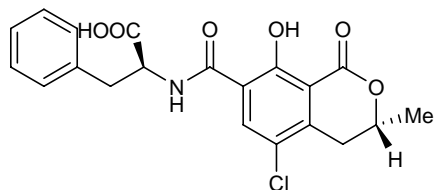


Ochratoxiny

Tato skupina mykotoxinů zahrnuje sedm isokumarinových derivátů produkovaných druhy rodu *Aspergillus* (*A. ochraceus*, *A. sulphureus*, *A. sclerotinum*) a *Penicillium* (*P. verrucosum*, *P. purpurascens*, *P. commune*, *P. viridicatum*). Nejvýznamnější látkou je ochratoxin A. Primárním cílovým orgánem ochratoxinu A je vyvíjející se centrální nervový systém. Ochratoxin A je vysoce imunotoxický a teratogenní. Krmivo obsahující ochratoxin A v množství 200 ng/g způsobuje otoky ledvin charakterizované atrofií proximálních tubulů a intersticiální kovovou fibrózou. Symptomy popisované u zvířat byly zjištěny i u lidí (balkánská ledvinová choroba). U hlodavců konzumace ochratoxinu A způsobuje jaterní a ledvinový karcinom.



ochratoxin A

– pokračování příště –

Literatura:

- Lékařská mikrobiologie obecná: Votava M., 2005, Neptun, Brno
- Lékařská mikrobiologie: Greenwood D., Slak R., Peutherer J. F. 1999, Grada, Praha
- www.sinice.cz
- Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka: Malíř F., Ostrý V., 2003, Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Brno
- Mykotoxíny: Betiny V., 1990 Alfa Bratislava
- www.biotox.cz
- vyhledávač SciFinder, určení chemických struktur

Poděkování:

Na tomto místě chci poděkovat Herbymu (Jiřímu Kysilkovi), spoluautorovi serveru Biotox, za poskytnutí některých materiálů ze serveru.

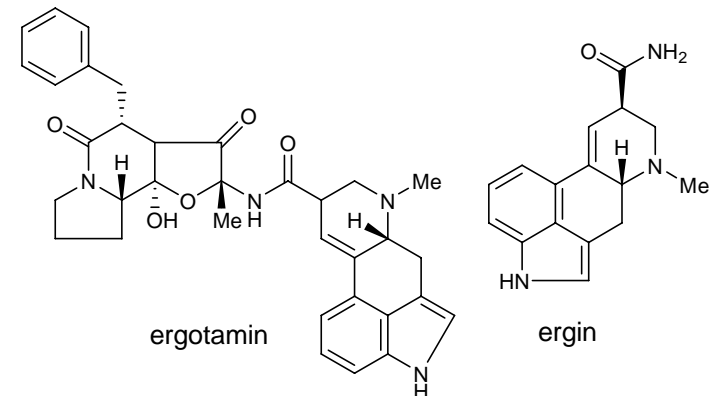


Korespondenční Seminář Inspirovaný Chemickou Tematikou

Ročník 4 (2005/2006)

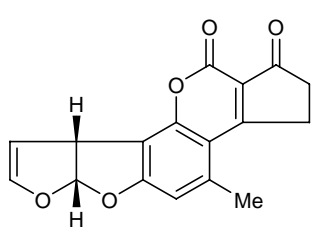
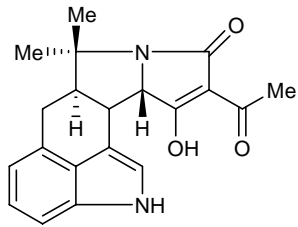
Série 3

kteří obsahuje drobné plodničky, uvnitř kterých jsou vřeska s vláknitými výtrusy. V době kvetení žita jsou otvory plodniček vymršťovány výtrusy a unášeny větrem a dostávají se do kvetoucích klasů. Tam výtrusy vyklíčí v mycelium, které proniká do spodní části napadeného klásku, prorůstá ho a za čtyři dny po napadení žita se na povrchu semeníků vytváří podhoubí, na kterém se odškrcují drobné oválné bezbarvé výtrusy. Současně houba vylučuje na povrchu semeníků sladkou šťávu lákající hmyz, který na povrchu těla roznáší konidie na jiné semeníky a rozšiřuje nákazu. Toto konidiové stádium je známé pod jménem *Sphacelia segetum*. Později se ze semeníku vytvoří černá nebo temně fialová sklerocia (námel) a vývojový cyklus se opakuje. Alkaloidy houby paličkovice nachové tvoří velmi početnou a dobře prostudovanou skupinu látek. V různých druzích námelu se jich vyskytuje přinejmenším třicet. Celkový obsah bází v námelu kolísá v rozmezí 0,025–0,4 %, zcela výjimečně dosahuje až 1 %. Zastoupení některých alkaloidů se liší podle druhu námela, lokality jeho pěstování a druhu trávy. Nejběžnější jsou alkaloidy ergotamino-ergotoxinové skupiny (nerozpustné ve vodě), které jsou zodpovědné za toxické účinky. Druhou skupinou alkaloidů jsou amidy kyseliny lysergové (ve vodě rozpustné) s nejdůležitějšími zástupci erginem (amidem kyseliny D-lysergové) a ergobasinem.



Intoxikace námelovými alkaloidy vyvolává onemocnění zvané ergotismus. Je to také první historicky doložená mykotoxikóza (Aténský mor z r. 430 př. Kr.). Ergotismus se může projevit ve dvou klinických formách (zřejmě podle obsahu jednotlivých alkaloidů). Konvulsivní (křečovitý) ergotismus má tyto symptomy: mírné závratě, pocit tlaku v čelní oblasti hlavy, únava, deprese, nauzea se zvracením nebo bez něj, bolesti v končetinách a bederní oblasti, které mohou dělat potíže při chůzi. V nejzávažnějších případech má pacient křeče podobné epilepsii. Zemřít může třetí den po nástupu příznaků. Gangrenózní ergotismus je charakterizován stažením cév, svalovými bolestmi, střídavými pocity chladu a tepla. Při těžkém průběhu se objevuje nekróza, gangréna až ztráta končetin.

v okolí Londýna po zkonzumování krmiva s obsahem toxické arašídové mouky. Postupně byly identifikovány 4 přírodní typy aflatoxinů: AFB₁, AFB₂, AFG₁ a AFG₂. Nejčastěji se vyskytuje AFB₁. Aflatoxiny mohou být akutně toxické, kancerogenní, mutagenní a teratogenní. Tyto sloučeniny jsou primárně metabolizovány v játrech mikrozomálními oxidázami a cytozolikými enzymy. Většina primárních metabolitů je dále detoxikována konjugací s kyselinou glukuronovou nebo sírovou a eliminována močí nebo stolicí. Kancerogenita a mutagenita AFB₁ je nejpravděpodobněji dána tvorbou reaktivního epoxidu v poloze 2,3-terminálního furanu a jeho následnou vazbou na nukleovou kyselinu. AFB₁ má akutní toxicitu LD₅₀ v rozsahu 0,4–18 mg/kg v závislosti na živočišném druhu. Bylo zjištěno, že u malých dětí způsobuje vznik Reyova syndromu (encefalopatie a tuková degenerace vnitřních orgánů). Aflatoxiny jsou tepelně velmi stálé a k inaktivaci nedochází ani po tepelné úpravě pokrmů.

aflatoxin AFB₁

cyklopiazonová kyselina

Kyselina cyklopiazonová

Jedná se o mykotoxin střední toxicity, charakterizovaný v roce 1968. Je produkována houbami rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Z toxikologického hlediska je nejvýznamnější produkce u *Penicillium camemberti*, kdy dochází k produkci toxinu při skladování plísňových sýrů nad 10 °C. Kyselina cyklopiazonová je potencionálním inhibitorem syntézy bílkovin, kdy inhibuje překlad RNA při syntéze bílkovin a poškozuje ribosomy. Inhibuje transport Ca²⁺ do endoplazmatického retikula – tento transport hraje důležitou roli při svalové kontrakci (LD₅₀ = 2 mg/kg pes).

Námelové alkaloidy

Jedná se o skupinu toxických alkaloidů produkovaných paličkovicí nachovou (*Claviceps purpurea*). Tato houba je z biologického hlediska poměrně zajímavá, a tak si řekneme pár slov o jejím vývojovém cyklu. Paličkovice nachová je parazitická houba divoce rostoucích trav a kulturních obilovin. V klase se místo zrna vytvářejí velká černá nebo temně fialová sklerocia (námel). Při dozrávání vypadávají sklerocia z klasu na zem a tam přezimují. Na jaře na nich vyrůstají oranžové paličky složené z dlouhé tenké stopky a kulovité hlavičky – stroma,



Korespondenční seminář
probíhá pod záštitou
Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy
Hlavova 2030
128 43 Praha 2

KSICHT na Internetu

Informace o semináři, zadání a řešení úloh všech sérií (samozřejmě ne řešení aktuální série), průběžné výsledky a nejnovější informace (např. i errata tištěné podoby série) můžete nalézt na Internetu na adrese <http://ksicht.iglu.cz>. Zde naleznete i kontakty na nás, autory úloh. Neváhejte se na nás kdykoli obrátit, jsme tu pro vás.

Na Internetu, přesněji na adrese <http://www.hofyland.cz>, sídlí také diskusní fórum **Nerozpuštěný křeček**. Tématem hovoru nebývá vždy jen chemie. Proto neváhejte a připojte se do diskuse.

Informace pro nové řešitele

Do řešení úloh se můžete zapojit kdykoliv během školního roku. Nezapomeňte nám ale o sobě napsat potřebné informace, nejlépe vyplňte přihlášku na Internetu: <http://ksicht.iglu.cz/prihlaska.php>

Pokud nemáte přístup k Internetu, napište nám s řešením na zvláštní papír **jméno a příjmení, kontaktní adresu, e-mail, školu**, na niž studujete, **ročník a třídu** – studenti víceletých gymnázií, uveďte prosím ročník čtyřletého gymnázia, který je ekvivalentní tomu vašemu.

Výlet s KSICHTem

V nezávislém výzkumu Univerzity Karlovy prováděném předními odborníky bylo prokázáno, že devět z deseti řešitelů KSICHTu jezdí pravidelně na naše výlety. Jsi ty tím desátým? Nastal čas to změnit!

