

LABORATORIO DI ANALISI DEI MEDICINALI AA 2022/23

16 GENNAIO

xxxxxxx

Corso di Farmacia (Ord. 2018)



1222-2022
800
ANNI



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

RELAZIONI DELLE SOSTANZE INCOGNITE

INTRODUZIONE

Le sostanze incognite da analizzare sono semplicemente farmaci sotto forma di singoli composti (non miscele); lo scopo di questa esperienza è di riconoscere ed accertare l'identità del farmaco tramite diverse prove di natura sia fisica che chimica. È necessario avere più prove positive che permettano di riconoscere la sostanza, dato che alcune reazioni sono comuni ad un ampio spettro di sostanze, in particolar modo per quanto riguarda i composti organici. Quindi, il riconoscimento della sostanza avviene grazie ad una serie di prove che risultano positive per una determinata molecola.

In genere, si parte da un esame organolettico (osservazione delle caratteristiche esteriori di una sostanza) basato sullo stato fisico, colore, odore e sapore del composto. Ma tra i saggi preliminari per l'identificazione di una sostanza si ha anche la solubilità, che permette di distinguere due grandi categorie: solubili e insolubili (in genere è sottinteso che il solvente sia acqua deionizzata).

Ma secondo la FUI (Farmacopea Ufficiale Italiana), la distinzione tra sostanze inorganiche, organiche e organometalliche avviene grazie a tre principali saggi:

- Ricerca del carbonio: permette di distinguere sostanze che contengono carbonio in varie forme (organica, organometallica o come bicarbonati) da quelle che lo contengono in altre forme o che non lo contengono.
- Ricerca dei carbonati: permette di distinguere sostanze che presentano carbonio sotto forma di carbonati/bicarbonati o che non lo presentano in quella forma; dà positività anche nel caso dei tiosolfati.
- Saggio al cocco: le 3 sostanze individuate dalla F.U.I si comportano in modo diverso in questo saggio; le sostanze inorganiche lasciano un residuo non nero, le sostanze organiche bruciano, carbonizzano, anneriscono e prendono fuoco fino a non lasciare alcun residuo, le sostanze organometalliche può bruciare e diventare nera ma lascia sempre un residuo bianco o di colore chiaro data la sua natura mista.

Poi si può individuare l'eventuale presenza di altri atomi (N, S, P, alogenuri) tramite dei saggi specifici, come il saggio di Lassaigne per la ricerca di azoto e zolfo, i saggi per la ricerca del fosforo o saggi per la ricerca di alogenuri (in genere si tratta di cloro).

OBIETTIVI









Riconoscimento ed identificazione di sostanze incognite tramite reazioni chimiche e fisiche che permettono di distinguere sottogruppi e tavole, ma anche tramite l'utilizzo di strumentazione deputata all'analisi dei composti

















STRUMENTAZIONE

Capsule di porcellana, mortaio, pestello, piastra di porcellana, pipette Pasteur, vetro al cobalto, bacchette di vetro, tubo a squadra, spatolina, filo di rame, pinza per provette, pinza per crogioli, becher, imbuti, cilindro, provette, treppiede, porta imbuti, becco Bunsen.

Spettroscopia UV-visibile, Spettroscopia FT-IR, Spettroscopia NMR, TLC, polarimetria, apparecchio per il punto di fusione.

INDICAZIONI DI PERICOLO

Sostanza chimica	Fraasi H	Simboli di pericolo
Ftalilsulfatiazolo ($C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$) numero CAS 85-73-4	/	/
Para-dimetilamminobenzaldeide ($C_9H_{11}NO$) numero CAS 100-10-7	H302 (nocivo se ingerito) H317 (reazione allergica cutanea) H319 (grave irritazione oculare) H411 (tossico per organismi acquatici)	
Acido cloridrico (HCl) numero CAS 7647-01-0	H290 (corrosivo per metalli) H314 (ustioni cutanee, lesioni oculari) H335 (irritazione vie respiratorie)	
Resorcina ($C_6H_4(OH)_2$) numero CAS 108-46-3	H302 H313 (nocivo contatto con pelle) H315 (irritazione cutanea) H318 (gravi lesioni oculari) H400 (tossico per organismi acquatici)	
Acido solforico (H_2SO_4) numero CAS 7664-93-9	H314	
Idrossido di sodio (NaOH) numero CAS 1310-73-2	H290 H314	
Alcool etilico (C_2H_6O) numero CAS 64-17-5	H225 (facilmente infiammabile) H319	
Ammoniaca (NH_3) numero CAS 7664-41-7	H280 (gas sotto pressione, esplosione se riscaldato) H314 H331 (tossico se inalato) H410 (molto tossico per organismi acquatici)	
Piridina 10% (C_5H_5N) numero CAS 110-86-1	H225 H302 (nocivo se ingerito) H312 (nocivo in contatto con pelle) H315 H319 H332 (nocivo se inalato)	

Calcio glicerofosfato ($C_3H_7CaO_6P$) numero CAS 27214-00-2	H315 H319 H335	
Carbonato di sodio (Na_2CO_3) numero CAS 497-19-8 (anidro), 5968-11-6 (monoidrato), 6132- 02-1 (decaidrato)	H319	
Nitrato di potassio (KNO_3) numero CAS 7757-79-1	H272 (comburente) H315 H319 H335	 
Acido acetico (CH_3COOH) numero CAS 64-19-7	H226 (infiammabile) H314	 
Nitrato d'argento ($AgNO_3$) numero CAS 761-88-8	H272 H314 H410	   
Acido nitrico (HNO_3) numero CAS 7697-37-2	H272 H300 (letale se ingerito) H310 (letale per contatto con pelle) H330 (letale se inalato) H373 (danni ad organi per esposizione prolungata) H411	 
Molibdato d'ammonio ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$) numero CAS 12027-67-7, 12054- 85-2 (tetraidrato)	/	/
Ossalato d'ammonio ($C_2H_8N_2O_4$) numero CAS 1113-38-8, 6009-70- 7 (monoidrato)	H302 H312 H319	/
Cloruro ferrico ($FeCl_3$) numero CAS 7705-08-0, 10025- 77-2 (esaidrato), 54862-84-9 (diidrato), 64333-00-2 (3.5idrato)	H290 H302 H314	 
Urotropina ($C_6H_{12}N_4$) Numero CAS 100-97-0	H228 (solido infiammabile) H317 (può provocare reazione allergica cutanea)	 
Propile paraidrossibenzoato ($C_{10}H_{12}O_3$) Numero CAS 94-13-3	/	/

CONSIGLI DI PRUDENZA

- Para-dimetilamminobenzaldeide: → P261, P264, P270, P272, P273, P280, P301+P312, P302+P352, P305+P351+P338, P321, P330, P333+P313, P337+P313, P363, P391, P501.
- Acido cloridrico → P260, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338.
- Resorcina → P273, P280, P305+P351+P338.
- Acido solforico → P260, P264, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P310, P321, P363, P405, P501.
- Idrossido di sodio → P280, P305+P351+P338, P310.
- Alcool etilico → P210, P280, P305+P351+P338.
- Ammoniaca → P260, P273, P280, P303+P361+P353, P304+P340+P311, P305+P351+P338+P310.
- Piridina 10% → P210, P280, P301+P312, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338.
- Calcio glicerofosfato → P261, P264, P271, P280, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P312, P321, P332+P313, P337+P313, P362, P403+P233, P405, P501.
- Carbonato di sodio → P305+P351+P338.
- Nitrato di potassio → P102, P210, P220, P221, P280.
- Acido acetico → P280, P305+P351+P338, P310.
- Nitrato d'argento → P220, P273, P280, P305+P351+P338, P310, P501.
- Acido nitrico → P210, P220, P260, P305+P351+P338, P310, P370+P378.
- Cloruro ferrico → P234, P260, P264, P270, P273, P280, P301+312, P301+P330+P331, PP303+P361+P353, P304+P340, P305+P351+P338, P310, P321, P363, P390, P405, P406, P501.
- Urotropina → P210, P240, P241, P261, P272, P280, P302+P352, P321, P333+P313, P363, P370+P378, P501.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Le soluzioni liquide chimiche vengono divise in: soluzioni acquose acide, soluzioni acquose basiche, soluzioni acquose di metalli pesanti, soluzione acquose di sali di mercurio, solventi organici. Esiste una tanica apposita per ognuna di queste soluzioni. È buona norma usare 4 becher sui banconi per distinguere i 4 tipi di soluzioni e poi gettarle nei rifiuti una volta finito il turno di laboratorio.

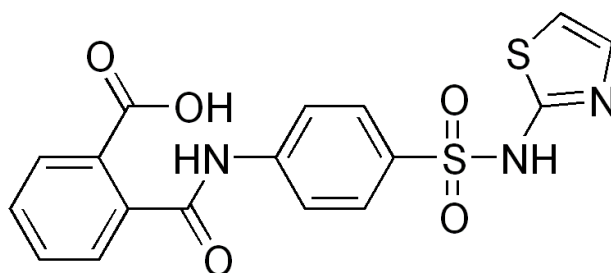
Nel caso in cui si abbia un residuo solido (normalmente sotto forma di polvere), esiste un apposito contenitore con la dicitura "polveri" dove smaltire le sostanze inquinanti solide.

