

**Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute**  
**Corso di Laurea Magistrale in Chimica e Tecnologia**  
**Farmaceutiche**

**Anno Accademico 2025/2026 - 4° anno**

**Quaderno di Laboratorio di preparazione estrattiva e  
sintetica dei farmaci**

**Prof Emanuele Amata**

**Nome:.....**

**Cognome:.....**

**Matricola:.....**

**Firma Studente**

**Firma Docente**

## Sicurezza in laboratorio

Il lavoro di laboratorio può essere pericoloso, come qualsiasi tipo di lavoro pratico. I peggiori pericoli minacciano gli occhi. Pertanto, è indispensabile indossare sempre gli **occhiali di sicurezza** e il **camice**. Si sconsiglia l'uso di lenti a contatto, e si raccomanda di indossare indumenti che garantiscano un'adeguata protezione del corpo e dei piedi. I sandali, ad esempio, non sono calzature adeguate.

Possiamo dire che:

- **Solidi e liquidi** rappresentano un rischio principalmente quando ingeriti o per contatto. Ciò può accadere inconsciamente, ad es. a causa di mani contaminate.
- I **gas**, se tossici, costituiscono un problema più grave perché possono raggiungerci anche a distanza. In questo caso, l'unica area di lavoro sicura è la cappa.

Esistono alcune avvertenze da segnalare per l'utilizzo di particolari classi di composti:

- sostanze infiammabili (etere dietilico, acetone, esano, etanolo, metanolo): il livello di cautela dipende dalle caratteristiche di infiammabilità e pericolosità. L'etere dietilico è altamente infiammabile e volatile. Infatti, i vapori possono essere innescati in modo esplosivo dalla fiamma di un bunsen anche a pochi metri di distanza.
- solventi organici e composti volatili (etere di petrolio, acetone, diclorometano, cloroformio, anidride acetica): se inalati accidentalmente possono causare irritazione delle prime vie respiratorie, intossicazione, nausea, o anche depressione del sistema nervoso centrale.
- sostanze corrosive (acido cloridrico, acido solforico, idrossido di sodio, anidride acetica): acidi e basi forti possono causare lesioni gravi. Il loro utilizzo richiede particolare cautela ed attenzione (si raccomanda l'uso di occhiali di protezione e guanti antiacido).

## Smaltimento dei rifiuti di laboratorio

I rifiuti chimici non devono essere smaltiti nel lavandino o tra i rifiuti ordinari ma negli appositi recipienti per lo smaltimento presenti in laboratorio. Sono presenti in laboratorio contenitori troncoconici o bidoni corredati di etichette che distinguono il tipo di rifiuto da riporre in essi. La classificazione segue l'ordine riportato nella tabella:

Tipologia di rifiuto	Codice CER	Esempio delle sostanze
Solventi organici alogenati	07-07-03*	Solventi e sostanze contenenti cloro, iodio, e bromo e derivati
Solventi non alogenati	07-07-04*	Etanolo, acetone, isopropanolo, etilacetato, cicloesano
Soluzioni acquose	07-07-01*	Soluzioni acquose di lavaggio
Vetro e plastica	15-01-10*	Imballaggi contenenti residui di sostanze pericolose o contaminati da tali sostanze: pipette pasteur, navicelle per pesata, eppendorf
Guanti	15-02-02*	Materiali assorbenti e filtranti: carta contaminata, carta per pesata, guanti

**Prima di iniziare qualsiasi attività, accertarsi di avere un quadro chiaro circa gli scopi e le finalità che l'esperimento si prefigge.**

## Vetreria

In laboratorio vengono utilizzati vari tipi di vetro con differenti caratteristiche.

Il cosiddetto **vetro comune** è vetro sodico-calcico la cui composizione tipica è: 71-75% in peso  $\text{SiO}_2$ , 12-16%  $\text{Na}_2\text{O}$ , 10-15%  $\text{CaO}$  e basse percentuali di altre sostanze, quali ad esempio agenti coloranti. Ha buone proprietà chimico fisiche. È idoneo per prodotti che generalmente sono sottoposti per breve periodo a contatto chimico e ad un limitato stress termico (es. pipette, provette). Uno dei suoi maggiori limiti è rappresentato dall'elevata espansione termica.

Il **vetro borosilicato** ha eccellenti proprietà chimico fisiche. Ha una composizione di:  $\text{SiO}_2$  70-80% in peso, 7-13%  $\text{B}_2\text{O}_3$ , 4-8%  $\text{Na}_2\text{O}$  e  $\text{K}_2\text{O}$ , e 2-7%  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . I più diffusi marchi registrati sono Pyrex e Duran ed è un vetro particolarmente indicato per applicazioni che richiedono una eccellente resistenza chimica e termica (inclusi stress termici). Per questa ragione è molto utilizzato nella fabbricazione di materiale per laboratorio chimico. Il vetro borosilicato è inerte rispetto a tutte le sostanze ad eccezione dell'acido fluoridrico, dell'acido fosforico a caldo e delle soluzioni alcaline a caldo. Tra questi il più pericoloso è l'acido fluoridrico, che attacca il vetro anche se presente in concentrazione di poche ppm. Acido fosforico e soluzioni alcaline diluite non creano problemi a freddo. Inoltre, il vetro borosilicato può essere utilizzato fino ad un massimo di 500 °C (solo per brevi periodi), e si può lavorare tranquillamente fino a 230 °C.

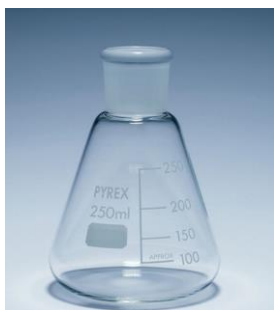
Generalmente il materiale in vetro, a meno che specificamente progettato per lo scopo, non deve essere utilizzato a pressioni diverse da quella atmosferica.

Gli oggetti in vetro più comuni in uso nei laboratori scientifici possono essere:

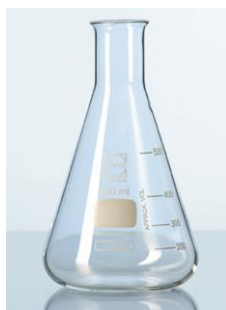
- a) **non graduati**: provette, becher, beute, palloni, imbuti, imbuti separatori, refrigeranti;
- b) **graduati**: cilindri graduati, pipette, matracci, burette (vetreria volumetrica).

### Beuta (o matraccio di Erlenmeyer)

Generalmente in vetro borosilicato, può essere quindi posta su piastre riscaldanti e Becco Bunsen. La forma tronco-conica e il collo permettono di agitarne il contenuto senza spanderlo e la rendono particolarmente adatta nei casi in cui si debba sottoporre un liquido ad ebollizione prolungata. Il collo può essere smerigliato per poterla chiudere con apposito tappo in vetro. Nel caso di collo non smerigliato si possono usare tappi in gomma o Parafilm® (pellicola di cera). Un tipo particolare di beuta è la beuta da vuoto (o codata), provvista di attacco laterale per un tubo da vuoto, che viene utilizzata nelle filtrazioni sottovuoto.



beuta con collo smerigliato



beuta con collo non smerigliato



beuta codata

### Becher

È un contenitore di forma cilindrica con un beccuccio. Può avere capacità diverse. È adatto a svariati usi, dalla preparazione delle soluzioni fino al riscaldamento. Per chiuderli si possono usare vetrini da orologio quando caldi, altrimenti Parafilm®. Sono generalmente graduati ma non sono adatti per misurare quantità precise.