Zakroužkujte si v kalendáři víkend od 7. do 9. dubna. Letos se jarní výlet bude konat v Příbyslavi (kraj Vysočina), aby to moravští řešitelé neměli tak daleko. Prosíme potenciální zájemce, aby dali vědět e-mailem, nebo písemně na adresu KSICHTu do 24. 3. Pište však co nejdříve, počet míst je bohužel omezen! Jakékoli zvědavé dotazy týkající se výletu pište Michalovi na mrezanka@seznam.cz. Aktuální informace se budou objevovat na internetové adrese <http://portal.orgchem.cz/Members/mrezanka/ksichtiakce.htm> (nutné zadat přesně v tomto tvaru – včetně velkého „M“).

Na všechny se moc těšíme!

Drahé Ksichtáčky, draží Ksichtáci!

Jak ten čas utíká... Tohle je již třetí úvodník, který pro Vás píšu, a při tom mám stále pocit, že školní rok začal sotva před pár dny. Podle kalendáře už je ale 13. ledna. Venku pošmurno, lezavo, sychravo, za oknem hluboko pod příjemných 300 K. Teplý čaj na stole a skripta rozestá po podlaze. Zima ve své nejzimovatější části. Ani nevím, proč mi při tom všem vytanulo na mysl slovo Fimbulwinter. Možná ale, jak nad tím přemýšlím, začínám pomalu tušit. Zvlášť když vzpomenu, že zkouškové – doba zúčtování – již klepe na dveře.

Na druhou stranu musím být alespoň trochu objektivní a připustit i výskyt názorů, dle kterých má zima mít údajně jednu, možná dokonce i více pozitivních stránek. Avšak moc bych tomu nedal.*

Ovšem ne jen zkouškovým živ jest člověk, a proto jsme opět vyvinuli nezměrné úsilí k překonání záluďné lenosti a připravili pro Vás další sérii Vámi již jistě velmi očekávaných úloh. Rozhodně se máte na co těšit. Popravdě musím říct, že mi při jejich procházení začalo být trochu líto, že již nemohu být oficiálním řešitelem a ponořit se znovu do toho krásného snažení při zjišťování odpovědí na zákeřné otázky autorů.

Přeji Vám tedy za sebe i za ostatní tvůrce KSICHTu:

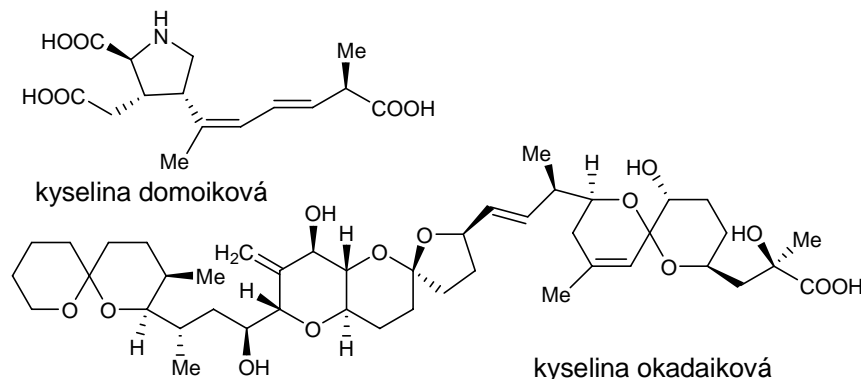
Necheť Vás štěstí i bystrý úsudek provází při řešení našich úloh a doufám, že se s Vámi všemi brzy shledám osobně na jarním výletě.

Honza Havlík

P.S. Nezapomeňte prosím vyplnit a zaslat anketu! Kdo se na to vykašle, ten ať si mě nepřeje :-)

* Pokud byste se však o nějaké dozvěděli a rozhodli se mne vyvést z omylu, budu velmi potěšen, připojte-li k řešení umělecky ztvárněný důkaz podporující toto tvrzení a zašlete ho spolu s nimi poštou. Nejhezčí počiny budou vystaveny a mnou náležitě odměněny! (Jejich forma ani rozsah není naprosto omezen**, a proto pokud se například rozhodnete složit oslavný opus ve formě klasického komiksu na téma „Zimní krajina zaplavená jitrními paprsky“ a následně provedete jeho zhudebnění do formy barokní opery, mohu myslím potvrdit i za ostatní autory, že toto představení velmi rádi navštívíme a následně i patřičně ohodnotíme.)

** Úpěnlivá prosba: Pokud by se někdo náhodou rozhodl vytvořit něco ve stylu bronzové sochy Calvinovského sněhuláka v nadživotní velikosti, dejte prosím vědět minimálně dva dny před jeho odesláním.



Průjmové toxiny (DSP)

Tato skupina se vyznačuje svým působením na zažívací trakt. Charakteristické rysy intoxikace jsou bolesti břicha, třes, průjem, intenzivní zvracení. Tyto příznaky po 1–4 hodinách v případě nízké dávky spontánně ustanou. Po chemické stránce se jedná o polyetherické laktony, například dinophysistoxin ($ED_{100} = 0,001 \text{ mg/kg}$, $LD_{100} = 0,1 \text{ mg/kg}$).

Neurotoxiny řas (NSP)

Intoxikace těmito toxiny se projevuje křečemi, respiračními potížemi až smrtí udušením, nebo zástavou srdce. Velmi citliví jsou na tyto toxiny obojživelníci a žáby. Princip účinku je podobný jako u ostatních neurotoxinů, brání uzavření sodíkových kanálů, a tím dochází k depolarizaci membrány. Zástupce této skupiny je například brevetoxin.

Alkaloidní neurotoxiny řas

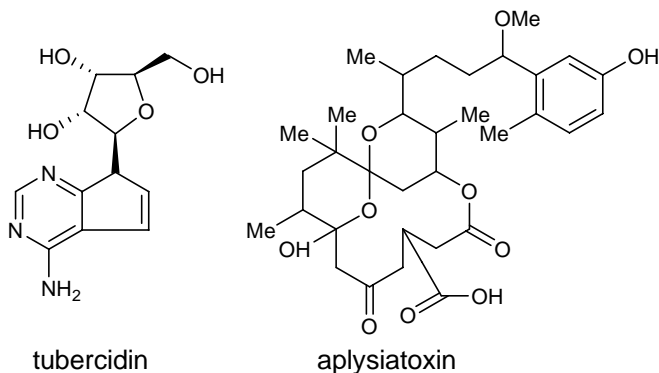
Zástupcem této skupiny je glenodinin ($LC_{100} = 0,13 \text{ mg/dm}^3$ pro japonskou rybu *Orizyas latipes*), který je selektivně toxický pro ryby.

Toxiny nižších hub

Nižší houby produkují celou řadu vysoce nebezpečných toxinů, které dostaly označení mykotoxiny. Těchto látek je celá řada a my si povíme o několika zástupcích, které jsou svojí jedovatostí a rozšířením nejznámější.

Aflatoxin

Aflatoxiny jsou produkované toxigenními kmeny *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus*, z jejichž názvu se také odvíjí označení aflatoxin (A. FLAVUS TOXIN). Tyto látky působí jako hepatotoxiny a hepatokancerogeny. Byly identifikovány začátkem 60. let při vyšetřování úmrtí 100 000 krátích mláďat



Imunotoxiny, imunomodulátory a imunosupresory

Nejčastější reakcí sensitivních jedinců na přítomnost vodního květu jsou alergie. Protože se jedná o kosmopolitní organismy, stále častěji se setkáváme s alergiemi na peptidy produkované řasami a sinicemi. Ze sledovaných řas vyvolávají nejsilnější alergické reakce rody *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Hydrodictyon*, *Nautococcus*, *Cladophora* a *Rhizoclonium*, ze sinic pak všechny studované rody tj. *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Phormidium*, *Nostoc*.

Toxiny řas

Řasy jsou na rozdíl od sinic (gramnegativní fotosyntetizující eubakterie) eukaryotní organismy. Vyskytují se ve sladkých i slaných vodách. Zajímavé je, že toxické látky produkují pouze řasy žijící ve slané vodě, zatímco sladkovodní druhy se omezují pouze na produkci alergenních látek.

Omamné toxiny (ASP)

Mezi tyto toxiny patří domoiková kyselina ($LD_{100} = 0,2$ mg/kg) a isodomoiková kyselina produkované rozsivkami *Amphora*, *Nitzschia*. Mechanismus toxicity je dán náhradou kyseliny glutamové na glutamových receptorech v mozku. Selektivně otevírá Na^+ kanály v postsynaptické membráně, čímž ji depolarizuje. Intoxikace se projevuje žaludečními nevolnostmi a zvracením.

Ciguaterové toxiny (CFP)

Charakteristickou skupinou jsou polyethery ciguatoxin a okadaiková kyselina ($LD_{100} = 0,02$ mg/kg) produkované obrněnkami *Acanthophora*, *Spiridia*, *Ceramium*. Tyto toxiny působí jako blokátory Na^+ kanálů autonomního nervstva, dále ovlivňují propustnost buněčných membrán, aktivují Ca^{2+} kanály. Intoxikace se projevuje prudkými a bolestivými zažívacími obtížemi, srdeční arytmií a následně smrtím udušením.

3. série úloh 4. ročníku KSICHTU

Série bude ukončena **6. 3. 2006**, úlohy je třeba odeslat nejpozději v tento den (rozhoduje datum poštovního razítka).

Úloha č. 1: Slavní chemici

(7 bodů)

autor: Mario Babuněk



Jak jistě víte, organická chemie je plná zajímavých reakcí. Hodně z nich je pojmenováno po svých objevitelích nebo badatelích, kteří pro tyto reakce našli praktické využití. V této úloze se blíže seznámíme s některými chemiky a reakcemi, jež jsou po nich pojmenovány.

Chemik A (1850 – 1910)

Narodil se v Praze v rodině muzikanta. Studoval na německé vysoké škole v Praze a poté ve Vídni. Od roku 1873 byl asistentem Friedricha Rocheldera na univerzitě ve Vídni. Jeden z jeho studentů Fritz Pregl získal v roce 1923 Nobelovou cenu. Roku 1887 se stal profesorem chemie v Grazu. Zabýval se syntézou některých dusíkatých heterocyklů.

