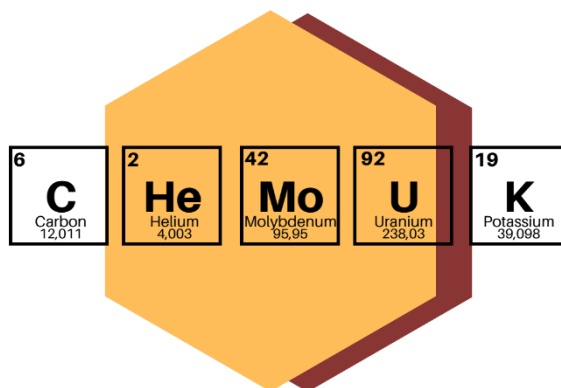


Korešpondenčný seminár z chémie pre stredné školy



2020/2021

1. kolo

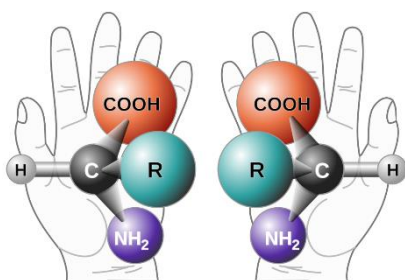


Problém 1 - Základy stereochemie

Samuel Andrejčák (andrejcak6@uniba.sk),

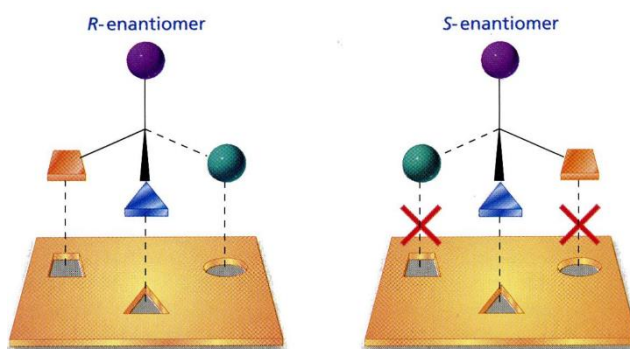
Barbora Zahradníková (zahradnikova6@uniba.sk)

Dnes už každý chemik vie, že vlastnosti molekúl sú do značnej miery ovplyvnené aj ich priestorovým usporiadaním a to hlavne vtedy, ak je viac možností ich rozloženia v priestore. Táto vlastnosť sa nazýva **chiralita**. Chiralita je tu s nami odjakživa, no uvedomenie si jej



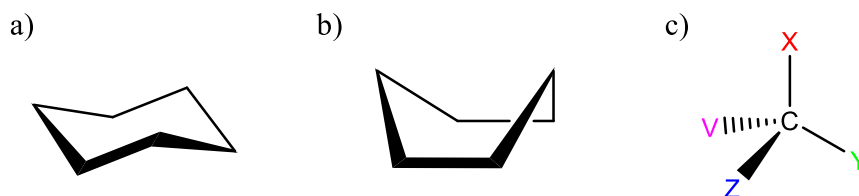
prítomnosti a dôležitosti nebolo až tak dávno. Objekty, ktorých zrkadlový odraz nie je stotožniteľný s pôvodnou štruktúrou sa označuje ako chirálny a naznačuje prítomnosť určitej asymetrie. Chirálny objekty teda môžu mať viacero možností usporiadania v priestore a v závislosti od toho vykazujú aj rôzne chemické, fyzikálne

vlastnosti alebo biologickú aktivitu. V organickej chémii hovoríme o chiralite vtedy, ak organická zlúčenina obsahuje tzv. **stereogénne centrum**. Najčastejšie predstavuje stereogénne centrum atóm uhlíka, na ktorom sú naviazané štyri rôzne substituenty (bočné reťazce resp. skupiny). Rozloženie substituentov v prípade jedného stereogénneho uhlíka je možno usporiadať dvoma spôsobmi. S narastajúcim počtom stereogénnych jednotiek v rámci jednej molekuly počet možností zápisu stúpa s množstvom ich rôznych kombinácií. Na druhej strane tým stúpa aj náročnosť prípravy zlúčenín s požadovanou stereochemiou.



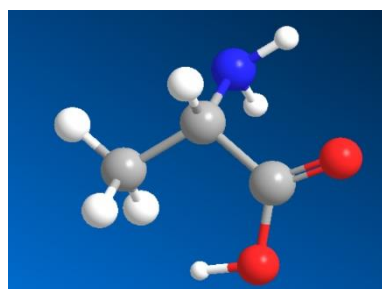
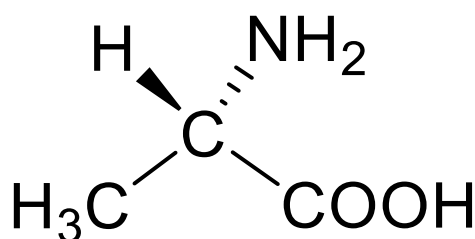
Stereoizoméry sú priestorové izoméry, teda majú rôzne priestorové usporiadanie, avšak konštitúcia, teda spôsob akým sa medzi sebou atómy viažu zostáva zachovaný. Priestorové izoméry sa môžu líšiť tvarom celej molekuly, vtedy hovoríme o **konformačných izoméroch** (konforméroch) alebo sa líšia len zmenou usporiadania časti molekuly, vtedy hovoríme o rozdielnej **konfigurácii**. Najznámejším príkladom konformačných izomérov je cyklohexán a jeho stoličková a vaničková forma. (Obrázok 1a,b)

Príčinou rozdielnej konfigurácie je prítomnosť stereogénnej jednotky, ktorá je zodpovedná za existenciu konfiguračných izomérov. My sa v týchto úlohách budeme zaoberať najmä **centrálne** stereogénnou jednotkou, čiže zlúčeninami obsahujúcimi stereogénne centrum (Obrázok 1c). Existujú však aj zlúčeniny s axiálnou alebo planárnou stereogénnou jednotkou.



Obrázok 1: a) stoličková konformácia, b) vaničková konformácia, c) všeobecný zápis stereogénneho centra.

V roku 1975 získal chorvátsky chemik, Vladimir Prelog, Nobelovu cenu za svoj výskum v stereochemii organických molekúl a reakcií. Je jedným zo zakladateľov tzv. CIP systému (**Cahnov-Ingoldov-Prelogov princíp určovania priority**), ktorý slúži na popis stereogénnych jednotiek v organických molekulách. Tento systém môžeme zhrnúť v pár bodoch, pričom je dôležité zdôrazniť, že väzby v stereochemii, ktoré sú písané **rovňou čiarou** sú uvažované v rovine papiera. Väzby zakreslené **prerušovanou čiarou** smerujú za a väzby značené **hrubou čiarou** smerujú pred rovinu papiera. Pre lepšiu predstavu máte k dispozícii zápis aminokyseliny alanínu pomocou stereochemických väzieb a takto premietnutý model do 3D štruktúry (dusík = modrá, kyslík = červená).

