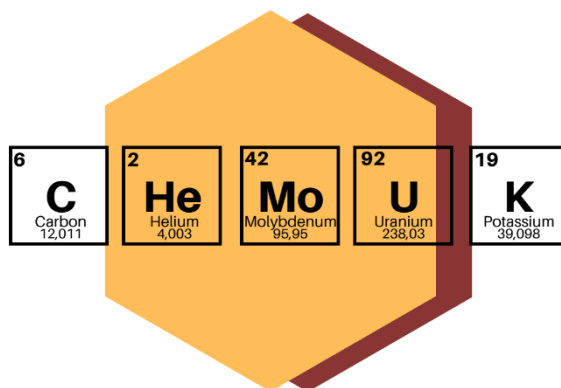


Korešpondenčný seminár z chémie
pre stredné školy



2020/2021

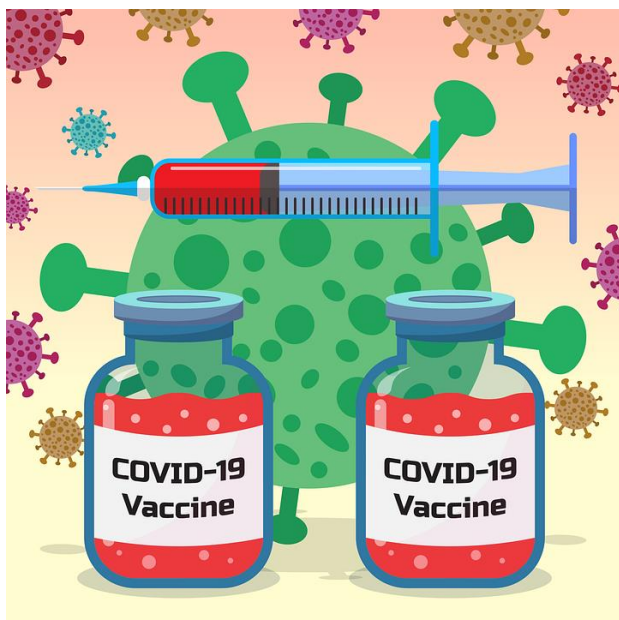
2. kolo



Problém 1

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

Táňa Sebechlebská (tana.sebechlebska@uniba.sk)



V týchto dňoch sa začína očkovať v EÚ proti vírusu SARS-CoV-2 (Covid-19). V tejto úlohe sa budeme zaoberať rôznymi fyzikálno-chemickými vlastnosťami roztokov používaných vo vakcínach (ale platia aj pre iné fyziologické roztoky): udržanie fyziologického pH, osmotický tlak a výpočet stability látky v čase.

Tlmivé roztoky (pufre)

Pre udržanie správneho pH roztoku sa používajú tlmivé roztoky (pufre, angl. buffers). Jedná sa o konjugovaný pár kyseliny alebo zásady a jej soli. Po pridaní kyseliny/zásady do takéhoto roztoku sa jeho pH nemení, alebo sa mení len minimálne. Samozrejme, tieto látky majú tiež svoj rozsah a kapacitu, v ktorej dokážu dané pH udržať.

Úloha 1.

A. Aké je fyziologické pH, ktoré sa udržuje v organizme človeka?

B. Uveďte príklad látky, ktorá sa prirodzene vyskytuje v ľudskom organizme a slúži ako tlmivý roztok. Napíšte aj jej konjugovaný pár.

C. Vyhľadajte zloženie vakcíny spoločností Pfizer and BioNTech a Moderna a určite konjugovaný systém.

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, MgCl₂ 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.

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

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.

Kinetika degradácie vakcín

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.

Odvedenie rovnice pre výpočet aktivačnej energie:

pre teplotu T_1 platí Arrheniova 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 aktivačnej energie E_A :

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

Ešte však potrebujeme určiť pomer rýchlostných konštánt. Na to nám posluží 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).

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

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

Referencie:

1. <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1045105609001158?token=1B771B6C6738A9C05C51424A795F0F343EE93A31B71A4BD8D7EA3576905EC4AA212A22E307A52CFFD7202AB32853D98D>
2. <https://www.fda.gov/media/144413/download>
3. <https://www.fda.gov/media/144637/download>

Problém 2

Separácia látok kvapalinovou chromatografiou

Radoslav Halko (radoslav.halko@uniba.sk)