Chemik B (1877 – 1968)

Tento ruský chemik studoval na univerzitě v Kazani, kde také začal pracovat ve výzkumu pod Zajcevovým vedením. Zabýval se nejprve organozinečnatými sloučeninami a pak organickými deriváty kyseliny fosforečné. Během první světové války vypomáhal při syntéze kyseliny salicylové a jejích derivátů.

Chemik C (1897 – 1978)

Tento anglický chemik se narodil 9. listopadu 1897 v Cambridgi. Jeho otec byl farmaceut. Od roku 1915 studoval na univerzitě v Cambridgi, ale hned v následujícím roce studium kvůli válce ukončil. V roce 1918 se stal válečným vězňem a zbytek války strávil v Německu. Pak se vrátil na univerzitu a tam působil až do své smrti. Zabýval se fotochemickými reakcemi a reakční kinetikou. Roku 1967 dostal Nobelovou cenu za chemii. Zemřel 7. června 1978.

Chemik D (1871 – 1935)

Tento francouzský chemik se narodil v Cherbourgu. Byl synem výrobce lodí. Nejdříve studoval matematiku a potom chemii na univerzitě v Lyonu. Od roku 1910 byl profesorem chemie. V roce 1912 dostal Nobelovou cenu za chemii společně s Paulem Sabatierem. Zabýval se organokovy. Zemřel 12 dní před Vánoce roku 1935.

Chemik E (1825 – 1909)

Narodil se ve Wiesbadenu v Německu. Studoval v Giessenu a v Heidelbergu. Společně s Robertem Bunsenem vypracoval studii o hnojivech. Jeho práce zahrnovala syntézu několika organických sloučenin, např. kyseliny isomáselné (1865); v roce 1861 vynalezl kónickou baňku, která je po něm pojmenována. Akademickou práci musel v roce 1883 ze zdravotních důvodů opustit, ale pokračoval nadále jako poradce. Zemřel v Aschaffenburgu.

Chemik F (1886 – 1975)

Tento anglický chemik se narodil v Ruffordu v rodině dělníka. Ve volném čase se věnoval horolezectví (Alpy, Pyreneje, Norsko, Nový Zéland), šachům, fotografování a hudbě. Vystudoval universitu v Manchesteru, kde roku 1910 získal titul DrSc. V roce 1947 získal Nobelovou cenu za výzkum dusíkatých látek, především alkaloidů (nikotin, kokain, chinin, kofein). Zemřel 8. února 1975.

1. Napište jména chemiků A až F.
2. Napište reakce (reaktanty, produkty a reakční podmínky) pojmenované po těchto chemících (reakce 1 až 6).
3. Z prvních písmen příjmení chemiků A až F složte jméno známého biochemika (chemik G).
4. Napište reakci týkající se proteinů pojmenovanou po tomto biochemikovi (reakce 7).
5. Jakou barvu má barevný produkt vznikající při reakci 7?

Úloha č. 2: Po výbuchu**(8 bodů)**

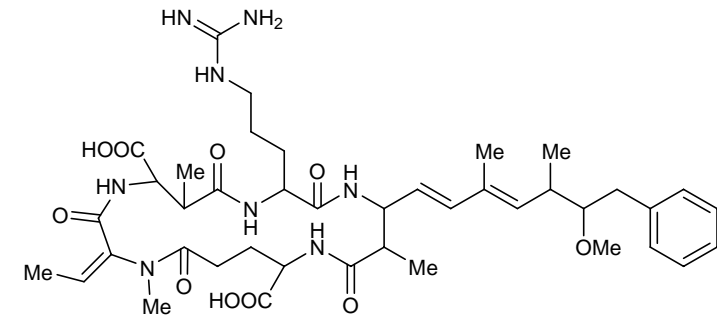
autor: Václav Kubát



Takový nepořádek v laboratoři ještě nebyl. Všude střepy, rozbité a rozsypané chemikálie. Jako po výbuchu. Vlastně ne jako – po výbuchu. A Jarda to musí všechno uklidit. Za výbuch totiž může on. On neumí zapalovat kahan, on nechal puštěný plyn a šel hledat sirky. A potom i škrtl. Byl moc horlivý, těšil se na plamenové zkoušky, které měl dělat, a spěchal. Vše už měl nachystáno, platinový drátek i vzorky solí (Li^+ , Na^+ , K^+ , Sr^{2+} a Ba^{2+}), stačilo jen nebouchnout při zapalování kahanu. Ještě štěstí, že se nikomu nic nestalo.

1. Opakování je matka moudrosti, takže mi zkuste popsat správný postup při zapalování kahanu.
2. Znáte latinský originál přísloví „opakování je matka moudrosti“? Napište jej.

na nádorový typ buněk. Intoxikace způsobuje destrukci parenchymatických buněk jater. Jedná se o velmi termostabilní látky, jejichž aktivita není omezena ani po několika hodinách varu.



nodularin

Bylo zjištěno, že microcystiny mají charakter tzv. *tumor promotion factors* (mohou vyvolat nádorové bujení). Orální podávání hrubého extraktu microcystinu vyvolávalo kožní nádory u myši a podávání čistého purifikovaného preparátu microcystinu LR vedlo k indukci jaterního nádoru. Bylo prokázáno, že zvýšená aktivita fosforylace proteinů je způsobena inhibicí proteinfosfátáz microcystinem, což vede k nekontrolované aktivitě proteinkináz, hyperfosforylaci a patologickým změnám v cytoskeletu jaterních buněk. Tyto změny jsou nejčastěji vyhodnocovány jako různé typy hepatitid, nebo vedou k rakovině jater. Z osmi zkoumaných látek byl microcystin LR nejsilnější aktivátor růstu rakovinných buněk, aktivnější než dietylnitrosamin.

Cytotoxiny

Sinice produkují také širokou skupinu látek s cytotoxickými a cytostatickými účinky. Proto jsou také často zařazovány mezi organismy biotechnologicky nadějně z pohledu farmaceutických výzkumů. Sinice rodu *Tolypothrix* produkovala cytotoxin, který byl nazván tubercidin. Tato látka má prokazatelnou protinádorovou aktivitu. Sinice *Spirulina subsalsa* nebo řasa *Chlorella pyrenoidosa* produkují cytostatika zabraňující rozvoji nádorů typu S-180.

Dermatotoxické alkaloidy sinic

Aplysiatoxin, lyngbyatoxin jsou aktivátory proteinkinasy c, způsobují poruchy vodní a solné bilance buněk. Intoxikace se při požití projevuje záněty trávicího traktu, při kontaktu dermatitidy. Dále bylo prokázáno, že tyto látky stimulují 2. a 3. fázi kancerogeneze.

Anatoxin a(s) – působí jako blokátor cholinesterázy, depolarizace postsynaptických zakončení, ovlivňuje nikotinové, muskarinové i acetylcholinové receptory.

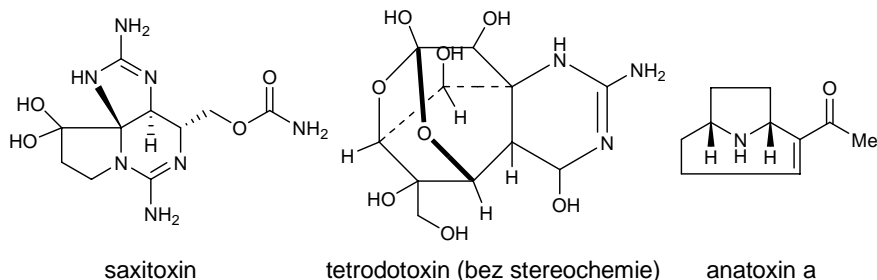
Sladkovodní sinice produkují zejména anatoxin a aphanotoxin. Velmi intenzivně působí neurotoxiny na volně žijící i domácí zvířata. Nejčastěji popisované diagnózy jsou křeče pohybového svalstva, nekoordinované pohyby, dávení, záchvaty zuřivosti, ztráta stability, dušení a následná smrt udušením.

Paralytické toxiny řas a sinic (PSP)

Mezi tyto toxiny patří:

- saxitoxin $LD_{100} = 0,001$ mg/kg
- neosaxitoxin
- gonyautoxin
- tetrodotoxin

Princip účinku je založen na tom, že saxitoxin je blokátor sodíkových kanálů, tetrodotoxin ruší akční potenciál nervových a svalových vláken. PSP jsou rychle absorbovány v zažívacím traktu, příznaky otravy se objevují během několika minut. Dochází ke zvracení, extrémně se snižuje tlak a postižený umírá udušením.



Hepatotoxiny

Mezi tyto toxiny patří:

- cylindrospermopsin $LD_{100} = 0,4$ mg/kg, jedná se o inhibitor proteosyntézy a syntézy glutationu. Poškozuje tkáně řady orgánů především jater.
- Microcystiny (cyanoginosin) – jedná se o cyklické polypeptidy, například nodularin $LD_{50} = 50\mu\text{g/kg}$. Princip účinku je způsoben inhibicí eukaryotních serin/threoninových fosfatáz 1 a 2A. Nekontrolovatelná fosforylace cílových proteinů vede k buněčné proliferaci, posttranslační modifikaci proteinů, chybnému přenosu signálů a k buněčné transformaci

3. Jak barví plamen soli uvedené v úvodním textu?

4. Chtěl-li Jarda dokazovat i K^+ , mohl potřebovat ještě jednu pomůcku kromě platinového drátku a kahanu. Co to bylo a proč to potřeboval?

Jarda uklízel a uklízel a postupem času ho napadlo, že by mohl zjistit, co to všechno rozbil. Tušil sice, jaké chemikálie byly v rozbitých lahvích, ale když už nedělal ty plamenové zkoušky, mohl by si alespoň dokázat, co to rozbil – jen tak se nechtěl vzdát možnosti udělat si aspoň nějaký pokus. Vyždímal tedy hadr, kterým utíral stůl, do kádinky a dal se do díla. Výsledkem jeho snažení byl seznam iontů přítomných v odebraném roztoku a popis jejich důkazů:

Ion 1: Lakmusový papírek ponořený do roztoku se zbarvil do červena.

