



# ETAP III 27.03.2021

## Zadania (część II)

**CZAS ROZWIĄZYWANIA: 14:30 – 17:00**

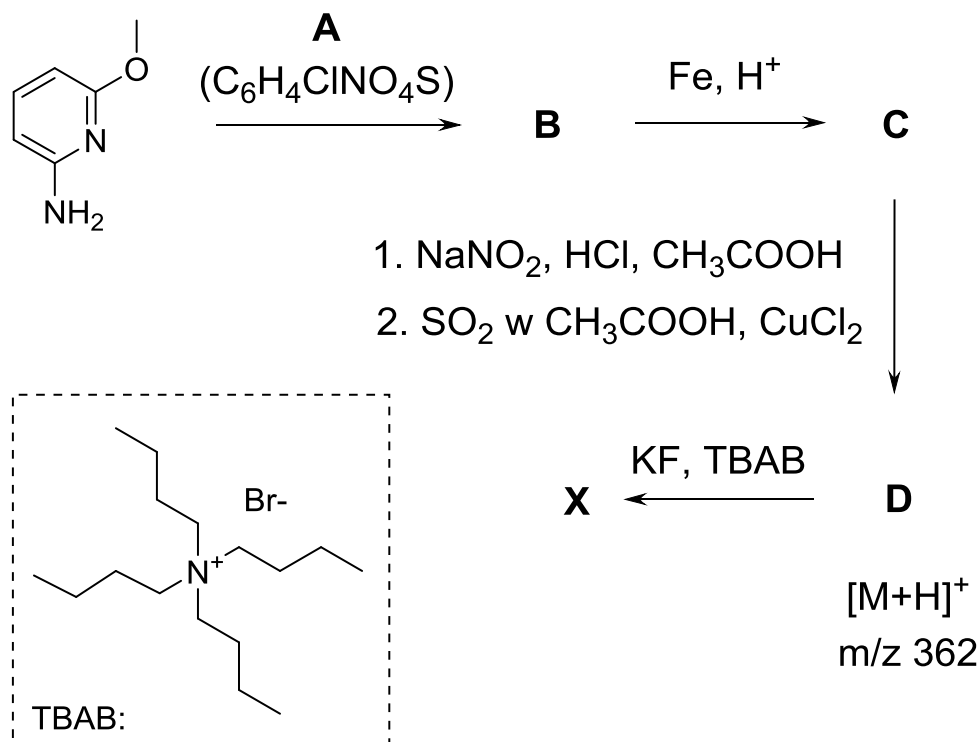
### ZADANIE 4

#### Wymiana siarkowo - fluorkowa (SuFEx) w chemii biologicznej

W 2004 zespół Barrego Sharplessa zaproponował nową reakcję bioortogonalną przydatną do tworzenia i modyfikacji związków biologicznie czynnych, tzw. Reakcję SuFEx (od ang. sulfur-fluoride exchange, czyli wymiana siarkowo-fluorkowa). Od tego czasu reakcja ta wzbudza coraz większe zainteresowanie chemików medycznych i biologicznych, szczególnie w kontekście modyfikacji dużych molekuł takich jak białka.

I. Substratami do bioortogonalnych reakcji SuFEX są związki zawierające odpowiednią grupę funkcyjną, w obrębie której występuje wiązanie siarka-fluor stabilne w środowisku wodnym, ale reaktywne względem różnego typu nukleofili. W reakcji między tymi związkami tworzy się wiązanie kowalencyjne, które jest biokompatybilne i stabilne w warunkach wodnych.

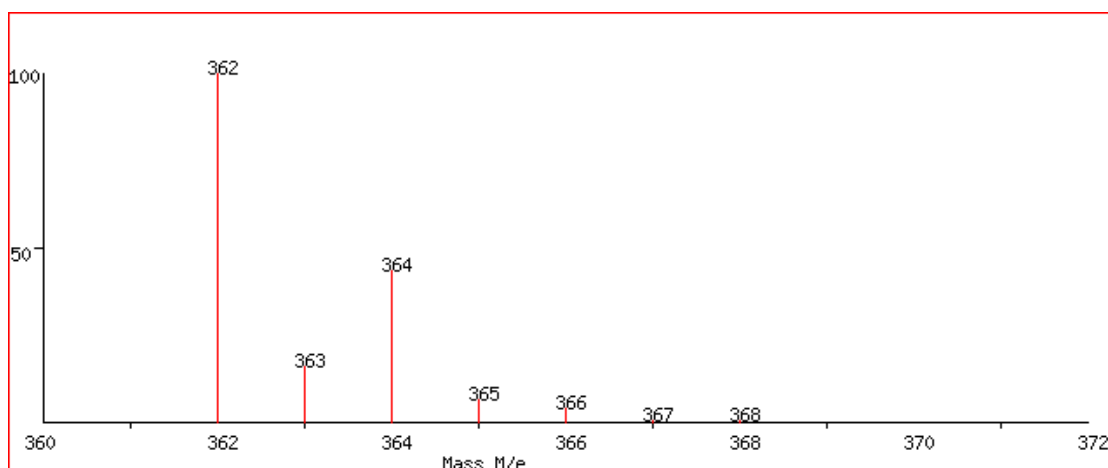
**Związek X**, który jest substratem do reakcji SuFEx otrzymano w kilkuetapowej syntezie według schematu przedstawionego poniżej:



Związek **X** jest analogiem znanego związku (inhibitora) hamującego aktywność białka P. Wiadomo, że inhibitor ten kompetencyjnie wiąże się w miejscu aktywnym białka P odpowiedzialnym za wiązanie cząsteczki trifosforanu guanozyny (GTP). Hipoteza grupy badaczy zakładała, że **związek X** będzie wiązał się z białkiem P w tym samym miejscu aktywnym co inhibitor, ale zamiast oddziaływać z nim wyłącznie poprzez wiązania koordynacyjne, będzie dodatkowo tworzył z białkiem wiązanie kowalencyjne, które powstanie w wyniku reakcji SuFEx i znacząco ustabilizuje kompleks białko-inhibitor. Aby zweryfikować tę hipotezę, białko P poddano przez 60 min inkubacji ze związkiem **X**, po czym próbkę poddano analizie metodą spektrometrii mas (MALDI w warunkach denaturujących). Widmo masowe analizowanej próbki wskazało dwa główne sygnały, przy  $m/z$  24219 oraz 24545, natomiast widmo masowe czystego białka (niepoddanego reakcji z **X**) zawierało tylko jeden sygnał, o  $m/z$  24219. Wynik eksperymentu potwierdził utworzenie stabilnego w warunkach wodnych, kowalencyjnego wiązania pomiędzy białkiem P a związkiem **X**.

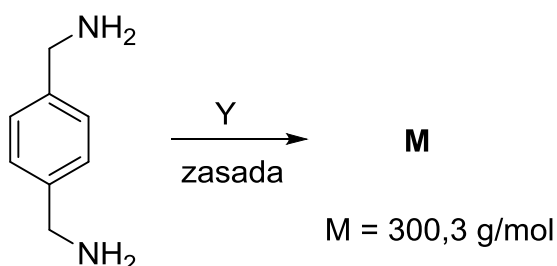
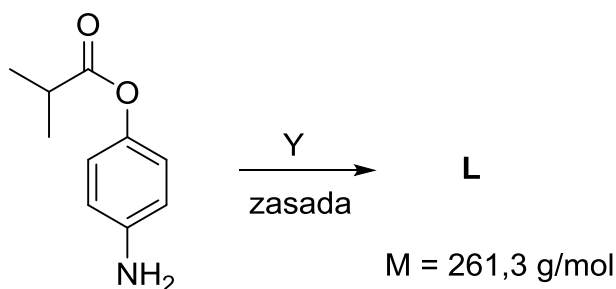
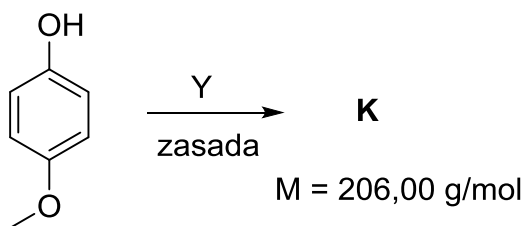
Dodatkowo wiadomo, że:

- W widmie  $^1\text{H}$  NMR **związku A** widoczne są dwa dublety, a w widmie  $^{13}\text{C}$  NMR 4 sygnały.
- Profil izotopowy jonu  $[\text{M}+\text{H}]^+$  w widmie masowym **związku D**, uzyskanym metodą elektrorozpylania w trybie jonów dodatnich, wygląda następująco:



- W miejscu aktywnym białka P odpowiedzialnym za oddziaływanie z GTP w najbliższym sąsiedztwie grupy reaktywnej w związku **X** znajdują się następujące aminokwasy: fenyloalanina, tyrozyna, alanina, glutamina, glicyna, asparaginian.
  - Postęp reakcji związku **X** z białkiem P można monitorować za pomocą  $^{19}\text{F}$  NMR. W miarę postępu reakcji obserwujemy zanik sygnału przy  $\delta_{\text{F}} = 65$  ppm (1F, singlet) a pojawienie się sygnału  $\delta_{\text{F}} = -121$  ppm (1F, singlet).
- II.** Substraty do reakcji SuFEx zawierające atom fluoru można też otrzymać innymi metodami. Bardzo przydatnym do tego celu odczynnikiem jest **gaz Y**, który jest 3.52-razy cięższy od powietrza (przyjmij, że średnia masa molowa powietrza wynosi 28,97 g/mol).

