



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI TRIESTE



**DSCF**

Dipartimento di  
**Scienze Chimiche  
e Farmaceutiche**

*Corso di Laurea in  
Chimica e Tecnologia Farmaceutiche*

***Laboratorio di  
“Metodologie Sintetiche e Analitiche  
in Chimica Farmaceutica”***

***A.A. 2025/2026***

Docente

Filippo Prencipe

[filippo.prencipe@units.it](mailto:filippo.prencipe@units.it)

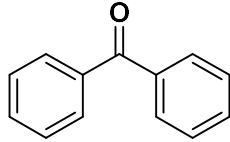
## **Norme generali da osservare in laboratorio**

- È vietato l'accesso ai laboratori alle persone non autorizzate.
- Non ostruire e lasciare sempre prontamente utilizzabili le uscite d'emergenza e le vie di fuga.
- Non ostruire l'accesso alle attrezzature antincendio e di soccorso. Non ostruire i quadri elettrici e i quadri in cui sono installati dispositivi di intercettazione e regolazione dei fluidi.
- Non introdurre in laboratorio materiali e oggetti estranei all'attività lavorativa. Non custodire né abbandonare prodotti o altri materiali non identificabili nei laboratori, nei depositi, né altrove.
- Il laboratorio e i banchi di lavoro devono essere sempre ordinati e puliti da parte di tutti gli operatori. Tenere sempre chiusi gli armadi, i cassetti e gli armadietti dei banchi.
- È proibito fumare.
- È proibito consumare cibo o bevande in laboratorio ed è vietato conservarle in frigoriferi dove siano stoccate sostanze a uso del laboratorio stesso.
- Non muoversi disordinatamente e in modo frettoloso o avere comportamenti che possano recare danno agli altri e a se stessi.
- È proibito tenere comportamenti equivoci inutili che possano far pensare a una situazione di emergenza.
- Non appoggiare sostanze infiammabili vicino a fonti di calore.
- Non appoggiare mai recipienti, bottiglie o apparecchi vicino al bordo del banco di lavoro.
- Le sostanze chimicamente incompatibili non devono trovarsi vicine tra loro.
- Attenersi scrupolosamente alle procedure e alle quantità di reagenti indicate dai responsabili di laboratorio.
- Assicurare sempre la corretta etichettatura di tutti i contenitori.
- Mantenere sempre chiusi tutti i contenitori con prodotti chimici e i contenitori dei rifiuti speciali pericolosi derivati dall'attività.
- Prima di eseguire una qualunque operazione che comporti rischi, avvertire le persone presenti nella stanza e possibilmente il Preposto e assicurarsi che siano state prese tutte le precauzioni necessarie.
- Non lasciare funzionanti inutilmente apparecchiature e strumentazioni varie o esperimenti in corso soprattutto dopo l'orario lavorativo. Eventuali apparecchiature in funzione continua vanno opportunamente segnalate.
- Nei laboratori deve essere indossato il camice, che va tolto prima di accedere in locali di uso comune (aule, biblioteca, ecc.). Non tenere nelle tasche forbici, oggetti di vetro o altro materiale tagliente o contundente.
- I capelli lunghi devono essere tenuti raccolti e si deve evitare l'uso di indumenti o accessori che possano essere fonte di rischio. (bracciali, pendenti, scarpe aperte, tacchi alti, ecc.)
- Rispettare le elementari norme igieniche, è obbligatorio lavarsi le mani una volta manipolati agenti chimici pericolosi, dopo aver tolto i guanti e comunque prima di lasciare il laboratorio. Non toccare le maniglie delle porte e altri oggetti del laboratorio con i guanti con cui si sono maneggiate sostanze chimiche pericolose. Togliere i guanti quando si esce dai laboratori.
- È vietato l'uso di lenti a contatto senza indossare occhiali di protezione.
- È obbligo indossare appropriati DPI (Dispositivi di Protezione Individuale) quando si eseguono lavorazioni che possono comportare rischi; i DPI devono essere utilizzati correttamente e devono essere tenuti sempre in buono stato di conservazione e di manutenzione, notificando eventuali deficienze al proprio responsabile.

