



Università  
Ca' Foscari  
Venezia  
Facoltà  
di Scienze  
Matematiche  
Fisiche e Naturali

Corso di Laurea Magistrale  
in Scienze Chimiche  
per la Conservazione e il Restauro

Tesi di Laurea

**STUDIO DELL'OSSIGENO  
SINGOLETTO GENERATO  
DA PIGMENTI.  
SINTESI DI INIBITORI DI  
SPECIE OSSIGENO REATTIVE**

**Relatore**

Ch. Prof. Ottorino De Lucchi

**Correlatore**

Dott. Giuseppe Borsato

**Laureanda**

Tinè Maria Greca

Matricola 830930

**Anno Accademico**

2010-2011



# INDICE

## 1. INTRODUZIONE

1.1	Il colore	5
1.1.1	High Performance Pigment ( <b>HPP</b> )	7
1.1.2	Leganti	11
1.2	Ossigeno singoletto: caratteristiche e reattività	13
1.2.1	Specie Ossigeno Reattive ( <b>ROS</b> ) e <i>probes</i> fluorescenti	15
1.2.2	Generazione di Ossigeno Singoletto	17
1.3	Reazione di ossigeno singoletto con i leganti presenti nei colori artistici	19
1.3.1	Determinazione dell'ossigeno singoletto generato da pigmenti	21

## 2. SCOPO DELLA TESI

## 3. RISULTATI E DISCUSSIONI

3.1	Valutazione della produzione di $^1\text{O}_2$ mediante tecniche gascromatografiche	27
3.1.1	Sintesi dell'ascaridolo	28
3.1.2	Produzione di $^1\text{O}_2$ da PR 254 e e PV 19	29
3.2	Sintesi probe di fluorescenza per $^1\text{O}_2$	32
3.2.1	Sintesi precursore <b>DDPBr</b>	32
3.2.2	Sintesi <b>DDPBr</b> e Alchilazione con <i>t</i> -BuCO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Br	33
3.2.3	Reazione di Suzuki di <b>DPPBr</b> con 9-antraceneboronic acido e deprotezione terbutile	34
3.3	Studio probe per $^1\text{O}_2$ in H <sub>2</sub> O	36

## 4. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

## 5. PARTE SPERIMENTALE

## ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

DPP	Dichetopirrolopirrolo
DCM	Diclorometano
RNS	Specie Reattive dell'Azoto
O <sub>2</sub>	Ossigeno Singoletto
DMSO	Dimetilsolfossido
NMP	<i>N</i> -metil-2-pirrolidone
OPV	Organic photovoltaic
DSSC	Dye-sensitized solar cell
NIR	Near-Infrared
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
GC	Gas Cromatografia
GC/MS	Gas Cromatografo/ Spettrometro di Massa
SI	Standard Interno
TFA	Acido trifluoro acetico
DMAX	9-[2-(3- carbossi-9,10-dimetil) antranil]-6-idrossi-3H-xanten-3-one
DPAX	9-[2-(3- carbossi-9,10-difenil) antranil]-6-idrossi-3H-xanten-3-one
DMA	9,10 dimetilantracene
DPA	9,10 difenilantracene
ΔMVP	<i>trans</i> -1-(2'-metossivinil)pirene
TLC	Cromatografia Strato Sottile
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
SEN	Sensitizzatore

## 1.1. IL COLORE

Fin dai tempi più antichi il colore è stato utilizzato nell'arte ma anche in altre discipline come la religione, la scienza e la medicina.

Le popolazioni primitive ricavano dalle sostanze naturali (terre gialle e brune, pietre frantumate, carbone) una polvere fine che impastata con acqua e grassi animali, veniva utilizzata per dipingere le pareti delle caverne.

La malachite, l'azzurrite, i lapislazzuli, il cinabro e l'orpimento erano minerali semipreziosi e meno diffusi ma comunque utilizzati come pigmenti in tempi antichi.<sup>1</sup>

Nell'antico Egitto i colori, vivi e brillanti, erano utilizzati in modo simbolico. Tutta la produzione pittorica si trova nelle tombe e rappresenta vari aspetti della vita politica, religiosa, economica e sociale dell'antico Egitto. Come pigmento veniva prevalentemente utilizzato il blu artificiale, a base di silicato di rame e calcio, meglio conosciuto come blu Egiziano e considerato il più antico pigmento di sintesi.

Oltre al blu, simbolo di spiritualità e spesso utilizzato per il manto della Madonna, il colore ricorrente era l'oro, simbolo della grazia, e impiegato negli sfondi delle immagini sacre.

Altri due pigmenti erano regolarmente prodotti in Egitto: la biacca e il minio, entrambi a base di piombo. La biacca è rimasta per anni un colore fondamentale e fino al 1800 rappresentò un pigmento molto utilizzato in pittura.

A partire dal 1200 a.C. si sviluppa la civiltà dei Fenici che furono noti fin dall'antichità per la produzione di tessuti, che coloravano di rosso in seguito al trattamento di un mollusco, il murice ( il nome deriva dal termine greco *phoinix*, che significa appunto "rosso porpora").

A seconda della quantità usata si realizzavano sfumature dal rosa al rosso, al violetto, al viola scuro.

Nella Grecia antica i pittori decoravano gli oggetti di uso comune come vasi ed anfore illustrando racconti straordinari di personaggi mitologici ed importanti eroi.

In epoca romana si ha una vasta gamma di pigmenti. Il minio e il cinabro erano i più utilizzati e da quest'ultimo (minerale che contiene mercurio) si otteneva il famoso rosso *pompeiano*. Questi pigmenti prevalsero anche nel periodo medievale soprattutto nella miniature.

È importante ricordare che i pittori medievali utilizzavano anche sostanze organiche come il blu indaco, la lacca di Chermes il cui rosso veniva estratto dalla femmina di cocciniglia dopo essiccazione e polverizzazione, e la lacca rossa del Brasile, importata da una regione dell'America dalla quale prese poi il nome.

---

<sup>1</sup> Matteini M.; Moles A. *La chimica nel restauro. I materiali dell' arte pittorica*, Firenze, Nardini Editore, 2003.

Nel Rinascimento i pigmenti venivano preparati direttamente dai pittori nelle loro botteghe ma i primi anni del XVIII secolo segnano la nascita dell'industria chimica e il sopravvento dei moderni pigmenti sintetici.

In Germania, nel 1770, si scoprì come sintetizzare il Blu di Prussia (ferrocianuro ferrico).

Alla fine del XVIII secolo vengono introdotti pigmenti a base di nuovi metalli: il cromo (giallo e arancio di cromo nel 1805), il cobalto (verde e blu cobalto rispettivamente nel 1780 e nel 1802), lo zinco (bianco di zinco, 1782, nato come sostituto della biacca perché considerata pericolosa per la salute ma con potere coprente molto inferiore).<sup>2</sup>

Notevoli sviluppi nel campo dei colori furono l'introduzione del giallo di Cadmio nel 1817 e del blu oltremare artificiale nel 1827.

Il XIX secolo vide la quasi totale scomparsa delle industrie dei coloranti naturali. Il primo colorante sintetico fu la porpora di anilina (malva), scoperta nel 1856; seguì nel 1858, la scoperta della fucsina (rosso magenta).

Oggi si è in grado di preparare coloranti o pigmenti adatti ad ogni impiego. In generale i coloranti si usano per le fibre tessili, mentre i pigmenti vengono utilizzati per vernici, inchiostri di stampa e materie plastiche.<sup>3</sup>

---

<sup>2</sup> Tinè M.G., *Tesi di Laurea triennale: Studio delle facciate dipinte in area trevigiana: palazzo Sarri dall'Armi Amistani (Montebelluna) e chiesa di San Gregorio Magno (Treviso)*. Corso in Scienze e Tecnologie Chimiche per la Conservazione e il Restauro, **A.A.2007/2008**

<sup>3</sup> *Capire Duemila. L'enciclopedia illustrata del mondo d'oggi*. Fratelli Fabbri Editori, Milano

### 1.1.1. HIGH PERFORMANCE PIGMENT (HPP)

Esistono due tipologie di sostanze capaci di dare colore agli oggetti:

- *I pigmenti*: polveri fini colorate, non solubili e con potere coprente. Per essere fissati su un supporto devono essere dispersi in un mezzo acquoso o oleoso.
- *I coloranti*: solubili in un solvente, qualunque esso sia. Sono trasparenti e non hanno quindi potere coprente. Risultano meno stabili dei pigmenti e vengono utilizzati soprattutto nel settore tessile.

Una molecola per essere colorata deve avere due funzioni, una responsabile del colore (gruppo cromoforo) e l'altra capace di legare la molecola del colorante al substrato aumentandone o variandone l'intensità del colore (gruppo auxocromo).

I pigmenti solitamente si distinguono in organici e inorganici (vedi Figura 1.1)<sup>4</sup>

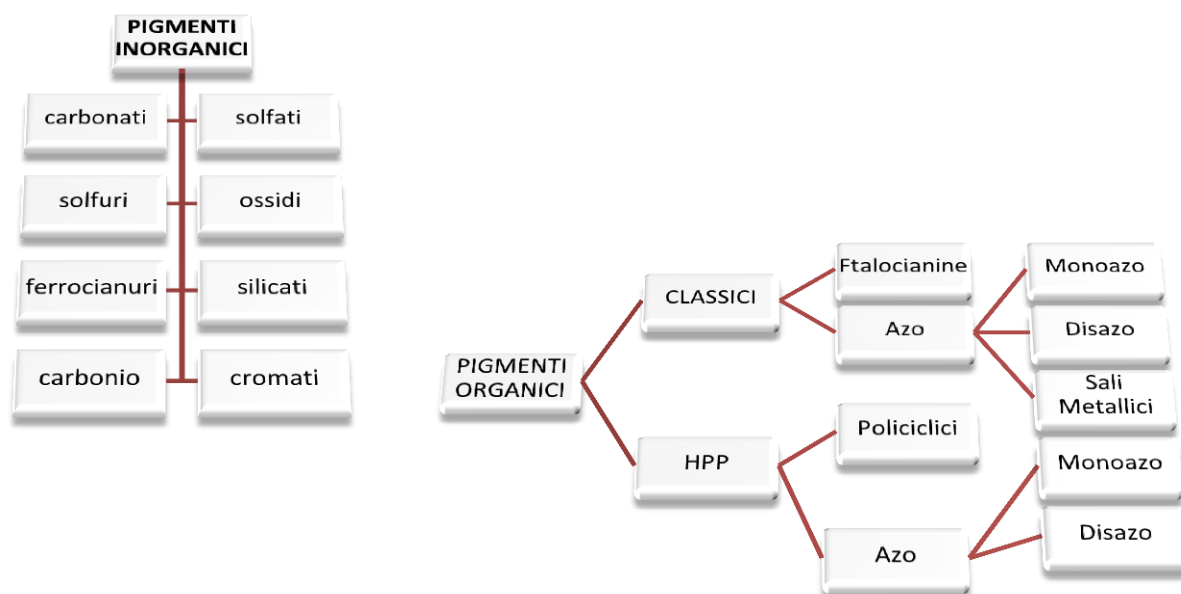


Figura 1.1: Classificazione dei pigmenti

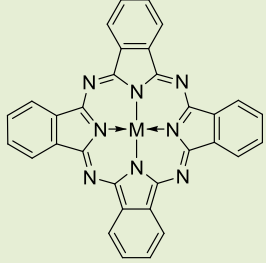
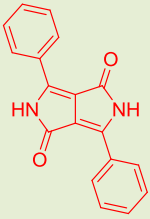
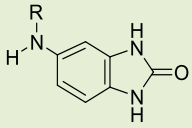
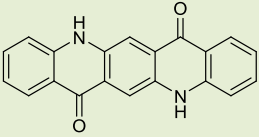
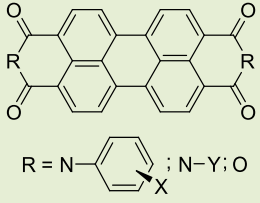
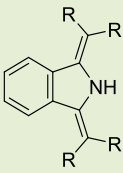
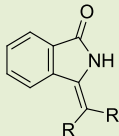
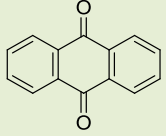
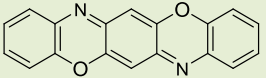
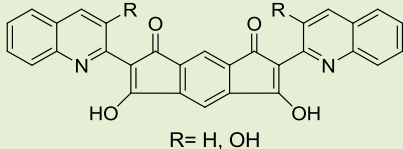
I pigmenti inorganici sono di origine per lo più minerale. Quelli organici hanno invece la caratteristica di avere un potere colorante e coprente migliore rispetto a quelli inorganici. Hanno tonalità più brillanti e pulite. Gli **HPP** sono i pigmenti di nuova generazione, non tossici e con proprietà altamente performanti: resistono alla luce, alle condizioni climatiche, al calore e per questo sono molto utilizzati e studiati nel campo chimico.

I pigmenti in genere vengono classificati secondo il loro nome generico oppure tramite il Color Index (C.I.), standard sviluppato dalla *Royal Society of Dyers and Colourist* del

<sup>4</sup> De Lucchi O., Università degli Studi Ca' Foscari di Venezia, Appunti di Lezione dal Corso "Pigmenti e coloranti" del C.d.L.: S.C.C.R. Venezia, A.A. 2009/2010.

Regno Unito e dall' *American Association of textile Chemists and Colorists*. Di seguito vengono elencate le principali classi di **HPP** (Tabella 1.1.)

Tabella 1.1.: Principali strutture degli HPP.

<i>Ftalocianine</i>	<i>Dichetopirrolopirroli</i>	<i>Benzimidazoloni</i>	<i>Chinacridoni</i>
			
<i>Perilene</i>	<i>Isoindoline</i>	<i>Isoindolinoni</i>	<i>Antrachinoni</i>
			
<i>Diossazine</i>		<i>Chinoftaloni</i>	
			

In questo lavoro di tesi verrà utilizzato il pigmento rosso dichetopirrolopirrolo (**DPP**), con lo scopo di produrre particolari inibitori/sonde per specie ossigeno reattive (**ROS**). Il **DPP** è costituito da un sistema biciclico con otto elettroni  $\pi$  e due unità lattamiche. Le principali caratteristiche chimico fisiche sono riassunte in Figura 1.2.:



- alto punto di fusione ( $> 350^{\circ}\text{C}$ )
- bassa solubilità ( $< 110 \text{ mg/l}$  in DMS a  $25^{\circ}\text{C}$ )
- assorbimento nella regione del visibile con coefficiente di estinzione molare di  $33000 \text{ dm}^2/\text{mol}$ .

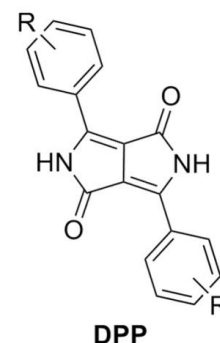
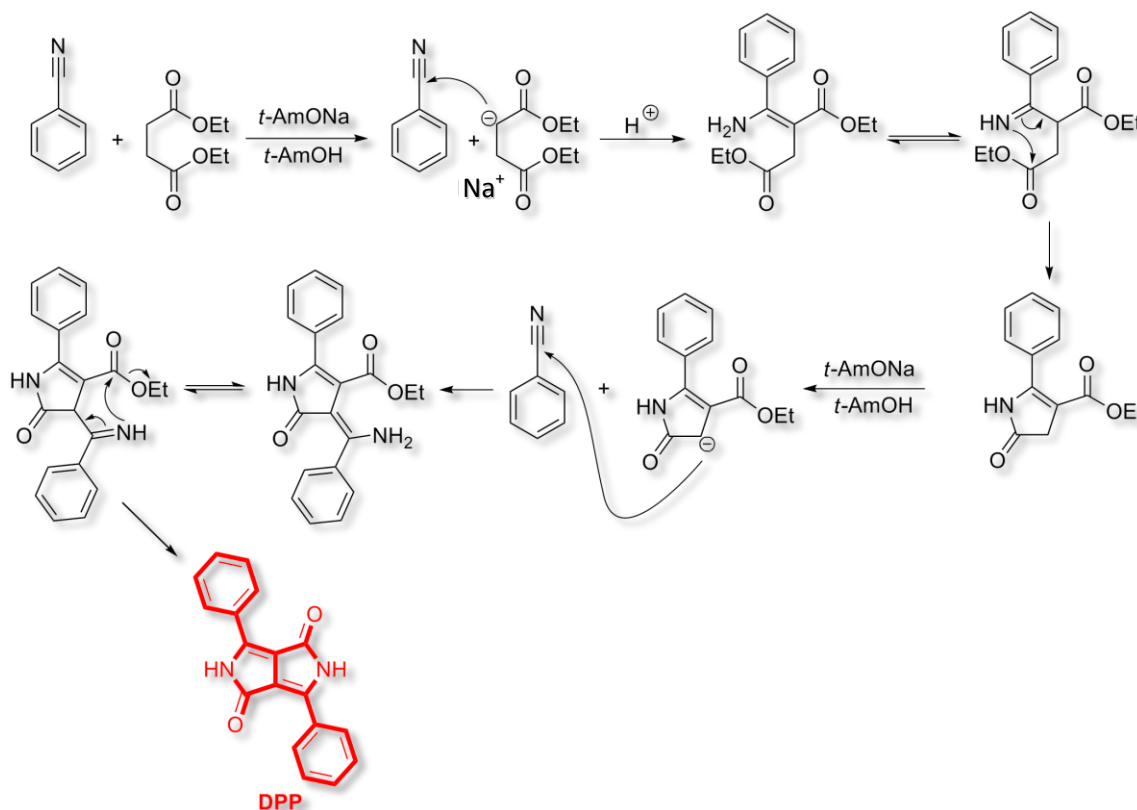


Figura 1.2: Caratteristiche Chimico Fisiche del **DPP**

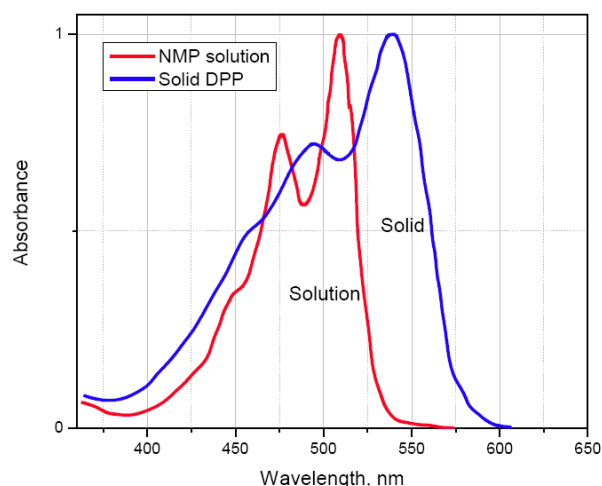
La sintesi di questo pigmento compare per la prima volta in letteratura nel 1974 anche se viene introdotto nel mercato a partire dal 1986. La sintesi industriale del **DPP** e dei suoi derivati è stata realizzata dai ricercatori della *Ciba-Geigy* partendo da un benzonitrile funzionalizzato e da un estere dell'acido succinico (etilico o isopropilico) in presenza di una base forte (*t*-BuOK o *t*-AmONa) in *t*-AmOH come solvente (Schema 1.1.).



Schema 1.1: Sintesi del **DPP** a partire dall'estere succinico.

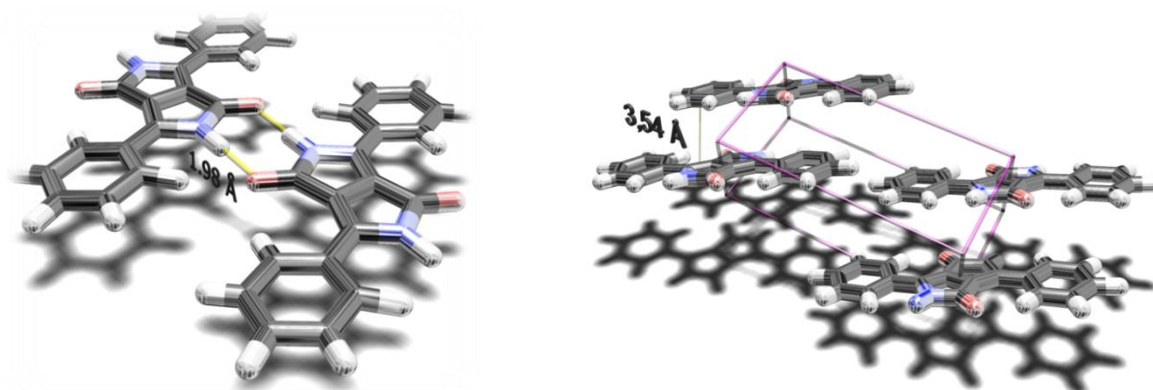
I pigmenti aventi lo scheletro del **DPP** coprono un intervallo di colore che va dall'arancio al rosso. Allo stato solido si presenta di colore rosso vivo mentre in soluzione assume una colorazione giallo fluorescente.

Di seguito è riportato lo spettro di assorbimento del **DPP** in soluzione (NMP) e allo stato solido (Figura 1.3.).



**Figura 1.3:** Struttura del **DPP** e spettro di assorbimento in soluzione (**NMP**) e allo stato solido.

La molecola del **DPP** è praticamente planare, poiché gli anelli fenilici risultano ruotati rispetto al sistema eterociclico di soli 7°. Dall'analisi ai raggi X è emerso che il **DPP** forma strutture cristalline, in cui l'impacchettamento del cristallo è dovuto alle interazioni intermolecolari ad idrogeno e "π-π stacking" fra le molecole adiacenti (**Figura 1.4**).



**Figura 1.4:** Analisi diffrattometrica del **DPP**.

Per le caratteristiche descritte in precedenza, il **DPP** trova applicazione come **HPP** per pitture, plastiche e fibre.<sup>5</sup> Recentemente per le sue proprietà optoelettroniche il **DPP** è stato impiegato nelle celle fotovoltaiche organiche (**OPV**)<sup>6</sup> e come sensitizer nelle celle tipo

<sup>5</sup> H. M. Smith *High Performance Pigments*, Wiley-Vch, Germania, **2002**, pp.164 e 168-169.

<sup>6</sup> E. Zhou, Q. Wei, S. Yamakawa, Y. Zhang, K. Tajima, C. Yang, K. Hashimoto, *Macromolecules* **2010**, *43*, pp. 821-826; (m) S. S. Sharma, G. D. Sharma, J. A. Mikroyannidis, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **2011**, *95*, pp. 1219; (n) G. Zhang, Y. Fu, Z. Xie, Q. Zhang, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **2011**, *95*, p. 1168; (o) G. Zhao, Y. He, C. He, H. Fan, Y. Zhao, Y. Li, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **2011**, *95*, p. 704.

Graetzel (**DSSC**).<sup>7</sup> Inoltre è impiegato come sensore chimico e *probe* nella Near Infrared Spectroscopy (**NIR**).<sup>8</sup>

### 1.1.2. LEGANTI<sup>1</sup>

Per legante, o medium pittorico, si intende una sostanza in cui il pigmento in polvere può essere disperso al fine di permetterne la coesione sulla superficie. La funzione del legante consiste nel tenere saldamente unite fra loro le particelle di pigmento e di farle aderire in forma di film sottile sulla superficie del supporto.

Il legante deve possedere specifiche proprietà:

- ✓ *proprietà chimiche*: il legante non deve reagire chimicamente con il pigmento disperdendolo solamente
- ✓ *proprietà fisiche*: il legante per poter essere steso facilmente deve essere omogeneo e viscoso, cioè deve possedere proprietà filmogene. Una volta seccato deve trasformarsi in un film sottile, non appiccicoso, resistente ed elastico; inoltre deve durare nel tempo.
- ✓ *proprietà ottiche*: il legante deve essere trasparente e senza colore per non alterare le caratteristiche ottiche del pigmento.

I primi leganti pittorici che risalgono al periodo Paleolitico, sembrerebbero a base di acqua, più comune e semplice da trovare. Era frequente anche l'uso di materiali di diversa natura come oli, saliva, urina, grassi animali e sangue.

Nell'antico Egitto invece, si utilizzavano leganti più efficienti come la gomma arabica, il bianco d'uovo, la cera d'api e la gelatina.

