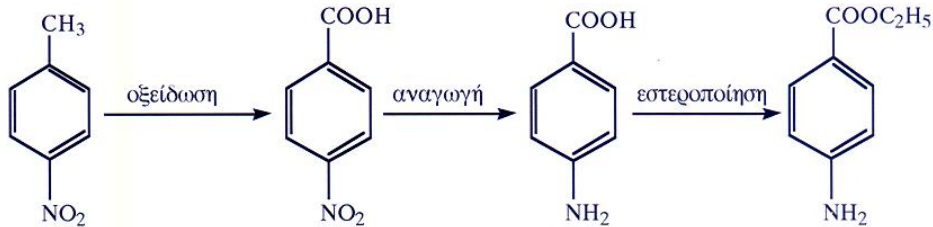


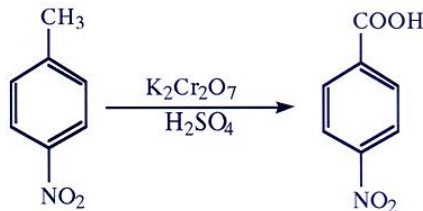
**Σύνθεση βενζοκαΐνης (π-αμινοβενζοϊκός αιθυλεστέρας),  
C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>, M.B. 165,19)**

**Αρχή:** Λαμβάνεται με οξείδωση του π-νιτροτολουολίου προς π-νιτροβενζοϊκό οξύ, αναγωγή αυτού προς π-αμινοβενζοϊκό οξύ και εστεροποίηση του τελευταίου:



**α) Παρασκευή π-νιτροβενζοϊκού οξέος από π-νιτροτολουόλιο**

**Αντίδραση:**



**Μέθοδος:** Σε σφαιρική φιάλη των 250ml βάζετε 6g π-νιτροτολουολίου 17g κρυ-σταλλικού διχρωμικού καλίου και 40ml νερού. Με διαχωριστικό χωνί προσθέτετε 25ml πυκνού H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> κατά σταγόνες, ενώ συγχρόνως αναδεύετε το περιεχόμενο της φιάλης με ράβδο. Ρυθμίζετε την ταχύτητα της προσθήκης έτσι ώστε να μη θερμαίνεται πολύ το μίγμα. Μετά την προσθήκη του H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> προσαρμόζετε στη σφαιρική κάθετο ψυκτήρα, αφού πρώτα προσθέσετε πέτρα βρασμού, και βράζετε το μίγμα ήπια, σε μικρή φλόγα λύχνου Bunsen για μισή ώρα. Ψύχετε το περιεχόμενο της φιάλης σε θερμοκρασία δωματίου και το μεταφέρετε σε ποτήρι ζέσης που περιέχει 100-120ml H<sub>2</sub>O. Συλλέγετε με διήθηση "υπό κενό" το παραγόμενο π-νιτροβενζοϊκό οξύ, το πλένετε με H<sub>2</sub>O, και το καθαρίζετε από προσμίξεις όπως περιγράφεται παρακάτω:

Μεταφέρετε το ίζημα σε κωνική φιάλη, προσθέτετε 50-70ml διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5% και θερμαίνετε σε υδατόλουτρο μέχρι διάλυσης (αν μείνει αδιάλυτη ελαιώδης κηλίδα, η οποία είναι π-νιτροτολουόλιο που δεν αντέδρασε, αποχύνετε το υκερκείμενο διάλυμα σε ποτήρι). Ψύχετε και ξαναδιηθείτε "υπό κενό".

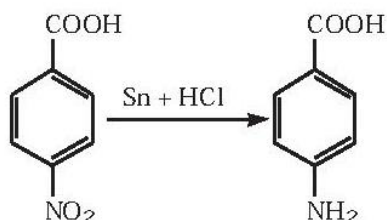
Μεταφέρετε το ίζημα σε ποτήρι ζέσης, προσθέτετε διάλυμα NaOH 5%(50-70ml) και θερμαίνετε ήπια σε λύχνο μέχρι διάλυσης (το διάλυμα πρέπει να είναι αλκαλικό). Στο διάλυμα προσθέτετε 1-2g ενεργού άνθρακα, θερμαίνετε ήπια με ανάδευση για 5 λεπτά και διηθείτε το θερμό μίγμα από πτυχωτό ηθμό.

