

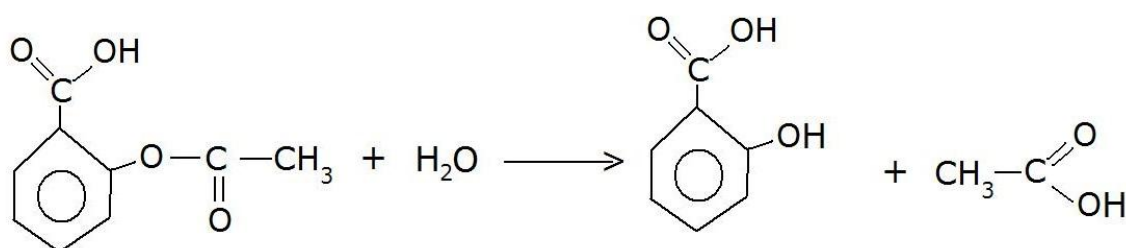
M1. WYZNACZANIE STAŁEJ SZYBKOŚCI I PARAMETRÓW TERMODYNAMICZNYCH REAKCJI HYDROLIZY ASPIRYNY

Zagadnienia: Kinetyka reakcji drugiego i pseudopierwszego rzędu. Spektroskopia absorpcyjna, krzywa kalibracyjna, zależność szybkości reakcji od temperatury (równanie Arrheniusa)

Wstęp

Badanie stabilności leków jest niezwykle ważnym aspektem w procesie ich wprowadzania na rynek oraz ustalania terminów ich przydatności do użycia. Rozkład substancji leczniczych może prowadzić do powstania toksycznych produktów. Dla wielu leków wyznacza się t_{90} - czas, po którym produkt zachowuje 90% wyjściowej wydajności działania. Niezwykle istotnym parametrem jest temperatura, w której leki powinny być przechowywane.

W procesie rozpadu aspiryny (kwasu acetylosalicylowego) powstaje kwas salicylowy i kwas octowy zgodnie z reakcją



Rysunek M1-1 Reakcja rozpadu kwasu salicylowego

Równanie kinetyczne opisujące szybkość zaniku aspiryny może zostać zapisane:

$$-\frac{d[AS]}{dt} = k[AS][OH^-] \quad (M1-1)$$

gdzie $[AS]$ – stężenie aspiryny, $[OH^-]$ – stężenie jonów hydroksylowych, k – stała szybkości, t – czas reakcji

Powyższe równanie jest reakcją pierwszego rzędu, może więc być opisana całkową postacią równania kinetycznego dla reakcji rzędu pierwszego:

$$\ln \frac{[AS]_0}{[AS]} = kt \quad (M1-2)$$

Równanie można uznać jako liniową zależność $\ln(A_0/A)$ w funkcji czasu, gdzie współczynnik kierunkowy jest stałą szybkości reakcji.

Zmiany stężenia aspiryny można mierzyć spektrofotometrycznie poprzez pomiar stężenia produktu rozpadu, którym jest kwas salicylowy. Pamiętając, że z jednego mola aspiryny powstaje jeden mol kwasu salicylowego, można obliczyć ile gramów aspiryny uległo rozpadowi w określonym czasie. Znając zaś stężenie początkowe możliwe jest obliczenie stężenia aspiryny, która pozostała w roztworze po określonym czasie.

Wpływ temperatury na szybkość reakcji opisuje równanie Arrheniusa.

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (M1-3)$$

k – stała szybkości reakcji, A – czynnik przedwykładniczy, E_a – energia aktywacji, R – stała gazowa, T – temperatura

Przekształcając powyższe równanie można przekształcić do postaci:

$$k = Ae^{\frac{E_a}{RT}} \quad (M1-4)$$

Znając stałe szybkości reakcji w dwóch różnych temperaturach możliwe jest obliczenie parametrów Arrheniusa (energii aktywacji i czynnika przedwykładniczego).