Nel Medioevo e nel Rinascimento i leganti utilizzati erano principalmente il tuorlo d'uovo e gli oli siccativi. Con la pittura moderna si ha la nascita delle resine sintetiche e le più importanti sono sicuramente le resine acriliche. Nonostante i notevoli progressi della scienza chimica, i prodotti sintetici di oggi non si possono sostituire del tutto ai materiali classici perché si è spesso riscontrato che non hanno la stessa capacità di durare nel tempo.

I dipinti antichi mantengono per secoli un buono stato di conservazione mentre le opere recenti hanno presentato spesso danni non riparabili, forse perché dovuti alla loro non reversibilità.

---

<sup>7</sup> (a) F. Guo, S. Qu, W. Wu, J. Li, W. Ying, J. Hua, *Synth. Met.* **2010**, *160*, pp. 1767-1773; (b) S. Y. Qu, W. J. Wu, J. L. Hua, C. Kong, Y. T. Long, H. Tian, *Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *114*, pp. 1343-1349; (c) S. S. Murphree, in *Progress in Heterocyclic Chemistry*, Vol. 22, **2011**, p. 21.

<sup>8</sup> (a) G. M. Fischer, M. Isomäki-Kron Dahl, I. Göttker-Schnetmann, E. Daltrozzo, A. Zumbusch, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, pp. 4857-4864; (b) G. M. Fischer, E. Daltrozzo, A. Zumbusch, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, pp.1406-1409.

I leganti utilizzati in pittura, in base alla loro natura, sono suddivisi in:

- ✓ *leganti proteici*: utilizzati nella tecnica a tempera, caratteristica della pittura medioevale e rinascimentale, ma anche come protettivi, adesivi e consolidanti. Derivano da prodotti naturali come l'uovo, la colla animale, latte e caseina. In generale le proteine sono abbastanza stabili all'ossidazione ma con l'invecchiamento del film pittorico, i leganti possono subire degrado e alterarsi a causa di diversi fenomeni di natura chimica, fisica e biologica.
- ✓ *leganti lipidici*: di natura sia vegetale che animale. I grassi animali e gli oli vegetali sono considerati i lipidi più abbondanti in natura. Nelle tecniche pittoriche sono importanti quelle sostanze che hanno caratteristiche filmogene e che, dal punto di vista chimico, contengono prevalentemente trigliceridi cioè esteri della glicerina con acidi grassi saturi e insaturi a lunga catena. Quelli più comunemente usati in pittura sono l'olio di lino, di noce e di papavero appartenenti alla classe degli oli siccativi tipici della pittura su tavola e tela dalla fine del rinascimento ad oggi. L'olio ha un'elevata tendenza ad ingiallire e l'ingiallimento dipende dal grado di purezza, dalla presenza di particolari pigmenti, dall'umidità e dalla luce.
- ✓ *leganti polisaccaridici*: in campo artistico si utilizzavano sostanze come il miele e gomme vegetali (la più importante è la gomma arabica). Risultano materiali idrofilii e quindi sono sensibili all'umidità ambientale infatti è molto difficile trovare la presenza di gomme vegetali in dipinti antichi soprattutto se esposti all'aperto.
- ✓ *cere*: possono essere di natura animale (cera d'api), vegetale (cera carnauba) e minerale (paraffina). Sono sostanze solide che non presentano spiccate proprietà filmogene.
- ✓ *materiali resinosi*: le resine naturali vengono classificate in resine vegetali (balsami, resine fossili, oleoresine) e animali (gommalacca). Hanno buone proprietà filmogene e adesive. Col passare del tempo, le vernici diventano scure e si cretano. La rimozione, nel restauro, può essere un rischio per lo strato pittorico sottostante.

## 1.2. OSSIGENO SINGOLETTO: CARATTERISTICHE E REATTIVITA'

L'ossigeno molecolare è tra le molecole più importanti in quanto è necessaria per la vita dell'organismo. Senza la presenza di ossigeno nell'atmosfera terrestre, parte della vita, animale e vegetale, non sarebbe possibile.

Uno stato eccitato dell'ossigeno molecolare è l'ossigeno singoletto ( $^1\text{O}_2$ ) che si forma quando la molecola di ossigeno assorbe sufficiente energia in modo da eseguire una inversione di *spin* di uno degli elettroni spaiati insieme ad uno spostamento in un orbitale diverso. L'ossigeno singoletto è altamente reattivo ed ha un forte potere ossidante in quanto possiede un potenziale Redox di 0,34V in DMF o 0,79V in acqua. Questo comporta che esso è in grado di reagire con diversi composti. L'ossigeno singoletto differisce dall'ossigeno tripletto perché possiede due elettroni accoppiati nell'orbitale di antilegame. (**Figura 1.5**).

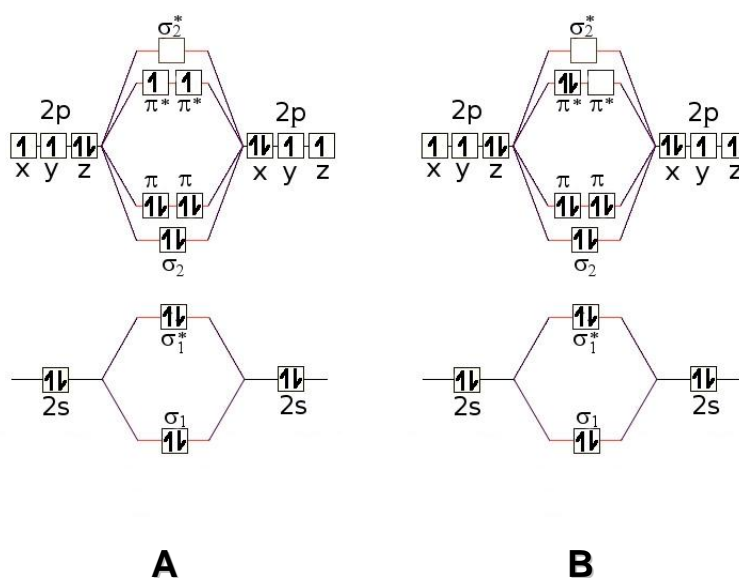
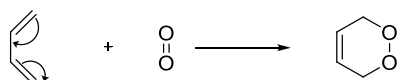


Figura 1.5: Orbitali molecolari dell'ossigeno allo stato fondamentale (A) e allo stato eccitato (B)

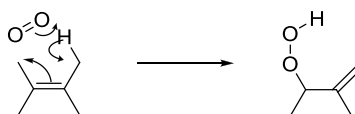
Sono tre le tipologie di reazione dell'ossigeno di singoletto con le insaturazioni presenti nelle molecole organiche:

1. addizione tra l'ossigeno singoletto e un diene. Si ottiene un endoperossido. Questa reazione è simile alla cicloadizione Diels- Alder [4+2]. In questo caso si formano anelli eterociclici (vedi Schema 1.2):



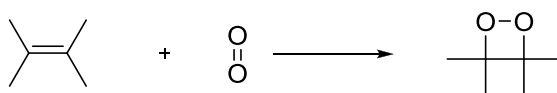
Schema 1.2: Cicloaddizione [4+2] di ossigeno in singoletto

2. addizione Alder “ene” (Schema 1.3). In questa reazione gli alcheni (olefine), che contengono almeno un idrogeno allylico, reagiscono con l’ossigeno singoletto ottenendo il corrispettivo idroperossido. Il processo coinvolge la migrazione di un protone allylico e lo spostamento del doppio legame carbonio- carbonio.



Schema 1.3: Reazione dell’ossigeno singoletto attraverso il meccanismo Alder “ene”.

3. Cicloaddizione ad un doppio legame. Si tratta di alcheni ricchi di elettroni dove il doppio legame possiede un eteroatomo elettrone-donatore (N, O, S) oppure di alcheni che contengono doppi legami molto particolari. Questi reagiscono con l’ossigeno singoletto portando alla formazione di un perossido ciclico.



Schema 1.4: Cicloaddizione dell’ossigeno singoletto a un doppio legame

### 1.2.1. SPECIE OSSIGENO REATTIVE (ROS) E PROBES FLUORESCENTI

Gli esseri umani sono periodicamente esposti ad agenti reattivi che aggrediscono l'organismo dall'esterno e dall'interno. È importante concentrare l'attenzione sui radicali liberi, molecole che derivano dall'ossigeno molecolare. Sono altamente instabili in quanto presentano nella loro struttura un elettrone spaiato nell'orbitale più esterno. I radicali liberi sono molto reattivi e cercano di raggiungere uno stato più stabile sottraendo elettroni ad altre molecole per completare il loro ottetto.

Quelli a maggior diffusione vengono definiti come **ROS** (dall'inglese *Reactive Oxygen Species*). I più importanti vengono riportati in Tabella 1.2.<sup>9</sup>

Tabella 1.2.: Principali specie Ossigeno Reattive

Reactive Oxygen Species (ROS)			
Radicaliche		Non radicaliche	
<b>Idrossile</b>	$\cdot\text{OH}$	<b>Perossinitrile</b>	$\text{ONOO}^-$
<b>Superossido</b>	$\text{O}_2^{\cdot-}$	<b>Acido Ipocloroso</b>	$\text{HOCl}$
<b>Nitrossido</b>	$\text{NO}\cdot$	<b>Idrogeno Perossido</b>	$\text{H}_2\text{O}_2$
<b>Tiliile</b>	$\text{RS}\cdot$	<b>Ossigeno di Singoletto</b>	$^1\text{O}_2$
<b>Perossile</b>	$\text{RO}_2\cdot$	<b>Ozono</b>	$\text{O}_3$
<b>ossigeno</b>	$\text{O}\cdot$	<b>Atomo do ossigeno</b>	$\text{O}$

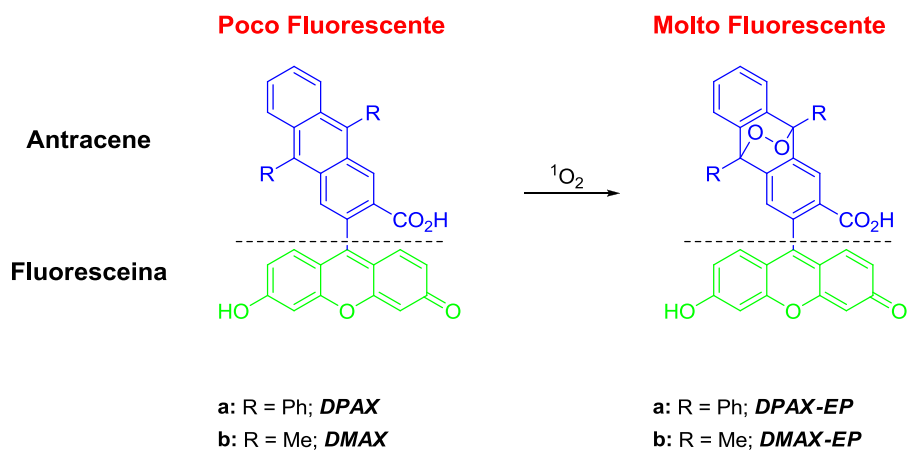
I **ROS** sono molto studiati in campo chimico, medico e biologico, perché considerati dannosi in quanto un eccesso nell'organismo vivente porta ad uno stress ossidativo associato a numerose patologie croniche come i disturbi cardio-circolatori (ischemie, ictus), diabete, cancro, malattie neurodegenerative (morbo di Parkinson e Alzheimer). I **ROS** sono tra le cause principali dell'invecchiamento cellulare.

Per lo studio di queste specie la tecnica analitica più utilizzata in biologia, è quella di introdurre nelle cellule delle molecole sonda (*probes*) in grado di reagire con i **ROS** producendo fluorescenza. Negli anni passati si utilizzavano come *probes* dei composti che reagivano in modo non selettivo con i vari tipi di **ROS**.

<sup>9</sup> Vagnozzi, E. *Tesi di laurea: Sintesi di inibitori di specie ossigeno reattive*. Corso di Scienze Chimiche per la Conservazione e il Restauro, A.A. 2010/2011.

Attualmente la ricerca è rivolta alla produzione di sonde selettive specifiche per ogni tipo di **ROS**, visto che ognuno di essi svolge specifiche attività fisiologiche.<sup>10</sup>

Visto l'argomento trattato dal presente lavoro di tesi, si riportano nello schema **1.5.** i *probes* selettivi commerciali per  $^1\text{O}_2$ :



*Schema 1.4.: Probes per Ossigeno di Singoletto.*

Queste molecole nascono dalla fusione dei derivati 9,10-antracenicici con un fluoroforo di tipo fluoresceinico.<sup>11</sup> Tali sonde si basano sul principio di coniugare alla capacità dei derivati 9,10-antraceni di funzionare da "trappola" per  $^1\text{O}_2$  (si forma un endoperossido stabile), con l'elevato segnale di fluorescenza prodotta dalla fluoresceina. In assenza di  $^1\text{O}_2$  la sonda produce un segnale molto basso, che aumenta per effetto della reazione con il **ROS**. Il primo *probes* selettivo per ossigeno singoletto sintetizzato è stato il **DPAX** il quale, dopo reazione con  $^1\text{O}_2$ , forma il **DPAX-EP**. Basato sullo stesso concetto della coppia **DMAX/DPAX-EP**, è il derivato 9,10-dimetilantracene **DMAX** che, rispetto al primo, presenta maggiore sensibilità.

Nelle opere pittoriche l'azione dei **ROS** (specialmente  $^1\text{O}_2$ , perché prodotto direttamente per azione della luce visibile con ossigeno atmosferico) è molto aggressiva nei confronti della frazione insatura presente nei leganti utilizzati. I leganti più utilizzati in pittura sono gli oli siccativi ed è risaputo che con il tempo tendono a ingiallire. Il processo chimico che sta alla base dell'ingiallimento non è ancora del tutto noto ma le reazioni coinvolte sono l'ossidazione e la polimerizzazione, e verranno descritte in dettaglio nel paragrafo 1.3.

Il risultato finale che si ottiene sull'opera d'arte a causa di queste specie si traduce in cretture e quindi nella disgregazione del film pittorico.

<sup>10</sup> (a) Chen, X.; Tian, X.; Shin, I.; Yoon, J., *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4783. (b) Soh, N., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2006**, *386*, 532.

<sup>11</sup> Tanaka, K.; Miura, T.; Umezawa, N.; Urano, Y.; Kikuchi, K.; Higuchi, T.; Nagano, T., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2530.



La scienza chimica riveste un ruolo essenziale nella conservazione e il restauro in quanto è necessario produrre molecole in grado di rilevare e inibire, ove possibile, l'azione dei **ROS**.

## 1.2.2 GENERAZIONE DI OSSIGENO SINGOLETTO

In questo paragrafo si descrivono brevemente le metodologie di produzione di  $^1\text{O}_2$ . Il più comune è la fotosensibilizzazione che prevede l'assorbimento di luce da parte di una sostanza, il sensitizzatore.<sup>12</sup> Questo processo è particolarmente semplice e richiede l'impiego di luce (in genere visibile), ossigeno e di un sensitizzatore (**SEN**) opportuno in grado di assorbire la radiazione luminosa impiegandola per eccitare l'ossigeno dallo stato tripletto a quello singoletto. Il meccanismo è descritto in Figura 1.6.

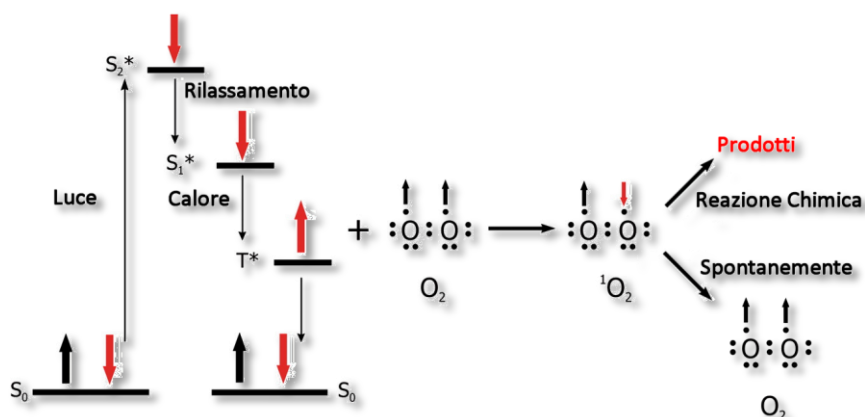


Figura 1.6.: Meccanismo di formazione di  $\text{O}_2$  ad opera di sensitizzatori.

L'eccitazione di **SEN** avviene attraverso l'assorbimento di un fotone che promuove la transizione di un elettrone dallo stato fondamentale  $S_0$  ad uno stato eccitato singoletto  $S_2^*$ . Attraverso meccanismi di rilassamento, l'energia acquistata viene ceduta al più basso stato singoletto  $S_2^*$ . La perdita di energia mediante calore provoca l'inversione di spin elettronico conducendo **SEN** da uno stato tripletto  $T^*$ . In assenza di  $\text{O}_2$  **SEN** ritorna allo stato  $S_0$ , mentre in presenza, l'energia fornita viene trasferita provocando l'inversione di spin che genera  $^1\text{O}_2$ . Infine se vi sono substrati ossidabili dal **ROS** si ha reazione chimica, in caso contrario l'ossigeno ritorna allo stato fondamentale di singoletto.

Alcuni sensibilizzatori usati per produrre l'ossigeno singoletto sono: Fluoresceina, Eosina, Eritrosina, Rodamina B, Bengal Rose, Tetrafenilporfirina, Blu di Metilene.

<sup>12</sup> DeRosa, M. C.; Crutchley, R. J., *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 233–234, 351.

Di recente si trovano in commercio diversi prodotti, in cui il sensizzatore è supportato su matrice. Il più utilizzato è il Bengal Rose che consiste in un colorante sensizzatore legato a una matrice polimerica insolubile di tipo polistirenico (Figura 1.7.)

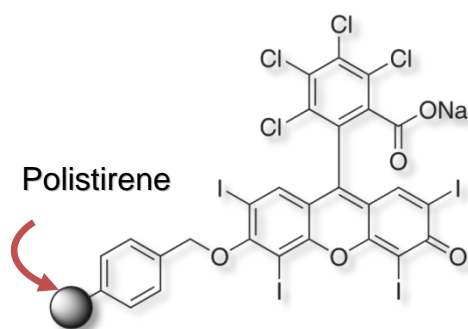
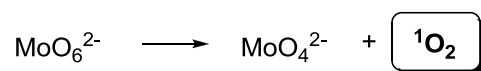
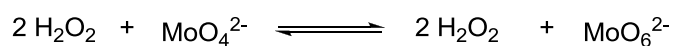


Figura 1.7: Bengal Rose supportato

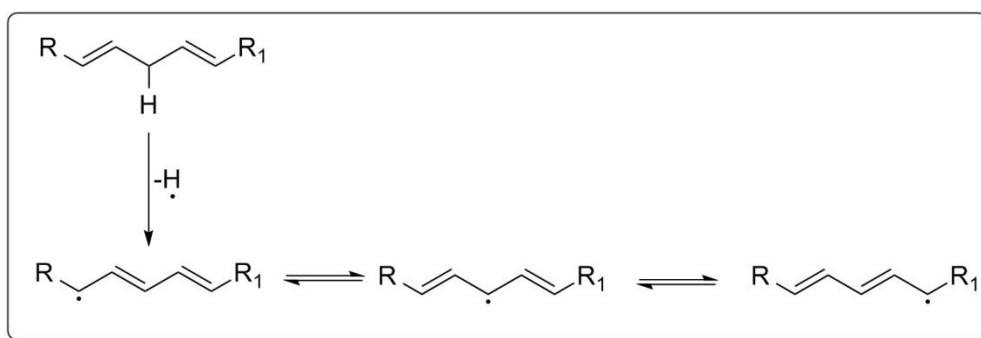
Un altro processo per produrre  $^1\text{O}_2$  coinvolge l'ossidazione degli anioni di molibdato di sodio ad opera di  $\text{H}_2\text{O}_2$  ad intermedio perossomolibdato, il quale ritorna molibdato generando  $^1\text{O}_2$  in resa quantitativa, secondo lo schema 1.5.



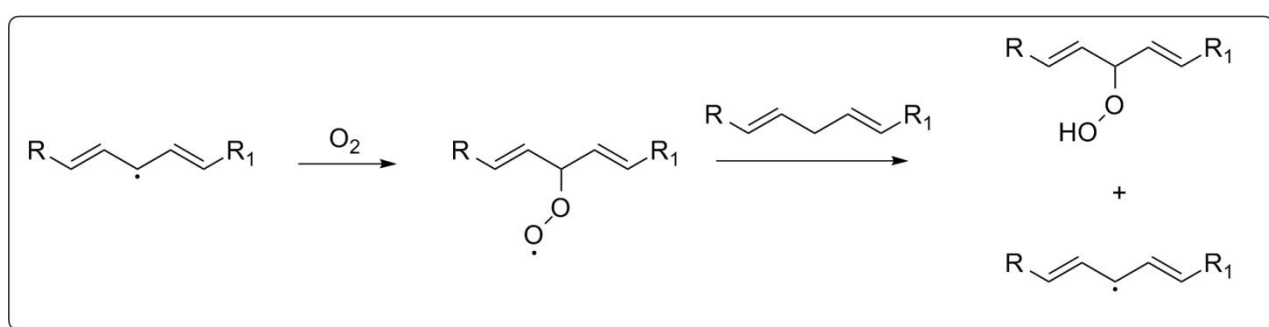
Schema 1.5: Formazione di  $\text{O}_2$  da sali di molibdeno



## I STADIO



## II STADIO



## III STADIO

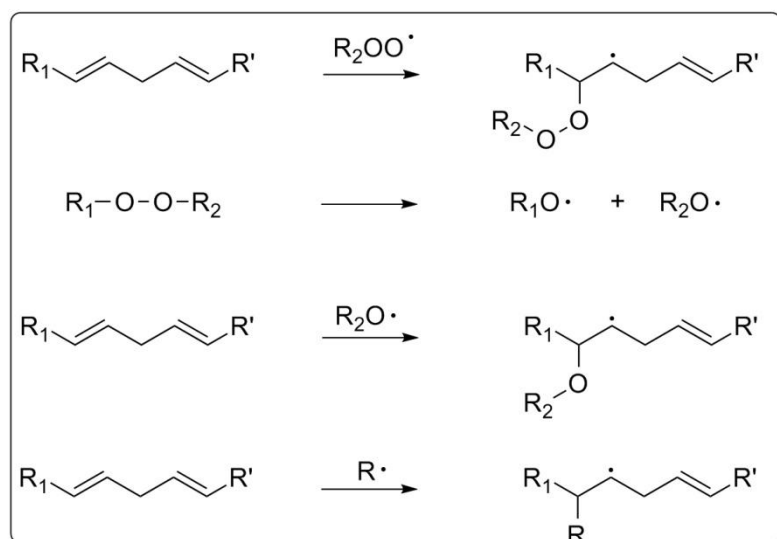


Figura 1.9: Meccanismo di polimerizzazione olii siccativi

L'<sup>1</sup>O<sub>2</sub> può reagire con le insaturazioni degli oli siccativi, provocandone il degrado; per esempio può combinarsi con le catene acide dei trigliceridi con reazioni pericicliche, come

può interagire con un allile producendo un idroperossido allilico, oppure con doppi legami coniugati generando un endoperossido in modo del tutto analogo descritto nel paragrafo 1.2.

Nel caso degli oli siccativi, l'addizione diretta dell'ossigeno singoletto ai doppi legami non è possibile, dato che si tratta di semplici insaturazioni tra atomi di carbonio, senza la presenza di eteroatomi elettron-donatori. È possibile però, che si verifichi l'addizione Alder "ene" come illustrato in Figura 1.10:

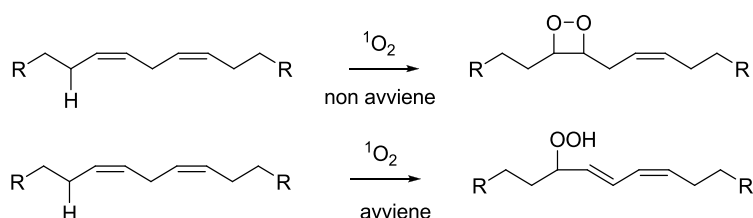


Figura 1.10: Meccanismo di reazione Alder "ene" dell'ossigeno singoletto

### 1.3.1 DETERMINAZIONE DELL' OSSIGENO SINGOLETTO GENERATO DA PIGMENTI

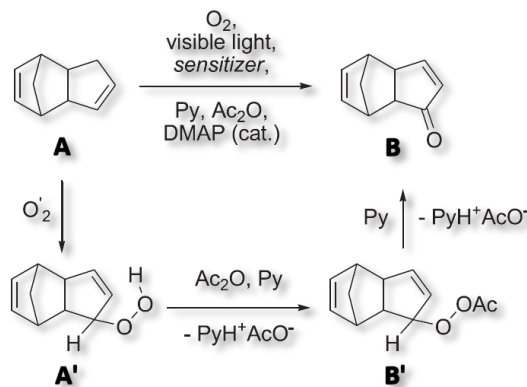
In questo ultimo paragrafo, relativo alla parte introduttiva, si vuole descrivere come i pigmenti possono generare ossigeno singoletto ( $^1\text{O}_2$ ) quando sono irradiati con luce visibile.