I vetri di scarto (rotti o inquinati e non lavabili) vengono scaricati nell'apposito contenitore giallo con la dicitura "vetri".

Filtri non troppo inquinati, carta e guanti inquinati vanno invece nei contenitori gialli con la scritta "guanti", normalmente posti vicino ai reagentari.

SOSTANZA INCOGNITA N°9 – FTALILSULFATIAZOLO

Il ftalilsulfatazolo, o sulfatalidina, appartiene ad un gruppo di farmaci chiamati “sulfamidici”. È un antimicrobico ad ampio spettro, in grado di trattare diversi tipi di infezioni, tra cui quelle intestinali. Il meccanismo d’azione dipende dall’antagonismo competitivo con l’acido para-amminobenzoico e dall’inibizione dell’attività della diidropteroato sintetasi, che a sua volta porta a una ridotta sintesi dell’acido diidrofolico e di conseguenza del suo metabolita attivo necessario per la sintesi di purina e pirimidina. Il farmaco è indicato nel trattamento di dissenteria, colite, gastroenterite e chirurgia intestinale. Non viene assorbito nel flusso sanguigno dall’intestino. Gli effetti avversi possono includere reazioni allergiche, insufficienza di vitamina B, agranulocitosi e anemia aplastica.



È una sostanza organica contenente C-H-O-N-S. Appartiene al sottogruppo II e alla tavola 3. Il sottogruppo è costituito da 4 tavole diverse.

Saggio di solubilità: sciogliere circa mezza spatola in 20 gocce d’acqua in una provetta, verificare la solubilità della sostanza, **la sostanza è insolubile in acqua.**

Questo mi dice che non può appartenere alla tavola 1.

Prova di solubilità in HCl 1 M: si prova la solubilità in acido cloridrico 1 M ponendo circa mezza spatola di sostanza in 20 gocce di acido cloridrico 1 M, **la sostanza è insolubile anche in acido cloridrico 1 M.**

Quindi non appartiene nemmeno alla tavola 2.

Saggio di gruppo tavola 2: porre una punta di spatola sulla carta da filtro e bagnare con un paio di gocce di para-dimetilamminobenzaldeide e osservare se si forma una colorazione arancione molto intensa; **la sostanza non si colora di arancione, conferma che non appartiene alla tavola 2.**

Saggio di gruppo tavola 3: porre una punta di spatola in una provetta asciutta con il doppio di quantità di resorcina e solubilizzare in 20 gocce di acido solforico concentrato, porre in bagno di glicerina a 160°C per una decina di minuti, osservare la colorazione; far raffreddare e versare in un bicchiere con circa 20 ml di acqua deionizzata, prelevare 10 gocce, metterle in una provetta e alcalinizzare con idrossido di sodio 2 M, osservare la fluorescenza; la soluzione contenente la sostanza si colora di arancione dopo il bagno di glicerina, la fluorescenza invece è di colore giallo. **La sostanza appartiene alla tavola 3.**



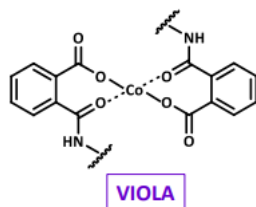
Ora bisogna distinguere quale delle due sostanze sia l'incognita.

Punto di fusione: imbrunisce a 137°C, fonde a 273°C, è **ftalilsulfatiazolo**.

Prova con reattivo di Parri: sciogliere circa mezza spatolina in 20 gocce di alcool etilico a caldo, aggiungere 2 gocce di reattivo di Parri e 1 goccia di ammoniaca concentrata; la sostanza si colora di rosa-viola, con eventuale precipitato rosa, **la reazione viene positiva**.

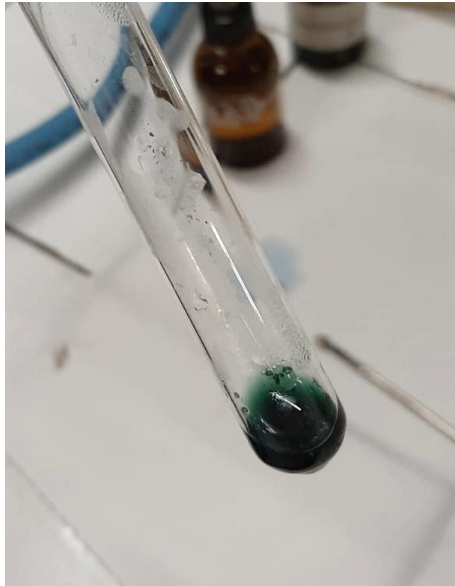


Cosa succede a livello chimico:

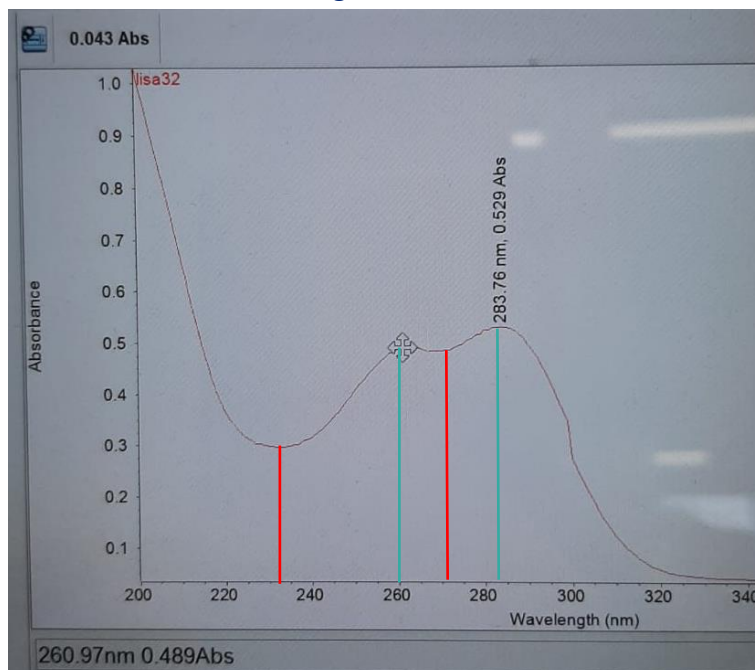


Il cobalto, contenuto nel reattivo di Parri, funge da ione centrale che si coordina con gli ossigeni (-OH e C=O) a formare un complesso di colore viola

Prova con reattivo di Zwikker: sciogliere una spatola di sostanza in 20 occe di soluzione di piridina al 10%, aggiungere 2-3 gocce di reattivo di Zwikker, si ha la formazione di un precipitato verde.



Spettro UV: lo spettro UV del ftalilsulfatiazolo è significativo.

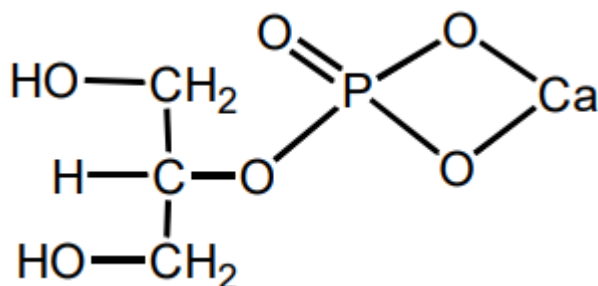


Lo spettro Uv presenta due picchi di **massimo** e due di **minimo**: i massimi si trovano a 260 e 283 nm circa, i minimi a 272 e 232 nm circa.

Quindi, grazie allo spettro UV, si ha la conferma che si tratta di **FTALILSULFATIAZOLO**.

SOSTANZA INCOGNITA N°10 – CALCIO GLICEROFOSFATO

Il glicerofosfato di calcio è il sale di calcio dell'acido α - e β -fosfoglicerico. È una fonte altamente biodisponibile di calcio e fosforo. Il calcio glicerofosfato può essere utilizzato come fonte di calcio e fosforo nella preparazione di integratori alimentari, per l'arricchimento dei prodotti lattiero-caseari (latte, yogurt, formaggi), bevande (acqua, bibite, succhi di frutta) e alimenti per l'infanzia. Date le sue caratteristiche, è facilmente impiegabile per la produzione di compresse o miscele in polvere. È inoltre utilizzato nei dentifrici, in quanto svolge un ruolo nella re-mineralizzazione dello smalto dei denti e nella prevenzione delle carie.



È una sostanza organo-metallica contenente C-H-O-P. appartiene al sottogruppo II, è l'unica sostanza ad appartenere a questo sottogruppo.

Saggio di solubilità: porre una punta di spatola in una provetta e aggiungere 20 gocce d'acqua; la sostanza non risulta molto solubile, probabilmente la sostanza appartiene alla tavola 3.

Prova con tioacetamide: sciogliere una spatolina di sostanza in acido cloridrico 2 M a caldo, prelevare 10 gocce e porle in una provetta e aggiungere 4 gocce di tioacetamide, riscaldare a bagnomaria, si dovrebbe osservare un precipitato nero solubile in acido nitrico 2 M a caldo; la sostanza non dà positività a questo saggio, non si ha la formazione di un precipitato nero.