Przykłady reakcji gazu **Y** z pochodnymi benzenu wskazano poniżej:



**Polecenia:**

- (10 m.) Narysuj struktury związków **A-D** oraz **X**.
- (1 m.) Podaj aminokwas, który reaguje z związkiem **X** w kieszeni wiążącej białka. Odpowiedź uzasadnij.
- (2 m.) Narysuj wzór strukturalny kowalencyjnego adduktu pomiędzy związkiem **X** a białkiem P. Wzór aminokwasu zmodyfikowanego kowalencyjnie narysuj tak, aby oba wiązania peptydowe tworzone przez ten aminokwas były w pełni ukazane. Fragment C-końcowy białka oznacz jako  $R_C$  a N-końcowy jako  $R_N$ .
- (1 m.) Zidentyfikuj indywiduum chemiczne o przesunięciu  $\delta_F$  równym -121 ppm.
- (1 m.) Podaj wzór sumaryczny gazu **Y**.
- (6 m.) Narysuj struktury związków **K**, **L**, **M**.
- (2 m.) Pochodne zawierające grupę funkcyjną analogiczną jak w związku **X** oraz grupę funkcyjną jak w związku **K** różnią się względną reaktywnością wobec tych samych nukleofili. Które z tych pochodnych wykazują większą reaktywność? Odpowiedź uzasadnij.

## ZADANIE 5 „LABORATORYJNE”

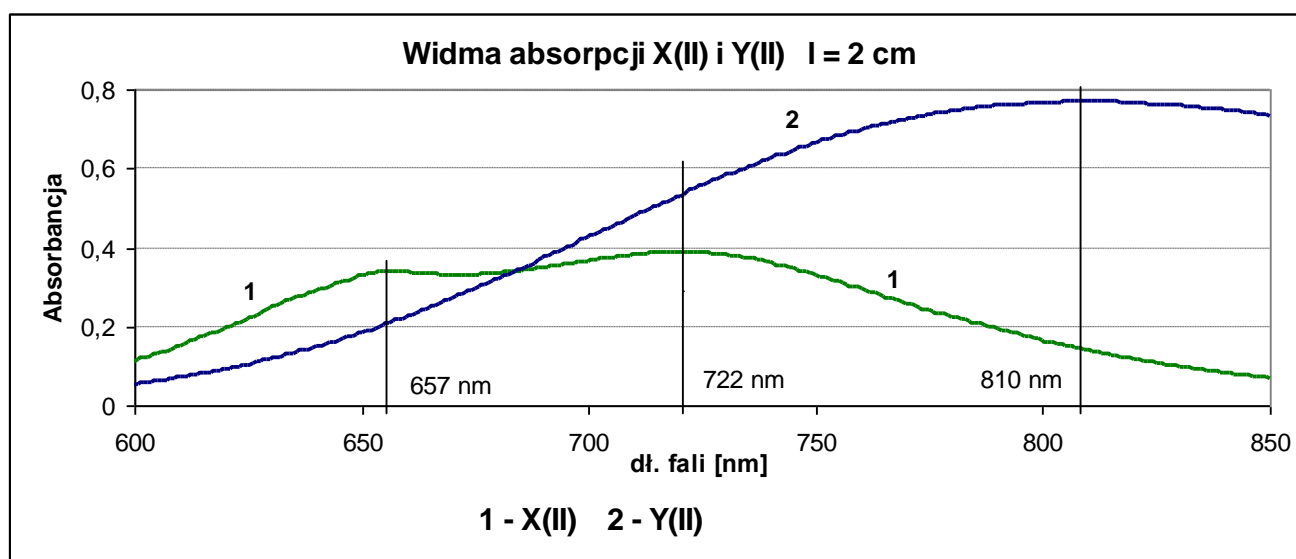
### *Analiza stopu lutowniczego*

Lutowanie to jedna z technologii łączenia metali. Jeden ze stopów do tzw. lutowania twardego zawiera w swoim składzie metale **Q**, **Y**, **X**, **Z** i **T**, które trzeba zidentyfikować na podstawie przeprowadzonych operacji. Interesuje nas pięć metali o najwyższej zawartości w stopie, pozostałe stanowią niewielkie ilości.

