

ANALISI DEI MEDICINALI

Anno accademico 2016/'17

Prof. Daniele ZAMPIERI

UN PO' DI INFORMAZIONI...

Inizio lezioni frontali 1 marzo 2017
Inizio laboratorio: 20 marzo 2017
2 turni (inizio 20/3 e 3/4)

Prof. Daniele Zampieri

Uff.: c/o Ed. A stanza 147

Tel. 040-5587858

Email: dzampieri@units.it

Orario ricevimento: lun-giov. 10-12

Requisiti: Conoscenza dei fondamenti della chimica generale inorganica ed organica. Conoscenza delle principali classi di farmaci.

Finalità: Il corso di Analisi dei Medicinali ha lo scopo di fornire allo studente in Farmacia le basi per il riconoscimento delle sostanze iscritte alla F.U. XII ed. e E.P. VIII ed. Il corso è indispensabile per il superamento dell'esame di Stato per l'abilitazione professionale alla libera professione di farmacista.

Organizzazione e valutazione finale:

- ✓ 32 ore di lezioni frontali e 48 ore di esercitazioni in laboratorio.
- ✓ La valutazione dello studente si basa sullo svolgimento di alcune prove incognite assegnategli durante le settimane di laboratorio che determineranno un giudizio parziale che si completerà tramite un colloquio **orale** di circa 20 minuti concernente le conoscenze dello studente sulla trattazione teorica svolta.

PROGRAMMA DEL CORSO



- Introduzione ai metodi di analisi dei farmaci contemplati dalla Farmacopea Ufficiale Italiana XII Ed. (F.U.) e dalla Farmacopea Europea IX Ed. (E.P.).
- Caratterizzazione dello stato solido e dello stato liquido: punto di fusione e solubilità.
- Caratteristiche dell'analita: sostanze inorganiche, organometalliche e organiche; determinazione della presenza di azoto, zolfo e alogeni.
- Illustrazione delle principali reazioni di riconoscimento di sostanze inorganiche e di gruppi funzionali: doppi legami, sistemi aromatici, alcoli, fenoli, acidi carbossilici e derivati funzionali, ammine.
- Riconoscimento chimico di classi di composti di interesse farmaceutico: zuccheri, steroidi, xantine, fenotiazine, alcaloidi, aminoacidi, sulfamidici, penicilline, vari.
- Rifrattometria, polarimetria, spettroscopia di assorbimento atomico e infrarosso, UV-Visibile.
- Metodi di purificazione e separazione: cristallizzazione, sublimazione, distillazione, estrazione con solventi, metodi cromatografici.
- Esperienze pratiche individuali di alcune delle tecniche strumentali descritte.

LIBRI DI TESTO

Farmacopea Ufficiale (F.U.) XII Ed.



Principi di analisi farmaceutica
(Cavrini-Andrisano) Ed. Esculapio

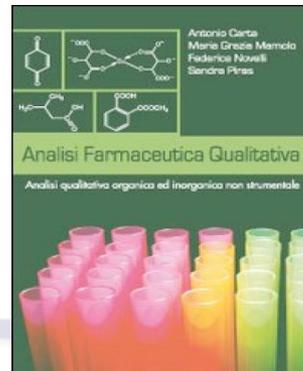


SLIDE DEL CORSO:
-MOODLE 2
Pw: **DZ_2017**

Farmacopea Europea (E.P.) IX Ed.



Analisi farmaceutica qualitativa
(Carta-Mamolo-Zampieri et al.) Ed. Edises



1. INTRODUZIONE

FARMACOPEA ITALIANA (XII) e FARMACOPEA EUROPEA (E.P. IX)

- La X edizione italiana (1998) è l'ultima che riporta le monografie delle sostanze; dalla XI ed. (2002) sono contenute nella E.P. (dalla IV ed. del 2002).
- La **farmacopea** è un codice farmaceutico, cioè un complesso di disposizioni tecnico/scientifiche ed amministrative, rivolte a permettere il controllo della qualità dei medicinali, delle sostanze e/o dei preparati finali, mediante l'indicazione di metodi di verifica analitica e tecnologica delle specifiche di qualità, dei metodi di preparazione o della formulazione. Contiene inoltre le disposizioni opportune e necessarie a regolare l'esercizio della farmacia.
- È un elenco ufficiale in cui sono registrati i nomi di tutti i preparati medicinali in uso, con la descrizione delle loro formule, dei requisiti analitici, dei metodi di preparazione.

FARMACOPEA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA (F.U XII)

- La **Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana** risulta costituita dai testi della Farmacopea Italiana XII edizione nonché dai testi della IX edizione della Farmacopea Europea e successivi supplementi, recepiti direttamente in lingua inglese e francese.
- La XII edizione della FU rimane lo strumento di supporto per il SSN sia in relazione al processo di autorizzazione all'immissione in commercio dei generici che per quanto riguarda l'attività preparatoria delle farmacia ospedaliere e private.
- L'obiettivo della Farmacopea Europea è la promozione della salute pubblica mediante la messa a punto di norme comuni riconosciute e che devono essere utilizzate dal personale sanitario e da chi coinvolto con la qualità dei Medicinali. Tali norme o specifiche debbono essere appropriate a costituire la garanzia in materia di sicurezza d'uso dei medicinali per i pazienti e consumatori.

FARMACOPEA EUROPEA (E.P. IX dal 1.1.2017)

- La **Farmacopea Europea** contiene le monografie delle sostanze per uso farmaceutico e le loro caratteristiche, nonché i requisiti di qualità cui esse devono soddisfare.
- Contiene inoltre delle monografie generali sulle modalità di preparazione e sulle metodologie analitiche da utilizzare per i preparati farmaceutici.
- Le monografie della Farmacopea Europea fanno parte integrante delle Farmacopea Ufficiale Italiana XII Edizione e come tali hanno valore di legge.
- Nel laboratorio di analisi dei medicinali è il testo di riferimento per l'operatore per l'esecuzione del metodo analitico nel riconoscimento del medicamento.

- Nella Farmacopea Europea (E.P. IX ed.) sono presenti diversi tipi di sostanze che possiamo sommariamente classificare in:
 1. **Organiche;**
 2. **Inorganiche;**
 3. **Metallo-organiche;**
 4. **Sali inorganici di basi organiche.**

Contenuti della Farmacopea
Europea 7° ed.

CONTENTS

VOLUME 1

I. PREFACE	i
II. INTRODUCTION	iii
III. EUROPEAN PHARMACOPOEIA COMMISSION	vii
IV. CONTENTS OF THE SEVENTH EDITION	xvii
GENERAL CHAPTERS	
1. General Notices	1
2. Methods of Analysis	11
2.1. Apparatus	13
2.2. Physical and physicochemical methods	19
2.3. Identification	105
2.4. Limit tests	111
2.5. Assays	135
2.6. Biological tests	151
2.7. Biological assays	199
2.8. Methods in pharmacognosy	237
2.9. Pharmaceutical technical procedures	251
3. Materials for Containers and Containers	325
3.1. Materials used for the manufacture of containers	327
3.2. Containers	361
4. Reagents	377
5. General Texts	499
GENERAL MONOGRAPHS	669
MONOGRAPHS ON DOSAGE FORMS	705
MONOGRAPHS ON VACCINES FOR HUMAN USE	743
MONOGRAPHS ON VACCINES FOR VETERINARY USE	845
MONOGRAPHS ON IMMOSERA FOR HUMAN USE	947
MONOGRAPHS ON IMMOSERA FOR VETERINARY USE	955
MONOGRAPHS ON RADIOPHARMACEUTICAL PREPARATIONS AND STARTING MATERIALS FOR RADIOPHARMACEUTICAL PREPARATIONS	963
MONOGRAPHS ON SUTURES FOR HUMAN USE	1025
MONOGRAPHS ON SUTURES FOR VETERINARY USE	1035
MONOGRAPHS ON HERBAL DRUGS AND HERBAL DRUG PREPARATIONS	1041
MONOGRAPHS ON HOMOEOPATHIC PREPARATIONS	1273

VOLUME 2

MONOGRAPHS	1299
INDEX	3265

Note : on the first page of each chapter/section there is a list of contents.

