
Metodologie sintetiche ed analitiche
in chimica farmaceutica

Tecniche di lavorazione/separazione
in laboratorio chimico

RISCALDAMENTO
RAFFREDDAMENTO
ESTRAZIONE

RISCALDAMENTO

Bagni ad olio di silicone / Bagni ad acqua

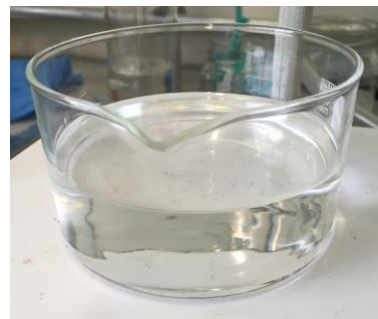
Mantelli riscaldanti

Calotta semisferica di fibre di vetro in cui sono immerse spirali a resistenza elettrica

- Si scalda velocemente
- Temperature (T) > 100°C
- Indicato per distillazione solventi



- Inerte
- T fino a 300°C
- Si scalda lentamente
- Flash point: 150-350°C
- T fino a 100°C



Microonde

Irraggiamento elettromagnetico del contenitore di reazione con frequenze di 2.45 GHz.

- Riduzione dei tempi di reazione
- Aumento delle rese di reazione



RISCALDAMENTO

Riscaldamento a ricadere

La maggior parte delle reazioni viene fatta in soluzione (solventi volatili)

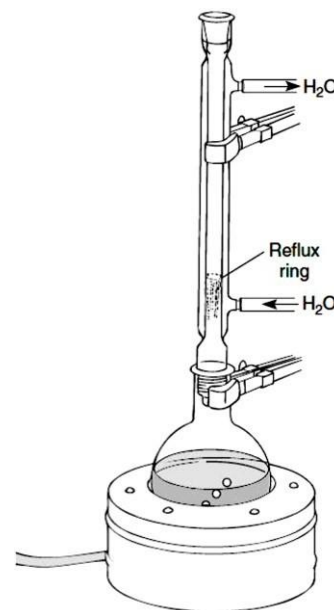
Per evitare evaporazione del solvente si usa il riscaldamento a ricadere (reflusso)

Continua evaporazione-condensazione del solvente:

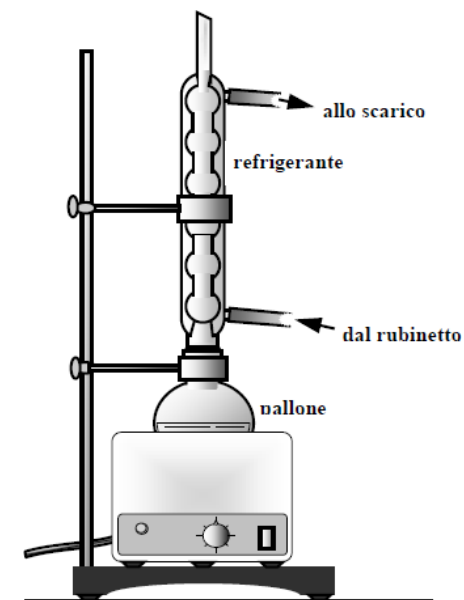
- Il volume della soluzione non varia
- La T° rimane costante (p.eb. solvente)
- Riscaldamento per tempi prolungati in sicurezza

Evita l'evaporazione totale del solvente dal pallone di reazione

Mantelli riscaldanti



Bagni ad olio di silicone
Bagni ad acqua



RISCALDAMENTO

Riscaldamento a ricadere

Il pallone con il liquido bollente viene collegato a un refrigerante in cui circola acqua di raffreddamento.

Il **refrigerante** deve essere sempre pieno e il flusso dell'acqua deve essere opportunamente regolato.

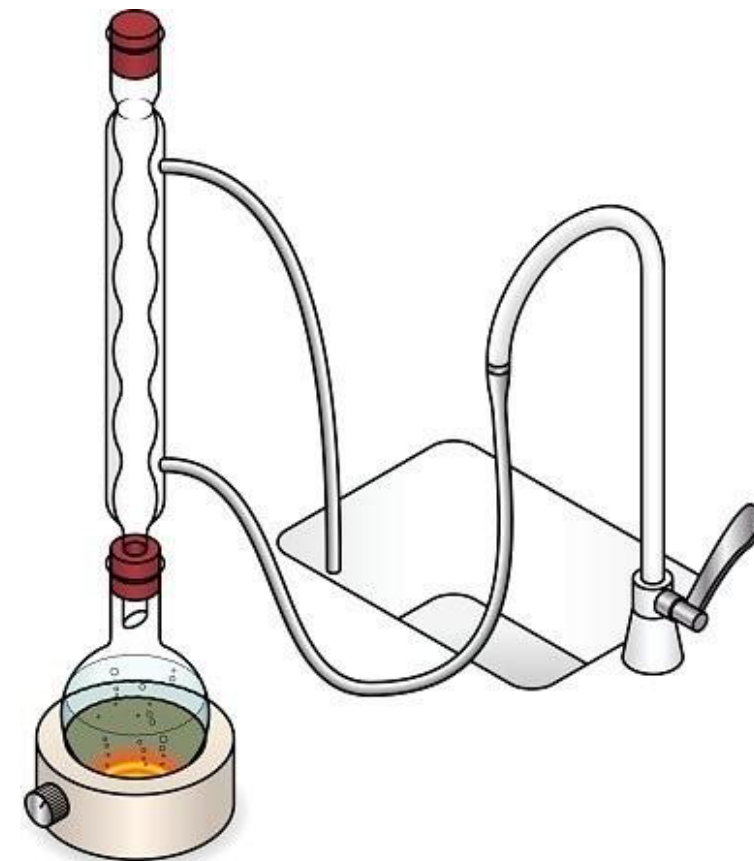
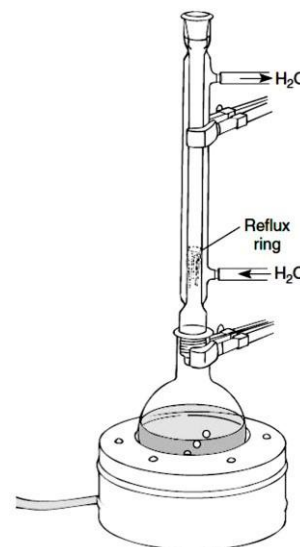
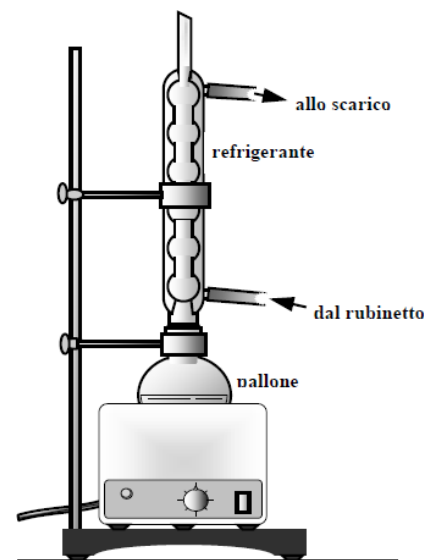
Anello di riflusso: delimita la parte superiore asciutta del refrigerante da quella inferiore in cui si ha fenomeno di condensazione

Evita l'evaporazione totale del solvente dal pallone di reazione

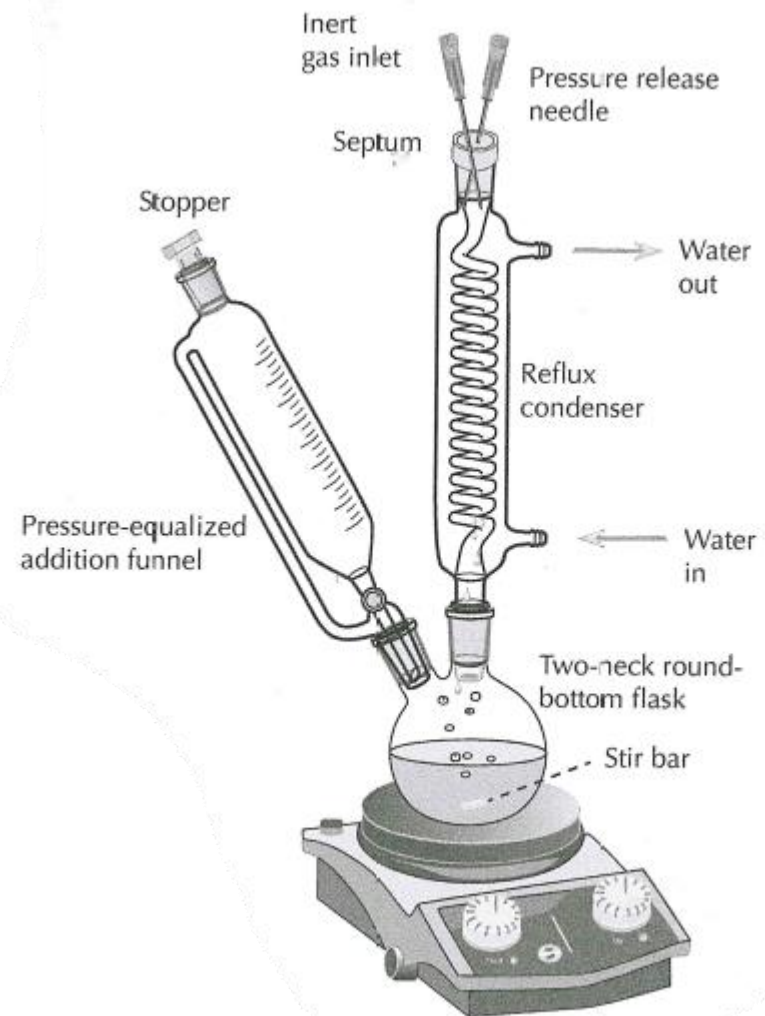
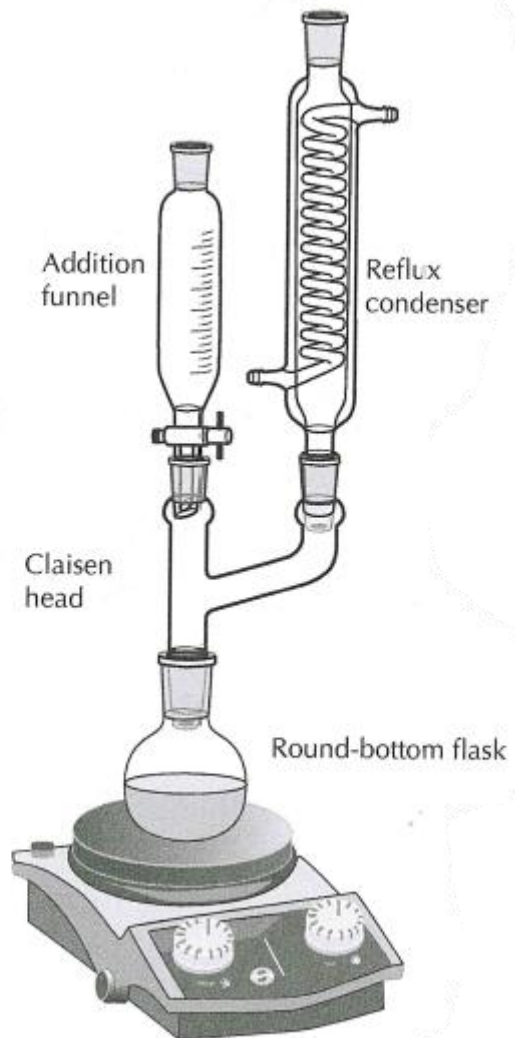