Ion 2: Dusičnan stříbrný vysrážel sraženinu **A** rozpustnou v NH_3 za vzniku sloučeniny **B**. Po okyselení kys. dusičnou došlo k opětovnému vysrážení sraženiny **A**.

Ion 3: S chloridem barnatým poskytoval bílou sraženinu **C** nerozpustnou v kyselině dusičné.

Ion 4: Poskytoval pozitivní reakci s alizarinem (červený lak nerozpustný ve zředěné kys. octové).

Ion 5: Reakcí s hexakvanoželeznanem vznikla modrá sraženina **D**.

Ion 6: Reakcí s kyselinou šťavelovou vznikla bílá sraženina **E**, ion barvil plamen cihlově červeně.

5. Identifikujte ionty **1** až **6** a sloučeniny **A** až **E**. Vyčíslenými rovnicemi popište všechny zmíněné reakce (kromě reakce s alizarinem, tj. celkem 6 reakcí). Kde je to vhodné, použijte iontových rovnic.

6. Podívejme se ještě na ion **5**:

a) Při jedné reakci, jíž také lze ion **5** dokázat, vzniká efektní krvavě červeně zbarvený roztok. S čím takto ion **5** reaguje?

b) Pojmenujte sraženinu **D** systematickým i triviálním názvem. Existuje ještě jedna modrá sraženina podobného složení vzniklá reakcí iontu **5** v nižším oxidačním stavu s hexakvanoželeznanem. Napište její vzorec a opět systematický i triviální název.

Úloha č. 3: Myjete se?**(10 bodů)**

autor: Karel Berka



Nudíte se? Kupte si medvídka mývala. Myjete se? Kupte si ho taky.

K řešení této úlohy je zapotřebí důkladná příprava, kterou ocení především čistotné dívky:

Umyjte si ruce klasickým nebo tekutým mýdlem. Ovšem daleko lépe se na úlohu připravíte, pokud si před řešením umyjete i hlavu. Tak k ní budete přistupovat čistší na těle a tím částečně i na duchu.

Přípravení?

Nejdříve se zastavíme u mýdel:

1. Napište vzorec a název hlavní složky klasického pevného mýdla.
2. Rovnicí popište výrobu pevného mýdla.
3. Napište vzorec a název hlavní složky tekutého mýdla (vodu slyšet nechci).

Ale protože nejen mytím rukou živ jest kosmetický průmysl, zastavíme se ještě u šampónů, kterými si ti čistotnější z vás právě umyli vlasy.

Důkladnou studii pěti šampónů uzmutých potajmu v kolejních sprchách jsem zjistil, že se šampóny po chemické stránce příliš neliší. Udělal jsem pro vás výběr hlavních složek:

Aqua, Sodium Laureth Sulfate, Sodium Chloride, Cocamidopropyl Betaine, Parfum, Citric Acid, Polyquaternium-7, Panthenol, Limonene, Linalool, Disodium EDTA

4. Pro jednotlivé složky šampónu (pokud to jde) napište:
 - vzorec;
 - český IUPAC název;
 - důvod, proč v šampónu je.
5. Při té příležitosti zkuste zjistit (a napsat), co značí zkratka IUPAC.
6. Ve vzorku testovaných šampónů se objevil i šampón proti lupům obsahující ketokonazol. Jaký účinek má tato látka? Do jaké třídy léčiv patří?

Poznámka: Veškeré uzmuté šampóny byly po zjištění složení vráceny svým majitelkám.

účinku. Tetanospasmin má vysokou specifickou toxicitu $LD_{50} = 0,1 \text{ ng/kg}$ (intravenosně myš). Na toxin nejsou vnímaví ptáci a kočky.

Tetanus je onemocnění charakterizované křečemi kosterního svalstva. Obvyklá inkubační doba je asi týden. K lidským intoxikacím tetanospasminem dochází, je-li sporami *C. tetani* infikována hluboká rána (bodná nebo střelná). V poškozené tkáni hostitele se pomnožuje a odtud se toxin vstřebává do krve a lymfy a takto se dostává k nervovým zakončením na nervosvalových ploténkách. Z nich se v nervových svazcích šíří do centrálního nervového systému k motorickým neuronům. Tetanospasmin proniká do membrán podobným mechanismem jako botulotoxin. Fragment toxické molekuly, který pronikne do cytosolu neuronu, blokuje normální inhibici motorických neuronů tím, že zabrání uvolňování mediátorů této inhibice (glycinu a kyseliny γ -aminomáselné). Tím se sníží práh dráždivosti motorických neuronů, zvýší se reflexní odpověď na periferní podněty a výsledkem jsou svalové křeče. Spasmy postihují nejdříve obličejové svaly, dochází ke křečovitému stažení obličejových svalů (trismus), a pak se šíří i na ostatní kosterní svaly, nejdříve z nich postihují svaly zádové. Tělo se tak obloukovitě prohne dozadu (opistotonus). Prodělané onemocnění nezanechává imunitu, protože toxin je rychle vychytán nervovou tkání a k imunokompetentním buňkám se nedostane.

Toxiny sinic

Ačkoliv otravy domácích zvířat a lovné zvěře sinicemi vodního květu jsou známy již z 19. století, teprve v posledních deseti letech byl umožněn detailní výzkum cyanotoxinů, jejich molekulární struktury a principu účinku. Podle těchto kritérií si jejich toxiny také rozdělíme.

Alkaloidní neurotoxiny sinic

Mezi tyto toxiny patří:

- anatoxin a $LD_{50} = 0,2 \text{ mg/kg}$
- anatoxin a(s) $LD_{50} = 0,02 \text{ mg/kg}$
- aphantoxiny 1-5 $LD_{50} = 0,001 - 0,01 \text{ mg/kg}$

Způsob účinku je následující:

Aphantoxiny – blokují přenos nervových vzruchů blokací Na^+ kanálů. Nemají žádný vliv na propustnost K^+ iontů.

Anatoxin a a homoanatoxin – způsobují záměnu funkce v pregangliových nervových zakončeních, acetylcholinových receptorech, zvyšuje tok Ca^{2+} iontů do cholinergních nervových zakončení.

Komplexní toxin – zcela zvláštní postavení zaujímá komplexní toxin (ze tří samostatných částí) produkovaný *Bacillus anthracis*, neboli toxin antraxový.

Protože je mikrobiálních toxinů velké množství, řekneme si bližší informace pouze o dvou nejtoxičtějším. Zájemce o detailnější popis mikrobiálních toxinů odkazují na příslušné informační zdroje.

Botulotoxin

Clostridium botulinum je půdní saprofytická bakterie. Vyvolává otravu nervového systému zvanou botulismus neboli otravu klobásovým jedem. Názvem *C. botulinum* se označují čtyři biologicky odlišné kmeny klostridií, které produkují neurotoxin stejných fyziologických vlastností, ale různých antigenních typů A-G. Nejprostudovanější je botulotoxin A, který má největší specifickou toxicitu, způsobenou zvýšenou afinitou k nervové tkáni. Je produkován jako polypeptid, který se proteázami štěpí na dva řetězce a teprve pak nabývá toxicity. Botulotoxiny jsou ničeny teplem, světlem, zářením a vysoce alkalickým prostředím.

Nejčastější formou botulismu je intoxikace botulotoxinem, který pochází ze zkažených potravin. V České republice se vyskytují 3 – 4 prokázané případy ročně. Toxin se aktivuje v trávicím traktu proteolytickými enzymy a poté se vstřebává do lymfy a krve, odtud se šíří do centrálního nervového systému a k zakončením motorických nervů. Dochází k přerušení vedení vzruchu v cholinergních nervových vláknkách v synapsích. Vzruch nemůže být převeden, protože v napadené presynaptické membráně je snížena vnímavost na ionty Ca^{2+} a acetylcholinový mediátor nemůže být přes ni přenesen. Důsledkem jsou mírné obrny nejdříve svalů inervovaných mozkovými nervy. Dochází k dvojitému vidění, k poklesu víček, ovlivnění polykání, slinění, sekrece ve střevě a k postupným obrnám kosterních svalů. Proces končí selháním dýchání a zástavou srdce. Specifická léčba klasického botulismu spočívá v opakovaném nitrosvalovém podávání trivalentního koňského IgG (proti typům A, B a E) ve velkých dávkách (50 000 j.) 2–3× denně do vymizení příznaků. Když je určen typ botulotoxinu, je výhodné přejít na monovalentní Ig globulin. Přítomnost *C. botulinum* ve střevě se odstraňuje chloramfenikolem.

Tetanospasmin

Je součástí toxinů produkovaných bakterií *Clostridium tetani*, která jim vyvolává onemocnění zvané tetanus. Tato bakterie se vyskytuje v nízké koncentraci ve střevní mikroflóře savců a v obdělávané půdě. Spory jsou velmi rezistentní na teplo a záření. Toxin *C. tetani* má tři složky. Vlastní neurotoxin tetanospasmin, dále tetanolysin s hemolytickými účinky a enzym reninového

Úloha č. 4: Novokain, lidokain, kokain

(9 bodů)

autor: Richard Chudoba



Novokain, lidokain a kokain patří mezi účinná lokální anestetika. Novokain byl vůbec první syntetické lokální anestetikum, které se dalo aplikovat injekčně. Připravil jej v roce 1905 německý chemik Alfred Einhorn. Název pochází ze slov *novus* – nový a *kain* – kokain. Nyní se již používá zřídka, nahradil jej šetrnější a účinnější lidokain. Lidokain a novokain se používají zejména v zubním lékařství.

