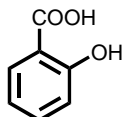


Projekt PO KL *Poczuj chemię do chemii – zwiększenie liczby absolwentów kierunku CHEMIA na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu*

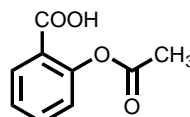
Otrzymywanie kwasu acetylosalicylowego – aspiryny

Opracowanie: dr Karol Kacprzak, Wydział Chemii UAM

Kwas acetylosalicylowy (nazwy handlowe i potoczne: aspiryna, polopiryna; *łac. Acidum acetylsalicylicum*) – acetylowa pochodna kwasu salicylowego (octan kwasu salicylowego). Popularny środek o działaniu przeciwbólowym, przeciwgorączkowym i przeciwzapalnym. Przy stosowaniu długotrwałym wykazuje działanie przeciwzakrzepowe.



kwas salicylowy



**kwas acetylosalicylowy
(aspiryna)**

Kwas acetylosalicylowy występuje w postaci białych, krystalicznych igieł. Jest związkiem trudno rozpuszczalnym w wodzie, rozpuszcza się w rozpuszczalnikach organicznych np. eterze dietylowym, etanolu.

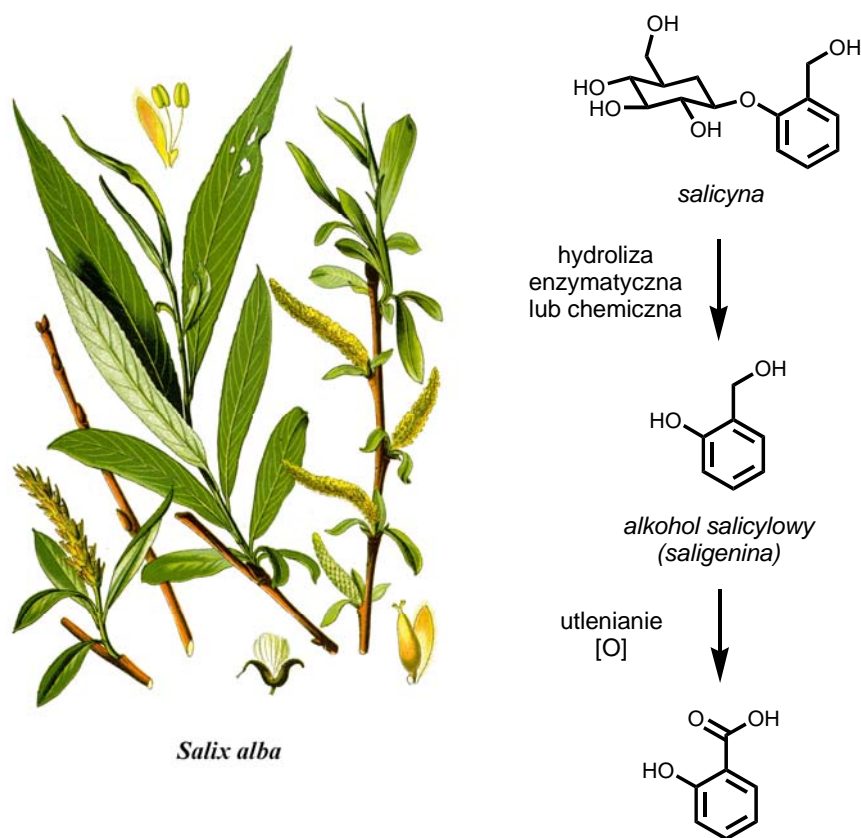
Historia odkrycia aspiryny

W roku 1893 Felix Hoffman, chemik pracujący dla firmy Bayer, rozpoczął badania nad pochodnymi kwasu salicylowego w kierunku opracowania nowych leków przeciwbólowych. Kwas salicylowy jako związek wiodący wytypowano nieprzypadkowo ponieważ znane były wcześniej przeciwbólowe właściwości jego glikozydu - salicyny, wyizolowanej w roku 1828 przez profesora farmacji na Uniwersytecie w Monachium Johanna Buchnera z kory wierzby (*cortex salicis*). Również medycyna ludowa wykorzystywała lecznicze właściwości kory wierzby oraz spokrewnionych z nią roślin, takich jak topola od wieków a wyciągi z kory wierzbowej stosował już Hipokrates w starożytnej Grecji do zbijania gorączki i uśmierzenia bólu.

