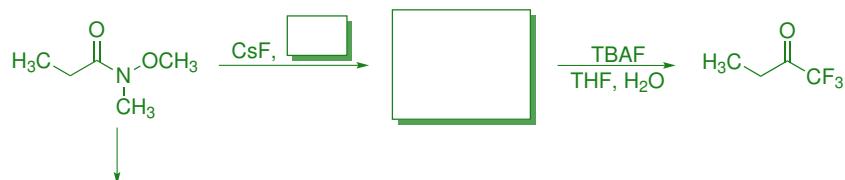
Jak už našeho psíka Žeryka dobře známe, občas bývá nepozorný a výjimkou tohoto faktu nebyl ani dnešní den. Žeryk si vzal několik učebnic organické a organofluorové chemie, z nichž každá vážila více než on sám, a pustil se do přípravy přednášky. Trošku se děsil toho, zda nebude mít trému. . . „Jsem už velký chemický pes! Zvládnu to!“

**Co se však nepokazilo...**

Žeryk se rozhodl, že vypracuje přednášku na téma zavedení  $-CF_3$  skupiny do organických látkek a jejich využití v medicinální chemii. Žeryk studoval a pracoval pilně jako každý vysokoškolský student celou noc. No a co ráno zjistil?

**Úkol 1:** Pokuste se pomocí Žerykovi doplnit údaje, které na stránkách prezentace pozapomněl zapsat:

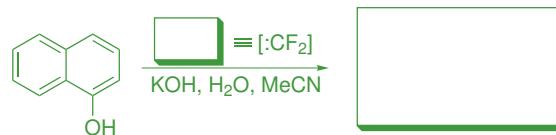
**Trifluormethylace:**



Tato funkční skupina, která byla poprvé syntetizována v roce 1981, má název  .

TBAF slouží jako zdroj  , aby  

**Difluormethylace:**



KOH je potřebný, protože  

Mechanismus:

Žeryk jako velký milovník přírody a vyznavač ekologie nesměl zapomenout ve své přednášce i na ochranu přírody. Při studiu narazil na zajímavou fluorovanou kyselinu, kterou nesměl opomenout.

**Úkol 2:** Jedním ze způsobů přípravy známého fluorovaného polymeru – polytetrafluorethylenu – je emulzní polymerace. Při ní se jako stabilizátor emulze používala kyselina perfluoroktanová.

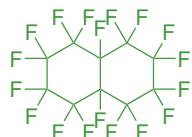
- (a) Nakreslete její strukturní vzorec.
- (b) Z jakého zdroje se dostává největší množství této látky do přírody?
- (c) Proč je škodlivá?
- (d) Kde bychom ji našli v lidském těle, kdybychom jí byli exponováni?

Když Žeryk konečně dokončil přípravu na svou fluorovanou přednášku, tak si řekl, že by si měl nachystat ještě něco k BOZP. Protože je to nejen velký odborník na bezpečnost, ale i na chemii fluoru, ani v tomto nesměly chybět fluorované sloučeniny.

**Úkol 3:** Jedním z nejdůležitějších zařízení v laboratoři s ohledem na bezpečnost, je určitě hasicí přístroj. Nejčastěji se používá pět druhů hasicích přístrojů.

- (a) Vyjmenujte je a napište, jaká látka je v nich hasidlem.
- (b) Jeden z typů hasicích přístrojů nahradil halonové hasicí přístroje, které byly zakázané, protože poškozovaly životní prostředí. Zkratka pro označení látky, která byla užívána jako hasidlo v těchto přístrojích, je CFC. Zjistěte, o jakou látku se jedná.
- (c) Kvůli jakému environmentálnímu problému byly halonové hasicí přístroje zakázany?

**Úkol 4:** Žeryk při svém studiu objevil tuto látku:



Zajímavou vlastností této látky je, že dokáže na sebe vázat velké množství kyslíku, což má velký význam pro medicínu.

- (a) O jakou sloučeninu se jedná? (Jaký je její systematický název)
- (b) Přibližně kolikrát větší objem kyslíku se dokáže rozpustit v 1 cm<sup>3</sup> této látky oproti 1 cm<sup>3</sup> krve? Jaké to má využití?
- (c) Jak lze připravit tuto sloučeninu z uhlovodíku neobsahujícího žádné atomy fluoru?

## B3 – Sherlock Holmes – génius forenzní chemie

*Autori:* Dominik Madea (e-mail: 424151@mail.muni.cz)  
Tomáš Vranka (e-mail: 423043@mail.muni.cz)

9,5 bodu

Jedné slunečné neděle se Sherlock s Watsonem vydali na příjemnou procházku po blízkém Regent's parku.

„Sherlocku, nedávno jsem si vzpomněl na Vaši nabídku rozšířit mé obzory v oblasti jedů.“

„Ano, příteli, to by byla výborná debata na přírodní procházce. Vždyť většina jedů, co známe, je přírodního původu. Avšak začít bychom mohli od historicky nejznámějších.