### Pallone

I palloni, generalmente in vetro borosilicato, sono recipienti di forma sferica e collo cilindrico dotato di un inserto smerigliato a conicità definita ed unificata, tale da potersi raccordare con altra vetreria dotata di conicità corrispondente. Il fondo dei palloni può essere tondo oppure piatto.

I palloni possono inoltre essere muniti di due o più colli, per l'inserimento di particolari strumenti quali termometri o agitatori meccanici.



### Imbuto

Gli imbuto in vetro (o plastica) sono adoperati per il travaso dei liquidi. Possono avere gambo lungo o corto e diverso diametro. Gli imbuto per il travaso di polveri, invece, hanno il gambo corto e largo.



imbuto in vetro



imbuto in plastica



imbuto per solidi

### Pipette pasteur

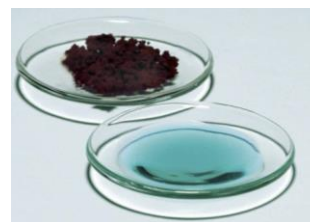
Possono essere in vetro o in plastica e vengono usate solo per prelievi necessari a prove qualitative. Il prelievo mediante pipetta pasteur viene eseguito con la tettarella.



### Vetrino da orologio

Deve il suo nome alla particolare forma, la quale ne rende utile l'impiego quando sia necessario disporre, sul banco di lavoro, di piccole quantità di reagenti, liquidi o solidi.

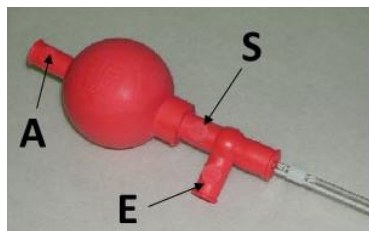
Possono inoltre servire come coperchi per becker contenenti liquidi in ebollizione, allo scopo di evitare schizzi.



### Pipette graduate e tarate

Le pipette graduate vengono utilizzate per il prelievo e l'erogazione di volumi variabili di liquidi (errore  $\pm 0.05\%$ ).

Le pipette tarate sono usate per il prelievo e l'erogazione di volumi fissi di liquidi (errore  $\pm 0.1\%$ ).



Per l'aspirazione e la successiva erogazione del liquido, queste pipette vengono usate insieme alla propipetta, detta anche palla di Peleo.

**Come adoperare la palla di Peleo:** l'estremità superiore della pipetta di vetro viene inserita in prossimità della valvola S. Non spingere troppo in fondo, altrimenti la pipetta potrebbe rimanere bloccata. A questo punto, premere la valvola A tra pollice e indice, e schiacciare la palla di Peleo in modo da eliminare l'aria contenuta in essa. Immergere la punta della pipetta nel serbatoio del liquido, e premendo la valvola S, lasciare aspirare il liquido appena sopra il segno di graduazione desiderato (fare attenzione a non far arrivare il liquido all'interno della palla!). Con la valvola E si fa defluire il liquido nel serbatoio desiderato o si elimina il volume in eccesso.

## Cilindro

I cilindri fanno parte della categoria degli strumenti di misura, anche se le loro caratteristiche costruttive non consentono di ottenere gli stessi livelli di accuratezza e precisione garantite dai matracci tarati. Sono disponibili in differenti capacità.

### Lettura del volume corretto

A causa della tensione superficiale, sia nel matraccio che nel cilindro, il liquido aderisce alla parete del recipiente; di conseguenza la superficie limite non è piana, ma curva (menisco); il fenomeno è tanto più evidente quanto più piccolo è il diametro.

Per l'acqua e le soluzioni acquose, il menisco è concavo. In questo caso, si deve leggere il volume nel punto più basso dello specchio del liquido: il punto più basso del menisco deve toccare l'angolo superiore della linea di graduazione.



Nel caso del mercurio, il menisco è convesso, cioè la parte centrale del liquido è più alta di quella a contatto col contenitore. In questo caso, si deve leggere il volume nel punto più alto dello specchio del liquido. In tal caso, il punto più alto del menisco deve toccare l'angolo inferiore della linea di graduazione.



## Provette

La provetta o tubo da saggio consiste in un tubo di vetro chiuso ad un'estremità, di vario diametro e lunghezza. Al loro interno possono aver luogo reazioni di piccole quantità di sostanze sia a freddo che a caldo (alla fiamma con Becco Bunsen), in questo ultimo caso è opportuno utilizzare le apposite pinze in legno.



### Agitatori a bacchetta

Bacchette realizzate in vetro pieno, vengono usate per miscelare soluzioni all'interno di becker e per travasare liquidi evitando scolamenti lungo le pareti del recipiente.



## Imbuto separatore

L'imbuto separatore è un contenitore in vetro di forma conica chiuso in alto tramite un tappo e nel gambo, costituito da un tubo solitamente lungo e stretto, è munito di rubinetto.

Viene utilizzato, nelle normali attività di laboratorio, per separare liquidi non miscibili (es. acqua e olio). Versando la miscela dei due liquidi nell'imbuto separatore si ottiene la loro separazione in virtù della loro diversa densità.

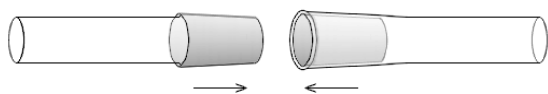
Il liquido a densità maggiore viene raccolto dal rubinetto mentre quello a densità minore rimane nell'imbuto separatore.



## Giunti per vetreria

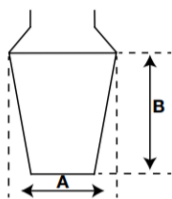
Con i *giunti di vetro smerigliato* è possibile montare e smontare rapidamente complesse apparecchiature usate in laboratorio per operazioni quali, ad esempio, distillazione e riflusso. In queste apparecchiature, i vari componenti di vetreria sono montati in modo non permanente, formando un sistema a tenuta. I giunti di vetro smerigliato comunemente usati sono di due tipi: i giunti conici e quelli a sfera.

### Giunti conici



I giunti conici consistono di una parte maschio e una femmina con conicità normalizzata 1:10.

Questo significa che il diametro del cono aumenta (o diminuisce) di una unità ogni 10 unità di lunghezza. A parte i tappi terminali, la maggior parte dei giunti conici sono cavi per permettere il passaggio di liquidi o gas. Ad esempio, si può connettere un pallone, un condensatore di Liebig e un gorgogliatore per scaldare a riflusso una miscela di reazione.

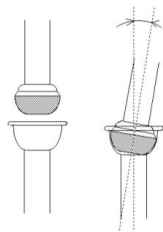


Ogni giunto conico è contraddistinto da due numeri:

- 1- diametro del maschio nel punto più largo (A)
- 2- lunghezza del maschio (B)

Per esempio, la coppia di numeri 29/32 significa che la larghezza del giunto è di 29 mm e la sua lunghezza è di 32 mm.

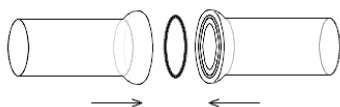
### Giunti a sfera



In questo caso le parti terminali maschio e femmina hanno una superficie smerigliata sferica, forata in modo da permettere il passaggio di liquidi o gas. I giunti a sfera si usano quando è necessario assicurare un certo gioco alla giunzione, come ad esempio nel connettere una trappola fredda ad una linea da vuoto.



### Giunti O-ring



La tenuta tra i due giunti di vetro è realizzata tramite O-ring. Questo giunto è più simmetrico, nel senso che le due parti da unire sono identiche: l'estremità è più spessa e ha una scanalatura circolare dove va ad inserirsi un o-ring di elastomero.