Possibilità di lavorare in ambiente anidro
Drying agents:

- ❖ CaCl_2 anidro
- ❖ Drierite® (97% CaCl_2 3% CoCl_2)
 CoCl_2 (è blu quando anidro, viola nella forma esaidrata)

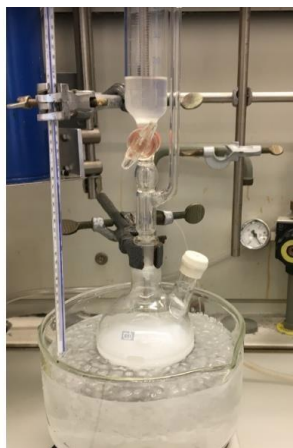


RISCALDAMENTO



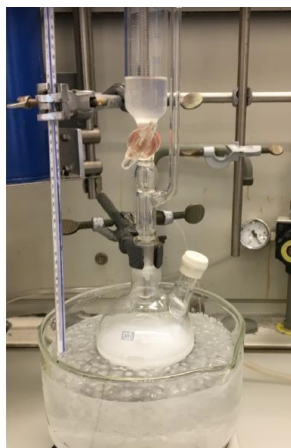
RAFFREDDAMENTO

Bagno a ghiaccio



T: 0 °C

Bagno a ghiaccio + NaCl



T: -15 °C

Ghiaccio secco (CO_2 solida)
+ acetone o isopropanolo



T: -78 °C

Azoto liquido



T: -195.8 °C



Il **vaso di Dewar** o thermos è un recipiente di vetro a doppia parete con intercapedine evacuata sotto alto vuoto e argentata per ridurre al minimo la dispersione di calore.

RISCALDAMENTO

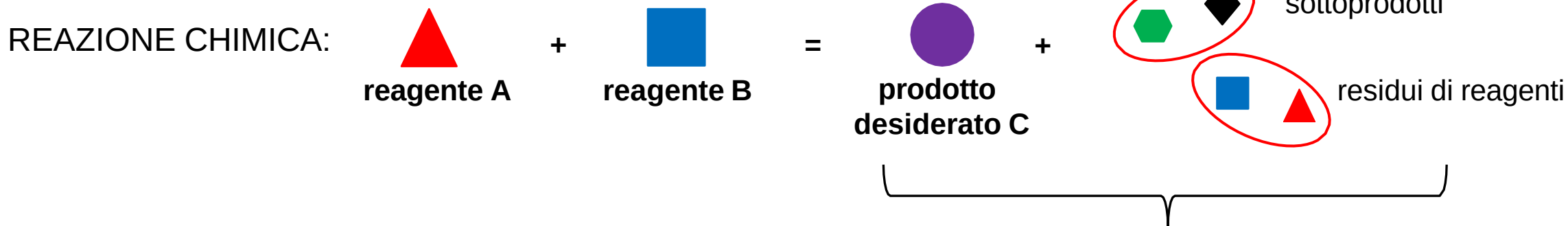
Table 4.2: Range of working temperatures reached by different freezing mixtures used in the laboratory.

T (°C)	Freezing mixture ^{a, b}	T (°C)	Freezing mixture ^{a, b}
13	<i>p</i> -Xylene/CO ₂ (s)	−56	<i>n</i> -Octane/CO ₂ (s)
12	Dioxane/CO ₂ (s)	−60	Isopropyl ether/CO ₂ (s)
6	Cyclohexane/CO ₂ (s)	−61	Chloroform/CO ₂ (s)
5	Benzene/CO ₂ (s)	−72	EtOH/CO ₂ (s)
2	Formamide/CO ₂ (s)	−77	Butyl acetate/CO ₂ (s)
0	Ice	−78	Acetone/CO ₂ (s)
−5 to −20	Ice/NaCl	−83	Propyl amine/CO ₂ (s)
−10.5	Ethylene glycol/CO ₂ (s)	−83.6	Ethyl acetate/N ₂ (l)
−12	Cycloheptane/CO ₂ (s)	−89	<i>n</i> -Butanol/N ₂ (l)
−15	Benzyl alcohol/CO ₂ (s)	−94	Hexane/N ₂ (l)
−22	Tetrachloroethylene/CO ₂ (s)	−94.6	Acetone/N ₂ (l)
−22.8	CCl ₄ /CO ₂ (s)	−95.1	Toluene/N ₂ (l)
−25	1,3-Dichlorobenzene/CO ₂ (s)	−98	MeOH/N ₂ (l)
−29	<i>o</i> -Xylene/CO ₂ (s)	−100	Diethyl ether/CO ₂ (s)
−32	<i>m</i> -Toluidine/CO ₂ (s)	−104	Cyclohexane/N ₂ (l)
−38	Heptan-3-one/CO ₂ (s)	−116	EtOH/N ₂ (l)
−41	Acetonitrile/CO ₂ (s)	−116	Diethyl ether/N ₂ (l)
−42	Pyridine/CO ₂ (s)	−131	<i>n</i> -Pentane/N ₂ (l)
−47	<i>m</i> -Xylene/CO ₂ (s)	−160	Isopentane/N ₂ (l)
		−196	N ₂ (l)

^a CO₂(s) = dry ice.

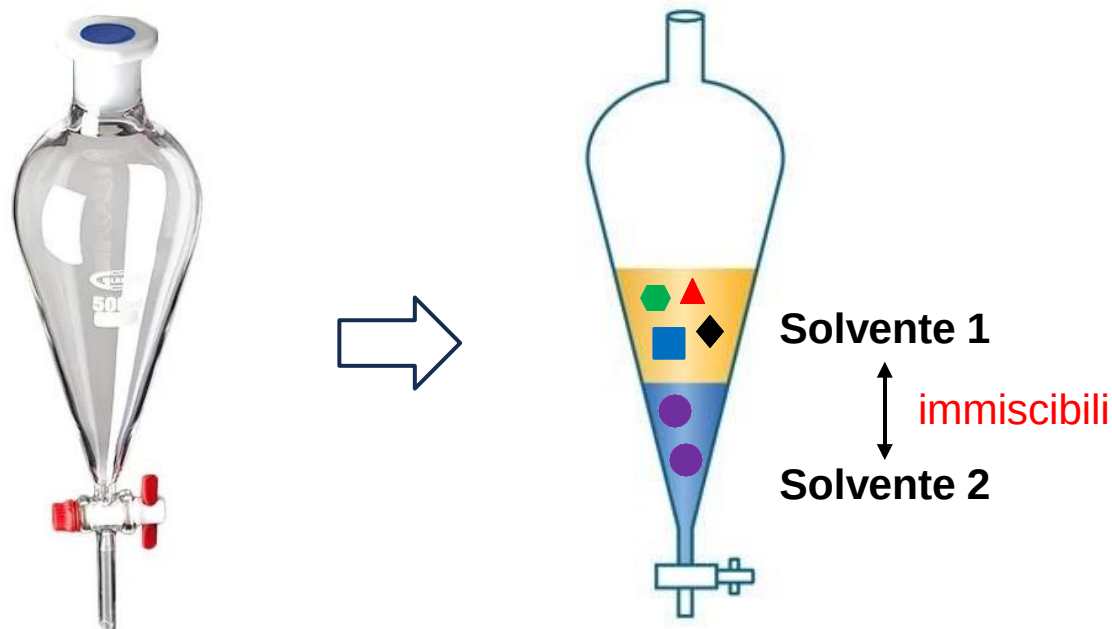
^b N₂(l) = liquid nitrogen.

ESTRAZIONE



L'estrazione con solventi è una procedura alla base della lavorazione (work-up) di una reazione chimica, in quanto consente di estrarre impurezze da una miscela di reazione.

Lo strumento per questa procedura è **l'imbuto separatore**, che consente di estrarre un composto disciolto in un liquido mediante un altro liquido immiscibile col primo.

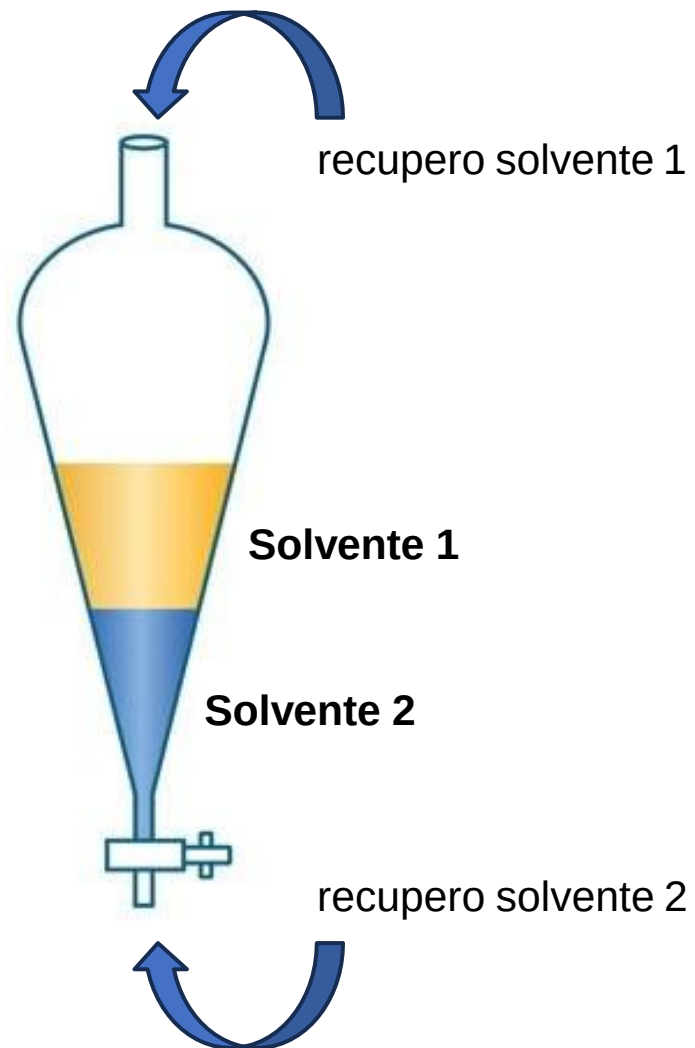


ESTRAZIONE



1. Per eseguire un'estrazione, bisogna prima di tutto scegliere un imbuto separatore che abbia una **capacità circa doppia del volume totale** di liquido che dovremo usare. L'imbuto va poggiato su un anello fissato con morsetto a un sostegno.
2. Introdurre la soluzione da estrarre e il solvente per l'estrazione in **rapporto di circa 3:1**.
3. L'intera procedura **va ripetuta 2-3 volte** o comunque fino a che non si è certi di aver estratto completamente il/i prodotto/i.