La ricerca di un metodo per migliorare la resistenza alla luce e cercare di evitare il processo di deterioramento dei pigmenti utilizzati in pittura, è in continua evoluzione.

Recentemente è stato dimostrato presso il gruppo di ricerca nel quale si è svolto questo lavoro di tesi,<sup>13</sup> che i pigmenti presenti nelle formulazioni pittoriche si comportano in modo analogo ai sensibilizzatori descritti nel paragrafo 1.2.2. generando  $^1\text{O}_2$ .

In questo lavoro si è impiegato come *probe* il dicitlopentadiene **A**, il quale è noto produrre il chetone  $\alpha,\beta$ -insaturo **B**, per azione di  $^1\text{O}_2$  in presenza di Bengal Rose come descritto nello Schema 1.6.

<sup>13</sup> Silvestrini, M.; Ciappa, A.; Fabris, F.; Borsato, G.; De Lucchi, O., *Dyes Pigment* **2012**, *92*, 1351.



*Schema 1.6: Reazione di  $^1\text{O}_2$  con dicitlopentadiene*

Sostituendo il sensitizzatore con vari **HPP** è stato possibile quantificare la produzione di  $^1\text{O}_2$ , a seconda del pigmento impiegato. In Figura 1.11 vengono riassunti graficamente i risultati di tali esperimenti. Per quantificare quanto **ROS** viene prodotto in funzione del **HPP** impiegato, si rapporta la quantità di  $^1\text{O}_2$  prodotta con il Bengal Rose supportato su polistirene usato come riferimento.

Questa procedura, fra i molti vantaggi riscontrati, presenta il difetto che il prodotto di reazione **B** non proviene direttamente da **A**, ma dalla reazione di **A'** che porta **B'** ed infine a **B**. Questa complicazione può portare a falsi positivi o negativi nella misura cercata.

Entry	Colour	Colour Index Name	CAS Registry #	Ketone <b>B</b> (mmol)-[%]	Ketone <b>B</b> neat of $^3\text{O}_2$ effect (mmol)-[%]	Efficiency (% relative to RB)
0	—	—	—	0.111–0.88	0.000–0.00	0.00
1		PR206	71819-76-6	0.190–1.51	0.080–0.64	1.57
2		PO62	52846-56-7	0.079–0.63	-0.031 to -0.25	-0.61
3		PB60	81-77-6	0.150–1.19	0.040–0.32	0.78
4		PY139	36888-99-0	0.126–1.00	0.016–0.13	0.31
5		PR88	522-75-8	0.823–6.55	0.713–5.68	13.95
6		PR168	4378-61-4	0.395–3.14	0.285–2.27	5.58
7		PR254	84632-65-5	0.103–0.82	-0.007 to -0.06	-0.14
8		PG36	14302-13-7	0.443–3.53	0.333–2.65	6.52
9		PG7	1328-53-6	0.459–3.65	0.349–2.78	6.83
10		PB16	574-93-6	1.218–9.70	1.108–8.82	21.69
11		PV23	6358-30-1	0.387–3.08	0.277–2.21	5.42
12		PR122	980-26-7	0.554–4.41	0.444–3.54	8.69
13		PY97	12225-18-2	0.174–1.39	0.064–0.51	1.25
14		PR209	3573-01-1	0.395–3.14	0.285–2.27	5.58
15		PO43	4424-06-0	0.206–1.64	0.096–0.76	1.88
16		PV49	1047-16-1	0.332–2.64	0.222–1.77	4.34
17	—	Rose Bengal B polystyrene	—	5.22–41.56	5.110–40.68	100.00

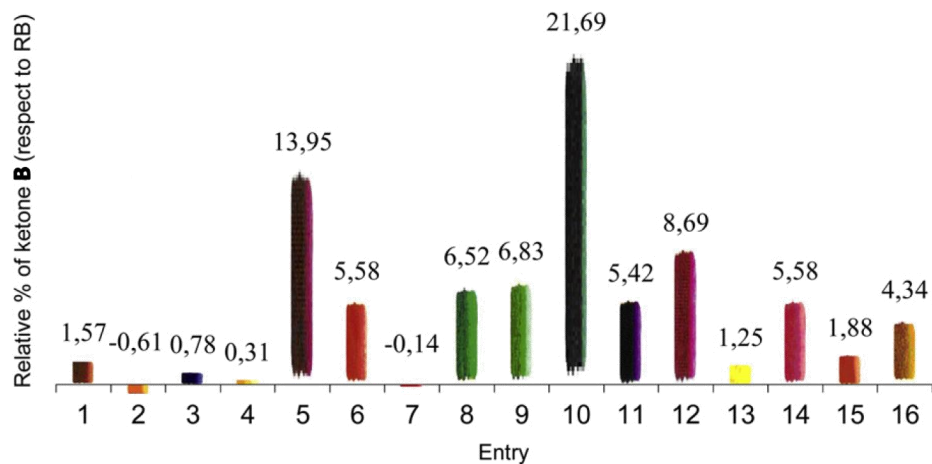


Figura 1.11: Ossigeno di singoletto prodotto da HPP.

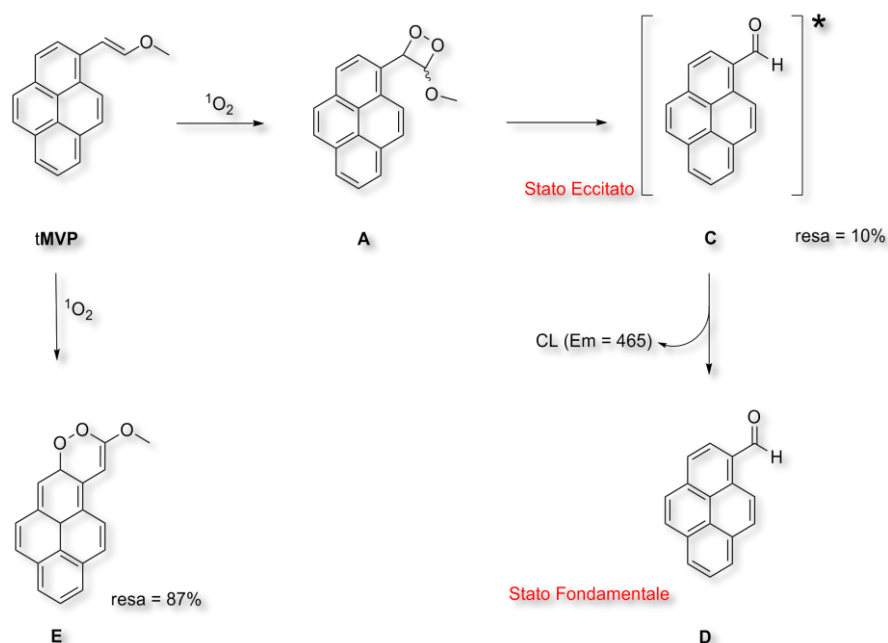
Come si vedrà nel paragrafo successivo la ricerca di una sonda che misuri direttamente la produzione di  $^1\text{O}_2$  ed elimini i problemi sopra descritti è fra gli obiettivi del presente lavoro di tesi.

## 2. SCOPO DELLA TESI

Questo progetto di tesi si divide in due parti:

1. Studio della produzione di  $^1\text{O}_2$ , da parte dei pigmenti.
2. Sintesi di un inibitore specifico dell'ossigeno singoletto prodotto da pigmenti.

In questa prima parte del lavoro si intende migliorare i risultati raggiunti impiegando come *probe* il dicitropentadiene descritti nella parte introduttiva. L'obiettivo di questa ricerca prosegue un precedente lavoro di tesi che intendeva sostituire la molecola biciclica **A** (Vedi Schema 1.6.) con *trans*-metossivinilpirene (**t-MVP**) altamente specifica nella rilevazione dell' $^1\text{O}_2$ . Il meccanismo di azione di **t-MVP** con  $^1\text{O}_2$  è descritto nello Schema 2.1, e porta alla formazione dei prodotti di reazione **D** ed **E**.



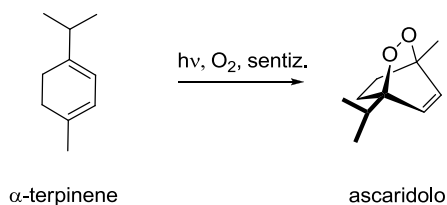
Schema 2.1: Reazioni di **t-MVP** con  $^1\text{O}_2$

Purtroppo l'analisi della cinetica di reazione mediante le tecniche analitiche  $^1\text{H}$  NMR che HPLC del bianco di reazione (**t-MVP**+ $\text{O}_2$ +luce) ha prodotto un esito imprevisto: il *probe* produce in parte i prodotti di reazione **E** e **D** degradandosi, forse a causa di un fenomeno di autoossidazione ad opera dello stesso  $^1\text{O}_2$  che in parte **t-MVP** produce. Questo rende i dati difficilmente confrontabili con quelli del sistema pigmento+**t-MVP**+ $\text{O}_2$ +luce, specialmente quando il **ROS** prodotto è in piccola quantità.

La logica conseguenza di questo studio è di cercare quindi un *probe* che fornisca un prodotto di reazione direttamente e che non si auto-ossidi. Questa molecola è stata



individuata nell' $\alpha$ -terpinene, che è noto formare con  $^1\text{O}_2$  l'addotto Diels-Alder [4+2] stabile ascaridolo in presenza di sensitizzatore (Schema 2.2).<sup>14</sup>



*Schema 2.2: Sintesi ascaridolo*

In una visione pratica, la ricerca consiste nel seguire la cinetica di formazione dell'ascaridolo mediante la tecnica gascromatografica in presenza di vari pigmenti, ricavando di conseguenza la quantità **ROS** prodotto.

La seconda parte del lavoro riguarda la sintesi di un inibitore/sonda per  $^1\text{O}_2$ . L'approccio sintetico descritto nella Figura 2.1 intende conseguire, in una sola volta, due risultati favorevoli, a seconda del tipo di funzionalità introdotta sull'atomo di azoto del pigmento *p*-bromodichetopirrolopirrolo (**DPPBr**)

Infatti mentre il residuo  $-\text{CH}_2\text{CO}_2t\text{Bu}$  (funzionalità permanente) produce una molecola solubile in ambienti polari funzionando come detector di **ROS**, con il  $\text{CO}_2t\text{Bu}$  (funzionalità latente che può venire rimossa agevolmente in ambiente acido o termicamente) si ottiene un inibitore per **ROS**, poiché possiede le stesse caratteristiche chimico fisiche del pigmento di partenza. Il progetto sintetico è riassunto in Figura 2.1 e intende introdurre nello scheletro del **DPPBr** la "trappola" per  $^1\text{O}_2$  antracene in analogia con quanto descritto nel paragrafo introduttivo 1.2.1.

<sup>14</sup> Tokuyama, H.; Nakamura, E., *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1135.

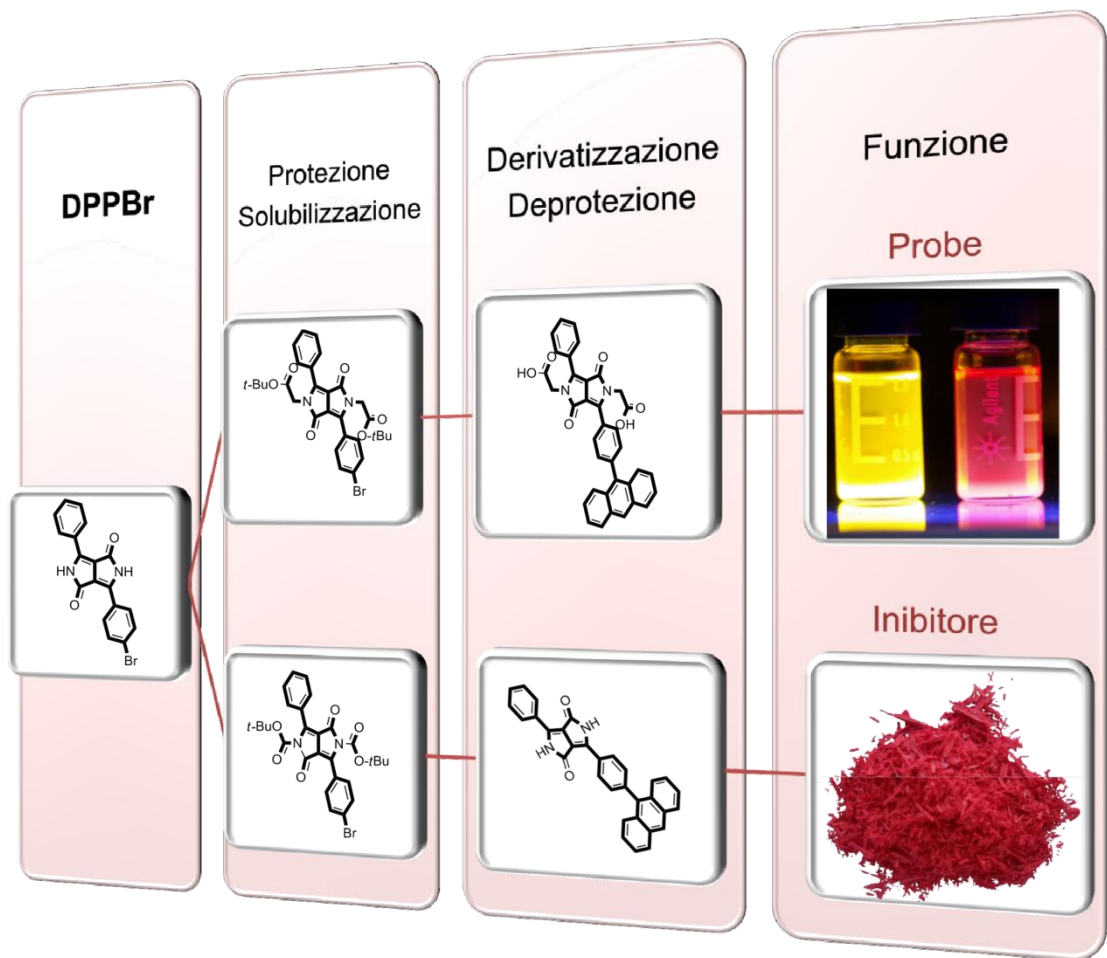


Figura 2.1: Progetto Sintetico

### 3. RISULTATI E DISCUSSIONI

#### 3.1 VALUTAZIONE DELLA PRODUZIONE DI $^1\text{O}_2$ MEDIANTE TECNICHE GASCROMATOGRAFICHE

Per valutare la produzione di  $^1\text{O}_2$  da parte del **DPP**, si è deciso di introdurre il pigmento in un reattore di vetro sospendendolo in metanolo e irradiandolo a tempi prefissati con lampada alogena da 500 W posta a 5 cm dal campione. L'ambiente di reazione viene saturato di gas attraverso continuo gorgogliamento di  $\text{O}_2$ . Per aumentare l'efficienza dell'irraggiamento, il reattore viene avvolto da un foglio di alluminio per evitare la dispersione della luce emessa dalla lampada, come descritto in Figura 3.1.



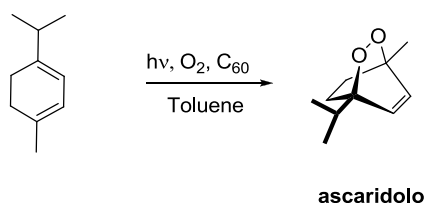
Figura 3.1: Apparato di fotoossigenazione

Come descritto nel paragrafo “*Scopo della Tesi*” per valutare la produzione di  $^1\text{O}_2$  si è scelto come probe l' $\alpha$ -terpinene che ossidandosi produce l'ascaridolo. Come tecnica analitica si è deciso di impiegare la gascromatografia perché:

- Reagente prodotto di fotoossidazione sono molto volatili e ben si prestano ad essere analizzati con questa tecnica analitica.
- L'avanzamento della reazione può essere facilmente monitorato attraverso prelievi di aliquote di soluzione e iniettati direttamente nello strumento.

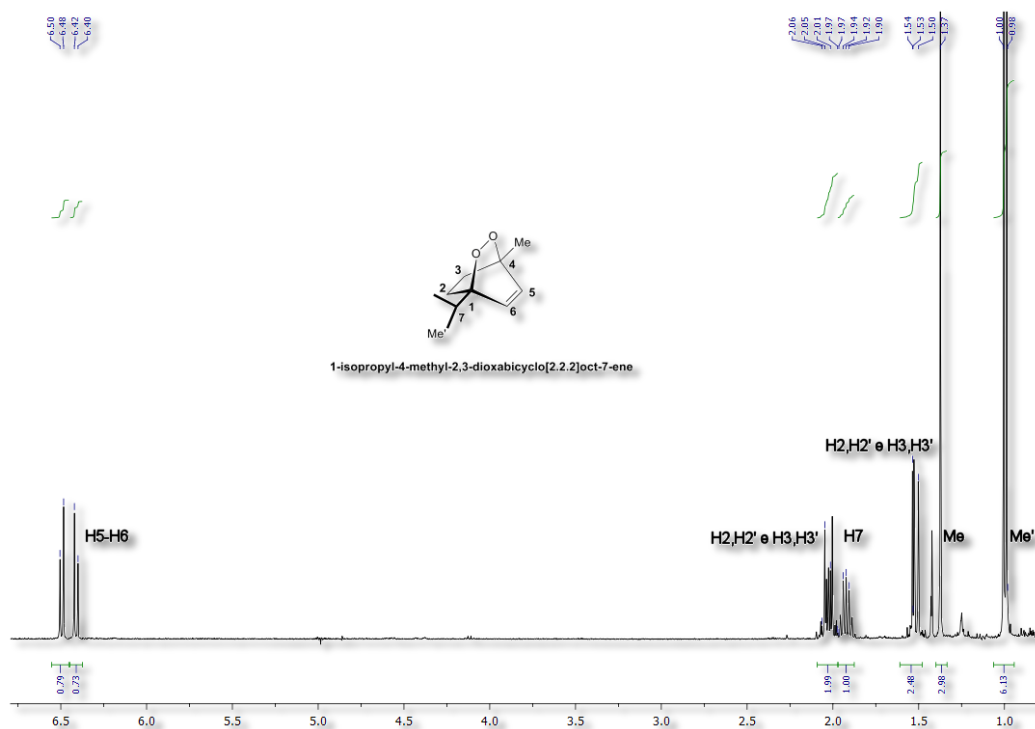
### 3.1.1 SINTESI DELL'ASCARIDOLO

Al fine di valutare la cinetica di reazione sia nella scomparsa dell' $\alpha$ -terpinene che nella formazione dell'ascaridolo, si è deciso di produrre questa molecola secondo procedura nota,<sup>16</sup> utilizzandolo come riferimento nella tecnica GC. Lo sintesi impiegata è riassunta nello schema **3.1**.



*Schema 3.1: Sintesi ascaridolo*

Sotto irradiazione con luce visibile o UV, in presenza di ossigeno molecolare e una minima quantità di fullerene ( $C_{60}$ ), olefine e dieni reagiscono con l' $O_2$  per dare dei prodotti fotoossigenati, mediante la reazione Diels-Alder. Il fullerene è noto per essere un sensizzatore di  $^1O_2$ . L'identificazione strutturale dell'ascaridolo è stata effettuata mediante analisi  $^1H$  NMR il cui spettro è rappresentato in Figura **3.2**.



*Figura 3.2: Spettro  $^1H$  NMR ascaridolo*

L'endoperossido prodotto si presenta come un olio giallino. La molecola è stabile tanto che può essere isolata tramite FC (eluente ACOEt/cicloesano 2:8), con una resa pari al 78%.

### 3.1.2 PRODUZIONE DI $^1\text{O}_2$ DA P.R. 254 E E P.V.19

Per quantificare la produzione di ossigeno singoletto attraverso GC si è deciso di impostare lo strumento secondo condizioni riportate in letteratura.<sup>15</sup> Bisogna precisare che sia il reagente di partenza,  $\alpha$ -terpinene che il prodotto ascaridolo, sono molecole estremamente volatili, inoltre l'addotto di Diels-Alder tende a dare reazioni di retro ciclizzazione se la temperatura dell'iniettore dello strumento, non viene correttamente stabilita.

Lo strumento impiegato è stato un GC Varian CP-3800. La colonna impiegata è stata una HP5 capillare. La temperatura dell'iniettore è stata fissata a 150°C e quella del forno a 120°C, effettuano un'analisi in condizioni isoterma. Per quantificare correttamente la scomparsa di reagente, e formazione del prodotto, si è deciso di applicare la metodologia analitica che prevede l'impiego dello standard interno (**SI**), minimizzando errori dovuti a prelievi di aliquote differenti dall'ambiente di reazione.

Dopo diversi tentativi, il mesitilene si è rivelato essere il miglior **SI** per le condizioni analitiche impiegate. Per calcolare correttamente i tempi di ritenzione dei reagenti impiegati, si è prima iniettato lo **SI**, poi reagente il prodotto, e quindi la miscela dei tre. I risultati dell'analisi sono riassunti in Figura 3.3.

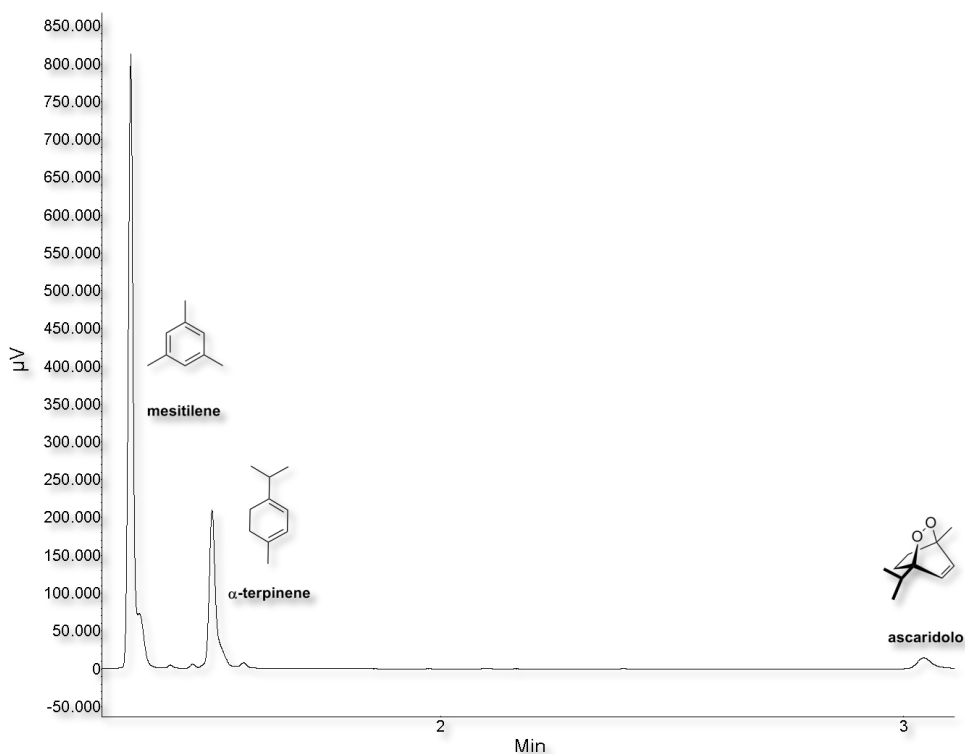


Figura 3.3: Cromatogramma di **SI**,  $\alpha$ -terpinene e ascaridolo

<sup>15</sup> Chu, Y.; Li, W.; Han, J.; Mo, H.; Li, X.; Zhou, S.; Zhu, Y.; Liu, C., *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2008**, *48*, 997.