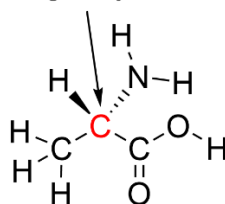


CIP systém v skratke:

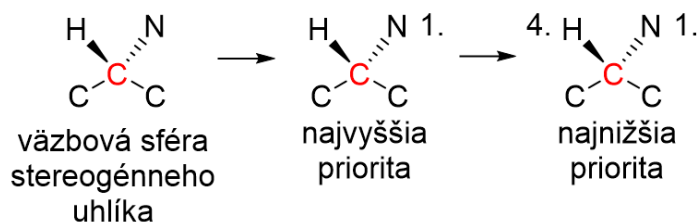
1. Identifikujeme stereogénny uhlík v organickej molekule.
2. Následne budeme určovať priority jednotlivých substituentov na stereogénnom uhlíku. Skupina s najvyššou prioritou bude označená číslom 1 a s najnižšou prioritou číslom

4. Priorita sa určuje podľa hodnoty protónového čísla atómu viazaného na uhlík. Pre jednoduchšie určovanie priorít je najlepšie si všetky funkčné skupiny rozpísať.

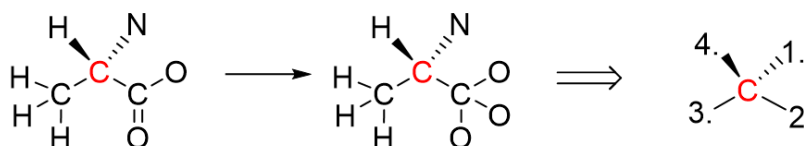
stereogénny uhlík



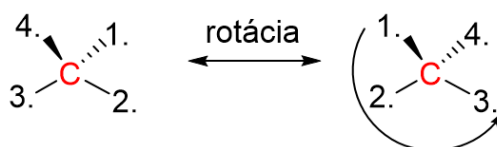
Prioritu začneme určovať tak, že si najprv nakreslíme stereogénny uhlík s prvou väzbovou sférou, na základe čoho vieme priradiť najvyššiu prioritu s číslom 1 pre atóm dusíka, ktorého protónové číslo je sedem. Zároveň priradíme najmenšiu prioritu pre atóm vodíka s protónovým číslom jeden. V prípade atómov uhlíka sa nevieme zatiaľ rozhodnúť, pretože sú identické.



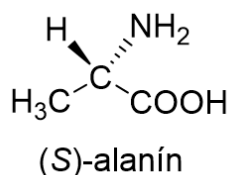
Na odlíšenie zatiaľ neočíslovaných atómov uhlíka si musíme nakresliť aj ich väzbovú sféru. Na jednom uhlíku sa nachádzajú tri atómy vodíka viazané jednoduchou väzbou. Na druhom uhlíku sa nachádza jeden kyslík viazaný jednoduchou väzbou a druhý viazaný dvojitou väzbou. V prípade, že je atóm viazaný násobnou väzbou tak pri určovaní priority ho zapíšeme toľkými jednoduchými väzbami aká je násobnosť väzby. Čiže kyslík viazaný dvojitou väzbou môžeme zapísať ako dva atómy kyslíka viazané jednoduchou väzbou na ten istý atóm uhlíka. Keďže atóm kyslíka má vyššiu prioritu ako vodík, priradíme uhlíku, na ktorom je viazaný atóm kyslíka, prioritu číslo 2. Takže pre posledný substituent zostáva priorita číslo 3.



- Posledným krokom je priradenie tzv. stereodeskriptorov R alebo S, ktoré vyjadrujú smer otáčania. R predstavuje otáčanie v smere hodinových ručičiek („rectus“, pravotočivý) a S proti smeru hodinových ručičiek (“sinister“, ľavotočivý). To, či stereogénnemu uhlíku prislúcha stereodeskriptor R alebo S určíme nasledovne. Molekulu s určenými prioritami si otočíme tak, aby substituent s najnižšou prioritou smeroval dozadu.

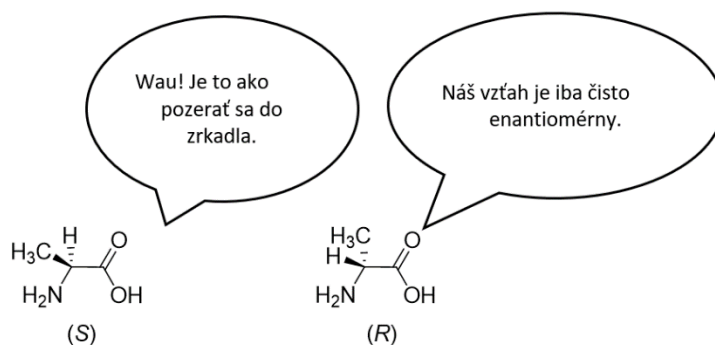


Na záver je potrebné určiť aký je smer priority substituentov. Smer otáčania od 1. po 3. je proti smeru hodinových ručičiek, čiže je ľavotočivý a prislúcha mu stereodeskriptor S.



Alternatíva pre určenie stereodeskriptorov hlavne pre tých, ktorí majú problém s predstavivosťou, pozostáva z využitia vlastného tela. Predstavte si, že stereogénny uhlík je v oblasti hrudného koša. Vaša hlava bude vždy predstavovať substituent s najnižšou prioritou a spodná časť tela substituent s prioritou číslo 2. Jemne sa predkloňte a vystrite ruky. Podľa určenia priorít teraz vaše ruky nadobúdajú prioritu 1 alebo 3. Začnite sa točiť v smere 1-2-3 a podľa toho, či sa točíte v smere alebo proti smeru hodinových ručičiek, priradíte stereodeskriptor R alebo S. Po určení stereodeskriptoru touto metódou sa odporúča ešte otáčať sa ekvivalentný čas v opačnom smere pre zamedzenie priestorovej dezorientácie, ktorá by mohla ovplyvniť vaše riešenie nasledovných úloh.

Vzťahy medzi stereoisoméry a dôležité pojmy:



Enantioméry sú nestotožiteľné zrkadlové obrazy, majú rovnaké názvy a chemické vlastnosti, sú opticky aktívne a líšia sa otáčavosťou roviny polarizovaného svetla. Ak máme zmes enantiomérov v pomere 1:1 hovoríme o racemickej zmesi (**racemát**) a takáto zmes nie je opticky aktívna t.j. neotáča rovinu polarizovaného svetla. Ak jeden z enantiomérov v zmesi

prevažuje hovoríme o **neracemickej látke** a mierou čistoty daného enantioméru je **enantiomérený nadbytok (% ee)**. Zloženie zmesi sa dá vyjadriť aj pomocou **enantiomérneho pomeru**, napr. pomer S-izoméru/R-izoméru je 75:25. Z tohto pomeru vieme vyjadriť aj enantiomérený nadbytok (% ee = 75 - 25 = 50 % ee). V prípade že sa nám podarilo izolovať alebo pomocou syntézy pripraviť len jeden konkrétny stereoizomér, hovoríme o **enantiomérne čistej látke**. V prírode však nájdeme aj izoméry, ktoré majú viac ako jedno stereogénne centrum s rozličnou konfiguráciou a nie sú si navzájom zrkadlovými obrazmi. Takéto stereoizoméry sa nazývajú **diastereoizoméry**. Tieto pojmy neodmysliteľne patria ku stereochemii a ich poznanie je základom a vstupnou bránou do tejto problematiky.