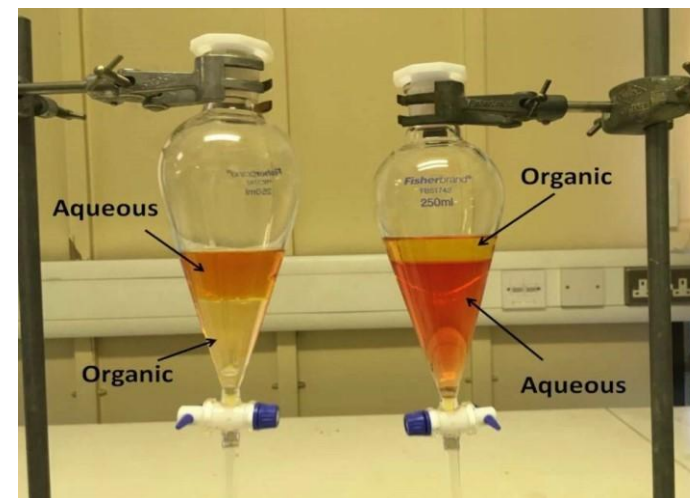
ESTRAZIONE



N.B: Lo **strato inferiore** si recupera **aprendo il rubinetto** (recupero in beuta). Solo dopo aver rimosso tale strato si recupera **quello superiore** versandolo **dall'alto dell'imbuto** in una seconda beuta, in modo da evitare eventuali contaminazioni.

La posizione dei solventi rispetto all'acqua è in funzione della loro densità

- Tra i più comuni solventi immiscibili con acqua, il diclorometano si stratifica in basso perché è più denso dell'acqua.

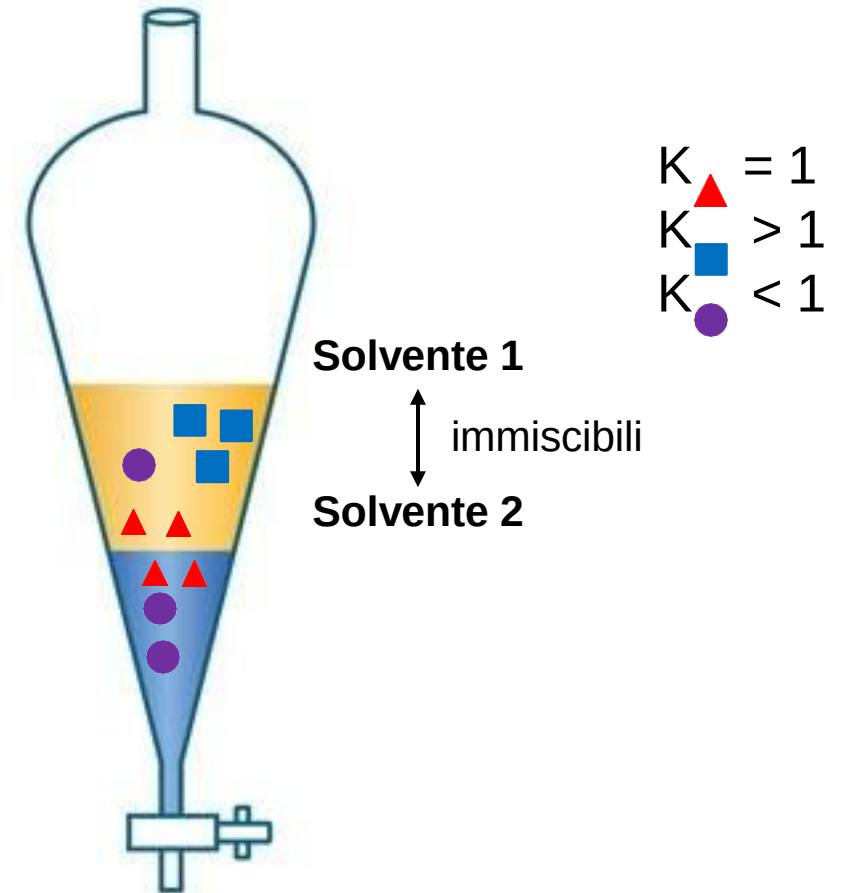


ESTRAZIONE

Il processo di estrazione è governato dalla **legge di ripartizione**, che stabilisce che, se a un sistema formato da due fasi liquide immiscibili (o poco miscibili) si aggiunge un **componente solubile (Q)** in **entrambe le fasi**, esso si distribuirà nei due liquidi in maniera tale che, all'equilibrio, il rapporto fra le sue concentrazioni rimanga costante (a parità di T):

$$K_Q: C_Q(\text{in solvente 1}) / C_Q(\text{in solvente 2})$$

Dove $C_Q(\text{in solvente 1})$ e $C_Q(\text{in solvente 2})$ sono le concentrazioni del composto Q nei due liquidi, mentre K_Q è il coefficiente di ripartizione.



ESTRAZIONE

APPLICAZIONI DELLA TECNICA DI ESTRAZIONE:

- ✓ Estrazione di prodotti naturali da tessuti animali e vegetali. Generalmente si estrae la molecola di interesse con solventi organici (es. caffeina dal tè con CH_2Cl_2)

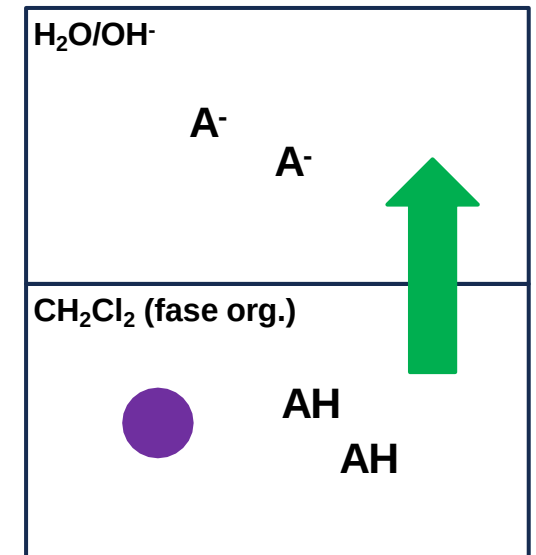
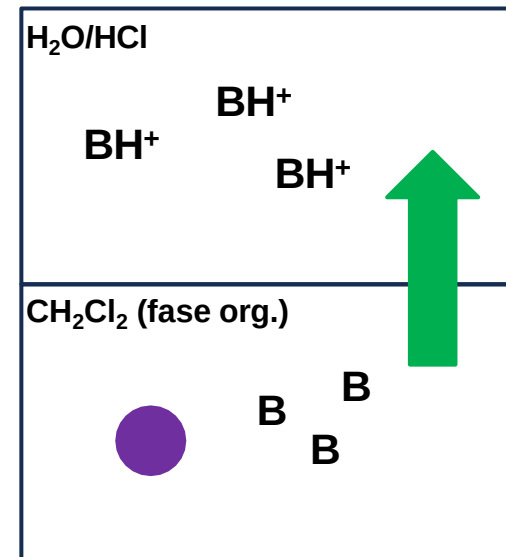
- ✓ Separazione miscele di composti in base alle loro proprietà acido-basiche



prodotto desiderato C

B base generica (es. ammine)

AH acido generico (es. acidi carbossilici)

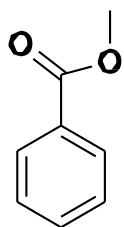


ESTRAZIONE

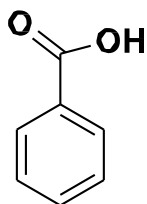
APPLICAZIONI DELLA TECNICA DI ESTRAZIONE:

- ✓ Estrazione di prodotti naturali da tessuti animali e vegetali. Generalmente si estrae la molecola di interesse con solventi organici (es. caffeina dal tè con CH_2Cl_2)

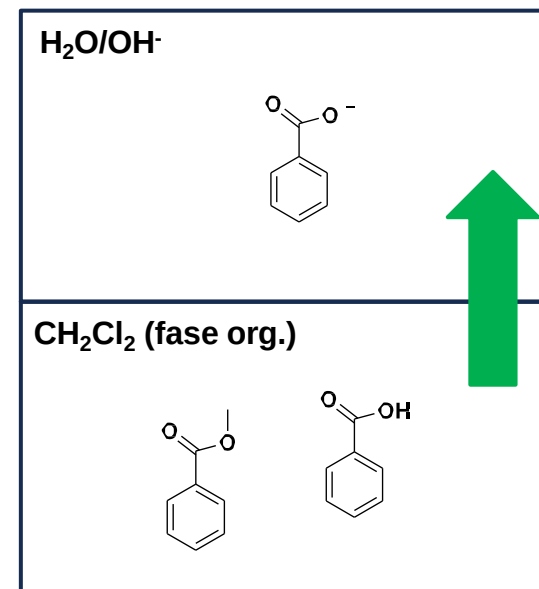
- ✓ Separazione miscele di composti in base alle loro proprietà acido-basiche



**benzoato di metile
(prodotto desiderato)**



acido benzoico



ESTRAZIONE



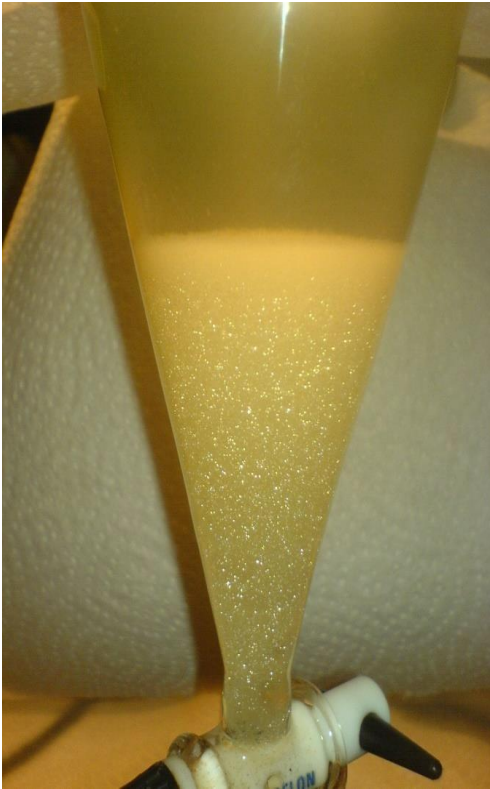
DA SAPERE E FARE ATTENZIONE:

1. Nella fase di agitazione **tenere il tappo dell'imbuto ben fisso** perché il mescolamento dei solventi provoca aumento di pressione.
2. Nella fase di scaricamento **non aprire completamente il rubinetto!** Il prelievo del liquido deve avvenire a velocità tale da non creare vortici che potrebbero trascinare in basso la fase superiore! Man mano che l'interfaccia tra i due liquidi si avvicina al rubinetto, lo sgocciolamento deve essere progressivamente rallentato, in modo da poter chiudere con precisione il rubinetto non appena scende l'ultima goccia della fase inferiore.
3. É sempre bene **conservare entrambe le fasi** di un'estrazione **fino al termine dell'esperienza.**

ESTRAZIONE



DA SAPERE
E FARE ATTENZIONE: FORMAZIONE EMULSIONI



- Lasciare riposare la miscela per un po' di tempo.
- Ruotare dolcemente l'imbuto o smuovere con una bacchetta di vetro l'interfaccia (se evidente).
- 'Salare' la miscela, aggiungere cioè una **soluzione satura di cloruro di sodio** (in inglese "*brine*"): questa aumenta la densità della fase acquosa e contemporaneamente diminuisce la solubilità in essa di tutte le sostanze non polari, facilitando così lo smiscelamento.
- Filtrare lentamente la miscela attraverso uno strato di Celite.

