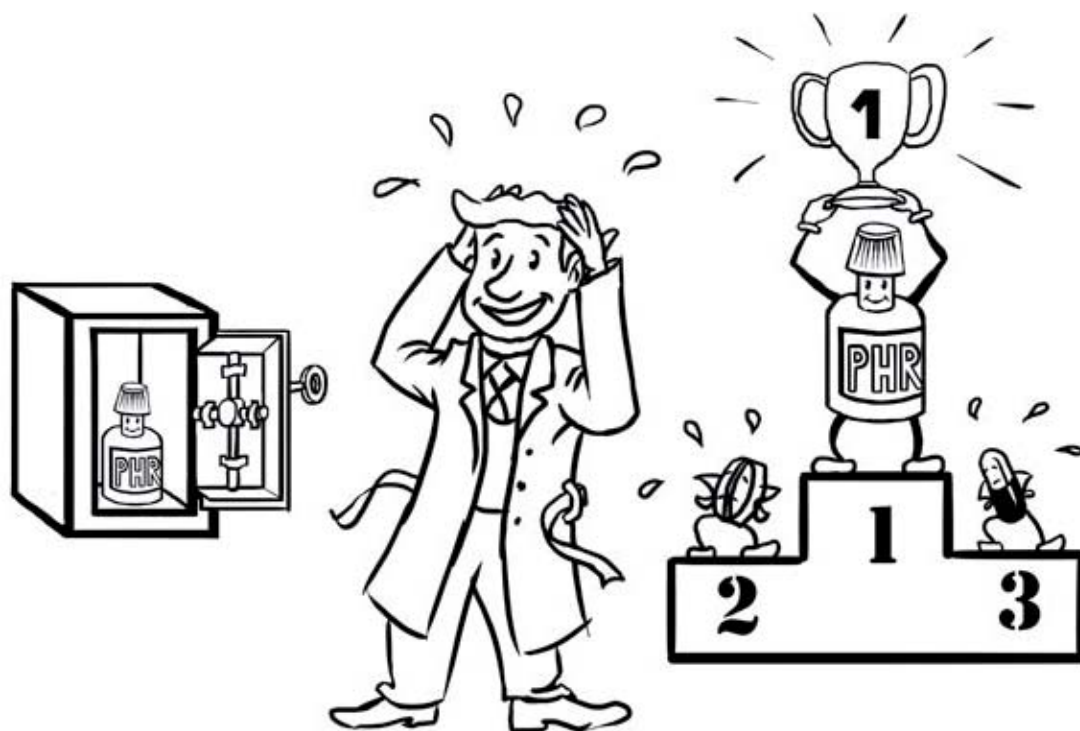


Jak się tworzy leki?

**Weź udział w badaniu nad środkiem
farmaceutycznym**



Warsztat eksperymentalny
Podręcznik ucznia

➔ Wprowadzenie



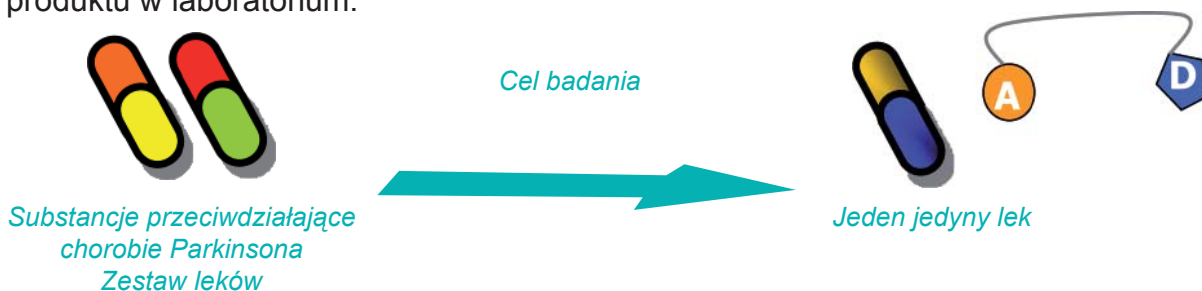
Proces odkrywania i tworzenia nowych leków odbywa się wieloetapowo. Jeden z najważniejszych etapów polega na tym, aby wynaleźć cząsteczkę działającą jak środek farmaceutyczny i dającą możliwie jak najmniej skutków ubocznych.