Enantiomérený nadbytok (% ee) je aditívna veličina a na jej hodnotu vplyvajú všetky zložky zmesi. V minulosti sa určoval polarimetricky a to meraním uhla, o ktorý bola rovina polarizovaného svetla otočená. Keďže je to aditívna veličina, tak za určitých podmienok (zmes neobsahuje žiadne chirálne nečistoty) môžeme z nameranej hodnoty určiť zastúpenie jednotlivých izomérov. Najprv však potrebujeme vedieť hodnotu optickej otáčavosti pre čistý stereoizomér. Ukážeme si ako to v praxi funguje.

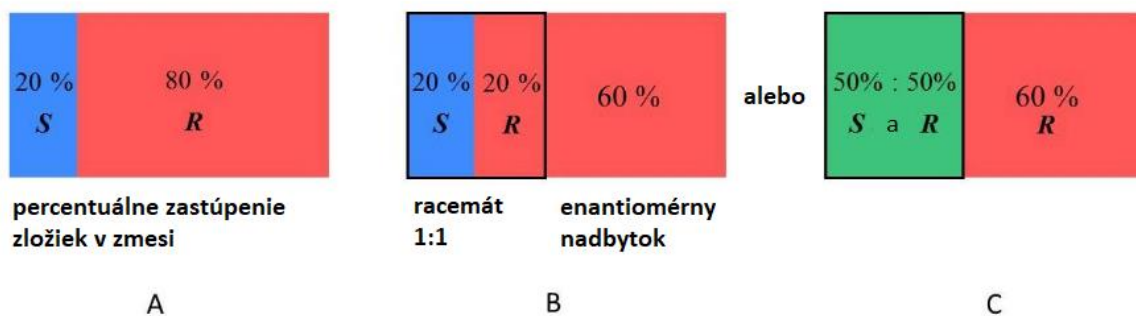
Predstavme si, že máme zmes enantiomérov 2-brómbutánu. Zmes obsahuje 80 % (R)-2-brómbutánu a 20 % (S)-2-brómbutánu. Aký bude enantiomérený nadbytok (R)-2-brómbután ?

Pre lepšiu predstavivosť si to ukážeme na obrázku. Enantiomérený nadbytok nám hovorí o koľko je jedného enantioméru viac ako druhého. Matematicky sa dá vyjadriť jednoducho a to odčítaním týchto hodnôt:

$$\% ee (R) = \text{enantiomér A} - \text{enantiomér B} = 80 \% (R) - 20 \% (S) = 60 \%$$

K rovnakému výsledku sa dostaneme aj keď budeme vychádzať z látkového množstva, kedy zmes obsahuje 12,8 mólov (R)-2-brómbutánu a 3,2 mólov (S)-2-brómbutánu.

$$\% ee = \frac{\Delta n}{n(R) + n(S)} * 100 \% = \frac{9,6 \text{ mol}}{16 \text{ mol}} * 100 \% = 60 \%$$



V minulosti sa používala polarimetria na určenie % ee. Vzťah medzi optickou aktivitou a enantiomérnym nadbytkom je nasledovný:

$$\% ee = \frac{\alpha_{vzorky}}{\alpha_{\text{čistého enantioméru}}} * 100\%$$

Úloha 1

(R)-2-brómbután je opticky aktívny a jeho špecifická rotácia má hodnotu $-23,1^\circ$.

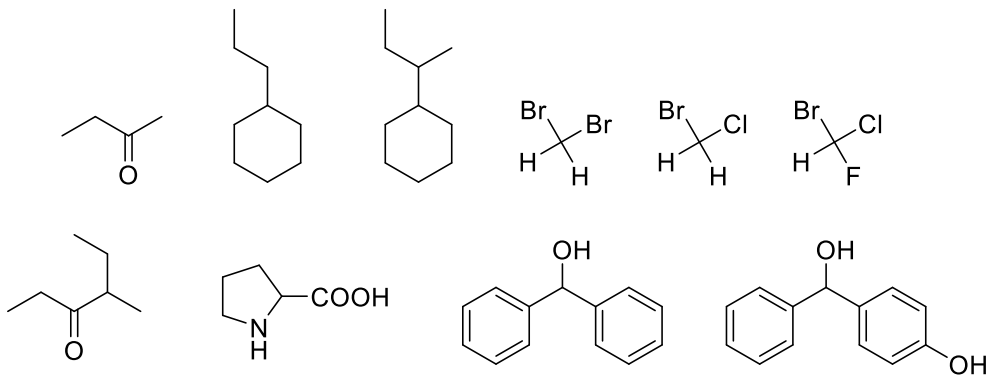
(a) Aká bude špecifická rotácia pre opačný enantiomér? (pomôžte si definíciou pre enantioméry)

(b) Vypočítajte enantiomérny nadbytok (% ee) pre zmes 2-brómbutánu, ak viete, že špecifická otáčavosť tejto zmesi je $+9,25^\circ$.

(c) Určte enantiomérny pomer v zmesi 2-butanolu, ak viete že špecifická rotácia pre (R)-2-butanol je $-35,3^\circ$ a pre zmes bola nameraná hodnota $-15,89$.

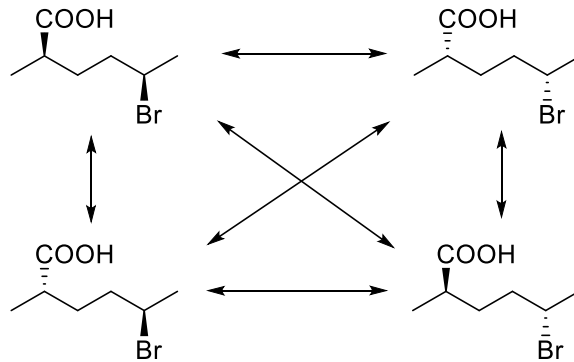
Úloha 2

Z uvedených zlúčenín vyberte tie, ktoré majú stereogénny uhlík. Pre tieto nakreslite oba možné enantioméry (R a S) s vyznačením stereochemie (prerušovaný a hrubý klin) a priradením stereodeskriptoru.



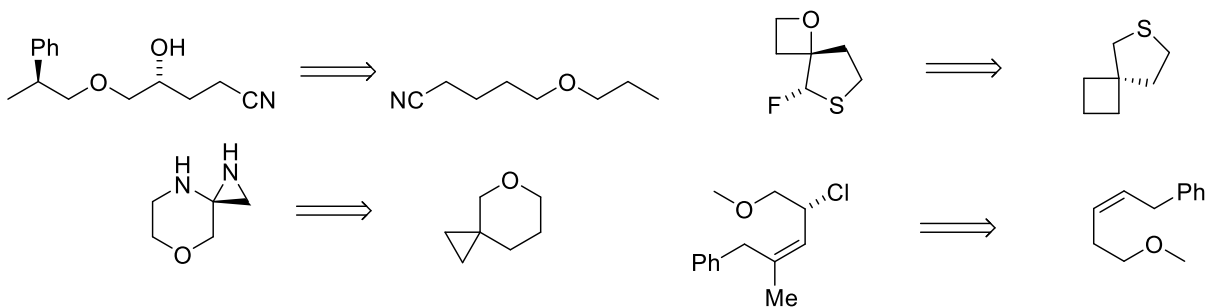
Úloha 3

Určte vzťahy medzi jednotlivými stereoizomérmi. Ktoré z nich su enantioméry a ktoré diastereoméry?