Μεταφέρετε το διήθημα σε 50-60ml διαλύματος H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 15% με ανάδευση και ελέγχετε το pH (πρέπει να είναι όξινο). Ψύχετε και διηθείτε "υπό κενό". Το ίζημα συλλέγεται, ξηραίνεται,

ζυγίζεται, σημειώνεται η απόδοση και ταυτοποιείται με προσδιορισμό του σ.τ. (σ.τ. π-νιτροβενζοϊκού οξέος 237°C).

**β) Παρασκευή π-αμινοβενζοϊκού οξέος από π-νιτροβενζοϊκό οξύ**

**Αντίδραση:**

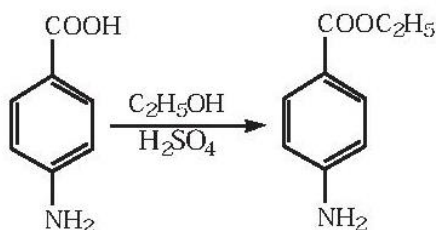


**Μέθοδος:** Σε σφαιρική φιάλη των 250ml (απαγωγός) βάζετε 5g π-νιτροβενζοϊκού οξέος, 12g κασσιτέρου και 25ml πυκνού HCl. Προσαρμόζετε κάθετο ψυκτήρα και θερμαίνετε ήπια με λύχνο μέχρι ν' αρχίσει η αντίδραση. Εάν η αντίδραση γίνει βίαιη, απομακρύνετε το λύχνο. Φροντίζετε να διατηρείτε την αντίδραση ήπια και με συνεχή έκλυση αερίου. Μετά από 35-40 λεπτά ο περισσότερος κασσίτερος θα έχει διαλυθεί. Απομακρύνετε το λύχνο, αφήνετε για λίγο το μίγμα να ψυχθεί και αποχύνετε το υπερκείμενο σε ποτήρι ζέσης (των 400ml). Πλένετε τον κασσίτερο που περίσσεψε με λίγο νερό (5-10ml) και προσθέτετε τα υγρά της πλύσης στο ποτήρι. Προσθέτετε πυκνή αμμωνία (απαγωγός) μέχρι αλκαλικής αντίδρασης. Διηθείτε το ανόργανο υλικό "υπό κενό" και πλένετε το ίζημα με λίγο νερό (10ml). Εάν το διήθημα είναι θολό, το διηθείτε από πτυχωτό ηθμό. Ο συνολικός όγκος του διηθήματος δεν πρέπει να είναι περισσότερος από 50-60ml. Οξινίζετε το διήθημα με οξικό οξύ (έλεγχος με πεχαμετρικό χαρτί), ψύχετε σε παγόλουτρο και διηθείτε το προϊόν "υπό κενό" (εάν δε σχηματιστεί ίζημα πρέπει να γίνει συμπύκνωση του υγρού στα 30ml περίπου).

Το ίζημα συλλέγεται, ξηραίνεται, ζυγίζεται, σημειώνεται η απόδοση και ταυτοποιείται με προσδιορισμό του σ.τ. (σ.τ. π-αμινοβενζοϊκού οξέος 187°C)