Esempio di identificazioni di alcune specie ioniche e gruppi funzionali secondo E.P. (volume 1)

2.3. IDENTIFICATION

01/2008:20301

2.3.1. IDENTIFICATION REACTIONS OF IONS AND FUNCTIONAL GROUPS

ACETATES

- a) Heat the substance to be examined with an equal quantity of *oxalic acid R*. Acid vapours with the characteristic odour of acetic acid are liberated, showing an acid reaction (2.2.4).
- b) Dissolve about 30 mg of the substance to be examined in 3 mL of *water R* or use 3 mL of the prescribed solution. Add successively 0.25 mL of *lanthanum nitrate solution R*, 0.1 mL of 0.05 M *iodine* and 0.05 mL of *dilute ammonia R2*. Heat carefully to boiling. Within a few minutes a blue precipitate is formed or a dark blue colour develops.

ACETYL

In a test-tube about 180 mm long and 18 mm in external diameter, place about 15 mg of the substance to be examined, or the prescribed quantity, and 0.15 mL of *phosphoric acid R*. Close the tube with a stopper through which passes a small test-tube about 100 mm long and 10 mm in external diameter containing *water R* to act as a condenser. On the outside of the smaller tube, hang a drop of *lanthanum nitrate solution R*. Except for substances hydrolysable only with difficulty, place the apparatus in a water-bath for 5 min, then take out the smaller tube. Remove the drop and mix it with 0.05 mL of 0.01 M *iodine* on a tile. Add at the edge 0.05 mL of *dilute ammonia R2*. After 1 min to 2 min, a blue colour develops at the junction of the two drops; the colour intensifies and persists for a short time.

For substances hydrolysable only with difficulty heat the mixture slowly to boiling over an open flame and then proceed as prescribed above.

ALKALOIDS

Dissolve a few milligrams of the substance to be examined, or the prescribed quantity, in 5 mL of *water R*, add *dilute hydrochloric acid R* until an acid reaction occurs (2.2.4), then 1 mL of *potassium iodobismuthate solution R*. An orange or orange-red precipitate is formed immediately.

ALUMINIUM

Dissolve about 15 mg of the substance to be examined in 2 mL of *water R* or use 2 mL of the prescribed solution. Add about 0.5 mL of *dilute hydrochloric acid R* and about 0.5 mL of *thioacetamide reagent R*. No precipitate is formed. Add dropwise *dilute sodium hydroxide solution R*. A gelatinous white precipitate is formed which dissolves on further addition of *dilute sodium hydroxide solution R*. Gradually add *ammonium chloride solution R*. The gelatinous white precipitate is re-formed.

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.

AMMONIUM SALTS

To the prescribed solution add 0.2 g of *magnesium oxide R*. Pass a current of air through the mixture and direct the gas that escapes just beneath the surface of a mixture of 1 mL of 0.1 M *hydrochloric acid* and 0.05 mL of *methyl red solution R*. The colour of the indicator changes to yellow. On addition of 1 mL of a freshly prepared 100 g/L solution of *sodium cobaltinitrite R* a yellow precipitate is formed.

AMMONIUM SALTS AND SALTS OF VOLATILE BASES

Dissolve about 20 mg of the substance to be examined in 2 mL of *water R* or use 2 mL of the prescribed solution. Add 2 mL of *dilute sodium hydroxide solution R*. On heating, the solution gives off vapour that can be identified by its odour and by its alkaline reaction (2.2.4).

ANTIMONY

Dissolve with gentle heating about 10 mg of the substance to be examined in a solution of 0.5 g of *sodium potassium tartrate R* in 10 mL of *water R* and allow to cool: to 2 mL of this solution, or to 2 mL of the prescribed solution, add *sodium sulfide solution R* dropwise; an orange-red precipitate is formed which dissolves on addition of *dilute sodium hydroxide solution R*.

ARSENIC

Heat 5 mL of the prescribed solution on a water-bath with an equal volume of *hypophosphorous reagent R*. A brown precipitate is formed.

BARBITURATES, NON-NITROGEN SUBSTITUTED

Dissolve about 5 mg of the substance to be examined in 3 mL of *methanol R*, add 0.1 mL of a solution containing 100 g/L of *cobalt nitrate R* and 100 g/L of *calcium chloride R*. Mix and add, with shaking, 0.1 mL of *dilute sodium hydroxide solution R*. A violet-blue colour and precipitate are formed.

BENZOATES

- a) To 1 mL of the prescribed solution add 0.5 mL of *ferric chloride solution R1*. A dull-yellow precipitate, soluble in *ether R*, is formed.
- b) Place 0.2 g of the substance to be examined, treated if necessary as prescribed, in a test-tube. Moisten with 0.2 mL to 0.3 mL of *sulfuric acid R*. Gently warm the bottom of the tube. A white sublimate is deposited on the inner wall of the tube.
- c) 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 crystallisation from warm *water R* and drying *in vacuo*, has a melting point (2.2.14) of 120 °C to 124 °C.

BISMUTH

- a) To 0.5 g of the substance to be examined add 10 mL of *dilute hydrochloric acid R* or use 10 mL of the prescribed solution. Heat to boiling for 1 min. Cool and filter if necessary. To 1 mL of the solution obtained add 20 mL of *water R*. A white or slightly yellow precipitate is formed which on addition of 0.05 mL to 0.1 mL of *sodium sulfide solution R* turns brown.
- b) To about 45 mg of the substance to be examined add 10 mL of *dilute nitric acid R* or use 10 mL of the prescribed solution. Boil for 1 min. Allow to cool and filter if necessary. To 5 mL of the solution obtained add 2 mL of a 100 g/L solution of *thiourea R*. A yellowish-orange colour or an orange precipitate is formed. Add 4 mL of a 25 g/L solution of *sodium fluoride R*. The solution is not decolourised within 30 min.

BROMIDES

- a) Dissolve in 2 mL of *water R* a quantity of the substance to be examined equivalent to about 3 mg of bromide (Br⁻) 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, pale yellow 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 obtained in 2 mL of *water R* and add 1.5 mL of *ammonia R*. The precipitate dissolves with difficulty.
- b) Introduce into a small test-tube a quantity of the substance to be examined equivalent to about 5 mg of bromide (Br⁻) or the prescribed quantity. Add 0.25 mL of *water R*, about 75 mg of *lead dioxide R*, 0.25 mL of *acetic acid R* and shake gently. Dry

Esempio di preparazione di un reagente secondo E.P. (volume 1)

Ferric chloride. $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. (M_r 270.3). 1037800. [10025-77-1]. Iron trichloride hexahydrate.

Yellowish-orange or brownish crystalline masses, deliquescent, very soluble in water, soluble in alcohol. On exposure to light, ferric chloride and its solutions are partly reduced.

Storage: in an airtight container.

Ferric chloride solution R1. 1037801.

A 105 g/l solution.

Ferric chloride solution R2. 1037802.

A 13 g/l solution.

Factor Xa solution, bovine. 1037301.

Reconstitute as directed by the manufacturer and dilute with *tris(hydroxymethyl)aminomethane sodium chloride buffer solution pH 7.4 R*.