Prova con ferro cloruro: porre in una provetta mezza spatolina di sostanza e sospenderli in 20 gocce d'acqua, a questi aggiungere 2 gocce di ferro cloruro, si dovrebbe avere un'intensa colorazione viola della soluzione; la soluzione rimane color giallino (colore della soluzione di ferro cloruro), il saggio risulta negativo.

Ricerca del fosforo: mescolare due spatoline di sostanza con 3 volte la quantità di sodio carbonato e la stessa quantità di potassio nitrato, porre questa miscela su una capsula di porcellana e fondere su Bunsen cercando di eliminare il più possibile la parte carboniosa, far raffreddare e poi riprendere il residuo in 2-3 mL di acqua deionizzata, acidificare leggermente con acido acetico glaciale e dividere la soluzione in 3 parti

- Neutralizzare 10 gocce di soluzione con 2 gocce di ammoniaca 2 M e aggiungere 2 gocce di soluzione di argento nitrato, osservare la formazione in un precipitato giallo; la prova risulta positiva.

Reazione chimica:

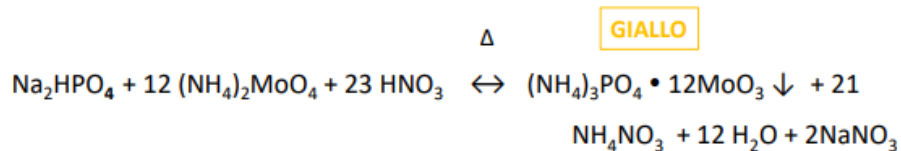


- Porre 10 gocce di soluzione in una provetta con 5 gocce di acido nitrico, mentre in un'altra porre 20 gocce di ammonio molibdato, mettere entrambe le provette a bagno maria (non ebollizione, circa a

70°C) per alcuni minuti e quindi versare la prima soluzione nella provetta contenente l'ammonio molibdato, osservare la formazione di un precipitato giallo; **la prova risulta positiva.**

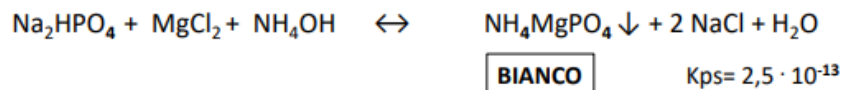


Reazione chimica:



- Porre 10 gocce di soluzione in una provetta alla quale aggiungere 4 gocce di soluzione di miscela magnesiana (importante che la soluzione sia alcalina, altrimenti aggiungere qualche goccia di ammoniaca 2 M), osservare la precipitazione di una sostanza bianca; **la prova risulta positiva.**

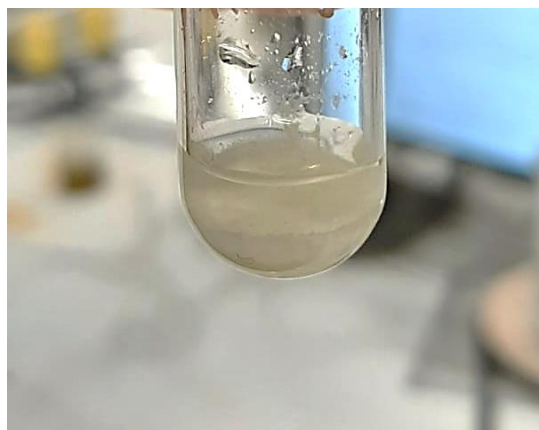
Reazione chimica:



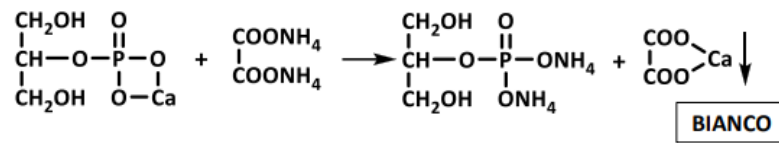
Quindi la sostanza, oltre a C-H-O, presenta anche del fosforo al suo interno.

Prova di solubilità a caldo: porre una spatolina/una spatolina e mezza in una provetta e aggiungere 20 gocce d'acqua, porre a bagnomaria; la sostanza precipita e assume una consistenza gelatinosa.

Prova con ammonio ossalato: porre mezza spatolina di sostanza in una provetta e aggiungere 2 gocce di ammonio ossalato, si dovrebbe osservare la formazione di un precipitato bianco; **la prova risulta positiva.**

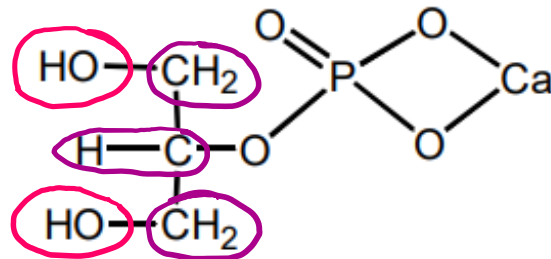
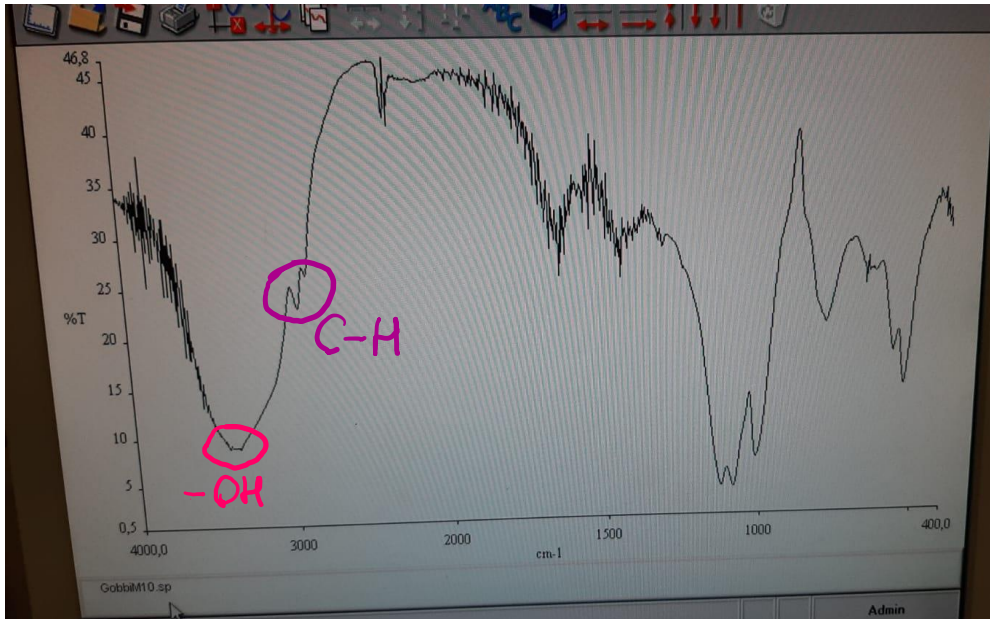


Reazione chimica:



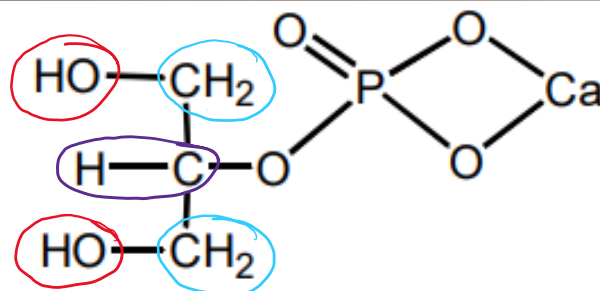
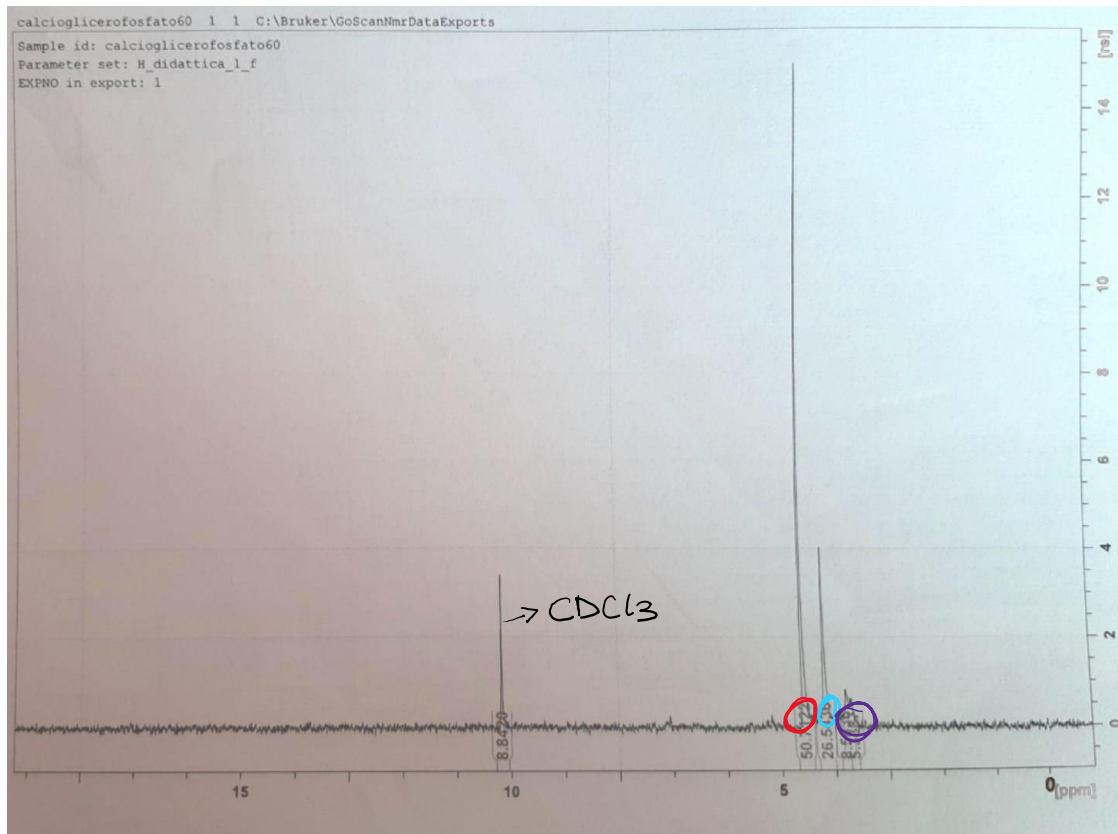
Spettro UV: lo spettro UV del calcio glicerofosfato non è significativo.

