

RICONOSCIMENTI FARMACOPEA

Sia per il **lattosio** che per la **sulfaguanidina** la farmacopea indica delle reazioni a cui si è cercato di trovare una spiegazione e per entrambi sono stati ipotizzati vari meccanismi di reazione diversi.

Lattosio

Il lattosio si riconosce:

1. A partire dai saggi degli zuccheri. Con l'analisi sistematica, si determina che è uno zucchero poiché dà positive le reazioni di Fehling e Tollens
2. Poi con la determinazione del potere rotatorio specifico riportato nei tests della farmacopea (bisogna consultare i tests ogni volta che riportano questa determinazione).
3. La farmacopea, come identificazione dà inoltre:
 - Infrarosso
 - Cromatografia su strato sottile, che deve essere fatta su una lastrina di 15 cm. La fase eluente contiene sia dell'acqua che dell'acido acetico, perché bisogna fare in modo che la competizione tra la fase stazionaria e la fase eluente sia notevole, in quanto è una sostanza che presenta molti gruppi OH e quindi tendenzialmente tenderà a rimanere attaccata e quindi bisogna far sì che la forza dell'eluente sia tale da poterla trascinare.
4. Infine, l'ultima reazione dice di sciogliere il lattosio in acqua e aggiungere ammoniaca, scaldare per 10 minuti a bagnomaria e si sviluppa una colorazione rossa. Questa reazione è la stessa che si applica per riconoscere il lattosio all'interno degli alimenti.

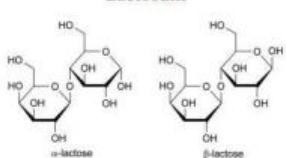
Lactose

01/2021:1061

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 11.0

LACTOSE⁽²⁾

Lactosum



$C_{12}H_{22}O_{11}$
[63-42-3]

M_r 342.3

C. Dissolve 0.25 g in 5 mL of water R. Add 5 mL of ammonia R and heat in a water-bath at 80 °C for 10 min. A red colour develops.
D. Water (see Tests).◊

TESTS
Solution S. Dissolve 1.0 g in boiling water R, allow to cool and dilute to 10.0 mL with water R.

Specific optical rotation (2.2.7): +54.4 to +55.9 (anhydrous substance).
Dissolve 10.0 g in 80 mL of water R with heating at 50 °C. Allow to cool and add 0.2 mL of dilute ammonia R. Allow to stand for 30 min and dilute to 100.0 mL with water R.

CHARACTERS
Appearance: white or almost white, crystalline powder.
Solubility: freely soluble in water, practically insoluble in ethanol (96 per cent).♦

IDENTIFICATION
First identification: A, ♦D.
Second identification: B, C, D.◊
A. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).
Comparison: anhydrous lactose CRS.
B. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Infatti, è ormai necessario riconoscere il lattosio negli alimenti a causa delle tante intolleranze alimentari. Per farlo, si sfruttano i test di Fearon e di Woehlk. Questi due esperti di alimenti hanno realizzato questi due saggi: uno con l'ammoniaca e l'altro con la metilammina. Il Reattivo R può essere inteso o come idrogeno nel test di Woehlk o come metile nel test di Fearon. La reazione avviene in ambiente basico. Quando le reazioni avvengono in ambiente basico, la determinazione del prodotto finale che causa la colorazione rossa è complicata. In quanto se si trattasse di una semplice soluzione acquosa, si potrebbe estrarre semplicemente il prodotto e vedere quindi cosa genera la colorazione rossa tramite i mezzi quali UV NMR o la massa. Questo però è complicato quando le soluzioni sono molto basiche.

Per questa reazione del lattosio sono stati ipotizzati due meccanismi di reazione:

Prima ipotesi

Considerando che il lattosio è un disaccaride, con R* si intende il galattosio se l'analisi la si fa sul lattosio, oppure un'altra molecola di glucosio se l'analisi viene effettuata sul maltosio, perché entrambi danno questa reazione, cioè sviluppano la colorazione rossa. La prima ipotesi presuppone l'avvenire di questa reazione: è quella vista per i composti contenenti un gruppo carbonilico con le ammine, si forma una base di shift e poi si ha l'attacco sul carbonile. Successivamente per eliminazione di una molecola di acqua si forma lo ione anilinio che possiede notevoli gruppi cromofori peraltro coniugati.

Seconda ipotesi

Poi è stato ipotizzato un altro meccanismo di reazione che prevede che in ambiente basico ci sia un riarrangiamento della molecola. Un'ossidazione della stessa fino a formare l'acido carbossilico. Poi sempre in ambiente basico si ha la deprotonazione e successivamente in presenza di ammoniaca, si ha di nuovo la reazione con l'ammina per eliminazione dell'altro zucchero. R* sta ad indicare lo zucchero che viene definito "protettore" dell'ossigeno in posizione 4. Fino a formare questo composto al quale è stata affidata la responsabilità della colorazione rossa. Successivamente misurando la massa del composto si è ipotizzato che la formulazione precedente non potesse spiegare i risultati sperimentali. La molecola che si forma, rispetto a queste, è una molecola semplificata. Si tratta sempre di uno ione piridinio, con gli ossigeni deprotonati. Quindi anche in questo caso c'è coniugazione e formazione del colore rosso.

Until recently there were no or only insufficient ideas about the constitution of the Woehlk and Fearon dyes and their formation. Based on the reactions known in the chemistry of carbohydrates, a structure was created which is consistent with previous experimental observations and has the corresponding features of a chromophore. It was assumed that in the Woehlk and Fearon test for lactose and maltose, the reaction of ammonia and methylamine occurs via the formyl group in C₁ and the hydroxyl group in C₅ forming a partially saturated heterocyclic pyridine ring. An exposure of reducing sugars to alkali hydroxide initially results in endiolate anions, which can fragment further via aldol cleavage into triosereductone and other small fragments when exposed to alkaline conditions (Euler von & Hasselquist, 1950; Euler von & Eistert, 1957). Therefore, it was assumed that the second sugar molecule in the C₄ position functions as a protective group and thus prevents this fragmentation. Furthermore, it could then not function as a leaving group, something that is essential for the dye formation. It was further assumed that the dehydrogenation reactions of Schiff's base 2, which were initially not further discussed, also oxidized the 6-hydroxymethyl group to the formyl group and the alkali metal salt of 6-formylpyridin-1-iium-3,4-diolate 3 with a protected 5-hydroxy group (R*=glucose in maltose and R*=galactose in lactose) and R=H (Woehlk test) resp. R=Me (Fearon test) is formed, the formyl group being essential for the chromophore (Figure 7) (Kussler & Ruppertsberg, 2019).

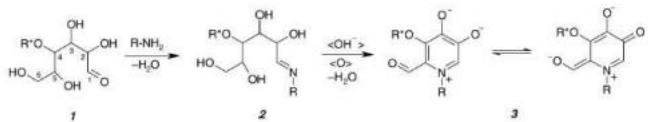


Figure 7: Postulated chromophore 3: R=H for the Woehlk test, R=Me for Fearon's test; R*=galactose, if lactose/lactulose is used, or R*=glucose, if maltose/maltulose is used.

The evaluation of the mass spectra showed that the different Fearon dyes have the empirical formula C₆H₆O₂ (NAlk) and the molecular mass is thus smaller than it would be according to the structures 3 and 8. The dyes are thus formed formally by cleavage of water and the second sugar molecule (or the protective group) without oxidation by atmospheric oxygen. The fact that all color reactions are positive even in the absence of oxygen was confirmed experimentally. It was also shown that the mass spectra of Fearon dyes from 4,6-O-ethylidene-glucopyranose (and lactulose) and amines are identical. The observation of dye formation in Fearon's test by H-NMR shows that in the (hetero) aromatic proton region only singlets are present, which means that all protons have no ortho hydrogen atoms. Since, however, the MS and NMR results did not allow the development of a suitable structural formula with ring closure via C₁ and C₆, it seemed obvious that Woehlk and Fearon dyes might be formed through ring closure via C₂ and C₆. Through this finding, a suitable constitution could be found with the alkali metal salt of 2-methylpyridinium-3,5-diolate 16 (R=H for the Woehlk dye, R=Me for the Fearon dye), which satisfies all previous experimental results (Figure 9).

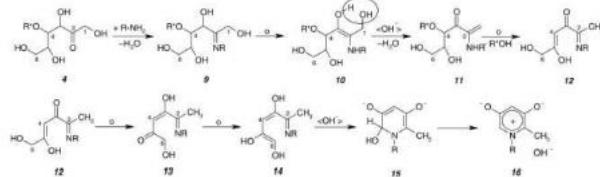


Figure 9: Postulated chromophore 16: R=H for the Woehlk dye, R=Me for Fearon dye; R*=galactose, if lactose/lactulose is used, or R*=glucose, if maltose/maltulose is used.

Since the color formation with ketoses is faster than with the corresponding aldoses, the saccharides react with ammonia or the amine via the ketose form 4 to the Schiff base 9 (Figure 9), which must be capable of enamine-imine tautomerism. In the case of amines without a CH₂ spacer group, the base-catalyzed rearrangement to the enamine 10 may be absent due to steric hindrance and the reaction may stall or take a different course. Under base-catalyzed vinyllogous β -elimination of water (cf. Hollnagel & Kroh, 2000) vinylamine 11 is formed. Vinylamine 11 rearranges into the corresponding Schiff base with elimination of the second sugar molecule (or the protective group) resulting in the 2-imino-1-deoxyosone 12. This in return rearranges into the tautomer 2-imino-1-deoxyosone 13. The OH-protecting group in the 4-position is necessary for two reasons: (a) to prevent fragmentation into smaller fragments (cf. Smuda, Voigt, & Glomb, 2010), (b) to avoid other reaction paths such as formation of formoinones, 4-pyanones and furanones (cf. Voigt & Glomb, 2009; Voigt, Smuda, Pfahler, & Glomb, 2010). Via the tautomeric form 14, the anhydribase 15 forms in a pericyclic ring closure reaction, which then dissociates into the pyridinium-3,5-diolate 16 and a hydroxyl ion.

Sulfaguanidina

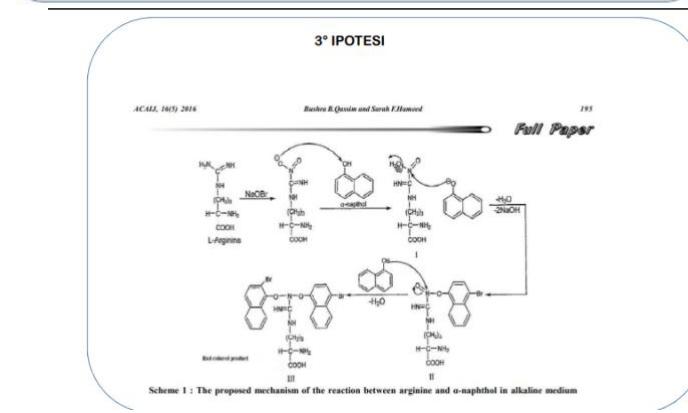
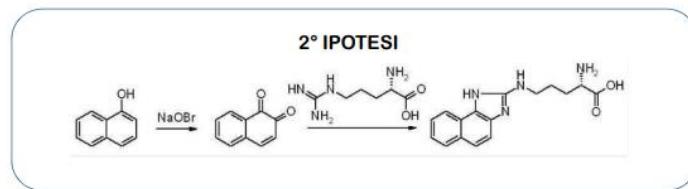
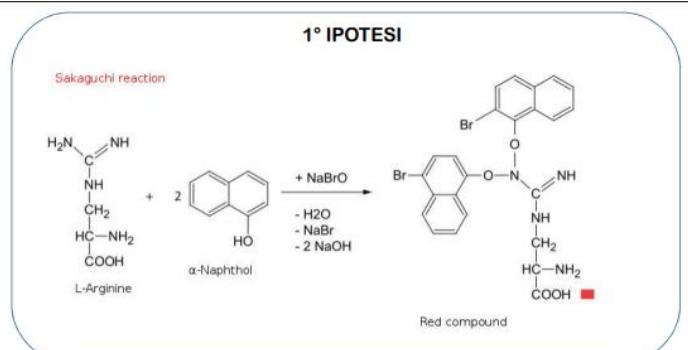


La sulfaguanidina è un sulfamidico, si riconosce dopo aver effettuato la reazione delle ammine aromatiche primarie in quanto è uno dei pochi sulfamidici che non si solubilizza in ambiente basico, in NaOH, a causa della presenza del gruppo guanidinico fortemente basico. Si determina con:

1. Il punto di fusione.
2. L'IR.
3. La cromatografia che si ottiene nei test per vedere quali sono le sostanze correlate.
4. Poi si solubilizza in acido cloridrico e dà la reazione delle ammine aromatiche primarie.
5. Infine, c'è questa reazione che si fa sospendendo in acqua il sulfamidico (poiché è poco solubile in acqua), si aggiunge alfa naftolo e una soluzione di sodio ipoclorito molto concentrata. Anche in questo caso si forma una soluzione di colore rosso.

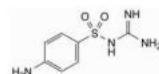
Il perché di questa colorazione rossa è spiegato da 4 diverse ipotesi: in queste reazioni l'alfa naftolo è sempre presente, mentre come ossidante, in alcuni casi si trova l'ipobromito di sodio e in altri casi l'ipobromito.

Prima ipotesi



SULFAGUANIDINE

Sulfaguanidinum



$C_7H_{10}N_4O_2S$
[57-67-0]

M. 214.3

DEFINITION

Sulfaguanidine contains not less than 99.0 per cent and not more than the equivalent of 101.0 per cent of (4-aminophenylsulfonyl)guanidine, calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or almost white, fine crystalline powder, very slightly soluble in water, slightly soluble in acetone, very slightly soluble in ethanol (96 per cent), practically insoluble in methylene chloride. It dissolves in dilute solutions of mineral acids.

IDENTIFICATION

First identification: A, B.

Second identification: A, C, D, E.

A. Melting point (2.2.14): 189 °C to 193 °C, determined on the dried substance.

B. Examine by infrared absorption spectrophotometry (2.2.24), comparing with the spectrum obtained with sulfaguanidine CRS.

C. Examine the chromatograms obtained in the test for related substances. The principal spot in the chromatogram obtained with test solution (b) is similar in position and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution (a).

D. Dissolve about 5 mg in 10 mL of 1 M hydrochloric acid. Dilute 1 mL of the solution to 10 mL with water R. The solution, without further acidification, gives the reaction of primary aromatic amines (2.3.1).

E. Suspend 0.1 g in 2 mL of water R, add 1 mL of α-naphthol solution R and 2 mL of a mixture of equal volumes of water R and strong sodium hypochlorite solution R. A red colour develops.

Questa reazione del gruppo guanidinico è stata studiata da un giapponese Sakaguchi (elaborata nel 1925) che è uno studioso che si occupava di prodotti alimentari, che aveva elaborato questa reazione per andare a individuare il residuo di arginina presente negli alimenti. Non è una reazione specifica per l'arginina, bensì è stata applicata a tutte le sostanze che contengono il gruppo guanidinico. Questa prima ipotesi prevede che l'ipobromito va ad ossidare il gruppo amminico della guanidina a nitro gruppo, e va anche a bromurare il naftolo nelle 2 posizioni favorite cioè, in orto e in para all'ossidrile. Da questa reazione con l'alfa naftolo si ottiene questo composto che ha una coniugazione elevata, per eliminazione di acqua, sodio bromuro e idrossido di sodio.

Seconda ipotesi

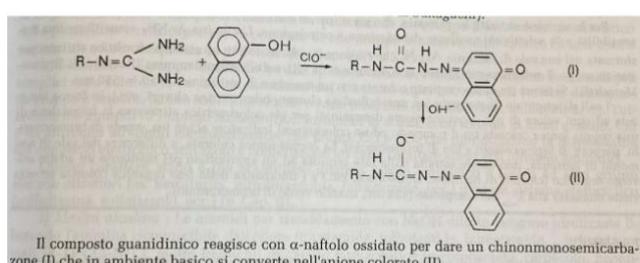
L'altra ipotesi parte dal fatto che i fenoli, e composti simili, quindi anche il naftolo, sono composti facilmente ossidabili a chinoni, quindi in questo caso, l'ipoclorito o bromito andrebbe a formare l'ortonaftochinone il quale per una semplice reazione tra i due gruppi carbonilici e i gruppi amminici della guanidina, determina la formazione di questo composto, la cui struttura giustifica la presenza della colorazione rossa.

Terza ipotesi

La terza ipotesi, molto simile alla prima, parte sempre dal fatto che l'ipobromito va ad ossidare i gruppi amminici della guanidina. Il gruppo amminico viene ossidato a nitro gruppo, quindi si ha la sostituzione con un naftolo, e successiva nuova sostituzione; quindi, si usano due moli di naftolo per una mole di arginina. Anche qui c'è un bromo in posizione para e un altro in posizione orto rispetto all'OH.

Quarta ipotesi

4° IPOTESI



Infine c'è la quarta ipotesi dove avviene sia l'ossidazione del naftolo sia l'ossidazione del gruppo guanidinico (infatti compare un carbonile). Qui non c'è una spiegazione del meccanismo di reazione, però la colorazione viene attribuita a questo chinon mono-semicarbazone che nella forma de-protonata dà l'anione colorato.

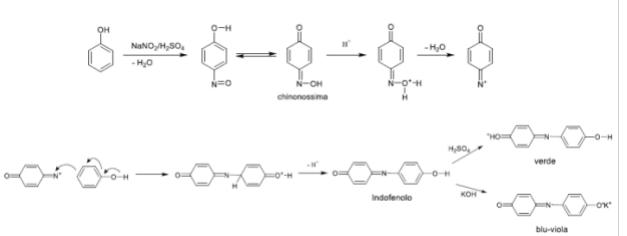
Digressione su una reazione fatta in laboratorio

Reazione di Liebermann

Nel riconoscimento dei gruppi funzionali si è parlato a lungo dei fenoli e si è notato che in questa slide c'è una differenza con ciò che dice la metodica di laboratorio anche se le reazioni sono le stesse. Nella spiegazione del laboratorio si è descritta la reazione di Liebermann, e come la formazione dell'indofenolo si osserva poiché si sviluppa una colorazione blu. Successivamente, per aggiunta di acido solforico si colora di rosso. Poi, per aggiunta di molta base, in quanto è molto acido, si forma una colorazione verde. Si è notato che le colorazioni osservate sono "inverte" rispetto a quanto dice la slide vista a lezione.

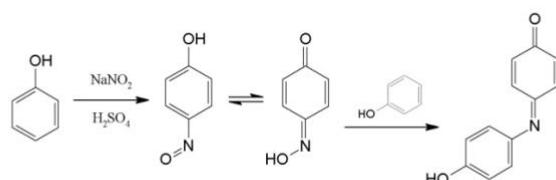
Reazione di Liebermann (formazione di indofenoli)

Reagiscono fenoli che hanno la posizione **pari** libera.
Si forma *p*-nitrosofenolo che, nella forma tautomera, reagisce con il fenolo in eccesso formando indofenolo che presenta colorazioni diverse a pH acido o basico



Reazione di Lieberman.

Introdurre in una provetta asciutta alcuni cristalli di sodio nitrito. Aggiungere circa 1 mL di H_2SO_4 concentrato e qualche cristallo di fenolo. Si sviluppa una colorazione blu che vira al rosso per aggiunta di H_2SO_4 diluito.



INTRODUZIONE AL CORSO

Materiale di laboratorio

Per le prove di laboratorio sarà necessario fare riferimento a:

- Dispensa di laboratorio
- Capitolo XXVIII del teso Analisi Farmaceutica
- Farmacopea Europea

Il corso

E' un corso di Analisi Farmaceutica:

Analisi dei medicinali I → analisi di sostanze inorganiche

Analisi dei medicinali II → analisi quantitativa

Analisi III → analisi e riconoscimento di farmaci, principi attivi e preparazione di sostanze usate come eccipienti

Obiettivi del corso

- Acquisire conoscenze relative ai metodi di riconoscimento dei composti di interesse farmaceutico: principi attivi ed eccipienti
- Applicazione delle conoscenze acquisite e identificazione qualitativa della sostanza

Prova d'esame

- Prova pratica in laboratorio (13esima lezione pratica)
- Esame orale

Durante le esercitazioni sarà necessario tenere un quaderno di laboratorio, in cui verranno appuntate le procedure analitiche applicate e i risultati ottenuti durante ogni prova (scrivere altre informazioni non è necessario).

Il quaderno deve essere mandato via mail alla professoressa una settimana prima della prova orale, durante la quale si discuterà a riguardo.

FARMACOPEA EUROPEA

E' un documento necessario per la produzione e la commercializzazione di sostanze ad uso farmaceutico. Essa è un quadro normativo preciso e valido per tutta l'Europa che viene aggiornato continuamente (ogni 2 anni esce una nuova edizione, ora siamo alla 11esima).

Per ogni sostanza di interesse farmaceutico sono riportati:

- Caratteri generali
- Tecniche per il riconoscimento

Ogni farmacia è obbligata ad avere nella propria sede la Farmacopea Europea come testo di riferimento.

In ogni farmaco, di fianco al nome della sostanza, deve essere presente la sigla PE: ciò significa che il prodotto in questione risponde alle norme di qualità imposte dalla Farmacopea.

Contenuto

E' strutturata in III volumi:

I = carattere generale

II e III = monografie delle sostanze di interesse farmaceutico (principi attivi ed eccipienti).

Nel I volume, in seguito alla prefazione ed alla introduzione, sono presenti alcuni capitoli che descrivono le tecniche da utilizzare per la determinazione dei composti descritti nei successivi volumi.

E' presente inoltre un capitolo in cui sono presenti le reazioni di identificazione di ioni e gruppi funzionali, uno dedicato ai reattivi e un altro contenente informazioni sulla conservazione delle sostanze per evitarne il deterioramento.

La Farmacopea non dà alcuna informazione circa l'attività terapeutica delle sostanze.

E' disponibile in 2 lingue: inglese e francese.

Per cercare la parola di interesse si può inserire il nome direttamente in "full text" o in "text title".

Una sostanza scritta in corsivo e seguita dalla lettera R sta ad indicare che la sostanza deve possedere tutti i requisiti indicati nel capitolo 4 della Farmacopea.

Esempio: come determinare l'acido salicilico.

Il primo metodo per identificarlo è il punto di fusione; tuttavia, quando la professoressa consegna l'incognita è sbagliatissimo partire dal punto di fusione perché molte sostanze hanno lo stesso punto di fusione.

Successivamente la Farmacopea suggerisce di fare l'IR, per cui è necessario avere lo spettro di uno standard.

Infine, descrive la prova da effettuare, la quale sarebbe la prova del salicilato.

Caratteri

La prima indicazione che troviamo in farmacopea rispetto ad una sostanza sono i caratteri. La caratteristica in assoluto più evidente è il suo stato di aggregazione: se si presenta come liquido o solido o gassoso (non verranno affrontate delle sostanze gassose in questo corso). Altri caratteri sono l'aspetto (se la sostanza è in forma cristallina o amorfa), il colore e l'odore. L'odore dipende anche dalle caratteristiche della sostanza, ad esempio le aldeidi hanno degli odori pungenti, gli esteri hanno degli odori fruttati. Ma, mentre il colore è una caratteristica oggettiva, l'odore è comunque un aspetto soggettivo.

Questi caratteri, definiti **organolettici**, sono riportati all'inizio delle monografie di ogni sostanza nella Farmacopea. È importante leggere queste caratteristiche e confrontarle con la sostanza da analizzare, perché possono fornire preliminari informazioni utili per l'identificazione di una determinata sostanza ed anche per una valutazione del suo stato di conservazione.

Stato fisico

Lo stato fisico di un composto dipende dalle forze intermolecolari che si instaurano tra le molecole che compongono il composto. Esistono diversi tipi di interazioni intermolecolari. Innanzitutto, una molecola si definisce polare quando, pur avendo carica netta uguale a zero, possiede cariche positive e negative che sono disposte in parti diverse della molecola stessa che ci permettono di riconoscere all'interno della cellula una parte positiva e una negativa. L'entità di questa separazione di cariche è espressa dal momento dipolare, che si indica con la lettera greca μ ed equivale al prodotto della carica q sui centri per la distanza d tra le cariche: $\mu = qd$.

Quando due molecole polari neutre si avvicinano tra loro, se hanno un'orientazione opportuna in cui le estremità che si stanno avvicinando possiedono cariche opposte, tra queste molecole si crea un fenomeno attrattivo. Nel caso in cui, invece, l'avvicinamento delle due molecole avviene nel modo in cui le cariche uguali si dispongono dalla stessa parte, si ha un fenomeno repulsivo. Un altro fenomeno che si osserva tra molecole polari o apolari è che quando queste si avvicinano tra loro, ad un certo punto e poste ad una certa distanza, si manifesta un fenomeno repulsivo dovuto al fatto che il guscio elettronico, avendo la stessa carica, provoca repulsione. Le forze attrattive sono responsabili della coesione tra le molecole, quelle repulsive impediscono che le molecole penetrino una nell'altra.

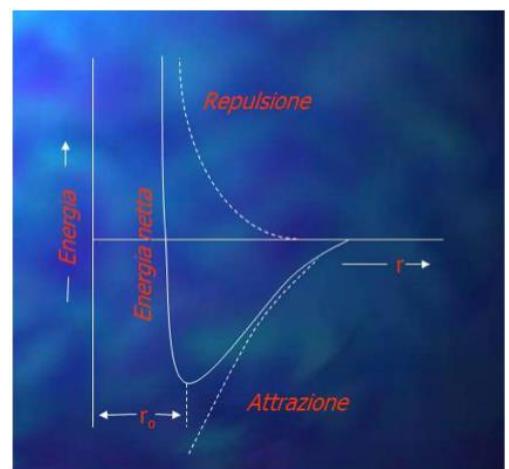
L'energia netta di interazione tra due molecole presenta questo andamento caratteristico:

L'energia è descritta da una linea continua e il minimo di energia, indicato con r_0 , corrisponde al punto in cui si ha un bilanciamento tra forze attrattive e repulsive. Questo, tipicamente ha un valore di 3-4 Armstrong e quando ci si allontana sorgono forze o attrattive o repulsive.

Come detto prima, lo stato fisico dipende dalle forze attrattive, perciò, ci soffermiamo su queste:

- Forze di van der Waals
- Legame idrogeno
- Interazioni elettrostatiche
- Interazioni ione molecola (interazione catione- π)

Sono le stesse interazioni che vanno ad influire anche sulla solubilità delle sostanze.



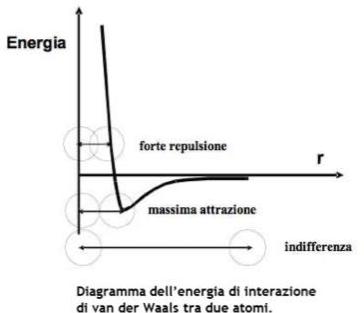
Forze di van der Waals

Le forze di van der Waals, riguardano qualsiasi atomo o molecola. Come descritto sul grafico sottostante, con $r_0 < 3/4$ Armstrong si ha una repulsione, al valore di $3/4$ si ha il massimo di attrazione e superati questi valori si raggiunge lo stato di "indifferenza" poiché vengono a mancare le interazioni.

Le forze di van Der Waals sono forze a corto raggio perché i loro effetti sono sensibili solo se le molecole si trovano a distanze dell'ordine di pochi Å. L'energia di interazione è definita dalla legge:

$$E = -\frac{A_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{B_{ij}}{r_{ij}^{12}}$$

Termine attrattivo Termine repulsivo



I parametri da cui dipende sono, quindi, termine attrattivo e termine repulsivo. Nella legge A e B sono della caratteristiche costanti delle molecole, mentre r rappresenta la distanza.

Il termine repulsivo è dovuto ad una repulsione tra i gusci elettronici degli atomi quando questi si trovano al di sotto di un determinato valore soglia: r_0 .

Il termine attrattivo è legato a 3 tipologie di forze, abbastanza deboli, che si possono instaurare all'interno delle molecole, strettamente legate alle loro caratteristiche. Queste sono:

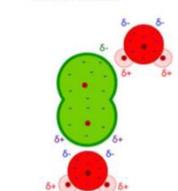
- Effetti di orientazione: interazioni dipolo-dipolo (forze di Keesom)
- Effetti di induzione: interazioni dipolo- dipolo indotto (forze di Debye)
- Effetti di dispersione: interazioni dipolo indotto-dipolo indotto (forze di London)

Rientrano tutte nelle forze di van der Waals.

Nelle *forze di Keesom* (interazioni dipolo permanente-dipolo permanente) si ha una molecola con carica netta neutra la quale presenta una separazione di cariche che fa sì che da una parte della molecola è presente un polo positivo e dall'altra un polo negativo. Se queste molecole si dispongono in maniera che il polo positivo di una si posiziona in corrispondenza del polo negativo dell'altra, subiscono un'attrazione elettrostatica. Questo andrà ad influire sul loro stato di aggregazione.



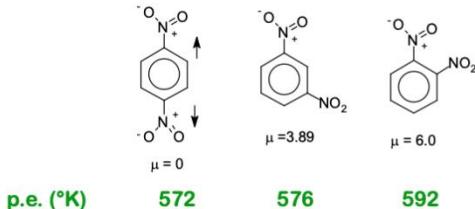
Nelle *forze di Debye* (interazioni dipolo permanente-dipolo indotto) si ha una molecola polare in cui si ha un dipolo che si trova ad interagire con una molecola completamente neutra, questo dipolo provoca una distorsione del guscio elettronico nell'altra molecola, nella quale si viene a formare un dipolo elettrico temporaneo. Tra questi due dipoli si va ad instaurare un'interazione.



Le *forze di London* (interazioni dipolo istantaneo-dipolo istantaneo indotto) sono interazioni che avvengono tra molecole di tipo apolare. Nonostante siano apolari, i loro gusci elettronici vibrano attorno a posizioni di simmetria rispetto ai nuclei, causando una distorsione della carica elettrica dipoli istantanei. Questi inducono a loro volta l'origine di dipoli indotti nelle molecole vicine. Anche in questo caso si ha il fenomeno dell'attrazione tra i due dipoli.



Queste forze di van Der Waals hanno degli effetti sul punto di ebollizione delle sostanze: il punto di ebollizione aumenta all'aumentare del momento dipolare della sostanza.

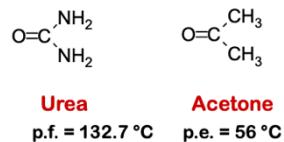


Legame ad idrogeno

Un'altra interazione importante per la determinazione dello stato fisico di una sostanza è il legame ad idrogeno, ovvero un particolare caso di attrazione fra dipoli. Si tratta di una interazione elettrostatica di tipo dipolo permanente-dipolo permanente in cui è implicato un atomo di idrogeno coinvolto in un legame covalente con elementi molto elettronegativi come azoto, ossigeno, o fluoro, i quali attraggono a sé gli elettroni di valenza, acquisendo una parziale carica negativa (δ^-) e lasciando l'idrogeno con una parziale carica positiva (δ^+). L'esempio più comune è quello della molecola di acqua. Il legame idrogeno si forma quando la relativamente forte carica positiva dell'idrogeno viene in contatto con un doppietto elettronico di un gruppo funzionale di un'altra molecola, il quale lega l'H e viene definito accettore. Il gruppo a cui è legato l'H in maniera covalente viene detto donatore. L'energia di un legame idrogeno varia tra le 2 e le 7 kcal/mol. L'importante è ricordarsi che il legame ad idrogeno è più forte del legame di van Der Waals.

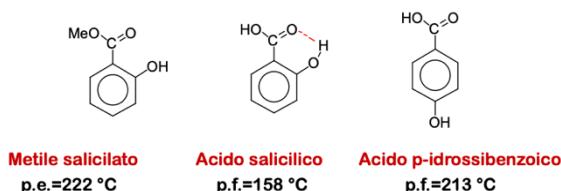
I legami ad idrogeno modificano alcune caratteristiche delle sostanze, come il punto di fusione ed ebollizione. Ad esempio, negli acidi carbossilici grazie ai legami ad idrogeno si formano dei dimeri che vanno ad influire sul loro punto di ebollizione, se in forma liquida, o di fusione se nella forma solida. Sarà necessario un maggiore apporto di energia per rompere il legame tra queste molecole e passare da uno stato all'altro. È necessario non confondere questi legami di tipo intermolecolare, con quelli intramolecolari. Se si venissero a rompere i legami intramolecolari si andrebbe incontro alla degradazione della molecola.

Per effetto del legame ad idrogeno cambia anche lo stato di aggregazione di sostanze che sono apparentemente simili tra loro. Ad esempio, l'urea e l'acetone che presentano una struttura simile, differiscono per il loro stato fisico: la prima si trova sottoforma di solido perché dà legami ad idrogeno, mentre la seconda si trova sottoforma di liquido perché non coinvolta in questo tipo di legame intermolecolare.



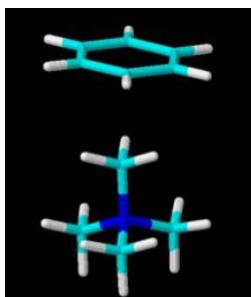
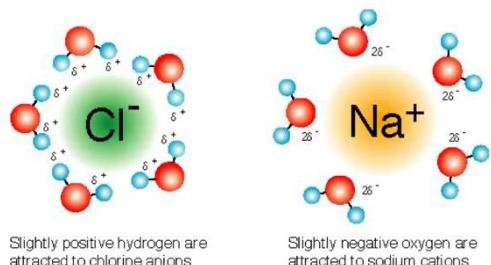
Un altro esempio è dato dall'acido salicilico e dal p-idrossibenzoico che sono isomeri. Questi hanno un punto di fusione molto diverso perché il primo forma dei legami ad idrogeno intramolecolari, quindi, sarà meno disponibile a fare dei legami ad idrogeno con altre molecole di acido salicilico. Mentre l'acido p-idrossibenzoico può dare luogo a legami ad idrogeno intermolecolari, questa differenza fa sì che i due punti di fusione differiscano di circa 60 gradi. Quindi per fondere il secondo è necessario fornire più energia rispetto al primo caso.

Il metile salicilato che è l'estere metilico dell'acido salicilico, in natura è un liquido perché non si ha formazione di nessun legame ad idrogeno.



Interazioni elettrostatiche

queste interazioni sono forti perché si formano tra ioni. L'esempio più comune è il cloruro di sodio, in cui ogni ione interagisce con l'altro attraverso le cariche; infatti, lo scriviamo come Na^+ e Cl^- . Lo stesso cloruro di sodio in forma ionica interagisce con le molecole di acqua, non polari. Questa interazione è possibile perché intorno allo ione cloruro (carica negativa) si dispongono le molecole di acqua dalla parte degli idrogeni (parzialmente positivi). Allo stesso modo il sodio (ione positivo) sarà contornato dall'acqua orientata con la parte dell'ossigeno (parzialmente negativa).



Interazione catione- π e anione- π

L'interazione catione- π (più raramente anione- π) è un'interazione di non legame molto diffusa in natura dovuta all'attrazione che la nube π di un anello aromatico esercita nei confronti di uno ione carico positivamente (più raramente negativamente). È un'interazione che influisce sulla solubilità di alcuni solventi aromatici (es. benzene, toluene...).

Tabella che mostra le diverse tipologie di interazione e la loro energia:

| Tipo di interazione | Energia in kcal/mol | |
|---------------------|---|-----------------------------|
| | 1-10 | 1-10 |
| Van der Waals | | |
| Dipolo-dipolo | | |
| Legame idrogeno | F-H----F O-H----O O-H----N N-H----O C-H---O | 7 6 4-7 2-3 2-3 |
| Tipo di legame | | |
| Ionico | | 100-200 |
| Covalente | | 50-150 |

Colore

Un altro carattere delle sostanze è il colore, che è dovuto ad alcune caratteristiche di sostanze che sono in grado di assorbire la radiazione luminosa tra 400 e 750 nanometri. La presenza o meno di colorazione in una sostanza pura costituisce un utile elemento di differenziazione e può fornire preliminari informazioni sulla struttura della sostanza stessa. Può però anche essere indice di una avvenuta alterazione di una sostanza.

La comparsa di un colore indica la

presenza nella molecola di gruppi cromofori, ovvero gruppi che presentano degli elettroni π che sono in grado di dar luogo ad una transizione elettronica nel campo del visibile, dallo stato elementare allo stato eccitato. Le colorazioni vengono sfruttate in laboratorio perché durante le reazioni, spesso, si ha la comparsa di colorazione che è un indice del fatto che all'interno della molecola in esame sono presenti determinati gruppi funzionali che prendono parte ad una determinata reazione, quindi sviluppano una colorazione.

Ad esempio, le ammine aromatiche primarie danno luogo alla reazione di diazotazione; quando questa avviene, la sostanza assume una colorazione gialla. A questa si fa seguire una reazione di copulazione che dà luogo ad una soluzione ed un precipitato di colore arancione. Questo accade perché ai cromofori già presenti sono stati aggiunti altri cromofori, o per meglio dire sono stati aggiunti altri elettroni π , ottenendo così un'estesa coniugazione per cui la sostanza è in grado di assorbire la luce nel visibile e ci appare colorata.

Oltre ai composti organici, anche i composti inorganici che presentano dei metalli di transizione formano dei complessi colorati. In ogni caso il colore è una caratteristica che le sostanze acquisiscono durante le reazioni, difficilmente una sostanza presenta una colorazione fin da subito.

Odore

L'odore è una caratteristica di alcune sostanze naturali che può costituire un indizio preliminare. In alcuni casi lo sviluppo di un odore può essere utile per l'identificazione di una sostanza, ad esempio nella reazione di acidi carbossilici si ha lo sviluppo di un odore caratteristico. Un altro esempio è la reazione dello iodio formio usata per il riconoscimento dell'alcol etilico, il quale reagisce con lo iodio in ambiente basico e da luogo alla formazione dello iodio formio che è una sostanza che ha una colorazione leggermente giallina e un odore caratteristico che ricorda quello dei disinfettanti. Ovviamente i metodi olfattivi non sono raccomandabili sia per la possibile tossicità delle sostanze inalate che per la soggettività dell'analisi.

Degli esempi di odori caratteristici sono:

| CLASSE FUNZIONALE | ODORE CARATTERISTICO |
|----------------------------|----------------------|
| Idrocarburi saturi | benzina |
| Idrocarburi alogenati | dolciastro |
| Alcoli inferiori | gradevole |
| Aldeidi ed acidi inferiori | penetrante |
| Aldeidi ed acidi intermedi | rancido |
| Aldeidi aromatiche | mandorle, vaniglia |
| Anidridi e cloruri acidi | pungente |
| Esteri di acidi alifatici | fruttato |
| Ammine a basso PM | ammoniacale |
| Ammine ad alto PM | pesce putrefatto |
| Eteri fenolici | anice-finocchio |
| Mercaptani | uova marce |

Stato solido

È lo stato sotto cui si presentano più frequentemente le sostanze impiegate nei sistemi farmaceutici. Le particelle elementari (atomi, ioni o molecole) costituenti un solido sono più vincolate e possono oscillare attorno a posizioni ben definite.

In base alla disposizione delle particelle elementari si differenziano in:

- solidi cristallini
- solidi amorfi

Nei *solidi cristallini* le particelle elementari sono sistematizzate in reticolati ordinati tridimensionalmente nello spazio, i cui nodi rappresentano i punti dello spazio in cui sono posizionate le particelle del solido ed attorno ai quali possono ruotare ed oscillare. La più piccola porzione del reticolo viene detta cella elementare e la sua ripetizione nelle tre dimensioni dello spazio riproduce l'intero reticolo.

I solidi cristallini si differenziano anche per le diverse forze attrattive esistenti all'interno del cristallo.

Secondo il tipo di legame implicato si distinguono in:

- solidi covalenti
- solidi ionici
- solidi molecolari
- solidi metallici

Data la sistemazione così precisa ed ordinata, sono solidi che presentano una bassa solubilità e l'assorbimento è più lento.

I *solidi amorfi* possono essere considerati come liquidi super-raffreddati in cui le molecole sono arrangiate in modo casuale. Alcuni farmaci possono essere preparati nella forma amorfa o cristallina a seconda della lunghezza della durata di azione che si vuole ottenere. Il prodotto amorfo presenta un maggiore assorbimento di quello cristallino, ma la sua durata sarà più breve.

Polimorfismo

In farmacopea uno dei primi punti indicati è quello relativo all'aspetto della sostanza, si è visto che fondamentalmente lo stato della sostanza dipende molto dalle interazioni intermolecolari che si vanno a formare tra le varie molecole.

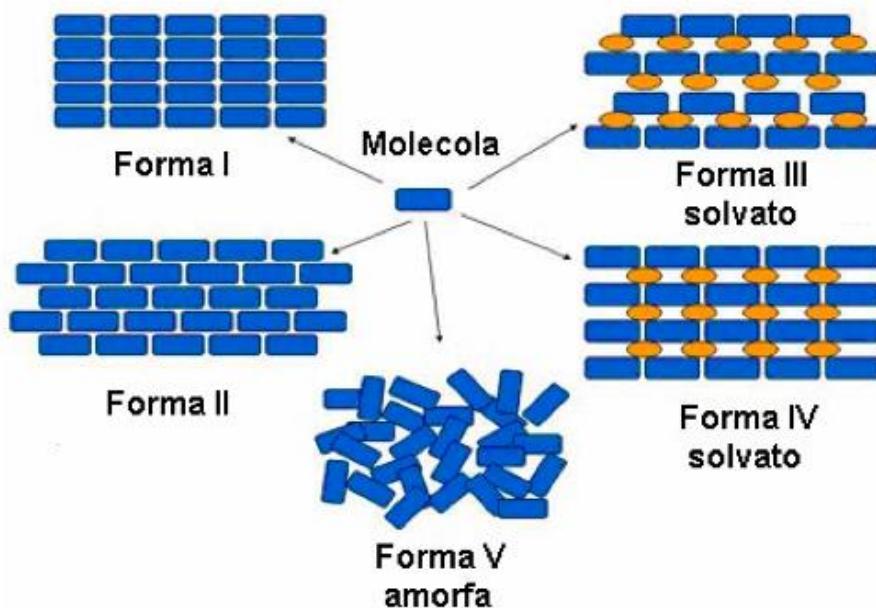
I solidi possono esistere in forma amorfa o cristallina e la forma amorfa o cristallina di un composto, eventualmente di un farmaco, va anche ad influire sulla sua attività biologica perché per l'appunto un farmaco amoro ha un maggiore contenuto di energia quindi viene più rapidamente assorbito e la sua azione è più veloce, quella in forma cristallina invece viene assorbito più lentamente e quindi si parla di forme a lunga durata d'azione. Oltre a contraddistinguersi tra forme amorfe e cristalline, i cristalli a loro volta possono presentarsi in diverse forme e questo fenomeno prende il nome di polimorfismo. Il polimorfismo dipende fondamentalmente dalle modalità con cui avviene la cristallizzazione della sostanza in esame, utilizzando dei tipi di solventi, dato che questo è un metodo di purificazione delle sostanze che viene utilizzato con diversi tipi di solvente: tipicamente una sostanza poco solubile in un certo tipo di solvente, viene portata a riscaldamento e quindi si solubilizza e con il raffreddamento la sostanza precipita in una forma cristallina.

Alcune sostanze danno forme cristalline diverse a seconda del solvente di cristallizzazione e anche della velocità di raffreddamento. Queste diverse forme cristalline, hanno caratteristiche fisiche diverse, e quindi hanno diverse tensioni di vapore, spettri IR diversi, diversi punti di fusione, solubilità diverse. È importante tenere presente questo fenomeno poiché ci si può trovare ad aver identificato nella maniera adeguata la sostanza però alcuni parametri fisici potrebbero non coincidere con quelli tabulati.

Differenti modi in cui può organizzarsi una molecola dando origine al polimorfismo

Il solido può esistere in forma amorfa, quindi un arrangiamento casuale, oppure in forma cristallina: un reticolo cristallino che ha una cella che si ripete nelle tre dimensioni e una forma molto ordinata.

Nell'immagine vengono riportate le diverse modalità con cui una molecola può organizzarsi in un cristallo: diversi polimorfi vengono definiti o da dei numeri romani o da lettere greche; la forma 1 è quella con più elevato punto di fusione. È molto ordinata e la stessa cosa si può dire della forma 2, anche se si intuisce già che le relazioni intermolecolari possono differire nelle due forme. La forma 3 e 4 sono sempre forme cristalline molto ordinate nello spazio ma durante la cristallizzazione vengono inglobate tra le molecole anche le molecole di solvente. La forma 3 e la forma 4 sono le forme solvatate, in cui appunto l'organizzazione molto precisa include però le molecole di solvente.



Questo provocherà una diminuzione del punto di fusione perché di fatto la presenza di molecole di solvente all'interno del reticolo cristallino costituisce una forma di impurezza.

Stabilità e solubilità dei polimorfi

I polimorfi sono indicati in diverse maniere e in base alla stabilità vi sono i polimorfi enantiotropi e i polimorfi monotropi. I polimorfi enantiotropi se varia la temperatura possono interconvertirsi in una forma o in un'altra: ovviamente però ciascuno ha il proprio intervallo di temperatura in cui è stabile; invece i polimorfi monotropi non si possono modificare in maniera reversibile. Ad una sola temperatura sono stabili, nelle altre sono instabili.

Si può fare un esempio con la benzocaina: la benzocaina è una sostanza che presenta polimorfismo; questo lo dice la farmacopea, quindi in riferimento ai caratteri vi è la dicitura “mostra polimorfismo”. L'identificazione della benzocaina presente in farmacopea è lo spettro IR: viene ottenuto in una certa

modalità e viene confrontato con quello dello standard. Se lo spettro ottenuto mostra differenze bisognerà sciogliere la sostanza da esaminare e anche quella di riferimento in maniera separata in etanolo anidro, svaporare a secchezza e ripetere lo spettro di ognuno dei due. Questo perché i diversi polimorfi possono originare dalla modalità di cristallizzazione e se ci sono delle differenze il diverso polimorfo avrà anche differenze nella lunghezza del legame e

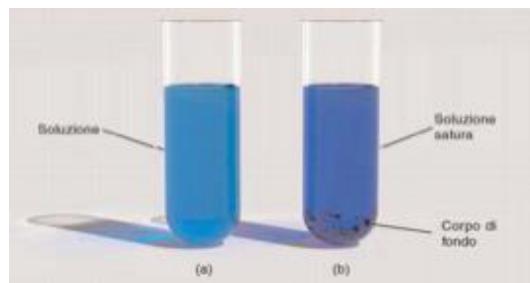
| BENZOCAINE | |
|--|---------------|
| Benzocainum | |
| <chem>C9H13NO2</chem> | $M_r = 165.2$ |
| [94-09-7] | |
| DEFINITION | |
| Ethyl 4-aminobenzoate. | |
| Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance). | |
| CHARACTERS | |
| Appearance: white or almost white, crystalline powder or colourless crystals. | |
| Solubility: very slightly soluble in water, freely soluble in ethanol (96 per cent). | |
| It shows polymorphism (5.9). | |
| IDENTIFICATION | |
| Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24). | |
| Comparison: benzocaine CRS. | |
| If the spectra obtained show differences, dissolve the substance to be examined and the reference substance separately in anhydrous ethanol R, evaporate to dryness and record new spectra using the residues. | |
| 5.9. POLYMORPHISM | |
| Polymorphism (or crystal polymorphism) is a phenomenon related to the solid state; it is the ability of a compound in the solid state to exist in different crystalline forms having the same chemical composition. Substances that exist in a non-crystalline solid state are said to be amorphous. | |
| | |
| Different crystalline forms or solvates may be produced by varying the crystallisation conditions (temperature, pressure, solvent, concentration, rate of crystallisation, seeding of the crystallisation medium, presence and concentration of impurities, etc.). | |

nell'angolo di legame, che vanno ad influire sullo spettro IR: quindi si prendono le due sostanze che appaiono diverse, si trattano nella stessa modalità si otterrà lo stesso polimorfo e a quel punto ci sarà identità tra struttura e quindi identità di spettro IR. Questo si può trovare in farmacopea anche per il punto di fusione, quindi una sostanza mostra polimorfismo quando la metodica di riconoscimento è il punto di fusione: se il punto di fusione differisce dal valore riportato sulla farmacopea occorre prendere la sostanza di riferimento e la sostanza in esame, solubilizzarle in un solvente in cui possono cristallizzare; trattandole nella stessa maniera si farà in modo da ottenere lo stesso risultato. Se la sostanza avesse inglobato le molecole di solvente il punto di fusione sarebbe più basso e quindi si potrebbe incorrere nell'errore di non aver riconosciuto la sostanza giusta.

Solubilità

La solubilità è un parametro molto importante, ha un ruolo molto importante innanzitutto nell'azione biologica delle sostanze ad uso farmaceutico e quindi la conoscenza delle caratteristiche di solubilità di una sostanza appunto è una condizione abbastanza indispensabile per studiare le forme farmaceutiche. Inoltre, occorre nella maggior parte dei casi in cui si fanno le reazioni di riconoscimento delle sostanze, fare in modo che queste siano solubilizzate nel solvente più adeguato. La solubilità rientra nelle caratteristiche fisiche delle sostanze poiché quando si solubilizza la sostanza in un solvente, non viene modificata la struttura chimica a meno che la solubilizzazione coinvolga delle specie acide o basiche che per essere solubilizzate hanno appunto necessità dell'utilizzo di un acido o una base e quindi si da luogo a una modifica pero tendenzialmente è una caratteristica fisica, come il punto di ebollizione e il punto di fusione, densità, indice di rifrazione per le sostanze liquide e potere rotatorio per le sostanze che hanno delle caratteristiche particolari quali la presenza di atomi di carbonio chirale.

