

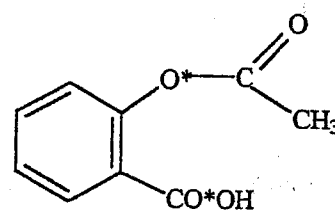
Lab Ke B: Syntes av acetylsalicylsyra med efterföljande smältpunktsbestämning samt tunnskiktskromatografi

Del 1: Syntes av acetylsalicylsyra samt bestämning av smältpunkt

Inledning

Acetylsalicylsyra (aspirin) är ett av världens mest använda läkemedel och har funnits sedan 1899, då den tyske vetenskapsmannen *Dreser* först introducerade det. Han framställde det ur salicylsyra, som utvanns ur videväxter (*Salix*). Idag används det framförallt vid förkylningar och huvudvärk. Det har en smärtstillande, febernedsättande och antiinflammatorisk effekt och säljs receptfritt under en rad olika namn.

Acetylsalicylsyra (se fig) kan bilda s.k. kelatkomplex. Det uppstår när en molekyl kan binda en metalljon på mer än ett ställe. Ordet kelat kommer från det grekiska ordet chele som betyder klo. De syreatomer som är markerade med en asterix i strukturformeln till höger, binder likt en klo kopparjoner, Cu^{2+} . Vid förkylningar, infektioner och feber ökar halten kopparjoner i blodet medan halten minskar i cellerna. Detta kan ge upphov till smärtförmimmelser. En del av acetylsalicylsyrans smärtlindrande effekt uppstår därför när den binder kopparjonerna i blodet och för dem tillbaka till cellerna.

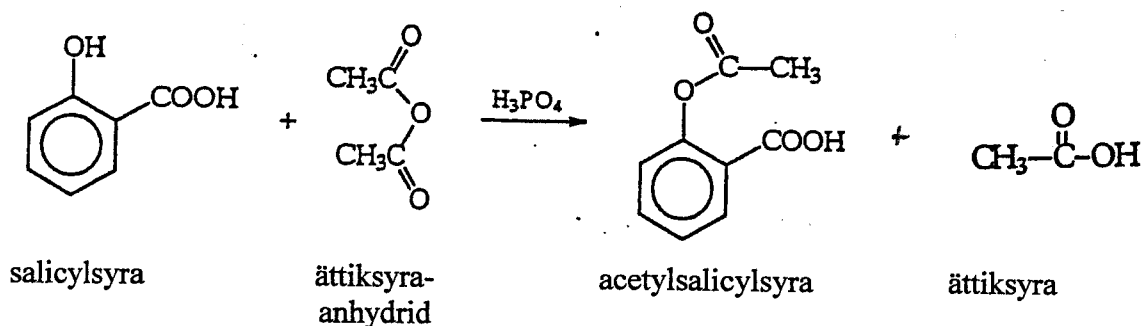


acetylsalicylsyra

Acetylsalicylsyra verkar också på ett annat sätt. *Prostaglandiner (PG)* är ämnen med fettsyraaktör som bildas naturligt i kroppen genom oxidation av fettsyror. De verkar på den plats i kroppen där de bildas. *PG* har skiftande funktioner. De har bl.a. betydelse för muskelsammandragningarna under förlossningsarbetet, de påverkar regleringen av det lokala blodflödet genom att påverka spänningsgraden i blodkärlens väggar. Vid en lokal inflammation bildas *PG* och vidgar då blodkärlen så att rodnad, svullnad och värmeökning uppstår. Samtidigt ökas smärtimpulserna från vävnaden. Det första steget i bildningen av *PG* sker med hjälp av ett enzym (cyklooxygenas). Acetylsalicylsyra verkar genom att hämma detta enzym vilket får till följd att den inflammatoriska reaktionen och smärtan motverkas.

Teori:

Reaktionen mellan salicylsyra och ättiksyraanhydrid är jämförbar med estermekanismen. Fosforsyra fungerar som katalysator och reaktionen börjar med att en proton från fosforsyra sätter sig på en av syreatomerna i ättiksyraanhydrid som har en dubbelbindning. Därefter blir hydroxylgruppen (-OH) i salicylsyra inblandad.