Próbkę stopu o masie **1,275 g** rozтворzono na gorąco w stężonym kwasie azotowym(V). Roztworzenie przeprowadzono w zlewce przykrytej szkiełkiem zegarkowym, pod wyciągiem z uwagi na wydzielanie brunatnego gazu. Po rozтворzeniu próbki zlewkę odkryto, włożono bagietkę, zawartość odparowano do połowy objętości, po czym dodano  $50 \text{ cm}^3$  wody i ogrzewano przez 30 min. W roztworze pojawiło się zmętnienie, dodano więc kawałki rozwlóknionej bibuły i ogrzewano do skoagulowania osadu. Zawartość zlewki przesączono przez sącdek średniej gęstości, przemywając biały, szlamowaty osad gorącym roztworem kwasu azotowego(V) o stężeniu  $0,1 \text{ mol/dm}^3$ . Po ostudzeniu lekko niebieskawy przesącz wraz z roztworem przemywającym przeniesiono do kolby miarowej o pojemności  $200,0 \text{ cm}^3$ , opisanej literą **P**, dopełniono wodą do kreski i wymieszano. Osad na sączku po wysuszeniu, spaleniu sączka i wyprażeniu do stałej masy **45,3 mg** posłużył do oznaczenia wagowego jednego ze składników stopu. Osad zawiera związek tylko jednego metalu **T** na IV stopniu utlenienia.

Z kolby **P** pobrano kilkanaście  $\text{cm}^3$  roztworu celem wykonania oznaczeń spektrofotometrycznych. Dokonano pomiaru absorpcji tego roztworu dla długości fali 657, 722 i 810 nm w kuwecie o długości drogi optycznej  $l = 2,00 \text{ cm}$ , wartości przedstawiono w karcie odpowiedzi. Na rysunku przedstawiono widma roztworów azotanu(V) **Y** i azotanu(V) **X** o stężeniach jonów metali odpowiednio 2,00 i 5,00 mg jonów metalu w  $1 \text{ cm}^3$  roztworu.

Jony metalu **Z** nie tworzą barwnych akwakompleksów. Obserwowana barwa roztworu jest barwą dopełniającą do barwy zasadniczej wskazywanej przez widmo absorpcji (odpowiednio dla **Y** jasnoniebieska-purpurowa).



Wyniki pomiarów absorbancji tych roztworów dokonanych w kuwecie o grubości  $l = 2,00$  cm przedstawia tabela:

	Długość fali, nm		
	657	722	810
$A_X$	0,3389	0,3884	0,1396
$A_Y$	0,2118	0,5408	0,7691

Wykonując następujące operacje dysponowano podanymi roztworami, odczynnikami i sprzętem laboratoryjnym:

- KSCN, roztwór o stężeniu około  $0,05$  mol/dm<sup>3</sup>,
- NaBr, roztwór mianowany o stężeniu  $0,0200$  mol/dm<sup>3</sup>,
- EDTA, roztwór mianowany o stężeniu  $0,0200$  mol/dm<sup>3</sup>,
- NH<sub>4</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 10% roztwór,
- NaCl, 5% roztwór,
- Bufor amonowy o pH 10,
- NH<sub>3</sub>, roztwór 25%,
- Mureksyd, stały, 1% utarty z NaCl.

Stosowany sprzęt:

- kolba miarowa o pojemności  $100,0$  cm<sup>3</sup> (opisana literą **A**),
- dwie kolby stożkowe,
- pipety jednomiarowe o pojemności  $25,00$  cm<sup>3</sup> i  $10,00$  cm<sup>3</sup>,
- biureta, zlewki, cylinder miarowy, lejek ilościowy, sączki i bagietka.

Wykonano następujące operacje:

1) Z kolby **P** pobrano do każdej z dwóch kolb stożkowych po  $25,00$  cm<sup>3</sup> roztworu. Dodano po  $2$  cm<sup>3</sup> roztworu siarczanu(VI) żelaza(III) i amonu i miareczkowano roztworem tiocyjanianu potasu do zauważalnego pomarańczowego zabarwienia cieczy nad białym osadem. Zanotowano objętości titranta w dwóch miareczkowaniach **12,55** **12,45** cm<sup>3</sup>.