Úloha 4

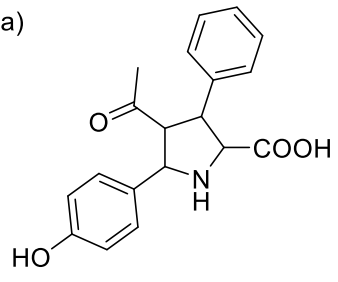
Doplňte chýbajúce väzby a substituenty do prekreslených štruktúr tak, aby ste získali rovnaký stereoizomér.



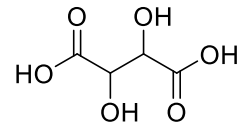
Úloha 5

Koľko stereogénnych uhlíkov obsahujú nasledujúce štruktúry? Vzhľadom na ich počet, koľko rôznych stereoizomérov resp. ich kombinácie môže teoreticky existovať?

a)



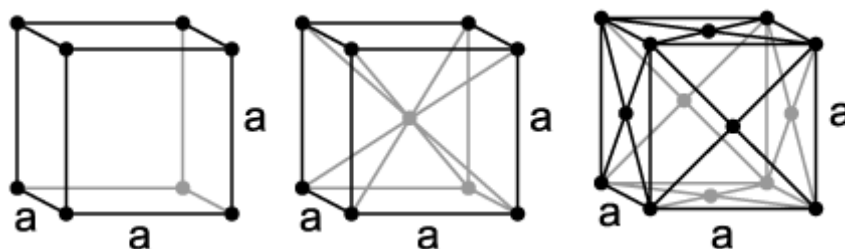
b)



Problém 2 – Superbunky a intersticiálne miesta

Erik Rakovský (erik.rakovsky@uniba.sk)

A. Bravais odvodil už v r. 1848, že na základe súmernosti priestorových mriežok a metriky základných buniek existuje 14 typov priestorových mriežok. Bunky s centrovanými základňami (mriežkový bod sa nachádza navyše aj v strede dvoch protiľahlých stien) sa nazývajú bázicky centrované, bunky s doplnkovým uzlom v svojom strede priestorovo centrované a bunky, ktorých všetky steny sú centrované, nazývajú sa plošne centrované bunky. Ako vidno na obr. 1, pre konkrétnu kryštalografickú sústavu – v našom prípade kubickú – nemusia existovať všetky druhy centrovaných buniek – bázicky centrovaná bunka totiž nemá kubickú symetriu.

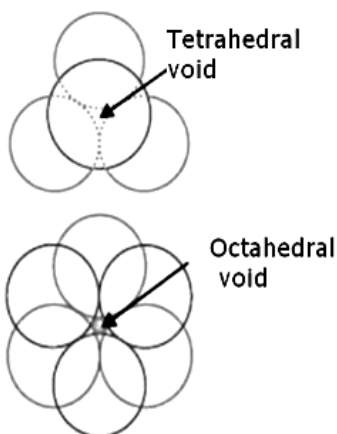


Obr. 1 a) kubická primitívna mriežka, b) kubická priestorovo centrovaná mriežka, c) kubická plošne centrovaná mriežka)

Kubická plošne centrovaná bunka predstavuje jedno z dvoch najtesnejších usporiadaní (tzv. kubické najtesnejšie usporiadanie), ktoré môžu vzniknúť ukladaním vrstiev rovnako veľkých atómov (iónov) na seba. Zodpovedá jej štruktúra kovovej medi. Druhým variantom najtesnejšieho usporiadania je hexagonálne najtesnejšie usporiadanie, ktorému zodpovedá štruktúra kovového horčíka.

Atómy nezaplňajú celý priestor základnej bunky ani v najtesnejších usporiadaniach, ale medzi vrstvami atómov sa nachádzajú prázdne miesta (dutiny). Veľkosť a distribúcia týchto takzvaných intersticiálnych pozícií v materiáloch pomáha určovať, ako sa bude daný materiál správať (vplyv na rozpustnosť, difúzne koeficienty, ...).

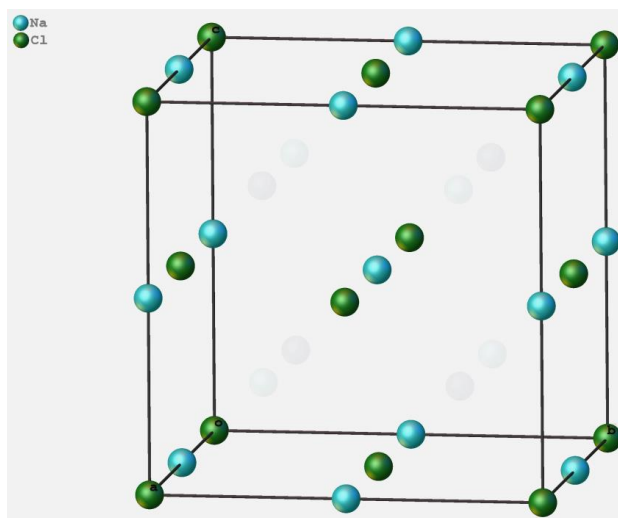
V štruktúrach založených na najtesnejšom alebo tesnom usporiadaní gúl, ako napríklad štruktúry kovov, vzácnych plynov a iónových zlúčenín, rozoznávame dva typy dutín:



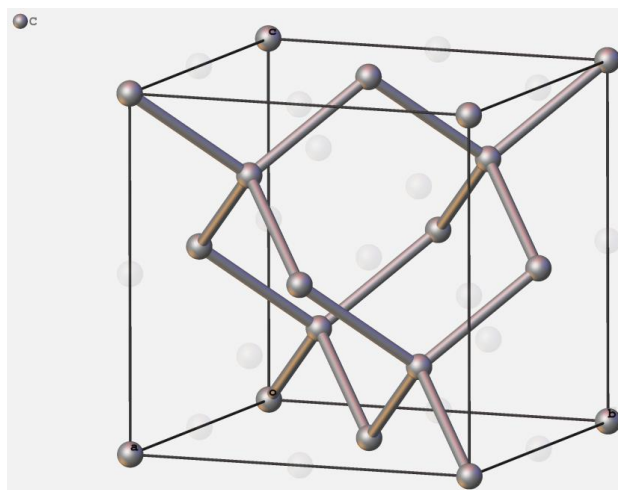
1) Tetraedrické dutiny – vznikajú umiestnením atómu (resp. iónu) nad prázdne miesto vzniknuté kontaktom troch atómov v nižšie sa nachádzajúcej vrstve atómov (iónov). Tetraéder je tvorený štyrmi rovnostrannými trojuholníkmi, ktorých vrcholy sa nachádzajú v jadrách atómov. Koordináčné číslo atómu (iónu) nachádzajúceho sa v tetraedrickej dutine je 4.

2) Oktaedrické dutiny – oktaéder je tvorený 8 rovnostrannými trojuholníkovými stenami, ktorých vrcholy sa nachádzajú v jadrách atómov. Môžu mať tvar bipiramídy so štvorcovou základňou resp. trojuholníkovej antiprizmy. Oktaedrické dutiny vznikajú vtedy, ak sa prázdne miesto vzniknuté kontaktom troch atómov vyššej vrstvy dostáva nad prázdne miesto vzniknuté kontaktom troch atómov nižšej vrstvy. Koordináčné číslo atómu (iónu) nachádzajúceho sa v oktaedrickej dutine je 6.

