

Problém 1

Fyzikálno-chemické vlastnosti vakcíny proti vírusu SARS-CoV-2 (Covid-19)

Úloha 1

A. Aké je fyziologické pH, ktoré sa udržiava v organizme človeka? (1b)

Fyziologické pH je mierne zásadité v rozmedzí 7,35-7,45

B. Uveďte príklad látky, ktorá sa prirodzene vyskytuje v ľudskom organizme a slúži ako tlivý roztok. Napíšte aj jej konjugovaný pár. (1b)

HCO_3^- , k tomu je konjugovaný zásada CO_3^{2-} alebo konjugovaná kyselina H_2CO_3 , tá sa však rozkladá na vodu a oxid uhličitý

H_2PO_4^- , k nemu je konjugovaná zásada HPO_4^{2-} , a konjugovaná kyselina H_3PO_4 ,

Ako pH pufré súžia aj napr. aminokyseliny, ktoré majú karboxylovú skupinu $-\text{COOH}$, ku ktorej je konjugovaná zásada COO^- , a majú aj amino skupinu NH_2 , ku ktorej je konjugovaná kyslá skupina NH_3^+

C. Vyhľadajte zloženie vakcíny spoločností Pfizer and BioNTech a Moderna a určite konjugovaný systém. (2b)

Pfizer and BioNTech $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + \text{KH}_2\text{PO}_4$, druhým pufrom je trometamín známy pod skratkou Tris, z neho sa potom titráciou HCl pripravuje konjugovaný systém Tris-HCl teda trometamín hydrochlorid

Moderna – kyselina octová a octan sodný, $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{COONa}$

Osmotický tlak π

V prípade, že sú dva roztoky s rôznou koncentráciou rozpustených častíc oddelené semipermeabilnou (polopriepustnou) membránou dochádza cez túto membránu k prechodu rozpúšťadla (vody) z roztoku s nižšou koncentráciou do roztoku s vyššou koncentráciou a to dovtedy, kým sa nevyrovná tzv. osmotický tlak. Jedná sa o koligatívnu vlastnosť, ktorá závisí od počtu častíc v roztoku N . Ten zase závisí od koncentrácie látky a od toho, koľko osmoticky

aktívnych častíc i táto látka poskytuje (napr. NaCl má $i=2$, lebo sa rozpadá na dva ióny, $MgCl_2$ má potom $i=3$, sacharóza má len jednu osmoticky aktívnu časticu, preto $i=1$). Osmotický tlak π sa potom vypočíta ako:

$$\pi = icRT$$

kde c je koncentrácia roztoku, R je plynová konštanta a T termodynamická teplota v K.

Úloha 2

A. Fyziologický roztok so správnym osmotickým tlakom má zloženie 0,9 g NaCl v 100 ml roztoku. Vypočítajte hodnotu osmotického tlaku v pascaloch. Hodnotu prepočítajte aj na atmosféry a na mmHg (výška ortuťového stĺpca v mm v starých tlakomeroch, pričom však jednotka je stále používaná). Počítajte s teplotou 36,5 °C. (5,5b)

$$c_{NaCl} = \frac{n_{NaCl}}{V} = \frac{m_{NaCl}}{M_{NaCl}V} = \frac{0,9g}{58,44g\text{mol}^{-1} \cdot 0,1\text{dm}^3} = 0,15\text{mol}\text{dm}^{-3}$$

$$i = 2$$

$$R = 8,314\text{J}\text{K}^{-1}\text{mol}^{-1}$$

$$T = 36,5 + 273,15 = 309,65\text{K}$$

$$\pi = 2 \cdot 0,15 \cdot 10^3 \text{mol}\text{m}^{-3} \cdot 8,314\text{J}\text{K}^{-1}\text{mol}^{-1} \cdot 309,65\text{K} = 792,9\text{kJ}\text{m}^{-3} = 792,9\text{kPa}$$

1 atmosféra je 101,325 kPa, preto osmotický tlak v pascaloch je daný ako $792,9/101,325 = 7,8\text{atm}$.

1 mmHg je 133,3 Pa, teda osmotický tlak je $792900/133,3 = 5948\text{mmHg}$.