Spettro IR:



	FREQUENZA (cm ⁻¹)
-OH	circa 3400
C-H	tra 2900 e 3000

Spettro NMR:



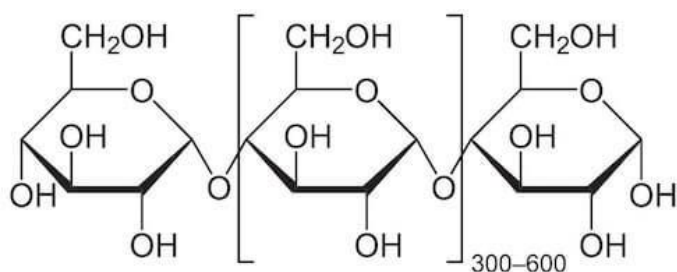
GRUPPO SEGNALE	INTEGRALE	MOLTEPLICITÀ
-OH	1	$N = 2+1 = 3$, ma ho due gruppi segnale identici quindi $N = 6$ (m)
C-H	1	$N = 4+1 = 5$ (m)
C-H ₂	2	$N = 2+1 = 3$, ma ho due gruppi segnale identici quindi $N = 6$ (m)

Quindi, grazie agli spettri IR e NMR, si ha la conferma che si tratta di **CALCIO GLICEROFOSFATO**.

SOSTANZA INCOGNITA N° 11 – AMIDO

L'amido è un importante polimero che, insieme a glicogeno e cellulosa, è uno dei più noti polisaccaridi presenti nei vegetali, che lo sintetizzano naturalmente a partire dal glucosio.

L'amido è il carboidrato di riserva delle piante, viene sintetizzato per via enzimatica a partire dal glucosio prodotto dalla fotosintesi clorofilliana e viene immagazzinato per essere poi utilizzato come fonte energetica. L'amido si trova nei frutti, nei semi e nei tuberi delle piante. Ha una particolare importanza nell'industria alimentare, con la funzione di agente addensante (molto utilizzati amido di mais, patata, riso, tapioca o grano); molto importante il suo utilizzo in ambito farmaceutico come eccipiente. In ambito di analisi qualitativa, la presenza di amido viene confermata saggiando la sostanza con il reattivo di Lugol, il quale si lega in particolar modo alla catena dell'amilosio per dare un complesso di colore blu scuro, spesso viene utilizzata anche la tintura di iodio, che produce lo stesso effetto.



È una sostanza organica contenente C-H-O. appartiene alla tavola 5 del sottogruppo I. in questo sottogruppo ci sono 5 tavole diverse.

Saggio di solubilità: porre circa una spatolina di sostanza in una provetta e aggiungere 20 gocce d'acqua; la sostanza non solubilizza, nemmeno con l'aiuto di una bacchetta.

Saggio di gruppo tavola 4:

- mettere mezza spatolina di sostanza in una provetta e aggiungere 20 gocce d'acqua e 2 gocce di ferro cloruro, se necessario scaldare all'ebollizione.
- porre mezza spatolian di sostanza in una provetta e solubilizzare con 15 gocce di reattivo di Millon, scaldare all'ebollizione.

Osservare la colorazione. La prima provetta (contenente la soluzione con il ferro cloruro), rimane di colore giallino chiaro, tendente al trasparente anche dopo riscaldamento; la seconda provetta (contenente la soluzione con il reattivo di Millon) rimane trasparente anche dopo il riscaldamento all'ebollizione. **La sostanza non appartiene alla tavola 4.**

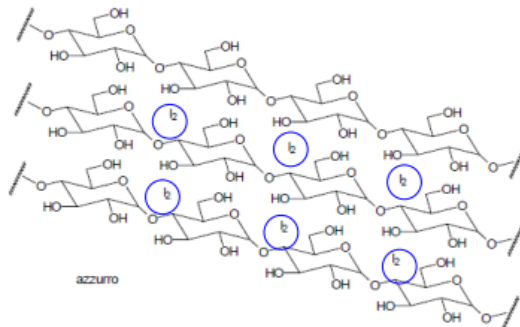
Non esiste un saggio di gruppo per la tavola 5; si possono distinguere le uniche due sostanze appartenenti alla tavola tramite il punto di fusione.

Punto di fusione: la sostanza non fonde, si imbrunisce leggermente una volta conclusa la misurazione con il macchinario apposito (T max raggiunta 280°C); l'unica sostanza a comportarsi in tale modo è l'amido.

Prova con reattivo di Bouchardat: prelevare una punta di spatola di sostanza, sospenderli in 5-6 mL di acqua e portare ad ebollizione, filtrare. Nel frattempo diluire una goccia di reattivo di Bouchardat con 10 gocce di acqua e di questa soluzione aggiungerne una goccia al filtrato. La soluzione dovrebbe colorarsi in azzurro; **la prova risulta positiva per la sostanza incognita**, si tratta di **amido**.



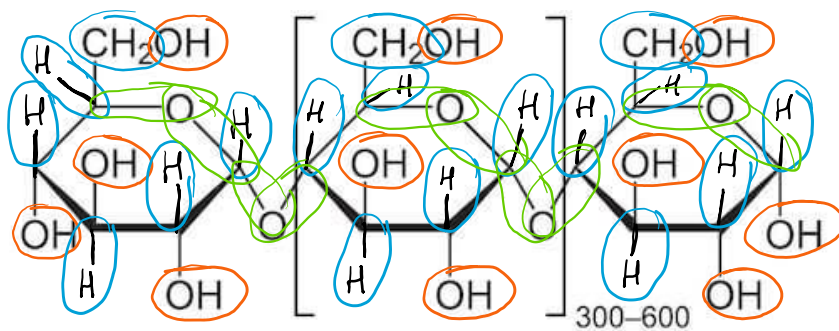
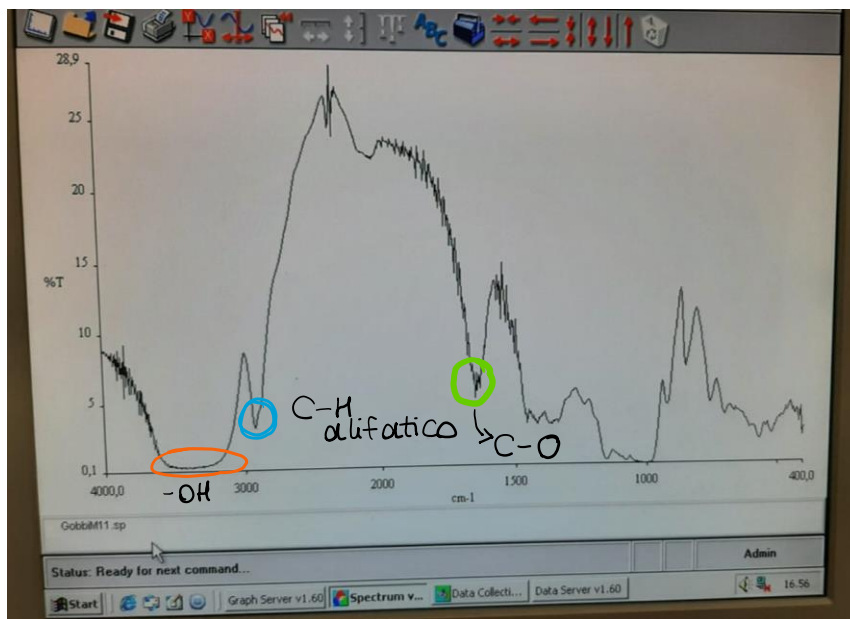
Cosa succede a livello chimico:



Complessazione molecolare dello I_2 che si inserisce tra le catene di amilosio a freddo