- È obbligo consultare la scheda di sicurezza (SDS) prima di maneggiare qualsiasi sostanza chimica.
- In caso di infortunio lieve possono risultare utili le cassette di Pronto Soccorso.
- Le lavoratrici gestanti, puerpere o in periodo di allattamento fino a sette mesi dopo il parto sono tenute a segnalare la loro condizione al Preposto o al Direttore per permettere un'accurata valutazione del rischio secondo quanto prescritto dal Decreto Legislativo 26.03.2001 n.151. La valutazione del rischio potrebbe precludere l'attività di laboratorio.
- Lo studente che è a conoscenza di eventuali allergie o sensibilizzazioni a sostanze chimiche è tenuto a comunicarlo al Preposto prima di accedere al laboratorio.
- Agli studenti sono vietate le operazioni che comportino l'utilizzo di agenti cancerogeni e mutageni.
- Al termine delle attività, il laboratorio deve essere messo in sicurezza (solventi, apparecchiature, sostanze chimiche, ecc.). Nessuna strumentazione funzionante va collocata, neanche provvisoriamente, in aree diverse dai laboratori. L'operatore che lascia per ultimo il laboratorio è tenuto alla verifica di quanto sopra.
- Non gettare materiali nei lavandini.
- I rifiuti speciali prodotti nei laboratori devono essere inseriti negli appositi contenitori e non vanno assolutamente eliminati in altro modo (lavandini, cestini, ecc.)
- In caso di emergenza allertare immediatamente il personale nelle adiacenze per l'eventuale evacuazione dei locali e avvisare il responsabile del laboratorio o altro personale possibilmente strutturato (docente o tecnico-amministrativo). Seguire le istruzioni impartite.
- Informare dell'emergenza il Servizio di Vigilanza interno all'Ateneo 040.558.3053 (3053 da telefono interno) informando della situazione e rendendosi disponibili a collaborare.

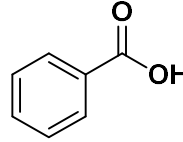
**Importante:** Al fine di tutelare la vostra incolumità personale è fondamentale seguire e rispettare le norme di sicurezza in laboratorio (su Moodle troverete un riassunto delle principali norme di sicurezza in un laboratorio chimico). Occorre anche avere chiari quali possano essere i pericoli che si potrebbero incontrare maneggiando composti chimici di varia natura. Vi pregherei quindi, prima di ogni attività, di annotare sul quaderno la struttura e le frasi di sicurezza di tutti i solventi e i reattivi che andrete ad usare. Le schede di sicurezza possono essere facilmente e velocemente scaricate dal sito del produttore (link: <https://www.sigmaaldrich.com/IT/en>) cercando il solvente/reattivo di interesse ed aprendo quindi il suo corrispettivo SAFETY DATA SHEET (SDS). Ad esempio, per il solvente etil acetato: link: <https://www.sigmaaldrich.com/IT/en/product/sigald/34858>, nella sezione "Documents", troverete il collegamento allo SDS dell'etil acetato (anche in lingua italiana).

## ESTRAZIONE ACIDO-BASE



Benzofenone

M.W. 182.21



Acido benzoico

M.W. 122.13

pka 4.2

### Preparazione delle soluzioni acida e basica per estrazione selettiva

- Preparare 60 mL di una soluzione di NaOH 2N + 10% m/v NaCl: calcolare la quantità in grammi di NaOH necessaria per preparare 60 mL di soluzione 2N.  
In un cilindro graduato misurare 60 mL di acqua deionizzata. Versare l'acqua in una beuta da 100 mL e aggiungere la quantità pesata di NaOH. Agitare cautamente la soluzione fino alla completa dissoluzione del solido. Aggiungere una quantità pari al 10% in peso di NaCl e mescolare fino a completa dissoluzione. Mettere da parte la soluzione preparata
- Preparare una soluzione dei due composti da estrarre: in una beuta da 100 mL versare 30 mL di DCM. Pesare 500 mg di acido benzoico e versarli nella beuta con il solvente organico mescolando fino a completa dissoluzione. Pesare 300 mg di benzofenone e versarli nella beuta con il solvente organico mescolando fino a completa dissoluzione. Mettere da parte la soluzione preparata