**γ) Παρασκευή βενζοκαΐνης (π-αμινοβενζοϊκού αιθυλεστέρα)**

**Αντίδραση:**



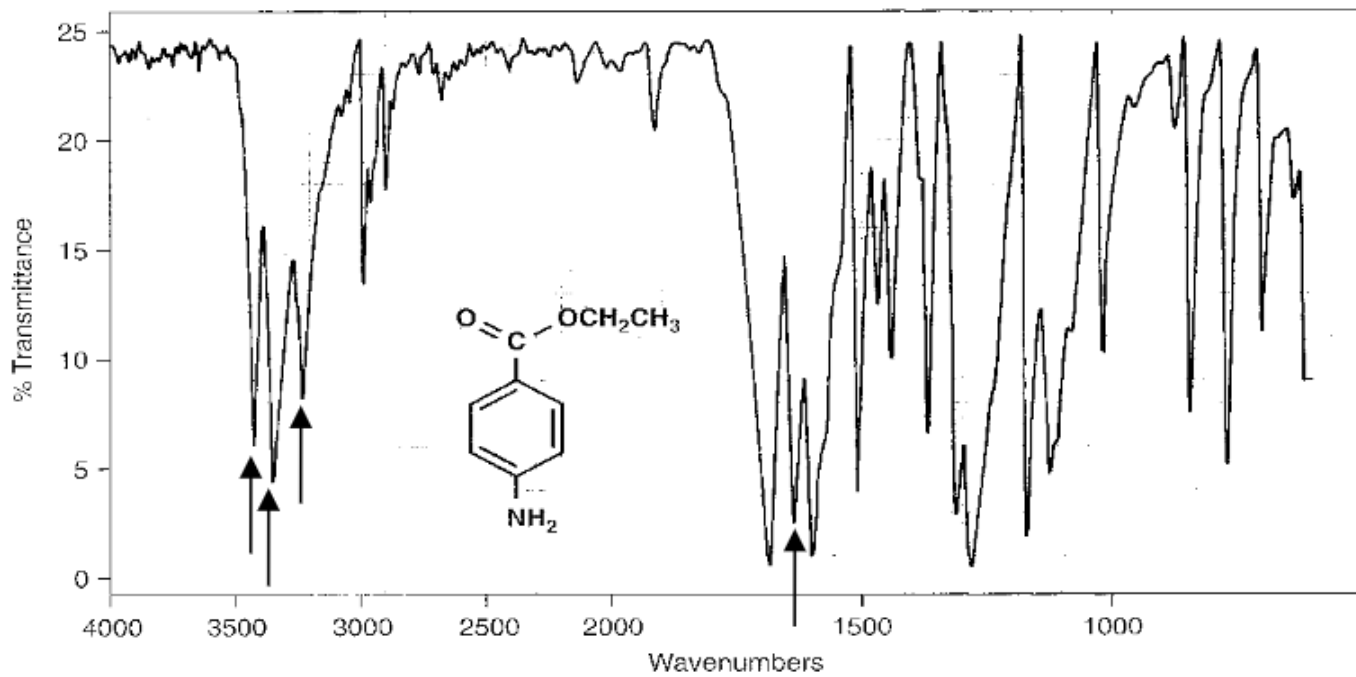
**Μέθοδος:** Σε στεγνή σφαιρική φιάλη των 250ml βάζετε 2g π-αμινοβενζοϊκού οξέος (καλά ξηραμένου) και 15ml απόλυτης αιθανόλης. Με ανάδευση προσθέτετε 2,5-3ml πυκνό H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Βάζετε πέτρα βρασμού και βράζετε το μίγμα, για 2 ώρες, τουλάχιστο, με κάθετο ψυκτήρα. Κατόπιν απομακρύνετε το λύχνο, αφήνετε το μίγμα να κρυώσει και μεταφέρετε το περιεχόμενο της φιάλης

σε ποτήρι ζέσης των 250ml που περιέχει περίπου 20ml πάγου. Αλκαλοποιείτε με πυκνή αμμωνία (απαγωγός) και συνεχίζετε την ψύξη. Διηθείτε το ίζημα που σχηματίζεται "υπό κενό".