Successivamente si è effettuato l'esperimento già descritto nel capitolo "Scopo della Tesi" impiegando due reattori irraggiati in parallelo con lampada alogena da 500 watt posta a 10 cm da essi. Nel primo usato come bianco, si è aggiunto  $\alpha$ -terpinene (80  $\mu$ l, 0,08mL, 0,29 mmol) e il mesitilene (68  $\mu$ l, 0,07 mL, 0,24 mmol) in 4 mL di metanolo. Nel secondo alla stessa soluzione è stato aggiunto il **DPP** (15 mg, 0,07 mmol).

Le aliquote prelevate a tempi definiti, sono state pari 50  $\mu$ l iniettati direttamente nel cromatografo, per quanto riguarda la soluzione senza pigmento, mentre quella con il **DPP** è stata centrifugata per 3 minuti immettendo solo il surnatante.

Le misure effettuate con il **DPP**, hanno condotto ai seguenti risultati:

- Nelle condizioni sperimentali impiegate il bianco non ha mai prodotto  $^1\text{O}_2$  dimostrando la correttezza dell' $\alpha$ -terpinene come *probe*.
- Purtroppo però il *probe* impiegato si è rivelato poco sensibile verso l' $^1\text{O}_2$  prodotto dal **DPP**. Questo conferma i risultati del precedente studio effettuato con il diclopentadiene (entry 7, Figura 1.10), i cui questo pigmento sembra generare poco o quasi niente  $^1\text{O}_2$ .

Per verificare se il nostro *probe* fosse effettivamente poco sensibile, si è deciso di sostituire il **DPP** con il **chinacridone** (**PV 19**, Figura 3.4) usato spesso come sostituto del **PR 122**<sup>16</sup> il quale si è dimostrato, nei precedenti studi essere un moderato produttore di ossigeno singoletto.

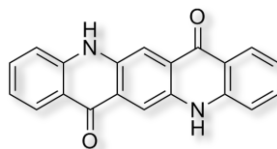
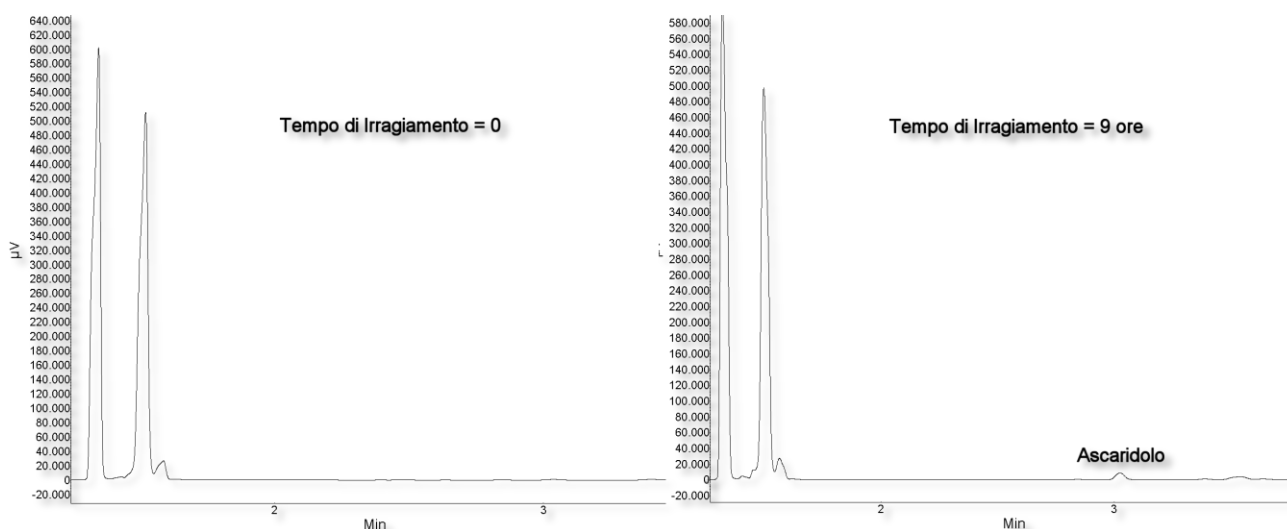


Figura 3.4: Formula del chinacridone

In questo caso si è osservata la formazione di una minima parte di ascaridolo ma solo dopo 9h di irraggiamento, unito ad altri prodotti non identificati. I cromatogrammi relativi a questo studio, i valori degli integrali normalizzati rispetto allo **SI** relativi alla scomparsa dell' $\alpha$ -terpinene e l'andamento della sparizione del reagente sono rappresentati in Figura 3.5.

<sup>16</sup> Sito web: <http://www.handprint.com/HP/WCL/waterc.html>



Tempo (min)	Area Mesitilene (SI)	Area Reagente	Aree Normal. (SI)/Reag.
0	52584,1	46912,3	0,89
120	41583	35734	0,86
240	35882	30025	0,84
360	33324	27478	0,82
540	44723	36575	0,82
720	43898	35368	0,81
840	36858	28175	0,76
900	36844	26261	0,71

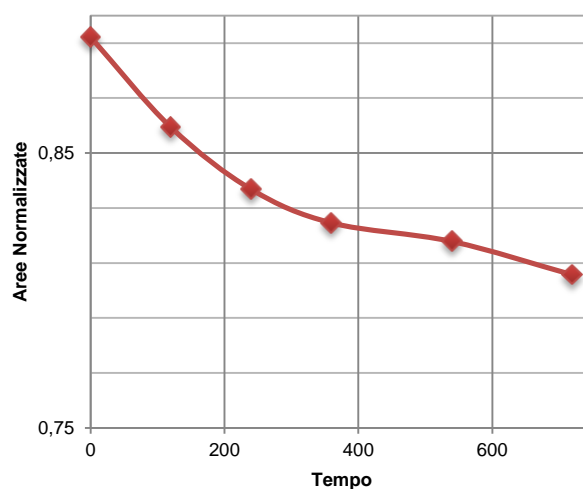


Figura 3.5: Fotoossigenazione  $\alpha$ -terpinene in presenza di chinacridone

L'irraggiamento prolungato anche fino a 15 ore, e oltre, non hanno prodotto un aumento nella conversione del reagente nel prodotto di cicloadizione. Questa mancanza di reattività è da imputare a fenomeni di "coating" del pigmento sul vetro che, passivandolo, provoca la diminuzione di intensità luminosa e quindi la resa del processo.

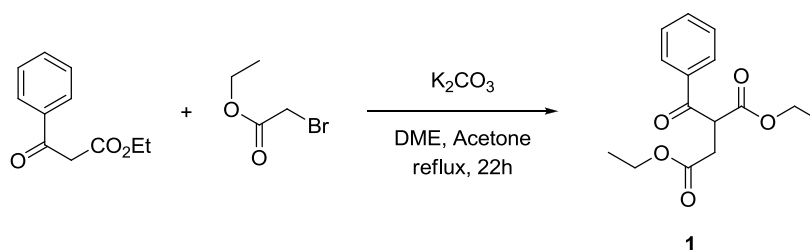
I lunghi tempi di reazione richiesti alla fotoossigenazione, uniti alle difficoltà sperimentali riscontrate, ci hanno indotto ad abbandonare per il momento questa ricerca.

## 3.2 SINTESI PROBE DI FLUORESCENZA PER $^1\text{O}_2$

Visto le difficoltà sperimentali riscontrate nella determinazione dell' $^1\text{O}_2$  prodotto da pigmenti, si deciso di sviluppare il secondo argomento del presente lavoro di tesi, che riguarda la sintesi di inibitori per **ROS** utilizzando come materiale di partenza il **DPPBr** come già descritto in Figura 2.1 nel capitolo "Scopo della Tesi".

### 3.2.1 SINTESI PRECURSORI **DDPBr**

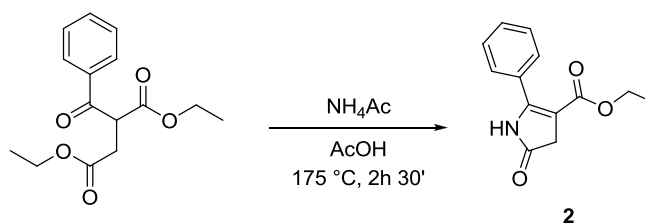
Il primo precursore del **DDPBr** è il dietil-2-benzoil-succinato **1**, la cui sintesi nota da letteratura,<sup>17</sup> è descritta nello Schema 3.2.:



Schema 3.2.: Sintesi del dietil-2-benzoil-succinato **1**

La lavorazione del grezzo di reazione avviene per semplice filtrazione su Gooch per rimuovere il  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , il quale è stato lavato più volte con esano. A ogni lavaggio il solido è stato sospeso nel solvente sopra indicato, trattato con ultrasuoni per 10' e quindi ri-filtrato. L'analisi del grezzo di reazione mediante analisi  $^1\text{H}$  NMR dimostra la formazione del prodotto per la presenza del multipletto diastereotopico a 3.0 ppm caratteristico del metilene in posizione  $\alpha$  rispetto allo stereocentro presente in **1** (vedi spettri allegati nella parte sperimentale).

Il precursore **2** del **DDPBr** è stato sintetizzato per ciclizzazione di **1** con acetato di ammonio in acido acetico a  $175\text{ }^\circ\text{C}$ , secondo lo Schema 3.3.:



Schema 3.3.: Sintesi precursore **2**

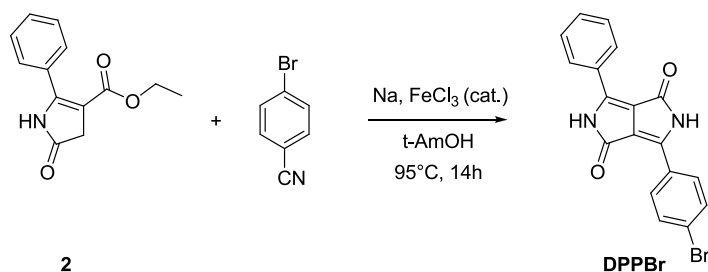
L'analisi  $^1\text{H}$  NMR di **2** è consistente con i dati riportati in letteratura.<sup>19</sup>

<sup>17</sup> Morton, C. J. H.; Gilmour, R.; Smith, D. M.; Lightfoot, P.; Slawin, A. M. Z.; MacLean, E. J., *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5547



### 3.2.2 SINTESI **DPPBr** E ALCHILAZIONE CON $t\text{-BuCO}_2\text{CH}_2\text{Br}$

Il **DPPBr** asimmetrico è stato ottenuto per reazione di **2** con  $p$ -bromobenzonitrile (Schema 3.4).

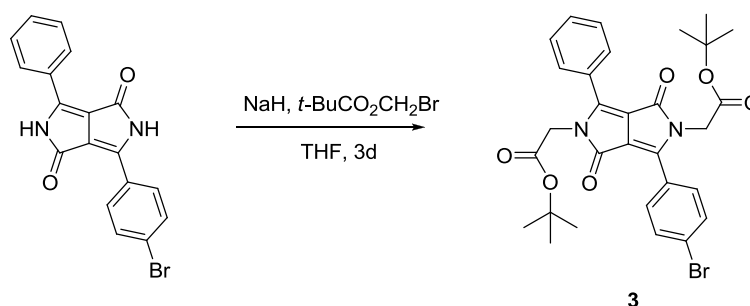


Schema 3.4: Sintesi dei precursori **DPPBr**

Il precursore **2** viene deprotonato in posizione  $\alpha$  al carbonile ad opera del  $t\text{-AmONa}$ . Il nucleofilo così prodotto attacca il  $p$ -bromo-benzonitrile. In seguito a riarrangiamento e ciclizzazione si forma **DPPBr**.

Il passaggio successivo prevede la reazione del **DPPBr** con  $t\text{-BuCO}_2\text{CH}_2\text{Br}$ . Questa funzionalizzazione intende assolvere due compiti:

- Solubilizzare il pigmento rendendo possibile la reazioni successiva di coupling di Suzuki
- Dopo le reazione di coupling, la rimozione del gruppo terbutile renderà **3** solubile in ambienti polari nei quali in genere vengono studiate le reazioni con i **ROS**.

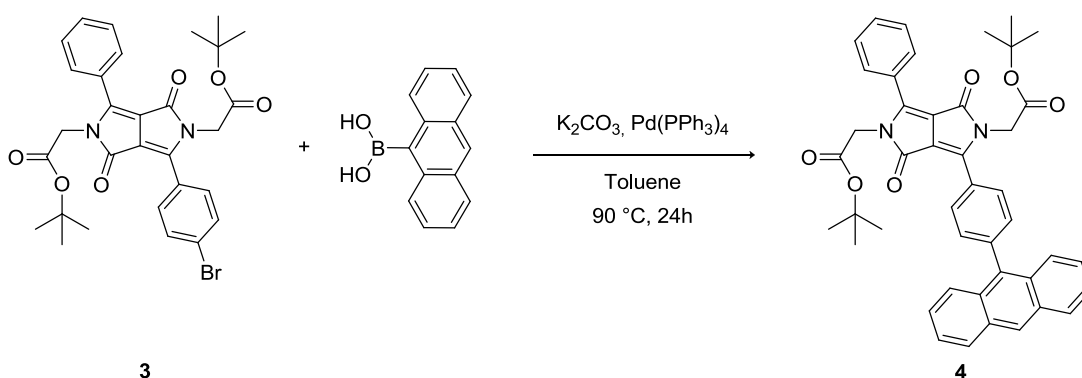


Schema 3.5: Derivatizzazione di **DPPBr** con  $t\text{-BuCO}_2\text{CH}_2\text{Br}$

Questo tipo di reazione prevede la lenta formazione del dianione del **DPPBr** ad opera di  $\text{NaH}$  che deprotona l'atomo di azoto a temperatura ambiente. Dopo 24 ore si aggiunge l'agente alchilante, e la miscela fatta reagire per altri due giorni alla stessa temperatura. Per la completa caratterizzazione di **3** mediante analisi  $^1\text{H NMR}$   $^{13}\text{C NMR}$  si richiama alla parte sperimentale del presente lavoro di tesi.

### 3.2.3 REAZIONE DI SUZUKI DI **3** CON 9-ANTRACEN ACIDO BORONICO E DEPROTEZIONE

Nel precursore **3** viene introdotto mediante *coupling* di Suzuki, la funzionalità antracenica che funziona da “*trappola*” per  $^1\text{O}_2$ . Questo tipo sintesi prevede la reazione di un acido aril-boronico con un alogenuro arilico mediata da un complesso di palladio, ed è largamente usata per la formazione di legami C-C, tra due anelli aromatici (vedi Schema 3.6.)



Schema 3.6: Reazione di **3** con 9-antracene acido boronico

Il grezzo di reazione è stato purificato prima per estrazione con acetato di etile, e successivamente **4** isolato mediante FC (eluente ACOEt/cicloesano 3:7 e 2:8). Il *probe* **4** allo stato solido si presenta di colore arancio-rosso mentre in soluzione appare giallo fluorescente. In Figura 3.6 viene rappresentato lo spettro UV-Visibile di **4** e la relativa fluorescenza. Per la completa caratterizzazione mediante analisi  $^1\text{H}$  NMR e  $^{13}\text{C}$  NMR e IR si rimanda alla parte sperimentale.

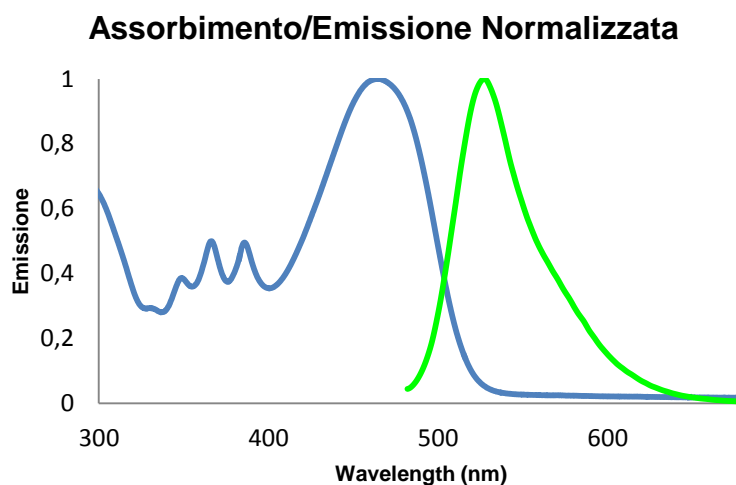
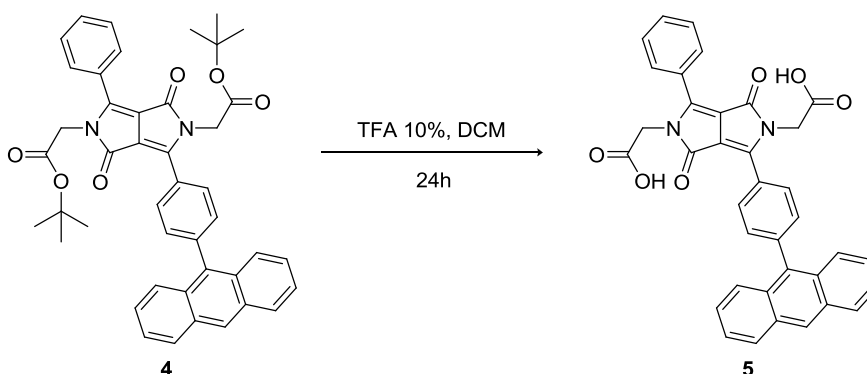


Figura 3.6: Assorbimento/Fluorescenza di **4**

La molecola **4** risulta solubile in solventi organici. Per ottenere una versione solubile in H<sub>2</sub>O si è rimosso il terbutile in condizioni acide, secondo lo Schema **3.7**.



Schema **3.7**: Deprotezione di **4** con TFA

In analogia con **4** anche il prodotto **5** è stato completamente caratterizzato mediante spettrometria NMR e spettroscopia infrarossa, e in Figura **3.7** viene riportatato il suo spettro UV-Visibile e di fluorescenza.

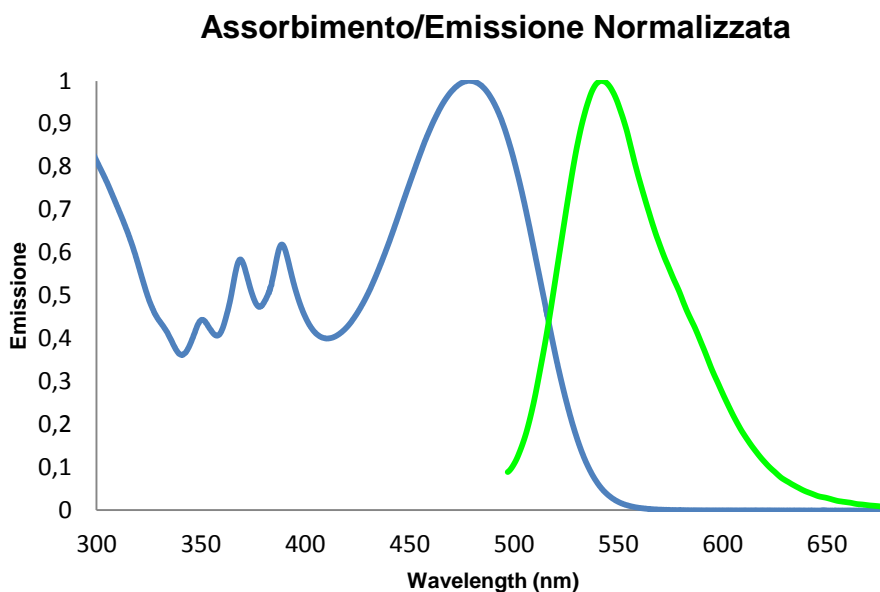
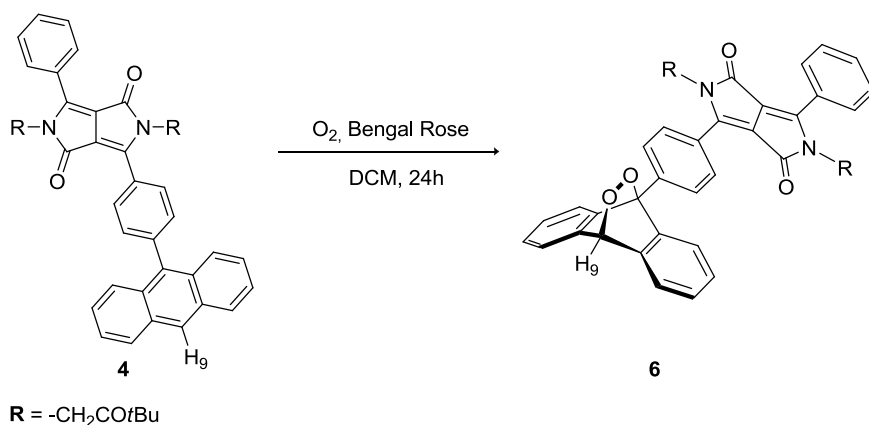


Figura **3.6**: Assorbimento/Fluorescenza di **5**

### 3.3 STUDIO *PROBE* PER $^1\text{O}_2$ IN $\text{H}_2\text{O}$

Per stimare la capacità del prodotto **4** di reagire  $^1\text{O}_2$  si è generato questo reagente secondo procedure note in letteratura,<sup>15</sup> che impiegano il Bengal Rose supportato su polistirene (Sigma-Aldrich 200-400 mesh, ~0.1 mmol/g, resin loading) come sensitizzatore in atmosfera di ossigeno. La scelta di impiegare il sensitizzatore supportato è giustificata da ragioni di praticità, infatti può essere facilmente rimosso dall'ambiente di reazione per mediante filtrazione, oltre a non interferire con gli altri reagenti, essendo di fatto un catalizzatore eterogeneo.

La formazione del prodotto di cicloaddizione **6** (vedi Schema **3.8**), è stata seguita nel tempo mediante spettrometria  $^1\text{H}$  NMR, e la sintesi realizzata in reattore analogo a quello raffigurato in Figura **3.1**.



Schema **3.8**: Fotoossigenazione di **4**

La quantità impiegata nella reazione di foto ossidazione di **4** è stata pari a 50 mg sciolti in 5 mL di DCM. Il supporto del sensitizzatore è stato fatto preventivamente rigonfiare attraverso trattamento con ultrasuoni per 15 minuti in DCM. La sorgente luminosa impiegata nell'esperimento è stata una lampada alogena da 500 W posizionata a 10 cm dal reattore.

L'analisi  $^1\text{H}$  NMR del grezzo reazione, a tempi definiti, mostra la scomparsa del segnale  $\text{H}_9$  a 8.6 ppm del residuo antracenicico di **4** e la contemporanea comparsa di un segnale a 6.0 ppm, caratteristico da letteratura,<sup>18</sup> del segnale  $\text{H}_9$  "bridgehead" di **6**. I risultati dell'andamento della scomparsa del reagente **4** e comparsa di **6** sono riassunti in Figura **3.6**.

<sup>18</sup> Spivey, A. C.; Manas, C. G.; Mann, I., *Chem. Commun.* **2005**, 4426.

