CORSO DI LAUREA IN SCIENZE BIOLOGICHE

Chimica Organica- Laboratorio

Esercitazione n°2

ESTRAZIONE E ANALISI TLC DI PRINCIPI ATTIVI DA FARMACI ANTINFIAMMATORI

Scopo dell'esperienza:

1. Estrazione di composti organici d'interesse
2. Separazione di composti organici mediante tecniche cromatografiche di adsorbimento liquido-solido su strato sottile (TLC)

Parte I: Estrazione di principi attivi da farmaci antinfiammatori

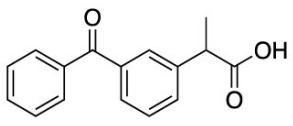
Scopo dell'esperienza: estrazione di composti organici d'interesse

Teoria

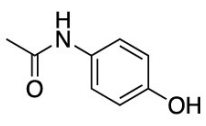
Questa parte dell'esperienza di laboratorio è dedicata all'estrazione selettiva di composti organici di interesse da matrici complesse. In particolare, saranno presi in considerazione dei farmaci antinfiammatori.

Un analgesico, come qualsiasi farmaco, contiene, oltre al principio attivo responsabile dell'effetto terapeutico, una serie di eccipienti che ne consentono la somministrazione in modo idoneo e sicuro.

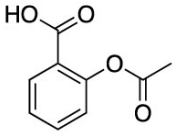
Il principio attivo può essere selettivamente estratto dissolvendolo in una miscela opportuna. Le diverse molecole organiche sono caratterizzate da differente solubilità, funzione delle loro caratteristiche strutturali. Per tale motivo la scelta del solvente estraente è di primaria importanza. Di seguito sono mostrate le strutture dei principi attivi che saranno presi in analisi.



ketoprofene



paracetamolo



acido acetilsalicilico

L'estrazione può essere assistita da mezzi fisici, quali calore e ultrasuoni, al fine di facilitare e rendere più veloce il passaggio delle molecole di interesse dalla matrice solida al solvente.

In base alle modalità attraverso le quali si fanno interagire la matrice da cui è necessario estrarre i composti

e il solvente, è possibile distinguere differenti tecniche di estrazione:

− macerazione: la matrice è posta nel solvente (o nella miscela di solventi) a temperatura ambiente

− infusione: la matrice è posta nel solvente caldo

− decozione: il materiale da estrarre viene fatto bollire insieme con il solvente.

Nel corso dell'esperienza di laboratorio sarà effettuata un'estrazione per macerazione utilizzando come solvente di estrazione acetone, che permette l'estrazione selettiva dei principi attivi dei farmaci in questione. I farmaci saranno polverizzati (NB: questo passaggio non è necessario se il farmaco è già in polvere) al fine di aumentare la superficie di contatto tra la matrice e il solvente, in modo da migliorare la resa dell'estrazione. Saranno estratti 3 farmaci noti e un farmaco incognito, che dovrà essere poi identificato mediante analisi cromatografica

MATERIALE OCCORRENTE	
Da prelevare dal cassetto del laboratorio:	
Mortaio e pestello	Pipetta graduata da 2 mL
4 provette da 10 mL	Propipetta
Da prelevare nel corso dell'esperienza su indicazione del docente:	
Acetone	Pipette Pasteur
Farmaci (incluso farmaco incognito)	

ESECUZIONE

Il primo passaggio di questa esperienza consiste nell'estrazione dei principi attivi da farmaci antiinfiammatori.

- Trasferire una piccola quantità dei farmaci in polvere o granulato in provette opportunamente etichettate, fino a coprire solo il fondo della provetta. NB: ciascun farmaco va inserito in una provetta diversa.

- Nel caso in cui il farmaco sia sottoforma di compresse, polverizzare la compressa mediante mortaio e pestello. Poi, trasferire anche parte di questo polverizzato in provetta.

- Aggiungere a ciascuna provetta 2 mL di acetone, con l'ausilio di una pipetta graduata.

- Favorire l'estrazione, agitando ciascuna provetta con l'ausilio del vortex. Il vortex deve essere settato sulla velocità più bassa e in modalità touch (in questo caso, l'agitazione si attiva solo quando l'operatore preme la testa di miscelazione, fermandosi automaticamente non appena la pressione viene rilasciata).