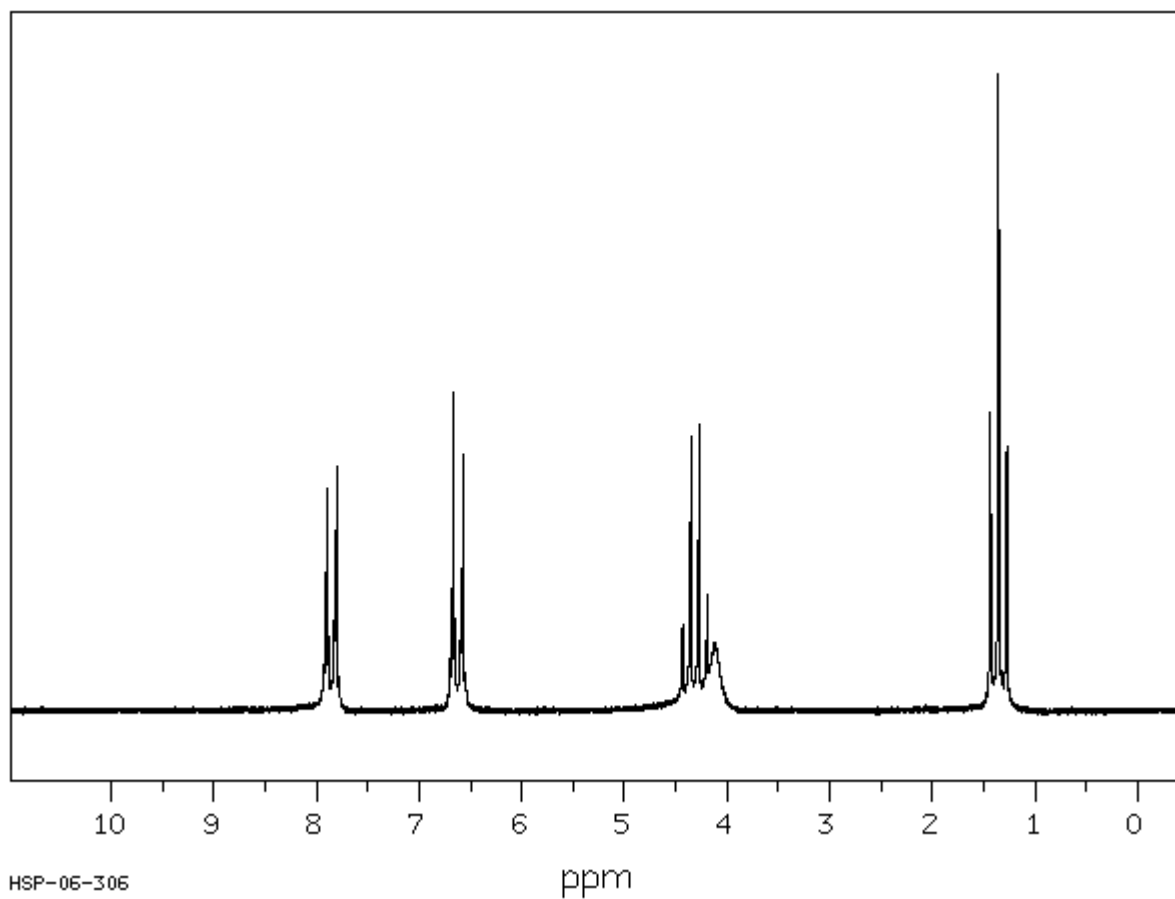
Το προϊόν συλλέγεται, ξηραίνεται, ζυγίζεται, σημειώνεται η απόδοση και ταυτοποιείται με λήψη φάσματος υπερύθρου (IR) ή φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού πρωτονίου ( $^1\text{H-NMR}$ ).