B. Čo by sa stalo s bunkou, kebyže sa použije roztok s nižšou alebo s vyššou koncentráciou NaCl? (1b)

Pri použití nižšej koncentrácie, by bunky mohli prasknúť, pretože by z roztoku prechádzala voda do bunky, tá by mohla zväčšiť svoj objem natoľko, že by sa membrána roztrhala. Naopak, pri vyššej koncentrácii by voda prechádzala z bunky do roztoku, bunka by mala nedostatok vody a mohla by sa vysušiť.

C. V prípade, že je hladina glukózy v krvi nízka, používa sa namiesto NaCl roztok glukózy s rovnakým osmotickým tlakom. Vypočítajte koncentráciu glukózy, ktorá je potrebná na prípravu

takéhoto roztoku. Určite aj jej hmotnostný zlomok. Predpokladajte, že hustota roztoku je 1 g cm^{-3} . (4,5b)

$$\begin{aligned}
 i &= 1 \\
 R &= 8,314 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1} \\
 T &= 36,5 + 273,15 = 309,65 \text{ K} \\
 \pi &= 792900 \text{ Pa} \\
 c_{\text{glukoza}} &= \frac{\pi}{iRT} = \frac{792900}{1 \cdot 8,314 \text{ K}^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot 309,65 \text{ K}} = 308 \text{ mol m}^{-3} = 0,3 \text{ mol dm}^{-3} \\
 m_{\text{glukoza}} &= c_{\text{glukoza}} V M_{\text{glukoza}} = 0,3 \text{ mol dm}^{-3} \cdot 0,1 \text{ dm}^3 \cdot 180,16 \text{ g mol}^{-1} = 5,4 \text{ g} \\
 w &= \frac{m_{\text{glukoza}}}{m_{\text{roztok}}} = \frac{5,4 \text{ g}}{100 \text{ g}} = 0,054 = 5,4\%
 \end{aligned}$$

Kinetika degradácie vakcíny

Biologické látky podliehajú rýchlo skaze. Zvlášť mRNA je veľmi citlivá na zmenu teploty. Intuitívne vieme, že čím je teplota vyššia, tým sa niečo rýchlejšie degraduje.

Rýchlosť degradácie môže závisieť od mnohých ďalších faktorov ako je napr. aj koncentrácia c . Všeobecne je rýchlosť v chémii pri konštantnom objeme definovaná ako zmena koncentrácie za čas. Jedná sa však o diferenciálnu rovnicu, ktorej konečný tvar závisí od podmienok. Najčastejšie sa pre vyjadrenie degradácie vakcín používa kinetika prvého poriadku¹, ktorá má konečný výraz:

$$c_t = c_0 e^{-kt}$$

kde c_t je koncentrácia látky v čase t , c_0 je počiatočná koncentrácia a k je rýchlostná konštanta, ktorej jednotka je prevrátená hodnota jednotky času napr. s^{-1} , min^{-1} atď.

Pri vplyve teploty môžeme zase uvažovať s Arrheniovou teóriou¹, hoci aj ona má obmedzenú platnosť, keďže pri rôznych teplotách sa môže uplatňovať rozdielny mechanizmus degradácie:

$$k = A e^{\frac{-E_A}{RT}}$$

alebo v linearizovanej forme:

$$\ln k = \ln A - \frac{E_A}{RT}$$

kde \ln je funkcia prirodzeného logaritmu, A je predexponenciálny faktor, E_A je aktivačná energia. Ostatné veličiny sú vysvetlené vyššie.

V tejto časti sa budeme zaoberať porovnaním záručnej doby dvoch vakcín – Pfizer and BioNTech a Moderna pri $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Z ich “príbalového letáku”^{2,3} vyčítame nasledovné údaje:

Vakcína 1 (Pfizer and BioNTech):

- pri teplote $2\text{-}8\text{ }^\circ\text{C}$ má trvanlivosť 120 hodín. Vo výpočtoch použite teplotu $5\text{ }^\circ\text{C}$.
- pri teplote $-70\text{ }^\circ\text{C}$ má trvanlivosť 6 mesiacov (180 dní).

Vakcína 2 (Moderna):

- pri teplote $2\text{-}8\text{ }^\circ\text{C}$ má trvanlivosť 30 dní. Vo výpočtoch použite teplotu $5\text{ }^\circ\text{C}$
- pri teplote $-20\text{ }^\circ\text{C}$ má trvanlivosť 6 mesiacov (180 dní).