La definizione di solubilità è abbastanza nota: una data quantità di soluto che si può sciogliere in una data quantità di solvente in condizioni di saturazione a una determinata temperatura. Normalmente si parla di temperatura e non si parla molto di pressione perché solo nel caso del gas la solubilità è influenzata dalla pressione.



La solubilità è legata alla struttura chimica del soluto utilizzato, poiché la soluzione è un insieme di due o più componenti che sono miscelati omogeneamente: solitamente la componente in quantità minore è definita soluto e la componente in quantità maggiore è definita solvente. Si possono avere soluzioni sature, insature o sovrassature: la satura è quella in cui abbiamo l'equilibrio tra i componenti cioè, quando la concentrazione del soluto è uguale alla sua solubilità; insatura quando la concentrazione del soluto è minore di quella del solvente e viceversa la soluzione sovrassatura. Normalmente quando si parla di soluzioni, si intendono soluzioni liquide, quindi si scioglie un solido o un gas o un liquido in un liquido. Si possono avere anche soluzioni solide che sono costituite da leghe di due o più metalli: l'esempio più evidente sono le leghe del mercurio che però sono praticamente adesso inutilizzate, perché si è scoperta la tossicità del mercurio. Le amalgame delle leghe di mercurio venivano molto utilizzate anche in odontoiatria e in ortodonzia ma adesso sono

state ovviamente sostituite da altri materiali. Poi ci sono anche le soluzioni gassose in cui i gas si mescolano fra di loro per dare soluzioni gassose.

Esempio di soluzioni: l'aria è un insieme di gas, ossigeno e azoto e altri gas in diverse proporzioni; l'acqua di mare soluzione liquida; cloruro di sodio e altri Sali in acqua; soluzioni alcoliche, sono alcol che viene solubilizzato in acqua; la così detta acqua di selenio o acqua gasata, in cui la CO₂ viene addizionata all'acqua, e questo è il caso in cui appunto vediamo che la pressione influisce quando si deve andare a solubilizzare un gas in un liquido, perché nel momento in cui si apre l'acqua gasata, la pressione diminuisce e viene emesso gas; l'amalgama odontoiatrica ma non viene più utilizzata, quindi mercurio liquido in argento solido; l'ottone, una soluzione solida di zinco in rame o i catalizzatori che si utilizzano in alcune reazioni come quelle di riduzione, quindi H₂ gassoso su palladio.

| Soluzione | Descrizione | Tipo di soluzione |
|------------------------|--|-------------------|
| Aria | O ₂ e altri gas in N ₂ | Gassosa |
| Acqua di mare | NaCl e altri sali solidi in acqua | Liquida |
| Soluzione alcolica | Alcol liquido in acqua | Liquida |
| Acqua di seltz | CO ₂ gassosa in acqua | Liquida |
| Amalgama odontoiatrico | Hg liquido in Ag solido | Solida |
| Ottone | Zn solido in Cu solido | Solida |
| Catalizzatori | H ₂ gassoso in Pd solido | Solida |

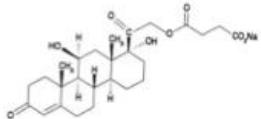
La solubilità può essere espressa in maniera quantitativa, quindi si parla di g di soluto su 100 ml di solvente; quindi % peso su volume; la frazione molare di soluto disciolte in un certo solvente, moli di soluto su moli totali; la molalità molto poco utilizzata, cioè moli di soluto su kg e la Molarità, che è una delle modalità di espressione di solubilità più utilizzata, moli su litro.

Solubilità in Farmacopea

In farmacopea, nella sezione dei caratteri della monografia, è espressa anche la solubilità delle sostanze in diversi solventi. La solubilità in farmacopea viene misurata alla temperatura cosiddetta ambiente quindi fra i 15 e i 25 gradi, e viene indicata praticamente la solubilità di un grammo di sostanza in una certa aliquota di solvente. Quindi solubilissimo è definita la sostanza in cui 1g si scioglie in meno di 1ml di solvente; solubile, 1g da 1 a 10 ml e via di seguito fino alla definizione di insolubile dove per 1g di sostanza non sono sufficienti 10L.

IDROCORTISONE SODIO SUCCINATO

Hydrocortisone sodium succinate

 $C_{28}H_{33}NaO_8$ M_r 484,5**DEFINIZIONE**

L'idrocortisone sodio succinato contiene non meno del 97,0 per cento e non più dell'equivalente del 103,0 per cento di 11β,17α-didrossipregn-4-en-3,20-dione-21-ile succinato sodico, calcolato con riferimento alla sostanza essicata.

CARATTERI

Polvere amorfa bianca o quasi bianca, igroscopica, molto solubile in acqua, moderatamente solubile in alcool, poco solubile in etanolo, molto poco solubile in acetone, praticamente insolubile in cloroformio e in etere.

Esempio di farmacopea italiana: quindi i caratteri descrivono l'aspetto, molto solubile in acqua essendo un sale, moderatamente ecc.; può essere utile anche questo per il riconoscimento, perché una volta riconosciuta la sostanza, normalmente nelle esercitazioni in laboratorio, vi sono una serie di solventi a disposizione, ma difficilmente ci si attarda a solubilizzare in solventi organici, mentre per concludere la ricerca si può vedere qual è la solubilità in solventi organici indicati in farmacopea.

Fattori che influenzano la solubilità e la velocità di dissoluzione

I fattori che influenzano la solubilità e la dissoluzione sono due cose diverse. La solubilità è la capacità di una sostanza, di un soluto di sciogliersi in un solvente; la dissoluzione invece è proprio il fenomeno con cui la sostanza si scioglie in un determinato solvente, ed è data alla sua forma cristallina amorfa, alla granulometria, solitamente si sa che le sostanze più sono in forma polverizzata e più velocemente si solubilizzano a parità di solubilità: la polvere si solubilizza prima perché l'area superficiale della sostanza a contatto con il solvente è molto maggiore e quindi le interazioni avverranno molto più velocemente.

Fattori che influenzano la solubilità:

1. Interazioni intermolecolari che si vanno a realizzare tra le molecole della sostanza e le molecole del solvente; è nota la definizione "il simile scioglie il simile", perché sostanze con caratteristiche chimiche e solventi uguali avranno più possibilità di solubilizzarsi.
2. La temperatura è un fattore importante per la solubilità, perché solitamente si hanno a disposizione sostanze che si sciolgono endotermicamente, cioè acquistando energia, e quindi se si fornisce calore si favorisce questo processo.
3. La pressione influenza solo la solubilità dei gas-liquidi, cioè aumenta la solubilità dei gas-liquidi; per cui un esempio è la bottiglia di acqua gasata;

fattori che influenzano la Velocità di dissoluzione:

1. La dissoluzione, il processo di solubilizzazione, aumentando l'agitazione aumenta la velocità di dissoluzione;
2. La temperatura aumenta la velocità di dissoluzione;

3. La granulometria è importante perché diminuendo la granulometria si aumenta il contatto fra soluto e solvente e quindi la sua solubilità.



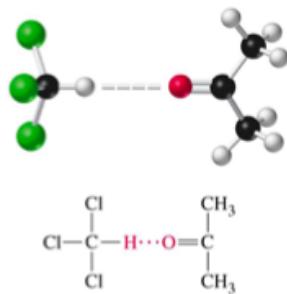
Soluti

Sono le caratteristiche dei soluti e solventi a determinare la solubilità negli uni o negli altri. Vi sono diversi tipi di soluto che possono essere a disposizione:

1. I soluti molecolari: sono quei soluti che sono costituiti da molecole associate fra di loro tra forze attrattive di tipo uguale. Un soluto molecolare viene definito tipicamente A-A;
2. Soluti ionici: Sali, per esempio il cloruro di sodio. Gli ioni sono disposti in maniera simmetrica nel reticolo cristallino sono tenuti insieme fra di loro da attrazioni elettrostatiche.
3. Soluti macromolecolari: anche detti polimeri, in cui le molecole sono tenute insieme da legami covalenti. Per esempio i derivati del glucosio a lunghissima catena da cui si ottiene ad esempio l'amido

Soluti molecolari

Possono essere di tipo solido o di tipo liquido. Ad esempio si considerano 2 idrocarburi, etano ed eptano che sono tenuti insieme da forze di London, forze dipolo indotto-dipolo indotto, in cui gli elettroni presenti nel guscio di una sostanza sono perturbati da quelli presenti nell'altra formando



solido, con B il liquido.

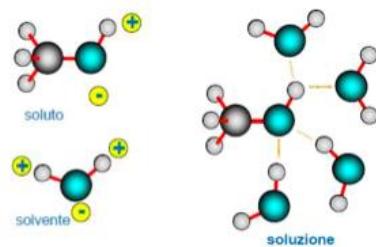
dipoli. Un altro esempio è quello di cloroformio e acetone, due liquidi che sono miscibili e che sono tenuti assieme da un legame H.

Si possono evidenziare due fattori per spiegare la solubilità di una sostanza nell'altra: il primo è il cosiddetto fattore entropico che è l'unico fattore in grado di agire nel caso di gas che sono miscibili in tutte le proporzioni; l'altro fattore è quello rappresentato dalle forze idrattazione che possono avvenire fra due sostanze. Con A si intende un

La sostanza solida A è tenuta insieme dalle forze di attrazione A-A; il liquido B è tenuto insieme dalle forze di attrazione B-B. Se la media di queste attrazioni è superiore di quella che si instaura fra la molecola A e B, le sostanze non tenderanno a solubilizzarsi; se invece l'energia di solvatazione, quindi il fatto che la molecola B è in grado di creare dei legami con A è maggiore delle interazioni A-A e B-B, le molecole di soluto cominciano a disperdersi nel solvente e saranno solvatate per un solvente X e idratate nel caso del solvente H₂O. torna fuori che il simile scioglie il simile, quindi il solvente per solubilizzare il soluto deve essere in grado di competere con le forze intermolecolari di coesione e quindi queste caratteristiche dipenderanno dalle caratteristiche delle sostanze.

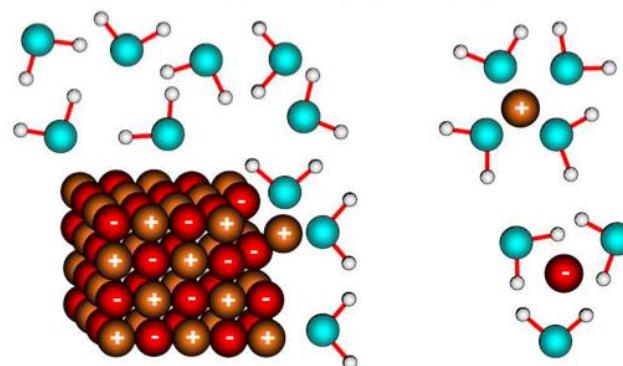
Si può prendere in esempio il caso di solubilizzazione dell'alcool metilico in acqua. l'alcool ha una piccola porzione alifatica, e l'OH in cui si ha la separazione di carica: l'ossigeno tende ad attrarre su di sé gli elettroni di legame e quindi la carica negativa, l'idrogeno assume una carica positiva e questo permetterà di dare interazioni fra solvente e soluto formando una cavità nel solvente che possa accogliere il soluto provocando la solubilizzazione.

Alcol metilico in acqua



Soluzioni ioniche

Altro caso quello in cui i soluti sono soluti ionici. Sono tenuti insieme da legami ionici che sono piuttosto forti e quindi la solubilizzazione del solvente ionico può avvenire solo in presenza di solventi polari. In questo caso è coinvolta nel processo di solubilizzazione sia l'energia reticolare del solido e sia l'energia di attrazione dipolo-dipolo che si viene a creare fra le molecole di soluto e le molecole di solvente che dovranno essere orientate reciprocamente nella maniera adeguata per accogliere il soluto. L'esempio è quello del cloruro di sodio, in cui si ha un cristallo ionico organizzato con una discreta forza di legame; le molecole di acqua si dispongono attorno agli ioni del cristallo per solvatarli. Il sodio verrà circondato dalle molecole di acqua orientate dalla parte



dell'ossigeno, il cloruro invece sarà circondato dalla parte degli idrogeni. In questo caso si parla di idratazione, fenomeno che dipenderà dal bilancio energetico fra energia reticolare del composto: se questa viene superata dall'energia di idratazione avremo il fenomeno della solubilità.

Due sostanze che hanno diversa solubilità sono il glucosio e l'acido stearico. Il glucosio è una molecola ricca di ossidrili e quindi l'acqua sarà in grado di formare legami, perché l'energia di idratazione soluto solvente sarà elevata e riuscirà a vincere l'energia intermolecolare del solido. Diversa è la situazione dell'acido stearico, perché questo è costituito da una lunga catena carboniosa che può dare legami a H, quindi questa non si solubilizzerà in acqua ma in solventi quali ad esempio l'etere.

La solubilizzazione viene definita un processo a 3 stadi:

1. La separazione delle molecole di soluto; processo endotermico che richiede energia: A-A devono separarsi;
2. La separazione delle molecole di solvente: B-B devono separarsi, anche questo processo endotermico, entrambi i delta H sono positivi;
3. La formazione di nuovi legami soluto-solvente, è un processo esotermico, delta H₃ è negativo.

Il processo generale è descritto dalla formula:

$$\Delta H_{sol} = \Delta H_1 + \Delta H_2 + \Delta H_3$$

Se il delta H è negativo la solubilizzazione è negativa perché abbiamo vinto le forze coesive; se il delta H è positivo non si avrà il fenomeno della solubilizzazione.

Ad esempio etanolo ed H₂O formano legami ad H, quindi il delta H₃ è un valore negativo numericamente grande; esano e H₂O hanno pochissime similitudini fra di loro: le molecole di esano sono legate fra di loro da forze di van der Waals, l'acqua invece solvente polare, quindi fra di loro non riescono a interagire.

Lezione di Analisi dei Medicinali III #2 del 3/03/2023

Docente: Alessandra Locatelli

Sbominatore: Francesca Mignogna

Revisore: Francesco Damiano

SOLVENTI

La solubilità dipende dalle interazioni soluto-solvente, per cui è fondamentale conoscere le caratteristiche del solvente, così da poter scegliere quello più adatto.

Il solvente più utilizzato è l'acqua, sia per disponibilità che per economicità; in laboratorio vengono utilizzati anche solventi organici.

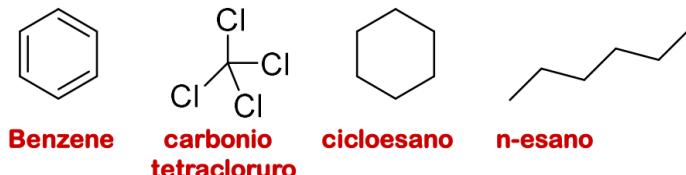
Una classificazione generale li distingue in base a :

- Polarità
- Formazione di legami H
- Proprietà dissocianti

Polarità (μ)

Si parla di solventi *polari* o *apolari* a seconda della presenza o meno di un momento dipolare permanente.

Solventi con $\mu = 0$ sono in grado di solubilizzare composti apolari o poco polari, quindi aventi forze molecolari di tipo Van der Waals – London.



Solventi con $\mu > 0$ sono in grado di solubilizzare composti polari e riescono ad esplicare la loro azione mediante legami dipolo-dipolo.

Un esempio è la solubilizzazione dell'acido stearico nell'etere etilico poiché strutturalmente simili.



Altri solventi polari sono:

- Acqua: solvente universale, polare e protico; ha un elevato μ ($\mu = 1.84$) e un'elevata ϵ ($\epsilon = 78, 5$)
- Metanolo: mediamente polare e protico ($\mu = 1,69$; $\epsilon = 33$)
- Acetone: polare ma aprotico, per cui difficilmente potrà creare legami H perché non ha idrogeni legati ad atomi molto elettronegativi ($\mu = 2,7$; $\epsilon = 21$)

Nei solventi polari si sciolgono soluti polari o ionici, mentre sono completamente insolubili composti apolari o poco polari; le interazioni soluto-solvente sono generalmente dovute ai momenti di dipolo.

Per quanto riguarda i solventi *apolari*, non hanno momento dipolare ed hanno una bassa costante dielettrica.

Il n-esano ne è un ottimo esempio, assieme agli idrocarburi alogenati (tra questi vi è il cloroformio, in laboratorio sostituito col diclorometano per la sua tossicità; ha un discreto momento polare e una bassa costante dielettrica, per cui solubilizza sostanze mediamente polari, ma non i sali).

Generalmente in solventi apolari si sciolgono soluti apolari (il simile scioglie il simile), quindi quelle sostanze in cui la coesione interna è dovuta principalmente a forze di tipo van der Waals – London.

Per definire meglio il concetto di solubilità e quindi la capacità solubilizzante di una sostanza, è stato introdotto il **parametro di Hildebrandt** (δ): questo tiene conto del momento di polare ma anche di tutte le forze di coesione.

ΔH è l'**entalpia di vaporizzazione**

R è la **costante dei gas**

V_m è il **volume molare**

δ è la **radice quadrata della densità di energia coesiva**:

$$\delta = [(\Delta H - RT)/Vm]^{1/2}$$

È un parametro legato quindi al calore di vaporizzazione, ossia la quantità di energia necessaria affinché una sostanza passi dallo stato liquido allo stato di vapore, a sua volta legato alla densità di energia coesiva.

Per *forze di coesione* si intende:

- Forze di orientazione (o)

- Forze di dispersione (d)
- Forze di induzione (ind)
- Formazione di legami a idrogeno (a e b)

$$\delta_{\text{tot}} = \delta_{\text{o}} + \delta_{\text{ind}} + \delta_{\text{d}} + \delta_{\text{a}} + \delta_{\text{b}}$$

Affinché possa avvenire la dispersione del soluto nel solvente, le molecole del solvente dovranno avere un'energia di coesione simile a quelle del soluto, per cui si va a confrontare i valori di δ dell'uno e dell'altro scegliendoli in modo che abbiano valori il più possibile simili tra loro.

Legame ad idrogeno

I solventi si distinguono in protici e aprotici a seconda che siano in grado o meno di formare legami H.

- Protici: possiedono un ossigeno legato ad un H, che rende acido il protone, il quale sarà in grado di formare ponti H e quindi di solvatate cationi e anioni. (acqua, etanolo...)
- Aprotici: tendenzialmente solvatano meglio i cationi rispetto agli anioni (acetone, THF...)

La capacità di un solvente di dare legami H fa sì che composti poliosidrilici siano molto solubili, un esempio ne sono gli zuccheri (molto solubili in solventi protici), ma al contrario impedisce la dissoluzione di composti come gli alcaloidi.

Non tutti i composti contenenti un gruppo ossidrilico sono in grado di solubilizzare le stesse sostanze che solubilizza l'acqua, perché bisogna tener conto della lunghezza della catena carboniosa legata alla funzione ossidrilica: prendendo in esempio gli alcoli, se i primi termini della serie omologa si solubilizzano bene in acqua, il n-ottanolo è praticamente immiscibile con l'acqua per effetto schermante della lunga catena alifatica nei confronti dell'ossidrile alcolico. Si fa riferimento in questo caso al coefficiente di ripartizione, che indica la capacità di una molecola di ripartirsi tra questi due solventi, e quindi la capacità di poter penetrare o meno le membrane biologiche (che non possono essere attraversate da sostanze idrofile).

Potere dissociante

È legato alla costante dielettrica (ϵ) del solvente, ossia alla sua capacità di tenere separate le coppie ioniche. L'effetto dissociante di un solvente ad elevata costante dielettrica risulta evidente se si considera che le forze coulombiane tra due particelle di carica q_i e q_j sono inversamente proporzionali ad ϵ secondo la relazione:

$$F = \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}^2}$$

In solventi con alta ϵ i soluti esistono come ioni dissociati, mentre insolventi con bassa ϵ i soluti esistono solo come coppie ioniche. In solventi con ϵ intermedia la proporzione coppie ioniche/ioni dissociati varia.

Relazioni struttura – solubilità

Vi è una relazione inversa tra punto di fusione di una sostanza (che dipende dalla sua struttura) e solubilità: tanto più sarà alto il punto di fusione e tanto meno la sostanza sarà solubile, e viceversa.

Questo perché il punto di fusione dipende esso stesso dalle relazioni intermolecolari.

(relazione valida entro un gruppo di composti strutturalmente simili)

Condizioni per la solubilità in acqua

- Basso peso molecolare (non più di 5 atomi di C)
- Presenza di gruppi polari (OH, NH₂, C=O)

Nel caso di anidridi e cloruri acidi, che reagiscono chimicamente con l'acqua, non si parla più di solubilizzazione.

Ammidi ed esteri non sono solubili in acqua.

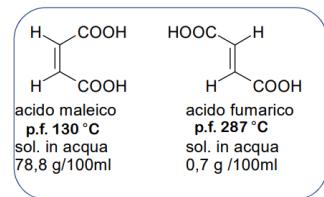
Fattori strutturali che influenzano la solubilità di una molecola:

- PESO MOLECOLARE: maggiore è il peso molecolare, minore è la solubilità (quindi maggiore è il punto di fusione); questo perché un peso molecolare elevato prevede interazioni intermolecolari più numerose, per cui più è grande il soluto e più difficile sarà per il solvente creare una cavità adeguata per poterlo solubilizzare.

Esempi: la formaldeide è solubile in acqua, la paraldeide (polimero della formaldeide) è insolubile; il glucosio è solubile, amido e cellulosa (polimeri) sono insolubili. Il fenolo è solubile in acqua, ma se sottoposto a bromurazione diventa insolubile per aumento di peso molecolare.

In caso di eteroatomi (O, N, S), questi sono in grado di dare legami a H: nonostante aumenti il peso molecolare, la solubilità della molecola aumenta poiché aumentano i gruppi polari.

- ISOMERIA GEOMETRICA: gli isomeri trans sono termodinamicamente più stabili, quindi la loro solubilità sarà minore (e il loro punto di fusione più elevato).
- ISOMERIA STRUTTURALE: gli isomeri lineari sono meno solubili dei loro isomeri ramificati, poiché le strutture ramificate hanno minori possibilità di interazioni intermolecolari. Inoltre il composto ramificato tende ad assumere una forma che si avvicina alla forma di una sfera, quindi con un'area superficiale ridotta.
- LEGAMI H: l'introduzione in una molecola di gruppi in grado di formare legami H la rende meno solubile se questi legami avvengono a livello intramolecolare.

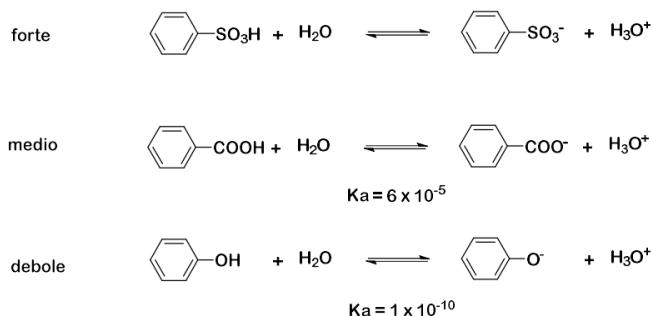


Esempi: Acido benzoico (solido, poco solubile in acqua, molto solubile in alcol e etere), il suo estere corrispondente è il metile benzoato (liquido perché ha meno interazioni intramolecolari, insolubile in acqua, molto solubile in alcol e etere);

Fenolo (solido, solubile in acqua, solubilissimo in alcol, solubile in etere), per aggiunta di un gruppo OH si ottiene la resorcina (solido, con punto di fusione superiore al fenolo, solubilissimo in acqua e alcol e solubile in etere);

Acido p-idrossibenzoico (solido, punto di fusione più alto dell'acido salicilico del quale è un isomero, moderatamente solubile in acqua e alcol, solubile in etere), la sua solubilità ridotta rispetto all'acido salicilico viene ulteriormente diminuita nel corrispondente metile p-idrossibenzoato (solido, poco solubile in acqua, molto solubile in alcol, solubile in etere).

Classificazione degli acidi (acidi forti e acidi deboli)

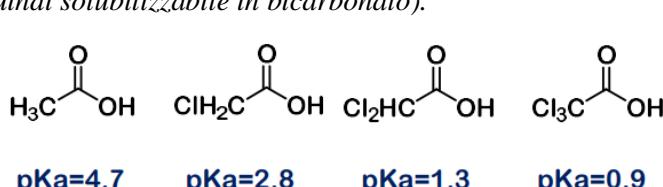


solventi adeguati per la loro dissoluzione.

L'acidità o la basicità di questi composti dipende anche dagli **effetti induttivi e di risonanza**:

negli acidi carbossilici la carica negativa dovuta alla perdita del protone può essere distribuita su entrambi i carbonili, come anche i fenoli hanno una maggiore acidità rispetto agli alcoli perché se ne possono scrivere delle strutture di risonanza, e i nitrofenoli sono più acidi dei fenoli; le immidi invece sono meno acide.

Esempi: mentolo (alifatico, solubile in alcol, insolubile in acqua, meno acido del fenolo corrispondente); timolo (insolubile in acqua ma solubile nelle basi per la possibilità di strappare un protone e avere delle strutture risonanti); fenilbutazone (composto insolubile in acqua ma solubile nelle basi per la presenza di un protone acido tra due carbonili); tribromofenolo (insolubile in acqua per aumento di peso molecolare rispetto al fenolo a seguito di bromurazione, è acido e quindi solubilizzabile in bicarbonato).



Nell'immagine si nota come aumenta l'acidità dell'acido acetico quando gli H vengono sostituiti con alogenzi (in questo caso Cl)

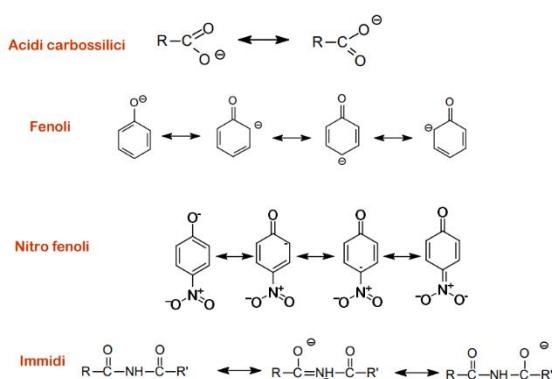
Per quanto riguarda le ammine, le aromatiche saranno stabilizzate da diverse forme di risonanze, quindi meno basiche delle corrispondenti alifatiche.

Anche gli **effetti sterici** influenzano la basicità delle aniline:

considerando la dietilanilina, alla quale si aggiungono dei gruppi alifatici che creano ingombro sterico, si ottengono aniline a maggiore basicità: l'amminogruppo non si dispone più in modo complanare all'anello aromatico, per cui gli elettroni delocalizzano meno facilmente. Ne consegue che la base libera sarà meno stabilizzata per risonanza rispetto alla non sostituita.

Solubilità e carattere acido-basico

Alcune sostanze insolubili in acqua possono essere solubilizzate in acidi o in basi. Nei composti farmaceutici spesso si trovano acidi o basi deboli (che non dissociano completamente in acqua), per cui bisogna saper trovare dei



Solubilità in solventi basici

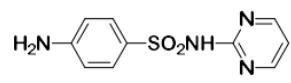
I composti a carattere acido si possono solubilizzare in due diverse tipologie di solventi: NaOH e NaHCO₃.

NaOH scioglie tutte le sostanze acide, sia acidi deboli (acidi carbossilici) che forti (fenoli);

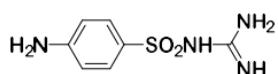
NaHCO_3 scioglie solo acidi deboli (acidi carbossilici), formando i corrispondenti Sali sodici che sono solubili in acqua .

[fanno eccezione i Sali di acidi grassi a lunga catena, che non possono essere solubilizzati in acqua]

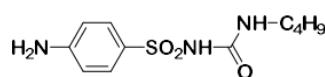
Esempi:



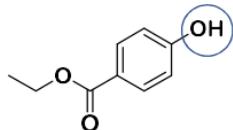
Sulfadiazina: solubile sia in acidi che in basi, a carattere anfotero. Il gruppo basico è rappresentato dal gruppo amminico aromatico primario, il gruppo acido è rappresentato dal gruppo sulfonammidico. Il protone può essere strappato dalla molecola perché la carica negativa ottenuta è delocalizzata tra i due O.



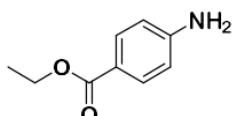
Sulfaguanidina: sulfammidico che non solubilizza in una base a causa del gruppo guanidinico, che è basico. Caratterizzante per il riconoscimento del composto.



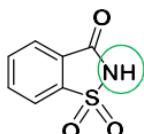
Tolbutamide: ipoglicemizzante che può solubilizzarsi sia negli acidi che nelle basi.



p-idrossibenzoato di etile : insolubile in acqua ma solubile in NaOH per la presenza dell'OH fenolico che può essere salificato.



Benzocaina: insolubile in acqua, solubile in acidi perché il gruppo amminico aromatico primario può essere salificato.



Saccarina: insolubile in acqua, ma il suo sale sodico è solubile. NH è debolmente acido poiché la carica negativa che si ottiene per perdita di quel H può essere delocalizzata sia sull'O che sull'SO₂.

SAGGI DI SOLUBILITÀ

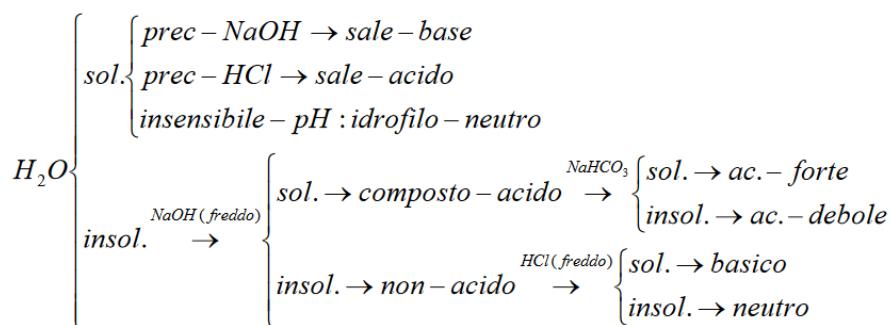
La solubilità delle sostanze è un parametro molto importante sia per l'assorbimento di quelle ad uso farmaceutico sia per le reazioni di identificazione che sono per lo più condotte in soluzione. La solubilità dipende dalle interazioni intermolecolari che si instaurano tra le molecole del soluto e quelle del solvente e il parametro di Hildebrand permette di tenere in considerazione tutte queste forze.

I saggi di solubilità (che condurremo in laboratorio) permettono di valutare l'identità della sostanza, infatti la stessa solubilità ci dà un'indicazione del tipo di sostanza. Per valutare la solubilità delle sostanze si utilizzano alcuni solventi, che nell'ordine sono:

1. **Acqua**: solubilizza moltissime sostanze e può essere utilizzata sia a freddo che a caldo (la temperatura, infatti, aumenta la solubilità della sostanza, nonché la velocità di solubilizzazione);
2. **NaOH 5%**: solubilizza le sostanze acide sia forti che deboli*
* normalmente in organica definiamo forti gli acidi carbossilici, che però hanno K_a da acido debole → chiamiamo forte e debole ciò che in realtà è debole e molto debole);
3. **NaHCO₃ 5%**: solubilizza gli acidi molto deboli;
4. **HCl 5%**: solubilizza le basi;
5. **H₂SO₄ conc**: solubilizza le basi.

Tutte queste prove vanno condotte a temperatura ambiente, fatta eccezione per l'acqua che può essere effettuata anche a caldo (bagnomaria).

Schema generale



Saggi di solubilità in acqua

La solubilità in acqua è la prima prova che si conduce e permette di dare una prima distinzione tra sostanze *solubili in acqua* e *insolubili*.

Solubile in acqua

La sostanza può essere il ***sale di un acido***, il ***sale di una base*** o un ***composto neutro***.

Per approfondire l'identità ed il carattere di una sostanza (tra queste tre possibilità) si valuta il pH:

- se il pH è acido, siamo in presenza di un acido;
- se il pH è basico, siamo in presenza di una base;
- se il pH è neutro, lo si modifica aggiungendo un acido o una base:

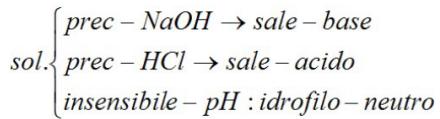
→ si aggiunge *HCl*: se otteniamo un precipitato la sostanza disciolta è un ***sale di un acido*** in ambiente acido diminuisce la sua solubilità e precipita.

→ si aggiunge *NaOH*: se otteniamo un precipitato la sostanza disciolta è un ***sale di una base*** in ambiente basico diminuisce la sua solubilità e precipita.

(queste prove vanno condotte su aliquote di soluzione diverse).

Se per aggiunta sia dell'acido che della base non si ha alcun precipitato allora la sostanza è *neutra*.

[*Alcuni metodi di riconoscimento della Farmacopea riguardo ai Sali danno indicazione di modificare il pH per ottenere un precipitato che, una volta essiccato, viene sottoposto a punto di fusione. In laboratorio la procedura verrà realizzata solo una volta (come procedura dimostrativa) perché l'essiccazione richiede tempo.*]

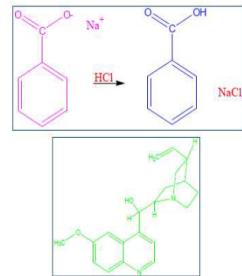


Soluzione inalterata:

- composto neutro idrosolubile (glucosio)
- composto acido (acido citrico, acido tartarico)
- composto basico e relativi Sali (citrati o tartrati) solubili in acqua

Formazione di precipitato:

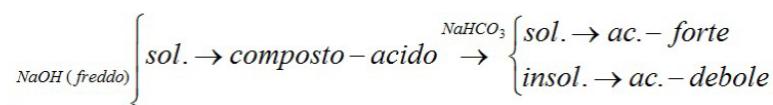
- *Sodio benzoato* (sale dell'acido benzoico): per aggiunta di HCl si ha la precipitazione dell'acido benzoico (poco solubile);
 - *Chinina solfato* (sale di una base): per aggiunta di NaOH si forma la base libera (chinina, insolubile), che precipita.
- * questi Sali sono prodotti proprio con l'obiettivo di solubilizzare la sostanza di partenza.



Insolubile in acqua

Se la sostanza è insolubile in acqua si va a valutare la solubilità in ambiente basico: se si scioglie allora la sostanza è **acida**. Il solvente utilizzato è **NaOH 5%**.

Es: acidi carbossilici, acidi solfonici, composti 1,3-dicarbonilici, ammidi, fenoli

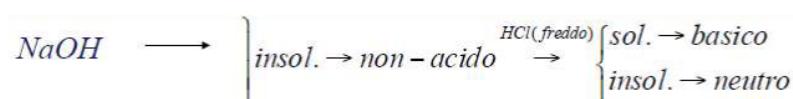


Si va poi a distinguere se si tratta di un *acido debole* o un *acido forte* mediante l'aggiunta di **NaHCO₃**:

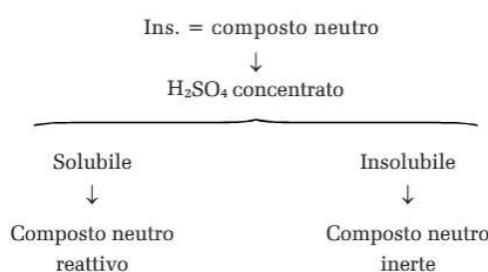
- se la sostanza è solubile in NaHCO₃ si tratta di un *acido forte* (acidi carbossilici e solfonici, nitrofenoli);
- se la sostanza non si solubilizza in NaHCO₃ si tratta di un *acido debole* (fenolo, ammide);

Se la sostanza è insolubile in NaOH si va a valutare la solubilità in ambiente acido: se si scioglie allora la sostanza è **basica**. Il solvente utilizzato è **HCl 5%**.

Es. ammine alifatiche e aromatiche, che danno luogo alla formazione di Sali



Se il composto è risultato insolubile in ambiente acquoso sia basico che acido, si tratta di un composto **neutro** ed è utile saggiare la sua solubilità in **H₂SO₄ concentrato**:



- se è solubile: la sostanza contiene doppi legami, sistemi aromatici attivati... → questa aggiunta dà luogo a una reazione (es. di solfonazione, addizione a doppi legami, disidratazione), quindi si ha una modifica chimica della sostanza → si tratta di un **composto neutro reattivo**.
- se è insolubile: siamo in presenza di un **composto chimicamente inerte**: paraffine, idrocarburi aromatici non attivati,...

Alcune sostanze possono rivelarsi solubili sia in ambiente acido che in ambiente basico: sono i composti ***anfoteri***.

Es. amminoacidi a basso peso molecolare e sulfamidici (ad eccezione della sulfaguanidina).

Al termine delle prove di solubilità in ambiente acquoso si possono effettuare prove di solubilità in *solventi organici* come etere, alcol e cloroformio.

Queste prove possono essere condotte anche per avere un'ulteriore conferma dell'identità della sostanza che abbiamo individuato, confrontando i risultati ottenuti con la solubilità riportata in Farmacopea.

Mettendo in relazione i risultati che si ottengono dalle varie prove di solubilità si possono ottenere alcune indicazioni generali:

- solubile in acqua + solubile in etere = la parte polare e non polare della molecola si compensano (amminofenazone)
- solubile in acqua + insolubile in etere = prevale la componente polare (zuccheri, acido citrico)
- insolubile in acqua + solubile in etere = si ha un composto poco polare (es. timolo e mentolo)
- insolubile in acqua + insolubile in etere = composto con elevato peso molecolare ed alto punto di fusione (forze intermolecolari molto forti);
* solubilità e punto di fusione hanno relazione inversa.

$$H_2O \left\{ \begin{array}{l} \text{sol.} \rightarrow \text{etero} \left\{ \begin{array}{l} \text{sol.} \rightarrow \text{composto nel quale la parte polare e quella non polare} \\ \text{si compensano (amminofenazone)} \\ \text{insol.} \rightarrow \text{prevale la parte polare (zuccheri, ac. tartarico, citrico, ecc.)} \end{array} \right. \\ \text{insol.} \rightarrow \text{etero} \left\{ \begin{array}{l} \text{sol.} \rightarrow \text{composto poco polare (timolo, mentolo)} \\ \text{insol.} \rightarrow \text{composto ad alto peso molecolare e alto p.f. con} \\ \text{alte forze intermolecolari} \end{array} \right. \end{array} \right.$$

METODI CHIMICI DI ANALISI

In laboratorio, l'identificazione delle sostanze viene effettuata mediante metodi chimici e tecniche che sfruttano le costanti fisiche dei composti o le loro caratteristiche spettroscopiche.

Le sostanze possono essere di 3 diverse tipologie: *organiche, inorganiche e organo-metalliche solide o liquide*

I metodi di identificazione seguono un percorso molto specifico che prende il nome di *sistematica*.

1. *Analisi elementare* della sostanza: → saggi di combustione;
→ analisi elementare qualitativa;
2. *Reazioni di riconoscimento di cationi e anioni*: → saggio alla fiamma (cationi);
→ reazioni in soluzione acquosa (cationi e anioni).
*per le sostanze inorganiche e organometalliche.
3. *Reattività dei gruppi funzionali* (insaturazioni, alcoli, fenoli, aldeidi, chetoni, ammine);
4. *Costanti fisiche*: → punto di fusione e potere rotatorio (se la sostanza è solida e chirale);
→ densità e indice di rifrazione (se la sostanza è liquida).

Si andrà a confermare l'identità della sostanza mediante spettroscopia UV e IR per le sostanze per cui è prescritto. Infine, si controlla se la Farmacopea prescrive altre reazioni/saggi di identificazione per confermare definitivamente l'identità della sostanza.

Esame organolettico

Il primissimo esame che si deve condurre della sostanza è quello organolettico, che consiste nel valutarne le caratteristiche esteriori quali:

- *Stato fisico* (solido cristallino o amorfico, liquido);
- *Viscosità* (se liquido);
- *Colore* (incolore se sono liquide; bianche o cristalli incolori se sono solide; in rari casi avremo sostanze colorate; se il colore non è netto/omogeneo allora la sostanza potrebbe aver subito delle alterazioni)
- *Odore* (con attenzione, la sostanza potrebbe essere tossica!);
- *Sapore*.

Sostanze liquide

Le sostanze liquide possono essere sia *sostanze singole* che *miscele di composti* (essenze, olii).

Possono essere distinti in base a:

- Densità (tabulata);
- Indice di rifrazione;
- Spettro IR per le sostanze liquide consistenti in un solo composto;
- Potere ottico rotatorio;
- TLC o GC per le essenze e olii

Sostanze solide

Per le sostanze solide, l'analisi organica/inorganica qualitativa prevede un *approccio sistematico* per l'individuazione dell'identità della sostanza incognita mediante **tre fasi** consecutive.

1. *Saggi preliminari*: per individuare caratteristiche generali di comportamento e indirizzare la ricerca verso un gruppo più ristretto di composti.
2. *Identificazione dei gruppi funzionali* (sostanze organiche): individuare la categoria di composti organici alla quale appartiene la sostanza (per es. acidi, chetoni, ammine, alcoli.....etc.) e/o identificazione del catione e dell'anione per sostanze inorganiche o organometalliche.

3. Riconoscimento dell'identità della molecola mediante saggi chimici specifici e caratteristiche fisiche individuali (es. il punto di fusione, IR, potere rotatorio specifico ecc) e conferma con saggi da Ph.Eur.

Saggi preliminari

1. Combustione su cocci di porcellana

Questo saggio permette di valutare se la sostanza che abbiamo a disposizione è *organica*, *inorganica* o *organometallica*: queste tre tipologie di sostanza hanno un diverso comportamento quando sono sottoposte a intenso riscaldamento.

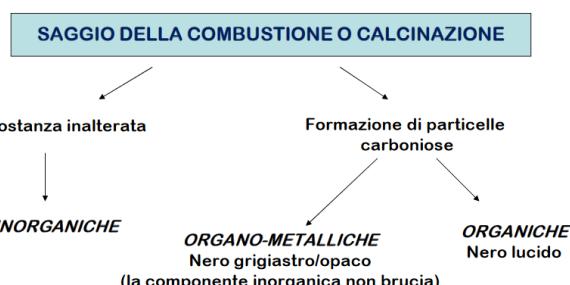
2. Saggio di Lassaigne

Questo saggio è specifico per le sostanze organiche e organometalliche e permette di valutarne la composizione elementare soprattutto per quanto riguarda azoto e zolfo.

Combustione su cocci di porcellana

Si depone una piccola quantità di sostanza sul coccio di porcellana, si posiziona sulla fiamma e si osserva quale cambiamento subisce → tale cambiamento è indicativo del tipo di sostanza.

- La sostanza **inorganica non brucia**, rimane **inalterata**; ci sono però delle *eccezioni* che sono fondamentali per l'identificazione.
- La sostanza *organica* o *organometallica* **brucia** lasciando residui carboniosi (formazione di particelle carboniose). Il residuo lascia dall'organometallica è *nero/grigiastro/opaco* e non va via perché il metallo non brucia (rimane sul coccio), mentre quello lasciato dalla sostanza organica è *nero-lucida* (riflette la luce). Inoltre, se si sottopone le sostanze organiche a un prolungato riscaldamento, queste possono anche sparire dal coccio.
* in questo caso bisogna però fare attenzione perché ci sono delle sostanze inorganiche che, sottoposte a riscaldamento, sublimano (solido-gas): questo però avviene dopo un breve riscaldamento, quindi non bisogna confondere i due fenomeni.



Comportamenti caratteristici di alcune sostanze

- *Sulfamidici* (organica): rigonfiano perché liberano anidride solforosa;
- *Zuccheri* (organica): rigonfiano poiché liberano una notevole quantità di CO₂ (caramellano) si continua il riscaldamento fino a residuo nero.
- *Calcio gluconato* (organo-metallica): forte rigonfiamento della sostanza (come un pop-corn), lascia un residuo voluminoso bianco-grigiastro (il catione non brucia).
- *Ammonio cloruro* (inorganica): sublima;
- *Zinco ossido* (inorganica): dovrebbe rimanere inalterata, ma ingiallisce a caldo e a freddo ritorna bianco;
- *Bismuto carbonato basico* (inorganica): si decompone colorandosi di giallo-arancione, a freddo torna giallo.
- *Sodio tiosolfato* (inorganica): brucia con una fiamma azzurra, lascia un residuo giallo e sviluppa anidride solforosa (odore che non sentiamo perché lavoriamo sotto cappa).

Analisi qualitativa inorganica

Se siamo in presenza di una sostanza inorganica o organometallica si passa ai saggi *dell'analisi qualitativa inorganica*.

- Reazioni di riconoscimento dei *cationi*:

→ Saggio alla fiamma;
→ Saggi per via umida:

- reazioni di *precipitazione*;
- reazioni di *riduzione*;
- reazioni di *formazione di complessi*.

- Reazioni di riconoscimento degli *anioni*:

→ Reazioni *acido base*;
→ Reazioni di *precipitazione*.

Saggio alla fiamma

Si immerge il filo di platino in HCl concentrato (6N), che permette migliore adesione dei cristalli del sale al filo e che converte il sale nel corrispondente cloruro, più volatile: $\text{CaCO}_3 + 2\text{HCl} \rightarrow \text{CaCl}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ gli elettroni del catione metallico vengono eccitati dall'energia termica e rientrano energia per tornare allo stato fondamentale, emettendo una radiazione di lunghezza d'onda e colore caratteristico.

Il saggio di colorazione alla fiamma permette di verificare la presenza di ioni di metalli *alcalini* e *alcalino-terrosi*.

Calcio → rosso a sprazzi;

Potassio → violetto;

Sodio → giallo molto persistente;

Bario → verde.

La visibilità della colorazione, oltre che dal tipo di catione metallico, dipende anche dalla solubilità del sale nel suo complesso, e conseguentemente dalla sua capacità di formare una quantità apprezzabile di cloruro volatile: sali molto poco solubili (BaSO_4) formeranno solo una quantità molto piccola di BaCl_2 , e la colorazione verde sarà poco evidente.

* Quando si effettua la combustione sul coccio di porcellana della sostanza in esame, se è presente uno ione metallico è possibile osservare la caratteristica colorazione anche lambendo la sostanza con la fiamma (inclinando un po' il coccio); in questo modo possiamo avere già una prima indicazione della natura della sostanza e dello ione.

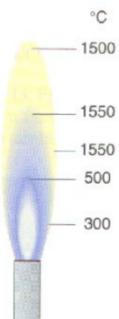
Fiamma

Nella fiamma della lampada Bunsen esistono diverse zone distinte per luminosità e temperatura:

- una zona centrale (cono freddo), costituita da gas incombusto;
- una zona intermedia molto luminosa (zona riducente), in cui avviene una combustione parziale;
- una zona esterna molto calda e poco luminosa (zona ossidante), in cui si completa la combustione.

Il massimo calore si ha a circa 2/3 di altezza, dove la temperatura può raggiungere i 1550°C.

Si introduce il filo metallico con la sostanza prima verso la base della fiamma, meno calda, dove volatilizzano facilmente solo i sali dei metalli alcalini (Li^+ , K^+ , Na^+), e poi si sposta il filo nella zona di fusione dove la temperatura più elevata permette la volatilizzazione anche dei sali dei metalli alcalino-terrosi.



Saggio per via umida: reazioni di precipitazione

Il *catione* è convertito in un *prodotto poco solubile* (bassa Kps) → precipitato come *idrossido*, *solfuro*, *carbonato*, *solfato*.

- Gli *idrossidi* sono composti solubili in ambiente acido:

- a pH neutro si ha la precipitazione dell'idrossido di alluminio;
- a pH > 7 precipita l'idrossido di zinco;
- a pH > 12 precipita l'idrossido di magnesio.

In ambiente fortemente basico alcuni idrossidi possono risolubilizzare per formazione di complessi a diversa stechiometria: $\text{Al(OH)}_3 + \text{OH}^- \rightarrow [\text{Al(OH)}_4]^-$.

- I solfuri sono precipitati per aggiunta di *solfuro di sodio*: $\text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{H}^+ + \text{HS}^- \rightarrow \text{H}^+ + \text{S}^{2-}$
 $\text{pK}_{\text{a}1} = 7; \quad \text{pK}_{\text{a}2} = 13.9.$

È necessario modulare il pH: a pH molto acidi (0.5-2) precipitano i solfuri meno solubili, a pH > 9 precipitano i solfuri più solubili (Zn^{2+}).

NB: si usa sodio solfuro e non tioacetamide.

- I carbonati sono solubili in ambiente acido, in alcuni casi si ha effervescenza.

Sono insolubili in ambiente basico.

Il carbonato di calcio ed il carbonato di bario precipitano a pH 9, mentre il carbonato di magnesio precipita a pH 10.

Alluminio

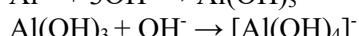
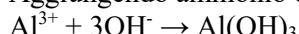
L'alluminio non produce colorazione alla fiamma.

Si solubilizza in acqua e si aggiunge HCl.

Si aggiunge sodio solfuro e non si ha la formazione di precipitato \rightarrow Al non precipita come solfuro.

Si aggiunge idrossido di sodio e si ha la formazione di un precipitato gelatinoso, caratteristico dell'alluminio; il precipitato si risolubilizza per aggiunta di ulteriore base (sempre NaOH).

Aggiungendo ammonio cloruro precipita nuovamente l'idrossido di alluminio.

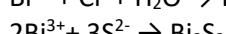
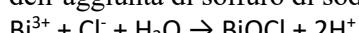


La solubilizzazione dell'idrossido si ha a pH tra 9 e 12; quando l'idrossido di alluminio si trova a pH tra 7,5 e 9 si ha la precipitazione dell'idrossido. Il massimo di precipitazione si ha intorno a pH 7.