Mnohé štruktúry sa dajú popísať ako najtesnejšie usporiadanie so zaplnenými tetraedrickými resp. oktaedrickými dutinami. Napr. štruktúra NaCl (obr. 2) sa dá popísať ako kubická plošne centrovaná bunka tvorená aniónmi Cl^- so všetkými oktaedrickými dutinami zaplnenými kationmi Na^+ . Podobne sa dá štruktúra diamantu popísať ako kubická plošne centrovaná bunka tvorená atómami C s $\frac{1}{2}$ tetraedrických dutín obsadených ďalšími atómami C (obr. 4).

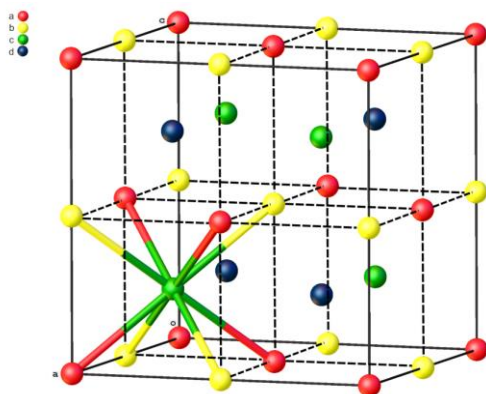


Obr. 2 Štruktúra NaCl.



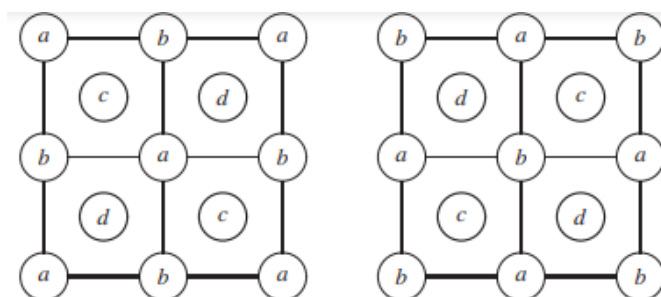
Obr. 3 Štruktúra diamantu.

Na popis komplexnejších štruktúr, obzvlášť v mineralógii alebo materiállovej chémii, sa často používa koncept *superbuniek*, ktoré vznikajú viacnásobným opakovaním jednoduchších základných buniek – spravidla s najtesnejším alebo tesným usporiadaním – v smere kryštalografických osí. Na obr. 4 vidíme superbunku zloženú z 8 základných buniek typu CsCl jej dvojnásobným opakovaním v smere každej kryštalografickej osi (superbunka $2 \times 2 \times 2$). Pôvodná bunka CsCl je zvýraznená v ľavom prednom spodnom oktante. V CsCl sa v rohoch primitívnej kubickej základnej bunky (pozície *a* – červená guličky a *b* – žlté guličky) nachádzajú anióny Cl^- a medzi nimi v polohe *d* (zelené guličky) kationy Cs^+ ; v takom prípade sú pozície *a* a *b* ekvivalentné. Superbunka o rozmeroch $2 \times 2 \times 2$ sa dá považovať za kubickú plošne centrovanú s rôznymi možnosťami obsadzovania tetraedrických a oktaedrických dutín.



Obr. 4 Superbunka odvodená od základnej bunky typu CsCl jej dvojnásobným opakovaním v smere každej kryštalografickej osi. Farebne vyznačené guličky reprezentujú štyri možné atómové polohy *a* (červená), *b* (žltá), *c* (modrá), *d* (zelená), ktoré môžu byť obsadené rôznymi atómami (alebo nezaplnené – vakantné).

Na obr. 5 vidíme rozkreslené vľavo dve spodné vrstvy atómov – v rovine podstavy sa nachádzajú polohy s označením *a* a *b* a vo výške $\frac{1}{4}$ základnej bunky nachádzajúce sa polohy *c* a *d*. Na pravom obrázku vidíme vrstvu nachádzajúcu sa vo výške $\frac{1}{2}$ základnej bunky, ktorú opäť tvoria polohy *a* a *b* a nad nimi vo výške $\frac{3}{4}$ základnej bunky sa nachádzajú opäť polohy *c* a *d*, pričom v druhom súvrství si polohy *a* a *b* resp. *c* a *d* navzájom vymenia pozície (porovnajte s obr. 4). Na základe tohto formalizmu môžeme potom bunku diamantu popísať ako superbunku typu CsCl o rozmere $2 \times 2 \times 2$, pričom atómy C obsadzujú pozície *a* a *c* (pozri obr. 3; pre lepšiu orientáciu sú vakantné pozície vyznačené „duchmi“).



Obr. 5 Schematické znázornenie superbunky typu $2 \times 2 \times 2$ odvodenej od základnej bunky CsCl, premietnuté do roviny. Nákres naľavo predstavuje spodnú polovicu základnej bunky, nákres napravo zasa hornú polovicu základnej bunky. Polohy *a*, *b* tvoria rohy podstavy buniek, polohy *c*, *d* sa nachádzajú v stredoch daných ôsmich buniek.

Úloha 1

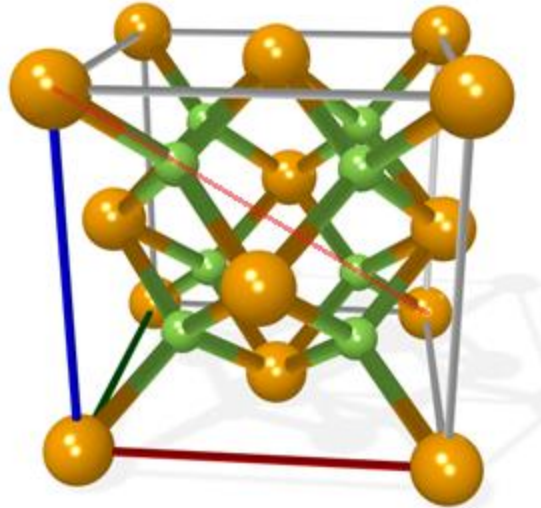
Popíšte základné bunky NaCl a CaF_2 (obr. 6) pomocou obsadenia polôh *a–d* v superbunke typu CsCl o rozmere $2 \times 2 \times 2$.

Úloha 2

Aký by bol stechiometrický vzorec zlúčeniny, v ktorej by v superbunke typu CsCl o rozmere $2 \times 2 \times 2$ všetky pozície *a* obsadil atóm prvku A, všetky pozície *b* atóm prvku B, všetky pozície *c* atóm prvku C a všetky pozície *d* atóm prvku D?

Úloha 3

Určite, koľko vakantných pozícií a akého druhu (tetraedrické/oktaedrické) je v základnej bunke **a**) chloridu sodného, **b**) diamantu **c**) fluoridu vápenatého (obr. 6).



Obr. 6 Štruktúra CaF_2 (Ca^{2+} - oranžové guľičky, F^- – zelené guľičky)

Úloha 4

Aké je koordinačné číslo atómu, nachádzajúceho sa

- v tetraedrickej dutine kubickej plošne centrovanej základnej bunky
- v oktaedrickej dutine kubickej plošne centrovanej základnej bunky
- v tetraedrickej dutine kubickej plošne centrovanej základnej bunky so zaplnenými všetkými oktaedrickými dutinami?
- v mriežkovom bode kubickej plošne centrovanej základnej bunky (teda s nezaplnenými ako tetraedrickými, tak aj oktaedrickými dutinami)?

(Aplikujte jednoduchú definíciu koordinačného čísla ako počtu atómov v najkratšej vzdialenosti od centrálného atómu.)