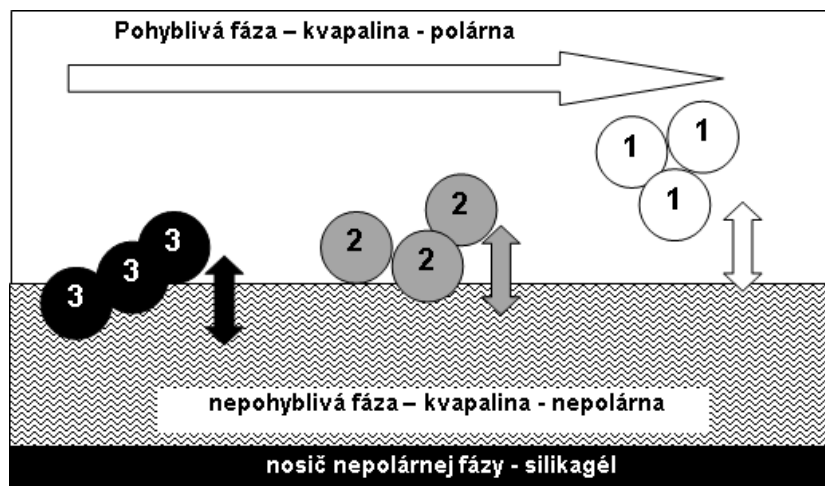
Chromatografia je separačná metóda, v ktorej sa jednotlivé zložky vzorky počas transportu v chromatografickom prostredí prerozdeľujú (distribuuju) v rôznej miere (podľa vzájomnej afinity) medzi dve fázy, z ktorých jedna je nepohyblivá (stacionárna fáza), zatiaľ čo druhá - pohyblivá (mobilná) fáza sa pohybuje cez stacionárnu fázu definovaným smerom. Všeobecne majú obidve tieto fázy nejednotnú mikroheterogénnu povahu. Svojím určením je chromatografia predovšetkým kvalitatívna a kvantitatívna metóda na separáciu a stanovenie organických aj anorganických látok nepolárnej, polárnej resp. iónovej povahy prítomných vo vzorkách vo vysokých aj nízkych koncentráciách.

Chromatografický proces je výsledkom početného opakovania sa základných dejov počas pohybu zložiek lôžkom pórovitej stacionárnej fázy, ktoré je v kolónových technikách valcovité a v tenkovrstvových technikách plošné.

Kvapalinová chromatografia

V kvapalinovej chromatografii (LC) je mobilnou fázou kvapalina, kde o separácii zložiek vzorky rozhodujú ich interakcie so stacionárnou fázou, ako aj s použitou mobilnou fázou. Počas separácie sa analyt (separovaná látka) rozdeľuje medzi mobilnú a stacionárnu fázu. Čas, ktorý zotrva v jednej resp. druhej fáze, závisí od afinity analytu ku každej z nich. V LC sa môžu uplatniť nasledujúce separačné mechanizmy: adsorpcia, rozdeľovanie na základe rôznej rozpustnosti, iónová výmena, molekulový sieťový efekt, resp. špecifické interakcie v afinitnej chromatografii.

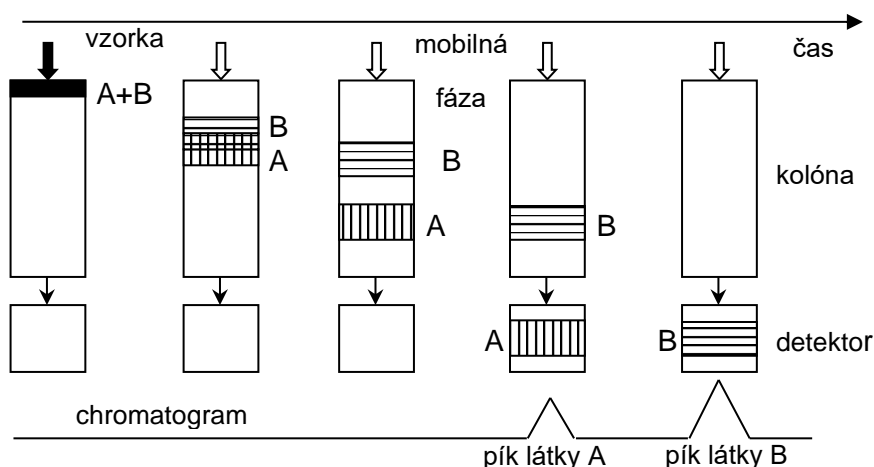
Chromatografiou v systéme obrátených fáz (reversed-phase liquid chromatography, RP-LC) označujeme všetky také kombinácie stacionárnej a mobilnej fázy, pri ktorých má mobilná fáza (jednoduché rozpúšťadlo alebo zmes vzájomne miešateľných rozpúšťadiel) polaritu väčšiu ako stacionárna fáza. V RP-LC sa látky delia všeobecne podľa veľkosti ich nepolárnych funkčných skupín v dôsledku ich odpudzovania od vodnej štruktúry na nepolárny povrch stacionárnej fázy, kde sa stabilizujú disperznými interakciami a vykazujú väčšiu retenciu (zadržanie). Prítomnosť polárnych a iónových funkčných skupín naproti tomu podporuje interakcie s polárnym rozpúšťadlom (napr. tvorbou vodíkových mostíkov, hydratáciou a pod.) a skracaie čas zadržania analytu v stacionárnej fáze (obrázok 1).



