

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA TUSCIA DI VITERBO

DIPARTIMENTO DI AGROBIOLOGIA E AGROCHIMICA

CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA

SCIENZE AMBIENTALI (XX CICLO)

TITOLO TESI DI DOTTORATO DI RICERCA:

Nuove metodologie sintetiche di green chemistry per l'ottenimento di prodotti della chimica fine da sostanze fenoliche presenti nei reflui agroindustriali

Sigla del settore scientifico-disciplinare: CHIM/06

Coordinatore: Prof. Maurizio PETRUCCIOLI

Tutor: Dott.ssa Roberta BERNINI

Dottorando: Maurizio BARONTINI

***QUELLO CHE NOI FACCIAMO, E IL MODO IN CUI LO FACCIAMO, NON
COSTITUISCONO SOLO UN'ATTIVITA', MA SONO PARTE DELLA NOSTRA
PERSONALITA'.***

Josè Bleger

INDICE:

1	INTRODUZIONE	4
1.1	GLI SCARTI AGROINDUSTRIALI	4
1.1.1	<i>Sottoprodotti del settore cerealicolo: la crusca</i>	7
1.1.2	<i>L'industria di prima trasformazione delle olive.....</i>	11
1.1.3	<i>Caratteristiche chimico-fisiche dell'olio d'oliva e composizione chimica.....</i>	11
1.1.4	<i>Le acque di vegetazione</i>	13
1.2	CLASSIFICAZIONE DEI COMPOSTI FENOLICI	15
1.2.1	<i>Proprietà chimico-fisiche</i>	22
1.2.2	<i>Attività biologiche dei fenoli</i>	22
1.3	STRESS OSSIDATIVO–ANTIOSSIDANTI NATURALI.....	24
1.3.1	<i>I radicali liberi.....</i>	24
1.3.2	<i>Sistemi antiossidanti.....</i>	27
b)	<i>Inibizione per trasferimento elettronico (Electron Transfer).....</i>	32
c)	<i>Inibizione attraverso intrappolamento di radicali (Scavenging).....</i>	32
1.4	LA GREEN CHEMISTRY	34
1.4.1	<i>I principi della green chemistry</i>	34
1.4.2	<i>Le reazioni di ossidazione.....</i>	36
2	SCOPO DELLA RICERCA	37
3	RISULTATI E DISCUSSIONE DEI DATI.....	39
3.1	OSSIDAZIONI CATALITICHE CON IL SISTEMA OSSIDANTE H ₂ O ₂ /MTO IN LIQUIDI IONICI E DIMETIL CARBONATO.....	39
3.1.1	<i>Il sistema catalitico H₂O₂/MTO</i>	39
3.1.2	<i>Liquidi Ionici.....</i>	40
3.1.3	<i>Il dimetil carbonato (DMC)</i>	42
3.1.4	<i>Ossidazione di fenoli e metossi tolueni a chinoni con il complesso MTO/H₂O₂ in [bmim]BF₄ e in DMC</i>	52
3.1.5	<i>Ossidazioni di vari composti organici con MTO/H₂O₂ in DMC</i>	52
3.2	UTILIZZAZIONE DI MOLECOLE FENOLICHE (ACIDI CINNAMICI, TIROSOLO, ALCOL OMOVANILLICO) PRESENTI NEGLI SCARTI AGROINDUSTRIALI QUALI SUBSTRATI PER L'OTTENIMENTO DI FINE CHEMICALS. ...	55
3.2.1	<i>Sintesi di 4-vinil fenoli.....</i>	55
3.2.2	<i>Generalità sulle reazioni attivate da microonde</i>	56
3.2.3	<i>Gli acidi p-idrossicinnamici.....</i>	60
3.2.4	<i>Sintesi di 4-vinil fenoli per decarbossilazione di acidi cinnamici in MW</i>	61
3.3	PROTEZIONI SELETTIVE DI FUNZIONI ALCOLICHE PRESENTI IN MOLECOLE FENOLICHE.....	63
3.3.1	<i>Carbossimetilazione selettiva.....</i>	63
3.3.2	<i>Trifluoroacetilazione selettiva.....</i>	67
3.3.3	<i>Acetilazione selettiva.....</i>	67
3.3.4	<i>Utilizzazione del tirosolo e di acidi cinnamici per l'ottenimento di di 4-aril-3,4-diidrocumarine e di nuovi derivati del tirosolo.....</i>	71
3.4	SINTESI DI IDROSSITIROSOLO E DERIVATI A PARTIRE DA TIROSOLO O ALCOL OMOVANILLICO VIA OSSIDAZIONE CON REAGENTI DELLO IODIO IPERVALENTE	74
3.4.1	<i>Ossidanti della famiglia dello Iodio ipervalente</i>	80
3.4.2	<i>Sintesi dell'Idrossitirosolo e suoi derivati.....</i>	84
4	CONCLUSIONI	89
5	PARTE SPERIMENTALE.....	91
	STRUMENTI E MATERIALI UTILIZZATI.....	91
5.1	PROCEDURA GENERALE DI OSSIDAZIONE DI FENOLI E FENOL-ETERI A CHINONI IN LIQUIDI IONICI BMIM[BF ₄] CON IL SISTEMA CATALITICO MTO/H ₂ O ₂	92
5.2	PROCEDURA GENERALE DI OSSIDAZIONE IN DIMETIL CARBONATO (DMC) CON IL SISTEMA CATALITICO MTO/H ₂ O ₂	92
5.3	PROCEDURA GENERALE DI METILAZIONE DI OSSIDRILI FENOLICI, ALCOLICI E ACIDI CARBOSSILICI	92
5.4	PROCEDURA GENERALE DI ACETILAZIONE DI OSSIDRILI FENOLICI ED ALCOLICI.....	93
5.5	PROCEDURA GENERALE DI DECARBOSSILAZIONE “SOLVENT FREE” VIA “MICROWAVE IRRADIATION”	93
5.6	PROCEDURA GENERALE DI CARBOSSIMETILAZIONE DI OSSIDRILI ALCOLICI.....	94

5.7	PROCEDURA GENERALE DI ACETILAZIONE DI OSSIDRILI ALCOLICI CON ACETONITRILE	94
5.8	PROCEDURA GENERALE DI ESTERIFICAZIONE DEGLI OSSIDRILI ALCOLICI CON I CLORURI ACILICI ..	94
5.9	PROCEDURA GENERALE DI TRIFLUOROACETILAZIONE	95
5.10	PROCEDURA GENERALE DI IDROLISI BASICA O ACIDA DI GRUPPI ESTEREI O CARBOSSIMETILICI	95
5.11	RIDUZIONE CON SODIOBORIDRURRO.....	95
5.12	OSSIDAZIONE DI COMPOSTI FENOLICI CON IBX	96
5.13	OSSIDAZIONE DI COMPOSTI FENOLICI CON DMP	96
5.14	DEMETILAZIONE OSSIDATIVA DI ETERI METIL ARIL FENOLICI CON IBX	97
5.15	DEMETILAZIONE OSSIDATIVA DI ETERI METIL ARIL FENOLICI CON DMP	97
5.16	OSSIDAZIONE DELL' ACIDO O-IODOBENZOICO AD IBX	97
5.17	SINTESI 4-ARIL-DIIDROCUMARINE	98
5.18	MISURE DI ATTIVITÀ ANTIOSSIDANTE CON IL METODO DELLA DPPH	98
5.19	MISURE UV-VIS DEL COMPLESSO H ₂ O ₂ /MTO IN DMC	99
6	DATI SPETTROSCOPICI E SPETTRI NMR.....	100
7	BIBLIOGRAFIA	139

1 INTRODUZIONE

1.1 Gli scarti agroindustriali

Il settore agroindustriale costituisce uno dei comparti produttivi da cui provengono ingenti quantità di reflui caratterizzati da un'elevata tossicità. Il problema del loro recupero e dello smaltimento si ripercuote sia a livello economico che ambientale; è quindi necessaria un'attenta politica di gestione integrata, indispensabile a garantire la sostenibilità dello smaltimento attraverso varie forme di recupero successive.

A livello europeo gli scarti agroindustriali rappresentano un significativo potenziale per lo sviluppo dell'industria bioenergetica e si stimano dell'ordine di 250 milioni di ton/annue.¹ Recentemente nel VII° Programma Quadro della ricerca europea è stato introdotto il concetto di "bioraffineria", intesa come una nuova metodologia che, a partire da materiali rinnovabili, quali le biomasse, permette di ottenere energia e prodotti di pregio operando con processi e tecnologie a basso impatto ambientale che minimizzano la produzione di scarti.

Nell'area del Mediterraneo, tra gli scarti agroindustriali di maggiore rilevanza vi sono quelli legati alla lavorazione delle olive e dei cereali. Solo in Italia nel 2004 sono stati prodotti circa 4.7 milioni dalla lavorazione delle olive e 22.1 milioni di tonnellate dai cereali. Le maggiori problematiche legate a questo tipo di scarti sono dovute sostanzialmente ai seguenti fattori: a) difficoltà di trattamento a causa delle loro caratteristiche chimico-fisiche (elevati valori di BOD, COD, acidità); b) la stagionalità della lavorazione, per cui si producono grandi quantità di scarti concentrati in 2-3 mesi dell'anno; c) delocalizzazione di piccoli impianti di lavorazione sul territorio nazionale.

Negli scarti di origine vegetale sono presenti composti organici di pregio, quali i biofenoli. Di particolare interesse è la loro attività antiossidante che ne ha promosso recentemente l'applicazione nel mercato come prodotti per la salute dell'uomo sia come nutraceutici che come cosmetici. Nel regno vegetale tali composti sono variamente distribuiti e hanno una diversa natura e collocazione in base alle loro caratteristiche, quali idrosolubilità, liposolubilità; presenza o meno di legami covalenti con i vari costituenti della parete cellulare. I polifenoli idrosolubili hanno generalmente funzioni antiossidanti e antimicrobiche; quelli liposolubili e quelli legati alla parete cellulare svolgono prevalentemente una funzione strutturale di *cross-linking* delle catene polisaccaridiche che la costituiscono (**Figure 1 e 2**).

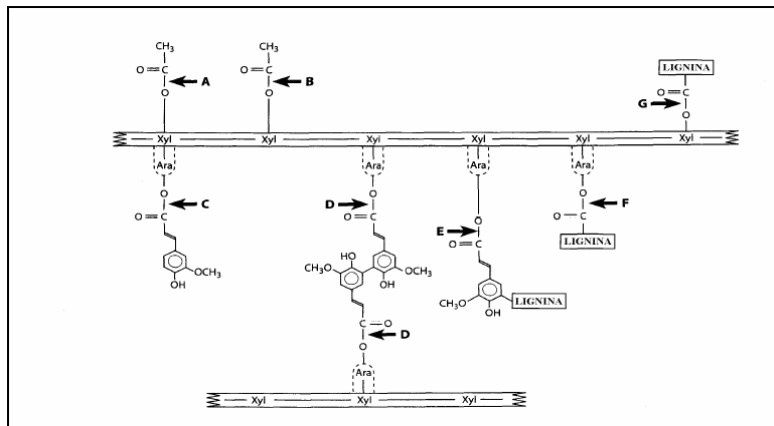


Figura 1. Struttura generale e semplificata dell'arabinosilano. Dalle catene xilaniche partono delle ramificazioni di arabinosio. I legami esterei sono: A) gruppo 2-O-acetilico; B) gruppo 3-O-acetilico; C) gruppo 5-O-ferulico; D) gruppi 5-O-diferulici (dimero con legami 5-5'); E) 5-O-feruloil-lignina; F) arabinosio-lignina; G) xilosio-lignina

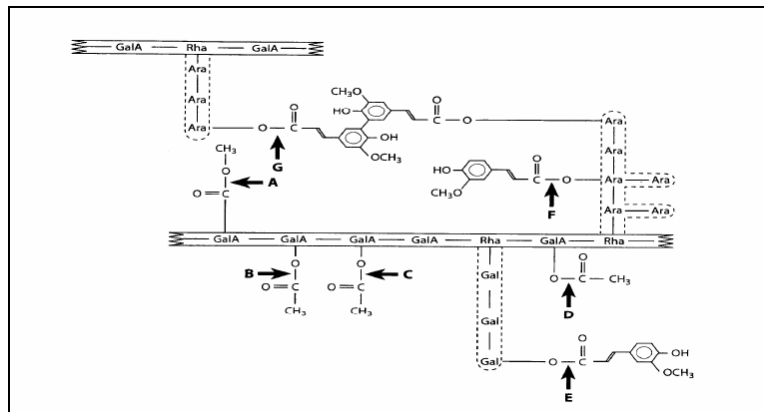


Figura 2. Struttura generalizzata e semplificata della pectina ramificata della barbabietola da zucchero. Dallo scheletro formato da residui alternati di acido galatturonico e ramnosio partono sostituenti zuccherini e non: A) metilestere; B) gruppo 2-O-acetilico; C) gruppo 3-O-acetilico; D) acetilico; E) gruppo ferulico legato al C-6 del galattosio; F) gruppo ferulico legato al C-2 dell'arabinosio; G) gruppi diferulici legati al C-2 dell'arabinosio

I composti idrosolubili sono generalmente costituiti da gruppi fenolici funzionalizzati con zuccheri o acidi organici. Esempi di questi composti sono gli acidi idrossicinnamici legati a molecole di glucosio, della colina, dell'acido chinico, malonico e tartarico,² gli esteri gallici dell'epicatechina e gli esteri *p*-cumarici degli antociani (**Figura 3**).

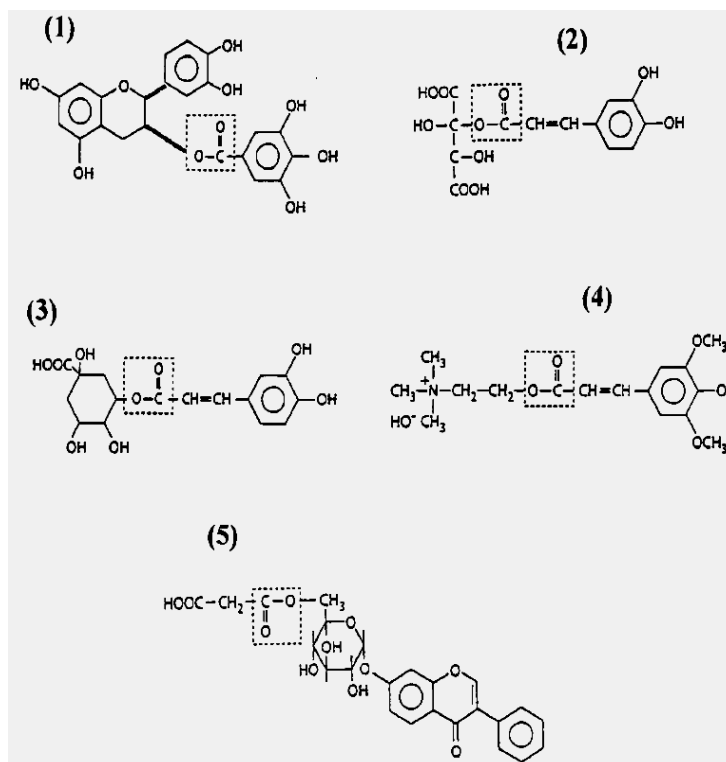


Figura 3. Strutture di esteri idrossicinnamati e flavonoidi idrosolubili. I legami esterei di ogni molecola sono evidenziati da un riquadro tratteggiato. (1) (+)-epicatechina 3-gallato, (2) caffeoil (+)-tarttrato, (3) acido clorogenico, (4) sinapina, (5) isoflavone 7-O-glucoside-6'-malonato

I composti fenolici lipofili sono generalmente costituiti da idrossicinnamati legati a steroli, alcoli terpenici o triterpeni (**Figura 4**) e sono comunemente associati alle membrane cellulari.³

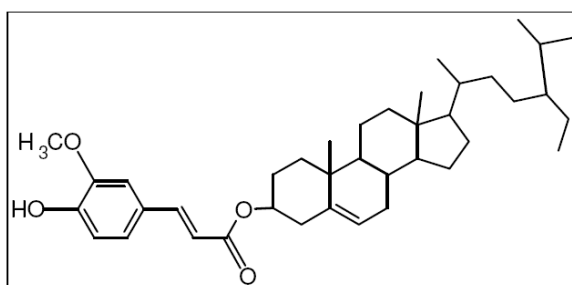


Figura 4. Acido ferulico esterificato con uno sterolo (γ -orizanol)

I biofenoli svolgono un ruolo importante nelle interazioni che la pianta può avere con gli agenti interni e esterni. Una delle più importanti attività è quella antiossidante, che risiede nella capacità di essere ossidati facilmente in condizioni blande sia dai comuni ossidanti presenti in natura, come i radicali liberi, l'ossigeno e i perossidi che dalle radiazioni ultraviolette. L'attività antibatterica e antifungina dei fenoli è dovuta all'azione sinergica del potere antiossidante e chelante dei gruppi ossidrilici dell'anello fenolico che formano

legami idrogeno con le proteine della parete cellulare dei microrganismi. I derivati fenolici, in conseguenza della loro ubiquitarità nel regno vegetale, in particolare nelle piante edibili, si ritrovano naturalmente nella composizione dei prodotti di scarto, sia liquidi che solidi, di numerosi impianti di lavorazione agro-alimentare.

Con lo scopo di effettuare un risanamento economico e ambientale, il recupero della frazione fenolica dai reflui agroindustriali rappresenta, a valle di un processo di estrazione, una fonte di intermedi industriali utilizzabili come chemicals ad alto valore aggiunto. Il recupero dei biofenoli è anche il primo step per i successivi stadi fermentativi di trattamento della biomassa per la produzione di biogas. Infatti, i processi anaerobici sono generalmente inibiti dalla presenza di polifenoli ed in particolare i batteri acetogenici e metanogenici sono sensibili a concentrazioni di acido caffeico >0.25 g/l e di acido cumarico >0.12 g/l.⁴

1.1.1 Sottoprodotti del settore cerealicolo: la crusca

I prodotti della trasformazione dei cereali costituiscono da sempre gli alimenti di base per l'uomo. Attualmente si stima che circa i due terzi della superficie coltivabile sulla terra sia dedicata alla produzione di cereali. In Italia, il mais è quello maggiormente diffuso, seguito da grano (duro e tenero), sorgo, orzo e avena (**Figura 5**). I cereali rappresentano un'ottima fonte energetica, una discreta risorsa di vitamine e sali minerali e possono essere trasformati in un'ampia gamma di prodotti, soddisfacendo le diverse abitudini e tradizioni alimentari.

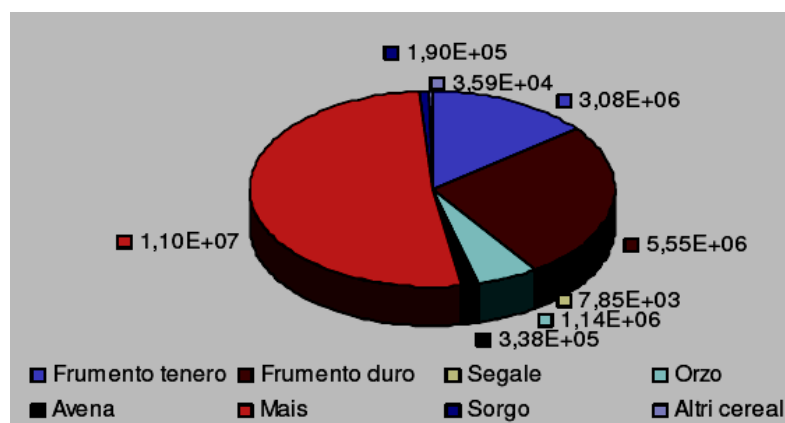


Figura 5. Suddivisione della produzione cerealicola italiana (Fonte: ISTAT 2004)

Il termine “cereali” definisce le piante appartenenti alla famiglia delle *Gramineae*, coltivate per i loro particolari frutti, botanicamente definiti “cariossidi”, ma impropriamente

chiamati semi. La cariosside è un frutto secco indeiscente in cui i tessuti del pericarpo sono concresciuti e saldati con quelli del seme (**Figura 6**). E' costituita dall'endosperma (87-89%), dall'embrione o germe (2-4%) e dai tegumenti o involucri (8-10%). L'embrione consta di due parti principali, l'asse embrionale e lo scutello ed entra a far parte dei sottoprodotti della molitura. L'endosperma, da cui deriva la semola, è formato da uno strato aleuronico esterno e da un parenchima interno contenente principalmente amido (60-70%) e proteine di riserva (8-18%). L'endosperma amilaceo contiene, inoltre, piccole percentuali di lipidi, sostanze minerali, polisaccaridi non amidacei e composti fenolici a basso peso molecolare (**Tabella 1**).⁵

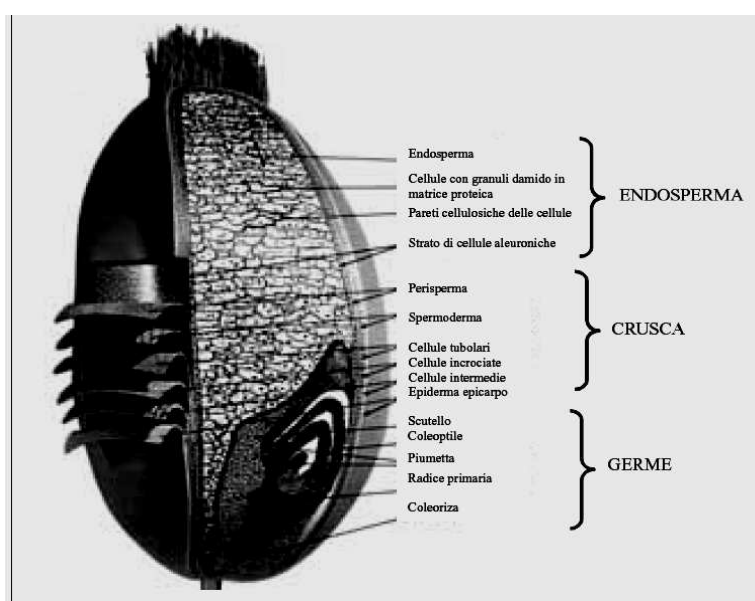


Figura 6. Sezione della cariosside

Regione anatomica della cariosside	Cariosside (%)	Amido e altri carboidrati (%)	Proteine (%)	Lipidi (%)	Cellulosa, emicellulosa pentosani (%)	Minerali (%)
Tegumento frutto (pericarpo)	4	14-16	10-14	1-3	60-74	3-5
Tegumento seme (testa)	1	9-11	13-19	3-5	53-63	9-15
Strato aleuronico	8	10-14	29-35	7-9	35-41	5-15
Germe	3	19-21	36-40	13-17	20-24	4-6
Endosperma	82	80-85	8-14	2-3	1-3	0.5-1.5

Tabella 1. Composizione della cariosside di grano e delle sue regioni anatomiche

Una delle principali frazioni ottenute dopo la molitura è la crusca che rappresenta il 14-16% del peso della cariosside ed è costituita da pericarpo e testa. In **Tabella 2** è riportata la composizione chimica della crusca in termini di carboidrati, lignina e acidi cinnamici.