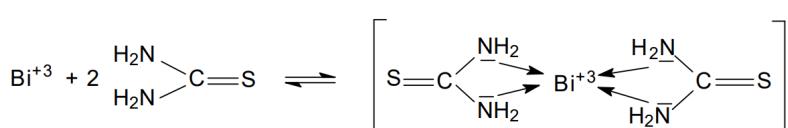
Bismuto

Il bismuto non dà colorazione alla fiamma.

Si ha aggiunta di acido cloridrico e si porta ad ebollizione (si forma bismuto ossicloruro). Si raffredda e si filtra; alla soluzione ottenuta si aggiunge acqua. Si ha la formazione di un precipitato giallo e a seguito dell'aggiunta di solfuro di sodio si ha una colorazione marrone.

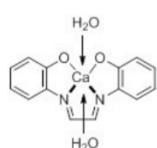
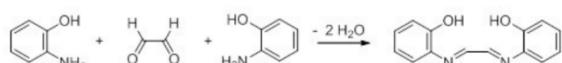


Alla soluzione di bismuto in ambiente acido può essere aggiunta urea: si ha la formazione di un complesso con colorazione giallo-arancio, per aggiunta di fluoruro di sodio non si ha decolorazione.

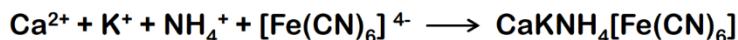


Calcio

Il calcio può essere analizzato per reazione con gliossalilidrossianile (si forma per reazione dell'o-idrossianilina con gliossale; si ha reazione di condensazione tra gruppo aldeidico del gliossale e gruppo amminico). La reazione in ambiente basico dà luogo alla formazione di un complesso, che si osserva quando alla soluzione è aggiunto cloroformio (usiamo cloruro di metiene): si forma uno strato di colore rosso.



Un'altra reazione per il riconoscimento del calcio è data dall'aggiunta di acido acetico e potassio ferrocianuro; la soluzione rimane incolore fino all'aggiunta di cloruro di ammonio che provoca la precipitazione del composto cristallino.



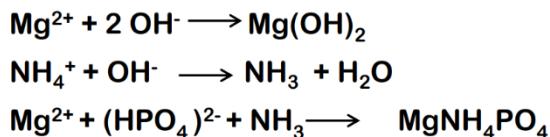
Magnesio

Sul filo di platino dà qualche sprazzo giallo.

Si scioglie in acqua e, per basificazione, si dà luogo alla formazione del relativo idrossido. Aggiungendo cloruro di ammonio si ha la dissoluzione del precipitato.

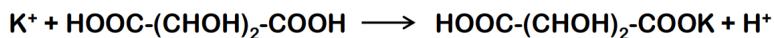
Se si aggiunge una soluzione di sodio fosfato bibasico si ha la formazione di un precipitato cristallino.

Questa reazione porta alla formazione di un precipitato microcristallino (spesso in piccola quantità).

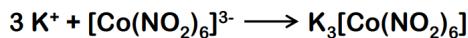


Potassio

Si riconosce tramite reazione con una soluzione di acido tartarico. La sostanza è sciolta in acqua; si aggiunge sodio carbonato e si scalda, non si ha la formazione di precipitato; si aggiunge sodio solfuro e non si ha formazione di precipitato. Si aggiunge acido tartarico e si raffredda; si ottiene un precipitato bianco di tartrato acido di potassio (in bagno di ghiaccio).



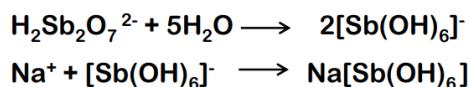
La sostanza può essere solubilizzata in acqua; si aggiunge acido acetico e la soluzione di sodio cobalto nitrito; si forma il potassio cobalto nitrito, un precipitato giallo-arancio.



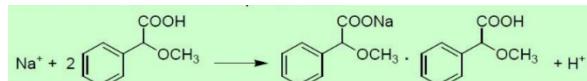
Sodio

La reazione prevede la precipitazione utilizzando potassio piroantimonato.

L'aggiunta di potassio carbonato non porta alla precipitazione. Dopo l'aggiunta di piroantimonato si bolle e raffredda (in ghiaccio); si forma un precipitato bianco di piroantimonato di sodio: esaidrossiantimonato di sodio. Strofinare con la bacchetta di vetro sulle pareti.

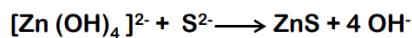
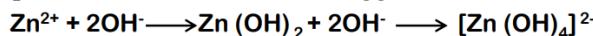


L'altra reazione che viene effettuata è la reazione che viene eseguita con aggiunta di reattivo *metossifenilacetico*; si forma un precipitato bianco cristallino che si scioglie in ammoniaca diluita (metossifenilacetato di sodio). Se si aggiunge carbonato di ammonio non si ha precipitato.



Zinco

Per aggiunta di soluzione concentrata di idrossido di sodio si forma il precipitato (idrossido di zinco) che per ulteriore aggiunta di una base si solubilizza (si forma un complesso come nell'alluminio). Aggiungendo cloruro di ammonio non si ha precipitazione (come invece accadeva nell'alluminio), ma rimane una soluzione limpida. Si ha precipitazione di sale bianco con aggiunta di sodio solfuro.



RICONOSCIMENTO DI ANIONI

Si sottopongono i composti a reazioni acido base. Quando si fa il riconoscimento dei cationi si potrebbe avere un'idea delle sostanze che si analizzano. Quando le sostanze non sono solubili, si controlla in farmacopea quali sono le sostanze che contengono il catione e si procede come descritto.

Esempio: nella monografia di un determinato composto può essere scritto di sciogliere il composto in acqua aggiungendo un acido o una base per facilitare la solubilizzazione.

REAZIONI DI RICONOSCIMENTO ANIONI

- REAZIONI ACIDO-BASE

Le reazioni acido base a cui si sottopongono i composti danno luogo a reazioni che permettono la loro identificazione.

-Carbonati e bicarbonati vengono riconosciuti grazie allo sviluppo di effervescenza tramite l'utilizzo di un gorgogliatore.



-Le basi deboli invece possono essere riconosciute aggiungendo una base forte che porta allo sviluppo di ammoniaca che colora di blu la cartina tornasole.

- REAZIONI DI PRECIPITAZIONE

Un alogenuro si riconosce tramite precipitazione in ambiente acido per acido nitrico e successivo trattamento con argento nitрат. Alogenuri possono essere cloruri, bromuri o ioduri. Si differenziano grazie all'aggiunta di ammoniaca.

I cloruri danno un precipitato bianco che solubilizza per aggiunta di ammoniaca grazie alla formazione del complesso diamminoargento. Nel caso di bromuri e ioduri non si ha una ridissoluzione e il precipitato assume una colorazione giallognola.

Trattamento con AgNO₃ → precipitati insolubili in ambiente acido per acido nitrico

AgCl (bianco, Kps = 1.7 × 10⁻¹⁰) [AgCl + 2NH₃ → [Ag(NH₃)₂]⁺Cl⁻]

AgBr (giallo, Kps = 5 × 10⁻¹³)

AgI (giallo, Kps = 8.3 × 10⁻¹⁷)

- Solfati si trattano con cloruro di bario (BaCl₂) che precipita come precipitato insolubile in acqua.

- REAZIONI DI OSSIDAZIONE

- Ioduri e bromuri fatti reagire con acqua di cloro danno luogo alla formazione di bromo e iodio solubili in cloroformio. Si osserverà la formazione di una colorazione gialla nello strato di cloruro di metilene se si tratta di bromuro mentre una colorazione viola se si tratta di ioduro.

Trattamento di Br⁻ e I⁻ con acqua di cloro porta alla formazione di Br₂ e I₂ poco solubili in acqua e solubili in CHCl₃

Br₂ colorazione gialla

I₂ colorazione violetta

Consente di differenziare questi due alogenuri

- Solfiti e tiosolfati si riconoscono con la soluzione iodo-iodurata poiché colorano il reattivo.

Solfiti e tiosolfati

Trattamento con soluzione iodo-iodurata (I₃) → decolorazione soluzione di reattivo

Solfiti: HSO₃⁻ + I₃⁻ + H₂O → 3I⁻ + SO₄²⁻ + 3H⁺

Tiosolfati (ambiente neutro o acido): 2S₂O₃²⁻ + I₃⁻ → O=S=O-S-O-S=O-O⁻

Tutto quello che è stato detto vale se siamo in presenza di sostanze inorganiche.

Nel caso in cui si è in presenza di sostanze organiche o organometalliche si deve effettuare fare il saggio di Lassaigne che permette di identificare la presenza o meno di alcuni elementi nelle molecole. Normalmente nei testi si trova il saggio con aggiunta di sodio metallico che però è molto esplosivo. Si utilizza la miscela magnesiaca ovvero una miscela di magnesio e carbonato di potassio anidro già pronta e che si aggiunge alla sostanza incognita in rapporto 1:2. Bisogna amalgamare il tutto bene in un mortaio. Successivamente si pone in un tubo da saggio che è una provetta di vetro corta con un vetro piuttosto spesso da sottoporre direttamente alla fiamma Bunsen per circa 10-12 min. La combustione deve convertire gli atomi di azoto e zolfo in corrispondenti cianuri e sulfuri inorganici. Il vetro diventa rosso e comincia a fondere e sotto cappa si prepara un becker da 100 ml con 4-5 ml di acqua dove si pone il tubo da saggio che, a causa dello shock termico si rompe. Si filtra poi tutto nella provetta: la soluzione che si ottiene deve essere incolore e limpida. Se così non fosse l'operazione sarebbe da ripetere. Sia con sodio che con magnesio si ottengono cianuri, sulfuri o alogenuri. A questo punto si deve verificare tramite delle reazioni specifiche se gli elementi ricercati sono presenti nella soluzione.

RICERCA DEGLIO IONI CIANURO (AZOTO)

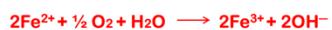
Ricerca degli ioni cianuro (azoto)

- Si aggiungono alla soluzione alcalina alcuni cristalli di FeSO_4 .

Si formano dapprima $\text{Fe}(\text{CN})_2$ e $\text{Fe}(\text{OH})_2$ in eccesso di CN^- si ha il complesso ferrocianuro:



- Si scalda la soluzione all'ebollizione per qualche minuto per favorire l'ossidazione del Fe ferroso a ferrico che viene sequestrato come idrossido



- Si raffredda e si acidifica successivamente con H_2SO_4 diluito. L'ambiente di reazione deve essere acido per evitare la precipitazione di $\text{Fe}(\text{OH})_3$ compare una colorazione blu:



sulla carta da filtro una colorazione azzurra. L'acido solforico impedisce la formazione di ferro idrossido. Si potrebbe avere un falso positivo, per questo motivo si prende la sostanza e in un mortaio si mescola con una miscela calcio sodata (idrossidi di calcio, potassio e sodio). Si pone tutto in un tubo da saggio con sopra una cartina tornasole rossa. Se la cartina diventa blu significa che si è liberata ammoniaca che conferma la presenza di azoto.

Ricerca degli ioni solfuro (zolfo)

- Se nella soluzione alcalina è presente lo zolfo, per aggiunta di FeSO_4 si forma un precipitato nero:



- La soluzione alcalina, per aggiunta di acido acetico e $\text{Pb}(\text{II})$ acetato, forma un precipitato nero:



gli stessi reattivi. È evidente che lo zolfo si identifica prima.

Per confermare la presenza di zolfo si prende un'altra aliquota di soluzione alcalina e si aggiunge acido acetico e piombo acetato con formazione di precipitato nero di solfuro di piombo.

Quando sono entrambi presenti, nella soluzione alcalina si ha la formazione di tiocianato, ma questo non influisce sul risultato finale.

RICERCA DI ALOGENI

Si effettua sulla soluzione alcalina mediante saggio di Lassaigne solo se la ricerca di zolfo e azoto ha avuto esito negativo, questo perché occorre effettuare una reazione in ambiente acido per acido nitrico con argento nitrato. Se la soluzione dovesse contenere solfuri o cianuri si formerà acido solfidrico o cianidrico che sono tossici. Il riconoscimento quindi si fa solo in questo caso.

Si prelevano pochi ml di soluzione alla quale si aggiungono cristalli di solfato ferroso. Se presente azoto si formeranno idrossido ferroso e cianuro ferroso. Se è presente azoto allora i cianuri saranno in eccesso e quindi il cianuro ferroso reagirà con altri ioni cianuro e si formerà il complesso ferrocianuro. Si pone poi in bagnomaria per qualche minuto. L'ebollizione permette il passaggio da ferro ferroso a ferro ferrico. Si aggiunge poi dopo raffreddamento acido solforico diluito. Si formerà in presenza di azoto il ferrocianuro ferrico ovvero il blu di Prussia. Dopo filtrazione si deve vedere

RICERCA DEGLI IONI SOLFURO

Quando si aggiunge solfato ferroso alla soluzione alcalina potrebbe formarsi un precipitato nero che sta ad indicare la presenza di zolfo che precipita come solfuro ferroso.

Per trovare i due elementi si utilizza la stessa procedura. Se si forma il precipitato nero bisogna comunque continuare a ricercare l'azoto. Questo perché la reazione avviene con

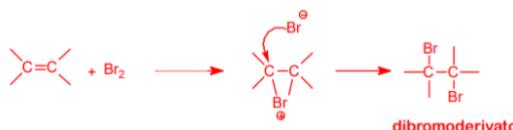
RICONOSCIMENTO GRUPPI FUNZIONALI

Le reazioni per riconoscere dei gruppi funzionali si basano sulla scomparsa o comparsa di colorazione (reazioni cromogeniche), o si possono basare sulla formazione di derivati cristallini. Mediante reazioni cromogeniche, che danno sviluppo di colore o sviluppo di precipitati particolari, si riesce ad individuare la classe di composti alla quale il composto appartiene e poi con l'ausilio del punto di fusione o di altri metodi strumentali di analisi si procede con l'identificazione.

Insaturazione olefinica

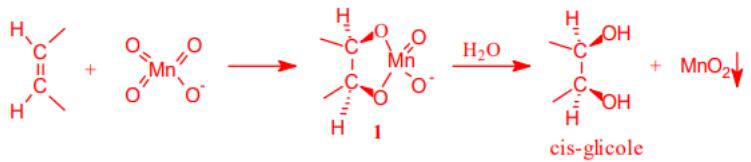
Reazione con il bromo

Si utilizza per riconoscere delle insaturazioni perché questo da reazioni di addizione eletrofila: se la reazione avviene si ha la scomparsa della colorazione rossa (che caratterizza l'acqua di bromo) quando è presente un'insaturazione. La molecola di bromo in prossimità del doppio legame si polarizza, quindi si ha una differente densità di carica sulla molecola di bromo con la carica positiva verso il doppio legame e la carica negativa dalla parte opposta. Questo provoca l'attacco dello ione bromonio sul doppio legame, si forma un ione bromonio ciclico, poi il bromuro che si è liberato si lega allo ione bromonio dalla parte opposta formando il dibromo derivato. È molto importante la presenza dei sostituenti legati agli atomi di C coinvolti nel doppio legame: questi possono favorire la reazione di addizione (scomparsa immediata della colorazione) o sfavorire la reazione (rallentare la reazione). I sostituenti vanno ad influenzare la reazione soprattutto quelli che hanno effetto -I e -M hanno l'effetto di rallentare. Ad esempio l'acido cinnamico ha una decolorazione più rallentata perché il doppio legame ha un minore carattere di doppio legame; nel caso sia dell'acido sorbico che del potassio sorbato la reazione avviene velocemente perché il metile adiacente al doppio legame ha un effetto elettron repulsore quindi favorisce la reazione, in questo caso si possono avere due addizioni utilizzando due molecole di bromo. La decolorazione avviene anche con l'acido ascorbico perché il bromo ha proprietà ossidanti quindi agisce come tale portando alla formazione dell'acido deidroascorbico per questo si osserva la scomparsa della colorazione e non perché avviene la reazione di addizione. I fenoli, che sono dei composti contenenti l'anello aromatico, danno con il bromo reazione di sostituzione eletrofila aromatica: quindi si usa questa reazione per il loro riconoscimento poiché si ottiene la decolorazione dell'acqua di bromo.



Reazione con il permanganato

Il permanganato è un ossidante molto più energico del bromo e agisce su insaturazioni disattivate a causa della presenza di sostituenti, che vanno ad influenzare la reattività del doppio legame. La reazione porta alla formazione dell'intermedio estere dell'acido permanganico, che evolve in cis glicole. Notiamo che la reazione è avvenuta perché nella provetta si sviluppa una colorazione bruna con dei precipitati che sono dovuti alla formazione di ossidi di manganese.



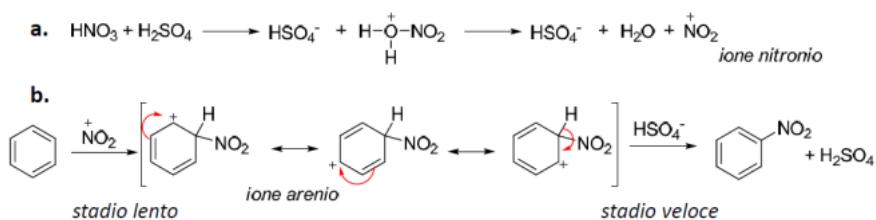
Quando uso una soluzione abbastanza concentrata di permanganato il cis-glicole si può ossidare ulteriormente e dare luogo alla formazione di chetoni o di acidi carbossilici. La reazione positiva con il permanganato viene data anche da alcoli, aldeidi e ammine.

Sistema aromatico

I sistemi aromatici danno reazioni di sostituzione eletrofila aromatica: nitrazione, nitrosazione, sulfonazione, diazocopulazione; in presenza di acidi di Lewis (AlCl_3 , FeCl_3) si ha alogenazione, alchilazione di Friedel-Crafts, acilazione di Friedel-Crafts.

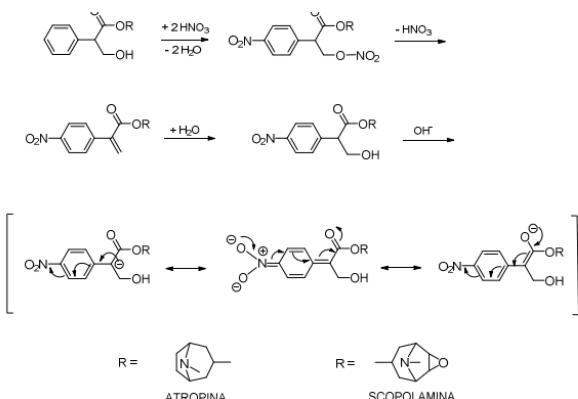
Nitrazione

Usiamo la nitrazione per riconoscere un gruppo aromatico poiché quando si ha reazione si ottiene una colorazione gialla. I sostituenti già presenti sull'anello aromatico vanno ad orientare in un certo modo la sostituzione. La reazione avviene perché si ottiene la miscela solfonitrica: HNO_3 e H_2SO_4 portano alla formazione dello ione nitronio (elettofilo che va a legarsi all'anello aromatico). Nel caso in cui la miscela acido nitrico e acido solforico possa danneggiare la molecola, in sostituzione all'acido solforico si utilizza CH_3COO . Questa reazione può essere effettuata su timolo per discriminarlo dal mentolo: sul mentolo non accede nulla mentre sul timolo ottengo una colorazione verde-blu perché a causa dei sostituenti si ha spostamento della lunghezza d'onda di assorbimento verso il blu.



Reazione di Vitali-Morin

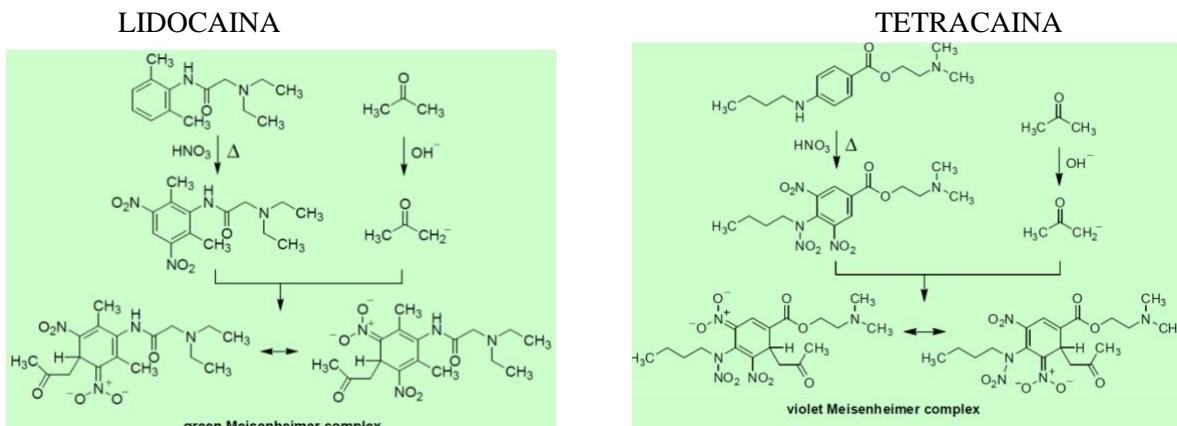
Un'altra reazione che si utilizzava per riconoscere atropina e scopolamina, ma che si usa anche per riconoscere lidocaina e procaina e tetracaina è la reazione di Vitali-Morin: è una nitrazione particolare che porta alla formazione di una colorazione verde per la lidocaina, marrone per la procaina e per la tetracaina è violetto (la differenza del colore dipende dalla presenza dei sostituenti).



Inizialmente si viene a formare un estere (nitroapoatropina), che perde subito una molecola di acido nitrico e si forma un composto intermedio, che reagendo con acqua il doppio legame si trasforma in un gruppo

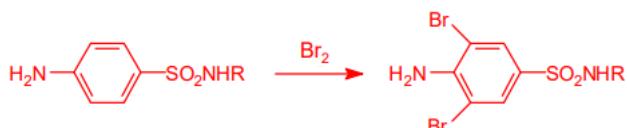
alcolico e in presenza di una base si forma il composto altamente coniugato quindi colorato che viene stabilizzato da diverse forme di risonanza(danno luogo alla formazione di una colorazione rossa-viola).

La reazione con la lidocaina porta alla formazione di un intermedio con due nitrogruppi ovviamente nelle posizioni favorite, successivamente il composto si fa reagire con acetone in ambiente basico.La base strappa un protone dall'acetone e si ha l'addizione del composto in posizione para(che deve essere libera) e si forma un anione descritto da più strutture di risonanza, che assume una colorazione verde a causa della formazione del complesso di Meisenheimer. La stessa reazione avviene per la tetracaina: la nitrazione avviene nella posizione favorita, quindi in orto all'amminogruppo o in meta rispetto all'estere. Se si aggiunge acetone in ambiente basico l'anione va ad attaccare l'anello aromatico nella posizione libera e si forma il complesso di colore violetto.



Bromurazione

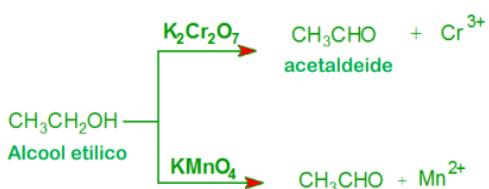
Si può usare anche per le determinazioni degli aromatici: viene riportata la reazione di un sulfamidico in cui il gruppo amminico aromatico primario subisce una dibromurazione in posizione orto rispetto al gruppo ammidico. Si noterà la scomparsa del colore rosso e si forma un precipitato bianco o giallo (dipende dalle sostanze che si sottopongono alla reazione).



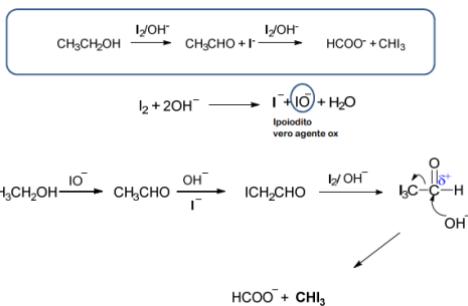
Composti ossidrilati – Alcoli

Ossidazione

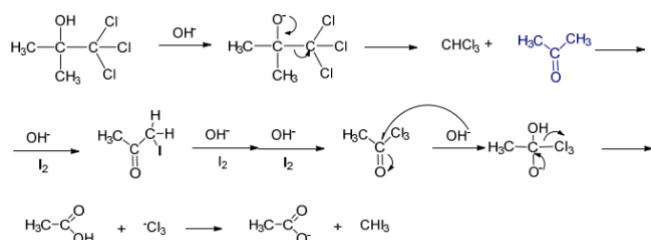
Gli alcoli si riconoscono per la reazione di ossidazione che avviene solo per alcoli primari (portano alla formazione di Aldeidi) e secondari (portano alla formazione di Chetoni), gli alcoli terziari si decompongono. Come ossidanti non uso sali di cromo perché sono tossici anche se in farmacopea sono descritti in quel modo; in laboratorio si usa permanganato di potassio e qui si nota la scomparsa del colore violetto del permanganato e si formano dei composti incolori o brunastri a seconda del tipo di riduzione che ha subito il manganese.



La reazione può essere fatta in ambiente basico fino alla formazione di iodoformio: si va ad aggiungere all'alcol etilico iodio che dismuta e forma ipoiodito e ioduro, l'ipoiodito sarà il vero ossidante quindi ossida l'alcol etilico ad acetaldeide . In soluzione ci sono degli ioduri che possono dare sostituzione nucleofila perché l'ossigeno attrae su di sé gli elettroni del legame (il C sarà positivo e quindi rende più acidi gli H del CH₃),quindi gli H del CH₃ sono acidi e quindi progressivamente si andranno a sostituire gli ioni ioduro agli ioni H legati al CH₃ fino ad ottenere la triiodio acetaldeide.Poi la base dà idrolisi e si forma il formiato e lo iodoformio. La reazione è lenta e si sviluppa odore di disinfettante e precipitato giallo.



Si può fare la stessa reazione con il clorobutanolo, ma è necessario che sul carbonio che lega OH vi deve essere legato un idrogeno e un CH₃ almeno.



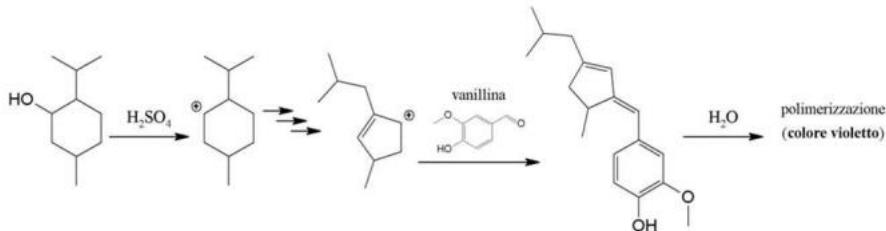
Disidratazione

Gli alcoli possono dare reazione di disidratazione ad esempio nel glicerolo la disidratazione si nota perchè si forma acroleina,che ha odore pungente e uso solfato acido di potassio o acido solforico. Per l' analisi della vitamina A questa reazione provoca la comparsa di una colorazione perchè si formano molti legami coniugati che comportano l' assorbimento della luce nella zona del visibile.Questo è legato al fatto che possiamo vedere la sostanza colorata



Reazione con la Vanillina

Un'altra reazione di riconoscimento è quella con la vanillina. In laboratorio abbiamo analizzato il mentolo che viene fatto reagire con acido solforico e ciò porta alla formazione di una miscela di idrocarburi saturi e insaturi che portano della fomazione di ciclopentanilcationi. Questi reagiscono con la vanillina per dare addotti colorati di arancio con struttura tipo fulvene; aggiungendo H₂O si ha polimerizzazione che danno colorazione viola. Il riconoscimento termina quando si ottiene la colorazione violetta.

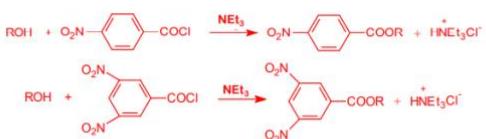


Formazione di derivati esterei

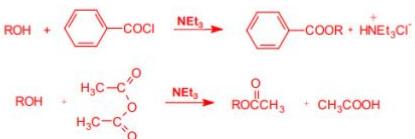
Gli esteri si riconoscono per l'odore fruttato. Le reazioni si differenziano per il peso molecolare: se è basso uso acilanti con peso molecolare alto in presenza di una base; se gli alcoli sono ad alto peso molecolare agiscono in modo opposto. Gli agenti acilanti sono generalmente o cloruri acilici o anidridi. Non posso usare l'acido carbossilico perché in presenza di una base salifica quindi non si formerebbe l'estere, invece usando un derivato dell'acido la reazione avviene.

Gli esteri ottenuti con l'opportuno acido sono solidi caratterizzabili dal p.f. definito.

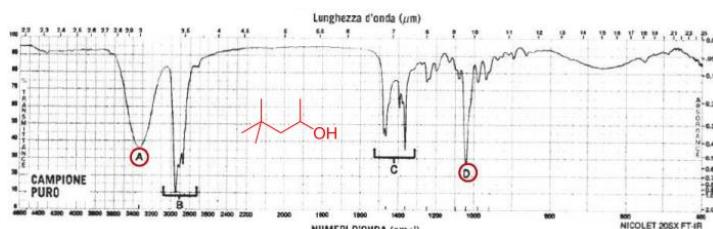
Per alcoli a basso P.M. si usano agenti acilanti ad alto P.M.:



Per alcoli ad alto P.M. si usano agenti acilanti a basso P.M.:



Caratteristiche spettroscopiche degli alcoli



Nello spettro IR da 4000 a $1500\text{ }cm^{-1}$ vi sono i gruppi funzionali dopo vi è la zona dell'impronta digitale che si confronta con lo standard, mentre la zona dei gruppi funzionali si può analizzare e da lì si può capire che tipo di molecola stiamo analizzando.

Nella figura viene analizzato il trimetilpentanolo: si nota un'ampia banda a 3400 che si riconduce all' OH che forma legami idrogeno intermolecolari (quindi la banda è allargata), poi trovo il bending dei CH a $1395/1365$ in cui ci è una coppia di bande dovuta al fatto che vi è un gruppo dimetilico geminale e a 1040 vi è lo streching legame CO . Il trimetilpentanolo è un liquido quindi si deposita direttamente tra le compresse di NaCl quindi non vi sono le interferenze dovute al nujol.

Fenoli

Si trovano come solidi cristallini incolori, la loro acidità è più alta degli alcoli alifatici perché le forme di risonanza attraverso le quali possiamo descrivere l'anione fenato sono responsabili della maggiore acidità.

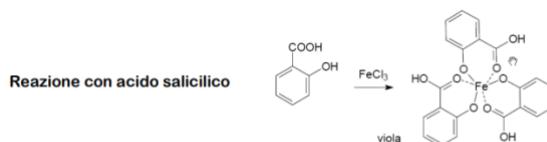
I sostituenti sull'anello del fenolo possono influenzare l'acidità: quindi gli elettronondonatori diminuiscono l'acidità mentre gli elettronattrattori l'aumentano. I fenoli possono dare molte reazioni ovvero tutte le sostituzioni elettrofile aromatica: salificazione, nitrazione, bromurazione, acilazione.

Bromurazione

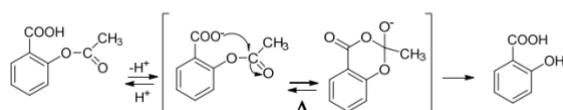
La più semplice è la reazione con il bromo: si osserva la scomparsa della colorazione rosso-arancio del bromo perché questo sostituisce 3 posizioni sull'anello. Nel caso in cui la bromurazione si ferma qui si ottiene la scomparsa della colorazione e un precipitato bianco; qualora usassi un eccesso di bromo si forma il tetrabromo derivato e scompare l'aromaticità, quindi si forma un sistema coniugato che si evidenzia con la colorazione gialla.

Reazione con FeCl₃

La reazione caratteristica è quella con il cloruro ferrico :si forma un complesso in cui 6 molecole di fenolo non sostituito reagiscono con una di cloruro ferrico e danno il colore viola. Quando i sostituenti sono diversi cambia anche la colorazione che assume la soluzione:quando un altro sostituente ossidabile è in posizione para rispetto all'OH del fenolo ottengo una colorazione che dura poco perché il composto si ossida velocemente a chinone. Questa stessa reazione la possono dare gli acidi carbossilici, gli acidi idrossamici, gli enoli, le idrossipiridine e le idrossichinoline. Ad esempio l'acido salicilico che presenta sia l'OH del fenolo che il carbossile: in presenza di FeCl₃ 3 molecole di Acido salicilico andranno a formare il complesso viola(si forma il legame tra l'O fenolico con il Fe è il legame dativo tra l'O carbonilico è il Fe stesso);anche l'acido acetilsalicilico può dare la stessa reazione ma prima bisogna fare idrolisi a caldo per eliminare l'estere. In farmacopea viene descritta come la reazione dei salicilati.

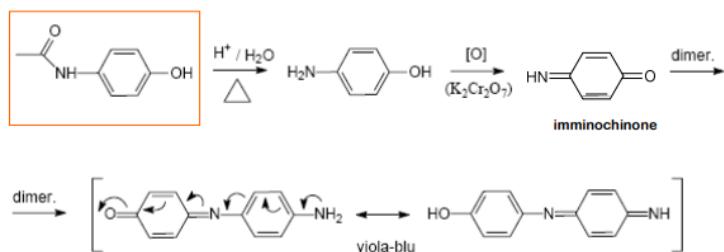


L'acido acetilsalicilico, solo in seguito ad idrolisi a caldo del gruppo estero che ripristina il gruppo fenolico, dà reazione positiva con FeCl₃.



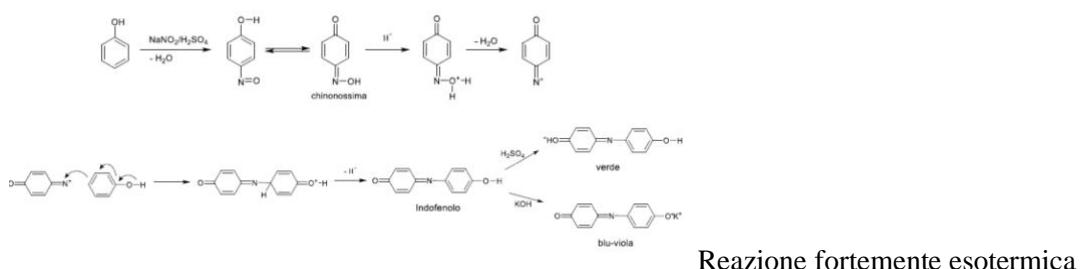
Reazione con Agenti Ossidanti

Questa reazione può essere usata per trasformare i fenoli in chinoni che per l'elevata coniugazione appaiono colorati. Ad esempio il paracetamolo per idrolisi dà il para amminofenolo che con permanganato potassio porta alla formazione dell'imminochinone .L'imminochinone potrà formare dei dimeri e dare luogo a derivati di colore blu-viola.



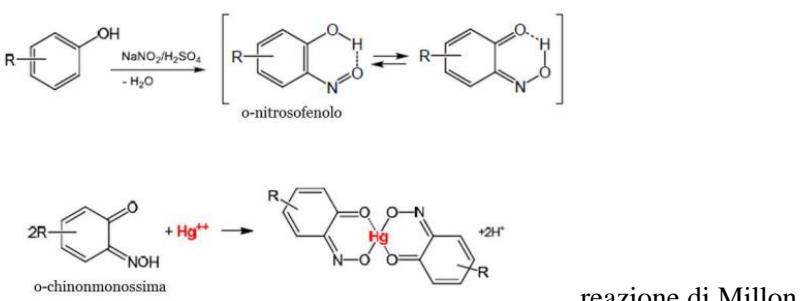
Reazione di Lierbermann

Questa reazione si effettua solo su fenoli con posizione para libera perchè il nitrito di sodio in ambiente acido libera lo ione nitrosonio ,che lega la posizione para del fenolo in quanto questa è la posizione più attivata.Si forma il nitroso fenolo che è in equilibrio con la chinonossima e si ha poi la protonazione dell'ossima a causa dell'ambiente acido successivamente si perde una molecola di acqua. Si ottiene la chinon immina ,che reagisce con il fenolo in eccesso formando l'indofenolo che a seconda del ph dà luogo a 2 colorazioni diverse: in ambiente acido è verde, in ambiente basico si forma colorazione blu-viola.



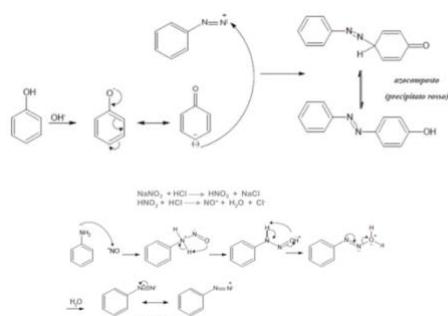
Reazione di Millon

Quando la posizione para è occupata il riconoscimento avviene tramite il reattivo di Millon, in cui si parte sempre da un ambiente acido e da nitrito di sodio che porta alla formazione della orto nitroso fenolo, che è in equilibrio con la orto chinonossima e per reazione con sali di mercurio si ottiene un composto di colorazione rossa.Questa reazione non si fa più perchè i sali di mercurio sono tossici.



Reazione di copulazione

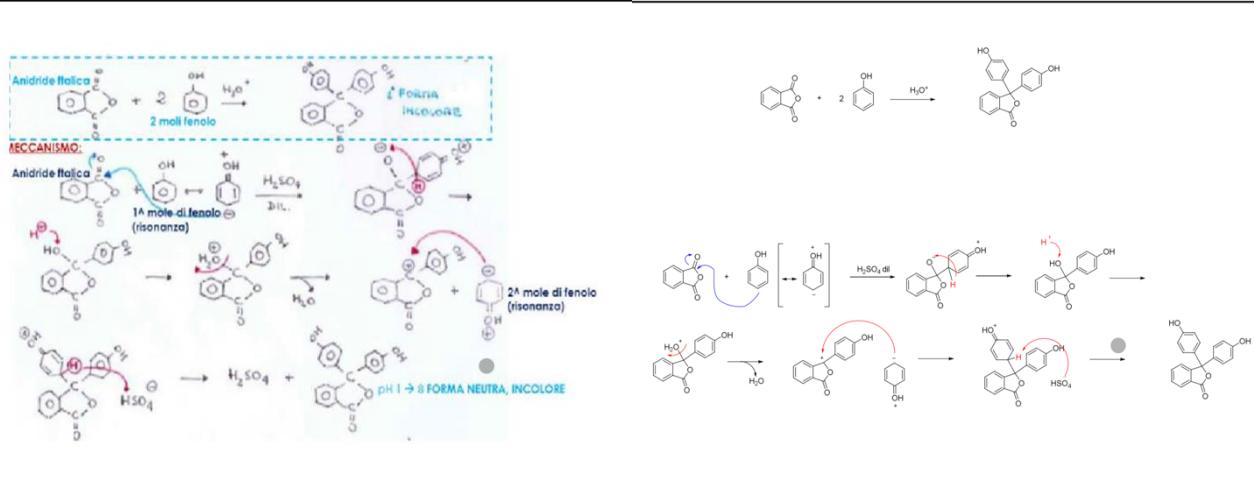
I fenoli danno reazione di copulazione:la reazione che avviene quando siamo in presenza di un gruppo ammino-aromatico primario. Partendo dall'ammina aromatica primaria si forma il sale di diazonio: aggiungiamo Nitrito di Sodio ,si forma lo ione nitrosonio, che attacca il doppietto dell'ammina. Successivamente si ha protonazione ed eliminazione di una molecola di H₂O, determinando la formazione del sale di diazonio (colorazione debolmente giallognola). Il sale di diazonio viene fatto reagire con il fenolo, dove avverrà la reazione in posizione para perché è la posizione più reattiva ottenendo un composto che avrà una colorazione rossastra. Questo ci darà un'indicazione che la molecola contiene un fenolo. È una reazione che possono dare i fenoli, ma anche i naftoli. La reazione dà un esito positivo solo nel momento in cui otteniamo un precipitato rosso.



Analisi elementare organica qualitativa

Reazioni delle ftaleine

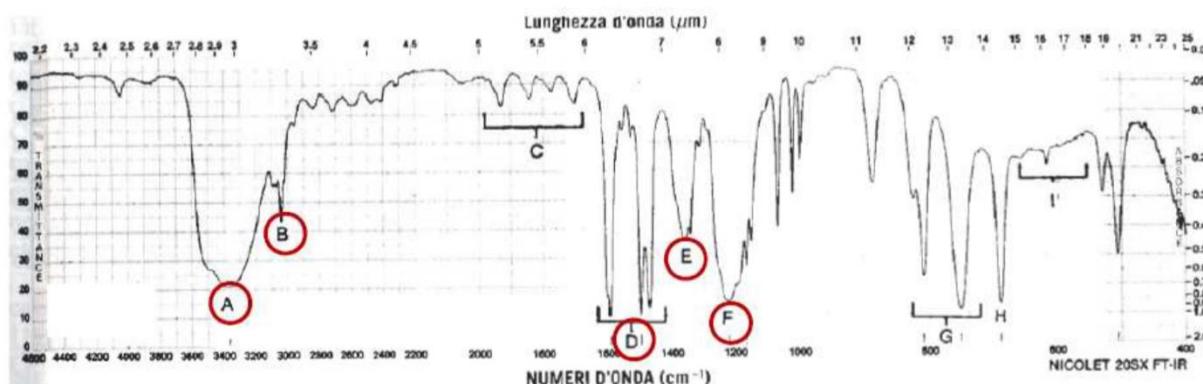
I fenoli condensano con anidride ftalica in H₂SO₄ o ZnCl₂ per dare derivati del trifenilmetano come ad esempio la fenolftaleina. La stessa reazione viene data dal resorcinolo o resorcina per dare la fluoresceina. Si



formano delle soluzioni che a seconda del pH colorate.

Una mole di anidride ftalica reagisce con 2 moli di fenolo; nel primo step avviene l'attacco nucleofilo del fenolo al carbonio carbonilico con la formazione di un intermedio incolore. Il gruppo alcolico viene protonato, disidrata e diventa carbocatione. Il carbocatione si lega all'altra molecola di fenolo per dare la fenolftaleina che in ambiente acido è incolore; in ambiente basico si ottiene la colorazione rosa.

Proprietà spettroscopiche dei fenoli (IR)



Si osserva una banda allargata, con un picco a 3373 cm⁻¹ dovuto allo stretching dell'OH, l'ampiezza elevata è dovuta al fatto che l'OH può dare legami ad H. A 3045 cm⁻¹ si ha lo stretching del CH aromatico. Si nota come lo spettro è stato misurato utilizzando delle concentrazioni di sostanza elevate, infatti si vedono a 1600-1470

cm^{-1} la banda riferita all'anello aromatico. A 1360 cm^{-1} si ha un picco riferito al biondino dell' OH così come a 1200 cm^{-1} si hanno 2 picchi di binding rispettivamente del C=O e del $-\text{C=C}-$.

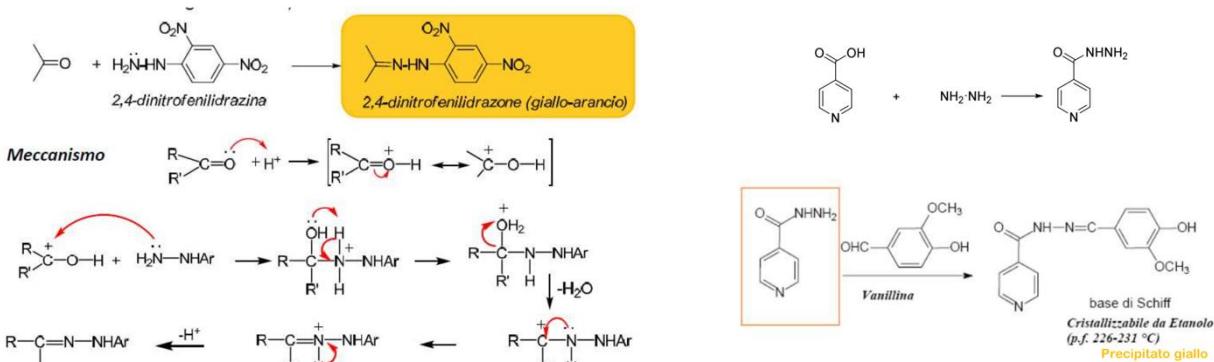
REATTIVITÀ DEI COMPOSTI CARBONILICI: ALDEIDI E CHETONI

Aldeidi e chetoni sono composti che possono essere assimilati alle olefine, infatti presentano un gruppo carbonilico, fortemente polarizzato con un atomo di C ibridato sp^2 . L'ossigeno è più elettronegativo del carbonio, motivo per cui attrae a sé gli elettroni caricandosi negativamente; d'altra parte, il C assumerà carica parziale positiva. Il Carbonio carbonilico avrà un carattere elettrofilo, l'ossigeno nucleofilo. Aldeidi e chetoni possono dare reazioni di addizione nucleofile al carbonio carbonilico elettrofilo.

Addizioni nucleofile con gruppi contenenti azoto (amminici)

Il gruppo NH_2 va a reagire con il carbonio carbonilico; si ha la formazione di un intermedio tetraedrico con successiva disidratazione che porta alla formazione del doppio legame. Si ha il composto contenente doppio legame C=N anziché C=O . Si hanno diverse reazioni tra il carbonio carbonilico e derivati azotati, che portano alla formazione di: ossime (con idrossilammina), idrazone (con idrazina), semicarbazone (con semicarbazide), fenilidrazone (con fenilidrazina).

Sono reazioni favorite dall'ambiente acido perché aumenta la reattività elettrofila. Si ha la protonazione dell'ossigeno del carbonile e gli elettroni del doppio legame passano sull'ossigeno, per cui la carica positiva si sposta sul carbonio carbonilico che è in grado di sopportare meglio la carica rispetto all'ossigeno; si ha l'attacco da parte del doppietto non condiviso dell'azoto sul carbonio carbonilico elettrofilo. Si forma l'intermedio tetraedrico e per eliminazione delle molecole di acqua e riarrangiamento dà luogo al composto di arrivo (fenilidrazione). Il composto che si forma è i 2,4-dinitrofenilidrazone, colorato, per questo viene usato



per il riconoscimento dei composti.

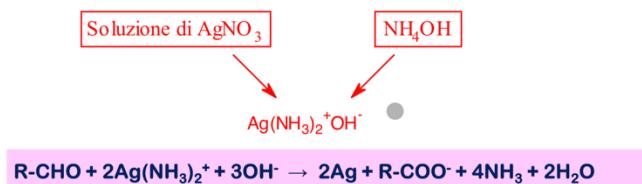
La reazione caratteristica è quella di riconoscimento dell'isoniazide, che viene ottenuta per reazione dell'acido nicotinico con idrazina. L'isoniazide viene fatta reagire con la vanillina (che ha un gruppo carbonilico) per formare una base di Schiff, riconoscibile dal precipitato giallo che si forma.

Reazioni delle aldeidi

Per distinguere le aldeidi dai chetoni ci si basa sulla capacità riducente delle aldeidi, perché sono in grado di ossidarsi ad acido carbossilico (cosa che non viene fatta dai chetoni). Le reazioni caratteristiche sono:

• Reattivo di Tollens (reattivo di diammino argento)

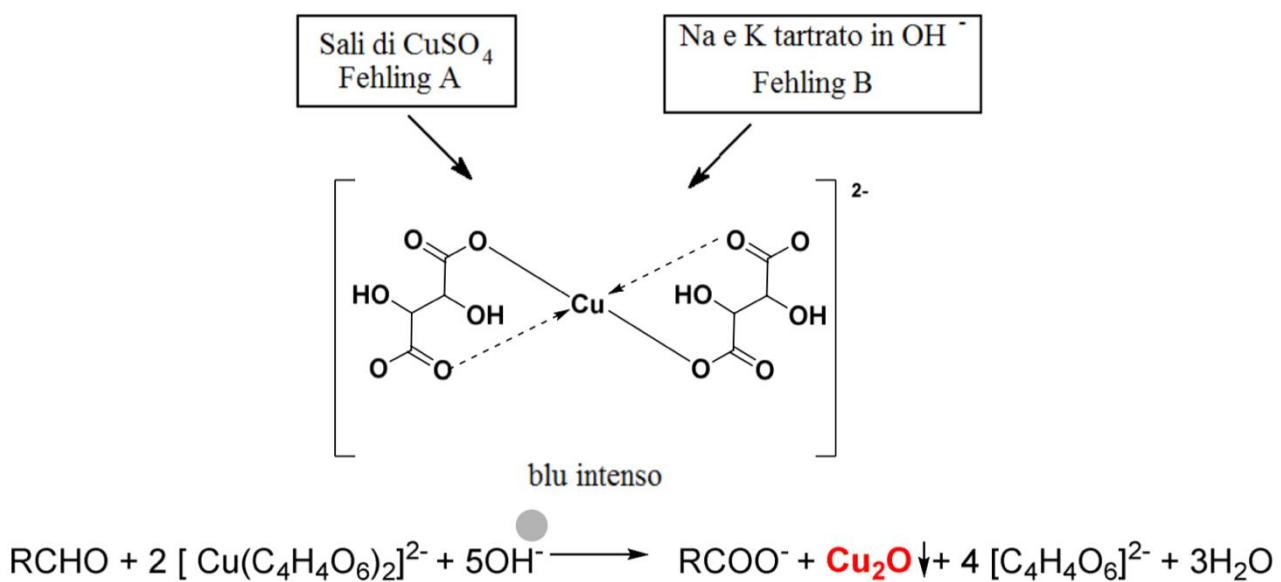
Il reattivo si prepara al momento tramite reazione di AgNO_3 con NH_4OH dil; dalla reazione del reattivo con il derivato aldeidico si ottiene una miscela che dà luogo alla formazione di argento metallico, il carbossilato corrispondente, ammoniaca e acqua. Si capisce che la reazione è avvenuta perché all'interno della soluzione



si forma uno specchio argenteo dovuto alla presenza di argento metallico. Si tratta di una reazione che ha esito positivo anche nel caso di fenoli e amminofenoli. La reazione può essere esplosiva se si lascia troppo tempo a bagnomaria.