### PROCEDURA SPERIMENTALE

Estrazione molecola acida: in un imbuto separatore da 100 mL introdurre la soluzione di DCM dei due composti da estrarre. Estrarre la fase organica (F.O.) con 20 mL di soluzione NaOH 2N. Mescolare energicamente la soluzione bifasica, lasciare separare le due fasi e raccoglierle in due beute da 100 mL (cosa c'è nella fase superiore? E nella fase inferiore?). Versare nuovamente la fase organica nell'imbuto e estrarla nuovamente con 20 mL di soluzione NaOH 2N. Dopo aver mescolato la miscela bifasica, separare le due fasi riunendo nella stessa beuta le due fasi acquose. Mettere momentaneamente da parte la beuta contenente la fase organica (cosa c'è in fase acquosa basica e nella fase organica?)

Lavare gli estratti acquosi riuniti (40 mL) con 3 porzioni da 5 mL di DCM. Riunire gli estratti organici nella beuta contenente la fase organica della precedente estrazione.

In un bagno di ghiaccio raffreddare la soluzione acquosa basica e con una pipetta pasteur aggiungere cautamente una soluzione di HCl 37% fino alla comparsa di un precipitato bianco persistente. A questo punto controllare il pH della soluzione assicurandosi che sia acido (pH 2). Lasciare riposare in bagno di ghiaccio per 10 min la sospensione ottenuta e successivamente filtrare il solido in sospensione utilizzando un imbuto buchner opportunamente munito di un disco di carta da filtro. Lasciare asciugare il solido all'interno del filtro.

Recupero molecola neutra: riprendere la beuta contenente la fase organica e reintrodurla nell'imbuto separatore. Lavare la fase organica per due volte con 5 mL di soluzione satura di NaCl (brine). Versare la fase organica in una beuta da 100 mL e anidrificare aggiungendo sodio solfato. Filtrare il solido e trasferire il filtrato in un pallone da 100 mL. Rimuovere il solvente utilizzando il rotavapor per ottenere un solido.

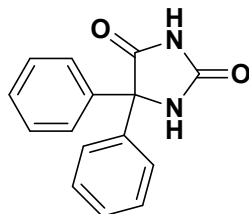
Dopo aver asciugato bene i due solidi ottenuti, preparare rispettivamente due campioni sciogliendo, all'interno di una eppendorff, una piccola quantità di solido in Metanolo.

Effettuare 2 TLC, ciascuna per ogni composto estratto, puntando il solido ottenuto sperimentalmente insieme alla molecola di riferimento confrontandone la rispondenza e il grado di purezza. (Sistema eluente: Etere di petrolio / Etile acetato)

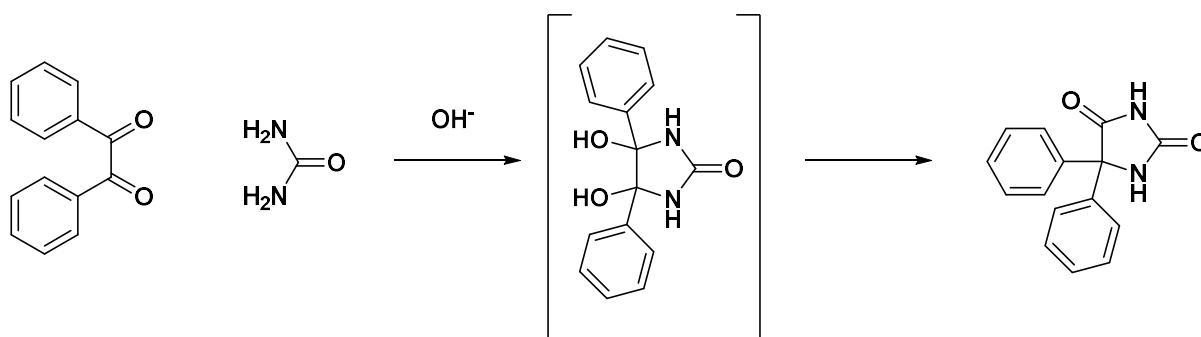
Pesare la quantità di solido ottenuto e calcolare la resa di estrazione