Obr. 1 Princíp rozdeľovacej kvapalinovej chromatografie v RP-HPLC systéme

1 – molekula polárnej látky; 2 – molekula stredne polárnej látky a 3 – molekula nepolárnej látky.

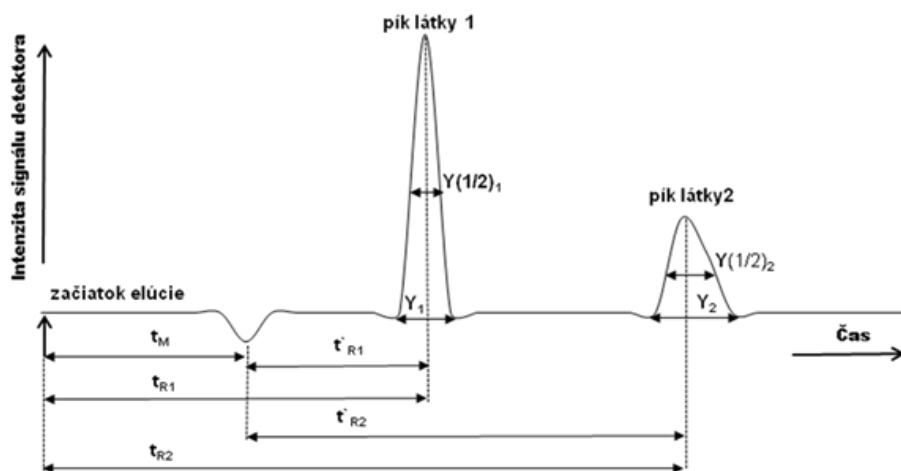
Najrozšírenejšou technikou LC, z pohľadu prevedenia chromatografického experimentu, je **elučná chromatografia** (obrázok 2), ktorá je založená na jednorazovom nadávkovaní vzorky do kolóny a vymývaním jej zložiek mobilnou fázou. Objem dávkovanej vzorky predstavuje do 1% objemu chromatografickej kolóny. Použitá mobilná fáza by mala mať k stacionárnej fáze menšiu afinitu ako afinita separovaných látok k stacionárnej fáze. Poradie separovaných látok určuje interakcia medzi molekulami separovanej látky, stacionárnej fázy ako aj mobilnej fázy. Počas separačného procesu sú jednotlivé koncentračné zóny separovaných látok v chromatografickej kolóne oddelené zónou mobilnej fázy. Na výstupe z chromatografickej kolóny sa potom pomocou vhodného detektora deteguje prítomnosť látok v mobilnej fáze.



Obr. 2 Princíp elučnej chromatografie

Získaný chromatografický záznam z detektora sa nazýva chromatogram (obrázok 3).

Chromatogram je analyticky využiteľný signál (analytický signál), ktorý získame po uskutočnení chromatografického experimentu. Je to záznam koncentračného alebo hmotnostného profilu zložiek vzorky (závisle premenný parameter) ako funkcie pohybu mobilnej fázy (nezávisle premenný parameter), alebo času prejdeného od začiatku experimentu (elučný čas). Ako každý analytický signál aj chromatogram, meraný vhodne zvoleným a od priebehu separácie nezávislým detektorom (detekčným systémom).



Obr. 3 Chromatogram delenia dvojsložkovej zmesi

Kvalitatívna analýza

Na potvrdenie neznámeho analytu je podstatná poloha maxima píku na chromatograme. Túto polohu možno vyjadriť nasledujúcimi elučnými údajmi.

Medzi základné elučné charakteristiky v kolónovej LC zaraďujeme:

Elučný čas t_R je časový interval, ktorý uplynie od okamihu nadávkovania vzorky do chromatografického systému, až kým sa z kolóny nevymyje maximálna koncentrácia separovanej látky.

Mŕtvy čas kolóny t_M je elučný čas látky, ktorá nemá žiadnu afinitu ku stacionárnej fáze t. j. v kolóne sa nezadržiava a preniká ňou rovnakou rýchlosťou ako mobilná fáza. Niekedy sa označuje aj ako čas inertného píku.

Redukovaný elučný čas t'_R je charakterizovaný ako rozdiel hodnôt elučného času t_R a mŕtveho času kolóny t_M :

$$t'_R = t_R - t_M$$

Je to čas, počas ktorého separovaná látka zotrúva v interakcii so stacionárnou fázou. Redukovaný elučný čas t_R' má vždy menšiu hodnotu ako elučný čas t_R .

Pre optimalizáciu chromatografickej separácie je dôležitým parametrom pomer času, ktorý analyt zotrúva v stacionárnej fáze ku času, ktorý zotrúva v mobilnej fáze. Tento pomer sa nazýva **retenčný faktor k** separovanej látky a je definovaný rovnicou:

$$k = t_R' / t_M$$

Retenčný faktor k je nezávislý od rozmerov kolóny, ale závisí od výberu látky, ktorá sa používa pre určenie t_M . Retenčný faktor k umožňuje priame porovnanie a prenos údajov medzi rôznymi kolónami za inak rovnakých pracovných podmienok, ale pri ich rôznych rozmeroch.