Aj keď nám pre výpočet zdanlivo chýbajú nejaké údaje, vieme pomocou spojenia modelu kinetiky prvého poriadku a Arrheniovej rovnice vypočítať, čo potrebujeme.

Odvodenie rovnice pre výpočet aktivačnej energie

pre teplotu T_1 platí Arrheiova rovnica

$$\ln k_1 = \ln A - \frac{E_A}{RT_1}$$

a pre T_2

$$\ln k_2 = \ln A - \frac{E_A}{RT_2}$$

Tieto dve rovnice teraz môžeme od seba odčítať, čím sa zbavíme člena $\ln A$

$$\ln k_1 - \ln k_2 = \frac{-E_A}{RT_1} + \frac{E_A}{RT_2}$$

po využití vlastností logaritmov a zlomkov získavame finálnu rovnicu pre výpočet ativačnej energie E_A :

$$\ln \frac{k_1}{k_2} = \frac{E_A}{R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right)$$

Ešte však potrebujeme určiť pomer rýchlostných konštánt. Na to nám poslúži teória kinetiky prvého poriadku, Pre teplotu T_1 platí

$$c_t = c_0 e^{-k_1 t_1}$$

kde t_1 je čas reakcie pri teplote T_1 . Pre teplotu T_2 platí

$$c_t = c_0 e^{-k_2 t_2}$$

kde t_2 je čas reakcie pri teplote T_2

Ak počiatočná koncentrácia c_0 a koncentrácia v čase t_1 a t_2 c_t (jedná sa o koncentráciu, kedy už vakcínu nemožno použiť) sú v oboch prípadoch rovnaké, potom musí platiť:

$$k_1 t_1 = k_2 t_2$$

a po úprave

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{t_2}{t_1}$$

Úloha 3

A. Vypočítajte aktivačnú energiu E_A pre vakcínu 1 (Pfizer and BioNTech). (3,5b)

$$\begin{aligned}
T_1 &= 5 + 273,15 = 278,15K \\
t_1 &= 120h \\
T_2 &= -70 + 273,15 = 203,15K \\
t_2 &= 180 \cdot 24 = 4320h \\
E_A &= \frac{R \ln \frac{k_1}{k_2}}{\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right)} = \frac{R \ln \frac{t_2}{t_1}}{\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right)} = \frac{8,314 JK^{-1} mol^{-1} \ln \frac{4320}{120}}{\left(\frac{1}{203,15} - \frac{1}{278,15}\right)} = 22,4 kJ mol^{-1}
\end{aligned}$$

B. Vypočítajte ako dlho môžete skladovať vakcínu 1 (Pfizer and BioNTech) pri teplote $-20\text{ }^\circ\text{C}$. (4,5b)

$$\begin{aligned}
T_1 &= 5 + 273,15 = 278,15K \\
t_1 &= 120h \\
T_2 &= -20 + 273,15 = 253,15K \\
t_2 &=? \\
E_A &= 22,4 kJ mol^{-1} \\
\ln \frac{k_1}{k_2} = \ln \frac{t_2}{t_1} &= \frac{E_A}{R} \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right) = 22400 J \frac{mol^{-1}}{8,314 JK^{-1} mol^{-1}} \left(\frac{1}{253,15} - \frac{1}{278,15}\right) = 0,959 \\
\frac{t_2}{t_1} &= e^{0,959} = 2,61 \\
t_2 &= 2,61 \cdot 120h = 313,0h = 13,0dni
\end{aligned}$$

Rovnaký výsledok sa získa aj ak sa použije

$$\begin{aligned}
T_1 &= -70 + 273,15 = 203,15K \\
t_1 &= 180 \cdot 24 = 4320h
\end{aligned}$$

C. Vypočítajte, koľkokrát dlhšie vydrží vakcína 2 (Moderna) skladovanie pri $-20\text{ }^\circ\text{C}$ ako vakcína 1 (Pfizer and BioNTech). (2b)

$$\begin{aligned}
t_1 &= 13dni \\
t_2 &= 180dni \\
\frac{t_2}{t_1} &= \frac{180}{13} = 13,8
\end{aligned}$$

Vakcína od Moderny vydrží pri $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 13,8 krát dlhšie.