K oddělení a stanovení těchto anestetik se dá úspěšně využít kapilární zónové elektroforézy (CZE). Elektroforéza je separační technika založená na různé migrační rychlosti nabitých iontů v elektrickém poli. Charakteristikou iontu je jeho elektroforetická pohyblivost (mobilita) μ_e . Je to koeficient úměry mezi intenzitou elektrického pole E a migrační rychlostí u (1). Ionty s vyšší mobilitou se pohybují rychleji a jejich migrační čas je proto kratší.

$$u = \mu_e E \quad (1)$$

Slabé kyselé jednosytné elektrolyty bývají disociovány jen zčásti. Stupeň disociace elektrolytu α je poměr koncentrace disociované (u kyselých látek nabitě) formy ku celkové koncentraci látky (2). Je-li látka disociovaná např. z 50 % ($\alpha = 0,5$), tak v každém okamžiku je polovina molekul elektroneutrálních a polovina molekul nabitých. Z pohledu jedné molekuly, pak molekula tráví polovinu času v nabitě formě a polovinu času ve formě elektroneutrální.

$$\alpha = \frac{[\text{X}^-]}{[\text{HX}^0]_{\text{tot}}} \quad (2)$$

Pro slabé zásadité jednosytné elektrolyty platí obdobný vztah (3), jen disociovaná forma je elektroneutrální a nedisociovaná forma nabitá.

$$\alpha = \frac{[\text{X}^0]}{[\text{HX}^+]_{\text{tot}}} \quad (3)$$

Mobilita dané formy látky v nekonečně zředěném roztoku se nazývá *limitní mobilita* μ_{lim} a bývá tabelovaná. V reálných roztocích se *aktuální mobility* μ jednotlivých forem liší od limitních hodnot v důsledku vzájemného působení iontů. U roztoků s malou iontovou silou (nízkou koncentrací iontů) ji lze odhadnout pomocí středního aktivitního koeficientu γ_{\pm} .

$$\mu = \gamma_{\pm} \mu_{\text{lim}} \quad (4)$$

Průměrná hodnota mobility látky (ve všech svých formách) v roztoku se pak nazývá *efektivní mobilita* μ_{eff} a zřejmě souvisí se stupněm disociace.

Hodnoty mobilit se často uvádějí v jednotkách EU (electrophoretical units), které vyjádřeny v SI mají rozměr $[10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}]$.

Anestetika byla nejprve separována CZE v acetátovém pufru (1:1). K oddělení látek však nedošlo. Při druhém pokusu o separaci pomocí CZE byl použit tris pufr (1:1) a separace již proběhla úspěšně. Elektroferogramy obou separací jsou uvedeny na obrázcích 1 a 2.

Acetátový pufr (1:1) obsahuje 20 mM kyselinu octovou ($\text{p}K_{\text{a}} = 4,76$) a 10 mM hydroxid sodný. Tris pufr (1:1) je složen z 20 mM tris(hydroxymethyl)amino-methanu ($\text{p}K_{\text{a}} = 8,08$) a 10 mM kyseliny chlorovodíkové. Hodnoty středního aktivitního koeficientu jsou pro jednocenné ionty v obou pufrech rovny $\gamma_{\pm} = 0,90$.

1. K čemu se používají anestetika? V jakém oboru medicíny nalezl uplatnění kokain?
2. Seřadte novokain, lidokain a kokain podle vzrůstající kyselosti. Jedná se obecně o látky kyselé nebo zásadité?
3. Kolik bude efektivní mobilita μ_{eff} novokainu v pufru o $\text{pH} = 9,10$? Uvažujte $\gamma_{\pm} = 1$.
4. Proč nedošlo k separaci anestetika v acetátovém pufru (1:1)?
5. Kolik je pH tris pufru (1:1)?
6. Spočítejte efektivní mobility anestetik v tris pufru (1:1).
7. Přiřadte píky na elektroferogramu 2 jednotlivým látkám.

Tabulka 1: Limitní mobility a disociační konstanty

látka	$\mu_{\text{e}}(+1)$ [EU]*	$\text{p}K_{\text{a}}(+1)$ *
novokain	25,7	9,10
lidokain	23,6	7,85
kokain	24,0	8,69

* Symbol (+1) značí, že veličina se vztahuje k formě s nábojem +1.

Poznámka: Experiment nebyl ve skutečnosti proveden, ale byl simulován programem PeakMaster – <http://natur.cuni.cz/gas>.

Proteinové toxiny jsou molekuly o relativní molekulové hmotnosti od 30 000 až do 150 000. Skládají se z peptidických řetězců, jsou termolabilní (inaktivují se varem), jejich aktivita je blokována neutralizačními protilátkami a mohou být změněny v toxoidy, které jsou využívány k aktivní imunizaci. Mechanismus působení je do značné míry charakteristický pro jednotlivé toxiny, což je nápadné zvláště u těch toxinů, které jsou zodpovědné prakticky za všechny příznaky klinického onemocnění (toxinozy) jako jsou záškrť (difterie), tetanus, botulismus a cholera.

Geny toxických proteinů jsou lokalizovány v chromozomech (*Vibrio cholerae*, *Arcanobacterium haemolyticum*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*), na plasmidech (enterotoxiny *Escherichia coli*) anebo jsou součástí genetické výbavy specifického bakteriofága (*Cor. diphtheriae*). Produkce toxických proteinů je ovlivňována často koncentrací iontů (Fe^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+}). Rychlost množení a produkce toxinů není vždy v koleraci, bakterie se může množit a neprodukovat toxin, ačkoli příslušný gen obsahuje.

Podle mechanismu účinku toxinu lze toxiny rozdělit do čtyř skupin:

Intracelulárně působící toxiny – skupina toxinů pronikajících po vazbě na specifický receptor buňky do cytoplasmy, kde ovlivňují různými mechanismy fyziologii buňky.

- Mezi tyto toxiny patří skupina látek s transferázovou aktivitou. Mechanismus jejich účinku je založen na inhibici proteosyntézy. Další mechanismus působení toxinů s transferázovou aktivitou je založen na kovalentním navázání ADP na regulační složky adenylátcyklázy, což vede ke zvýšené produkci cAMP (cholery toxin).
- Dále neurotoxiny, mezi něž patří například botulotoxin a tetanospasmin.

Cytolytické toxiny – do této skupiny se zařazují toxiny poškozující membrány eukaryotických buněk. Buněčná membrána může být poškozena různými mechanismy např. enzymovou hydrolýzou membránových fosfolipidů, které štěpí fosfatidylcholin a sfingomyelin (např. C fosfolipáza *Clostridia perfringens*) nebo tvorbou pórů v buněčné membráně po vazbě na cholesterol (např. *Streptococcus pyogenes*) nebo povrchově aktivními hemolysiny (δ lysin *Staphylococcus aureus*) nebo insercí toxinu tvořícího póry v lipidové buněčné dvojvrstvě (α toxin *Staphylococcus aureus* je schopen porušovat erytrocyty).

Superantigeny – jsou zvláštní skupinou toxinů, které se od antigenů liší tím, že se přímo váží na T-lymfocyty, obcházejí standardní kaskádu imunitních odpovědí. Reakce organismu na přítomnost superantigeny je velice rychlá a prudká (úmrtí na toxický šok u bakterie *Staphylococcus aureus*). Tyto toxiny jsou spojovány se vznikem autoimunitních onemocnění, například revmatoidní artritida.

Tabulka 1. Přehled toxinů; převzato z www.biotox.cz

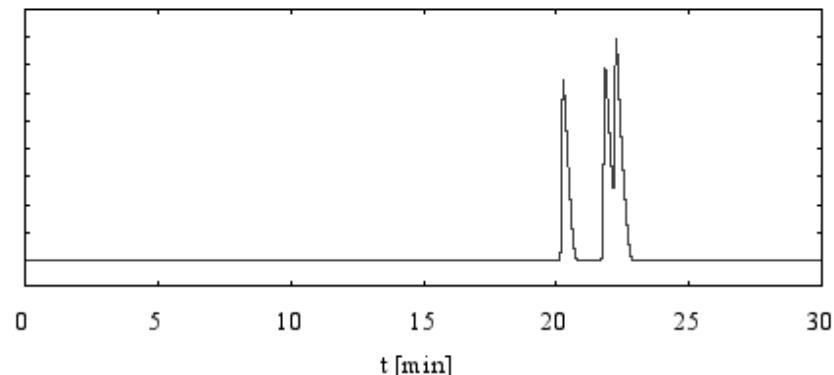
Toxin	Zdroj	Skupina	LD ₅₀ µg/kg intravenosně myš
botulotoxin	<i>Clostridium botulinum</i>	bakterie	0,00003
tetanospasmin	<i>Clostridium tetani</i>	bakterie	0,0001
aphanotoxin	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	sinice	10
anatoxin-A	<i>Anabaena flos-aquae</i>	sinice	20
kobratoxin	<i>Naja naja</i>	had	20
microcystin LR	<i>Microcystis aeruginosa</i>	sinice	43
nodularin	<i>Nodularia spumigena</i>	sinice	50
kurare	<i>Chondrodendron tomentosum</i>	rostlina	500
strychnin	<i>Strychnos nux-vomica</i>	rostlina	2 000

Toxiny bakterií

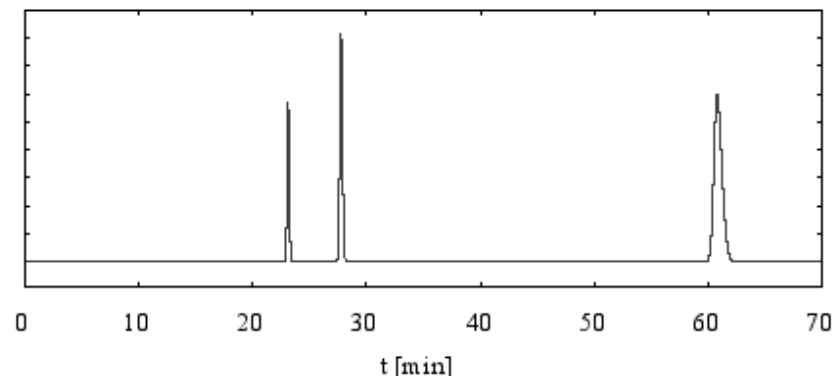
Toxickými bakteriálními metabolity jsou nejčastěji proteiny. Místem lokalizace toxických bílkovin je buněčná stěna, ve které se u gramnegativních i grampozitivních bakterií vyskytuje peptidoglykanová vrstva. U gramnegativních bakterií je vně od peptidoglykanové vrstvy ještě povrchová vrstva zevní membrány tvořená fosfolipidy, lipopolysacharidem, kyselými polysacharidy a významným množstvím (asi 50 %) bílkovin. Biologicky aktivní složku tvoří **lipopolysacharidový komplex**. Jedná se o antigenní bílkoviny, na které imunitní systém odpovídá navázáním specifické protilátky.

