



57. ročník #coronaedition

2020/2021

DOMÁCÍ KOLO

Kategorie A/E

Teoretická část – Zadání

A/E 20 bodů



Úvodní slovo k 57. ročníku Chemické olympiády #coronaedition

Milé studentky, milí studenti,

letošní 57. ročník Chemické olympiády proběhne v trochu jiném duchu, než jsme zvyklí. K hlavním odlišnostem bude patřit:

- Odlišný harmonogram, který bude zveřejněn na stránkách Chemické olympiády.
- Přesun všech vyšších kol (kromě domácího kola) do online prostředí, o kterém budeme ještě hovořit níže.
- Praktická část bude v rámci domácího kola ve formě badatelské práce s běžně dostupnými látkami, které najdete v domácnosti. Praktické části ve vyšších kolech budou probíhat online formou. Praktického provedení úloh se za vás zhostili autoři a na vás bude vyhodnotit experimenty a zpracovat výsledky.
- V rámci spojování sil proti pandemii jsme se pro tento ročník rozhodli vytvořit společné zadání pro kategorie A a E, přičemž:
 - Kategorie A bude obsahovat úlohy z anorganické chemie, organické chemie, fyzikální chemie a biochemie a dále pak praktickou část.
 - Kategorie E bude obsahovat oblasti z anorganické, organické a fyzikální chemie, praktickou část společnou s kategorií A a doplňkovou praktickou úlohu v domácím a národním kole.

Právě z důvodu spojení kategorie A a kategorie E bude letos použit jiný systém bodování, než na který jste byli dosud zvyklí. Každá úloha je hodnocena **modrými body**, které mají v celkovém hodnocení pouze relativní hodnotu. Váš celkový **bodový zisk** v dané oblasti se vypočte tak, že se sečtou **modré body**, které jste získali za danou úlohu, podělí se **maximálním počtem modrých bodů**, které můžete za danou úlohu získat, a vynásobí se **maximálním počtem černých bodů získatelných v dané oblasti a kategorii**:

$$\text{bodový zisk} = \frac{\text{modré body získané}}{\text{maximální počet modrých bodů}} \cdot \text{maximální počet černých bodů}$$

Pro lepší orientaci uvedeme dva příklady:

- 1) Olympionik řešící kategorii A obdržel v anorganické chemii celkem **92 modrých bodů**. Maximální počet modrých bodů, které může získat za anorganickou chemii, je **120 modrých bodů**. Celkem je běžný maximální bodový zisk v domácím kole kategorie A anorganické chemie **5 bodů**. Jeho **bodový zisk** z anorganické chemie je tak:

$$\frac{92}{120} \cdot 5 = 3,83$$

- 2) Olympionička řešící kategorii E obdržela ve fyzikální chemii celkem **55 modrých bodů**. Maximální množství modrých bodů, které může získat za fyzikální chemii je **63 modrých bodů**. Celkem je běžný maximální bodový zisk v domácím kole kategorie E fyzikální chemie **8 bodů**. Její **bodový zisk** z fyzikální chemie je tak:

$$\frac{55}{63} \cdot 8 = 6,98$$

Další kola soutěže budou probíhat online na platformě Moodle. Na stránkách Chemické olympiády se v nejbližší době objeví detailnější instrukce a modelové úlohy, abyste si práci v prostředí Moodlu mohli vyzkoušet.

Jsme rádi, že se nám podařilo navzdory všem omezením olympiádu připravit i v letošním roce. Věříme, že naše úsilí oceníte a všichni budete respektovat pravidla čestného chování a fair play.

Vaši autoři a recenzenti



ANORGANICKÁ CHEMIE

A 5 / E 6 BODŮ

Garant

Mgr. Radek Matuška

Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská, p. o.

Autorský a recenzní tým

Vojtěch Laitl

Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v. v. i.

VŠCHT Praha, Fakulta chemicko-inženýrská

Bc. Erik Kalla

Ústav Chemie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity

Jakub Štěpánek

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Mgr. Radek Matuška

Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská, p. o.

Milí soutěžící,

v letošní #coronaedition verzi anorganické chemie se budeme zabývat zejména prvky 13., 15. a 16. skupiny periodické soustavy prvků. Nepůjde ale ani zdaleka pouze o čistý výčet reakcí těchto prvků; při přípravě nezapomeňte na základní chemické výpočty (včetně pH) a základy obecné chemie (trendy v periodické tabulce, hybridizace, strukturní elektronové vzorce apod.). Vzhledem k omezenému času na přípravu po vás nebudou požadovány hluboké znalosti z anorganické chemie výše uvedených skupin, spíše zapojte selský rozum a cit pro chemii.

V následujícím přehledu máte ještě jednou shrnuty kapitoly, o kterých byste měli mít minimálně malé povědomí:

- základy anorganické chemie prvků 13., 15. a 16. skupiny,
- výpočty z obecné chemie včetně výpočtů pH a s tím spojené veličiny,
- obecné trendy v PSP, hybridizace, strukturní (elektronové) vzorce.

Přejeme všem soutěžícím hodně štěstí a zábavy při řešení úloh a věříme, že se spousty z vás se setkáme i osobně (třeba v příštím ročníku chemické olympiády).

Autoři a recenzenti

Doporučená literatura:

1. C. Housecroft, A. G. Sharpe: Anorganická chemie, VŠCHT Praha 2014, kapitola 9 (chemie nevodného prostředí), kapitoly 14–16 (věnující se chemii prvků příslušných skupin).
2. N. N. Greenwood, A. Earnshaw: Chemie prvků, Informatorium 1993, kapitoly 6 (Bor), 7 (Hliník, gallium a indium), 11 (Dusík) a 15 (Síra); alternativně
3. J. Toužín: Stručný přehled chemie prvků, Masarykova univerzita Brno 2008, kapitoly 5 (prvky 13. skupiny), 7 (prvky 15. skupiny) a 8 (prvky 16. skupiny).
4. Byl jednou jeden vesmír: <https://www.televizeznam.cz/porad/byl-jednou-jeden/byl-jednou-jeden-vesmir-1250691>.



Vzorečkovník

Tento vzorečkovník si vytiskněte i pro všechna navazující kola

Stavová rovnice ideálního plynu

$$p \cdot V = n \cdot R \cdot T$$

Rovnovážná konstanta reakce $mM + nN \rightarrow rR + sS$

$$K = \frac{a_R^r \cdot a_S^s}{a_M^m \cdot a_N^n} \approx \frac{[R]^r \cdot [S]^s}{[M]^m \cdot [N]^n}$$

Závislost rovnovážné konstanty na teplotě

$$\ln \frac{K(T_2)}{K(T_1)} = \frac{\Delta_r H}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$

Definice pH

$$\text{pH} = -\log[\text{H}_3\text{O}^+]$$

Definice p(čehokoliv)

$$\text{p(čehokoliv)} = -\log(\text{čehokoliv})$$

Iontový součin vody (při 25 °C)

$$K_w = [\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{OH}^-] = 1,0 \cdot 10^{-14}$$

Disociační konstanta slabé kyseliny HA

$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Disociační konstanta slabé báze B

$$K_b = \frac{[\text{HB}^+] \cdot [\text{OH}^-]}{[\text{B}]}$$

Součin rozpustnosti málo rozpustné soli $M_m N_n$

$$K_s = [\text{M}^{n+}]^m \cdot [\text{N}^{m+}]^n$$

Rovnovážná konstanta navazujících reakcí

Nechť reakce $A \rightarrow B$ má rovnovážnou konstantu K_1 a reakce $B \rightarrow C$ rovnovážnou konstantu K_2 . Pak reakce $A \rightarrow C$ má rovnovážnou konstantu $K = K_1 K_2$.

**Úloha 1 Čpavek****41 bodů**

„Má analýza ukazuje, že na planetě jsou v hojné míře přítomny uhlík, vodík, kyslík, dusík a fosfor, prvky souhrnně známé jako aminokyseliny.”

„Počkej, Metro, tak jednoduché to zase není!”

Byl jednou jeden vesmír (upraveno)

Citát pochází z francouzského animovaného vědecko-fantastického seriálu o dobývání vesmíru v nedaleké budoucnosti. Vztahuje se k příběhu o průzkumném letu k neznámé planetě, na které vyslanci planety Omega doufají nalézt vyvinutý život. Spolu se dvěma lidskými průzkumníky je na palubě hvězdoletu Vážka android Metro, robot, který se nikdy nemýlí, ale občas udělá výjimku.

- 1) Předpokládejme, že aminokyseliny hypotetických obyvatel neznámé planety jsou identické s proteinogenními aminokyselinami člověka. Jaký prvek z úvodního citátu zařadil Metro do jejich složení chybně? Kde jej v (lidském) organismu spíše nalezneme? Jaký prvek tvoří lidské aminokyseliny naopak ve výčtu chybí?**

Samotná skutečnost, že v atmosféře nebo na povrchu jisté planety jsou přítomny tyto biogenní prvky, však sama o sobě samozřejmě nemusí ukazovat na přítomnost života ve formě, jakou známe ze Země. Zde je život podmíněn mimo jiné přítomností oceánů kapalné vody, biogenní prvky však tvoří i řadu jiných anorganických sloučenin, které mohou vytvářet na planetách laguny kapalin, nebo i moře. Pro nalezení příkladu přítomnosti není nutné ani opustit hranice sluneční soustavy.

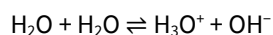
Vědecký výzkum dvou pozoruhodných měsíců Saturnu, Titanu a Enceladu, ukázal, že na jejich povrchu se s velkou pravděpodobností nacházejí oceány tvořené dvěma jinými hydridy *p*-prvků, methanem a amoniakem. Nasnadě však je, že podmínky v těchto systémech musejí být v tom případě zásadně odlišné od těch, ve kterých žijeme zde na Zemi.

- 2) Jaká nejvyšší teplota musí přibližně panovat na planetě (nebo měsíci), aby umožnila přítomnost oceánu amoniaku? Jak je to v případě methanu? Uvažujte normální tlak. Mohl by amoniak v oceánu methanu zmrznout?**

Vznik organického života v těchto podmínkách v principu samozřejmě možný je, jako anorganické chemiky nás však nejen v tomto kontextu musí zajímat odlišnosti chemie zmíněných nevodných prostředí od chování vodných roztoků, na jaké jsme zvyklí. Zejména amoniak však s vodou vykazuje i některé podobnosti.

- 1) Jaká velmi významná nevazebná interakce se projevuje v kapalném amoniaku i vodě (kde je například zodpovědná za takzvanou její anomálii)? Nakreslete schematicky její působení mezi několika molekulami vody i amoniaku. Použijte elektronové vzorce a dejte si pozor na správné tvary obou molekul.**
- 2) Proč methan tuto interakci nevykazuje? Jakou nevazebnou komunikaci mezi molekulami methanu v kapalně fázi považujete za dominantní?**

Amoniak i voda jsou, na rozdíl například od methanu, rozpouštědly polárními. Tato vlastnost se projevuje mimo zmíněnou nevazebnou interakci také výraznými solvatačními vlastnostmi, jimž se budeme věnovat v navazujících úlohách. Jako do jisté míry extrémní příklad obojího lze vnímat jejich autoprotolýzu, pro vodu vyjádřenou notoricky známou rovnicí:



Pozorování zapsané touto rovnicí lze zobecnit na libovolné polární rozpouštědlo. Dvě nebo více molekul rozpouštědla (solventu) při autoprotolýze reaguje za vzniku (solvo)kyseliny a (solvo)zásady. V protických



rozpouštědleh je solvokyselina typicky brána jako komplex rozpouštědla a vodíkového protonu, a tedy nejsilnější forma volných kyselin, s níž lze v daném prostředí pracovat.

- 3) Zapište autoprotolýzu kapalného amoniaku, označte solvokyselinu a solvozásadu. Jaká je nejsilnější možná kyselina, již lze rovnovážně udržet v kapalném NH_3 ?**

Z běžné chemické zkušenosti víme, že species, jakou jste označili jako solvokyselinu, není sama o sobě ve vodném prostředí nijak silnou kyselinou ($\text{p}K_{\text{A}} = 9,25$). To je v souladu s acidobazickými vlastnostmi amoniaku, který se chová jako výrazně bazičtější rozpouštědlo než voda.

- 4) Kondenzací par amoniaku jejich přehráním přes suchý led a navazujícími měřeními bylo možné stanovit rozsah pH dosažitelných v kapalném čpavku na 0–33 . Jaký je za stejné teploty (240 K) iontový součin NH_3 ? Využijte analogii s pH vodných roztoků a K_{w} při teplotě 298 K.**

Vraťme se ale ještě zpět k vodě. Hodnota iontového součinu vody totiž je, podobně jako hodnota rovnovážných konstant jiných reakcí, silně závislá na teplotě. Hodnotu pH pro neutrální vodu nelze tedy univerzálně považovat za 7,00 (tato hodnota platí pouze pro teplotu 298 K).