• Reattivo di Fehling

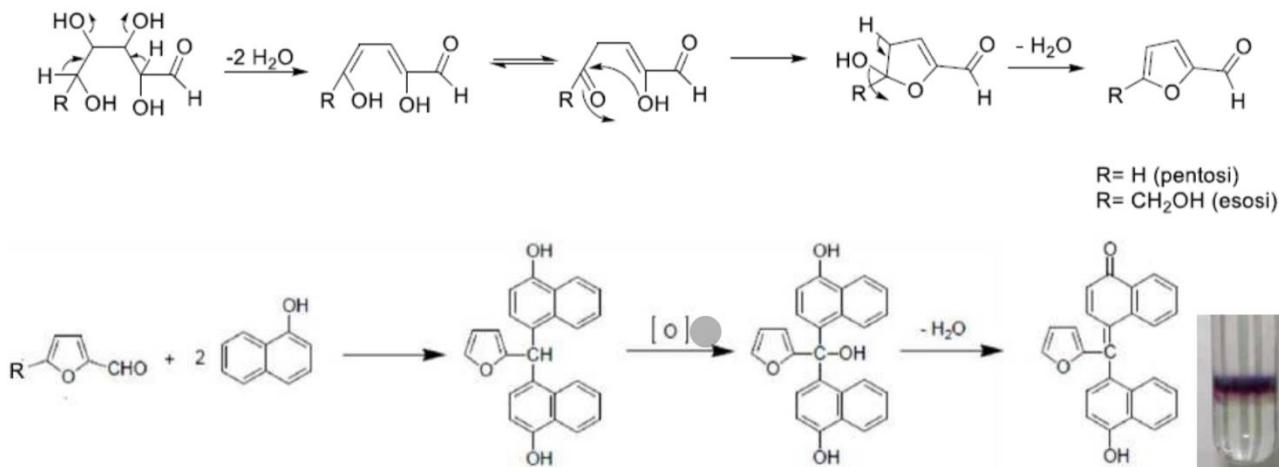
Il reattivo di Fehling è formato da una soluzione di solfato di rame (azzurra) e da una soluzione di potassio tartrato in ambiente basico (incolore). Il reattivo è di colore blu intenso, prende il nome di sale di Seignette ed impedisce la precipitazione del rame come idrossido chelandolo (gli ioni rameici rimangono in soluzione; in ambiente basico il rame precipiterebbe come idrossido). Dalla reazione del reattivo di Fehling con l'aldeide si ha l'ossidazione del composto aldeidico e la riduzione del complesso ad ossido rameoso (da +2 a +1). Ci si accorge della riduzione perché si forma un precipitato rosso-arancio.



• Saggio di Molisch

È una reazione esotermica di disidratazione. Avviene in presenza di acido solforico concentrato che causa la disidratazione dello zucchero (pentoso o esoso), portando alla formazione della furaldeide (se lo zucchero è un pentoso) e idrossimetil-furaldeide (se lo zucchero è un esoso). Per aggiunta di una soluzione di α -naftolo,

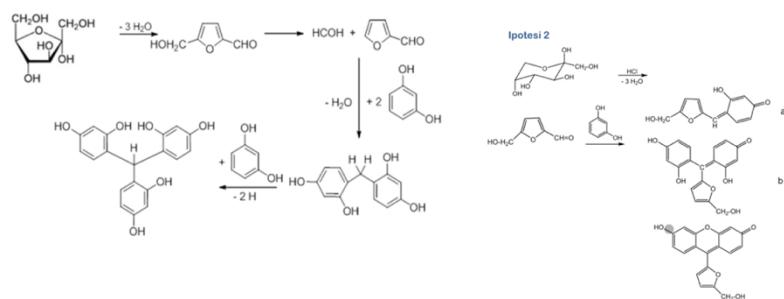
il gruppo carbonilico reagisce con la porzione più attivata del naftolo (para all'OH) e si forma il composto finale; ha luogo la reazione di addizione: la reazione avviene in posizione para perché è molto attivata (non



avviene in orto perché è ingombrata stericamente). Si ha prima l'attacco di una molecola di naftolo, poi la successiva e si ha la formazione di un intermedio che si ossida (H legato al carbonio diventa OH); per successiva disidratazione (si è sempre in presenza di acido solforico) si ottiene il composto finale con elevato grado di coniugazione, che assume una colorazione viola.

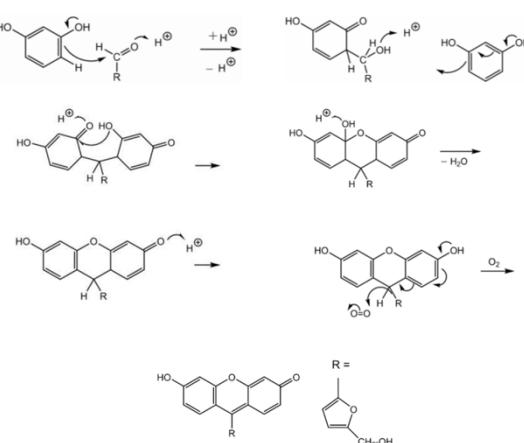
• Reazione di Seliwanoff (reazione specifica per il fruttosio)

La reazione di Seliwanoff è specifica per il riconoscimento del fruttosio. Il composto si solubilizza in acqua, si aggiunge HCl e si pone a bagnomaria. Poi si aggiunge la resorcina o resorcinolo. L'acido con riscaldamento provoca la disidratazione del fruttosio. Questo rappresenta il meccanismo di reazione ipotizzato da Seliwanoff nel 1800 e la colorazione rossa che si sviluppava era legata alla formazione del composto. Quindi si forma l'idrossimetilfuraldeide, si idrolizza ad aldeide formica e formaldeide. La formaldeide condensa con 3 molecole di resorcina e si forma un composto con 3 anelli aromatici e con 3 OH che sono degli auxocromi, si ha una colorazione rossa. Recentemente è stata ripresa in esame tale reazione e, si è ipotizzato che la reazione avvenisse in modo diverso. La prima parte è identica, ovvero che si ha la disidratazione a idrossimetilfuralde. Cambia con il secondo meccanismo che non si ha l'idrolisi della molecola, ma è l'idrossimetilfuraldeide a reagire con il resorcinolo o con 1 molecola dando luogo alla formazione al composto A o con 2 molecole di resorcina per dare il composto B. Tutti e 3 i composti possono essere responsabili della colorazione. La reazione potrebbe anche continuare con un ulteriore attacco dell'OH di una delle due resorcine legate al carbonio carbonilico e si ha la chiusura dell'anello, il riarrangiamento con perdita acqua, ossidazione e formazione del derivato.

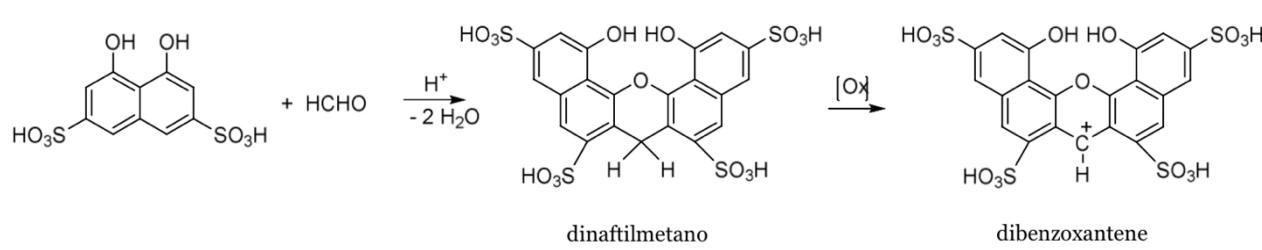


• Reazione di riconoscimento della formaldeide

Condensation steps.

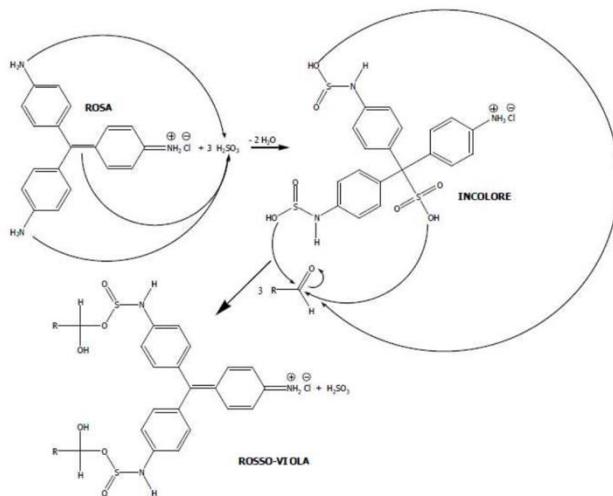


La formaldeide si è rilevata come una sostanza tossica, motivo per cui in laboratorio non viene più utilizzata. Si tratta la formaldeide con acido cromotropico e si ha la formazione di un composto (dinaftilmetano) che si ossida per dare dibenzoxantene. Si forma un addotto dovuto alla reazione di due moli di acido cromotropico con una di formaldeide: la formaldeide si lega in orto rispetto all'OH e all'SO₃H e, si ottiene un composto con colorazione violetta.



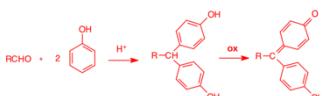
• Saggio della fucsina

la fucsina è un colorante (colorante di fucsin-ammonio) di colore rosa; quando viene trattata con acido solforoso diventa incolore perché perde la delocalizzazione elettronica. Vengono utilizzate 3 moli di acido solforoso che vanno a legarsi ai due gruppi amminici (non salificati) della fucsina e al doppio legame: si ottiene un composto incolore. La presenza di un'aldeide fa ripristinare la struttura chinoide e quindi si ha una colorazione rosso-violetta.



• Reazione con fenoli e acido solforico

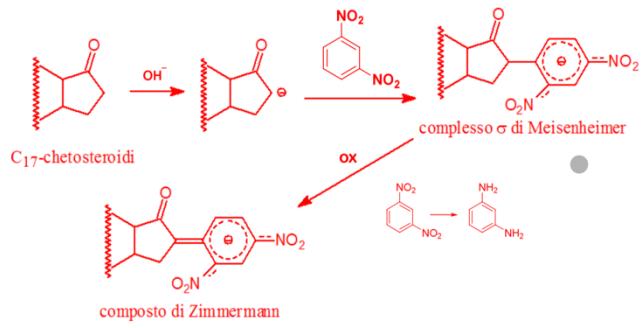
Si tratta di una reazione che riguarda sempre la formaldeide; viene trattata con fenolo in ambiente acido e forma i derivati del difenil-metano. Si ha la formazione della struttura del difenil-metano e successiva ossidazione con formazione della struttura chinoide, e quindi colorazione rossa.



Reazioni di riconoscimento dei chetoni

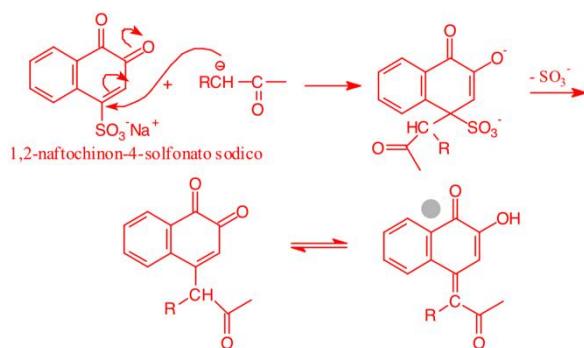
• Reazione di Zimmerman

Reazione caratteristica dei chetoni che contengono in posizione α un metilene attivato (come avviene in tanti steroidi), la base è in grado di strappare un protone. La reazione viene utilizzata per trovare la presenza di chetosteroidi nelle urine. Il chetone reagisce con il dinitro-benzene, il quale si lega al metilene (deprotonato) in α al chetone, dando luogo alla formazione di un complesso, che prende il nome di Sale di Meisenheimer, il quale viene ossidato dall'eccesso di reattivo (dinitro-benzene; si riduce a diamminobenzene); si forma il composto di Zimmerman che assume una colorazione violetta.



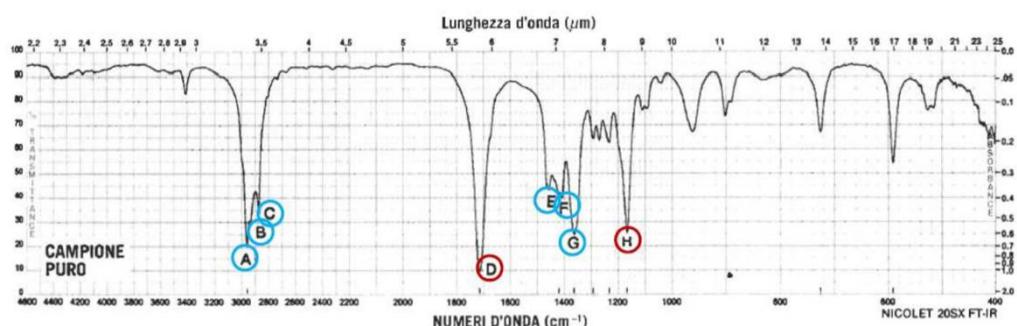
• Reazione con anelli solfonati

Reazione effettuata con i naftochinonsolfonati come reagenti; avviene in ambiente basico e si ha la sostituzione nucleofila, poiché il gruppo solfonico viene sostituito dal gruppo chetonico attivato. La reazione riguarda sempre i metileni attivati in α al carbonile. Anche in questo caso si ottiene un composto che, a causa dell'elevata coniugazione, dà luogo ad una colorazione rossa e permette di riconoscere la presenza di un gruppo chetonico.



Proprietà spettroscopiche dei chetoni(IR)

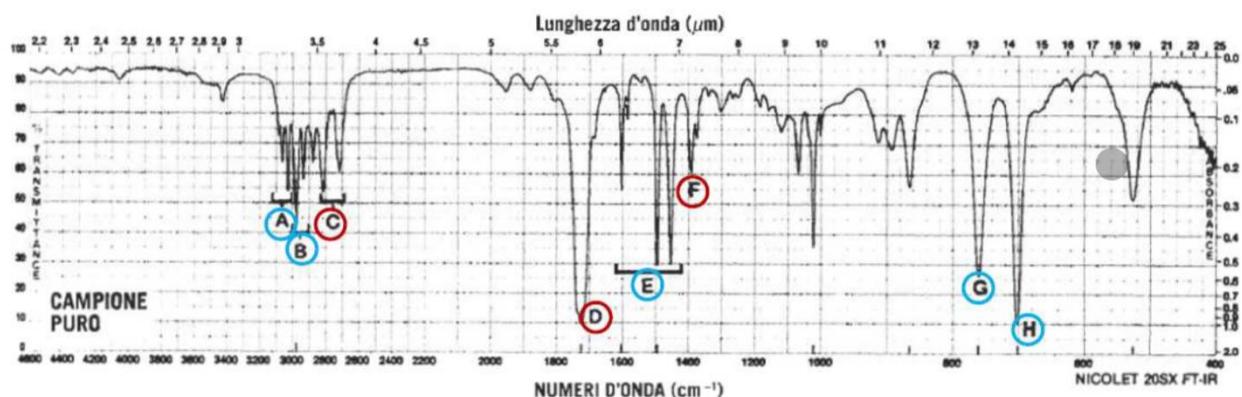
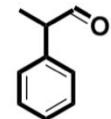
Vi è lo spettro del 2-pentanone. Intorno a 3000-2800 cm⁻¹ si hanno tutti gli stretching dei legami C-H; è molto importante lo stretching del legame C=O del chetone cade intorno a 1717-1715 cm⁻¹; cade a numeri d'onda minori rispetto al carbonile aldeidico. Il bending del legame C=O è intenso. Al di sotto dei 1500 cm⁻¹ si ha la zona dell'impronta digitale in cui si hanno le vibrazioni dello scheletro carbonioso.



Proprietà spettroscopiche delle aldeidi (IR)

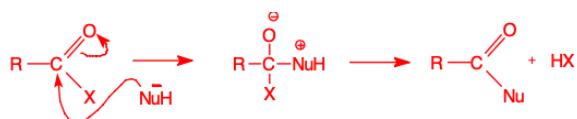
Si ha lo spettro 2- fenilpropionaldeide. Si osserva lo stretching del carbonile aldeidico a numeri d'onda maggiori rispetto a quello chetonico perché ha maggiore carattere di doppio legame, 1724 cm⁻¹. I picchi indicati con E sono i picchi del doppio legame carbonio-carbonio.

ALDEIDI *Proprietà spettroscopiche*

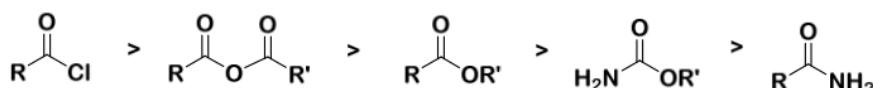


Acidi carbossilici e derivati

Danno reazioni di sostituzione nucleofila:

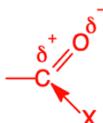


Le reazioni avvengono secondo la seguente scala di reattività:



La velocità di reazione è legata al carattere elettrofilo del carbonio del carbonile, che dipende dall'effetto induttivo e dall'effetto mesomero dei sostituenti.

- Effetto induttivo: -I: Cl > O > N



- Effetto mesomero +M: NR₂ > NH₂ > OR > Cl



La reazione più semplice che avviene per i derivati acilici è l'idrolisi basica degli esteri (o la reazione di esterificazione dell'alcol in ambiente acido).

Esteri

La reazione di idrolisi basica (saponificazione) prevede la rottura del legame estero con formazione di una molecola di acido e di alcol.



Solitamente viene condotta in ambiente basico perché in queste condizioni la reazione procede più velocemente. Questo tipo di reazione ci permette di identificare l'acido carbossilico da cui deriva l'estere: una volta ottenuto l'acido per idrolisi basica, la soluzione viene acidificata favorendone la precipitazione (la maggior parte degli acidi carbossilici è infatti insolubile in acqua). Il precipitato viene poi raccolto per filtrazione e questo rende possibile studiarne il punto di fusione o effettuare reazioni di riconoscimento caratteristiche. Ad esempio, in laboratorio abbiamo visto che, durante il riconoscimento dell'acido acetilsalicilico, per poter eseguire la reazione caratteristica dell'acido data dall'aggiunta di cloruro ferrico FeCl₃, è stato necessario prima di tutto portare la soluzione ad ebollizione per provocare l'idrolisi. Effettuare lo stesso procedimento, senza prima acidificare e scaldare la soluzione, non avrebbe prodotto nessuna reazione.

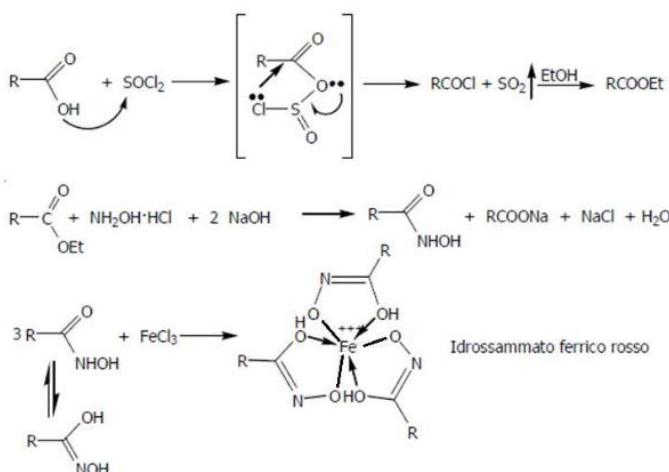
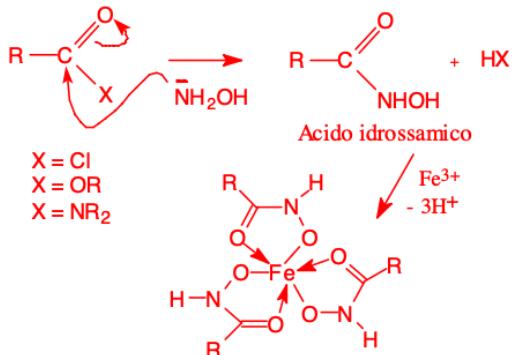
Un altro fattore che influisce sulla velocità di reazione è la natura dei gruppi R:

- Se i gruppi R e R' sono elettronattrattori, il carattere elettrofilo del carbonio carbonilico aumenta e quindi l'idrolisi procede più rapidamente.
- Se i gruppi R e R' sono ingombranti stericamente, la velocità della reazione di idrolisi risulta diminuita.
- La velocità dell'idrolisi è tanto maggiore quanto più stabile è R'O⁻: gli esteri dei fenoli si idrolizzano con maggior efficienza rispetto agli esteri di alcoli alifatici.

Reazioni caratteristica degli esteri

Reazione con idrossilammina

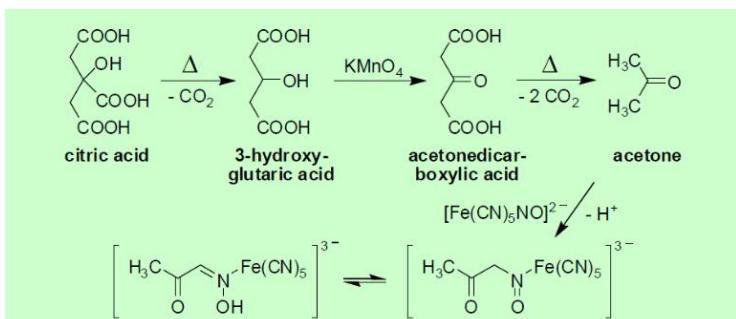
Gli esteri, i cloruri acilici e le ammidi reagiscono con idrossilammina e cloruro ferrico per dare un acido idrossamico, che forma complessi di coordinazione con il Fe³⁺, colorati in rosso-violetto.



Questa reazione non può essere fatta sugli acidi carbossilici. L'idrossilammina è infatti una base e, reagendo con l'acido carbossilico, va a formare un sale e la reazione non procede. Se invece si esegue la medesima reazione su un derivato di un acido (cloruro, estere o ammide) si ha la formazione dell'acido idrossamico corrispondente (reazione di sostituzione), il quale forma complessi di coordinazione con il ferro. Quindi, per dare questa reazione, gli acidi carbossilici devono prima essere trasformati nei corrispondenti cloruri acilici con cloruro di tionile per poi procedere con la reazione di esterificazione e con la reazione di idrossilammina.

Citrati

Un altro gruppo acido caratteristico sono i citrati, che danno reazioni caratteristiche. L'acido citrico è un acido tricarbossilico che viene ossidato con permanganato sotto riscaldamento.

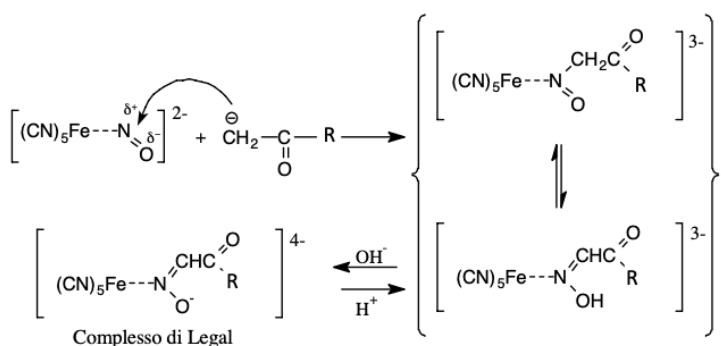
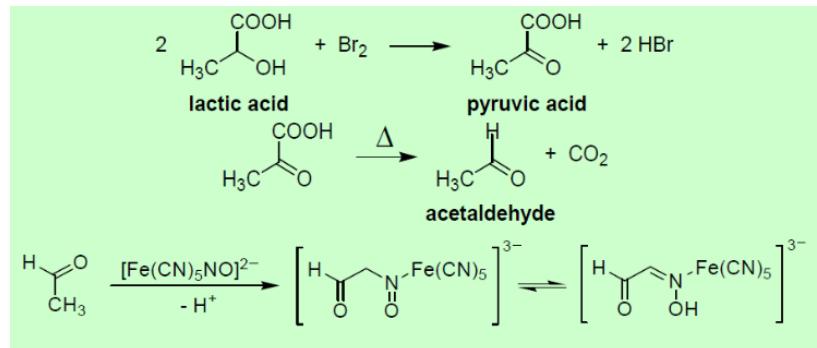


Inizialmente, per riscaldamento, si ha la perdita di un carbossile e l'ottenimento di acido idrossiglutartico. Successivamente, il permanganato va ad ossidare la funzione alcolica e si ha la formazione del chetone corrispondente (acido acetone dicarbossilico) che, sempre per riscaldamento, elimina un ulteriore carbonile. Viene così liberato acetone

che, andando a reagire con sodio nitro prussiato $[Fe(CN)_5NO]^{2-}$, forma un complesso di colore violetto. Questa reazione avviene in ambiente basico; infatti, per poter formare il complesso, l'acetone deve prima essere deprotonato.

Lattati

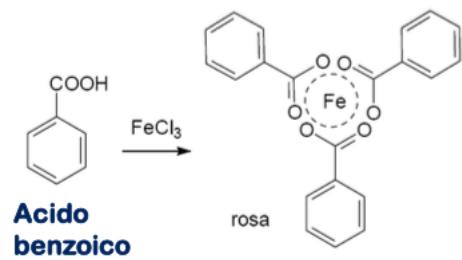
Anch'essi danno una reazione tipica. Vengono trattati con il bromo che va ad ossidare il gruppo alcolico formando acido piruvico. Questo, per riscaldamento, perde CO₂ e forma acetaleide che, in ambiente basico, reagisce con il sodio nitro prussiato e dà un complesso di colore verde.



Come nell'esempio precedente, è l'anione che si è formato dalla deprotonazione dell'acetaldeide a reagire con il sodio nitro prussiato.

Benzoati

Anche l'acido benzoico reagisce con il cloruro ferrico dando però un precipitato rosa carne. A reagire sono tre moli di acido benzoico che vanno a complessare una mole di cloruro ferrico



Acido tartarico

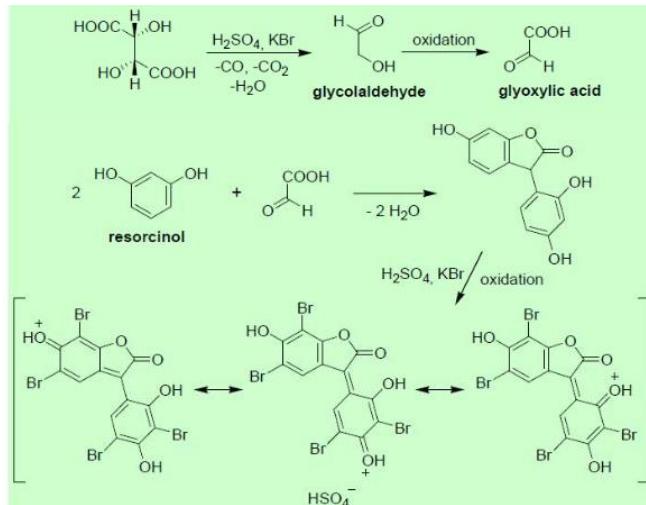
L'acido tartarico subisce invece una reazione di ossidazione da parte dell'acqua ossigenata. All'aggiunta di solfato ferroso (Fe^{2+}) si ha la



formazione dell'acido diidrossifumarico che, in ambiente basico, forma un complesso con il ferro. Due moli di acido complessano una mole di ferro e si ha la comparsa di una colorazione viola.

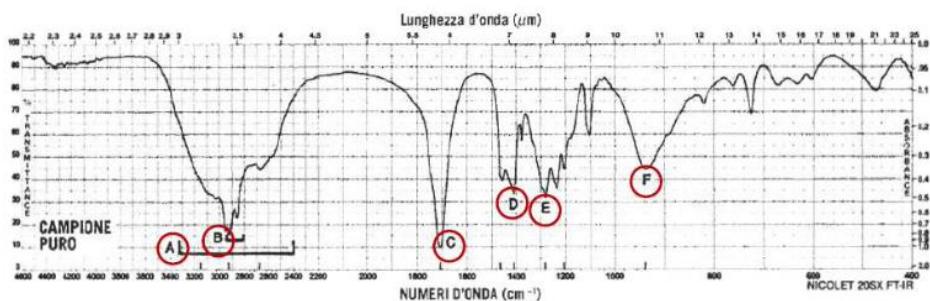
L'acido tartarico dà anche un altro tipo di reazione con l'acido solforico e bromuro di potassio.

Si ha prima la decarbonilazione e l'eliminazione di una molecola di H_2O che porta alla formazione di glicoladeide. Questa viene poi ossidata ad acido gliossilico che reagisce con due molecole di resorcinolo. Si ottiene così un lattone che lega un anello aromatico e, per ulteriore ossidazione, dà un composto che ha una struttura chinoide e una colorazione blu.



Proprietà spettroscopiche

Esempio: acido eptanoico.



- A. Larga banda dello stretching dell'O-H, 3300-2500 cm^{-1} .
- B. Stretching dei C-H 2950, 2932, 2855 cm^{-1} . Sovrapposta allo stretching dell'O-H.
- C. Stretching tipico del C=O dei dimeri degli acidi carbossilici 1711 cm^{-1} .
- D. Bending nel piano del C-O-H, 1413 cm^{-1} .
- E. Stretching del C-O, dimero, 1285 cm^{-1} .
- F. Bending fuori del piano dell'O-H. 939 cm^{-1} .

Gli acidi carbossilici si trovano spesso sotto forma di dimeri grazie alla presenza di legami ad idrogeno; per questo motivo, la banda degli OH è molto ampia (da 3000 arriva quasi a 2400). La maggior parte degli acidi dà questa banda.

Il campione è puro; per questo motivo, sotto la banda ampia degli OH, si vedono anche gli stretching dei legami C-H.

Le bande prima di 1500 sono le bande che si rilevano in quasi tutti gli acidi carbossilici.

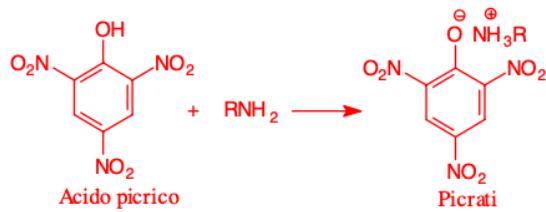
Ammine

Molti composti di interesse farmaceutico contengono gruppi amminici (che sia una funzione amminica primaria, secondaria o terziaria, sia alifatica che aromatico). Danno le seguenti reazioni:

Formazione di sali

Sali picrati

La reazione più semplice è la formazione di sali picrati. Le ammine reagiscono con l'acido picrico (il trinitrofenolo), composto a carattere molto acido. I precipitati che si formano sono di colore giallo e con punto di fusione ben definito.



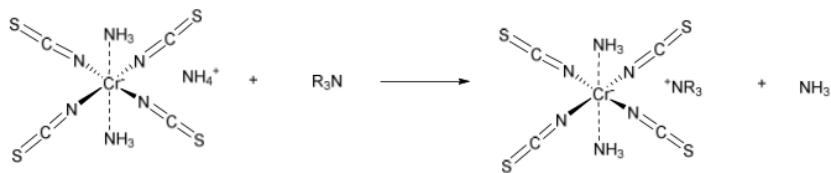
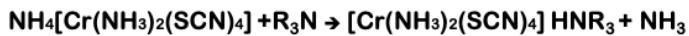
In laboratorio questa reazione è stata vista per la lidocaina cloridrato e il dimenidrinato.

Sali Reineckati

Anche detti sali di cromo diamminotetrasolfocianato di ammonio ($\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]$).

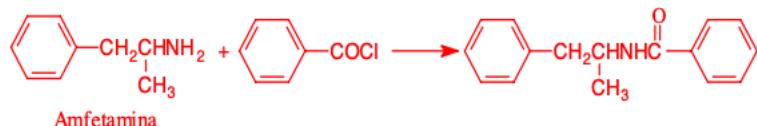
Vengono fatti con le ammine terziarie e portano alla formazione di precipitati rosa.

In laboratorio non si è proceduto con la filtrazione e l'essicazione perché i punti fusione non sono ben rilevabili con gli strumenti che si hanno a disposizione, dal momento che non sono molto elevati.



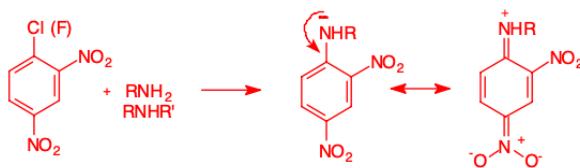
Reazione di acilazione

Le ammine possono essere riconosciute anche tramite reazione di acilazione con i cloruri acilici (come il cloruro di benzoile) che porta alla formazione delle corrispondenti ammidi insolubili; anche queste possono infatti essere filtrate e riconosciute dal loro punto di fusione (applicata ad esempio per riconoscere l'amfetamina)

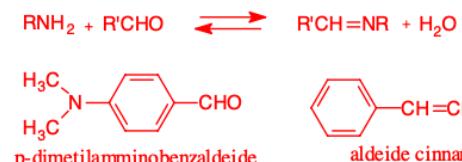


Reazioni cromatiche

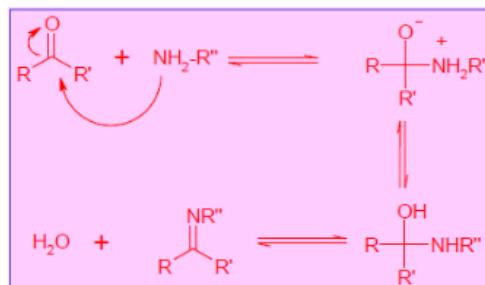
Le ammine primarie e secondarie danno sostituzione nucleofila aromatica con nitro alogenuri aromatici, sviluppando una colorazione gialla (sono i due nitrogruppi ad essere responsabili di questa colorazione).



Formazione di basi di Schiff



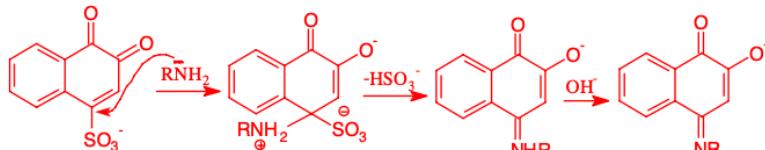
Le ammine primarie sia alifatiche sia aromatiche reagiscono con composti carbonilici (ad esempio p-dimetilamminobenzaldeide) per dare basi di Schiff colorate.



Questa reazione comprende una reazione di addizione e una di eliminazione.

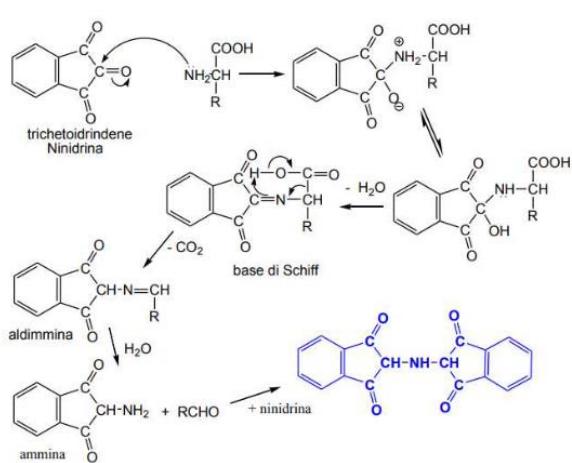
Reazione con naftochinoni solfonati

Si tratta di una sostituzione nucleofila aromatica di ammine alifatiche e aromatiche con formazione di chinonimmine rosse:



Reazione con ninidrina

Le ammine primarie alifatiche reagiscono con la ninidrina dando un colore azzurro-viola. Questa reazione è utile per il riconoscimento degli amminoacidi.

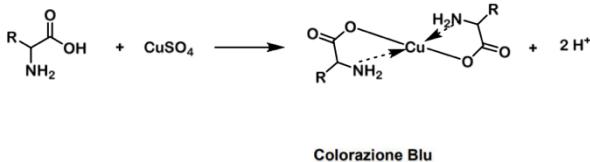


La ninidrina subisce un attacco da parte dell'amminogruppo dell'amminoacido e, per eliminazione di una molecola acqua, si ha la formazione di una base di Schiff che decarbosilla ad aldimmina (reazione che viene effettuata a caldo).

A sua volta l'aldimmina subisce una idrolisi e si ottiene l'aldeide e l'ammina. Quest'ultima, molto simile a ninidrina di partenza (è stato sostituito l'ossigeno con un gruppo amminico) reagisce con un'altra molecola di ninidrina: il gruppo amminico attacca il carbonio carbonilico che, trovandosi in mezzo a due carbonili, è particolarmente acido. Si forma così un composto di colorazione viola.

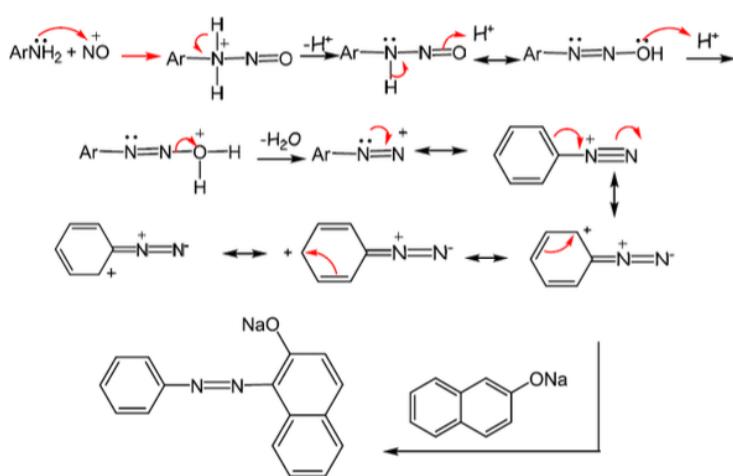
Reazione con Solfato di Rame

Gli α -amminoacidi reagiscono con ioni rameici in soluzione acquosa per dare complessi intensamente colorati di blu.



Reazione di diazotazione con acido nitroso

Le ammine primarie aromatiche reagiscono con acido nitroso per dare i corrispondenti sali di diazonio che, per copulazione con β -naftolo, danno azoderivati colorati (rosso-arancio).

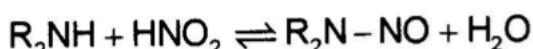


L'acido nitroso, essendo instabile, va formato in situ solubilizzando l'ammina in ambiente acido e aggiungendo nitrito di sodio. Si forma così lo ione nitrosonio che, andando a reagire con l'amminogruppo, dà il sale di diazonio che assume una colorazione giallognola. Questo va poi a reagire con il β -naftolo in soluzione basica che va ad attaccarsi in alfa. Il prodotto è un precipitato rosso-arancio caratteristico delle ammine aromatiche primarie.

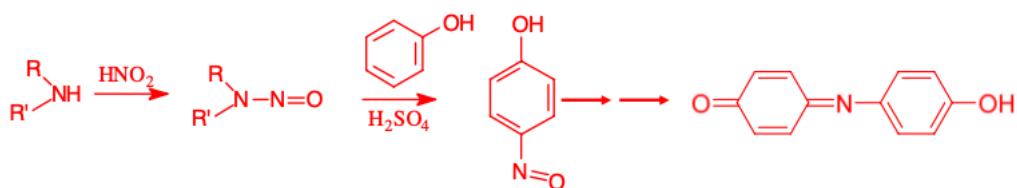
Reazione con HNO_2

Le ammine alifatiche primarie possono dare la reazione di diazotazione ma formano composti molto instabili.

Anche le ammine secondarie, sia alifatiche che aromatiche, possono reagire con HNO_2 ma danno le nitrosammime (tossiche):



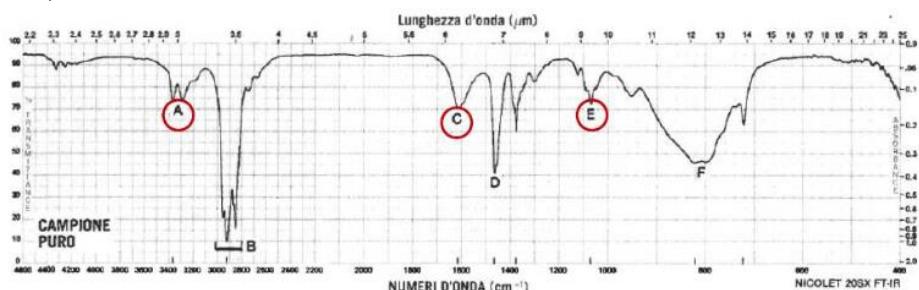
In presenza di H_2SO_4 e fenolo, però, le ammine secondarie danno la reazione di Liebermann (reazione che abbiamo visto per il riconoscimento fenoli): le nitrosammime si decompongono e lo ione nitrosonio così formato reagisce con il fenolo per dare l'indofenolo.



Le ammine terziarie, alifatiche ed aromatiche, danno sali riconoscibili dal punto di fusione ben definito, come picrati o reineckati.

Proprietà spettroscopiche

Esempio: ottiammina, ammina alifatica



Intorno a 3000 cm^{-1} è possibile osservare lo stretching del gruppo NH primario che dà luogo ad un picco sdoppiato dato dallo stretching simmetrico e asimmetrico. Nell'ordine, abbiamo:

- A. Stretching dell'N-H, con legame idrogeno, doppietto accoppiato di una ammina primaria: asimmetrico, 3372 cm^{-1} ; simmetrico, 3290 cm^{-1} .
- B. Stretching dei C-H alifatici, $2925, 2850\text{ cm}^{-1}$: $\text{CH}_2, 2817\text{ cm}^{-1}$.
- C. Bending dell'N-H 1617 cm^{-1} .
- D. CH_2 1467 cm^{-1} .
- E. Stretching del C-N, 1073 cm^{-1} .
- F. N-H (campione puro), $\sim 900-700\text{ cm}^{-1}$.

Il campione è puro (non è presente nujol): il picco B è dovuto agli stretching dei gruppi CH.

A e B sono gli unici picchi caratteristici dei gruppi funzionali.

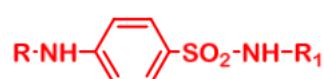
Le ammine primarie sono riconoscibili per il caratteristico doppietto di bande deboli tra 3500 e 3300 cm^{-1} (NH); le secondarie presentano una singola banda a $3350-3300\text{ cm}^{-1}$.

Le ammine aromatiche presentano un forte assorbimento (C-N) tra $1340-1310\text{ cm}^{-1}$, mentre le ammine alifatiche hanno un debole assorbimento tra $1250-1020\text{ cm}^{-1}$.

A differenziare la banda dell'NH da quella dell'OH (che cadono in zone più o meno sovrapponibili dello spettro) è l'allargamento della banda. Mentre la banda dell'OH è molto allargata, quelle dell'NH, che sia primario o secondario, sono sempre molto strette.

Sulfamidici

Sono composti caratterizzati dalla presenza di gruppi acidi e gruppi basici: il gruppo amminico aromatico primario è un gruppo basico, mentre quello solfonamidico è un gruppo acido.



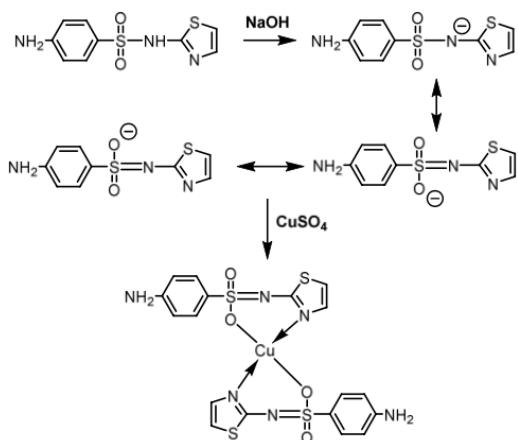
Derivano dalla sulfanilammide (4-ammino- benzensulfonamide) che viene derivatizzata con gruppi eterociclici. Presenta diversi sostituenti sull'azoto ammidico, mentre la funzione amminica può essere libera o

sostituita. La presenza di un gruppo amminico primario e di un protone acido conferisce alla molecola carattere anfotero.

Danno le reazioni tipiche delle ammine aromatiche primarie:

- formazione di sali di diazonio e copulazione con b-naftolo
- condensazione con 4-dimetilamminobenzaldeide (base di Schiff con colorazione caratteristica)

Per riconoscere i diversi sulfamidici si può sfruttare la formazione di complessi di colore caratteristico, per trattamento con CuSO₄ in ambiente basico:



In ambiente basico il gruppo solfonamidico si deprotoна e la carica negativa può essere delocalizzata sugli atomi adiacenti (come si può vedere dalle diverse strutture di risonanza). Il rame si andrà a legare all'ossigeno carico negativamente, e si andrà a formare un legame dativo con l'eteroatomo presente sull'eterociclo che caratterizza il sulfamidico.

Alcaloidi

Gli alcaloidi sono composti azotati, spesso di natura eterociclica, con un grado di basicità variabile e caratteristiche chimico-fisiche molto simili a quelle dei composti amminici. Sono insolubili in acqua come basi libere, e vengono per questo convertiti nei corrispondenti cloridrati. Un esempio è la papaverina cloridrato.

Per il riconoscimento degli alcaloidi si utilizzano principalmente o il reattivo di Dragendorff o l'acido picrico.

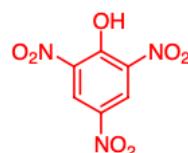
Reattivo di Dragendorff

Una soluzione acquosa di alcaloide in presenza del reattivo di Dragendorff (KBiI₄, tetraiodio bismutato di potassio) dà un precipitato rosso-arancio:



Acido Picrico

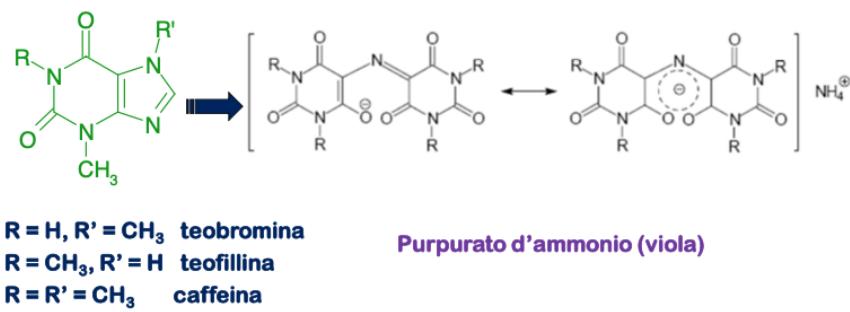
Per reazione con acido picrico, gli alcaloidi danno un precipitato giallo cristallino con punti di fusione definiti, e quindi riconoscibili.



Possono anche essere identificati come cloridrati, come è stato fatto in laboratorio.

Xantina

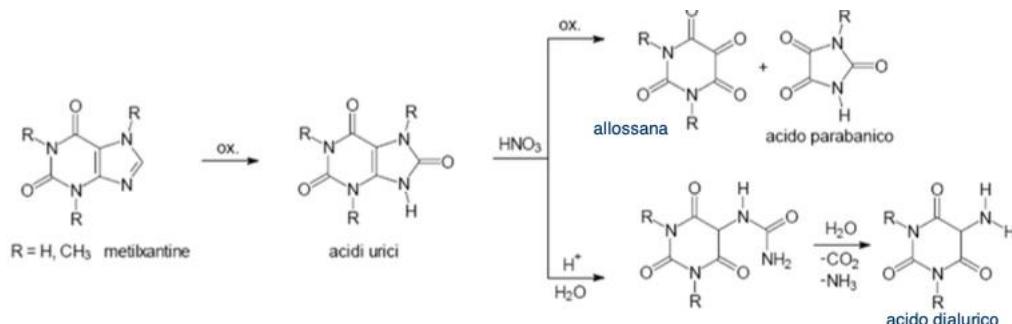
L'anello purinico delle xantina viene ossidato per trattamento con H_2O_2 in ambiente acido e, per successiva addizione di ammoniaca, si ottiene una colorazione rosso-viola dovuta alla formazione del sale dell'acido purpurico (muresside o porporato di ammonio):



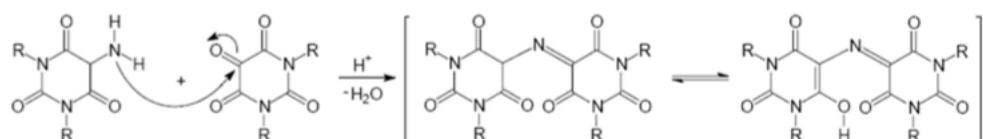
Le xantina subiscono una reazione di ossidazione e, per la presenza dell'acido, si ha la rottura dell'anello. Lo stesso tipo di reazione si ottiene utilizzando, come unico reattivo, l'acido nitrico fumante (composto a carattere acido). È un ossidante ma è una sostanza difficile da trattare: oltre a rilasciare vapori tossici, si degrada facilmente perdendo la sua forza abbastanza velocemente.