Z princípu chromatografie vyplýva, že retenčný faktor k súvisí s distribúciou molekúl separovanej látky medzi stacionárnu a mobilnú fázou:

$$k = n_s / n_m$$

kde n_s je počet molov analytu prítomného v nepohyblivej fáze a n_m je počet molov analytu prítomného v pohyblivej fáze.

V kolónovej chromatografii sa porovnávajú elučné charakteristiky zložiek vzorky s elučnými charakteristikami štandardov látok analyzovaných pri rovnakých podmienkach.

Kvantitatívna analýza

Základným parametrom kvantitatívnej analýzy zložiek vzorky po ich separácii kolónovou chromatografiou je plocha elučného píku. Z výšky píku je tiež možné určiť kvantitatívne zloženie vzorky, ale tento parameter sa v praxi využíva iba ojedinele. V kvantitatívnej analýze je dôležité určenie vzťahu medzi veľkosťou signálu detektora a obsahom zložky vo vzorke. Keďže citlivosť detektora pre jednotlivé zložky vzorky nie je známa, zisťuje sa analyzovaním štandardov. Pri kalibrácii odozvy detektora sa používa niekoľko techník, napr. metóda kalibračnej priamky, metóda vnútorného štandardu a metóda prídavku štandardu.

RP-LC SEPARÁCIA AROMATICKÝCH HYDROXYZLÚČENÍN A KYSELINY GALOVEJ

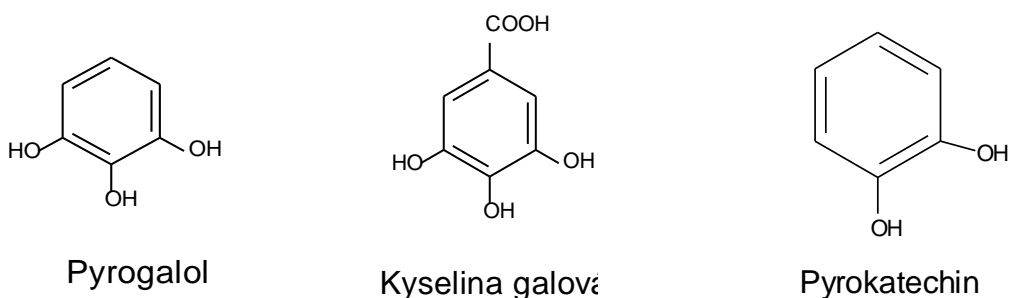
Aromatické hydroxyzlúčeniny – viacsýtne fenoly a substituované karboxylové zlúčeniny sú v prírode prítomné ako nízkomolekulové zložky metabolizmu rastlín a živočíchov alebo tvoria súčasť niektorých biopolymérov. Napríklad základnou štruktúrnou zložkou tanínu je pentagaloylglukóza, z ktorej je možné uvoľniť kyselinu galovú varom so zriedenou kyselinou

sírovou. Tento proces kombinovaný s následnou komplexnou reakciou voľnej kyseliny galovej s Fe^{3+} bol po dve posledné tisícročia využívaný na výrobu modrého atramentu tzv. dubienkového atramentu (galnut ink). Polyhydroxyaromatické zlúčeniny a polyhydroxy- a polykarboxyaromatické zlúčeniny sú tiež základnými stavebnými štruktúrami humínových látok (obrázok 4).

Pyrogalol (benzén-1,2,3-triol) sa vyrába zahrievaním kyseliny galovej na vzduchu (dekarboxyláciou). V zásaditom prostredí v dôsledku priberania kyslíka hnedne a mení sa na hexahydroxybifenyľ. Táto reakcia sa využíva pre stanovenie kyslíka pri rozboře plynov. Pyrogalol sa používa aj ako fotografická vývojka a surovina pre organické syntézy.

Kyselina galová (kyselina 3,4,5-trihydroxybenzoová) sa využíva pre spektrofotometrické stanovenie Fe a Ce ako aj pre gravimetrické stanovenie Nb.

Pyrokatechin (tiež pyrokatechol, benzén-1,2-diol) sa využíva v organických syntézach. V minulosti sa využíval ako zložka čiernobielych fotografických vývojkov.



Obr. 4 Štruktúrne vzorce študovaných hydroxyzlúčenín

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.

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.

Úloha 3.

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

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 pyrogalol, 4,5 min pre kyselinu galovú a 6,0 min pre pyrokatechin.

Úloha 5.