Naukowcy z Platformy Chemii Kombinatorycznej Parku Naukowego w Barcelonie prowadzą badania nad nowym specyfikiem przeciw chorobie Parkinsona.

Obecnie leczenie Parkinsona polega na podawaniu chorym pacjentom zestawu różnych leków. Ten system podawania leków jest nie tylko niewygodny z uwagi na konieczność zażywania naraz wielu specyfików, lecz również niesie ze sobą istotne skutki uboczne.

Zadaniem tej grupy badawczej jest połączenie dwóch leków poprzez łańcuch powiązanych ze sobą cząsteczek, tworząc tym sposobem jedną jedyną cząsteczkę o bardziej złożonej budowie, która umożliwi podawanie pacjentom tylko jednego specyfiku zwalczającego chorobę Parkinsona.

Aby móc przeprowadzić to badanie należy po pierwsze dysponować specyfikami lub cząsteczkami, jakie się będzie chciało połączyć. W tym celu badacze z ww. Platformy przeprowadzili szereg reakcji chemicznych, które umożliwiły im otrzymanieżądanego produktu w laboratorium.

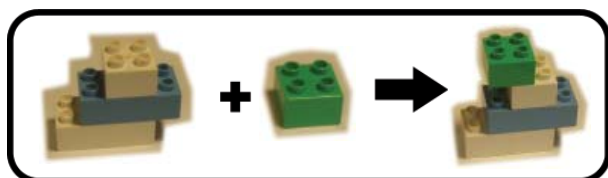


➔ Cele warsztatu

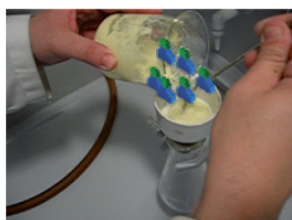
Celem niniejszych zajęć warsztatowych jest zapoznanie się z przebiegiem badania prowadzonego w laboratorium chemicznym, bazującego na poszukiwaniu nowych leków. Będziesz w szczególności uczestniczyć w procesie syntezy jednej z tych cząsteczek, które używa się do przeprowadzenia badań nad nowym specyfikiem przeciw chorobie Parkinsona.

➔ Organizacja warsztatu

Warsztat składa się z trzech etapów. Najpierw przeprowadzona zostanie reakcja chemiczna (1) polegająca na zadziałaniu na pirymidon azotynem sodu. Następnie wyodrębni się powstały produkt (2) metodą filtracji próżniowej, a na koniec dokona określenia charakterystyki otrzymanego produktu (3) techniką chromatografii cienkowarstwowej z zastosowaniem lampy UV, aby sprawdzić, czy otrzymano się żądany produkt.



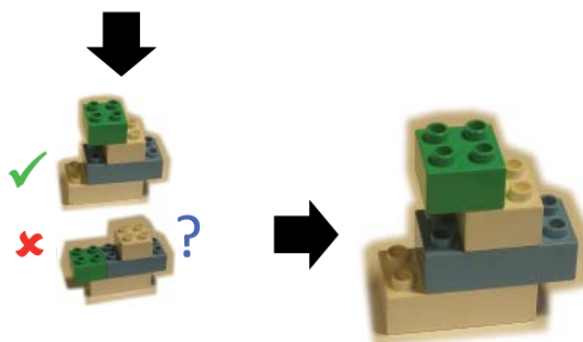
1. Reakcja chemiczna



2. Wyodrębnienie produktu przez filtrację



3. Określenie charakterystyki produktu metodą chromatografii



Ta reakcja chemiczna stanowi zaledwie niewielką część całego procesu, niemniej ma kluczowe znaczenie dla uzyskania pożądanego produktu.