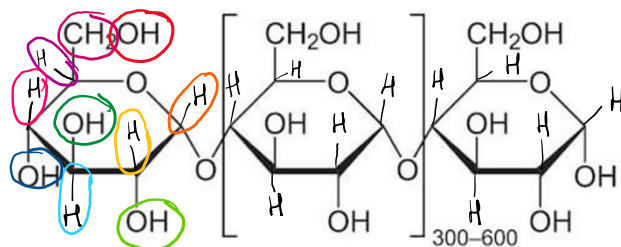
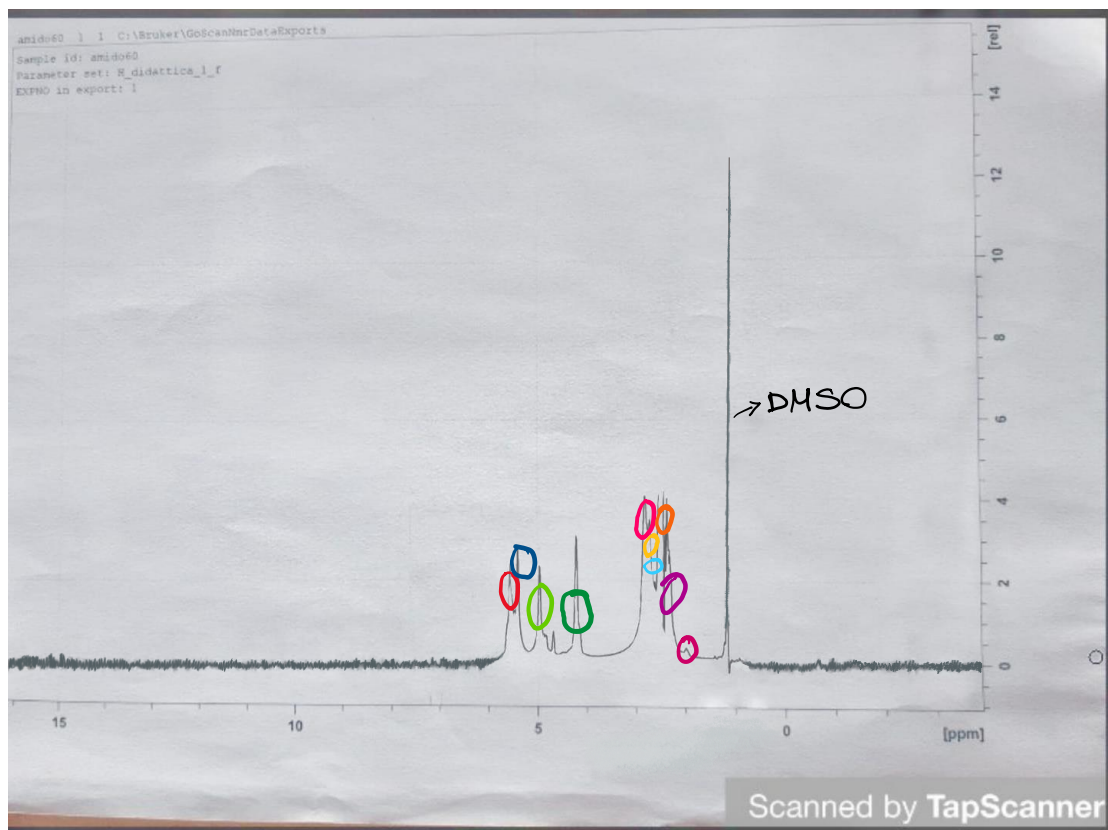
Spettro UV: lo spettro UV dell'amido non è significativo.

Spettro IR:



	FREQUENZA (cm ⁻¹)
C-H alifatico	Poco sotto i 3000
-OH	Tra 3000 e 3500
C-O	Circa 1650-1700

Spettro NMR:

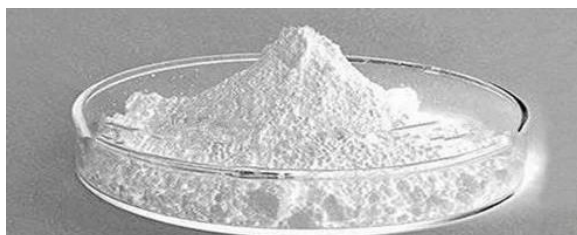
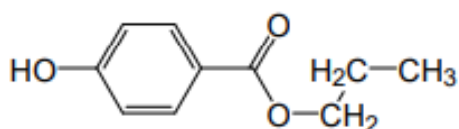


GRUPPO SEGNALE	INTEGRALE	MOLTEPLICITÀ
-OH	1	$N = 2+1 = 3$ (t)
CH	1	$N = 1+1 = 2$ (d)
CH	1	$N = 3+1 = 4$ (m)
-OH	1	$N = 1+1 = 2$ (d)
-OH	1	$N = 1+1 = 2$ (d)
CH	1	$N = 3+1 = 4$ (m)
-OH	1	$N = 1+1 = 2$ (d)
CH	1	$N = 3+1 = 4$ (m)
CH	1	$N = 3+1 = 4$ (m)
CH ₂	2	$N = 2+1 = 3$ (t)

Quindi, grazie agli spettri IR e NMR, si ha la conferma che si tratta di **AMIDO**.

SOSTANZA INCOGNITA N° 12 – PROPILE PARAIIDROSSIBENZOATO

Il propile paraidrossibenzoato, conosciuto anche come propilparaben, è l'estere n-propilico dell'acido p-idrossibenzoico; si presenta come una sostanza naturale che si trova in natura, in molte piante ma anche in alcuni insetti. Viene prodotto sinteticamente per un suo utilizzo in cosmetici, prodotti farmaceutici e alimenti. È un membro della classe dei parabeni ed è un tipico conservante di cosmetici a base d'acqua come creme, lozioni, shampoo e prodotti per il bagno. Come additivo alimentare, è stato denominato con il codice E216. Sebbene sia ben tollerato dalla pelle e non causi irritazione, nel settore cosmetico c'è stata una battaglia vera e propria per l'abolizione di queste sostanze: il tutto è cominciato grazie ad uno studio condotto nel 2004 che ha messo in relazione i parabeni con l'insorgenza del tumore al seno. Secondo la ricerca, queste sostanze interferirebbero con il sistema ormonale, esplicando un'azione simile agli estrogeni. Il Regolamento UE n.1004/2014 vieta l'uso di alcuni tipi di parabeni, e sancisce il divieto di usare Propilparaben (oltre che Butilparaben) come conservanti nei prodotti cosmetici non sottoposti a risciacquo destinati ad essere applicati nell'area del pannolino di bambini di età inferiore a tre anni. Oltre a tale divieto, il Regolamento ha stabilito che, negli altri tipi di cosmetici, la somma delle concentrazioni di ciascuno di essi non può superare lo 0,14% (come acido), e la somma di tutti i parabeni contenuti nel prodotto non superiore dello 0,8%.



È una sostanza organica contenente C-H-O. appartiene alla tavola 4 del sottogruppo I. in questo sottogruppo ci sono 5 tavole diverse.

Saggio di solubilità: porre circa mezza spatolina di sostanza in una provetta e aggiungere 20 gocce di acqua; la sostanza risulta insolubile.

Saggio di gruppo tavola 4:

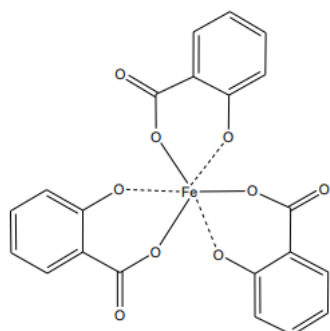
- mettere mezza spatolina di sostanza in una provetta e aggiungere 20 gocce d'acqua e 2 gocce di ferro cloruro, se necessario scaldare all'ebollizione.
- porre mezza spatoliana di sostanza in una provetta e solubilizzare con 15 gocce di reattivo di Millon, scaldare all'ebollizione.

Si forma una colorazione arancio-marrone al primo saggio, una colorazione rosetta-viola con il secondo saggio.

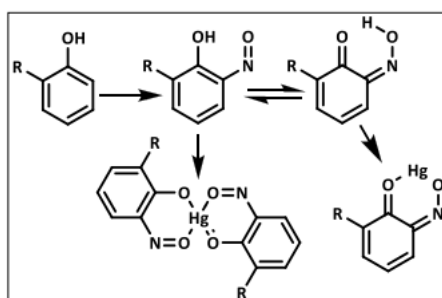
La sostanza appartiene alla tavola 4.