Le dimensioni dei giunti o-ring si basano sul diametro interno del giunto, e sono espresse in millimetri. Le due parti possono separarsi facilmente, e sono tenute assieme da pinze o morsetti. L'elastomero che costituisce l'o-ring è poco resistente ad alte temperature, e in tali casi sono preferibili altri tipi di giunto usando grasso adatto alle alte temperature

### **Pulizia della vetreria**

La pulizia della vetreria è fondamentale per la corretta riuscita delle esperienze. È necessario quindi pulire sempre la vetreria alla fine di ogni esperienza. Quindi, dopo aver riposto le sostanze nei contenitori adatti alla loro conservazione e aver conferito i rifiuti presso gli appositi contenitori di smaltimento, si può procedere al lavaggio. Bisogna prestare attenzione all'integrità della vetreria e ai giunti. Questi ultimi non vanno mai forzati e se sono grippati, si può provare a riscaldarli moderatamente. Non usare tappi di vetro con liquidi grippanti (es. NaOH).

Eliminare la vetreria che presenta anche minimi danneggiamenti o rotture.

Se i residui sono solubili in acqua è opportuno procedere ad un primo lavaggio con acqua deionizzata, utilizzando eventualmente una spatolina, e versare il contenuto nell'apposito contenitore di smaltimento. Se i residui non sono solubili in acqua, procedere alla solubilizzazione dei residui con un po' di solvente (ad esempio metanolo), e conferire il contenuto nell'apposito contenitore di smaltimento. In un secondo momento, si potrà procedere al lavaggio con detersivo, utilizzando eventualmente gli appositi scovolini, e poi al risciacquo con acqua corrente di rubinetto. Infine, risciacquare la vetreria con acqua distillata e lasciarla asciugare sotto la propria cappa.

Bisogna prestare particolare attenzione ai rubinetti e ai giunti, infatti questi prima di essere lavati vanno puliti con solvente per eliminare i residui di grasso.

## Altra strumentazione di laboratorio

### Le materie plastiche

In molti casi il vetro può essere sostituito con materiale in plastica che spesso permette una notevole riduzione dei costi. È importante però verificare che il tipo di plastica scelta non venga attaccata dalle sostanze con le quali verrà a contatto, per evitare di contaminare campioni e reagenti o di danneggiare l'oggetto in plastica; ad es.: molti tipi di plastica sono incompatibili con i solventi organici che ne provocano la dissoluzione.

La spruzzetta è un flacone di plastica (polietilene) flessibile con tappo a vite corredato di tubo rigido ricurvo e appuntito. Viene riempita di un liquido che viene trasferito per espulsione strizzando il flacone.



### Spatole e pinzette

Generalmente in acciaio inox, ma anche in plastica. Si usano per prelevare piccole quantità di reagenti solidi e per manipolare oggetti di piccole dimensioni.



### Pinze, morsetti e sostegni metallici

Le pinze sono molto utilizzate in laboratorio chimico. Possono avere svariati ruoli, ma in genere servono per poter maneggiare attrezzature senza esporsi a rischi. È infatti comune che in un laboratorio sia rischioso afferrare recipienti con le mani, specialmente quando si lavora ad alte temperature. Ne esistono svariati modelli, prodotti in diverse forme, dimensioni e materiali, in funzione dello scopo per il quale vengono utilizzate.

I sostegni metallici sono costituiti da una barra verticale e da un basamento pesante e servono per il montaggio delle apparecchiature. Su certi banchi da laboratorio esistono tralicci fissi di barre metalliche, orizzontali e verticali da usare per lo stesso scopo.

Tutti i dispositivi necessari al montaggio degli apparecchi (pinze, anelli, etc.) vengono fissati all'asta del sostegno mediante morsetti.



Altre attrezzature minute comprendono gli anelli di sughero o gomma per sostenere palloni o recipienti a fondo tondo.



anelli in sughero



anello in gomma

### **Pellicole sigillanti**

Il Parafilm® è una pellicola di cera (poliolefine e cera paraffinica) impermeabile all'acqua, semitrasparente ed elastica (potere di stiramento = 200%). Si adatta a tutte le superfici, cilindri, provette, becher sigillandoli perfettamente. Non è resistente ad alcuni solventi organici, quali dietilere, cloroformio, carbonio tetracloruro, benzene, toluene. Ha un punto di fusione di 60 °C e un punto di infiammabilità di 301 °C.



Parafilm

## La bilancia elettronica

In generale, tutte le bilance analitiche sono dotate della funzione di autotaratura con un peso campione incorporato e molto spesso della sottrazione elettronica della tara, mentre per le bilance tecniche si ricorre in prevalenza alla taratura manuale esterna con massa standard. Esistono modelli di bilance dotati di sensori di temperatura che provvedono automaticamente alla correzione della taratura non appena la temperatura ambiente esce da un intervallo di tempo prestabilito.

La maggior parte delle bilance dispone dell'azzeramento della tara a comando o della sua memorizzazione; molti modelli sono dotati di autodiagnosi al momento dell'accensione per la verifica del corretto funzionamento della bilancia



Le bilance analitiche sono suddivise a loro volta in quattro gruppi:

- macrobalance (leggibilità 0.1 mg),
- semimicrobalance (leggibilità 0.01 mg),
- microbalance (leggibilità 1  $\mu$ g),
- ultramicrobalance (leggibilità 0.1  $\mu$ g).

Nel linguaggio corrente le macro e le semimicro sono chiamate bilance analitiche, mentre le altre due microbalance.

Le bilance tecniche, per pesate di quantità relativamente grandi di campioni, non richiedono una grande risoluzione, ma un'alta capacità; hanno portate comprese tra 50 g e 60 kg con leggibilità tra 0,001 g e 1 g.

## Uso e manutenzione della bilancia

La bilancia va usata con cautela e tenuta nello stato di massima pulizia. Al termine di ogni pesata, eventuali reagenti fuoriusciti dal contenitore in cui la pesata è stata eseguita devono essere rimossi, con apposito pennellino.

Si devono utilizzare recipienti perfettamente asciutti. In caso contrario la massa dell'oggetto diminuisce progressivamente in seguito a evaporazione, rendendo impossibile una pesata accurata e precisa. Si osserva il fenomeno opposto quando si pesano oggetti essiccati (per esempio in stufa). In questo caso si deve attendere la stabilizzazione igroscopica della superficie dell'oggetto.

## Esecuzione della pesata

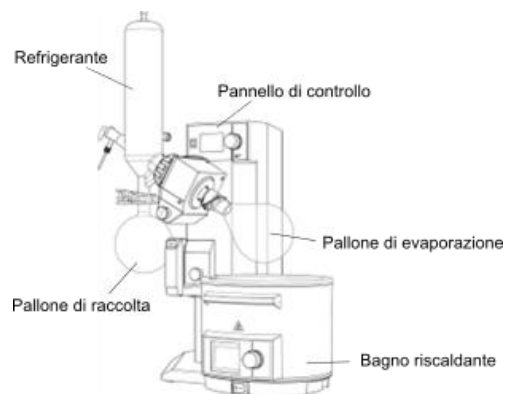
1. Aprire lo sportello della bilancia e porre una navicella in plastica, riquadro di carta oleata o il contenitore appropriato (es. pallone senza magnete), a seconda delle indicazioni del singolo esperimento, pulito ed asciutto, sul piatto della bilancia.
2. Richiudere lo sportello e attendere che la massa visualizzata sul display si stabilizzi e poi azzerare premendo il pulsante di tara.
3. Aprire lo sportello e mettere nel contenitore la quantità desiderata di prodotto; richiudere lo sportello, lasciare stabilizzare e leggere la massa.
4. Aprire lo sportello e prelevare il contenitore. Richiudere lo sportello e azzerare la bilancia.
5. Effettuare l'azzeramento per la tara e la lettura della massa del campione a sportelli della bilancia chiusi.