- 5) Vypočítejte iontový součin a pH neutrální vody při normální teplotě varu (373 K), je-li standardní reakční enthalpie autoprotolytické reakce rovna $52,7 \text{ kJ mol}^{-1}$.**
- 6) Iontový součin je rovnovážnou konstantou odvozenou z termodynamické definice. Pro aplikace například v chemické kinetice se však může hodit stanovit také formální disociační konstantu vody jako slabé kyseliny. Vypočítejte (za teploty 298 K) hodnotu formálního $\text{p}K_{\text{A}}$ vody se znalostí hustoty vody (1000 kg m^{-3}) a její molární hmotnosti ($18,02 \text{ g mol}^{-1}$).**

**Úloha 2 Třináctá, čtrnáctá, patnáctá...****50 bodů**

V letošním ročníku chemické olympiády se budeme mimo jiné věnovat anorganické chemii prvků 13. až 16. skupiny periodické tabulky. Než se společně s námi pustíte do těchto tematik, dovolte nám krátce představit některé obecně-chemické nástroje, které se Vám mohou hodit.

Vymezená část p-bloku periodické tabulky zahrnuje poměrně širokou škálu kovových, polokovových i ryze nekovových prvků. Jednou z vlastností, kterými se tyto skupiny prvků liší, je elektronegativita.

- 1) **Vyneste graficky elektronegativitu prvků druhé periody od 13. po 16. skupinu v závislosti na atomovém čísle (použijte hodnoty uváděné v běžné periodické tabulce, jakou máte například k dispozici v materiálech chemické olympiády společně se zadáním). Do stejného grafu vyneste také shodnou závislost první ionizační energie a elektronové afinity těchto prvků (v jednotkách eV).**
- 2) **Co je to vlastně ionizační energie a elektronová afinita?**
- 3) **Krátce vysvětlete, zda jsou podle Vašeho názoru elektronegativita a zvolené energie (potenciály) korelované. Který prvek se vymyká trendům v ionizační energii, a především elektronové afinitě? Pokuste se vysvětlit, proč tomu tak je (zamyslete se nad možnostmi stabilizace elektronové konfigurace).**
- 4) **Lze kvalitativně podobný trend ve výsledných závislostech očekávat i pro vyšší periody uvažovaných skupin? Pokud ne, uveďte, jaké kvalitativní odlišnosti očekáváte. Pokud ano, zamyslete se, jakému prvku by podle těchto trendů bylo možné přisoudit nejvyšší elektronegativitu. Je Váš závěr v souladu s tabulkovými daty?**

V anorganické chemii je velmi důležitá struktura molekul, případně iontů nebo jiných složek zejména kondenzovaných fází, která nám může významně napovědět o jejich vlastnostech. S tvarem molekul a molekulových iontů souvisí koncept hybridizace, který hovoří o hypotetické kombinaci atomových orbitalů na centrálním atomu sloučeniny. Z původní sady atomových orbitalů jejím prostřednictvím vytvoříme sadu myšlených rovnocenných orbitalů, které určují tvar nejbližšího okolí centrálního atomu (takzvaného koordinačního polyedru). Přestože hybridní orbitály ve skutečnosti neexistují, jde stále o velmi užitečný orientační koncept.

- 5) **Zajímavé důsledky teorie hybridizace lze z námi uvažovaných prvků demonstrovat například na sloučeninách síry. Napište její elektronovou konfiguraci v základním stavu (v úplném tvaru i zkrácenou konfigurací předcházejícího vzácného plynu). Dále zakreslete elektronovými vzorci po jedné sloučenině síry, která**
 - a) je oktaedrická,
 - b) má tvar odvozený od trigonální bipyramidy (na centrálním atomu je volný elektronový pár),
 - c) je tetraedrická,
 - d) obsahuje pouze 1 atom síry a má stejný tvar jako molekula amoniaku,
 - e) je trojúhelníková,
 - f) má lomený tvar jako molekula vody,
 - g) je lineární.

Pro každou sloučeninu uveďte hybridizaci centrálního atomu síry. Dbejte na to, aby Vámi zvolené sloučeniny byly dostatečně stabilní! Při volbě vazebných partnerů síry se však nemusíte omezovat na sloučeniny 13. – 16. skupiny; jako příklad se může hodit uvést některé iontové sloučeniny.

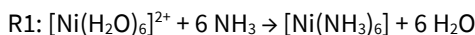
- 6) **Jak nazýváme tvar molekuly uvedený v příkladu 5d)?**
- 7) **Jaké vlastnosti mívají podle Lewisovy teorie molekuly, které mají tvar jako 5e)?**



- 8) Tvar analogický molekule amoniaku má i ion, který vzniká reakcí siřičitanového aniontu s elementární sírou S_x . Pojmenujte jej a uveďte chemickou rovnici zmíněné reakce. Tato sloučenina není stabilní v kyselém prostředí; jaké očekáváte produkty jejího rozkladu (dokažte chemickou rovnicí v iontovém tvaru)?
- 9) Ve výčtu tvarů molekul, jimž se věnujeme v otázce 5), chybí jeden z častých tvarů zejména koordinačních sloučenin, kterým je čtverec. Abychom ukázali jednu z kovalentních sloučenin o této struktuře, přesuneme se na skok do 17. a 18. skupiny. Na mysli máme první objevenou binární sloučeninu vzácného plynu, která za určitých podmínek vzniká elementárním slučováním. Zakreslete její elektronový vzorec a uveďte hybridizaci centrálního atomu.

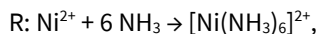
V navazujících úlohách se budeme věnovat také amoniaku, rovněž zajímavé polární molekule vystupující za určitých podmínek jako nevodné protické rozpouštědlo. Mimo jeho acidobazické vlastnosti, na něž odkazujeme Vaši pozornost v následující úloze, je zajímavá i jeho koordinačněchemická reaktivita, již lze s výhodou sledovat i ve vodném prostředí.

Pro přípravu bezvodého chloridu nikelnatého z jeho hydratovaného analoga má syntetický význam substituce ligandu v nikelnatých komplexech probíhající podle rovnice

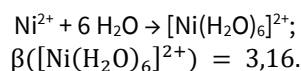


Reakcí vzniká ze zelenkavého aquakomplexu fialový amminkomplex téměř kvantitativně, o čemž hovoří i rovnovážná chemie podobných reakcí.

- 10) Vypočtete konstantu stability komplexního iontu $[Ni(NH_3)_6]^{2+}$, tedy rovnovážnou konstantu reakce



víte-li, že rovnovážná konstanta uvedené substituční reakce R1 nikelnatých komplexů byla za 300 K stanovena na $1,25 \times 10^8$. K dispozici máte konstantu stability komplexu $[Ni(H_2O)_6]^{2+}$, tedy rovnovážnou konstantu reakce



**Úloha 3 Oxid siřičitý v atmosféře****35 bodů**

Oxid siřičitý je hlavním činitelem tvorby kyselých dešťů. V poslední době se nicméně vyvinuly poměrně sofistikované postupy odsiřování spalin a výfukových plynů.

Samotné chování oxidu siřičitého ve vodě je zajímavé. Formálně je sice anhydridem kyseliny siřičité, nicméně ta jako species ve vodných roztocích prakticky neexistuje. Volný oxid siřičitý se hydratuje a okamžitě disociuje na ionty kyseliny siřičité.

- 1) Chemickými rovnicemi popište absorpci a disociaci oxidu siřičitého ve vodě. V jakých formách tedy může SO_2 ve svém vodném roztoku existovat?**

Kyselé deště však nezpůsobuje primárně oxid siřičitý. Ten se ve vzduchu oxiduje a hydratuje až na kyselinu sírovou.

- 2) Navrhňte mechanismus vzniku H_2SO_4 z atmosférického SO_2 .**
- 3) Předpokládejme, že $0,50 \text{ dm}^3$ oxidu siřičitého bylo za teploty 20°C a tlaku 1 bar pohlčeno ve 400 L vody. Jaké bude teoretické pH tohoto roztoku, pokud došlo k jeho oxidativní konverzi na kyselinu sírovou?**

Nejčastějšími metodami odsiřování spalin jsou (i) pohlcování SO_2 ve vápenné vodě a (ii) částečná redukce sulfanem na alumině.

- 4) Napište chemické rovnice pochodů (i) a (ii). Diskutujte, kde se v průmyslu sežene dostatečné množství sulfanu pro pochod (ii).**

Detekce a stanovení SO_2 v ovzduší má poměrně zásadní význam v jeho monitorování. První a stále užívanou metodou stanovení je jeho absorpce v roztoku peroxidu vodíku a následné stanovení acidity vzniklého roztoku. Druhou metodou je spektrofotometrické stanovení bis(sulfito)merkurátového iontu, který vzniká reakcí SO_2 s alkalickými tetrachloridortuťnatany.

- 5) Napište chemické rovnice, které probíhají u stanovení SO_2 oběma metodami.**

Předpokládejme nyní stanovení SO_2 ve vzduchu první metodou za účelem sledování hodinového imisního koncentračního limitu SO_2 , který činí $350 \mu\text{g m}^{-3}$. Čerpadlo tokem 1,5 litru vzduchu za sekundu probublávalo 4 hodiny vzduch skrze 1 litr 5% H_2O_2 . Nadbytečný peroxid byl následně rozložen a acidita roztoku byla stanovena titrací 0,001M NaOH, jehož spotřeba činila 8,87 mL.

- 6) Jakým způsobem je možné rozkládat H_2O_2 během této tohoto stanovení?**
- 7) Vypočítejte, jaký je obsah SO_2 ve stanovovaném vzorku vzduchu. Byl překročen hodinový imisní limit SO_2 ?**



ORGANICKÁ CHEMIE

A 5 / E 6 BODŮ

Garant

Ing. Petra Ménová, Ph.D.

Ústav organické chemie, Ústav učitelství a humanitních věd, VŠCHT Praha

Autorský a recenzní tým

Bc. Jiří Ledvinka

Ústav organické chemie, VŠCHT Praha

Ondřej Daněk

Ústav organické chemie, VŠCHT Praha

Ing. Petra Ménová, Ph.D.

Ústav organické chemie, Ústav učitelství a humanitních věd, VŠCHT Praha

Milí studenti,

v letošním ročníku chemické olympiády se v rámci organické chemie podíváme na aromatické látky a zevrubně prozkoumáme jejich strukturu a reaktivitu. Podíváme se na to, proč jsou některé látky aromatické a jiné ne. Ukážeme si, jak substituenty přítomné na aromatickém jádře ovlivňují reaktivitu studovaných látek, a to nejen ve smyslu řízení substituce do poloh *orto/para* nebo *meta*, ale také s ohledem na samotný mechanismus reakce. Všechny tyto poznatky uplatníme při několikastupňových syntézách složitějších látek.

Přejeme vám hodně zábavy při řešení úloh,

autoři.

Studijní okruhy:

- Aromaticita karbocyklických a heterocyklických látek
- Elektrofilní aromatická substituce: mechanismus, podmínky, činidla, regioselektivita
- Nukleofilní aromatická substituce: adičně-eliminační mechanismus
- Redukce nitroskupiny
- Diazotace a následné přeměny diazoniových solí
- Pyridin, reaktivita, regioselektivita reakcí, alkylace na dusíku, pyridin-*N*-oxid (příprava, reaktivita, redukce)
- Chinolin, reaktivita, regioselektivita reakcí, reaktivita 4-chinolonů (1*H*-chinolin-4-onů), Gouldova-Jacobsova syntéza chinolonů
- Zinckeho reakce, příprava Zinckeho soli, různá provedení Zinckeho reakce
- Zápis mechanismů organických reakcí pomocí zahnutých šipek (brožura k 55. ChO, viz Doporučená literatura, bod 6.)
- Rezonance a zápis rezonančních struktur, tautomerie

**Doporučená literatura**

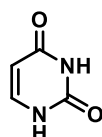
1. a) J. McMurry: Organická chemie, český překlad 6. vydání, VUT Brno, VŠCHT Praha 2007; kapitola 15: Benzen a aromaticita, kapitola 16: Chemie benzenu, 24.8 (Reakce arylaminů), 28.4-28.7 (Pyridin, chinolin).
b) J. McMurry: Organická chemie, český překlad 8. vydání, VUT Brno, VŠCHT Praha 2015, kapitola 15: Benzen a aromaticita, kapitola 16: Chemie benzenu, 24.8 (Reakce arylaminů), 24.9.2 (Pyridin).
2. J. Clayden, N. Greeves, S. Warren: Organic chemistry second edition, Oxford University Press, 2012; Kapitola 7 – Delocalization and conjugation, zejména sekce Aromaticity; Kapitola 21 – Electrophilic aromatic substitution; Kapitola 22 – Conjugate addition and nucleophilic aromatic substitution.
3. Zinckeho reakce, dostupné na https://cs.wikipedia.org/wiki/Zinckeho_reakce (otevřeno 29.1.2021), https://en.wikipedia.org/wiki/Zincke_reaction (otevřeno 21.1.2021).
4. https://uoch.vscht.cz/files/uzel/0006592/Heterocyklicke_slouceniny.pdf?redirected (otevřeno 28.1.2021)
Pyridin a jeho deriváty (strany 37 - 44), chinolin (strany 49 – 52).
5. Příslušné kapitoly ve středoškolských učebnicích chemie. Např. J. Honza, A. Mareček: Chemie pro čtyřletá gymnázia, 2. díl, 3. vydání, Nakladatelství Olomouc, kapitola 6 (Areny).
6. J. Literák: Psaní mechanismů organických reakcí (studijní materiál k organickým úlohám 55. ročníku ChO kat. A), dostupné na https://olympiada.vscht.cz/media/filer_public/ba/14/ba1469b7-afb3-4b7e-998c-a4be33e793ce/55_a_organika_studijni_material.pdf.
7. Důvěryhodné internetové zdroje, především ze zdrojů vysokých škol, k Wikipedii je třeba přistupovat obezřetně. Z internetových zdrojů v angličtině doporučujeme Organic Chemistry Portal <https://www.organic-chemistry.org/>.