Reazioni chimiche:



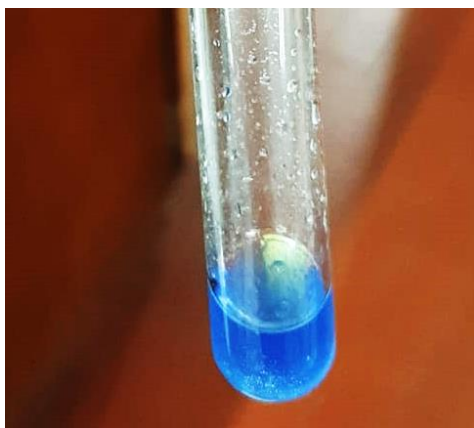
complessazione tra ferro e ossigeni del propile paraidrossibenzoato



Prova con urotropina: mescolare mezza spatolina di sostanza con la stessa quantità di urotropina e 10 gocce di acido solforico concentrato, mettere in bagno di glicerina a 130°C per 10 minuti: si dovrebbe avere un'intensa colorazione rossa come risultato; la soluzione, dopo il bagno di glicerina, diventa di colore nero intenso. **La prova risulta negativa**, quindi si possono già escludere acido salicilico e acido acetilsalicilico.

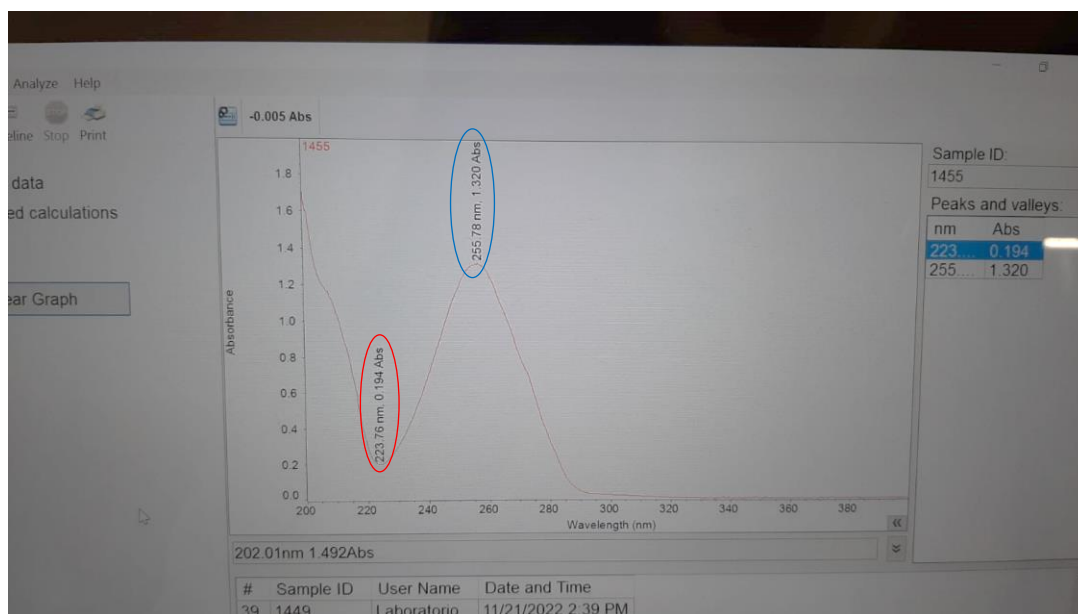


Prova con reattivo di Zwikker: sciogliere mezza punta di spatola di sostanza in 20 gocce di piridina al 10%, aggiungere 2 gocce di reattivo di Zwikker, che dà una colorazione azzurrina, la prova risulta positiva se al riscaldamento la soluzione diviene verde. La soluzione rimane azzurra, la **prova è negativa**; non si tratta di acido salicilico o acido acetilsalicilico.



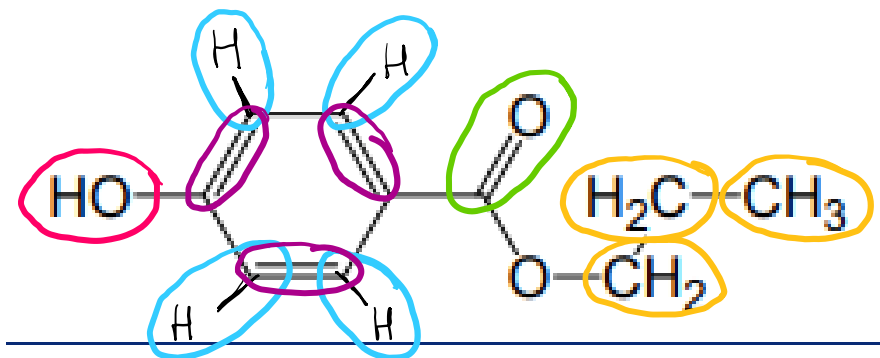
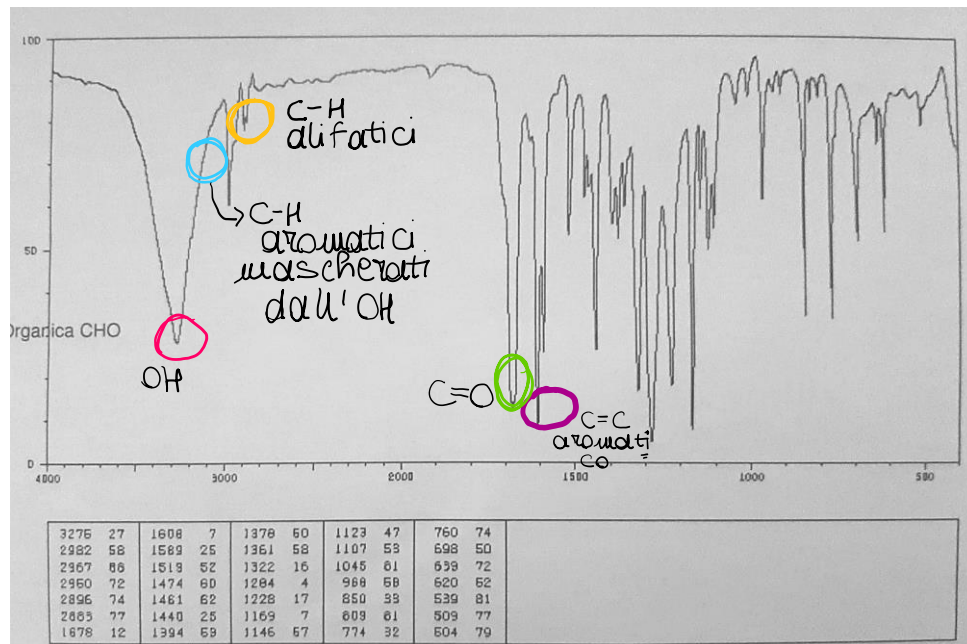
Punto di fusione: la sostanza fonde a 101°C ; questo mi permette di distinguere il propile paraidrossibenzoato dal metile paraidrossibenzoato poiché lo spettro UV è molto simile.

Spettro UV:



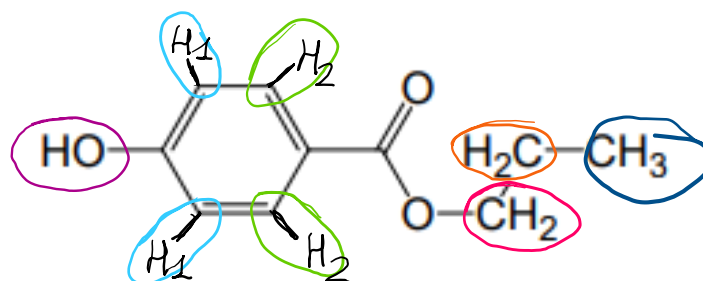
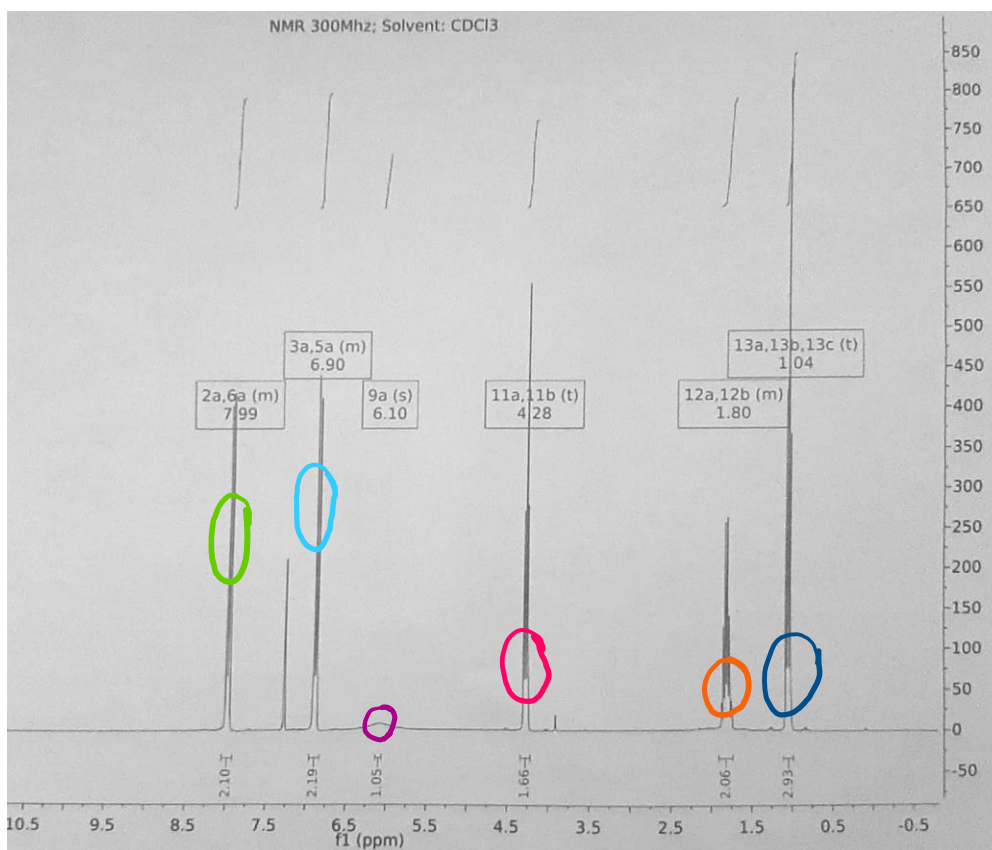
Lo spettro è caratteristico sia per il propile paraidrossibenzoato che per il metile paraidrossibenzoato. Presenta un picco di massimo e un picco di minimo: il picco di massimo si trova a 255 nm, il picco di minimo a 223 nm.