# SINTESI DELLA FENITOINA

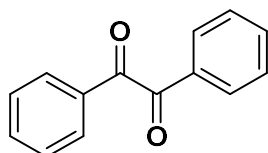
## 5,5-DIFENIL-IMIDAZOLIDIN-2,4-DIONE



### Schema di sintesi

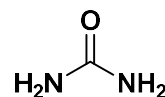


### Reagenti



Difeniletandione

M.W. 210.23



Urea

M.W. 60.06

### **PROCEDURA SPERIMENTALE**

In un pallone da 100 mL vengono sciolti in 25 mL di etanolo il difeniletandione (5 mmoli) e l'urea (10 mmoli). Alla soluzione ottenuta viene aggiunta una soluzione preparata sciogliendo 2g di KOH in 3 mL di acqua. La risultante miscela di reazione viene scaldata a refluxo e agitata per 2h.

## **WORKUP**

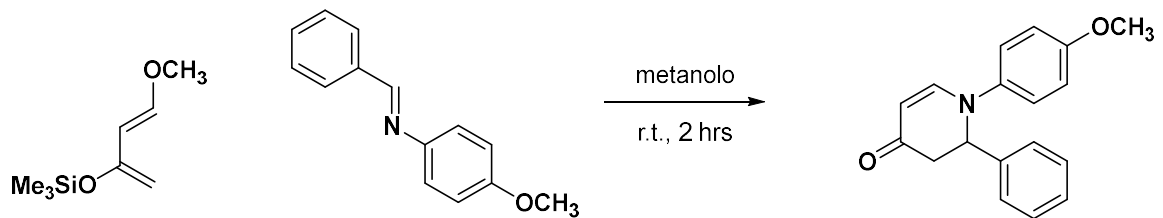
Trascorso il tempo di reazione si "taglia" la miscela con acqua (100 mL) e si rimuove la componente insolubile mediante filtrazione. Il filtrato ottenuto viene neutralizzato con una soluzione di HCl 37%. A pH neutro la difenilidantoina precipita. Si recupera il precipitato mediante filtrazione e si lava con 5 mL di acqua fredda. Dopo aver asciugato bene il solido ottenuto si ricristallizza la difenilidantoina con etanolo 96%.

Determinare la resa di reazione prima e dopo la ricristallizzazione del prodotto. Determinare il punto di fusione dei cristalli ottenuti (293-295°C). Registrare spettro IR.

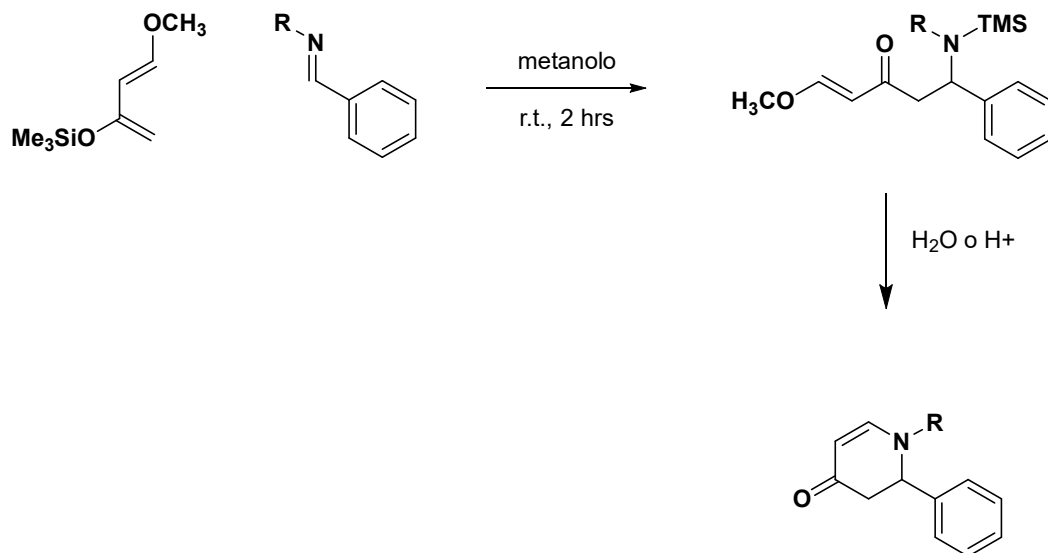
Trasferire il prodotto in un opportuno contenitore e consegnarlo al docente