Monosaccaridi	Glucosio	41-44% (20% cellulosa, 80% amido)
	Xilosio	13-17%
	Arabinosio	3-4%
	Galattosio	2-3%
Lignina		3-4%
Acidi Cinnamici	Acido Ferulico	0.4-0.5%
	Acido p-cumarico	0.014%

Tabella 2. Composizione della crusca in termini di carboidrati, lignina e acidi cinnamici

È ormai noto che le frazioni di pericarpo e germe derivate dalla molitura convenzionale forniscono la maggior parte dei composti biologicamente attivi della granella. L'elevato valore nutrizionale e salutistico è dovuto, oltre che all'alto contenuto in vitamine del gruppo B (tiamina, niacina, riboflavina ed acido pantotenico), minerali (calcio, magnesio, potassio, fosforo, sodio e ferro) ed amminoacidi essenziali (arginina e lisina), anche agli alti livelli di fibre alimentari e composti antiossidanti. E' stato ipotizzato che alcuni degli antiossidanti più concentrati nella crusca di cereali (acido ferulico, cumarico e derivati, flavonoidi) possano contribuire anche ad alcune delle resistenze della granella agli attacchi fungini (**Tabella 3**).

Composti		Principale Localizzazione	Funzione	
Composti fenolici	[acidi fenolici e derivati flavonoidi lignani lignina	Endosperma e pericarpo	Ipocholesterolemica Antitumorale Antidiabetica Riduzione del rischio di malattie cardiovascolari e degenerative	
Tocoli				Germe
				Strato aleuronico e sub-aleuronico
Carotenoidi	[caroteni xantofille	Endosperma, germe e pericarpo		
Fibre	[solubili insolubili	Pareti endosperma Pericarpo	Attività prebiotica Miglioramento peristalsi	

Tabella 3. Composti ad azione antiossidante e salutistica contenuti nella cariosside

Negli ultimi anni, studi epidemiologici hanno dimostrato che l'associazione del consumo di cereali integrali e derivati è correlata ad una ridotta incidenza di malattie cardiovascolari,⁶ diabete⁷ e cancro.⁸ È stato, inoltre, recentemente dimostrato che il potere

salutistico degli alimenti è dovuto ad effetti sinergici e non ai singoli componenti ⁹ e che l'assunzione di antiossidanti con la dieta determina un rafforzamento della barriera di protezione cellulare nei confronti dei fenomeni ossidativi.¹⁰ Uno studio condotto recentemente ha messo a confronto la capacità antiossidante totale della granella di diverse specie cerealicole (mais, frumento, avena, riso) evidenziando che il frumento è al secondo posto, preceduto dal mais e seguito da avena e riso.¹¹ La maggior parte dei composti antiossidanti è costituita da composti fenolici, tocoli e carotenoidi (**Figura 7**). La granella dei cereali è ricca in acidi fenolici le cui quantità totali possono arrivare a 500 mg/kg, mentre i flavonoidi sono presenti in piccole quantità. Alcuni ricercatori hanno riportato che l'acido ferulico è il principale composto fenolico presente nel frumento.¹²

Relativamente ai composti antiossidanti lipofili, i tocoferoli (Vitamina E) sono presenti in concentrazioni significative nel frumento¹³ e il loro contenuto varia in relazione al genotipo, al grado di maturazione ed alle condizioni ambientali di coltivazione. Tali composti sono localizzati negli strati più esterni della cariosside, in particolare i tocotrienoli nello strato aleuronico e sub-aleuronico ed i tocoferoli nel germe, quindi negli strati che abitualmente vengono scartati durante la lavorazione del cereale integrale per la produzione di cereale raffinato e farine. L' α -tocoferolo (**Figura 7**) è in grado di inibire l'indesiderata attività lipossigenasica.¹⁴

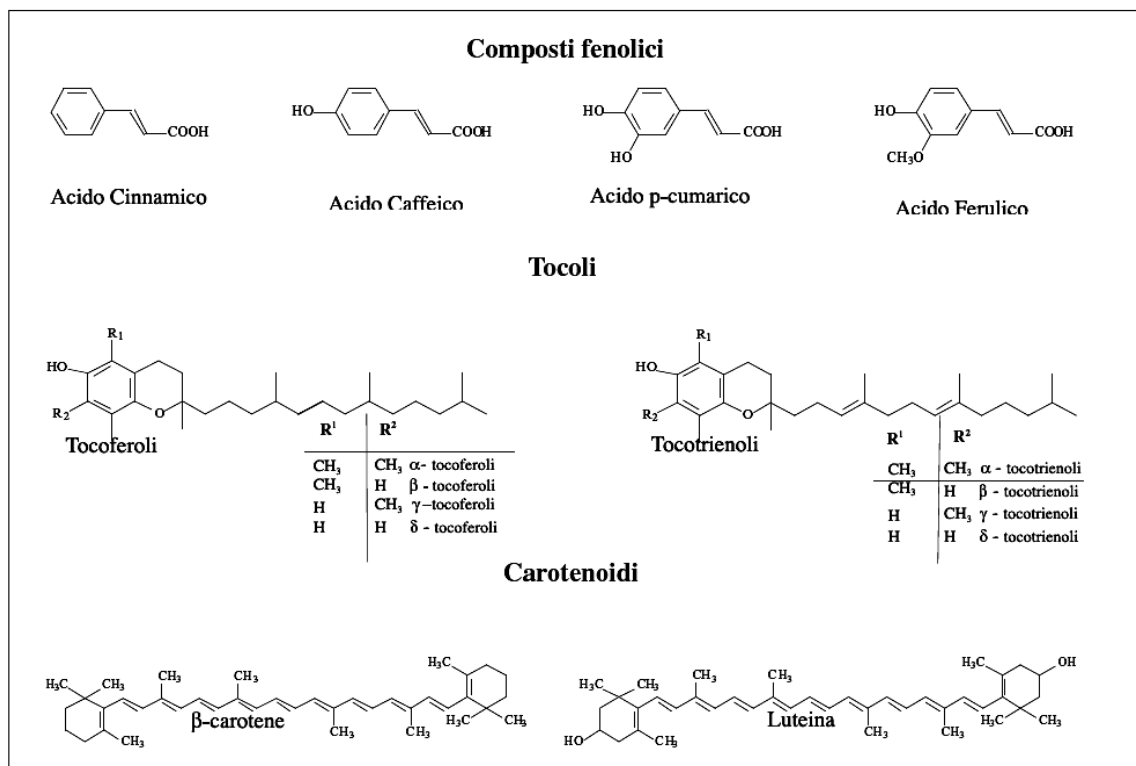


Figura 7. Composti antiossidanti contenuti nel frumento

1.1.2 L'industria di prima trasformazione delle olive

Il settore oleario è molto sviluppato nei paesi dell'area del Mediterraneo, i quali producono circa il 98% del quantitativo mondiale di olio.¹⁵ In Italia, negli ultimi decenni, l'industria di prima trasformazione delle olive ha avuto una grande espansione, soprattutto nel meridione, nelle regioni del centro e in Liguria. Ogni anno, nel nostro paese, durante la stagione produttiva, circa 6000 frantoi lavorano in media una quantità di 25 milioni di quintali di olive con una resa media in olio del 20%. Dalla lavorazione delle olive, finalizzata alla produzione di olio, si ottengono sottoprodotti quali sanse e acque di vegetazione (AV). Dalle sanse si recupera, mediante estrazione con solventi, l'olio residuo (olio di sansa). Le sanse disoleate vengono utilizzate come fertilizzante o combustibile alternativo;¹⁶ le AV, invece, per natura, composizione e quantità (3×10^7 m³/anno), costituiscono un rilevante problema economico.¹⁷

1.1.3 Caratteristiche chimico-fisiche dell'olio d'oliva e composizione chimica

Gli oli d'oliva si differenziano sia per le caratteristiche organolettiche (aroma, odore, sapore) che per le caratteristiche chimiche (composizione, acidità). Alcuni di questi fattori quali, ad esempio, le condizioni pedo-climatiche, non sono modificabili poiché tipici di un determinato luogo; altri, invece, possono essere variati ed ottimizzati, come le tecniche colturali e le modalità di estrazione. L'olio d'oliva è un grasso che si presenta allo stato fisico liquido a temperatura ambiente (20 °C) ed è costituito dal punto di vista chimico per il 98-99% da una miscela di trigliceridi detta frazione "saponificabile" e per il rimanente 1-2% da un insieme di composti che rappresentano la frazione "insaponificabile". Questa componente diversifica l'olio dagli altri grassi liquidi e comprende circa 220 sostanze. Alcuni di questi composti hanno valore terapeutico, altri rappresentano la parte principale della nota aromatica dell'olio (profumo, sapore), altri ancora sono efficaci antiossidanti naturali in grado di conferire al prodotto resistenza all'invecchiamento. Tra questi, vi sono idrocarburi, tocoferoli, composti fenolici, alcoli, steroli, pigmenti colorati (**Tabella 4**).

Gli idrocarburi rappresentano circa il 60% dell'insaponificabile e di questi il 60-70% è rappresentato dallo squalene, un composto che ha influenza sulle proprietà nutrizionali degli oli. I tocoferoli sono presenti nelle forme α , β , γ e δ ;¹⁸ e rappresentano gli antiossidanti naturali che inibiscono il processo di irrancidimento dell'olio. Il principale componente, che è anche quello biologicamente più attivo è l' α -tocopherolo, noto come Vitamina E. Le piante oleaginose hanno una composizione percentuale di steroli diversa per ciascuna specie. Nell'olio d'oliva sono stati identificati il colesterolo, il campesterolo,

l'uvaolo, il stigmaterolo, il clerosterolo, l'eritrodiole e il β -sitosterolo (prevalente). Questi composti svolgono la funzione di antiossidanti naturali. La composizione quali-quantitativa dei composti fenolici è fortemente condizionata dalla varietà, dallo stadio di maturazione e dal processo di estrazione.¹⁹ Infatti, durante il processo di estrazione β -glicosidasi esogene provocano l'idrolisi di tali composti in composti più semplici e molti di essi, essendo idrosolubili, passano nelle acque di vegetazione. Gli oli di oliva vergine ed extra-vergine sono gli unici grassi vegetali che contengono naturalmente quantità apprezzabili di sostanze fenoliche (50-500 mg/kg). Il potere antiossidante di tali composti ha consolidato l'importante ruolo che essi svolgono sulla stabilità dell'olio d'oliva. Inoltre, sono state evidenziate le azioni sinergiche tra tali composti e α -tocoferoli (Vitamina E) sulla stabilità dell'olio d'oliva vergine.

Antociani	Flavonidi
Cianidina-3-glucoside	Quercetina-3 rutinoside
Cianidina-3-rutinoside	
Cianidina-3-caffeilglucoside	Flavoni
Cianidina-3-caffeilrutinoside	Luteolina-7-glucoside
Delfinidina-3-ramnosioglucoside-7-xilosio	Luteolina-5-glucoside
	Apigenina-7-glucoside
Acidi Fenolici	Alcoli Fenolici
Acido clorogenico	(3,4-Diidrossifenil) etanolo (3,4 DHPEA)
Acido caffeico	<i>p</i> -(Idrossifenil)etanolo (<i>p</i> -HPEA)
Acido <i>p</i> -idrossibenzoico	
Acido protocatechico	Secoiridoidi
Acido vanillico	Oleuropeina
Acido siringico	Demetioleuropeina
Acido <i>p</i> -cumarico	Ligustroside
Acido <i>o</i> -cumarico	Nüzhenide
Acido ferulico	
Acido sinapico	Derivati dell'Acido Idrossicinnamico
Acido benzoico	Verbascoside
Acido cinnammico	
Acido gallico	

Tabella 4. Composti fenolici contenuti nel frutto dell'oliva

I pigmenti impartiscono le colorazioni caratteristiche all'olio d'oliva e sono rappresentati da clorofille e carotenoidi. Le clorofille di tipo a e b conferiscono agli oli appena estratti un colore verde intenso; sono contenute in quantità variabili tra 1 e 10 ppm, a seconda della cultivar e dello stadio di maturazione delle olive. Queste sostanze possono avere una duplice azione: in presenza di luce agiscono sull'olio come proossidanti; in assenza lo proteggono dall'irrancidimento ossidativo, insieme ai polifenoli. Infine, nell'olio sono presenti anche alcoli alifatici e triterpenici esterificati; aldeidi, esteri, chetoni che contribuiscono al tipico sapore aromatico.

1.1.4 Le acque di vegetazione

Col nome di "reflui oleari" o "acque di vegetazione" si intendono i reflui provenienti dalla lavorazione meccanica delle olive e dai processi di estrazione dell'olio sia col metodo tradizionale (discontinuo) che tramite estrazione centrifuga (impianti continui). Tali reflui sono composti sostanzialmente dall'acqua di costituzione delle olive stesse, che contiene vari componenti di origine vegetale, soprattutto organici, ma anche minerali, naturalmente presenti nel succo della polpa della drupe dell'oliva con un modesto residuo di olio; dall'acqua di lavaggio delle olive; dalle acque di lavaggio degli impianti; dalle acque di diluizione delle paste usate negli impianti continui (**Tabella 5**).

PROCESSO	OLIO	SANSA	AV
Pressatura discontinua	20-25	35-40	40
Centrifugazione a tre fasi	20-25	35-40	80-120
Centrifugazione a due fasi	20-25	70-75	-----

Tabella 5. Produzioni specifiche medie di olio, sansa e AV ottenute attraverso diversi processi di estrazione ed espresse in Kg/q di drupe lavorate

I problemi legati allo smaltimento delle AV sono dovuti alla loro particolare composizione chimica, all'enorme massa globale di refluo prodotta ogni anno ($3 \times 10^7 \text{ m}^3$) e alle difficoltà organizzative per l'elevato numero, dimensione e distribuzione dei frantoi. Generalmente, le AV hanno una colorazione bruno-scura tendente al nero ed un odore caratteristico nauseabondo. La loro composizione chimica presenta un'elevata variabilità dipendente dalle condizioni climatiche, geografiche, dalla varietà delle olive, dall'impiego e dal tipo di fertilizzanti, dal grado di maturazione e conservazione delle drupe, dall'età della pianta e dal sistema di estrazione dell'olio. Essa, inoltre, può essere modificata dalla commistione con le acque di lavaggio dell'impianto oleario che possono contenere saponi e detergenti. Mediamente, le AV contengono l'83% di acqua, il 15% di sostanza secca e il 2 % di sali minerali.²⁰ Fra i componenti organici contenuti nelle AV, prevalgono quantitativamente i carboidrati, sia come zuccheri semplici (glucosio, fruttosio, rafinosio, mannosio e xilosio) che complessi (cellulosa e pectine). E' stata, inoltre, rilevata la presenza di acidi organici (acetico, tartarico, glicemico, lattico e malico) che rende il pH delle AV leggermente acido (pH=4.9-6.5). Le sostanze azotate contenute, tra le quali numerosi aminoacidi (in particolar modo acido glutammico e prolina), conferiscono alle AV un notevole potere tamponante

verso gli acidi e le basi. Nelle AV sono presenti anche composti mono e polifenolici, sostanze in grado di inibire i processi metabolici di alcune specie di microrganismi e responsabili della presunta tossicità del refluo. Tra questi, vi sono fenoli semplici, flavonoidi, catechine (nelle olive scure anche antocianosidi e antocianine)²¹ e polimeri originati dall'accoppiamento ossidativo dei fenoli semplici (pigmento catecolmelaninico). I componenti fenolici più importanti delle AV sono tirosolo; idrossitirosolo; acido caffeico; acido *p*-cumarico; acido 4-idrossifenilacetico; acido ferulico e acido 3,4-diidrossifenilacetico (**Tabella 6**).²²

Fenoli contenuti nelle AV	Concentrazione (mg/l)
Idrossitirosolo	1433.4
Tirosolo	851.0
Acido 3,4-diidrossifenil acetico	87.9
Acido 4-idrossifenil acetico	274.0
Acido caffeico	321.0
Acido <i>p</i> -cumarico	298.0
Acido ferulico	95.0

Tabella 6. Principali composti fenolici presenti nelle AV

Nel refluo sono contenute anche piccole quantità di cere e resine, vitamine e, a volte anche ormoni e tracce di pesticidi. Riguardo la composizione minerale, gli elementi prevalenti sono: sodio, potassio, calcio, cloro, magnesio e fosforo.²³

1.1.4.1 Quadro normativo

Fino al 1996 la gestione delle acque reflue di frantoio era regolamentata dalla Legge Merli (N.319 del 10.05.1976) che prevedeva la depurazione di tali reflui poiché non conformi ai valori dei parametri previsti dalla suddetta legislazione. Infatti, le AV, avendo un carico inquinante troppo elevato, non rientravano nei limiti di accettabilità degli scarichi permessi nelle acque sotterranee e nelle fognature e quindi venivano classificate tra i reflui tossici. I frantoi oleari però si trovarono nell'impossibilità pratica di applicare la normativa per una serie di motivi quali la delocalizzazione del settore (oltre 15.000 impianti distribuiti nel territorio nazionale), il carattere stagionale della lavorazione delle olive, i limiti previsti dalla legge molto restrittivi che non venivano raggiunti neanche con i più efficaci sistemi di depurazione. Il tutto era poi applicato ad una realtà economica basata su piccoli impianti che non erano in grado di sopportare i costi previsti per la depurazione, spesso superiore al valore stesso dell'impianto di molitura. Con la Legge N.119 del 24.03.1987 furono

introdotte una serie di deroghe alla Legge Merli. Infatti, tale normativa consentiva in via provvisoria di prescindere dai limiti tabellari, permettendo lo spargimento dei reflui, previo abbattimento del 50% del carico inquinante. Questo regime transitorio è stato prorogato più volte fino all'approvazione della Legge N.574 del 11.11.1996, con la quale è stata regolamentata l'utilizzazione agronomica del refluo. Tale normativa consente lo spargimento delle AV tal quali e delle sanse umide per un quantitativo massimo di 80 m³/ha su terreni con falde non inferiori a 10 m di profondità, previa autorizzazione del Sindaco. Con il Decreto Legislativo N.22 del 15.02.1997, noto come Decreto Ronchi, le AV sono state inserite fra i rifiuti non pericolosi sottoposti alle procedure semplificate di recupero e destinate alla produzione di fertilizzanti.

Un ulteriore e decisivo passo verso una gestione più organica delle risorse idriche si è avuto con l'emanazione del Decreto Legislativo N.152 del 11.5.1999, detto "Testo Unico", modificato dal Decreto Legislativo N.258 del 18.08.2000 "Acque Bis" sugli scarichi e la tutela delle acque. Tale Decreto recepisce le Direttive CEE 91/271 e 91/676 ed impone un sistema normativo profondamente rinnovato. Conferma di tale evoluzione è la completa abrogazione della Legge Merli e tutta la successiva normativa. Il "Testo Unico", inserisce le AV tra i rifiuti non pericolosi e demanda alle Regioni le decisioni riguardo i limiti di accettabilità, l'utilizzazione agronomica e le modalità di spandimento delle AV. Ad oggi non tutte le Regioni, però, si sono ancora pronunciate in materia di utilizzazione agronomica delle acque di vegetazione e di scarichi dei frantoi oleari.

1.2 Classificazione dei composti fenolici

Il termine "composti fenolici" comprende un elevato numero di metaboliti secondari caratterizzati dalla presenza, nella loro struttura chimica, di un anello aromatico con uno o più sostituenti ossidrilici. In alcuni casi la funzione ossidrilica è metilata o glicosilata. Inoltre, possono essere presenti altri gruppi funzionali che influenzano le loro proprietà chimico-fisiche. Sebbene un cospicuo numero di sostanze fenoliche sia stato ritrovato in organismi animali, la presenza della frazione fenolica è una caratteristica peculiare dei tessuti vegetali. I fenoli sono particolarmente importanti nei prodotti ortofrutticoli dove svolgono un ruolo preminente nel determinare colore e sapore. In particolare, si associa agli acidi fenolici il sapore acidulo, ai tannini l'astringenza, ad alcuni flavonoidi quali naringenina e neoesperidina il sapore amaro, agli antociani il colore. Il contenuto dei composti fenolici nei tessuti vegetali varia in funzione della specie, della varietà, dell'organo considerato, dello stadio fisiologico e delle condizioni pedoclimatiche.²⁴

Questa grande varietà di strutture fenoliche riflette un'altrettanta grande diversificazione delle loro funzioni. I composti fenolici possono fungere da pigmenti floreali a basso peso molecolare; da antibiotici; da schermo nei confronti delle radiazioni UV; da repellenti per gli insetti e da segnali nelle interazione pianta-microorganismi. In **Tabella 7** sono riportate alcune tra le principali classi di sostanze fenoliche di origine vegetale classificate in funzione del numero di atomi di carbonio. Accanto alle forme monomeriche, vi sono quattro importanti gruppi di polimeri fenolici: lignine, tannini, melanine e suberina. Attualmente sono state identificate diverse migliaia di composti. Tra questi, la classe dei flavonoidi é quella numericamente più consistente. Infatti, sono stati identificati oltre 4000 glicosidi e più di 1.800 agliconi.