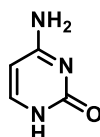
Úloha 1 Aromatická

16 bodů

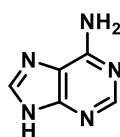
V letošním ročníku se v organické chemii podíváme na chemii aromátů. Než se ale podíváme na jejich reaktivitu, je nezbytné naučit se aromáty pořádně rozeznat. V nukleových kyselinách můžeme nalézt následující báze:



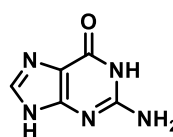
uracil



cytosin



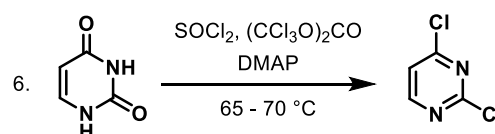
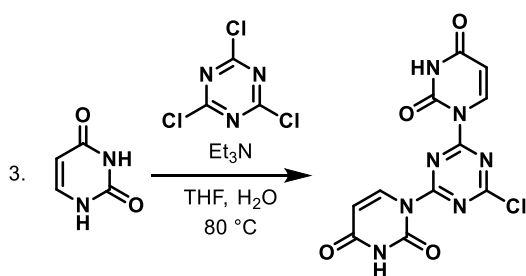
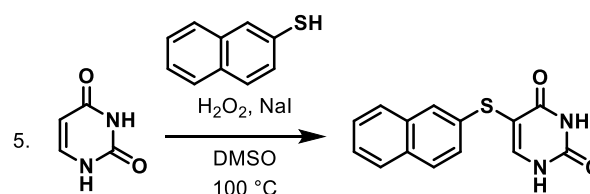
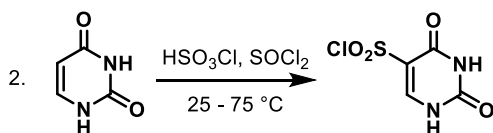
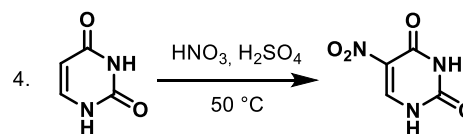
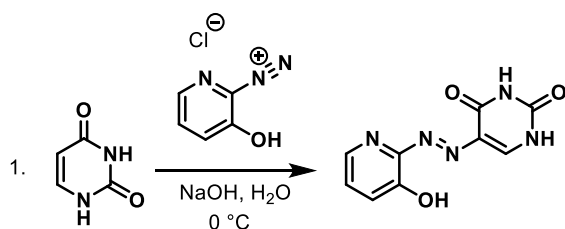
adenin



guanin

- 1) Vyberte z výše uvedenýchází ty, které jsou v zakreslené formě aromatické.
- 2) Nakreslete k těmtoázím jejich tautomerní struktury s maximálním aromatickým charakterem.

Nyní se krátce podíváme na reaktivitu první uvedené báze, uracilu. Ten díky svému částečně aromatickému charakteru a rozličným funkčním skupinám podléhá řadě reakcí.



THF = tetrahydrofuran, DMSO = dimethylsulfoxid (rozpuštědla), DMAP = 4-dimethylaminopyridin (báze)

- 3) Které z výše uvedených reakcí probíhají pouze díky aromatickému charakteru uracilu?
- 4) Které z výše uvedených reakcí lze vysvětlit aromatickým charakterem uracilu i jeho nearomatickým tautomerem?
- 5) Které z výše uvedených reakcí nejsou vysvětlitelné aromatickým charakterem uracilu?



Úloha 2 Příprava *N*-fenylpyridinium chloridu

44 bodů

Pyridin se v řadě reakcí chová přesně tak, jak bychom od terciárního aminu čekali. Například reakcí pyridinu s alkylhalogenidy vznikají příslušné *N*-alkylpyridiniové soli. Kdybychom ale takto chtěli připravit *N*-fenylpyridiniovou sůl, neuspěli bychom. V této úloze se podíváme, jak tento problém obejít.

- 1) Nakreslete produkt reakce pyridinu s benzylchloridem v acetonitrilu jako rozpouštědle.
- 2) Proč bychom obdobnou reakcí pyridinu s chlorbenzenem v acetonitrilu jako rozpouštědle na rozdíl od předchozího případu nezískali žádný produkt?

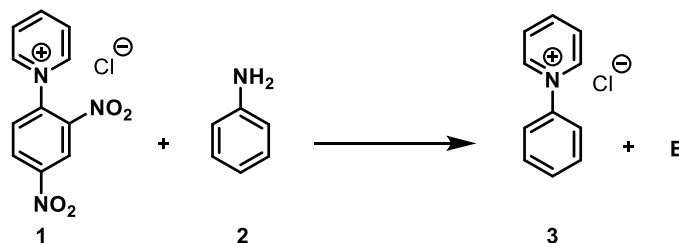
V naší syntetické sekvenci nejprve připravíme *N*-(2,4-dinitrofenyl)pyridinium chlorid (**1**) reakcí pyridinu s látkou **A**.

- 3) Nakreslete strukturu látky **A**.

Reakce pyridinu s látkou **A** ovšem probíhá jinak než reakce pyridinu s alkylhalogenidy a vzniká při ní intermediát **X**.

- 4) Nakreslete strukturu intermediátu **X**.

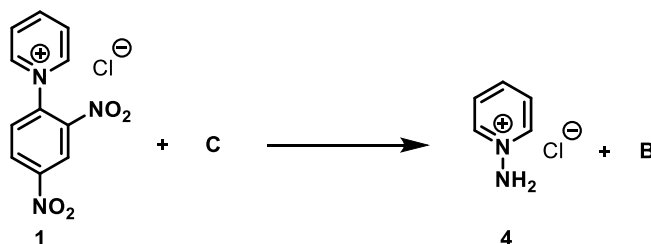
Nyní už máme výchozí látku pro přípravu našeho cílového produktu, *N*-fenylpyridinium chloridu (**3**), a můžeme provést následující transformaci:



Podívejme se nyní, jakým mechanismem tato reakce probíhá. Výchozí látka **1** je nejprve atakována anilinem (**2**) v poloze 2 pyridinového jádra, čímž dochází k narušení jeho aromaticity a vzniká intermediát **I1** (krok 1). Následně dochází k sigmatropnímu přesmyku (cyklickému přesunu elektronů), který otevírá původní pyridinové jádro za vzniku intermediátu **I2** (krok 2). Otevřený intermediát **I2** reaguje s další molekulou anilinu za současného odštěpení vedlejšího produktu **B** a vzniká intermediát **I3** (krok 3). V dalším kroku dojde k sigmatropní cyklizaci, která vede k intermediátu **I4** (krok 4). Cyklický intermediát **I4** se nakonec aromatizuje odštěpením jedné molekuly anilinu a vzniká produkt **3** (krok 5).

- 5) Nakreslete klíčové intermediáty **I1–I4** vznikající v krocích 1–4 a látku **B**.
- 6) Nakreslete popsany mechanismus přeměny výchozí látky až na produkt.

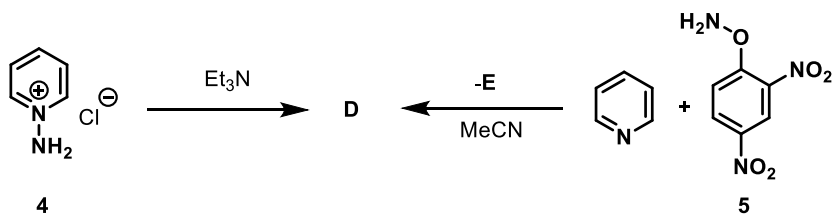
Výše popsanou sekvenci můžeme použít pro syntézu celé řady i poměrně obskurních *N*-substituovaných pyridinů. Jedním takovým příkladem je syntéza *N*-aminopyridinium chloridu (**4**):



- 7) Nakreslete látku **C**, kterou bychom potřebovali pro přípravu *N*-aminopyridinium chloridu (**4**).



Pyridiniová sůl **4** se účinkem triethylaminu přeměňuje na neutrální látku **D**. Látku **D** je také možné získat reakcí pyridinu s *O*-2,4-dinitrofenylhydroxylaminem (**5**), přičemž vzniká vedlejší produkt **E**.



MeCN = acetonitril (rozpuštědlo)

8) Nakreslete struktury látek **D** a **E**.



Úloha 3 Syntéza v akci: Nová antimalarika

40 bodů

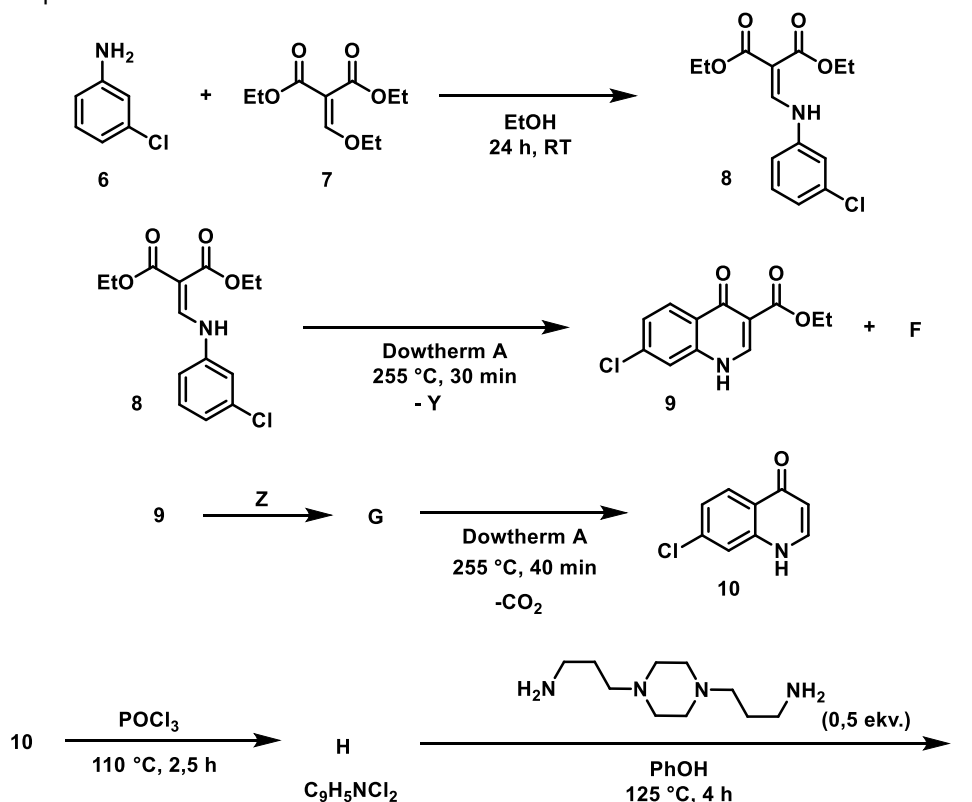
Při syntéze potenciálního léčiva na malárii se nejdříve konjugovanou nukleofilní substitucí připraví látka **8** z *meta*-chloranilinu (**6**) a diethyl-2-ethoxymethylenmalonátu (**7**).

Zahříváním látky **8** v rozpouštědle Dowtherm A (eutektická směs bifenyly a difenyletheru, která se používá kvůli vysokému bodu varu) dochází k intramolekulární elektrofilní substituci. Vzniká směs látek **9** a **F** a vedlejší produkt **Y**. Látka **9** vzniká ve významném nadbytku, a po její izolaci rekrystalizací syntéza pokračuje následovně:

Reakčními podmínkami **Z** je látka **9** nejdříve převedena na látku **G** a ta je potom zahřívána v rozpouštědle Dowtherm A. Při této reakci se uvolňuje oxid uhličitý a vzniká látka **10**.

Zahříváním látky **10** ve fosforylchloridu vzniká látka **H** se sumárním vzorcem $C_9H_5NCl_2$.