Wyizolowana z kory wierzbowej salicyna stanowi glikozyd – czyli pochodną cukru (w tym przypadku glukozy) ze związaną cząsteczką alkoholu salicylowego (saligeniną), która jest prekursorem kwasu salicylowego. Salicyna poddana hydrolizie chemicznej bądź enzymatycznej rozpada się na glukozę oraz alkohol salicylowy, który po utlenieniu daje kwas salicylowy (Rys. 1). Zarówno alkohol salicylowy jak i kwas salicylowy należą do fenoli, ponieważ posiadają grupę hydroksylową (OH) podstawioną bezpośrednio do pierścienia aromatycznego.

Kwas salicylowy i jego pochodne są produktami naturalnymi występującymi w świecie roślinnym m.in. w wiązówce błotnej (*Spirea ulmaria*), wierzbie białej (*Salix alba*). Jednak współcześnie jest on otrzymywany wyłącznie syntetycznie przez karboksylowanie fenolanu sodu – w reakcji Kolbego-Schmitta.

Projekt PO KL *Poczuj chemię do chemii – zwiększenie liczby absolwentów kierunku CHEMIA na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu*



Rys. 1. Wierzba biała (*Salix alba*) zawiera salicynę – prekursor kwasu salicylowego.

Również wolny kwas salicylowy wykazuje obok właściwości obniżających gorączkę oraz uśmierzających ból, także stosunkowo silne działanie przeciwzapalne. Kwas ten, ma przy tym silniejsze właściwości przeciwzapalne niż sama salicyna, ale też w większym stopniu podrażnia śluzówkę żołądka (jest dość silnym kwasem o $pK_a = 2.97$). Ta niekorzystna cecha kwasu salicylowego ukierunkowała badania Hoffmana, na znalezienie pochodnej, zachowującej pożądane właściwości farmakologiczne kwasu salicylowego, przy możliwie niewielkim niekorzystnym oddziaływaniu na śluzówkę żołądka.

Prosta acetylowa pochodna kwasu salicylowego otrzymana już 40 lat wcześniej przez A. Kolbe'go okazała się spełniać założone kryteria. Badania farmakologiczne, przeprowadzono na ojcu badacza (cierpiał na bóle reumatyczne) a następnie pracownikach całej firmy Bayer. Ich pomyślny wynik pozwolił w 1899 roku wprowadzić na rynek leków kwas acetylosalicylowy nazwany – aspiryną (rys. 2)*. Jak ważny był to lek może świadczyć fakt, że patent na produkcję aspiryny uzyskały Stany Zjednoczone po pierwszej wojnie światowej jako reparaację wojenną od Niemiec. Aspiryna jest także pierwszym lekiem uzyskanym w sposób syntetyczny, a nie wyizolowanym z surowców występujących w przyrodzie – stąd jej syntezę uważa się zatem za początek nowoczesnego przemysłu farmaceutycznego. Warto odnotowania jest fakt, że lek ten mimo ponad 100-letniej historii stosowany jest masowo do dziś chociaż ogromne postępy w farmakologii przyniosły szereg innych związków przeciwbólowych i przeciwzapalnych.

* nazwa preparatu „aspiryna” pochodzi od złożenia: *a-* acetyl, *spir-* *Spirea ulmaria* - wiązówka błotna, roślina z której pozyskiwano kwas salicylowy

Projekt PO KL *Poczuj chemię do chemii – zwiększenie liczby absolwentów kierunku CHEMIA na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu*



Rys. 2. Przedwojenne reklamy aspiryny firmy Bayer.