Ako vidno z výsledkov získaných v úlohe 4, štruktúry odvodené od kubického najtesnejšieho usporiadania umožňujú ukladanie atómov s rôznymi koordinačnými číslami. Pre koordinačné číslo atómu v iónovom kryštáli je rozhodujúci pomer polomerov jednotlivých iónov, pričom platí, že koordinačné číslo je prípustné až od istej hodnoty pomeru polomeru katiónu a aniónu (resp. atómu s menším a väčším iónovým polomerom), t.j. ak umiestnime anióny resp. väčšie atómy tak, aby sa navzájom dotýkali, katión resp. menší atóm musí vypĺňať celú dutinu medzi nimi, príp. spôsobiť ich vzájomné oddialenie (menší atóm „nesmie v dutine hrkať“). Hraničné hodnoty sú uvedené v nasledujúcej tabuľke:

pomer iónových polomerov r_k/r_a	koordinačné číslo	typ geometrického usporiadania
1,0	12	hexagonálne
0,732	8	kubické
0,414	6	oktaedrické
0,225	4	tetraedrické
0,155	3	trigonálne
< 0,155	2	lineárne

Pre dvojicu iónov sú prípustné všetky koordinačné čísla, pre ktoré je požadovaný hraničný pomer iónových polomerov nižší alebo rovný ich konkrétnemu pomeru iónových polomerov r_k/r_a .

Úloha 5

S využitím vyššie uvedenej tabuľky určite, ako budú obsadené mriežkové pozície $a - d$ superbunky typu CsCl o rozmere $2 \times 2 \times 2$ v ZnS.

$$r(\text{Zn}^{2+}, \text{k.č. } 4) = 60 \text{ pm}, r(\text{Zn}^{2+}, \text{k.č. } 6) = 74 \text{ pm}, r(\text{Zn}^{2+}, \text{k.č. } 8) = 90 \text{ pm}$$

$$r(\text{S}^{2-}) = 184 \text{ pm}$$

Tip: anióny tvoria zvyčajne najtesnejšie usporiadanie = nachádzajú sa v mriežkových bodoch kubickej plošne centrovanej bunky. Katióny vypĺňajú dutiny tak, aby nadobudli vhodné koordinačné číslo na základe hodnoty r_k/r_a .

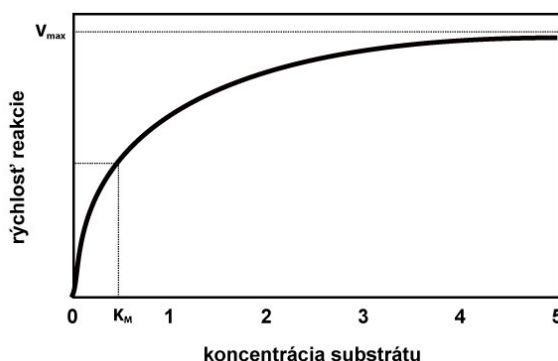
Problém 3 – Enzýmy

Peter Polčic (*peter.polcic@uniba.sk*)

Enzýmy sú vysoko špecifické katalyzátory, ktoré urýchľujú chemické reakcie prebiehajúce v živých organizmoch. Z ich povahy vyplýva zaujímavá závislosť rýchlosti chemickej reakcie, ktorú katalyzujú, od koncentrácie substrátu (pozri graf), ktorá je popísaná Michaelisovou-Mentenovej rovnicou:

$$v = V_{\max} \cdot [S] / (K_M + [S])$$

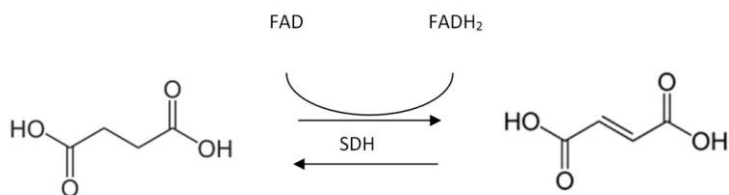
kde v je rýchlosť chemickej reakcie, $[S]$ je koncentrácie substrátu, V_{\max} je maximálna rýchlosť reakcie a K_M je Michaelisova konštanta vyjadrujúca afinitu substrátu ku enzýmu.



Úloha 1

Vysvetlite prečo sa rýchlosť reakcie so zvyšujúcou koncentráciou substrátu postupne prestáva zvyšovať tak, že dosiahne najviac V_{\max} .

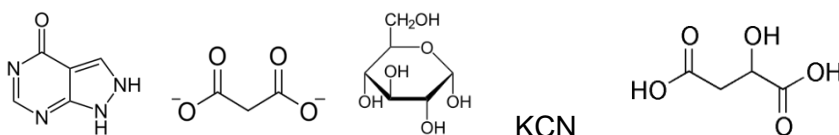
Sukcinátdehydrogenáza je enzymatický komplex, ktorý je súčasťou mitochondriálneho dýchacieho reťazca. Katalyzuje oxidáciu jantáranu (sukcinátu) na fumarát (obrázok). Na rozdiel od ostatných komplexov dýchacieho reťazca netranslokuje protóny cez membránu.



Úloha 2

Vyberte z nasledujúcich látok tie, o ktorých by ste očakávali, že budú kompetitívnymi inhibítormi sukcinátdehydrogenázy a vysvetlite prečo:

a. b. c. d. e.



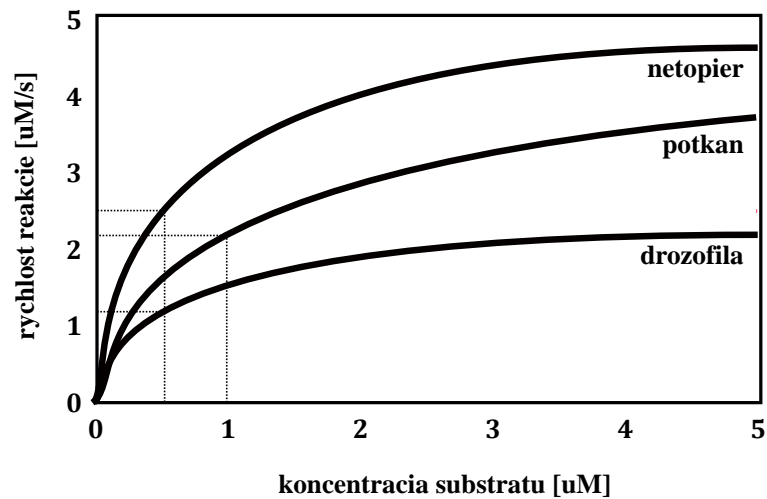
Úloha 3

Meraním enzymatických parametrov sukcinátdehydrogenázy z hovädzieho srdca, ste zistili, že $K_M = 8,72 \text{ mmol.dm}^{-3}$, $V_{\max} = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ mmol.dm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$. Potom ste rovnaké parametre merali v prítomnosti kompetitívneho inhibítora. Ktoré z nasledujúcich dvojíc hodnôt ste mohli namerať? Vysvetlite prečo.