Toxicita bakteriálních proteinových toxinů se pohybuje v nanogramech na kilogram hmotnosti vnímavého organismu. Například letální dávka botulotoxinu a tetanospasminu se pohybuje v řádu ng/kg. Předpokladem vysoké toxicity je schopnost bakterie produkovat toxin v dostatečné koncentraci *in vivo* a aktivita toxinu v podmínkách hostitelského organismu (toxiny mohou být štěpeny různými enzymy, inaktivovány navázáním na specifické protilátky imunitního systému). Zvláštní případ představují toxiny produkované mimo hostitele, zejména v potravinách (botulotoxiny, stafylokokové enterotoxiny). U nich je toxicita ovlivněna způsobem vstřebávání a rezistencí toxinu k trávicím enzymům.

Proteinové toxiny se výrazně uplatňují v patogenezi onemocnění vyvolaných grampozitivními bakteriemi. Pro ně se užívalo názvu exotoxiny, protože jsou uvolňovány do okolí v průběhu růstu bakteriálních buněk. Z gramnegativních bakterií se proteinové toxiny uvolňují většinou až po narušení buněčné membrány.



Obrázek 1: Separace anestetik v acetátovém pufru (1:1)



Obrázek 2: Separace anestetik v tris pufru (1:1)

Úloha č. 5: Voňavá chemie

(10 bodů)

autor: Martin Kuchař



Igor byl mladý organický chemik. Blížily se Vánoce, a tak chtěl překvapit své blízké originálním parfémem svěží květinové vůně. Pro parfém si vybral mimo jiné i látku, která dává květům citrusových stromů jejich příjemně svěží vůni. Tato látka s příhodným názvem citral patří do skupiny terpenů. Protože Igor byl hrdý a zdatný chemik, rozhodl se pro totální syntézu, aniž by izoloval vhodné prekurzory z přírodního materiálu.

Během chvilky briskně napsal na papír několik možných syntéz a šel se podívat do skladu s chemikáliemi. Po prohlédnutí lednice s alkyny se zaradoval. Objevil láhev s but-2-yn-1-olem, což byla výchozí látka pro jednu z možných syntéz. Ani mu nevadilo, že ona syntéza je mnohem delší než ostatní.

- I. K roztoku but-2-yn-1-olu v etheru byl přidán oxid manganičitý. Heterogenní směs byla míchána 2 hodiny při laboratorní teplotě za vzniku látky **A**.
- II. K produktu **A** byl přidán vodný roztok HI. Reakční směs byla zahřívána na 90 °C po dobu 16 hodin. Po chromatografickém přečištění byly získány pouze dva izomerní produkty **B** a **C** (ze 4 možných), termodynamicky stálejší převažoval a byl použit do další reakce (**C**). Hmotnostní spektrometrií byla u izomerů zjištěna relativní molekulová hmotnost 195,939. ¹H NMR spektrum obou izomerů vykazovalo singlet a dva dublety.
- III. K látce **C** byl přidán ethylenglykol a malé množství vyžíhané kyseliny *p*-toluensulfonové. Po několika hodinách zahřívání byl získán produkt **D**.
- IV. K roztoku látky **D** v suchém THF byl za chlazení přidán roztok *n*-butyllithia. Po proběhnutí reakce byla do reakční směsi přidána suspenze půl ekvivalentu CuI v THF. Vzniklo tak reaktivní činidlo **E**.
- V. K látce **E** byl přidán prop-2-en-1-ol. Reakce byla ukončena přidáním vody za vzniku **F**.
- VI. Isopropyljodid byl zahříván s trifenyfosfinem v DMSO. Po proběhnutí reakce a vychlazení byl do reakční směsi přikapán ekvivalent *n*-butyllithia za vzniku činidla **G**. K tomuto činidlu byla přidána látka **F** za vzniku produktu **H**.
- VII. Žádaná vonná esence **I** byla získána kyselou hydrolyzou látky **H**.

Vášim úkolem je napsat vzorce látek **A** až **I** a zodpovědět následující otázky.

1. Pokuste se vymyslet, proč v první reakci bylo možné použít šetrné činidlo MnO₂ a vyhnout se jedovatým sloučeninám chromu?
2. Jak se nazývají činidla připravená podle reakce IV?
3. Pojmenujte reakci VI a zamyslete se, proč by vadil nadbytek *n*-butyllithia.

Seriál – Přírodní látky s biologickou aktivitou III

Autor: Martin Kuchař

Milí přátelé, v tomto díle si budeme povídat o přírodních látkách, které jsou pro savce, tedy i pro člověka jedovaté. Ukážeme si, že i jedovaté látky mohou najít uplatnění v medicíně a pokusíme se o jejich systematické členění.

Vymezení některých pojmů

Abychom si v následujícím textu rozuměli, musíme si vysvětlit, co znamenají některé pojmy:

LD₅₀ (*dosis letalis*) – množství podané látky, které způsobí smrt poloviny jedinců ze zkoumaného souboru. K této hodnotě se udává, o jaký biologický druh se jedná a způsob podání preparátu (např. ústy, nitrožilně, přes kůži atd.)

ED₅₀ (efektivní dávka) – množství látky, které má na polovinu jedinců žádaný efekt, stejně jako u LD₅₀ se udává biologický druh a způsob podání.

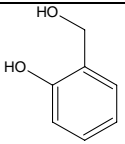
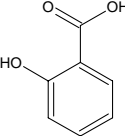
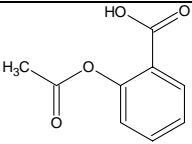
ID₅₀ (inhibiční dávka) – množství látky, které způsobuje inhibiční efekt u poloviny zkoumaného vzorku.

Obecně platí, že hodnota indexu udává procento, na které se daný efekt vztahuje. Setkáváme se tedy s různými číselnými variantami, např.: LD₉₀ (90 % jedinců nepřežije podanou látku), ED₀ (dávka, při níž ještě není pozorován žádný efekt) nebo ID₁₀₀ (množství, kdy dojde ke 100 % inhibici). Množství podané látky se udává v mg/kg živé váhy. Pokud se toxická látka vyskytuje v prostředí, udávají se hodnoty koncentrační např. v mg/m³ (v případě vzduchu) nebo μmol/dm³ (v případě vody). Popisované veličiny se pak změní na LC, EC a IC.

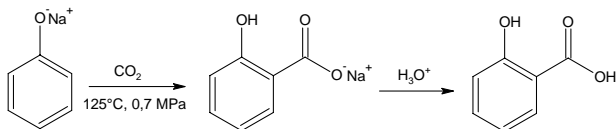
Klasifikace toxických látek



V klinické praxi se používá dělení jedů podle jejich účinku na lidský organismus, tedy zda daná látka postihuje například játra, krvetvorbu, CNS nebo ledviny. Protože ale budeme mluvit pouze o přírodních látkách, pokusíme se látky rozdělit podle jejich výskytu v přírodě, tedy jakési biologické dělení. V následující tabulce si ukážeme, že přírodní toxiny patří mezi nejedovatější známé látky.

látka	vzorec	název
C		saligenol, saligenin (2-(hydroxymethyl)fenol)
D		salicylová kyselina
E		acetylsalicylová kyselina

2. Průmyslovou syntézu vypracoval H. Kolbe a modifikoval R. Schmitt. Po těchto pánech se také nazývá. Kyselina salicylová se vyrábí z fenolátu sodného zahříváním pod tlakem s oxidem uhličitým. Okyselením salicylátu se získá kyselina.



3. Acetylsalicylová kyselina (ASA) má mírnější nepříznivé účinky, proto se jí dává přednost před salicylovou kyselinou (SA). Pro dosažení protizánětlivého účinku (pro který byla SA hlavně podávána) je třeba vysokých dávek (několik gramů denně). Zvláště při dlouhodobém užívání pacienti často trpěli podrážděním trávicí soustavy přecházejícím až ve vředy a krvácení. U těchto dávek se také mohou projevit příznaky mírné otravy.

Obě kyseliny snižují produkci hlenu na žaludeční stěně, ale ASA je méně kyselá (pKa 3,49 oproti 2,98 u SA), takže je poškození mírnější. Toxicita ASA je také nižší – LD₅₀ pro myš per orálně je 1010 až 1800 mg/kg pro ASA a 400 až 800 mg/kg pro SA.

Poznámka: Kys. salicylová nemá hořkou chuť.

4. a) Kyseliny acetylsalicylová a salicylová (a salicyláty obecně) patří mezi nesteroidní antiflogistika, tj. látky potlačující zánět. Často se můžete setkat i se zkratkou NSAID (Non-steroidal anti-inflammatory drug). Spektrum účinku salicylátů se ale neomezuje pouze na protizánětlivé vlastnosti, a proto se

$$D = \frac{E_r A t}{m} = \frac{E_r N \lambda_r t}{m} \quad (12)$$

Počet atomů draslíku ⁴⁰K N spočteme ze znalosti jeho hmotnosti v organismu m(⁴⁰K), nukleonového čísla a hmotnostní jednotky m_u (13). Hodnotu rozpadové konstanty λ_r = 1,76·10⁻¹⁷ s⁻¹ spočteme podle (7) – pozor na dosazení v sekundách. Střední hodnotu energie absorbované při jednom rozpadu musíme převést na jouly E_r = 5,77·10⁻¹⁴ J.

$$N(^{40}\text{K}) = \frac{m(^{40}\text{K})}{40m_u} \quad (13)$$

Po číselném dosazení vychází D = 2,4·10⁻⁴ Gy.

Poznámka: Počet rozpadlých atomů ⁴⁰K nemůžete spočítat tak, že odečtete počet atomů ⁴⁰K nyní a za rok. Počet rozpadlých atomů je totiž mnohořádově menší než počet atomů ⁴⁰K. Uvést počet atomů ⁴⁰K na mnoho (ne)platných číslic je hrubá chyba – se zadanou hodnotou aktivity můžete počítat nejvýš s dvěma platnými číslicemi, kde se však hodnoty nyní a za rok neliší!

O něco lepší postup využije výrazu N = N₀(1 - e^{-λt}). Od předchozího způsobu se liší tím, že počet atomů můžete uvést jen na dvě platné číslice, a přesto se dopracujete ke správnému výsledku. Problém je však s výrazem v závorce, který je „skoro nula“. Nejlépe je tento výraz upravit Taylorovým rozvojem, čímž ovšem dostanete výraz N = N₀λt, který jste ale mohli použít rovnou!