Například ve středověku byl oblíbeným travičským jedem síran thallný, jelikož je výborně rozpustný ve vodě, bezbarvý a bez zápachu. K otravě navíc dochází velmi pomalu. Zprvu člověka bolí žaludek a zvrací, poté jej začnou pálit nohy, a nakonec umírá na zástavu srdce. Navíc je tento jed těžce zjistitelný a tím si vysloužil v historii travičství své prvenství.

Další slavnou látkou je benzo[a]pyren. Je to látka, která vzniká při nedokonalém spalování organických látek. Je silně karcinogenní a povšiml si jí jeden londýnský chirurg, Percival Pott, v roce 1775. Pozoroval totiž větší výskyt rakoviny šourku mezi místní komunitou komínků, převážně mladých chlapců, kteří se díky své velikosti mohli protáhnout úzkým komínem. Velmi často tento jed zabíjí i kuřáky cigaret.

Avšak za jeden nejzákeřnějších jedů se dá považovat dimethylrtuť. Tato kapalina dokáže výborně procházet různými membránami, například kůží nebo latexem. A jelikož se rtuť z těla obtížně vylučuje, dochází k její akumulaci v mozku a následnému ochromení nervové soustavy člověka. Navíc detekce je velmi obtížná a často k ní dojde pozdě. Většina otrav dimethylrtutí je fatální. Avšak existuje jeden specifický test na zjištění přítomnosti rtuti v různých tekutinách. Je pojmenován podle Huga Reinscheho.“

**Úkol 1:** „Dokázal byste ve stručnosti popsat, proč je tak specifický a jak probíhá?“

„Výborně, Watsone, myslí jsem si, že na to přijdete.“

„Co si myslíte, Sherlocku, vždyť jako lékař takové věci musím znát.“

„Tak když musíte, určitě se vyznáte i v přírodních judech.“

**Úkol 2:** „Schválнě, zda mi dokážete říci, jaká rostlina na světe způsobí za rok nejvíce úmrtí?“

„Vidíte Watsone, nemáte pravdu i vás jsem zaskočil. Alespoň vidíte, že i vy se musíte dále vzdělávat.“

„Ale příteli, vždyť to byla špatně položená otázka, koho by to napadlo.“

„Vás jako lékaře by to mělo trknout hned napoprvé přeci, ale nebudeme se dále handrkovat. Podívejte se, již jsme dorazili do královské botanické zahrady. Například vidíte tuto krásnou jabloň, nevypadá chutně?“

„Ale víte, že máte pravdu, hned bych se zakousl, kdyby nebyla chráněná.“

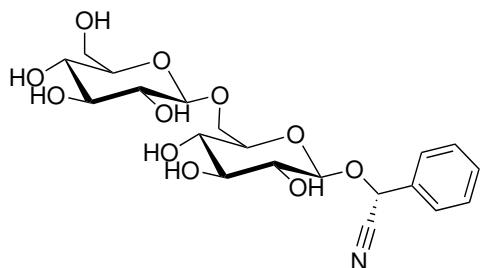
„Příteli, to byste udělal osudovou chybu, požití tohoto jablíčka by vás jistě na místě zabilo.“

**Úkol 3:** „Prověřím vaše znalosti z biologie, zda dokážete správně nazvat tento jedovatý strom.“

„Vidíte, Watsone, s malou nápovedou jste jej určil naprostě přesně. Když již jsme u těch chutných vrahů, víte, že i obyčejná mandle vás dokáže zabít?“

„Opravdu, tak to bych je měl přestat raději jít.“

„Ale ne, to nemusíte, pouze si dejte pozor na ty „hořké“. Víte, na Mandloni obecné, či *Prunus dulcis*, chcete-li, rostou pospolu jak oblíbené sladké, tak i hořké mandle. Jejich rozpoznání je skryto již v pojmenování. V jádřech mandlí se totiž skrývá zákeřný přírodní glykosid – amygdalin. V jeho struktuře je schována kyano skupina, která se pomocí enzymů dokáže uvolnit jako kyanovodík a otrávit vás. A proč vás varuji před těmi hořkými? Jelikož v jádru hořkých mandlí se nachází zmíněného glykosidu asi padesátinásobné množství. Přepočteno na přesné počty, může vás zabít již 25 snědených plodů. Avšak uchránit by vás měla jejich nesnesitelná hořkost, která odradí kohokoliv.“