- a) $K_M = 8,72 \text{ mmol.dm}^{-3}$, $V_{\max} = 0,25 \cdot 10^{-3} \text{ mmol.dm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$
- b) $K_M = 41,3 \text{ mmol.dm}^{-3}$, $V_{\max} = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ mmol.dm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$
- c) $K_M = 25,4 \text{ mmol.dm}^{-3}$, $V_{\max} = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ mmol.dm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$
- d) $K_M = -4,13 \text{ mmol.dm}^{-3}$, $V_{\max} = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ mmol.dm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$
- e) $K_M = 8,72 \text{ mmol.dm}^{-3}$, $V_{\max} = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ mmol.dm}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$

Úloha 4

Na obrázku je závislosť rýchlosti konverzie jantáranu na fumarát od koncentrácie jantáranu pre sukcinátdehydrogenázy z troch organizmov, vyberte pravdivé tvrdenia o týchto enzýmoch:



- a) enzým potkana má vyššiu afinitu k sukcinátu ako enzým drozofily
- b) enzým netopiera má vyššiu afinitu k substrátu ako enzým potkana
- c) enzým drozofily má nižšiu afinitu k substrátu ako enzým netopiera
- d) enzým potkana má vyššiu Michaelisovu konštantu ako enzým netopiera
- e) enzým netopiera má vyššiu Michaelisovu konštantu ako enzým drozofily

Aktivita mnohých enzýmov je regulovaná posttranslačnými modifikáciami, napríklad fosforyláciou.

Úloha 5

Ktoré z bočných reťazcov aminokyselín môžu byť fosforylované?

Úloha 6

Pokúste sa vysvetliť akým mechanizmom by fosforylácia mohla ovplyvniť aktivitu enzýmu.

Skúmate enzým a zistili ste, že jeho aktivita by mohla byť ovplyvnená fosforyláciou. Izolovali ste ho preto z buniek, ktoré ste kultivovali v prítomnosti rádioaktívne značeného fosfátu. Zistili ste, že v izolovanom enzýme, ktorý je aktívny, sa rádioaktívna značka nachádza v troch aminokyselinách. Sú to všetko aminokyseliny X (jedna z tých uvedených v odpovedi otázku 5) v polohe 120, 184 a 243. Po opracovaní izolovaného enzýmu fosfatázou vidíte, že ste uvoľnili všetku rádioaktívnu značku a enzým zároveň stratil aktivitu. Chcete zistiť, fosforylácia ktorých aminokyselín je dôležitá pre aktivitu enzýmu. Pomocou cielenej mutagenézy si preto pripravíte bunky, ktoré majú v tomto enzýme zamenené príslušné tri aminokyseliny za alaníny alebo kyselinu glutamovú. Máte osem kombinácií:

- a: Ala v polohe 120, Ala v polohe 184, Ala v polohe 143.
- b: Glu v polohe 120, Ala v polohe 184, Ala v polohe 143.
- c: Ala v polohe 120, Glu v polohe 184, Ala v polohe 143.
- d: Ala v polohe 120, Ala v polohe 184, Glu v polohe 143.
- e: Glu v polohe 120, Glu v polohe 184, Ala v polohe 143.
- f: Glu v polohe 120, Ala v polohe 184, Glu v polohe 143.
- g: Ala v polohe 120, Glu v polohe 184, Glu v polohe 143.
- h: Glu v polohe 120, Glu v polohe 184, Glu v polohe 143.

Úloha 7

Zistili ste, že aktívne sú enzýmy c, e, g a h. Fosforylácia ktorých aminokyselín je potrebná pre aktivitu enzýmu?

Úloha 8

Je výsledok tohto experimentu v súlade s predchádzajúcim pozorovaním (že aktívny je fosforylovaný enzým a enzým opracovaný fosfatázou je neaktívny)? Ak nie, prečo?

Úloha 9

Ako ovplyvní aktivitu týchto enzýmov (c, e, g, h) prídanie fosfatázy?

Problém 4 - Chemické metódy v daktyloskopii

Henrieta Stankovičová (henrieta.stankovicova@uniba.sk)

Zviditeľňovanie daktyloskopických stôp je jednou z kľúčových oblastí forenzných vied. Detekcia latentných odtlačkov prstov chemickými metódami patrí k najcitlivejším metódam používaným v tejto oblasti. Veľmi dôležitými sú tieto spôsoby na zviditeľňovanie latentných odtlačkov na papieri



a celulóзовých materiáloch, keďže naša spoločnosť využíva tieto materiály na úradné dokumenty, tlač platidiel a ako obalové materiály.

Ryhy a hrany, ktoré sa nachádzajú na pokožke prstov rúk a nôh človeka tvoria charakteristický obraz, ktorý sa vyvíja už v ranom štádiu tehotenstva a zostáva nezmenený počas celého života.¹ Zmeny v obraze papilárnych línií môže spôsobiť iba ťažké zranenie prstov osoby a ich trvalá zmena sa zachová len pri poškodení zárodočnej vrstvy kože. Povrchové poškodenie pokožky neovplyvňuje zmenu odtlačku. Keďže ľudia každodenne prichádzajú do kontaktu s rôznymi predmetmi, zanechávajú pritom jedinečné odtlačky prstov. Zanechané odtlačky sú postačujúce na presnú identifikáciu osoby. Tento fakt prispel k tomu, že odtlačky prstov sú jednou z najpoužívanejších foriem identifikácie osôb používaných v kriminalistike a súdnej praxi. V literatúre sa prvýkrát daktyloskopická identifikácia (z gr. *dactylos* – prst, *skopein* - pozerat') objavuje už v roku 1892, keď bol zaznamenaný prvý odtlačok prsta na mieste činu a následne bol použitý ako dôveryhodný dôkaz na usvedčenie vraždy.² Aj v dobe analýzy DNA sú odtlačky prstov stále dôležité, pretože je možné ich rýchlo a lacno zviditeľniť tak, aby poskytovali rovnakú individuálnu zhodu ako DNA.

Daktyloskopické stopy rozdeľujeme podľa spôsobu ich vzniku na plošné (odtlačky) a objemové (vtlačky). Odtlačky prstov môžeme z hľadiska viditeľnosti rozdeliť do dvoch základných skupín, *viditeľné a neviditeľné (latentné) odtlačky*. Prvú skupinu tvoria odtlačky zanechané prstami pokrytými cudzorodým materiálom, ako napríklad krv, špina alebo masť,

¹ Champod, C.; Lennard, C.; Margot, P.; Stoilovic, M. *Fingerprints and Other Ridge Skin Impressions*, CRC Press, Boca Raton, **2004**.

² Darymple, B.; MacKillican, J. *Fingerprints (Dactyloscopy)* v: Siegel, J.; Saukko, P.; Knupfer, G. (Eds.) *Encyclopedia of Forensic Sciences*, Academic Press, Oxford, **2000**.

čo spôsobí ich jasnú viditeľnosť. Druhú skupinu odtlačkov, tzv. neviditeľné (latentné), tvoria odtlačky pozostávajúce zo zmesi prirodzených sekrétov vylučovacích žliaz na koži.

Chemické zloženie latentných odtlačkov prstov. Zastúpenie organických a anorganických látok v latentných odtlačkoch je rôzne nielen u rôznych jednotlivcov, ale môže sa odlišovať aj u jedného jedinca, napr. v priebehu dňa. Práve na základe poznania jednotlivých zložiek nachádzajúcich sa v odtlačku sa vytvorili a dodnes používajú daktyloskopické metódy zviditeľňovania latentných daktyloskopických stôp. Vylučovacie žľazy človeka sú rozdelené do troch skupín (tabuľka), z ktorých najdôležitejšie žľazy na tvorbu odtlačkov sú ekrinná a holokrinná. Na končekoch prstov sa nachádzajú iba ekrinné žľazy, takže väčšina zložiek odtlačkov pochádza práve z týchto žliaz. Holokrinné zložky sa do odtlačku dostávajú prostredníctvom dotýkania sa tváre alebo vlasov človeka.