Numero di atomi di carbonio	Scheletro base	Classe
6	C_6	Fenoli semplici Benzochinoni
7	C_6C_1	Acidi fenolici
8	C_6C_2	Acetofenoni Acidi fenilacetici
9	C_6C_3	Acidi idrossicinnamici Fenilpropeni Cumarine Isocumarine Cromoni
10	C_6C_4	Naftochinoni
13	$C_6C_1C_6$	Xantoni
14	$C_6C_2C_6$	Stilbeni Antrachinoni
15	$C_6C_3C_6$	Flavonoidi Isoflavonoidi
18	$(C_6C_3)_2$	Lignani Neolignani
30	$(C_6C_3C_6)_2$	Biflavonoidi
n	$(C_6C_3)_n$ $(C_6)_n$ $(C_6C_3C_6)_n$	Lignine Catecol-melanine Tannini condensati

Tabella 7. Principali classi di sostanze fenoliche di origine vegetale

Fenoli semplici **C6**, quali il floroglucinolo **I** (**Figura 8**), non si ritrovano frequentemente nei tessuti vegetali. Il più raro in natura è il resorcinolo **II**, ritrovato in aghi di *Pinus rigida*,²⁵ mentre il più diffuso è l'idrochinone **III**, identificato in molte famiglie (*Ericaceae*, *Rosaceae*, *Saxifragaceae*) essenzialmente come arbutina,²⁶ una sua forma monoglucosidica. Il catecolo **IV** lo si ritrova nella *Paullinia cubana*,²⁷ comunemente chiamata guaranà. Tra tali composti vanno citati anche alcuni chinoni (plastoquinone,

ubichinone) presenti nei cloroplasti e nei mitocondri delle cellule vegetali,²⁸ i quali sono coinvolti nelle reazioni del metabolismo primario. Tra i composti **C6-C1**, la salicilaldeide **V**, la *p*-anisaldeide **VI** e l'aldeide protocatecuica **VII** si ritrovano comunemente come componenti di vari oli essenziali.²⁹ Senza dubbio, l'aldeide più abbondante è la vanillina o 4-idrossi-3-metossibenzaldeide **VIII**, estratta da baccelli di *Vanilla planifolia*³⁰ e presente anche in vari oli essenziali. Gli acidi fenolici, in particolare l'acido salicilico **IX**, vanillico **X** e siringico **XI** sono distribuiti nelle piante soprattutto in forma di esteri o-glicosidi o in forma legata come costituenti della frazione alcol-insolubile dei tessuti vegetali, dove sono in parte legati alla lignina tramite legami esterei.³¹ L'acido gallico **XII**, infine, lo si ritrova preferenzialmente nelle specie legnose, dove può essere presente in forma solubile come estere dell'acido chinico o legato al glucosio nei gallotannini (tannini idrolizzabili).³² Acetofenoni ed acidi fenil acetici **C6-C2** sono composti poco comuni; l'acido *p*-idrossifenil acetico (**XIII**) è presente in forma libera o come glucoside in plantule di bambù.³³ Altri composti appartenenti a questa classe sono il *p*-idrossiacetofenone **XIV**, presente in gemme di *Populus balsamifera*,³⁴ la xantoxilina, ritrovata in specie di *Xanthoxylum*.³⁵ La classe dei fenilpropanoidi **C6-C3** rappresenta un altro gruppo di sostanze ampiamente diffuse nelle piante e caratterizzate dalla presenza di un anello aromatico con una catena alifatica laterale con tre atomi di carbonio. Tra gli acidi idrossicinnamici quelli più comuni sono l'acido caffeico **XV**, diffuso nelle piante superiori, l'acido *p*-cumarico **XVI**, l'acido ferulico **XVII** e l'acido sinapico **XVIII**. Normalmente questi composti si ritrovano in forma coniugata, e la loro presenza in forma libera è effetto delle idrolisi chimiche od enzimatica che si verificano durante l'estrazione dei tessuti vegetali.³⁶ Gli acidi idrossicinnamici ed i loro derivati possono esistere sia in forma *cis* (**Z**) che in forma *trans* (**E**), interconvertibili per effetto della luce UV. La forma prevalente in natura è quella *trans*, in quanto più stabile. Anche gli alcoli *p*-cumarico, ferulico e sinapico sono ampiamente diffusi nelle piante, anche se a concentrazioni molto basse e rappresentano i precursori della lignina.

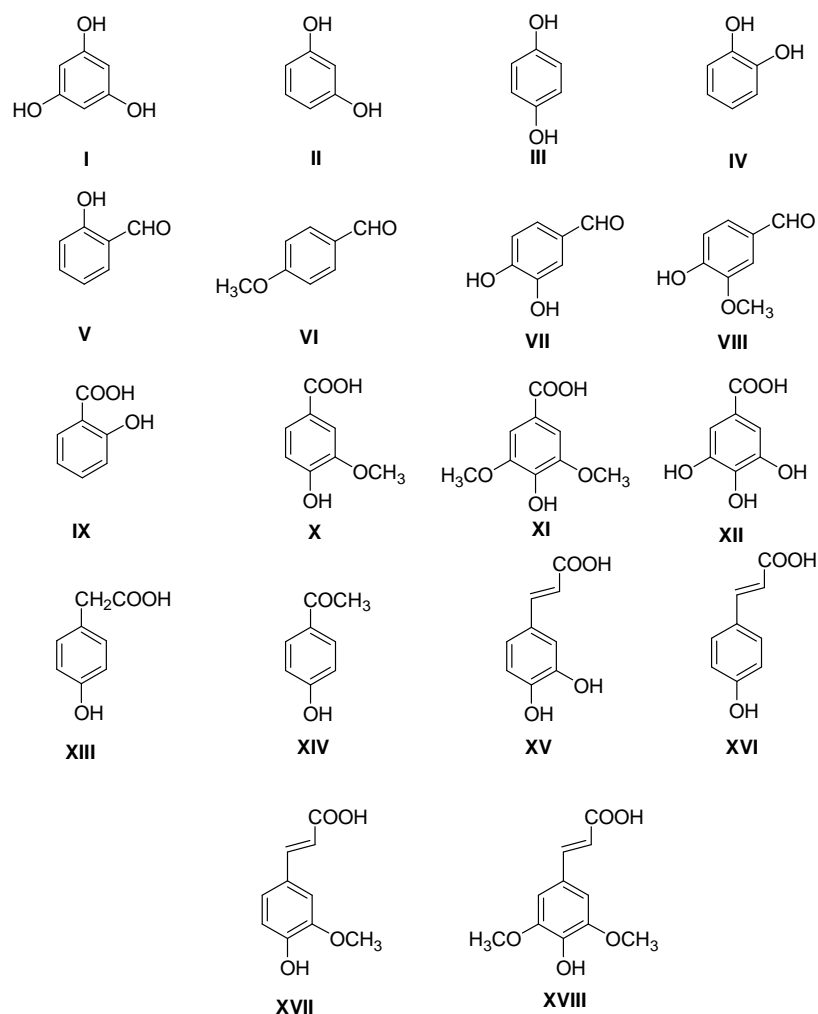


Figura 8. Strutture chimiche dei principali composti fenolici **C6**, **C6-C1**, **C6-C2** e **C6-C3**

Le cumarine, frequentemente ritrovate in natura sotto forma di β -O-D-glucosidi, sono dei composti che, da un punto di vista strutturale, possono essere considerati dei derivati lattonici dell'acido 2-idrossicinnamico caratterizzati da un ampio pattern di ossigenazione sul nucleo benzopiranic (Figura 9). Le più comuni sono l'umbelliferone **XIX**, l'esuletina **XX** e la scopoletina **XXI**, corrispondenti strutturalmente agli acidi *p*-cumarico, caffeico e ferulico. Una variante strutturalmente più complessa delle cumarine è costituita dalle furanocumarine, derivanti dall'umbelliferone per condensazione con un'unità isoprenica. Nella classe delle cumarine si possono anche includere le 4-fenil cumarine, una classe di composti classificata come neoflavonoidi, identificate quasi esclusivamente nelle *Leguminose* e nelle *Guttiferales*.³⁷ Una forma isomerica delle curarine, anche se scarsamente diffusa in natura, è rappresentata dai cromoni, quali il composto **XXV**. I naftochinoni (ad esempio **XXIX** e **XXX**) costituiscono una classe di pigmenti chinonici basati sulla struttura del naftalene. Spesso, nei tessuti vegetali, questi chinoni sono presenti

in forma ridotta, incolore e legati a molecole di zuccheri.³⁸ La forma chinonica viene prodotta o in seguito ad estrazione dei tessuti vegetali o nel corso della maturazione dei frutti. Un esempio di questo tipo è costituito dallo juglone o 5-idrossinaftochinone **XXVI**, un chinone presente nei frutti di noce.³⁹ Gli xantoni **C6-C1-C6** sono una classe di fenoli strutturalmente analoghi ai flavonoidi, ma con una distribuzione molto più limitata nei tessuti vegetali. La maggior parte degli xantoni naturali sono stati ritrovati soltanto in due famiglie di piante superiori, Gentianaceae e Guttiferae, ed, in particolare, si ritrovano nelle radici, nelle foglie e nel legno di queste piante.⁴⁰ Al contrario, gli stilbeni **C6-C2-C6** sono ampiamente diffusi in alcune *Briofite* ed in piante superiori;⁴¹ sono composti formati da due anelli benzenici separati da due carboni e agiscono, in genere, da fitoalessine e da regolatori di crescita. Ad esempio, l'acido lunularico **XXVIII** è un diidrossistilbene che agisce da inibitore della crescita.⁴² Al gruppo **C6-C2-C6** appartengono anche gli antrachinoni (**XXIX**, emodina), composti triciclici che si ritrovano in molte piante officinali, anche come dimeri, utilizzate per le loro caratteristiche purgative, come per esempio il rabarbaro.⁴³

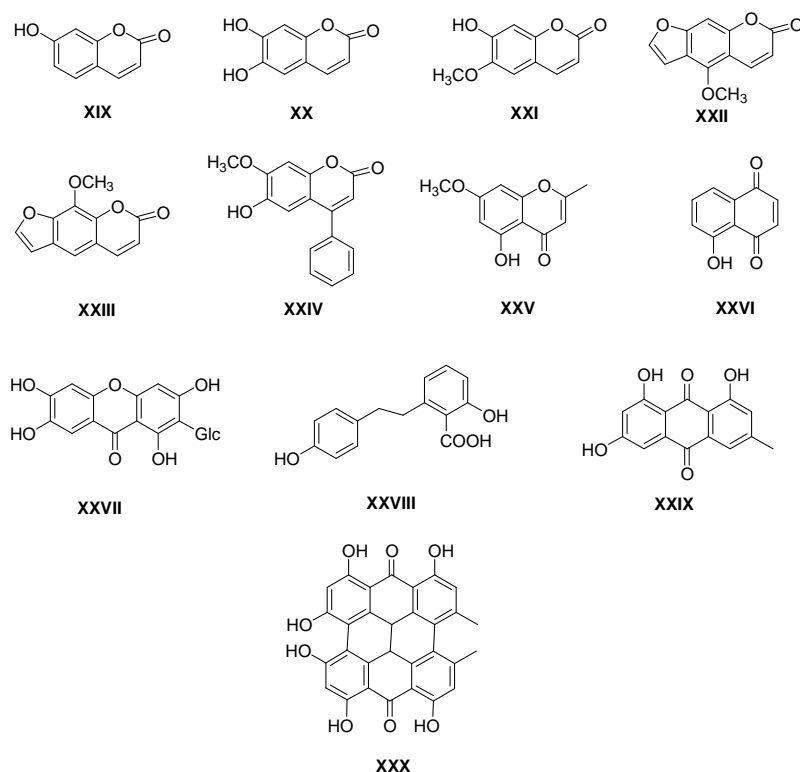


Figura 9. Struttura chimica di alcuni composti fenolici

I flavonoidi **C6-C3-C6** costituiscono una delle più tipiche classi di composti fenolici presenti in quasi tutte le parti delle piante superiori. La loro struttura chimica é costituita da due anelli aromatici A e B e da un anello benzopiranicico C (**Figura 10**).⁴⁴ Nei calconi l'anello C è in una forma aperta; negli auroni è sostituito da un anello a 5 atomi di carbonio. I vari sottogruppi di flavonoidi vengono classificati in base allo stato di ossidazione dell'anello eterociclico C ed alla posizione dell'anello B. Nella maggior parte dei composti (flavanoni, flavoni, flavonoli ed antocianine) l'anello B è in posizione 2; negli isoflavonoidi in posizione 3 e nelle 4-fenil cumarine (neoflavonoidi) è in posizione 4.

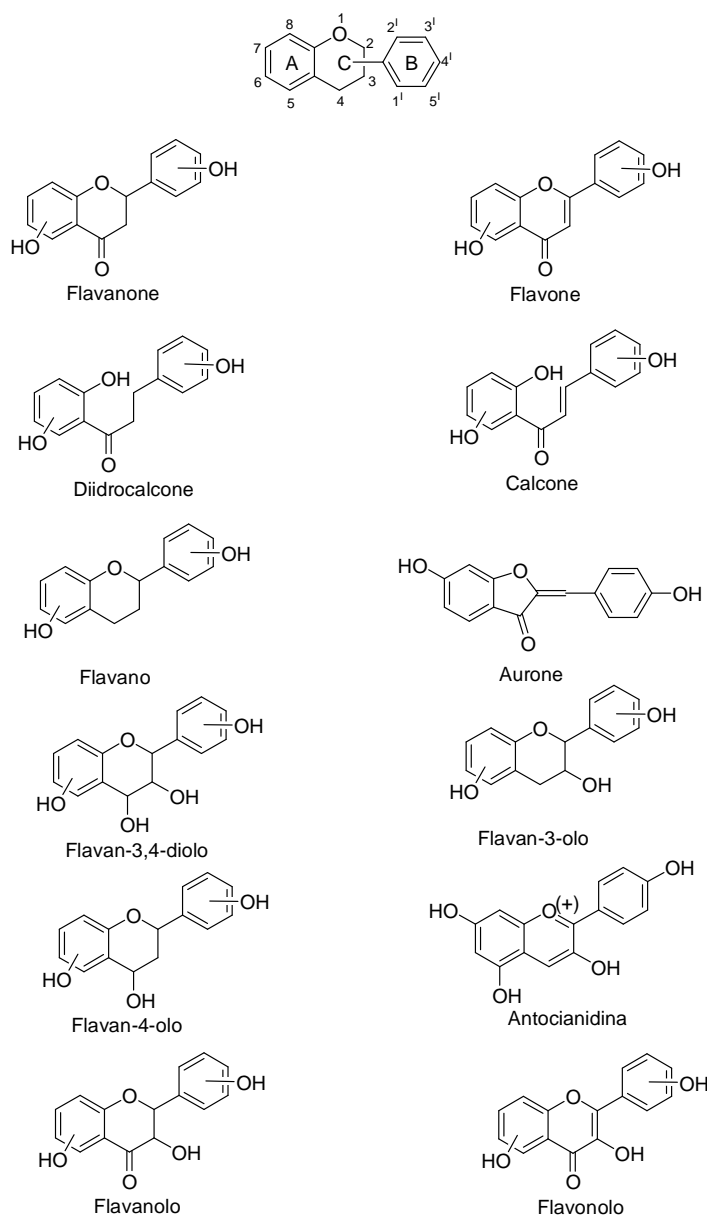


Figura 10. Scheletro generale dei flavonoidi e principali classi

In natura sono presenti, inoltre anche strutture oligomeriche, quali i biflavonoidi (C6-C3-C6)₂, come l'amentoflavone XXXI e la ginkgetina XXXII e le proantocianidine (C6-C3-C6)_n (Figura 11).⁴⁵ Il processo di polimerizzazione può essere visto come parte di una strategia mirante a ridurre la possibilità che le sostanze fenoliche interferiscano con i processi metabolici cellulari. Vanno, infine, ricordate le quattro principali classi di polimeri fenolici: melanine, lignine, tannini e suberina.⁴⁶ Le melanine sono dei pigmenti scuri che spesso si formano in seguito a polimerizzazione ossidativa di substrati *o*-difenolici, normalmente presenti in forma combinata con proteine. La lignina (*lignum* = legno) è un costituente integrale della parete cellulare di tutte le piante vascolari, incluse le specie erbacee, associata alla matrice cellulosa tramite ponti idrogeno o legami covalenti. Questo polimero dà un contributo alla tensione esercitata dalla parete sul contenuto cellulare mentre non sembra influenzare le caratteristiche di elasticità della parete stessa. L'attitudine delle piante a formare lignina viene considerata un fattore decisivo nel processo di adattamento delle piante all'habitat terrestre. La formazione di pareti cellulari lignificate fa sì che piante legnose ed alberi abbiano un fusto rigido ed elementi conduttori per il trasporto di acqua. I tannini sono polimeri raggruppabili, essenzialmente, in due distinti sottogruppi sulla base delle loro caratteristiche strutturali. I tannini condensati o proantocianidine sono polimeri del flavan-3-olo, normalmente non associati a zuccheri; i tannini idrolizzabili sono polimeri che, per idrolisi acida, basica o, in alcuni casi, enzimatica, liberano zuccheri (normalmente D-glucosio) o polioli analoghi ed un acido fenolico. Tali composti sono efficaci come repellenti nei confronti di predatori e parassiti. Una loro caratteristica peculiare, infatti, è l'astringenza, una proprietà legata alla precipitazione delle proteine salivari, che rende i tessuti vegetali sgradevoli per gli animali e che impedisce la loro invasione da parte di organismi parassiti immobilizzando gli enzimi extracellulari. Infine, la suberina è un materiale polimerico legato alle pareti cellulari del periderma, che funge da barriera nei confronti di acqua e vari soluti e la cui formazione viene spesso indotta da ferite provocate nei tessuti vegetali da attacchi fungini o danni meccanici.⁴⁷

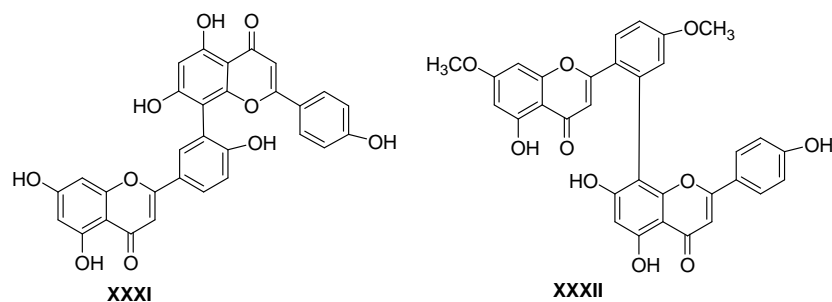


Figura 11. Alcuni composti fenolici (C6-C3-C6)₂

1.2.1 Proprietà chimico-fisiche

La presenza di gruppi ossidrilici influisce notevolmente sulle proprietà chimico-fisiche dei composti fenolici, infatti ne aumenta il carattere idrofilico e conferisce loro un carattere acido. A differenza degli alcoli, i quali hanno un pK_a molto simile a quello dell'acqua ($pK_a \sim 14$), una soluzione acquosa di un composto fenolico presenta una debole acidità ($pK_a \sim 10$). In termini di costante di equilibrio, ciò significa che un composto fenolico in soluzione acquosa tende debolmente a dissociarsi in ione fenossido ed H_3O^+ . I fenoli con pochi gruppi ossidrilici sono solubili in metanolo, etanolo, cloroformio, etere ed etilacetato. Fenoli con una o più catene alifatiche laterali richiedono solventi meno polari per la loro solubilizzazione. Molti glicosidi fenolici sono solubili in acqua mentre i corrispondenti agliconi sono meno solubili, come pure i corrispondenti eteri ed esteri. Tuttavia, generalmente, la solubilità in acqua degli agliconi fenolici aumenta con l'aumentare del numero di ossidrilici presenti sull'anello benzenico.

Per la presenza dell'anello aromatico, le sostanze fenoliche presentano un intenso assorbimento nella regione UV e visibile dello spettro elettromagnetico e tale assorbanza viene notevolmente influenzata dal pattern di distribuzione dei gruppi ossidrilici sull'anello aromatico. Di particolare interesse è l'assorbimento delle radiazioni ultraviolette che fa sì che i composti fenolici possano agire nelle piante da schermo nei confronti delle radiazioni UV.

1.2.2 Attività biologiche dei fenoli

Diverse classi di sostanze fenoliche presentano un'attività antimicrobica in grado di contrastare efficacemente infezioni fungine, batteriche o virali.⁴⁸ Tale attività viene manifestata sia da fenoli preesistenti, che da loro metaboliti che si formano nei tessuti vegetali in seguito all'instaurarsi del processo infettivo (fitoalessine). Al primo gruppo

appartengono fenoli semplici, quali acidi fenolici e cinnamici, flavonoli, alcuni isoflavoni, quali il luteone e diidrocalconi, quale la florizina; mentre fitoalessine di natura fenolica appartengono, generalmente, alle classi degli isoflavonoidi, dei flavani, degli stilbeni, dei fenantreni, dei pterocarpani e delle furanocumarine. Numerose ricerche sono state condotte per valutare il meccanismo con cui si esplica la tossicità dei composti fenolici. Si è riscontrato come la lipofilità della molecola e/o la presenza di almeno un gruppo ossidrilico acido costituiscano un requisito strutturale essenziale per una buona attività antifungina. La lipofilità, infatti, permette alla molecola fenolica attiva di penetrare la membrana cellulare del patogeno e successivamente il gruppo ossidrilico può agire disaccoppiando la fosforilazione ossidativa. Il meccanismo di tossicità dei tannini viene, invece, collegato alla loro capacità di inibire gli enzimi extracellulari del patogeno che gli impedisce di penetrare nelle cellule dell'ospite, ovvero alla loro capacità di depauperare il substrato dei nutrienti necessari al patogeno, con la complessazione dei metalli e l'insolubilizzazione delle proteine, od, infine, ad un'azione diretta sulle membrane del patogeno con conseguente inibizione della fosforilazione ossidativa.⁴⁹ Inoltre, i fenoli ossidati possono svolgere un ruolo importante nella reazione di polimerizzazione ossidativa che coinvolge fenoli, amminoacidi e proteine e che porta alla formazione delle melanine.⁵⁰ Tale reazione porta alla formazione di una barriera che ostacola l'ulteriore sviluppo del patogeno e nello stesso tempo, sottraendo ossigeno e nutrienti e depaupera il substrato necessario allo sviluppo del patogeno. Anche l'accumulo postinfettivo dei fenoli preesistenti, può essere considerato un aspetto importante della risposta dei tessuti infetti. In quasi tutte le specie vegetali studiate, la sintesi delle fitoalessine è spesso associata ad altri tipi di risposte difensive della pianta quali la sintesi di lignina e tannini e la deposizione di ulteriori strati di parete cellulare. In definitiva, la sequenza di eventi che costituiscono la risposta difensiva, può includere in successione morte e necrosi della cellula ospite, accumulo di fenoli tossici, modificazioni delle pareti cellulari dell'ospite ad opera di sostituenti fenolici (reazioni di esterificazione) o creazioni di barriere fisiche ed infine produzione di specifiche sostanze antibiotiche quali le fitoalessine. Questa sequenza di eventi fa sì che si possano distinguere due momenti nella strategia difensiva della pianta. In una prima fase si verifica un rapido accumulo di fenoli nel sito dell'infezione, i quali agiscono rallentando o arrestando la crescita del patogeno fintanto che non viene attivata la seconda fase del meccanismo di difesa, nel corso della quale l'ospite può inibire completamente il patogeno.