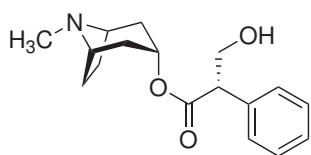
Amygdalin

**Úkol 4:** „Dokázal byste mi říci, proč jsou vlastně hořké mandle hořké?“

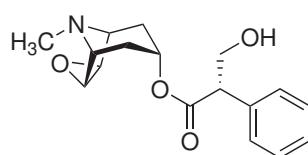
„Přesně jste to určil, příteli. Vyznáte se i v jiných rostlinách? Existuje jedna jménem *Atropa bella-donna*, lidově též čertova třešeň, či pošetilý lilek. Ano, jedná se o další rostlinu z čeledě lilkovitých. Zrádná to čeleď, velmi rozmanitá, obsahuje velké množství jedlých rostlin jako rajčata, lilly, brambory. Avšak i nebezpečných, jako durman, blín či již zmíněný rulík zlomocný. Jeho nejnebezpečnější částí je právě plod, který obsahuje alkaloidy jako L-hyoscyamin či atropin.“

**Úkol 5:** „Dokázal byste mi říci, jaký je rozdíl mezi těmito dvěma jedy?“

„Když se již zastavují u těch lilkovitých, je tu ještě jedna rostlina *Hyoscyamus niger* neboli blín černý, a zde ho zrovna vidíme. Ten obsahuje alkaloid hyoscin, který je velmi podobný tomu, co najdeme v rulíku zlomocném.“



Hyoscyamin



Hyoscine

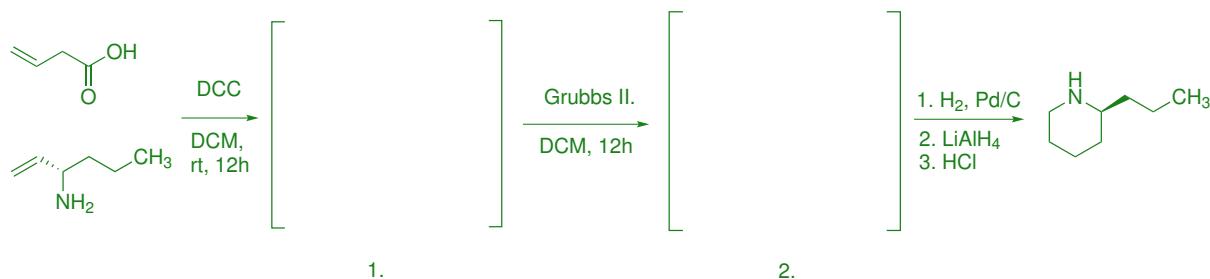
**Úkol 6:** „Dokázal byste vymyslet společnou molekulu, z níž by bylo možné jednoduše připravit oba zmíněné jedy a popsat, jak se nazývají příslušné reakce? Určitě dokážete napsat i reagenty, jimž toho docílíte.“

„Výborně, výborně, přesně takto jsem si to představoval. Jaká škoda, že jsme již prošli celou botanickou zahradou, ale nezoufaje. Dokonce i na lukách se vyskytuje velké množství potenciálně nebezpečných rostlin?“

„Nepovídejte, Sherlocku, vždyť na louce se pase dobytek, jak je možné, že se neotráví těmito rostlinami?“

„Víte, Watson, dobytek má speciálně přizpůsobený čtyřkomorový žaludek, který dokáže účinky jedů zmírnit, případně se dobytek takovým bylinám vyhýbá. Avšak člověk takovou vymoženost nemá a je známo mnoho případů, kdy domácí léčitelé špatně rozpoznali bylinu či neodhadli dávku a jejich léčení přidalo práci havranům. Jednou z velmi známých bylin je bolehlav plamatý, latinsky *Conium maculatum*. Již od středověku je popsáno jeho použití jako travičského jedu, a dokonce se spekuluje, že odvar z bolehlavu byl podán řeckému filozofu Sokratovi. Bolehlav totiž obsahuje silný alkaloid koniin, který vás zezačátku povzbudí, ale později začne blokovat signály z míchy, čímž dojde k ochrnutí svalstva a zástavě dechu.“

**Úkol 7:** „Dokázal byste Watsone doplnit do mého schématu všechny intermediáty při přípravě zmíněného alkaloidu? Poradím vám, že Grubbsův katalyzátor se používá pro metatezi alkenů.“



„Výtečné, vaše znalosti organické chemie se s léty vůbec nezhoršily.“

„Děkuji za pochvalu. S vašimi neustálými dotazy a rébusy, řekněme, ani neměly čas na zhoršení.“

„Tak to jsem rád. Ale pojďme dále, před námi vidím dalšího potenciálního vraha nic netušící oběti.“

**Úkol 8:** „Dokážete ji rozpozнат? Napovím vám, že je to jedna z nejzákeřnějších vražedkyň. Lidé si ji dokonce dobrovolně nosí do vlastních domů, ač je chráněná, a obdivují ji kvůli jejímu aroma. Avšak většinou ji nezkouší jíst. Ale je několik potvrzených otrav touto krasotinkou z čeledi chřestovitých, které se staly omylem při nesprávné likvidaci jejího závlahového média. Už víte, o koho se jedná?“