Materiel:

E-kolv 100 cm³, ev pulvertratt, automatpipetter, pasteurpipett, glasstav, värmeplatta + bägare 400 cm³ för att göra i ordning ett vattenbad 80-90°C, isbad, Buchnertratt, filtrerpapper, sugflaska, vattensug, spatlar, ev värmeskåp ca 50 °C, smältpunktsapparat med tillbehör.

Kemikalier:

Salicylsyra, ättiksyraanhydrid, konc, fosforsyra (85 %)

Utförande:

Blanda 1,0 g salicylsyra, 2,5 cm³ ättiksyraanhydrid och 3 droppar fosforsyra. Rör om blandningen kraftigt med glasstav. Värm därefter på vattenbad i ca 10 min. Tag bort kolven från vattenbadet. I ett dragskåp tillsätts 1 cm³ vatten. OBS: Blandningen kan råka i häftig kokning genom värmeutveckling vid sönderdelning av överskottet ättiksyraanhydrid.

Sedan all anhydrid sönderdelats tillsätts 19 cm³ vatten. Genom omrörning med glasstav startas kristallisationen. För att få en så fullständig utfällning som möjligt kyls kolven på ett isbad. Förbered under tiden vattensug, sugflaska och buchnertratt med filtrerpapper. Om utbytet ska beräknas måste filtrerpapperet vägas först.

Starta vattensugen och håll lösningen med kristallerna genom buchnertratten. Tvätta produkten med avjonat vatten tre gånger. Avlägsna filtrerpapperet med hjälp av två spatlar. Låt fällningen torka. (helst lufttorka men man kan även torka i värmeskåp med ganska låg värme, ca 50 °C).

Bestäm smältpunkten på din produkt.

Jämför med tabellvärden på acetylsalicylsyra (=aspirin).

Försök skriva mekanismen för reaktionen: se Teori ovan. För fler ledtrådar se Ke B-boken s 180-181.

Beräkna även utbytet.

Del 2: Att utföra en tunnskiktskromatografi på huvudvärkspulver och den syntetiserade acetylsalicylsyran. Som referens används ren acetylsalicylsyra samt salicylsyra.

Teori och principiellt utförande av tunnskiktskromatografi: Läs bifogad stencil

Materiel:

Mortel, små bägare (10 cm³ eller 50 cm³), tunnskiktspattor av kiselgel, kapillärrör 20 μ l , plastfolie, 2 bägare 600 cm³, värmeplatta

Kemikalier:

Acetylsalicylsyra, syntetiserad acetylsalicylsyra, Magnecyl eller Treo, salicylsyra, etanol (denatuerad fungerar bra), jod

Elueringsmedel (en blandning av 2 volym% konc HAc och 98 volym% etylacetat)

Utförande:

Fyll elueringsmedlet i en bägare till ca 1 cm höjd. Täck över noga med plastfolie.

Preparera fyra olika provlösningar (små mängder/volymer) i de små bägarna enligt följande:

A) ren acetylsalicylsyra löses i etanol så lösningen blir 1 massprocent

B) syntetiserad acetylsalicylsyra löses på samma sätt

C) En Treo eller Magnecyl mortlas och en del av detta löses i etanol så att lösningen blir 5 massprocent. Tableterna innehåller bindemedel och detta kommer inte att lösa sig.

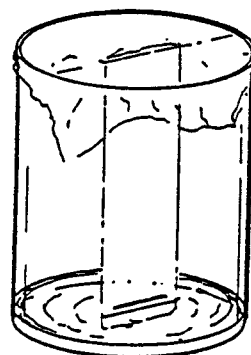
D) ren salicylsyra löses som i A) och B).

Applicera de fyra provlösningarna var för sig ett antal gånger på kiselplattans "startlinje" med hjälp av fyra olika kapillärrör (se bifogad stencil). Var noga med torkningen emellan. Sätt ned plattan i bägaren och täck med plastfolie. Låt kromatografen pågå ca 15 min.