Cílovou látku **I** je poté možné připravit zahříváním látky **6** s jednou polovinou ekvivalentu aminu uvedeného nad šipkou ve fenolu jako rozpouštědle. Možná vám fenol, který je za běžných podmínek pevná látka, nepřijde jako moc dobré rozpouštědlo, ale v tom by s vámi jistě nesouhlasili zaměstnanci Děčínské chemičky Chemotex, kteří se v něm v dubnu 2018 rozpustili.



- 1) Jaký vedlejší produkt **Y** vzniká spolu s látkami **9** a **F**?
- 2) Nakreslete strukturu látky **F**.
- 3) Navrhněte reakční podmínky **Z**, kterými by bylo možné látku **9** převést na látku **G**.
- 4) Nakreslete strukturu látky **G**.
- 5) Nakreslete strukturu tautomerní formy látky **10**, která vysvětluje reaktivitu látky **10** s fosforylchloridem.
- 6) Nakreslete strukturu látky **H**.
- 7) Nakreslete strukturu výsledné látky **I**.

**FYZIKÁLNÍ CHEMIE****A 5/E 8 BODŮ****Garant****Mgr. Radek Matuška***Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská, p. o.***Autorský a recenzní tým****Vojtěch Laitl***Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v. v. i.**Fakulta chemicko-inženýrská, VŠCHT Praha,***Petr Linhart***Ústav fyzikální chemie, VŠCHT Praha***Tomáš Ovad***Ústav fyzikální chemie, Fakulta chemicko-inženýrská, VŠCHT Praha**Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha***Mgr. Radek Matuška***Střední průmyslová škola chemická Brno, Vranovská, p. o.***Bc. Erik Kalla***Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Brno*

Milé soutěžící, milí soutěžící,

letošní část fyzikální chemie s podtitulem #coronaedition se bude točit kolem chemické kinetiky. Přestože téma chemické kinetiky patří možná k trochu náročnějším odvětvím fyzikální chemie, nemusíte se bát, myslíme na to, že budete mít omezené množství času na přípravu. Přípravu ale nepodceňte. V domácím kole vás seznámíme se základními principy chemické kinetiky, které budete aplikovat v kolech vyšších. Následující výčet by vám měl pomoci s přípravou na celý ročník, tak s chutí do toho:

- Základní pojmy chemické kinetiky (rychlost chemické reakce, rychlostní rovnice, ustálený stav).
- Kinetika běžných reakcí 0., 1. a 2. řádu, rychlostní rovnice v diferenciálním a integrovaném tvaru, poločas reakce a rychlostní konstanty.
- Modely epidemiologických situací.

Ve všech kolech nezapomeňte používat selský rozum a cit pro chemii. Nezapomeňte, že s chemickou kinetikou souvisí i grafy, zaměřte se na jejich pochopení a správné interpretace. Věříme, že i přes všechny překážky v tomto školním roce se budete řešením olympiády bavit a vaše láska k chemii nepomine (jako doufáme brzy pomine segment i současné epidemické situace).

Hodně zdaru a nadšení při řešení všech úloh vám přejí

autoři a recenzenti

Doporučená literatura:

- P. W. Atkins, J. de Paula: Fyzikální chemie, VŠCHT Praha 2013, kapitola Rychlost chemických reakcí (str. 740–765), okrajově též *základ* kapitoly Chemická rovnováha (str. 200–215).
- I. Štoll: Fyzika pro gymnázia – Fyzika mikrosvěta, Prometheus 1993, kapitola Jaderná fyzika (části 4.1–4.3, str. 93–113).
- J. Vohlídal: Chemická kinetika, Karolinum Praha, 2001 (části 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2 – základní pojmy, veličiny, klasifikace; aproximace ustáleného stavu).
- J. Novák a kol.: Fyzikální chemie – bakalářský a magisterský kurz [online], VŠCHT Praha 2008, dostupné z http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-978-80-7080-675-3/pages-pdf/148.html. (části 12.1, 12.2).
- V. Krajščíková: Epidemiologický model SIR. Bakalářská práce. [online], Univerzita Palackého Olomouc, 2017, dostupné z: <https://theses.cz/id/0d4ju2/>.
- T. Bazett: The MATH of Epidemics | Intro to the SIR Model. [online], 2020, dostupné z: <https://www.youtube.com/watch?v=Qrp40ck3Wpl>.



Vzorečkovník

Tento vzorečkovník si vytiskněte i pro všechna navazující kola

Rychlost chemické reakce $rR \rightarrow pP$

$$v = -\frac{1}{r} \cdot \frac{dc_R}{dt} = -\frac{1}{r} \cdot \frac{d[R]}{dt} = +\frac{1}{p} \cdot \frac{dc_P}{dt} = +\frac{1}{p} \cdot \frac{d[P]}{dt}$$

Rychlostní rovnice elementární reakce $aA + bB \rightarrow pP$

$$v = k \cdot [A]^a \cdot [B]^b$$

Řád reakce

$$n = a + b$$

Reakce nultého řádu typu $R \rightarrow P$

$$\frac{dc_R}{dt} = -k_0$$

$$c_R(t) = c_R(0) - k_0 \cdot t$$

$$t_{1/2} = \frac{c_R(0)}{2k_0}$$

Reakce prvního řádu typu $R \rightarrow P$

$$\frac{dc_R}{dt} = -k_1 \cdot c_R$$

$$c_R(t) = c_R(0) \cdot e^{-k_1 \cdot t}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k_1}$$

Reakce druhého řádu typu $2R \rightarrow P$

$$\frac{dc_R}{dt} = -k_2 \cdot c_R^2$$

$$\frac{1}{c_R(t)} = \frac{1}{c_R(0)} + k_2 \cdot t$$

$$t_{1/2} = \frac{1}{c_R(0) \cdot k_2}$$

Reakce druhého řádu typu $R_1 + R_2 \rightarrow P$

$$\frac{dc_{R_1}}{dt} = \frac{dc_{R_2}}{dt} = -k_2 \cdot c_{R_1} \cdot c_{R_2}$$

$$\frac{1}{c_{R_2}(0) - c_{R_1}(0)} \cdot \ln \frac{c_{R_2}(t) \cdot c_{R_1}(0)}{c_{R_1}(t) \cdot c_{R_2}(0)} = k_2 t$$



Aproximace stacionárního stavu

$$\frac{dc_{\text{reaktivního meziproduktu}}}{dt} = 0$$

Rovnovážná konstanta reakce ve zředěné kapalně fázi $aA + bB \rightleftharpoons rR + sS$

$$K = \frac{[R]^r [S]^s}{[A]^a [B]^b}$$

(hranaté závorky značí koncentraci v násobcích standardní koncentrace $c^0 = 1 \text{ mol dm}^{-3}$).

Základní konstanty

Molární plynová konstanta

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

Boltzmannova konstanta

$$k_B = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$$

Avogadrova konstanta

$$N_A = 6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$$

Atomová hmotnostní konstanta

$$u = 1,66 \cdot 10^{-27} \text{ kg}$$

Energie vyjádřená v elektronvoltech

$$1\text{eV} = 1,602 \cdot 10^{-19} \text{ J}$$

Rychlost světla ve vakuu

$$c = 2,998 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$$



Úloha 1 Přípitek na seznámení s chemickou kinetikou

28 bodů

Pro seznámení se základními pojmy chemické kinetiky budeme postupovat v souladu s národními tradicemi – vypomůžeme si půllitrem poctivého tekutého chleba. Svoji pozornost zaměříme na procesy, kterými je z lidského organismu odbouráván ethanol. Nejprve si společně připravíme matematickou výbavu, kterou poté použijeme k zodpovězení některých praktických otázek, které s eliminací ethanolu souvisí.

Uvažujme chemickou reakci, jejíž průběh lze zapsat jednoduchou rovnicí:



Reakční rychlost zavedeme jako změnu koncentrace zvolené látky za časový interval. Aby reakční rychlost nezávisela na volbě této látky, vydělíme uvedený podíl jejím stechiometrickým koeficientem (kladný pro produkty, záporný pro reaktanty). Pro další účely budeme rychlost vztahovat k nekonečně malému časovému intervalu dt (podobně jako v kinematice přecházíme od *průměrné* rychlosti pohybu k rychlosti *okamžité*). Reakční rychlost v tedy zapíšeme jako:

$$v = -\frac{dc_A}{dt} = \frac{dc_P}{dt}$$

Pro reakce typu $A \rightarrow P$ často předpokládáme tzv. mocninovou kinetiku, podle které závisí reakční rychlost na n -té mocnině koncentrace reaktantu (reaktantů):

$$v = k \cdot c_A^n$$

Ve výše uvedené rovnici je k je rychlostní konstanta a n je řád reakce. Oba tyto údaje se obvykle zjišťují experimentálně.

V této úloze se budeme zabývat případy, kdy $n = 0$ a $n = 1$ (tzv. kinetika nultého a prvního řádu). Rychlostní rovnice pro tyto případy mají tvar:

$$\begin{aligned} -\frac{dc_A}{dt} &= k_0 \cdot c_A^0 \rightarrow -\frac{dc_A}{dt} = k_0 \\ -\frac{dc_A}{dt} &= k_1 \cdot c_A^1 \rightarrow -\frac{dc_A}{dt} = k_1 \cdot c_A \end{aligned}$$

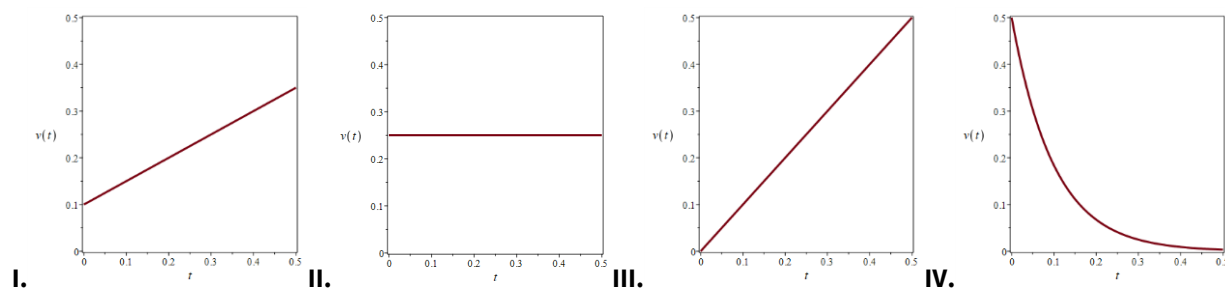
To jsou ale diferenciální rovnice, tedy rovnice, které popisují rychlost změny koncentrace dané látky A v čase. My bychom ale chtěli znát časové průběhy těchto koncentrací, tedy umět odpovědět i na otázku, „v jakém čase dosáhne koncentrace reaktantu/produktu určité hodnoty“. Toho docílíme, pokud uvedené diferenciální rovnice vyřešíme. Jejich řešením jsou funkce $c_A(t)$, tj. závislosti koncentrace látky A na čase. Koncentraci produktu(ů) P lze dopočítat ze stechiometrie reakce. Označíme-li počáteční koncentraci látky A c_{A0} , získáváme řešením uvedených rovnic

$$\begin{aligned} c_A &= c_{A0} - k_0 \cdot t \\ c_A &= c_{A0} \cdot e^{-k_1 \cdot t} \end{aligned}$$

Když se znovu povídáme na to, co říkají diferenciální rovnice, pak je tvar jejich řešení (tj. integrované tvary rychlostních rovnic) poměrně logický.