Prítomnosť špecifických zložiek v latentných odtlačkoch závisí od poskytovateľa daktyloskopického odtlačku, od typu povrchu na ktorom sa odtlačok nachádza, času ktorý uplynul od odtlačenia a od podmienok, v ktorých sa tento odtlačok nachádzal. Faktory ako napr. teplota, vystavenie svetlu a vode a relatívna vlhkosť menia chemické a fyzikálne vlastnosti odtlačku. Pot obsahuje 99,0 – 99,5 % vody. Voda je prvá zložka, ktorá sa z väčšiny odtlačkov stratí – vyparí. Preto pri zviditeľňovaní latentných daktyloskopických stôp, ktoré sú staré 3-7 dní, nie je vhodné použiť metódy založené na reaktivite vody, resp. tie ktoré sa primárne zameriavajú na vodnú zložku latentnej daktyloskopickkej stopy. Účinnejšie sú metódy, ktoré sa skôr zameriavajú na tuky, pretože tieto sa uchovávajú v stope dlhšie. Latentný odtlačok prsta je viditeľný, a teda využiteľný, ak má charakteristiky, ktoré ho odlišia od povrchu, na ktorom sa nachádza. Takáto charakteristika sa dosiahne po aplikácii farebného materiálu, ktorý je na odtlačok nanesený chemickými alebo fyzikálnymi metódami. Aby sa získala detegovateľná stopa, musí sa po aplikácii zviditeľňovacieho materiálu dosiahnuť kontrast medzi odtlačkom a pozadím.

Je mnoho techník a materiálov, ktoré sa používajú na zviditeľňovanie latentných odtlačkov prstov. Odlišujú sa spôsobom reakcie so zložkami, technikou pôsobenia na odtlačky a viditeľnosťou odtlačku. Najčastejšie sa využíva **kombinácia optických** (napr. luminiscencia, UV absorpcia), **fyzikálnych** (napr. práškovanie), **fyzikálno-chemických** (napr. nanášanie kovov) a **chemických metód**, aby sa dosiahlo zviditeľnenie čo najväčšieho počtu odtlačkov. Činidlá, ktoré sa používajú na zviditeľnenie daktyloskopických stôp, slúžia vlastne ako indikátory jednotlivých zložiek potu. Ako produkty takýchto „dôkazových“ reakcií vznikajú farebné obrazy, ktoré zodpovedajú odtlačku prsta.

Zloženie sekrétov potných žliaz.

žľaza	anorganická zložka	organická zložka
ekrinná	chloridy	aminokyseliny
	katióny kovov	močovina
	amoniak	kyselina mliečna
	sírany	sacharidy
	fosforečnany	kreatinín
	voda > 98 %	cholín
holokrinná		kyselina močová
		mastné kyseliny
		glyceridy
apokrinná	železo	uhľovodíky
	voda	alkoholy
		bielkoviny
		sacharidy
		cholesterol

Chemické metódy používané na zviditeľňovanie latentných odtlačkov možno rozdeliť metódy, ktoré zahŕňajú chemické reakcie, a tie, ktoré sú založené na intermolekulových silách na vytvorenie adhézie (prilnavosti). Optimálna metóda musí byť jednoduchá, lacná, citlivá a spoľahlivá, zviditeľnené odtlačky musia byť stále, hoci sa dajú ľahko uchovať pomocou fotografií. V nasledujúcich úlohách sa budeme venovať metódam zahŕňajúcim chemické reakcie.

Úloha 1

Aminokyseliny sú vďaka svojej vysokej stabilite najžiadanejšou zložkou latentných odtlačkov prstov na papieri, majú vysokú afinitu k celulóze, hlavnej zložke papiera, nestrácajú sa z povrchu papiera a ich koncentrácia v odtlačkoch prstov sa nemení v čase, ako je to napríklad v prípade kyseliny močovej alebo anorganických solí. Na ich zviditeľňovanie sa najčastejšie používa roztok ninhydrínu. Hlavná výhoda ninhydrínu spočíva v jeho schopnosti vizualizovať latentné odtlačky prstov s nízkou koncentráciou aminokyselín, čo zodpovedá obsahu asi 250 ng v odtlačku, na papieri. Ninhydrínová reakcia poskytuje produkt s vysokým molárnym extinkčným koeficientom za veľmi miernych reakčných podmienok.

- a) Nakreslite reakčnú schému ninhydrínovej reakcie. Akým mechanizmom táto reakcia prebieha?
- b) Akej farby je produkt tejto reakcie? Ako sa tento produkt volá (triviálnym názvom)?
- c) Produkt ninhydrínovej reakcie je tmavej farby, takže odtlačky sú zle viditeľné na tmavých povrchoch. Po komplexácii so soľami kovov (napríklad chlorid zinočnatý) vznikne koordinačná zlúčenina, ktorá silno fluoreskuje pod argónovým laserom. Nakreslite štruktúru tohto komplexu.
- d) V ktorej oblasti chémie, okrem daktyloskopie, sa ninhydrínová reakcia využíva a na čo?

Úloha 2

Ďalšími zviditeľňovacími činidlami latentných odtlačkov prstov sú: danzylchlorid, lawson, DFO, DMAB, NBD-fluorid, dabzylchlorid, ktoré reakciou s aminokyselinami poskytujú fluoreskujúce produkty.

- a) Nakreslite štruktúry uvedených činidiel a vyznačte v molekulách miesto reakcie s aminokyselinami.
- b) Aspoň pre jedno činidlo napíšte reakciu vzniku fluoreskujúceho produktu. Uveďte aj jeho farbu.

Úloha 3

Už v roku 1933 sa v USA použil dusičnan strieborný na zviditeľnenie latentného odtlačku prsta, pomocou ktorého bol usvedčený únosca generálneho riaditeľa pivovarníckej spoločnosti.

Postup zviditeľnenia odtlačku pomocou AgNO_3 je veľmi jednoduchý. Vodný roztok dusičnanu strieborného (5 %) sa nastrieka na povrch papiera alebo lepenky s latentným odtlačkom. Papier sa nechá zaschnúť, pričom je vystavený slnečnému žiareniu alebo UV žiareniu. Objaví sa farebný obraz papilárnych línií.

- a) Vysvetlite chemické deje za zviditeľnením odtlačku. Deje zapíšte chemickými rovnicami.
- b) Akej farby bude zviditeľnený odtlačok?

Úloha 4

Latentný odtlačok sa môže zviditeľniť aj reakciami jednoduchých chemických činidiel s holokrinnými zložkami odtlačku.

- a) V minulosti sa používal na zviditeľňovanie latentných odtlačkov oxid osmičelý a oxid ruteničelý. Aký bol princíp zviditeľňovania týmito činidlami? Zapište tieto deje chemickými rovnicami. Uveďte farby zviditeľnených odtlačkov. Aké boli nevýhody používania týchto činidiel?
- b) Latentné odtlačky sa môžu vystaviť aj parám jódu. Chemický dej zapište chemickou reakciou. Je táto metóda vyhovujúca na zviditeľňovanie latentných odtlačkov? Aké sú jej výhody a nevýhody?