Parte II: Analisi degli estratti mediante cromatografia su strato sottile

Scopo dell'esperienza: Separazione di composti organici mediante tecniche cromatografiche di adsorbimento liquido-solido su strato sottile (TLC)

In questa fase, si procederà con l'analisi TLC degli estratti ottenuti nella parte I dell'esperienza con lo scopo di individuare il farmaco incognito.

MATERIALE OCCORRENTE	
Da prelevare dal cassetto del laboratorio:	
Vaschetta per cromatografia	1 cilindro da 25 mL
Occhiali di protezione	Pipetta graduata da 10 mL
Da prelevare nel corso dell'esperienza su indicazione del docente:	
Lastre cromatografiche di gel di silice	Capillari per cromatografia
Acetato di etile	Ligroina
Acido acetico	
A carico dello studente	
Righello	Matita

ESECUZIONE

- Il sistema eluente da preparare è il seguente: ligroina: acetato di etile: acido acetico 5,5:3,5:1(v/v/v).

In questa fase dell'esperienza, due gruppi prepareranno insieme 20 mL della soluzione. Ciascun gruppo dovrà poi versare in una camera cromatografica 10 mL di questo sistema eluente. Chiudere e lasciar ambientare.

- Applicare gli estratti precedentemente ottenuti sotto forma di piccoli punti su una riga finemente tracciata a matita a circa 1,0 cm dall'estremità inferiore di una lastrina cromatografica, ponendo al centro l'estratto del farmaco incognito.

- Porre la lastrina nella camera cromatografica. Quando il solvente avrà raggiunto una distanza di circa 1 cm dal bordo superiore della lastrina, estrarre, segnare il fronte del solvente, asciugare ed esaminare in luce UV: cerchiare a matita le bande osservate e calcolare i valori di Rf dei vari componenti.

- Identificare il principio attivo del farmaco incognito per confronto con gli Rf dei principi noti.

Ragionando sui fattori di ritenzione, indicare il composto più polare e giustificare la polarità facendo riferimento ai gruppi funzionali presenti nella molecola.

Norme di sicurezza

ACETATO DI ETILE - Elementi dell'etichetta*

Pittogramma	
Avvertenza	Pericolo
Indicazioni di pericolo	H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili. H319 Provoca grave irritazione oculare. H336 Può provocare sonnolenza o vertigini.
Consigli di prudenza	P210 Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. - Non fumare. P261 Evitare di respirare la polvere/ i fumi/ i gas/ la nebbia/ i vapori/ gli aerosol. P305 + P351 + P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare
Descrizioni supplementari del rischio	EUH066 L'esposizione ripetuta può provocare secchezza o screpolature della pelle.

*Etichettatura secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008

ACIDO ACETICO - Elementi dell'etichetta*

Pittogramma	
Avvertenza	Pericolo
Indicazioni di pericolo	H226 Liquido e vapori infiammabili H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari
Consigli di prudenza	P210 Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso P301+P330+P331 IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia] P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare P310 Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico
Descrizioni supplementari del rischio	nessuno(a)

*Etichettatura secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008

ACETONE- Elementi dell'etichetta*

Pittogramma	
Avvertenza	Pericolo
Indicazioni di pericolo	H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili. H319 Provoca grave irritazione oculare. H336 Può provocare sonnolenza o vertigini.
Consigli di prudenza	P210 Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. - Non fumare. P305 + P351 + P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare
Descrizioni supplementari del rischio	EUH066 L'esposizione ripetuta può provocare secchezza o screpolature della pelle.

*Etichettatura secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008

LIGROINA- Elementi dell'etichetta*

Pittogramma	
Avvertenza	Pericolo
Indicazioni di pericolo	H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili. H304 Può essere letale in caso di ingestione e di penetrazione nelle vie respiratorie. H315 Provoca irritazione cutanea. H336 Può provocare sonnolenza o vertigini. H361f Sospettato di nuocere alla fertilità. H411 Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
Consigli di prudenza	P202 Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze. P210 Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare. P273 Non disperdere nell'ambiente. P301 + P310 IN CASO DI INGESTIONE: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/ un medico. P303 + P361 + P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle. P331 NON provocare il vomito.
Descrizioni supplementari del rischio	nessuno(a)

*Etichettatura secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008