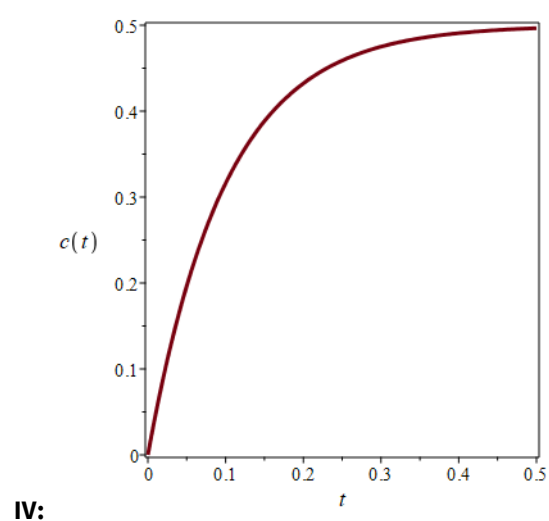
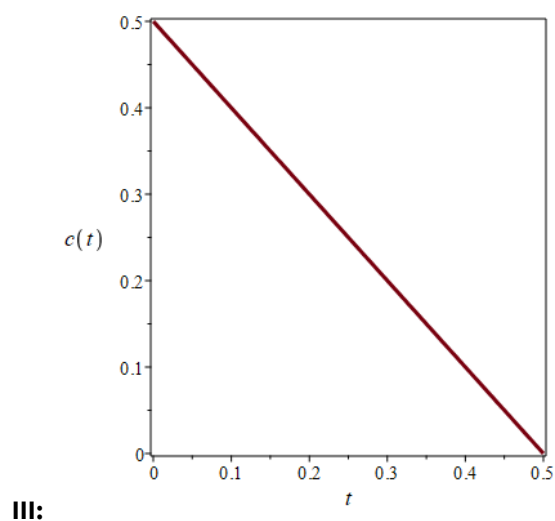
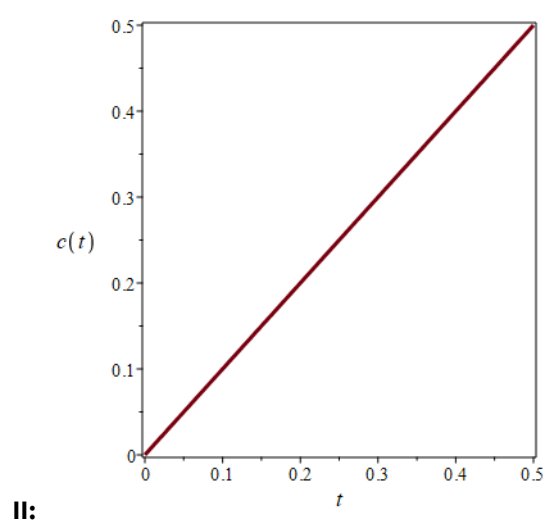
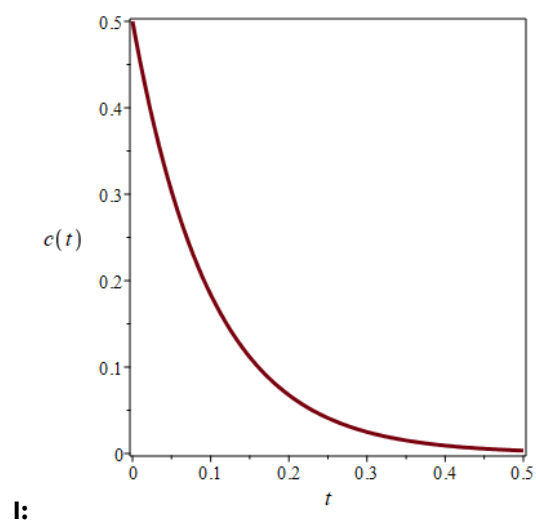
Zamysleme se nyní nad uvedenými diferenciálními i integrovanými tvary rychlostních rovnic pro kinetiku nultého a prvního řádu.

- 1) Označte, který z grafů I–IV popisuje závislost reakční rychlosti na čase pro případ (a) kinetiky nultého, (b) kinetiky prvního řádu.



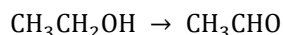
2) Následující grafy I–IV popisují závislosti koncentrací látek A a P na čase. Ke každému z písm. a) – d) přiřaďte grafy I–IV a napište předpisy funkcí, které popisují příslušné závislosti.

- a) $c_A(t)$ pro kinetiku nultého řádu
- b) $c_P(t)$ pro kinetiku nultého řádu
- c) $c_A(t)$ pro kinetiku prvního řádu
- d) $c_P(t)$ pro kinetiku prvního řádu





Klíčovým procesem v odbourávání ethanolu je jeho oxidace v játrech, jejíž průběh můžeme vyjádřit schématem přeměny ethanolu na acetaldehyd:



Reakce je katalyzována enzymem alkoholdehydrogenasou (ADH). Protože tento enzym je běžnými koncentracemi ethanolu nasycen, nezávisí reakční rychlost na koncentraci ethanolu, a reakce se proto řídí kinetikou nultého řádu. Obsah alkoholu v krvi se běžně uvádí v promilích, ačkoliv toto označení není zcela korektní (1 ‰ odpovídá 1 g čistého ethanolu v 1 l krve).

Vžijme se nyní do role řidiče, který vypil půl litru piva Pilsner Urquell (obsah ethanolu 4,4 obj. %). Zjednodušeně předpokládejme, že počáteční koncentrace ethanolu v jeho krvi byla 0,4 ‰. Rychlostní konstanta odbourávání ethanolu vykazuje značnou individuální závislost – pro tento výpočet nicméně předpokládejme běžně uváděnou průměrnou hodnotu $0,15 \text{ ‰ h}^{-1}$.

- 3) Na jaký podíl z počáteční hodnoty (v %) klesne koncentrace ethanolu v řidičově krvi za 30 min?
- 4) Za jak dlouho řidič od vypití piva bude moci usednout za volant, platí-li v České republice nulová tolerance alkoholu při řízení?

Mezi státy, které jsou k alkoholu za volantem nejvíce benevolentní, patří Velká Británie. V současné době je tolerována hladina alkoholu 0,8 ‰. Britského řidiče tak může napadnout jiná otázka – kolik piva může vypít, aby za určitou dobu po vypití mohl vyrazit. Pro výpočet počáteční koncentrace p_0 ethanolu v krvi (v jednotkách ‰) lze použít zjednodušený Widmarkův vztah:

$$p_0 = \frac{m_{\text{EtOH}} \cdot \rho_{\text{krev}}}{r \cdot m_{\text{pijan}}}$$

V uvedeném Widmarkově vztahu je m_{EtOH} požítá hmotnost čistého ethanolu (g), ρ_{krev} je hustota krve (g cm^{-3}), r je Widmarkův redukční faktor (pro muže 0,68) a m_{pijan} je hmotnost nasávající osoby (kg).

- 5) Vypočítejte maximální objem londýnského piva Carling (4,0 obj. % ethanolu), které může 75kg řidič požit, aby za jednu hodinu od požití dosáhla hladina ethanolu v jeho krvi limitní hodnoty 0,8 ‰. Rychlostní konstanta odbourávání ethanolu je pro britského řidiče $0,11 \text{ ‰ h}^{-1}$. Hustota ethanolu je $0,789 \text{ g cm}^{-3}$, hustota krve $1,055 \text{ g cm}^{-3}$.

Přesuňme se nyní od řidičských otázek k jinému problému. Uvedený enzym ADH je kromě oxidace ethanolu schopen katalyzovat také oxidaci methanolu na formaldehyd, který je dále oxidován na velmi toxický formiát (formiát inhibuje cytochrom c oxidasu a vyvolává metabolickou acidózu). Ačkoli jako antidotum je možné použít samotný ethanol, který má k enzymu ADH oproti methanolu vyšší afinitu, v klinické praxi je k tomuto účelu využíván bezpečnější fomepizol, který blokuje aktivitu ADH.

Odbourávání methanolu se v přítomnosti fomepizolu řídí kinetikou 1. řádu s rychlostní konstantou $0,0133 \text{ h}^{-1}$.

- 6) Počáteční koncentrace methanolu v těle pacienta byla 0,4 ‰ (1 ‰ analogicky odpovídá 1 gramu methanolu v 1 l krve). Vypočítejte, na jaký podíl z počáteční hodnoty (v %) klesne koncentrace methanolu v krvi pacienta za 30 min, byl-li pacientovi podán fomepizol. Srovnajte, zda je pokles rychlejší nebo pomalejší než v případě odbourávání ethanolu.
- 7) Vypočítejte poločas přeměny methanolu v přítomnosti fomepizolu, tj. dobu, za kterou klesne koncentrace methanolu v krvi na polovinu počáteční hodnoty.



Úloha 2 Proč jsou kinetika a organika v symbióze?

15 bodů

Při seznamování s chemickou kinetikou často pracujeme s elementárními chemickými reakcemi a jejich řádem a také s vlastnostmi reakčních rychlostí, rychlostních rovnic a rychlostních konstant a se vztahy mezi nimi. Další část naší kinetické exkurze bude věnována mechanismům chemických reakcí, kde tato fyzikálněchemická disciplína nachází jedno ze svých základních, a přitom nejvýznamnějších využití.

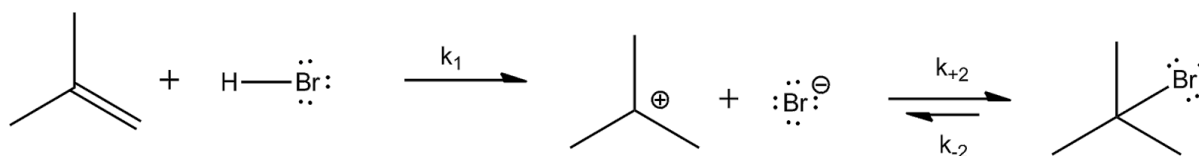
Průběh elementárních reakcí je možné alespoň rámcově popsat jedním reakčním krokem. Velká řada přírodních a syntetických procesů však tuto vlastnost nemá, a naopak probíhá často komplexním mechanismem. Chceme-li takovéto děje studovat, můžeme využít koncept reakčních rychlostí a sestavit rychlostní rovnice pro každou částici vystupující v mechanismu s využitím všech jeho (známých) kroků.

Nastíněný postup řešení může působit poněkud odtažitě, má však zásadní význam pro modelování a předpovědi chování dynamických systémů, a to nejen v chemii. S ohledem na aktuální situaci se nabízí například studium přenosu infekčních chorob ve společnosti. Modely, které si pro tento popis představíme, jsou co do interpretace i sestavení shodné s těmi, jaké se používají v chemické kinetice pro modelování složitějších reakcí!

Podobně jako rychlost elementární reakce hovoří o změně koncentrace reaktantu nebo produktu této přeměny za daný čas, můžeme ze známého mechanismu obecně získat informaci o změně množství všech částic v závislosti na čase. Množstvím můžeme mít na mysli koncentraci chemické sloučeniny v reakční směsi, molární zlomek plynu v planetární atmosféře, ale například také relativní počet osob ve vzorku populace, které trpí infekční chorobou.

Interpretace mechanismu vede na soustavy rovnic pro koncentrace (případně látková množství, molární zlomky a podobné veličiny...), které bývá obvykle složité nebo dokonce nemožné řešit přesně. V dnešní době ale není problém nalézt vhodné řešení na počítači. Typicky pak pomocí vhodné numerické metody hledáme číselné parametry nebo průběh veličin, které nás zajímají (rychlostní konstanty a koncentrace), tak aby navržené řešení odpovídalo původně sestaveným rovnicím. S ohledem na některé známé vlastnosti systému můžeme také použít v chemii oblíbenou aproximaci ustáleného stavu, která řešení zjednodušuje i bez použití výpočetní síly. V obou případech je nicméně nutné správně porozumět dostupným údajům a výsledkům, což bude do značné míry i předmětem letošní olympiády.

Vezměme si jako výchozí bod pro naše úvahy mechanismus přeměny alkenu na bromalkan, která probíhá takzvanou markovnikovskou adicí (A_E):



Jak vidíme, skládá se celá chemická reakce z celkem tří elementárních kroků, jež můžeme uvažovat a kterým se budeme dále věnovat. Jsou to adice vodíkového protonu na alken, kondenzace vzniklého karbokationtu s bromidovým iontem, a případně i disociace vzniklého bromalkanu. Pro každý z nich můžeme stanovit rychlostní konstantu (po řadě k_1 , k_{+2} a k_{-2}).

Takovýto výčet elementárních kroků, které můžeme uvažovat alespoň teoreticky, není nicméně zcela vyčerpávající.



- 1) Při kreslení mechanismu jsme zanedbali teoreticky vratný charakter prvního kroku reakce. Proč můžeme zanedbat reakci, při níž by karbokation a bromidový ion reagovaly zpět za vzniku HBr a alkenu? Vyberte všechny správné možnosti:
- Karbokation je příliš stabilní částice, než aby podobná reakce mohla proběhnout.
 - Reakce probíhá v prostředí silné kyseliny (HBr), eliminace vodíku jako protonu je tedy velmi nepravděpodobná.
 - Karbokationy mohou obecně podstoupit pouze kondenzaci se záporně nabitým iontem.
 - Bromidový ion nemá bazický charakter, pro podobné eliminace se typicky využívají silné zásady (KOH, alkoholáty a další).
 - Karbokation je trigonálně planární částice, a nemá tedy vhodné prostorové uspořádání pro atak jedné z methylových skupin bromidovým iontem.

Rychlost celé chemické reakce s mechanismem bývá vhodné popsat jako rychlost toho kroku, při němž vzniká konečný produkt. V tomto případě bychom tedy psali, že

$$v = k_{+2} \cdot [\text{C}(\text{CH}_3)_3^+] \cdot [\text{Br}^-]$$

Hranaté závorky značí momentální koncentraci v daném čase. O tom, jak vypadají časové závislosti potřebných částic, hovoří právě mechanismus reakce, který popisujeme pomocí kinetických rovnic.

Už víme, že rychlost reakce popisuje vznik produktů a zánik reaktantů účastnících se dané chemické přeměny a souvisí s rychlostní konstantou a koncentracemi jmenovaných látek. Při rozboru mechanismu můžeme podobně vyjádřit časovou změnu koncentrace všech částic, které nás zajímají, pomocí rychlostí elementárních procesů.