„Nenechal jste se zmást, je vidět, že jste již o podobných případech slyšel.“

„Ano máte pravdu, naštěstí jsem o nich pouze slyšel. Ale Sherlocku, vzpomínám si z minula, že jste mluvil o nějakém případu s pavouky, již jste jej vyřešil?“

„Dobře, že se ptáte milý Watson. Ano, zvládl jsem jej, a dokonce i v tomto případu se vyskytoval jistý druh jedu. Jeho využití pro obřadní účely je známo již 5000 let, kdy jej využívali jisté druhy indiánů. Všiml jsem si totiž nezvyklé pavučiny, která byla upletena v okolí místa činu. V té chvíli jsem věděl naprosto přesně kde je zakopán pes. Ještě vám trochu napovím. Látku, o které mluvím, můžete získat z jistého druhu kaktusu. Někteří lidé však i dnes hazardují se svým životem a tuto látku užívají pro její opojné účinky. Mnohdy však skončí jejich život v ústavu nebo vlastním přičiněním z pomatení smyslů.“

**Úkol 9:** „Už víte, o jaké látce mluvím a z které rostliny byste ji mohli získat?“

„Vás snad nikdy nenachytám, zase správně. Myslím, že to bylo výživné odpoledne, také jste si jej užil?“

„Neskutečně, příteli. Kdykoliv bude chvíle, můžeme zase vyrazit na túru i s vaším odborným výkladem.“

„Těší mě Vaše důvěra v moje znalosti. Již se nemohu dočkat dalšího plodného dne. Ale teď již pojďme domů. Když se tak dívám na hodinky, tak si musíme pospíšit, aby nám paní Hudsonová nevyhubovala, že jdeme pozdě na večeři.“

## C3 – Ostře sledované kovy

Autor: Milan Řiha (e-mail: milan.riha.23@gmail.com)

13 bodů

Hned ráno se dvorní analytici pustili do stanovení obsahu složek granátu. Již ze včerejšího dne věděli, že granát je tvořen třemi složkami – manganistanem draselným, hořčíkem a sírou. Nejprve se dvorní analytici snažili úkolu vyhnout, a proto testovali tento granát v náhodných poměrech těchto 3 složek. Nakonec zjistili, že jejich granát nedosahuje ani zdaleka takových kvalit, jako granáty, které na království dopadaly. Musely se tak pustit do přesného stanovení obsahu jednotlivých složek.

**Úkol 1:** Napište alespoň tři typické parametry, podle kterých se hodnotí kvalita výbušin.

Pro stanovení obsahu manganistanu draselného se dvorní analytici rozhodli využít spektrofotometrii, konkrétně spektrofotometrii ve viditelné oblasti. Celé spektrofotometrické stanovení bylo provedeno při vlnové délce  $\lambda = 525 \text{ nm}$ . Nejprve dvorní analytici připravili set kalibračních roztoků pro naměření kalibrační křivky. Tento set připravili tak, že ze zásobního roztoku ( $c_{manganistan} = 0,01824 \text{ mol dm}^{-3}$ ) odebrali vždy do  $250 \text{ cm}^3$  odměrné baňky nejprve  $1 \text{ cm}^3$ , do další  $2 \text{ cm}^3$ , pak  $3 \text{ cm}^3$ ,  $4 \text{ cm}^3$  a nakonec  $5 \text{ cm}^3$ . Baňky doplnili demineralizovanou vodou po rysku a homogenizovali. Pro každý vzorek naměřili v  $1 \text{ cm}$  širokých kyvetách jeho absorbanci. Všechna data jsou uvedena v následující tabulce.

$\lambda = 525 \text{ nm}$	$c_{manganistan} = 0,01824 \text{ mol dm}^{-3}$ (zásobní roztok)	$l = 1 \text{ cm}$	
Číslo baňky:	$V_{zásobní} (\text{cm}^3)$ $\text{KMnO}_4$	$c_{manganistan} (\text{mmol dm}^{-3})$ v baňce $250 \text{ cm}^3$	Absorbance
1	$1 \text{ cm}^3$		0,170
2	$2 \text{ cm}^3$		0,340
3	$3 \text{ cm}^3$		0,510
4	$4 \text{ cm}^3$		0,680
5	$5 \text{ cm}^3$		0,850

**Úkol 2:** Vypočítejte koncentrace manganistanu v jednotlivých baňkách 1 až 5 v  $\text{mmol dm}^{-3}$ .

**Úkol 3:** Sestrojte graf závislosti absorbance na koncentraci manganistanu v jednotlivých baňkách (kalibrační křivka).

**Úkol 4:** Body v grafu proložte přímkou a určete její matematický zápis.

**Úkol 5:** Napište, jak se nazývá zákon, který popisuje závislost absorbance na koncentraci. Napište i jeho matematickou formulaci.

**Úkol 6:** Uveďte, zda-li by měl graf závislosti absorbance na koncentraci procházet bodem  $[0,0]$ , či by měl být posunut (nahoru či dolu) a napište proč.