Notatki laboratoryjne:

W specjalnym notatniku laboratoryjnym należy opisywać każdy przeprowadzany etap powyższej procedury, wraz z zaobserwowanymi w jego trakcie zmianami. Należy również zanotować wyniki i końcowe wnioski tak, jak robią to naukowcy w swoich laboratoriach.

➔ Niezbędny sprzęt i materiały

			
wspornik	zacisk i nakrętka	kolba	kolba próżniowa
			
próbówka	lejek	lejek Buchnera	gumowa uszczelka juko
			
łyżeczko-szpatułka	szale wagi	Nożyczki i zaciski	szklana rurka kapilarna
			
rdzeń magnetyczny	zatyczka	Papier filtracyjny	eppendorfy (tylko do pracy z monitorem)
			
zlewka	warstwa żelu krzemionkowego	szklana fiołka	butelka
			
waga	wstrząsarka	pompa próżniowa	lampa ultrafioletowa
odczynniki:			
			
Pirymidona (toksyczny) *	Azotyn sodu (toksyczny) *	42% roztwór kwasu octowego (powoduje korozję) *	Rozpuszczalniki użyte w chromatografii (toksyczne) *

* Zapoznaj się ze środkami ostrożności, jakie należy stosować przy posługiwaniu się tymi produktami chemicznymi

Inne niezbędne materiały: ołówki, flamastry, fartuchy laboratoryjne, rękawiczki, okulary ochronne i pojemnik na odpady.

➔ Środki bezpieczeństwa

Zasięgnij informacji

Sprawdź umiejscowienie elementów bezpieczeństwa laboratorium lub stanowiska eksperymentalnego (gaśnice, prysznice lub łazienki, wyjścia ewakuacyjne itp.). Przed przystąpieniem do przeprowadzania eksperymentu przeczytaj uważnie instrukcje. Pamiętaj o tym, aby zapoznać się z treścią etykiet bezpieczeństwa odczynników i przyrządów.

Używaj odpowiedniej odzieży:

rękawic, fartucha i okularów ochronnych.



Ogólne zasady bezpieczeństwa

Zabrania się palenia tytoniu, spożywania posiłków i napojów w laboratorium lub na stanowisku eksperymentalnym. Przed opuszczeniem laboratorium należy dokładnie umyć ręce. Poszczególne czynności należy wykonywać powoli, w sposób uporządkowany i zachowując czystość w miejscu pracy. W razie rozlania produktu należy go natychmiast sprzątnąć. Pozostawiać zawsze materiał w czystości i porządku. Nie stosować nigdy żadnego przyrządu ani urządzenia bez doskonałej znajomości jego funkcjonowania.

Posługiwanie się elementami szklanymi.

Przy posługiwaniu się materiałami szklanymi należy chronić dłonie i uważać na ich temperaturę, gdyż gorące szkło nie różni się wyglądem od zimnego. Nie używać szkła z widocznymi śladami pęknięć.

Substancje chemiczne

Nie używaj żadnej nieoznaczonej odpowiednią etykietą fiołki z odczynnikami. Nie wachaj, nie wdychaj, nie próbuj ani nie dotykaj produktów chemicznych. Nie pipetuj nigdy próbki produktu ustami. Jeśli posługujesz się toksycznymi i żrącymi substancjami chemicznymi, załóż rękawice i myj często ręce. Nie zbliżaj pojemników z odczynnikami do otwartego płomienia. Nie podgrzewaj łatwopalnych cieczy. Przenoś butle przytrzymując je zawsze od spodu, nigdy za szyjkę.

Usuwanie odpadów

Umieść w specjalnych, należycie oznakowanych kontenerach: zbite szkło, toksyczne, trujące lub szkodliwe dla środowiska odczynniki oraz odpady biologiczne. W żadnym wypadku nie wyrzucać odpadów stałych do zlewu.