## Reazione acid-free di Aza Diels-Alder

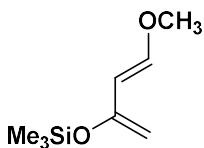
### Schema di sintesi



### Meccanismo di reazione



## Reagenti

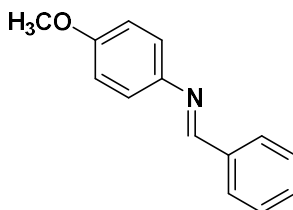


Diene di Danishefsky

M.W. 172.299

d = 0.89 g/mL

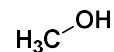
CAS 54125-02-9



N-Benzylidene-4-methoxyaniline

M.W. 211.26

CAS 783-08-4



Metanolo

CAS 65-56-1

## **PROCEDURA SPERIMENTALE**

In un pallone da 50 mL si introducono 2 mL di metanolo, l'immina (0.125 mmoli) e il diene (0.25 mmoli). La risultante soluzione viene lasciata in agitazione a temperatura ambiente per 2 ore.

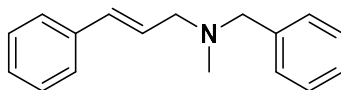
## **WORKUP**

Trascorso il tempo di reazione si quencha con 0.5 mL di HCl 1 M. La risultante miscela viene estratta con etere etilico (2 x 15 mL). Gli estratti organici vengono riuniti, anidrificati con sodio solfato. Dopo aver rimosso il sodio solfato mediante filtrazione si concentra il filtrato a pressione ridotta. Il residuo grezzo ottenuto viene purificato mediante colonna cromatografica (sistema eluente: 3 etere di petrolio / 7 Acetato di etile, 500 mL di eluente).

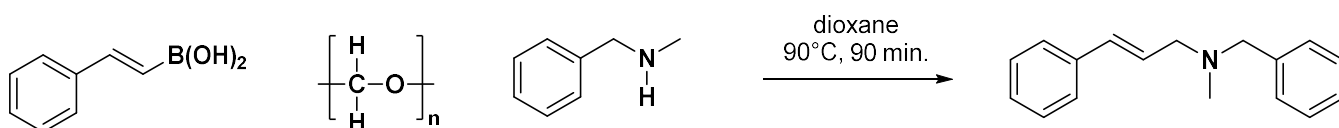
Descrivere lo stato fisico e le caratteristiche del prodotto ottenuto. Registrare uno spettro IR del prodotto e preparare un campione  $^1\text{H}$  NMR sciogliendo 3 mg di prodotto in 700  $\mu\text{L}$  di  $\text{CDCl}_3$ .

## REAZIONE DI PETATIS

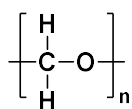
### Sintesi di un derivato amminico terziario analogo di un antifungino



#### Schema di sintesi



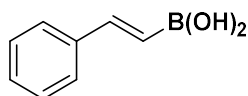
#### Reagenti



Paraformaldehyde

M.W. 30.03

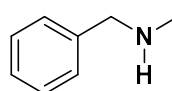
CAS 30525-89-4



(E)-Styrylboronic acid

M.W. 147.97

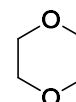
CAS 6783-05-7



N-benzylmethanamine

M.W. 121.18

CAS 103-67-3



1,4-Dioxane

M.W. 88.11 d=1.03

CAS 123-91-1



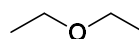
Hydrochloric acid

CAS 7647-01-0



Sodium hydroxide

CAS 1310-73-2



Diethyl ether

CAS 60-29-7



Sodium sulfate

CAS 7757-82-6

#### PROCEDURA SPERIMENTALE

In un pallone da 25 mL si combinano la paraformaldeide (0.80 mmol) e la N-benzilmetilammina (0.78 mmol) in diossano (4 mL). La soluzione ottenuta viene scaldata a 90°C per 10 min. Si prepara una soluzione dell'acido (E)-stirilboronico (1.15 mmol) in diossano (2 mL). Si aggiunge questa soluzione, goccia a goccia, alla miscela di reazione (l'aggiunta viene fatta a caldo!) e si scalda a refluxo sotto agitazione per 90 min. Monitorare l'andamento della reazione mediante TLC (eluyente 7 Petrolio 3 Etile acetato)