Any change in the absorbance of the solution, measured at 405 nm (2.2.25) against *tris(hydroxymethyl)aminomethane sodium chloride buffer solution pH 7.4 R* as the blank is not more than 0.15 to 0.20 per minute.

Fast blue B salt. $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$. (M_r 339.2). 1037400.

[84633-94-3].

Schultz No. 490.

Colour Index No. 37235.

3,3'-Dimethoxy(biphenyl)-4,4'-disulfonium dichloride.

A dark brown powder, soluble in water. It is stabilized by addition of zinc chloride.

Storage: in an airtight container, at a temperature between 2 °C and 8 °C.

Fast red B salt. $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$. (M_r 467.4). 1037500.

[56315-29-8].

Schultz No. 155.

Colour Index No. 37125.

2-Methoxy-4-nitrobenzenediazonium hydrogen naphthalene-1,5-disulphonate.

An orange-yellow powder, soluble in water, slightly soluble in alcohol.

Storage: in an airtight container, protected from light, at 2 °C to 8 °C.

Fenchlorphos. $\text{C}_9\text{H}_7\text{Cl}_2\text{O}_2\text{PS}$. (M_r 321.5). 1127200.

[299-84-3].

mp: about 35 °C.

A suitable certified reference solution (10 ng/μl in cyclohexane) may be used.

Fenxane. $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$. (M_r 152.2). 1037600. [7787-20-4].

1,3,3-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-one.

An oily liquid, miscible with alcohol, practically insoluble in water.

n_D^{20} : about 1.46.

bp_{max}: about 66 °C.

Fenxane used in gas chromatography complies with the following test.

Assay. Examine by gas chromatography (2.2.28) under the conditions described in the monograph on *Bitter fennel (0824)* using the substance to be examined as the test solution.

The area of the principal peak is not less than 98.0 per cent of the total area of the peaks.

Fenvalerate. $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{ClNO}_2$. (M_r 419.9). 1127300.

[51630-58-1].

bp: about 300 °C.

A suitable certified reference solution (10 ng/μl in cyclohexane) may be used.

Ferric ammonium sulphate. $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. (M_r 482.2).

1037700. [7783-83-7]. Ammonium iron disulphate dodecahydrate.

Pale-violet crystals, efflorescent, very soluble in water, practically insoluble in alcohol.

Ferric ammonium sulphate solution R2. 1037702.

A 100 g/l solution. If necessary filter before use.

Ferric ammonium sulphate solution R5. 1037704.

Shake 30.0 g of *ferric ammonium sulphate R* with 40 ml of *nitric acid R* and dilute to 100 ml with *water R*. If the solution is turbid, centrifuge or filter it.

Storage: protected from light.

Ferric ammonium sulphate solution R6. 1037705.

Dissolve 20 g of *ferric ammonium sulphate R* in 75 ml of *water R*, add 10 ml of a 2.8 per cent *V/V* solution of *sulphuric acid R* and dilute to 100 ml with *water R*.

Ferric chloride. $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. (M_r 270.3). 1037800.

[10025-77-1]. Iron trichloride hexahydrate.

Yellowish-orange or brownish crystalline masses, deliquescent, very soluble in water, soluble in alcohol. On exposure to light, ferric chloride and its solutions are partly reduced.

Storage: in an airtight container.

Ferric chloride solution R1. 1037801.

A 105 g/l solution.

Ferric chloride solution R2. 1037802.

A 13 g/l solution.

Ferric sulphate pentahydrate. $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. (M_r 489.9). 1153700. [142906-29-4].

White or yellowish powder.

Ferric chloride solution R3. 1037803.

Dissolve 2.0 g of *ferric chloride R* in *ethanol R* and dilute to 100.0 ml with the same solvent.

Ferric chloride sulphamic acid reagent. 1037804.

A solution containing 10 g/l of *ferric chloride R* and 16 g/l of *sulphamic acid R*.

Ferric nitrate. $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. (M_r 404). 1106100.

[7782-61-8].

Content: minimum 99.0 per cent *m/m* of $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.

Light purple crystals or crystalline mass, very soluble in water.

Free acid: not more than 0.3 per cent (as HNO_3).

Ferric sulphate. $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$. 1037900. [10028-22-5].

Iron(III) trisulphate hydrated.

A yellowish-white powder, very hygroscopic, decomposes in air, slightly soluble in water and in alcohol.

Storage: in an airtight container, protected from light.

Ferrocyanide. $\text{C}_6\text{H}_6\text{FeN}_6$. (M_r 468.3). 1038000.

[14768-11-7]. Dicyanobis(1,10-phenanthroline)iron(II).

A violet bronze, crystalline powder, practically insoluble in water and in alcohol.

Storage: protected from light and moisture.

Ferroun. 1038100. [14634-91-4].

Dissolve 0.7 g of *ferrous sulphate R* and 1.76 g of *phenanthroline hydrochloride R* in 70 ml of *water R* and dilute to 100 ml with the same solvent.

Test for sensitivity. To 50 ml of *dilute sulphuric acid R* add 0.15 ml of *osmium tetroxide solution R* and 0.1 ml of the ferroun. After the addition of 0.1 ml of 0.1 M ammonium and cerium nitrate the colour changes from red to light blue.

Esempio di monografia di una sostanza presente in E.P. (volume 2)

IDENTIFICATION

First identification: B, E.

Second identification: A, C, D, E.

A. 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. The melting point (2.2.14) is 226 °C to 230 °C.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Preparation: discs; dry the substances at 100-105 °C before use.

Comparison: saccharin sodium CRS.

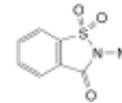
C. Mix about 10 mg with about 10 mg of resorcinol R, add 0.25 ml of sulphuric acid R and carefully heat the mixture over a naked flame until a dark green colour is produced. Allow to cool, add 10 ml of water R and dilute sodium hydroxide solution R until an alkaline reaction is produced. An intense green 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. 0.5 ml of solution S gives reaction (a) of sodium (2.3.1).

SACCHARIN SODIUM

Saccharinum natricum



$C_7H_5NNaO_3S$

M, 205.2

DEFINITION

2-Sodio-1,2-benzothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (anhydrous substance). It may contain a variable quantity of water.

CHARACTERS

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

Solubility: freely soluble in water, sparingly soluble in alcohol.

IDENTIFICATION

First identification: B, E.

Second identification: A, C, D, E.

A. 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. The melting point (2.2.14) is 226 °C to 230 °C.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Preparation: discs; dry the substances at 100-105 °C before use.

Comparison: saccharin sodium CRS.

C. Mix about 10 mg with about 10 mg of resorcinol R, add 0.25 ml of sulphuric 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 carbonization. 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. 0.5 ml of solution S gives reaction (a) of sodium (2.3.1).

TESTS

Solution S. Dissolve 5.0 g in carbon dioxide-free water R and dilute to 50.0 ml with the same solvent.

Appearance of solution. The solution is clear (2.2.1) and colourless (2.2.2, Method II).

Dissolve 5.0 g in 25 ml of carbon dioxide-free water R.

Acidity or alkalinity. To 10.0 ml of solution S add 5.0 ml of 0.005 *N* sulphuric acid. Heat to boiling and cool. Add 0.1 ml of phenolphthalein solution R. Not less than 4.5 ml and not more than 5.5 ml of 0.01 *N* sodium hydroxide is required to change the colour of the indicator to pink.

01/2005:0787

o- and *p*-Toluenesulphonamide. Gas chromatography (2.2.28).

Internal standard solution. Dissolve 25 mg of caffeine R in methylene chloride R and dilute to 100 ml with the same solvent.