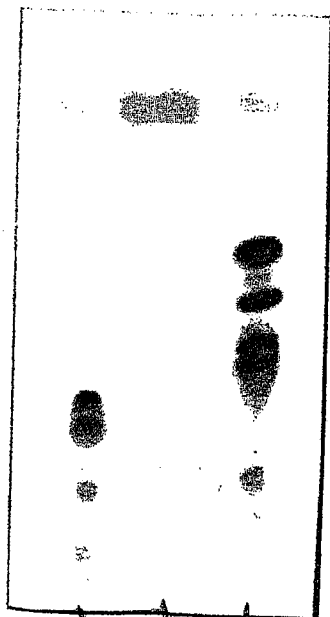
Tag upp plattan och märk ut frontlinjen med blyerts. Låt lösningsmedlet avdunsta.

Framkalla genom att sätta ned plattan i en bägare med några jodkristaller på botten. Täck med plastfolie. Värm försiktigt till dess att du ser fläckar framträda. Markera dessa med blyerts.

Dra slutsatser av försöket.



Enkel TLC-apparat



Persilja, morot, röd paprika.

Papperskromatografi och tunnskiktskromatografi

Vid papperskromatografi utnyttjar man att de ämnen, som man vill separera, binds olika starkt till en vätskefas respektive till papperet, som är en fast, vattenhaltig cellulosafas. En droppe prov med de lösta ämnena sätts ett stycke från papperets nedre kant, och papperets kant placeras i den rörliga fasen, *eluenten*. Blandningens komponenter vandrar längs papperet tillsammans med vätskefasen, men olika snabbt, beroende på deras olika attraktion till den fasta fasen respektive vätskan. För att identifiera ämnena jämför man med kända ämnens *kromatogram*.

Tunnskiktskromatografi bygger på samma princip som papperskromatografi, men den fasta komponenten består av en beläggning av t ex kiselgel på en platta av glas, plast eller aluminiumfolie. Genom att anbringa mycket små fläckar av analysblandningen och torka dem väl före *elueringen*, det steg då man låter eluenten sugas upp i plattan, kan man öka känsligheten och avläsbarheten. Tunnskiktskromatografi är en av de mest använda rutinanalyserna på ett modernt laboratorium idag. Vatten används aldrig som eluent därför att vattnet löser bort beläggningen. Istället används organiska lösningsmedel med olika polaritet (metanol, etanol, aceton, etylacetat, toluen, bensin). Fläckarna i kromatogrammet görs synliga efter elueringen på olika sätt, t ex med ett lämpligt reagens.

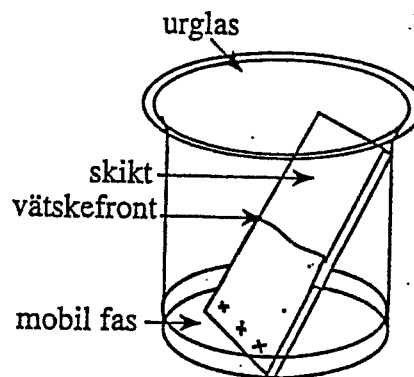
PRINCIPIELLT UTFÖRANDE

1. Häll den mobila fasen, lösningsmedlet, till någon cm höjd i kromatografikärlet. Täck kärlet med urglas så att luften blir mättad med mobilfas. Arbeta i dragskåp.

2. Välj ut en TSK-platta. Rita ett tunt blyertsstreck ca 2 cm från plattans nedre kant. Markera med blyerts lämpliga punkter att sätta provlösningar på. Provlösningarna sätts på med mikropipett eller med kapillärrör. Ta reda sådana för varje prov. Upprepa påsättningen, med torkning emellan, tills det har blivit en liten fläck med hög koncentration av provet.

3. Plattan sätts ned i kromatografikärlet som täcks med urglas (se fig.). Försöket avbryts efter angiven tid eller när den rörliga fasen nästan nått upp till plattans övre kant. Ta upp plattan och markera frontens läge.

4. Torka plattan, ev. i värmeskåp och studera det erhållna kromatogrammet. (Ibland måste fläckarna först framkallas, t.ex vid separation av aminosyror). Markera fläckarna och försök identifiera dem.



Tunnskiktskromatografi