**Úkol 7:** Určete molární absorpční koeficient manganistanu draselného při vlnové délce  $\lambda = 525 \text{ nm}$  v jednotkách  $\text{mmol}^{-1} \text{dm}^3 \text{ cm}^{-1}$ . Vycházejte ze zadaných dat.

**Úkol 8:** Vysvětlete fakt, že pro spektrofotometrické stanovení se zpravidla používají velmi zředěné roztoky tak, aby jejich absorbance nepřesáhla hodnotu 1. Jak se vysoké koncentrace, respektive hodnoty absorbance vyšší než 1, projeví v zákoně dotazovaném v úkolu 4?

**Úkol 9:** Pro spektrofotometrii ve viditelné oblasti se používají nejčastěji skleněné kyvety. Z jakého materiálu jsou vytvořeny kyvety pro spektrofotometrii v UV oblasti a proč?

Poté, co již měli dvorní analytici připravenou kalibrační křivku (přímku), mohli se vrhnout na přípravu vzorku pro stanovení obsahu manganistanu v granátu. Postupovali tak, že na filtrační papír nasypali 1,0000 g směsi z granátu a začali jej prolévat vodou do odměrné baňky o objemu 1 dm<sup>3</sup>. Kvantitativně tak převedli všechn manganistan do roztoku a na filtračním papíru zůstal nerozpuštěný hořčík a síra. Následně z takto připraveného 1 dm<sup>3</sup> roztoku manganistanu odpipetovali 5 cm<sup>3</sup> do baňky o objemu 100 cm<sup>3</sup> a doplnili ji demineralizovanou vodou po rysku a homogenizovali. Takto připravený vzorek (ten v baňce o objemu 100 cm<sup>3</sup>) byl podroben spektrofotometrickému stanovení (za stejné vlnové délky i délky kyvety jako u kalibrace), přičemž zjištěná absorbance tohoto roztoku činila 0,479.

**Úkol 10:** Pomocí kalibračního závislosti určete koncentraci manganistanu v baňce o objemu 100 cm<sup>3</sup>.

**Úkol 11:** Určete hmotnost manganistanu draselného na filtračním papíru před proléváním vodou. Rovněž určete, kolik hmotnostních procent z původní (1,0000 g) směsi z granátu manganistan zaujímá.

Potom, co dvorní analytici stanovili, kolik manganistanu draselného granát obsahuje, pustili se do stanovení hořčíku. Pro stanovení hořčíku si zvolili gravimetrii. Na filtrační papír dvorní analytici opět nanesli 1,0000 g směsi z granátu. Poté jej dlouho promývali vodou, aby se zbavili manganistanu draselného. Jakmile vzorek na filtračním papíru obsahoval již pouze hořčík a síru, začali vzorek promývat zředěnou kyselinou chlorovodíkovou. Tím obdrželi filtrát obsahující chlorid hořečnatý a na filtračním papíru zůstala pouze síra. K filtrátu obsahující chlorid hořečnatý pak přidávali amoniak a roztok hydrogenfosforečnanu sodného. Tím vznikla bílá sraženina NH<sub>4</sub>MgPO<sub>4</sub>·6 H<sub>2</sub>O (**1**), kterou zfiltrovali, promyli (do negativní reakce na chloridy) a vysušili. Suchý filtrační papír vložili do žíhacího kelímku a zapálili. Po shoření filtračního papíru byl vzorek vyžíhán za vzniku sraženiny (**2**). Hmotnost získané sraženiny (**2**) činila 0,9156 g.

**Úkol 12:** Napište vzorec sraženiny (**2**). Rovněž napište vyčíslené chemické rovnice vzniku sraženiny (**1**) a žíhání sraženiny (**1**) za vzniku sraženiny (**2**).

**Úkol 13:** Jakým způsobem mohli dvorní analytici zjišťovat přítomnost/nepřítomnost chloridových iontů ve filtrátu?

**Úkol 14:** Jaký filtrační papír museli dvorní analytici použít k filtraci sraženiny (**1**)? Z čeho je tento filtrační papír vyroben a jak by ovlivnilo gravimetrické stanovení použití (a především popsané spálení) běžného filtračního papíru?

**Úkol 15:** Z hmotnosti získané sraženiny (**2**) určete původní hmotnost hořčíku, který byl před promýváním zředěnou kyselinou chlorovodíkovou na filtračním papíru. Rovněž určete, kolik hmotnostních procent z původní (1,0000 g) směsi z granátu hořčík zaujímá.

Jelikož se blížil večer a dvorní analytici už byli po tomto dni velmi unavení, rozhodli se, že třetí složku granátu – síru – stanovovat nebudou, jelikož ví, jaké hmotnostní procento zaujímal manganistan draselný i hořčík. Hmotnostní procento síry tedy mohou určit z rozdílu.