6. Nejvíce se na celkové absorbované dávce podílí radon.

7. Na absorbované dávce se podílí jen ²⁴Na rozpadlý uvnitř křečka. Jak jsme si již uvědomili v otázce 4, probíhají v křečkovi dvě konkurenční reakce rozpad ²⁴Na a vylučování ²⁴Na, obě popsané kinetickými rovnicemi prvního řádu (14) a (15). ν_r značí rychlost rozpadu, tedy aktivitu, ν_v rychlost vylučování.

$$\nu_r = \lambda_r N = A \quad (14)$$

$$\nu_v = \lambda_v N \quad (15)$$

Poměr rychlostí je v každém okamžiku konstantní, proto bude v každém okamžiku konstantní i poměr počtu částic již rozpadlých ku již vyloučeným.

$$\text{konst.} = \frac{\lambda_r}{\lambda_v} = \frac{\nu_r}{\nu_v} = \frac{N_r(t)}{N_v(t)} \quad (16)$$

Za dostatečně dlouhý čas (t → ∞) se všechny atomy značeného sodíku buď rozpadnou, nebo vyloučí.

$$N = N_0 e^{-(\lambda_r + \lambda_v)t} \quad (8)$$

Vynásobením rovnice (8) konstantou λ_r a uvážením vztahu (1) získáme

$$A = A_0 e^{-(\lambda_r + \lambda_v)t}, \quad (9)$$

kde A_0 značí počáteční aktivitu a A aktivitu za čas t .

Nyní se již můžeme pustit na číselné řešení. Je velice vhodné pracovat v základních jednotkách SI a všechny časy převést na sekundy, vyvarujete se tak spousty možných chyb!

Nejprve převedeme poločas rozpadu na rozpadovou konstantu podle vztahu (7), $\lambda_r = 1,28 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Pak můžeme experimentální data proložit křivkou (9), kde t je nezávislá proměnná, A závislá proměnná a A_0 a λ_v hledané parametry. Vhodným nástrojem pro toto proložení (nelineární regresi) je např. program GnuPlot, který neznámé parametry dopočítává metodou nejmenších čtverců. Parametry vyjdou $A_0 = 80 \text{ Bq}$ a $\lambda_v = 1,61 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Podle vztahu (7) převedeme hodnotu rychlostní konstanty vylučování λ_v na biologický poločas $T_v = 12$ hodin.

Uvedený postup se značně liší od obvyklého středoškolského přístupu, kdy se jedno číslo dosadí do rovnice, která rovnou dává výsledek. O to víc se však blíží skutečné laboratorní praxi.

Poznámka: Přibližně lze spočítat hodnotu rychlostní konstanty i bez použití počítačových programů. Rovnice (9) se zlogaritmováním linearizuje na tvar (10). Poté se spočítají směrnice $-(\lambda_r + \lambda_v)$ přímkou pro jednotlivá měření a vezme jejich průměrná hodnota, z níž se pak dopočítá hodnota rychlostní konstanty λ_v a posléze i biologický poločas T_v . Výpočet je však zatížen systematickou chybou.

$$\ln A = \ln A_0 - (\lambda_r + \lambda_v)t \quad (10)$$

5. Dávka D je definována jako střední hodnota energie ionizujícího záření absorbovaného objemovým elementem látky jednotkové hmotnosti a její jednotkou je gray (Gy).

$$D = \frac{E}{m} \quad (11)$$

Abychom mohli spočítat celkovou absorbovanou energii za rok, musíme znát celkový počet rozpadů. Pohledem na hodnotu poločasu rozpadu ^{40}K lze usoudit, že množství atomů ^{40}K se za rok prakticky nezmění, proto jej můžeme pokládat za konstantní. Podle rovnice (2) pak spočteme (v tomto případě konstantní) hodnotu aktivity, což je počet rozpadů za sekundu a vynásobíme ji počtem sekund za rok. Hmotnost m je samozřejmě hmotnost křečka.

označují i jako antipyretika (snižují horečku), analgetika (tiší bolesti) nebo antirevmatika. Zde se uplatňují výše zmíněné účinky, revmatismus (artritida) je chronický bolestivý zánět, převážně kloubů.

Kyselina acetylsalicylová je poměrně rychle metabolizována na kyselinu salicylovou, hlavní účinky (tj. výše zmíněné) mají tedy obě látky stejné. Rozdíl je ve způsobu jak inhibují cyklooxygenasy – nehydrolyzovaná ASA působí ireverzibilně, SA reverzibilně. Dlouhodobější antiagregační účinek (snížení srážlivosti krve) má pouze ASA, protože zablokuje trvale cyklooxygenasy v krevních destičkách, které nemají schopnost si je znovu vyprodukovat. Nemohou tak dále syntetizovat tromboxan, jenž je zodpovědný za srážení krve.

Kyselina salicylová má také využití v kožním lékařství jako antiseptikum (ničí choroboplodné zárodky), keratolytikum (porušuje celistvost rohové vrstvy pokožky) a keratoplastikum (podporuje keratinizaci kůže).

Za uvedení jednoho ze tří hlavních účinků 0,4 bodu, za rozdíl v účincích 0,25 bodu, celkem 1,45 bodu.

b) Mezi další NSAID, s různou mírou protizánětlivého, analgetického a antipyretického účinku, patří i aloxiprin (salicylát v léku Superpyrin), ibuprofen (Ibalgin, Brufen), ketoprofen (Ketonal), diklofenak (Voltaren) a další. Menší vedlejší efekty mají selektivní COX 2 inhibitory, které působí pouze na cyklooxygenasu vznikající v poškozené tkáni. Mezi tyto látky patří např. celecoxib (Celebrex).

Antiflogistický účinek mají i kortikosteroidy, předepisované při závažných onemocněních.

Analgetický a antipyretický účinek má také paracetamol (Paralen, Panadol), analgetický mají opiáty – morfin, kodein, tramadol (Tramal) a další.

Za uvedení léku (látky), který má stejný účinek (viz 4a) 0,2 bodu, celkem 0,6 bodu.

5. Již několik desetiletí se doporučují Aspirin a jiné léky s ASA jako prevence kardiovaskulárních chorob u osob, které k nim mají zvýšené dispozice. V poslední době se zkoumá preventivní role ASA u některých druhů rakoviny (např. tlustého střeva) a její příznivý vliv na vývoj onemocnění způsobujících demenci (např. Alzheimerova choroba).

6.

- Pětileté dítě s neštovicemi: Nepodávat. Aspirin by neměly dostávat děti do 12 let, zvláště pak při virových onemocněních. Hrozí u nich vznik závažného Reyeova syndromu.

- Člověk s bolestí zubů: Lze podávat, pokud nemá jinou kontraindikaci.
- Přepracovaná podnikatelka s migrénou a žaludečními vředy: Raději ne. Zvláště vyšší a časté dávky ASA mohou žaludeční a dvanáctníkové vředy zhoršit.
- Kamarád s naraženým kolenem: Můžete podávat, pokud nemá jinou kontraindikaci.
- Nachlazená žena v osmém měsíci těhotenství: Raději ne, o užívání léků a ASA v těhotenství by měl rozhodnout lékař. Nedoporučují se kvůli možným komplikacím při porodu a nepříznivému ovlivnění dítěte.

Za uvedení smysluplného důvodu proč podávat/nepodávat 0,3 bodu. Celkem 1,5 bodu.

Otázka 1 – 2,5 bodu, otázka 2 – 0,75 bodu, otázka 3 – 0,6 bodu, otázka 4 – 2,05 bodu, otázka 5 – 0,6 bodu, otázka 6 – 1,5 bodu. Celkem 8 bodů.

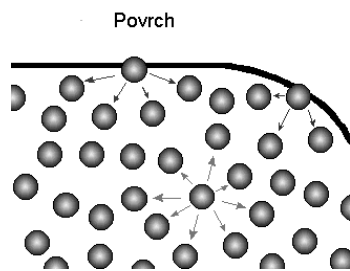
Úloha č. 3: Kávové prstýnky (8 bodů)

autor: Karel Berka

- Hlavním efektem, který tvorbu prstýnků způsobuje, je odpar vody.
 - chromatografie, adsorpce, difúze, hydrodynamické dělení, interakce, rozpouštění

V případě papíru dochází k adsorpci tekutiny na nosič a unášení od středu kapky ke krajům podle chemického gradientu, tím vzniká konvekční proudění, které látky unáší k okrajům. Barevné látky jsou větší, a proto jsou unášeny pomaleji než samotné rozpouštědlo – voda. Můžete si všimnout, že papír bude mokřejší podstatně dál, než doputuje samotný prstenec barevných látek. Po celou dobu procesu se z celého povrchu odpařuje rozpouštědlo, přičemž se odpařuje nejsnáze z okrajů. Když dojde, papír se vysuší a barevný prstenec zůstane.

- konvekce, povrchové napětí, rychlost odparu, rozpustnost

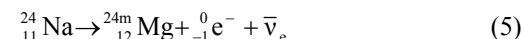
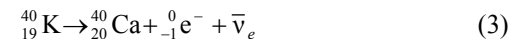


Obr. 1 Povrchové síly v kapce

Úloha č. 5: Radioaktivní křeček (16 bodů)

autor: Richard Chudoba

- Izotopy ^{40}K a ^{24}Na podléhají zejména β^- rozpadu (3) a (5), který je charakteristický pro nuklidy s nadbytkem neutronů. V případě ^{40}K může ještě dojít s pravděpodobností 10 % k elektronovému záchytu (4).



Index m značí vybuzený jaderný izomer, který vysláním jednoho či více kvant γ přejde do základního stavu.

Při β^- rozpadu vzniká kromě elektronu i elektronové antineutrino, při elektronovém záchytu vzniká elektronové neutrino. Neutrino musí být v jaderných rovnicích zapsána, aby byla splněna podmínka zachování leptonového čísla.

- Draslík má dva stabilní izotopy ^{39}K a ^{41}K , sodík má jeden stabilní izotop ^{23}Na . Stabilní izobary draslíku ^{40}K jsou ^{40}Ar a ^{40}Ca a stabilní izobar sodíku ^{24}Na je ^{24}Mg .