Podívejme se na kinetické chování karbokationtu, jemuž se krátce věnovala už předchozí otázka. Pohledem na mechanismus zjistíme, že vzniká prvním reakčním krokem s rychlostní konstantou k_1 a přibývá disociací produktu s rychlostní konstantou k_{-2} . Naopak ubývá kondenzací s bromidovým iontem na konečný produkt, která má rychlostní konstantu k_{+2} .

První reakční krok je bimolekulární reakce („druhého řádu“), jeho rychlost tedy zapíšeme výrazem:

$$v_1 = k_1 \cdot [\text{H}_3\text{CCH}(\text{CH}_3) = \text{CH}_2] \cdot [\text{HBr}]$$

Podobně stanovíme rychlost reakce karbokationtu s bromidovým iontem:

$$v_2 = k_{+2} \cdot [\text{C}(\text{CH}_3)_3^+] \cdot [\text{Br}^-]$$

Disociace produktu je unimolekulární („prvořádová“), její rychlost tedy s uvažováním rychlostní konstanty závisí pouze na koncentraci bromalkanu:

$$v_3 = k_{-2} \cdot [(\text{H}_3\text{C})_3\text{CBr}]$$

Celkovou rychlost změny koncentrace karbokationtu dáme dohromady součtem těchto rychlostí. Pokud daným elementárním krokem částice přibývá, přičteme rychlost s kladným znaménkem, pokud ubývá, volíme znaménko záporné. Výsledek má pak tvar

$$\begin{aligned} \frac{d[\text{C}(\text{CH}_3)_3^+]}{dt} &= v_1 - v_2 + v_3 = \\ &= k_1 \cdot [\text{H}_3\text{CCH}(\text{CH}_3) = \text{CH}_2] \cdot [\text{HBr}] - k_{+2} \cdot [\text{C}(\text{CH}_3)_3^+] \cdot [\text{Br}^-] + k_{-2} \cdot [(\text{H}_3\text{C})_3\text{CBr}] \end{aligned}$$

Pojmu „rychlost změny“ jsme použili proto, že ve vyjádření dělíme malou změnu koncentrace dc malým časem dt , ve kterém k ní došlo (srovnejte zavedení s definicí rychlosti pomocí dráhy a času). Takovouto kinetickou rovnici lze při známém mechanismu formulovat pro každou částici, která nás zajímá.

- 2) Vyzkoušejte si společně s námi, že tomuto postupu rozumíte, a formulujte podobné kinetické reakce pro HBr, $\text{H}_3\text{CCH}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ a $(\text{H}_3\text{C})_3\text{CBr}$. Bromidový ion nebudeme uvažovat, protože odvozená rovnice by měla stejný tvar jako výše uvedená (ověřte s mechanismem).



Výsledky podobného odvození je vhodné zkontrolovat se známým mechanismem. Protože dílčí rychlostní konstanty neznáme, pojďme se zaměřit na kvalitativní zhodnocení situace.

3) Napište všechny látky, které v daném reakčním mechanismu (a) pouze ubývají a (b) pouze přibývají.

Chemická intuice by nám napovídala, že látky v reakci ubývající bychom mohli označit jako reaktanty, přibývající jako produkty a zbývající jako meziprodukty (intermediáty). Podobné zhodnocení však pouze na základě kinetických rovnic nemusí být provedeno správně, protože jak už víme, produkty reakce se mohou rozpadat například disociací. Jak je tomu tedy v našem případě?

4) Napište všechny částice, které lze podle rozkresleného mechanismu označit za reakční meziprodukty.

Podobnou analýzu využijeme v navazujících úlohách k tomu, abychom z kinetických rovnic získali detailnější informaci o rychlostní rovnici celých složitějších reakcí, jejich řádu i dalších vlastnostech, které nás z kinetického hlediska mohou zajímat. Pokusíme se také nahlédnout na kinetiku v širším kontextu a porovnat výsledky kinetického modelování reakcí s informacemi, jaké nám může poskytnou termodynamika. Vyzkoušejme si proto na závěr tohoto příkladu, co bychom mohli, zatím opět kvalitativně, říci o rovnovážném chování této reakce.

5) Nezávislým měřením bylo zjištěno, že uvažovaná adice má exotermický charakter. Vyberte všechny správné procesy, jimiž posuneme její rovnováhu blíže ke konečnému produktu:

- a) zvýšení pH
- b) snížení pH
- c) přidavek velkého množství bromidových iontů (například rozpuštěním KBr v reakční směsi)
- d) zvýšení teploty
- e) přidání katalyzátoru do reakční směsi
- f) odebrání vzniklého produktu z reakční směsi
- g) ani jedna z možností není správná

K samostudiu pro navazující úlohy doporučujeme zejména *aproximaci ustáleného stavu*. Napovíme, že obecně předpokládá, že uvažovaného reaktivního intermediátu vzniká při reakci jen velmi malé množství. Jakmile je překročeno, jeho nadbytek okamžitě zreaguje dále. *Rychlost změny koncentrace reaktivního intermediátu je tedy v tomto přiblížení nulová*. Tuto podmínku můžeme s výhodou využít pro formulaci rychlostních rovnic.

- a) **Reaktivní intermediát je jedním z meziproduktů reakce, u něž očekáváme výše uvedené vlastnosti. Typicky jím tak bývají radikály, kationty s netypickou valencí (například elektronového sextetu), případně jiné iontové struktury nebo molekuly s reaktivním uspořádáním vazeb. S několika typovými příklady se budete mít možnost setkat v navazujících kolech soutěže, kde si vyzkoušíte i aplikační příklady aproximace ustáleného stavu v chemické kinetice.**
- b) **Pro navazující kola Vám tedy doporučujeme zaměřit svou pozornost právě na tento mocný nástroj chemických kinetiků. Můžete se také zamyslet nad stabilitou a chemickou reaktivitou produktu uvažované markovnikovské adice za různých podmínek, které můžeme v kinetice studovat.**

**Úloha 3 Chemická kinetika pod rouškou epidemiologie****20 bodů**

Přestože se Chemická olympiáda v letošním roce musela přizpůsobit mimořádným opatřením souvisejícím s pandemií vyvolanou novým typem koronaviru, konkrétně fyzikální chemici nad ničím zoufat nemusí. Epidemiologické modely nejsou přeci pro člověka libujícího si v analýze reakčně-kinetických schémat ničím jiným než sváteční lahůdkou! V této úloze si nejprve pohrajeme s intuitivním, tzv. SIR modelem, a společně poté navrhne některá jeho vylepšení.

Model SIR (navržený Kermackem a McKendrickem v roce 1927) vychází z rozdělení populace o velikosti N na tři disjunktní podmnožiny jedinců infikovaných (počet I), náchylných (počet S) a zotavených (počet R) (značení odpovídá anglické terminologii – susceptible (S), infectious (I) a recovered (R)).

Označíme-li podíly jednotlivých segmentů populace $i = I/N$, $s = S/N$, $r = R/N$ a zavedeme-li (zatím blíže neurčené) parametry $a, b > 0$, lze časové závislosti veličin i, s a r v rámci modelu SIR popsat následující soustavou rovnic.

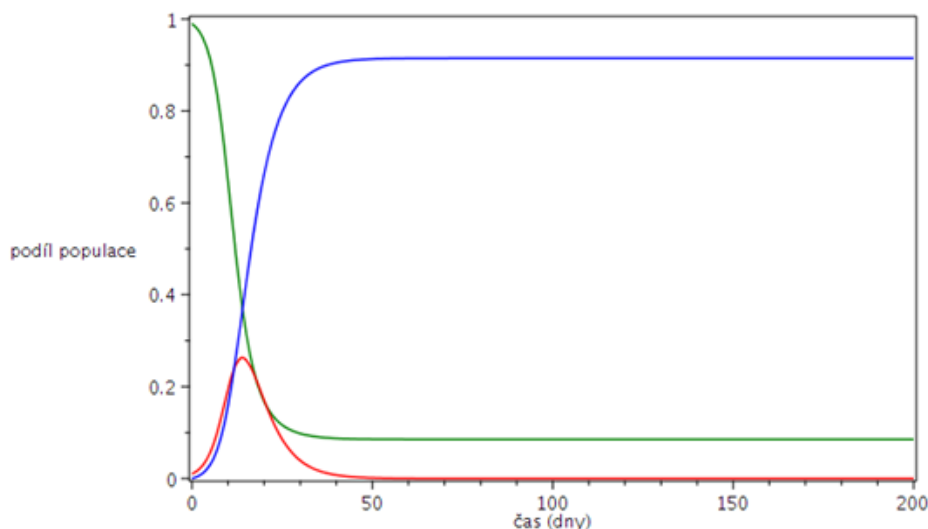
$$\begin{aligned}\frac{ds}{dt} &= -a \cdot i(t) \cdot s(t) \\ \frac{di}{dt} &= a \cdot i(t) \cdot s(t) - b \cdot i(t) \\ \frac{dr}{dt} &= b \cdot i(t)\end{aligned}$$

- 1) Na základě rozboru uvedených rovnic modelu SIR rozhodněte, zda jsou následující tvrzení pravdivá, či nikoliv.
- a) Podíl infikovaných jedinců v rámci modelu SIR limitně klesá k nule.
 - b) Model SIR rozlišuje úmrtí, která jsou a která nejsou důsledkem modelovaného onemocnění.
 - c) V rámci modelu SIR existuje čas, při němž podíl infikovaných jedinců nabývá lokálního maxima.
 - d) Celková velikost populace je v rámci modelu SIR konstantní.
 - e) Ve stacionárním stavu systému popsaném modelem SIR dochází k vyrovnání počtu narozených a zemřelých jedinců.
 - f) Počet infikovaných jedinců roste v rámci modelu SIR s rostoucím počtem interakcí náchylný–infikovaný jedinec.

Hlavní využití modelu SIR spočívá v odhadu časového vývoje veličin i, s, r na základě numerického řešení uvedených rovnic, přičemž parametry a, b můžeme odhadnout z dostupných empirických dat. Z uvedených rovnic je zřejmé, že parametr b lze odhadnout pomocí doby, po kterou je infikovaný jedinec schopen předat nákazu jedinci náchylnému.

- 2) Odhadněte hodnotu parametru b pro nákazu koronavirem SARS-CoV-2, uvádí-li se pro tuto nákazu průměrná doba infekčnosti 5 dní.

Na následujícím obrázku je znázorněn průběh tří křivek $s(t), i(t), r(t)$, jejichž parametry a, b byly odhadnuty regresní analýzou počtu jedinců infikovaných virem SARS-CoV-2 v České republice v období 10.–23. 3. 2020.

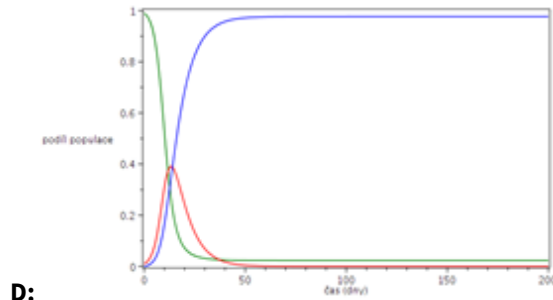
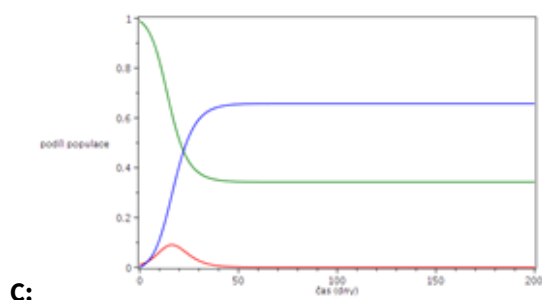
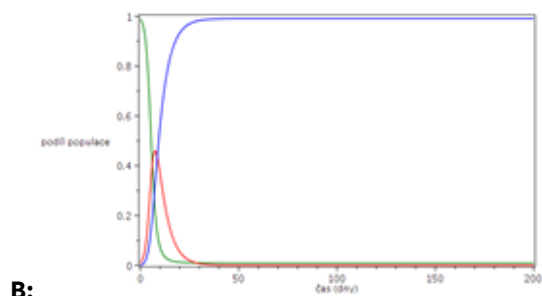
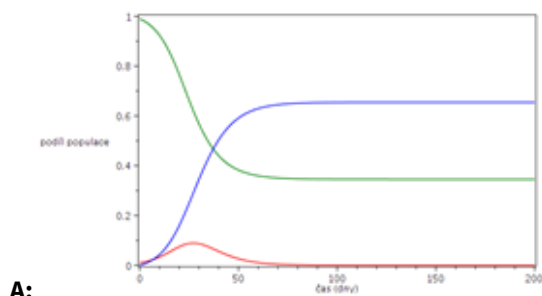


3) Posuďte, která křivka popisuje závislost $s(t)$, $i(t)$ a $r(t)$.