Test solution. Dissolve 10.0 g of the substance to be examined in 50 ml of water R. If necessary adjust the solution to pH 7.8 by addition of 1 *M* sodium hydroxide or 1 *M* hydrochloric acid. Shake the solution with 4 quantities, each of 50 ml, of methylene chloride R. Combine the lower layers, dry over anhydrous sodium sulphate R and filter. Wash the filter and the sodium sulphate with 10 ml of methylene chloride R. Combine the solution and the washings and evaporate almost to dryness in a water-bath at a temperature not exceeding 40 °C. Using a small quantity of methylene chloride R, quantitatively transfer the residue into a suitable 10 ml tube, evaporate to dryness in a current of nitrogen R and add 1.0 ml of the internal standard solution.

Blank solution. Evaporate 200 ml of methylene chloride R to dryness in a water-bath at a temperature not exceeding 40 °C. Dissolve the residue in 1 ml of methylene chloride R.

Reference solution. Dissolve 20.0 mg of *o*-toluenesulphonamide R and 20.0 mg of *p*-toluenesulphonamide R in methylene chloride R and dilute to 100.0 ml with the same solvent. Dilute 5.0 ml of the solution to 50.0 ml with methylene chloride R. Evaporate 5.0 ml of the final solution to dryness in a current of nitrogen R. Take up the residue using 1.0 ml of the internal standard solution.

Column:

- *material:* fused silica,
- *size:* 1 – 10 m, Ø – 0.53 mm,
- *stationary phase:* polymethylphenylsiloxane R (film thickness 2 µm).

Carrier gas: nitrogen for chromatography R.

Flow rate: 10 ml/min.

Split ratio: 1:2.

Temperature:

- *column:* 180 °C,
- *injection port and detector:* 250 °C.

Detection: flame ionisation.

Injection: 1 µl.

Elution order: *o*-toluenesulphonamide, *p*-toluenesulphonamide, caffeine.

System suitability: reference solution:

- *resolution:* minimum of 1.5 between the peaks due to *o*-toluenesulphonamide and *p*-toluenesulphonamide.

Limits:

– *o*-toluenesulphonamide: the ratio of its area to that of the internal standard is not greater than the corresponding ratio in the chromatogram obtained with the reference solution (10 ppm),

– *p*-toluenesulphonamide: the ratio of its area to that of the internal standard is not greater than the corresponding ratio in the chromatogram obtained with the reference solution (10 ppm).

Heavy metals (2.4.8): maximum 20 ppm.

12 ml of solution S complies with limit test A. Prepare the standard using lead standard solution (2 ppm Pb) R.

Water (2.5.12): maximum 15.0 per cent, determined on 0.200 g.

Monografie
D.S.

TIPI DI SOSTANZE F.U.

1. Sostanze solide



- a. Inorganiche (sali vari)
- b. Metallo-organiche (componente organica acida salificata con cationi inorganici come Na^+ , K^+ , Ca^{2+})
- c. Organiche (monofunzionali o polifunzionali)

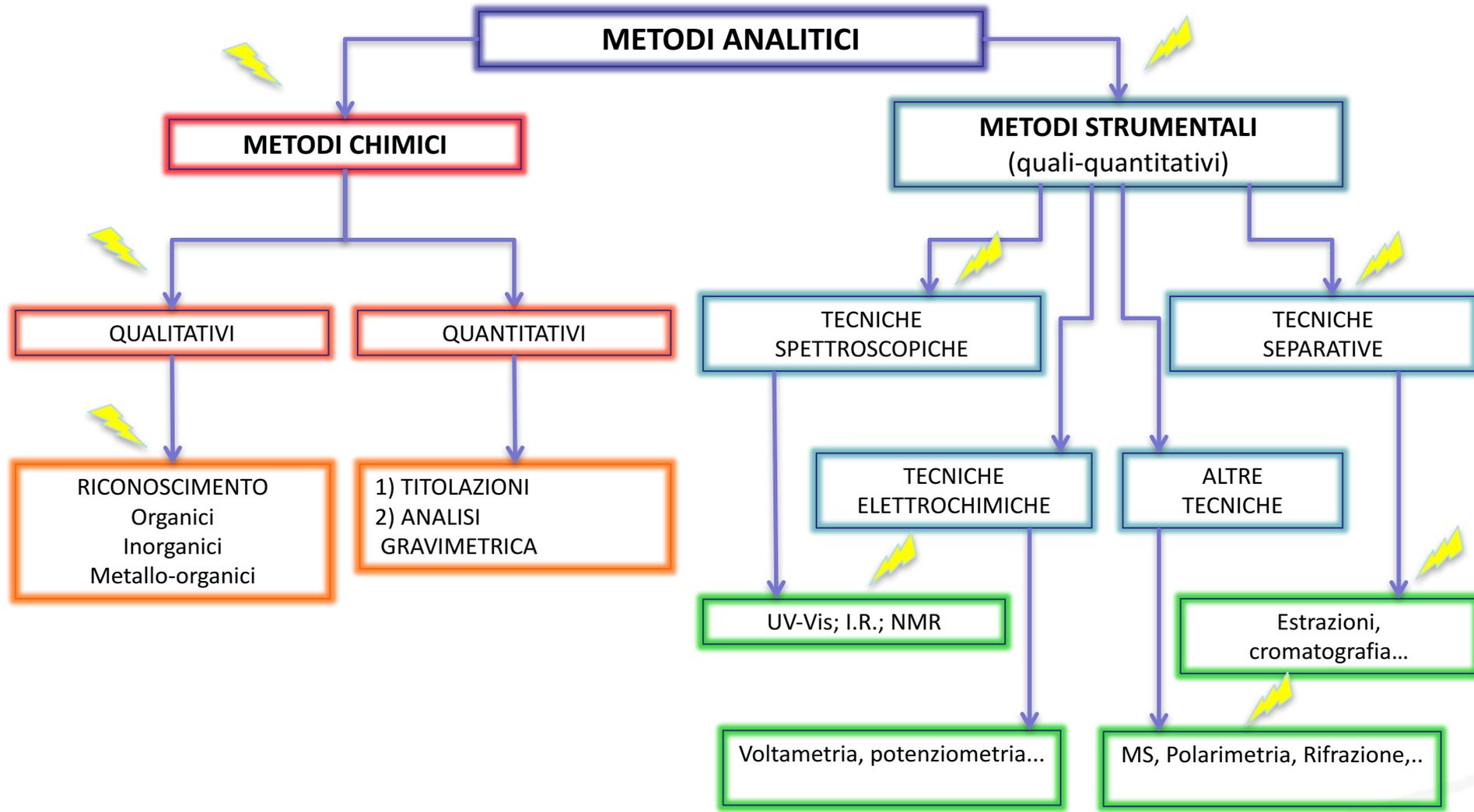
2. Sostanze liquide

- a. Sostanze singole (pure o no)
- b. Miscele (olii essenziali)

1. **Inorganiche**. Ad es. Alluminio fosfato (AlPO_4), Calcio cloruro (CaCl_2), Zinco cloruro (ZnCl_2), Potassio solfato (K_2SO_4), Bario solfato (BaSO_4), ecc.
2. **Metallo-organiche**. Sono sali in cui la componente organica acida viene salificata con opportuni cationi metallici quali: Al^{3+} , Ag^+ , Ba^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , **Ca^{2+}** , NH_4^+ , Fe^{2+} , Fe^{3+} , **K^+** , **Na^+** , **Li^+** .
3. **Organiche**: Sono a loro volta suddivisibili in:
 - ✧ Molecole semplici (es. acido acetilsalicilico, caffeina, isoniazide, ecc.);
 - ✧ Sali formati da un catione ed un anione entrambi organici (ad es. pentazocina lattato, piperazina citrato, ecc.). A volte si tratta anche di principi attivi in cui la funzione ossidrica $-\text{OH}$ è stata esterificata con acido opportuno a formare l'estere corrispondente (es. estradiolo benzoato, betametasone acetato, ecc.).
 - ✧ **Sali inorganici di basi organiche**. Sono sali nei quali la componente organica basica (es. ammine) viene salificata con opportuni anioni inorganici quali: Cl^- , Br^- , F^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , NO_3^- , BO_3^{3-} , $\text{B}_4\text{O}_7^{2-}$ (Cloridrati, Bromidrati, solfati, etc..)

- Per le **sostanze puramente inorganiche** si rimanda al Cap. 2 per i saggi specifici di ANALISI INORGANICA per cationi ed anioni.
- Per le **sostanze metallo-organiche** la presenza del metallo, già ipotizzata al saggio della combustione (coccio) dalla permanenza di un residuo non carbonioso (saggi preliminari) sarà confermata dai saggi specifici del Cap. 2, mentre la componente organica verrà riconosciuta con i saggi del Cap.3 relativi ai GRUPPI FUNZIONALI e poi con i saggi specifici (Cap. 4). I metallo-organici sono generalmente solubili in acqua e di solito danno soluzioni non colorate (tranne qualche eccezione: fenilmercurio acetato (bianco-giallastro), fenilmercurio borato (giallino), ferro-gluconato (giallo-verde) ed il ferro-fumarato (rosso-arancio).
- Per i **sali inorganici di basi organiche**, i rispettivi anioni (cloruri, bromuri, solfati, fosfati, carbonati, nitrati, ecc.) saranno riconosciuti con saggi specifici del Cap. 2. con l'ANALISI INORGANICA, mentre la componente organica verrà riconosciuta con i saggi del Cap.3.

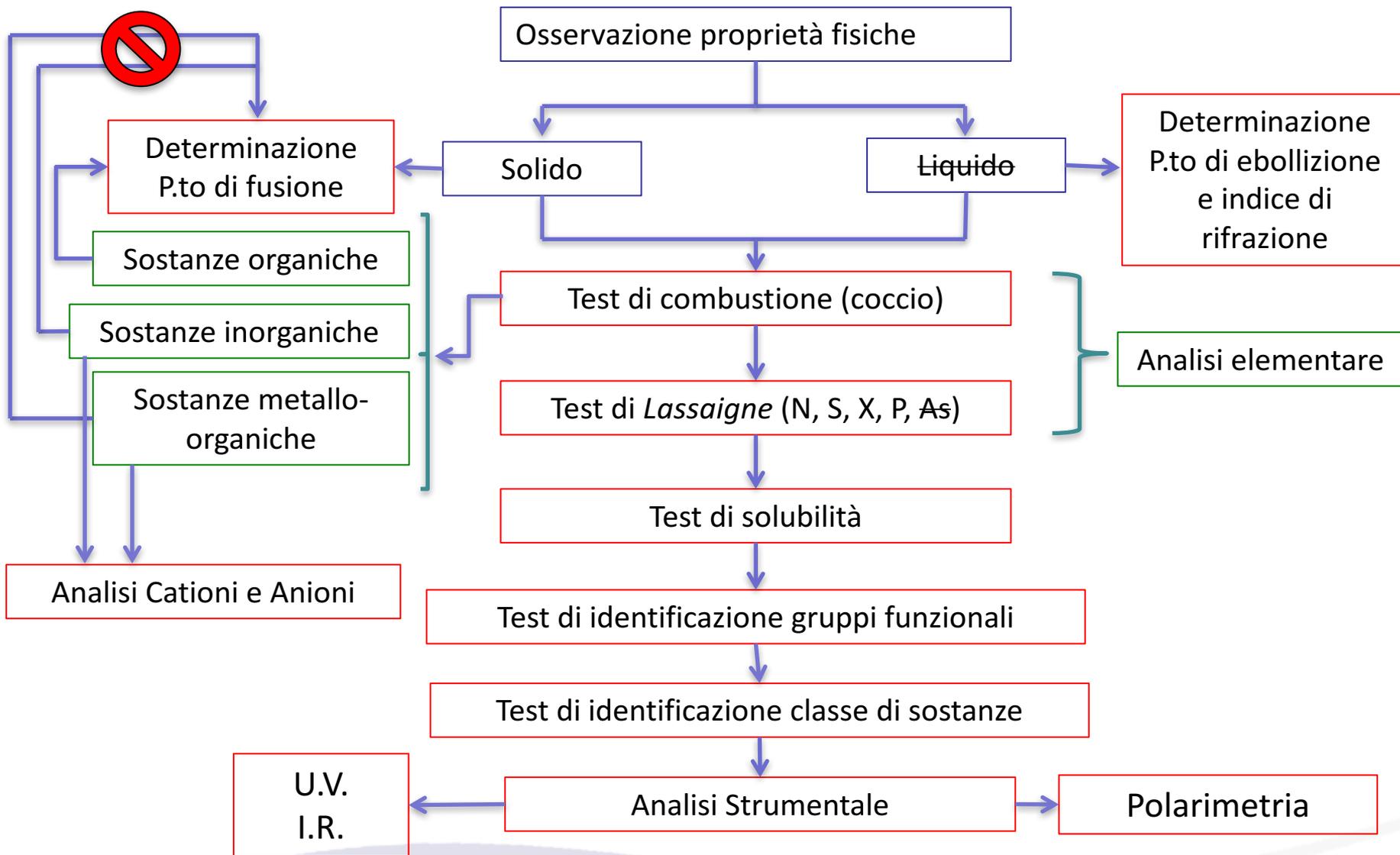
CLASSIFICAZIONE GENERALE DELLE TECNICHE ANALITICHE



Si suddividerà l'analisi in tre fasi fondamentali:

- 1. SAGGI PRELIMINARI:** servono a individuare caratteristiche generali di comportamento per indirizzare la ricerca verso un gruppo più ristretto di composti (es. se inorganico, organico oppure metallo-organico);
- 2. IDENTIFICAZIONE DEI GRUPPI FUNZIONALI:** che consente di individuare la categoria di composti organici alla quale appartiene la sostanza (es. acidi, amine, alcoli, etc.). Saggi chimici specifici e selettivi anche strumentali (spettroscopia);
- 3. RICONOSCIMENTO DELL' IDENTITA' DELLA MOLECOLA:** mediante saggi chimici specifici e caratteristiche individuali (indice di rifrazione, punto di fusione, etc.).

SCHEMA PER L'IDENTIFICAZIONE DI SOSTANZE



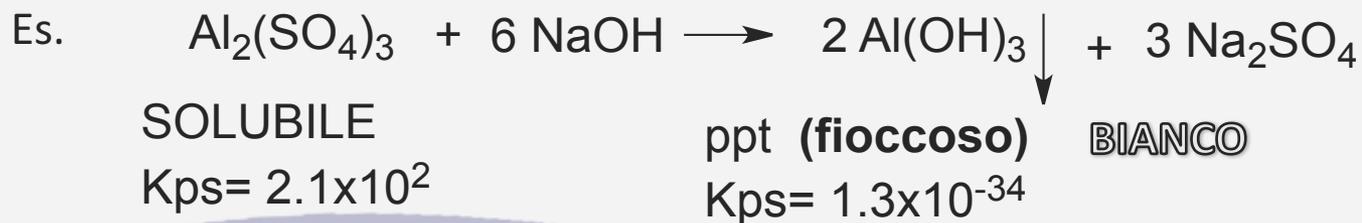
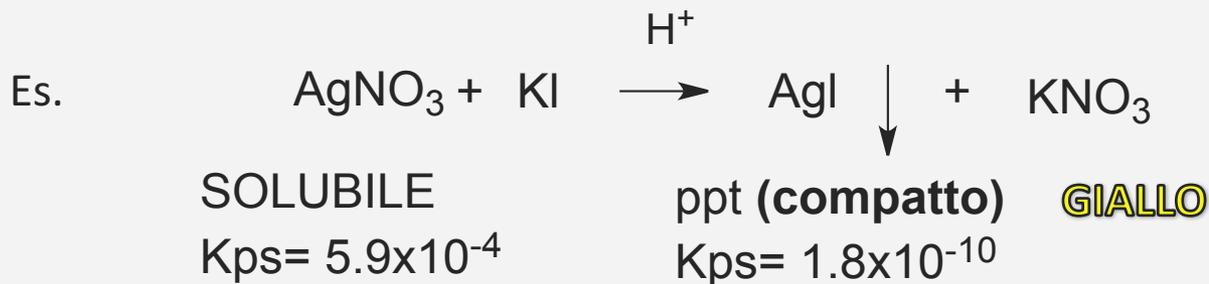
Tipi di reazioni coinvolte nei saggi di riconoscimento

Le principali reazioni chimiche coinvolte sono quattro:

1. Reazioni di precipitazione;
2. Reazioni di complessazione;
3. Reazioni di formazione di addotti colorati (SE aromatica, condensazioni o combinazioni varie);
4. Ossidoriduzioni.

1. Reazioni di precipitazione:

Si tratta di reazioni nelle quali avviene uno scambio di ioni, in determinate condizioni di concentrazione, pH e T°, a formare specie chimiche con un Kps diminuito e, quindi, atti a precipitare. I precipitati sono colorati o bianchi e possono avere “consistenze” differenti.

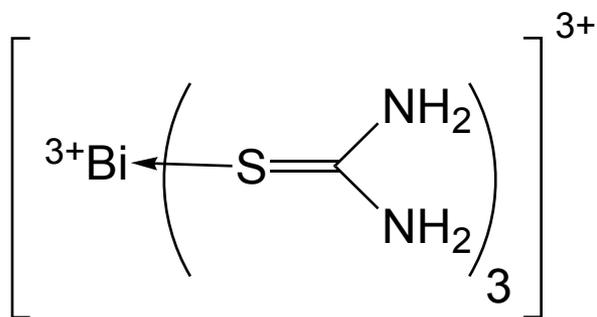


2. Reazioni di complessazione:

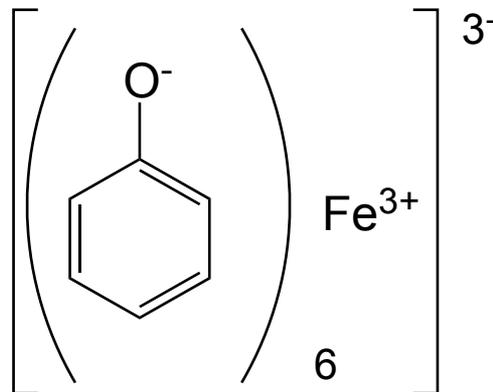
Si tratta di reazioni di formazione di un complesso stabile tra l'agente complessante (legante) e un accettore di legami dativi . Si instaurano un certo numero di questi legami che definiscono il cosiddetto "n. di coordinazione" . A seconda della natura del legante e del numero di accettori si dividono in complessi:

- Carichi (positivi o negativi)
- Neutri
- Mononucleare (solo un accettore)
- Polinucleare (più di un accettore)
- Chelato (più legami tra il chelante e l'accettore)

Es. Complesso carico (positivamente o negativamente mononucleare):

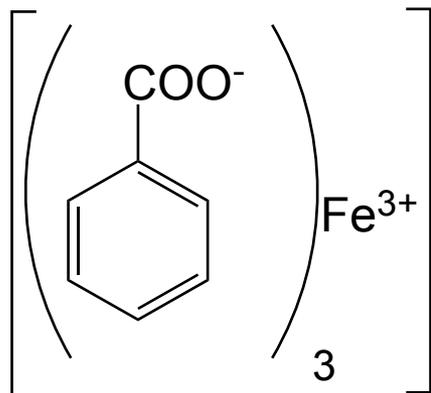


giallo-arancio



violetto

Es. Complesso neutro mononucleare:

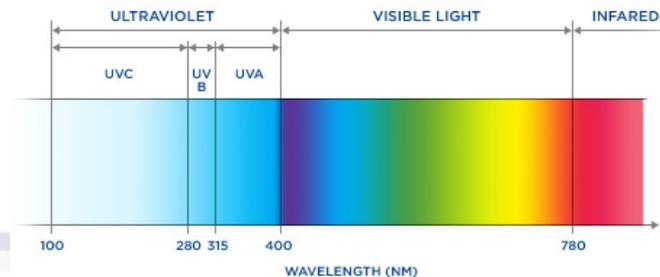


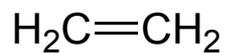
ppt rosa carne

Mentre i complessi polinucleari sono rari e di poco interesse per noi, molto più rilevanti sono i complessi detti "chelati", come gli esempi appena riportati.

3. Reazioni di formazione di addotti colorati:

Si tratta di reazioni (addizioni, sostituzioni, condensazioni,...) di formazione di una struttura chimica generalmente più coniugata rispetto al substrato di partenza, per cui c'è un aumento di delocalizzazione di carica che comporta un abbassamento del livello energetico eccitato(*) degli elettroni π (π^*) di legame, con conseguente abbassamento della differenza di energia richiesta per la transizione elettronica tra i due livelli (fondamentale ed eccitato). In questo modo viene a diminuire l'energia emessa durante il decadimento elettronico e, quindi, ci sarà uno spostamento verso il visibile della lunghezza d'onda sotto forma di colore osservato.



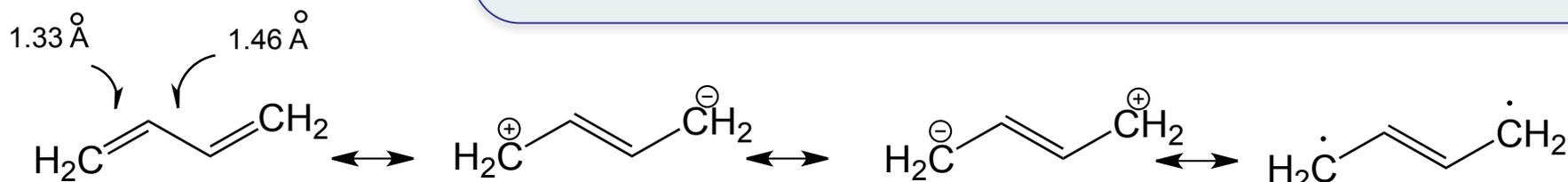


ETILENE

Etilene: $\lambda_{\text{max}} = 165\text{nm}$

1,3-Butadiene: $\lambda_{\text{max}} = 217\text{ nm.}$

ESTENDENDO LA CONIUGAZIONE L'ENERGIA SI ABBASSA
(OVVERO AUMENTA LA LUNGHEZZA D'ONDA: λ)