**Úkol 16:** Hmotnostními procenty vyjádřete kompletní složení granátu.

**Úkol 17:** Za předpokladu, že by se dvorní analytici rozhodli stanovovat i poslední složku – síru – jaký postup by mohli pro stanovení elementární síry použít? Stručně jej popište.

## Z3 – Syntéza peptidů (třetí doplňková úloha)

Autor: Miroslava Palacková (e-mail: palackova.miroslava@gmail.com)

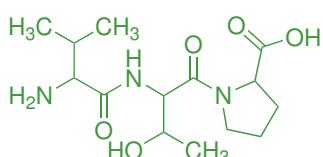
10 bodů

*Peptidy jsou látky obsahující dva nebo více aminokyselinových zbytků spojených peptidovou vazbou, která vzniká kondenzací karboxylové skupiny a aminoskupiny. Pokud jsou peptidy tvořeny dvěma až deseti aminokyselinami, označujeme je obvykle jako oligopeptidy (dipeptidy, tripeptidy, tetrapeptidy, atd.), je-li v molekule deset a více aminokyselinových zbytků, mluvíme o polypeptidech. Za rozhraní mezi polypeptidy a proteiny je považováno 100 aminokyselin nebo molární hmotnost okolo 10 000 g mol<sup>-1</sup>.*

Pořadí aminokyselin v peptidech zapisujeme tak, že první aminokyselina poskytuje do peptidové vazby svou  $\alpha$ -karboxylovou skupinu, která se váže na  $\alpha$ -aminoskupinu následující aminokyseliny. U peptidů můžeme rozlišit dva konce, podle toho, jestli mají volnou karboxylovou skupinu nebo aminoskupinu. Tyto konce označujeme jako C-konec a N-konec.

**Úkol 1:** K následujícím peptidům napište názvy aminokyselin, jejichž aminokyselinové zbytky jsou na N-konci a C-konci.

Peptid 1:



Peptid 2:

Glycyl-threonyl-treonyl-serin

Peptid 3:

Leu-Ser-Cys-Val-Ser-Phe

Peptid 4:

DLRRWY

Peptidy mohou mít různé biologické účinky. Řada peptidů působí jako hormony. Mezi nejznámější patří inzulín, vasopresin, oxytocin a endorfiny. Mnohé peptidy mají antibiotické účinky, jako například gramicidin S a valinomycin. Peptidy mohou mít pro lidský organismus i velmi nebezpečné účinky jako například známý jed botulotoxin. Díky tomu, že peptidy mají potenciál mít zajímavé biologické účinky, se staly zájmem chemiků. Ti mohou zkoumat například jejich biosyntézu v organizmech, biologické účinky, vztahy mezi jejich složením a funkcí v organizmu nebo syntézu nových peptidů. My se dále zaměříme hlavně na jejich syntézu.

V úvodu jsme psali, že peptidy jsou látky složené z aminokyselinových zbytků spojených peptidovou vazbou, která vzniká kondenzací karboxylové skupiny a aminoskupiny. Jenže takhle jednoduché to ve skutečnosti není. Představme si, že bychom chtěli nasynthetizovat dipeptid Val-Ser. V kulaté baňce bychom rozpustili 0,01 mol valinu a 0,01 mol serinu v DMF (dimethylformamid). Baňku bychom zahřívali pod zpětným chladičem a doufali, že aminokyseliny budou podléhat kondenzační reakci. Jenže s největší pravděpodobností získáme směs mnoha produktů.

**Úkol 2:** Pokuste se vlastními slovy vysvětlit, proč získáme směs produktů. Napište názvy pomocí třípísmenných symbolů alespoň 10 produktů, které mohou vzniknout v baňce.

Jak bychom tedy mohli syntetizovat dipeptid Val-Ser, abychom získali rozumný, dokonce až kvantitativní, výtěžek? Tak zaprvé, použili bychom chránící skupiny.

**Úkol 3:** K čemu se používají chráničí skupiny?

**Úkol 4:** Když budeme dělat syntézu jenom ze základních 20 aminokyselin, jaké všechny skupiny je potřebné chránit? Ke každé skupině napište, jakou chráničí skupinu je možné použít, schéma reakce zavádění a schéma reakce odchránění. (Pomůcka: Pro některé skupiny mohou být chráničí skupiny stejné.)

Druhou důležitou věcí je aktivace. Aby reakce mezi aminoskupinou a karboxylovou skupinou aminokyselin proběhla za pokojové teploty a relativně krátkém čase (dále budeme mluvit o skutečném čase syntézy).

**Úkol 5:** Seřaďte následující deriváty karboxylových kyselin od nejreaktivnějšího po nejméně reaktivní. Napište reakční schéma přípravy jednotlivých derivátů.



Nyní si krůček po krůčku rozeberme, jak by organický chemik Ivan v laboratoři nasynthetizoval protein NH<sub>2</sub>-Phe-Val-Leu-Ala-Ala-CONH<sub>2</sub>.