Jeden z parametrů a , b je náchylný na změny ve společenském postoji k šíření nákazy: odráží například dodržování dostatečných rozestupů a používání ochrany dýchacích cest.

Předpokládejte nyní, že oproti situaci znázorněné na úvodním obrázku došlo ke změně příslušného parametru zavedením **povinné karantény pro jedince s prokázanou nákazou**.

4) Určete, který z obrázků ilustruje křivky $s(t)$, $i(t)$, $r(t)$ s novým parametrem při zavedení povinné karantény pro jedince s prokázanou nákazou (křivky jsou znázorněny v týchž barvách jako na obrázku výše).



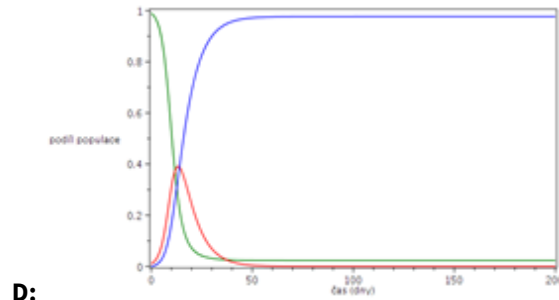
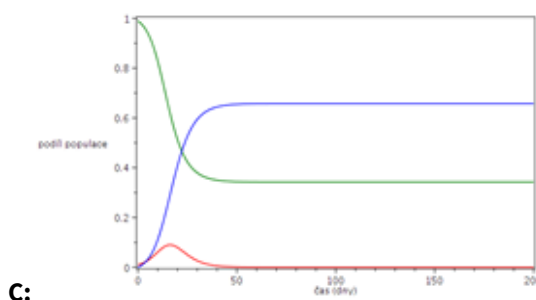
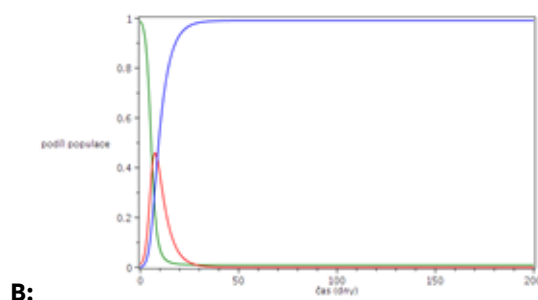
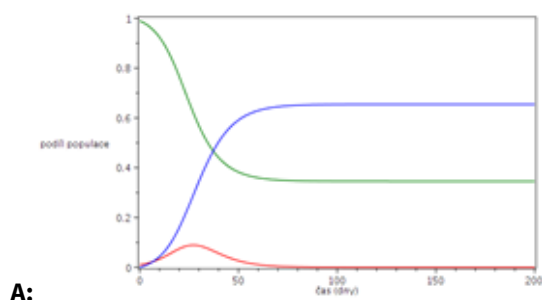
5) Který parametr byl výše uvedeným opatřením ovlivněn? Zdůvodněte své tvrzení.



Ovlivnění druhého z parametrů a , b je podstatně náročnějším úkolem, neboť odpovídá snaze o změnu rychlosti, s níž se z jedinců infikovaných stávají jedinci zotavení. Toho by bylo principiálně možné dosáhnout zavedením používání účinného léčiva.

Předpokládejte nyní, že oproti situaci znázorněné na úvodním obrázku došlo ke změně příslušného parametru zavedením **plošného podávání léčiva všem infikovaným jedincům**.

- 6) Určete, který z obrázků ilustruje křivky $s(t)$, $i(t)$, $r(t)$ s novým parametrem při zavedení plošného podávání léčiva všem infikovaným jedincům (křivky jsou znázorněny v týchž barvách jako na obrázcích výše).



- 7) Který parametr byl výše uvedeným opatřením ovlivněn? Zdůvodněte své tvrzení.

**BIOCHEMIE****A 5 BODŮ****Garant****Ing. Petra Ménová, Ph.D.***Ústav organické chemie, Ústav učitelství a humanitních věd, VŠCHT Praha***Autorský a recenzní tým****Iva Švecová***Fakulta chemicko-inženýrská, VŠCHT Praha
Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha***Bc. Eva Brichtová, MPhil***Yusuf Hamied Department of Chemistry, University of Cambridge, UK***Tomáš Ovad***Ústav fyzikální chemie, Fakulta chemicko-inženýrská, VŠCHT Praha, Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha***Filip Svěrák***Přírodovědecká fakulta a Lékařská fakulta, Masarykova univerzita***Ing. Petra Ménová, Ph.D.***Ústav organické chemie, Ústav učitelství a humanitních věd, VŠCHT Praha*

Milí studenti,

v poslední době se na nás ze všech stran valí informace o RNA virech, respektive jednom typu RNA viru, který dokázal během pár měsíců obrátit svět vzhůru nohama. Tisíce vědců po celém světě pracují ve dne v noci, aby tohoto zákeřáka co nejlépe poznali, a byli tak schopni lépe proti němu bojovat. Proto se i my v letošním ročníku chemické olympiády podíváme koronaviru blíže na zoubek, tedy spíše na jeho nukleovou kyselinku.

Pro úspěšné vyřešení úloh se seznamte s následujícími pojmy:

- nukleové kyseliny, jejich struktura a funkce, typy RNA
- dusíkaté báze, párování bazí, nevazebné interakce
- centrální dogma molekulární biologie: replikace, transkripce, translace, reverzní transkripce
- polymerázová řetězová reakce (PCR), kvantitativní PCR reverzní transkripce (RT-qPCR)
- gelová elektroforéza
- Sangerova dideoxymetoda
- STR analýza
- teplota tání DNA
- denaturace DNA
- UV-Vis spektroskopie a Lambertův-Beerův zákon
- genetický kód (pouze práce s ním, není třeba se ho učit zpaměti)
- životní cyklus SARS-CoV-2 (stručně) a RNA vakcína proti Covid-19

**Doporučená literatura**

Základní literatura

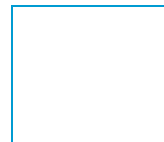
1. Kodíček, M.; Valentová, O.; Hynek, R. *Biochemie, chemický pohled na biologický svět*. 2. vydání.; Vydavatelství VŠCHT Praha: Praha, 2018 (kapitoly 3.7, 3.8, 6.1–6.16, dále s. 86: Gelová elektroforéza).
2. Kodíček, M. *Biochemické pojmy: výkladový slovník* [online]. Praha: VŠCHT Praha, 2004 [cit. 2021-01-10]. Dostupné z: https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid_es-002_v1/index.html.
3. Koolman, J.; Röhm, K.-H.: *Barevný atlas biochemie*, GRADA Publishing, 2012 (Kapitoly: Sekvenování DNA, Polymerázová řetězová reakce – PCR), s. 258–261.
4. Hobza, P.; Havlas, Z. Netušená síla slabých vazeb. *Vesmír* 2010, 89 (10), 594–597.
5. Alberts, B.; Bray, D.; Johnson, A. *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky*. 2. vyd. Ústí nad Labem: Espero, 2006 (Kapitola 7: Od DNA k proteinu).

Pro pokročilejší

1. Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Morgan, D.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. *Molecular Biology Of The Cell*. 6th ed. New York: Garland Science. 2015 (v angličtině; Chapter 6: How cells read the genome: From DNA to Protein).

Doporučené internetové zdroje

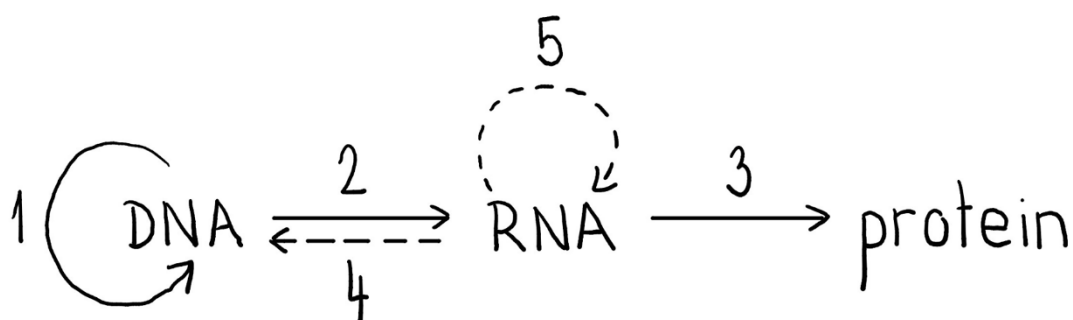
1. COVID-19: co víme o mRNA vakcínách? *Národní zdravotnický informační portál* [online]. [cit. 2021-01-17]. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/1077-covid-19-co-vime-o-mrna-vakcinach>
2. Jak funguje RNA vakcína? *Biologické centrum AV ČR, v. v. i.* [online]. [cit. 2021-01-17]. Dostupné z: <https://www.bc.cas.cz/novinky/detail/5750-jak-funguje-rna-vakcina/>
3. Jak fungují nové mRNA vakcíny a jak to jednoduše vysvětlit? Molekulárně biologické minimum pro praxi. *ProLékaře.cz* [online]. [cit. 2021-01-17]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/covid-19/jak-funguji-nove-mrna-vakciny-a-jak-to-jednoduse-vysvetlit-molekularne-biologicke-minimum-pro-praxi-125476>

**Úloha 1 Centrální dogma molekulární biologie****15 bodů**

Centrální dogma molekulární biologie je popis pravidel, podle kterých dochází v organismu k přepisu a tvorbě biopolymerů, formulovaný v roce 1956 Francisem Crickem. Hlavní pointou centrálního dogmatu je to, že v organismu dochází k přepisu DNA do RNA a RNA (konkrétně mRNA) do proteinu, ale nemůže docházet ke zpětnému přepisu od proteinu zpět k nukleovým kyselinám.

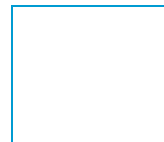
- 1) **Francis Crick je znám především díky jinému svému objevu z roku 1953, za který dokonce získal Nobelovu cenu. O jaký objev se jednalo?**
- 2) **V této úloze se zabýváme biopolymery. Vysvětlete, co znamená slovo polymer. K čemu je dobré, že nukleové kyseliny a proteiny mají právě charakter polymeru?** (Zamyslete se nad tím, jak to, že jde o polymery, souvisí s procesy diskutovanými v této otázce.)

Podívejme se nyní na schéma centrálního dogmatu, které je ukázáno na následujícím obrázku.



Plnou čarou jsou vyobrazeny 'klasické' procesy probíhající ve všech organismech a čárkovaně procesy vyskytující se pouze u některých organismů.

- 1) **Pojmenujte procesy 1–5.**
- 2) **U jakých organismů tvoří procesy 4 a 5 významnou část jejich životního cyklu?**
- 3) **Proces 4 našel využití v laboratorní praxi, například v souvislosti s pandemií koronaviru SARS-CoV-2. Jak se označuje laboratorní metoda, při které je tento proces využíván? Stručně vysvětlete princip této metody.**
- 4) **Napište, jaké jsou hlavní role jednotlivých biopolymerů (DNA, RNA, a to konkrétně mRNA a proteinů) v organismech, v souvislosti s tím, jak se mezi nimi přenáší informace.**
- 5) **Jaký by mělo z evolučního hlediska dopad to, kdyby bylo možné přenášet informaci z proteinů do DNA?**
- 6) **Přiřaďte následující pojmy k procesům 1–5: rRNA, wobbling, reverzní transkriptáza, DNA polymeráza, tRNA, antikodon**

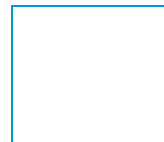
**Úloha 2 Lesk a bída dihelixu****20 bodů**

V letošní biochemické části Chemické olympiády obdivujeme nukleové kyseliny spíše v akci, kdy plní své nezastupitelné role a přitom si udržují svou našťoušenou strukturu. V této úloze se však podíváme na situace, kdy jsou nuceny svou přirozenou ladnost opustit, ačkoli ani tak nepřestávají být užitečné – budeme se tedy věnovat denaturacím. Nejprve se seznámíme se základními pojmy a principy, které souvisí s denaturací biopolymerů (tj. nukleových kyselin a částečně i proteinů). Dále si ukážeme, že i nukleové kyseliny mají svou teplotu tání, přičemž jako pomocný nástroj nám zde poslouží důležitá laboratorní technika – spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti (UV-Vis).

1) Přiřadte následující pojmy k jejich definicím.