## Evaporatore rotante

L'evaporatore rotante è uno degli strumenti più usati per la rapida rimozione di solventi attraverso un processo di evaporazione sottovuoto. Nonostante il nome comune dello strumento sia quello di evaporatore rotante, ogni produttore dà un suo nome identificativo: per esempio Rotavapor è quello assegnato dalla Buchi.

Gli elementi che lo compongono sono i seguenti:

- pallone di evaporazione
- bagno riscaldante
- blocco motore
- condensatore
- pallone di raccolta

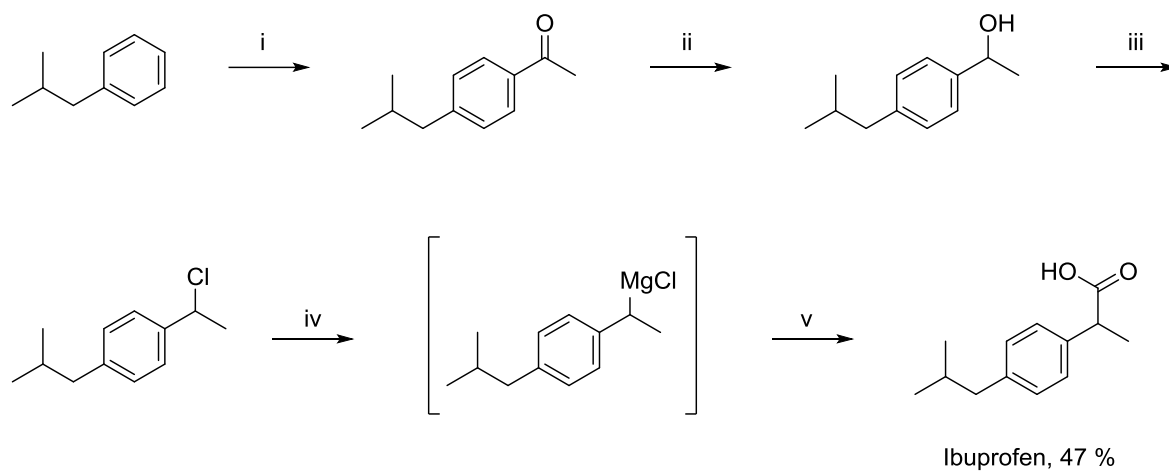


Il pallone di evaporazione contenente la soluzione da evaporare viene immerso in un bagno riscaldante. Un meccanismo motorizzato permette la rotazione costante del pallone di evaporazione e quindi una miscelazione omogenea del campione. In questo modo si determina non solo un conseguente aumento della velocità di evaporazione, ma si impediscono anche eventuali surriscaldamenti locali e ritardi di ebollizione. Attraverso il tubo passante vapori, il vapore passa dal pallone di evaporazione alla zona di raffreddamento (condensatore), dove l'energia contenuta nel vapore viene trasferita al liquido di raffreddamento, al fine di far condensare il solvente nel pallone di raccolta.

Il vuoto riduce la temperatura di ebollizione del solvente migliorando la resa della distillazione. La resa di evaporazione è influenzata dalla tensione di vapore (vuoto), dalla temperatura del bagno riscaldante e, dalla velocità di rotazione e dalle dimensioni del pallone di evaporazione.

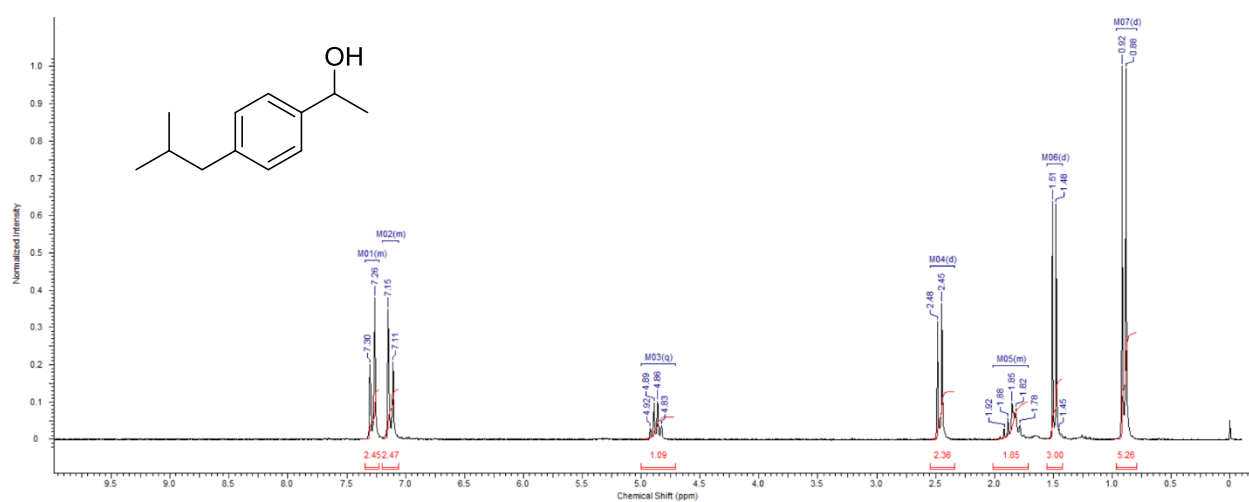
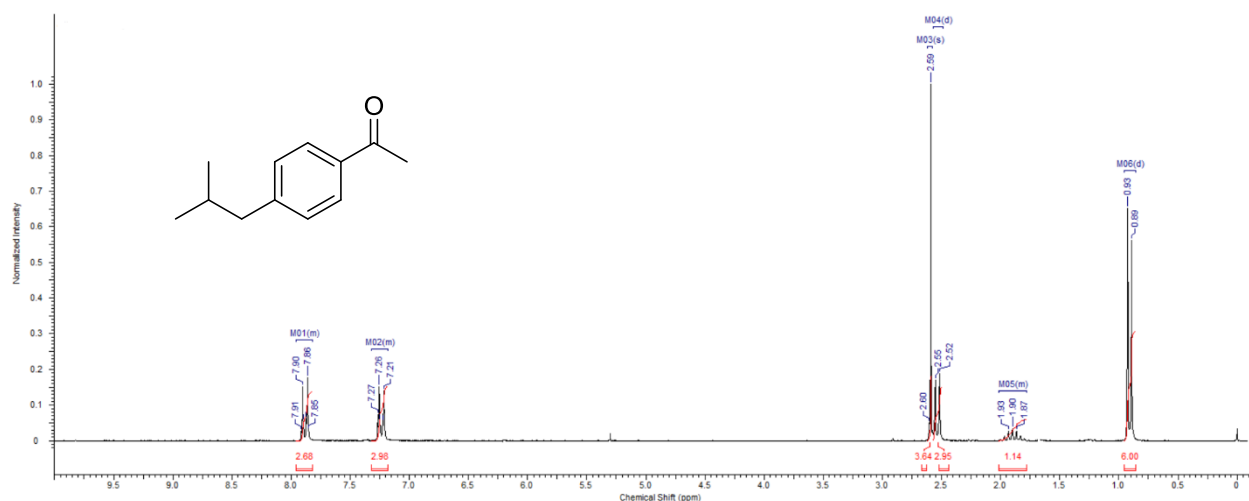
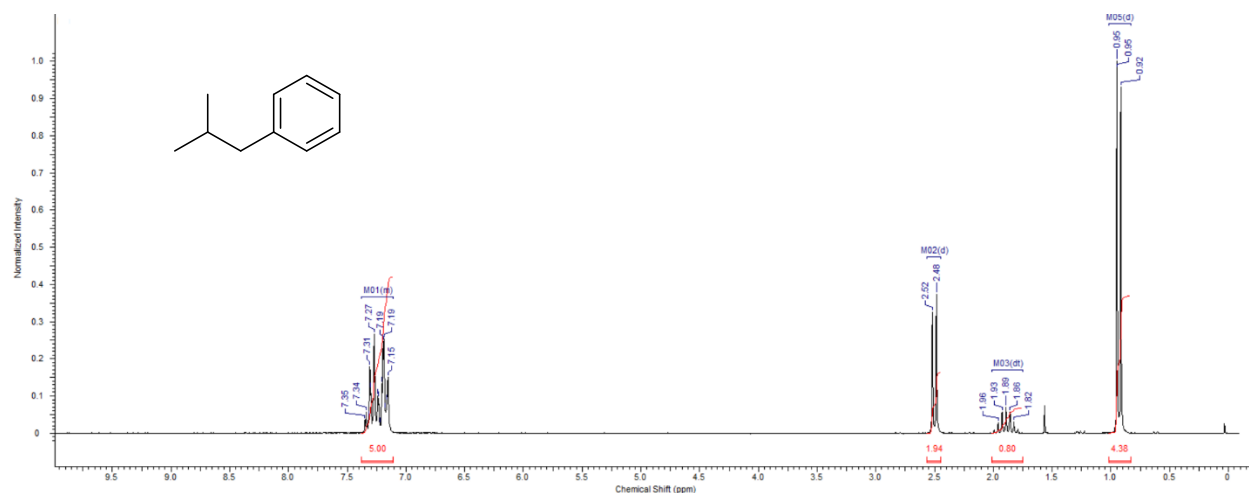
# Esperienze