Meccanismo:

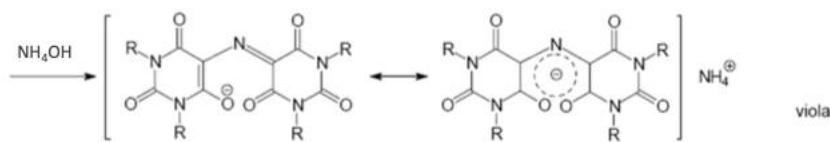
La reazione va effettuata a caldo. L'ossidazione avviene nell'unica posizione libera dell'anello purinico a livello dell'anello imidazolico, e si vede a formare acido urico. Da qui, una parte delle xantine va incontro ad una ulteriore ossidazione, formando allossana (corrispondente all'anello pirimidinico tutto ossidato) e acido parabanoico (corrispondente all'anello imidazolico completamente ossidato). L'altra parte subisce, per azione dell'acido, una rottura dell'anello imidazolico il quale, a causa della temperatura, perde CO_2 e ammoniaca e va a formare acido dialurico.



A questo punto si ha un attacco nucleofilo dell'amminogruppo dell'acido dialurico al carbonile dell'allossana, seguita dall'eliminazione di una molecola d'acqua e all'ottenimento dell'acido purpurico, descritto dalle due strutture di risonanza e responsabile della colorazione giallo arancio che otteniamo sulla capsula quando la reazione è quasi finita e si sono asciugati i solventi.



Aggiungendo ammoniaca (idrossido di ammonio) all'acido purpurico, si forma il sale dell'acido purpurico (muresside o porporato di ammonio) che ha una colorazione viola.



Seconda spiegazione del saggio Lassaigne perché in laboratorio sono esplose cose:

Prendere la sostanza e aggiungere la miscela magnesiaca formata da una parte di magnesio in polvere e due parti di carbonato di potassio anidro, e trasferirla nel tubo da saggio fino a riempirne 1/3. È consigliato pulire l'esterno del tubo per evitare che il magnesio in polvere prenda fuoco. Scaldare il tubo per dieci minuti per far sì che la miscela magnesiaca trasformi lo zolfo in solfuro e il carbonio e l'azoto in cianuro. Quando il tubo da saggio è ancora incandescente, porlo nel becher contenente 5 ml acqua e filtrare. È possibile da subito rendersi conto se la combustione è avvenuta in maniera adeguata: se l'acqua nel becher è marrone, vuol dire che il tubo non è stato scaldato abbastanza (al massimo deve essere grigia con dei pezzetti neri).

Dalla filtrazione si ottiene una soluzione alcalina limpida e incolore. Prelevarne un'aliquota, trasferirla in una provetta e aggiungere solfato ferroso per rivelare la presenza di S e N:

- Se è presente S, si formerà subito un precipitato nero
- Se ho N e non S, non si avrà una colorazione caratteristica rilevante.

Successivamente, portare a ebollizione e lasciare per 5 minuti. Il ferro, per azione dell'ossigeno atmosferico e dell'ebollizione, si ossida a Fe³⁺ (anche qui il colore non è caratteristico). Raffreddare la provetta e aggiungere acido solforico che va a scioglie il solfuro (se presente) e a liberare ferro trivale che, in soluzione alcalina, potrebbe aver formato idrossido. A questo punto, il ferro trivale può complessare con ferrocianuro a dare il ferrocianuro ferrico. Se è presente N (sottoforma di cianuro), si ha la formazione del complesso e la soluzione si colora di blu (blu di Prussia).

Se non è presente N la soluzione non avrà una colorazione caratteristica (si possono formare vari colori in base alla decomposizione della sostanza).

Se non si è sicuri sulla presenza di N, fare il saggio con calce sodata: mettere la cartina al tornasole rossa dopo averla bagnata leggermente con acqua distillata (facendo attenzione che la cartina non si colori di blu prima del saggio) su tubo da saggio all'interno del quale è stata posta una piccola quantità di sostanza con della calce sodata precedentemente triturata.

RICONOSCIMENTI FARMACOPEA EUROPEA

In farmacopea sono indicate reazioni che non rientrano nell'elenco di saggi e test che abbiamo visto finora, vediamo alcune monografie e definiamo quali sono i test necessari ai fini dell'identificazione.

Acido salicilico

SALICYLIC ACID

Acidum salicylicum



$C_7H_6O_3$
[69-72-7]

M_r 138.1

DEFINITION

2-Hydroxybenzenecarboxylic acid.

Content: 99.0 per cent to 100.5 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or white or colourless, acicular crystals.

Solubility: slightly soluble in water, freely soluble in ethanol (96 per cent), sparingly soluble in methylene chloride.

IDENTIFICATION

First identification: A, B.

Second identification: A, C.

A. Melting point (2.2.14): 158 °C to 161 °C.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

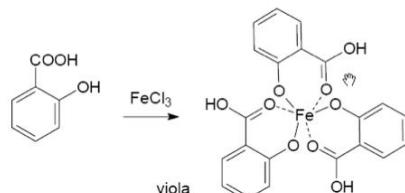
Comparison: salicylic acid CRS.

C. Dissolve about 30 mg in 5 mL of 0.05 M sodium hydroxide, neutralise if necessary and dilute to 20 mL with water R. 1 mL of the solution gives reaction (a) of salicylates (2.3.1).

SALICYLATES

a) To 1 mL of the prescribed solution add 0.5 mL of ferric chloride solution R1. A violet colour is produced that persists after the addition of 0.1 mL of acetic acid R.

b) Dissolve 0.5 g of the substance to be examined in 10 mL of water R or use 10 mL of the prescribed solution. Add 0.5 mL of hydrochloric acid R. The precipitate obtained, after recrystallisation from hot water R and drying *in vacuo*, has a melting point (2.2.14) of 156 °C to 161 °C.



Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda i punti **A** e **B**.

A) Punto di fusione: 158°C – 161°C → Rappresenta un intervallo

Qualora la sostanza in esame, decomponga (oltre a fondere), è necessario indicare questo fenomeno aggiungendo "(d)" dopo la temperatura relativa al punto di fusione.

Il capillare non può essere riposto nuovamente nello strumento in seguito a raffreddamento, per rimisurare il punto di fusione.

B) Spettro IR: in laboratorio sono presenti spettri standard consultabili per verificare che i picchi identificativi corrispondano.

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento ai punti **A** e **C**.

C) “dissolvere circa 30 mg in 5 mL di sodio idrossido 0,05M, neutralizzare se necessario e diluire a 20 mL con acqua. 1 mL della soluzione dà la reazione (a) dei salicilati.” → reazione caratteristica.

Quindi per questa sostanza andiamo a fare solo la reazione (a) dei salicilati: quella con cloruro ferrico che origina un complesso viola che persiste per aggiunta di 1 mL di acido acetico.

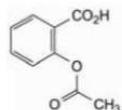
A questo punto, volendo, possiamo anche fare la reazione (b) dei salicilati per conferma della sostanza: dissolvere 0,5 g di sostanza in 10 mL di acqua o soluzione prescritta e aggiungere acido cloridrico. Per aggiunta di acido cloridrico, l'acido salicilico precipita perché insolubile in soluzione acquosa acida. Il precipitato ottenuto, dopo essere stato ricristallizzato in acqua calda e seccato, ha un punto di fusione tra 156°C e 161°C. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

Le reazioni dei salicilati ovviamente sono applicabili a vari tipi di composti che possiedono la stessa natura.

Acido acetilsalicilico

ACETYLSALICYLIC ACID

Acidum acetylsalicylicum



$C_9H_8O_4$
[50-78-2]

M_r 180.2

DEFINITION

2-(Acetoxy)benzoic acid.

Content: 99.5 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or colourless crystals.

Solubility: slightly soluble in water, freely soluble in ethanol (96 per cent).

mp: about 143 °C (instantaneous method).

IDENTIFICATION

First identification: A, B.

Second identification: B, C, D.

A. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: acetylsalicylic acid CRS.

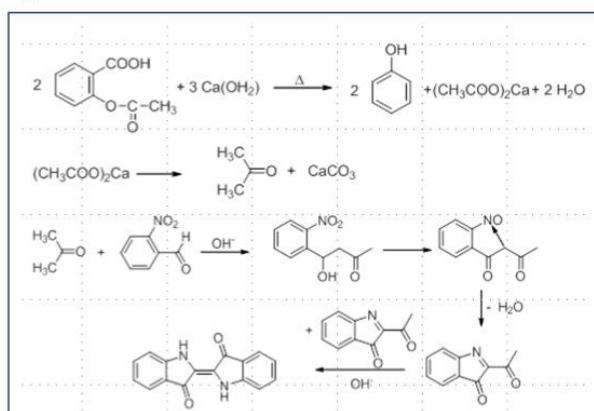
B. To 0.2 g add 4 mL of dilute sodium hydroxide solution R and boil for 3 min. Cool and add 5 mL of dilute sulfuric

acid R. A crystalline precipitate is formed. Filter, wash the precipitate and dry at 100–105 °C. The melting point (2.2.14) is 156 °C to 161 °C.

C. In a test tube mix 0.1 g with 0.5 g of calcium hydroxide R. Heat the mixture and expose to the fumes produced a piece of filter paper impregnated with 0.05 mL of nitrobenzaldehyde solution R. A greenish-blue or greenish-yellow colour develops on the paper. Moisten the paper with dilute hydrochloric acid R. The colour becomes blue.

D. Dissolve with heating about 20 mg of the precipitate obtained in identification test B in 10 mL of water R and cool. The solution gives reaction (a) of salicylates (2.3.1).

C.



Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda i punti **A e B**.

A) Spettro IR: in laboratorio sono presenti spettri standard consultabili per verificare che i picchi identificativi corrispondano

B) Aggiungiamo a 0,2 g di sostanza 4 mL di *sodio idrossido diluito* e facciamo bollire per 3 minuti (idrolisi dell'estere). Raffreddiamo e aggiungiamo 5 mL *acido solforico diluito* che fa precipitare l'acido salicilico ottenuto in seguito all'idrolisi. Dopo filtrazione, lavaggio con acqua ed essicamento, si osserva un punto di fusione tra 156°C e 161°C. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento ai punti **B e C e D**.

C) 0,1 g di campione vengono mischiati con *idrossido di calcio*. Per riscaldamento si ha la rottura della molecola con formazione di *fenolo* ed *acetato di calcio*.

Succede poi che l'acetato si scinde ulteriormente in *acetone* e *carbonato di calcio*. Si espongono i fumi prodotti dalla reazione ad un pezzo di carta da filtro impregnata di soluzione di *o-nitro benzaldeide*, avviene questa addizione in ambiente basico che porta alla deprotonazione dell'*acetone* che attacca il carbonile della *benzaldeide*, si ottiene un nitroderivato.

La reazione successiva è una ossidoriduzione fra due gruppi funzionali della stessa molecola (nitrogruppo ossidante, alcol secondario riduttore), si ottiene un composto intermedio che dà una reazione di condensazione tra i due gruppi per formare un anello.

Nel ciclo formato, si ha la rottura del legame C-C a causa della tensione della polarizzazione del legame (ognuno dei due è legato ad elementi elettronegativi), indol-3-one che è dimerizza per dare l'*indaco* → colorazione blu. (sostanza utilizzata per colorare i tessuti di blu, la cartina si colora di blu)

D) Altra reazione dei salicilati, si usa il precipitato della reazione **B**, si solubilizza in acqua e la soluzione dà la reazione (a) dei salicilati. (non viene eseguito in laboratorio perché non si fa l'identificazione B)

Acido sorbico

SORBIC ACID

Acidum sorbicum



$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2$
[110-44-1]

M_r 112.1

DEFINITION

(E,E)-Hexa-2,4-dienoic acid.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder.

Solubility: slightly soluble in water, freely soluble in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

First identification: A, C.

Second identification: A, B, D.

A. Melting point (2.2.14): 132 °C to 136 °C.

B. Ultraviolet and visible absorption spectrophotometry (2.2.25).

Test solution. Dissolve 50.0 mg in *water R* and dilute to 250.0 mL with the same solvent. Dilute 2.0 mL of this solution to 200.0 mL with 0.1 M hydrochloric acid.

Spectral range: 230–350 nm.

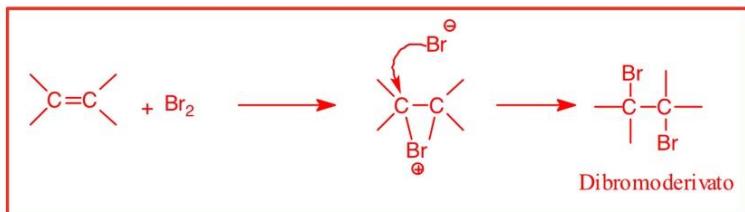
Absorption maximum: at 264 nm.

Specific absorbance at the absorption maximum: 2150 to 2550.

C. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: sorbic acid CRS.

D. Dissolve 0.2 g in 2 mL of *ethanol (96 per cent) R* and add 0.2 mL of *bromine water R*. The solution is decolorised.



Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda i punti **A** e **C**.

A) Punto di fusione: 132°C – 136°C (attenzione che i punti di fusione non sono unici per le varie sostanze, quindi è necessario utilizzare tutti i metodi di identificazione)

C) Spettro IR

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento ai punti **A** e **B** e **D**.

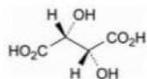
B) Spettro UV

D) Dissolvere 0,2 g in 2 mL di *etanolo* e aggiungere 0,2 mL di *acqua di bromo*. Si osserva decolorazione data dalla formazione del bromo-derivato. (reazione vista con le insaturazioni con il bromo)

Acido Tartarico

TARTARIC ACID

Acidum tartaricum



C₄H₆O₅
[87-69-4]

M_r 150.1

DEFINITION

(2R,3R)-2,3-Dihydroxybutanedioic acid.

The substance is of natural origin, obtained by extraction of lees during winemaking.

Content: 99.5 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or colourless crystals.

Solubility: very soluble in water, freely soluble in ethanol (96 per cent).

TARTRATES

a) Dissolve about 15 mg of the substance to be examined in 5 mL of *water R* or use 5 mL of the prescribed solution. Add 0.05 mL of a 10 g/L solution of *ferrous sulfate R* and 0.05 mL of *dilute hydrogen peroxide solution R*. A transient yellow colour is produced. After the colour has disappeared add *dilute sodium hydroxide solution R* dropwise. A violet or purple colour is produced.

b) To 0.1 mL of a solution of the substance to be examined containing the equivalent of about 15 mg of tartaric acid per millilitre or to 0.1 mL of the prescribed solution add 0.1 mL of a 100 g/L solution of *potassium bromide R*, 0.1 mL of a 20 g/L solution of *resorcinol R* and 3 mL of *sulfuric acid R*. Heat on a water-bath for 5 min to 10 min. A dark-blue colour develops. Allow to cool and pour the solution into *water R*. The colour changes to red.

IDENTIFICATION

A. Solution S (see Tests) is strongly acid (2.2.4).

B. It gives the reactions of tartrates (2.3.1).

Polvere cristallina molto solubile in acqua. Si trova tra i primi quadri delle sostanze organiche, importante osservare il pH → acido

A) La soluzione S (per la preparazione consultare sezione “tests”) è fortemente acida

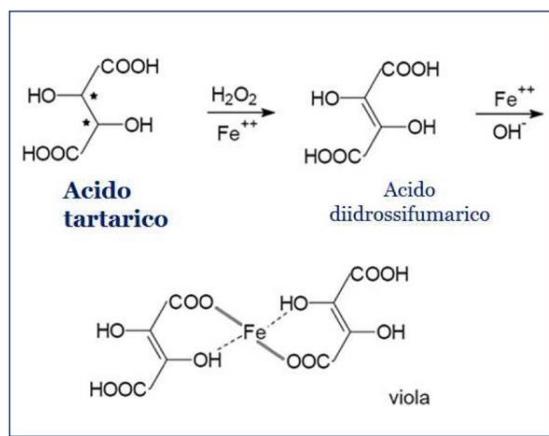
B) Dà le reazioni dei tartrati:

a) Dissolvere circa 15 mg di sostanza in esame in 5 mL di acqua o soluzione prescritta. Aggiungere 0,05 mL di una soluzione di *ferro solfato* 10 g/L e 0,05 mL di *acqua ossigenata diluita*. Si forma una colorazione gialla. In seguito a decolorazione aggiungere *sodio idrossido diluito* goccia a goccia. Si produce una colorazione viola (complesso).

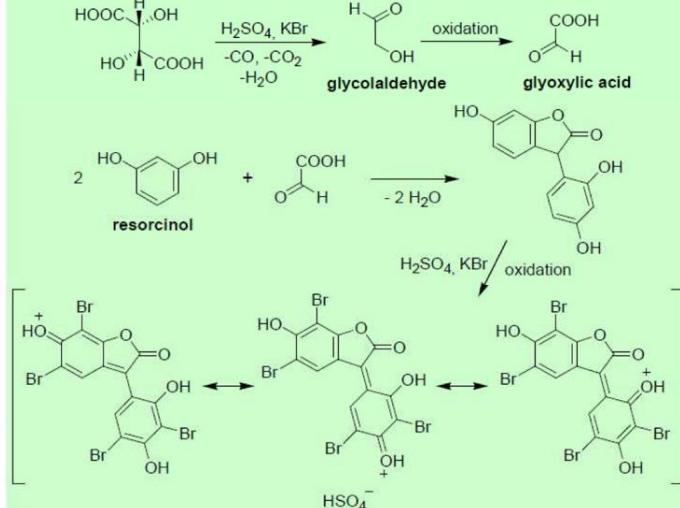
- si ha l’ossidazione dell’acido tartarico ad acido diidrossi fumarico, e con il ferro solfato (bivalente) si ha la formazione del complesso viola.

b) Dissolvere circa 15 mg di sostanza in esame in 5 mL di acqua o soluzione prescritta. Aggiungere 0,1 mL di *potassio bromuro* 100 g/L, 0,1 mL di *resorcinolo* 20 g/L e 3 mL di *acido solforico*. Scaldare a bagnomaria per 5-10 minuti. Si osserva una colorazione blu scuro che in seguito a raffreddamento ed aggiunta di acqua cambia a rosso.

- composti caratterizzati da estesa coniugazione e si mostrano colorati, da acido tartarico si ottiene acido gliossilico, che condensa con il resorcinolo per cui si ha la chiusura e la formazione del lattone, e per ulteriore ossidazione e bromurazione dell’anello, i gruppi cromofori e gruppi auxocromi portano alla formazione del complesso colorato



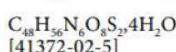
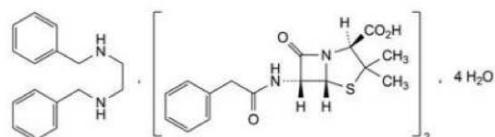
Tartaric acid is converted to glycolaldehyde by decarboxylation, decarbonylation, and finally water elimination. Glycolaldehyde is readily oxidized to glyoxylic acid, which undergoes condensation with 2 molecules of resorcinol to result in a diphenylmethane-type lactone derivative. The tetrabromo-substituted derivative of the above-mentioned lactone exists as a quinoidal-type blue oxonium salt in concentrated sulfuric acid.



Benzilpenicillina (benzatina) tetraidrata

BENZYL PENICILLIN (BENZATHINE) TETRAHYDRATE

Benzathini benzylpenicillinum
tetrahydricum



M_r 981

DEFINITION

N¹,N²-Dibenzylethane-1,2-diamine bis[(2S,5R,6R)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-(2-phenylacetamido)-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylate] tetrahydrate.

Salt obtained from *Benzylpenicillin sodium* (0114) or *Benzylpenicillin potassium* (0113) produced by the growth of certain strains of *Penicillium notatum* or related micro-organisms.

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, slightly hygroscopic powder.

Solubility: very slightly soluble in water, freely soluble in dimethylformamide and in formamide, slightly soluble in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

First identification: A.

Second identification: B, C, D.

A. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: benzathine benzylpenicillin CRS.

B. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. Dissolve 25 mg of the substance to be examined in 5 mL of methanol R.

Reference solution. Dissolve 25 mg of benzathine benzylpenicillin CRS in 5 mL of methanol R.

Plate: TLC silanised silica gel plate R.

Mobile phase: mix 30 volumes of acetone R and 70 volumes of a 154 g/L solution of ammonium acetate R previously adjusted to pH 7.0 with ammonia R.

Application: 1 µL.

Development: over 2/3 of the plate.

Drying: in air.

Detection: expose to iodine vapour until the spots appear and examine in daylight.

System suitability: reference solution:

– the chromatogram shows 2 clearly separated spots.

Results: the 2 principal spots in the chromatogram obtained with the test solution are similar in position, colour and size to the 2 principal spots in the chromatogram obtained with the reference solution.

C. Place about 2 mg in a test-tube about 150 mm long and 15 mm in diameter. Moisten with 0.05 mL of water R and add 2 mL of sulfuric acid-formaldehyde reagent R. Mix the contents of the tube by swirling; the solution is practically colourless. Place the test-tube on a water-bath for 1 min; a reddish-brown colour develops.

D. To 0.1 g add 2 mL of 1 M sodium hydroxide and shake for 2 min. Shake the mixture with 2 quantities, each of 3 mL, of ether R. Evaporate the combined ether layers to dryness and dissolve the residue in 1 mL of ethanol (50 per cent V/V) R. Add 5 mL of picric acid solution R, heat at 90 °C for 5 min and allow to cool slowly. Separate the crystals and recrystallise from ethanol (25 per cent V/V) R containing 10 g/L of picric acid R. The crystals melt (2.2.14) at about 214 °C.

Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda il punto A.

A) Spettro IR: si osserverà la presenza dei carbonili, anello aromatico, carbossile ecc...

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento ai punti **B** e **C** e **D**.

B) TLC (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

C) Reazione caratteristica delle penicilline (non viene eseguito in laboratorio perché prevede utilizzo della formaldeide)

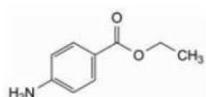
D) Ad 0,1 g di sostanza si aggiungono 2 mL di *sodio idrossido* e si agita per 2 minuti. La miscela viene agitata per 2 volte con 3 mL di *etere etilico*. Si fa evaporare la fase organica. Il residuo viene solubilizzato con 1 mL di *etanolo 50% V/V* e si aggiungono 5 mL di *acido picrico*. Scaldare a 90°C per 5 minuti e lasciar raffreddare. Separare i cristalli e ricristallizzare con *etanolo 25% V/V* con *acido picrico 10 g/L*. I sali picrati formati hanno punto di fusione a circa 214°C. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo e perché non facciamo le estrazioni)

Il trattamento con idrossido di sodio va a separare la base (*benzatina*) che essendo libera passa nella fase eterica (maggiore affinità) che viene successivamente estratta. Tramite rotavapor otteniamo la *benzatina* che può dare la reazione con l'acido picrico essendo un composto amminico.

Benzocaina

BENZOCAINE

Benzocainum



$C_9H_{11}NO_2$
[94-09-7]

M_r 165.2

DEFINITION

Ethyl 4-aminobenzoate.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or colourless crystals.

Solubility: very slightly soluble in water, freely soluble in ethanol (96 per cent).

It shows polymorphism (5.9).

IDENTIFICATION

Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: benzocaine CRS.

If the spectra obtained show differences, dissolve the substance to be examined and the reference substance separately in anhydrous ethanol R, evaporate to dryness and record new spectra using the residues.

5.9. POLYMORPHISM

Polymorphism (or crystal polymorphism) is a phenomenon related to the solid state; it is the ability of a compound in the solid state to exist in different crystalline forms having the same chemical composition. Substances that exist in a non-crystalline solid state are said to be amorphous.

.....
Different crystalline forms or solvates may be produced by varying the crystallisation conditions (temperature, pressure, solvent, concentration, rate of crystallisation, seeding of the crystallisation medium, presence and concentration of impurities, etc.).

La benzocaina è una sostanza che mostra polimorfismo, abbiamo infatti visto che alcune sostanze solide possono dare diversi polimorfi (strutture cristalline differenti). Questo dipende da come avviene la reazione di cristallizzazione (solvente, velocità di raffreddamento...).

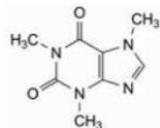
Come unica modalità di riconoscimento prevede lo spettro IR: è necessario confrontare con uno standard se gli spettri ottenuti mostrano delle differenze oppure è necessario solubilizzare uno standard e la sostanza in esame con *etanolo anidro*, ricristallizzare ed eseguire nuovamente uno spettro sulle due cristallizzazioni ottenute. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza strumenti per evaporazione).

Possiamo comunque sottoporre la benzocaina a reazioni non presenti in farmacopea: reazione delle ammine aromatiche primarie (positivo per presenza di amminogruppo legato all'anello) e reazione degli acidi idrossamici (positivo per presenza di funzione esterea).

Caffeina

CAFFEINE

Coffeignum



C₈H₁₀N₄O₂
[58-08-2]

M_r 194.2

DEFINITION

1,3,7-Trimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purine-2,6-dione.

Content: 98.5 per cent to 101.5 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or silky crystals.

Solubility: sparingly soluble in water, freely soluble in boiling water, slightly soluble in ethanol (96 per cent). It dissolves in concentrated solutions of alkali benzoates or salicylates.

It sublimes readily.

IDENTIFICATION

First identification: A, B, E.

Second identification: A, C, D, E, F.

A. Melting point (2.2.14): 234 °C to 239 °C.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: caffeine CRS.

- C. To 2 mL of a saturated solution add 0.05 mL of *iodinated potassium iodide solution R*. The solution remains clear. Add 0.1 mL of *dilute hydrochloric acid R*; a brown precipitate is formed. Neutralise with *dilute sodium hydroxide solution R*; the precipitate dissolves.
- D. In a ground-glass-stoppered tube, dissolve about 10 mg in 0.25 mL of a mixture of 0.5 mL of *acetylacetone R* and 5 mL of *dilute sodium hydroxide solution R*. Heat in a water-bath at 80 °C for 7 min. Cool and add 0.5 mL of *dimethylaminobenzaldehyde solution R2*. Heat again in a water-bath at 80 °C for 7 min. Allow to cool and add 10 mL of *water R*; an intense blue colour develops.
- E. Loss on drying (see Tests).
- F. It gives the reaction of xanthines (2.3.1).

Dà la reazione delle xantine (prima reazione che si esegue in seguito a positività per l'azoto nel saggio di Lassaigne)

Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda il punto **A, B, E.**

A) Punto di fusione: 234 – 239°C

B) Spettro IR

E) Perdita di peso ad essicazione (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento ai punti **A e C e D, E, F.**

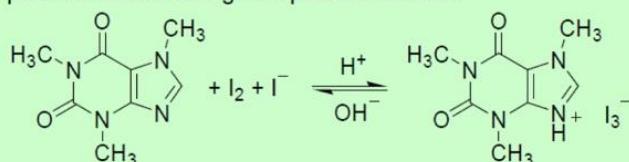
C) In presenza di soluzione *iodo iodurata* e in ambiente acido si forma un precipitato bruno. Il precipitato si dissolve per aggiunta di *sodio idrossido diluito*. Non è una reazione specifica, caratteristica, possono darla anche altri composti.

D) In ambiente basico si rompere l'anello pirimidinico della caffeina (a caldo con bagnomaria), avviene una decarbossilazione e si ottiene un composto chiamato *caffeidina*. Questo nuovo composto reagisce con *acetil acetone* che si lega all'azoto dell'ex anello pirimidinico della caffeidina. Avviene una ciclizzazione e si ottiene un sale imidazopirimidinio, il quale da reazione con *dimetilaminobenzaldeide* formando un prodotto altamente coniugato che conferisce una colorazione blu alla soluzione.

F) Test delle xantine

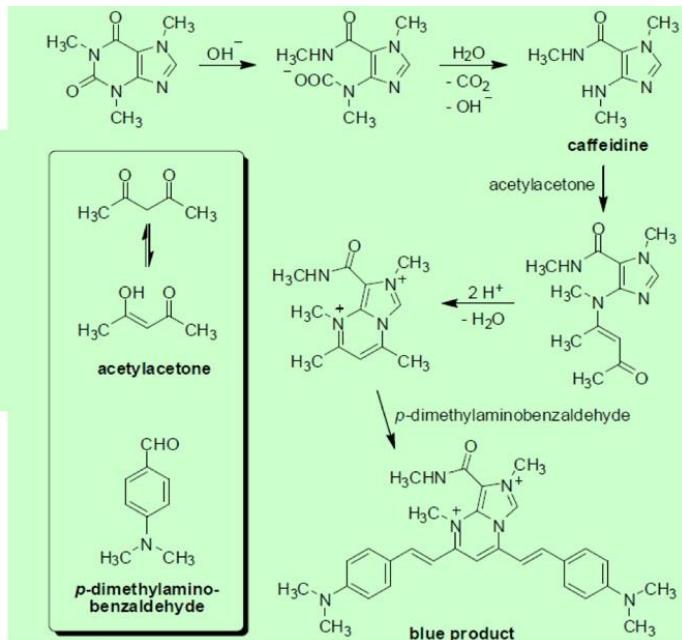
- Identificazione C

Under acidic conditions, the protonated form of caffeine forms a brown precipitate with triiodide ions. In alkaline medium, the precipitate dissolves. The reaction is not characteristic for caffeine; other purine alkaloids also give a positive reaction.



Identificazione D

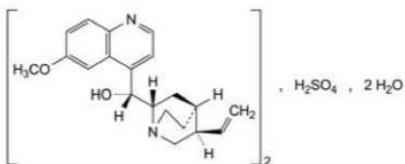
In alkaline solution, caffeidine is formed by the ring opening of the pyrimidine ring of caffeine. Caffeidine reacts with acetylacetone to give an enamine-type compound, which turns to an imidazo[1,5-a]pyrimidinium salt in acidic medium through ring closure (the *dimethylaminobenzaldehyde solution R2* is strongly acidic). The latter compound forms a blue condensed product with *p*-dimethylaminobenzaldehyde



Chinina solfato

QUININE SULFATE

Chinini sulfas



$\text{C}_{40}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}_2\text{H}_2\text{O}$
[6119-70-6]

M_r 783

DEFINITION

Alkaloid monosulfates, expressed as bis[(*R*)-[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-ethenyl-1-azabicyclo[2.2.2]oct-2-yl](6-methoxyquinolin-4-yl)methanol] sulfate dihydrate.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or fine, colourless needles.

Solubility: slightly soluble in water, sparingly soluble in boiling water and in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

A. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. Dissolve 0.10 g of the substance to be examined in *methanol R* and dilute to 10 mL with the same solvent.

Reference solution. Dissolve 0.10 g of *quinine sulfate CRS* in *methanol R* and dilute to 10 mL with the same solvent.

Plate: *TLC silica gel G plate R*.

Mobile phase: *diethylamine R, ether R, toluene R* (10:24:40 V/V/V).

Application: 5 μL .

Development: twice over a path of 15 cm; dry in a current of air for 15 min between the 2 developments.

Drying: at 105 °C for 30 min and allow to cool.

Detection: spray with *iodoplatinate reagent R*.

Results: the principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position, colour and size to the principal spot in the chromatogram obtained with the reference solution.

B. Dissolve about 5 mg in 5 mL of *water R*. Add 0.2 mL of *bromine water R* and 1 mL of *dilute ammonia R2*. A green colour develops.

C. Dissolve 0.1 g in 3 mL of *dilute sulfuric acid R* and dilute to 100 mL with *water R*. When examined in ultraviolet light at 366 nm, an intense blue fluorescence appears which disappears almost completely on the addition of 1 mL of *hydrochloric acid R*.

D. Dissolve about 45 mg in 5 mL of *dilute hydrochloric acid R*. The solution gives reaction (a) of sulfates (2.3.1).

E. pH (see Tests).

TESTS

Solution S. Dissolve 0.500 g in 0.1 M *hydrochloric acid* and dilute to 25.0 mL with the same acid.

pH (2.2.3): 5.7 to 6.6 for a 10 g/L suspension in *water R*.

Specific optical rotation (2.2.7): -237 to -245 (dried substance), determined on solution S.

La chinina solfato ha gli stessi test della chinidina solfato ad eccezione dei diversi valori del potere rotatorio:

A) TLC (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo) lastrina di 15cm per 2 volte

B) Dissolvere circa 5 mg in 5 mL di acqua. Aggiungere 0,2 mL di *acqua di bromo* e 1 mL di *ammoniaca diluita*. Si sviluppa una colorazione verde.

C) dissolvere 0,1 g in 3 mL di *acido solforico diluito* e diluire a 100 mL con acqua. Sotto una luce ultravioletta a 366 nm, si sviluppa un'intensa fluorescenza blu, che scompare quasi completamente con l'addizione di 1 mL di *acido cloridrico*. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di strumentazione)

D) Dissolvere circa 45 mg in 5 mL di *acido cloridrico diluito*. Dà la reazione (a) dei sulfati.

F) Controllo del pH (guardare sezione test).

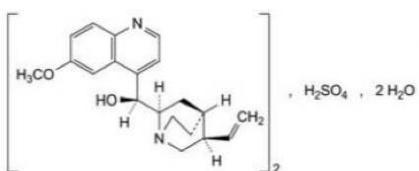
Per la chinina possiamo eseguire anche due analisi della sezione “tests”: potere rotatorio e controllo del pH.

Potere rotatorio: composto levogiro, antimalarico

Chinidina solfato

QUINIDINE SULFATE

Chinidini sulfas



$C_{40}H_{50}N_4O_8S_2\cdot 2H_2O$
[6591-63-5]

M_r 783

DEFINITION

Alkaloid monosulfates, expressed as bis[(S)-[(2R,4S,5R)-5-ethenyl-1-azabicyclo[2.2.2]oct-2-yl](6-methoxyquinolin-4-yl)methanol] sulfate dihydrate.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or silky, colourless needles.

Solubility: slightly soluble in water, soluble in boiling water and in ethanol (96 per cent), practically insoluble in acetone.

IDENTIFICATION

A. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. Dissolve 0.10 g of the substance to be examined in *methanol R* and dilute to 10 mL with the same solvent.

Reference solution. Dissolve 0.10 g of *quinidine sulfate CRS* in *methanol R* and dilute to 10 mL with the same solvent.

Plate: TLC silica gel G plate R.

Mobile phase: diethylamine R, ether R, toluene R (10:24:40 V/V/V).

Application: 5 μ L.

Development: twice over a path of 15 cm; dry in a current of air for 15 min between the 2 developments.

Drying: at 105 °C for 30 min and allow to cool.

Detection: spray with *iodoplatinate reagent R*.

Results: the principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position, colour and size to the principal spot in the chromatogram obtained with the reference solution.

B. Dissolve about 5 mg in 5 mL of *water R*. Add 0.2 mL of *bromine water R* and 1 mL of *dilute ammonia R2*. A green colour develops.

C. Dissolve 0.1 g in 3 mL of *dilute sulfuric acid R* and dilute to 100 mL with *water R*. When examined in ultraviolet light at 366 nm, an intense blue fluorescence appears which disappears almost completely on addition of 1 mL of *hydrochloric acid R*.

D. Dissolve about 50 mg in 5 mL of hot *water R*, cool, add 1 mL of *silver nitrate solution R1* and stir with a glass rod. After a few minutes, a white precipitate is formed that dissolves on the addition of *dilute nitric acid R*.

E. It gives reaction (a) of sulfates (2.3.1).

F. pH (see Tests).

TESTS

Solution S. Dissolve 0.500 g in 0.1 M *hydrochloric acid* and dilute to 25.0 mL with the same acid.

pH (2.2.3): 6.0 to 6.8.

Dissolve 0.10 g in *carbon dioxide-free water R* and dilute to 10 mL with the same solvent.

Specific optical rotation (2.2.7): + 275 to + 290 (dried substance), determined on solution S. ←

A) TLC (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

B) Dissolvere circa 5 mg in 5 mL di acqua. Aggiungere 0,2 mL di *acqua di bromo* e 1 mL di *ammoniaca diluita*. Si sviluppa una colorazione verde.

C) dissolvere 0,1 g in 3 mL di *acido solforico diluito* e diluire a 100 mL con acqua. Sotto una luce ultravioletta a 366 nm, si sviluppa un'intensa fluorescenza blu, che scompare quasi completamente con l'addizione di 1 mL di *acido cloridrico*. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di strumentazione)

D) Dissolvere circa 50 mg in 5 mL di acqua calda, raffreddare, aggiungere un mL di *nitrato d'argento* e mescolare con una bacchetta di vetro. Dopo qualche minuto, un precipitato bianco si forma e scompare per aggiunta di *acido nitrico diluito*.

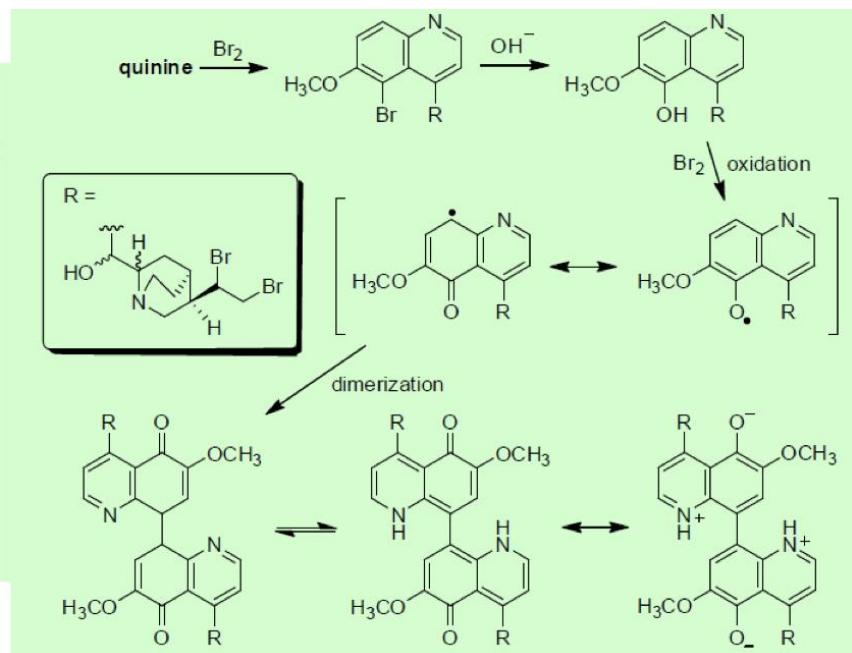
E) Dà la reazione (a) dei sulfati.

F) Controllo del pH (guardare sezione test).

Per la chinidina possiamo eseguire anche due analisi della sezione “tests”: potere rotatorio e controllo del pH.

Potere rotatorio specifico: destrogiro, antiaritmico.

With bromine water, bromine is added to the vinyl group, and the quinoline ring is bromosubstituted at position 5, followed by hydroxy–bromine exchange, resulting in a 5-hydroxysubstituted derivative. The final step is the oxidation of the phenolic hydroxy group with bromine, followed by dimerization, resulting in a red *bis*-quinoline dimer. The emerald coloured reaction [*thallein* (Greek) = to turn green] is characteristic for quinolone derivatives bearing an oxygen-containing functional group at position 6



- Identificazione B:

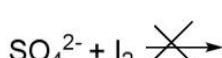
Innanzitutto, il bromo va a reagire con il doppio legame vinilico in catena R dell'anello piridinico e si osserva anche una bromurazione sull'anello. Successivamente il bromo sull'anello, grazie all'ambiente basico, viene sostituito da un ossidrile che viene poi ossidato dal bromo. (bromurazione e sostituzione)

Il bromo causa una ossidazione del composto, seguita da una dimerizzazione della molecola che per via della risonanza conferisce una colorazione verde.

- Test (a) dei solfati:

SULFATES

- Dissolve about 45 mg of the substance to be examined in 5 mL of *water R* or use 5 mL of the prescribed solution. Add 1 mL of *dilute hydrochloric acid R* and 1 mL of *barium chloride solution RI*. A white precipitate is formed.
- To the suspension obtained during reaction (a), add 0.1 mL of 0.05 M *iodine*. The suspension remains yellow (distinction from sulfites and dithionites), but is decolorised by adding dropwise *stannous chloride solution R* (distinction from iodates). Boil the mixture. No coloured precipitate is formed (distinction from selenates and tungstates).



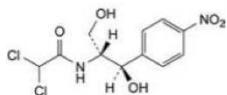
Dissolvere circa 45 mg di sostanza in esame in 5 mL di acqua o 5 mL della soluzione prescritta. Aggiungere 1 mL di *acido cloridrico diluito* ed 1 mL di *cloruro di bario*. Si forma un precipitato di bario solfato bianco.

È possibile eseguire anche il test (b) dei solfati: al precipitato bianco ottenuto durante il test (a) aggiungere 1 mL di *iodio 0,05M*. Il precipitato diventa giallo (distinzione tra solfati e ditionili), viene decolorato per aggiunta di *cloruro stagnoso* perché lo iodio si riduce a ioduro, (stagnò si ossida)

Cloramfenicolo

CHLORAMPHENICOL

Chloramphenicol



C₁₁H₁₂Cl₂N₂O₅
[56-75-7]

M_r 323.1

DEFINITION

2,2-Dichloro-N-[(1R,2R)-1,3-dihydroxy-1-(4-nitrophenyl)propan-2-yl]acetamide.

Content: 97.5 per cent to 102.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white, greyish-white or yellowish-white, fine, crystalline powder or fine crystals, needles or elongated plates.

Solubility: slightly soluble in water, freely soluble in ethanol (96 per cent) and in propylene glycol.

A solution in anhydrous ethanol is dextrorotatory and a solution in ethyl acetate is laevorotatory.

IDENTIFICATION

First identification: A.

Second identification: B.

A. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: chloramphenicol CRS.

B. Melting point (2.2.14).

Determination A: determine the melting point of the substance to be examined.

Results A: 149 °C to 153 °C.

Determination B: mix equal parts of the substance to be examined and chloramphenicol CRS and determine the melting point of the mixture.

Results B: the absolute difference between the melting point of the mixture and the value obtained in determination A is not greater than 2 °C.

TESTS

Specific optical rotation (2.2.7): + 18.5 to + 20.5.

Dissolve 1.50 g in anhydrous ethanol R and dilute to 25.0 mL with the same solvent.

Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda il punto A.

A) Spettro IR

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento al punto B.

B) Punto di fusione: determinabile in due modalità, sostanza in esame come tale (149-153°C) e in miscela con lo standard (se le sostanze sono identiche, allora il p.f. sarà uguale e si può affermare che il cloramfenicolo è puro).

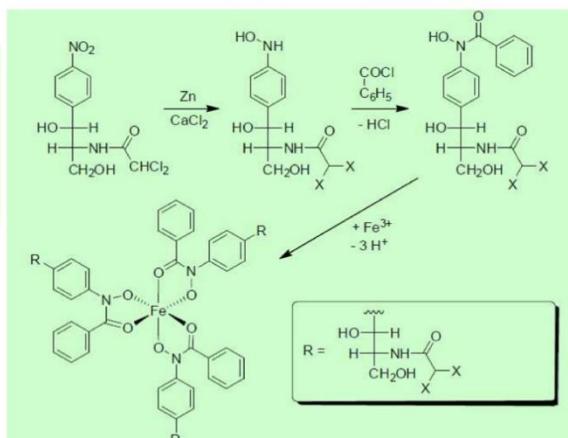
Per il cloramfenicolo possiamo eseguire anche il potere rotatorio: si può comportare da destrogiro o levogiro in base al solvente in cui si trova.

- Etanolo anidro: destrogiro
- Etile acetato: levogiro

La farmacopea però prevede solo il test in etanolo anidro.

D. Dissolve about 10 mg in 1 mL of alcohol (50 per cent V/V) R, add 3 mL of a 10 g/L solution of calcium chloride R and 50 mg of zinc powder R and heat on a water-bath for 10 min. Filter the hot solution and allow to cool. Add 0.1 mL of benzoyl chloride R and shake for 1 min. Add 0.5 mL of ferric chloride solution R1 and 2 mL of chloroform R and shake. The aqueous layer is coloured light violet-red to purple.

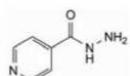
In neutral solution, the nitro group of chloramphenicol is reduced to hydroxylamine by zinc powder.
N-Arylhydroxamic acid, formed by the *N*-benzoylation of hydroxylamine, forms a violet complex with Fe³⁺.



Isoniazide

ISONIAZID

Isoniazidum



C₆H₇N₃O
[54-85-3]

M_r 137.1

DEFINITION

Pyridine-4-carbohydrazide.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or colourless crystals.

Solubility: freely soluble in water, sparingly soluble in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

First identification: A, B.

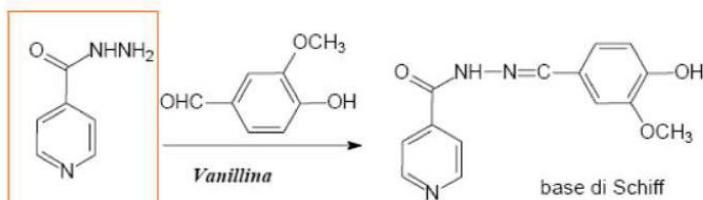
Second identification: A, C.

A. Melting point (2.2.14): 170 °C to 174 °C.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: isoniazid CRS.

C. Dissolve 0.1 g in 2 mL of water R and add 10 mL of a warm 10 g/L solution of vanillin R. Allow to stand and scratch the wall of the test tube with a glass rod. A yellow precipitate is formed, which, after recrystallisation from 5 mL of ethanol (70 per cent V/V) R and drying at 100-105 °C, melts (2.2.14) at 226 °C to 231 °C.



Cristallizzabile da Etanolo
(p.f. 226-231 °C)

Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda i punti **A** e **B**.

A) Punto di fusione: 170-174°C

B) Spettro IR

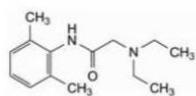
Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento i punti **A** e **C**.

C) Dissolvere 0,1 g 2 mL di acqua e aggiungere 10 mL di una soluzione tiepida di *vanilina* 10 g/L. strofinare con una bacchetta di vetro la superficie della provetta. Si forma un precipitato giallo che dopo ricristallizzazione con 5 mL di *etanolo* ed essicazione a 100-105°C fonde a 226-231°C. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

Lidocaina

LIDOCAINE

Lidocainum



C₁₄H₂₂N₂O
[137-58-6]

M_r 234.3

DEFINITION

2-(Diethylamino)-N-(2,6-dimethylphenyl)acetamide.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder.

Solubility: practically insoluble in water, very soluble in ethanol (96 per cent) and in methylene chloride.

IDENTIFICATION

First identification: A.

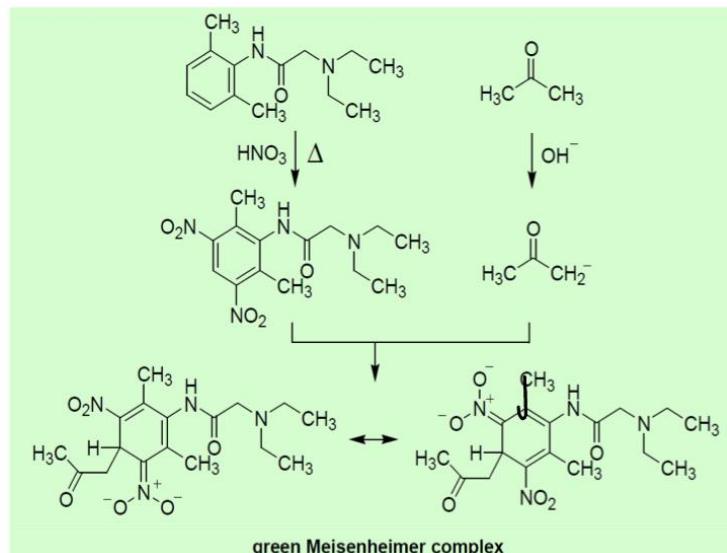
Second identification: B, C.

A. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: lidocaine CRS.

B. Melting point (2.2.14): 66 °C to 70 °C, determined without previous drying.

C. To about 5 mg add 0.5 mL of *fuming nitric acid R*. Evaporate to dryness on a water-bath, cool, and dissolve the residue in 5 mL of *acetone R*. Add 0.2 mL of *alcoholic potassium hydroxide solution R*. A green colour develops.



Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda il punto A.

A) Spettro IR

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento i punti B e C.

B) Punto di fusione: 66-70°C

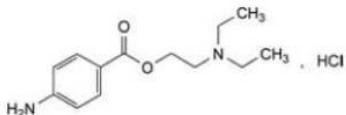
C) A circa 5 mg aggiungere 0,5 mL di *acido nitrico fumante*. Evaporare fino a secchezza a bagnomaria, raffreddare, dissolvere il residuo in 5 mL di *acetone*. Aggiungere 0,2 ml di *potassio idrossido alcolico*. Si sviluppa una colorazione verde. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di reagenti)

- È identificabile anche con la sua solubilità per la particolarità che in acqua calda fonde a causa del suo p.f. molto basso.

Procaina cloroidrato

PROCAINE HYDROCHLORIDE

Procaini hydrochloridum



C₁₃H₂₁ClN₂O₂
[51-05-8]

M_r 272.8

DEFINITION

Procaine hydrochloride contains not less than 99.0 per cent and not more than the equivalent of 101.0 per cent of 2-(diethylamino)ethyl 4-aminobenzoate hydrochloride, calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or almost white, crystalline powder or colourless crystals, very soluble in water, soluble in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

First identification: A, B, E.

Second identification: A, C, D, E, F.

A. Melting point (2.2.14): 154 °C to 158 °C.

B. Examine by infrared absorption spectrophotometry (2.2.24), comparing with the spectrum obtained with procaine hydrochloride CRS.

Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda i punti **A**, **B** ed **E**.