## WORKUP

Trascorso il tempo di reazione, la miscela viene raffreddata a temperatura ambiente e si acidifica con HCl 2M (4 mL). Si trasferisce la soluzione acquosa acida in un imbuto separatore e si lava con etere etilico (3 x 10 mL). (Assicurarsi di agitare vigorosamente le fasi)

Dopo aver separato le due fasi, si basifica la fase acquosa acida aggiungendo cautamente e gradualmente NaOH 3M (4 mL) (controllare con cartina tornasole che il pH sia fortemente basico)

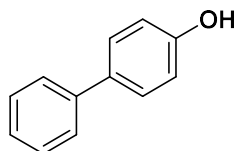
Trasferire la soluzione acquosa basica nell'imbuto separatore ed estrarre con etere etilico (3 x 10 mL). (Assicurarsi di estrarre in maniera energica). Dopo le tre estrazioni controllare che si sia estratto tutto il prodotto effettuando una TLC delle due fasi.

Si trasferisce la fase organica in una beuta, si anidrifica con sodio solfato, si filtra lavando con poco etere etilico il solido nel filtro, quindi si trasferisce il filtrato in un pallone da 100 mL e si tira a secco al rotavapor. Il prodotto desiderato viene ottenuto come un olio incolore.

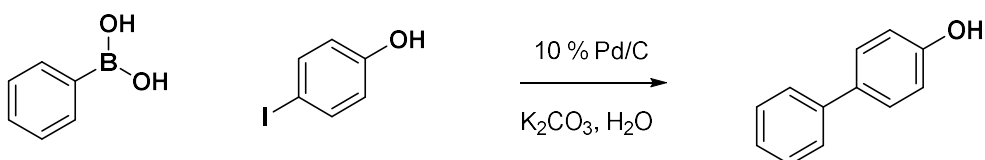
Registrare lo spettro IR. Registrare lo spettro  $^1\text{H}$  NMR sciogliendo 5 mg di prodotto in 700  $\mu\text{L}$  di  $\text{CDCl}_3$ . Pesare il prodotto e determinare la resa di reazione