Działanie

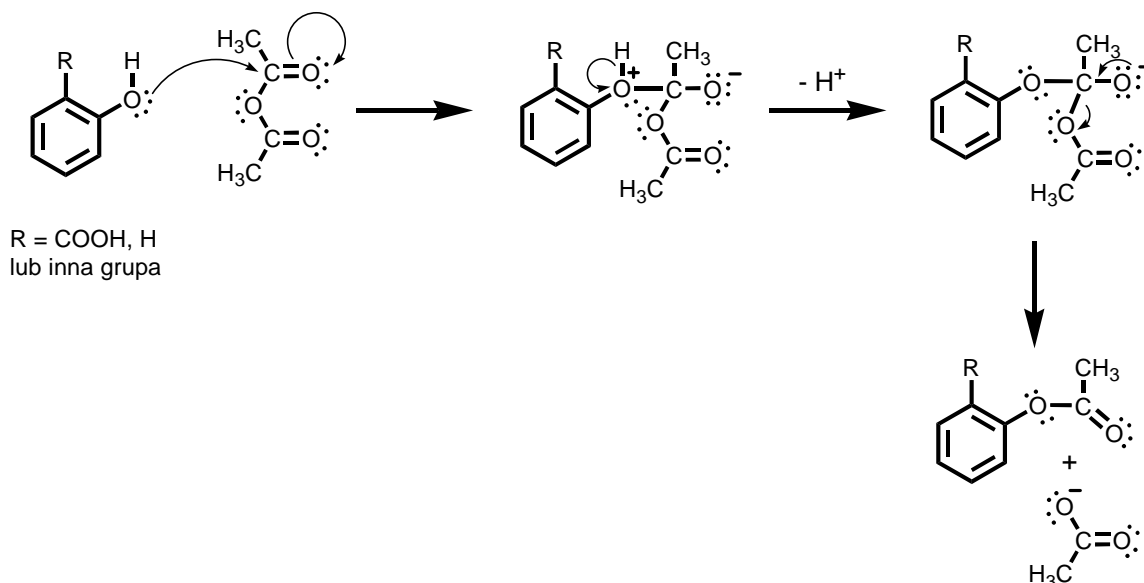
Kwas acetylosalicylowy ma właściwości przeciwbólowe, przeciwgorączkowe i silne działanie przeciwzapalne. Ze względu na budowę zalicza się do grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ). Mechanizm jej działania polega na nieodwracalnym hamowaniu (inhibicji) enzymu cyklooksygenazy typu COX-1 i COX-2 poprzez acetylację reszty seryny w jej centrum katalitycznym. Enzym ten katalizuje reakcje syntezy prekursorów prostaglandyn i tromboksanu A2 z kwasu arachidonowego, które są mediatorami reakcji zapalnych. Prostaglandyny obniżają próg pobudliwości zakończeń czuciowych zwiększając odczuwanie bólu wywołane bodźcami mechanicznymi i chemicznymi.

Inną ważną cechą kwasu acetylosalicylowego wykorzystywaną w leczeniu jest jego działanie hamujące tworzenie skrzepów płytkowych – małe dawki kwasu acetylosalicylowego (30-300 mg/dobę) stosowane są w profilaktyce udarów mózgu i zawałów serca oraz leczenia skrzepów. Działanie farmakologiczne w tym przypadku polega na hamowaniu syntezy prostacyklin i tromboksanu A2 (które powstają również w reakcjach katalizowanych przez cyklooksygenazy). Tromboksany są czynnikiem silnie agregującym płytki krwi i kurczącym tętnice. Salicylany powstałe z hydrolizy aspiryny hamują także transkrypcję genu COX-2 w płytkach krwi dodatkowo wspomagając działanie przeciwzakrzepowe.

W literaturze medycznej istnieje znaczna rozbieżność opinii co do zasadności profilaktycznego przyjmowania aspiryny. Niektóre długoletnie badania wskazują na znaczne obniżenie umieralności na choroby serca oraz nowotworowe osób zażywających kwas acetylosalicylowy. Nowe badania sugerują, że korzyści ze stosowania aspiryny w profilaktyce kardiologicznej osób nie cierpiących na choroby serca i naczyniowe mogą być mniejsze niż szkody powodowane przez krwawienia spowodowane ciągłym stosowaniem leku. Ponadto badania wskazują, że nawet ochrona przez zawałem bądź udarem przypisywana aspirynie jest wątpliwa – jeżeli porównać grupy zażywające placebo i lek.

Jak każdy lek także aspiryna powoduje pewne skutki uboczne. Jej długotrwałe przyjmowanie może prowadzić do uszkodzenia błony śluzowej żołądka, których konsekwencją są krwawienia z przewodu pokarmowego oraz wrzody żołądka. Rzadko obserwuje się ciężkie uszkodzenia wątroby zwykle u dzieci (zespół Reye'a). Istnieje także pewna niewielka grupa ludzi uczulona na salicylany.

Projekt PO KL *Poczuj chemię do chemii – zwiększenie liczby absolwentów kierunku CHEMIA na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu*



Schemat 2. Mechanizm estryfikacji za pomocą bezwodnika kwasowego (strzałki pokazują ruch pary elektronów podczas tworzenia/rozrywania wiązań).