I ____, II ____, III ____, IV ____, V ____, VI ____, VII ____, VIII ____

I	kvarterní struktura	A	pořadí monomerních jednotek v řetězci biopolymeru
II	denaturace	B	celkové prostorové uspořádání řetězce biopolymeru (včetně interakcí vedlejších řetězců apod.)
III	nativní struktura	C	prostorové uspořádání sousedních či nepříliš vzdálených jednotek řetězce biopolymeru
IV	vysolování	D	čínidlo používané k rozrušení vodíkových vazeb mezi molekulami vody, a tím k destabilizaci hydrofobních interakcí biopolymeru ve vodném prostředí
V	sekundární struktura	E	čínidlo používané k redukci disulfidových můstků v molekulách proteinů
VI	primární struktura	F	prostorové uspořádání biopolymeru, které podmiňuje plnění jeho biologické funkce
VII	dithiothreitol	G	změna kvarterní/terciární/sekundární struktury biopolymeru (spojená se ztrátou biologické aktivity)
VIII	terciární struktura	H	prostorové uspořádání podjednotek, z nichž se biopolymer skládá
IX	chaotropní čínidlo	I	snížení rozpustnosti biopolymeru působením vysoké iontové síly (beze ztráty biologické aktivity)



- 2) Definice A z úkolu 1 obsahuje pojem monomerní jednotka. Uveďte pro následující typy biopolymerů, z jakých monomerů vznikají, a jak se nazývají vazby, kterými jsou monomerní jednotky spojeny.

polymer	monomer	označení vazby
nukleová kyselina		
protein		
polysacharid		

- 3) V úkolu 1 bylo zmíněno, že pro stabilizaci biopolymeru ve vodném prostředí bývají důležité tzv. hydrofobní interakce.

a) Vysvětlete podstatu těchto interakcí.

b) Uveďte alespoň dva příklady činidel, jimiž je možné hydrofobní interakce narušit.

V předchozích úkolech jsme si nastínili možné způsoby denaturace. Nyní zaměříme svou pozornost na denaturaci biopolymeru působením zvýšené teploty. V případě proteinů se s řadou příkladů setkáme v potravinářství, protože denaturované proteiny jsou mnohem snáze zpracovatelné našimi trávicími enzymy. S denaturací DNA se setkáváme v mnohých technikách molekulární biologie (např. polymerázová řetězová reakce (PCR), hybridizace DNA).

Podstatou denaturace při zahřívání roztoku DNA je přechod od dvouvláknové struktury (dsDNA, z angl. *double-stranded*) k jednovláknové (ssDNA, z angl. *single-stranded*). Tyto změny je možné sledovat například pomocí molekulové absorpční spektroskopie v ultrafialové a blízké viditelné oblasti (zkráceně UV-Vis spektroskopie).

- 4) Při těchto měřeních obvykle sledujeme závislost absorbance při 260 nm na rostoucí teplotě.

a) Jaké strukturní motivy v molekule DNA vykazují absorpční maximum při 260 nm?

b) Jak se projeví zvyšování teploty na hodnotě absorbance? Jak se uvedený efekt nazývá a čím je v případě DNA způsoben?

Jako teplotu tání v případě DNA označujeme teplotu, při níž v roztoku dojde k vyrovnání koncentrací forem dsDNA a ssDNA. Teplotu tání (T_m) krátké sekvence DNA (14–20 párů bází) lze odhadnout pomocí zjednodušeného vztahu:

$$T_m (^{\circ}\text{C}) = 2N(\text{A-T}) + 4N(\text{G-C}).$$

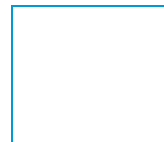
V tomto vztahu značí $N(\text{A-T})$ počet párů adenin-thymin a $N(\text{G-C})$ počet párů guanin-cytosin ve struktuře oligonukleotidu.

- 5) Proč mají páry G–C v uvedeném vztahu větší váhu než páry A–T? V literatuře se pravděpodobně setkáte s jedním rozšířeným zdůvodněním tohoto jevu. Nedávno však bylo podáno zdůvodnění druhým, významnějším mechanismem. Uveďte oba.

- 6) Pro účely metody PCR se uvádí, že teplota vhodná k nasedání primeru T_a (*annealing temperature*) by měla být zhruba o 5 °C nižší než jeho teplota tání. Navrhněte vhodnou teplotu T_a pro následující primer:



- 7) Pro primer z úkolu 6 nakreslete očekávanou podobu grafu závislosti absorbance při 260 nm na teplotě. Do grafu znázorněte teplotu tání primeru T_m .



UV-Vis spektroskopie je rovněž mocným nástrojem kvantitativní analýzy. Pro stanovení koncentrace DNA se používá nám již známá vlnová délka 260 nm. Absorpční koeficient se vyjadřuje v různých jednotkách a obvykle se stanovuje pomocí sady kalibračních roztoků o známé koncentraci.

- 8) **Preparát po izolaci DNA z vepřové sleziny jsme převedli do mikrozkušavky a doplnili pufrům na objem 2,0 ml. Z připraveného roztoku jsme odebrali 600 μ l a přidali 3,0 ml pufru. Z této směsi jsme po promíslení převedli 2,0 ml roztoku do 1 cm kyvety a změřili jeho absorbanci při 260 nm $A_{260} = 0,825$. Vypočítejte hmotnost DNA v původním preparátu v mikrozkušavce, jestliže jsme v téže kyvetě naměřili pro kalibrační roztok o koncentraci $0,0505 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ absorbanci $A_{260, \text{kal}} = 1,01$.**

Úloha 3 Elektrickým polem vstříc k pravdě

15 bodů

Ačkoli současná nabídka molekulárně-biologických laboratoří je nesmírně pestrá a neustále prochází velmi dynamickým vývojem, některé základní kroky experimentálních procedur se nemění a patří k rutinním technikám, které si každý biochemik musí osvojit. Jedním z těchto důležitých (mezi)kroků je separace jednotlivých molekul DNA z jejich směsi, k níž se používá gelová elektroforéza. V následujících úkolech se s touto metodou seznámíme a jejího potenciálu poté využijeme jak v boji s novým koronavirem, tak při identifikaci otce dítěte.

Elektromigrační metody jsou založeny na rozdílné pohyblivosti částic ve stejnosměrném elektrickém poli. Pohyblivost částice je určena jejím nábojem, hmotností a rozměrem (přesněji hydrodynamickým poloměrem). V biochemii obvykle usilujeme o separaci molekul proteinů nebo molekul DNA. Běžnou metodou je gelová elektroforéza, při níž nanášíme vzorek do gelu ponořeného do pufru v elektrolytické vaně. Po připojení stejnosměrného napětí molekuly vzorku putují skrze póry elektroforetického gelu k elektrodám. Po určité době vyvíjení gelu odpojíme zdroj napětí a separované molekuly detegujeme vhodným činidlem.

Podle povahy separovaných molekul volíme složení elektroforetického gelu (nejčastěji agarosa a poly(akrylamid)), pufru, způsob detekce i uspořádání experimentu.

1) V následujících dvou tvrzeních škrtněte nevyhovující pojem.

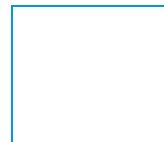
- a) Při separaci proteinů obvykle využíváme **agarosový/polyakrylamidový** gel, při separaci nukleových kyselin obvykle využíváme **agarosový/polyakrylamidový** gel.
- b) Pro agarosovou elektroforézu využíváme **horizontální/vertikální** uspořádání elektroforetické vany, pro polyakrylamidovou elektroforézu využíváme **horizontální/vertikální** uspořádání elektroforetické vany.

Nyní se zaměříme na gelovou elektroforézu nukleových kyselin. Vhodný gel a uspořádání jsme už zvolili. Jako pufr se používá zejména tzv. TAE pufr tvořený následujícími složkami: Tris (tris(hydroxymethyl)aminomethan), octová kyselina a EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina, resp. její disodná sůl). Tento pufr udržuje pH okolo hodnoty 8,3.

2) Vysvětlete, jaký význam má v elektroodovém pufru TAE přítomnost EDTA.

Zbývá zvolit způsob detekce separovaných molekul po ukončení elektroforézy. Tradičně používaným činidlem je ethidiumbromid, který po interkalaci do molekul DNA vykazuje fluorescenci při 605 nm (oranžová barva). Ethidiumbromid aplikujeme do elektroodového pufru před začátkem elektroforézy. Po jejím ukončení gel vystavíme působení ultrafialového záření a zaznamenáváme vybarvené proužky.

3) Proč fluorescenci ethidiumbromidu pozorujeme až po jeho začlenění do struktury DNA?



Po přípravě experimentální aparatury už můžeme aplikovat vzorek do připravených jamek v elektroforetickém gelu. Pak již nezbývá než spustit zdroj napětí.

- 4) **Jaký elektrický náboj mají molekuly DNA v prostředí zvoleného pufru? Kterými strukturními motivy je tento náboj způsoben? Jak se nazývá elektroda, k níž budou molekuly DNA migrovat (katoda/anoda)?**
- 5) **V průběhu elektroforézy pozorujeme u obou elektrod bublinky. Vysvětlete způsob jejich vzniku. U které elektrody bychom měli pozorovat více bublinek (a proč)?**

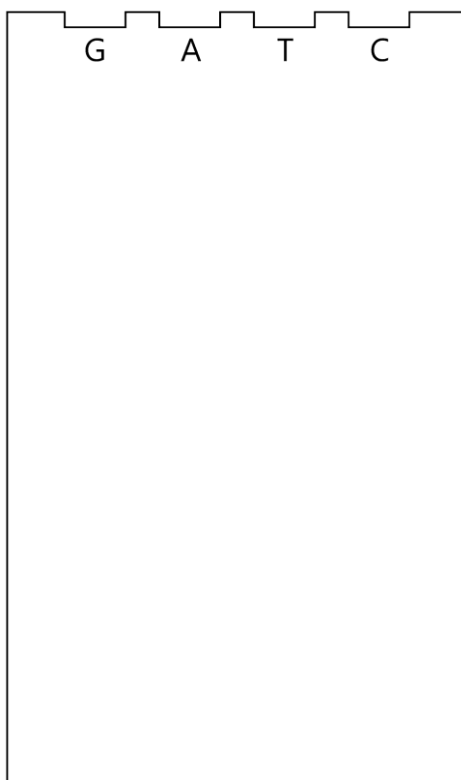
Gelovou elektroforézu vzorku DNA nyní použijeme v metodě stanovující sekvenci jednoho z primerů, který se používá při klinickém testování nákazy SARS-CoV-2 metodou RT-PCR. Reálný postup je obvykle (i v případě tohoto viru byl) opačný – provede se sekvenace celého genomu a pomocí nástrojů bioinformatiky se navrhnou sekvence primerů, ty nejvhodnější z nich se poté zvolí experimentálně. Primer si tedy objednáme již připravený, přesto může být užitečné si jeho sekvenci ověřit běžně dostupnými technikami.

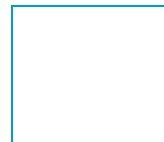
Použijeme Sangerovu dideoxymetodu, při níž syntetizujeme komplementární řetězec k sekvenovanému úseku ve čtyřech zkumavkách. V každé zkumavce je kromě potřebných enzymů směs všech čtyř deoxynukleotidů (dGTP, dATP, dCTP, dTTP) a v jednotlivých zkumavkách je vždy jeden dideoxynukleotid (ddGTP, ddATP, ddCTP, ddTTP). V každé ze zkumavek vznikne při syntéze směs oligonukleotidů, která je ukončena vždy stejným dideoxynukleotidem (neboť na dideoxynukleotidu nemůže syntéza řetězce pokračovat). Provedeme-li separaci všech čtyř vzorků pomocí gelové elektroforézy, můžeme ze získaných elektroforeogramů stanovit hledanou sekvenci.

- 6) **Primer, jehož cílovou sekvencí je RNA-dependentní RNA-polymeráza viru SARS-CoV-2, má následující sekvenci:**

5'-CCGCCACACATGACCATCTCAC-3'.

Tuto sekvenci využijeme jako templát při Sangerově sekvenování. Do následujícího obrázku zakreslete očekávanou podobu získaného elektroforeogramu (G značí zkumavku obsahující ddGTP atd.).





Gelová elektroforéza nám dále poslouží v tzv. DNA fingerprintingu, tedy v identifikaci osob na základě odběru biologických vzorků. S tímto úkolem se setkáváme například při určování otcovství nebo vylučování podezřelých při vyšetřování trestného činu. K tomuto účelu jsou často využívány tzv. krátké tandemové repetice (STR, z angl. *Short Tandem Repetitions*) – krátké nedókující sekvence, jejichž délka se mezi osobami mírně liší. Bez dalších detailů můžeme shrnout, že každému jedinci přísluší určitý vzor STR fragmentů. Chybí-li ve vzoru podezřelého některý z fragmentů, který pozorujeme ve vzoru neznámého pachatele, můžeme podezřelého vyloučit. Podobně pomocí STR vzorů matky, dítěte a potenciálních otců můžeme vyloučit otcovství.

- 7) Na následujícím obrázku vidíme elektroforeogramy získané při STR analýze DNA malého Matyáše, jeho maminky Matyldy a tří možných otců – Medarda, Metoděje a Mariana. Pro přehlednost je elektroforeogram Matyldy znázorněn modře a stejnou barvou jsou vyznačeny proužky společné pro Matyldu a Matyáše. Určete, který z mužů je otcem Matyáše.