Problém 2

Separácia látok kvapalinovou chromatografiou

Úloha 1

Na základe chemickej štruktúry analytov na obrázku 4 určite, v akom elučnom poradí budú uvedené analyty eluovať z RP-LC kolóny, ak sa použije mobilná fáza s hodnotou pH okolo 2,5? Vysvetlite svoje tvrdenie.

Riešenie:

1. pyrogallol, 2. kyselina galová, 3. pyrokatechin

Dané elučné poradie je spôsobené rozdielnou polaritou uvedených analytov, kde za uvedených podmienok (kyslé pH prostredie) je v prípade kyseliny galovej potlačená disociácia funkčnej karboxylovej skupiny.

Úloha 2

Na základe chemickej štruktúry analytov na obrázku 4 určite, v akom elučnom poradí budú uvedené analyty eluovať z RP-LC kolóny, ak sa použije mobilná fáza s neutrálnou pH hodnotou? Vysvetlite svoje tvrdenie.

Riešenie: 1. kyselina galová, 2. pyrogallol, 3. pyrokatechin

Dané elučné poradie je spôsobené rozdielnou polaritou uvedených analytov, kde za uvedených podmienok (neutrálne pH prostredia) v prípade kyseliny galovej prebieha disociácia funkčnej karboxylovej skupiny, čím sa kyselina stáva polárnejšou ako pyrogallol a tak eluuje prvá z kolóny.

Úloha 3

Akým spôsobom by ste upravili a udržali určité pH v roztoku?

Riešenie:

Využitím vhodných tlmivých roztokov.

Úloha 4

Vypočítajte redukované elučné časy a retenčné faktory separovaných látok, ak viete že mŕtvy elučný čas je 30 s a elučné časy látok sú nasledujúce: 3,0 min pre pyrogallol, 4,5 min pre kyselinu galovú a 6,0 min pre pyrokatechin.

Riešenie:

1. Redukované elučné časy, $t_R' = t_R - t_M$:

Pyrogalol = 2,5 min

Kyselina galová = 4,0 min

Pyrokatechin = 5,5 min

2. Retenčné faktory, $k = t_R' / t_M$:

Pyrogalol = 6

Kyselina galová = 9

Pyrokatechin = 12

Úloha 5

Ako sa zmenia hodnoty elučných časov a retenčných faktorov uvedených separovaných látok z úlohy 4, ak použijeme rovnaký typ chromatografickej kolóny len dvojnásobnej dĺžky?

Riešenie:

Hodnoty elučných časov separovaných látok sa predĺžia na dvojnásobok, ale hodnoty retenčných faktorov separovaných látok zostanú rovnaké.

Problém 3

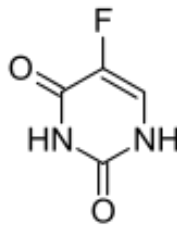
Liečime blokovaním syntézy DNA

Úloha 1

Napíšte chemickú rovnicu pripojenia jedného nucleotidu do molekuly DNA. (Použite vlákno DNA, ktoré má na príslušnom konci A, a v reakcii pripojte G.).

Riešenie:

Viacero liečiv funguje na báze inhibície syntézy DNA. 5-fluorouracil je látka, ktorá inhibuje syntézu deoxytimidín monofosfátu z deoxyuridín monofosfátu enzýmom tymidylátsyntázou.



Úloha 2

Pokúste sa vysvetliť akým spôsobom ovplyvňuje 5-fluorouracil syntézu DNA.

Riešenie

5-fluorouracil je analóg bázy, ktorá je súčasťou nukleových kyselín - uracilu. V bunkách sa z neho vytvorí 5-fluorodeoxyuridín monofosfát, ktorý inhibuje enzým tymidylátsyntázu. Preto nedochádza ku tvorbe deoxytimidín monofosfátu, z ktorého je potrebný pre tvorbu deoxytimidín trifosfátu potrebného pre syntézu DNA.

Úloha 3

Akým spôsobom ovplyvňuje 5-fluorouracil syntézu RNA.

Inhibícia tymidylátsyntázy neovplyvní tvorbu RNA, pretože RNA neobsahuje tymidín.