Pro stabilitu izobarů platí Mattauchovo izobarické pravidlo: Stabilní může být nejvýše jeden izobar s lichým nukleonovým číslem a nejvýše dva izobary se sudým nukleonovým číslem, přičemž jejich protonové číslo se musí lišit alespoň o dva.

- Izotop ^{24}Na lze připravit ostřelováním jádra hořčíku ^{26}Mg deuteronem (6).



- Pojďme se podívat, jak spolu souvisejí rychlostní (rozpadová) konstanta λ a poločas rozpadu T . Poločas rozpadu T je takový čas t , kdy počet částic klesne na polovinu. Zapišeme-li to podle rovnice (2), dostaneme

$$0,5 = e^{-\lambda T} \Rightarrow \ln 2 = \lambda T \quad (7)$$

V křečkovi současně probíhají dvě konkurenční reakce: rozpad ^{24}Na a vylučování ^{24}Na . Obě dvě reakce se řídí kinetikou prvního řádu, takže i výsledný děj bude popsán kinetickou rovnicí prvního řádu, kde rychlostní konstanta λ bude součtem rozpadové konstanty λ_r a rychlostní konstanty vylučování λ_v . Abyste si důvod sečtení rychlostních konstant lépe uvědomili, představte si třeba napuštěný bazén se dvěma odtokovými trubkami.

Za určení, k čemu se vztahuje naměřená molární hmotnost 0,5 bodu, za přepočet kDa na počet aminokyselin 0,5 bodu, za výpočet délky nukleotidové sekvence 0,5 bodu. Celkem 1,5 bodu.

- 12 288, Gly, Thr, Ala a Pro jsou kódovány čtyřmi různými (degenerovanými) triplety, Arg šesti, Cys, Phe a Lys dvěma a Met jedním tripletem. Výsledek získáme jako součin počtů všech degenerovaných tripletů.
- Tento oligonukleotid nejenže není rozpoznáván jako templát pro proteosyntézu, ale ani by nestihl být rozpoznán, neboť bude velmi rychle odbourán.

Nebude sloužit jako templát hned z několika důvodů: jednak je příliš malý, a dále nebude rozpoznán ribosomem, protože neobsahuje před AUG kodonem signální sekvence, které ribosom „přivolávají“ a vážou. Oligonukleotidové sekvence obecně jsou v buňce velmi rychle odbourávány nukleasami (enzymy, které štěpí nukleotidové sekvence na volné báze). Buňce vlastní mRNA, které fungují jako šablony pro syntézu proteinů, se musí tomuto mechanismu bránit. Obsahují na konci dlouhý řetězek poly A, který nemá žádný kódující smysl, ale prodlouží dobu života mRNA v buňce. Nukleasám nějakou dobu trvá, než se „prokoušou“ ke kódující části a mezitím může probíhat z opačného konce proteosyntéza.

Otázka 1 – 4 body, 2 – 1 bod, 3 – 0,9 bodu, 4 – 0,5 bodu, 5 – 1,5 bodu, 6 – 0,6 bodu a 7 – 0,5 bodu. Celkem 9 bodů.

jsou ukládány na okrajích kapky. Zde se z roztoku (kapky) začnou vylučovat díky přesáhnutí kritické koncentrace rozpustnosti. A my po vyschnutí kapky vidíme sedimentu těchto větších molekul ve tvaru prstýnku.

- povrchové napětí, kapilární jevy

Kruh vznikne především díky tekutině, kterou jsme z hrnku vyšplíchl. Ta stěže pod hrnek. Tekutina se posléze drží povrchovým napětím v blízkosti hrnku. Dokonce vzlíná do prostor mezi hrnkem a podložkou podobně, jako by to byla kapilára. Tím se kapka roztáhne do tvaru mezikruží. Na okrajích je stejně zesílené vypařování, jako tomu bylo v předchozím případě. A my tak vidíme dva prstýnky: jeden vnitřní a jeden vnější. Maminka je, bohužel pro nás, vidí taky.

Za určení aspoň jednoho klíčového slova po 0,5 bodu, za slovní odpověď podle kvality až 1,5 bodu, celkem 6 bodů.

- Jde o chromatografii na papíře (PC), předchůdkyni dnes oblíbené chromatografie na tenké vrstvě (TLC).

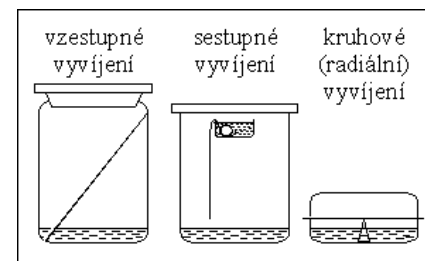
Existují tři uspořádání PC – vzestupné, sestupné a kruhové. Kruhové připomíná naši tvorbu kapek nejvíce. Rozstříhne se kruhový homogenní filtrační papír tak, aby se vytvořil malý knot, který se později zanoří do roztoku rozpouštědla, kterým bude do středu papíru proudit rozpouštědlo. Vzorky se nanesou jako malé kapičky do kružnice kolem středu. Knot se zanoří do rozpouštědla a celý systém se uzavře, například do Petriho misky. Přes knot se do papíru nasává rozpouštědlo a začne rozdílnými rychlostmi unášet jednotlivé molekuly.

Po čase se porovná, kam až doputovaly jednotlivé vzorky.

Poznámka: Podle vyjádření odborníků z katedry analytické chemie PČF UK se PC nejlépe pozoruje s centropenovými fixami jako vzorky.

Za určení metody 0,2 bodu, za experimentální uspořádání 0,3 bodu, celkem 0,5 bodu.

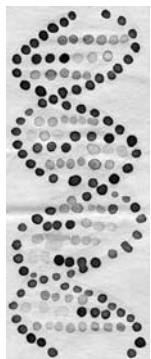
- Stále se tvoří prstýnek. Na okrajích stále dochází k nejrychlejšímu odparu a vzniká konvekční proudění, které strhává makromolekuly.
- Pokárání se vyhneme jednoduše podšálkem, případně otřením stékající tekutiny.



Obr. 2 Jednotlivá uspořádání papírových chromatografií

Převzato ze stránek doc. Pavla Coufala z PČF UK

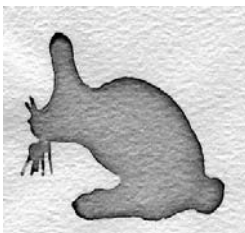
5. Nejkrásnější výtvy:



Ladislav Svoboda



Renata Šedivá



Radka Metelková



Klára Janischová



Tereza Junková

Pořadí:

1. místo: Ladislav Svoboda
2. místo: Tereza Junková
3. místo: Renata Šedivá

Otázka 1 – 6 bodů, 2 – 0,5 bodu, 3 – 0,4 bodu, 4 – 0,1 bodu a 5 – podle kvality až 1 bod, nejkrásnější obrázky získávají žolika 1 bod, který dorovná případné bodové ztráty. Celkem 8 bodů.

Literatura

- Deegan R. D., Bakajin O., Dupont T. F., Huber G., Nagel S. R., Witten T. A.: *Nature* **1997**, 389, 827–829.

Úloha č. 4: Modrá a Zeleně**(9 bodů)**

autor: Helena Handrková

1. Oligopeptid M: Gly-Ser-Lys-Tyr-Glu-Met-Cys-Trp-Ile-Tyr-Thr
Oligopeptid Z: Gly-Thr-Arg-Ala-Cys-Met-Phe-Lys-Pro
2. Z aminokyselinového složení lze odhadnout, že fragment M bude přibližně neutrální (nejvýraznější vliv má bazický lysin a kyselá kyselina glutamová, méně se pak uplatní tyrosin), kdežto fragment Z bude jednoznačně bazický (lysin a arginin). Odhad lze podpořit výpočtem pI pomocí nějakého programu (např. na www.expasy.org), nebo fyzikálněchemickým výpočtem. Získané hodnoty pI jsou přibližně 6 a 9,5 pro fragmenty M, resp. Z; M by tedy byl spíše velmi slabě kyselý.
3. Při 210 nm absorbují peptidové vazby, při 280 nm absorbují aromatické zbytky Tyr a Trp (slaběji i Phe) a při 500 nm tyto oligopeptidy neabsorbují. Molární absorpční koeficient bude tím vyšší, čím větší je relativní zastoupení struktur, které absorbují při dané vlnové délce. M bude tedy silněji absorbovat při 210 nm než Z při stejné molární koncentraci, protože je delší, a také silněji absorbovat při 280 nm, protože obsahuje více aromatických zbytků než Z. Při 500 nm neočekáváme absorpci žádného fragmentu.
4. Ne. U takto krátkých oligopeptidů nelze očekávat tvorbu pravidelných motivů sekundární struktury. Fragmenty jsou hodně vystaveny působení vnějšího prostředí. Nevzniká dostatečný počet natolik silných nekovalentních interakcí, které by strukturu zpevňovaly.
5. Elektrolýzou v redukujícím prostředí se rozpadne dimerní receptor na velkou podjednotku a fragment M, resp. Z. Molekulová hmotnost 40 kDa odpovídá toliko velkému fragmentu; 1 kDa odpovídá 1000 g/mol.

Vzhledem k průměrnému zastoupení aminokyselin v proteinech se v literatuře (Voet, Voetová: Biochemie) uvádí střední molární hmotnost aminokyseliny 110 g/mol (pro hrubší odhad stačí i hodnota 100 g/mol). Prostý aritmetický průměr není vhodný kvůli různému zastoupení aminokyselin v proteinech.

40 kDa peptid tedy obsahuje asi $40\,000 / 110 = 360$ aminokyselin (zaokrouhloeno na dvě platné číslice; uznávána je i hodnota 400 aminokyselin).

Každou aminokyselinu kóduje trojice bází, délka mRNA kódující tento peptid je tedy asi 1080 (resp. 1200) bází, což odpovídá stejnému počtu párů bází v exonu kódovaném DNA. (Kdybychom znali přesněji počet aminokyselin, museli bychom samozřejmě připočítat ještě jeden triplet jako start kodon a další jako stop kodon; ovšem při „přesnosti“, s jakou počítáme, si můžeme dovolit těchto šest bází do výsledku nezahrnout.)