W razie wypadku bezzwłocznie powiadom o tym opiekuna. Pamiętaj! W razie jakichkolwiek wątpliwości należy zasięgnąć porady opiekuna.

Szczególne środki bezpieczeństwa obowiązujące w ramach niniejszych zajęć warsztatowych

Podczas przeprowadzania powyższych procesów będziesz się posługiwać odczynnikami chemicznymi i rozpuszczalnikami organicznymi niosącymi z sobą następujące zagrożenia:



Pirymidon: Toksyczny w razie spożycia i kontaktu ze skórą.



Azotyn sodu: Zagrożenie wybuchem pożaru w przypadku kontaktu z materiałami łatwopalnymi. Toksyczny w razie spożycia i kontaktu ze skórą.



Kwas octowy 42%: Kwas octowy jest substancją żrącą. Unikaj kontaktu tego produktu ze skórą i nie wdychaj jego oparów.



Rozpuszczalnik A (ethyl acetate): Łatwopalny. Toksyczny przy wdychaniu i kontakcie ze skórą. Irritation eyes.



Rozpuszczalnik B (metanol): Toksyczny przy wdychaniu, spożyciu i kontakcie ze skórą. Łatwopalny.

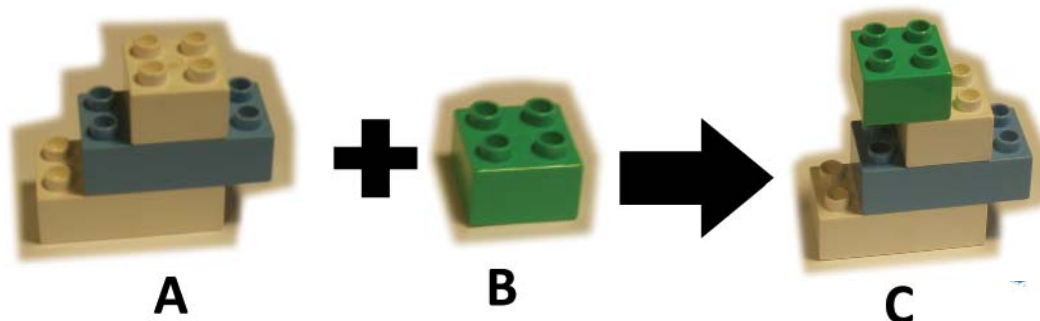
➔ Procedury

1. Reakcja chemiczna

Proces syntezy każdego specyfiku przebiega wieloetapowo. Na każdym etapie zachodzi reakcja chemiczna polegająca na procesie, za pośrednictwem którego jedna lub więcej substancji (odczynników) ulega(ją) przemianie lub połączeniu, tworząc inne substancje (produkty).

Reakcje chemiczne przedstawiane są w postaci równań chemicznych polegających na graficznej prezentacji zachodzącego procesu.