5-fluorouracil je však analóg bázy, ktorá je súčasťou RNA - uracilu. Zabudováva sa preto do RNA čím ovplyvňuje jej funkciu.

Úloha 4

Prečo je možné 5-fluorouracil použiť ako liečivo proti nádorom (pomôcka: uvedomte si aký je základný rozdiel medzi nádorovými a zdravými bunkami).

Riešenie

Inhibuje syntézu DNA. Pretože rakovinové bunky sa rýchlo delia, potrebujú pred každým delením replikovať svoju DNA. Nedeliace sa bunky potrebujú syntetizovať RNA, nie však DNA. Účinok 5-FU na syntézu DNA preto možno využiť na blokovanie delenia deliacich sa buniek.

Úloha 5

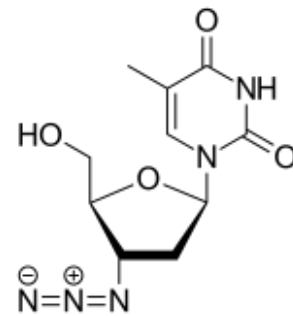
Protinádorová chemoterapia, vrátane tej pri ktorej sa používa 5-fluorouracil, má často vážne vedľajšie účinky. Aké by ste očakávali pri látkach, ktoré fungujú podobne ako 5-fluorouracil? Vysvetlite ich príčinu.

Riešenie

Okrem rakovinových buniek aj niektoré zdravé bunky sa aktívne delia. Sú to napríklad bunky rôznych slizníc, krvné bunky, ale aj bunky v koreňkoch vlasov. 5-FU preto zabíja aj tieto bunky. K vedľajším účinkom preto patria napríklad poškodenie slizníc, znížená imunita, vypadávanie vlasov a mnohé iné.

Inými liečivami, ktoré inhibujú syntézu nukleových kyselín sú analógy nukleotidov. Na liečbu ochorenia AIDS sa používa aj zlúčenina, ktorej vzorec je na obrázku. Táto zlúčenina je

inhibítorom syntézy DNA vírusu HIV v bunke enzýmom reverznou transkriptázou, pri používaných koncentráciách však neinhibuje bunkovú DNA polymerázu.



Úloha 6

Analógom ktorého nukleozidu je táto zlúčenina?

Riešenie

Je analógom tymidínu (prípadne deoxytymidínu). Tymín nie je správna odpoveď, lebo tymín nie je nukleozid ale báza.

Úloha 7

Prečo táto zlúčenina inhibuje syntézu DNA?

Riešenie

Inhibuje syntézu DNA tak, že ho enzým reverzná transkriptáza zabuduje do syntetizovaného reťazca DNA, a pretože nemá voľnú 3'OH skupinu, tak syntéza nemôže pokračovať. Je selektívne účinný na syntézu DNA reverznou transkriptázou, na bunkovú DNA polymerázu účinkuje veľmi slabo.

Úloha 8

Táto zlúčenina nie je aktívna priamo, alebo musí byť v bunkách najskôr určitým spôsobom modifikovaná. Napíšte ako a vysvetlite prečo je to potrebné.

Riešenie

Musí byť fosforylovaná na AZT-trifosfát, aby sa stala substrátom pre reverznú transkriptázu.

Úloha 9

Táto zlúčenina je aktívna proti vírusu HIV, nie je však účinná proti mnohým iným vírusom, napríklad proti vírusu chrípky alebo proti koronavírusu. Vysvetlite prečo.