Tabella 3.1: Fotoossigenazione di 5

Tempo (ore)	Integ. Ass. 4	Integ. norm. 5	Integ. Ass 6	Integ. norm. 6
0	2079,46	1,00	0,00	0,00
1	1587,16	0,76	139,81	0,26
4	892,24	0,43	535,85	1,00
7	159,63	0,08	492,25	0,92
10	110,48	0,05	528,16	0,99

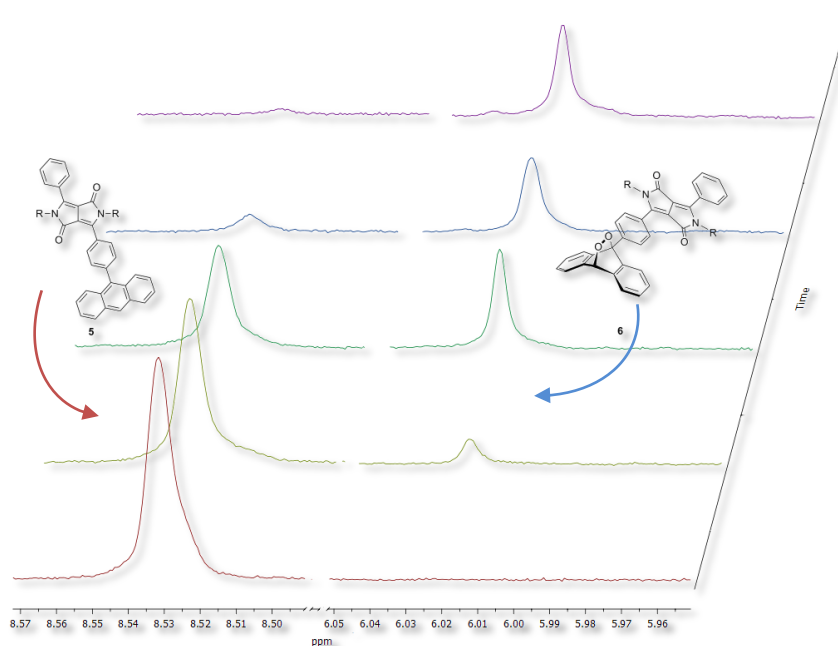
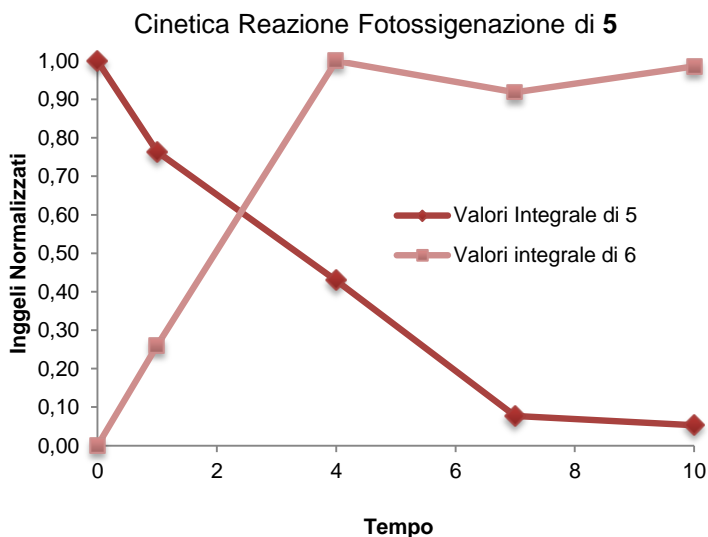


Figura 3.6: Analisi cinetica fotoossigenazione di 4.

Purtroppo la reazione di fotoossigenazione si è dimostrata, nelle condizioni sperimentali da noi verificate poco selettiva nei confronti del **ROS** generato, producendo oltre al cicloaddotto anche sottoprodotti non identificati. Per confermare la formazione di **6** si è cercato di isolarlo in forma pura attraverso TLC preparativa impiegando la miscela 1:9 ACOEt/DCM come eluente.

Purtroppo nelle condizioni sperimentali adottate, si è riuscito ad isolarne solo una minima quantità di purezza sufficiente ad essere analizzata mediante spettrometria NMR bidimensionale NOESY. Questa analisi benché effettuata su un campione non perfettamente puro ci consente di affermare che lo scheletro molecolare di **6**, è consistente con una

struttura endoperossidica, grazie alle interazioni dipolari fra il segnale a 6.0 ppm ( $H_9$  “bridgehead”) e i segnali a 4.4 ppm (caratteristici dei metileni legati al gruppo carbossilico) con i sistemi aromatici mono- e di-sostituti direttamente legati al “core” del **DDP** (Vedi Figura 3.7.). Purtroppo per motivi di purezza e stabilità rendono impossibili altre assegnazioni di segnali attraverso tale tecnica.

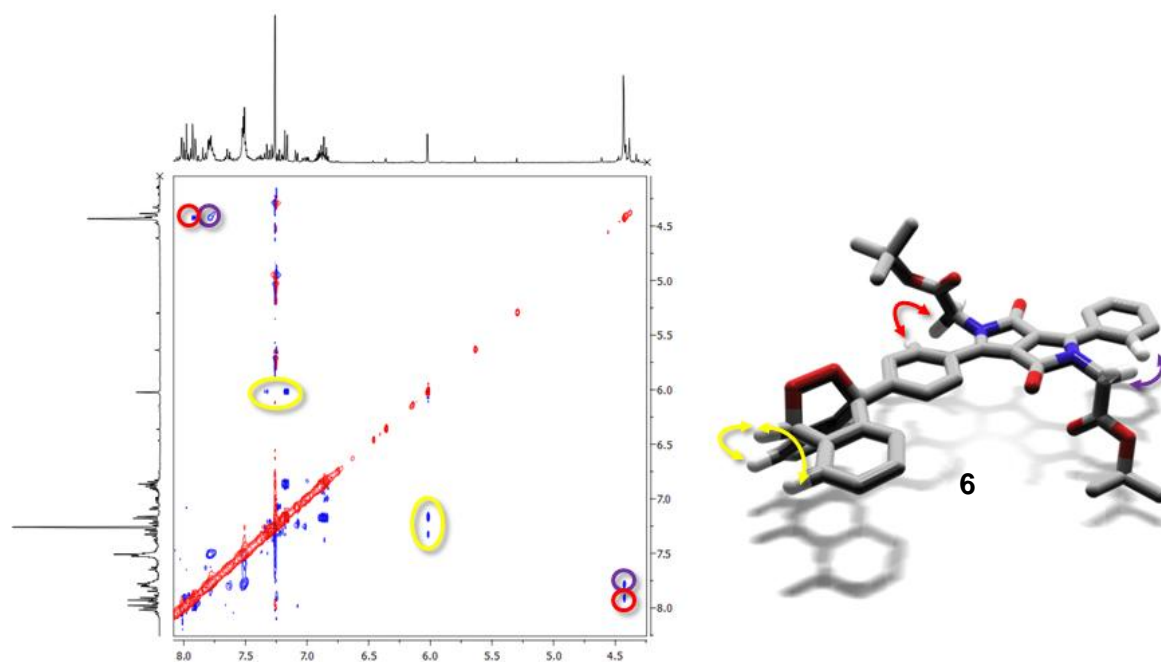
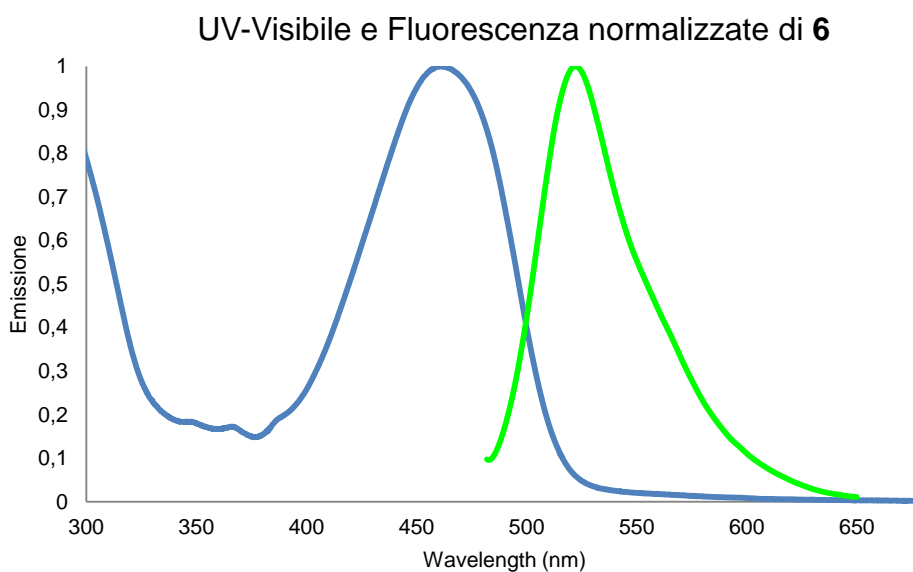


Figura 3.7: Porzione spettro NOESY di **6**. Interazioni dipolari evidenziate in colori differenti.

In Figura 3.8. si riporta anche lo spettro UV-Visibile e di fluorescenza di **6**. Anche in questo caso i risultati prodotti da **6**, non sono particolarmente interessanti, poiché non si osservano né una marcata differenza di cromia nell’emissione di **6** rispetto al reagente di partenza **4** né un aumento di intensità di segnale. Questi risultati non positivi sono probabilmente dovuti alla all’interruzione della coniugazione ad opera dell’endoperossido nel sistema  $\pi$  di **6**. Infatti in genere nei *probes* noti da letteratura la “trappola” antracenica è sempre legata al fluoroforo (vedi Capitolo 1.2.1.) con legami che alterino solo marginalmente la coniugazione del sistema aromatico.



*Figura 3.8: Assorbimento/Fluorescenza di **6***

In questo lavoro di tesi si è anche iniziato uno studio preliminare della capacità di **5** di rilevare la presenza di  $^1\text{O}_2$  in acqua. In questo caso l'ossigeno singoletto è stato prodotto attraverso l'ossidazione a partire da sali di molibdeno e acqua ossigenata descritta nel capitolo introduttivo. La formazione di **6** è stata valutata mediante fluorimetria, nella quale si evidenzia una diminuzione del massimo di emissione corrispondente al reagente **4**, poiché come già descritto in precedenza il prodotto **6** risulta meno fluorescente rispetto a **4**.

Questo risultato dimostra si è creato un *probe* per  $^1\text{O}_2$  che purtroppo produce segnali di tipo ON/OFF, mentre per un impiego pratico è necessario che queste molecole funzionino in modo inverso.

## 4. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

In questo lavoro di tesi si sono raggiunti i seguenti obiettivi:

- Si è sintetizzato lo standard ascaridolo da impiegare come riferimento nelle successive analisi GC
- Si è valutata la possibilità di impiego del sistema  $\alpha$ -terpinene/ascaridolo come probe per valutare la produzione di  $^1\text{O}_2$  generato da pigmenti
- Si è osservata la formazione di  $^1\text{O}_2$  impiegando come pigmento il chinacridone (PV 19) anche se in modesta quantità e solo dopo prolungato irraggiamento
- Si sono sintetizzati i precursori **1** e **2** del **DPPBr**
- Si sono realizzati i *probes* di fluorescenza **4** e **5** attraverso reazione di accoppiamento di Suzuki, solubili rispettivamente in solvente organico e in acqua
- Si è valutate le capacità di sonda di **4** e **5** in reazioni con ossigeno singoletto in ambiente sia organico che acquoso
- Si è isolata una minimima quantità di endoperossido **6**, sufficiente a dimostrare la sua formazione mediante spettrometria NMR bidimensionale omonucleare

Grazie a questo lavoro di tesi sono possibili diversi sviluppi di ricerca futuri:

- La sostituzione della funzionalità  $\text{CH}_2\text{CO}_2t\text{Bu}$  con la protezione *t*-Boc, rimuovibile per via termica, consente di trasformare **4** in un inibitore per  $^1\text{O}_2$ , da impiegare come additivo in formulazioni pittoriche di nuova generazione
- La modifica strutturale di **4** indicata in Figura 4.1 dovrebbe trasformare questa molecola da sonda ON/OFF, a sonda a funzionamento inverso OFF/ON.

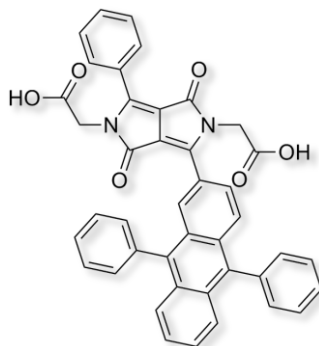


Figura 4.1: Nuovo probe per la determinazione di  $^1\text{O}_2$  a base di **DPP**



## 5. PARTE SPERIMENTALE

### STRUMENTAZIONE, REAGENTI E SOLVENTI

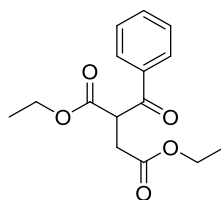
Le reazioni vengono seguite attraverso TLC POLYGRAM® SIL G/UV<sub>254</sub> di 0.25 mm di spessore. Le cromatografie flash sono effettuate utilizzando gel di silice MERK 60, 0.04-0.063 mm / 230-400 mesh, secondo le metodologie e le strumentazioni descritte da Still.<sup>[30]</sup> Gli spettri NMR vengono registrati con uno spettrometro VARIAN UNITY 400 MHz, utilizzando tetrametilsilano come riferimento interno. Gli spettri NMR COSY sono ottenuti con la usuale sequenza di impulsi. Le trasformazioni lungo t1 e t2 sono pesate con le opportune *non-shifted sine functions* e fasate con la tecnica *absolute value*. Gli spettri NMR NOESY vengono ottenuti con la normale sequenza di impulsi e con un *mixing time* di 1.8 secondi. La massima sensibilità si ottiene non applicando alcuna funzione lungo t2 e con una *non shifted gaussian function* lungo t1. Gli spettri eterocorrelati sono ottenuti con la tecnica *reverse detection*. Lo spettro eterocorrelato HMQC permette di rilevare le correlazioni dirette  $^1J_{CH}$ , mentre lo spettro *multiple bond* HMBC fornisce le correlazioni a più lungo raggio  $^nJ_{CH}$  (con in genere  $n = 2, 3$ ). In un tipico esperimento sono state effettuate 256 misure lungo t1 con il metodo di acquisizione *phase sensitive*, con 16 (HMQC) o 32 (HMBC) scansioni per ogni valore di t1. Il ritardo per il filtro BIRD è tarato su un valore medio  $^1J_{CH} = 140$  Hz, mentre il ritardo per il rilevamento delle correlazioni *multiple bond* è basato su  $^nJ_{CH} = 5$  Hz. La trasformazione lungo t2 è effettuata su FID pesati da una funzione gaussiana, la trasformazione lungo t1 è preceduta dall'applicazione di una funzione gaussiana e da *zero filling*. Gli spettri HMBC sono in genere deturpati da elevato rumore lungo t1. Il rumore è rimosso mediante l'applicazione a ogni traccia (punti lungo la direzione orizzontale nello spettro) di una maschera formata dai valori massimi e minimi delle tracce raccolte in un intervallo privo di segnali. I valori positivi (negativi) di ogni traccia sono sottratti ai valori positivi (negativi) della maschera, o azzerati se nell'operazione il segno del valore cambia. Gli spettri di massa vengono acquisiti con un FINNIGAN – TRACE MS 2000 SERIES CC, utilizzando colonne capillari RTX®-5MS (5% difenile / 95% dimetile polisilossano) di 15 m di lunghezza e 0.25 mm di diametro. Gli spettri UV allo stato solido sono registrati con un PERKIN ELMER LAMBDA 35 UV/VIS SPECTROMETER, mentre quelli allo stato liquido con un PERKIN ELMER LAMBDA 40 UV/VIS SPECTROMETER. Gli spettri in fluorescenza vengono registrati con un PERKIN ELMER LS55 FLUORESCENCE SPECTROMETER. Gli spettri IR sono acquisiti con un PERKIN ELMER SPECTRUM ONE FT-IR SPECTROMETER.

Tutti i reagenti e i solventi commerciali sono impiegati senza ulteriori purificazioni. I solventi definiti “anidri” vengono purificati secondo procedure riportate in letteratura.<sup>19</sup>

---

<sup>19</sup> Perrin, D.D.; Armarego, W.L.F. “Purification of Laboratory Chemicals”, ed. Pergamon Press, Oxford, **1988**

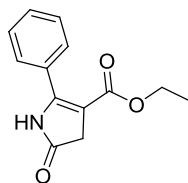
### Dietil 2-benzoilsuccinato (1)



In un pallone a due colli dotato di agitazione magnetica, refrigerante e bagno ad olio s'introducono etil-benzoilacetato (4.6 mL, 26.56 mmol), acetone (12 mL), dimetossietano (8.8 mL), estere bromoacetico (3.2 mL) e carbonato di potassio (4.0 g, 29.22 mmol). Si porta la miscela a riflusso (100 °C) e si lascia procedere sotto agitazione per 22h. Dopo aver fatto raffreddare la miscela fino a temperatura ambiente, si riprende con esano, si sonica, si filtra su imbuto Gooch, quindi si rimuove il solvente a bassa pressione. Si ottiene un olio marroncino (7.06 g, resa 95%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz),  $\delta$  (ppm): 8.01 (2H, m); 7.59 (1H, m); 7.48 (1H, m); 4.85 (1H, t,  $J = 4$  Hz); 4.12 (4H, m); 3.05 (2H, m); 1.22 (3H, t,  $J = 4$  Hz); 1.15 (3H, t,  $J = 4$  Hz).

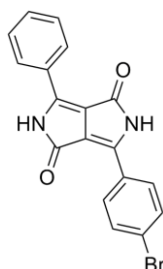
### Etil 5-osso-2-fenil-4,5-diidro-1H-pirrolo-3-carbossilato (2)



In un pallone ad un collo dotato di agitazione magnetica, bagno ad olio e refrigerante s'introducono dietil 2-benzoilsuccinato (7.06 g, 25.37 mmol), acido acetico (21 mL) e acetato d'ammonio (19.58 g, 254 mmol), quindi si porta la miscela a riflusso (175 °C) sotto agitazione. Dopo 2h 30' la miscela viene versata in un becher contenente ghiaccio tritato, quindi si filtra il precipitato su imbuto Büchner. Il filtrato, disciolto in DCM, viene lavato con  $\text{H}_2\text{O}$ . Le fasi organiche riunite vengono anidrificate con  $\text{MgSO}_4$ , quindi si rimuove il solvente a pressione ridotta. Si ottiene un solido marrone (3.94 g, resa 67%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz),  $\delta$  (ppm): 7.89 (1H, s, broad), 7.62-7.57 (2H, m), 7.49-7.42 (3H, m), 4.12 (2H, q,  $J = 7.1$  Hz), 3.51 (2H, s), 1.19 (3H, t,  $J = 7.1$  Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz),  $\delta$  (ppm): 163.3, 151.4, 130.8, 129.5, 128.8, 128.4, 104.6, 60.2, 38.9, 14.3. MS (EI, 70 eV)  $m/z$ : 231 ( $\text{M}^+$ , 39); 202 (20); 158 (100%).

### 3-(4-bromfenil)-6-fenilpirrolo[3,4-c]pirrolo-1,4(2H,5H)-dione (DDPBr)

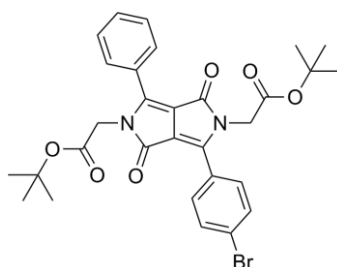


In un pallone a due colli dotato di agitazione magnetica, flusso d'Ar, bagno ad olio e refrigerante s'introduce *t*-AmOH (56.8 mL), sodio metallico (0.59 g, 25.95 mmol) e FeCl<sub>3</sub> in quantità catalitica, quindi si porta la miscela ad 80 °C fino a completa dissoluzione del sodio. Dopo aver portato la T a 60 °C s'introduce 4-bromo-benzonitrile (2.05 g, 11.24 mmol), quindi si scalda nuovamente fino a 95°C e s'introduce etossifenilpirrolocarbossilato (2.0 g, 8.65 mmol). Dopo 14h la miscela viene raffreddata fino a 60°C, ed il contenuto viene versato in un becher con acqua (300 mL) e HCl 1M (10 mL) sotto agitazione costante. Il solido rosso risultante viene filtrato su imbuto Büchner, e il precipitato lavato accuratamente con acqua, isopropanolo ed etere. Dopo essiccamento a pressione ridotta, si ottiene un solido rosso scuro (2.44 g, resa 76%).

<sup>1</sup>H NMR ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, 400 MHz), δ (ppm): 11.38 (2H, s), 8.55-8.44 (2H, m), 8.40 (2H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.81 (2H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.67-7.52 (3H, m).

IR (KBr), cm<sup>-1</sup>: 3450 (m, b), 3137 (w), 1641 (vs), 1602 (s), 1560 (m), 1490 (w), 1454 (m), 1432 (w), 1384 (w), 1323 (w), 1314 (w), 1194 (w), 1141 (w), 1071 (w), 1006 (w), 830 (w), 813 (m), 699 (w), 682 (w), 660 (w), 626 (w), 455 (w). UV-Vis (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), λ<sub>max</sub> (nm): 502, 547.

### Terz-butil 2,2'-(3-(4-bromofenil)-1,4-diosso-6-fenilpirrolo[3,4-c]pirrolo-2,5(1H,4H)-diil)diacetato (3)



In un pallone a due colli dotato di agitatore magnetico, refrigerante, flusso d'Ar e anidrificato vengono introdotti **DPPBr** (500 mg, 1,36 mmol), NaH (60% in olio minerale, 0,218 mg, 5,45 mmol) e THF anidro (50 mL). Dopo 24h si aggiunge *t*-butil-bromoacetato (0,80 mL, 5,45 mmol), la soluzione viene lasciata reagire per altre 24 h e quindi estratta con DCM e lavata più volte con acqua, le fasi organiche riunite seccate su MgSO<sub>4</sub> e il sovente

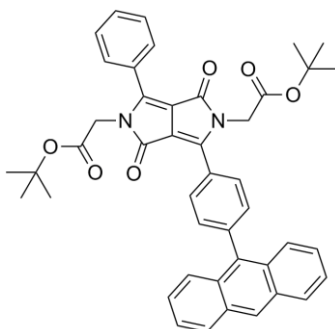
evaporato a pressione ridotta. Il solido arancione così ottenuto non necessita di ulteriori purificazioni (resa: 92%)

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz),  $\delta$  (ppm): 7.78-7.75 (2H, m); 7.76 (4H, m); 7.52-7.50 (3H, m), 4.41 (2H, s); 4.38 (2H, s); 1.38 (9H, s), 1.37 (9H, s).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz),  $\delta$  (ppm): 167.4, 167.3, 162.2, 162.1, 149.1, 148.8, 146.9, 137.5, 132.3, 131.5, 130.1, 129.0, 128.7, 127.7, 126.7, 125.8, 109.9, 109.5, 82.8, 82.7, 44.2, 44.1, 27.87, 27.8.

IR (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3439 (vs, b), 2969 (m), 2929 (m), 2677 (vw), 1742 (vs), 1683 (vs), 1608 (s), 1558 (w), 1490 (m), 1448 (w), 1415 (m), 1381 (s), 1230 (vs), 1152 (vs), 1127 (vs), 1085 (m), 1068 (m), 1006 (w), 981 (w), 945 (w), 830 (w), 786 (w), 746 (m), 730 (m), 685 (w), 648 (w).

UV-Vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ),  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 268, 295, 460. Fluorescence ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ),  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 521.

**Terz-butil 2,2'-(3-(4-(antracen-9-il)fenil)-1,4-diosso-6-fenilpirrolo[3,4-c]pirrolo-2,5(1H,4H)-diil)diacetato (4)**

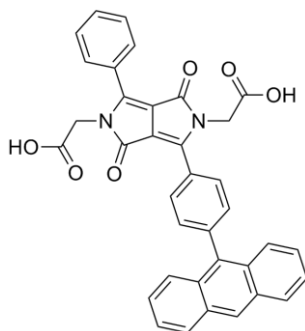


In un pallone a due colli dotato di agitazione magnetica, viene introdotto toluene (90 mL), carbonato di potassio (5,533 g, 40,03 mmol), **3** (400 mg, 0,67 mmol) e infine 9-antracene acido boronico (0,224 g, 1,01 mmol). La miscela viene privata dell'ossigeno per trattamento con ultrasuoni e gorgogliamento di Argon e per 15', infine si aggiunge  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  in quantità catalitica e la temperatura viene portata a 90°C. Dopo 4 giorni si rimuove il solvente a bassa pressione; si diluisce con ACOEt e si lava ripetutamente con acqua. Le fasi organiche riunite sono seccate su  $\text{MgSO}_4$  e il solvente rimosso a pressione ridotta. Il grezzo viene purificato mediante FC (eluente ACOEt/cicloesano 2:8). Si ottiene **4** come solido color rosso-arancio (resa: 82%)

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz),  $\delta$  (ppm): 8.54 (1H, s); 8.06 (4H, m); 7.84 (2H, m); 7.67-7.55 (4H, m); 7.53 (3H, m); 7.49 (2H, M); 7.40 (2H, m); 4.68 (2H, s); 4.48 (2H, s), 1.44 (9H, s); 1.41 (9H, s).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz),  $\delta$  (ppm): 167.5, 167.4, 162.4, 162.3, 147.3, 145.9, 145.0, 142.4, 132.0, 131.4, 131.3, 129.9, 129.0, 128.8, 128.7, 128.5, 127.9, 127.2, 126.6, 126.4, 125.7, 125.2, 82.7, 82.6, 44.3, 44.2, 27.9, 27.8.