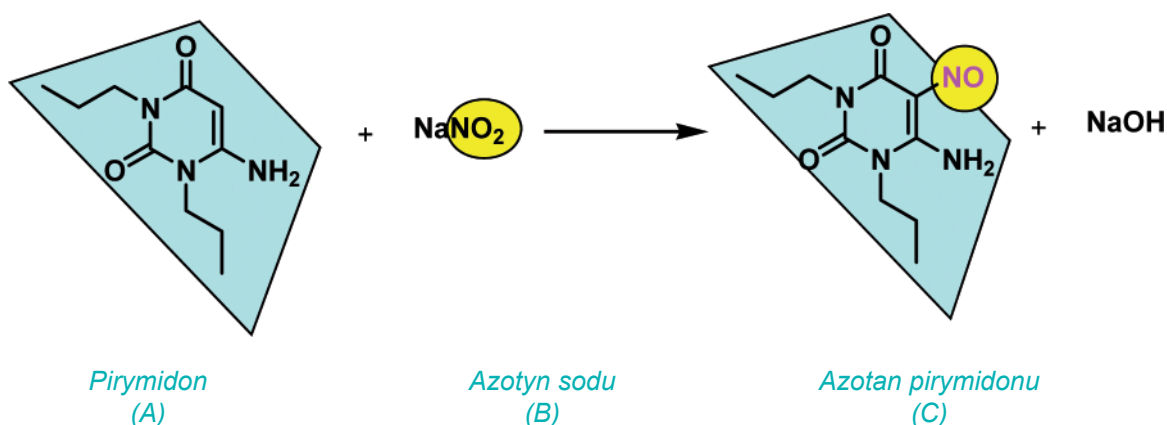
ZAPIS PRZEBIEGU REAKCJI CHEMICZNEJ: $A + B \rightarrow C$



Przykład: *Bezwodnik octowy + kwas salicylowy* →



W ramach reakcji, jaką przeprowadzisz, pirymidon (A) zareaguje z azotynem sodu (B), w wyniku czego otrzyma się azotan pirymidonu (C)



Sposób przeprowadzania reakcji chemicznej

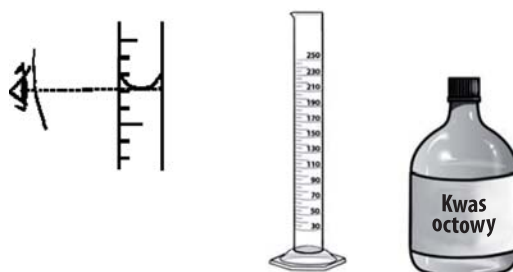
- 1** Przygotuj zestaw montażowy niezbędny do przeprowadzenia reakcji.



- 2** Zważ **1,0 g de pirymidonu** wyjściowego na szalce, a następnie dodaj go do kolby reakcyjnej posługując się lejkiem.



- 3** Odmierz **50ml 42% roztworu wodnego kwasu octowego**, napełniając naczynie do poziomu wskazanego na zamieszczonej ilustracji.
UWAGA! NIE WDYCHAJ OPARÓW!



- 4** Powoli przelej roztwór kwasu octowego z probówki do kolby zawierającej pirymidon przy pomocy lejka, a następnie uruchom wstrząsarkę.



- 5** Na osobnej szalce zważ 0,49 g azotynu sodu (NaNO_2) i stopniowo dodaj go do kulistej kolby reakcyjnej. Zaobserwujesz natychmiastowe wytrącenie się substancji stałej.



- 6** Odczekaj od 10 do 15 minut, aż pod wpływem mieszania powyższe składniki wejdą ze sobą w reakcję, dopilnowując przy tym, aby przez cały ten czas kolba pozostała zatkana.

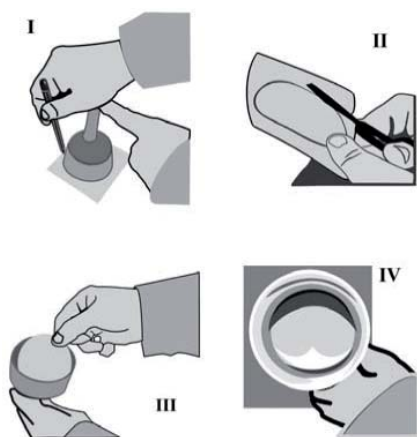


2. Wyodrębnianie produktu przez filtrację

Filtracja próżniowa jest techniką służącą do wyodrębniania składników mieszanin cieczy z ciałami stałymi. Mieszaninę wprowadza się do płaskiego lejka wyścielanego u dołu filtrem. Przy pomocy pompy próżniowej oddziałującej na dolny segment lejka zasysa się mieszaninę, co powoduje osadzenie się substancji stałej między porami filtra. Pozostała część mieszaniny przechodzi przez filtr i osadza się na dnie naczynia. Ta technika filtracji jest znacznie szybsza niż stosowana najczęściej technika grawitacyjna i zaleca się jej stosowanie wówczas, gdy wspomniane procesy filtracji będą przebiegać w bardzo wolnym tempie.