Spettro IR:



	FREQUENZA (cm ⁻¹)
-OH	Circa 3300
C=C aromatico	Circa 1600
C-H aromatico	Poco sopra il 3000 (mascherato da -OH)
C=O	1650-1700
C-H alifatico	Poco sotto il 3000

Spettro NMR:



GRUPPO SEGNALE	INTEGRALE	MOLTEPLICITÀ
-OH	1	$N = 0+1 = 1$ (s)
CH	2	$N = 1+1 = 2$, ma ho due gruppi segnale identici quindi $N = 4$ (m)
CH	2	$N = 1+1 = 2$, ma ho due gruppi segnale identici quindi $N = 4$ (m)
CH ₂	2	$N = 2+1 = 3$ (t)
CH ₂	2	$N = 5+1 = 6$ (m)
CH ₃	3	$N = 2+1 = 3$ (t)

$$H_1 = 7,36 + OH_{orto} + COOH_{meta} = 7,36 + (-0,53) + (0,11) = 6,94$$

$$H_2 = 7,36 + COOH_{orto} + OH_{meta} = 7,36 + (0,77) + (-0,14) = 7,99$$




Quindi, grazie agli spettri UV, IR e NMR si ha la conferma che si tratta di **PROPILE PARAIROSSIBENZOATO**.

RELAZIONE FORMA FARMACEUTICA IL CUI PRINCIPIO ATTIVO È IGNOTO

Obiettivo: lo scopo dell'esperimento è di individuare il principio attivo contenuto in una forma farmaceutica

Strumentazione: mortaio, pestello, becher, propipetta con puntale usa e getta, bacchetta di vetro, carta da filtro, imbuto, provette, becco Bunsen, spatolina, microprovetta di plastica, tubo NMR, strumenti necessari per l'analisi alla spettrometria FT-IR

Indicazioni di pericolo

sostanza	Fraasi H	Pittogrammi
Acetone (C ₃ H ₆ O) Numero CAS 67-64-1	H225 (liquido e vapori facilmente infiammabili) H319 (grave irritazione oculare) H336 (può provocare sonnolenza o vertigini) EUH066 (l'esposizione ripetuta può provocare irritazione o secchezza della pelle)	
Bromuro di potassio (KBr) Numero CAS 7758-02-3	H319	
Paracetamolo (C ₈ H ₉ NO ₂) Numero CAS 103-90-2	H302 (nocivo se ingerito) H315 (provoca irritazione cutanea) H319 H335 (può irritare le vie respiratorie)	

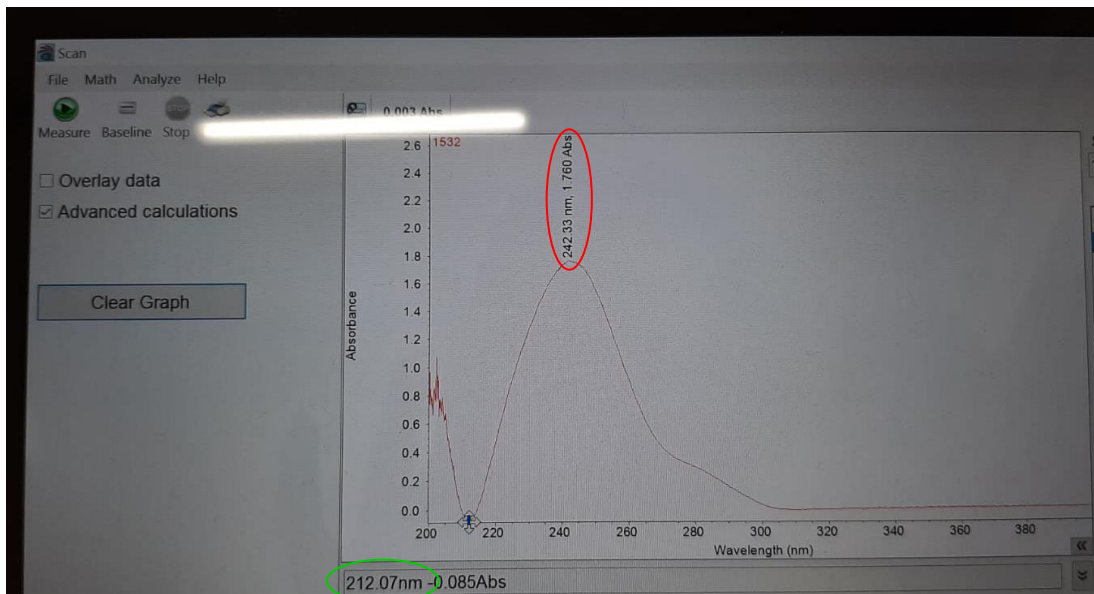
Consigli di prudenza:

- Acetone → P210, P240, P305+P351+P338, P403+P233
- Bromuro di potassio → P305+P351+P338
- Paracetamolo → P261, P305+P351+P338

Procedimento:

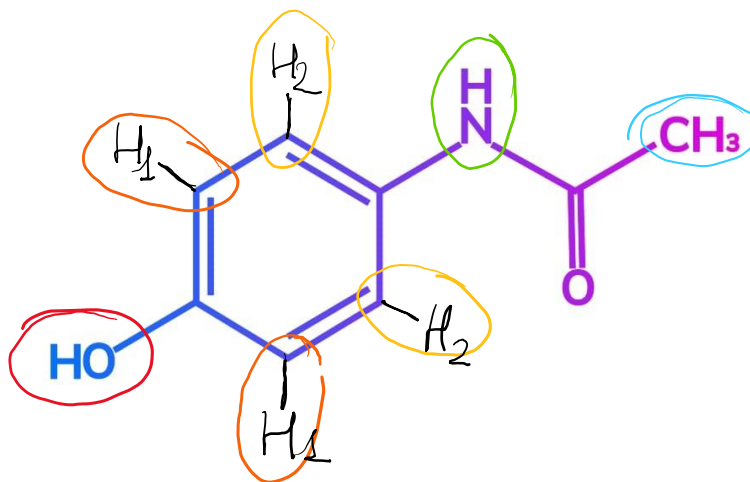
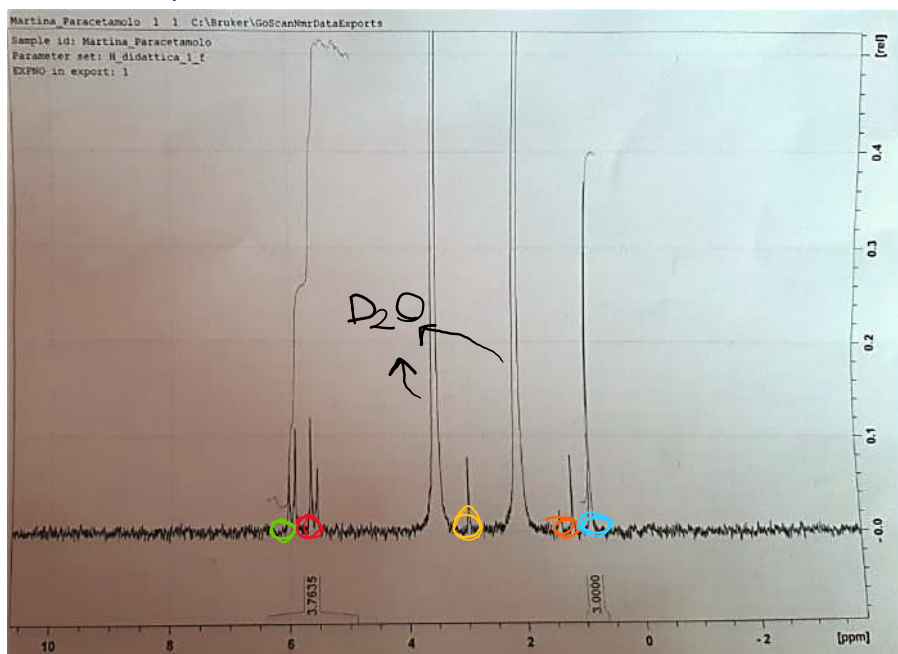
- Polverizzare la forma farmaceutica con l'aiuto di mortaio e pestello
- Mettere la polvere in un becher da 50 ml, comunque un becher non troppo grande, e aggiungere 20 ml di acetone R prelevati con una propipetta
- Mescolare con una bacchetta di vetro per qualche minuto, quindi filtrare con l'aiuto di carta da filtro e imbuto in modo da separare la parte solubilizzata (principio attivo) da quella non solubilizzata (eccipienti); bagnare il filtro per farlo aderire all'imbuto con acetone
- Dividere il filtrato in tre provette e portare a secco in bagnomaria precedentemente riscaldato (sotto cappa) con fiamma Bunsen spenta
- Una volta secco, grattare con l'aiuto della spatolina la polvere dalle pareti delle provette