Chemik Ivan vzal aminokyselinu Boc-Ala-COOH, rozpustil ji v DMF, přidal k ní 1,1 ekvivalentu (dále už jenom eq.) **TBTU** a 3 eq. DIPEA(diisopropyl(ethyl)amin). Roztok nechal míchat asi 30 minut, a potom přidal 1,1 eq. NH<sub>4</sub>Cl a nechal reagovat 3 hodiny. První krok reakce představuje aktivaci a druhý krok vede k amidu Boc-Ala-CONH<sub>2</sub>.

**Úkol 6:** Při aktivaci nejprve kyslík karboxylové kyseliny reaguje jako nukleofil se substituovanou močovinou v struktuře TBTU. Následně vzniklý anion 1-hydroxybenzotriazol reaguje jako nukleofil a vznikne aktivovaná aminokyselina, která přednostně reaguje s aminy. Nakreslete mechanismus aktivace a strukturní vzorec výsledného produktu Boc-Ala-CONH<sub>2</sub>.

Reakcí Ivan získal surovou směs obsahující reaktanty a produkty. Proto Ivan musel produkt izolovat. Nejprve odpařil na vakuové odparce rozpouštědlo a odpárek rozpustil v EtOAc (ethyl-acetát). Roztok precizně přenesl do dělicí nálevky a přidal přiměřené množství 5% HCl, směs důkladně pořádně protřepal, nechal oddělit vrstvy a odpustil vodnou vrstvu. Následně do děličky nalil přiměřené množství 10% roztoku K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, protřepal, nechal oddělit vrstvy a odpustil vodnou vrstvu. Nakonec provedl promytí se solankou.

**Úkol 7:** Kyselou extrakcí se Ivan zbavil zásaditých látek a zásaditou extrakcí se zbavil kyselých látek. Napište, kterých látek se zbavil v obou extrakcích. K čemu slouží promytí solankou?

Nyní by roztok měl obsahovat pouze produkt. To si Ivan ověřil pomocí TLC. Na start TLC nanesl pomocí kapiláry malé množství roztoku, vložil do vyvíjecí komory obsahující EtOAc. Po skončení vyvíjení vložil TCL pod UV světlo a viděl jenom jednu skvrnu přibližně ve středu TLC. Potom vysušil TCL horkovzdušnou pistolí, vložil do roztoku ninhydrinu a v digestoři zahříval pomocí horkovzdušné pistole. Objevila se červenofialová skvrna na místě, kde byla skvrna pod UV. Ivan se zaradoval a usoudil, že má produkt. A tak odpařil EtOAc.

**Úkol 8:** Jaké předpoklady vedly Ivana k závěru, že má produkt?

K přibližně 1 g Boc-Ala-CONH<sub>2</sub> přilil 8 cm<sup>3</sup> TFA (trifluorooctová kyselina) a nechal míchat. Po půlhodině dusíkem odfoukal TFA. Tento krok slouží k odstranění Boc-skupiny.

**Úkol 9:** Napište produkty odchránění Boc-skupiny.

Na odchráněnou Ala-CONH<sub>2</sub> se naváže Boc-Ala podobným postupem. Následným odstraněním Boc-skupiny získáme dipeptid Ala-Ala-CONH<sub>2</sub>. Detailní postup navazování dalších aminokyselinových zbytků si ukážeme na navázání posledního aminokyselinového zbytku při přípravě peptidu NH<sub>2</sub>-Phe-Val-Leu-Ala-Ala-CONH<sub>2</sub>.

Postupně se Ivan dostal až k Val-Leu-Ala-Ala-CONH<sub>2</sub>, na který navázal Boc-Phe. Jak jsme se již výše zmínili, postup je podobný přípravě amidu kyseliny. Ivan rozpustil 1,1 eq. Boc-phe v DMF, přidal 1,2 eq. TBTU a 3,1 eq. DIPEA. Roztok nechal míchat 30 minut, a potom k němu přidal 1 eq. rozpuštěného peptidu Val-Leu-Ala-Ala-CONH<sub>2</sub> v DMF. Reakční směs musí mít zásadité pH. Pokud by tomu tak nebylo, musel by Ivan upravit pH přídavkem DIPEA. Reakční směs nechal reagovat 3 hodiny. Potom přidal k reakční směsi 0,1 eq. 4-(2-aminoethyl)morfolinu a po 30 minutách míchaní odpařil rozpouštědlo. Odparek rozpustil v EtOAc a provedl kyselou extrakci, následně zásaditou extrakci, a nakonec extrakci solankou. Malé množství roztoku nanesl na TLC, které vyvinul v EtOAc a vizualizoval jej ninhydrinem. Na TLC byla jenom jedna červenofialová skvrna. Ivan odpařil rozpouštědlo. K Boc-peptidu přidal asi 8 cm<sup>3</sup> TFA. Po 30 minutách odpařil TFA a k odparku přidal 40 cm<sup>3</sup> *tert*-butyl(methyl)etheru. Vysrážel se mu peptid NH<sub>2</sub>-Phe-Val-Leu-Ala-Ala-CONH<sub>2</sub>, který odfiltroval.