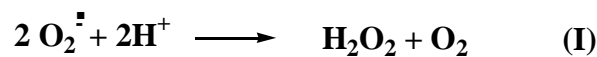
I composti fenolici assumono una grande importanza per l'uomo sia per il ruolo che svolgono negli alimenti, che abbraccia anche applicazioni tecnologiche, che per quello che svolgono nell'organismo umano, che richiama considerazioni a livello nutrizionale. Essi contribuiscono all'aroma ed al sapore di molti cibi e bevande; sono coloranti naturali, direttamente presenti negli alimenti o usati come additivi dall'industria alimentare; esplicano, infatti, attività antimicrobica ed antiossidante negli alimenti, favorendone la conservazione.^{24,51} D'altra parte, se a basse concentrazioni proteggono il cibo dal deterioramento ossidativo e microbiologico, ad alte concentrazioni possono interagire con proteine, carboidrati, minerali contribuendo al sapore amaro ed astringente di alcuni alimenti e bevande.⁵² Per quanto concerne il ruolo nell'organismo umano, alcune sostanze fenoliche sono radical scavengers ed esplicano un'azione contro le principali patologie legate allo stress ossidativo (tumori, malattie cardiovascolari, osteoporosi, diabete, malattie neurodegenerative).⁵³ Diversi composti fenolici hanno poi funzioni specifiche. I tannini, ad esempio, svolgono azione antivirale e antibatterica, sono attivi contro l'herpes labiale; molti flavonoidi hanno azione ipocolesterolemizzante; alcuni isoflavoni modulano gli ormoni estrogeni.

1.3 Stress ossidativo–Antiossidanti naturali

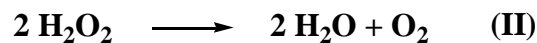
1.3.1 I radicali liberi

I radicali liberi possono essere definiti come molecole o frammenti molecolari contenenti uno o più elettroni spaiati nell'orbitale atomico o molecolare più esterno.⁵⁴ L'energia corrispondente a questa configurazione determina elevata instabilità e reattività, a causa delle quali i radicali liberi danno inizio a reazioni autocatalitiche che si propagano a catena in modo incontrollato. I radicali liberi dell'ossigeno o, più generalmente, le specie reattive dell'ossigeno (ROS), così come le specie reattive dell'azoto (RNS), sono sottoprodotti del normale metabolismo cellulare. Nella cellula, la fonte principale di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) è rappresentata dai mitocondri, a livello dei quali l'ossigeno molecolare è ridotto ad acqua mediante l'aggiunta in sequenza di quattro elettroni. Tuttavia, durante tale processo, vengono prodotte basse quantità di forme reattive, parzialmente ridotte, prodotti collaterali della respirazione mitocondriale. I più comuni sono l'anione superossido ($O_2^{\cdot-}$), il radicale idrossile (OH^{\cdot}), il radicale idroperossile (HO_2^{\cdot}) e l'ossigeno singoletto (O^{\cdot}).

L'anione superossido ($O_2^{\cdot-}$), un ossidante fortemente reattivo, si forma per addizione di un singolo elettrone dall'ossigeno molecolare; viene considerato il ROS "primario" in grado di interagire con altre molecole e dare origine a ROS "secondari", sia direttamente che indirettamente tramite processi enzimatici;⁵⁵ viene detossificato dalla superossido dismutasi (SOD) a perossido di idrogeno ed ossigeno, secondo la reazione (I):



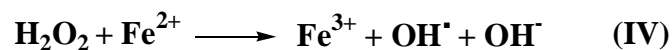
A sua volta, il perossido d'idrogeno può essere disattivato secondo due vie. La prima è una reazione catalizzata dall'enzima catalasi che lo converte molto velocemente ad acqua e ossigeno (II):



La seconda (III) è una reazione che vede implicata la glutatione perossidasi (GPX), una sostanza endogena che si ossida reagendo con il perossido di idrogeno a basse concentrazioni e producendo acqua, impedendo che questa reazione dannosa avvenga a spese di strutture cellulari:



Il radicale idrossile ($OH\cdot$), forma neutra dello ione idrossido, viene prodotto dal perossido d'idrogeno in presenza di metalli di transizione, come il ferro, il rame, il cromo, il cobalto, che donano o accettano elettroni liberi durante le reazioni intracellulari: un esempio è la reazione di Fenton che avviene in presenza di ferro +2 (IV):



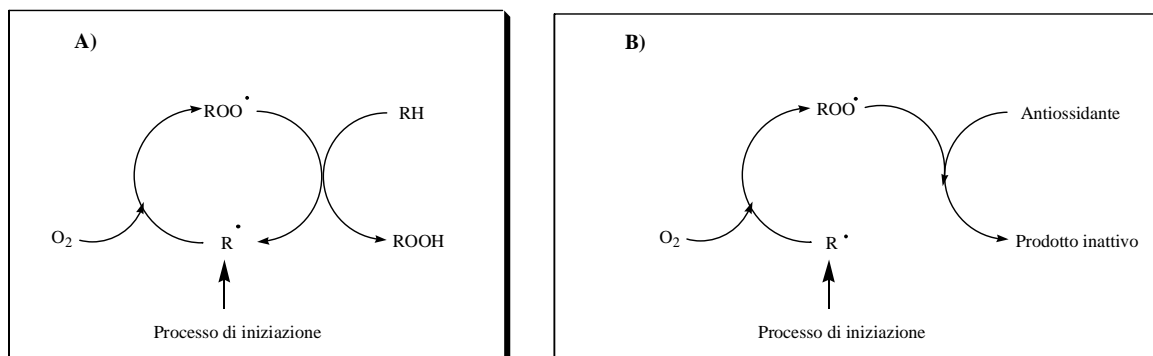
Il radicale idroperossile ($HO_2\cdot$) che si forma da una protonazione dell'anione superossido ($O_2^{\cdot-}$) ha una reattività maggiore rispetto al radicale da cui ha origine e si pensa sia in grado di attraversare le membrane biologiche.⁵⁶

La formazione di specie reattive radicaliche, oltre che a livello mitocondriale, può avvenire anche a livello della membrana plasmatica; nei perossisomi durante il metabolismo dell'acido arachidonico ad opera della lipoossigenasi; a livello del reticolo endoplasmatico liscio; durante i processi infiammatori acuti e cronici per effetto della rapida attivazione della NADPH ossidasi, un enzima presente in macrofagi e leucociti, che ossida il NADPH riducendo l'ossigeno ad anione superossido ($O_2^{\cdot-}$); per effetto dell'esposizione e dell'assorbimento di radiazioni ionizzanti od eccitanti dell'ambiente o prodotte da sorgenti artificiali. In condizioni fisiologiche, i radicali generati comunemente nelle reazioni metaboliche di trasferimento di singoli elettroni sono rapidamente neutralizzati da sistemi protettivi non enzimatici rappresentati dalla Vitamina E, dalla Vitamina C, dal glutatione e dall'ubichinone ed enzimatici come la superossido dismutasi, la catalasi e la glutatione perossidasi. Quando la produzione di radicali è eccessiva, si viene a determinare un particolare stato, definito **stress ossidativo**, che indica la rottura dell'equilibrio tra i componenti reattivi ossidanti e i meccanismi di difesa antiossidanti, a discapito di questi ultimi.⁵⁷

1.3.1.1 Meccanismo di azione dei radicali liberi

L'accumulo dei danni provocati dai radicali liberi, generato da una mancanza di equilibrio tra i sistemi di produzione e di neutralizzazione all'interno di un organismo vivente, determina alterazioni a livello cellulare. In caso di sovrapproduzione di radicali è più facile che si possano manifestare danni a carico di macromolecole, quali il DNA nucleare e/o mitocondriale, soprattutto da parte del radicale idrossile OH^{\cdot} , alterando le purine, le pirimidine e il desossiribosio.⁵⁸ I radicali possono essere anche promotori, a livello proteico, dell'ossidazione dei residui aminoacidici, in particolar modo di cisteina e metionina⁵⁹ e quindi portare alla formazione di legami crociati, mediati, ad esempio, da ponti disolfuro. Tali specie possono inoltre determinare una reazione a catena a carico dei lipidi, sia della membrana plasmatica che delle membrane degli organelli, chiamata perossidazione lipidica. Tale processo può essere schematizzato in diverse fasi: una reazione di inizio in cui gli acidi grassi poliinsaturi reagiscono con i radicali liberi che catturano l'atomo di H per formare i radicali dell'acido grasso (L^{\cdot}); una reazione di propagazione in cui tali radicali reagiscono con O_2 per formare radicali lipoperossidici che danno inizio alla propagazione reagendo con altri acidi grassi poliinsaturi e formando lipidi idroperossidi (LOO^{\cdot}) e nuovi radicali liberi di acidi grassi. Pertanto, si ottengono miscele

di idroperossidi lipidici che automantengono il processo perossidativo (**Schema 1A**) fino a che non intervengono reazioni di terminazione. Lo **Schema 1B**) mostra come tali processi possano essere arrestati con l'impiego di "antiossidanti", specie che inibiscono la formazione di nuovi radicali.



Schema 1. A) Processo perossidativo. B) Processo perossidativo bloccato dall'antiossidante

Le reazioni perossidative determinate da radicali liberi sono responsabili direttamente o indirettamente di alcune patologie quali sindromi respiratorie, alcune forme tumorali,⁶⁰ retinite pigmentosa,⁶¹ danni al sistema cardiocircolatorio (ipertensione, aterosclerosi, ictus ed infarto),⁶² artrite reumatoide e alterazioni osteoarticolari,⁶³ demenza di Alzheimer e morbo di Parkinson.⁶⁴

1.3.2 Sistemi antiossidanti

Per proteggersi dal danno ossidativo, gli organismi viventi, tra cui anche gli esseri umani, utilizzano una serie di sistemi di difesa, localizzati in modo strategico nei vari distretti cellulari. Con tale termine si includono sia le difese fisiche che i meccanismi antiossidanti che operano con azioni difensive e riparatrici.

Gli enzimi specifici che interagiscono con le specie reattive dell'ossigeno sono la superossido dismutasi (SOD) e la glutazione perossidasi (GPx), presenti nel citosol e nei mitocondri⁶⁵ e la catalasi (CAT), localizzata nei perossisomi. Nell'uomo esistono tre forme di SOD (citosolica, mitocondriale ed extracellulare), regolate da meccanismi indipendenti.⁶⁶ Solitamente questi enzimi sono localizzati in prossimità dei siti di produzione dell'anione superossido e del perossido d'idrogeno sui quali agiscono.⁶⁷

Gli antiossidanti possono essere distinti in primari e secondari. Quelli primari interferiscono con l'inizio della catena lipoperossidativa ed includono chelanti dei metalli di transizione, *o*-idrossibenzofenoni, che proteggono le sostanze organiche dalla degradazione fotochimica e

composti solforati che reagiscono con gli idroperossidi; quelli secondari reagiscono con i radicali propagatori, attraverso reazioni di trasferimento di idrogeno o elettronico, reazioni di addizione, terminando la catena lipoperossidativa o producendo un nuovo radicale meno reattivo e più stabile. Tra questi, vi sono i fenoli, le ammine aromatiche, i dialchilnitrossidi, i diarilnitrossidi e idrossilamine. Come accennato precedentemente, alcuni antiossidanti vengono sintetizzati direttamente nel nostro organismo (endogeni); altri, come i tocoferoli, i carotenoidi e l'acido ascorbico vengono assunti con la dieta (esogeni).

1.3.2.1 Antiossidanti esogeni

Molte sostanze presenti in natura nei vegetali hanno la capacità di reagire con i radicali liberi. Alcune di esse interrompono le reazioni a catena che portano alla formazione di ulteriori radicali, impedendo così la propagazione del danno cellulare; altre svolgono una funzione di scavenger delle ROS, ossidandosi a loro volta e richiedendo di essere rigenerate per riacquistare la loro funzione.⁶⁸ Tra gli antiossidanti, vi sono i polifenoli riportati in **Figura 12**, presenti in alimenti di origine vegetale, quali frutta, verdura, olio, vino, tè, cioccolato ed altri prodotti a base di cacao.⁶⁹ Sebbene la biodisponibilità di questi composti rappresenti un problema che ancora non ha trovato una risposta univoca e convincente, studi epidemiologici hanno evidenziato che, all'aumentare del loro consumo, è associata una riduzione del rischio di malattie cardiovascolari, tumori e disordini neurodegenerativi,⁷⁰ suggerendo che gli effetti benefici siano da attribuirsi, soprattutto, alla capacità dei polifenoli di combattere lo stress ossidativo che caratterizza e accomuna queste patologie. Il potere antiossidante di tali composti dipende dal numero di anelli fenolici, dal numero e dalla posizione di gruppi idrossilici, dalla presenza di doppi legami. In particolare, si è visto che è determinato dalla presenza di un sistema catecolico, di un'insaturazione in posizione 2,3 associata ad una funzione 4-carbonilica nell'anello C e di gruppi funzionali capaci di chelare i metalli di transizione.⁷¹ Inoltre, le differenze strutturali determinano variabilità nella biodisponibilità di questi composti, sia in termini di diverso assorbimento nel tratto gastroenterico che di metabolismo e di capacità di distribuzione in tessuti e organi. In base alla loro maggiore o minore capacità di proteggere dal danno ossidativo le macromolecole, all'interno di ogni classe di polifenoli è stata stabilita una gerarchia tra i vari composti.⁷²

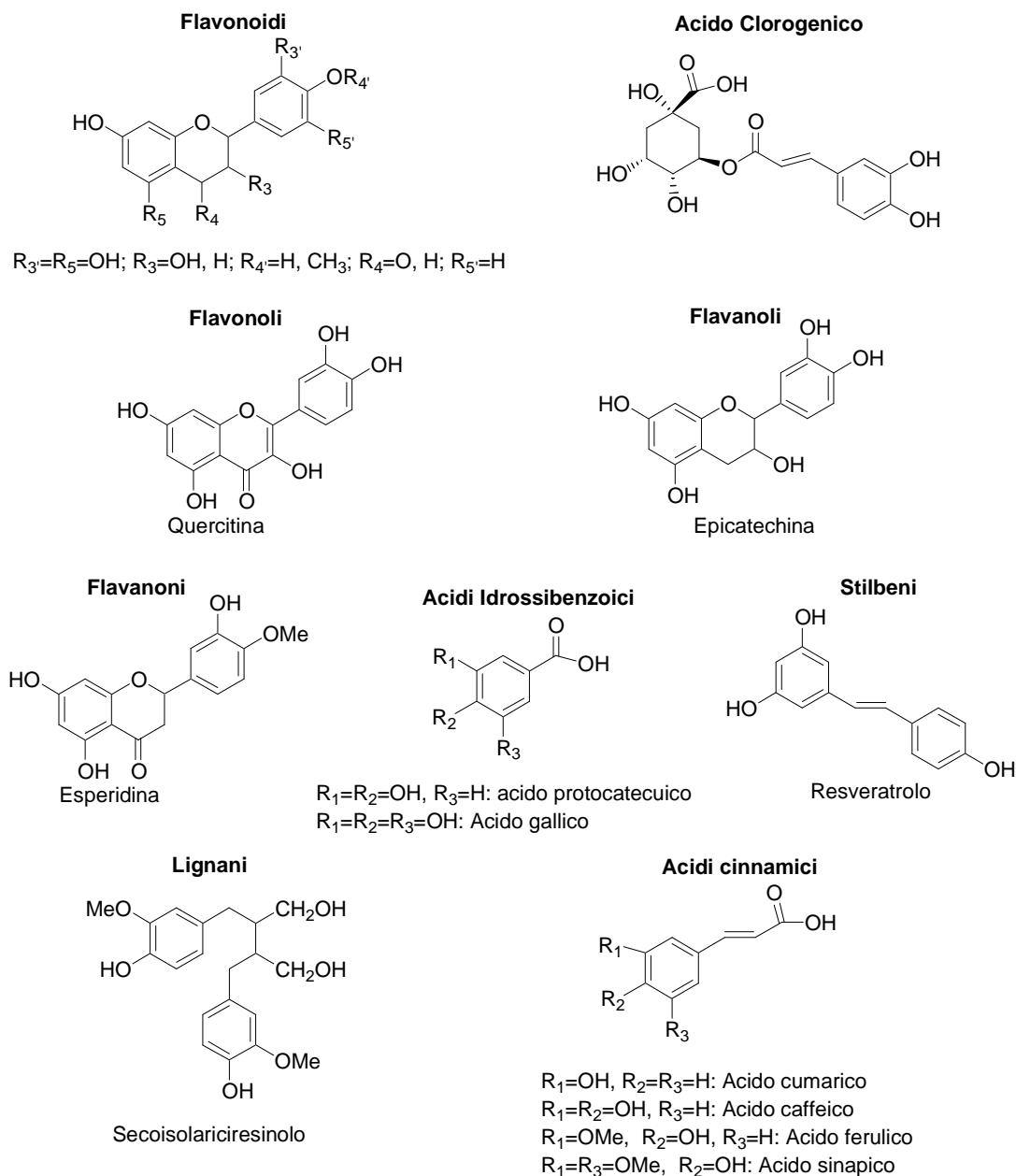


Figura 12. Principali antiossidanti esogeni

Le proprietà antiossidanti sono state considerate per molto tempo le uniche funzioni dei polifenoli,⁷³ ma alla luce di nuovi dati sperimentali, questo sembra essere un modo troppo semplice e riduttivo di considerare la loro attività.⁷⁴ Infatti, nei sistemi biologici sono in grado di modulare l'espressione e/o l'attività di enzimi come telomerasi,⁷⁵ ciclossigenasi,⁷⁶ lipossigenasi,⁷⁷ xantina ossidasi,⁷⁸ metalloproteinasi,⁷⁹ enzima di conversione dell'angiotensina,⁸⁰ protein chinasi,⁸¹ di interagire con le vie di trasduzione del segnale,⁸² con i recettori cellulari,⁸³ con le vie apoptotiche caspasi-dipendenti,⁸⁴ con la regolazione del ciclo cellulare⁸⁵ e con l'induzione di enzimi detossificanti.⁸⁶ Sono anche in grado di

aumentare la produzione di vasodilatatori, come l'ossido nitrico,⁸⁷ influenzare la funzione delle piastrine⁸⁸ e competere con il glucosio nel trasporto attraverso le membrane cellulari.⁸⁹ Non bisogna, tuttavia, ignorare l'attività pro-ossidante dei polifenoli,⁹⁰ che può avere effetti opposti sui processi fisiologici cellulari di base. Infatti, se da un lato, i polifenoli possono migliorare la sopravvivenza cellulare agendo da antiossidanti; dall'altro, come proossidanti, possono indurre apoptosi, necrosi o arresto della proliferazione cellulare.⁹¹

1.3.2.2 Meccanismo di azione degli antiossidanti

In **Figura 13** sono riportati alcuni antiossidanti che verranno presi come esempio per discutere alcuni dei possibili meccanismi di azione.

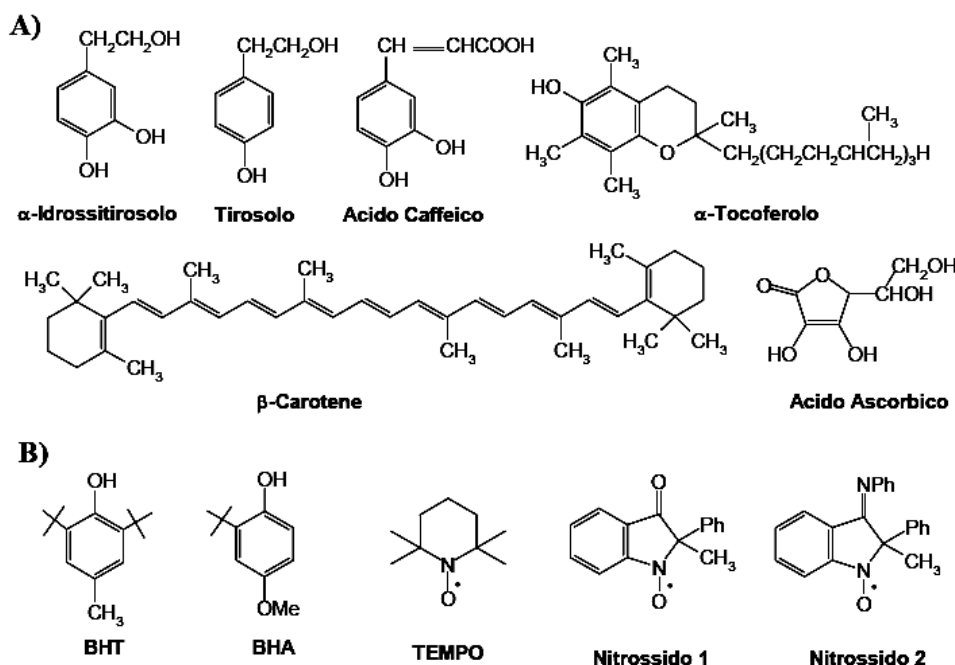
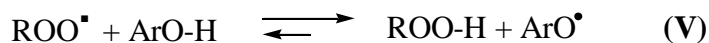


Figura 13. A) Alcuni antiossidanti naturali. B) Alcuni antiossidanti sintetici

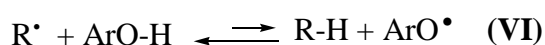
a) Inibizione per cessione di un atomo di idrogeno

L'acido ascorbico, i tocoferoli ed i derivati fenolici in genere, che indicheremo genericamente con ArOH, svolgono la loro attività antiossidante tramite la cessione di un atomo di idrogeno secondo la reazione (V). L'inattivazione del radicale perossidico impedisce che il processo ossidativo si propaghi anche se un nuovo radicale viene generato. Tale reazione è in genere molto efficace e termodinamicamente favorita poiché il legame O-H fenolico è meno forte (BDE: Bond Dissociation Enthalpy \cong 80 kcal/mole) di

quello idroperossilico (BDE \cong 106 kcal/mole). Tuttavia, questa reazione è fortemente condizionata da effetti di solvatazione⁹² e quindi condizionata dal sistema in cui avviene.