2) Następnie znów pobrano z kolby **P** i przeniesiono do każdej z dwóch kolb stożkowych po  $25,00$  cm<sup>3</sup> roztworu. Do każdej kolby dodano po  $10,00$  cm<sup>3</sup> mianowanego roztworu bromku sodu i po  $2$  cm<sup>3</sup> roztworu siarczanu(VI) żelaza(III) i amonu. Tak przygotowane roztwory zmiareczkowano roztworem tiocyjanianu potasu do zauważalnego pomarańczowego zabarwienia cieczy nad biało-żółtym osadem. Uzyskano objętości titranta w dwóch miareczkowaniach **8,45** i **8,55** cm<sup>3</sup>.

3) Do zlewki odmierzone  $25,00$  cm<sup>3</sup> roztworu z kolby **P** i dodano  $10$  cm<sup>3</sup> 5% NaCl. Wytrącony biały, serowaty osad po skoagulowaniu odsączono na sączku średniej gęstości zbierając przesącz w kolbie miarowej **A**. Osad na sączku przemyto wodą, roztwór przemywający przeniesiono do kolby **A**, uzupełniono wodą do kreski i wymieszano. Do dwóch kolb stożkowych bez szlifów odmierzone po

25,00 cm<sup>3</sup> roztworu z kolby **A** i dodawano roztworu amoniaku aż do uzyskania granatowego zabarwienia. Dodano 10 cm<sup>3</sup> buforu amonowego i szczyptę mureksydu. Miareczkowano mianowanym roztworem EDTA do zmiany barwy roztworu z brunatno-żółtej na fioletową, co wskazuje na koniec miareczkowania. Zużyto **16,95 i 16,85** cm<sup>3</sup> titranta.

**UWAGA !** Zarówno jony X(II) jak i Y(II) można oznaczać kompleksometrycznie w buforze amonowym wobec mureksydu jako metalowskaźnika. Razem z tymi jonami odmiareczkowane są także jony Z(II) z uwagi na podobne stałe trwałości kompleksów wymienionych jonów z EDTA (Z(II) nie tworzą barwnego kompleksu z mureksydem).

**Polecenia:**

- a. (5 m.) Napisz równania reakcji roztwarzania stopu dla zidentyfikowanych metali.
- b. (4 m.) Zidentyfikuj pierwiastek **T**. W jakiej formie (napisz równanie reakcji) jest oznaczany w wagowej metodzie opisanej w treści zadania. Oblicz mnożnik analityczny i masę metalu.
- c. (15 m.) Na podstawie opisu czynności 1) i 2) przedstaw zasadę (podając równania zachodzących reakcji) oznaczenia jonów metalu **Q** w kolbie **P** uwzględniając stosowane naczynia miarowe.  
Wyprowadź wzór na liczbę milimoli i masę jonów metalu **Q**, uwzględniający objętości titranta, które są podane w treści zadania. Wykaż, że nie jest konieczna znajomość miana titranta.
- d. (3 m.) Czy w podanym sposobie oznaczania można zastąpić roztwór bromku sodu roztworem chlorku sodu? Odpowiedź uzasadnij posiłkując się tabelą rozpuszczalności.
- e. (15 m.) Zaproponuj sposób kompleksometrycznego oznaczania (po zidentyfikowaniu na podstawie obserwacji w toku analizy i widmach absorpcji) sumy milimoli jonów **X(II)**, **Y(II)** i **Z(II)** w roztworze otrzymanym po roztworzeniu stopu, wypełniając tabelkę w karcie odpowiedzi.  
Oblicz liczbę milimoli miareczkowanych jonów. Zapisz równania reakcji zachodzących w każdym etapie
- f. (8 m.) Wykorzystując wyniki pomiarów absorbancji, podane w karcie odpowiedzi (oraz widma na rysunku w treści zadania i podane wartości absorbancji) wyznacz stężenia molowe jonów **X(II)** i **Y(II)** w kolbie **P**.
- g. (10 m.) Oblicz procentową zawartość zidentyfikowanych metali w badanym stopie.

**Tabela rozpuszczalności molowej wybranych trudnorozpuszczalnych soli Q**

Substancja	Rozpuszczalność, mol/dm <sup>3</sup>	Substancja	Rozpuszczalność, mol/dm <sup>3</sup>
QCl	1,3·10 <sup>-5</sup>	QBr	7,1·10 <sup>-7</sup>
QSCN	1,0·10 <sup>-6</sup>	QI	8,9·10 <sup>-9</sup>