- Disciogliere un minimo quantitativo in acqua deionizzata per registrare lo spettro UV



Lo spettro UV coincide con lo spettro del paracetamolo. Un picco di massimo e un picco di minimo: il primo si trova a 242 nm circa, il minimo a 212 nm

- Disciogliere sempre un minimo quantitativo di sostanza in una microprovetta di plastica e aggiungere 600 μL di acqua deuterata (D_2O) con l'aiuto di una micropipetta tarata sui 600 μL , agitare bene per mescolare il contenuto e trasferirlo sempre con la stessa micropipetta in un tubo NMR per effettuare poi la misurazione



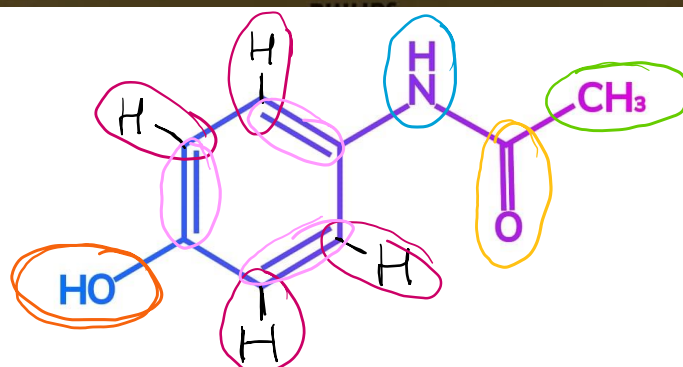
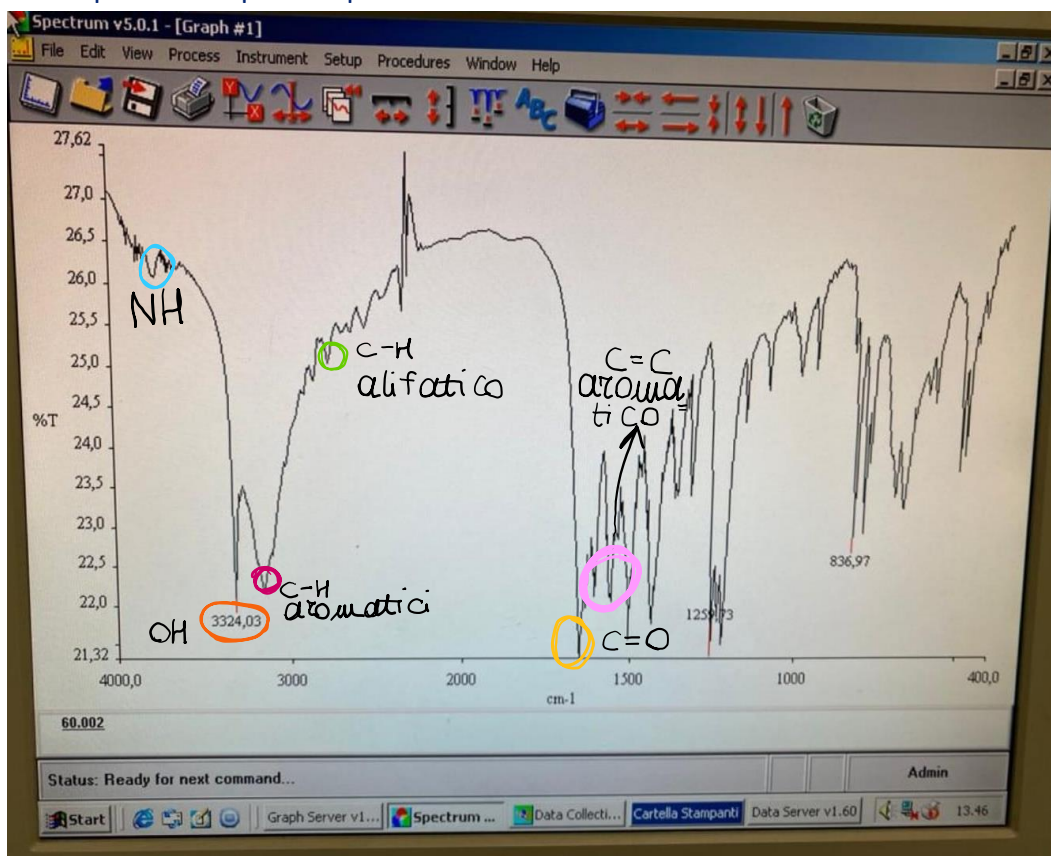
GRUPPO SEGNALE	INTEGRALE	Molteplicità
-OH	1	$N = 0+1 = 1$ (s)
C-H	2	$N = 1+1 = 2$, ma i gruppi segnale sono uguali, $N = 4$ (m)
C-H	2	$N = 1+1 = 2$, ma i gruppi segnale sono uguali, $N = 4$ (m)
N-H	1	$N = 0+1 = 1$ (s)
C-H ₃	3	$N = 0+1 = 1$ (s)

Costanti additive

$$H_1 = 7,36 + \text{OH}_{\text{orto}} + \text{NH}_{\text{meta}} = 7,36 + (-0,53) + (-0,07) = 6,76$$

$$H_2 = 7,36 + \text{NH}_{\text{orto}} + \text{OH}_{\text{meta}} = 7,36 + (-0,14) + (0,14) = 7,36$$

- Utilizzare parte della polvere per fare una misurazione all'IR



	FREQUENZA (cm ⁻¹)
O-H	3324 circa
C-H aromatico	Poco dopo i 3000
C=C aromatico	Circa 1600
N-H	Circa 3500
C=O	Circa 1650-1700
C-H alifatico	Poco prima dei 3000


VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ DELL'ENZIMA LATTASI

Obiettivo: lo scopo dell'esperimento è di individuare la presenza dell'enzima lattasi all'interno di una forma farmaceutica e valutarne la concentrazione estratta

Strumentazione: mortaio, piastra riscaldante, vortex, centrifuga per eppendorf, spettrofotometro UV-vis

Materiale: tampone fosfato 100 mM pH 7, carbonato di sodio 1 M, ONPG 5mM

Indicazioni di pericolo:

Sostanza	Frasi H	Pittogrammi
Carbonato di sodio (Na ₂ CO ₃) Numero CAS 497-19-8	H319 (grave irritazione oculare)	

Consigli di prudenza:

- Carbonato di sodio: P260, P305+P351+P338

Procedimento:

- Ridurre la compressa di lattasi in polvere fine con l'aiuto di mortaio e pestello
- Trasferire la polvere in una provetta di plastica da 15 ml, aggiungere 10 ml di tampone fosfato 100 mM (pH 7)
- Mescolare con l'aiuto del vortex per circa 2 minuti
- Di questa sospensione, trasferire 1 ml in una microprovetta da 1,5 ml e centrifugare per 1 minuto in modo da far sedimentare il particolato solido
- Recuperare il surnactante (la fase liquida sopra la fase solida) e porre in un'altra microprovetta da 1,5 ml (si tratta di estratto di lattasi)
- Quindi preparare una microprovetta nella quale mettere 390 µl di tampone fosfato 100 mM e 10 µl di estratto di lattasi (ossia il campione incognito)
- In un'altra microprovetta mettere 400 µl di tampone fosfato 100 mM (soluzione di controllo)
- In entrambe le microprovette (la prima con il campione incognito e la seconda di controllo) aggiungere 100 µl di ONPG 5mM e mescolare con l'aiuto del vortex per 15 secondi
- Aspettare 1 minuto per far procedere la reazione e poi aggiungere 500 µl di carbonato di sodio 1 M ad ogni microprovetta per poter inibire l'enzima



- Trasferire quindi i prodotti della reazione enzimatica e il campione di controllo in una cuvetta e misurare l'assorbanza dei campioni usando uno spettrofotometro UV-vis a 420 nm
- Sottrarre il contributo del campione di controllo all'assorbanza misurata dallo spettrofotometro a quello del campione incognito, misurare quindi la quantità di enzima del campione incognito con l'aiuto della retta di taratura.

Equazione della retta di taratura: $y = 0,8835 \cdot x$

Dove y = concentrazione dell'enzima lattasi

x = assorbanza

Assorbanza del campione di controllo (A_c) = 0,416

Assorbanza del campione incognito (A_i) = 2,467

$\Delta A = A_i - A_c = 2,467 - 0,416 = 2,051$

$[\text{lattasi}] = \Delta A / 0,8835 = 2,051 / 0,8835 = 2,303$

Reazione chimica:

