

ANALISI DEI MEDICINALI Prof. Daniele Zampieri a.a. 2016-'17

NORME GENERALI DI SICUREZZA E DI BUON COMPORTAMENTO IN LABORATORIO

- ✚ Prendere visione dell'ubicazione dei dispositivi di protezione collettivi: estintori, docce, lavaocchi, coperte antifiamma, cassetta pronto soccorso.
- ✚ Utilizzare i dispositivi di protezione individuali (DPI), quali:
 - Occhiali di protezione (sempre!!);
 - Guanti (nitrile, lattice o PVC al caso);
 - Mascherina FFP3 (al caso).

- ✚ Non usare lenti a contatto;
- ✚ Usare SEMPRE il camice;
- ✚ Raccogliere i capelli lunghi;
- ✚ Possibilmente non lavorare mai da soli;
- ✚ Eliminare i residui di lavorazione negli appositi contenitori:
 - Bidone PET cod. 15.01.10 per vetreria, cocci, imballaggi, ecc...contaminati;
 - Bidone PET cod. 15.02.02 per carta, filtri, guanti, cotone, ecc.. contaminati;
 - Tanica PET cod. 07.07.04 per solventi organici/acquosi;
 - Bidone "classico" per i rifiuti ordinari (residui di alimenti, fazzoletti di carta, ecc..).

- ✚ Trattare tutte le sostanze (reattivi, solventi, sostanze incognite) come potenzialmente pericolose, quindi, controllare le schede di sicurezza, etichette e quant'altro necessario a verificare la pericolosità delle sostanze.
- ✚ Controllare e verificare tutti i protocolli delle operazioni da eseguire durante un'operazione in laboratorio.
- ✚ Utilizzare sempre le cappe aspiranti durante operazioni chimiche che prevedono sviluppo di fumi o di vapori, tossici o meno con vetro abbassato.
- ✚ Tutte le reazioni che prevedono l'uso di acidi e/o basi concentrate vanno eseguite sotto cappa!!

- ✚ Tenere pulita la propria postazione di lavoro e il proprio banchetto.
- ✚ Evitare schiamazzi, urla, movimenti bruschi o incontrollati e qualsiasi attività possa interferire con lo svolgimento della normale attività di laboratorio.
- ✚ Non assaggiare MAI la sostanza anche se considerata non dannosa!!
- ✚ Evitare di “annusare” sostanze, reattivi, solventi, acidi e basi.
- ✚ Usare l’H₂O distillata solo per i casi ove prevista (riempire la spruzzetta, solubilizzare le sostanze o preparare reattivi).
- ✚ Lavarsi sempre le mani dopo contatto con sostanze chimiche varie.
- ✚ Fare estrema attenzione alle fiamme libere durante le consuete operazioni di laboratorio evitando di stare a stretto contatto con i compagni.
- ✚ Rimettere allo stato iniziale i vari strumenti utilizzati assicurandosi di aver provveduto a lasciare la vetreria e gli accessori in ordine e ben puliti.
- ✚ Accertarsi di aver spento il bunsen a fine lavoro e di aver lavato la vetreria utilizzata, nonché di aver messo a posto il banchetto.
- ✚ E’ vietato fumare.
- ✚ E’ vietato mangiare e bere.
- ✚ Per qualsiasi dubbio o chiarimento, contattare sempre il preposto del laboratorio.

VACCHI SIMBOLI CHIMICI DI PERICOLI (VALIDI FINO AL 2015)



ESPLOSIVO



INFIAMMABILE



ESTREMAMENTE
INFIAMMABILE



COMBURENTE



CORROSIVO



TOSSICO



ESTREMAMENTE
TOSSICO



IRRITANTE



NOCIVO



PERICOLOSO
PER L'AMBIENTE

NUOVI SIMBOLI CHIMICI DI PERICOLO VALIDI DAL 2009 e DEFINITIVI DAL 2015



ESPLOSIVO



INFIAMMABILE



COMBURENTE



GAS COMPRESSI



CORROSIVO



TOSSICO



TOSSICO A
LUNGO TERMINE



IRRITANTE



NOCIVO

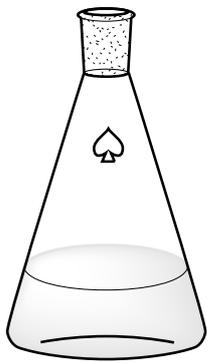


PERICOLOSO
PER L'AMBIENTE

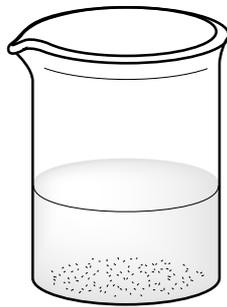
LEGENDA DEI SIMBOLI E ABBREVIAZIONI

- ❖ E.P.: European Pharmacopoeia
- ❖ F.U.: Farmacopea Ufficiale
- ❖ b.m.: bagno maria
- ❖ p.f.: punto di fusione
- ❖ T°C: temperatura in gradi Celsius
- ❖ Soluz. al 10% acq.: se non espressamente indicato s'intende % in p/v
- ❖ 1N o 1M: 1 "normale" o 1 "molare" (conoscere la differenza!)
- ❖ 2N, 2M: acidi e basi diluite; 6N o 6M: acidi e basi (moderatamente) concentrati
- ❖ ml, mg, g, gc.: millilitri, milligrammi, grammi, gocce
- ❖ ppt: precipitato
- ❖ 20-50 mg: il cucchiaino della spatola pieno; 200-300 mg: la porzione lunga della spatola piena.
- ❖ 1 ml \approx 20 gc.
- ❖ UV, IR: ultravioletto, infrarosso
- ❖ λ , ν , A, T%, α , n_D^{20} : lunghezza d'onda (nm), numero d'onda (cm^{-1}), Assorbanza e Trasmittanza %, potere ottico rotatorio e indice di rifrazione.
- ❖ n: nujol

VETRERIA COMUNE DI LABORATORIO:



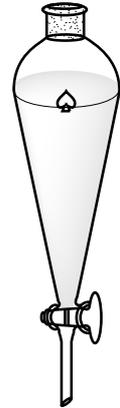
BEUTA



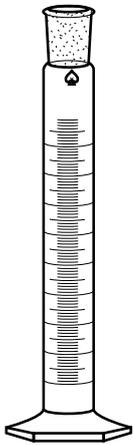
BECKER



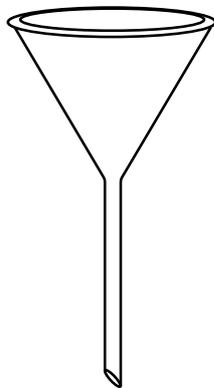
PALLONE



IMBUTO
SEPARATORE



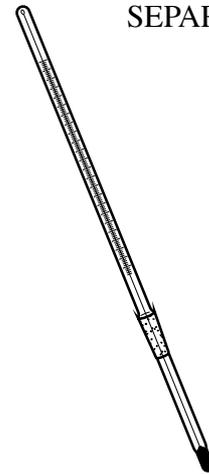
CILINDRO GRADUATO



IMBUTO



PROVETTA



TERMOMETRO



BUNSEN



VETRO
D'OROLOGIO



PIPETTA
MONOUSO



BACCHETTA
DI VETRO



PIPETTA
PASTEUR

Come eseguire un filtro a pieghe:

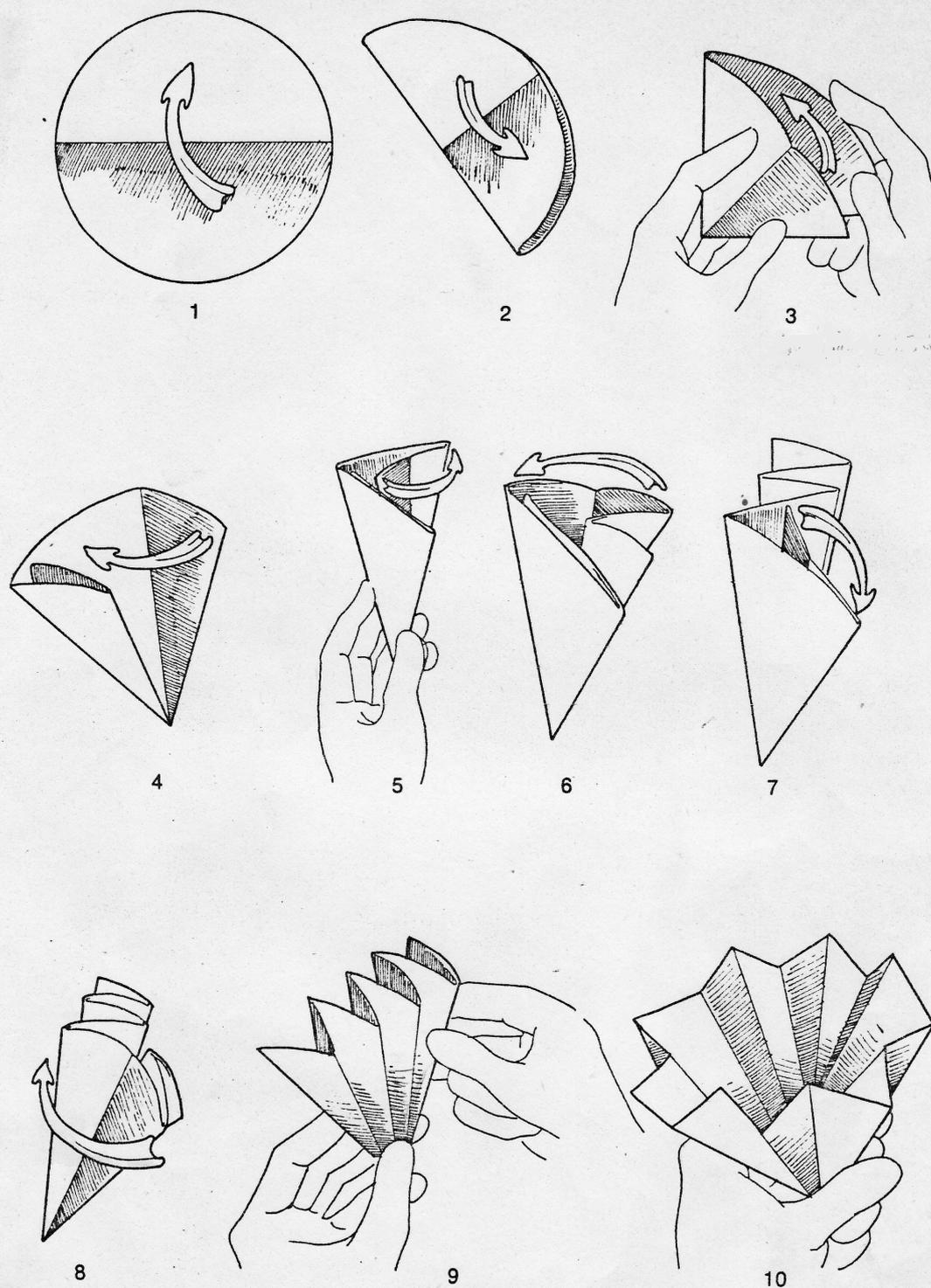
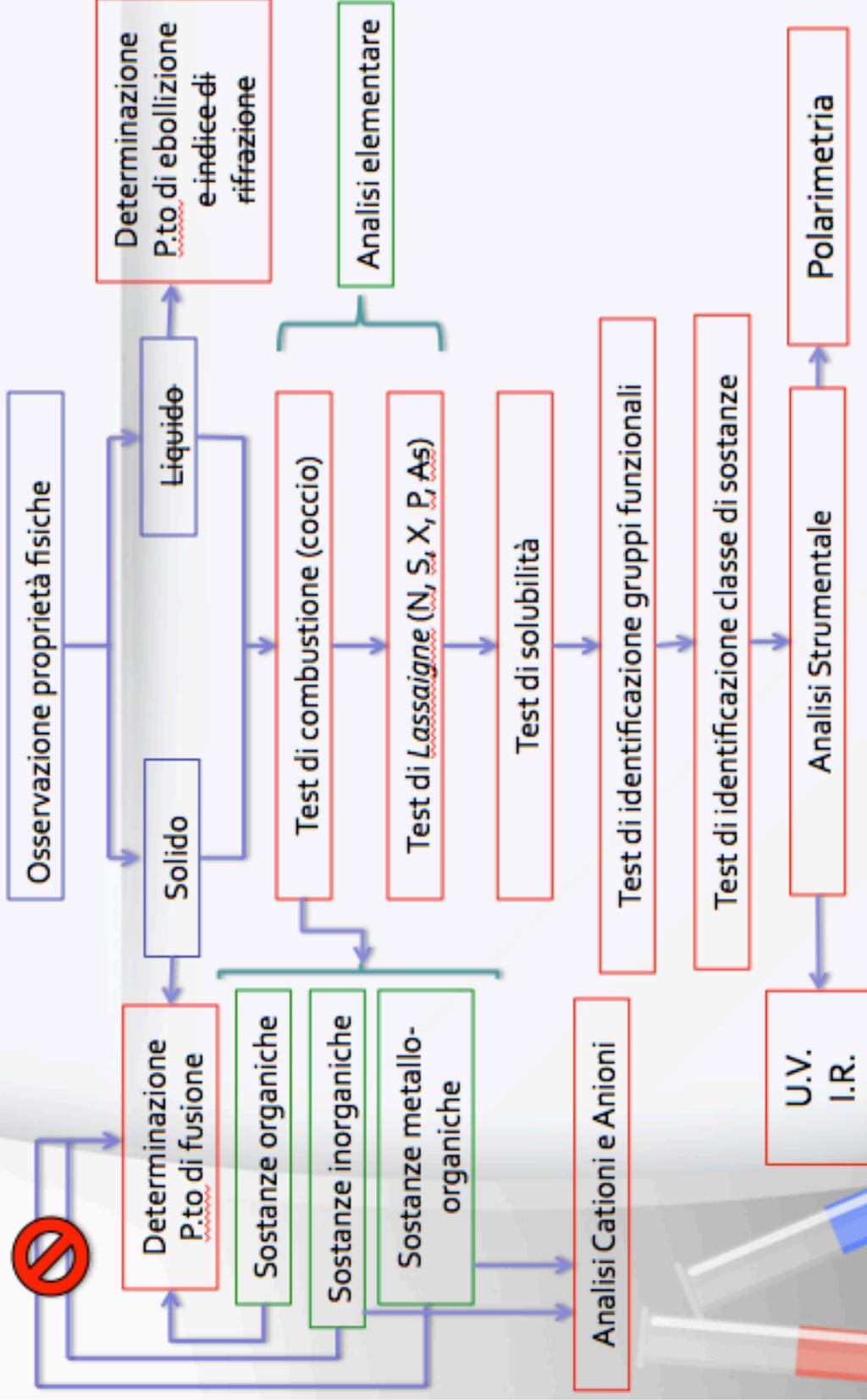


FIGURE 2-3. Folding a fluted filter paper, or Origami at work in the organic lab

SCHEMA PER L'IDENTIFICAZIONE DI SOSTANZE



SAGGI PRELIMARI

DETERMINAZIONE DEL PUNTO DI FUSIONE (P.f.): SOLO SOSTANZE ORGANICHE!

Si preleva una piccolissima aliquota di sostanza (eventualmente tritata su piastrella di ceramica) tramite capillare a fondo chiuso facendo in modo di disporre la sostanza sul fondo. Il capillare viene inserito nello strumento appropriato e viene letta la T°C al p.to di fusione, corrispondente al passaggio di stato solido-liquido (range 2-4 °C). Osservare eventuale decomposizione (lettera "d" dopo il valore di p.f.).

Saggio di combustione su coccio di porcellana.

Una piccola aliquota di sostanza (50-100 mg ca.) si pone su un coccio di porcellana e si scalda su fiamma diretta (sotto cappa) classificando come sostanza inorganica, organica o metallo-organica secondo il comportamento.

INORGANICI	ORGANICI	METALLO-ORGANICI
NON SUCCEDA NULLA	IN GENERE CARBONIZZANO lasciando residuo carbonioso	COMPORAMENTO MISTO. rimane un residuo della parte metallica come ossido bianco o grigio
Fusione apparente: Al_2SO_4 e $Na_2S_2O_3$	Xantine: sublimano	Ca e Fe gluconato: rigonfiano
Aspetto vetroso: $Na_2B_4O_7$	Carboidrati: caramellizzano	$Pb(COO)_2$ giallo+metallico grigio
Sublimazione: NH_4Cl (e sali di Hg)	Sulfamidici: rigonfiano carbonizzando	
Residui colorati: Bi_2CO_3 e Bi_2O_3	Ammine: odore di NH_3 o sgradevole	
Colorazione a caldo che scompare a freddo (giallo): Ti_2O , ZnO		

✚ Saggio di Lassaigne (analisi elementare: N, S, Alogeni, P, As)

SOTTO CAPPА IN ASPIRAZIONE CON OCCHIALI DI PROTEZIONE, una aliquota di sostanza (50-100 mg) viene messa in provetta da saggio asciutta (vetro 16x10) e pulita introducendo un piccolo pezzettino di sodio metallico tenendo la provetta inclinata e scaldando il fondo su fiamma libera (occhiali di protezione!) fino a fusione completa; la provetta diventa rossa sul fondo con la sostanza completamente disgregata. A questo punto s'immerge la provetta arroventata in un becker da 25 ml contenente 10 ml di H₂O in modo da causare la rottura della provetta e la liberazione in acqua del residuo (attenzione alla liberazione di H₂ !!!). Si filtra su filtro a pieghe di carta; la soluzione dev'essere limpida e incolore, altrimenti ripetere.

La soluzione acquosa di Lassaigne contiene: NaS, NaCN, NaX (X= Br, Cl, I), Na₃PO₄.

Si procede suddividendo la soluzione di L. in almeno tre porzioni uguali. Due provette per il riconoscimento di N e di S; una provetta per alogenuri (Cl⁻, Br⁻ e I⁻) solo se N e/o S sono assenti; il saggio per i Fosfati si esegue sulla sostanza come tale seguendo il saggio dei fosfati inorganici (vedi oltre).

✓ Ricerca dell'azoto:

Pochi ml della soluzione alcalina di L. (1-2 ml) vengono addizionati di una piccola aliquota di FeSO₄ (punta di spatola) che generalmente dà luogo ad un ppt gelatinoso verde-azzurro di FeOH₂ e, in presenza anche di zolfo, a un ppt nero di FeS. La soluzione viene portata a ebollizione (b.m.) per alcuni minuti in modo da ossidare i sali ferrosi a ferrici, ppt rosso-bruno di Fe(OH)₃, e dopo successivo raffreddamento si aggiunge qualche gc. di H₂SO₄ 2N. Si forma una colorazione o ppt blu per formazione di ferrocianuro ferrico (Fe₄[Fe(CN)₆]₃ o Blu di Prussia) come positività della presenza di azoto.

✓ Ricerca dello zolfo:

Alcuni ml di soluzione di L. (1-2 ml) vengono trattati con un cristallino di Na-Nitroprussiato. Il saggio è positivo se si sviluppa un'intensa colorazione rosso-violetta (anche se a volte tende a scomparire).

✓ Ricerca degli alogeni: (Cl⁻, Br⁻, I⁻, F⁻)

-Se N e S assenti: si aggiunge HNO_3 2N fino a $\text{pH}=0$ (cartina tornasole rossa) e successivamente AgNO_3 al 4%. Si osserva un ppt caseoso:

AgCl (cloruri): bianco solubile in NH_4OH 2N.

AgBr (bromuri): bianco-giallino solubile solo in NH_4OH conc.

AgI (ioduri): giallo insolubile sia in NH_4OH dil. che in NH_4OH conc.

AgF (floruri): NON dà ppt in quanto troppo solubile, si procede come sotto!

N.B.: il test di solubilità con idrossido d'ammonio è meglio effettuarli dopo aver eliminato parte della soluzione soprastante il ppt.

-Se N e/o S presenti: siccome interferiscono i sali di AgCN (ppt bianco) e/o AgS (ppt marrone) che si formerebbero nel saggio di precipitazione, è meglio effettuare il saggio di riconoscimento con il filo di Beilstein (solo per Cl^- e Br^-) e i saggi per gli alogenuri inorganici per via umida (vedi oltre).

✓ Ricerca dei fluoruri:

La soluzione acq. della sostanza (1-2 ml) si acidifica con CH_3COOH 2N e riscaldata qualche minuto a b.m. Una volta raffreddata, si aggiunge qualche gc. di una soluzione acquosa di CaCl_2 (73.5 g/L). Si forma un ppt gelatinoso di CaF_2 .

✓ Ricerca dei fosfati:

Trattandosi esclusivamente di fosforo inorganico è preferibile eseguire i saggi direttamente sulla sostanza per i fosfati inorganici (vedi oltre).

PROVE DI SOLUBILITÀ DELLE SOSTANZE ISCRITTE NELLA E.P. VIII ED.

Una piccola aliquota della sostanza in esame (10-50 mg) viene introdotta in una provetta da saggio e si valuta la sua solubilità in 2-4 ml di H₂O, HCl 2N, NaOH 2N, NaHCO₃ oppure in EtOH.

Se solubile in acqua si misura il *pH* con la cartina tornasole per determinare la natura della sostanza; in seguito si va in tabella per “inquadrare” la sostanza.

In generale:

ORGANICHE E METALLO ORGANICHE

	SOLUBILI IN H ₂ O			SOLUBILI IN BASI	SOLUBILI IN ACIDI	ANFOTERE	INSOLUBILI
	pH acido	pH neutro	pH basico				
SOSTANZA	Acidi carbossilici vari (ac. citrico, tartarico, ascorbico, etc.)	Zuccheri, Mannitolo e Sorbitolo, Nicotinammide e Isoniazide	Basi organiche idrofile (Efedrina base, Fenilefrina base, etc.)	Propil-e metil-p-OH benzoato, Ac. acetilsalicilico e altri acidi aromatici, Sacarina, Indometacina	Ammine alifatiche e aromatiche varie	Sulfamidici Aminoacidi	Testosterone Desametasone Menadione, Nicosamide Nifedipina
	Sali di basi organiche azotate (cloridrati, solfati, etc.)	Sali metallici di acidi organici (Benzoato, citrato e salicilato di sodio)	Amminofillina				

RICERCA DEI PRINCIPALI CATIONI PRESENTI IN E.P. VIII Ed.

✚ Saggio alla fiamma con filo di Ni-Cr:

Una piccola aliquota di sostanza (qualche cristallo) viene prelevata con fili di Ni-Cr e si pone sulla fiamma del bunsen, prima alla base della fiamma e poi nella zona più alta di fusione. Il filo viene immerso in HCl 6N e si riesamina l'eventuale colorazione alla fiamma per evidenziare i cationi: Na^+ , K^+ , Li^+ , Ca^{2+} , Ba^{2+} .

- Na^+ : giallo-arancio intenso e persistente
- K^+ : violetto
- Li^+ : rosso vivo
- Ca^{2+} : rosso-mattone poco persistente a sprazzi
- Ba^{2+} : verde debole (il Solfato di Bario deve venir ridotto a Solfuro prima su fiamma riducente del cono centrale della fiamma)

✚ Saggio per Al^{3+}

1) A ≈ 2 ml di soluzione acquosa della sostanza in esame (15 mg) si aggiunge un equal volume di NH_4Cl al 10% in NH_4OH 2N (preparata a parte extempore aggiustando il pH a 8.5).

Si osserva la formazione di un ppt gelatinoso bianco di $\text{Al}(\text{OH})_3$ (poco "consistente") che si ridiscioglie per aggiunta sia di acidi che di basi (comportamento anfotero)!

2) A 2 ml di soluzione acquosa della sostanza in esame (15 mg) si aggiungono ≈ 0.5 ml di HCl 2N e ≈ 0.5 ml di soluzione di solfuro di sodio (Na_2S). Si forma Al_2S_3 solubile che per aggiunta di una soluzione di NaOH 2N precipita sottoforma di $\text{Al}(\text{OH})_3$ bianco gelatinoso che si ridiscioglie per aggiunta sia di acidi sia di basi (comportamento anfotero)!

Saggio per Zn²⁺

1) Si aggiunge, alla soluzione acquosa o acida della sostanza in esame, un egual volume di NH₄Cl al 10% in NH₄OH 2N fino a pH alcalino (tampone 8.5). Si tratta con una soluzione di sodio solfuro (come per Al³⁺ saggio 2) a b.m. per qualche minuto, osservando la formazione di un ppt bianco di ZnS.

2) Una aliquota della sostanza in esame (50 mg) vengono solubilizzati in H₂O (o HCl 2N e poi diluito con H₂O) e si aggiungono 2 ml di NaOH 10N. Si forma un ppt bianco di Zn(OH)₂ (a pH=8.5) che si ridiscioglie per aggiunta di ulteriore sodio idrossido (comportamento anfotero!); tamponando nuovamente a pH 8.5 con NH₄Cl e aggiungendo Na₂S (poche gc.) precipita ZnS bianco fioccoso.

Saggio per Mg²⁺

Si sciolgono 20 mg di sostanza in esame in 2 ml di H₂O (o HNO₃ 2N e poi neutralizzato con NaOH 2N) si aggiungono 1-2 ml di NH₄OH 6N. Si forma un ppt bianco che si scioglie per aggiunta di NH₄Cl 10%; si aggiungono 1-2 ml di sodio fosfato acido (9% acq.) e si forma un ppt bianco cristallino di fosfato ammonico magnesiacco.

Saggio per Ca²⁺

La sostanza in esame (20 mg) viene solubilizzata in 2 ml di acido acetico 2N aggiungendo poi una soluzione di ossalato di ammonio (4% acq.).

Precipita un solido bianco di Ca(COO)₂.

N.B.: Il Ca-gluconato dà saggio negativo!

Saggio per Bi³⁺

a) Un'aliquota di sostanza (50 mg) viene addizionata con 1-2 ml di HCl 2N in provetta da saggio e portata all'ebollizione a b.m. per ≈1minuto. Se necessario, dopo raffreddamento, si filtra e il filtrato si diluisce con 2 ml di H₂O. Si addizionano 1-2 gc. di Na₂S e si forma un ppt marrone-nero per formazione di Bi₂S₃ (differenza dall'Al³⁺ nota 2).

b) 50 mg di sostanza vengono addizionati di 2-3 ml di HNO_3 dil. e portati all'ebollizione su b.m. fino a dissoluzione. Se necessario, dopo raffreddamento, si filtra e il filtrato si tratta con una soluzione acquosa (10% in H_2O), preparata al momento dell'uso, di tiourea. Si forma una colorazione (o ppt) giallo intenso.

Saggio per Ba^{2+}

a) La sostanza viene trattata con 5 ml di Na_2CO_3 al 50% (sol. satura) a b.m. per 5-10 minuti; si filtra e:

- La soluzione contiene Na_2SO_4 , per cui è positiva al saggio per i solfati (vedi oltre);
- Il ppt sul filtro, viene lavato con poca H_2O , portato in provetta e addizionato di 5 ml di HCl 2N; eventualmente si filtra nuovamente e sul filtrato si aggiungono 2-3 gc. di H_2SO_4 2N; si forma un ppt bianco di BaSO_4 insolubile in HCl conc.

b) I sali di Ba^{2+} colorano la fiamma di verde.

Saggio per ione NH_4^+

Alcuni mg di sostanza si solubilizzano in 2 ml di H_2O e addizionati di 2 ml di NaOH 2N. Riscaldando a b.m. si sviluppano vapori dall'odore ammoniacale che colorano di blu la cartina tornasole posta all'imboccatura della provetta.

RICERCA DELLE PRINCIPALI SPECIE ANIONICHE PRESENTI IN E. P. VIII Ed.

✚ Saggio di Beilstein con filo di rame (poco indicativo, no per sostanze inorganiche!)

Analogamente al filo di Ni-Cr si preleva una piccola aliquota di sostanza con filo di rame (dopo averlo pulito su fiamma da residui vari o con un pezzettino di carta vetrata) e si pone sulla fiamma diretta (**senza passarla in HCl !!!**) per evidenziare la presenza di alogeni per formazione dei derivati volatili (CuCl_2 , CuBr_2 , CuI_2 e CuF_2) reameici corrispondenti.

La fiamma assume un colore verde (bromo dà colorazione più azzurra!).

N.B.: F^- colorazione labile; inoltre alcuni composti danno falsi positivi per formazione di CuCN verde alla fiamma (tiourea, chinoline); negativo per inorganici!

Confermare e discriminare con i saggi per via umida!!

✚ Anioni inorganici: cloruri, bromuri, ioduri (Cl^- , Br^- , I^-) e fluoruri(F^-)

1) Cloruri, bromuri e ioduri: A 2 ml della soluzione acquosa della sostanza, si addiziona qualche ml di HNO_3 2N (fino $\text{pH}=0$) e qualche gc. di AgNO_3 al 4% acquosa;

- Cl^- : precipitato bianco di AgCl solubile in NH_4OH 2N;
- Br^- : precipitato giallino di AgBr che si scioglie solo in NH_4OH conc.
- I^- : precipitato giallo che non si scioglie neanche in NH_4OH conc., ma solo in $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ acq.

2) Solo per bromuri e ioduri:

- La soluzione acq. della sostanza (1-2 ml) si acidifica con H_2SO_4 2N e si aggiungono 2 ml di Cloramina T (ossidante) e poi 1 ml di diclorometano (CH_2Cl_2). La fase organica sottostante si colora di arancio-bruno se presenza di Br^- o di viola se presenza di I^- .

3) Solo per Floruri:

- La soluzione acq. della sostanza (1-2 ml) si tratta con qualche gc. di una soluzione acquosa di CaCl_2 (73.5 g/L). Si forma un ppt gelatinoso di CaF_2 .

✚ Saggio per carbonati e bicarbonati (CO_3^{2-} , HCO_3^-)

Una porzione della sostanza (20 mg) viene trattata con H_2O e 1 ml di HCl 2N. Si nota effervescenza dovuta a liberazione di CO_2 .

- Distinzione CO_3^{2-} da HCO_3^- : La sostanza in esame (20 mg), sciolta in H_2O , viene trattata con qualche gc. di Fenolftaleina. Se carbonati si sviluppa colorazione rosso-porpora (pH=12 della soluzione in esame); se bicarbonati la soluzione risulta incolore o debolmente colorata di rosa (pH=9 della sol. in esame).

✚ Saggio per nitrati (NO_3^-)

SOTTO CAPP, OCCHIALI+GUANTI. La soluzione acquosa della sostanza (20 mg/ml) viene addizionata di ≈ 1 ml di soluzione di FeSO_4 preparata al momento (1-2 ml di H_2O e una punta di spatola di FeSO_4). Si fanno percolare lentamente, lungo le pareti della provetta, 0.5-1 ml di H_2SO_4 conc. che stratifica sul fondo lasciando all'interfaccia la formazione di un anello bruno molto labile (complessi ferro-nitrosilici). NON AGITARE LA PROVETTA!!

N.B.: La E.P. riporta la procedura opposta (aggiunta iniziale di acido e poi di FeSO_4).

✚ Saggio per fosfati (PO_4^{3-})

1) A 2 ml di una soluzione acquosa neutra (o acida) della sostanza in esame, si aggiungono ≈ 2 ml di AgNO_3 4%. Si riscalda a b.m. e si forma un ppt giallo che si scioglie per riscaldamento in NH_4OH 10N (a differenza dell'AgI sempre giallo che però non si scioglie nemmeno in NH_4OH 10N).

2) Si mescolano ≈ 1 ml della soluzione in esame (acquosa neutra o acida) con ≈ 2 ml di reattivo molibdico e si riscalda a lungo a b.m. Si forma un ppt giallo che si scioglie in ambiente basico (NH_4OH 2N).

N.B.: per fosfati organici (es. Ca-glicerofosfato) è necessaria una breve idrolisi di sostanza in pochi ml di HNO_3 conc. a caldo (b.m. per 1 min) per poi eseguire il saggio sulla soluzione con il r. molibdico.

Saggio per solfati (SO_4^{2-})

A 20 mg della sostanza in esame sciolta in acqua (o la soluzione come prescritta da E.P.), si aggiungono 1-2 ml di HCl 2N e 1 ml di BaCl (6% acq.). Si forma un ppt bianco di BaSO_4 insolubile in HCl conc. anche a caldo.

Saggio per acetati

Si mette in capsula di porcellana qualche mg di sostanza in esame con altrettanto di acido ossalico. Triturando la miscela secca ed eventualmente scaldando brevemente la capsula (in particolare per acetati organici), si sviluppa odore caratteristico di aceto.

Saggio per borati (Ac. Borico e Borace)

SOTTO CAPPAA, OCCHIALI: H_3BO_3 oppure $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$: 20 mg di sostanza vengono introdotti in capsula di porcellana e addizionati di ≈ 1 ml di metanolo e 5 gc. di H_2SO_4 conc. Si esegue il saggio sotto cappa, provvedendo ad incendiare la soluzione; si sviluppano fiamme colorate di verde per formazione di borato di metile.

N.B.: Solo per il borace: una soluzione acquosa della sostanza in esame viene addizionata di fenolftaleina. Si sviluppa colorazione rosso porpora che scompare per acidificazione con HCl dil. (ac. borico dà saggio negativo!)

N.B.: Il borace al saggio della fiamma, con filo di Ni-Cr, forma una "perla" vetrosa e sviluppa la colorazione gialla tipica del Na^+ .

RICERCA DELLA INSATURAZIONE OLEFINICA (doppio legame)

1) La soluzione acquosa della sostanza in esame (10 mg in 5 ml di acqua) viene addizionata di qualche gc. di acqua di Br₂. Si osserva decolorazione della soluzione bruna addizionata!

Se trattasi di molecola aromatica, spesso si forma anche un ppt e il pH della soluzione risulta acido (per formazione di HBr)!

2) La soluzione acida della sostanza in esame (20 mg in 2 ml di H₂SO₄ 2N) viene addizionata di poche gc. di una soluzione di KMnO₄ 0.1 M. Si osserva decolorazione della soluzione viola aggiunta (o colorazione marrone-chiaro)!

SAGGI DEI GRUPPI FUNZIONALI

✚ Saggio di riconoscimento dei polialcoli (Sorbitolo*, Mannitolo*, Acido tannico)

Una soluzione al 5% di borace ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) viene addizionata di qualche gc. di fenolftaleina soluzione e successivamente con 1-2 ml della soluzione acquosa in esame. Si noterà decolorazione della soluzione viola di fenolftaleina.

* Vedi anche Saggio di Fehling.

✚ Saggio generale di riconoscimento di alcoli aromatici (fenoli e derivati aromatici ossidrilati), acidi carbossilici aromatici e amminoacidi con FeCl_3

a) Ad 1 ml di soluzione acquosa (o sospensione) o etanolica, della sostanza in esame, si aggiungono 2 gc. di soluzione di FeCl_3 al 8% acq. e si osservano le colorazioni che si sviluppano. Reagiscono anche l'Ac. benzoico e gli amminoacidi.

SOSTANZA	COLORAZIONE
AC. SALICILICO, SALICILATO di SODIO, AC. ACETILSALICILICO*	VIOLA INTENSO (*solo dopo riscaldamento a b.m. per idrolizzare l'acetile)
FENOLO, RESORCINA	VIOLA
Metil- <i>p</i> -OH BENZOATO e Propil- <i>p</i> -OH BENZOATO	ROSSO-BRUNA
<i>p</i> -AMMINOSALICILATO di SODIO	ROSSO SANGUE
Bi-SALICILATO	(ppt) VIOLA
PARACETAMOLO	AZZURRO-GRIGIO SCURO
AC. BENZOICO BENZOATO di SODIO	ppt ROSSO RUGGINE e ppt ROSA CARNE
ACIDO TANNICO	AZZURRO-NERO
Amminoacidi	ROSSA che scompare per H^+
FENILEFRINA	BLU-VIOLA

✚ Saggio di Liebermann (indofenolo) per fenoli con posizione para-libera (fenolo, resorcina, ecc..)

SOTTO CAPPACCIA OCCHIALI DI PROTEZIONE. 20 mg di sostanza si solubilizzano in 1 ml di H₂O e si aggiungono 2-3 gc. di reattivo di Liebermann preparato extempore (1 ml di H₂SO₄ dil.+ 20 mg di NaNO₂). Si ottiene colorazione rosso scuro che vira al verde bruno per alcalinizzazione con NaOH 2N (controllare il pH).

✚ Saggio di Millon per fenoli con posizione para-occupata (Metil e Propil *p*-OH benzoato, Paracetamolo, Vanillina)

A 2 ml di soluzione etanolica di sostanza in esame (50 mg) vengono aggiunti 2 ml di reattivo di Millon. Si forma istantaneamente un ppt giallo che, per riscaldamento a b.m. colorerà di rosso-viola la soluzione soprastante (si nota bene dopo raffreddamento).

N.B.: La vanillina dà reazione più lenta e può anche non formarsi la colorazione rossa!

✚ Reazione di riduzione gruppo NO₂ ad ammina (es. Metronidazolo, Niclosamide, Nifedipina)

A 50 mg di sostanza sciolta in 1 ml di H₂O o EtOH, si aggiungono 10 mg di Zn limatura e 1 ml di HCl 2N. Si scalda per qualche minuto a b.m. e, dopo raffreddamento e filtrazione, la soluzione darà positivo il saggio di diazocopolazione con sol. acquosa di NaNO₂ e β-Naftolo (vedi sotto).

✚ Reazione di diazocopolazione per ammine I^a aromatiche (Benzocaina, Procaina, procainammide, dapsone, *p*-aminosalicilato di sodio e sulfamidici) e nitrogruppi ridotti ad ammine I^a (vedi sopra).

10 mg di sostanza in esame vengono solubilizzati in ≈1 ml di HCl 2N. Si aggiungono poche gc. di NaNO₂ al 10% in acqua preparata al momento. Eventualmente si raffredda la provetta e si aggiunge 1 ml di β-Naftolo 5% (sol. in H₂O/NaOH 2N 6:4 già pronta). Si sviluppa una colorazione (o ppt) rosso-arancio.

N.B.: I sulfamidici con funzione amminica II°, devono essere prima idrolizzati con NaOH (vedi oltre).

✚ Reazione generale di riconoscimento per ammine III° aromatiche, eterocicliche e alifatiche (anche alcaloidi)

Alcuni mg di sostanza in esame vengono sciolti in 5 ml di H₂O (+ HCl se necessario) o EtOH:

a) Formazione di sali colorati:

- La soluzione della sostanza in esame viene addizionata di 1 ml di soluzione di iodobismutato di potassio (r. di Dragendorff) si forma un precipitato giallo-arancio o rosso-arancio.
- La soluzione della sostanza in esame viene addizionata di 1 ml di reattivo di Bouchardat (iodo-iodurata). Si forma un ppt rosso-scuro.
- La soluzione della sostanza in esame viene addizionata di 1 ml di reattivo di Mayer (K-iodo-mercurato). Si forma un ppt bianco o crema.

b) Sciogliere, a b.m., 100 mg di acido citrico in 5 ml di anidride acetica, quindi aggiungervi 20 mg di sostanza e continuare a riscaldare fino alla comparsa di una colorazione rosso-porpora intensa.

N.B.: Ammine I° e II° non reagiscono!

✚ Reazione degli acidi idrossamici (per esteri e ammidi; es. Indometacina, Propil- e Metil-*p*-idrossibenzoato, procaina, penicilline, etc..)

30 mg di sostanza si solubilizzano nel minimo di H₂O o EtOH e si addizionano 0.5 ml di idrossilammina cloridrato (sol. acq. 7%) e qualche ml di NaOH 2N, fino a viraggio alcalino (3 gc. in eccesso). Si scalda per 1-2 min. a b.m., si raffredda, quindi si aggiunge HCl 6N gc. a gc. fino a pH=3. Si aggiungono 2-3 gc. di FeCl₃ 8 % acq. ottenendo una colorazione rosso-bruno oppure viola intensa (a seconda del composto in esame). Danno reazione positiva quasi tutti i derivati che reagiscono con FeCl₃. (fenoli, polialcoli, acidi aromatici, etc.). E' un saggio molto sensibile al pH.

✚ Saggio generale di riconoscimento degli amminoacidi

a) Saggio della ninidrina (solo per α -amminoacidi): 50 mg di sostanza in esame vengono addizionati di 1 ml di ninidrina (sol. etanolica) e si scalda su b.m. per qualche minuto (attenzione!!). Si sviluppa una colorazione intensa blu-viola, ma anche rosso-intenso (Cisteina cloridrato) o giallo (Prolina e Idrossiprolina).

Alcuni sali di ammonio possono dare reazione positiva e alcune ammine aromatiche possono dare colorazioni giallo-arancio.

b) Saggio del Biureto: ad una soluzione acquosa della sostanza in esame (20 mg in 1-2 ml), si aggiungono 1-2 gc. di soluzione di CuSO_4 (sol. acq. 12%). Si sviluppa colorazione blu intensa che vira si intensifica per alcalinizzazione con NaOH 2N (Calcio Pantotenato dà saggio positivo ma con colorazione meno intensa).

SAGGI SPECIFICI DI RICONOSCIMENTO DI COMPOSTI ISCRITTI IN E.P. VIII Ed.

+ Reazione generale di riconoscimento per gli zuccheri con reattivo di Molisch (Glucosio, Fruttosio, Lattosio, Saccarosio)

SOTTO CAPPAA, OCCHIALI DI PROTEZIONE e GUANTI. La soluzione acquosa della sostanza in esame (50 mg in 2 ml) viene trattata con 2 gc. di reattivo di Molisch (α -Naftolo) e poi con 2 ml di H_2SO_4 conc. facendolo percolare lentamente lungo le pareti della provetta in modo che si stratifichi sul fondo. All'interfaccia si forma un anello viola.

N.B.: Mannitolo, Sorbitolo e Sucralosio danno un anello verde.

+ Reazione di Fehling per gli zuccheri riducenti (Glucosio, Fruttosio, Lattosio, Saccarosio e Sucralosio)

Una soluzione acquosa della sostanza in esame (50 mg/ml) viene addizionata di parti uguali (1 ml + 1 ml) di reattivo di Fehling A ($CuSO_4$ acq.) e Fehling B (tartrato di Na/K acq.-NaOH). Per riscaldamento a b.m. si decolora la soluzione blu e precipita Cu_2O rosso-mattone.

N.B.: il Saccarosio e il Sucralosio danno reazione positiva solo dopo idrolisi trattando la soluzione acquosa della sostanza con 1 ml di HCl 2N a b.m. per qualche minuto e poi neutralizzata con NaOH; si procede con il reattivo di Fehling.

*N.B.: Il Mannitolo e il Sorbitolo danno saggio positivo solo dopo ossidazione della sol. acquosa con 1-2 ml di H_2O_2 al 3%.

+ Reazione di Seliwanoff per il riconoscimento dei chetoesosi (Fruttosio, Saccarosio)

Si sciogono 0.5 g di sostanza in 1 ml di H_2O e si aggiungono 0.5 g di resorcina e 5 ml di HCl 2N scaldando a b.m. per 2 minuti. Si osserva colorazione rossa.

✚ Reazione specifica di riconoscimento del Lattosio

Si sciolgono 50 mg di sostanza in 1 ml di H₂O e 1 ml di NH₄OH 6N. Si scalda a lungo a b.m. e si ottiene una colorazione rossa per la presenza di lattosio.

✚ Reazione di riconoscimento dei citrati (Ac. citrico, Citrato di litio, Citrato di sodio e Citrato di potassio)

a) 50 mg di sostanza vengono solubilizzati in 1-2 ml di H₂O e si addiziona NaOH 2N fino a pH alcalino e 1-2 ml di soluzione acquosa al 7% di CaCl₂. (Precipita un solido bianco intenso di Citrato di Calcio poco solubile.

b) (no E.P.) La soluzione acquosa della sostanza in esame (50 mg in 1-2 ml) viene addizionata con 2 gc. di reattivo di Deniges. Si scalda a b.m. per qualche minuto, quindi si aggiungono alcune gc. di KMnO₄ (3% acq.) senza agitare. Si osserva decolorazione e formazione di un ppt bianco sulla parte superiore della provetta (positivo per Clorbutanolo).

c) (no E.P.) Una quantità equimolare (1:1) di sostanza in esame e di urea vengono riscaldati in capsula sotto cappa a fusione (senza carbonizzare !!!); si riprende con qualche ml di H₂O e si versa in provetta. La soluzione dà una fluorescenza blu a $\lambda = 365$ nm.

✚ Reazione di riconoscimento dei lattati (Calcio lattato)

a) La soluzione acquosa della sostanza in esame (50 mg in 1-2 ml) viene trattata con 1-2 ml di soluzione iodo-iodurata (r. di Bouchardat) ed un leggero eccesso di NaOH 2N. Si ottiene un ppt giallo di iodoformio.

N.B.: Saggio per distinguere dal Ca-gluconato che non reagisce! Clorbutanolo dà saggio positivo!!

b) SOTTO CAPPÀ, OCCHIALI DI PROTEZIONE. Reazione di Mohler: si mettono, in capsula di porcellana, 20 mg di sostanza in esame con 100 mg di resorcina (o guaiacolo); si aggiungono 1-2 ml di H₂SO₄ conc. e si scalda (sotto cappa) su fiamma diretta. Si ottiene un'intensa colorazione rossa.

N.B. Tartrati danno saggio positivo!!

✚ Reazione di riconoscimento del Ca-pantotenato

a) Saggio del Biureto: 20 mg in ≈ 1 ml di H_2O e aggiungere 1 ml di NaOH 2N e 1-2 gc. di $CuSO_4$ (sol. acq. 12%). Si sviluppa debole colorazione blu che vira all'azzurro per acidificazione con HCl 2N.

b) Saggio degli acidi idrossammici (vedi prima) positivo con colore rosso.

✚ Reazione di riconoscimento del Ca-glicerofosfato (positivo anche per Ca-lattato)

SOTTO CAPP, OCCHIALI DI PROTEZIONE, MASCHERINA FFP3. Reazione di Simon-Awe: 100 mg di sostanza in esame vengono addizionati di altrettanti mg di $KHSO_4$ in provetta da test e portata a fusione su fiamma diretta. I vapori che si sviluppano, a contatto con una carta da filtro imbevuta di una soluzione preparata al momento di Sodio Nitroprussiato (NPS: 1% acq.) e Piperidina idrata (1:1), colorano di blu la carta posta all'imboccatura della provetta.

Positivo il saggio dei fosfati (reattivo molibdico) dopo breve idrolisi di 100 mg in 5 ml di HNO_3 conc. a b.m. per 1 minuto.

N.B.: Ca-lattato dà anche saggio positivo!!!

✚ Reazione di riconoscimento dei salicilati (Ac. salicilico e Acetilsalicilico*, Salicilato di sodio, *p*-Amminosalicilato di sodio) e benzoati (Ac. benzoico, Benzoato di sodio)

A 1 ml di soluzione della sostanza in esame (in acqua o EtOH) si aggiungono 0.5 ml di soluzione acquosa all' 8% di $FeCl_3$. Si forma una colorazione violetta persistente (rosso ruggine per l'acido benzoico; rosa-carne per il benzoato di sodio; rosso-sangue per il *p*-ammino salicilato di sodio). *L'acido acetilsalicilico dà colorazione viola dopo riscaldamento a b.m.

N.B.: Il *p*-amminosalicilato di sodio dà positiva anche la prova delle ammine I° (diazocopolazione).

✚ **Reazione di riconoscimento dell'Acido ascorbico (vitamina C)**

a) Reazione F.U. di riconoscimento: 50 mg della sostanza in esame vengono solubilizzati in 1 ml di H₂O e addizionati di 3-4 gc. di HNO₃ 2M e altrettante di una soluzione di AgNO₃ 0.1M . Si forma un ppt grigio di Ag°.

b) Saggio di Legal (no E.P.) : 50 mg di sostanza si solubilizzano in 1 ml di H₂O e si addizionano 2 ml di NaOH 2N e qualche cristallo di Sodio Nitroprussiato. Si forma una colorazione gialla che per acidificazione con HCl dil. vira al viola.

✚ **Reazione di riconoscimento dei tartrati (Tartrato di potassio, Ac. tartarico)**

a) Reazione di Fenton: 25 mg della sostanza in esame si sciolgono in 2 ml di acqua; si aggiungono 1-2 gc. di soluzione acquosa di FeSO₄ (1%) preparata al momento e 1-2 gc. di H₂O₂ al 3%. Si ottiene una colorazione giallina (che tende a scomparire). Si aggiunge gc. a gc. NaOH 2N osservando la formazione graduale di una colorazione viola (per i sali può comparire anche senza l'aggiunta di NaOH).

b) Danno saggio di Mohler positivo!

✚ **Reazione di riconoscimento dei sulfamidici (sulfanilamide, sulfatiazolo, sulfadiazina, sulfamerazina, Sulfaguanidina, Ftalilsulfatiazolo, ecc.)**

Danno reazioni delle **ammine I^a aromatiche**, in particolare:

a) Diazo-copulazione (vedi prima).

b) Formazione della base di Schiff: 50 mg della sostanza vengono solubilizzati con una soluzione acquosa acida per H₂SO₄ dil. Si aggiunge qualche gc. di una soluzione diluita (50 mg in 2 ml di H₂O) preparata al momento, di *p*-dimetilamminobenzaldeide. Si ottiene una colorazione arancione.

N.B.: Il ftalilsulfatiazolo e il succinilsulfatiazolo, per entrambi i saggi, devono essere prima idrolizzati (essendo ammine II°) in questo modo: 50 mg di sostanza si addizionano di 2 ml di NaOH 5N (1 ml NaOH 10N + 1 ml H₂O) e si mette a b.m. per 10 minuti. Dopo

raffreddamento si aggiunge HCl 6N per portare a pH acido (≈ 3) prima di eseguire la reazione delle ammine I° di diazocopolazione, o H₂SO₄ dil. per il test della base di Schiff.

N.B.: La sulfasalazina dà entrambe le reazioni negative!

c) Solo per il **Sulfatiazolo**, **Ftalilsulfatiazolo** e **Succinilsulfatiazolo**: 20 mg di sostanza in esame vengono solubilizzati in 5 ml di H₂O e poche gc. di NaOH 2N. Si aggiungono poche gc. di CuSO₄ soluz. al 12% e si ottiene precipitato blu-grigio.

d) I sulfamidici danno reazione positiva (di Rodillon) con acqua di Br₂; 10-20 mg di sostanza vengono solubilizzati in 1 ml di H₂O e addizionati di qualche gc. di acqua di Br₂. Si decolora la soluzione di bromo e si forma un ppt bianco (in più la soluzione dà pH acido alla cartina tornasole (per formazione di HBr).

N.B.: Ftalilsulfatiazolo dà saggio negativo; Idroclorotiazide dà saggio positivo.

Saggio generale di riconoscimento degli alcaloidi

Danno i saggi generali delle ammine III° visti prima: formazioni di sali colorati con reattivi inorganici e reazione con anidride acetica/acido citrico.

Reazione di riconoscimento degli alcaloidi chinolinici (Chinina solfato e Chinidina solfato)

a) A 5 ml di soluzione acquosa della sostanza in esame (5 mg) si aggiunge qualche gc. di acqua di Br₂ e 1 ml di NH₄OH 2N. Si sviluppa un'intensa colorazione verde smeraldo chiaro.

b) 1-2- mg di sostanza vengono addizionati di 5 ml di H₂SO₄ 2N. Si sviluppa fluorescenza blu che si osserva alla lampada UV a 365 nm con schermo di protezione. La fluorescenza scompare per aggiunta di 1 ml di HCl 2N.

N.B.: La Cloroquina dà negativi entrambi i saggi.

- Positiva la reazione di riconoscimento dei solfati.

Reazione di riconoscimento degli alcaloidi isochinolinici (Papaverina cloridrato)

a) Reazione della Coralina: SOTTO CAPP, OCCHIALI DI PROTEZIONE. 20 mg di sostanza si trattano con ≈ 1 ml di anidride acetica e, cautamente, con 2-3 gc. di H_2SO_4 conc. Si riscalda a b.m. e si ottiene una colorazione gialla con fluorescenza verde che si osserva alla lampada UV a $\lambda = 365$ nm con schermo di protezione.

b) Reazione con Ferricianuro di Potassio: 20 mg di sostanza si disciolgono in 5 ml di H_2O e si aggiunge qualche goccia di HCl 2N e alcune gc. di una soluzione all'1% in acqua di $K_3[Fe(CN)_6]$ (preparata al momento). Si forma immediatamente un ppt giallo limone.

+ Reazione di riconoscimento degli alcaloidi fenilalchilamminici (Efedrina cloridrato, Fenilefrina cloridrato, Fenilpropanolamina cloridrato)

a) Reazione di Chen-Kao: 20 mg di sostanza si sciolgono in 1 ml di H_2O e si aggiunge qualche gc. di $CuSO_4$ (sol. acq. 12%) e 1 ml di NaOH 10N. Si ottiene una colorazione viola. Si aggiunge etere etilico (2 ml), dibattendo la provetta per favorire l'estrazione.

Efedrina: La soluzione assumerà una colorazione viola, mentre la porzione acquosa sottostante si colorerà di blu.

Fenilefrina: colorazione violetta non estratta dall'etere etilico che rimane incolore.

Fenilpropanolamina: ppt azzurro-blu con la fase eterea incolore.

b) Solo Fenilefrina: colore blu-viola al saggio con $FeCl_3$.

+ Reazione di riconoscimento degli alcaloidi tropanici (Atropina, Metilatropina, Omatropina, Scopolamina, Iosciamina solfati/bromidrati/bromuri) e degli anestetici locali (Procaina, Lidocaina, Tetracaina cloridrati)

SOTTO CAPP, OCCHIALI DI PROTEZIONE. Saggio di Vitali-Morin: 5-10 mg di sostanza in esame vengono trattati con 0.5 ml di HNO_3 conc. su capsula di porcellana ed evaporati su fiamma diretta senza carbonizzare. Il residuo giallastro, dopo raffreddamento, viene solubilizzato in 2 ml di acetone e addizionato di alcune gc. di una soluzione di KOH in EtOH al 3% fino ad ottenere una colorazione rosso-violetta (giallo-verde per Lidocaina). N.B.: danno saggio positivo anche le penicilline e procainammide.

+ Reazione di riconoscimento della muresside per le xantine (Caffeina, Teofillina, Teobromina, Amminofillina)

SOTTO CAPP, OCCHIALI DI PROTEZIONE. In capsula di porcellana si mettono 2-5 mg di sostanza con 1-2 gc. di H₂O₂ al 30% e 2-3 gc. di HCl 2N. Si fa evaporare a secchezza su bunsen e si ottiene un residuo rosso-giallastro (che è già indice di positività); dopo raffreddamento, si riprende con qualche gc. di NH₄OH 2N ottenendo una colorazione intensa rosso-porpora.

+ Reazione di riconoscimento dei derivati della piridina (Nicotinamide, Ac. nicotinic, Isoniazide e Piridossina) di Zincke

SOTTO CAPP, OCCHIALI DI PROTEZIONE. In provetta asciutta si mettono 10 mg della sostanza in esame e si aggiungono 10 mg di 2,4-dinitroclorobenzene. Si porta a fusione per pochissimi secondi su fiamma diretta e, dopo raffreddamento, si aggiungono 1-2 ml di KOH (sol. al 3% in EtOH). Si forma una colorazione rossa intensa.

N.B.: la Piridossina dà colorazione arancio in sospensione.

+ Reazione (di Gibbs) per il riconoscimento della Piridossina cloridrato

La sostanza in esame (50 mg) viene solubilizzata in 1 ml di CH₃COONa 5%. Viene aggiunto 1 ml di reattivo di Gibbs (2,6-diclorochinoclorimmide sol. 1% EtOH). Si osserva un'intensa colorazione verde-blu.

+ Reazione di riconoscimento specifica dell'Isoniazide

a) A 20 mg di sostanza sciolta in 1-2 ml di H₂O si aggiungono 2 ml di una soluzione di vanillina (preparata extempore: 1% in acqua calda); si lascia a b.m. qualche minuto. Si lascia a riposo, eventualmente fregando le pareti interne della provetta con una bacchetta di vetro, per indurre la cristallizzazione del derivato giallo cristallino. (Eventualmente filtrare e, dopo essiccazione del solido si può misurare il p.f. che deve corrispondere a: 227°C.)

b) Dà la reazione di Fehling e Tollens positiva (vedi carboidrati).

✚ Reazione di riconoscimento delle pirimidine (Tiamina cloridrato)

Reazione del Tiocromo: 10-20 mg di sostanza vengono sciolti in 2 ml di acqua e si aggiungono 0.5 ml di acido acetico 2N e \approx 1 ml di NaOH 2N. Si lascia riscaldare a b.m. per 30 minuti, quindi si aggiungono 2 ml di NaOH 2N, 3 ml di K-ferricianuro al 5% in H₂O preparata al momento e 3 ml di alcool *n*-butilico. Si agita per 2 minuti e si osserva fluorescenza azzurra dello strato alcolico, con lampada UV a 365 nm e schermo di protezione.

✚ Reazione di riconoscimento degli steroidi (Prednisone, Prednisolone, Prednisolone acetato, Metilprednisolone, Idrocortisone e Idrocortisone acetato, Cortisone acetato, Progesterone, Desametasone sodico, Spironolattone)

a) Una piccola quantità di sostanza (10-20 mg) viene posta in provetta asciutta ed addizionata di 2 ml di H₂SO₄ conc. Si osserva la colorazione che si sviluppa; si addiziona, con molta cautela, 1 ml di H₂O e poi altri 4 ml, osservando le modificazioni della colorazione e l'eventuale fluorescenza alla lampada UV a 365 nm con schermo protettivo.

b) Solo per steroli con gruppo OH libero in posizione 17 (es. prednisone e molti altri). Si solubilizzano 50 mg di sostanza in 2 ml di EtOH, si aggiunge qualche gc. di soluzione di tetrametilammonio idrossido al 10% e 1 ml di trifeniltetrazolio cloruro (TTC) (5g/L in etanolo). Si sviluppa colorazione rossa.

N.B. Interferiscono zuccheri e ac. ascorbico.

✚ Reazione di riconoscimento delle fenotiazine (Prometazina cloridrato, Clorpromazina cloridrato)

a) 20 mg della sostanza in esame vengono addizionati di 20 mg di clorammina T e \approx 1 ml di H₂O. Si scalda brevemente e si acidifica con HCl 2N ottenendo una colorazione rossa.

b) 20 mg di sostanza vengono sciolti in \approx 1 ml di H₂O e addizionati di poche gc. di acqua di Br₂. Si ottiene una colorazione rossa.

c) 20 mg di sostanza vengono solubilizzati in ≈ 1 ml di H_2O , quindi si aggiungono, gc. a gc., ≈ 1 ml di HNO_3 conc. Si sviluppa un ppt che si scioglie dando luogo ad una colorazione rossa che vira all'arancio e poi al giallo con contemporanea formazione di un ppt rosso-arancio.

N.B.: La fenotiazina dà colorazioni molto scure.

✚ Reazione di riconoscimento delle dibenzoazepine (Imipramina)

50 mg della sostanza in esame vengono addizionati a 1 ml (gc. a gc.) di HNO_3 conc. Si sviluppa un'intensa colorazione blu (stessa reazione delle fenotiazine).

✚ Reazione di riconoscimento di Sacarina (e suoi sali)

SOTTO CAPP, OCCHIALI DI PROTEZIONE. La sostanza in esame (10 mg) viene addizionata di un'eguale quantità di resorcina, in provetta. Si aggiungono ≈ 0.5 ml di H_2SO_4 conc. e si riscalda su fiamma diretta evitando la carbonizzazione. Si ottiene una colorazione verde-scuro. Dopo raffreddamento si versa, cautamente, lungo le pareti della provetta, 10 ml di una soluzione 1:1 di H_2O e $NaOH$ 2N fino a reazione alcalina. Si sviluppa una colorazione intensa verde che dà fluorescenza alla lampada UV a 365 nm con schermo protettivo.

✚ Reazione con Acido cromotropico (Idroclorotiazide, Penicilline e Cefalosporine)

SOTTO CAPP, OCCHIALI DI PROTEZIONE. Una piccola aliquota della sostanza (1-5 mg) vengono addizionati ad altrettanto sale sodico dell'ac. cromotropico e, successivamente, di ≈ 2 ml di H_2SO_4 conc. Si scalda a 150° in bagno di glicerina (oppure brevemente su fiamma diretta) e si osserva la comparsa di una colorazione che differisce a seconda della sostanza presente (marrone per Penicillina G, verde scuro per Ampicillina e viola per Idroclorotiazide). N.B.: positiva la reazione degli alcaloidi tropanici e degli acidi idrossammici.

Reazione di riconoscimento del Cloralio idrato

a) SOTTO CAPP, OCCHIALI DI PROTEZIONE. 20 mg di sostanza vengono addizionati a 20 mg di resorcina e si solubilizza il tutto in ≈ 1 ml di NaOH 2N. Per moderato riscaldamento su fiamma diretta si sviluppa una colorazione rossa.

b) SOTTO CAPP, OCCHIALI DI PROTEZIONE. Reazione di Ogston: ≈ 1 ml soluzione acquosa della sostanza vengono trattati con poche gc. di soluzione di Na₂S. Si sviluppa gradualmente una colorazione gialla che vira al rosso con formazione di un ppt rosso.

N.B.: dà positivo il saggio di Fehling.

Reazione di riconoscimento del Clorbutanolo

a) 20 mg della sostanza in esame vengono trattati con 3 ml di NaOH 2N e 5 ml di H₂O. Si aggiungono, gc. a gc., 2 ml di reattivo di Bouchardat; si forma un ppt giallo chiaro di iodoformio (si dovrebbe sentire anche un odore caratteristico).

b) Positivo il saggio con il reattivo di Deniges (vedi reazione citrati) con formazione di un ppt bianco (no E.P.).

N.B.: dà positivo il saggio di Fehling.

Reazione di riconoscimento della Difenildramina HCl

20 mg di sostanza vengono trattati con 1 ml di H₂SO₄ conc. e la soluzione si colora di giallo. Per aggiunta di HNO₃ conc. vira al rosso meglio evidenziato per aggiunta di 1-2 ml di diclorometano che si colorerà di rosso.

Reazione di riconoscimento del Menadione (Vit. K)

20 mg di sostanza si solubilizzano in 1 ml di EtOH e si addizionano 1 ml di HCl conc. e si scaldano a b.m. Si sviluppa intensa colorazione rossa

✚ Reazione di riconoscimento del Fenazone e del Propifenazone

a) Ad 1 ml di soluzione acquosa della sostanza (o etanolica/acquosa 1:1) si aggiungono qualche gc. di soluzione FeCl_3 . Si sviluppa una colorazione rosso-marrone che diventa gialla per aggiunta di HCl (Propifenazone) o svanisce per aggiunta di H_2SO_4 dil. (Fenazone).

b) Solo per il Fenazone: a 4 ml di soluzione acquosa, si aggiungono poche gc. di H_2SO_4 2N e 1 ml di soluzione acquosa al 10% di NaNO_2 preparata extempore. Si sviluppa un'intensa colorazione verde scuro.

✚ Spettrofotometria UV-Vis.

1. Selezionare la modalità di registrazione a scansione di λ .
2. Porre il bianco (solvente prescritto da E.P.; acqua, ac. cloridrico, etanolo) in entrambe le celle dello spettrofotometro e registrare la linea di base.
3. Porre la soluzione dell'analita (pochi mg solubilizzati nel solvente prescritto da E.P.) nella cella del campione e registrarne lo spettro.
4. Si annotano i massimi di assorbimento di assorbanza (A).

✚ Spettrofotometria IR (non spegnere MAI lo strumento)

1. Inserire nel portacella il supporto con i due dischetti di NaCl all'interno senza stringere eccessivamente le viti di bloccaggio.
2. Eseguire una registrazione del background utilizzando solo i due dischetti vuoti.
3. Effettuare la registrazione dello spettro con pochi mg della sostanza in esame trattati con 1-2 gc. di paraffina liquida (nujol) e posta fra due pastiglie di NaCl. Ricordarsi la pulizia delle pastiglie con un pezzetto di cotone imbevuto di *diclorometano*. Si annotano i picchi dei principali gruppi.

Polarimetria

1. Eseguire lo “zero” dello strumento prima della misura senza la cella polarimetrica.
2. La sostanza in esame viene solubilizzata in 10 o 20 ml di solvente come da prescrizione della E.P. (acqua, ac. cloridrico diluito, etanolo) e posta in cella polarimetrica di 10 cm di cammino ottico.

Cromatografia su strato sottile (TLC)

1. Qualche mg di sostanza in esame viene solubilizzata nel solvente prescritto da E.P. e seminata 1 gc. su una lastrina di alluminio rivestita di gel di silice (fase stazionaria) pretrattato con fluoresceina sodica. Si esegue la stessa procedura per la sostanza di riferimento.
2. Si sviluppa in una camera cromatografica (5x10 cm) con 10 ml di eluente (o miscela) prescritto da E.P, fino a ≈ 1 cm dal margine superiore di eluizione).
3. Si leggono le lastre con rivelazione UV a 254 nm tramite lampada con schermo protettivo.
4. Si valutano le corse delle “macchie” delle sostanze annotando i rispettivi R_f .

REATTIVI e REAZIONI

ACIDO CROMOTROPICO (sale sodico): reazione di riconoscimento Penicilline e Cefalosporine anche Idroclorotiazide.

ACQUA DI BROMO: doppi legami in genere, in particolare come ossidante nelle reazioni di riconoscimento degli alcaloidi chinolinici (Chinidina e Chinina), dei sulfamidici (tranne Ftalilsulfatiazolo) e delle fenotiazine.

ACIDO OSSALICO: reazione di riconoscimento degli Acetati.

ACQUA OSSIGENATA 3%: reazione di Fenton (Tartrati); ossidante (polialcoli).

ACQUA OSSIGENATA 30%: Reazione della muresside per le xantixe.

AMMONIO OSSALATO: reazione di ppt del Calcio.

ANIDRIDE ACETICA: reaz. generale ammine 3° e reazione per Papaverina (con H₂SO₄).

ARGENTO NITRATO sol.: reazione di ppt alogenuri (Cl⁻, Br⁻, I⁻) e reazione di Tollens (ox) per Ac. ascorbico.

BARIO CLORURO: reazione di riconoscimento Solfati e nella reazione di riconoscimento del Bario per via umida.

BORACE (sol. 5%): reazione di riconoscimento dei polialcoli (Mannitolo, Sorbitolo e acido tannico) con fenolftaleina.

CLORAMINA T: ossidante per riconoscimento Cloruri e bromuri e ossidante per fenotiazine..

BOUCHARDAT (soluzione iodo-iodutata): reazione iodoformica (Lattati, Clorbutanolo); reazione di ppt ammine 3°.

CALCIO CLORURO sol.: reazione Citrati e Fluoruri.

DENIGES (HgO in H₂SO₄ conc): reazione di riconoscimento dei Citrati.

2,6-DICLOROCHINONCLOROIMMIDE (reattivo di GIBBS): reazione riconoscimento Piridossina.

(p)-DIMETILAMMINOBENZALDEIDE: reazione di formazione delle basi di Schiff ammine 1°, in particolare sulfamidici.

2,4-DINITROCLOROBENZENE: reaz. di Zinke-König per i derivati piridinici.

DRAGENDORFF: reazione di ppt ammine 3°.

FENOLFTALEINA: reaz. riconoscimento Borace e polialcoli (Mannitolo, Sorbitolo); reazione per distinguere CO₃²⁻ da HCO₃⁻.

FEHLING A + FEHLING B: blando ossidante per gruppi riducenti (Carboidrati, Ac. ascorbico).

FERRO CLORURO (ICO) 8%: reazione di complessazione fenoli, ac. carbossilici aromatici, amminoacidi e fenilefrina; reazione degli acidi idrossammici; reazione Fenazone e Propifenazone.

FERRO SOLFATO (OSO): reazione di riconoscimento dell'azoto in Lassaigne; reazione di riconoscimento Nitrati con H_2SO_4 conc.; reazione di Fenton (Tartrati).

IDROSSILAMMINA HCl: reazione degli acidi idrossammici con $FeCl_3$.

MAYER: reazione di ppt ammine 3°.

MILLON (Hg^0 in HNO_3 conc): reaz. di riconoscimento fenoli con posizione *para* occupata e almeno una *orto* libera!

MOLIBDICO: reazione di riconoscimento dei Fosfati.

MOLISH (α -NAFTOLO sol. etanolica): reaz. di riconoscimento carboidrati (anello viola) e polialcoli (anello verde).

(β)-NAFTOLO: reazione di diazocopolazione ammine 1°.

NINIDRINA: reazione specifica α -amminoacidi.

PIPERIDINA: reazione di Simon-Awe per Ca-lattato e Ca-glicerofosfato.

POTASSIO FERRICIANURO: reazione di riconoscimento Tiamina (r. del tiocromo) e reazione riconoscimento Papaverina.

POTASSIO PERMANGANATO: ossidante, in particolare per doppi legami. Inoltre nella reazione di Deniges (Citrati).

POTASSIO SOLFATO ACIDO (bisolfato): nella reazione di Simon-Awe per Ca-glicerofosfato e Ca-lattato.

RAME SOLFATO al 12%: reazione del Biureto per amminoacidi, Ca-pantotenato, alcaloidi fenilalchilamminici (Efedrina, Fenilefrina e Fenilpropanolamina) e Sulfatiazolo e Ftalilsulfatiazolo.

RESORCINA: reazione di Mohler (Tartrati e Lattati); reazione di Seliwanoff (Carboidrati); reaz. della Saccharina e reazione del Cloralio idrato.

SODIO (metallico): saggio di Lassaigne per N, S, PO_4^{3-} e alogeni,

SODIO NITRITO: in soluzione acquosa preparata al momento per diazocopolazione ammine 1°; reazione di Liebermann (nitrosazione) per fenoli con posizione *para* libera; reazione nitrosazione per Fenazone.

SODIO NITROPRUSSIATO (NPS): reazione di Legal (Ac. ascorbico); ricerca dello zolfo in Lassaigne; reazione di Simon-Awe per Ca-glicerofosfato e Ca-lattato.

SODIO SOLFURO: reazione di Ogston per Cloralio idrato; reazioni di riconoscimento Al^{3+} , Bi^{3+} e Zn^{2+} .

TETRAMETILAMMONIO idrato + TRIFENILTETRAZOLIO Cloruro: reazione riconoscimento steroidi OH libero in posizione 17.

TIOUREA: riconoscimento per complessazione del Bi^{3+} .

UREA: reazione di riconoscimento dei Citrati.

VANILLINA: reazione di riconoscimento Isoniazide.

ZINCO (limatura o in polvere): reazione di riduzione Nitro gruppo ad ammina 1°