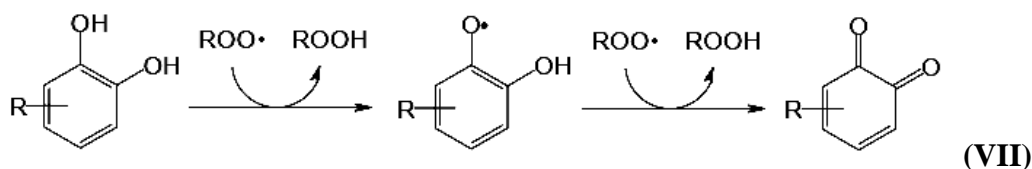


Con lo stesso meccanismo, l'antiossidante può cedere un atomo di idrogeno anche ad un radicale alchilico, come mostrato nella reazione (VI), bloccando anche in questo caso il processo perossidativo.



Tuttavia, tale reazione è sfavorita rispetto alla (V). Infatti, a livello dei sistemi lipidici, i radicali al carbonio che si formano durante la perossidazione degli acidi grassi poliinsaturi sono solitamente di tipo allilico o bis-allilico come nel caso degli acidi omega-6 e omega-3, rispettivamente. Poiché l'energia di dissociazione di un legame O-H fenolico è simile a quella di un legame C-H allilico o bis-allilico, la reazione (VI) non è molto efficiente e, pertanto, il radicale al carbonio reagisce più facilmente con l'ossigeno con formazione del radicale perossidico secondo la reazione (V).

La maggiore attività antiossidante dei polifenoli sia a struttura catecolica che idrochinonica rispetto a quella dei semplici fenoli viene spiegata considerando che il semichinone che si forma nel primo stadio della reazione può inattivare un secondo perossile trasformandosi in chinone secondo la reazione (VII). Questo meccanismo è supportato dal fatto che la BDE del legame O-H del semichinone è di ca. 55 kcal/molec.⁹³



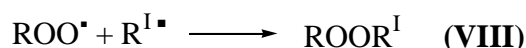
b) Inibizione per trasferimento elettronico (Electron Transfer)

Alcuni antiossidanti, come i β -caroteni, non possiedono atomi di idrogeno mobili (cioè facilmente estraibili), ma sono molecole “elettron ricche”⁹⁴ e pertanto possono essere ossidate da radicali all’ossigeno, come i perossili, gli alcossili e l’idrossile.⁹⁵

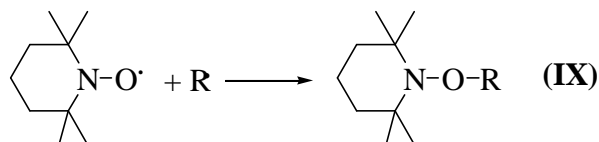
Un criterio semplice per valutare la fattibilità di un processo di trasferimento elettronico, in base alla Teoria di Marcus,⁹⁶ consiste nel verificare che la differenza tra il potenziale di ossidazione del donatore ed il potenziale di riduzione dell’accettore sia inferiore a 0.4 V. Pertanto, nel caso del β -carotene, avendo questo composto un potenziale di ossidazione di 0.7 V vs. NHE e un perossile un potenziale di riduzione di 0.8 V vs. NHE, il processo di trasferimento elettronico è favorito (la differenza di potenziale è pari a -0.1) ed è esoergonico di 2.34 kcal (-0.1 V x 23.36 kcal/V). Inoltre, con radicali come l’idroperossile, gli alcossili e l’idrossile che hanno potenziali di riduzione più positivi degli alchilperossili, la reazione di ossidazione dei β -caroteni avviene facilmente.

c) Inibizione attraverso intrappolamento di radicali (Scavenging)

Tutti i radicali che prendono parte al processo perossidativo possono essere resi inattivi in seguito a reazione di accoppiamento con un altro radicale, secondo la reazione (VIII). Tale reazione ha un’energia di attivazione quasi nulla e quindi avviene con una velocità prossima alla diffusione.⁹⁷

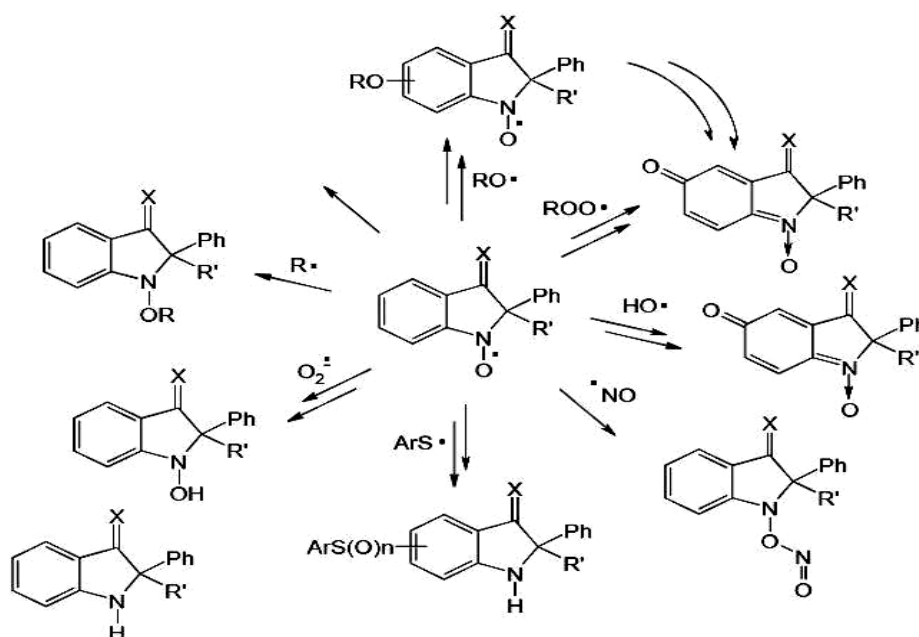


Alcune sostanze, quali gli aminossili o nitrossidi radicali, hanno un elettrone disaccoppiato e sono quindi specie radicaliche ma, in maniera analoga ai fenossili radicali, sono poco reattive nei confronti di molecole non radicaliche. Queste sostanze reagiscono con i radicali alchilici ad una velocità controllata dalla diffusione,⁹⁸ dando luogo alla formazione di alcossiammine come indicato nella reazione (IX).



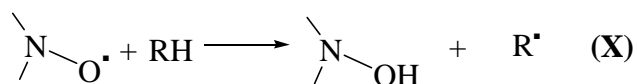
I nitrossidi **1** e **2** riportati in **Figura 13 B**, oltre che con i radicali al carbonio,⁹⁹ si accoppiano efficacemente anche con i radicali all’ossigeno (HO^\bullet ,¹⁰⁰ RO^\bullet ,¹⁰¹ ROO^\bullet ,¹⁰² e

ArCOO^{•103}) per dare prodotti non più paramagnetici. Nello **Schema 2** vengono riassunte le reazioni attraverso cui tali composti esercitano la loro azione antiossidante.¹⁰⁴



Schema 2. Reattività di nitrossidi indolinonici nei confronti di diversi radicali.

Sulla base della reattività mostrata, sono stati intrapresi diversi studi in cui i nitrossidi sono stati utilizzati come antiossidanti in sistemi biologici sottoposti a “stress ossidativo”. In particolare, è stata studiata la loro attività antiossidante nella perossidazione dell’acido linolenico,¹⁰⁵ dei microsomi di fegato di ratto,¹⁰⁶ delle lipoproteine a bassa densità,¹⁰⁷ delle proteine,¹⁰⁸ del DNA.¹⁰⁹ In tutti i casi è stato dimostrato che tali composti possiedono una notevole attività antiossidante. Tuttavia, essendo dei radicali, possono avere una certa attività pro-ossidante. Infatti, attraverso una reazione di cessione di idrogeno, danno luogo alla formazione di un nuovo radicale, come indicato genericamente nella reazione (X), ma l’idrossilammina che si forma dal nitrossido può funzionare a sua volta da antiossidante per cessione di idrogeno.¹¹⁰ Infatti, in tale composto l’energia di dissociazione del legame O-H è molto simile a quello di un comune antiossidante, la Vitamina E (79.3 Kcal/mole).¹¹¹



1.4 La green chemistry

La green chemistry, detta anche chimica verde o chimica sostenibile, è un nuovo approccio della chimica che applica principi innovativi nella progettazione di processi chimici e rappresenta uno strumento fondamentale per conseguire uno sviluppo industriale sostenibile, prevenendo e riducendo sostanzialmente l'inquinamento e l'impatto ambientale. E' nata negli anni novanta negli USA, quando divenne chiaro che i regolamenti normativi emessi nei decenni precedenti, come il "Clean Air Act" (1970) o il "Toxic Substances Control Act" (1976), pur apportando miglioramenti in termini di inquinamento ambientale, non erano sufficienti e comportavano costi elevati per le amministrazioni pubbliche. Il primo atto pubblico che ha affrontato il problema della prevenzione è stato il "Pollution Prevention Act" del 1990. Un anno dopo, l'Environment Protection Agency (EPA) ha definito la green chemistry come la progettazione di prodotti e processi chimici che riducono o eliminano l'uso o la formazione di sostanze pericolose. Tale concetto racchiude tutti gli aspetti e i tipi di processi chimici che riducono l'immissione di sostanze chimiche nocive per l'ambiente e per la salute umana. In Europa lo sviluppo della green chemistry è stato più lento. In Italia è stato istituito il Consorzio Interuniversitario "La Chimica per l'Ambiente" (INCA) e in Spagna l'Istituto Universitario di Barcellona (IUCT). Con il passare degli anni, la green chemistry ha avuto una forte espansione anche nelle Università e nel settore R&D delle industrie chimiche e sono stati introdotti riconoscimenti per la sua attuazione. Nel 1995 è stato istituito dall'amministrazione Clinton il premio presidenziale per la green chemistry (Presidential Green Chemistry Challenge Awards); nel 1998, accogliendo una proposta dell'EPA, è stato istituito all'interno dell'OCSE (Organizzazione per la Cooperazione e lo Sviluppo Economico) un Comitato Guida per le attività della chimica sostenibile. Nel 1999 è stata introdotta nel mondo scientifico la rivista a carattere internazionale "Green Chemistry".

1.4.1 I principi della green chemistry

Per valutare quanto una sostanza chimica, una reazione o un processo industriale, rispondano al concetto "green" sono stati sviluppati da Anastase e Warnerper,¹¹² dodici principi su cui è fondata la green chemistry:

1. E' meglio prevenire la formazione di rifiuti che doverli trattare dopo che sono stati prodotti.
2. I metodi di sintesi dovrebbero essere ideati per incorporare il più possibile nel prodotto finale tutti i materiali usati nel processo (principio di atom economy).

3. Se possibile, le metodologie di sintesi dovrebbero essere ideate per usare o generare sostanze poco o per nulla tossiche per la salute umana e l'ambiente.
4. Dovrebbero essere ideati prodotti chimici che mantengono l'efficacia funzionale, riducendo la tossicità.
5. L'uso di sostanze ausiliarie (solventi, agenti di separazione, ecc.) dovrebbe essere reso non necessario, se possibile, e innocuo, se necessario.
6. I fabbisogni di energia dovrebbero essere valutati in base al loro impatto ambientale ed economico e minimizzati. Le reazioni di sintesi dovrebbero essere condotte a temperatura e pressione ambiente.
7. Una materia prima dovrebbe essere rinnovabile piuttosto che esauribile, quando sia fattibile tecnicamente ed economicamente.
8. La formazione di derivati non necessari (protezione/deprotezione, modifiche temporanee di processi fisico/chimici) dovrebbe essere evitata, se possibile.
9. I metodi catalitici sono più selettivi di quelli stechiometrici.
10. I prodotti chimici dovrebbero essere ideati in maniera tale che non persistano nell'ambiente e si degradino in prodotti innocui.
11. E' necessario sviluppare ulteriormente le tecnologie analitiche per permettere il monitoraggio in tempo reale durante i processi ed il controllo prima della formazione di sostanze pericolose.
12. Le sostanze usate in un processo chimico e la loro forma dovrebbero essere scelte in modo da minimizzare il potenziale per gli incidenti chimici (incluso emissioni, esplosioni ed incendi).

Attuare tali principi nella progettazione e produzione di sostanze chimiche non è altro che semplice, poiché è estremamente difficile valutare l'ecocompatibilità di una sostanza rispetto ad un'altra o definire l'impatto ambientale di un certo tipo di processo produttivo rispetto ad un altro. Infatti, la dinamica dei sistemi coinvolti è estremamente complessa e per fare una valutazione completa si dovrebbe conoscere l'intero ciclo di vita del prodotto o del processo, spesso impossibile da attuare. Pertanto, realisticamente nessun processo o reazione sarà ad impatto zero sull'ambiente. Tuttavia, è di interesse dell'intera comunità scientifica ridurre l'impatto ambientale di qualunque processo industriale non soltanto per trarne vantaggi dal punto di vista ambientale ma anche economico e sociale.

Con l'obiettivo di una sua applicazione, la green chemistry si può suddividere in aree di ricerca fondamentali che si basano sull'utilizzo di materiali di partenza e processi alternativi a quelli convenzionali; di condizioni di reazione alternative per l'ottenimento

dei prodotti finali. E' ovvio che tali aree sono strettamente correlate. Infatti, utilizzare materiali di partenza alternativi implica spesso l'uso di reagenti o condizione di reazioni diverse da quelle tradizionali.

Nello specifico, prestando particolare attenzione ad alcuni dei principi fondamentali della Green Chemistry, l'attività di ricerca di questo dottorato ha previsto l'introduzione di sistemi catalitici in solventi innovativi ed ecocompatibili, lo sviluppo di procedure sintetiche in assenza di solventi, e la sintesi di molecole ad elevato valore aggiunto, utilizzando come materiali di partenza i polifenoli contenuti negli scarti agroindustriali.

1.4.2 Le reazioni di ossidazione

Nell'ambito delle reazioni organiche, i processi ossidativi hanno un ruolo importante per l'introduzione di modifiche strutturali nei composti organici e la sintesi di fine-chemicals. Generalmente, tali processi vengono condotti con reagenti stechiometrici altamente tossici come il bicromato di potassio (K_2CrO_4), il periodato di sodio ($NaIO_4$) e il permanganato di potassio ($KMnO_4$).

Per ridurre l'impatto ambientale di tali processi, da anni l'attenzione è rivolta all'impiego di ossidanti ecocompatibili quali il perossido di idrogeno (H_2O_2) e l'ossigeno molecolare (O_2). Tali reagenti hanno, però, un potenziale redox troppo basso per ossidare la maggior parte delle sostanze organiche naturali; è quindi necessario una loro attivazione da parte di catalizzatori. In generale tali specie sono costituiti da metalli di transizione (Fe, Mn, Co, Rh, Mb, Re) in fase omogenea oppure supportati su matrici organiche o inorganiche (catalisi eterogenea). Tramite reazione con l' H_2O_2 , tali specie metalliche tendono a formare perossocomplessi di varia struttura che rappresentano le specie attive dei processi di ossidazione.

2 SCOPO DELLA RICERCA

L'attività di ricerca svolta durante il triennio di dottorato si è inserita in un'ampia tematica sviluppata ormai da alcuni anni presso il Laboratorio di Chimica Organica e delle Sostanze Organiche Naturali dell'Università degli Studi della Tuscia, Dipartimento di Agrobiologia e Agrochimica, Unità di Ricerca del Consorzio Interuniversitario "La Chimica per l'Ambiente" (INCA) il cui responsabile scientifico è il Prof. E. Mincione.

Gli obiettivi principali di questa tematica sono la messa a punto di processi ossidativi a basso impatto ambientale e la valorizzazione chimica di sostanze fenoliche presenti negli scarti agroindustriali. Pertanto, prestando particolare attenzione ad alcuni dei principi della green chemistry, sono state sviluppate nuove metodologie di ossidazione a basso impatto ambientale utilizzando il sistema catalitico acqua ossigenata (H_2O_2)/metiltriossorenio (CH_3ReO_3 , MTO) sia in fase omogenea che eterogenea in solventi organici tradizionali. Tali metodologie sono state applicate per la modificazione chimica di sostanze organiche naturali maggiormente presenti negli scarti agroindustriali per preparare nuove molecole bioattive e fine-chemicals in accordo con il principio di "bioraffineria" introdotto nel 7° Programma Quadro della ricerca europea.

Nell'ambito dei processi catalitici, allo scopo di ridurre l'impatto ambientale, una prima parte dell'attività di ricerca di questo dottorato ha riguardato la messa a punto della metodica di ossidazione di sostanze organiche con il complesso acqua ossigenata (H_2O_2)/metiltriossorenio (CH_3ReO_3 , MTO) in solventi di reazione "green", quali i liquidi ionici (IL) e il dimetil carbonato (DMC).^{113, 114}

Una seconda parte ha riguardato la messa a punto di procedure sintetiche a basso impatto ambientale a partire da molecole presenti negli scarti della lavorazione delle olive e dei cereali (acidi cinnamici, tirosolo ed alcol omovanillico) per l'ottenimento di molecole ad elevato valore aggiunto. In particolare sono stati sintetizzati:

- a) 4-vinil fenoli, antiossidanti e fine-chemicals di interesse industriale nel settore alimentare, cosmetico e dei materiali polimerici, via decarbossilazione di acidi cinnamici in microonde (MW) e in assenza di solventi;¹¹⁵
- b) 4-aril-diidrocurmarine, di cui è nota l'attività inibitoria dell'HIV, per condensazione tra acidi cinnamici e tirosolo; dalla successiva idrolisi di tali composti sono state ottenute nuove molecole antiossidanti;

c) idrossitirosolo a partire da tirosolo ed alcol omovanillico, utilizzando agenti ossidanti efficienti quali i reattivi dello iodio ipervalente e lavorando in condizioni blande di reazione.^{116, 117}

Le procedure sintetiche utilizzate per ottenere le 4-aril-diidrocoumarine e l'idrossitirosolo hanno richiesto la protezione selettiva della funzione alcolica. Sono state, quindi, messe a punto nuove metodologie di protezione chemoselettiva di funzioni alcoliche presenti nei fenoli utilizzati, estese poi ad altre sostanze fenoliche largamente diffuse in natura.¹¹⁸

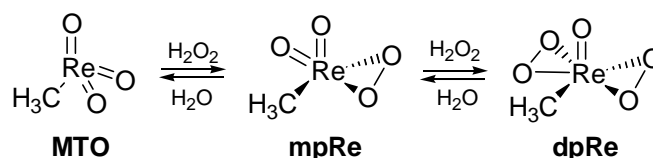
3 RISULTATI E DISCUSSIONE DEI DATI

3.1 Ossidazioni catalitiche con il sistema ossidante H₂O₂/MTO in liquidi ionici e dimetil carbonato

3.1.1 Il sistema catalitico H₂O₂/MTO

Negli ultimi anni, il metiltriossorenio (CH₃ReO₃, MTO) ha assunto un ruolo importante nella catalisi ossidativa, omogenea ed eterogenea, grazie all'elevata efficienza e selettività dimostrata in un'enorme varietà di trasformazioni sintetiche.¹¹⁹ Infatti, sono stati riportati molti esempi di ossidazioni di olefine,¹²⁰ alchini,¹²¹ derivati aromatici,¹²² fosfine,¹²³ composti organoazotati,¹²⁴ ossidazioni di Baeyer-Villiger¹²⁵ e di reazioni di inserzione di ossigeno in legami C-H.¹²⁶ Il gruppo di ricerca presso cui ho svolto il triennio di dottorato ha esteso le potenzialità ossidative di tale sistema catalitico ad una grande varietà di sostanze organiche naturali.¹²⁷

Il ruolo dell'MTO in queste ossidazioni è stato ampiamente studiato ed è stato dimostrato che le specie attive dei processi di ossidazione sono il monoperossometallo complesso **mpRe** [MeRe(O)₂(O₂)] e il diperossocomplesso **dpRe** [MeRe(O)(O₂)₂] (**Schema 3**), caratterizzati da un'intensa colorazione gialla. In letteratura è riportato che il **mpRe** ha un massimo di assorbimento a λ=330 nm e il **dpRe** a 360 nm.¹²⁸



Schema 3. Formazione dei complessi **mpRe** e **dpRe** tra H₂O₂ e MTO

Con lo scopo di ridurre ulteriormente l'impatto ambientale di tali processi ossidativi, una parte dell'attività di ricerca di questo dottorato ha riguardato la messa a punto delle condizioni sperimentali per l'utilizzazione di tale sistema catalitico in solventi innovativi a basso impatto ambientale, quali i liquidi ionici, solventi di largo uso negli ultimi anni in sintesi organica e in dimetil carbonato, al contrario, solvente ancora poco utilizzato a scopo sintetico.

3.1.2 Liquidi Ionici

A differenza dei solventi organici tradizionali, i liquidi ionici (IL) sono liquidi costituiti interamente da ioni le cui caratteristiche chimico-fisiche variano in base al tipo di catione e di anione che li compongono.¹²⁹ Generalmente il catione è di natura organica e può essere un alchilammonio, un alchilfosfonio, un 1-alchil-3-metilimidazolio o un 1,4-dialchilpiridinio, mentre l'anione può essere sia organico che inorganico (**Figura 14**).

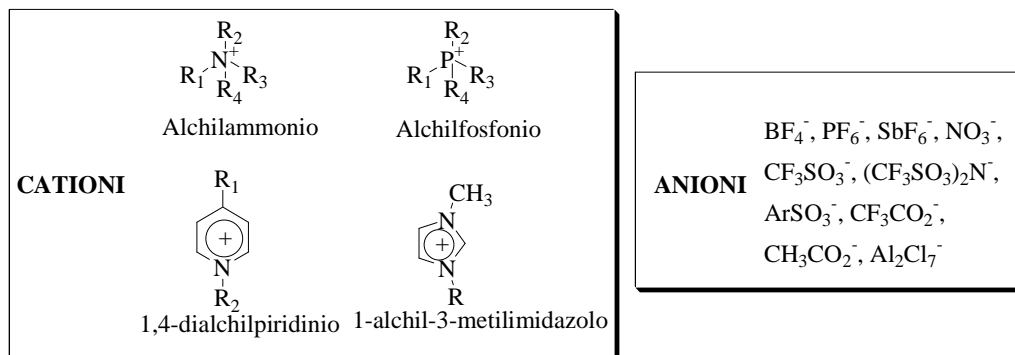


Figura 14. Cationi e anioni che costituiscono i liquidi ionici

La variabilità dell'accoppiamento catione/anione consente di modificare le proprietà chimico-fisiche dei vari liquidi ionici. In **Tabella 8** sono riportate le principali caratteristiche fisiche dei liquidi ionici aventi per catione l'1-alchil-3-metilimidazolio.