A) Punto di fusione: 154-158°C

B) Spettro IR

E) Dà la reazione (a) dei cloruri

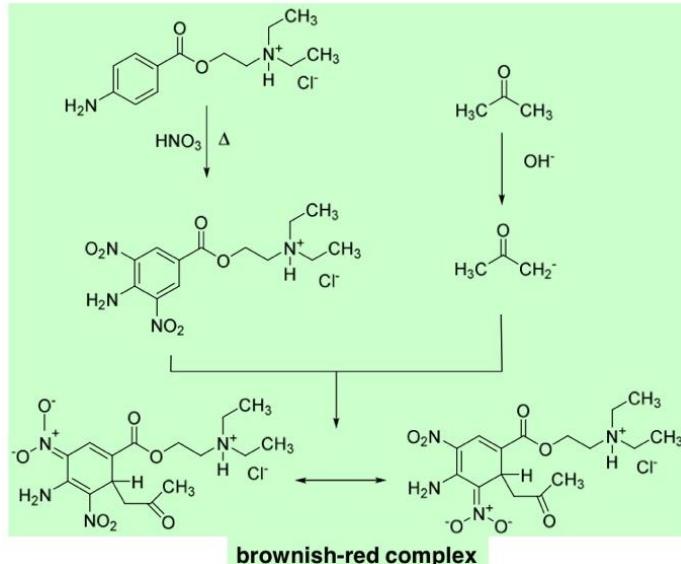
Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento i punti **A, C, D, E** ed **F**.

C) Stessa reazione **C** della lidocaina ma sviluppa una colorazione rosso-bruna.

D) A 0,2 mL di soluzione S aggiungere 2 mL di acqua e 0,5 ml di acido solforico diluito ed agitare. Aggiungere 1 mL di potassio permanganato 1 g/L. Avviene decolorazione del permanganato.

F) Diluire 1 mL di soluzione S a 100 mL con acqua. 2 mL di questa soluzione danno la reazione delle ammine aromatiche primarie.

- Identificazione C



- Identificazione D:

In acidic solution, permanganate oxidizes procaine to a yellow azo dye.



Con il permanganato in ambiente acido avviene l'ossidazione della procaina e si forma un azo-derivato colorato in giallo.

- Test dei cloruri (solo test a):

CHLORIDES

- a) Dissolve in 2 mL of *water R* a quantity of the substance to be examined equivalent to about 2 mg of chloride (Cl^-) or use 2 mL of the prescribed solution. Acidify with *dilute nitric acid R* and add 0.4 mL of *silver nitrate solution R1*. Shake and allow to stand. A curdled, white precipitate is formed. Centrifuge and wash the precipitate with three quantities, each of 1 mL, of *water R*. Carry out this operation rapidly in subdued light, disregarding the fact that the supernatant solution may not become perfectly clear. Suspend the precipitate in 2 mL of *water R* and add 1.5 mL of *ammonia R*. The precipitate dissolves easily with the possible exception of a few large particles which dissolve slowly.
- b) Introduce into a test-tube a quantity of the substance to be examined equivalent to about 15 mg of chloride (Cl^-) or the prescribed quantity of *potassium dichromate R* and 1 mL of *sulfuric acid R*. Place a small piece of paper strip impregnated with 0.1 mL of *nitric acid R* over the opening of the test-tube. The paper turns violet. The impregnated paper must not come into contact with the potassium dichromate.

Trattamento con $\text{AgNO}_3 \rightarrow$ precipitati insolubili in ambiente acido, ma solubili in NH_3OH



Cloruri (Cl^-)

- a. Le soluzioni acquose diluite danno, con soluzione di nitrato di argento, un precipitato bianco caseoso (AgCl), insolubile in acido nitrico e solubile in ammoniaca (formazione del complesso $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$), dalla quale riprecipita per acidificazione con acido nitrico.
Quando si tratta di cloridri di alcaloidi, si aggiunge prima ammoniaca 6N; si filtra per eliminare il precipitato (alcaloide come base libera) ed il filtrato viene trattato con acido nitrico e nitrato d'argento.

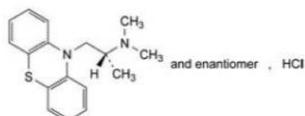
Nel capitolo 28 troviamo la spiegazione di quello che accade quando eseguiamo la precipitazione dei cloruri e la loro ridissoluzione in ammoniaca: l'ammoniaca potrebbe far precipitare la base che costituisce il nostro sale e potremmo confondere la positività del test (magari si dissolve l'argento cloruro ma non lo notiamo).

Per ovviare a questo problema si introduce prima l'ammoniaca.

Prometazina cloroidrato

PROMETHAZINE HYDROCHLORIDE

Promethazini hydrochloridum



$C_{17}H_{21}ClN_2S$
[58-33-3]

M_r 320.9

DEFINITION

(*2RS*)-*N,N*-Dimethyl-1-(10*H*-phenothiazin-10-yl)propan-2-amine hydrochloride.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or faintly yellowish, crystalline powder.

Solubility: very soluble in water, freely soluble in ethanol (96 per cent) and in methylene chloride.

mp: about 222 °C, with decomposition.

IDENTIFICATION

First identification: A, B, D.

Second identification: B, C, D.

A. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: promethazine hydrochloride CRS.

B. It complies with the identification test for phenothiazines by thin-layer chromatography (2.3.3): use promethazine hydrochloride CRS to prepare the reference solution.

Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda i punti **A**, **B** ed **D**.

A) Spettro IR

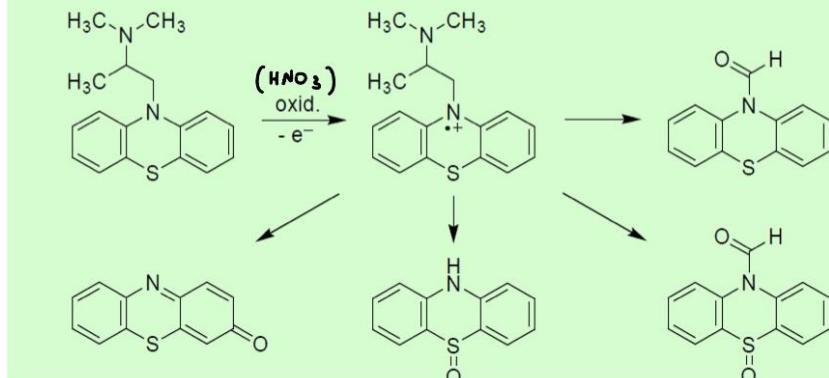
B) TLC (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

D) Dà la reazione (a) dei cloruri

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento i punti **B**, **C** e **D**.

C) Dissolvere 0,1 g in 3 mL di acqua. Aggiungere 1 mL di *acido nitrico*. Si forma un precipitato che si dissolve rapidamente dando una colorazione rossa, poi arancione poi gialla. Con riscaldamento la soluzione diventa arancione e si forma un precipitato arancione-rosso. Reazione caratteristica

Oxidizing agents transform phenothiazine-type compounds to coloured derivatives. In the first step, nitric acid oxidizes promethazine to a red radical cation. In the next steps, oxidation of the alkyl side-chain or/and phenothiazine ring takes place and further oxidized products (e.g. 10-formylphenothiazine, phenothiazine sulfoxide and quinoidal phenothiazone) are formed.

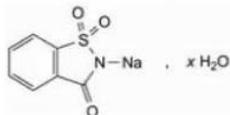


L'acido nitrico funge da ossidante e si forma un radicale catione che prosegue l'ossidazione formando un formile, formil fenotiazina ed un'altra serie di derivati solfossido della fenotiazina, solfossido della formil fenotiazina e una struttura chinoide. Questi derivati danno luogo alla formazione della colorazione.

Saccarina sodica

SACCHARIN SODIUM

Saccharinum naticum



$C_7H_4NNaO_3S \cdot xH_2O$ M_r 205.2 (anhydrous substance)
Anhydrous saccharin sodium: [128-44-9]

DEFINITION

2-Sodio-1,2-benzisothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide.
Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (anhydrous substance).
It may be anhydrous or contain a variable quantity of water.

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or colourless crystals, efflorescent in dry air.

Solubility: freely soluble in water, sparingly soluble in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

First identification: B, E.

Second identification: A, C, D, E.

A. Melting point (2.2.14): 226 °C to 230 °C.

To 5 mL of solution S (see Tests) add 3 mL of *dilute hydrochloric acid R*. A white precipitate is formed. Filter and wash with *water R*. Dry the precipitate at 100-105 °C.

Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda i punti **B** ed **E**.

B) Spettro IR

E) Dà la reazione (a) del sodio

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento i punti **A**, **C**, **D** ed **E**.

A) Punto di fusione: 226-230°C. Essendo una sostanza organometallica per eseguire il test è necessario precipitare la saccarina libera. A 5 mL della *soluzione S* aggiungere 3 mL di *acido cloridrico*. Si forma un precipitato bianco (saccarina) che dopo lavaggio con acqua ed essicamento può essere analizzato. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

C) Mischiare circa 10 mg di sostanza con 10 mg di *resorcinolo*, aggiungere 0,25 mL di acido solforico e scaldare su Bunsen fino a che non assume una colorazione verde scuro. Raffreddare e aggiungere 10 mL di acqua e *sodio idrossido*. Si genera un'intensa fluorescenza verde.

D) a 0,2 g aggiungere 1,5 mL di *sodio idrossido*, evaporare e scaldare fino a fusione del residuo solido. Raffreddare e solubilizzare la massa con 5 mL di acqua, aggiungere *acido cloridrico diluito* fino a compimento della reazione. Se necessario filtrare. Al filtrato aggiungere 0,2 mL di *ferro cloruro*. Si produce una colorazione viola.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Preparation: discs; dry the substances to constant mass at 105 °C before use.

Comparison: *saccharin sodium CRS*.

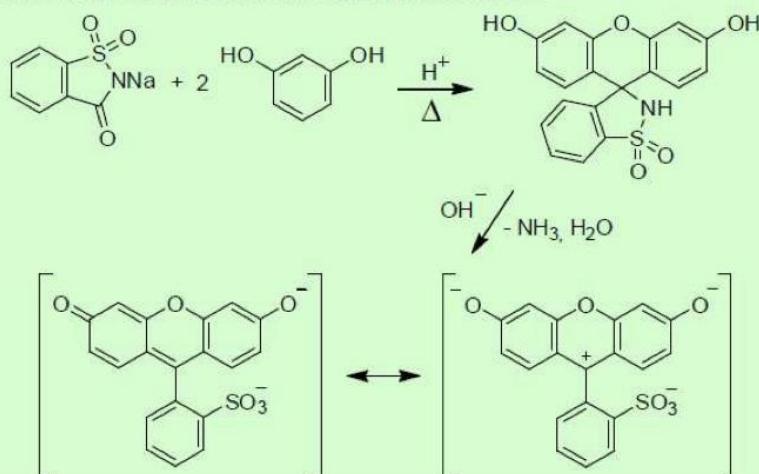
C. Mix about 10 mg with about 10 mg of *resorcinol R*, add 0.25 mL of *sulfuric acid R* and carefully heat the mixture over a naked flame until a dark green colour is produced. Allow to cool, add 10 mL of *water R* and *dilute sodium hydroxide solution R* until an alkaline reaction is produced. An intense green fluorescence develops.

D. To 0.2 g add 1.5 mL of *dilute sodium hydroxide solution R*, evaporate to dryness and heat the residue carefully until it melts, avoiding carbonisation. Allow to cool, dissolve the mass in about 5 mL of *water R*, add *dilute hydrochloric acid R* until a weak acid reaction is produced and filter, if necessary. To the filtrate add 0.2 mL of *ferric chloride solution R2*. A violet colour develops.

E. Solution S gives reaction (a) of sodium (2.3.1).

- Identificazione C:

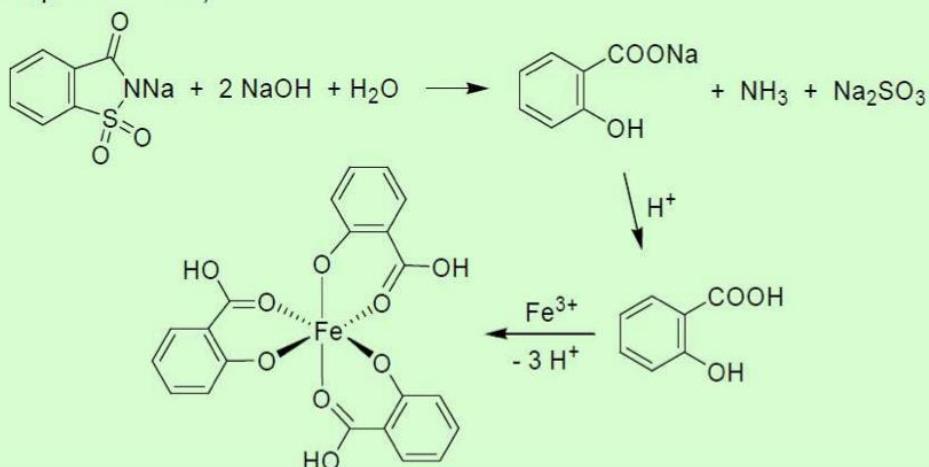
When heated with resorcinol in the presence of sulfuric acid, saccharin sodium is converted to sulfofluorescein, which has an intense green fluorescence.



Il resorcinolo reagisce sul carbonio carbonilico a cui si legano 2 molecole di resorcinolo, si forma il composto chiamato sulfofluoresceina che possiede una colorazione verde. In ambiente basico si ha la rottura dell'anello che mantiene la colorazione verde e assume fluorescenza.

- Identificazione D:

When heated with sodium hydroxide, saccharin sodium is converted to sodium salicylate. In acidic solution, salicylic acid can be determined with ferric chloride (a violet three-ligand chelate complex is formed).

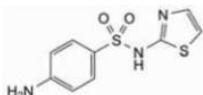


In ambiente basico si osserva la rottura dell'anello con formazione di sodio salicilato che viene idrolizzato ad acido salicilico e dà la reazione dei salicilati \rightarrow con cloruro ferrico si colora di violetto.

Sulfatiazolo

SULFATHIAZOLE

Sulfathiazolum



C₉H₉N₃O₂S₂
[72-14-0]

M_r 255.3

DEFINITION

Sulfathiazole contains not less than 99.0 per cent and not more than the equivalent of 101.0 per cent of 4-amino-N-(thiazol-2-yl)benzenesulfonamide, calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or slightly yellowish, crystalline powder, practically insoluble in water, slightly soluble in alcohol, practically insoluble in methylene chloride. It dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides and in dilute mineral acids.

IDENTIFICATION

First identification: A, B.

Second identification: A, C, D, E.

A. Melting point (2.2.14): 200 °C to 203 °C. Melting may occur at about 175 °C, followed by solidification and a second melting between 200 °C and 203 °C.

B. Examine by infrared absorption spectrophotometry (2.2.24), comparing with the spectrum obtained with sulfathiazole CRS. Examine the substances prepared as discs. If the spectra obtained show differences, dissolve the substance to be examined and the reference substance separately in *alcohol R*, evaporate to dryness *in vacuo* and record the spectra again using the residues.

C. Examine the chromatograms obtained in the test for related substances. The principal spot in the chromatogram obtained with test solution (b) is similar in position, colour and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution (a).

D. Dissolve about 10 mg in a mixture of 10 mL of *water R* and 2 mL of 0.1 M *sodium hydroxide* and add 0.5 mL of *copper sulfate solution R*. A greyish-blue or purple precipitate is formed.

E. Dissolve about 5 mg in 10 mL of 1 M *hydrochloric acid*. Dilute 1 mL of the solution to 10 mL with *water R*. The solution, without further addition of acid, gives the reaction of primary aromatic amines (2.3.1).

AMINES, PRIMARY AROMATIC

Acidify the prescribed solution with *dilute hydrochloric acid R* and add 0.2 mL of *sodium nitrite solution R*. After 1 min to 2 min, add 1 mL of *β-naphthol solution R*. An intense orange or red colour and usually a precipitate of the same colour are produced.

Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda i punti **A** e **B**.

A) Punto di fusione: 200-203°C. È probabile che si osservi una prima fusione a 175°C con successiva solidificazione e una seconda fusione a 200°C.

B) Spettro IR

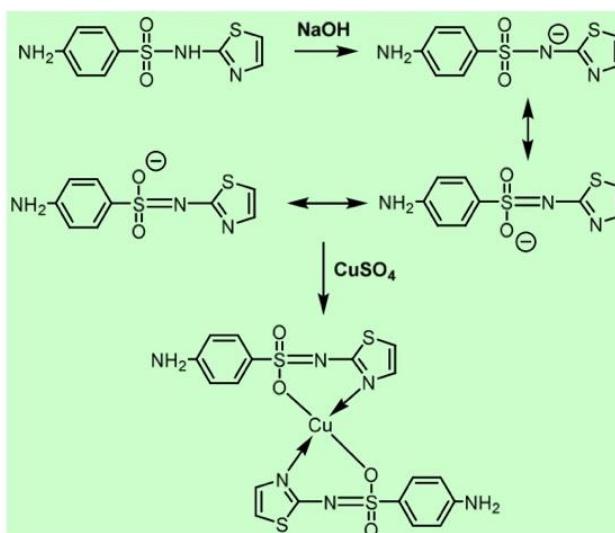
Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento i punti **A, C, D ed E**.

C) Cromatogramma. (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

D) Dissolvere circa 10 mg in 10 mL di acqua e 2 mL di *sodio idrossido 0,1M*, aggiungere 0,5 mL di *rame solfato*. Si forma un precipitato grigio-blu o viola.

E) Dissolvere circa 5 mg in 10 mL di *acido cloridrico*. Diluire 1 mL della soluzione a 10 mL con acqua. La soluzione ottenuta dà la reazione delle ammine aromatiche primarie.

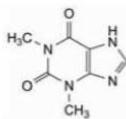
- Identificazione D



Teofillina

THEOPHYLLINE

Theophyllinum



C₇H₈N₄O₂
[58-55-9]

M_r 180.2

DEFINITION

1,3-Dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purine-2,6-dione.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder.

Solubility: slightly soluble in water, sparingly soluble in ethanol (96 per cent). It dissolves in solutions of alkali hydroxides, in ammonia and in mineral acids.

IDENTIFICATION

First identification: B, D.

Second identification: A, C, D, E.

A. Melting point (2.2.14): 270 °C to 274 °C, determined after drying at 100-105 °C.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: Ph. Eur. reference spectrum of theophylline.

C. Heat 10 mg with 1.0 mL of a 360 g/L solution of potassium hydroxide R in a water-bath at 90 °C for 3 min, then add 1.0 mL of diazotised sulfanilic acid solution R. A red colour slowly develops. Carry out a blank test.

D. Loss on drying (see Tests).

E. It gives the reaction of xanthines (2.3.1).

Come si vede dalla monografia, la prima identificazione riguarda i punti **B** e **D**.

B) Spettro IR

D) Perdita di peso (non viene eseguito in laboratorio per mancanza di tempo)

Per una seconda identificazione della sostanza facciamo riferimento i punti **A**, **C**, **D** ed **E**.

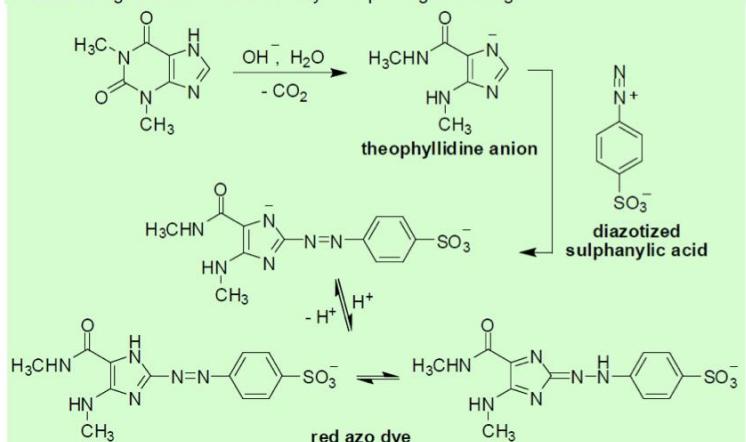
A) Punto di fusione: 270-274°C. Dopo essicamento a 100-105°C

C) Scaldare 10 mg di sostanza con 1 mL di *potassio idrossido* 360 g/L a bagnomaria a 90°C per 3 minuti. Aggiungere 1 mL di *acido solforico diazotato*. Si sviluppa una colorazione rossa (lentamente)

E) Dà la reazione delle xantine

- Identificazione C:

In alkaline solution, theophylline is formed by the ring opening of the pyrimidine ring of theophylline. Theophyllidine forms a red azo dye with diazotized sulfanilic acid (theophyllidine reaction). The diazonium salt attacks at position 2 of the imidazole ring. Caffeine and theobromine give similar reactions only after prolonged heating.



Reazione caratteristica della teofillina (avviene anche per caffea e teobromina ma con tempi più lunghi). Avviene la rottura dell'anello in ambiente basico (come avveniva con la caffea → caffeidina) otteniamo la teofilidina, che reagisce con *acido sulfamidico diazotato* e si ottiene un diazo-composto dopo un attacco da parte del sale in posizione 2. Questo composto che si forma possiede una colorazione rossa.

Costanti fisiche

Metodi di identificazione

Finora abbiamo visto quali sono i metodi chimici per identificare le sostanze e con questi riusciamo ad avere un certo livello di certezza sull'identità della sostanza che stiamo esaminando. Per completare l'identificazione, ci avvaliamo della determinazione di alcune costanti fisiche. Alcune di queste sono costanti fisiche vere e proprie, quindi non presuppongono la modifica della sostanza che dobbiamo identificare (invece le reazioni chimiche trasformano le sostanze in altri derivati, riconoscibili per formazione di colorazioni o precipitati etc.). Si possono distinguere in:

- Costanti termiche:
- Punto di fusione
- Punto di ebollizione
- Costanti fisiche vere e proprie:
- Densità
- Potere rotatorio specifico
- Indice di rifrazione

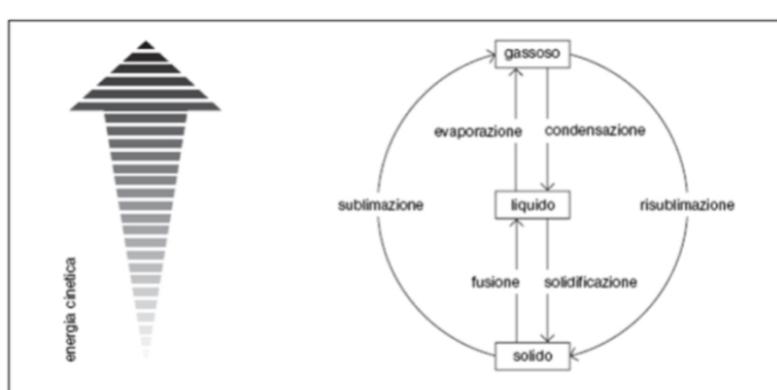
Densità, punto di ebollizione e indice di rifrazione sono le costanti che utilizziamo per il riconoscimento di sostanze allo stato liquido e in alcuni casi anche il potere rotatorio. Punto di fusione e potere rotatorio invece sono determinazioni da effettuare sui solidi.

Queste costanti fisiche sono tabulate (quindi non è necessario impararle a memoria), sono disponibili delle raccolte in cui sono riportate le caratteristiche fisiche di tantissimi composti.

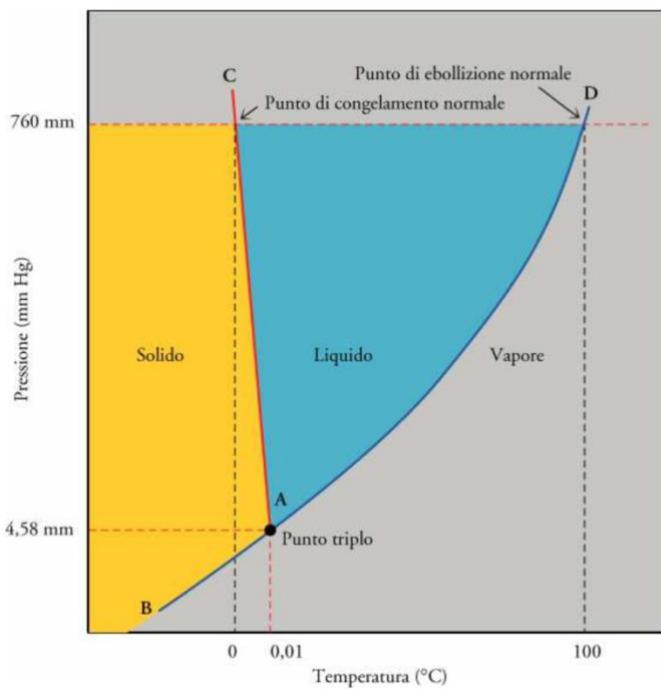
Transizioni di fase

Per parlare di punto di fusione e di ebollizione, bisogna fare una precisazione su come la materia passa da una fase all'altra. La materia può esistere in 3 stati fisici: solido, liquido, gassoso e i processi sono chiamati cambiamento di fase o cambiamento di stato. Ogni stato fisico della materia ha determinate caratteristiche: nei solidi le particelle sono organizzate in maniera molto regolare, sono presenti legami di diversi tipi che tengono unite le molecole della sostanza, quindi si va dai legami di van der Waals fino ai legami ionici; nel liquido questo ordine inizia a interrompersi, fino ad arrivare allo stato aeriforme in cui l'ordine scompare.

Mentre dallo stato solido allo stato liquido non si ha una variazione di volume, dallo stato liquido allo stato gassoso il volume aumenta.



Possiamo rappresentare graficamente i passaggi di stato, mettendo in grafico come cambia lo stato variando temperatura e pressione:



Abbiamo tre zone colorate che rappresentano i diversi stati della stessa materia, perché ogni diagramma di fase è caratteristico di una materia. Quindi in giallo è indicata la materia allo stato solido ad una determinata temperatura, variando la temperatura la sostanza passa alla fase liquida, e variando ulteriormente la temperatura, passa alla fase vapore.

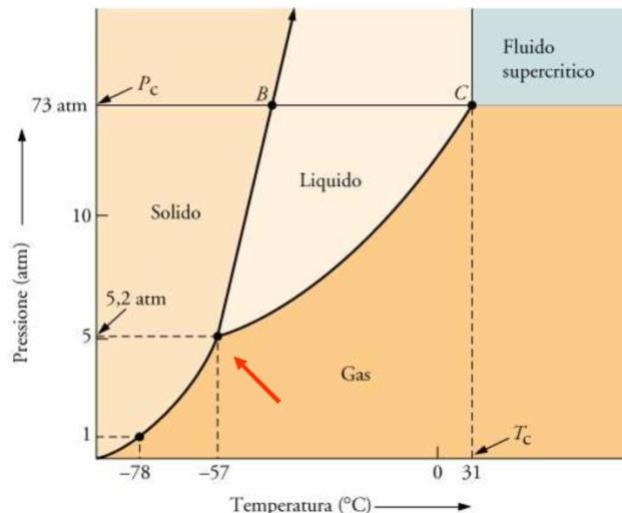
Quello presentato è il diagramma di fase dell'acqua, in cui il passaggio tra solido e liquido, indicato dalla retta A-C, ha una pendenza leggermente negativa. Questo è caratteristico solo dell'acqua perché allo stato solido occupa un volume maggiore di quando si trova allo stato liquido.

La cosa importante che si osserva è che la pressione non influenza più di tanto il passaggio tra solido e liquido, mentre cambia nel passaggio da liquido a vapore. Ognuna di queste curve corrisponde a valori in cui pressione e temperatura di uno stato, sono all'equilibrio con l'altro. Quindi la linea A-C rappresenta l'equilibrio delle particelle tra la fase solida e la fase liquida, così come la curva A-D rappresenta l'equilibrio tra liquido e vapore, invece A-B rappresenta il passaggio dallo stato solido a vapore, detto sublimazione.

Queste tre curve si incrociano in un punto che viene definito punto triplo, ed è il punto in cui i tre stati coesistono in equilibrio tra loro ed è caratteristico di ogni sostanza.

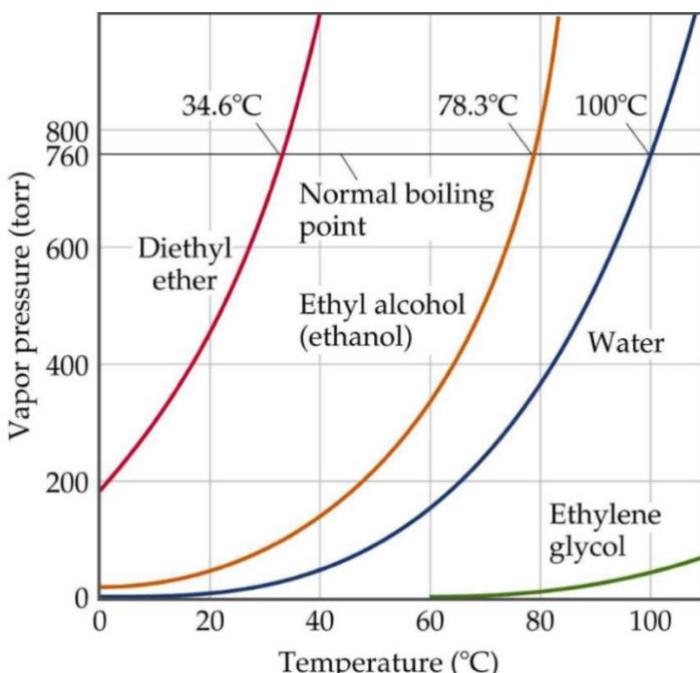
- Per l'acqua esso è a $0,01^{\circ}\text{C}$ e $4,6 \text{ mmHg}$
- Per la CO_2 esso è a $-56,7^{\circ}\text{C}$ e $5,1 \text{ atm}$ ($760 \text{ mmHg} = 1 \text{ atm}$)

Grafico della CO_2 :



Punto di ebollizione

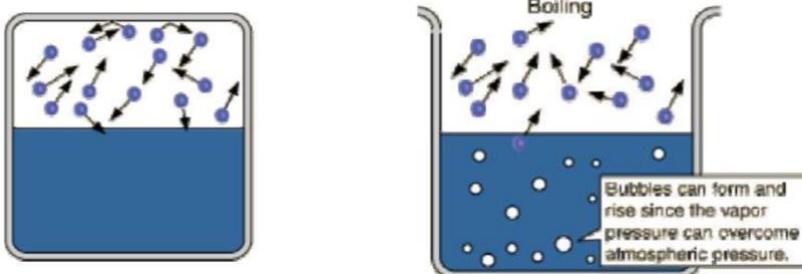
Caratteristica importante dei liquidi. Sappiamo che sulla superficie del liquido si instaura un equilibrio tra fase liquida e fase di vapore e all'equilibrio la pressione di vapore è definita tensione di vapore a una certa temperatura. Ciascun liquido è caratterizzato dal fatto che la tensione di vapore aumenta all'aumentare della T e ognuna ha un andamento caratteristico:



Quando la curva della tensione di vapore si incrocia con la pressione atmosferica, abbiamo la temperatura di ebollizione. (Il dietiletere ad esempio ha una Teb di 34,6°C, quindi è definito un liquido volatile.)

Nel caso precedente è descritto il fenomeno della tensione di vapore, quindi equilibrio costante tra liquido e vapore di una sostanza. In questo caso invece abbiamo la situazione in cui la pressione di vapore, a causa della temperatura che aumenta, supera la pressione atmosferica e si ha il fenomeno dell'ebollizione.

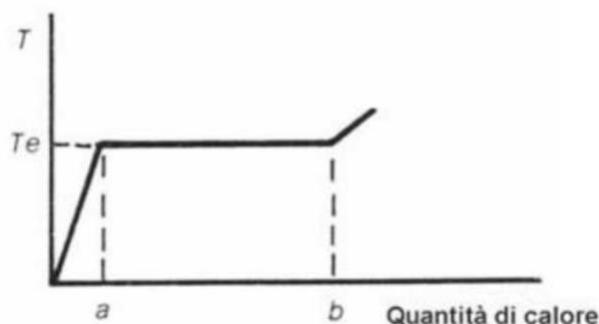
Il punto di ebollizione di un liquido è la temperatura alla quale la sua tensione di vapore è uguale ad una atmosfera (760 mmHg).



Quando la pressione di vapore di un liquido raggiunge il valore della pressione esterna che insiste sulla superficie del liquido stesso, il liquido bolle, cioè si ha la formazione di vapore non soltanto alla superficie del liquido, ma in tutta la massa. La temperatura a cui ciò si verifica è detta temperatura (t.e.) o punto di ebollizione (p.e.) ed il suo valore dipende dalla pressione esterna. Il fatto che la Teb

dipenda dalla pressione esterna, è dimostrato dal fatto che ad esempio in montagna, l'acqua bolle ad una temperatura inferiore, perché la pressione atmosferica è inferiore. Nel liquido, se aumentiamo la quantità di calore fino alla Teb, poi abbiamo uno stato in cui la T non aumenta più. Questo accade perché il calore, quindi energia che forniamo al liquido, serve per vincere le forze di coesione del liquido, che devono vincere la pressione esterna.

La quantità di calore necessaria per evaporare una mole di liquido si dice calore latente di evaporazione e viene indicata con ΔH_v .



Il fenomeno dell'abbassamento della Teb al diminuire della pressione, è spiegato dall'equazione Clausius-Clapeyron:

il p.e di un liquido dipende dalla pressione esterna

EQUAZIONE DI CLAUSIUS-CLAPEYRON

$$\frac{dT}{dP} = T \frac{Vv - Vl}{\Delta Hv}$$

Calore latente di evaporazione per mole

$$dT = \left[\frac{T(Vv - Vl)}{\Delta Hv} \right] dP$$

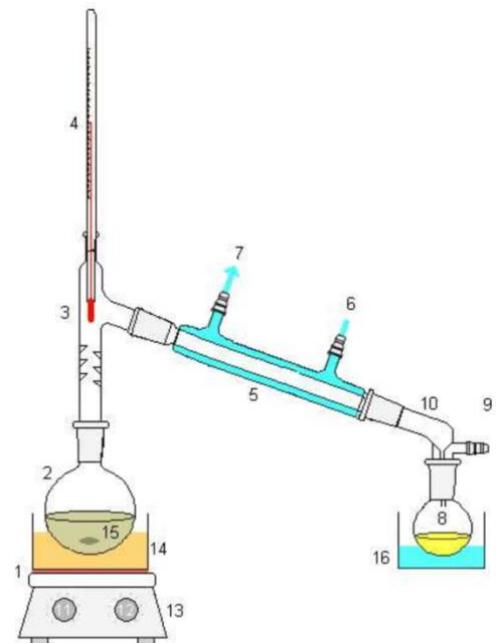
Ci dice che il rapporto tra la temperatura e la pressione è uguale alla (temperatura assoluta * la variazione di volume che avviene nel passaggio tra liquido e vapore) / il calore latente di evaporazione per mole.

Nel caso di ebollizione dei liquidi, questo numero sarà piuttosto grande, e se trasformiamo l'equazione, otteniamo che c'è proporzionalità tra T e p, ovvero diminuendo la temperatura, diminuisce anche la pressione. In virtù di questo fenomeno, possiamo identificare sostanze che hanno un punto di ebollizione piuttosto elevato che potrebbe determinare la decomposizione della sostanza stessa. In questo caso si effettua la determinazione della Teb a pressione ridotta.

Questo metodo viene sfruttato nei rotavapor. Quando si fanno delle reazioni e bisogna eliminare il solvente, la cosa più veloce che si fa è mettere il pallone di reazione in un evaporatore rotante a pressione ridotta, in modo che si possa allontanare il solvente perché evapora, e quindi recuperare un solido o una sostanza in fase liquida.

Sperimentalmente come si fa a determinare il punto di ebollizione di una sostanza?

- Abbiamo una piastra riscaldante sopra la quale mettiamo un contenitore con un bagno di silicone, che quindi può essere portato a una temperatura elevata
- Pallone che contiene un'ancoretta o del materiale poroso che con l'aumento della temperatura si mette in agitazione per evitare che si bruci il fondo del pallone
- Il pallone è collegato a un tubo di vetro che alla sommità porta un termometro e poi attraverso un altro sistema è collegato a un refrigerante
- Raccordo con un altro pallone in cui raccogliamo il liquido che abbiamo portato all'ebollizione e che recuperiamo



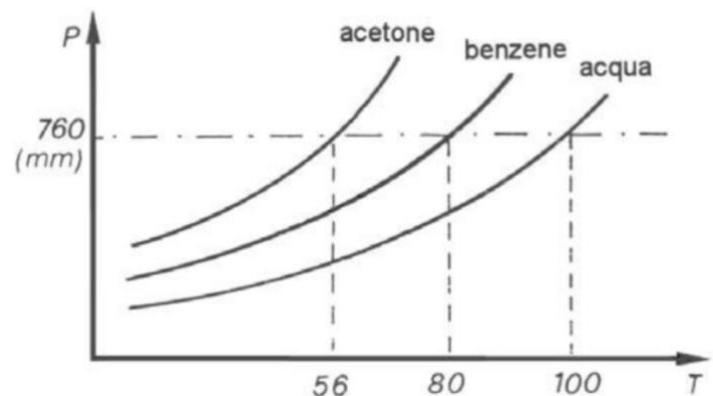
La sostanza liquida, raggiunge una certa temperatura che viene misurata dal termometro ed evapora. Quindi la tensione di vapore supera la pressione, il liquido diventa vapore, passa attraverso il tubo ed è costretto ad arrivare al refrigerante. Con il freddo il vapore torna in fase liquida e la temperatura viene rilevata quando nel pallone di raccolta abbiamo la formazione delle gocce che siano 1-2 al secondo. Questa è la temperatura di ebollizione.

Questo metodo si può usare anche quando vogliamo separare una miscela con due solventi a diverso punto di ebollizione e vogliamo effettuare quella che si definisce distillazione frazionata. Quindi si inizia con la

temperatura di ebollizione della sostanza più basso bollente, questa evaporerà fino a che, quando sarà terminato il liquido più basso bollente, non avremo più formazione nel pallone di raccolta di liquido condensato.

Il punto di ebollizione è un valore tipico di ogni liquido ad una data pressione. Utile per:

- identificazione di un composto incognito, per confronto con i valori tabulati dei liquidi più comuni
- stimare in parte la purezza di un composto perché è strettamente dipendente dalla pressione e quindi soprattutto nel caso di liquidi alto bollenti, che potrebbero decomporsi, occorre indicare a quale pressione è stata effettuata la determinazione del punto di ebollizione. È un parametro meno preciso rispetto al punto di fusione.
- La presenza di impurezze nel liquido influenza la temperatura e l'intervallo di ebollizione, in particolare provoca l'innalzamento ebullioscopico. (NaCl non va messo in acqua fredda, altrimenti ci vorrà più tempo per raggiungere Teb, e inoltre se lasciamo la pentola senza coperchio sarà necessario aumentare la temperatura per mantenere l'ebollizione perché l'acqua evapora, la soluzione diventa più concentrata e richiederà più calore per arrivare all'ebollizione.)



Punto di fusione

Il punto di fusione (p.f.) di una sostanza è la temperatura (alla pressione di 1 atmosfera) alla quale la sostanza cambia il proprio stato da solido a liquido. Viceversa, si definisce punto di congelamento, sempre a questa temperatura, quello in cui la sostanza liquida passa alla fase solida. Il p.f. viene anche definito, in accordo al diagramma di fase, come la temperatura in cui coesistono le fasi solida e liquida.

Per una sostanza pura, il p.f. è una caratteristica chimico-fisica altamente identificativa.

Il punto di fusione è altamente identificativo, al contrario di quello di ebollizione, perché è praticamente indipendente dalla pressione, in quanto la variazione di volume solido-liquido è trascurabile.

Calore latente di fusione (ΔH_f): indica la quantità di calore assorbito per fondere una mole di un solido.

Il punto di fusione è definito come l'intervallo di temperatura in cui il solido comincia a fondere ed è completamente liquido: non è corretto riportare la temperatura di fusione con un solo valore numerico. Il punto di fusione è in realtà un intervallo di fusione. Se una sostanza solida è pura dovrebbe avere un intervallo di fusione non superiore a 1°C.

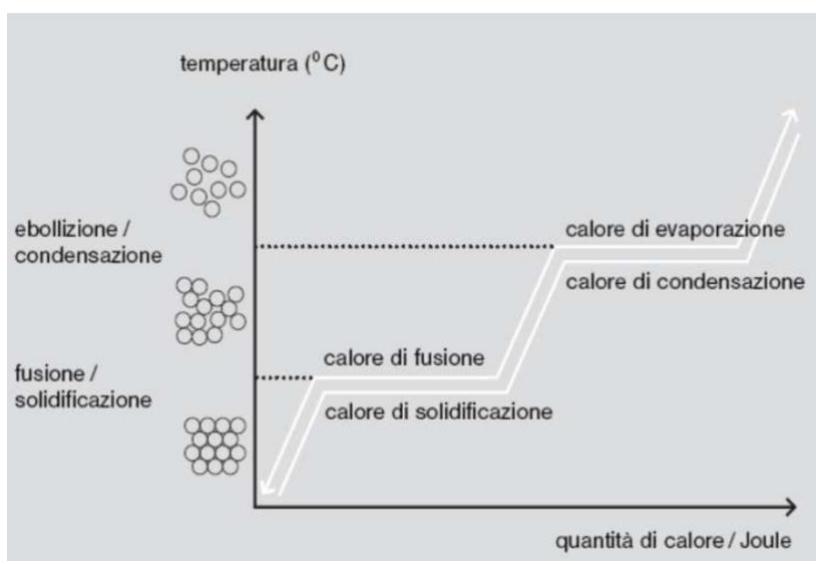


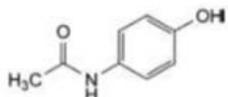
Grafico temperatura-quantità di calore. All'inizio fornendo calore, la temperatura del sistema sale, fino alla situazione in cui abbiamo una fase in cui la temperatura rimane stabile perché il calore fornito serve a permettere il passaggio dallo stato solido a liquido, quindi a far in modo che vengano a rompersi i legami intermolecolari e non quelli intramolecolari perché sono i legami più deboli, tipicamente forze di van der Waals o legami H, in quanto i legami ionici necessitano di una temperatura molto elevata > 350°C, quindi in laboratorio non siamo in grado di determinare il p.f. di sostanze

inorganiche o organo-metalliche. Si parla allora di intervallo di fusione perché la temperatura all'interno della sostanza non varia, mentre il calore viene fornito e indicato da un termometro inserito nel blocco riscaldante. Non si parla mai di un unico valore perché tra la prima goccia e la fusione completa è necessario fornire ulteriore calore.

Esempio monografia Farmacopea

PARACETAMOL

Paracetamolum



$C_8H_9NO_2$
[103-90-2]

M_r 151.2

Per quasi tutte le sostanze la Farmacopea ci dà come metodo di identificazione il p.f. tra i primi ed è sempre un intervallo, mai un numero unico, a parte in alcuni casi in cui dà il p.f. tra i caratteri.

DEFINITION

N-(4-Hydroxyphenyl)acetamide.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder.

Solubility: sparingly soluble in water, freely soluble in alcohol, very slightly soluble in methylene chloride.

IDENTIFICATION

First identification: A, C.

Second identification: A, B, D, E.

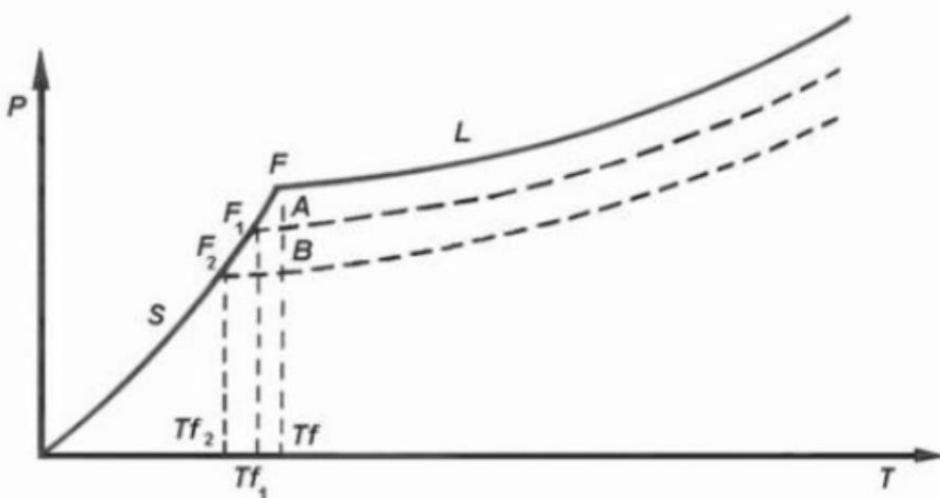
A. Melting point (2.2.14): 168 °C to 172 °C.



B. Dissolve 0.1 g in *methanol R* and dilute to 100.0 mL with the same solvent. To 1.0 mL of the solution add 0.5 mL of a 10.3 g/L solution of *hydrochloric acid R* and dilute to 100.0 mL with *methanol R*. Protect the solution from bright

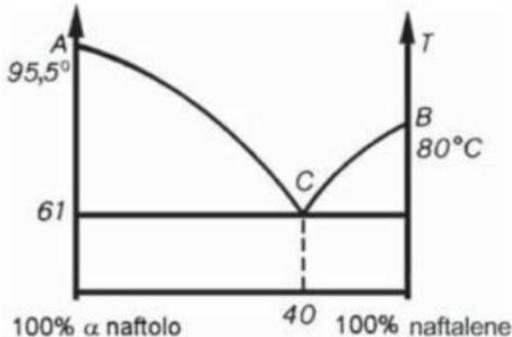
Effetto delle impurezze sul punto di fusione

La presenza di un'impurezza in genere porta ad una diminuzione del p.f. di un solido puro, così come ad un aumento del p.eb. di un liquido puro: abbassamento crioscopico ed innalzamento ebullioscopico L'effetto della impurezza sul p.f. è deducibile dai diagrammi della tensione di vapore del liquido e del solido in funzione della temperatura.



S indica il solido e L il liquido. La tensione di vapore del solido è maggiore di quella del liquido all'aumentare della temperatura, e quando queste due curve si incrociano, abbiamo il p.f. Il punto F corrisponde alla temperatura di fusione del solido, quindi in questo punto coesistono la sostanza allo stato solido e la sostanza allo stato liquido.

Aggiunta di un impurezza:



La curva AC rappresenta il decrescere del punto di fusione dell'α-naftolo per aggiunte successive di naftalene; la temperatura di fusione è massima per α-naftolo puro e raggiunge un minimo di 61°C per una miscela avente una composizione del 40% circa in α-naftolo.

Analogamente la curva BC rappresenta la variazione del punto di fusione di naftalene per aggiunta di α-naftolo. Anche in questo caso la temperatura di fusione diventa minima (61°C) per una miscela al 40% di α-naftolo.

La temperatura di 61°C costituisce la temperatura eutettica (*fusione facile*) per il sistema α-naftolo-naftalene e la composizione con il 40% di α-naftolo è la composizione eutettica.

Esempio grafico della fusione dell'α naftolo puro. Se a questa sostanza pura aggiungiamo un po' di naftalene (naftalina), succede che quest'ultimo, che ha un punto di fusione più basso dell'α naftolo, si scioglie nell'α naftolo liquido e si crea la situazione A in cui il punto in cui la miscela si trova in equilibrio tra la fase solida e la fase liquida, è indicato con F1 (vedi grafico precedente), a cui corrisponde la temperatura di fusione 1 che è più bassa di quella del composto puro. Se aggiungiamo ancora naftalene, abbiamo un'ulteriore diminuzione della temperatura di fusione.

L'evento si può spiegare scientificamente con la **legge di Raoult**, secondo cui la tensione di vapore varia in funzione della frazione molare del solido:

$$P_{solvente} = x_{solvente} \times P_{solvente}^0$$

$$x_{solvente} = \frac{moli_{solvente}}{moli_{totali}}$$

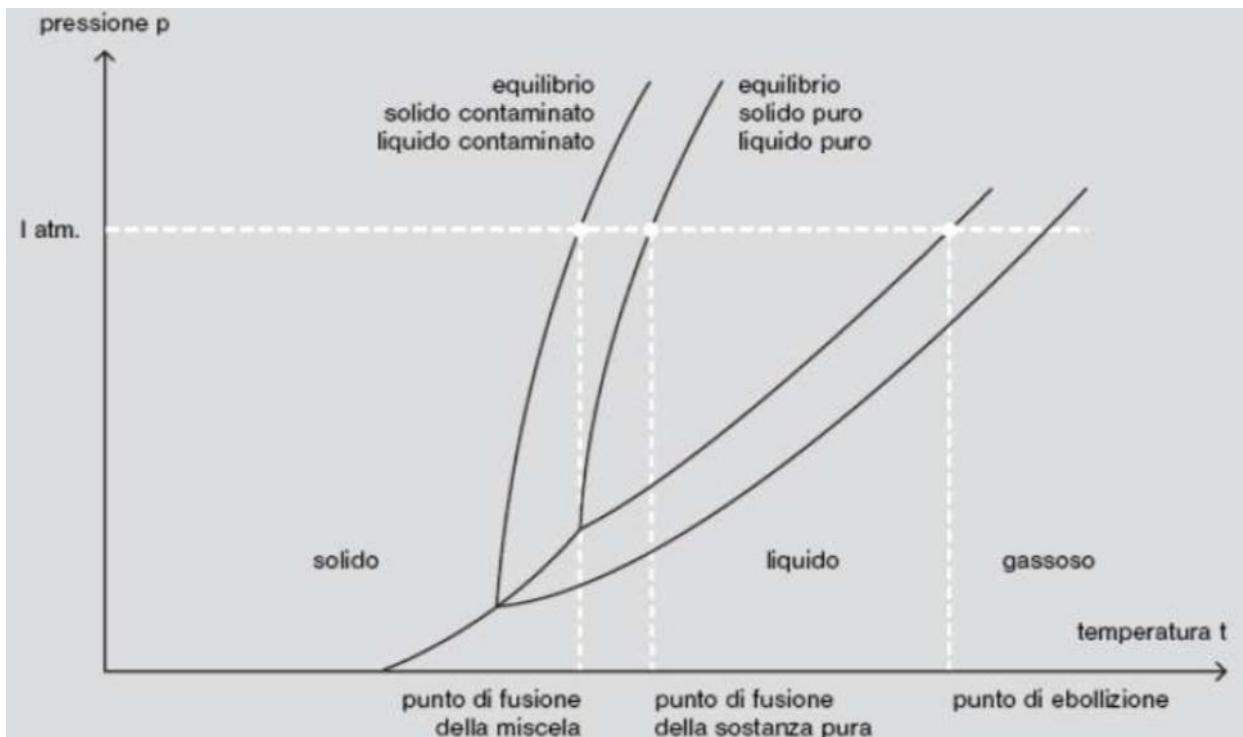
$$x_{solvente} < 1 \Rightarrow p < P^0$$

Se alla sostanza pura aggiungo un'impurezza, la frazione molare diminuisce perché le moli della mia sostanza non sono più 1 rispetto al totale, ma saranno meno.

Questo è quello che accade quando a una sostanza pura aggiungiamo un altro solido, il punto di fusione della miscela è inferiore al punto di fusione della sostanza pura, mentre il punto di ebollizione è maggiore.

Intuitivamente abbiamo detto che il p.f. è la temperatura alla quale abbiamo trasformato un solido in un liquido e quindi abbiamo rotto i legami deboli tra le molecole. Quindi se c'è un'impurezza, questa va già a ridurre i legami intermolecolari.

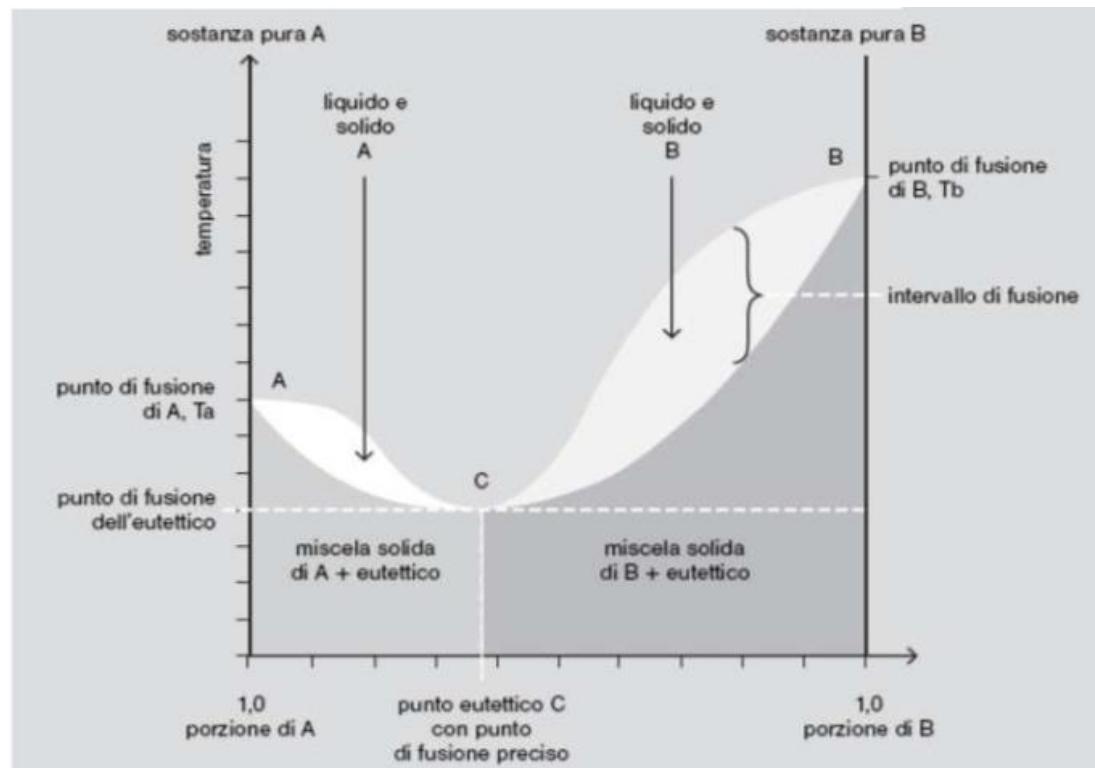
Torniamo al diagramma di fase, quello che accade quando andiamo a miscelare delle sostanze è questo:



Il p.f. della miscela è inferiore a quello della sostanza pura, mentre il p.eb. è maggiore.

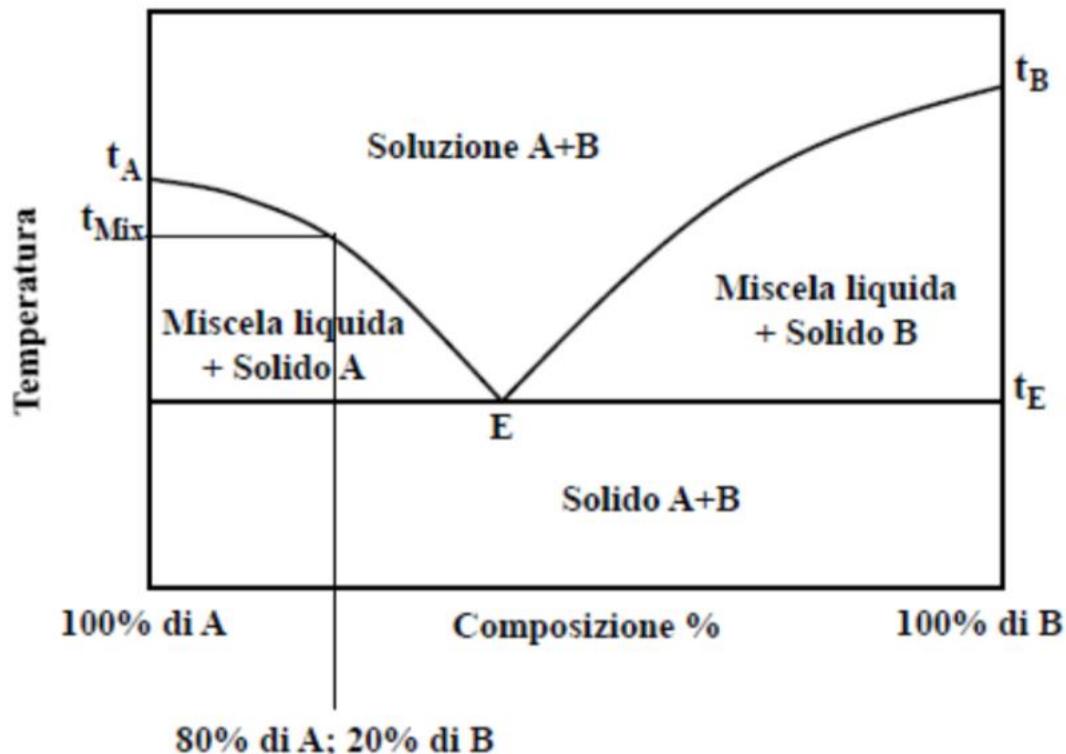
Quando misceliamo delle sostanze, il p.f. decresce fino a quello che viene definito un eutettico, che è un composto particolare che ci dà l'impressione di essere una sostanza pura.

Punto eutettico



Si tratta di due o più sostanze che insieme formano una fusione omogenea (ma che non sono però miscibili allo stato solido dato che si tratta in entrambi i casi di componenti puri), si comportano in modo eutettico in un determinato rapporto di miscelazione. Ciò significa che esiste un rapporto di miscelazione di queste sostanze che durante la fusione si comportano come una sostanza pura e che hanno quindi un punto di fusione definito con precisione.

Variazioni della temperatura di fusione di miscele binarie in funzione della composizione



Il p.f. della miscela corrisponde a T_{mix} .

L'aggiunta di B ha abbassato il p.f. da T_A a T_{mix} .

La sostanza A rispetto alla sostanza B ha un p.f. più basso quindi comincia fondere prima. Il solido B comincia a sciogliersi nel liquido A e il punto di fusione diminuisce.

Il punto E rappresenta il **punto eutettico** e corrisponde ad una composizione di equilibrio definita alla quale A e B fondono in rapporto costante.

Un campione la cui composizione sia esattamente quella della **miscela eutettica** avrà un punto di fusione netto alla temperatura eutettica e può per errore essere scambiato come un composto puro.

La presenza dell'impurezza, oltre ad abbassare il p.f., allarga l'intervallo. L'eutettico invece, ha un p.f. simile a quello di una sostanza pura.

Prendendo come esempio i composti precedenti, immaginiamo che la sostanza A sia α naftolo e B naftalene. α naftolo ha un p.f. di $95,5^{\circ}\text{C}$, il naftalene di 80°C . Man mano che all' α naftolo aggiungo il naftalene, il p.f. inizierà a decrescere, finché avremo la temperatura minima di fusione della miscela che si otterrà quando la % di α naftolo sarà 40% e il naftalene 60%. Qui i composti fondono con un intervallo di fusione identico a quello di un composto puro.

Un altro esempio si trova miscelando canfora e mentolo a Tamb, in cui osserviamo una liquefazione e quindi quando dovesse essere necessaria la somministrazione di queste sostanze in forma solida, non vanno messe insieme, ma vanno preparate separatamente da unire al momento dell'uso.

Quando si raffredda la miscela invece, per determinati rapporti di concentrazione, avremo da una parte il liquido della sostanza e dall'altra inizierà a formarsi il cristallo dell'impurezza e viceversa.

Fattori che influenzano il punto di fusione

Analogamente alla solubilità:

- Dimensione della molecola (PM)
- Struttura della molecola (lineare, ramificata)
- Interazioni intermolecolari:
 - legami ad idrogeno
 - interazioni elettrostatiche (essendo interazioni forti, richiedono E elevata e quindi p.f. di sostanze inorganiche e organo-metalliche sono molto elevati)
 - legami dipolo-dipolo

Lezione di analisi dei medicinali III #7 del 15/03/2023

Docente: Alessandra Locatelli

Sbobinatore: Guglielmo Amerighi

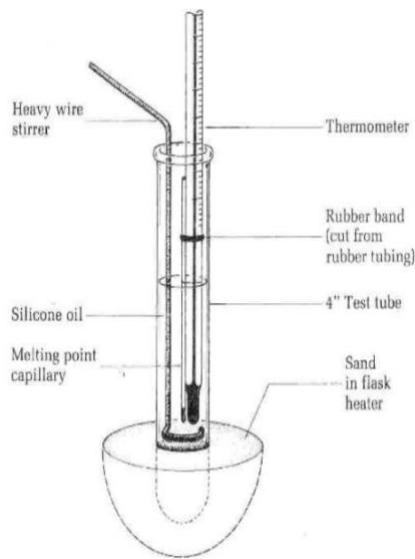
Revisore:Benedetta Anichini

Fattori che influenzano il punto di fusione

Non è utilizzato per l'identificazione di sostanze inorganiche o organometalliche (p.f. > 350°C, forze ioniche attrattive), di solito viene usato per sostanze organiche che abbiano un intervallo di fusione ridotto (nella slide riporta un intervallo di 1-2°C, mentre in Farmacopea troviamo anche 3-4°C. Questo dipende anche dalla quantità di sostanza che mettiamo nel capillare; l'intervallo va dal momenti in cui si vede la prima goccia al momento in cui tutta la sostanza contenuta nel capillare è fusa. Alcune sostanze hanno un intervallo troppo alto di fusione quindi non si può completare l'identificazione di tutte le sostanze basandosi sul punto di fusione. Inoltre la sostanza per l'identificazione deve essere pura, poiché la presenza di impurezze abbassa il punto di fusione. Anche la presenza di acqua può rappresentare un'impurezza. In molti casi l'identificazione può essere fatta, come è riportato in farmacopea, ottenendo un precipitato che può essere ottenuto sia facendo dei sali, ad esempio i Sali picrati che danno dei precipitati cristallini con un punto di fusione definito, oppure nel caso di sostanze organo-metalliche andiamo a identificare la soluzione della nostra sostanza, si ha la precipitazione dell'acido insolubile in acqua che può essere recuperato per filtrazione ma di cui non si può misurare il punto di fusione poiché in questo caso avremmo l'acqua come impurezza perché la sostanza non sarebbe asciutta e inoltre è fondamentale che la sostanza sia ridotta nella polvere più omogenea possibile perché i cristalli hanno un punto di fusione più elevato. Inoltre il polimorfismo di alcune sostanze può portare ad avere dei punti di fusione diversi della sostanza, poiché sono diverse le forme cristalline in cui si possono trovare i polimorfi; pertanto qualora la differenza di fusione sia elevata rispetto allo standard la farmacopea indica di prendere lo standard del campione, trattarli allo stesso modo (eventualmente solubilizzarli in un solvente), portarli a secco in un rotavapor e rimisurare il punto di fusione, in modo tale da avere la sostanza nelle stesse condizioni.

Determinazione del punto di fusione

Per misurare il punto di fusione la farmacopea indica il metodo del tubo capillare.



Si ha un tubo che contiene un “bagno” di un solvente, che scegiamo in base alle temperature che vogliamo raggiungere. Può essere acqua se la temperatura di fusione della sostanza è inferiore a 100°C, glicerina fino a 150°C, acido solforico concentrato fino a 200°C, olio di paraffina fino a 250°C oppure una miscela di acido solforico-solfato di potassio per arrivare fino a i 300°C. Questo metodo prevede che il capillare, contenente una certa quantità di sostanza (massimo 5mm, altrimenti l’intervallo di fusione viene elevato) e legato a un termometro, venga immerso nella soluzione riscaldat da una serpentina e man mano che aumenta la temperatura si va a analizzare il punto di fusione. La farmacopea nell’identificazione tramite punto di fusione fa riferimento al volume 1 dove viene spiegato il metodo del capillare.

Preparazione dei campioni

La sostanza da analizzare deve essere ben asciutta, omogenea e sotto forma di polvere. I campioni umidi devono essere prima essiccati (nelle farmacopee viene in genere prescritto di essiccare la sostanza per 24 ore sotto vuoto con gel di silice R); i campioni a cristalli grossolani o non omogenei devono essere polverizzati finemente nel mortaio.

I tubi capillari si riempiono spingendo l'estremità aperta nella sostanza.

Battendo poi più volte il tubicino su una superficie dura si comprime la sostanza sul fondo del tubo capillare. Lo stesso risultato si ottiene facendo cadere il tubicino sul tavolo attraverso un tubo di vetro lungo circa 50 centimetri. quindi con l'estremità aperta si preleva la polvere poi si gira l'estremità chiusa deve battere sulla superficie attraverso il tubo per compattare la polvere.

Nel tubo capillare deve essere introdotta una quantità della sostanza tale da formare una colonna compatta di 4-6 mm di altezza (per misurazioni di precisione si consigliano 5 mm). Per ottenere risultati confrontabili è importante che il livello di riempimento sia uguale in tutti e tre i tubi capillari e che la sostanza all'interno del tubo sia ben compatta (se necessario può usare un filo rigido per comprimere la sostanza nel capillare).

Apparecchi da banco

Il capillare di vetro, contenente una piccolissima quantità di campione va situato nel blocco riscaldante. Nel blocco riscaldante possono essere collocati 2/3 capillari. Tramite l'apposita lente di ingrandimento è



possibile controllare la fase di fusione. La rispettiva temperatura di fusione si legge direttamente sul display digitale posto a lato o sul termometro inserito nella piastra riscaldante.

È necessario impostare in maniera opportuna la velocità di riscaldamento del nostro strumento. La velocità troppo elevata del riscaldamento non consente un equilibrio tra la temperatura del blocco riscaldante e la sostanza all'interno del tubino. Quindi è opportuna che la prima fase del riscaldamento sia effettuata a una certa velocità e che questa velocità di riscaldamento venga rallentata in prossimità del punto di fusione poiché la velocità di riscaldamento influenza il punto di fusione. Infatti se aumentiamo il riscaldamento di due gradi centigradi al minuto la temperatura di fusione dell'ipotetica sostanza è di 83.6°C mentre se rallentiamo la velocità si osserva che la temperatura di fusione è più bassa. Inoltre se la velocità di riscaldamento è molto elevata la temperatura segnata dal termometro salirà troppo velocemente e non si riuscirà a fermare il riscaldamento esattamente in corrispondenza del p.f.

Determinazione del punto di fusione di una miscela

La presenza di impurezze abbassa il punto di fusione, questo fenomeno può essere sfruttato per l'identificazione di sostanze in miscela. Infatti questa tecnica può essere utilizzata per riconoscere una sostanza tra una serie di sostanze che abbiano p.f. simile (es. fenilbutazone e amminobutazone). Si determina il p.f. della sostanza incognita X pura e successivamente si determinano i p.f. di miscele ottenute mescolando X con piccole quantità delle altre sostanze. Quindi misceliamo una uguale quantità di una sostanza A insieme alla sostanza incognita X e una uguale quantità della sostanza B insieme alla sostanza X. Si osserva che se X è uguale ad A la fusione di A+X e X avviene alla stessa temperatura che è superiore rispetto alla temperatura di fusione della miscela B+X, dal momento che B in questo caso funge da impurezza. Poiché ci si può trovare in presenza di un eutettico quando si miscela X+A oltre a miscelare concentrazioni analoghe di A e X, si possono miscelare diversi rapporti di concentrazione di A e X per verificare che non si tratti di una fusione di eutettico, ma sia la stessa sostanza.

Un altro parametro utile per l'identificazione di sostanze liquide è la densità.

Densità

La **densità assoluta**(δ) di un corpo è il rapporto tra la sua massa e il volume che occupa in determinate condizioni di temperatura e pressione.

$$\delta^t = \frac{m}{V}$$

La **densità relativa** è invece il rapporto (numero puro) fra la massa m di un certo volume di una data sostanza e la massa m_0 di una sostanza presa come riferimento, di solito acqua distillata.

$$\delta_{r'}^t = \frac{m}{m_0}$$

A 4 °C e 1 atm 1000 g di acqua occupano un volume di 1000 mL, per cui la densità relativa dell'acqua a 4 °C è uguale alla sua densità assoluta.

La densità è caratteristica di ogni liquido e dipende dalla temperatura per questo è fondamentale annotare la temperatura alla quale viene calcolata la densità. In particolare aumentando la temperatura di una sostanza diminuisce la sua densità.

La densità viene usata non solo per l'identificazione di liquidi puri ma anche per determinare il contenuto alcolico di estratti fluidi e tinture.

Determinazione della densità

La densità può essere determinata usando tre tipologie diverse di strumenti:

- picnometro
- Bilancia idrostatica di Mohr e Westphal (metodo più accurato)
- densimetro

Picnometro

Il picnometro è un contenitore di vetro con il cono a smeriglio e ha un tappo con un capillare. Quando si vuole effettuare la misurazione della densità si riempie il picnometro con il liquido in esame, si tappa e si deve fare in modo che il picnometro sia completamente pieno quindi si deve fare uscire una goccia di liquido nel momento in cui si tappa. In questo modo si ha la certezza che lo strumento di misurazione sia pieno.

Si fa la pesata del picnometro vuoto, del picnometro pieno della sostanza in esame e del picnometro pieno di acqua distillata. Si ottengono P₀ (peso del picnometro vuoto), P₁ (peso del picnometro con il liquido in esame) e P₂ (peso del picnometro con acqua distillata)

$$\delta'_t = \frac{P_1 - P_0}{P_2 - P_0} \Rightarrow \delta' = \frac{P_1 - P_0}{P_2 - P_0} \times \delta'_4(H_2O)$$

$\delta'_4(H_2O)$ È la densità relativa dell'acqua alla temperatura t che è uguale alla densità assoluta dell'acqua a t dato che a 4°C la densità dell'acqua è 1.

Si hanno tabulati i valori corrispondenti alla densità dei liquidi. Solitamente sono dei range all'interno dei quali si deve trovare la densità in oggetto.

Bilancia idrostatica di Mohr e Westphal

Con la bilancia idrostatica di Mohr-Westphal si possono ottenere misure più accurate di densità: si basa sul principio di Archimede per cui un corpo immerso in un fluido è spinto verso l'alto con una forza che è uguale al peso del liquido spostato.

Questo strumento permette di misurare questa spinta e quindi risalire alla densità.

Il contrappeso aggiunto per equilibrare la spinta di Archimede costituisce il peso del volume del liquido spostato (volume del pescante 10 cm³)

E' una speciale bilancia il cui giogo ha i bracci disuguali: il fulcro F è appoggiato su una colonna alla cui base si trova una vite di livello V.

Il braccio corto del giogo porta una massa opportuna e termina con una punta che oscilla davanti ad una scala graduata (o ad un'altra punta). Il braccio lungo è diviso mediante tacche o pioli in dieci parti uguali e alla decima (che è la più lontana dal fulcro) un gancio sostiene un corpo cilindrico detto pescante (cilindro in vetro pyrex di 10 cm³).

Cinque cavalieri costituiscono i pesi della bilancia: quattro di questi C₁, C₂, C₃, C₄ pesano ognuno un decimo del precedente, il quinto C' è uguale a C₁: C₁ = 10 g C₂ = 1 g C₃ = 0,1 g C₄ = 0,01 g.

Mettiamo il pescante all'interno del liquido di cui vogliamo misurare la densità, questo liquido spingerà il pescante verso l'alto (forza di Archimede), la bilancia non sarà più in equilibrio, quindi aggiungendo i cavalieri sui ganci si va a riequilibrare la bilancia, in base ai pesi aggiunti si ricava la densità.

Quando il pescante è in aria la bilancia deve essere in equilibrio e la vite di livello V serve appunto per ottenere tale condizione.

Il galleggiante all'estremo del braccio lungo della bilancia viene immerso nel liquido e i bracci della bilancia vengono equilibrati con l'aggiunta di opportuni pesi sul braccio che sostiene il pescante.

Dalla posizione di questi sul giogo si ottiene la densità del liquido: i numeri corrispondenti alle posizioni su cui si trovano i cavalierini C1, C2, C3 e C4 danno rispettivamente la prima, la seconda, la terza e la quarta cifra decimale della densità del liquido a t°C

Il peso aggiunto è uguale al peso del volume del liquido (10 cm³) spostato densità del liquido.

Densimetro



Si basa sul principio di Archimede.

Si immerge all'interno di un liquido di cui voglio determinare la densità, il densimetro affonda nel liquido e attraverso la scala graduata si legge direttamente il valore della densità.

Occorre fare attenzione a immergere lentamente l'asta, in modo da evitare che si immerga troppo e poi magari riemerga, e fare attenzione che l'asta non tocchi le pareti del contenitore altrimenti la lettura viene falsata, perché è la lettura del punto in cui affiora il densimetro, ovvero il punto bagnato più alto.

È un metodo veloce ma impreciso rispetto ai precedenti.

RIFRATTOMETRIA E POLARIMETRIA

COSTANTI FISICHE

Per differenziare, caratterizzare e identificare i composti di interesse farmaceutico (eccipienti e principi attivi) si può far riferimento alla determinazione di alcune costanti fisiche:

- Punto di ebollizione e punto di fusione;
- Densità: stato liquido;
- Indice di rifrazione: sostanze liquide;
- Potere rotatorio specifico: costante fisica che può essere molto utile per l'identificazione sia di liquidi che di solidi che devono però possedere caratteristiche chimiche particolari, cioè devono essere molecole in grado di ruotare il piano della luce polarizzata; E' l'unica che ci permette di differenziare i due isomeri;

RIFRATTOMETRIA

La rifrattometria si basa sullo studio dell'indice di rifrazione. La rifrazione è un fenomeno per il quale i raggi luminosi, passando attraverso uno o più mezzi, subiscono una deviazione della loro traiettoria. L'indice di rifrazione spiega perché la luce che attraversa un mezzo subisce una variazione nella sua velocità. Ciò dipende anche dal mezzo attraverso il quale la luce passa. Quando la luce passa attraverso un mezzo definitivo otticamente isotropo (che ha le stesse proprietà ottiche in tutte le direzioni) subisce una variazione della velocità; passando dal vuoto ad un altro mezzo la velocità della luce diminuisce

L'indice di rifrazione assoluto **n** è il rapporto tra le due velocità (nel vuoto e nel mezzo). La velocità della luce diminuisce passando dal vuoto ($\approx 3 \times 10^10$ cm/s) ad un altro mezzo. La velocità della luce nel vuoto è sempre maggiore della velocità nel mezzo, l'indice di rifrazione assoluto sarà sempre maggiore di 1.

$$n_{\lambda}^t = \frac{v_{vuoto}}{v_{mezzo}}$$

v_{vuoto} sempre > v_{mezzo}

sempre $n > 1$

$$n_{\lambda}^t = \frac{v_{vuoto}}{v_{mezzo}} \cong \frac{v_{aria}}{v_{mezzo}}$$

**L'indice di rifrazione assoluto dell'aria
a 0°C e 1 atm = 1.00027**

Per convenzione i valori degli indici di rifrazione vengono tabulati a:

$t = 20^\circ C$

$\lambda = 589.3$ nm (riga gialla D del sodio)

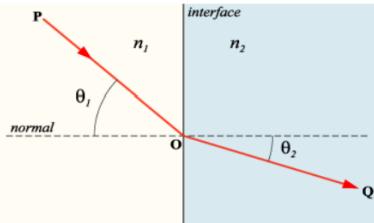
n_D^{20}

Per convenzione gli indici di rifrazione vengono tabulati; in apice si ha 20 °C che indica la temperatura ambiente, mentre λ rappresenta D, cioè la lunghezza d'onda della riga gialla D del sodio, lunghezza d'onda particolare in cui normalmente i liquidi in esame non assorbono e quindi non si ha interferenza tra l'indice di rifrazione e l'assorbimento.

Quando la luce passa da un mezzo 1 ad un mezzo 2 (entrambi diversi dal vuoto) il rapporto delle velocità della luce nei due mezzi è definito **indice di rifrazione relativo**, che è quello che utilizziamo.

Leggi di Snell

$$n_{2/1} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{n_2}{n_1} = \frac{n_{mezzo}}{n_{aria}}$$



La variazione di velocità è accompagnata da una variazione della direzione di propagazione

θ_1 = angolo di incidenza (mezzo meno denso) ad es. aria

θ_2 = angolo di rifrazione (mezzo più denso)

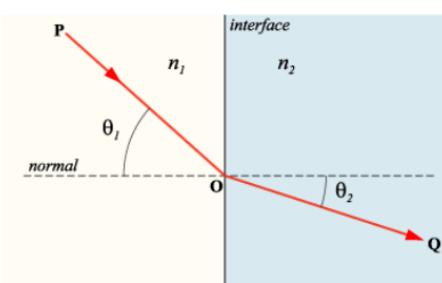
La radiazione luminosa incide all'interfaccia tra i due mezzi e si forma un angolo tra la radiazione incidente e la normale alla linea di separazione tra i due mezzi; l'angolo che si forma viene deviato nel momento in cui si arriva al secondo mezzo: l'angolo di incidenza θ_1 (ampiezza dell'angolo tra il raggio incidente e la normale alla superficie di separazione dei due mezzi), venendo deviato diventa angolo θ_2 di rifrazione.

$\theta_2 < \theta_1$ sempre.

Quando l'angolo è perpendicolare alla interfaccia non ho la rifrazione

La prima legge di Snell dice che il raggio incidente, il raggio rifratto e la normale alla superficie di separazione tra i due mezzi, giacciono sullo stesso piano nel punto di incidenza.

La legge di Snell afferma che esiste una relazione tra l'angolo di incidenza (θ_1) e l'angolo di rifrazione (θ_2): il rapporto tra il seno dell'angolo di incidenza e il seno dell'angolo di rifrazione è costante ed è uguale al rapporto tra l'indice di rifrazione del secondo mezzo e quello del primo mezzo.



legge di Snell

$$\frac{\sin(\theta_1)}{\sin(\theta_2)} = \frac{n_2}{n_1} = n_r = \frac{v_1}{v_2}$$

L'indice di rifrazione varia in base a:

- **Temperatura:**

diminuzione di 0.00045 di n per l'aumento di 1 grado: tale variazione è significativa poiché la riproducibilità media è di 0.0002 (densità!) → per misure accurate occorre controllare la temperatura. L'indice di rifrazione è collegato alla temperatura e alla densità, perché la densità cambia al cambiare della temperatura; se la temperatura aumenta, diminuisce la densità e quindi il raggio luminoso incontrerà un numero minore di molecole per unità di volume; all'aumentare della temperatura diminuisce l'indice di rifrazione; Quindi, il rifrattometro è uno strumento termostato a 20 gradi.

- **la lunghezza d'onda λ :**

la variazione dell'indice di rifrazione in base alla lunghezza d'onda avviene a causa di un fenomeno che prende il nome di **dispersione ottica rotatoria**. La misurazione viene fatta alla lunghezza d'onda D del sodio; l'indice di rifrazione non viene influenzato da un eventuale assorbimento perché la maggior parte dei composti organici non assorbono a quel valore di lunghezza d'onda; se si lavorasse a lunghezze d'onda diverse potrebbero esserci delle variazioni nell'indice di rifrazione nel caso in cui la molecola avesse gruppi cromoforici. Per evitare l'assorbimento anomalo la λ standard di misura corrisponde alla luce della riga D del sodio (589.3 nm), poiché la quasi totalità dei composti organici non da assorbimento.

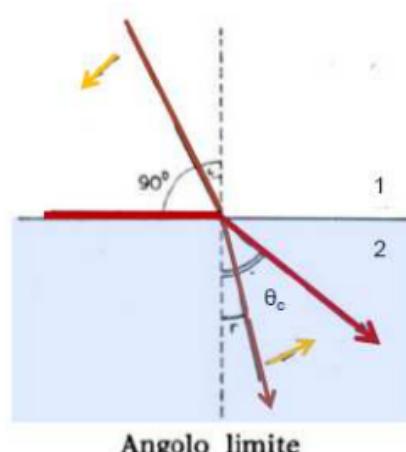
Misura di n: Angolo critico (o limite)

Passaggio del raggio dal mezzo 1 (meno denso, es. aria o liquido) al 2 (più denso, es. prisma)

Aumentando l'angolo incidente aumenta l'angolo rifratto. Aumentando gradualmente l'angolo d'incidenza i aumenta l'angolo di rifrazione r , al tendere di i a 90° (massima incidenza), r tende al valore θ_c .

Il valore θ_c dell'angolo di rifrazione prende il **nome di angolo limite o critico** θ_c e rappresenta il **massimo valore possibile dell'angolo di rifrazione**.

Il vantaggio lo capiamo inserendo i rispettivi valori nella legge di Snell perché il seno dell'angolo di 90° è uguale a 1. Questa modalità ci permette di risalire all'indice di rifrazione della sostanza con più facilità, perché si conosce l'indice del mezzo e il seno di 90° , rimane come incognita solo l'indice di rifrazione del mezzo 2.

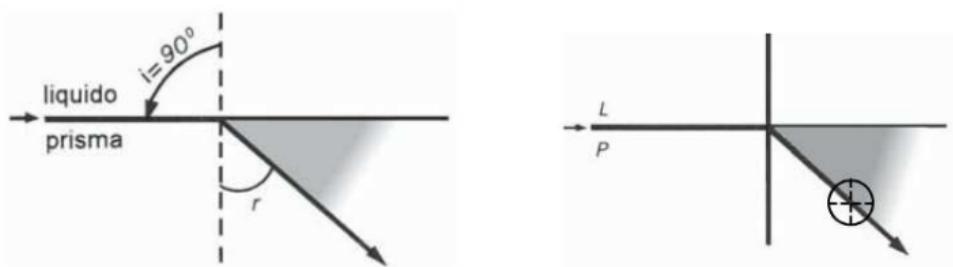


Dalla legge di Snell:

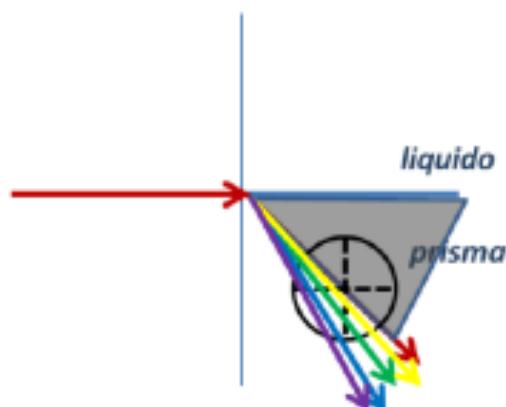
$$n_{\text{relativo}} = \frac{n_2}{n_1} = \frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2} = \frac{\sin 90^\circ}{\sin \theta_c} = \frac{1}{\sin \theta_c} \quad \frac{n_2}{n_1} = \frac{1}{\sin \theta_c} \quad n_1 = n_2 \cdot \sin \theta_c$$

Una volta misurato l'indice di rifrazione sappiamo che è difficile individuare una sola lunghezza d'onda; succede che nel prisma si osserva una zona oscura e una illuminata, il raggio critico è individuato tra la zona di passaggio tra luce e ombra.

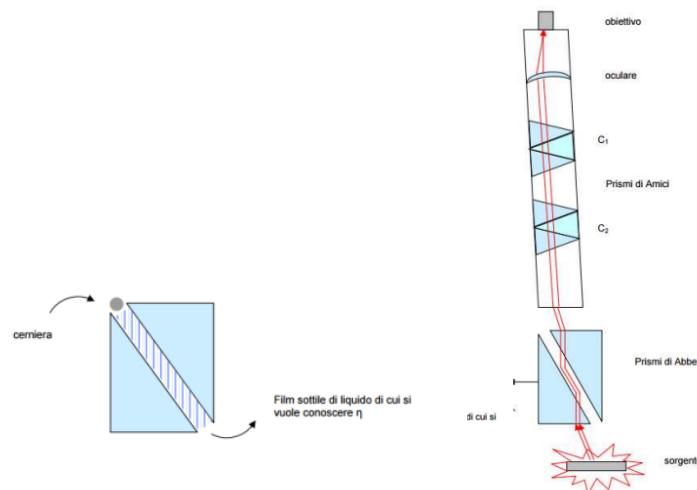
La radiazione incidente è costituita da una banda luminosa e non da un singolo raggio, si avrà all'interno del prisma una zona illuminata e una oscura. La posizione del raggio critico verrà indicata da un passaggio netto luce-ombra:



Se la radiazione incidente è costituita da una luce bianca e non monocromatica le diverse componenti (diversa λ) verranno rifratte con diverso angolo formazione di una zona iridata tra il campo chiaro e il campo scuro invece di una demarcazione netta. Questo fenomeno si chiama dispersione cromatica.



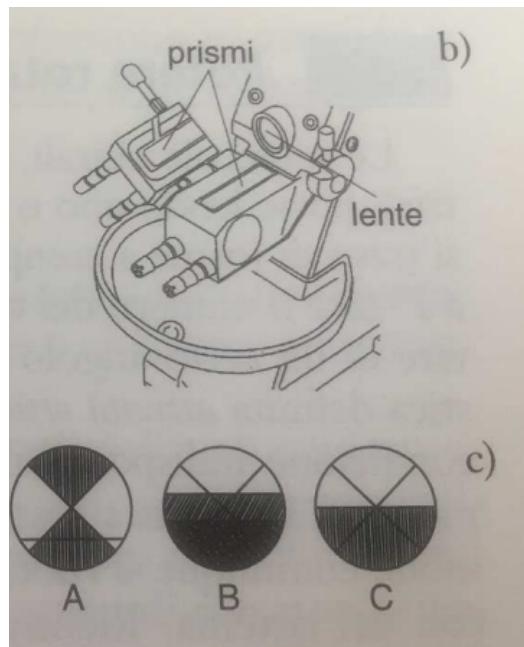
Come risolvo il problema della dispersione cromatica? Con **il rifrattometro tipo Abbe**.



- usa la luce bianca ma compensata (prismi di Amici) in modo da evidenziare la linea D del sodio;

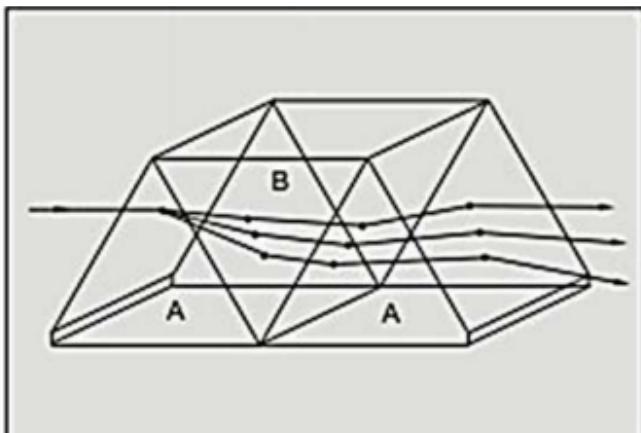
Al suo interno vi sono due prismi con indice di rifrazione noto, incernierati tra loro; tra questi due prismi viene inserito un sottile film di liquido di cui bisogna calcolare l'angolo. Si illumina il blocco, la luce viene rifratta e prima dell'obiettivo oculare abbiamo i **prismi di Amici** sono dei prismi che permettono di compensare la luce bianca, quindi di diminuire al massimo il fenomeno di iridescenza e di evidenziare al massimo la linea D del sodio. Sono prismi ad indice noto e ad alto indice di rifrazione.

- L'apparecchio è termostatato quindi si hanno anche dei tubi, nei quali viene posto un liquido refrigerante in modo tale che lo strumento non risenta della temperatura ambiente ma rimanga stabile a 20 °C.
- richiede piccole quantità di campione;



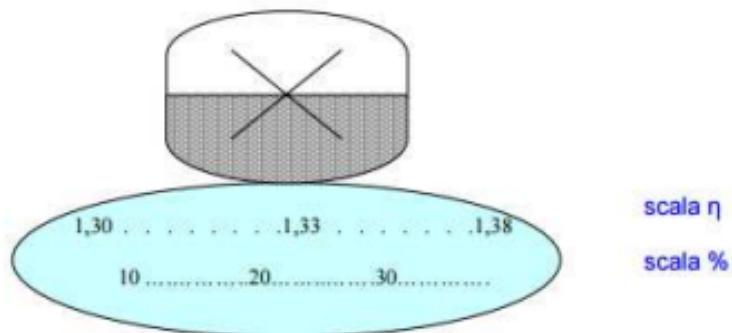
Dopo aver chiuso i prismi, tramite l'oculare si possono osservare **3 diversi fenomeni**. Attraverso delle manopole bisogna fare in modo che la linea orizzontale coincida con il centro del reticolo; a quel punto sarà possibile leggere il valore dell'indice di rifrazione attraverso una scala.

I prismi di Amici compensano il fenomeno della dispersione ottica, sono tre prismi incastrati tra di loro, 2 con vetro **Flint** e 1 con vetro **Crown**. La loro funzione è quella di separare i raggi che vengono dal campione selezionando quello corrispondente alla riga D del sodio.



COME SI EFFETTUA LA MISURAZIONE:

- La regolazione dello strumento (azzeramento) si effettua ponendo tra i due prismi di Abbe una goccia di acqua distillata, il valore letto deve essere 1,333 a 20°C , in corrispondenza del centro del reticolo.



- Si pone una goccia del liquido in esame tra i due prismi; si chiude la scatola e si invia luce sul campione. Si ispeziona col cannocchiale il campo e si agisce sulla manopola che fa girare i prismi fino all'apparizione della linea di demarcazione (compensazione dispersione cromatica). Operando in luce monocromatica questa sarà nettissima, operando in luce bianca questa apparirà iridescente. In questo caso girando la manopola compensatrice si compensa la distorsione fino ad ottenere una linea nitida.
- A questo punto agendo sulla manopola rotazione prismi si centra la linea di demarcazione col centro del reticolo.
- Si legge sulla scala n.

A COSA SERVE LA RIFRATTOMETRIA?

- Identificazione di sostanze liquide (n : 1.3 ÷ 1.7);
- n è un parametro utile per determinare la purezza di un liquido;
- MISURE QUANTITATIVE: contenuto zuccherino di succhi alimentari (saccarimetri);
- grado alcolico di soluzioni idroalcoliche;
- caratterizzazione di sostanze grasse (OLIO);
- Sono utilizzati come rivelatori accoppiati a sistemi HPLC;

FARMACOPEA:

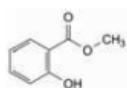
essendo una tecnica è indicata la modalità con la quale si effettua in farmacopea.



01/2008:0230
corrected 7.0

METHYL SALICYLATE

Methylis salicylas



$C_8H_8O_3$
[119-36-8]

M_r 152.1

DEFINITION

Methyl 2-hydroxybenzoate.

Content: 99.0 per cent m/m to 100.5 per cent m/m .

CHARACTERS

Appearance: colourless or slightly yellow liquid.

Solubility: very slightly soluble in water, miscible with ethanol (96 per cent) and with fatty and essential oils.

IDENTIFICATION

TESTS

Appearance of solution. The solution is clear (2.2.1) and not more intensely coloured than reference solution Y₇ (2.2.2, Method II).

To 2 mL add 10 mL of ethanol (96 per cent) R.

Acidity. Dissolve 5.0 g in a mixture of 0.2 mL of bromocresol green solution R and 50 mL of ethanol (96 per cent) R previously neutralised to a blue colour by addition of 0.1 M sodium hydroxide. Not more than 0.4 mL of 0.1 M sodium hydroxide is required to restore the blue colour.

Relative density (2.2.5): 1.180 to 1.186.

Refractive index (2.2.6): 1.535 to 1.538.

01/2008:20206



2.2.6. REFRACTIVE INDEX

The refractive index of a medium with reference to air is equal to the ratio of the sine of the angle of incidence of a beam of light in air to the sine of the angle of refraction of the refracted beam in the given medium.

Unless otherwise prescribed, the refractive index is measured at $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$, with reference to the wavelength of the D-line of sodium ($\lambda = 589.3\text{ nm}$); the symbol is then n_D^{20} .

Refractometers normally determine the critical angle. In such apparatus the essential part is a prism of known refractive index in contact with the liquid to be examined.

Calibrate the apparatus using certified reference materials.

When white light is used, the refractometer is provided with a compensating system. The apparatus gives readings accurate to at least the third decimal place and is provided with a means of operation at the temperature prescribed. The thermometer is graduated at intervals of 0.5°C or less.

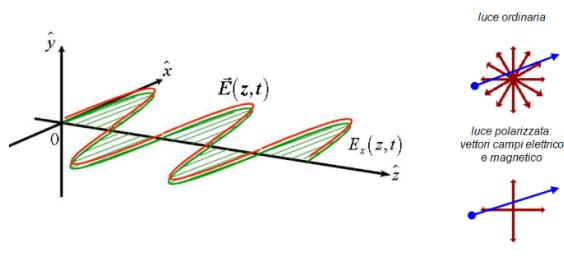
POLARIMETRIA

L'analisi polarimetrica permette l'analisi di *composti otticamente attivi*, che sono in grado di ruotare il piano della luce polarizzata.

Luce piano polarizzata

La radiazione elettromagnetica è costituita da un campo elettrico e un campo magnetico che oscillano perpendicolarmente tra loro. Nella polarimetria si considera solo la componente elettrica: normalmente questa si propaga in tutte le direzioni possibili dello spazio e non presenta quindi polarizzazione; quando invece la propagazione avviene lungo una sola direzione si parla di *luce linearmente polarizzata*.

Quindi la luce linearmente polarizzata (o piano polarizzata) è una radiazione elettromagnetica in cui il vettore E oscilla in un solo ben preciso piano di polarizzazione.



In realtà, la luce piano polarizzata è la risultante di due componenti polarizzate circolarmente in maniera opposta, una diretta verso destra (destrogiro) e una verso sinistra (levogiro), in concordanza di fase, con uguale frequenza e ampiezza.

Quando la luce piano polarizzata incontra un mezzo chirale una delle due componenti (destrorsa o sinistrorsa) viene *rallentata* e i due vettori si troveranno fuori fase; di conseguenza *cambia l'orientamento* del piano di polarizzazione, in quanto derivato dalla somma delle due componenti. La luce linearmente polarizzata è ottenuta dalla luce non polarizzata attraverso strumenti come i *filtri polarizzatori* o i *prismi* (es. prisma di Nicol).

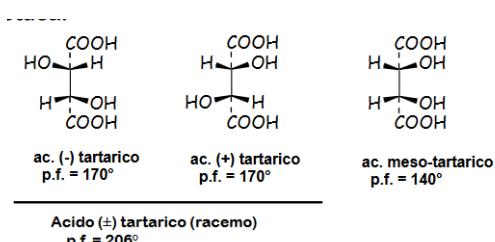
La luce polarizzata ci permette di studiare *l'attività ottica* di un composto, ovvero la capacità di ruotare il piano della luce polarizzata, e ciò accade solo se la sostanza è dotata di particolari proprietà.

Si tratta di molecole **chirali**, cioè molecole le cui immagini speculari non sono sovrapponibili. In generale, una molecola è chirale quando presenta un atomo di carbonio asimmetrico, ibridato sp^3 e legato a 4 gruppi funzionali diversi.

Se il composto determina una rotazione del piano della luce polarizzata in senso orario, il composto è detto *destrogiro* e l'angolo è indicato con il segno +; se la rotazione avviene invece in senso antiorario, il composto è *levogiro* e l'angolo ha davanti il segno -.

In particolare, non è possibile misurare il potere rotatorio specifico quanto siamo in presenza di un *racemo* (miscela che contiene i due enantiometri in quantità equimolari) perché la componente destrogiro e levogiro si annullano a vicenda.

Esempio: Acido tartarico



I due enantiomeri hanno lo stesso punto di fusione (infatti gli enantiomeri hanno uguale proprietà chimico-fisiche in ambiente achirale) e si differenziano solo per l'angolo di rotazione della luce polarizzata, che è uguale in valore assoluto ma presenta segno opposto.

Nel caso dell'acido meso-tartarico, è presente un piano di simmetria (la molecola non è chirale), quindi non è

possibile misurare il potere rotatorio specifico. Inoltre, il punto di fusione è diverso, così come nel racemo,

La rotazione del piano della luce polarizzata può essere osservata anche in composti che contengono *eteroatomo* come azoto, zolfo e fosforo (sali ammonici quaternari, solfossidi e fosfine) per i quali l'energia di attivazione necessaria per l'*inversione piramidale* è troppo elevata.

Possono mostrare attività ottica molecole che hanno impedimento rotatorio o di coplanarità a causa dell'ingombro sterico dato dai sostituenti (sono fissati in una determinata configurazione).

In ambito farmaceutico è importante definire le sostanze anche tramite l'attività ottica perché è stato osservato che in alcuni casi gli enantiomeri della stessa molecola possono avere effetti farmacologici diversi:

- l'ibuprofene nella conformazione S è analgesico, mentre nella forma R è inattivo;
- il naprossene nella forma S ha attività farmaceutica, mentre la forma R è epatotossico;
- il propranololo in configurazione S è β -bloccante, in configurazione R è contraccettivo;
- il propossifene in forma R è analgesico mentre in forma S viene usato come antitussivo;
- l'Etomidato in forma R ha azione ipnotica, mentre la forma S è inattiva;
- il limonene R è caratterizzato da profumo di arancio, mentre l'S profuma di limone;
- L-DOPA ha attività contro il Parkinson, mentre l'R è inattivo;
- la Talidomide in forma S è teratogena, mentre in forma R ha azione sedativa.

Questi diversi effetti possono essere spiegati attraverso la teoria recettoriale: ogni farmaco lega uno specifico recettore, il cui sito di legame ha una conformazione ben precisa, per cui un enantiomero può legarsi perfettamente al sito mentre l'altro enantiomero no, oppure si lega dando attività inferiore o avversa.

Esempio: Adrenalina

L'enantiomero destrogiro riesce a collocarsi esattamente sul sito d'azione, a differenza del levogiro che non riesce a posizionarsi correttamente.

Polarimetro

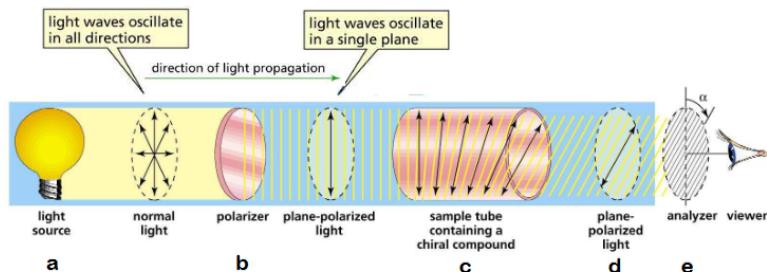
Il polarimetro riportato in figura è un polarimetro manuale, che presenta l'oculare e la zona di posizionamento del tubo polarimetrico, contenente la soluzione della sostanza di cui si vuole misurare l'angolo di rotazione (per ricavare il potere rotatorio specifico).

Lo strumento si compone di:

- *sorgente luminosa*: emette luce non polarizzata (oscilla in tutte le direzioni) → anche in questo caso si utilizza la lampada al sodio e in particolare, la lunghezza d'onda D.
- *polarizzatore*: seleziona la luce piano polarizzata (Nicol polarizzatore)



- *tubo polarizzatore* contenente il campione: ruota il piano della luce incidente;
- *polarizzatore mobile*: può essere ruotato per misurare l'angolo di rotazione (Nicol analizzatore)
- *rivelatore*: misura la quantità di luce.