***Ερωτήσεις - Ασκήσεις:***

1. Στο πρώτο στάδιο, το συλλεγόμενο ίζημα μετά την αντίδραση θερμαίνεται με αραιό διάλυμα  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Γιατί;
2. Πώς θα μπορούσε να γίνει, διαφορετικά, η οξείδωση του π-νιτροτολουλίου σε π-νιτροβενζοϊκό οξύ.
3. Στο δεύτερο στάδιο, από τι αποτελείται το ανόργανο υλικό; Γιατί χρησιμοποιείται οξικό οξύ για την τελική οξίνιση.
4. Στο τρίτο στάδιο ποιος είναι ο ρόλος του  $\text{H}_2\text{SO}_4$  στην εστεροποίηση. Γιατί χρησιμοποιείται πυκνό  $\text{H}_2\text{SO}_4$  αντί π.χ. πυκνού  $\text{HCl}$  ή  $\text{HNO}_3$ ;
5. Συνθέστε τη βενζοκαΐνη ξεκινώντας από βενζόλιο
6. Αναφέρετε τις κύριες χρήσεις και πιθανές ασυμβασίες της βενζοκαΐνης.
7. Αναφέρετε και δικαιολογήστε τις απορροφήσεις που εμφανίζονται στο φάσμα IR της βενζοκαΐνης που παρασκευάσατε.
8. Αναφέρετε τρόπους ποσοτικού προσδιορισμού της βενζοκαΐνης.
9. Αναφέρετε και δικαιολογήστε τις κορυφές που εμφανίζονται στο  $^1\text{H-NMR}$ .



Infrared spectrum of benzocaine, KBr.



H-NMR (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

## Έλεγχος καθαρότητας του προϊόντος με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

Η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας αποτελεί παράδειγμα υγρής χρωματογραφίας και χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό ενώσεων με παραπλήσια δομή. Για τον διαχωρισμό η ακίνητη φάση είναι η silica gel (διοξείδιο του πυριτίου) η οποία επιστρώνεται πάνω σε γυαλί ή φύλλο πλαστικού ή αλουμινίου (υλικό επίστρωσης). Η κινητή φάση (διαλύτης ανάπτυξης) συνήθως είναι κάποιος οργανικός διαλύτης ή μίγμα οργανικών διαλυτών. Η ακίνητη φάση μπορεί να φέρει και φθορίζοντα δείκτη ( $F_{254}$ , πυριτικός ψευδάργυρος,  $Zn_2SiO_4$  που δίνει πράσινο φθορισμό στα 254 nm).

Ο διαχωρισμός των μορίων οφείλεται στην διαφορετική ταχύτητα κίνησής τους διαμέσου της ακίνητης φάσης (πλακίδιο). Καθώς ο διαλύτης κινείται λόγω τριχοειδών φαινομένων πάνω στο πλακίδιο, τα μόρια συμπαρασύρονται με διαφορετική ταχύτητα. Συγκεκριμένα εκείνα τα οποία συγκρατούνται ισχυρότερα από την ακίνητη φάση, κινούνται αργά κατά τη ροή της κινητής φάσης. Αντίθετα αυτά που συγκρατούνται ασθενέστερα από την ακίνητη φάση, κινούνται ταχύτερα.

### 1. Εξοπλισμός-Υλικά

**Εργαστηριακός εξοπλισμός** • πλακίδιο TLC (έτοιμη πλάκα εμπορίου με Silica gel σε φύλλα αλουμινίου) • δοκιμαστικοί σωλήνες • τριχοειδείς σωλήνες • γυάλινο δοχείο (θάλαμος ανάπτυξης) • τρυβλίο Petri •

**Απαιτούμενα υλικά** • πετρελαϊκός αιθέρας • οξικός αιθυλεστέρας • απόλυτη αιθανόλη • π-αμινοβενζοϊκό οξύ (καθαρό), • βενζοκαΐνη (μάρτυρας-καθαρή) • δείγμα βενζοκαΐνης (προϊόν αντίδρασης)

### 2. Τοποθέτηση του δείγματος επάνω στο πλακίδιο

Στο πλακίδιο σημειώνονται με μολύβι :

- η γραμμή εκκίνησης (γραμμή παράλληλη προς τη βάση της πλάκας και σε απόσταση 1cm περίπου από τη βάση).
- οι θέσεις τοποθέτησης των δειγμάτων (κηλίδες), οι οποίες θα πρέπει να απέχουν από τα άκρα της πλάκας και μεταξύ τους 1.5-2 cm.