**Scheme 1:** synthetic strategy for the preparation of Ibuprofen.

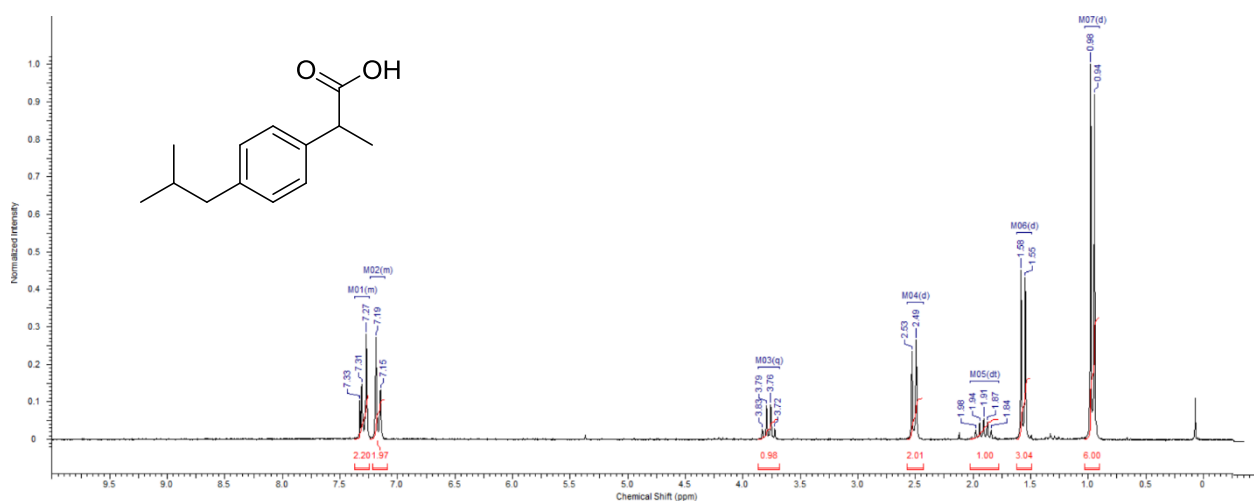
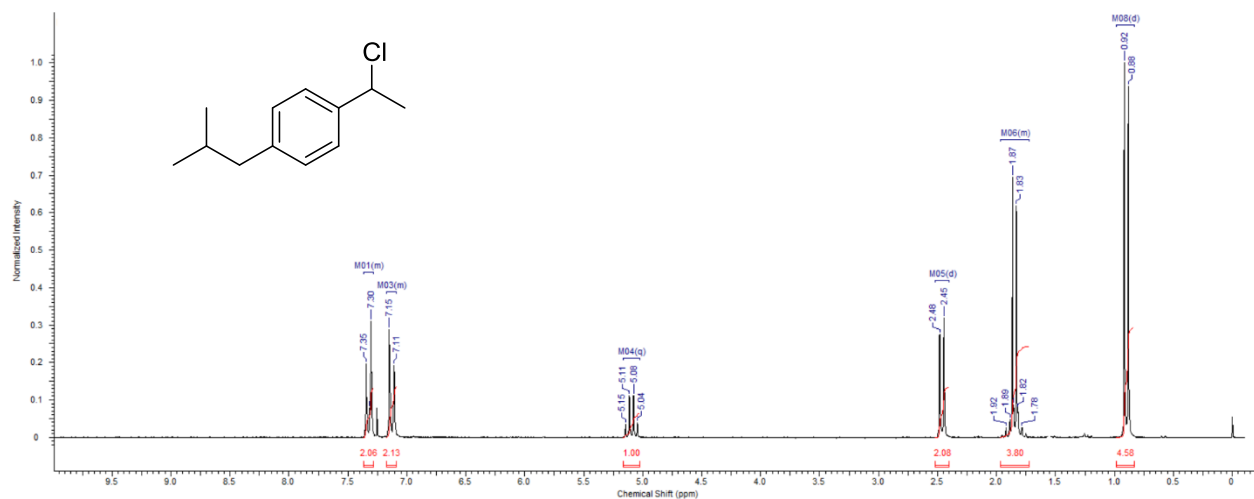


Reagents and conditions: (i)  $\text{CH}_3\text{COCl}$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 0 °C; (ii)  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{MeOH}$ , rt; (iii)  $\text{HCl}$  water solution 37%, rt; (iv)  $\text{Mg}$  turnings,  $\text{I}_2$ ,  $\text{Et}_2\text{O}$ , rt; (v)  $\text{CO}_2$ , 0 °C.

## Reference NMR for starting material, intermediates and final product.









Per ciascun reagente riportato in tabella, cercare le proprietà fisico-chimiche e le rispettive frasi di rischio nelle schede tecniche o nei contenitori.

### Condizioni di reazione:

Considerando i rapporti stechiometrici riportati in tabella, calcolare le quantità di reagenti coinvolti nella reazione. Il reagente limitante è rappresentato dall'isobutilbenzene che verrà utilizzato nella quantità di 1 mL.