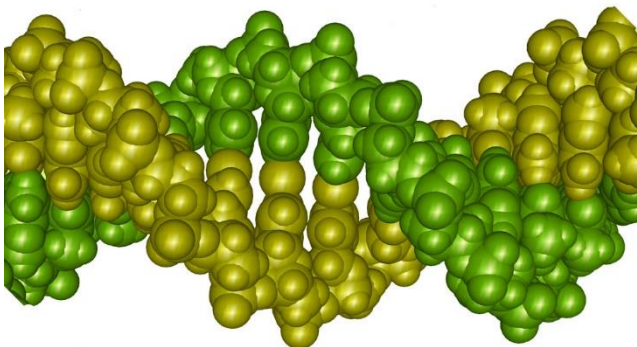
Ako sa zmenia hodnoty elučných časov a retenčných faktorov uvedených separovaných látok z úlohy 4, ak použijeme rovnaký typ chromatografickej kolóny len dvojnásobnej dĺžky?

Problém 3

Liečime blokovaním syntézy DNA

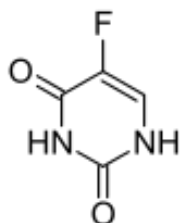
Peter Polčic (*peter.polcic@uniba.sk*)

V molekulách deoxyribonukleovej kyseliny (DNA) je uložená genetická informácia, ktorá slúži ako predpis pre syntézu bunkových proteínov a RNA. DNA sa pred každým bunkovým delením skopíruje v procese, ktorý nazývame replikácia DNA. Pri replikácii sa dvojitá DNA rozptie a ku každému vláknu je



enzýmom DNA-polymerázou z nukleozidtrifosfátov syntetizované komplementárne vlákno. Tým vzniknú dve dvojitá DNA s rovnakým poradím nukleotidov.

Úloha 1: Napíšte chemickú rovnicu pripojenia jedného nukleotidu do molekuly DNA. (Použite vlákno DNA, ktoré má na príslušnom konci A, a v reakcii pripojte G.)



Viacero liečiv funguje na báze inhibície syntézy DNA. 5-Fluóruracil je látka, ktorá inhibuje syntézu deoxytymidínmonofosfátu z deoxyuridínmonofosfátu enzýmom tymidylátsyntázou.

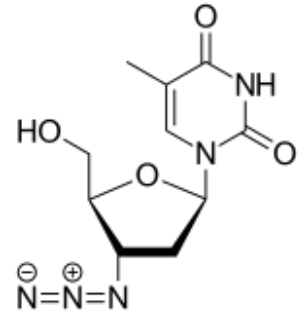
Úloha 2: Pokúste sa vysvetliť akým spôsobom ovplyvňuje 5-fluóruracil syntézu DNA.

Úloha 3: Akým spôsobom ovplyvňuje 5-fluóruracil syntézu RNA?

Úloha 4: Prečo je možné 5-fluóruracil použiť ako liečivo proti nádorom (pomôcka: uvedomte si aký je základný rozdiel medzi nádorovými a zdravými bunkami).

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

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?

Úloha 7: Prečo táto zlúčenina inhibuje syntézu DNA?

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.

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.

Problém 4

Cielená syntéza 1 – Syntéza jednoduchých antipyretík a analgetík

Samuel Andrejčák (*andrejcak6@uniba.sk*)

Henrieta Stankovičová (*henrieta.stankovicova@uniba.sk*)

Dnešný farmaceutický priemysel sa vyvinul prevažne z chemického priemyslu. Ako naznačujú tieto korene, chémia bola kľúčovou zložkou pri objavovaní liekov, ktoré sa zameriavali na utlmenie bolesti, liečbu zápalov a infekčných chorôb. Cieľom farmaceutického priemyslu bolo vždy vyvinúť bezpečný a účinný liek.

Pôvod antipyretickej a analgetickej liečby nie je známy. Keď v roku 323 p. n. l. zasiahla Alexandra Veľkého záhadná horúčkovitá choroba, ktorá by ho pripravila o život, predpísali mu babylonskí lekári, ktorí sa o neho starali, chladivé kúpele ako liečbu jeho neutíchajúcej horúčky. Farmakologická liečba horúčky siaha tiež hlboko do histórie. Kamenné tabule pochádzajúce zo sumerského obdobia opisujú použitie vrbových listov asýrskymi lekármi na liečbu zápalových reumatických chorôb. Eberský papyrus (okolo roku 1500 p. n. l.) potvrdzuje, že starí Egypťania si boli vedomí aj antipyretických vlastností listov vrby a používali ich na liečbu rôznych zápalových ochorení. Podľa papyrusu, keď „je zapálená rana... [existuje] koncentrácia tepla; okraje tejto rany sú začervenané a človek je v dôsledku toho horúci ... potom mu musíte