τριχοειδής σωληνάκι

Με τριχοειδείς σωληνάκι τοποθετούνται τα δείγματα πάνω στο πλακίδιο υπό μορφή κηλίδας διαμέτρου μικρότερης των 5 mm.

### 3. Ανάπτυξη χρωματογραφήματος

Μίγμα πετρελαϊκού αιθέρα και οξικού αιθυλεστέρα σε αναλογία 2/1, τοποθετείται σε ποτήρι ζέσεως των 200 mL (που αποτελεί τον θάλαμο ανάπτυξης) και ομογενοποιείται. Η πλάκα τοποθετείται με ελαφρά

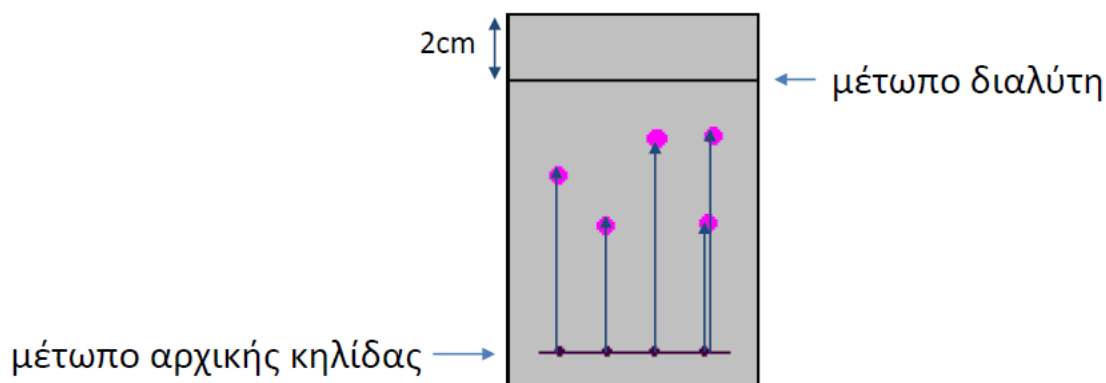
κλίση στον θάλαμο ανάπτυξης. Το υγρό ανάπτυξης δεν πρέπει να διαβρέχει την θέση που τοποθετήθηκαν οι κηλίδες των δειγμάτων. Απομακρύνεται το πλακίδιο 2cm πριν τη κορυφή της πλάκας σημειώνεται το μέτωπο του διαλύτη και το πλακίδιο ξηραίνεται.

#### 4. Εμφάνιση χρωματογραφήματος

Η πλάκα φέρεται σε υπεριώδες φως (Λάμπα UV 254nm) για να εμφανισθούν οι κηλίδες (σκούρες λόγω του φθορίζοντα δείκτη).

#### 5. Υπολογισμός $R_f$

Σημειώνονται οι κηλίδες και υπολογίζονται τα  $R_f$  των καθαρών ενώσεων ενώσεων και καθώς και του υπό εξέταση δείγματος.

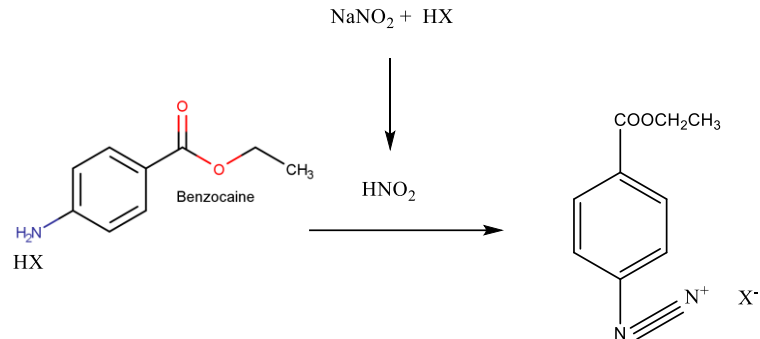


$R_f$ : ο λόγος της απόστασης που διάνυσε κάθε αμινοξύ προς την απόσταση που διάνυσε ο διαλύτης έκλυσης