ESTRAZIONE

ESECUZIONE

EMULSIONI

Perché si formano

- La densità dei due liquidi è simile (no formazione di strati)
- Potrebbero essere presenti composti simili al sapone o altri agenti emulsionanti



diminuire la densità dello strato superiore o aumentare la densità dello strato inferiore



biodiesel - metanolo



brine - acetate di etile



diclorometano - brine
con colorante alimentare

ESTRAZIONE

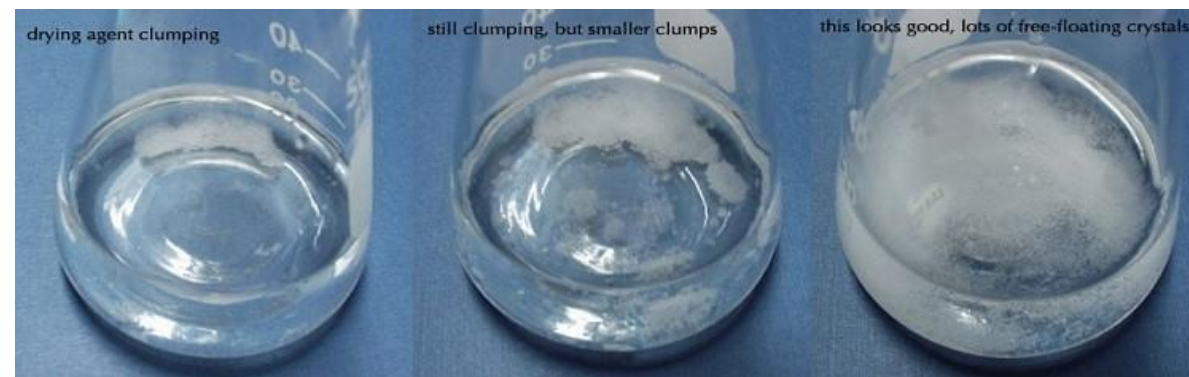


DA SAPERE
E FARE ATTENZIONE: **ANIDRIFICAZIONE ESTRATTO**



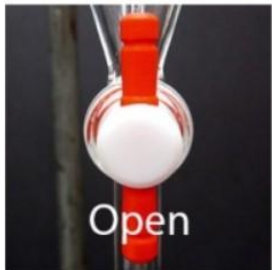
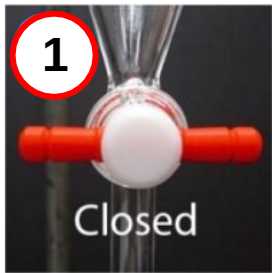
Se il composto di interesse è estratto con fase organica da soluzione acquosa:

- Terminata l'estrazione, si riuniscono tutte le fasi organiche e si procede con l'anidrifcazione, per eliminare le piccole quantità di acqua che vengono trattenute da qualsiasi solvente.
- **L'acqua residua va *sempre* eliminata, poiché può interferire nelle reazioni successive** e dare problemi durante le determinazioni spettrali che servono all'identificazione di tale sostanza.
- L'anidrifcazione viene effettuata aggiungendo alla soluzione organica una piccola quantità di polvere di agente anidrificante.

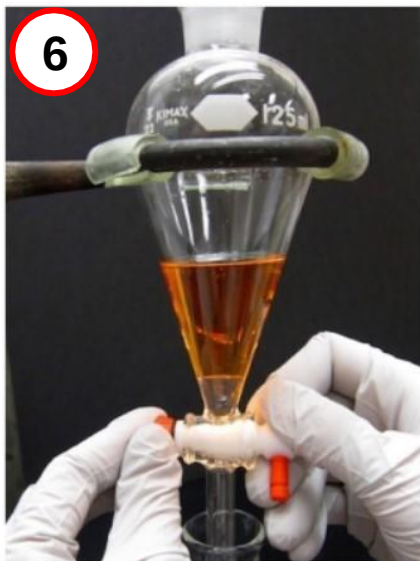
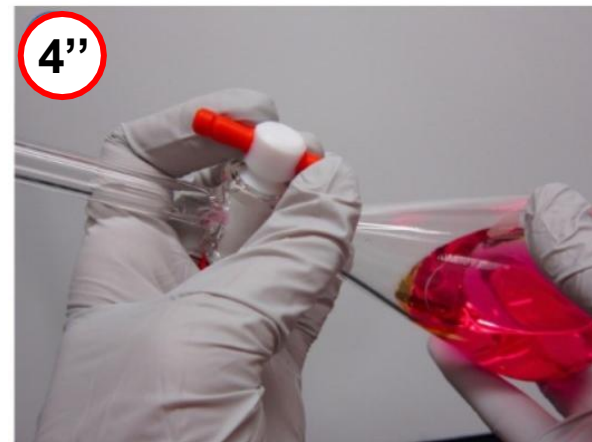


ESTRAZIONE

SCHEMA ESECUZIONE



mixing
for 10-20
seconds



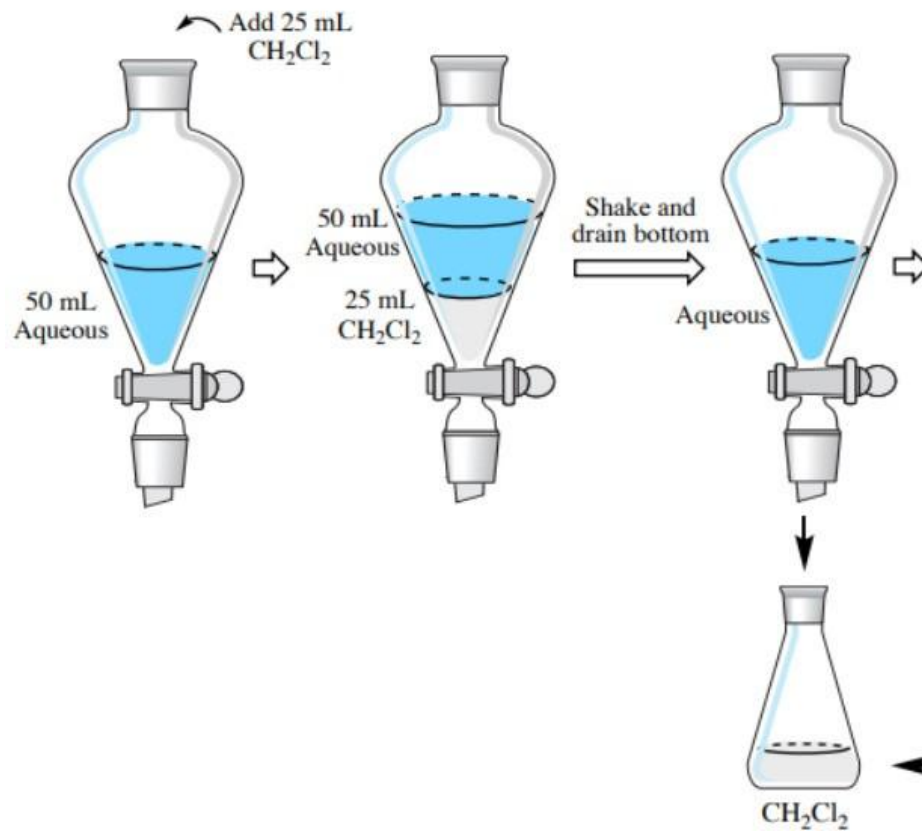
https://www.youtube.com/watch?v=mDYW33jHLjs&ab_channel=LisaNichols
methyl red from aqueous solution to ethyl acetate

ESTRAZIONE

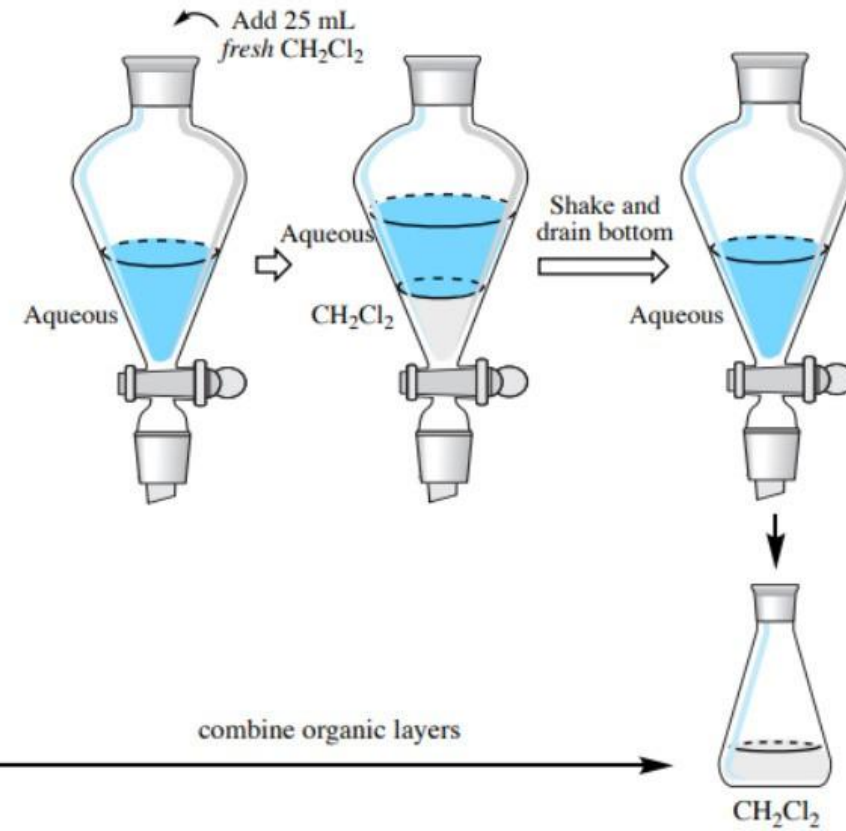
SCHEMA ESECUZIONE

ESTRAZIONE CON SOLVENTE ORGANICO DI DENSITÀ MAGGIORE DELL'ACQUA

First extraction:



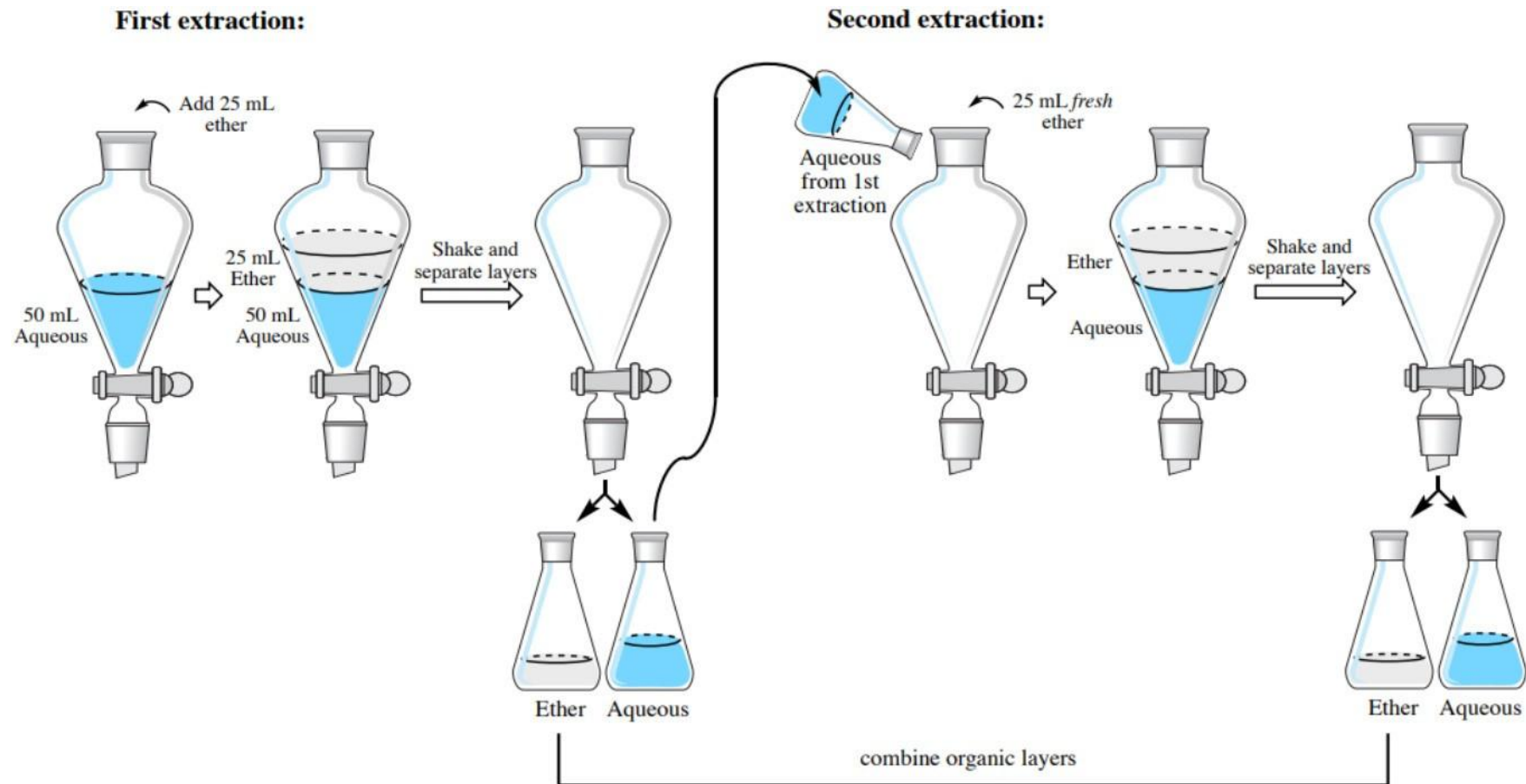
Second extraction:



ESTRAZIONE

SCHEMA ESECUZIONE

ESTRAZIONE CON SOLVENTE ORGANICO DI DENSITÀ MINORE DELL'ACQUA



ESTRAZIONE

SCHEMA ESECUZIONE



DA SAPERE

DIFFERENZA TRA ESTRAZIONE E LAVAGGIO

ESTRAZIONE: in un'estrazione il composto desiderato si sposta dal solvente in cui si trova ad un altro solvente

LAVAGGIO: in un lavaggio il composto desiderato rimane nel solvente in cui si trova

CAFFEINA + GLUCOSIO (fase acquosa)



CAFFEINA (diclorometano)

BENZOATO DI METILE + ACIDO
BENZOICO (fase organica)

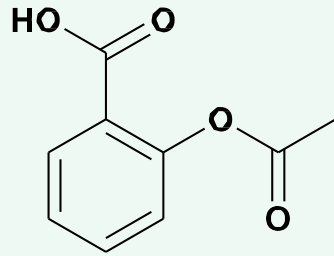


BENZOATO DI METILE (fase organica)
ACIDO BENZOICO (fase acquosa basica)