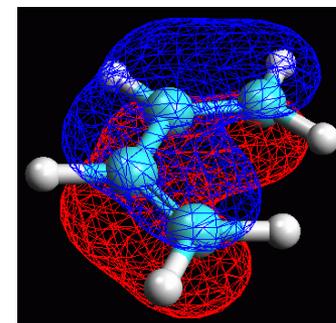
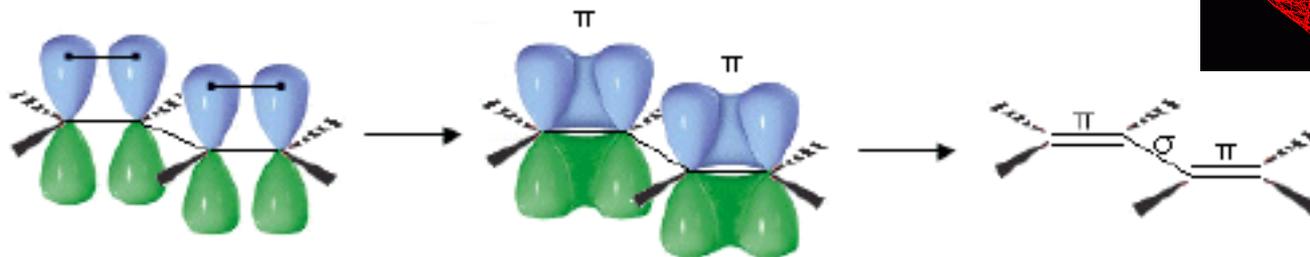


1,3-BUTADIENE

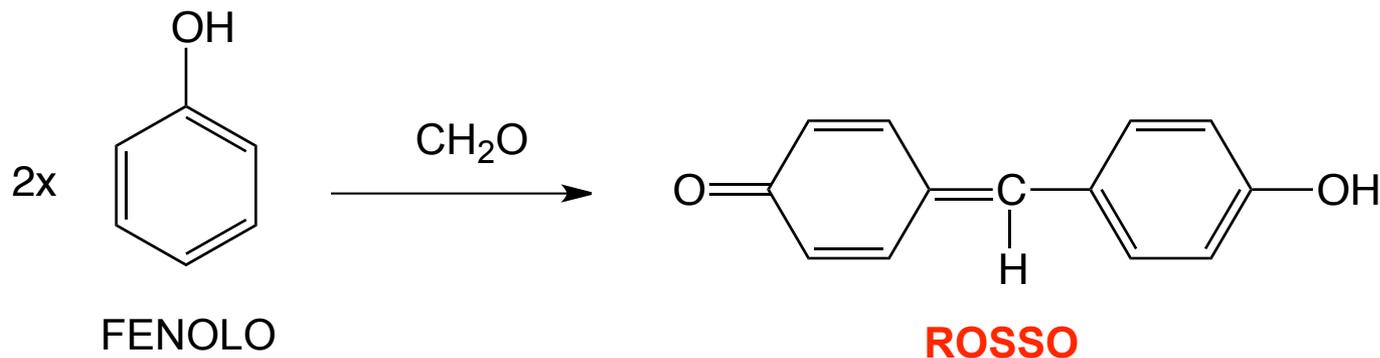
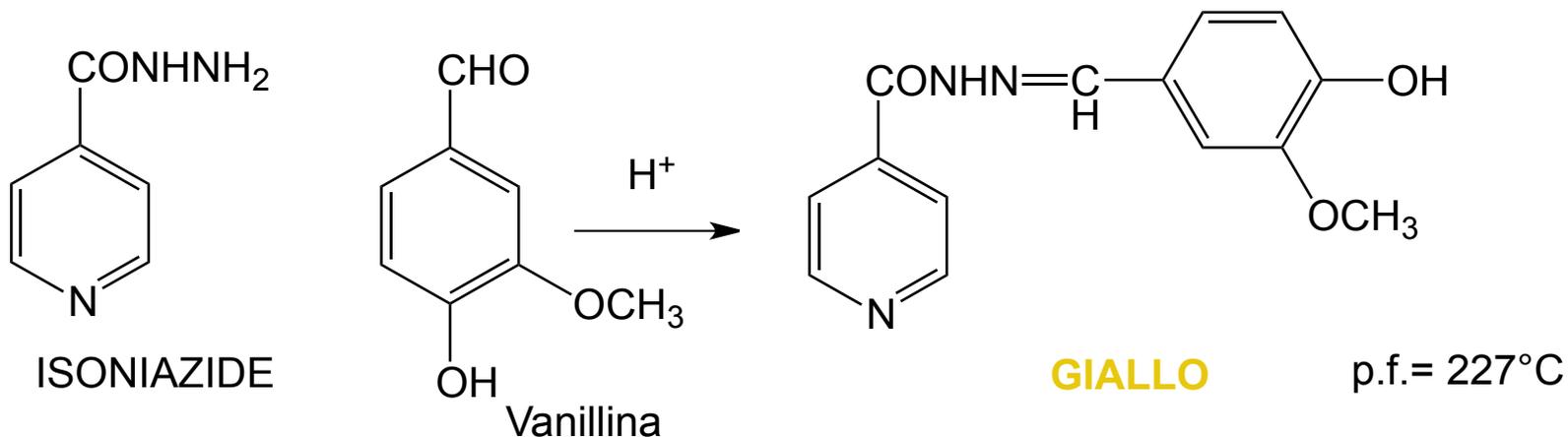
Delocalizzazione di carica su tutta la struttura

Doppio legame diene isolato: 1.32 Å

Singolo legame diene isolato: 1.49 Å



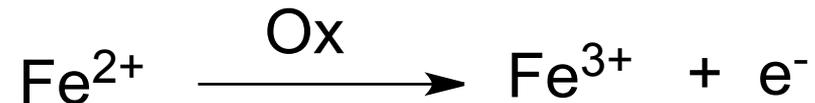
Es. di formazione di un addotto colorato; es. reaz. di riconoscimento dell'Isoniazide (bianca) e del Fenolo (bianco-rosato)



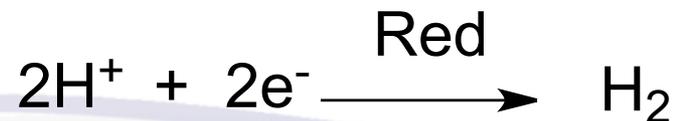
4. Reazioni di ossidoriduzione:

Sono reazioni che avvengono tra due specie chimiche che scambiano elettroni: una specie subisce un'ossidazione, l'altra specie subisce una riduzione.

a-Ossidazione: E' una reazione in cui un atomo o uno ione **perde elettroni** e il suo numero di ossidazione aumenta!

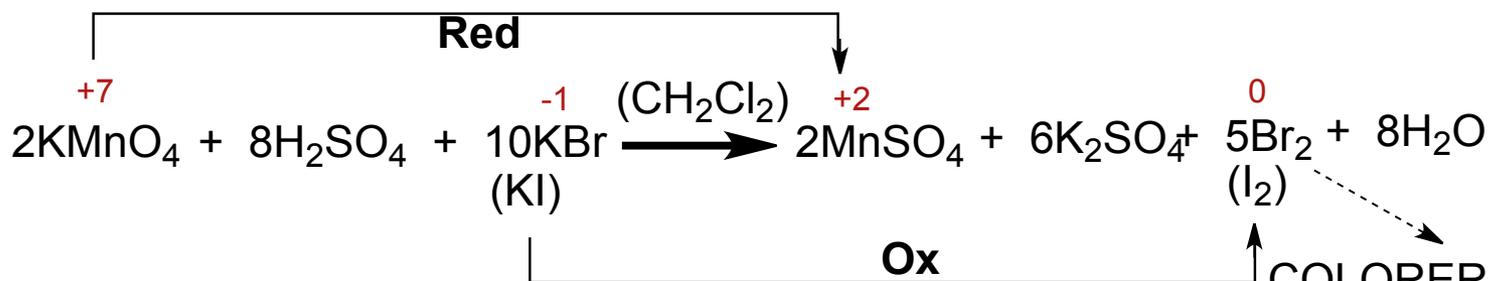


b-Riduzione: E' una reazione in cui un atomo o uno ione **acquista elettroni** e il suo numero di ossidazione diminuisce!



Alcuni esempi di Redox:

- Saggio di riconoscimento alogenuri inorganici Br⁻ e I⁻ (per ox. con KMnO₄ o altro):

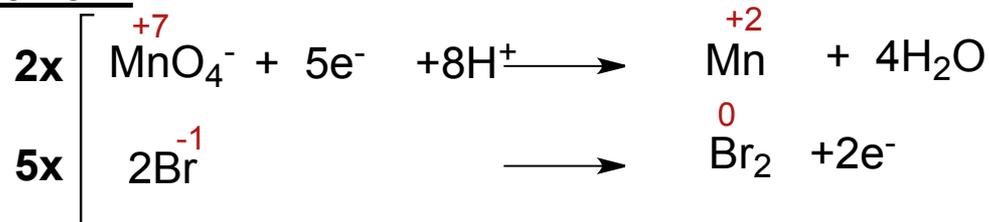


COLORERA' DI **BRUNO** LA FASE ORGANICA DI CH₂Cl₂ (I₂ colora di **VIOLA**)

Forma ionica:



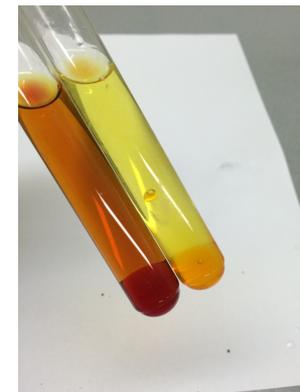
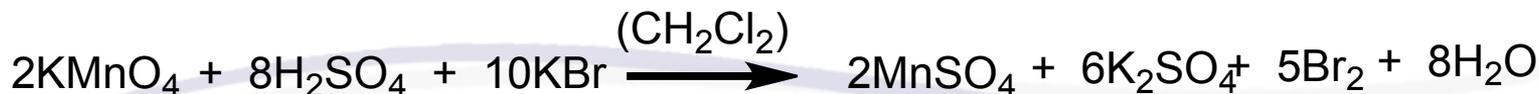
Semireazioni:



Bilanciamento della forma ionica:

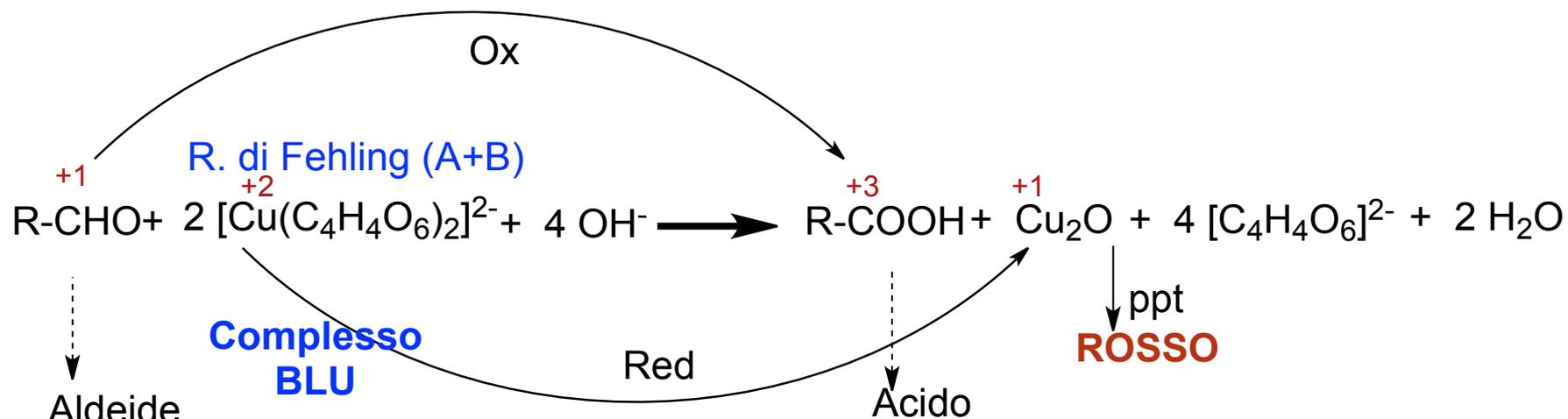


Bilanciamento della forma completa (si "aggiustano" stechiometricamente i controioni di K):



- Saggio di riconoscimento gruppi aldeidici (carboidrati):

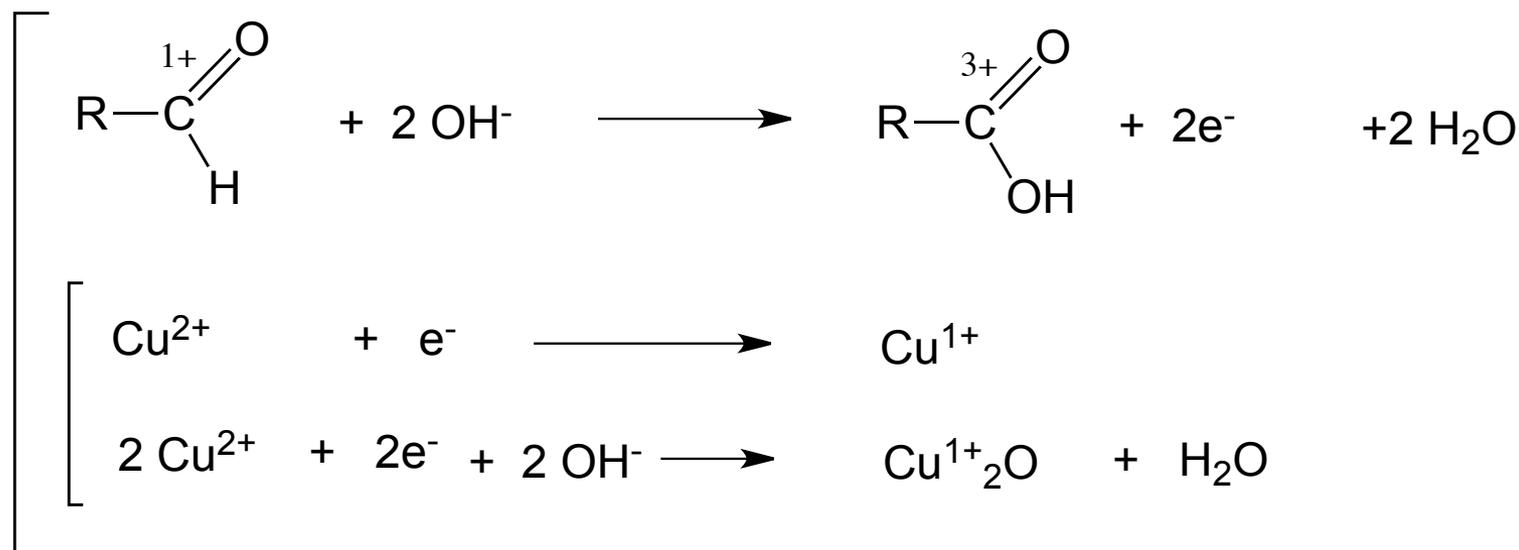
Si sfrutta la facile ossidabilità del gruppo aldeidico presente in vari composti (come nei carboidrati aldosi) utilizzando un blando ossidante che è il complesso dei reattivi di Fehling (CuSO_4 +Tartrato di K preparato al momento) per dare un prodotto di riduzione del rame come ossido rameoso (Cu_2O) in forma di ppt rosso mattone.



BILANCIAMENTO:

Ricordarsi che in composti organici il n. di ossidazione del C è dato per differenza dei 4 legami e si assume che:

- Per ogni legame con un altro atomo di C = 0
- Per ogni legame con un atomo di H = -1
- Per ogni legame con eteroatomo = +1



BLU

ROSSO mattone