Anione	Punto di fusione (°C)	Densità (g/cm ³)	Viscosità (mPas)	Conduttività (S/m)
BF_4^-	-82/-83	1.17 (30°C)	233 (30°C)	0.17 (25°C)
PF_6^-	-61	1.37 (30°C)	312 (30°C)	0.15 (25°C)
$CF_3SO_3^-$	16	1.29 (20°C)	90 (20°C)	0.37 (20°C)
$CF_3CO_2^-$	-50/-30	1.21 (21°C)	73 (20°C)	0.32 (20°C)
NTf_2^-	-4	1.43 (19°C)	52 (20°C)	0.39 (20°C)

Tabella 8. Caratteristiche fisiche di alcuni liquidi ionici (1-alchil-3-metilimidazolio)

I liquidi ionici attualmente più utilizzati sono il butil metil imidazolio tetrafluoroborato [bmim]BF₄, il butil metil imidazolio esafluorofosfato [bmim]PF₆, l'etil metil imidazolio tetrafluoroborato [emim]BF₄ e l'etil metil imidazolio esafluorofosfato [emim]PF₆ (**Figura 15**).

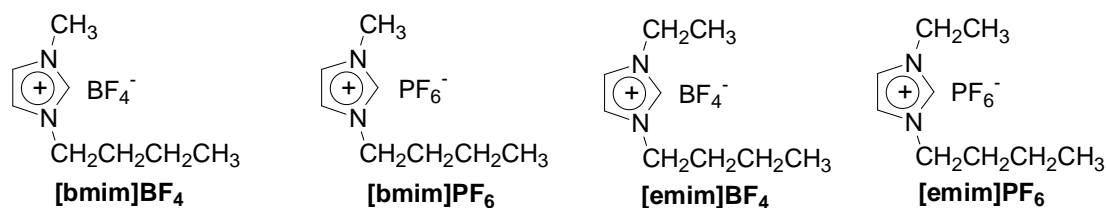


Figura 15. Struttura chimica dei liquidi ionici attualmente più utilizzati

I liquidi ionici sono sali organici, liquidi a temperatura ambiente. Le loro peculiari proprietà, come la non volatilità, la non infiammabilità e la loro eccellente stabilità chimica e termica, ne hanno fatto un'interessante alternativa ai convenzionali solventi organici, soprattutto per i processi ecocompatibili. I liquidi ionici hanno un basso punto di fusione (< 100°C) e rimangono liquidi in un ampio intervallo di temperatura (< 300°C). Una delle proprietà più interessanti è la loro elevata polarità, grazie a cui, hanno la capacità di solubilizzare un elevato numero di sostanze. E' stato, infatti dimostrato, che la polarità dei comuni liquidi ionici è simile a quella del metanolo, del 2-cloroetanolo e dell'N-metilformammide.¹³⁰ Tuttavia, nonostante questa caratteristica, la maggior parte dei liquidi ionici è idrofobica, ad eccezione del [bmim]BF₄ che è completamente miscibile in acqua. Tale liquido ionico può dissolvere solo fino ad un massimo di 1% di acqua, ma la sua presenza ne modifica le proprietà fisiche.¹³¹ I liquidi ionici sono generalmente immiscibili con molti solventi organici in particolare con quelli apolari, come l'esano e il toluene. L'immiscibilità dei liquidi ionici in acqua e nei solventi organici li rende utilizzabili in sistemi bifasici. Paragonati ai classici solventi organici, i liquidi ionici sono molto più viscosi. La viscosità di un liquido ionico è strettamente legata alla sua tendenza a formare legami idrogeno e può essere diminuita o aumentando la temperatura o aggiungendo cosolventi organici. Normalmente, un liquido ionico con una catena alchilica più lunga sul catione e una dimensione dell'anione più grande presenta una viscosità più alta. Un evidente vantaggio nell'utilizzo di liquidi ionici in alternativa ai solventi organici tradizionali è che proprietà chimico-fisiche, come la polarità, l'idrofobicità, la viscosità e la miscibilità, possono essere modulate variando il tipo di catione e/o di anione. Anche se i liquidi ionici sono commercialmente più costosi dei solventi organici, il loro impiego su scala industriale è possibile attraverso il riutilizzo dopo il recupero e l'isolamento del prodotto di reazione.

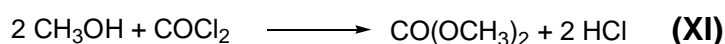
Negli ultimi tempi, i liquidi ionici sono stati ampiamente utilizzati come solventi di reazioni catalitiche per condurre un elevato numero di trasformazioni sintetiche,¹³² quali le reazioni di Diels-Alder,¹³³ le acilazioni di Friedel-Crafts,¹³⁴ le esterificazioni di alcoli,¹³⁵ le

alchilazioni regioselettive di composti aromatici,¹³⁶ le alogenazioni stereoselettive di alcheni ed alchini,¹³⁷ le riduzioni di aldeidi e chetoni,¹³⁸ e le cicloadizioni.¹³⁹ La maggior parte dei catalizzatori metallici è solubile nei liquidi ionici e in tali solventi aumentano la loro efficienza, stabilità ed attività.

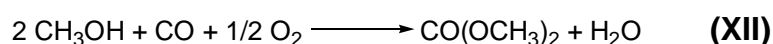
3.1.3 Il dimetil carbonato (DMC)

La maggior parte della letteratura disponibile sul DMC riporta esempi sul suo uso come reagente chimico non tossico, in particolare come agente metilante in sostituzione dello ioduro di metile e del dimetil solfato (sostanze cancerogene) e come agente carbonilante in alternativa al fosgene (reattivo molto tossico).

I lavori iniziali che descrivono l'uso del DMC risalgono agli anni '50 e sono relativi alla sintesi del difenil carbonato utilizzato per la produzione di policarbonati aromatici. Inizialmente il DMC veniva prodotto per reazione tra il fosgene ed il metanolo, una reazione altamente tossica **(XI)**:



Successivamente, per ridurre l'impatto ambientale del processo sintetico, Enichem ha sviluppato una tecnologia basata sulla ossicarbonilazione del metanolo, impiegando cloruro rameoso come catalizzatore, secondo la reazione **(XII)**:¹⁴⁰

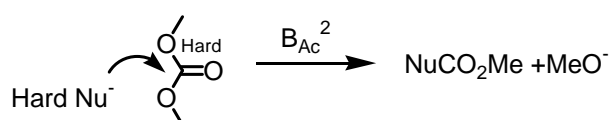


Il DMC è caratterizzato da tre centri reattivi elettrofili rappresentati dai due gruppi metilici e un gruppo carbonilico. Sfruttando queste particolari proprietà, il gruppo di ricerca del Prof. P Tundo, Direttore del Consorzio La Chimica per L'Ambiente (INCA) ha pubblicato un elevato numero di lavori sull'utilizzo del DMC come reagente metilante e carbossimetilante,^{141,142,143} discriminando la reattività in base alle condizioni utilizzate e al tipo di nucleofilo soft o hard presente nell'ambiente di reazione.* In particolare, a T=90°C,

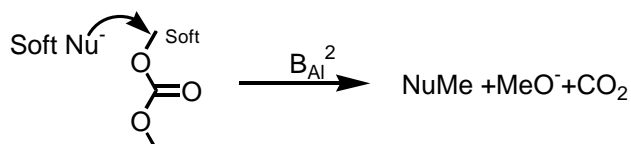
* Si attribuisce l'aggettivo *hard* alle specie difficilmente polarizzabili, caratterizzate da una elevata energia del Lumo (per le specie elettrofile) o da una bassa energia dell'Homo (per le specie nucleofile); *soft* alle specie chimiche che sono facilmente polarizzabili, caratterizzate da un'elevata energia dell'Homo (per le specie nucleofile) o da una bassa energia del Lumo (per le specie elettrofile).

il DMC reagisce da agente carbossimetilante (**Schema 4, a**), mentre a $T > 120\text{ }^{\circ}\text{C}$ e sotto pressione da agente metilante (**Schema 4, b**). Da entrambi le reazioni, il sottoprodotto che si forma è il metanolo, che può essere facilmente riciclato per sintetizzare nuovamente il DMC.¹⁴⁴

a) Reazione di carbossimetilazione, $T = 90\text{ }^{\circ}\text{C}$



b) Reazione di metilazione, $T > 120\text{ }^{\circ}\text{C}$:



Schema 4. Reattività del DMC in presenza di un nucleofilo

Le sue caratteristiche chimico-fisiche e la bassa tossicità, paragonata a quella di altri solventi organici, ne fanno un mezzo di reazione a basso impatto ambientale alternativo a quelli tradizionali (**Tabella 9**).

Proprietà		
Parametri di solubilità	$(\text{cal}/\text{cm}^3)^{1/2}$	9.9
Miscibilità in acqua	solvente H_2O_2 , %w	12.8
Punto di ebollizione	$^{\circ}\text{C}$	90
LD50	orale, topo, g/Kg	13.8
LC50	orale, topo, ppm	35000/4h
Irritabilità		non irritante
VOC (volatile organic compounds)	Classe	V
Biodegradabilità	28 giorni chiuso in bottiglia (%)	89

Tabella 9. Proprietà del DMC

A discapito della sua bassa tossicità, pochi sono i lavori che descrivono l'utilizzazione del DMC come solvente in reazioni di sintesi,¹⁴⁵ trovando solamente applicazione in alcuni settori industriali, come quelli delle vernici, degli adesivi, degli aerosol. Recentemente con

il Regolamento CE 643/2006, il DMC è stato inserito nella lista degli additivi del vino fino ad un massimo di 200 mg/l per la stabilizzazione microbiologica (**Figura 16**).

Limiti per l'utilizzazione di talune sostanze

(Articolo 5 del presente regolamento)

I limiti massimi per l'utilizzazione delle sostanze di cui all'allegato IV del regolamento (CE) n. 1493/1999, alle condizioni ivi indicate, sono i seguenti:

Sostanze	Utilizzazione per le uve fresche, il mosto d'uve, il mosto d'uve parzialmente fermentato, il mosto d'uve parzialmente fermentato ottenuto con uve parzialmente appassite, il mosto d'uve concentrato e il vino nuovo ancora in fermentazione	Utilizzazione per il mosto di uve parzialmente fermentato destinato al consumo umano diretto tal quale, il vino atto alla produzione di vino da tavola, il vino da tavola, il vino spumante, il vino spumante gassificato, il vino frizzante, il vino frizzante gassificato, i vini liquorosi ed i v.q.p.r.d.
Preparati di scorze di lieviti	40 g/hl	40 g/hl
Anidride carbonica		tenore massimo del vino trattato: 2 g/l
Acido L-ascorbico	250 mg/l	250 mg/l; il tenore massimo del vino trattato non deve essere superiore a 250 mg/l
Acido citrico		tenore massimo del vino trattato: 1 g/l
Acido metatartarico		100 mg/l
Solfato di rame		1 g/hl a condizione che il prodotto trattato non abbia un tenore di rame superiore a 1 mg/l
Carboni per uso enologico	100 g di prodotto secco per hl	100 g di prodotto secco per hl
Sali nutritivi fosfato di ammonio o solfato di ammonio	1 g/l (espresso in sale) (*)	0,3 g/l (espresso in sale), per l'elaborazione dei vini spumanti
Solfito di ammonio o bisolfito di ammonio	0,2 g/l (espresso in sale) (*)	
Fattori di crescita: tiamina sotto forma di cloridrato di tiamina	0,6 mg/l (espresso in tiamina)	0,6 mg/l (espresso in tiamina), per l'elaborazione dei vini spumanti
Polivinilpolipirrolidone	80 g/hl	80 g/hl
Tartrato di calcio		200 g/hl
Fitato di calcio		8 g/hl
Lisozima	500 mg/l (**)	500 mg/l (**)
Dimetildicarbonato		200 mg/l; residui non rilevabili nel vino immesso sul mercato

(*) Questi prodotti possono essere utilizzati anche congiuntamente nel limite complessivo di 1 g/l, fermo restando il limite di 0,2 g/l summenzionato.

(**) Quando l'aggiunta è effettuata nel mosto e nel vino, il quantitativo cumulativo non può superare il limite di 500 mg/l.

ALLEGATO II

«ALLEGATO IX bis

Prescrizioni per il dimetildicarbonato

(Articolo 15 bis del presente regolamento)

CAMPO D'APPLICAZIONE

Il dimetildicarbonato può essere aggiunto al vino con il seguente fine garantire la stabilizzazione microbiologica del vino in bottiglia contenente zuccheri fermentescibili.

PRESCRIZIONI

- L'aggiunta deve essere effettuata solo poco prima dell'imbottigliamento.
- Possono essere sottoposti a tale trattamento soltanto i vini aventi un tenore di zucchero pari o superiore a 5 g/l.
- La dose massima di utilizzazione è stabilita nell'allegato IV del presente regolamento e la presenza del prodotto non deve essere rilevabile nel vino immesso sul mercato.
- Il prodotto utilizzato deve rispettare i requisiti di purezza stabiliti dalla direttiva 96/77/CE.
- Il trattamento deve essere indicato nel registro di cui all'articolo 70, paragrafo 2, del regolamento (CE) n. 1493/1999.

Figura 16. Regolamento CE 643/2006

3.1.4 Ossidazione di fenoli e metossi tolueni a chinoni con il complesso MTO/H₂O₂ in [bmim]BF₄ e in DMC

Considerando l'esperienza maturata dal gruppo di ricerca, i primi substrati ad essere stati utilizzati per l'ossidazione con H₂O₂/MTO in liquidi ionici e in DMC sono stati i fenoli per l'ottenimento di chinoni.

I chinoni sono sostanze molto diffuse in natura. In letteratura sono riportate un elevato numero di metodologie di ossidazione che utilizzano reagenti ossidanti tossici come cerio ammonio nitrato (CAN), tallio (III) nitrato, iodio ipervalente, argento ossido, argento carbonato, sale di Fremy, reagente di Jones.¹⁴⁶ E' riportato anche un numero significativo di ossidazioni catalitiche utilizzando l'acqua ossigenata attivata da cobalto e manganese acetato,¹⁴⁷ titanio silicato,¹⁴⁸ titanio superossido,¹⁴⁹ titanio alluminiofosfato,¹⁵⁰ complessi del Rutenio (II)¹⁵¹ e del Rame (II).¹⁵² Nei nostri laboratori alcuni metil fenoli semplici sono stati precedentemente ossidati a chinoni utilizzando l'acqua ossigenata attivata dal MTO in solventi organici tradizionali (etanolo e in acido acetico).^{127g,153}

Sulla base anche dei buoni risultati ottenuti utilizzando il sistema catalitico H₂O₂/MTO in liquidi ionici [bmim]BF₄ e [bmim]PF₆ per condurre l'ossidazione di Baeyer-Villiger di chetoni ai corrispondenti lattoni e alla possibilità di riciclo della soluzione ionica catalitica,¹⁵⁴ si è pensato di utilizzare tali solventi anche per promuovere l'ossidazione di fenoli a chinoni. In questo caso, però, è stato utilizzato solo il [bmim]BF₄ sia perchè ha permesso la completa solubilizzazione dei substrati che un ambiente di reazione a pH neutro, condizione fondamentale per evitare la formazione di possibili prodotti collaterali. I risultati ottenuti in [bmim]BF₄ sono stati confrontati con quelli in DMC.

Mentre in letteratura era già riportata la formazione dei complessi **mpRe** e **dpRe** in liquidi ionici,¹⁵⁵ gli stessi dati non erano noti per il DMC. Pertanto, per prima cosa, è stata verificata la formazione dei complessi del MTO in DMC tramite spettroscopia UV-Visibile. La **Figura 17** rappresenta gli spettri di assorbimento delle specie **mpRe** e **dpRe** in DMC. I massimi di assorbimento misurati corrispondono a quelli riportati in letteratura in liquidi ionici e in solventi organici tradizionali.

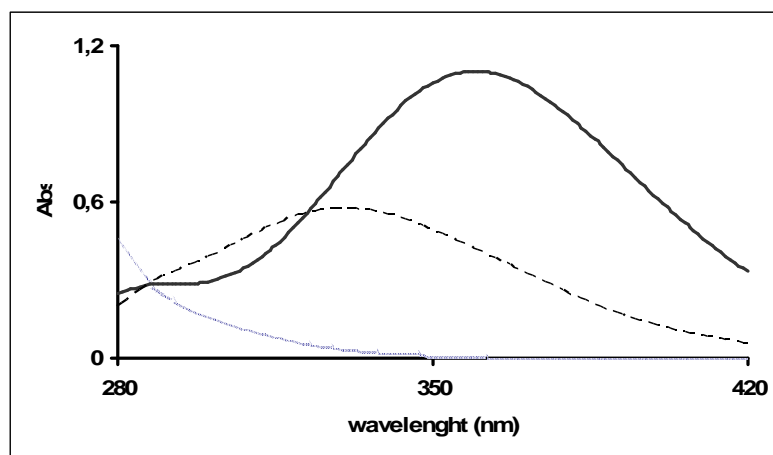
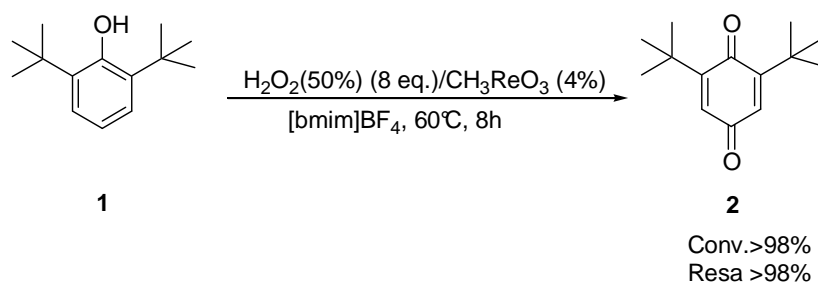


Figura 17. Spettro UV-Vis dell' MTO(···), **mpRe** (---), **dpRe** (—) in DMC. Condizioni: 0.93mM MTO, 42mM H₂O₂, temperatura ambiente

Inoltre, per determinare la stabilità del **dpRe** in DMC, è stato condotto uno studio cinetico mediante analisi spettroscopica UV-Vis misurando la variazione di assorbanza a lunghezza d'onda fissa ($\lambda=360$ nm). Dai valori ottenuti è emerso che il **dpRe** è attivo fino a 3 giorni. Successivamente, sono state condotte le reazioni di ossidazione, utilizzando il 2,6-di-*t*-butil-fenolo come substrato modello **1**. Le condizioni ottimali che hanno permesso di isolare il 2,6-di-*t*-butil-*p*-benzoquinone **2** con conversione e resa quantitative sono riportate nello **Schema 5**.

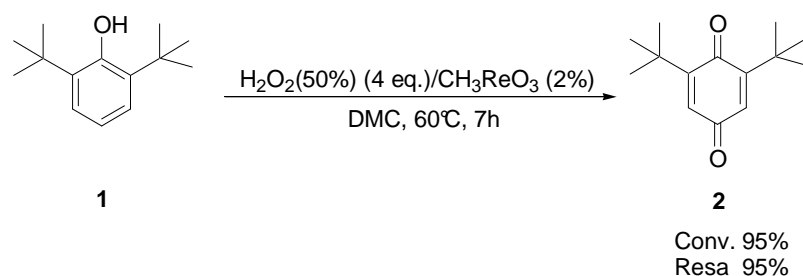


Schema 5. Ossidazione 2,6-di-*tert*-butil-fenolo in [bmim]BF₄

Inizialmente il **dpRe**, preformato per reazione tra MTO ed H₂O₂ è stato aggiunto all'ambiente di reazione in un unico batch ma si è osservato che in queste condizioni la reazione procedeva con basse conversioni (30%). Al contrario, l'aggiunta della stessa quantità di MTO/H₂O₂, ma in diverse aliquote (2 equivalenti di H₂O₂ e 1% di MTO) per tutta la durata della reazione (8 h) ha permesso di ottenere il prodotto **2** in resa quantitativa. Dopo l'ossidazione, il prodotto di reazione è stato estratto con etere etilico. Effettuata una nuova aggiunta di acqua ossigenata e di substrato **1** alla soluzione ionica, si è ripetuta la

reazione di ossidazione per verificare la possibilità di riciclare il sistema catalitico. Purtroppo, dopo 8 ore, si è notato una drastica diminuzione della conversione della reazione (20%). Pertanto, il riciclo del sistema catalitico MTO/H₂O₂ in liquidi ionici, possibile nel caso dell'ossidazione di Baeyer-Villiger, in tal caso non procede. Questo dato si può spiegare considerando che nell'ossidazione di Baeyer-Villiger, il MTO agisce eccezionalmente da specie nucleofila nell'attacco del carbonio carbonilico e che probabilmente la specie catalitica che rimane nel liquido ionico è diversa dai sistemi noti **mpRe** e **dpRe**.¹⁵⁶

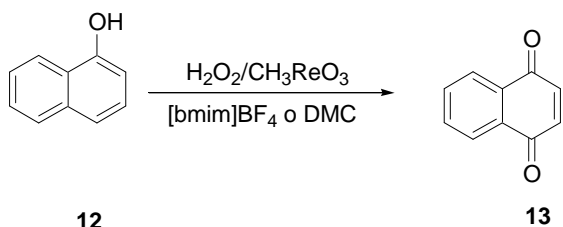
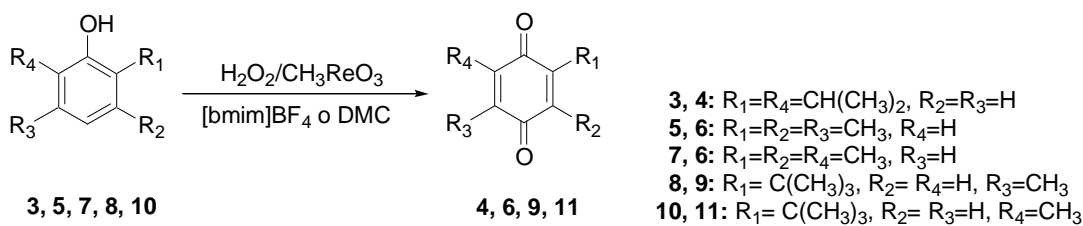
La reazione di ossidazione del 2,6-di-*t*-butil-fenolo condotta in DMC ha portato con resa del 95% al prodotto di ossidazione **2** utilizzando una quantità minore di catalizzatore (2% anziché 4%) e di acqua ossigenata (4 equivalenti anziché 8, **Schema 6**).