Proprietà	Isobutilbenzene	Acetilcloruro	Alluminio cloruro
Peso Molecolare (g/mol)			
Stechiometria (eq)	1	1.2	1.2
Densità (g/mL)			
mmoli			
Massa (mg)			
Volume (mL)	1 mL		

### Procedura:

**N.B. Tutte tali operazioni vanno eseguite sotto cappa indossando i dispositivi di protezione individuali.**

1. In un pallone da 100 mL si pesa la quantità necessaria di alluminio cloruro utilizzando la spatola in plastica rossa; il pallone viene quindi chiuso con un tappo in plastica. La spatola usata per prelevare  $\text{AlCl}_3$  deve essere posta in una beuta e aggiunta di poca acqua fredda (massimo 10 mL) per distruggere il reattivo, quindi, questa soluzione va sversata nel contenitore delle soluzioni acquose (CER 07-07-01\*).
2. Sotto cappa, con l'ausilio di una pinza e di un morsetto, fissare il pallone di reazione su una piastra agitante.
3. Sostituire il tappo in plastica con un tubo al cloruro di calcio.
4. Inserire il magnete dentro il pallone e aggiungere 6 mL di diclorometano prelevando con una pipetta graduata in vetro e palla di peleo.
5. Avviare l'agitazione della piastra e lasciare agitare fino a quando si avrà una sospensione omogenea.
6. Nel frattempo, preparare un bagno di acqua e ghiaccio usando il cristallizzatore e far raffreddare la miscela di reazione per 5–10 min mantenendo attiva l'agitazione della piastra.
7. Con l'ausilio di una pipetta di vetro graduata e la palla di peleo, prelevare la quantità necessaria di acetilcloruro e trasferirla in un tubo da saggio (16x100 mm); diluire con 5 mL di diclorometano.
8. Con una pipetta pasteur, far gocciolare lentamente questa soluzione nel pallone di reazione in un tempo di circa cinque minuti.
9. Lavare il tubo utilizzato con 2 mL di diclorometano e ritrasferirli nel pallone di reazione.
10. Annotare eventuali variazioni di colore/aspetto.
11. Con l'ausilio di una micropipetta e puntale, prelevare la quantità necessaria di isobutilbenzene e trasferirla in un tubo da saggio (16x100 mm); diluire con 5 mL di diclorometano.
12. Con una pipetta pasteur, far gocciolare lentamente questa soluzione nel pallone di reazione in un tempo di circa tre minuti.

13. Lavare il tubo utilizzato con 2 mL di diclorometano e ritrasferirli nel pallone di reazione.
14. Annotare eventuali variazioni di colore/aspetto.
15. La reazione viene agitata in bagno di ghiaccio per circa 30 minuti monitorando tramite TLC (vedi sotto).

### **Monitorare l'andamento della reazione:**

Per il monitoraggio dell'andamento della reazione fare riferimento alla **procedura A** presente in allegato.

In questo caso la sostanza di partenza è isobutilbenzene, e la fase mobile è costituita da 10 mL di cicloesano/etilacetato 99:1 (9.9 mL di cicloesano + 0.1 mL di etilacetato).

### **Spegnimento della reazione:**

Dopo essersi sincerati del completamento della reazione tramite monitoraggio con TLC, mantenendo il pallone di reazione in bagno di ghiaccio, aggiungere lentamente 10 mL di acqua distillata e lasciare agitare per 10 minuti.

### **Estrazione del crudo di reazione**

#### **Soluzioni acquose da preparare:**

- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5%, 50 mL (usare una beuta da 100 mL)
- NaCl soluzione satura (Brine), 50 mL (usare una beuta da 100 mL)

NB: queste soluzioni non saranno utili solo in questa esperienza di laboratorio, bensì anche nelle successive.

#### **Estrazione del crudo di reazione:**

Con l'ausilio di una pipetta pasteur, trasferire la miscela di reazione dal pallone all'imbuto separatore. Le operazioni da svolgere per eseguire l'estrazione sono riportate nella **Procedura B** presente in allegato.

In questo caso specifico è necessario:

1. Lavare il pallone con 5 mL di diclorometano e trasferire nell'imbuto separatore tramite pasteur.
2. Agitare e sfiatare. Tenere ben saldo con il palmo della mano il collo e il tappo dell'imbuto separatore.
3. Far separare le due fasi. NB: fare attenzione se avviene la formazione di un'emulsione all'interfaccia tra le due fasi. Se ciò dovesse avvenire rompere l'emulsione tramite l'ausilio di una bacchetta in vetro.
4. Raccogliere la fase organica, attraverso il rubinetto, in una beuta.
5. Sversare, dal collo superiore, la fase acquosa in una seconda beuta.
6. Ritrasferire la fase organica nell'imbuto separatore.
7. Lavare la fase organica con una soluzione al 5% di  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (10 mL).
8. Raccogliere, attraverso il rubinetto, la fase organica.
9. Sversare, dal collo dell'imbuto, la fase acquosa nella stessa beuta in cui si è raccolta la precedente.
10. Trasferire la fase organica nell'imbuto e lavarla con una soluzione satura di NaCl (10 mL).
11. Agitare e sfiatare come prima, poi separare le due fasi.
12. Nella beuta in cui è stata raccolta la fase organica, aggiungere una quantità sufficiente di  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro.
13. Tarare alla bilancia un pallone da 100 mL.

14. Si filtra per gravità su carta raccogliendo nel pallone precedentemente tarato. Le procedure utili all'ottenimento del filtro di carta sono riportate nella **Procedura B** in allegato.
15. Il solvente viene evaporato al rotavapor.
16. Pesare la quantità ottenuta.
17. Una piccola aliquota (meno di una puntina di spatola) viene posta in una eppendorf e utilizzata come riferimento per la purificazione in colonna.

## **Cromatografia su colonna e analisi NMR**

### **Cromatografia su colonna**

Per l'esecuzione del processo di purificazione mediante cromatografia è necessario fare riferimento alla **Procedura C** in allegato.

In questo caso:

- la colonna viene impaccata con 100% cicloesano
- il caricamento del campione viene eseguito ad umido: si solubilizza il crudo di reazione in 1 mL di cicloesano
- iniziare con la prima eluizione: preparare 100 mL di fase mobile (100% cicloesano) e raccogliere non più di quattro tubi
- continuare con la seconda eluizione: preparare 200 mL di fase mobile (cicloesano/etilacetato 97:3, ovvero 194 mL cicloesano + 6 mL etilacetato)
- procedere con la terza eluizione: preparare 100 mL di fase mobile cicloesano/etilacetato 95:5

### **Preparazione del campione per analisi NMR**

Le operazioni da svolgere per la preparazione del campione NMR sono riportate nella **Procedura D** presente in allegato.

## Report finale di laboratorio

Data:

Data:

Nome Cognome:

Turno:

Firma:

### Sintesi di 1-(4-isobutylphenyl)ethan-1-one

#### Schema di reazione

#### Tabelle dei reagenti e prodotti

	Reagente	Formula bruta	Limit?	PM	eq	mmol	mg	Vol (mL)	d (g/mL)
1			<input type="checkbox"/>						
2			<input type="checkbox"/>						