Część eksperymentalna

Otrzymywanie kwasu acetylosalicylowego (Aspiryny)

Metoda 1 (ze stężonym kwasem siarkowym(VI))

Odczynniki:

Kwas salicylowy	5.5 g
Bezwodnik octowy	8.2 g (10 mL)
Stężony kwas siarkowy	5 kropli
Etanol	16 mL

Sprzęt laboratoryjny:

kolba stożkowa (Erlenmeyera) 50 mL
termometr
bagietka
kolba ssawkowa
lejek Büchnera
kolba okrągłodenna 100 mL
chłodnica zwrotna
zlewka 100-200 mL

W kolbie okrągłodennej o pojemności 50 mL zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszcza się 5.5 g kwasu salicylowego i 11 mL bezwodnika kwasu octowego (**ostrożnie substancja żrąca – kontrola asystenta**) a następnie dodaje około 5 kropli stężonego kwasu siarkowego (**ostrożnie substancja żrąca – kontrola asystenta**). Zawartość kolby miesza się tak aby cały kwas został zwilżony bezwodnikiem octowym, zakłada chłodnicę i ogrzewa na łaźni wodnej w temp. 50-60°C (temperatura mierzona termometrem w łaźni) przez ok. 15 min. Mieszaninę reakcyjną zostawia się do ostygnięcia (mieszając od czasu do czasu), a następnie wylewa do około 80 mL zimnej wody (**pod wyciągiem, uwaga reakcja hydrolizy nadmiaru bezwodnika octowego jest egzotermiczna!**), starannie miesza a wytrącony osad produktu sączy pod zmniejszonym ciśnieniem. Surowy produkt na sączku odciska się i oczyszcza przez krystalizację z mieszaniny woda-etanol. W tym celu osad rozpuszcza się w kolbie pod chłodnicą zwrotną w około 16 mL etanolu, dolewa około 40 mL gorącej wody i pozostawia do powolnej krystalizacji (jeżeli roztwór wrze, a obecny jest nie rozpuszczony produkt, należy dodać po 1 mL etanolu do uzyskania klarownego roztworu). Kwas acetylosalicylowy krystalizuje w postaci igieł, które odsąca się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa kryształki wodą, dobrze odciska i pozostawia do wyschnięcia w temperaturze pokojowej. Otrzymuje się około 6 g produktu, który topi się z rozkładem w temp. 128-140°C.

Projekt PO KL *Poczuj chemię do chemii – zwiększenie liczby absolwentów kierunku CHEMIA na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu*

Metoda 2 (z kwasem fosforowym)

Substraty:

Kwas salicylowy	5.5 g
Bezwodnik octowy	11 mL (11.9 g)
Kwas fosforowy (85%)	5 kropli

W kolbie kulistej o pojemności 50 mL zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszcza się 5.5 g kwasu salicylowego, 11 mL bezwodnika octowego (**ostrożnie substancja żrąca! – kontrola asystenta**) i wstrząsając dodaje 5 kropli 85% kwasu fosforowego. Po założeniu chłodnicy ogrzewa się mieszaninę na wrzącej łaźni wodnej przez około 5 minut. Do gorącego roztworu dodaje się następnie przez chłodnicę 2.5 mL wody w celu zhydrolizowania nadmiaru bezwodnika octowego. Zawartość kolby ogrzewa się samoistnie do wrzenia. Po zakończeniu reakcji dodaje się 110 mL zimnej wody i mieszaninę chłodzi do temperatury pokojowej. W celu wywołania krystalizacji ścianki naczynia można pocierać bagietką. Kolbę chłodzi się w łaźni z lodem, odsącza krystaliczny produkt na lejku Büchnera i przemywa niewielką ilością wody. Kwas acetylosalicylowy oczyszcza się przez krystalizację z wody (lub mieszaniny woda-etanol jw.)

Wydzielanie kwasu acetylosalicylowego z tabletek leków (aspiryny, polopiryny, asprokolu, etopiryny)

Tabletki leków zawierających kwas acetylosalicylowy zawierają obok substancji aktywnej także masę tabletkową złożoną zwykle z talku, skrobi, soli nieorganicznych oraz ewentualnie substancji poprawiających smak. Masa tabletkowa w przeciwieństwie do kwasu acetylosalicylowego nie rozpuszcza się w etanolu co umożliwia oddzielenie tych składników. Kwas acetylosalicylowy rozpuszczony w etanolu krystalizuje po dodaniu wody.