pripraviť chladiace látky, aby odčerpali teplo ... listy vrby. “ Hippokrates, takmer určite ovplyvnený egyptskou lekárskou doktrínou, odporučil použitie výťažkov z vrbovej kôry na zmiernenie pôrodných bolestí (vtedajšia „ružová“ pilulka) a na zníženie horúčky. Listy a kôra vrby, podobne ako listy myrty a množstvo ďalších rastlinných extraktov, obsahujú kyselinu salicylovú. Rimania zjavne používali tieto rastliny na liečbu bolesti a možno aj horúčky, rovnako ako starí Číňania a domorodí Američania a juhoafrickí Hotentoti . Prvý vedecký opis klinického použitia antipyretických rastlinných extraktov sa všeobecne pripisuje reverendovi Edwardovi Stoneovi , ktorý v roku 1763 predložil list Kráľovskej spoločnosti v Londýne popisujúci úspešné liečenie zimničnej (archaický výraz pre maláriu a ďalšie ochorenia) horúčky s výťažkami z vrbovej kôry.

V roku 1829 francúzsky lekárnik Leroux izoloval z vŕby obyčajnej salicín v čistej forme a preukázal jeho antipyretické vlastnosti. O deväť rokov neskôr taliansky chemik Piria hydrolyzoval salicín na salicylový alkohol, z ktorého pri ďalšej chemickej manipulácii vznikala kyselina salicylová.



V tom istom roku dvaja Nemci, Kolbe a Lautemann, zdokonalili postup komerčnej syntézy kyseliny salicylovej. Hermann Kolbe vyriešil chemickú štruktúru kyseliny salicylovej, ktorú syntetizoval prvýkrát takmer o 20 rokov skôr v roku 1859. Ako výsledok ich práce bolo, že bolo možné vyrobiť kyselinu salicylovú v priemyselnom meradle za desatinu nákladov v porovnaní s jej extrakciou z vŕbovej kôry. V relatívne krátkom čase si salicylan sodný, komerčná forma kyseliny salicylovej, získal širokú popularitu ako liek na mnohé zápalové stavy, vrátane reumatickej horúčky, reumatoidnej artritídy a dny. Bohužiaľ, táto zlúčenina mala množstvo nepríjemných vedľajších účinkov, medzi ktoré patrilo podráždenie žalúdka a nepríjemná chuť. Z tohto dôvodu pre mnoho pacientov nebol liek tolerovateľný.

Jedným z takýchto pacientov bol otec mladého chemika menom Felix Hoffman (obrázok vľavo), ktorý bol potom zamestnaný v spoločnosti Friedrich Bayer and Co. v Elberfelde v Nemecku. Aj keď v tom čase bol Bayer v zásade výrobcom farbív, začal oceňovať a využívať farmakologické vlastnosti niektorých vedľajších produktov procesu výroby farbív. Hoffman



bol iba jedným z mnohých talentovaných chemikov, ktorí pomohli spustiť farmaceutický program spoločnosti Bayer. Jeho otec, ktorý dlhodobo trpel artritídou, mu dal zvláštny podnet, aby zameril svoju počiatočnú pozornosť na kyselinu salicylovú v nádeji, že mu vznikne chutnejší derivát. V auguste 1897 sa mu to podarilo acetyláciou fenolovej časti zlúčeniny za vzniku kyseliny acetylsalicylovej. Heinrich Dreser (obrázok vpravo), vedúci farmakologických laboratórií v spoločnosti Bayer v čase keď sa Hoffmanovi podarilo syntetizovať kyselinu acetylsalicylovú, si dobre uvedomoval skutočnosť, že acetylácia určitých liekov sa môže zvýšiť ich účinnosť aj znížiť ich toxicitu. Rozpoznal obrovský potenciál Hoffmanovho objavu a 1. februára 1899 zaregistroval nový liek pod názvom „Aspirín“. Od začiatku 20. storočia bolo objavených množstvo antipyretík a analgetík, ktoré sú začlenené do liekopisu.

Zdroje:

Mackowiak P.A, Brief History of Antipyretic Therapy, *Clin.Infect. Dis.* **2000**, 31, S154–S156, <https://doi.org/10.1086/317510>.

Brune K., Hinz B. History of Analgesics. In: *Gebhart G.F., Schmidt R.F. (eds) Encyclopedia of Pain*. Springer, Berlin, Heidelberg (2013). https://doi.org/10.1007/978-3-642-28753-4_1766.

Úloha 1 (25 b)

Vašou úlohou je pomocou jednoduchých chemických reakcií pripraviť tri zlúčeniny, ktoré sa používajú ako antipyretiká a analgetiká. Do schémy uvedenej nižšie doplňte reaktanty a medziprodukty viackrokovej syntézy. Liečivá **1-3** (zlúčeniny **D**, **G**, **N**) pomenujte systémovým názvom a priradte k nim komerčné názvy liekov (aspoň jeden), pod ktorými si ich môžete zakúpiť. Zodpovedajte na dodatočné otázky k syntéze, ktoré vám zároveň poslúžia ako pomoc pri ich riešení.