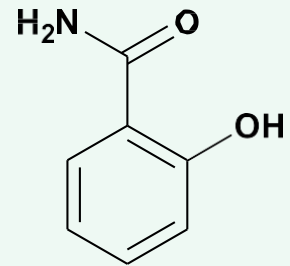
ESTRAZIONE

ESERCIZIO

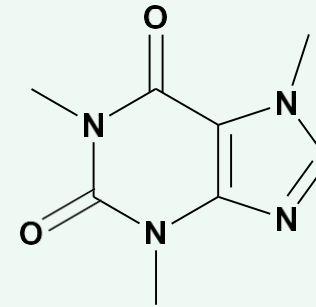
Fase organica



Acido acetilsalicilico



Salicilamide

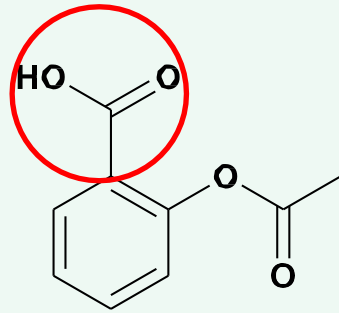


Caffeina

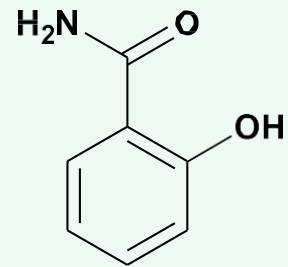
ESTRAZIONE

ESERCIZIO

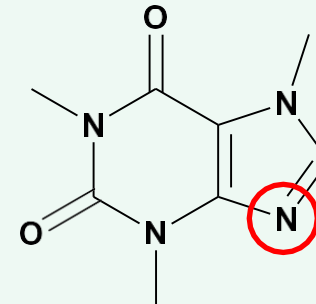
Fase organica



Acido acetilsalicilico

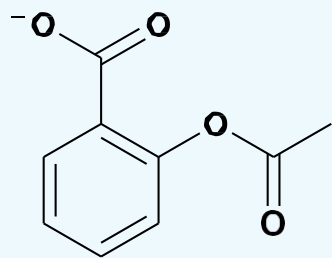


Salicilamide



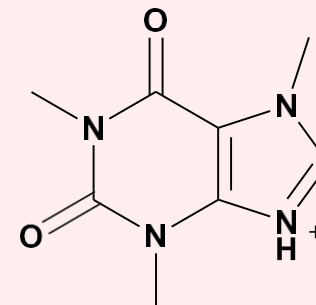
Caffeina

↓ NaOH or NaHCO₃



Fase acquosa
basica

↓ HCl

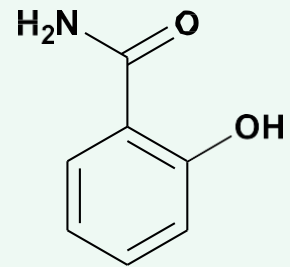


Fase acquosa
acida

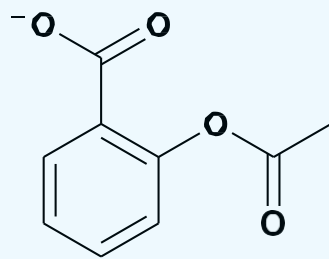
ESTRAZIONE

ESERCIZIO

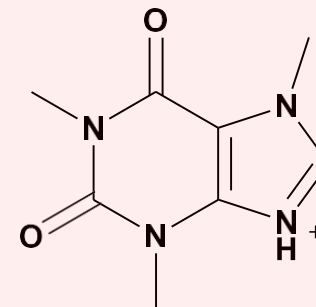
Fase organica



Salicilamide



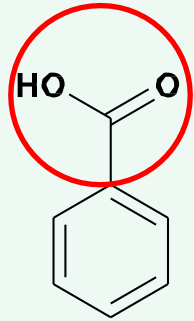
Fase acquosa
basica



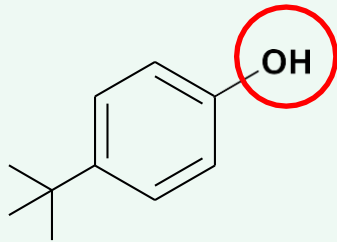
Fase acquosa
acida

ESTRAZIONE

ESERCIZIO



Acido benzoico

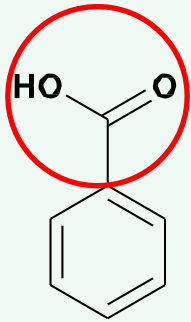


4-*tert*-butilfenolo

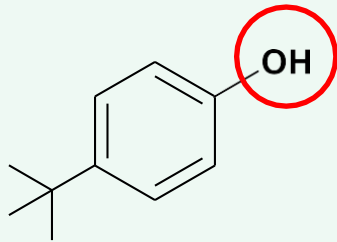
Fase organica

ESTRAZIONE

ESERCIZIO



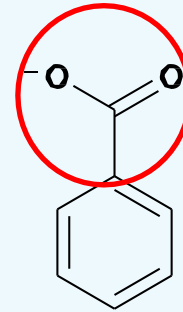
Acido benzoico



4-*tert*-butilfenolo

Fase organica

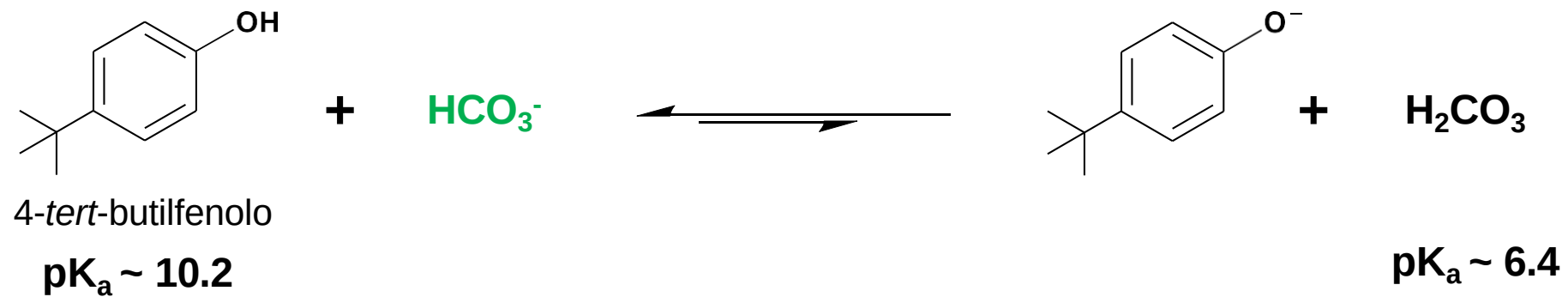
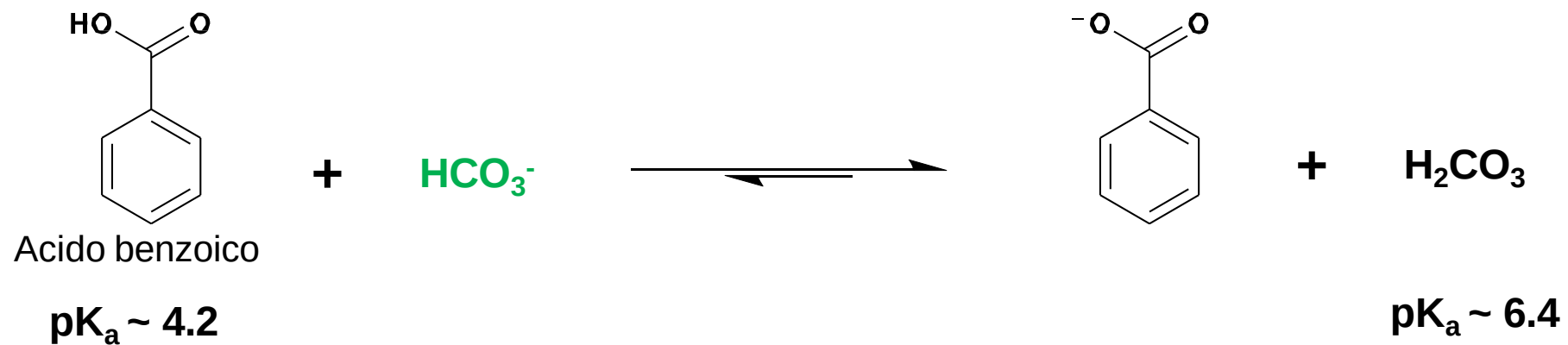
sol. NaHCO_3



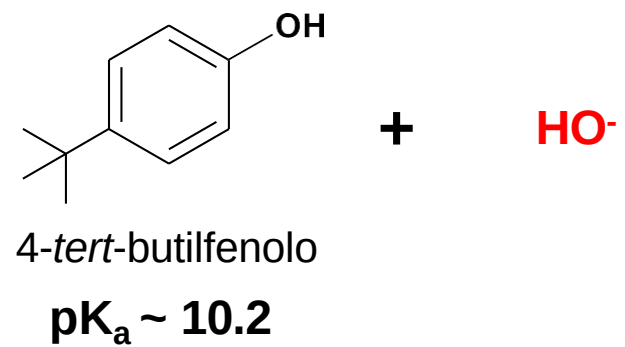
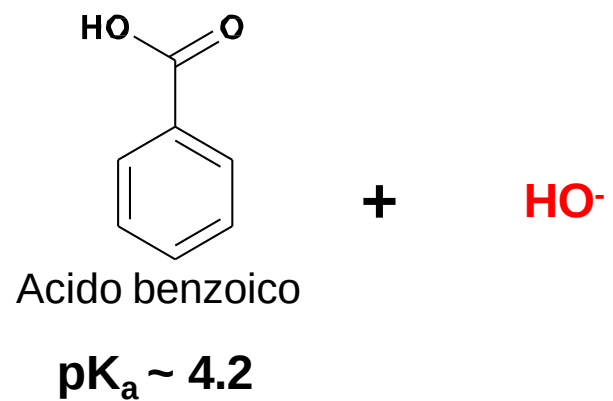
Fase acquosa
basica

ESTRAZIONE

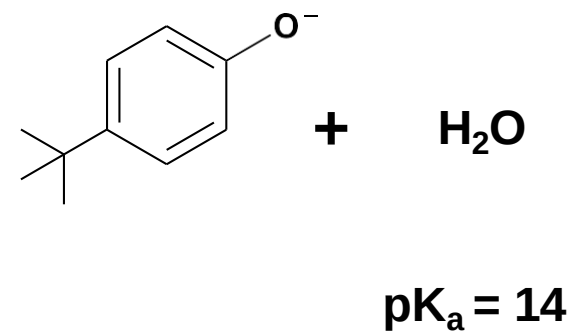
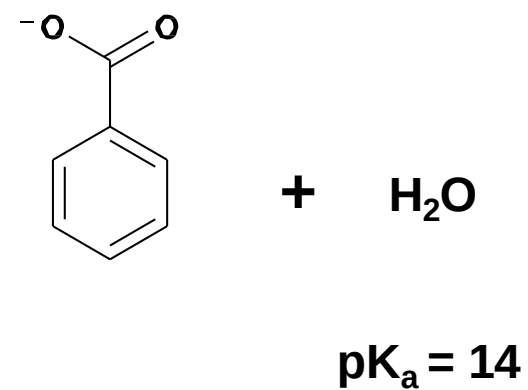
ESERCIZIO



ESTRAZIONE

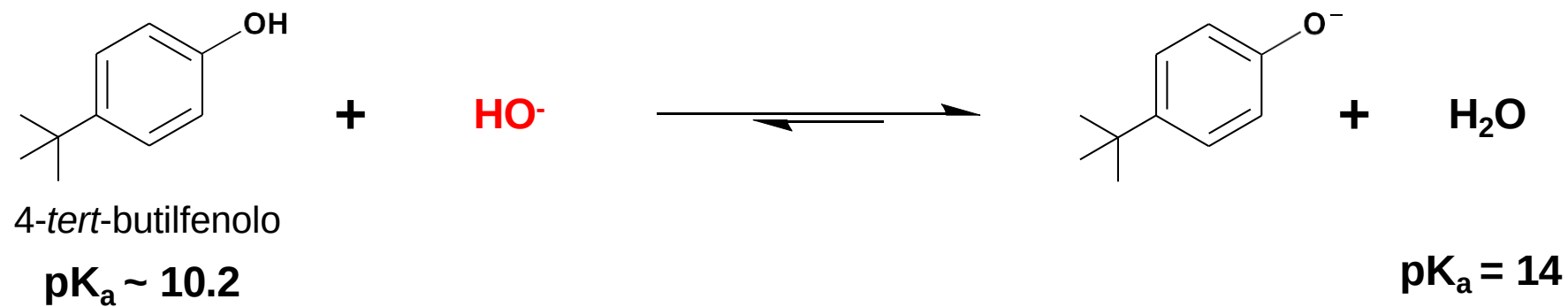
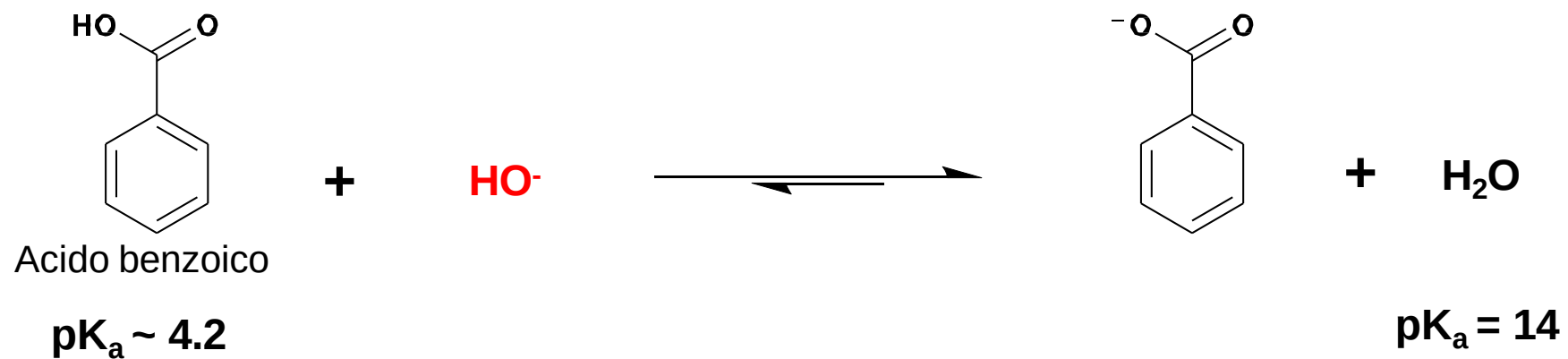


ESERCIZIO



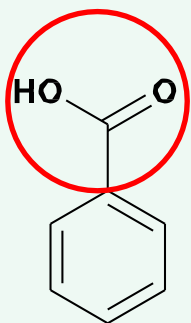
ESTRAZIONE

ESERCIZIO

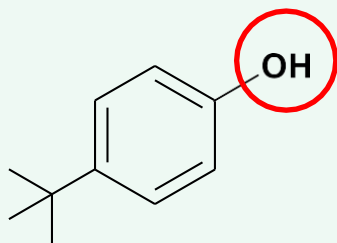


ESTRAZIONE

ESERCIZIO



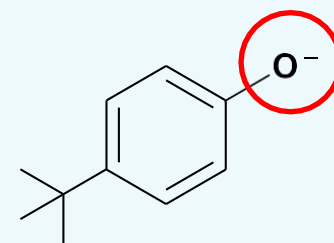
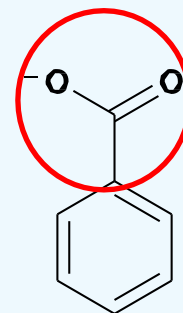
Acido benzoico