Schema 6. Ossidazione 2,6-ditertbutil fenolo in DMC

Malgrado l'impossibilità di riciclare il sistema catalitico, i dati di ossidazione ottenuti sia in [bmim]BF₄ che in DMC sono risultati interessanti in quanto le rese e le conversioni sono risultate migliori di quelle riportate in solventi organici tradizionali e paragonabili a quelli ottenute in acido acetico,¹⁵⁷ il solvente che maggiormente esalta la reattività del sistema catalitico H₂O₂/MTO per il suo carattere acido.

Pertanto, la metodologia catalitica ossidativa in [bmim]BF₄ e in DMC è stata estesa ad una vasta gamma di substrati fenolici variamente sostituiti al fine di ottenere chinoni di interesse biologico e farmacologico (**Schema 7, Tabella 10**). Infatti, il 2,3,5-trimetil-1-4-benzochinone **6** è il composto chiave per la sintesi della vitamina E; il 2,3-dimetossi-5-metil-1-4-benzochinone **25** è il coenzima Q₀ utilizzato per la sintesi degli omologhi superiori fino al Q₁₀;¹⁵⁸ il 2-metil-1-4-naftochinone **16** è utilizzato per la sintesi della Vitamina K₁.¹⁵⁹



Schema 7. Ossidazione di fenoli a chinoni con H₂O₂/MTO in in [bmim]BF₄ e in DMC.

Solvente	Substrato	Condizioni sperimentali	Conv. (%)	Prodotti (rese %)
[bmim]BF ₄	3	H ₂ O ₂ (6 eq.), MTO (4%), 60°C, 6h	>98	4 (82)
DMC	3	H ₂ O ₂ (4 eq.), MTO (2%), 60°C, 7h	>98	4 (95)
[bmim]BF ₄	5	H ₂ O ₂ (6 eq.), MTO (4%), 40°C, 6h	>98	6 (>98)
DMC	5	H ₂ O ₂ (4 eq.), MTO (2%), 60°C, 7h	>98	6 (95)
[bmim]BF ₄	7	H ₂ O ₂ (6 eq.), MTO (4%), 60°C, 6h	>98	6 (>98)
DMC	7	H ₂ O ₂ (4 eq.), MTO (2%), 60°C, 7h	>98	6 (>98)
[bmim]BF ₄	8	H ₂ O ₂ (6 eq.), MTO (4%), 60°C, 10h	>98	9 (>98)
DMC	8	H ₂ O ₂ (4 eq.), MTO (2%), 60°C, 7h	>98	9 (>98)
[bmim]BF ₄	10	H ₂ O ₂ (6 eq.), MTO (4%), 60°C, 12h	>98	11 (>98)
DMC	10	H ₂ O ₂ (4 eq.), MTO (2%), 60°C, 7h	>98	11 (95)
[bmim]BF ₄	12	H ₂ O ₂ (9 eq.), MTO (4%), 60°C, 23h	>98	13 (>98)
DMC	12	H ₂ O ₂ (4 eq.), MTO (2%), 60°C, 7h	>98	13 (90)

Tabella 10. Dati sperimentali delle ossidazioni di fenoli condotte in [bmim]BF₄ e in DMC

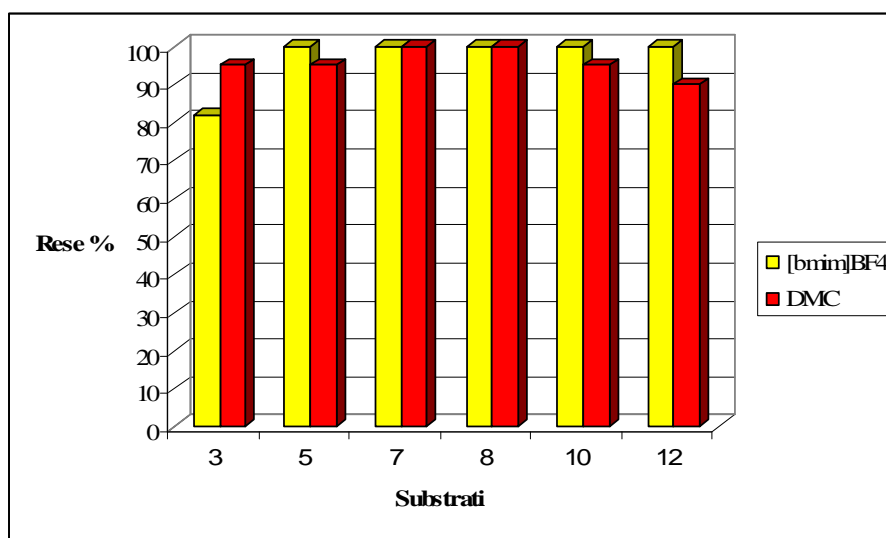
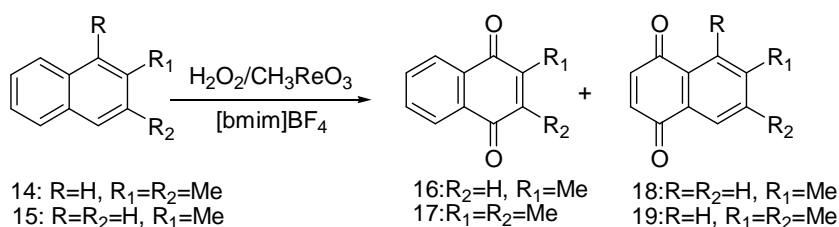


Diagramma 1. Rese (%) delle ossidazioni di fenoli condotte in [bmim]BF₄ e DMC

Come si può dedurre dai risultati riportati nella **Tabella 10** e nel **Diagramma 1**, le conversioni e le rese delle ossidazioni condotte in [bmim]BF₄ e in DMC sono risultate elevate e confrontabili. Lo stesso risultato non è stato ottenuto per l'ossidazione dei naftaleni sostituiti. In tal caso, infatti, si sono avute buone rese e conversioni solo in liquidi ionici (**Schema 8**, **Tabella 11**) mentre sono state ottenute miscele di prodotti in DMC.

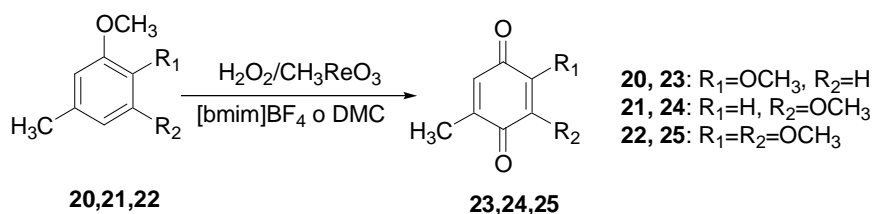


Schema 8. Ossidazioni catalitiche di naftaleni sostituiti in [bmim]BF₄ e DMC

Substrati	Condizioni	Conv. (%)	Rese (%)
15	H ₂ O ₂ (12 eq.), MTO (4%), 60°C, 7h	70	16 (40); 18 (30)
14	H ₂ O ₂ (15 eq.), MTO (4%), 60°C, 5h	90	17 (53); 19 (37)

Tabella 11. Dati sperimentali dell'ossidazione di naftaleni

Successivamente, il sistema ossidativo MTO/H₂O₂ in [bmim]BF₄ e in DMC è stato utilizzato sui metossi tolueni **20**, **21** e **22** per testarne ulteriormente l'efficacia (**Schema 9**, **Tabella 12**, **Diagramma 2**).



Schema 9. Ossidazione di metossi tolueni in [bmim]BF₄ e DMC

Solvente	Substrato	Condizioni	Conv. (%)	Prodotti (rese %)
[bmim]BF ₄	20	H ₂ O ₂ (15 eq.), MTO (5%), 25°C, 8h	> 98	23 (>98)
DMC	20	H ₂ O ₂ (4 eq.), MTO (2%), 60°C, 7h	>98	23 (80)
[bmim]BF ₄	21	H ₂ O ₂ (12 eq.), MTO (5%), 60°C, 7h	> 98	24 (70)
DMC	21	H ₂ O ₂ (4 eq.), MTO (2%), 60°C, 7h	>98	24 (75)
[bmim]BF ₄	22	H ₂ O ₂ (12 eq.), MTO (4%), 25°C, 7h	> 98	25 (>98)
DMC	22	H ₂ O ₂ (4 eq.), MTO (2%), 60°C, 7h	>98	25 (>98)

Tabella 12. Dati sperimentali dell'ossidazioni condotte in [bmim]BF₄ e DMC

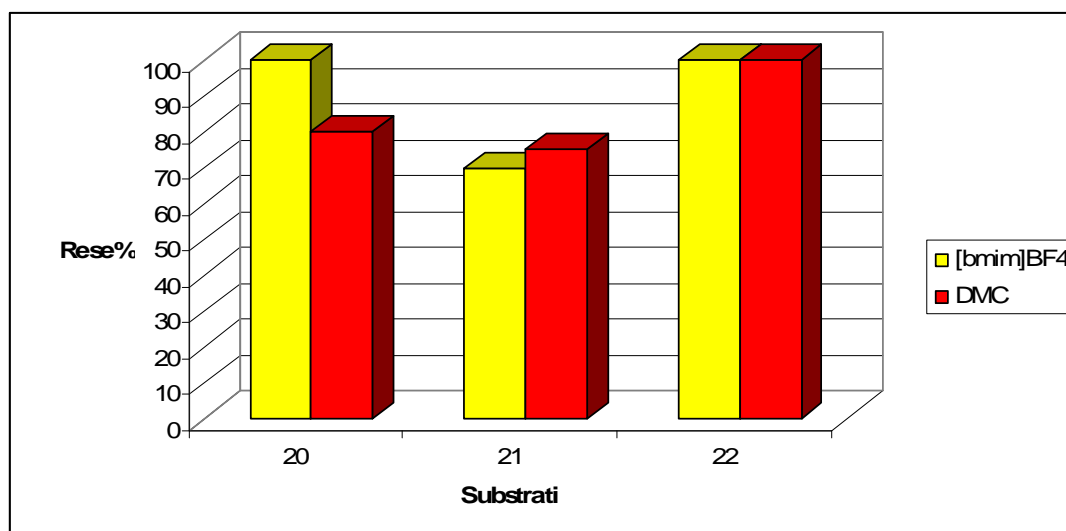
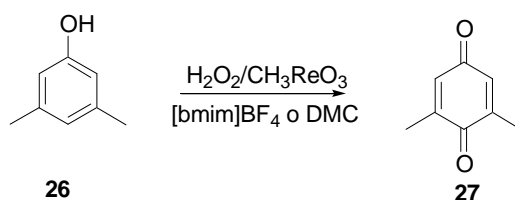


Diagramma 2. Confronto delle ossidazioni eseguite in [bmim]BF₄ e DMC

Anche in questo caso i risultati ottenuti sono stati confrontabili e soddisfacenti sia in [bmim]BF₄ che in DMC. Tuttavia l'utilizzazione del DMC è risultata vantaggiosa in termini di recupero dei prodotti di ossidazione. Infatti, il problema comune della metodologia ossidativa in liquidi ionici è legato al recupero dei composti dall'ambiente di reazione. In [bmim]BF₄, considerata la sua natura ionica e la sua miscibilità con solventi organici più polari dell'etere etilico, l'estrazione dei prodotti di reazione si è ridotta drasticamente al diminuire della lipoficità dei substrati. Questo dato è stato confermato anche dall'ossidazione di semplici metil fenoli, quale il 3,5-dimetil fenolo (**Schema 10**). In [bmim]BF₄, dopo estrazione con etere etilico, si è recuperato solo il 35% del chinone corrispondente, mentre in DMC si è avuto il recupero quantitativo in quanto il solvente è stato eliminato per evaporazione a pressione ridotta.



Schema 10. Ossidazione del 3,5-dimetil fenolo

In conclusione, l'uso del DMC nelle ossidazioni catalitiche condotte con H₂O₂/MTO ha portato a conversioni e rese di prodotti finali elevate e ha risolto i problemi derivanti dall'estrazione dei prodotti polari che si formano e che, invece, sono stati riscontrati

utilizzando il [bmim]BF₄ come solvente di reazione. Inoltre, il DMC è un solvente commercialmente disponibile e molto meno costoso del [bmim]BF₄.

Alcuni dei chinoni ottenuti sono stati saggiati come antifungini dai micologi della nostra Università (gruppo di ricerca della Dott.ssa M. Pasqualetti). Dei composti 2,6-di-*t*-butil-1,4-benzochinone **2**, 2,3,5-trimetil-1,4-benzochinone **6**, 2-*t*-butil-5-metil-1,4-benzochinone **9**, 2-*t*-butil-6-metil-1,4-benzochinone **11**, 2-metossi-5-metil-1,4-benzochinone **23** e 2,3-dimetossi-5-metil-1,4-benzochinone **25** sono state testate in vitro le attività inibitrici contro i funghi *Trichoderma koningii*, *Paecilomyces lilacinum*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium roseopurpureum*, *Geomyces pannorum var. pannorum*, *Fusarium sp.* e *Pestalotia sp.* Queste rappresentano le specie fungine più abbondanti in Europa e producono le seguenti micotossine: Alfatossine (B1, B2, G1, G2, M1), Ocratossina A, Fusariotossine (tricoteceni, zearalenone, fumonisine). Le tossine più pericolose sono le aflatossine, cancerogene per l'uomo, e le ocratossine, cancerogene per gli animali.¹⁶⁰ Le micotossine sono sostanze tossiche prodotte naturalmente da muffe che possono svilupparsi nei cereali. Da questi, alcune di esse, possono passare direttamente agli alimenti (derivati da cereali come farine) utilizzati dall'uomo oppure, attraverso i mangimi (mais compreso) venire ingeriti dagli animali per poi passare agli alimenti prodotti (latte, formaggio, uova).

La concentrazione minima inibitrice (MIC) ottenuta sperimentalmente per ciascun chinone è stata confrontata con quella del chetoconazolo, un antifungino commerciale.¹⁶¹ Come indicato in **Tabella 13**, i chinoni **6** e **9** sono risultati attivi contro tutte le specie fungine considerate e, analogamente ai chinoni **23** e **25**, sono risultati più attivi del chetoconazolo contro la specie *Fusarium sp.*.

MIC (µg/ml)							
Composto	<i>Trichoderma koningii</i>	<i>Paecilomyces lilacinum</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Penicillium roseopurpureum</i>	<i>Geomyces pannorum var. pannorum</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Pestalotia sp.</i>
2	100	-	-	100	100	-	-
6	50	50	100	50	25	100	100
9	100	25	100	25	12.5	100	50
11	100	100	-	50	50	-	-
23	50	50	-	12.5	25	100	-
25	50	100	-	25	12.5	100	-
Chetoconazolo	3.12	1.56	0.37	1.56	0.20	>100	6.25

Tabella 13. Attività antifungina di alcuni chinoni ottenuti per ossidazione con H₂O₂/MTO

3.1.5 Ossidazioni di vari composti organici con MTO/H₂O₂ in DMC

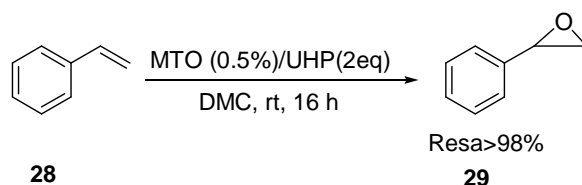
Sulla base dei risultati ottenuti e dei vantaggi dell'uso del DMC come solvente di ossidazione di fenoli a chinoni condotta con H₂O₂/MTO, l'utilizzazione di tale sistema catalitico in DMC è stata estesa ad una serie di molecole modello in cui sono presenti gruppi funzionali ossidabili. La **Tabella 14** riporta i substrati di cui è nota la reattività con il sistema MTO/H₂O₂ nei solventi organici tradizionali e le condizioni sperimentali di ossidazione utilizzate con il DMC.

Substrato	Condizioni sperimentali	Conv. (%)	Prodotto (resa %)
Stirene 28	UHP (2 eq.), MTO (0,5 %), rt, 16 h	>98	Ossido di stirene 29 (>98%)
2,3-Dimetil naftalene 30	H ₂ O ₂ (10 eq.), MTO (5%), 60°C, 20 h	>98	2,3 – Dimetil-1-4-naftochinone 17 (>98)
Difenil metanolo 31	H ₂ O ₂ (2 eq.), MTO (5%), rt, 4.5h	>98	Benzofenone 32 (60%)
<i>p</i> -Idrossibenzaldeide 33	H ₂ O ₂ (2 eq.), MTO (2%), 50°C, 2.5 h	>98	Idrochinone 34 (75%) <i>p</i> -Benzochinone 35 (25%)
2-Adamantanone 36	H ₂ O ₂ (2 eq.), MTO (2%), 60°C, 3.5 h	>98	4-oxomoadamantan-5-one 37 (>98%)
Difenil solfuro 38	H ₂ O ₂ (1 eq.), MTO (1%), 50°C, 3 h	>98	Difenilsolfossido 39 (90%) Difenilsolfone 40 (10%)

Tabella 14. Ossidazioni catalitiche con H₂O₂/MTO in DMC

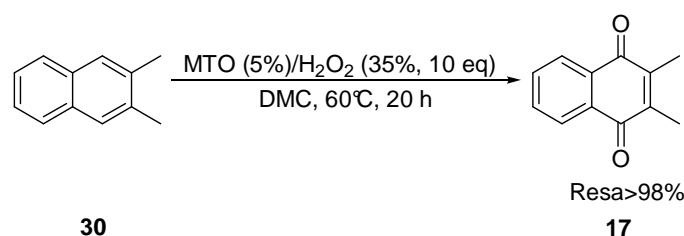
Di seguito sono riportati i risultati ottenuti in DMC, confrontati con quelli riportati in letteratura.

La procedura ideale di ossidazione delle olefine descritta in letteratura prevede l'impiego di MTO, UHP (urea-perossido di idrogeno) come ossidante e una base eterociclica (piridina,¹⁶² 3-cianopiridina,¹⁶³ pirazolo¹⁶⁴) per ottenere selettivamente l'eossido evitandone l'apertura e la conseguente formazione del diolo. I risultati ottenuti in DMC per lo stirene **28** (**Schema 11**) mostrano come, anche in assenza di base, è stato possibile isolare l'eossido **29** con conversioni e rese paragonabili a quelle in liquidi ionici¹⁶⁵ ma utilizzando una minore quantità di catalizzatore (0.5% invece del 2%).



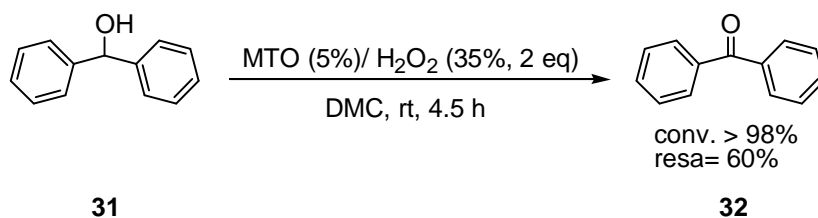
Schema 11. Ossidazione dello stirene

L'ossidazione di sistemi aromatici, è generalmente condotta in acido acetico glaciale¹⁶⁶ o acido acetico glaciale/anidride acetica,¹⁶⁷ utilizzando acqua ossigenata concentrata (soluzione acquosa all'85%) ed elevate temperature. In DMC, il 2,3-dimetilnaftalene **30** è stato convertito quantitativamente in 2,3-dimetil-1,4-naftochinone **17**, utilizzando acqua ossigenata al 35% (**Schema 12**).



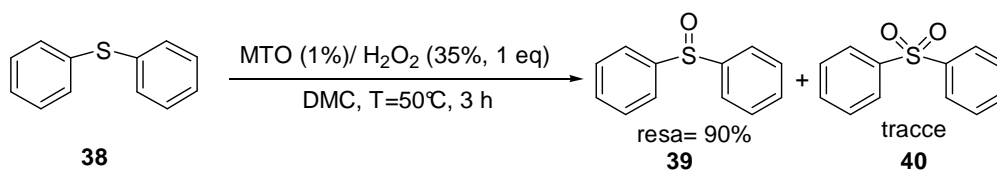
Schema 12. Ossidazione del 2,3-dimetilnaftalene

L'inserzione di un atomo di ossigeno su derivati idrocarburici attivati mediante catalisi omogenea con MTO/H₂O₂ viene condotta in etanolo o *t*-butanolo¹⁶⁸ con tempi di reazione molto lunghi (24-72 h). In DMC è stato osservato che l'ossidazione del difenil metanolo **31** al benzofenone **32** è molto rapida (4.5 h) e ha richiesto una minore quantità di MTO e di H₂O₂ (**Schema 13**).



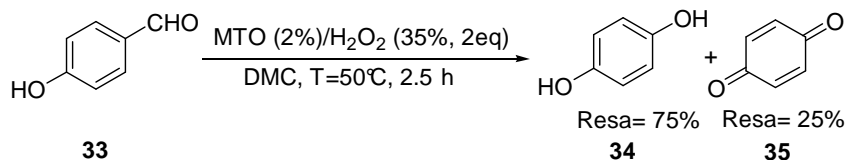
Schema 13. Ossidazione del difenilmetanolo

In letteratura è riportato che l'ossidazione del solfuro a solfossido con H₂O₂ concentrata (85%) avviene in circa 24 ore.¹⁶⁹ In DMC, il difenil solfuro **38** è stato convertito al corrispondente difenilsolfossido **39** con una resa del 90% in sole 3 h e con un equivalente di acqua ossigenata al 35%, utilizzando solo l'1% di MTO (**Schema 14**).



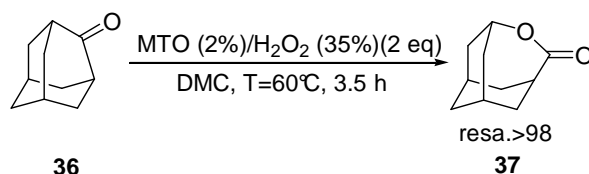
Schema 14. Ossidazione del difenil solfuro

La sintesi ossidativa di fenoli a partire da *p*-idrossi o metossi-benzaldeide (reazione di Dakin) è condotta in liquidi ionici, ad elevate temperature, attraverso l'utilizzo di MTO (2%) e H₂O₂ al 35% in quantità variabile a seconda del substrato (da 2 a 10 equivalenti).¹⁷⁰ In DMC, la *p*-idrossibenzaldeide **33** è stata convertita nel corrispondente idrochinone **34** e *p*-benzoquinone **35** in tempi di reazione molto brevi (2.5 h) e con solo il 2% di MTO (**Schema 15**).