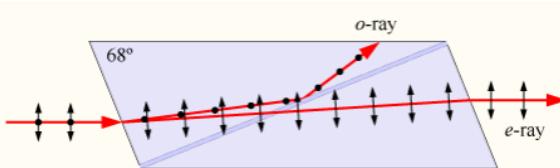


Prisma di Nicol

Il prisma di Nicol è costituito da un *romboedro di calcite*, che è un materiale birifrangente (ovvero in grado di separare in due il raggio incidente). Questo romboedro viene tagliato lungo la diagonale che unisce gli angoli ottusi ottenendo due prismi triangolari che vengono poi incollati utilizzando il balsamo del Canada. In due prismi triangolari, che vengono poi incollati con una resina particolare (balsamo del Canada).

Quando la luce non polarizzata entra nel prisma subisce il fenomeno di birifragenza e viene scomposta in due raggi linearmente polarizzati perpendicolari tra loro: *o-ray* (raggio ordinario) e *e-ray* (raggio straordinario).

Il raggio ordinario subisce una riflessione verso l'interno dello strumento (è totalmente riflesso all'interno e viene assorbito dalla parte scura) mentre l'*e-ray* passa inalterato lungo il prisma ed esce con una direzione che è parallela al raggio incidente; questo andrà poi a colpire il tubo polarimetrico contenente il composto da analizzare.



La luce incide sul tubo polarimetrico alle cui estremità sono presenti dei vetrini che ne consentono il passaggio. Inoltre, è presente una strozzatura che permette alla bolla d'aria eventualmente presente di non andare ad interferire con la rilevazione.

Si effettua sempre l'azzeramento dello strumento con il bianco (ovvero tutto ciò che abbiamo utilizzato per portare in soluzione il composto), al fine di eliminare qualsiasi variazione di rotazione dovuta al solvente.

I prismi di Nicol presenti nel polarimetro sono due: il polarizzatore (fisso) e l'analizzatore (mobile). Quando si esegue l'azzeramento con il bianco, dall'oculare si deve osservare la massima luminosità: la radiazione che è stata polarizzata dal primo Nicol incide sulla sostanza contenuta nel tubo polarimetrico e attraversa il secondo Nicol per poi raggiungere l'analizzatore. Lungo il percorso la luce rimane inalterata, perciò si osserva la massima luce (ciò accade se analizzatore e polarizzatore sono *paralleli* tra loro).

Se invece i prismi sono orientati *perpendicolarmente*, la luce che giunge dal campione arriva all'analizzatore e per via di questa diversa orientazione non può attraversarlo: si osserva il buio.

Quando si va ad osservare il campione la situazione è ancora diversa: l'oculare è diviso in due semicerchi, uno illuminato e l'altro buio. Ruotando l'oculare bisogna ripristinare la situazione di partenza:

- totale luce, se i Nicol sono paralleli;
- totale buio, se i Nicol sono perpendicolari.

L'angolo di rotazione ottenuto è l'angolo α



$$\alpha = K \cdot c \cdot l$$

K è il potere rotatorio;

c è la concentrazione del campione (g/100 mL);

l è la lunghezza del raggio di luce polarizzata nella soluzione (cammino ottico in dm, solitamente è 1 dm).

Quindi per ricavare il potere rotatorio (K) partendo dall'angolo osservato si ha:

$$K = [\alpha]_D^t = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot c}$$

Il potere rotatorio dipende dalla temperatura e dalla lunghezza d'onda della radiazione per cui viene indicato come $[\alpha]_D^{20}$, dove 20 indica la temperatura ambiente e D la riga gialla del sodio. È necessario specificare concentrazione e solvente perché influenzano il potere rotatorio: il cloramfenicolo solubilizzato in etanolo è destrogiro, mentre solubilizzato in acetato di etile risulta levogiro.

Tutte le farmacopee specificano l'intervallo entro cui deve cadere il potere rotatorio specifico dei composti di interesse farmaceutico otticamente attivi.

Esempio di calcolo del potere rotatorio specifico:

una soluzione contenente 400 mg di soluto in 10 mL è posta in una cella di 10 cm di lunghezza; la rotazione osservata in questo campione a 20°C usando la riga D del sodio è di +4,36°. Calcolare la rotazione specifica del soluto.

La concentrazione è di 400 mg/10 mL, cioè 0,4 g/10 mL → 4 g/100mL; per cui sostituendo

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{+4,36 \cdot 100}{4 \cdot 1} = +109^\circ$$

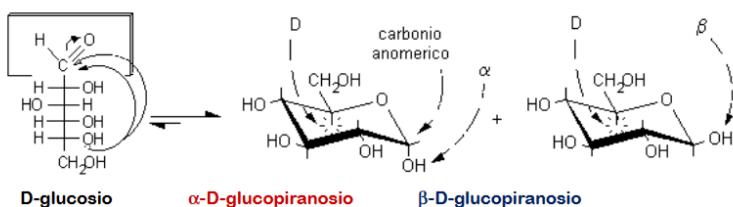
Applicazioni

Le applicazioni della polarimetria sono importantissime in campo farmaceutico per valutare a quale enantiometro corrisponde un certo composto incognito perché, come già visto, potrebbero avere diversa azione farmacologica sull'organismo.

Esempio: la chinina è un antimalarico, mentre la chinidina è un ?

Inoltre, la polarimetria viene molto utilizzata per il riconoscimento degli zuccheri: si tratta di composti poliosidrilati che presentano un gruppo carbonilico, responsabile della *mutorotazione*; in soluzione possono trovarsi sia in forma aperta che in forma chiusa (ciclica) e nella forma chiusa possono originare due diversi anomeri (che ruotano la luce polarizzata con angoli diversi).

Esempio: glucosio



α -D-glucopyranosio potere rotatorio $+112^\circ$

β -D-glucopyranosio potere rotatorio $+18.7^\circ$

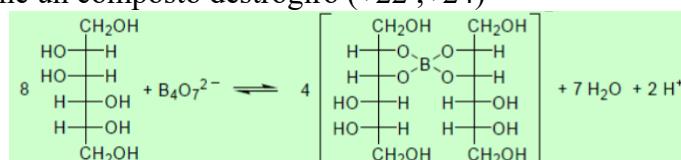
Dopo la mutarotazione* si osserva un valore di equilibrio $+52.6^\circ$, che non è la media dei due precedenti.

* È necessario lasciare la soluzione a riposo 30 minuti e aggiungere una piccola quantità di ammoniaca per velocizzare il processo di stabilizzazione dell'equilibrio. Dopo che si è instaurato si mantiene per 24h.

Anche nel bianco va aggiunta un'uguale quantità di ammoniaca.

Per quel che riguarda i disaccaridi, il *saccarosio* e il *lattosio* hanno comportamenti diversi: nel saccarosio i due carboni anomerici (del glucosio e del fruttosio) sono coinvolti nel legame 1→2 glicosidico e quindi non danno il fenomeno della mutorotazione (la soluzione può essere immediatamente analizzata); nel lattosio, il carbonio anomerico del galattosio è libero perciò si instaura la mutorotazione.

Il *mannitolo* rappresenta un caso particolare: è un polialcol, il quale può essere riconosciuto tramite le reazioni chimiche caratteristiche degli zuccheri, perché viene trattato prima con acqua ossigenata, permettendo l'ossidazione del gruppo alcolico ad aldeidico (riducente); in questo modo dà la reazione di Fehling. Può essere riconosciuto anche per via polarimetrica: ha un potere rotatorio specifico molto basso (circa di -0.2), ma solubilizzandolo in presenza di borace (*sodio tetraborato*) si forma un complesso che è in grado di ruotare il piano della luce polarizzata in maniera opposta; in questo modo si ottiene un composto destrorotante (+22 ;+24)



La Farmacopea ci dice che cos'è il potere rotatorio specifico, ci dice come determinarlo (metodo) e la formula.

Se la sostanza è un solido si usa la concentrazione, mentre se si tratta di un liquido si usa la densità.

Calculate the specific optical rotation using the following formulae.

For neat liquids:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \cdot \rho_{20}}$$

For substances in solution:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{1000\alpha}{l \cdot c}$$

where c is the concentration of the solution in grams per litre.
Calculate the content c in grams per litre or the content c' in per cent m/m of a dissolved substance using the following formulae:

$$c = \frac{1000\alpha}{l \cdot [\alpha]_D^{20}}$$

$$c' = \frac{100\alpha}{l \cdot [\alpha]_D^{20} \cdot \rho_{20}}$$

α = angle of rotation in degrees read at $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$;

l = length in decimetres of the polarimeter tube;

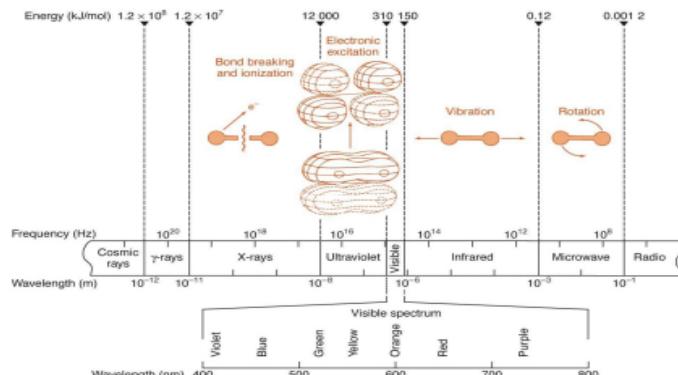
ρ_{20} = density at 20°C in grams per cubic centimetre.
For the purposes of the Pharmacopoeia, density is replaced by relative density (2.2.5).

Spettroscopie IR e UV-Visibile

Per il riconoscimento delle sostanze ad uso farmaceutico, eccipienti, o principi attivi, il primo step è sottoporli a reazioni chimiche che ci indirizzano verso un gruppo di sostanze rispetto ad altre, le considerazioni potranno essere supportate dalle costanti fisica e per completare l'analisi si fa riferimento alle tecniche spettrofotometriche come l'UV l'IR l'NMR e la massa; alcune monografie usano la TLC.

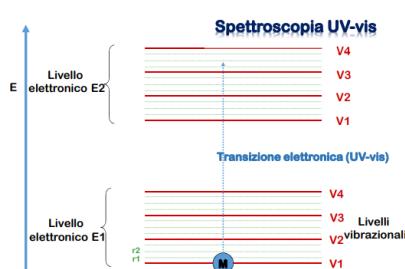
Spettroscopie:

UV-Visibile



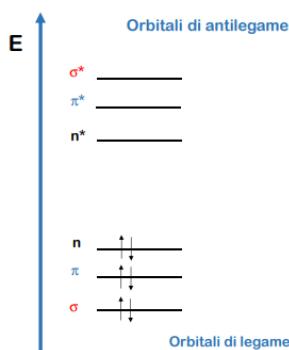
Queste si basano dallo studio dell'interazione dello spettro elettromagnetico e della materia, in base alla parte di spettro che si prende in considerazione cambiano le tecniche con risultati diversi. Lo spettro del visibile va da 250 a 780 nm e in particolare è interessante la zona del visibile, quella che permette di vedere ad occhio nudo e permette di ipotizzare l'eventuale presenza di certi gruppi a cui si attribuisce l'assorbimento con manifestazione del colore. Importante anche la zona dell'ultravioletto, in cui si analizzano sostanze "trasparenti".

Il campione viene portato in cuvette di quarzo nell'analisi del UV, perché vetro e plastica presentano assorbimento in quella zona dello spettro; nel visibile si usano quelle di plastica. Le cuvette consistono in parallelepipedi che hanno le facce uguali 2 a 2, due facce lisce e due zigrinate. La cuvetta deve essere presa dalla parte zigrinata poiché altrimenti si rischierebbe di inquinare la parte liscia con conseguente



invalidazione della lettura e si deve far attenzione a mantenere pulita la parte liscia; inoltre prima della lettura c'è bisogno di avvinare le cuvette perché anche una singola goccia d'acqua va a diluire la soluzione, ed inoltre se non si lavano si inquinano la soluzione. Importante è fare il bianco azzerando lo strumento sul solvente perché l'assorbimento dovuto alla nostra sostanza deve essere privo dell'assorbimento del soviente.

Nell'UV-visibile l'eccitazione provoca un salto energetico dallo stato fondamentale allo stato eccitato e coinvolge i livelli vibrazionali e rotazionali; nell'IR si irradia con una energia minore e quindi lunghezze d'onda maggiori e si avrà una transizione solo dello stato vibrazionale e rotazionale.



Gli elettroni durante l'irraggiamento passano dall'orbitale di legame a quello di anti-legame, che sono sigma, π ed n . La transizione sigma - sigma anti legame richiede energie elevate che non si trovano nel campo dell'UV-Visibile, invece π - π anti legame e n - π avvengono nel visibile perché si ha a che fare con elettroni π ed n . Le sostanze che hanno questi elettroni sono i cromofori, ma non è abbastanza la loro presenza per avere assorbimento, occorre la presenza di più cromofori e auxocromi, che aiutano i cromofori nell'assorbimento. Inoltre non è sufficiente un insaturatione per determinare una sostanza con spettroscopia UV – visibile: se è presente un solo gruppo cromoforo o due isolati non daranno segnali rilevabili nell'UV come nel Linestrenolo che ha entrambi i gruppi doppio e triplo legame, ma non

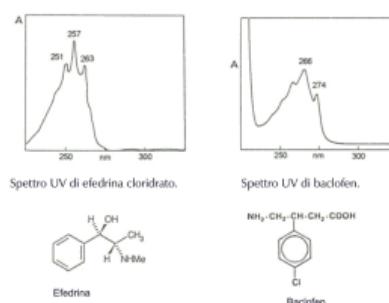
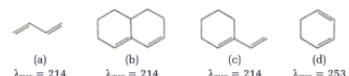
possiede segnali significativi da un punto di vista analitico; oppure l'Ergocacifero (vitamina D2) che ha un ampio sistema π coniugato, dove la coniugazione richiede meno energia e quindi lunghezze d'onda maggiori ad energia minore e quindi si avrà assorbimento nel campo dell'UV; un altro esempio è l'Amfotericina B, che ha tantissimi gruppi coniugati che spostano l'assorbimento a lunghezze d'onda maggiori e assorbimenti più evidenti.

Regole di Woodward e Fiesers

Le regole di Woodward e Fiesers sono regole empiriche per determinare la lunghezza d'onda di composti coniugati: con queste regole si sono trovati una serie di cromofori di base che sono sempre doppi legami coniugati che hanno una lunghezza d'onda caratteristica di assorbimento alla quale si aggiunge il contributo di alcuni sostituenti:

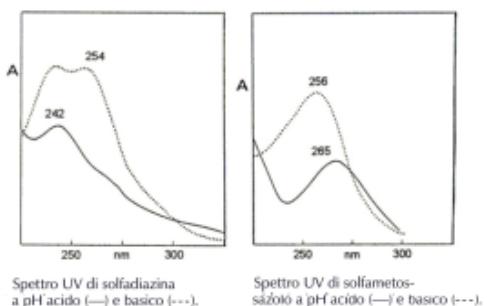
alchilici e alcossidici aumenta la lunghezza d'onda di + 5 nm, un doppio legame coniugato +30 nm, un gruppo amminico +60 nm ecc.

Il gruppo carbonile è un gruppo funzionale che assorbe: questo assorbimento è legato al sostituente presente nella molecola, ma bisogna tener conto anche dei solventi perché questi potrebbero protonare l'ossigeno e



quindi aumentare la lunghezza d'onda di assorbimento portando uno spostamento ipsocromico.

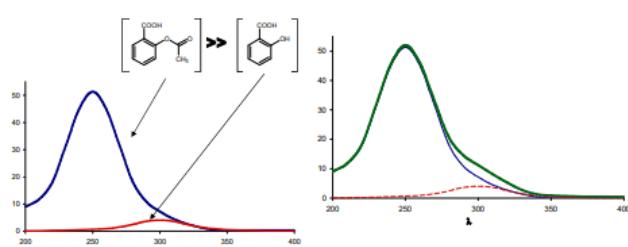
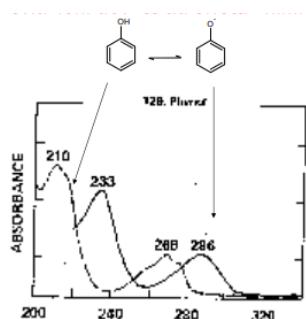
Questa differenza si nota confrontando lo spettro dell'Efedrina, che con un unico sostituente sull'anello aromatico ha una maggiore finezza quindi i picchi sono ben definiti rispetto al Baclofen che ha due sostituenti sull'anello aromatico e si perde quasi il terzo picco di lunghezza d'onda.



I sulfamidici sono composti che si solubilizzano in ambiente acido e basico e a seconda del pH del mezzo ci daranno dei massimi di assorbimento diversi, quindi quando si effettuano misurazioni dello spettro UV si devono seguire attentamente le indicazioni della farmacopea inerenti alla concentrazione e al solvente da usare.

Variazioni dell'assorbimento

La tecnica dell'UV mostra che nella molecola c'è un gruppo funzionale che assorbe nello spettro UV-Visibile ad una caratteristica lunghezza d'onda; nell'IR si ottengono molte informazioni in più, perché lo spettro UV è la somma di tutti gli assorbimenti vibrazionali, rotazionali ed elettronici. Lo spettro IR invece interessa solo assorbimento vibrazionale e rotazionale e si vanno ad identificare le caratteristiche dei legami presenti nella molecola; infatti nello spettro IR si distingue una zona dei gruppi funzionali in cui cadono i picchi corrispondenti a determinati gruppi funzionali e si ha una zona detta dell'impronta digitale che è caratteristica per ogni sostanza ed infatti sovrapponibile allo spettro della sostanza standard. La lunghezza d'onda di uno spettro UV non dipende dalla concentrazione, i picchi massimi cadono sempre alla stessa lunghezza d'onda ma si possono fare determinazioni quantitative perché l'assorbanza sarà diversa a seconda delle concentrazioni delle sostanze; si hanno deviazioni dovute ad effetti chimici, esempio del fenolo che dà determinati picchi di assorbimento, mentre il fenato (base coniugata) dà picchi diversi.



Tramite l'UV si possono determinare impurezze, come ad esempio determinare la presenza di acido salicilico nelle compresse di aspirina: l'acido acetilsalicilico degrada e quindi si può determinare l'impurezza che non deve superare i valori indicati dalla farmacopea, facendo inizialmente uno spettro dei due principi attivi in quantità equimolare e vedendo a quale lunghezza d'onda cade

l'assorbimento dei due diversi composti si è in grado di andare determinare la presenza di impurezza. Questo si fa affiancando l'UV ad uno strumento quale l'HPLC perché quando le concentrazioni sono troppo basse si va a rilevare semplicemente una gobba nello spettro UV che si riferisce all'impurezza, mentre utilizzando l'HPLC si hanno tempi diversi d'uscita delle sostanze dalla colonna cromatografica e quindi si distingue meglio lo spettro di entrambi i composti.

INFRAROSSO

L'infrarosso è la zona dello spettro in cui si hanno lunghezze d'onda che vanno da 0,78 mm a 100 μm. La zona più interessante per le analisi è la zona del medio IR che va dai 2,5 μm e 25 μm, in termini di numero d'onda fra i 4000 e 650 cm⁻¹. Nell'IR non si usa come unità di misura la lunghezza d'onda ma il suo reciproco, il numero d'onda che è più facilmente correlabile all'energia:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad \bar{\nu} = \frac{\nu}{c}$$

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$$

La radiazione nella zona dello spettro IR causa transizioni vibrazionali che provocano stiramento e deformazione dei legami covalenti presenti nelle nostre molecole; per stiramento si intende aumento e diminuzione della lunghezza del legame mentre la deformazione è un aumento o diminuzione dell'angolo di legame, che può essere nel piano o fuori dal piano. Affinché si possa rilevare il fenomeno di deformazione è necessario che il legame covalente crei un momento dipolare che non sia nullo, quindi non si rilevano nell'IR molecole biameriche come H₂, O₂, Cl₂ mentre si può andare a rilevare la CO₂ presente nell'aria perché la CO₂ è una molecola simmetrica ma dà luogo ad uno stiramento asimmetrico; infatti quando si va ad effettuare uno spettro IR si deve fare spesso lo spettro del background, lo spettro dell'aria quindi a strumento vuoto; si vedrà comparire una banda abbastanza intensa intorno a 3050 cm⁻¹: bisognerà togliere il campione ed effettuare la registrazione dello spettro in bianco e ripetere la misurazione perché questo assorbimento va a interferire con quello della sostanza in esame.

Modello dell'oscillatore armonico

L'IR si basa considerando la molecola formata da atomi legati fra di loro paragonandola a delle masse legate ad una molla e quindi possono essere considerate oscillatori armonici e la forza di questo legame è uguale alla costante di forza K per X che è lo spostamento dalla posizione di equilibrio.

$$F = -kx$$

Questa forza dipende dalla massa degli atomi in oscillazione e quindi la massa ridotta che è uguale al prodotto della massa di ciascun atomo fratto la somma degli stessi e la forza del legame chimico: maggiore è la forza maggiore è il valore di K e quindi il legame vibra a maggiore numero d'onda, aumentando invece la massa atomica aumenterà la massa ridotta che è al denominatore e diminuirà la frequenza di stiramento.

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \Rightarrow \bar{\nu} = \frac{1}{2c\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

$$\mu = \frac{m_A \cdot m_B}{m_A + m_B} \quad \text{massa ridotta}$$

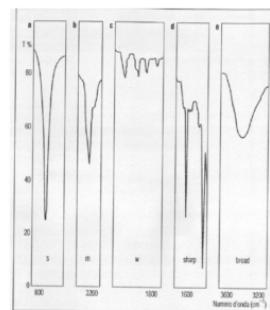
Nell'IR non si considerano i legami che costituiscono la molecola come isolati ma anche essi vengono influenzati dall'intorno. Esistono poi casi particolari come il caso dell'associazione molecolare dato dai legami ad H: molto spesso gli acidi carbossilici, ma anche altre sostanze che formano legame ad H, danno luogo a questo fenomeno. Questi legami vanno a modificare la costante di forza e vengono modificate le frequenze di

vibrazione di stretching e bending e quindi tendenzialmente si osserva un allargamento della banda. Oltre a questo ci sono altri parametri caratteristici, come l'intensità della banda e l'ampiezza, che dipendono dalla variazione del momento di dipolo della frequenza. Le bande possono dividersi in forti, medie e deboli. Il doppio legame C=O di solito ha la banda di intensità più forte in tutto l'IR perché la variazione del momento di dipolo è elevata, mentre il doppio legame C=C non dà luogo a bande forti, ed essendo entrambi doppi legami, cadono in zone dello spettro abbastanza vicine ma il carbonile cade nella zona con numero d'onda maggiore 1850-1630 cm⁻¹, il legame C-C da 1680 a 1630 è una banda debole. Si fa un discorso diverso per i legami C=C negli anelli aromatici perché danno presenza nello spettro con la così detta "manina" del doppio legame aromatico.

Le bande possono essere larghe o strette, un esempio sono le bande corrispondenti all' -OH e l'-NH: questi due gruppi cadono più o meno nella stessa zona dello spettro 3600-3200 cm⁻¹ e si distinguono perché la banda dell'-OH è larga mentre la banda dell'-NH è stretta. In particolare la banda corrispondente all'ammina primaria è stretta sdoppiata poiché l'ammina primaria da luogo allo stiramento simmetrico e asimmetrico.

Esempi di bande:

Si nota una banda forte (a) piuttosto intensa che corrisponde al legame C-Cl; si nota una banda media (b) che è la banda dell'NH intorno a 3200 cm⁻¹; ci sono poi bande deboli caratteristiche degli anelli aromatici (c), le distinguiamo quando si fa uno spettro con una concentrazione abbastanza importante della sostanza perché altrimenti in questa zona non vediamo la presenza degli anelli aromatici; bande strette sono del doppio legame aromatico (d) e l'ultima è la banda larga (e) del legame O-H: si nota che -OH e -NH cadono quasi nella stessa zona dello spettro con intensità simile, ma uno ha banda larga ed uno banda stretta.



(a) Banda forte: $\nu(\text{C}-\text{Cl})$; (b) banda media: $\nu(\text{N}-\text{H})$
 (c) bande deboli: overtone aromatici;
 (d) banda stretta: $\nu(\text{C}=\text{C})$ aromatici; (e) banda larga: $\nu(\text{O}-\text{H})$

| | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Anidridi -CO-O-CO- | |
| Sature | 1850-1800; 1790-1740 cm ⁻¹ |
| Aromatiche e α,β insature | 1830-1780; 1770-1710 cm ⁻¹ |
| Cloruri acidi -CO-Cl | |
| Saturi | 1815-1790 cm ⁻¹ |
| Aromatici e α,β insaturi | 1790-1750 cm ⁻¹ |
| Esteri -CO-OR | |
| Saturi | 1750-1735 cm ⁻¹ |
| Aromatici e α,β insaturi | 1730-1715 cm ⁻¹ |
| Vinilici e arilici (C=C-O-CO-R) | 1800-1750 cm ⁻¹ |
| Aldeidi -CHO | |
| Sature | 1740-1720 cm ⁻¹ |
| Ariliche | 1715-1695 cm ⁻¹ |
| α,β insature | 1705-1680 cm ⁻¹ |
| Chetoni -CO- | |
| Saturi | 1725-1705 cm ⁻¹ |
| Arilici | 1700-1680 cm ⁻¹ |
| α,β insaturi | 1685-1665 cm ⁻¹ |
| Acidi carbossilici -CO ₂ H | |
| Saturi | 1725-1700 cm ⁻¹ |
| Arilici e α,β insaturi | 1710-1680 cm ⁻¹ |
| α -alogenati | 1740-1720 cm ⁻¹ |
| Ammidi -CON | |
| Primarie | 1680-1650 cm ⁻¹ |
| Secondarie | 1690-1630 cm ⁻¹ |
| Terziarie | 1670-1630 cm ⁻¹ |

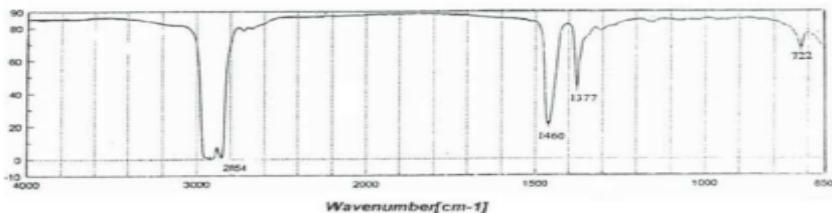
L'IR è utilizzato per analisi qualitativa perché c'è una zona dello spettro che permette di identificare la presenza dei gruppi funzionali, infatti dai 4000 ai 1500 cm⁻¹ si avrà la zona dei gruppi funzionali; nella realtà il numero d'onda in cui cade il picco dipende da cosa si trova legato vicino al gruppo funzionale, quindi sono discostati leggermente. A valori minori di 1500 cm⁻¹ si ha la zona dell'impronta digitale in cui ci sono le vibrazioni di bending o deformazione. Ulteriormente si può osservare che lo stesso gruppo funzionale si trova a diversi numeri d'onda, perché il gruppo funzionale stesso può avere legato a sé diversi raggruppamenti: l'esempio classico è quello del carbonile. Il carbonile di un chetone solitamente cade a 1700 cm⁻¹, mentre il carbonile di derivati di acidi carbossilici cade a numeri d'onda diversi proprio in dipendenza del composto a cui appartengono perché in alcuni casi i carbonili mantengono il carattere di doppio legame, mentre se vicini hanno doppi legami lo stiramento si sposta a frequenze inferiori perché si ha luogo al fenomeno della risonanza e quindi il doppio legame carbonilico acquista un minore carattere di doppio legame.

La struttura della molecola viene descritta da diverse strutture di risonanza questo è l'effetto di isomero. c'è una tabella in cui ci sono i diversi stiramenti dei derivati di acidi carbossilici, dalle anidridi alle ammidi si va da 1850 a 1670, si vede come un intorno va a modificare lo spettro, infatti esistono diverse tabelle che aiutano nell'identificazione degli spettri, si nota il legame idrogeno come dia una banda maggiore rispetto a

quello che accade ad un legame -OH isolato, a seconda della forza del legame aumenta la frequenza vibrazionale.

Esempi di spettri:

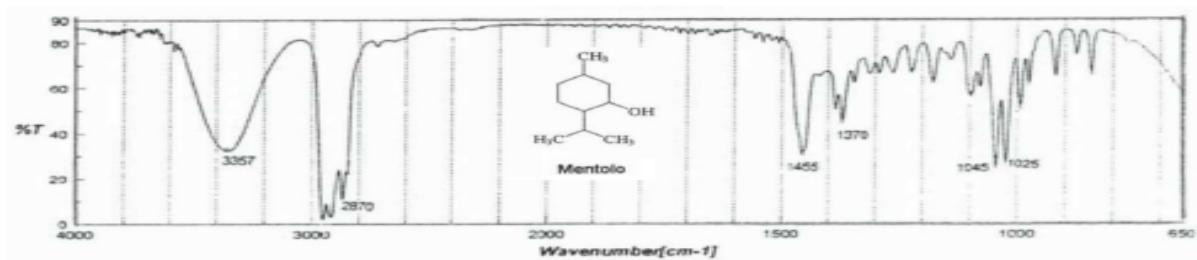
Spettro del Nujol:



| | |
|------------------------------|---|
| 2960 - 2854 cm^{-1} | Serie di bande dovute agli stiramenti asimmetrici e simmetrici dei gruppi CH_3 e CH_2 |
| 1460 cm^{-1} | Vibrazione di deformazione scissoring del gruppo CH_2 e di deformazione asimmetrica di CH_3 |
| 1377 cm^{-1} | Deformazione simmetrica del gruppo CH_3 |
| 722 cm^{-1} | Deformazione rocking del gruppo CH_2 |

Il Nujol è una miscela di paraffine che si utilizzano per effettuare lo spettro trasformando la polvere del composto in analisi in una sospensione, non si può fare il bianco dello spettro e non si può togliere quindi lo spettro del Nujol dai nostri spettri finali che identificano la sostanza, nel Nujol si osserva una banda ampia fra 3000 e 2800 cm^{-1} , che coprirà tutti gli stiramenti dei legami C-H della sostanza da analizzare, questa è dovuta a stiramenti asimmetrici e simmetrici, poi la banda a 1460 cm^{-1} che sono vibrazioni di deformazione quindi bending del gruppo CH_2 e deformazioni asimmetriche del CH_3 , a 1375 bending CH_3 e infine una piccola banda a 722, tutte queste bande vanno eliminate dallo spettro del composto da analizzare.

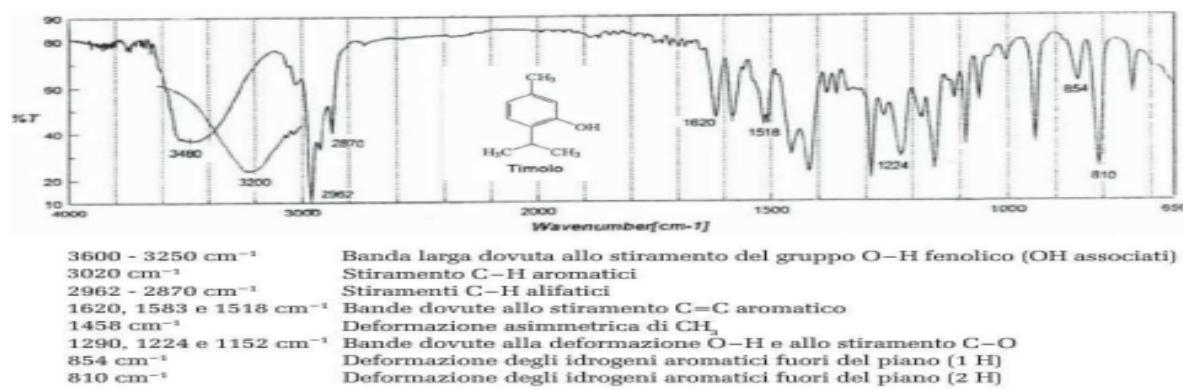
Spettro del mentolo:



| | |
|------------------------------|---|
| 3345 cm^{-1} | Banda larga attribuibile allo stiramento del legame O – H associato (legame idrogeno intermolecolare) |
| 1045 e 1025 cm^{-1} | Stiramento C – O del gruppo alcoolico secondari |

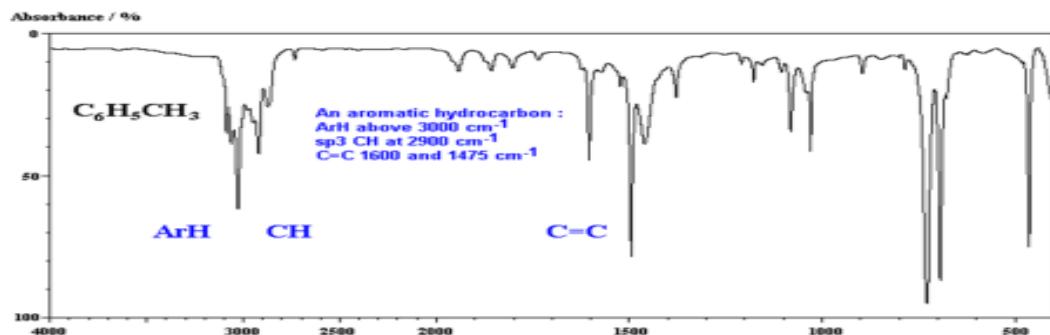
Effettuato nel Nujol, si evidenziano le bande grandi dell'OH poiché il mentolo può fare legami ad idrogeno intermolecolari e a 1045-1025 cm^{-1} si ha lo stiramento C-O questa è la zona caratteristica dello stiramento del legame C-O, non si vede altro perché i legami C-C sono coperti dallo spettro del Nujol, è evidente che su un eventuale tabella per identificare il composto saranno evidenziate queste due bande, perché si tabulano le bande a maggiore intensità, non tutte quindi.

Spettro timolo:



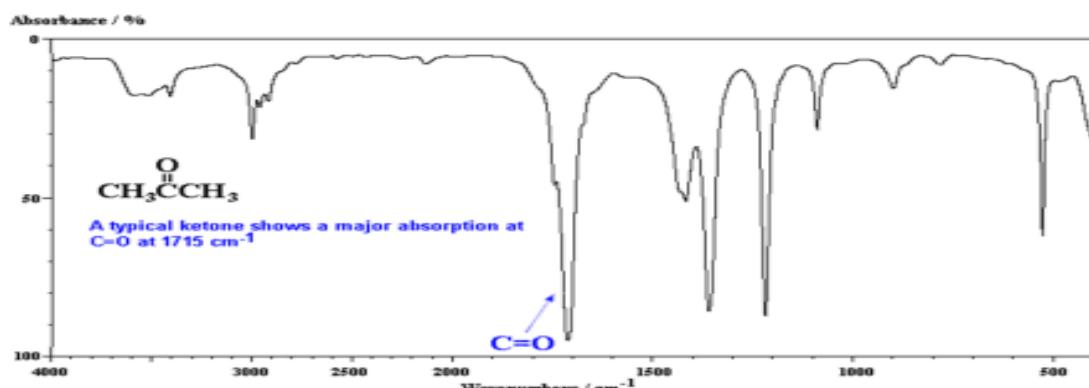
Spettro molto più complicato, si nota una grande banda dell'OH che è lo stiramento dell'-OH fenolico, si hanno i picchi degli aromatici, lo stiramento del C-O e il bending degli aromatici fuori dal piano.

Spettro toluene:



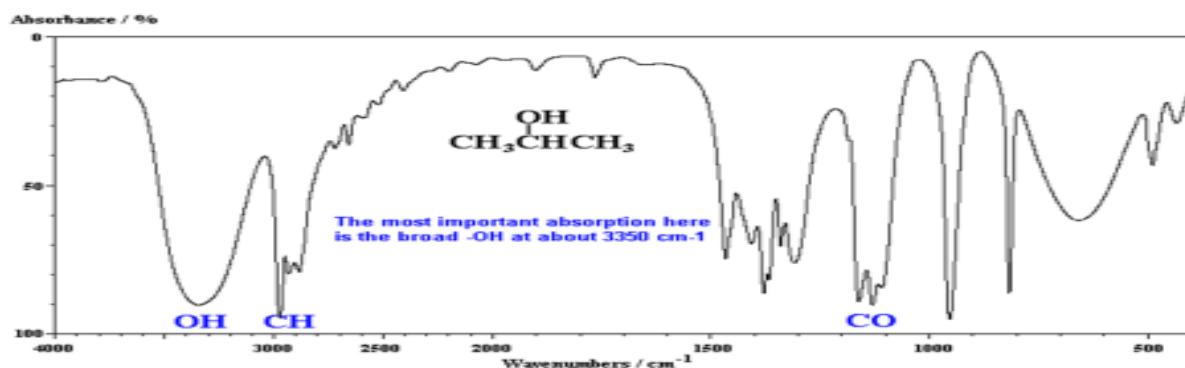
Si evidenziano le bande armoniche dell'anello aromatico, bande del legame CH e doppio legame C=C.

Spettro dell'acetone:



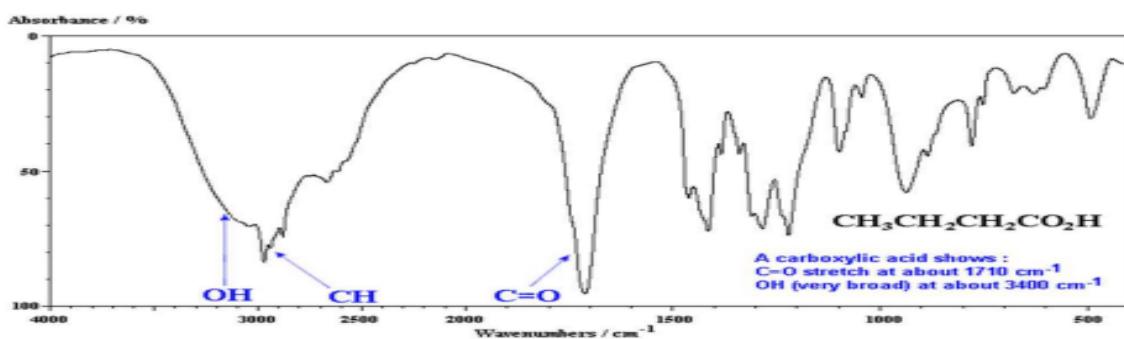
Si nota una banda molto intensa dovuta al gruppo carbonile.

Spettro del 2-propanolo:



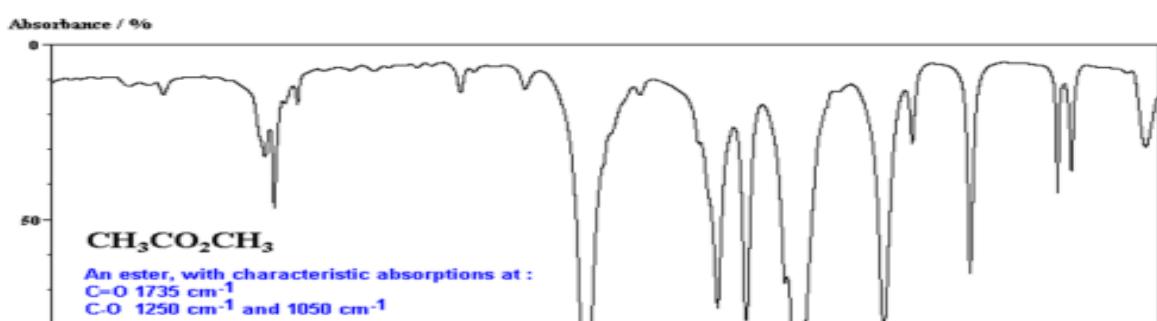
Presenta una grande banda dell'OH, il CH, e anche un'intensa banda per il C=O.

Spettro dell'acido butanoico:



Presenta sia la banda del C=O sia la caratteristica degli acidi carbossilici quando fanno i dimeri che porta l'allargamento della banda dovuto ai legami ad idrogeno e quindi la banda del legame O-H va oltre la banda del Nujol.

Spettro del metile acetato:



Si nota l'intensità della banda del doppio legame CO e nuovamente sono intensi i legami CO presenti nella molecola.

Strumentazione

Una caratteristica fondamentale degli spettrometri IR è che devono essere privi di CO₂ e H₂O perché queste due molecole assorbono la radiazione IR e andrebbero quindi ad interferire con il segnale. Un particolare strumento per l'IR è lo spettrofotometro ATR (riflessione totale attenuata): è uno strumento delicato che permette di andare a misurare lo spettro IR utilizzando la polvere, analizzando direttamente campioni solidi, senza la necessità effettuare una preparazione del campione. È un metodo non distruttivo in quanto, diversamente da quando si utilizza il Nujol, la sostanza può essere recuperata in seguito all'analisi.

Preparazione del campione

Il campione può essere sia liquido che solido: se è liquido si mette direttamente una goccia di campione tra due dischi di NaCl e si crea un sottile film, oppure se ne fa una soluzione; nel caso invece del campione solido, oltre a poter utilizzare lo spettrofotometro ATR, si può effettuare o una dispersione nel Nujol, oppure la dispersione in KBr. I dischi di NaCl sono solubili in acqua, quindi è opportuno lavarli con acetone e non con acqua. Inoltre i dischi di cloruro di sodio sono fragili, quindi è importante maneggiarli con cura. I dischi vanno inseriti nel portacampione e, solo quando sono in posizione esattamente orizzontale, vanno strette le viti, poiché in caso differente potrebbero frantumarsi. Il portacampione si inserisce poi nello spettrofotometro dove viene effettuata la misura.

Un'altra tecnica per l'IR è quella che utilizza il KBr, in particolare quando si ha a disposizione poco campione, ad esempio in caso di sintesi: si prendono 1-2mg di campione, una quantità 10 volte maggiore di KBr, e si tritura in modo fine in un mortaio di agata (un minerale molto duro adatto a triturare la pastiglia di KBr). Un po' di questa miscela si trasferisce in un pastigliatore. Il KBr è trasparente all'IR, perciò, lo spettro presenterà solo le bande del campione.



Quando si effettua una spettrofotometria occorre far attenzione alle concentrazioni che si utilizzano per poter distinguere bene i picchi.

Anche l'assorbimento infrarosso è descritto ampiamente in farmacopea.

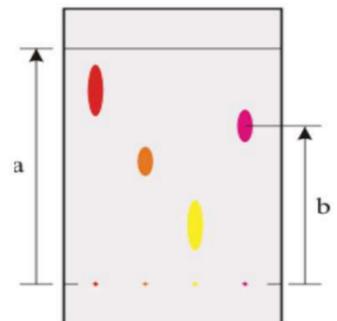
Cromatografia

La cromatografia è una tecnica che si usa per separare miscele di composti, per riconoscere l'identità di sostanze rispetto a degli standard o per seguire l'andamento di una reazione. Si utilizza in tantissimi campi perché tante sono le tipologie di cromatografia, fino ad arrivare alla HPLC (high performance liquid chromatography), molto utilizzata nei laboratori dove si fa il controllo qualità e all'ordine del giorno. Quella su strato sottile è più semplice e permette di separare delle miscele utilizzando una fase stazionaria e una fase

eluente che sono in competizione fra di loro per affinità rispetto alle sostanze in analisi. A seconda dell'affinità dell'eluente si separa nelle componenti.

Cromatografia su strato sottile (TLC)

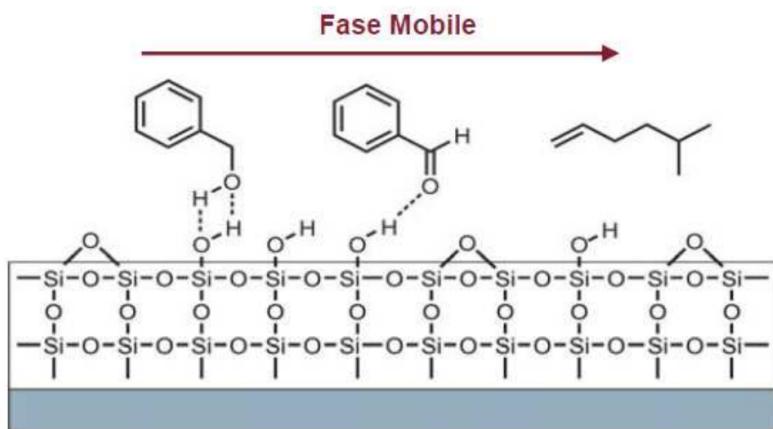
La TLC prevede una fase eluente che per capillarità si muove nella lastrina ed è evidente che avendo una lastrina di dimensioni abbastanza ampie, questo permetterà la separazione dei nostri componenti.



Le fasi stazionarie sono di vario tipo, depositate su un supporto che può essere di vetro, plastica o alluminio in base all'utilizzo che ne si fa: ad esempio l'alluminio non può essere utilizzato per molti tipi di eluente, il vetro è ideale perché permetterebbe di vedere la separazione fra tutti e due i lati, sia dove si è seminato, sia dall'altra parte, e il materiale plastico risulta essere molto versatile perché sia le lastre in questione che quelle di alluminio possono essere tagliate delle dimensioni desiderate. Solitamente la fase stazionaria è un **gel di silice**, un materiale che si ottiene trattando il silicato di sodio in ambiente acido con acido solforico, il quale è formato da gruppi silossanici e silanolici: questi gruppi danno legami idrogeno, per questo le sostanze più idrofile sono più trattenute dalla fase stazionaria. (La fase stazionaria è polare mentre quella mobile è apolare). Ci sarà competizione fra fase stazionaria e fase mobile per il legame con l'analita, e quindi si otterrà la separazione.

La fase mobile deve essere scelta in maniera opportuna; si può scegliere una sola fase mobile o anche una miscela di solventi: Per la miscela di solventi, qualora fosse a gradiente, deve essere inizialmente a bassa e poi ad alta polarità, perché una volta utilizzata la miscela a polarità elevata non si può più tornare indietro. Il rischio è che ci sia il trascinamento dell'eluente delle sostanze. La fase mobile prevede che il solvente venga stabilito in base alla scala eluotropica dei solventi, misurata facendo reagire il calore che si sviluppa fra la silice e la fase mobile: maggiore è il calore sviluppato e maggiore sarà la polarità del solvente.

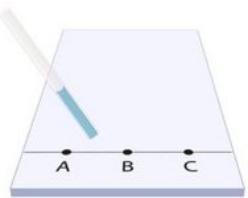
Ad esempio se si considerano l'alcol benzilico, la benzaldeide e metilpentadiene: l'alcol benzilico sarà quello



più trattenuto, con una macchia più bassa e vicina al punto di semina, poi benzaldeide e poi quasi al fronte del solvente ci sarà il composto alifatico. Fase mobile e fase stazionaria quindi devono essere scelte opportunamente per separare la miscela. In alcuni casi la farmacopea descrive una doppia corsa come gli zuccheri. Viene prescritto l'utilizzo di una lastra di 15 cm e l'utilizzo di acqua. quando l'acqua è presente in fase mobile, la salita è lenta e i tempi sono molto

lunghi.

La semina viene fatta attraverso un capillare di vetro aperto da entrambe le parti: il campione viene depositato alla base della lastrina, lungo una linea in cui verrà poi messo anche uno standard. Se la soluzione è poco concentrata, occorre depositare il campione più volte lasciando asciugare la macchia per evitare che si espanda eccessivamente. La macchia si asciuga velocemente perché la solubilizzazione avviene in solventi organici. Se si solubilizzasse in acqua la sostanza non camminerebbe per i legami che si andrebbero a formare con la silice. Il livello della fase mobile deve essere inferiore alla linea di deposizione delle sostanze da analizzare, infatti, se il campione fosse a livello della fase mobile, le sostanze si solubilizzerebbero e salirebbero tutte insieme.



I risultati si possono visualizzare in diversi modi, sia mediante l'utilizzo della lampada UV per due motivi: nel primo caso se si hanno sostanze fluorescenti; qualora le sostanze non lo fossero, la silice conterrà un indicatore di fluorescenza che a 250 nm, lunghezza d'onda che ha la lampada, da fluorescenza verde e macchie scure delle sostanze che non assorbono.

Un altro metodo è quello di rivelare le sostanze attraverso reagenti chimici:

- **Vapori di iodio:** utili per sostanze che contengono doppi legami;
- **Soluzioni di acido solforico in etanolo:** sulla lastrina viene spruzzata una soluzione di acido solforico in etanolo che poi viene messa in stufa. In questo modo le sostanze organiche vengono disidratate e carbonizzate, in modo che vengano visualizzate sulla cartina delle macchie scure.
- **Potassio permanganato ($KMnO_4$):** in una camera di vetro, reattivo ossidante che porta alla formazione nel sito di reazione di macchie scure per la formazione di MnO_2 .

Reattivi specifici

- **Ninidrina:** per amminoacidi e zuccheri;
- **Dragendorff:** per alcaloidi;
- **Reattivo cloro-platinico:** per alcaloidi. Per esempio l'alcaloide della corteccia di china, chinina e chinidina sono evidenziabili mediante questo reattivo.
- **Fast blue:** complesso di Zn + o-anisidina, per cannabinoidi;
- **Anisaldeide in acido solforico:** per steroidi, terpeni, fenoli, saponine;
- **Argento acetato:** per caffea.

Per identificare le sostanze bisogna determinare l' R_f che misura la distanza compiuta dalla macchia tra il punto di semina e il centro della macchia e confrontarlo con l' R_f dello standard. In questo modo sarà possibile identificare la sostanza in esame.