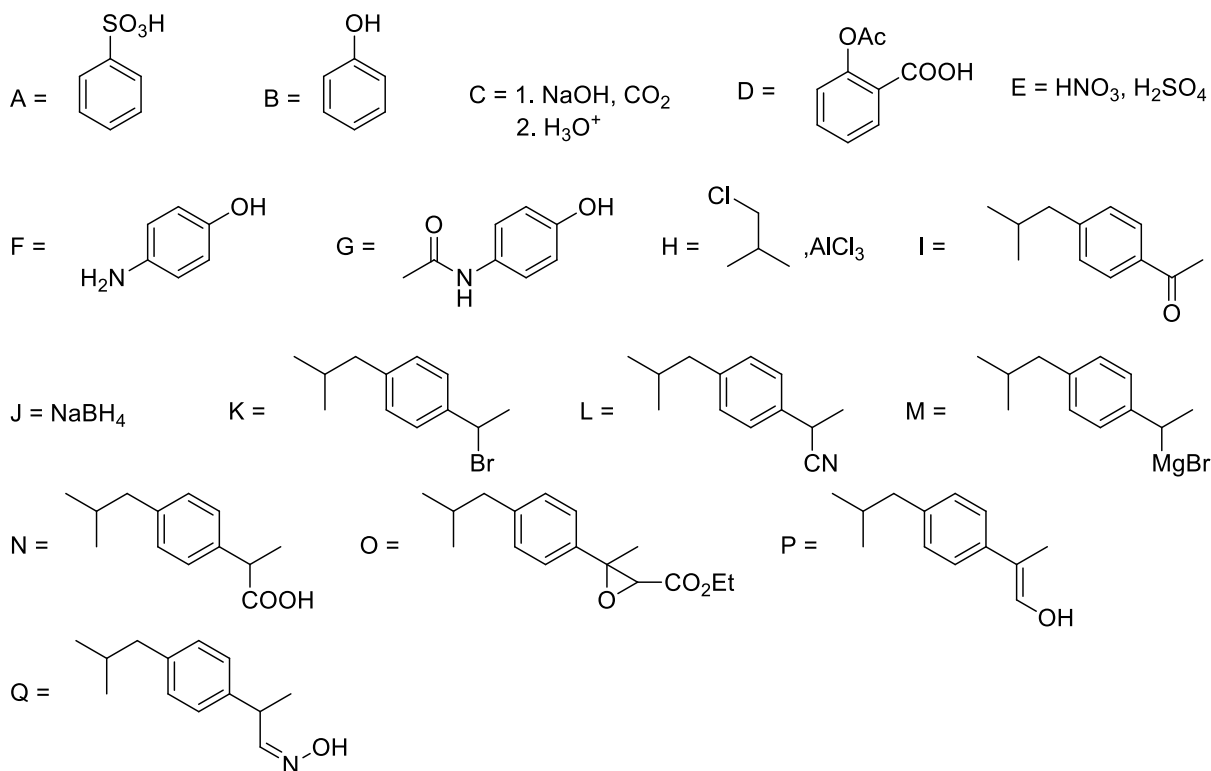
Riešenie

RNA vírusy ktoré nie sú retrovírusy, nevyužívajú vo svojom životnom cykle prepis RNA do DNA reverznou transkriptázou. Preto ju ani nemajú. AZT preto pri nich nemá čo inhibovať.

Problém 4

Cílená syntéza 1 – Syntéza jednoduchých antipyretik a analgetik

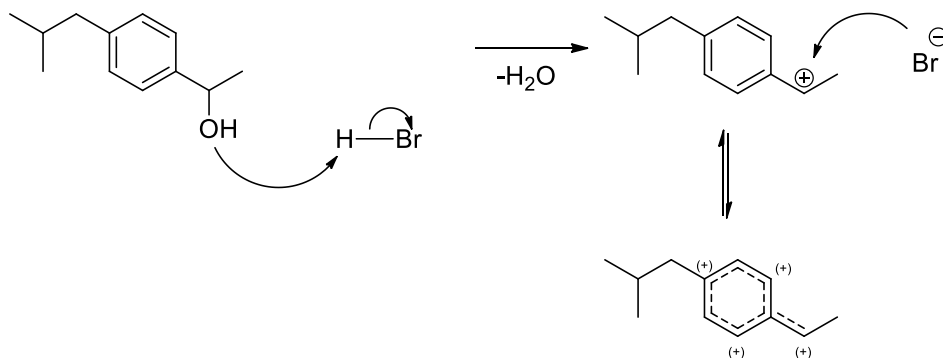
Úloha 1



13 x 1 pb + 10 x 0,5 pb

a) S_N1 substitúcia – hydroxy skupina je zle odstupujúca skupina. Tento problém sa rieši tak, že protonizáciou sa premení na dobre odstupujúcu skupinu. V našom prípade je vytesnenie hydroxy skupiny v podobe vody podporené stabilizáciou karbkatiónu susedným aromatickým jadrom cez mezomérny efekt.