Wykonanie ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest wyznaczenie stałej szybkości reakcji hydrolizy kwasu acetylosalicylowego (aspiryny) metodą spektrofotometryczną oraz energii aktywacji i współczynnika temperaturowego.

Ćwiczenie składa się z dwóch etapów: (A) Wyznaczenie krzywej wzorcowej i (B) Pomiarów właściwych.

(A) Wyznaczanie krzywej wzorcowej

- Przygotuj sześć próbek o objętości 5 ml zawierających różne stężenia kwasu salicylowego w wodzie. Stężenia powinny mieścić się w zakresie od 50 do 500 $\mu\text{g/ml}$.
- Do kuwety spektrofotometrycznej odmierz 1,5 ml wody, 100 μl odczynnika Trindera i 400 μl próbki.
- Oblicz stężenie kwasu salicylowego w kuwecie Canalit
- Po dokładnym zmieszaniu roztworu zmierz jego absorbancję dla długości fali 530 nm.
- Wyniki zanotuj w Tabeli M1-1.

Tabela M1-1 Wyniki pomiarów; krzywa wzorcowa dla kwasu salicylowego

c [$\mu\text{g/ml}$]	$V_{\text{kwas salicylowy}}$	V_{woda}	c_{analit}	A

(B) Pomiar właściwy

- Przygotuj trzy łaźnie wodne i ustaw je na temperatury 37, 45 i 55 °C.
- Przygotuj wyjściowy roztwór aspiryny rozpuszczając 270 mg kwasu acetylosalicylowego (aspiryny) w 15 ml wodorowęglanu sodu o stężeniu 12mM. UWAGA! W czasie rozpuszczania wydzielą się dwutlenek węgla! Próbkę należy więc od czasu do czasu odpowietrzać.
- Do kuwety spektrofotometrycznej odmierzyć 1,8 ml wody i 100 μl odczynnika Trindera
- Przygotuj trzy roztwory do inkubacji mieszając 3 ml wcześniej przygotowanego roztworu aspiryny i 1ml buforu tris-HCl. Natychmiast po sporządzeniu pobierz 100 μl mieszaniny i przenieś ją do przygotowanej wcześniej kuwety zawierającej wodę i odczynnik Trindera.
- Zmieszaj roztwór i zmierz jego absorbancję dla długości fali 530 nm. Wynik zapisz w tabeli. Zmierzona absorbancja będzie podstawą do obliczenia stężenia kwasu salicylowego, a znając stechiometrię reakcji - początkowego stężenia aspiryny w próbce.
- Umieść trzy przygotowane roztwory w łaźniach i rozpocznij pomiar czasu. Co 10 minut pobieraj 100 μl każdej próbki, przenieś do kuwety zawierającej 1,8 ml wody i 100 μl roztworu Trindera i zmierz absorbancję. Pomiar zakończ po 90 minutach. Wynik umieść w Tabeli M1-2.

Tabela M1-2 Wyniki pomiarów

Temperatura inkubacji: 37°C					
Czas reakcji t [min]	A	c kwasu salicylowego	c rozłożonej aspiryny	c nierozłożonej aspiryny	k [1/min]
0					
10					
...					
90					
Temperatura inkubacji: 45°C					
0					
10					
...					
90					
Temperatura inkubacji: 55°C					
0					
10					
...					
90					

Opracowanie wyników

- Na podstawie danych z części (A) narysuj zależność $A = f(c)$. Do krzywej kalibracyjnej dopasuj linię prostą i zapisz jej parametry.
- Na podstawie parametrów krzywej kalibracyjnej i danych pomiarowych z części (B) wyznacz stężenie kwasu salicylowego w każdej zmierzonej próbce.
- Dla każdego punktu pomiarowego oblicz stężenie rozłożonej aspiryny i aspiryny, która nadal została w roztworze.
- Dla każdej temperatury wykreśl zależność $\ln(A_0/A) = f(t)$, dopasuj linie proste i wyznacz stałe szybkości. Wynik zapisz w tabeli.
- Korzystając z równania Arrheniusa, wyznacz energie aktywacji dla trzech par temperatur