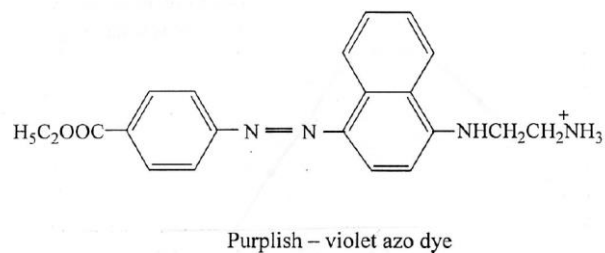
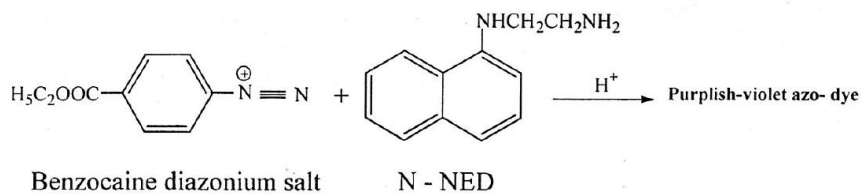
**Αρχή:** Προσδιορίζεται χρωματομετρικά (με βάση το νόμο Lambert-Beer) μετά από διαζώτωση και σύζευξη (σχηματισμός αζωχρώματος).

**Αντιδράσεις:**

α) Αντίδραση διαζώτωσης:



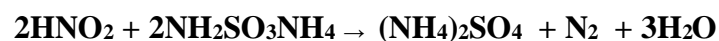
β) Αντίδραση σύζευξης



γ) Καταστροφή της περίσσειας του νιτρώδους νατρίου

Στο όξινο περιβάλλον το σουλφαμικό μετατρέπεται όπως φαίνεται παρακάτω.

Όμως η τελική αντίδραση περιγράφεται ως εξής



γ) Καταστροφή περίσσειας νιτρώδους οξέος:



**Αντιδραστήρια:**

1) Διάλυμα  $\text{H}_2\text{SO}_4$  4N: Σε ογκομετρική φιάλη των 500 ml, που περιέχει περίπου 200 ml απιονισμένου νερού, προσθέσετε 6 ml πυκνού  $\text{H}_2\text{SO}_4$  και συμπληρώσετε μέχρι τη χαραγή με απιονισμένο νερό - αναδεύσετε.

2) Διάλυμα  $\text{NaNO}_2$  : Ζυγίσετε ακριβώς 500 mg  $\text{NaNO}_2$  (αναλυτικός ζυγός), μεταφέρετέ το ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 500 ml, διαλύστε με προσθήκη απιονισμένου νερού και ανάδευση και συμπληρώσετε με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή - αναδεύσετε.

3) Διάλυμα σουλφαμικού αμμωνίου: Ζυγίσετε ακριβώς 1250 mg  $\text{H}_2\text{NSO}_3\text{NH}_4$  (αναλυτικός ζυγός), μεταφέρετέ το ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 250 ml, διαλύστε με προσθήκη απιονισμένου νερού και ανάδευση και συμπληρώσετε με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή - αναδεύσετε.

4) Διάλυμα δισυδροχλωρικής N-ναφθυλο-αιθυλενοδιαμίνης (Αντιδραστήριο Bratton-Marshall): Ζυγίσετε ακριβώς 250 mg δισυδροχλωρικής N-ναφθυλο-αιθυλενοδιαμίνης (αναλυτικός ζυγός), μεταφέρετέ την ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 250 ml, διαλύστε με προσθήκη απιονισμένου νερού και ανάδευση και συμπληρώσετε με απιονισμένο νερό μέχρι τη χαραγή - αναδεύσετε. Το διάλυμα διατηρείται μόνο για μια ημέρα, προστατευμένο από το φως.