Odczynniki:

aspiryna w tabletkach
etanol 95%

Sprzęt laboratoryjny:

kolba stożkowa 100 mL, łaźnia wodna, lejek szklany
kolba ssawkowa, lejek sitowy, pompka wodna

Pięć rozgniecionych tabletek aspiryny (polopiryny) umieszcza się w kolbie stożkowej o pojemności 100 mL, dodaje 10 mL etanolu i ogrzewa na łaźni wodnej aż do momentu rozpadnięcia się tabletek. W roztworze znajduje się kwas acetylosalicylowy natomiast masa tabletkowa pozostanie w osadzie. Osad ten odsącza się na ogrzonym lejku szklanym zaopatrzonym w sączek karbowany. Do oziębionego przesącza dodaje się 20-30 mL zimnej wody destylowanej. Dodatek wody powoduje wypadanie osadu aspiryny z roztworu (zmniejsza się rozpuszczalność aspiryny w roztworze wodno-alkoholowym). Wydzielone kryształy odsączyć na lejku sitowym i suszyć na powietrzu.

Projekt PO KL *Poczuj chemię do chemii – zwiększenie liczby absolwentów kierunku CHEMIA na Uniwersytecie im. A. Mickiewicza w Poznaniu*

Analiza jakościowa kwasu acetylosalicylowego

Test z chlorkiem żelaza (III) na kwas salicylowy

Związki zawierające grupę fenolową lub enolową dają barwne kompleksy z chlorkiem żelaza(III) – tworzą się związki kompleksowe. W przypadku źle przechowywanych lub przeterminowanych leków zawierających aspirynę test ten pozwala jakościowo stwierdzić obecność niepożądanego kwasu salicylowego.

Badane próbki rozpuścić w wodzie destylowanej (ok. 2 mL, w razie potrzeby dodać parę kropli etanolu). Do każdej próbki dodać po kilka kropli roztworu 2% roztworu FeCl₃. Podobny test wykonać z roztworem aspiryny który był ogrzewany do wrzenia (łaźnia wodna ~10 minut) z dodatkiem rozcieńczonego HCl oraz próbką aspiryny ogrzewaną w podobnych warunkach z dodatkiem rozcieńczonego roztworu NaOH.

Analiza chromatograficzna

Eluenty (1 do wyboru)

1. cykloheksan – chloroform - kwas octowy (4:5:1)
2. octan etylu
3. octan etylu-lodowaty kwas octowy 99:1

Uwaga! Powierzchni płytek nie dotykamy palcami!

Na otrzymanej płytce chromatograficznej zaznacza się delikatnie miękkim ołówkiem linię startu (ok. 0,8 – 1 cm od krawędzi), punkty nanoszenia poszczególnych substancji (aspiryna -wzorzec, kwas salicylowy, zsyntetyzowana aspiryna, oraz badana próbka leku) oraz linię czoła (1 cm od krawędzi płytki). Roztwory etanolowe substancji analizowanych nanosi na płytkę za pomocą kapilarek tak, by powstające plamki miały średnicę ok. 2-3 mm. Należy uważać, aby nie uszkodzić powierzchni płytki i nie zamieniać kapilarek. Płytkę suszy się za pomocą suszarki a następnie umieszcza za pomocą pęsety w komorze chromatograficznej. Proces rozwijania chromatogramu prowadzi się do chwili, gdy czoło rozpuszczalnika dotrze do górnej, narysowanej wcześniej linii. Następnie płytkę wyjmuje się, suszy i obserwuje położenie plamek za pomocą lampy UV delikatnie obrysowując widoczne plamki. Płytkę można dodatkowo wybarwić metanolem roztworem FeCl₃ i po wysuszeniu obserwować zabarwienie plamek. Czy zsyntetyzowana aspiryna zawiera nieprzereagowany kwas salicylowy?

Literatura:

1. A. Ault, *Techniques and Experiments for Organic Chemistry*, 3rd Ed., Allyn & Bacon, Inc. **1979**.
2. A. I. Vogel, *Preparatyka organiczna*, WNT, **1984**.
3. K. Schror, *Acetylsalicylic acid*, Wiley-VCH **2009**.
4. Wikipedia – hasło aspiryna, kwas acetylosalicylowy (pol/ang.)