4-*tert*-butilfenolo

Fase organica

sol. NaOH



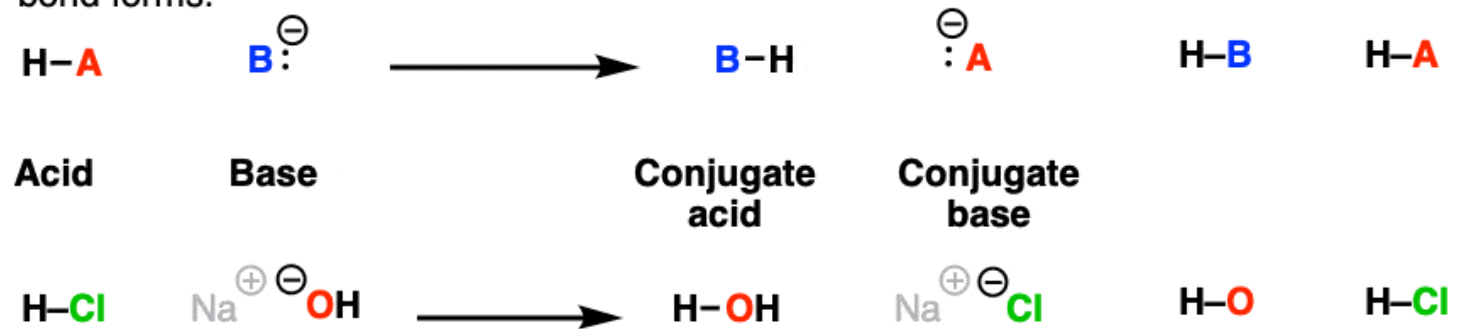
Fase acquosa
basica

ESTRAZIONE

Reazioni acido-base e pka

Every acid-base reaction has four components

In an acid base reaction, the H-A bond breaks and the H-B bond forms.



- In quale direzione è spostato l'equilibrio di una reazione acido-base?
- Questo tipo di reazioni favoriscono spontaneamente la formazione dell'acido debole dall'acido forte o viceversa?
- Come si determina chi è l'acido forte e chi è l'acido debole?

Il principio della mediocrità acido-base

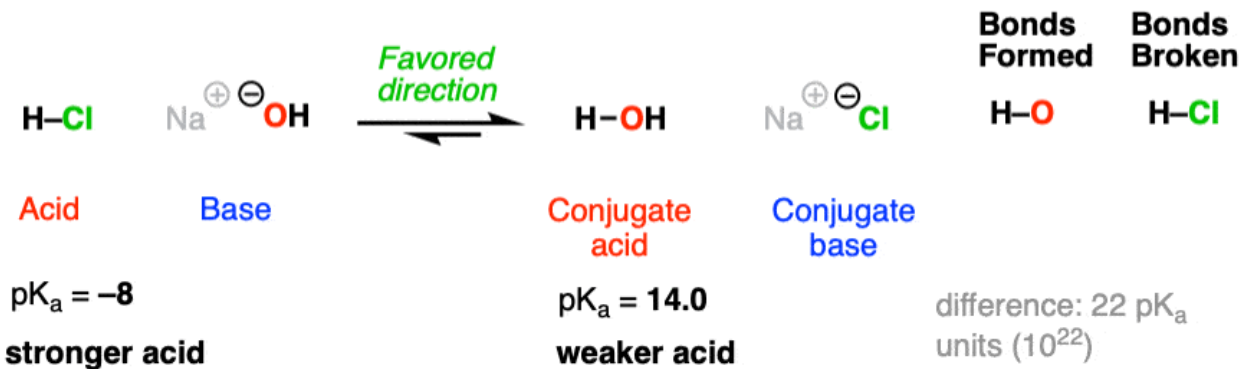
- Le reazioni acido-base procedono spontaneamente nella direzione che porta alla formazione dell'acido debole dall'acido forte
 - La forza di un acido è definita dalla pK_a ($-\log K_a$)

The Principle of Acid-Base Mediocrity

In what **direction** will an acid-base **equilibrium** be favored?

Answer: the acid-base reaction will favor the direction which results in the **weaker acid** (and the **weaker base**)

How do we determine which acid is stronger and which is weaker?
By comparing the pK_a values!



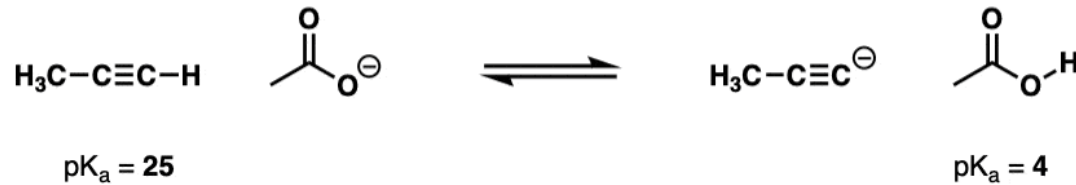
This reaction proceeds in the direction that gives the weaker acid (H_2O) from the stronger acid ($\text{H}-\text{Cl}$)

It also corresponds with our experience that salt water is relatively mild and harmless!

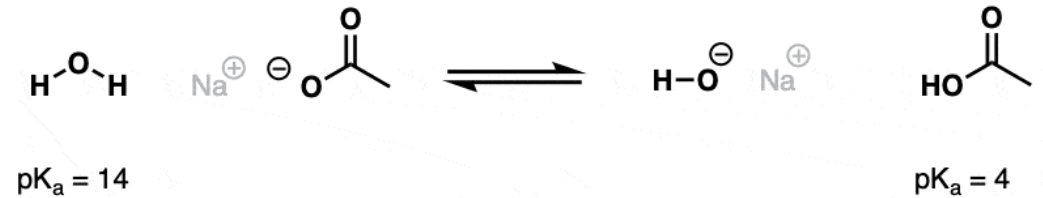
ESTRAZIONE

Il principio della mediocrità acido-base

In what direction will this acid-base equilibrium be favored?



In what direction will the acid-base equilibrium be favored?



La reazione favorisce la formazione di acqua (pK_a 14) di 10 ordini di grandezza (10^{10}) rispetto all'acido acetico

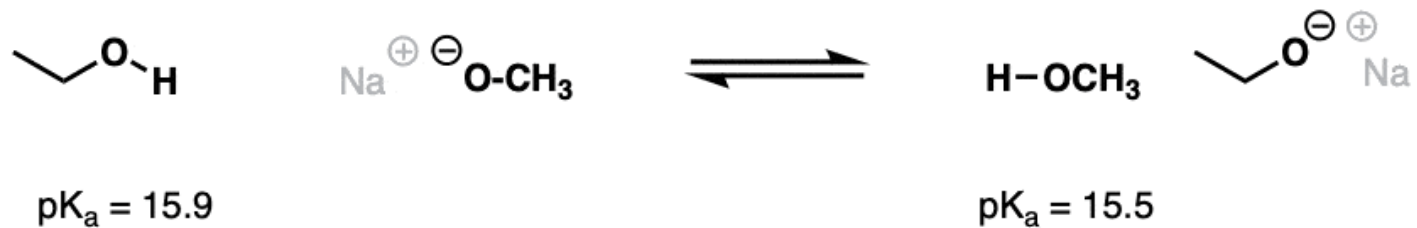
Significa che ci sono circa 10 miliardi di molecole acqua per ogni molecola di acido acetico

Una buona regola è che una differenza di pK_a di più di 10 unità rappresenta una reazione acido-base irreversibile

ESTRAZIONE

Il principio della mediocrità acido-base

- In **what direction** will this acid-base equilibrium be **favored**?
- What will be the approximate **proportion** of each alcohol at equilibrium?



Differenza $\text{pK}_a = 0.4$ unità

$10^{0.4} = 2.5$ Quindi all'equilibrio il rapporto tra etanolo e metanolo sarà 2.5 : 1

ESTRAZIONE

Il valore di pK_a è anche una guida alla definizione della basicità

Given the pK_a of each compound, identify the strongest **base**



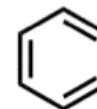
$pK_a = 50$



$pK_a = 10$



$pK_a = 16$



$pK_a = 43$

- Più alto è il valore di pK_a più debole è l'acido
- Una specie per comportarsi da base deve avere un doppietto elettronico non condiviso per la rimozione di un protone
 - Si usa la pK_a per predire la forza della base risultante dalla rimozione di un protone
 - Maggiore è la pK_a più forte è la base coniugata

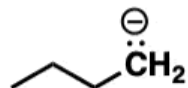
ESTRAZIONE

Il valore di pK_a è anche una guida alla definizione della basicità

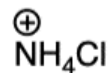
The conjugate base of each species is drawn below the acid.
The higher the pK_a , the **stronger** the conjugate base.



$pK_a = 50$



strongest base



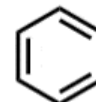
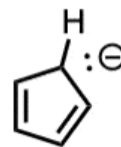
$pK_a = 10$



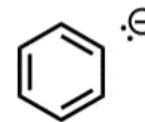
weakest base



$pK_a = 16$



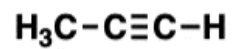
$pK_a = 42$



ESTRAZIONE

Il valore di pK_a è anche una guida alla definizione della basicità

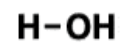
Given the pK_a of each compound, identify which will have the strongest **conjugate base**