5) Διάλυμα θειϊκής βενζοκαΐνης 1mg/mL: Ζυγίζονται με ακρίβεια 0.100 g καθαρής βενζοκαΐνης, διαλύονται πλήρως με προσθήκη  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.4N σε ένα ποτήρι ζέσης των 100 mL και αναδεύονται, μεταφέρονται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL, και συμπληρώνεται η διάλυση με απιονισμένο νερό μέχρι χαραγής και ακολουθεί ανάδευση.

6) Πρότυπο διάλυμα θειϊκής βενζοκαΐνης: Από το διάλυμα της θειϊκής βενζοκαΐνης περιεκτικότητας 1 mg/mL μεταφέρονται ακριβώς 5 mL με σιφώνιο πλήρωσης σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL, συμπληρώστε με νερό μέχρι τη χαραγή και αναδεύστε.

7) Διάλυμα δείγματος: Ζυγίστε ακριβώς 0.100 g (100 mg) από το δείγμα της νοθευμένης βενζοκαΐνης που σας δόθηκε για έλεγχο της περιεκτικότητας του (σε αναλυτικό ζυγό), διαλύστε το πλήρως με προσθήκη  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.4N σε ένα ποτήρι ζέσης των 100 mL και αναδεύστε το. Μεταφέρετέ το ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 500 mL, συμπληρώστε με απιονισμένο νερό μέχρι χαραγής και αναδεύστε.

**Μέθοδος:** Για το πείραμα θα χρειασθούν πέντε ογκομετρικές φιάλες των 50 mL: τρεις για τα διαλύματα αναφοράς, μια για το δείγμα και μία για το τυφλό. Σε κάθε μία από τις φιάλες θα προστεθούν με τα κατάλληλα σιφώνια πλήρωσης κατά σειρά τα παρακάτω αντιδραστήρια:



Αντιδραστήριο	Τυφλό	Δ/μα αναφ. α'	Δ/μα αναφ. β'	Δ/μα αναφ. γ'	Δείγμα
Πρότυπο διάλυμα θειικής βενζοκαΐνης	-	1 mL	2 mL	3 mL	-
Διάλυμα δείγματος	-	-	-	-	1 mL
Διάλυμα H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0.4N	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Διάλυμα NaNO <sub>2</sub>	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Αναδεύστε – Περιμένετε περίπου 5 min.					
Διάλυμα H <sub>2</sub> NSO <sub>3</sub> NH <sub>4</sub>	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Αναδεύστε – Περιμένετε περίπου 5 min.					
Αντιδραστήριο Bratton – Marshall	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL

Αναδεύσετε, συμπληρώσετε μέχρι τη χαραγή με απιονισμένο νερό και αναδεύσετε πάλι.

Μετρήσετε την απορρόφηση των διαλυμάτων αναφοράς και του δείγματος έναντι του τυφλού σε λ 545 nm.

Χαράξτε καμπύλη αναφοράς βάζοντας στον άξονα των x τις συγκεντρώσεις των διαλυμάτων αναφοράς (σε mg/ml) και στον άξονα των y τις αντίστοιχες τιμές απορρόφησης.

Από την καμπύλη αναφοράς και την τιμή απορρόφησης του δείγματος βρίσκετε τη συγκέντρωση του τελικού διαλύματος του δείγματος (σε mg/ml).

**Η γραφική παράσταση στο χλ αντιστοιχεί στη μορφή  $Y=ax$  (είναι ευθεία που περνά από την αρχή των αξόνων)**

$$\% \text{ περιεκτικότητα βενζοκαΐνης στο δείγμα} = C \times 50 \times 500 \text{ (mg)}$$