# REAZIONE DI SUZUKI-MIYAJIMA

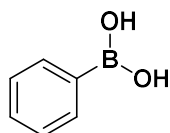
## Sintesi del 4-fenilfenolo



### Schema di sintesi



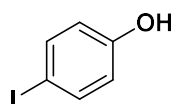
### Reagenti



Acido fenil boronico

M.W. 121.93

CAS 98-80-6



Iodo fenolo

M.W. 220.01

CAS 540-38-5

$K_2CO_3$

Carbonato di potassio

M.W. 138.21

CAS 584-08-7

10 % Pd/C

10% palladio su carbone

M.W. 106.42

CAS (Pd) 7440-05-3

CAS (C) 7440-44-0

HCl

Hydrochloric acid

CAS 7647-01-0

$H_3C-OH$

Metanolo

CAS 65-56-1

## **PROCEDURA SPERIMENTALE**

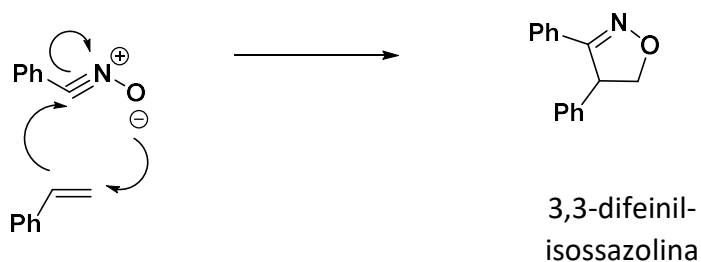
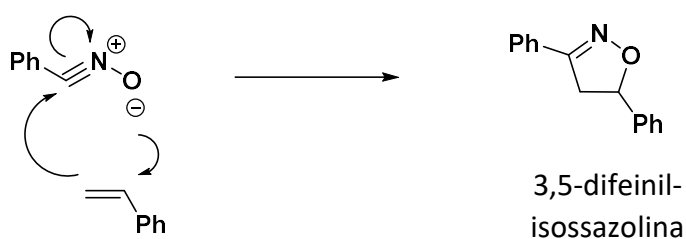
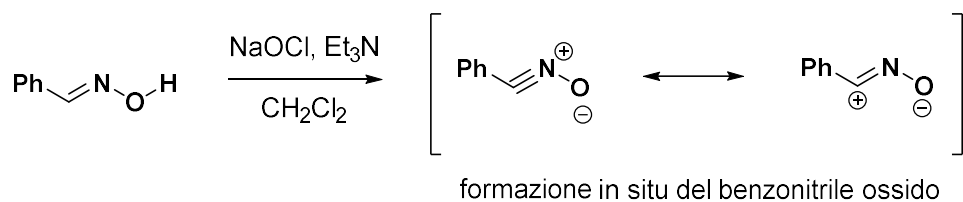
Un pallone da 50 mL viene caricato con acqua (10 mL), l'acido boronico (1 mmole),  $K_2CO_3$  e lo iodofenolo (1 eq, 1 mmole). Si pone in agitazione la risultante miscela. Si pesa il catalizzatore all'interno di una eppendorf e si aggiunge 1 mL di acqua. Con l'aiuto di una pasteur si trasferisce la sospensione del catalizzatore nella miscela di reazione. Si scalda a refluxo la risultante sospensione lasciando in agitazione per 40 minuti. (osservare la formazione di un precipitato bianco segno che indica la formazione del prodotto di reazione)

## **WORKUP**

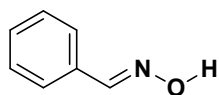
Trascorso il tempo di reazione si raffredda la miscela a temperatura ambiente quindi si aggiunge HCl 2M fino a pH acido (pH =3, controllare con pH paper) ottenendo un precipitato. Si filtra il precipitato e si lava con acqua (10 mL). Il solido filtrato contiene il catalizzatore che va eliminato. Nel filtro contenente il solido si aggiungono 10 mL di metanolo, si filtra sottovuoto e si recupera il filtrato. Al filtrato si aggiungono 10 mL di acqua: si verifica la precipitazione di un solido bianco. Si solubilizza il precipitato a caldo e si lascia cristallizzare prima a temperatura ambiente e infine in bagno di ghiaccio. Si filtrano i cristalli ottenuti e si lascia asciugare nel filtro tutta la notte. Una volta secco pesare il prodotto ottenuto determinando la resa di reazione. Determinare il punto di fusione e preparare un campione NMR sciogliendo 3 mg di prodotto in 700  $\mu$ L di solvente deuterato.

## SINTESI DI UN DERIVATO DIFENILISOSSAZOLINONICO MEDIANTE CICLOADDIZIONE 1,3-DIPOLARE

### Schema di sintesi



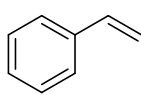
### Reagenti



*Syn*-benzaldehyde oxime

M.W. 121.14

CAS 622-31-1

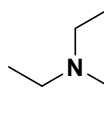


Styrene

M.W. 104.15

d = 0.909 g/mL

CAS 100-42-5



Triethylamine

M.W. 101.19

d = 0.728 g/mL

CAS 121-44-8

NaOCl

Sodio ipoclorito

soluzione al 10-13%

M.W. 74.44

CAS 7681-52-9

|                          |                          |
|--------------------------|--------------------------|
| $\text{Na}_2\text{SO}_4$ | $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ |
| Sodium sulfate           | Dichloromethane          |
| CAS 7757-82-6            | CAS 75-09-2              |

### PROCEDURA SPERIMENTALE

In un pallone da 25 mL caricato con DCM (1.2 mL), si combinano lo stirene (2 mmoli), la Trietilamina (24  $\mu\text{L}$ ) e la soluzione di ipoclorito di sodio (2 mL). La risultante miscela viene raffreddata a 0°C in bagno di ghiaccio. A freddo si aggiunge goccia a goccia alla miscela di reazione una soluzione di syn-benzaldeide ossima (1.61 mmoli) sciolta in 250  $\mu\text{L}$  di DCM. La risultante miscela bifasica viene lasciata in agitazione a 0°C per 45 min.