**Úkol 10:** K čemu se v syntéze používá 4-(2-aminoethyl)morfolin?

Ivan dostal za úkol nasyntetizovat 0,2 mmol peptidu NH<sub>2</sub>-YNLGGFLAAG-CONH<sub>2</sub>. Ivan se rozhodl pro syntézu na pevné fázi pomocí PS3 syntetizátoru peptidů (obrázek 1). K syntéze použil Rink amid, s deklarovanou substitucí 0,74 mmol g<sup>-1</sup>.



Obr. 1: PS3 syntetizátor peptidů

**Úkol 11:** Kolik reziny musel navážit?

Rezinu navážil do vyvíjecí komůrky, kterou vložil do stroje a nalil do ní NMP (*N*-methylpyrrolidon), aby rezina nabobtnala.

Ivan si potom musel připravit fmok-aminokyseliny spolu s HBTU. Navažoval je do speciálních plastových nádobek, které mají gumové septum. Do nádobek navažoval 0,1 mol fmok-aminokyseliny a 0,1 mol HATU. Konkrétně použil aminokyseliny: fmok-Trp-OH, fmok-Asn(Trt)-OH, fmok-Leu-OH, fmok-Gly-OH, fmok-Phe-OH a fmok-Ala-OH.

Nádobky potom uložil do stroje v pořadí podle sekvence jeho preptidu. Na stroji nastavil program a odstartoval syntézu.

Syntéza peptidu ve stroji je velmi jednoduchá. Rezina je promyta NMP, nechá se odštěpit chránící fmok-skupina pomocí 20% roztoku piperidinu v NMP. Klasicky se štěpí dvakrát po dobu 30 minut. Potom se rezina promyje a fmok-aminokyselina se rozpustí v roztoku 4-methylmorfolinu v DMF. Aktivovaná fmok-aminokyselina se přidá k rezině a probublává se několik hodin vzduchem, aby se míchala. Konkrétní čas se nadstavuje v programu podle úsudku chemika.

**Úkol 12:** Při syntéze na pevné fázi se používá výhradně fmok-skupina, zatímco při syntéze v kapalné fázi se používá Boc-skupina. Vysvětlete, proč se při syntéze na pevné fázi ve stroji nepoužívají Boc-chráněné aminokyseliny a proč je v kapalné fázi preferován Boc. Jaký problém vzniká při použití fmok-chráněných aminokyselin v kapalné fázi?

Po skončení syntézy peptidu v syntetizátoru Ivan přenesl rezinu s peptidem do stříkačky z plastovou fritou a promyl ji DCM. Rezinu vyfoukal a přenesl ji do skleněné baňky. K uvolnění peptidu z reziny a odstranění všech chránících skupin Ivan k rezině s peptidem přidal 9,5 cm<sup>3</sup> TFA, 0,25 cm<sup>3</sup> vody a 0,25 cm<sup>3</sup> TIS. Po hodině míchaní odfiltroval rezinu a roztok vyfoukal dusíkem. K tuhému zbytku přilil 40 cm<sup>3</sup> *terc*-butyl(methyl)etheru a sražený peptid odfiltroval. Peptid rozpustil ve vodě a acetonitrilu. Roztok zamrazil a lyofylizoval. Druhý den měl Ivan surový peptid, který přečistil pomocí preparativní HPLC a opět lyofylizoval.

**Úkol 13:** Jaký fyzikální děj se využívá při lyofilizaci?

Syntéza na pevné fázi se nedělá jenom ve stroji ale i ručně ve stříkačce s fritou. Ruční syntéza se používá k připojování neproteinových aminokyselin, jejichž cena je velmi vysoká. Také se používá například k zavádění organických fragmentů nebo tvoření sulfidových můstků mezi cysteiny.

**Úkol 14:** Na stroji byl nesyntetizován následující peptid:

N-Cys(Acm)-YNELSQPR-Cys(Trt)-WTPRRLKLLF-Cys(Trt)-LLFSVGGILKG-Cys(Acm)-NKLD-rezina,

který byl připravován, aby Ivan dokázal v stříkačce připravit disulfidické můstky mezi konkrétními cysteiny. Rezinu s peptidem přenesl do stříkačky a postupným odchráněním a oxidací byly vytvořeny dva disulfidické můstky. Napište a vysvětlete, mezi kterými cysteiny vytvořil můstky?

**Úkol 15:** Zkuste promyslet, kdy je výhodné použít syntézu na pevné fázi a kdy syntézu v kapalné fázi.

Žeryk se vrátil ze zkoušky...