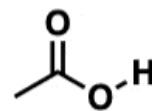
pK_a 25



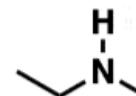
pK_a 11



pK_a 14



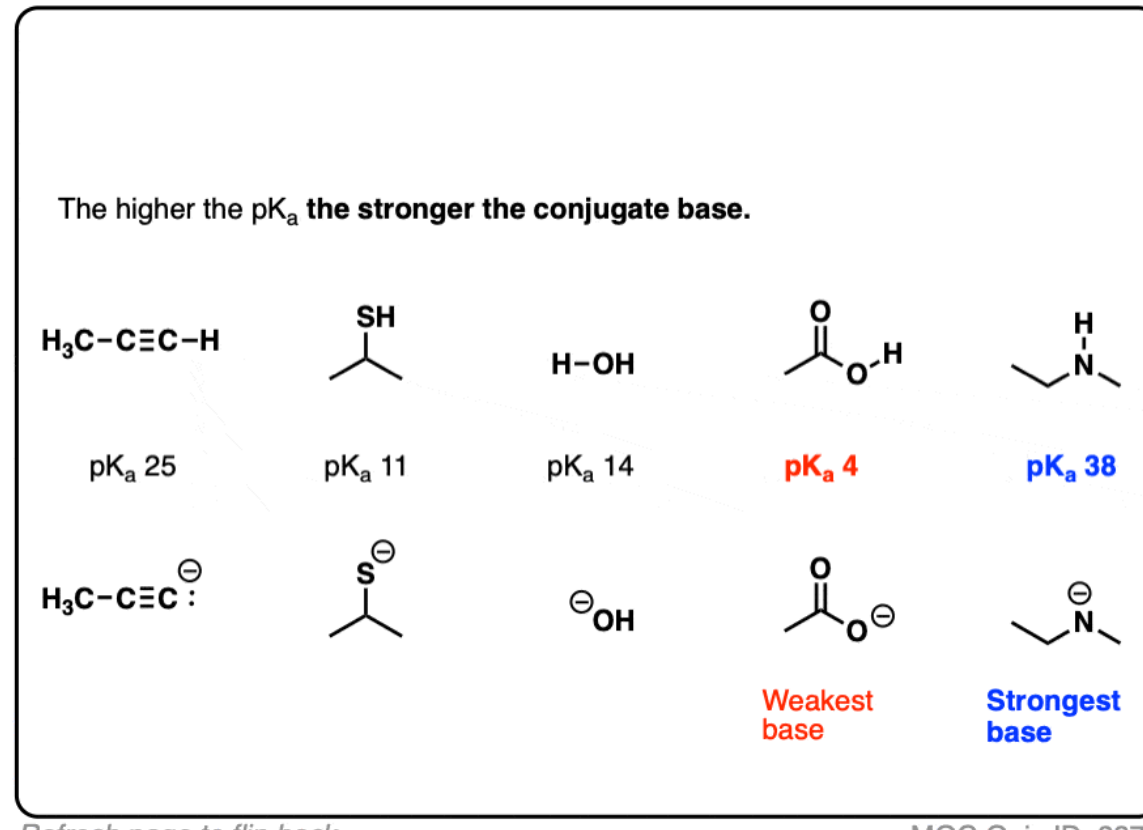
pK_a 4



pK_a 38

ESTRAZIONE

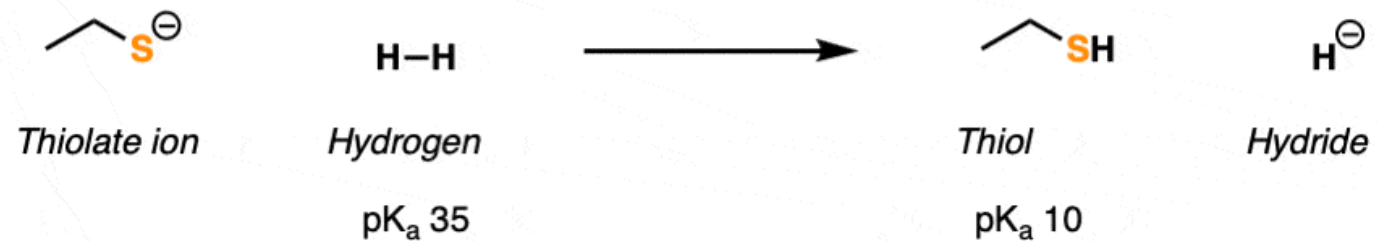
Il valore di pK_a è anche una guida alla definizione della basicità



ESTRAZIONE

Il valore di pK_a è anche una guida alla definizione della basicità

Will the deprotonation of hydrogen (pK_a 35) by thiolate ion (conjugate base of thiol, pK_a 10) be favorable?



ESTRAZIONE

Il valore di pK_a è anche una guida alla definizione della basicità

Will the deprotonation of hydrogen (pK_a 36) by thiolate ion (conjugate base of thiol, pK_a 10) be favorable?



No, because this would result in formation of a **stronger acid** and a **stronger base**

ESTRAZIONE

Tavola delle pK_a e la sua interpretazione

Short pK_a table

Functional group	Example	pK_a	conj. base
Hydrochloric acid	$\text{HCl}:$	-8	$:\text{Cl}:$
Carboxylic acids	$\text{H}_3\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$	5	$\text{H}_3\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{O}^-$
Protonated amines	$\text{NH}_4^+ :\text{Cl}^-$	10	$:\text{NH}_3$
Water	$\text{HO}-\text{H}$	14	$:\text{OH}^-$
Alkyne	$\text{H}_3\text{C}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	25	$\text{R}-\text{C}\equiv\text{C}^-$
Amine	$:\text{NH}_3$	~35	$:\text{NH}_2^-$
Alkane	CH_4	~50	$:\text{CH}_3^-$

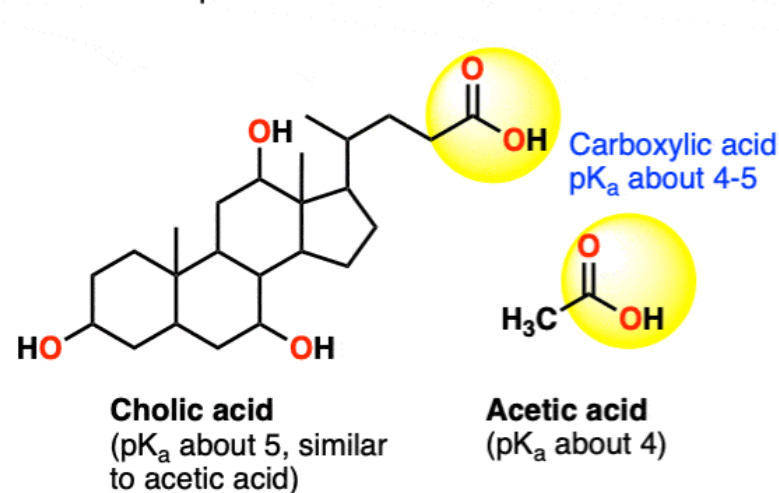
AcO^- is a strong enough base to favorably deprotonate any acid with a pK_a below 5 (green box)

HO^- is a strong enough base to favorably deprotonate any acid with a pK_a below 14 (blue box)

CH_3^- is a strong enough base to favorably deprotonate any acid with a pK_a below 50 (red box)

Not all compounds will be on the pK_a table, so focus on the functional group

Tip: Identify the **most acidic** functional group, and look up the pK_a value for a simple molecule with that functional group. You'll generally be pretty close, even in complex cases!

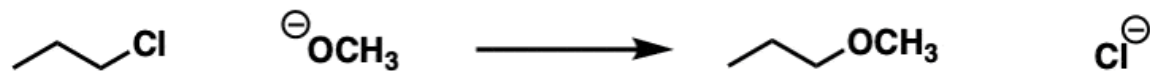
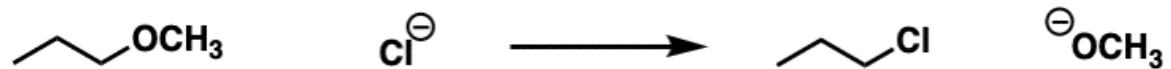



Ammonium ion
 pK_a is 9.3

ESTRAZIONE

Non solo reazioni acido-base

Based **purely** on acid-base characteristics, which reaction would be more favored?
(Don't worry if this reaction looks unfamiliar - just focus on the identity of the bases!)



ESTRAZIONE

Non solo reazioni acido-base

Based **purely** on acid-base characteristics, which reaction would be more favored?

The reaction that results in the **weaker base** will be more favored.

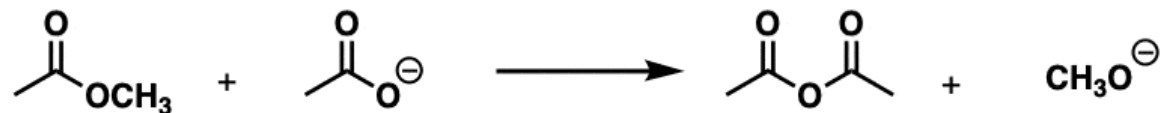
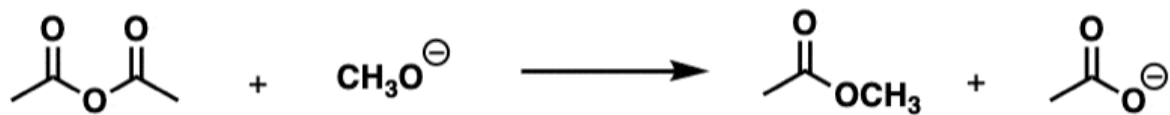


(This is a nucleophilic substitution reaction)

ESTRAZIONE

Non solo reazioni acido-base

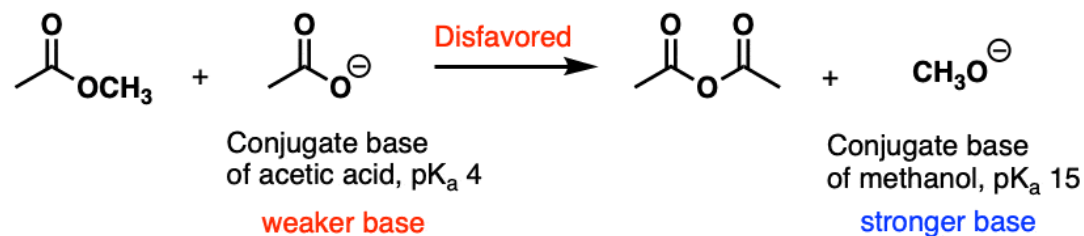
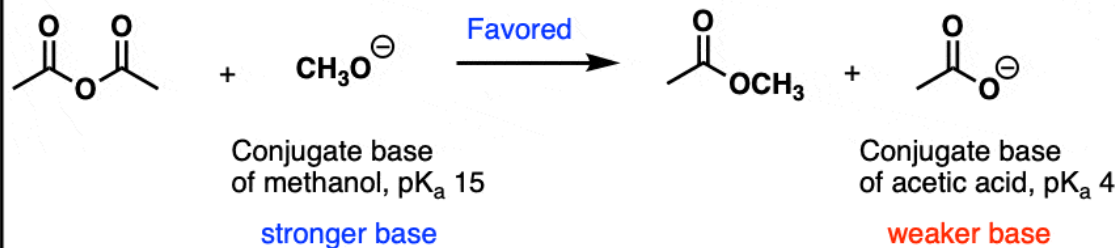
Based **purely** on acid-base characteristics, which reaction would be more favored?
(Don't worry if this reaction looks unfamiliar - just focus on the identity of the bases!)



Non solo reazioni acido-base

Based **purely** on acid-base characteristics, which reaction would be more favored?
(Don't worry about the mechanism)

The reaction which goes from a **stronger base** to a **weaker base** will be favored.



(This is nucleophilic acyl substitution)

ESTRAZIONE

MATERIALE DIDATTICO

- L. Costantino, D. Barlocco «Laboratorio di preparazione estrattiva e sintetica dei farmaci»- (ARACNE)
- D'Ischia - 'La chimica organica in laboratorio'- PICCIN
- Jonathan Clayden, Nick Greeves, Stuart Warren, Organic Chemistry
- J. Isac-Garcia, José A. Dobado, F.G. Calvo-Flores, H. Martinez-Garcia, "Experimental Organic Chemistry – Laboratory Manual" - Elsevier