#### Solvente:

	Nome	Volume (ml)	Temperatura (°C)
1			

#### Prodotto:

	Nome	Formula bruta	PM	mg	mmol	mg teorici	mmol teoriche	Resa %
1								

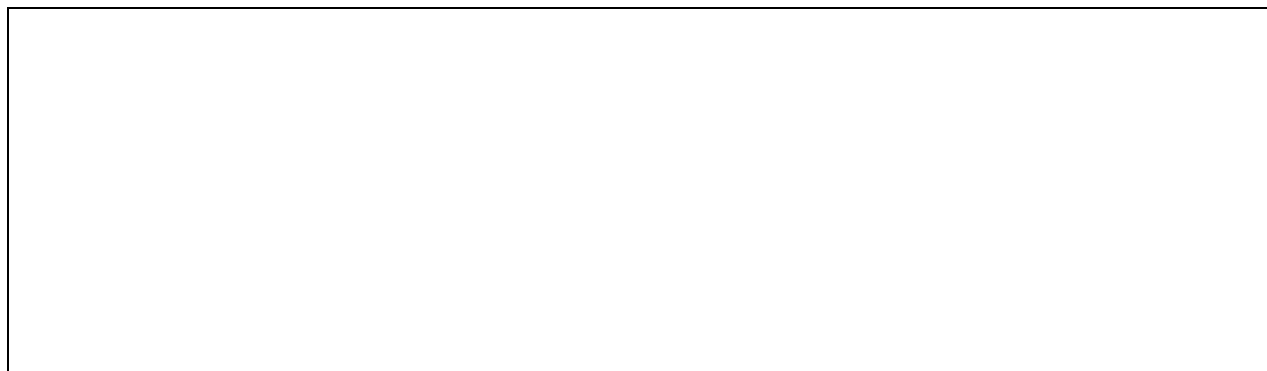
**Osservazioni:**

Nel seguente riquadro riportare le osservazioni personali rispetto ad ogni passaggio eseguito. Porre particolare attenzione a variazioni di colore o di fase della reazione, imprevisti, valutazione sulla resa ottenuta in particolare se bassa, evoluzione di gas/nebbia, formazione di soluzioni omogenee/limpide dei reattivi, buona separazione di fase nella estrazione, scostamenti rispetto alle procedure generali indicate.

- **analisi TLC:** riportare eluente e calcolo degli Rf, disegno della lastrina



- **analisi  $^1\text{H}$ -NMR:**





## ALLEGATI

### PROCEDURA A: monitorare l'andamento di una reazione

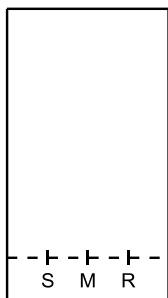
Per monitorare l'andamento della reazione tramite TLC:

1. Preparare uno stock della sostanza di partenza diluendo, in una eppendorf, 1 goccia di reattivo con 0.3 mL circa di solvente organico (ad es. etilacetato). Con un pennarello segnare il nome del reattivo.
2. Preparare uno stock della reazione diluendo, in una eppendorf, 1 goccia della miscela di reazione con 0.3 mL circa di solvente organico (ad es. etilacetato). Con un pennarello segnare il nome.
3. Su una lastrina di gel di silice G F<sub>254</sub> su supporto d'alluminio, si segna una riga continua con la matita a circa 1 cm di altezza (vedi figura).



Non premere con la matita: il segno deve essere leggero! Se si fa un solco, si impedirà la corretta eluizione.

1. Sulla riga appena tracciata, segnare 3 punti come segue:



dove:

**S** rappresenta lo standard di partenza

**R** rappresenta la miscela di reazione

**M** il mix tra S ed R

2. Immergere un capillare in vetro pulito nella eppendorf contenente lo stock della sostanza di partenza e appoggiare il capillare in corrispondenza di S e M. Sotto cappa, asciugare la lastrina per far evaporare il solvente.
3. Ripetere l'operazione per lo stock della miscela di reazione, depositando il capillare in corrispondenza di R e M.
4. Controllare alla lampada UV che gli stock siano stati depositati correttamente e si visualizzano le tre macchie, altrimenti ripetere la semina appoggiando il capillare sullo stesso punto.
5. In una camera di sviluppo per TLC, vengono versati 10 mL di una opportuna miscela di solventi i quali costituiscono la fase mobile. Si inserisce la lastrina e si chiude il coperchio.



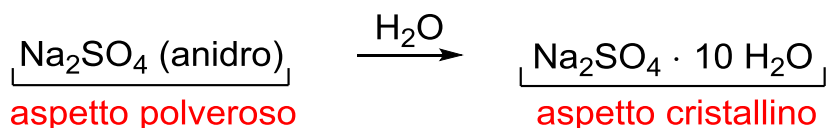
Il livello del solvente non deve superare il punto di applicazione delle sostanze sulla lastrina altrimenti la sostanza si scioglie nel solvente e non viene eluita

6. Il solvente eluisce per capillarità. Si interrompe quando il fronte del solvente è arrivato a circa 1 cm dalla fine della lastrina.
7. Togliere la lastrina dalla camera di eluizione, tracciare il fronte del solvente con la matita e lasciare asciugare il solvente.
8. Alla lampada UV visualizzare le macchie sulla lastrina e segnarle con una matita.

9. Dopo la visualizzazione, si misura la distanza tra il fronte del solvente ed il punto di applicazione per ogni semina effettuata. Si misura la distanza tra la macchia (centro della macchia) ed il punto di applicazione. Dal rapporto tra i due valori, si ottiene il valore di  $R_f$  che può andare da 0 a 1.
10. Svuotare la camera di eluizione nell'apposito contenitore dei solventi e lasciare evaporare sotto cappa.

## PROCEDURA B: Estrazione del crudo di reazione

1. Fissare l'imbuto separatore con un apposito anello di sostegno e preparare due beute di raccolta.
  2. Solubilizzare il crudo di reazione nel pallone in cui si trova con un opportuno solvente organico.
  3. Con una pipetta Pasteur, trasferire la miscela di reazione dal pallone all'imbuto, avendo cura che il rubinetto sia chiuso.
  4. Lavare il pallone di reazione con 5 mL dello stesso solvente organico con il quale si era solubilizzato il crudo e trasferire nell'imbuto.
  5. Aggiungere nell'imbuto 10 mL di soluzione acquosa opportuna.
  6. Chiudere l'imbuto separatore con un tappo da imbuto separatore e miscelare le due fasi capovolgendo l'imbuto e tenendo fermo il tappo con una mano e stringendo il rubinetto chiuso con l'altra.
  7. Agitare e sfiatare, puntando l'imbuto verso l'interno della cappa. ATTENZIONE allo sviluppo di vapori. Ripetere l'operazione almeno due volte o comunque fino a quando non c'è più sviluppo di gas.
  8. Riporre l'imbuto nell'anello, togliere il tappo e lasciare stratificare le due fasi.
  9. Raccogliere la fase acquosa in una beuta. Questa operazione può essere svolta in due modi in funzione della maggiore o minore densità della fase acquosa rispetto a quella organica:
    - Se questa è più densa della fase organica è necessario raccoglierla aprendo il rubinetto. La fase organica viene lasciata all'interno dell'imbuto.
    - Se la fase acquosa è meno densa della fase organica è necessario raccogliere quest'ultima dalla parte inferiore e successivamente la fase acquosa si sversa, invece, dal collo dell'imbuto. Infine la fase organica si ritrasferisce all'interno dell'imbuto
- N.B.:** con l'ausilio di un pennarello, riportare sulle beute di raccolta il contenuto.
10. La fase organica presente nell'imbuto viene infine lavata con una soluzione satura di NaCl (Brine).
  11. Agitare, sfiatare e separare le due fasi come prima.
  12. Chiudere con un tappo la beuta contenente la fase acquosa e tenere da parte.
  13. Nella beuta contenente la fase organica, aggiungere una quantità sufficiente di sodio solfato anidro che tende a diventare decaidrato:



Si aggiunge sodio solfato anidro fino a che, agitando la beuta, una parte va in sospensione.