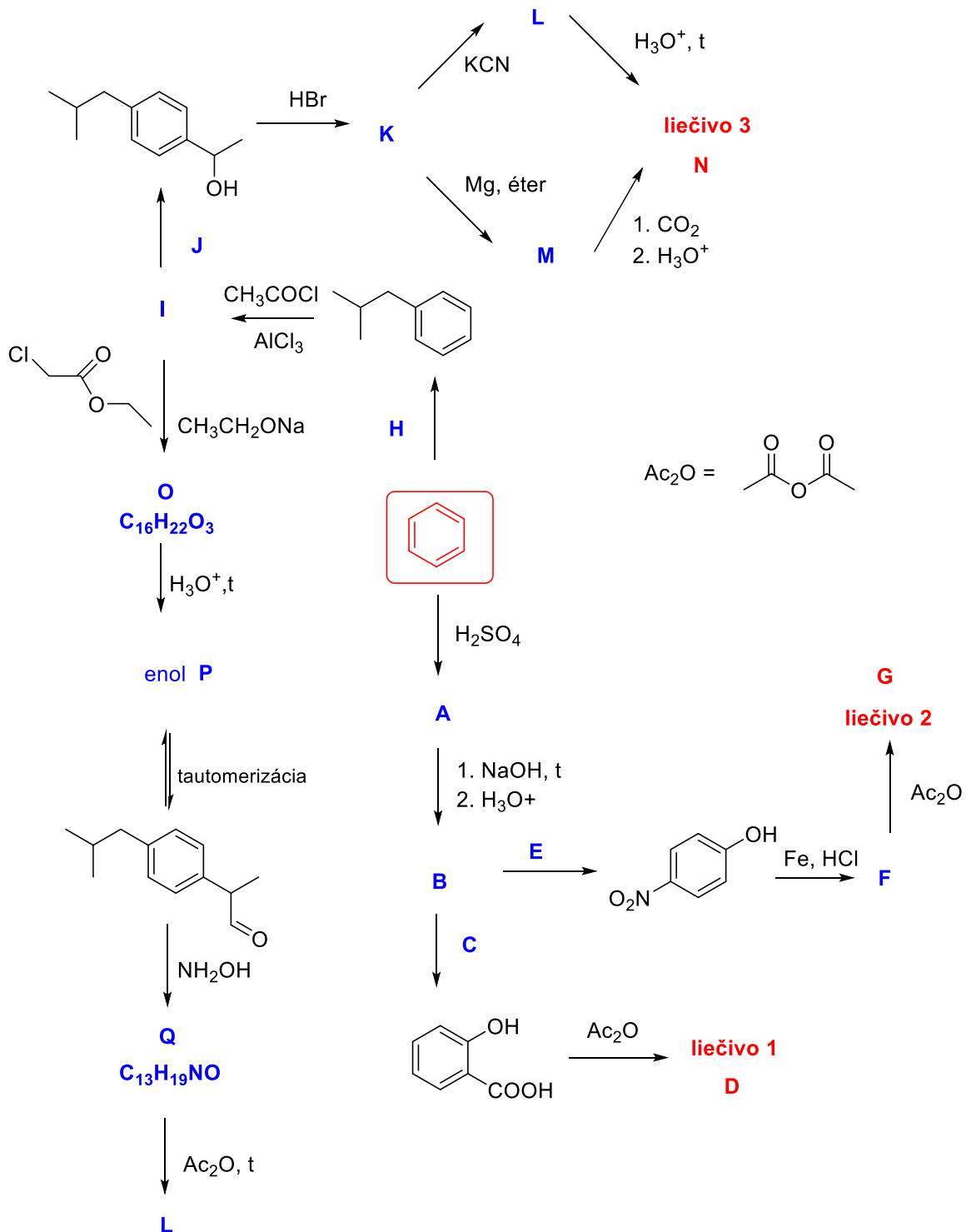
- a) Zlúčenina **K** vzniká substitučnou reakciou. Rozhodnite či ja jedná o S_N1 alebo S_N2 mechanizmus. Svoje rozhodnutie zdôvodnite.
- b) Zlúčenina **L** vzniká substitučnou reakciou z **K**. Vysvetlite prečo pre vznik **L** potrebujeme látku **K** ako medzistupeň.
- c) Zlúčenina **N** (liečivo 3), vzniká kyslou hydrolyzou **L** pri zvýšenej teplote. Ako by sa produkt líšil, keby ste reakciu uskutočnili v bázických podmienkach? Aký krok by sme po bázickej hydrolyze, aby sme dostali produkt **N**?
- d) Zlúčenina **M** je veľmi známe a často používané tzv. organokovové činidlo. Napíšte jeho názov. Prečo sa reakcia uskutočnila v éteri resp. prečo si vyžaduje použitie aprotického rozpúšťadla? Reaguje takéto činidlo ako nukleofil či elektrofil?
- e) Keby ste pri vzniku **N** (liečivo 3) z **M** vynechali druhý krok (okyslenie), váš produkt by bol vo forme soli. Akú štruktúru by mal kation?
- f) Reakcia vzniku zlúčeniny **I** je známa ako Friedelova-Craftsova acylácia. V čom je jej výhoda oproti Friedelovej-Craftsovej alkylácii? Vysvetlite regioselektivitu reakcie, pričom do úvahy zoberte elektrónové aj priestorové efekty.
- g) Zlúčenina **O** vzniká Darzensovou reakciou za prítomnosti silnej bázy. Nasleduje kyslá hydrolyza, pričom sa vyvíja plyn a vzniká produkt **P**. Aký plyn vzniká?
- h) Nesubstituovaný benzén je slabší nukleofil preto ak chceme na neho zaviesť substituent, reakcia musí prebiehať so silným elektrofilom. Napíšte aká elektrofilná častica reaguje s benzénom za vzniku produktu **A**.