IR (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3450 (w, b), 3047 (vw), 2974 (w), 2929 (vw), 1739 (s), 1681 (vs), 1616 (m), 1507 (vw), 1490 (vw), 1446 (w), 1409 (w), 1381 (m), 1367 (m), 1295 (w), 1225 (m), 1152 (vs), 1124 (m), 1082 (w), 981 (w), 934 (vw), 844 (w), 788 (w), 735 (w), 693 (vw). UV-Vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ),  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 348, 368, 384, 464. Fluorescence ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ),  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 523.

**Acido 2,2'-(3-(4-(antracen-9-il)fenil)-1,4-diosso-6-fenilpirrolo[3,4-c]pirrolo-2,5(1H,4H)-diil)diacetico (5)**



In un pallone ad un collo dotato di agitazione magnetica vengono introdotti **4** (0,198 g, 0,29 mmol), DCM (15 mL) e TFA (1,50 mL, 13,16 mmol). Dopo 24h si allontana il solvente a pressione ridotta fino quasi ad essiccamento, si aggiungono quattro aliquote successive di DCM, e si ripete per ogni aggiunta la parziale evaporazione. Seguendo la stessa procedura il grezzo viene trattato con  $\text{Et}_2\text{O}$ . Si ottiene **5** come un solido rosso (resa: 92%).

$^1\text{H}$  NMR ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ , 400 MHz),  $\delta$  (ppm): 8.75 (1H, s); 8.20 (2H, d,  $J = 8$  Hz); 8.07 (2H, d,  $J = 8$  Hz); 7.85 (2H, m); 7.68-7.47 (11H, m); 4.64 (2H, s); 4.52 (2H, s).  $^{13}\text{C}$  NMR ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ , 100 MHz),  $\delta$  (ppm): 170.0, 169.9, 161.5, 161.4, 147.9, 147.7, 141.5, 135.1, 134.9, 134.6, 131.6, 130.9, 129.3, 129.2, 128.8, 128.6, 128.0, 127.3, 127.1, 126.6, 126.2, 125.8, 125.5, 43.5, 43.2.

IR (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3434 (s, b), 3047 (w), 2924 (w), 1723 (s), 1667 (vs), 1619 (s), 1507 (vw), 1490 (vw), 1446 (w), 1409 (m), 1381 (s), 1205 (m), 1132 (m), 1088 (w), 1015 (vw), 981 (vw), 934 (vw), 886 (vw), 788 (w), 732 (w). UV-Vis ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ),  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 350, 369, 389, 479. Fluorescence ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ),  $\lambda_{\text{max}}$  (nm): 542.

## SPETTRI PRINCIPALI



## C a r a t t e r i z z a z i o n e 1 H N M R

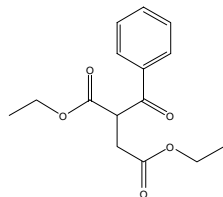
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

Dietil 2-benzoilsuccinato

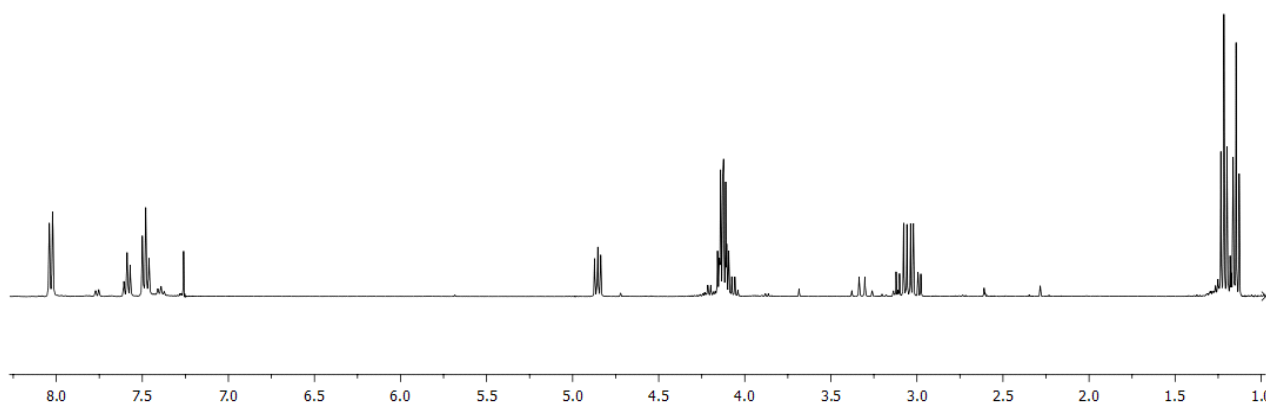
1.



**MW** C15H18O5  
**Quantità** 20 gr  
**Prodotto** Olio giallo  
**Codice** MT-1  
**Commento** Prodotto: Già Noto

**NUCLEO** 1H NMR  
**CAMPO** 400 MHz  
**SOLVENTE** CDCl3

lunedì 26 marzo 2012

Descrizione Spettro

	<b>Chemical Shift</b>	<b>Costante di Accoppiamento</b>	<b>Integrazione</b>	<b>Molteplicità</b>	<b>Assegnazione</b>	<b>Tecnica</b>
1	8,01 ppm		2H	m		
2	7,59 ppm		1H	m		
3	7,48 ppm		1H	m		
4	4,85 ppm	J1= 4 Hz	1H	t		
5	4,12 ppm		4H	m		
6	1,22 ppm	J1= 4 Hz	3H	t		
7	1,15 ppm	J1= 4 Hz	3H	t		



Caratterizzazione NMR <sup>13</sup>C NMR

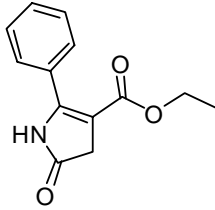
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

Etil 5-osso-2-fenil-4,5-diidro-1H-pirrolo-3-carbossilato

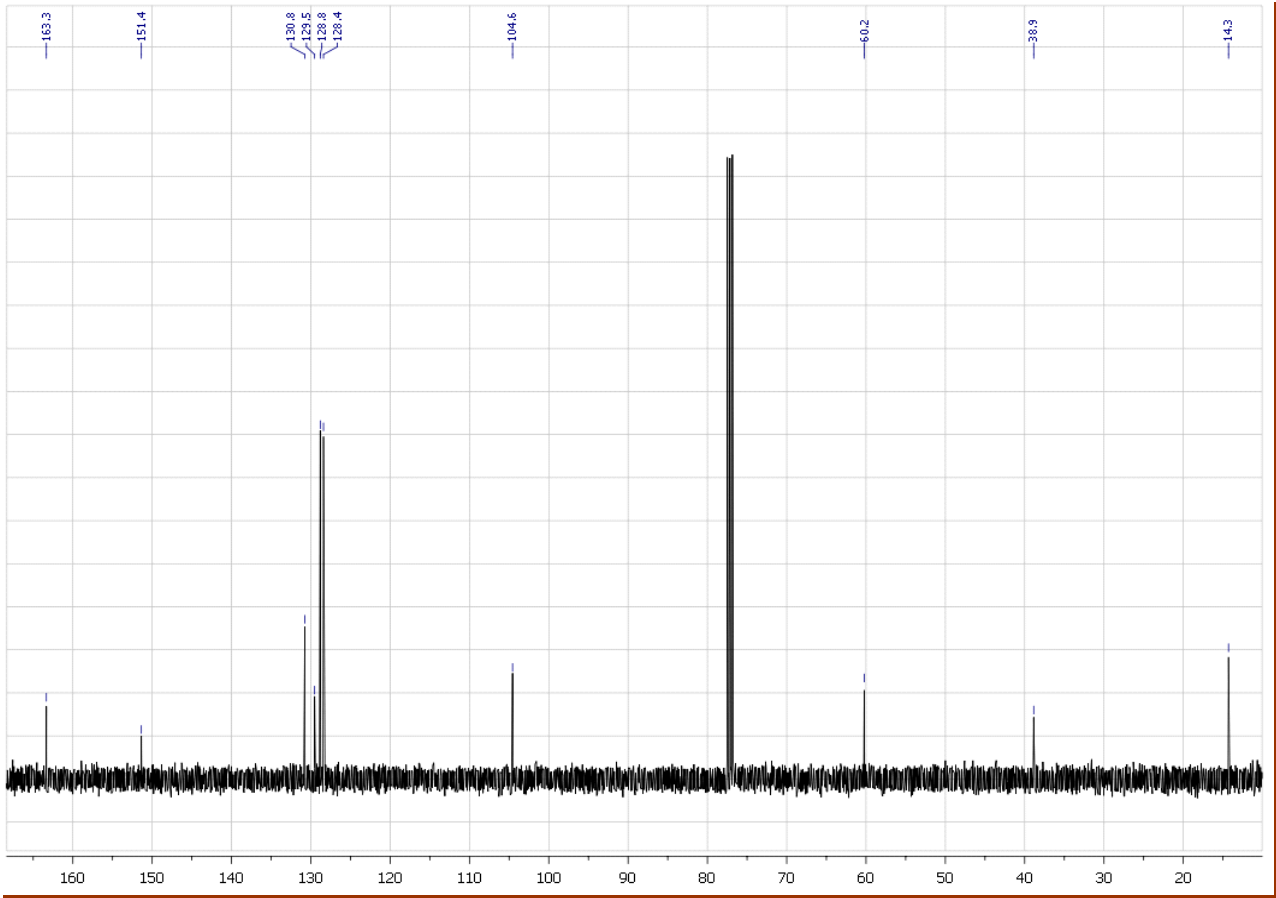
2.



**MW** C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** solido marrone  
**Codice** MT-2  
**Commento** Prodotto: Già Noto

**NUCLEO** <sup>13</sup>C NMR  
**CAMPO** 100 MHz  
**SOLVENTE** CDCl<sub>3</sub>

martedì 6 marzo 2012



## Descrizione Spettro

	Chemical Shift	Costante di Accoppiamento	Integrazione	Molteplicità	Assegnazione	Tecnica
1	163.3 ppm					
2	151.4 ppm					
3	130.8 ppm					
4	129.5 ppm					
5	128.8 ppm					
6	128.4 ppm					
7	104.6 ppm					
8	60.2 ppm					
9	38.9 ppm					
10	14.3 ppm					



## C a r a t t e r i z z a z i o n e 1 H N M R

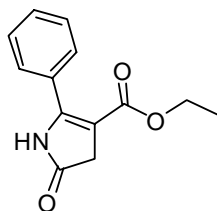
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

Etil 5-osso-2-fenil-4,5-diidro-1H-pirrolo-3-carbossilato

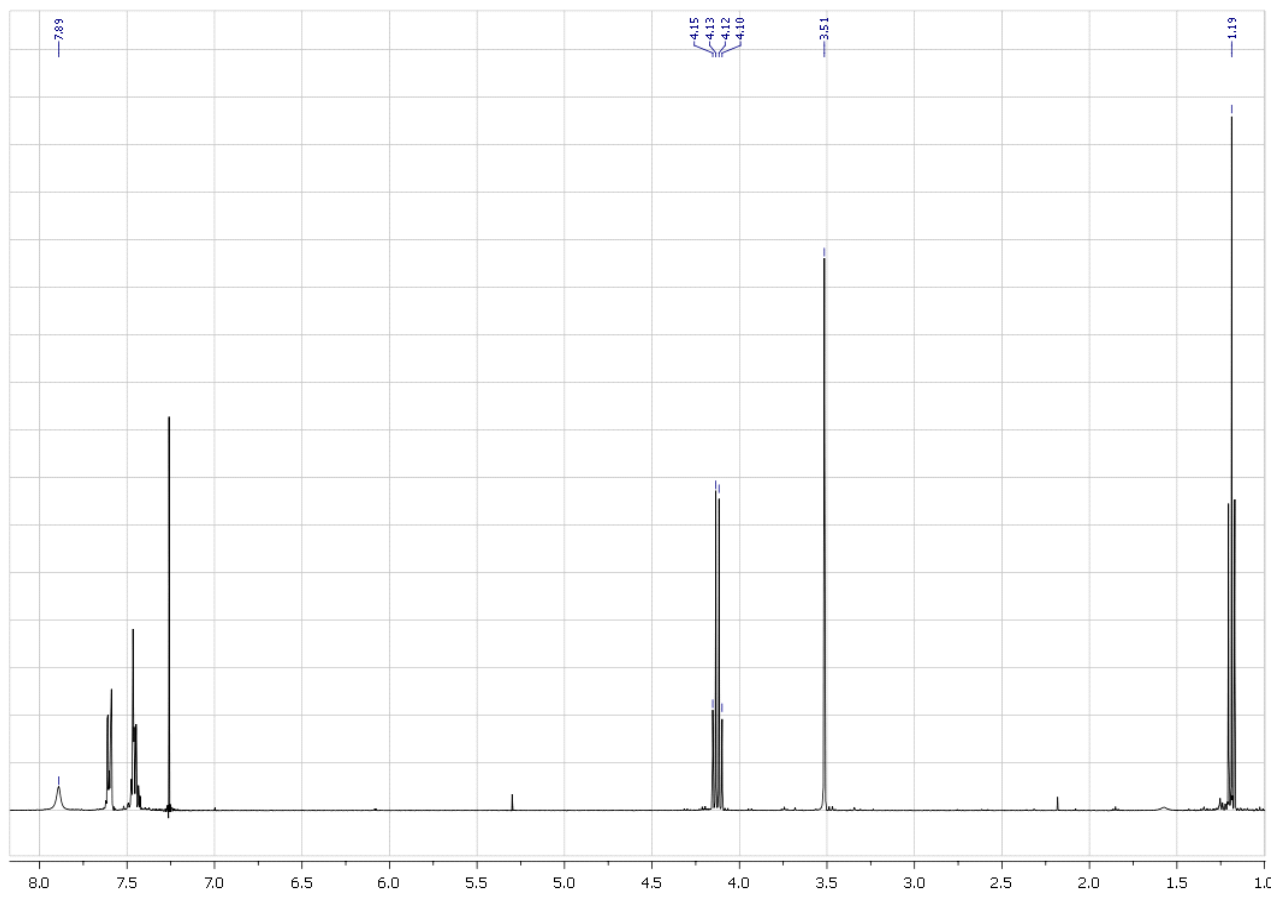
2.



**MW** C13H13NO3  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** solido marrone  
**Codice** MT-2  
**Commento** Prodotto: Già Noto

**NUCLEO** 1H NMR  
**CAMPO** 400 MHz  
**SOLVENTE** CDCl3

martedì 6 marzo 2012



## Descrizione Spettro

	Chemical Shift	Costante di Accoppiamento	Integrazione	Molteplicità	Assegnazione	Tecnica
1	7.89 ppm		1H	s		
2	7.62-7.57 ppm		2H	m		
3	7.49-7.42 ppm		3H	m		
4	4.12 ppm	J1 = 7.1 Hz	2H	q		
5	3.51 ppm		2H	s		
6	1.19 ppm	J1 = 7.1 Hz	3H	t		



## C a r a t t e r i z z a z i o n e 1 H N M R

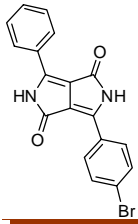
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

3-(4-bromfenil)-6-fenilpirrolo[3,4-c]pirrolo-1,4(2H,5H)-dione (DDPBr)

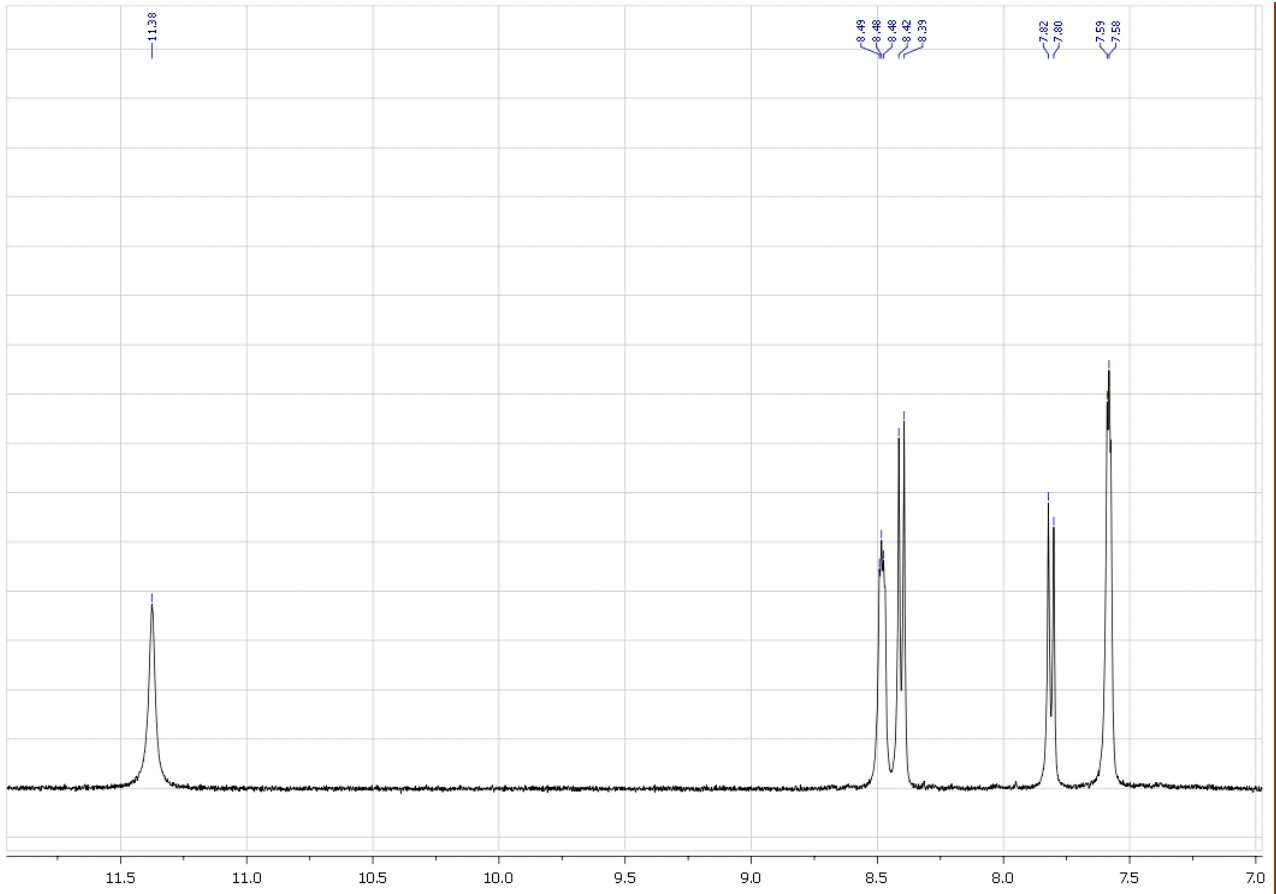
3.



**MW** C<sub>18</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** Solido Rosso  
**Codice** MT-3  
**Commento** Prodotto: Già Noto

**NUCLEO** 1H NMR  
**CAMPO** MHz MHz  
**SOLVENTE** N.p.

martedì 6 marzo 2012



## Descrizione Spettro

	Chemical Shift	Costante di Accoppiamento	Integrazione	Molteplicità	Assegnazione	Tecnica
1	11.38 ppm		2H	s		
2	8.55-8.44 ppm		2H	m		
3	8.40 ppm	J1 = 8.5 Hz	2H	d		
4	7.81 ppm	J1 = 8.5 Hz	2H	d		
5	7.67-7.52 ppm		3H	m		



## S p e t t r o s c o p i a I n f r a r o s s a

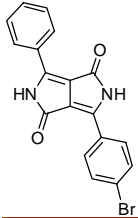
N° Pag.

Prodotto

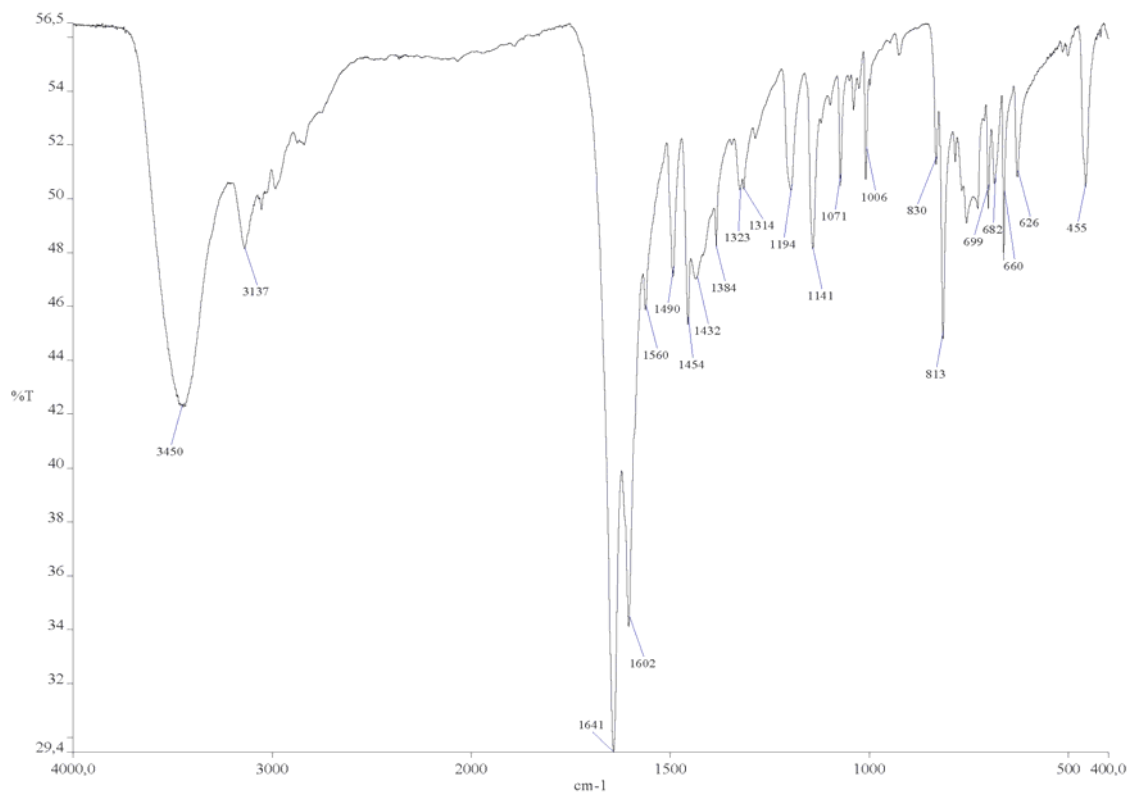
Dettagli Sperimentali

3-(4-bromfenil)-6-fenilpirrolo[3,4-c]pirrolo-1,4(2H,5H)-dione (DDPBr)

3.