Procedura wyodrębnienia produktu przez filtrację

- 1** Naszkicuj i wytnij filtr. Umieść go w lejku Buchnera tak, aby nie dotykał ścianek.



- 2** Chwyc mocno za pomocą zacisku kolbę próżniową, zamieść gumową uszczelkę *juko* i lejek Buchnera z filtrem. Połącz kolbę z pompą próżniową i zwilż filtr małą ilością wody.



- 3** Ostrożnie przelej zawartość kulistej kolby do lejka Buchnera. Obmyj porządnie substancję stałą wodą destylowaną i pozostaw do wyschnięcia na powietrzu (ok. 2 min.)*



- 4** Zważ otrzymaną w fiolce substancję stałą i zapisz jej ciężar.



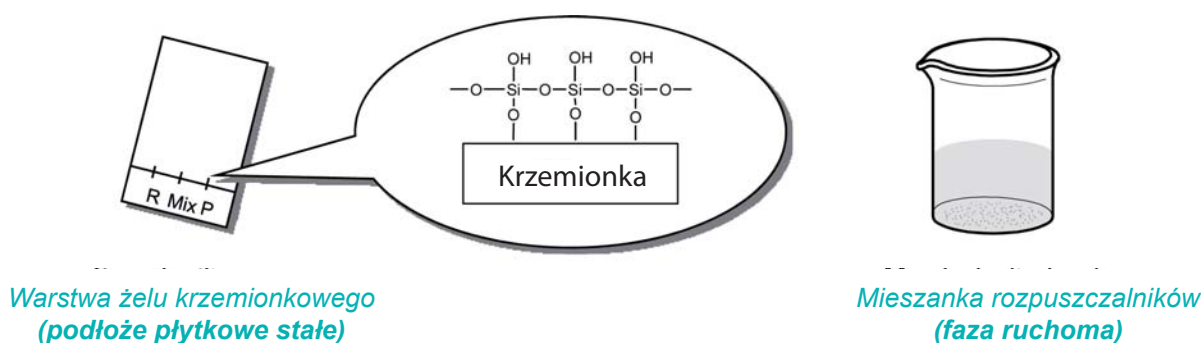
*UWAGA! Jeśli substancja stała będzie bardzo mokra poproś opiekuna o jej przemycie kilkoma kroplami acetonu i pozostaw ją do wysuszenia na powietrzu przez kilka dodatkowych chwil.

3. Określanie charakterystyki produktu metodą chromatografii cienkowarstwowej

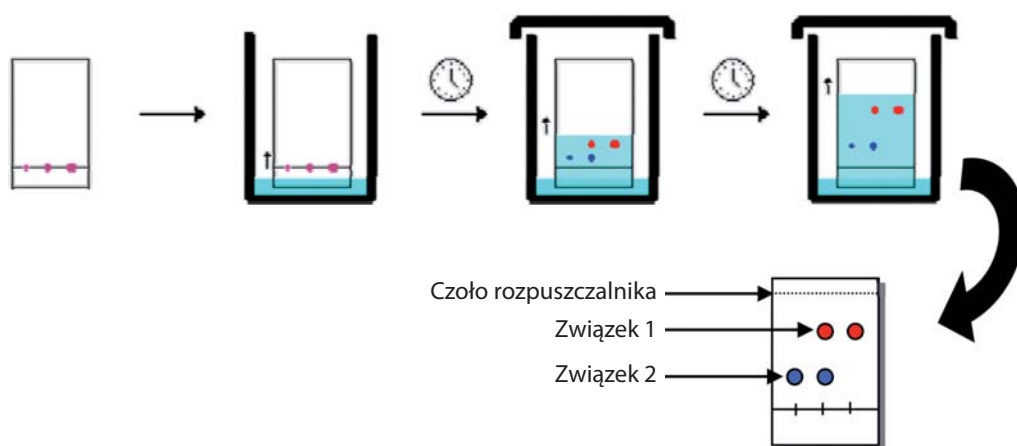
Chromatografia cienkowarstwowa jest bardzo powszechnie stosowaną w laboratoriach chemii organicznej techniką separacyjną, która umożliwia nam:

- Porównywanie próbek
- Monitorowanie przebiegu danej reakcji
- Określenie stopnia czystości danego związku

W metodzie tej stosuje się podłoże stałe (warstwę żelu krzemionkowego) i fazę ruchomą (rozpuszczalnik lub mieszaninę rozpuszczalników)



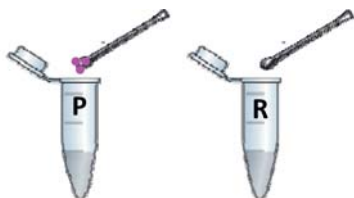
Badaną próbkę nanosi się na warstwę żelu krzemionkowego, która ją pochłania, a następnie wprowadza do fazy ruchomej. W wyniku działania sił kapilarnych eluent wznosi się przechodząc przez podłoże stałe zawierające składniki próbki. Z uwagi na odmienny skład chemiczny każdy ze związków wykazuje różne powinowactwo zarówno względem podłoża, jak i rozpuszczalnika, w wyniku czego będą się one wznosić, przechodząc przez warstwę żelu krzemionkowego z różną prędkością. Dlatego każda plama powstała na warstwie żelu krzemionkowego będzie odpowiadać innemu związkowi.



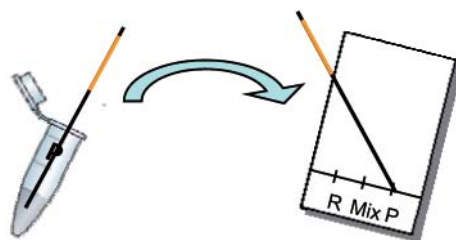
Dzięki tej metodzie dowiemy się, czy reakcja uległa zakończeniu w momencie jej zatrzymania, a także zdobędziemy rozeznanie odnośnie stopnia czystości otrzymanego produktu.

Procedura określania charakterystyki produktu metodą chromatografii cienkowarstwowej

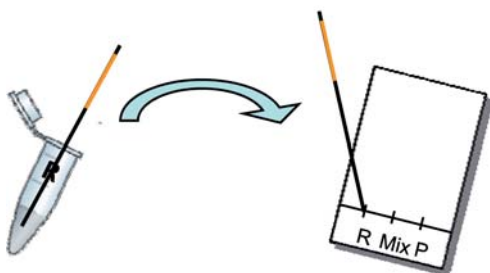
- 1** Rozpuść niewielką ilość otrzymanego produktu (nabranego na końcówkę łyżeczko-szpatułki) za pomocą acetonu w probówce typu eppendorfa. Powtórz tę czynność w przypadku pirymidonu.



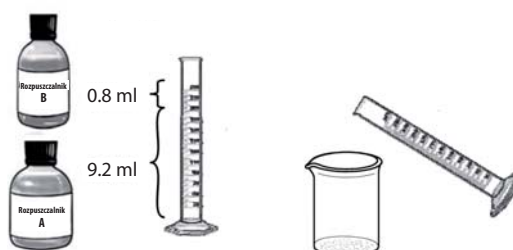
- 2** Zanurz szklaną kapilarę w roztworze produktu. Następnie dotknij kapilarą znaku na cienkiej warstwie (P) oraz w segmencie środkowym (Mix) starając się, aby powstająca plama była możliwie jak najmniejsza.



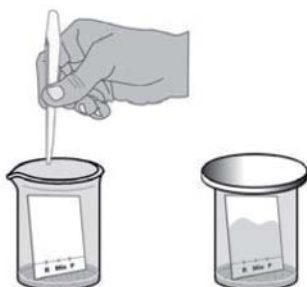
- 3** Przeprowadź ten sam proces posługując się pirymidonem (R i Mix).



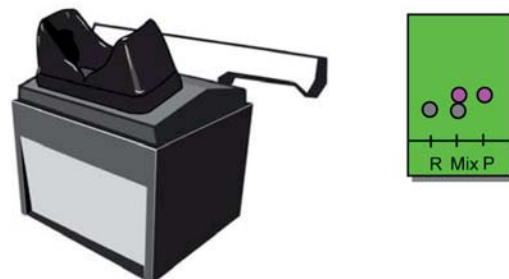
- 4** Przygotuj fazę ruchomą: w 10 ml probówce odmierz 9,2 ml rozpuszczalnika A (chlorku metylenu) i 0,8 ml rozpuszczalnika B (metanolu). Przelej zawartość probówki do zlewki, zakryj i wymieszaj.



- 5** Wprowadź ostrożnie ciekłą warstwę preparatu do zlewki, przykryj i odczekaj aż ciecz uniesie się w wyniku działania sił kapilarnych. Kiedy czoło rozpuszczalnika osiągnie wysokość 0,5 cm w górnym segmencie płytki, należy ją wówczas wyjąć.



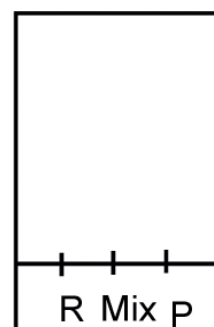
- 6** Posługując się lampą UV obejrzyj uzyskany na cienkiej warstwie wynik reakcji. Zaznacz ołówkiem wszystkie zauważone plamy.



➔ Wyniki i dyskusja

Z każdego przeprowadzanego etapu sporządź notatki oraz opisz wszelkie zaobserwowane zmiany. Dokonaj również opisu wyników i końcowych wniosków.

Co zaobserwowałeś/aś w wyniku przeprowadzenia procesu chromatografii? Zaznacz na rysunku wyniki swoich obserwacji dokonanych przy pomocy lampy UV.



Czy uważasz, że otrzymany przez Ciebie produkt jest czysty? Dlaczego?

Czy myślisz, że reakcja uległa zakończeniu w momencie jej zatrzymania? Dlaczego?

➔ Dodatkowe informacje

Witryny internetowe dotyczące choroby Parkinsona

Wydanie specjalne Nature: Outlook Parkinson Disease

<http://www.nature.com/nature/outlook/parkinsons/index.html>

Fundacja im. aktora Michaela J. Foxa

<http://www.michaeljfox.org/index.cfm>

Filmy wideo i samouczki opracowane przez National Library of Medicine w Stanach Zjednoczonych

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000755.htm>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/tutorials/parkinsonsdisease/htm/index.htm>

Witryny internetowe dotyczące technik stosowanych w ramach niniejszych zajęć

Animacja procesu chromatografii cienkowarstwowej

<http://www3.wooster.edu/chemistry/analytical/gc/default.html>

Inne witryny dotyczące chromatografii

http://en.wikipedia.org/wiki/Thin_layer_chromatography

http://www.shsu.edu/~chm_tgc/sounds/flashfiles/GC.swf

http://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography

Animacje dotyczące potencjału membranowego, synaps i neuroprzekaźników

<http://outreach.mcb.harvard.edu/animations/actionpotential.swf>

http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072437316/student_view0/chapter45/animations.html#

<http://www.celanphy.science.ru.nl/Bruce%20web/Flash%20Movies.htm>

Projekt
finansowany
przez:



Partnerzy projektu:



UM&Asociados
Consultoría de Innovación y Desarrollo Empresarial

Koordinator