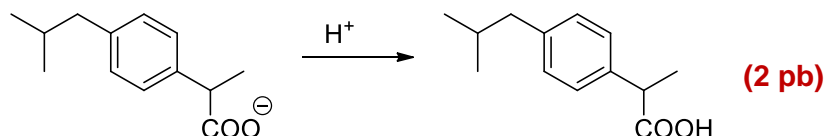
(2 pb)



b) Priama substitúcia hydroxy skupiny za nitril môže byť problematická keďže na premenu hydroxy skupiny na odstupujúcu skupinu potrebujeme kyslé prostredie, čím by nám s KCN vznikal kyanovodík.

(1 pb)

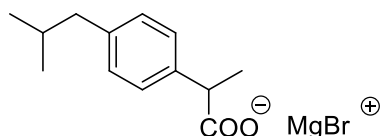
c) Bázickou hydrolyzou nitrilov vzniká soľ karboxylovej kyseliny. Následným okyslením dostávame produkt N.



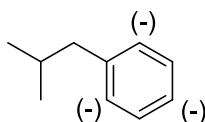
d) Grignardove činidlo. Kvôli veľmi silným bázickým vlastnostiam sa reakcie robia v aprotických rozpúšťadlách. S protickými rozpúšťadlami činidlo veľmi prudko a nebezpečne reaguje. Grignardove činidlo vystupuje v reakcii ako nukleofil.

(3 pb)

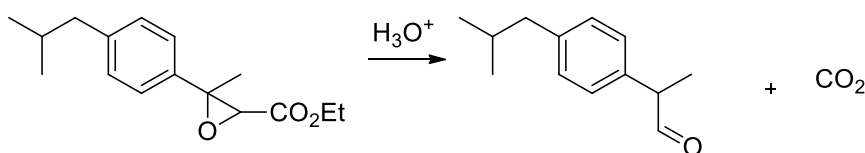
e) 1 pb



f) Oproti alkylácii nám miesto karbkatiónu vystupuje v reakcii acyliový kation, pri ktorom nehrozí prešmyk pri dlhších alebo rozvetvených reťazcoch. Alkylové skupiny na benzéne predstavujú elektrón donorné substituenty ktoré orientujú elektrofilnú substitúciu do polohy *orto* a *para*. V našom prípade objemná alkylová skupina bráni prístupu elektrofilu do polohy *orto*, preto je preferovaná poloha *para*. **(3 pb)**

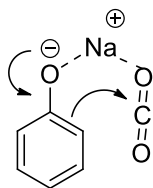


g) 1 pb

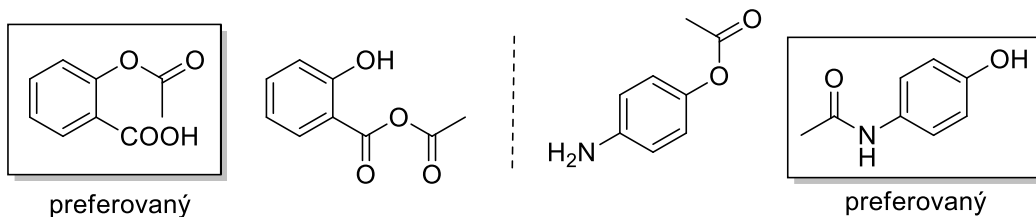


h) $2\text{H}_2\text{SO}_4 = \text{H}_2\text{O} + \text{SO}_3\text{H}^+ + \text{HSO}_4^-$ **(1 pb)**

i) Sodný kation sa koordinuje na kyslík fenoxidu a zároveň koordinuje CO₂ bližšie k *orto* polohe. (1 pb)



j) V prvom prípade je hydroxy skupina lepší nukleofil ako karboxylová kyselina. V druhom prípade je amino skupiny lepší nukleofil ako hydroxy. (4 pb)



k) $2\text{HNO}_3 = \text{NO}_2^+ + \text{H}_2\text{O} + \text{NO}_3^-$ (1 pb)

l) $2\text{Fe} + 6\text{HCl} = 2\text{FeCl}_3 + 3\text{H}_2$ (1 pb)

max 38 pb

1pb = 0,658 b