**MW** C18H11BrN2O2**METODO** KBr**Quantità** 20 mg**SCANSIONE** 4000 Cm-1 - 400 Cm-1**Prodotto** Solido Rosso**Codice** MT-3**Commento** Prodotto: Già Noto

martedì 6 marzo 2012



## Descrizione Spettro

	Regione	Forma Segnale	Descrizione
1	3450 cm-1	m,b	
2	3137 cm-1	w	
3	1641 cm-1	vs	
4	1602 cm-1	s	
5	1560 cm-1	m	
6	1490 cm-1	w	
7	1454 cm-1	m	
8	1432 cm-1	w	
9	1384 cm-1	w	
10	1323 cm-1	w	

Dr. Maria Greca Tinè

<b>11</b>	<i>1314 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>12</b>	<i>1194 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>13</b>	<i>1141 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>14</b>	<i>1071 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>15</b>	<i>1006 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>16</b>	<i>830 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>17</b>	<i>813 cm-1</i>	<i>m</i>
<b>18</b>	<i>699 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>19</b>	<i>682 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>20</b>	<i>660 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>21</b>	<i>626 cm-1</i>	<i>w</i>
<b>22</b>	<i>455 cm-1</i>	<i>w</i>

---



## Caratterizzazione NMR 13C NMR

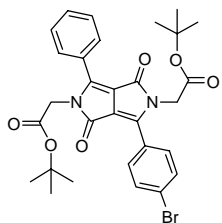
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

## Terz-ButilDiacetatoDPP

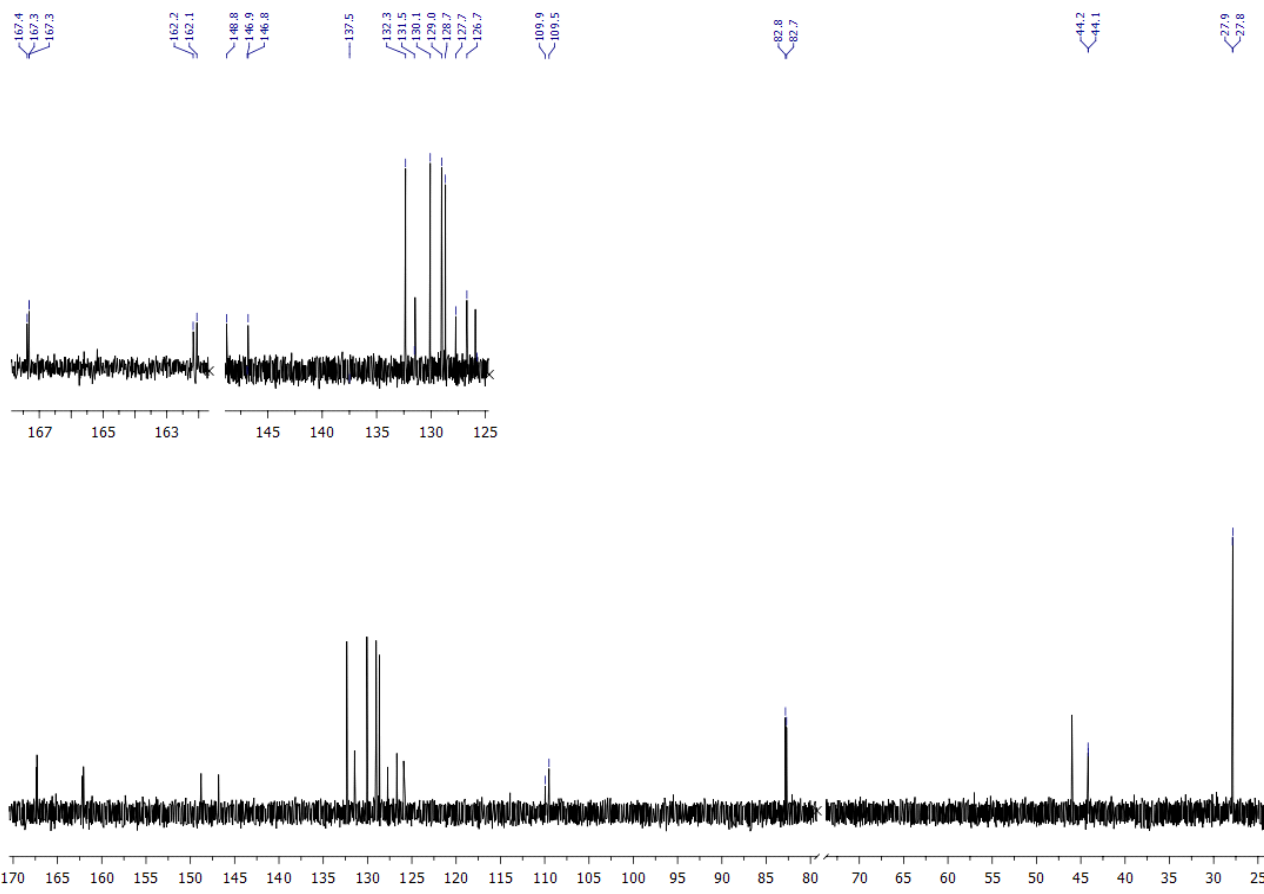
4.



**MW** C30H31BrN2O6  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** Solido Giallo  
**Codice** MT-4  
**Commento** Prodotto: Già Noto

**NUCLEO** 13C NMR  
**CAMPO** 100 MHz  
**SOLVENTE** CDCl3

lunedì 26 marzo 2012



## Descrizione Spettro

	Chemical Shift	Costante di Accoppiamento	Integrazione	Molteplicità	Assegnazione	Tecnica
1	167,4 ppm					
2	167,3 ppm					
3	162,2 ppm					
4	162,1 ppm					
5	149,1 ppm					
6	148,8 ppm					
7	146,9 ppm					
8	146,8 ppm					
9	137,5 ppm					
10	132,3 ppm					
11	131,5 ppm					
12	130,1 ppm					
13	129,0 ppm					
14	128,7 ppm					
15	127,7 ppm					
16	126,7 ppm					
17	109,9 ppm					
18	109,5 ppm					



**19** 82,8 ppm

**20** 82,7 ppm

**21** 44,2 ppm

**22** 44,1 ppm

**23** 27,9 ppm

**24** 27,8 ppm

---



## Caratterizzazione NMR 1H NMR

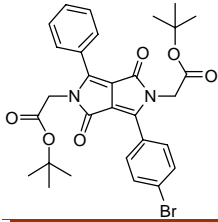
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

## Terz-ButilDiacetatoDPP

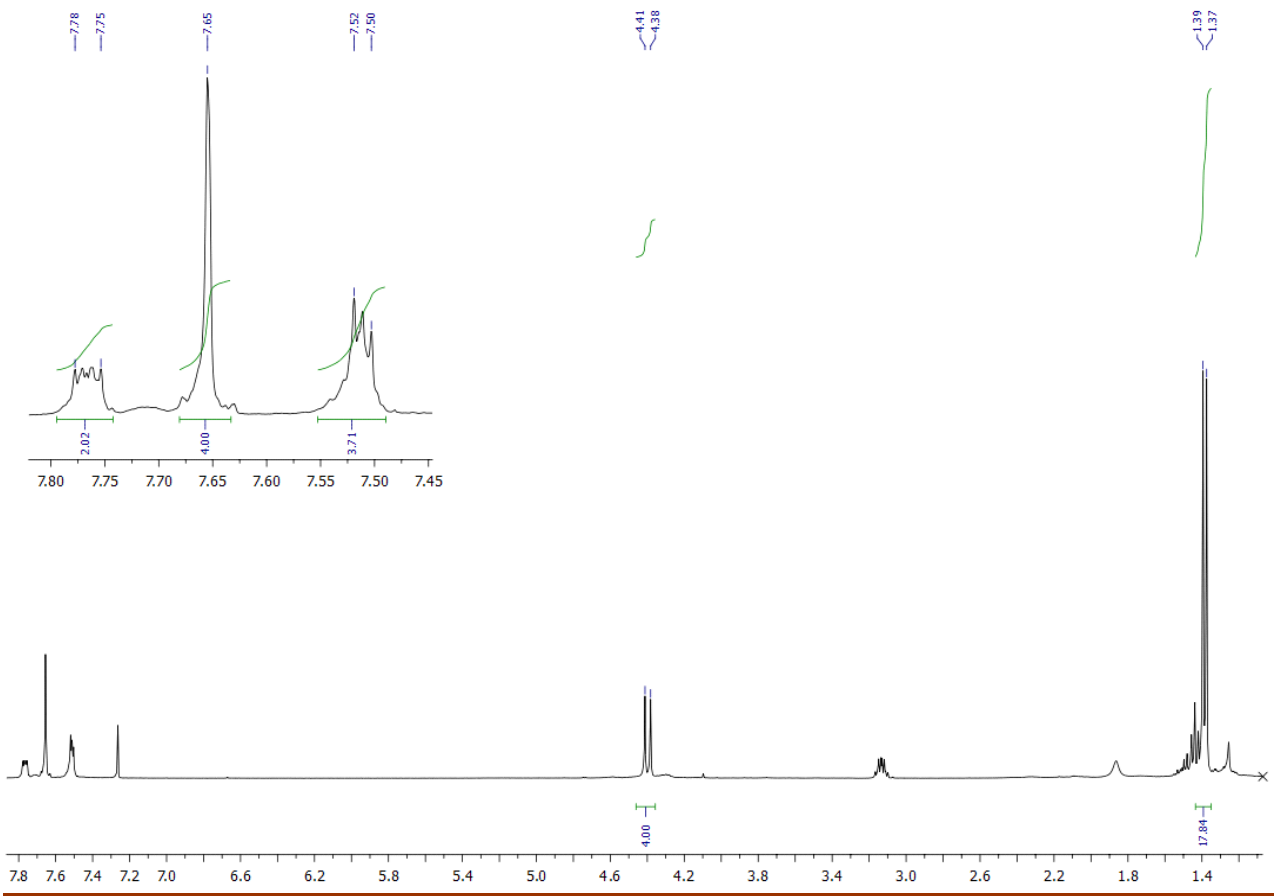
4.



**MW** C30H31BrN2O6  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** Solido Giallo  
**Codice** MT-4  
**Commento** Prodotto: Già Noto

**NUCLEO** 1H NMR  
**CAMPO** 400 MHz  
**SOLVENTE** CDCl3

lunedì 26 marzo 2012



## Descrizione Spettro

	Chemical Shift	Costante di Accoppiamento	Integrazione	Molteplicità	Assegnazione	Tecnica
1	7,78-7,75 ppm		2H	m		
2	7,76 ppm		4H	s		
3	7,52-7,50 ppm		3H	m		
4	4,41 ppm		2H	s		
5	4,38 ppm		2H	s		
6	1,38 ppm		9H	s		
7	1,37 ppm		9H	s		





## S p e t t r o s c o p i a I n f r a r o s s a

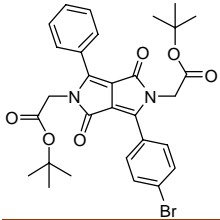
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

## Terz-ButilDiacetatoDPP

4.



MW C30H31BrN2O6

Quantità 20 mg

Prodotto Solido Giallo

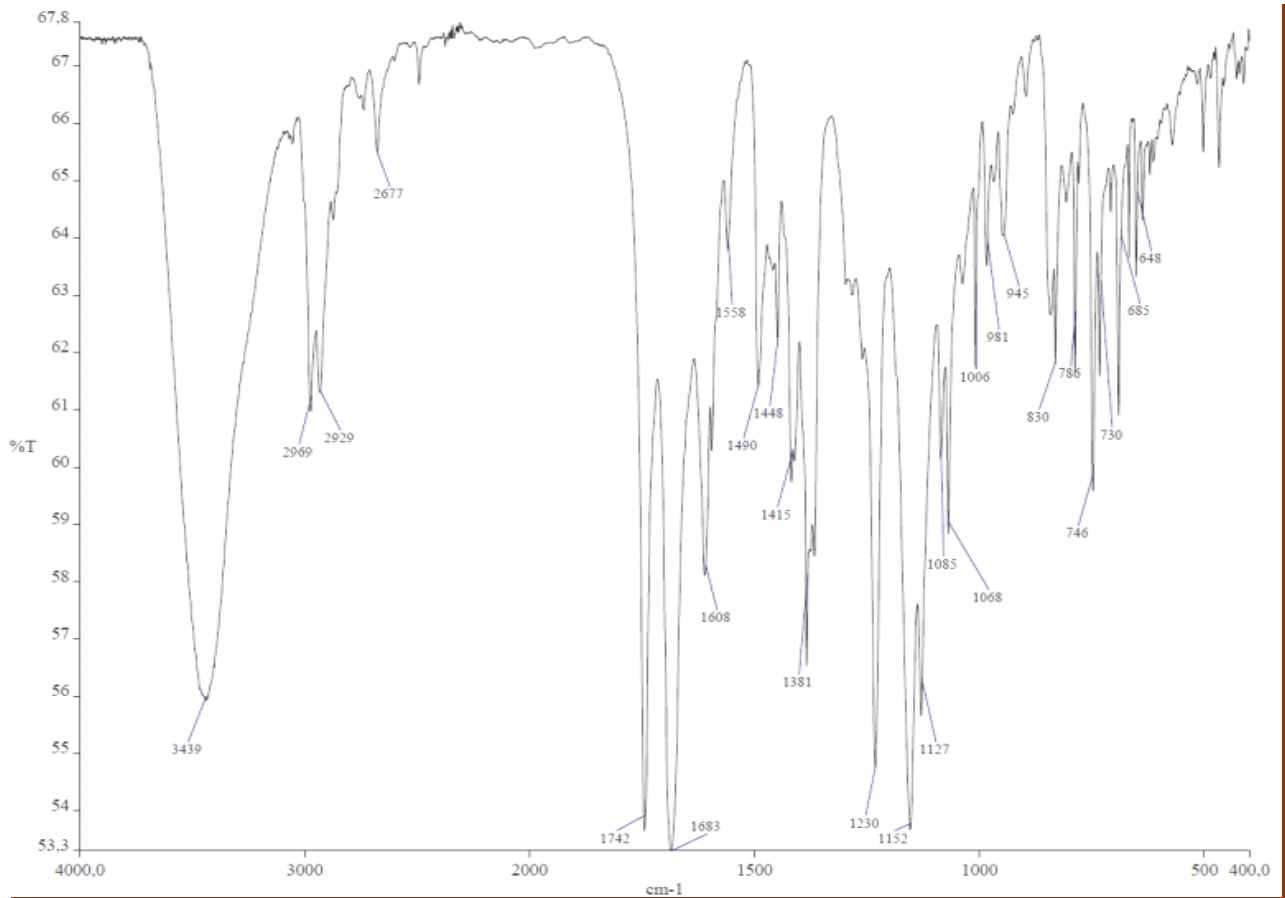
Codice MT-4

Commento Prodotto: Già Noto

METODO KBr

SCANSIONE 4000 Cm-1 - 400 Cm-1

lunedì 26 marzo 2012



## Descrizione Spettro

	Regione	Forma Segnale	Descrizione
1	3439 cm-1	vs,b	
2	2969 cm-1	m	
3	2929 cm-1	m	
4	2677 cm-1	v,w	
5	1742 cm-1	vs	
6	1683 cm-1	vs	
7	1608 cm-1	s	
8	1608 cm-1	s	
9	1558 cm-1	w	
10	1490 cm-1	m	

Dr. Maria Greca Tinè

<b>11</b>	1448 cm-1	w
<b>12</b>	1415 cm-1	m
<b>13</b>	1381 cm-1	s
<b>14</b>	1230 cm-1	vs
<b>15</b>	1152 cm-1	vs
<b>16</b>	1127 cm-1	vs
<b>17</b>	1085 cm-1	m
<b>18</b>	1068 cm-1	m
<b>19</b>	1006 cm-1	w
<b>20</b>	981 cm-1	w
<b>21</b>	945 cm-1	w
<b>22</b>	830 cm-1	w
<b>23</b>	786 cm-1	w
<b>24</b>	746 cm-1	m
<b>25</b>	730 cm-1	m
<b>26</b>	685 cm-1	w
<b>27</b>	648 cm-1	w

---

Caratterizzazione NMR <sup>13</sup>C NMR

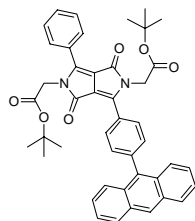
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

Terz-ButilDiacetatoAntraceneDPP

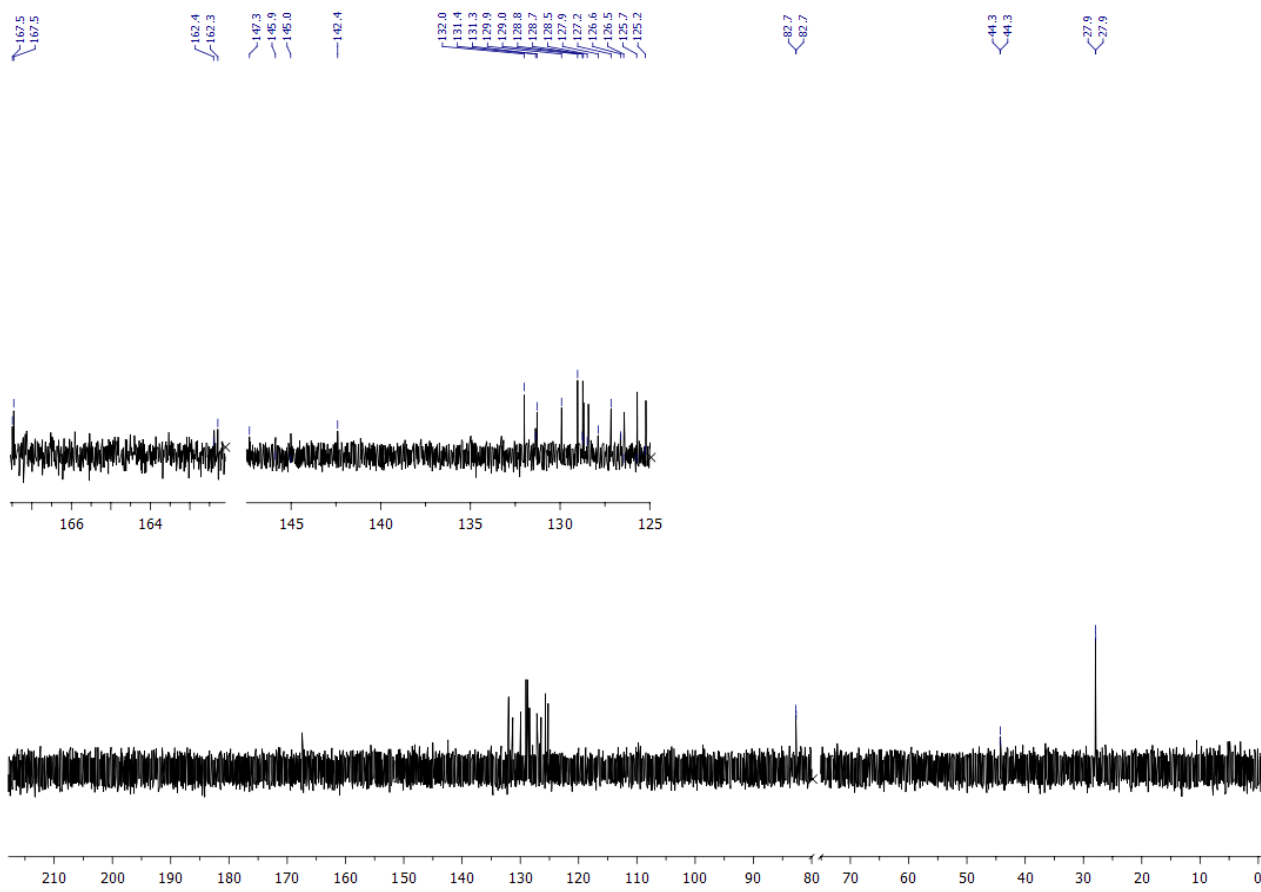
5.



**MW** C44H40N2O6  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** Solido Giallo  
**Codice** MT-5  
**Commento** Prodotto: Nuovo

**NUCLEO** <sup>13</sup>C NMR  
**CAMPO** 100 MHz  
**SOLVENTE** CDCl<sub>3</sub>

mercoledì 30 maggio 2012



## Descrizione Spettro

	Chemical Shift	Costante di Accoppiamento	Integrazione	Molteplicità	Assegnazione	Tecnica
1	167,5 ppm					
2	167,4 ppm					
3	162,4 ppm					
4	162,3 ppm					
5	147,3 ppm					
6	145,9 ppm					
7	145,0 ppm					
8	145,0 ppm					
9	142,4 ppm					
10	132,0 ppm					
11	131,4 ppm					
12	131,3 ppm					
13	129,9 ppm					
14	129,0 ppm					
15	128,8 ppm					
16	128,7 ppm					
17	128,5 ppm					
18	127,9 ppm					



- 19** 127,2 ppm
- 20** 126,6 ppm
- 21** 126,4 ppm
- 22** 125,7 ppm
- 23** 125,2 ppm
- 24** 82,7 ppm
- 25** 82,6 ppm
- 26** 44,3 ppm
- 27** 44,2 ppm
- 28** 27,9 ppm
- 29** 27,8 ppm



## Caratterizzazione NMR 1H NMR

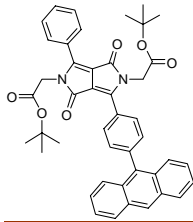
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

## Terz-ButilDiacetatoAntraceneDPP

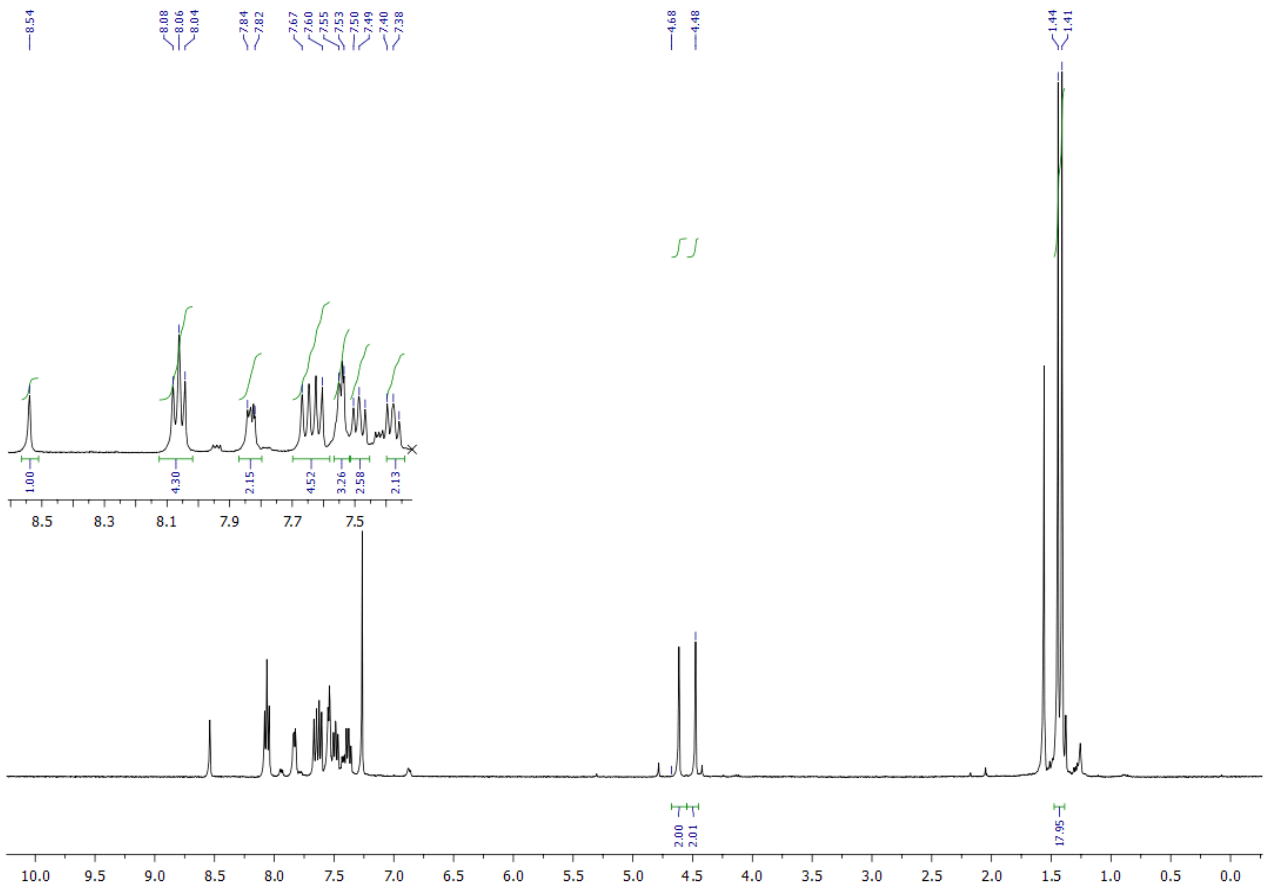
5.