14. Si filtra per gravità su carta raccogliendo in un pallone tarato. Questo tipo di filtrazione prevede l'utilizzo di un imbuto di vetro sostenuto da un apposito anello. All'interno dell'imbuto viene inserito un filtro di carta: la parte solida della miscela eterogenea rimane sul filtro mentre il liquido lo attraversa.
15. La fase organica raccolta viene, dunque, concentrata e portata a secco all'evaporatore rotante.

### Preparazione di un filtro liscio

16. Piegare un quadrato di carta per metà lungo un asse, poi ancora in due; arrotondare l'orlo con le forbici e aprire.
17. Disporre l'imbuto di vetro sull'anello e porvi sotto il pallone di raccolta. Preparare un filtro che non sporga dall'imbuto e bagnarlo con un po' di solvente fresco (lo stesso che verrà filtrato). Versare sul filtro la sospensione di solido e liquido da filtrare aiutandosi con una bacchetta di vetro. Risciacquare

la beuta con solvente fresco per recuperare le ultime particelle di prodotto e versare anche queste sul filtro. Quando dall'imbuto non gocciola più solvente, lavare filtro e precipitato con un po' di solvente fresco.

18. A questo punto, si allontana il solvente al rotavapor.
19. In una eppendorf preparare un campione del prodotto secco ed eseguire una TLC di controllo.
20. La beuta contenente il sodio solfato viene lasciata sotto cappa aperta, in modo tale da consentire la completa evaporazione delle tracce di solvente rimasto. Il mattino seguente grattare con una spatola, trasferire il contenuto in un guanto, chiudere con un nodo e smaltire nell'apposto contenitore dei rifiuti solidi (CER 15-02-02\*).

## PROCEDURA C: cromatografia su colonna

**Scopo:** purificazione dei prodotti di reazione



Usando il gel di silice indossare sempre la mascherina per solidi.

### Impaccamento:

1. La colonna viene montata verticalmente per mezzo di un sostegno.
2. In un cilindro si misurano circa 60 mL di silice (la quantità di silice dipende dalla complessità della separazione e dalla massa del crudo di reazione da purificare).
3. La silice così misurata viene rapidamente trasferita in un becher e miscelata con 100 mL di un opportuno solvente, fino ad ottenere una sospensione omogenea.
4. La sospensione viene versata all'interno della colonna, il becher è lavato con altro solvente e sversato in colonna.
5. Aprire il rubinetto della colonna e raccogliere il solvente all'interno di un becher pulito.
6. Con l'ausilio della pompetta, imprimere alla colonna una pressione tale da impaccare la silice.
7. Periodicamente battere la colonna con un pezzo di tubo da vuoto.
8. Quando il livello del solvente è a circa 2 cm dal fronte della silice, aggiungere il solvente appena raccolto, prima con una pipetta (lavando le pareti) e poi direttamente rabboccando.
9. Ripetere l'operazione più volte, lasciando, alla fine, un sottile strato di solvente sulla silice (~2 mm).
10. Assicurarsi che la parte superiore della silice sia completamente piatta, quindi chiudere il rubinetto della colonna.

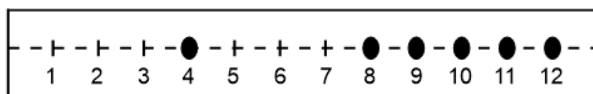
### Caricamento del campione:

11. Solubilizzare il campione nella minima quantità di eluente utilizzato per impaccare la colonna (circa 1 mL).
12. In una eppendorf, mettere da parte 2-3 gocce di questa soluzione e segnarne il nome. Questo rappresenta lo stock del crudo di partenza da usare per le TLC future.
13. Con una pipetta pasteur, aggiungere la soluzione del campione sulla silice, facendola scorrere lungo le pareti per un caricamento omogeneo.
14. Aprire il rubinetto della colonna e far adsorbire sulla fase stazionaria questa soluzione.
15. Lavare il pallone con 2 mL di solvente, prelevare con la pipetta e, con questo volume prelevato, lavare le pareti della colonna.
16. Far adsorbire questa soluzione sulla fase stazionaria fino a quando il livello del solvente è circa 1-2 mm sopra la superficie della sabbia.
17. In un cilindro graduato, preparare 200 mL di fase mobile.
18. Con l'ausilio della pompetta, far fluire la miscela eluente attraverso la colonna raccogliendo in diverse provette (volume di raccolta ~15 mL).



Il solvente deve essere reintegrato regolarmente: rabboccare il solvente quando ~2 cm di solvente rimangono ancora sopra lo strato protettivo di sabbia.

19. Per sapere quale delle frazioni raccolte contiene il prodotto, porre una aliquota di ciascuna frazione, utilizzando lo stesso capillare, su un piccolo ritaglio di TLC come nell'esempio seguente:



20. Valutare alla lampada UV in quali frazioni è presente una macchia.
21. Preparare una TLC in cui verranno seminate, questa volta con un capillare diverso per ogni frazione raccolta, solo quelle frazioni contenenti una macchia. Ricorda di seminare anche il crudo di partenza ogni 5 frazioni.
22. Far eluire la lastrina nella camera di sviluppo per TLC utilizzando una miscela opportuna affinché vi sia una adeguata separazione dei prodotti di reazione.
23. In un pallone da 250 mL, riunire le frazioni con uguale  $R_f$  e lavare ogni provetta una volta con una piccola quantità di solvente in modo da essere sicuri che tutto il prodotto è stato raccolto.
24. Allontanare il solvente al rotavapor.
25. Quando il volume si sarà ridotto a pochi mL, trasferirlo usando una pipetta pasteur in un pallone tarato da 50 mL.
26. Allontanare il solvente al rotavapor.
27. Prendere nota del peso finale e calcolare la resa.
28. Dopo aver isolato i prodotti, ciò che rimane da fare è svuotare la colonna per un nuovo utilizzo: aprire il rubinetto della colonna e far eluire tutto il solvente in modo che la silice vada a secco.
29. Una volta che la silice è ben secca, capovolgere la colonna e svuotarne il contenuto in un guanto, il quale verrà chiuso con un nodo e buttato nel contenitore dei rifiuti solidi (CER 15-02-02\*).
30. A questo punto, sciacquare la colonna prima con acqua e poi acetone.

## PROCEDURA D: preparazione del campione per analisi NMR:

1. In una eppendorf, pesare ~10 mg di campione e dissolverlo in circa 0.5 mL di solvente deuterato.
2. La soluzione deve risultare omogenea.
3. Prelevare, con una pipetta pasteur, questa soluzione e inserirla in un tubo NMR.
4. Il livello del solvente deuterato nel tubo NMR deve arrivare a 4-5 cm di altezza.
5. Fare attenzione a non inquinare la bottiglia di solvente deuterato.
6. Etichettare il tubo NMR con una striscia di carta forata (non usare adesivi, non scrivere con il pennarello sul tubo) dove indicare: nome e cognome, disegno struttura prodotto atteso.
7. Non toccare il tubo con le mani nude e in tal caso ripulire il tubo usando della carta imbibita con un po' di acetone avendo quindi cura di asciugare l'acetone dal tubo.
8. Trasportare il tubo mettendolo in un becher o in una beuta.

I tubi NMR sono riutilizzabili e per questo devono essere lavati accuratamente per non contaminare il campione successivo con residui del campione precedente e tracce di solvente di lavaggio. Il tubo deve essere quindi svuotato nel recipiente adibito allo smaltimento di solventi e quindi lavato almeno 3 volte con metanolo e altre 3 volte con acetone. Il tubo viene asciugato con un flusso di aria/azoto applicato attraverso una pipetta pasteur ed eventualmente messo in stufa a 50 °C per almeno 1 ora.