### WORKUP

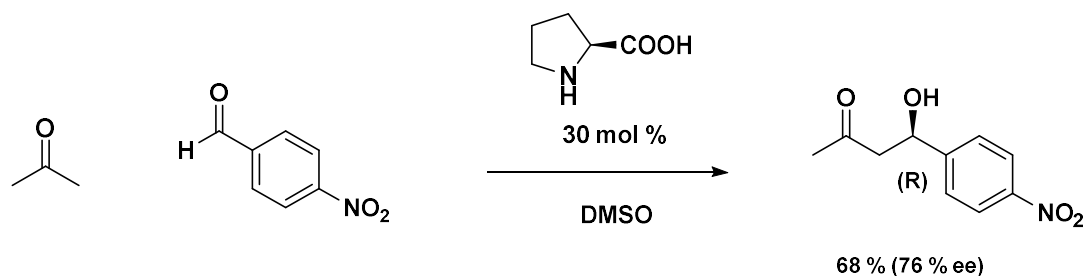
Trascorso il tempo di reazione si trasferisce la miscela bifasica di colore giallo in un imbuto separatore, si aggiungono 10 ml di DCM, si agita e successivamente si separano le due fasi. Si estrae la fase acquosa con ulteriori 25 mL di DCM. Si riuniscono gli estratti organici e si anidrifica con sodio solfato anidro. Si filtra e si rimuove il solvente sotto vuoto. Il prodotto desiderato viene ottenuto come un solido giallo. Si ricristallizza il prodotto grezzo da EtOH 96%. (solido cristallino bianco)

Si determini la resa della reazione prima e dopo la ricristallizzazione. Registrare lo spettro  $^1\text{H}$  NMR sciogliendo 7-8 mg di prodotto in 700  $\mu\text{L}$  di  $\text{CDCl}_3$ . Trasferire il prodotto in un opportuno contenitore e consegnarlo al docente

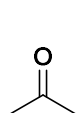
Interpretare lo spettro NMR determinando quale dei due possibili regioisomeri del prodotto è stato ottenuto

## REAZIONE ALDOLICA ASIMMETRICA ORGANOCATALIZZATA

### Schema di sintesi



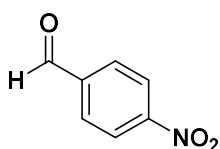
### Reagenti



Acetone

M.W. 58.08

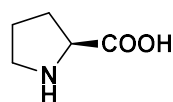
CAS 67-64-1



4-nitrobenzaldehyde

M.W. 151.12

CAS 555-16-8



L-prolina

M.W. 115.13

CAS 147-85-3



Dimetilsolfossido

M.W. 78.13

CAS 67-68-5

### **PROCEDURA SPERIMENTALE**

Un pallone da 50 mL viene caricato con 5 mL di miscela DMSO/Acetone in rapporto 4:1. Si aggiunge l'amminoacido L-prolina (0.15 mmoli) e si lascia in agitazione a temperatura ambiente per 15 minuti. Trascorso questo tempo si aggiunge l'aldeide (0.5 mmoli) e la risultante miscela di reazione viene agitata a temperatura ambiente per 2 ore. (monitorare l'andamento della reazione mediante TLC)

### **WORUP**

Trascorso il tempo di reazione si tratta la miscela con una soluzione acquosa satura di ammonio cloruro (5 mL). Si trasferisce in imbuto separatore e si estrae con Acetato di Etile (2 x 20 mL). Dopo aver verificato mediante TLC la completa estrazione del prodotto, si riuniscono i due estratti organici, si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si evapora il solvente al rotavapor. Il residuo

ottenuto viene purificato mediante colonna cromatografica (sistema eluente etere di petrolio/acetato di etile 6:4)

Descrivere lo stato fisico del prodotto ottenuto, pesarlo e determinare la resa di reazione. Preparare un campione NMR sciogliendo 3 mg di prodotto in 700  $\mu$ L di solvente deuterato.