**MW** C44H40N2O6  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** Solido Giallo  
**Codice** MT-5  
**Commento** Prodotto: Nuovo

**NUCLEO** 1H NMR  
**CAMPO** 400 MHz  
**SOLVENTE** CDCl3

mercoledì 30 maggio 2012



## Descrizione Spettro

	Chemical Shift	Costante di Accoppiamento	Integrazione	Molteplicità	Assegnazione	Tecnica
1	8,54 ppm		1H	s	s	
2	8,06 ppm		4H	m	m	
3	7,84 ppm		2H	m	m	
4	7,67-7,55 ppm		4H	m	m	
5	7,53 ppm		3H	m	m	
6	7,49 ppm		2H	m	m	
7	7,40 ppm		2H	m	m	
8	4,68 ppm		2H	s	s	
9	4,48 ppm		2H	s	s	
10	1,44 ppm		9H	s	s	
11	1,41 ppm		9H	s	s	



## S p e t t r o s c o p i a I n f r a r o s s a

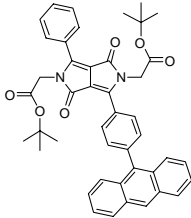
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

Terz-ButilDiacetatoAntraceneDPP

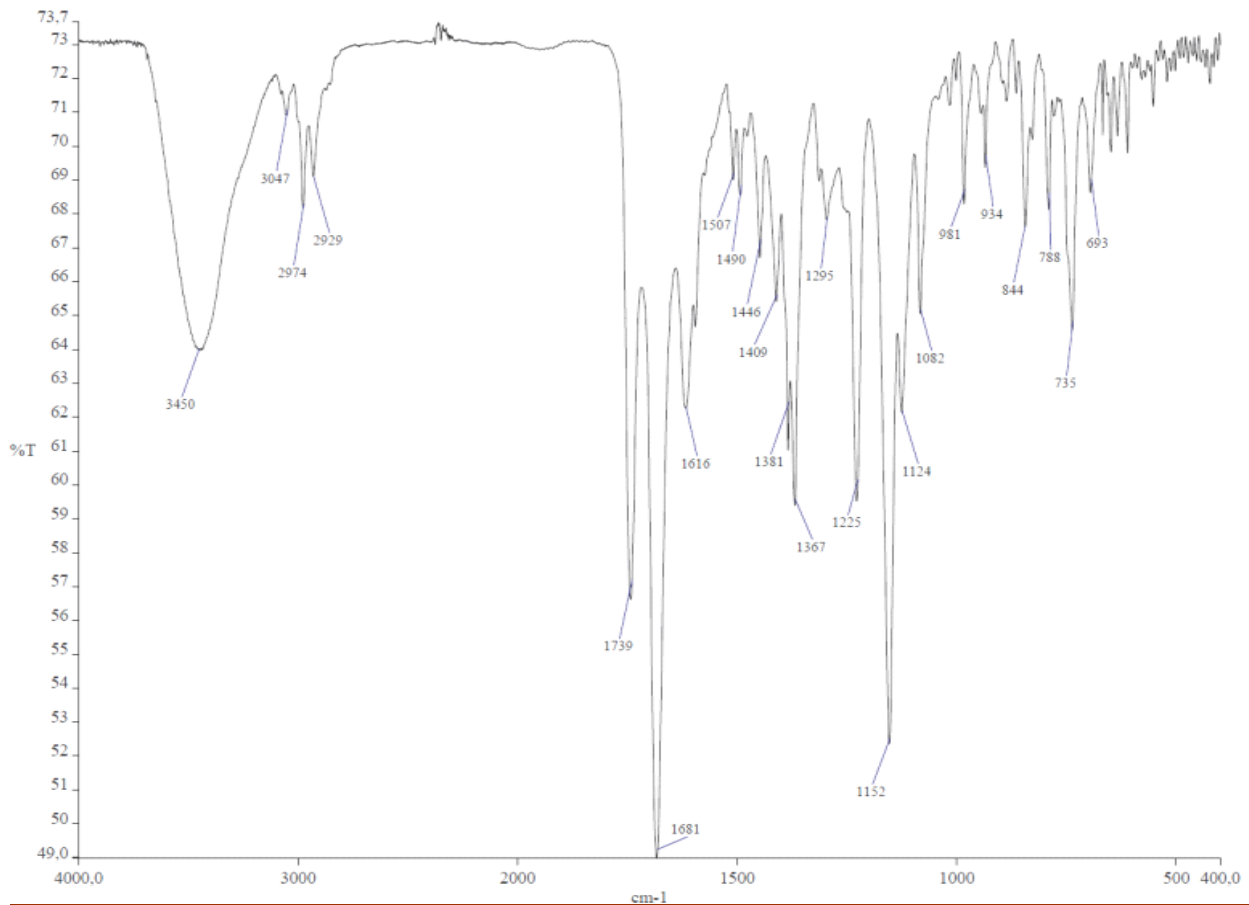
5.



**MW** C44H40N2O6  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** Solido Giallo  
**Codice** MT-5  
**Commento** Prodotto: Nuovo

**METODO** KBr  
**SCANSIONE** 4000 Cm-1 - 400 Cm-1

mercoledì 30 maggio 2012

Descrizione Spettro

	Regione	Forma Segnale	Descrizione
1	3450 cm-1	w,b	
2	3047 cm-1	vw	
3	2974 cm-1	w	
4	2929 cm-1	vw	
5	1739 cm-1	s	
6	1681 cm-1	vs	
7	1507 cm-1	vw	
8	1490 cm-1	vw	
9	1409 cm-1	w	
10	1381 cm-1	m,b	

Dr. Maria Greca Tinè

<b>11</b>	1367 <i>cm</i> <sup>-1</sup>	<i>m,b</i>
<b>12</b>	1295 <i>cm</i> <sup>-1</sup>	<i>w</i>
<b>13</b>	1225 <i>cm</i> <sup>-1</sup>	<i>w</i>
<b>14</b>	1152 <i>cm</i> <sup>-1</sup>	<i>vs</i>
<b>15</b>	934 <i>cm</i> <sup>-1</sup>	<i>vw</i>

---



## Caratterizzazione NMR 13C NMR

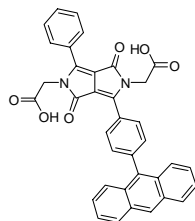
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

BisacetatoAntraceneDPP

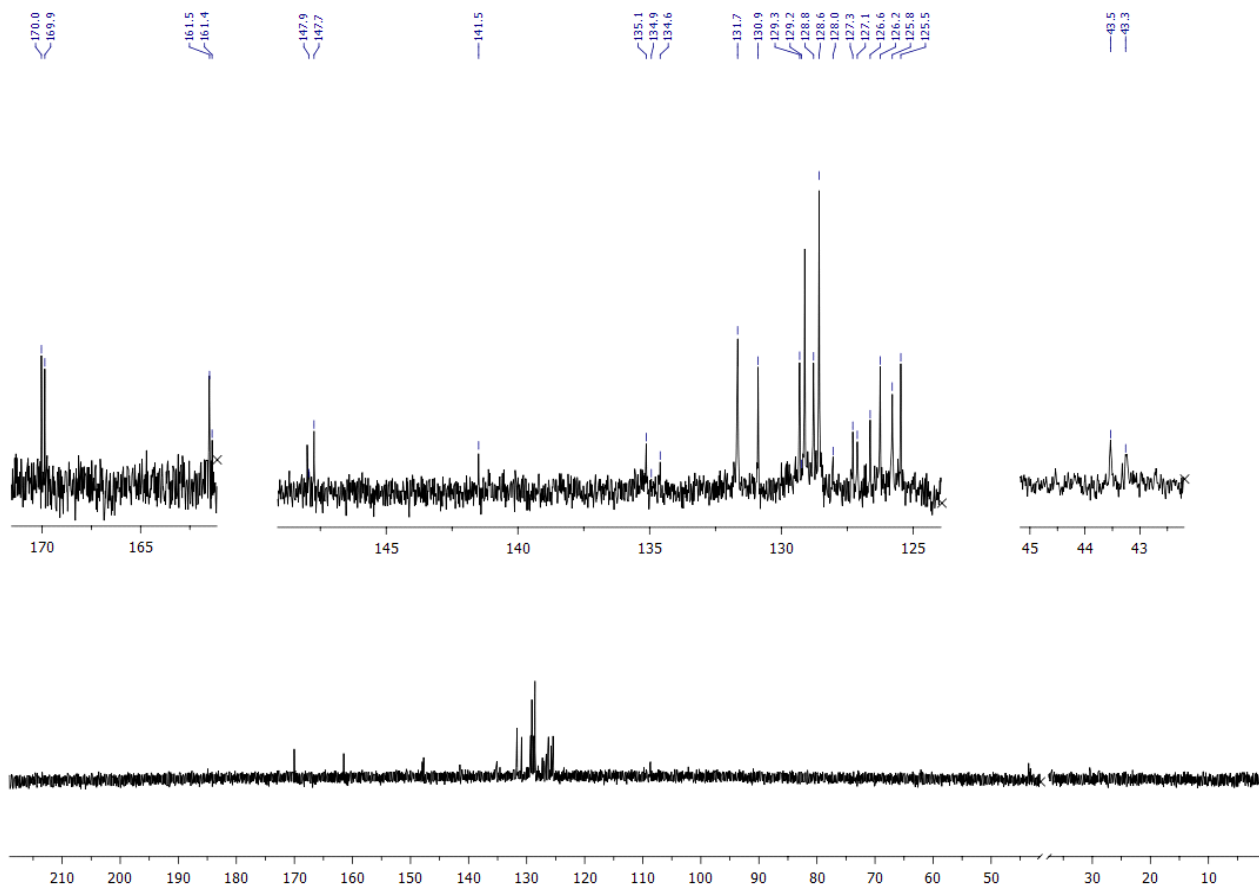
6.



**MW** C36H24N2O6  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** Solido Giallo  
**Codice** MT-6  
**Commento** Prodotto: Già Notò

**NUCLEO** 13C NMR  
**CAMPO** 100 MHz  
**SOLVENTE** DMSO

mercoledì 30 maggio 2012



## Descrizione Spettro

Chemical Shift	Costante di Accoppiamento	Integrazione	Molteplicità	Assegnazione	Tecnica
1	170,0 ppm				
2	169,9 ppm				
3	161,5 ppm				
4	161,4 ppm				
5	147,9 ppm				
6	147,7 ppm				
7	141,5 ppm				
8	135,1 ppm				
9	134,9 ppm				
10	134,6 ppm				
11	131,6 ppm				
12	130,9 ppm				
13	129,3 ppm				
14	129,2 ppm				
15	128,8 ppm				
16	128,6 ppm				
17	128,0 ppm				
18	127,3 ppm				





- 19** 127,1 ppm
  - 20** 126,6 ppm
  - 21** 126,2 ppm
  - 22** 125,8 ppm
  - 23** 125,5 ppm
  - 24** 43,5 ppm
  - 25** 43,2 ppm
-



## C a r a t t e r i z z a z i o n e 1 H N M R

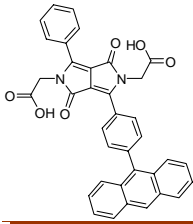
N° Pag.

Prodotto

Dettagli Sperimentali

BisiacetatoAntraceneDPP

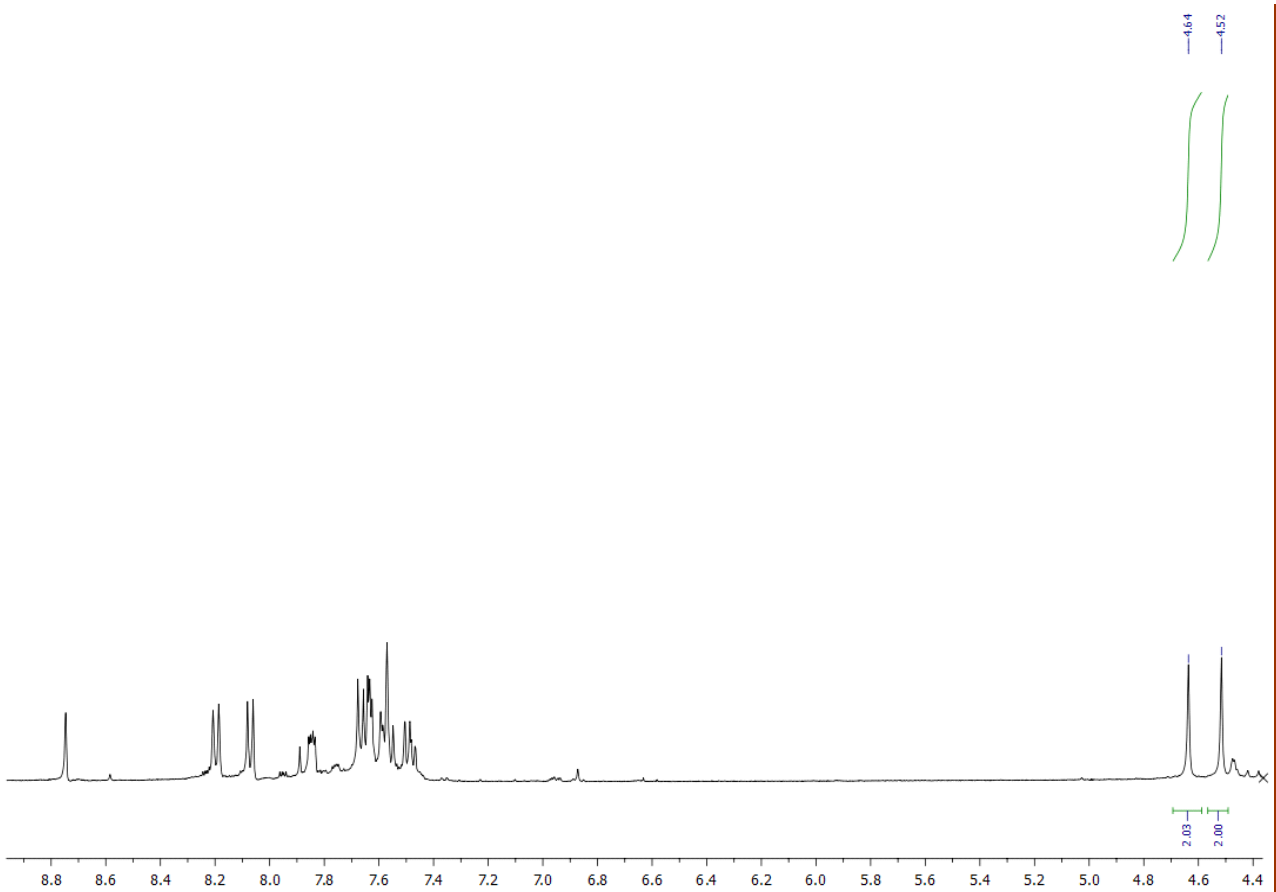
6.



**MW** C36H24N2O6  
**Quantità** 20 mg  
**Prodotto** Solido Giallo  
**Codice** MT-6  
**Commento** Prodotto: Già Noto

**NUCLEO** 1H NMR  
**CAMPO** 400 MHz  
**SOLVENTE** DMSO

mercoledì 30 maggio 2012

Descrizione Spettro

	Chemical Shift	Costante di Accoppiamento	Integrazione	Molteplicità	Assegnazione	Tecnica
1	8,75 ppm		1H	s		
2	8,20 ppm	J1 = 8 Hz	2H	d		
3	8,07 ppm	J1 = 8 Hz	2H	d		
4	7,85 ppm		2H	m		
5	7,68-7,47 ppm		11H	s		
6	4,64 ppm		2H	s		
7	4,52 ppm		2H	s		



## S p e t t r o s c o p i a I n f r a r o s s a

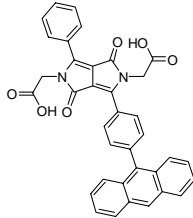
N° Pag.

Prodotto

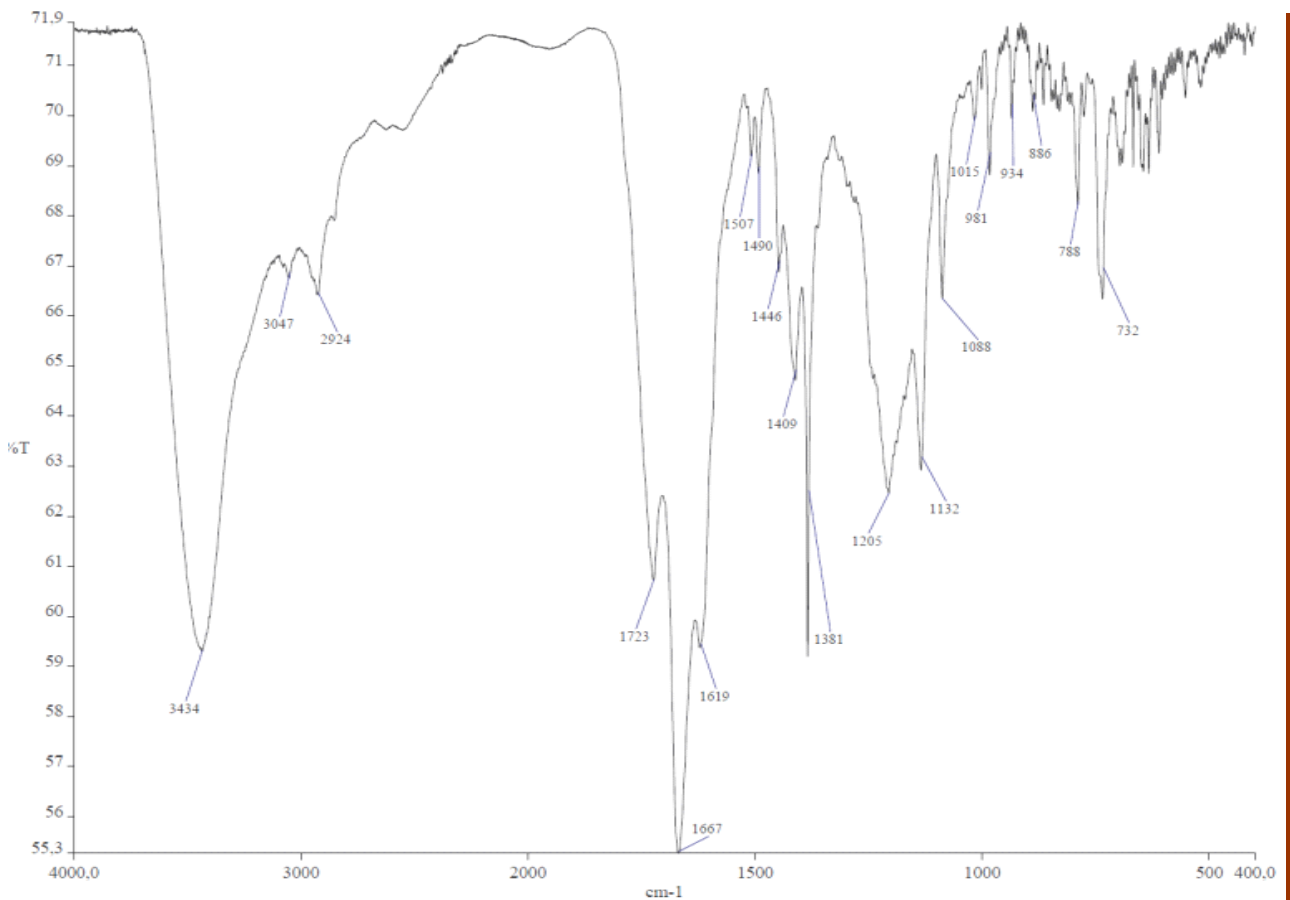
Dettagli Sperimentali

BisacetatoAntraceneDPP

6.

**MW** C36H24N2O6**Quantità** 20 mg**Prodotto** Solido Giallo**Codice** MT-6**Commento** Prodotto: Già Noto**METODO** KBr**SCANSIONE** 4000 Cm-1 - 400 Cm-1

mercoledì 30 maggio 2012

**Descrizione Spettro**

	<b>Regione</b>	<b>Forma Segnale</b>	<b>Descrizione</b>
<b>1</b>	3434 cm-1	s,b	
<b>2</b>	3047 cm-1	w	
<b>3</b>	2924 cm-1	w	
<b>4</b>	1723 cm-1	s	
<b>5</b>	1667 cm-1	vs	
<b>6</b>	1619 cm-1	vs	
<b>7</b>	1507 cm-1	vww	
<b>8</b>	732 cm-1	w	

# RINGRAZIAMENTI

Non è semplice riuscire a ringraziare in poche righe tutti coloro che hanno contribuito alla stesura di questo progetto di tesi. Per questo esprimo profonda gratitudine verso chi mi ha permesso di raggiungere tale traguardo.

Il primo ringraziamento va al professor De Lucchi per avermi dato la possibilità di vivere questa bellissima esperienza nel suo gruppo di ricerca. È grazie a Lei, che ho potuto mettermi in gioco, crescere personalmente e credere di più in me stessa. La ringrazio, inoltre, per i numerosi rimproveri quando non indossavo gli occhiali di protezione ma soprattutto per la disponibilità, la semplicità e la serietà che ha sempre dimostrato.

Un immenso grazie va anche a Beppe per la pazienza che ha avuto nel ripetermi mille volte le stesse cose senza mai farmi pesare il fatto di essere inesperta in materia. Inoltre, devo ringraziarlo per le infinite ore passate davanti al GC con la speranza di ottenere qualche risultato ma soprattutto per avermi aiutato nella stesura della tesi quando avrebbe potuto continuare a inscatolare piatti e bicchieri per il trasloco o finire di dare l'ultima mano di vernice a quel famoso portone di ingresso restaurato con tanta fatica.

Un grazie molto grande va a Riccardo per avermi sopportato in laboratorio e "salvato", molte volte, da numerosi possibili danni alle mie povere reazioni. . Lo ringrazio per avermi seguito passo per passo come si fa con i bambini piccoli, per le risate e le stupidaggini che hanno riempito le mie giornate. Infine, lo ringrazio per le golosissime e leggerissime colazioni da Lele!

Grazie ad Enrico, "vicino di cappa", per avermi sopportato e aiutato innumerevoli volte a smontare le reazioni. Non posso di certo dimenticare gli interminabili racconti sulle maratone ma soprattutto sul "nostro" piccolo segreto. "Mangiamo?!", parola che resterà impressa nella mia mente e che sicuramente mi mancherà insieme all'amata Radio Marilù.

Un ringraziamento va fatto anche ad Andrea per i suoi estenuanti discorsi mattutini sulla politica, i suoi filosofici discorsi e il suo "stravagante" vocabolario da noi tutti sconosciuto. Ringrazio Sarah per le diverse colazioni fatte "dagli architetti" con il fagottino al cioccolato, le pause caffè e le numerose risate a pranzo.

Grazie a Fabrizio per i suoi racconti sulla pesca, per la sua simpatia e la piacevole compagnia nei pranzi passati insieme.

Grazie a Smeralda , che nonostante il poco tempo trascorso insieme, mi ha concesso lunghe chiacchierate.

Un grazie anche a Stefano per aver reso importanti i miei orecchini giorno dopo giorno e per avermi più volte detto: "Certo che de chimica non te sa proprio un caxxo !!"

Grazie a lui e a Riccardo che messi insieme sono stati in grado di farmi diventare "come loro"!!!

Ringrazio Alceste per avermi più volte elencato a quanti kg corrispondono “tot” piselli e a quante proteine e carboidrati ci vogliono per una dieta equilibrata che solo lui è in grado di fare. Ringrazio Ester per avermi aiutata ad ambientarmi appena arrivata in laboratorio, e Alessia per le numerose pause, risate e chiacchierate sulle “fighe di legno”. Infine volevo ringraziare gli ultimi arrivati, Francesco e Chiara, per la simpatia che, in poco tempo, hanno saputo trasmettermi.

Un grazie di cuore veramente a tutto il laboratorio dell’ Ammore che ha reso unica e indimenticabile questa esperienza.

Grazie a quei pochi e buoni amici che ho, per il tempo che mi hanno dedicato e che continuano a dedicarmi.

Grazie alla mia famiglia che mi ha permesso di studiare, diventare quella che sono ora ma soprattutto, grazie per avermi dato la possibilità di crescere sia culturalmente che personalmente in quanto l’università, per come l’ho vissuta io, è un’esperienza unica, difficile, con delusioni che a volte segnano ma allo stesso tempo fantastica e che lascia, oltre alle soddisfazioni, tanti bei ricordi. Grazie alla sorellina che nonostante mi dice sempre parole so che mi vuole bene.

Un grazie va alla mia nonna Norma perché so che mi è stata vicina, e alla nonna Concetta che voleva con tanto amore un vestito nuovo per la laurea della sua nipote ma che purtroppo non ha potuto comprare. Entrambe, sarete quel giorno con me, anche se non fisicamente.

Un grazie speciale a Marco che è entrato a far parte della mia vita qualche anno fa e ha condiviso con me tutte le paure, le preoccupazioni, i dubbi e le gioie. Lo ringrazio per la costante pazienza che dimostra giorno ma soprattutto per l’affetto che mi dona.

Giunti al termine, ci si rende conto di quante persone hanno condiviso e contribuito a questo mio percorso. Ho cercato di essere più sintetica possibile ma si sa che le persone non vivono solo di numeri e parole bensì, anche di emozioni...

Grazie!