i) Vznik kyseliny salicylovej z **B** sa nazýva Kolbeho proces. Vysvetlite vznik regioizoméru resp. favorizovaný vznik 1,2-substituovaného benzénu.

j) V prípade vzniku **D** (liečivo 1) sú možné dva rôzne produkty. Napíšte ich a vysvetlite, ktorý z nich bude prednostne vznikať. Rovnako tak urobte v prípade vzniku **G** (liečivo 2).

k) Činidlo **E** generuje silnú elektrofilnú časticu. Napíšte jej štruktúru.

l) Produkt **F** vzniká redukciou, kde sa využívajú piliny železa a kyselina chlorovodíková na generovanie redukčného činidla. Napíšte jeho štruktúru.



Úloha 2 (max. 5 b, bonusová úloha)

Vaša ďalšia úloha bude praktická. Spomínané liečivá máme všetci doma a bežne ich používame. V tabletkách sa okrem aktívnej látky nachádzajú rôzne prísady alebo výplne. Vašou úlohou bude izolovať aktívnu zložku lieku, konkrétne ibuprofenu, v čistej forme. Napriek tomu, že kuchyňa sa stane dočasne vašim laboratóriom, dodržiavajte bezpečnosť pri práci t.j. ochrana očí, rúk a nič nekonzumujte. Maximálny počet bodov za celú úlohu je 25 bodov. Pokiaľ bude úloha jedna vyriešená nad 20 bodov, maximálny možný počet bodov za bonusovú úlohu bude dopočítaný do súčtu 25.

Pracovný postup:

1. V miske pomocou lyžičky rozdrvte 4 tabletky ibuprofenu na prášok.
2. Prášok preneste do sklenenej nádoby napr. pohára a zalejte 50 ml vriacej vody a zamiešajte.
3. Pridajte 3 kávové lyžičky sódy bikarbóny a miešajte kým pozorujete tvorbu bublín resp. peny. (Pozor generuje sa plyn, robte pri otvorenom okne!)
4. Zostrojte aparáturu na filtráciu. Do väčšieho skleneného pohára (napr. 330 ml alebo 720 ml na zaváraniny) dajte lievik vhodnej veľkosti (aby neprepadol dnu). Do lievika ako filtračný papier posluži tampón na odličovanie (s iným typom tampónu to nefunguje!). Nalejte malé množstvo čistej vody aby sa tampón navlhčil. Lyžičkou ho jemne pritlačte o steny lievika.
5. Prefiltrujte roztok z kroku 3.
6. Nádobu s filtrátom dajte na 15 minút do ľadového kúpeľa (mraznička, nádoba so snehom alebo ľadom).
7. Po uplynutí tejto doby nádobu vyberte a pridajte 30 ml kuchynského octu. Jemne miešajte. (Pozor generuje sa plyn, robte pri otvorenom okne!)
8. Zopakujte krok 7 keď už nepozorujete vznik bublín resp. peny.
9. Pridávajte postupne po kávovej lyžičke kuchynský ocot, pokým roztok nezostáva natrvalo zakalený.
10. Zrazeninu odfiltrujte rovnako ako v kroku 4. Po odfiltrovaní nalejte ešte do lievika 50 až 100 ml čistej vody aby sa váš produkt premyl od octu (pozor, potrebujete čistý tampón na odličovanie).
11. Filtračný tampón spolu so zrazeninou preneste na menší kus papiera a dajte na radiátor vysušiť.
12. Kým sa váš produkt vysuší, všetko dôkladne poumývajte.
13. Suché kryštály ibuprofenu zoškrabte z filtračného tampónu na malý kus papiera alebo do vhodnej nádoby. Takto izolovaný ibuprofen nekonzumujte!

14. Na papier alebo nádobu napíšte „CHEMoUK 2021“, odfotíte a zašlite nám na hodnotenie na email prif.chemouk@uniba.sk.