Schema 15. Ossidazione della *p*-idrossibenzaldeide (Reazione di Dakin)

L'MTO catalizza la reazione di Baeyer-Villiger di chetoni ciclici ai corrispondenti lattoni in acido acetico.¹⁷¹ In DMC, utilizzando il 2% di MTO e H₂O₂ al 35%, il 2-adamantanone **36** è stato ossidato al corrispondente lattone **37** in resa quantitativa e con tempi minori di quelli ottenuti in liquidi ionici (**Schema 16**).¹¹⁴



Schema 16. Ossidazione del 2-adamantanone (Reazione di Baeyer-Villiger)

I risultati ottenuti permettono di concludere che le ossidazioni con il sistema catalitico H₂O₂/MTO condotte in DMC, un solvente ecocompatibile e a basso costo, hanno portato ai corrispondenti prodotti di ossidazione con rese e conversioni paragonabili e, in alcuni casi, superiori a quelle riportate nei solventi organici tradizionali e hanno consentito il recupero quantitativo del prodotto finale di ossidazione, non richiedendo alcun passaggio estrattivo che, invece, è rappresentato il punto debole dell'utilizzazione dei liquidi ionici per questa tipologia di reazioni catalitiche.

3.2 Utilizzazione di molecole fenoliche (acidi cinnamici, tirosolo, alcol omovanillico) presenti negli scarti agroindustriali quali substrati per l'ottenimento di fine chemicals.

3.2.1 Sintesi di 4-vinil fenoli

Molecole *p*-idrossistireniche, come il 4-vinil fenolo, il 4-vinil catecolo, il 4-vinil guaiacolo e il 2,6-dimetossi-4-vinil fenolo sono composti naturali contenuti in alcune specie di piante;¹⁷² negli acini d'uva,¹⁷³ e nel vino.¹⁷⁴ Questi composti sono utilizzati come aromi nell'industria cosmetica, alimentare e delle bevande;¹⁷⁵ come prodotti di partenza per la sintesi di composti bioattivi,¹⁷⁶ per la produzione di resine, elastomeri, adesivi e rivestimenti per circuiti elettronici.¹⁷⁷ Inoltre, a tali prodotti sono state attribuite peculiari proprietà biologiche. Ad esempio, il 4-vinil fenolo è un efficiente agente antifungino, antagonista di un microrganismo patogeno delle piante delle conifere;¹⁷⁸ il 4-vinil catecolo ha un'azione inibitrice nei confronti della fenilalanina-idrolasi ed altre pteridine-monossigenasi-dipendenti;¹⁷⁹ il 4-vinil guaiacolo e il 2,6-dimetossi-4-vinil fenolo sono potenti antiossidanti e antimutageni.¹⁸⁰

L'elevata domanda industriale di questi composti non è soddisfatta dalla disponibilità in natura; risulta, quindi, di interesse mettere a punto nuove strategie sintetiche. In letteratura sono state descritte un ampio numero di sintesi chimiche, ma molte di queste richiedono l'uso di reagenti costosi, condizioni drastiche di reazione e procedono con basse rese (30-40%). Inoltre, nella maggior parte dei casi, sono previste reazioni di protezione e di deprotezione delle funzioni fenoliche per eliminare possibili reazioni secondarie di polimerizzazione. Solo due sintesi, basate sulla condensazione di Knoevenagel¹⁸¹ e di Knoevenagel-Doebner¹⁸² a partire dalla 4-idrossibenzaldeide e da acido malonico sono risultate efficienti. Una procedura più vantaggiosa e più semplice da attuare è la decarbossilazione a partire dai corrispondenti acidi cinnamici (acido *p*-cumarico, ferulico, caffeico e sinapico, **Figura 18**), composti facilmente reperibili in natura e contenuti nell'orzo,¹⁸³ nella crusca,¹⁸⁴ nei semi di girasole¹⁸⁵ e nella farina di colza.^{180c}

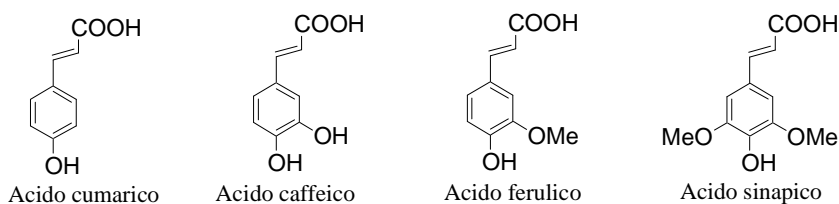


Figura 18. Acidi *p*-idrossicinnamici naturali

Le decarbossilazioni riportate in letteratura utilizzano microrganismi come *Saccaromyces cerevisiae*,¹⁸⁶ *Pseudomonas fluorescens*,¹⁸⁷ *Bacillus pumilis*¹⁸⁸ oppure culture cellulari.¹⁸⁹ In alternativa ai metodi biologici, sono state riportate procedure chimiche basate sull'utilizzo di elevate temperature di esercizio, condizioni drastiche acide o basiche e reagenti tossici.¹⁹⁰ Recentemente è stata descritta una decarbossilazione base-catalizzata per riscaldamento con microonde.¹⁹¹ I risultati ottenuti con questa procedura hanno portato, però, a scarsi recuperi dei prodotti di decarbossilazione (4-27%) e le rese sono state modeste (30-60%).

Obiettivo del presente lavoro è stato quello di sintetizzare 4-vinil fenoli variamente sostituiti a partire dagli acidi cinnamici naturali via decarbossilazione con microonde, modificando e migliorando la metodologia già riportata in letteratura.

3.2.2 Generalità sulle reazioni attivate da microonde ¹⁹²

Le microonde (MW) sono onde elettromagnetiche che si collocano nella regione dello spettro compresa tra le radiazioni infrarosse e quelle che usualmente vengono chiamate radiofrequenze (**Figura 19**). Le lunghezze d'onda caratteristiche delle MW sono comprese tra 1 cm ed 1 m e ad esse corrispondono rispettivamente frequenze da 30 GHz a 300 MHz. I forni a microonde per uso domestico operano generalmente a frequenze di 2.450 GHz.



Figura 19. Regioni dello spettro elettromagnetico

Le microonde sono caratterizzate da livelli di energia dei fotoni inferiori di diversi ordini di grandezza alle energie di dissociazione dei legami chimici covalenti, ionici e a idrogeno (1-15 eV) e anche alle deboli interazioni intra e intermolecolari quali interazioni di Van der Waals (1×10^{-2} eV). Ciò esclude la possibilità che le microonde intervengano direttamente sui processi chimici attraverso un indebolimento di legami interatomici. Questo porta a concludere che gli effetti positivi sulla cinetica di reazione sono collegati ai peculiari e rapidi riscaldamenti della materia, provocati da campi elettromagnetici variabili, soprattutto nello stato condensato. Tuttavia i meccanismi attraverso cui le reazioni vengono attivate sono tuttora in fase di studio e numerosi fattori vengono coinvolti. Infatti, se da un

lato i metalli si comportano come riflettori di microonde (si pensi al principio di funzionamento del RADAR)¹⁹³ e ben pochi materiali sono perfettamente trasparenti (quarzo, perfluoro polimeri, paraffine, polietilene), numerosi composti chimici tendono ad assorbirle con notevole efficienza (**Tabella 15**).¹⁹⁴

Materiale	Comportamento	Note
Metalli	Assorbente Riflettente	Rischio di archi elettrici
Vetro	Trasparente Assorbente	-
Cellulosa	Trasparente	Dissipazione d'energia
Polietilene	Trasparente	Rischio di fusione
Poliestere	Trasparente	-
Polistirene	Trasparente	-
Poliammide	Trasparente	-

Tabella 15. Comportamento di alcuni materiali sottoposti alle MW

Tutti i composti organici caratterizzati da un momento di dipolo, anche se minimo, sono spesso ottimi assorbenti di microonde, come quasi tutti i dielettrici polari, i semiconduttori, i materiali magnetici e i materiali ferroelettrici. Questa proprietà offre ampie possibilità di applicazioni a questo tipo di riscaldamento in vari settori, con potenzialità maggiori di quello ad induzione dei materiali (**Tabella 16**). La profondità di penetrazione di microonde nei materiali più comuni è riportata in **Tabella 17**. Il riscaldamento per mezzo di microonde¹⁹⁵ sfrutta la proprietà che talune sostanze chimiche possiedono, ovvero la possibilità di assorbire l'energia veicolata da onde elettromagnetiche e di trasformarla in energia di tipo termico. Si tratta di un riscaldamento estremamente peculiare, che non prevede l'utilizzo di alcun fluido trasportatore di calore; l'energia trasportata dal campo elettromagnetico viene ceduta con diversa intensità da sostanza a sostanza e con tempi sorprendentemente brevi. Ciò permette, in determinate condizioni, di poter condurre reazioni in assenza di solvente.¹⁹⁶ La possibilità di cedere energia selettivamente ad alcune molecole rispetto ad altre, legata sostanzialmente alle caratteristiche della molecola stessa, si presenta come una metodologia di interesse per accelerare tutta una serie di reazioni, nonché per indirizzare la selettività verso determinati prodotti.¹⁹⁷

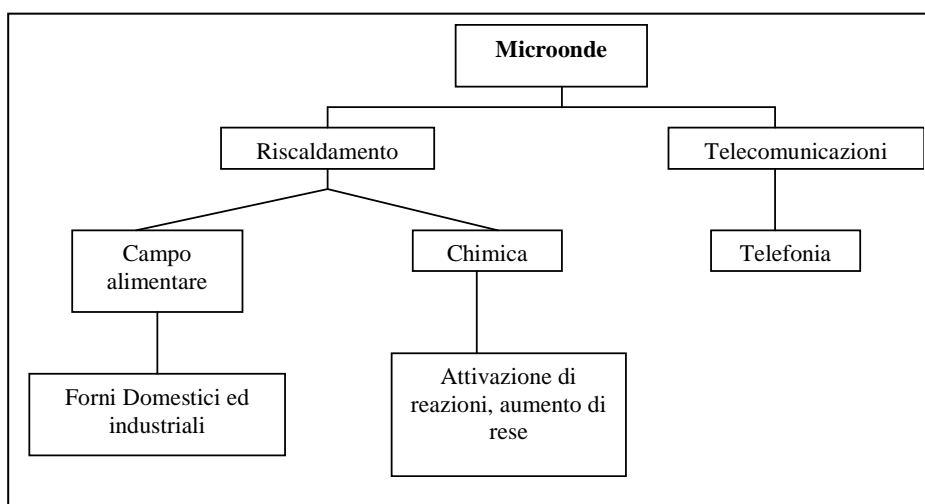
Sistema trattato	Processi promossi	Vantaggi	Grado di sviluppo attuale
Sistemi organici sintetici			
Sintesi organiche in fase liquida e solida	Processi chimici	Velocità, incremento di resa	Laboratorio
Curing di resine termoindurenti (e relativi compositi)	Fluidificazione, processi chimici di curing e post curing, promozione di adesione resina fibra	Velocità, omogeneità e profondità del riscaldamento	Laboratorio, pilota
Vulcanizzazione di tubi e profilati di gomma	Processi chimici di vulcanizzazione	Velocità di vulcanizzazione	Industriale (impiego diffuso)
Fibre e filati tessili	Essiccazione, fissaggio chimico dei coloranti	Velocità	Industriale (impiego estensivo)
Legno, carta, cartone, pellami	Essiccazione incollatura	Velocità	Industriale
Sistemi biologici			
Prodotti alimentari	Essiccazione, cottura, sterilizzazione, maturazione	Velocità	Industriale (impiego estensivo)
Ipertermia medica	Effetti biochimici e biofisici diversi e complessi	Efficacia terapeutica	Impiego terapeutico corrente
Rifiuti biologici	Sterilizzazione, denaturazione chimica	Velocità	Sperimentale
Sistemi inorganici			
Materiali ceramici	Solidificazione, essiccazione, cottura, sinterizzazione, saldatura	Velocità, riscaldamento rapido e localizzato (per saldatura)	Industriale, pilota
Sintesi inorganiche allo stato solido	Fusione, processi chimici	Velocità	Laboratorio
Sintesi di nanopolveri minerali da plasmi gassosi	Processi chimici	Velocità, temperature inferiori	Laboratorio, pilota
Materiali ceramici speciali e compositi metallo ceramici	Sinterizzazione	Velocità, densità superiore	Laboratorio, pilota
Plasma-etching di wafer di semiconduttori	Vaporizzazione localizzata	Precisione di Etching	Pilota, industriale
CVD di film di diamante, diamond-like carbon e SiN da plasmi gassosi	Processi chimici e fisici	Velocità, controllo della morfologia	Pilota, industriale
Rifiuti radioattivi	Fusione, vetrificazione, sinterizzazione	Efficacia di processo	Pilota
Rigenerazione di carboni attivi	Vaporizzazione di prodotti adsorbiti	Velocità, grado di rigenerazione	Laboratorio, pilota

Tabella 16. Alcuni esempi di processi attivati con le microonde

Vetro	Quarzo	150 m
	Pirex	2 m
Varie	Polietilene	25 m
	Ghiaccio	12 m
Materiali plastici	Termoset	0.2 m
	Melanina	0.2 m
Alimenti (50°C)	Acqua	30 mm
	Carne	12 mm
Metalli	Al	2 m

Tabella 17. Profondità di penetrazione delle microonde in alcuni materiali

Un altro vantaggio particolarmente importante di questo tipo di riscaldamento è che esso avviene normalmente dall'interno del corpo sottoposto ad irraggiamento con una dipendenza pressoché nulla dalla conducibilità termica del materiale; se poi il riscaldamento viene condotto selettivamente in precise aree di un oggetto, fino a raggiungere temperature potenzialmente "illimitate", si possono capire le potenzialità, molte delle quali ancora inesplorate, delle microonde (**Schema 18**).

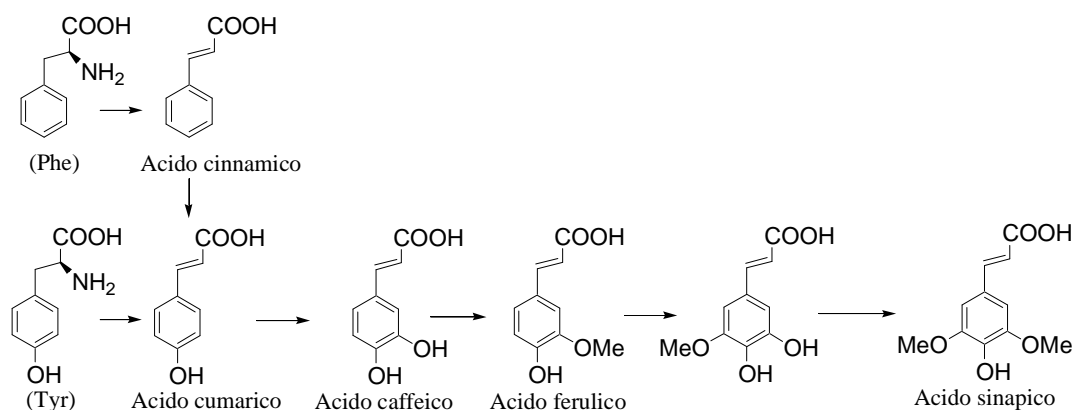


Schema 18. Utilizzo delle microonde

L'elevata velocità delle reazioni chimiche condotte con l'ausilio delle microonde, ha attratto l'attenzione di molti gruppi di ricerca. Dal 1986, anno in cui fu presentato il primo articolo su reazioni organiche condotte per mezzo delle microonde, sono stati pubblicati più di 4500 articoli.^{198,199} Da qui si può dedurre l'elevata versatilità ed il miglioramento dei risultati ottenuti rispetto alle reazioni condotte nelle condizioni classiche.

3.2.3 Gli acidi p-idrossicinnamici

La (L)-fenilalanina e la (L)-tirosina, mattoni biosintetici C₆-C₃, sono i precursori di una vasta gamma di sostanze naturali. Nelle piante, un primo stadio osservato è l'eliminazione di ammoniaca dalla catena laterale per generare il rispettivo acido trans (E)-cinnamico (**Schema 19**) catalizzata dall'enzima *fenilalanina ammonia liasi* (PAL). L'acido p-idrossicinnamico (acido cumarico) può essere ottenuto dall'amminoacido tirosina, per eliminazione di ammoniaca o per ossidrilazione dell'acido trans (E)-cinnamico proveniente dalla (L)-fenilalanina. Tale trasformazione avviene solo nelle piante appartenenti alla famiglia delle *Graminacee*, ma è ancora oggetto di discussione se esista o meno un enzima specifico per tale reazione. Tutti gli altri acidi cinnamici sono ottenuti da ulteriori ossidrilazioni e metilazioni (**Schema 19**). Tra i più importanti acidi cinnamici ritrovati vi sono l'acido ferulico, caffeico e sinapico che si differenziano tra loro per il numero e la posizione di gruppi fenolici o metil eteri. Essi si ritrovano nelle piante di olivo,²⁰⁰ nell'orzo,¹⁸³ nella crusca,¹⁸⁴ nei semi di girasole,¹⁸⁵ nella farina di colza.^{180c}



Schema 19. Biogenesi degli acidi cinnamici

Gli acidi cinnamici si ritrovano nelle piante in forma libera o esterificata come, ad esempio, con l'acido chinico nell'acido clorogenico, con il glucosio nell'1-O-cinnamoilglucosio, o con la colina nella sinapina (**Figura 20**).

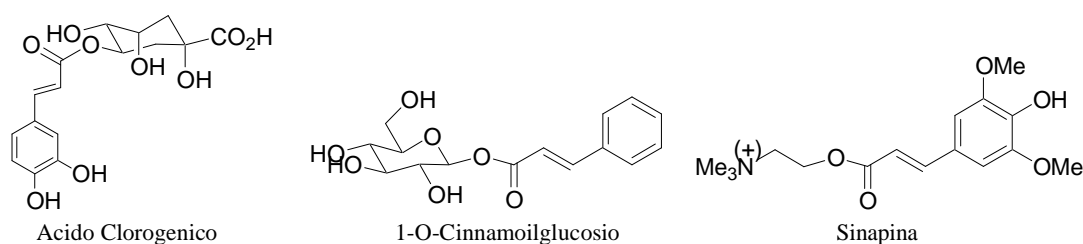


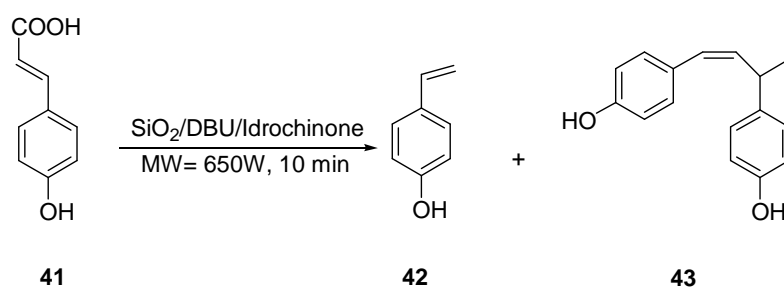
Figura 20. Alcuni esempi di acidi cinnamici legati

Tali composti sono, a loro volta, precursori della maggior parte delle molecole naturali come lignani, cumarine, flavonoidi, stilbeni, ubiquinoni. Le loro proprietà biologiche sono legate sia alla presenza di uno o più gruppi fenolici sull'anello aromatico che al doppio legame coniugato; essi mostrano, infatti, una buona attività antiossidante; vengono utilizzati come scavenger di radicali liberi, come agenti per il controllo della germinazione e come filtri contro le radiazioni UV.²⁰¹

3.2.4 Sintesi di 4-vinil fenoli per decarbossilazione di acidi cinnamici in MW

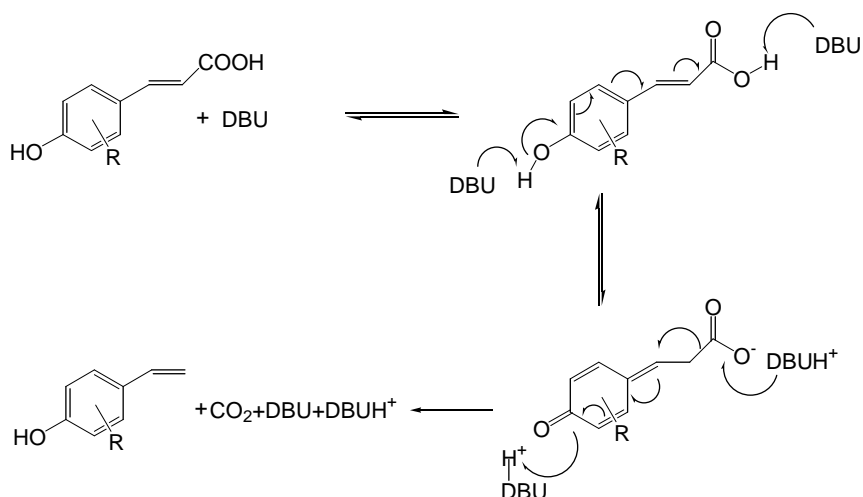
Il substrato modello utilizzato per la messa a punto dei processi sintetici è stato l'acido *p*-idrossicinnamico **41**. Dopo alcune prove sperimentali condotte utilizzando un forno a microonde domestico,²⁰² in assenza di solvente, le migliori condizioni di reazione hanno previsto l'utilizzazione della 1,8-diazo-biciclo[5.4.0]-undec-7-ene (DBU) come base ($pK_a=12^{24}$) e della silice come dielettrico (**Schema 20**).

Per ridurre le collaterali reazioni di polimerizzazione dei prodotti stirenici nelle condizioni appena descritte, è stato necessario aggiungere nella miscela di reazione un inibitore polimerico, quale l'idrochinone. Le conversioni ottenute sono state elevate, tuttavia, dopo estrazione del grezzo dalla silice di reazione con metanolo e purificazione del campione, sono stati isolati il 4-vinil fenolo **42** e il dimero **43** in rese basse, rispettivamente 20% e 8% (**Schema 20**).



Schema 20. Decarbossilazione dell'acido *p*-idrossicinnamico

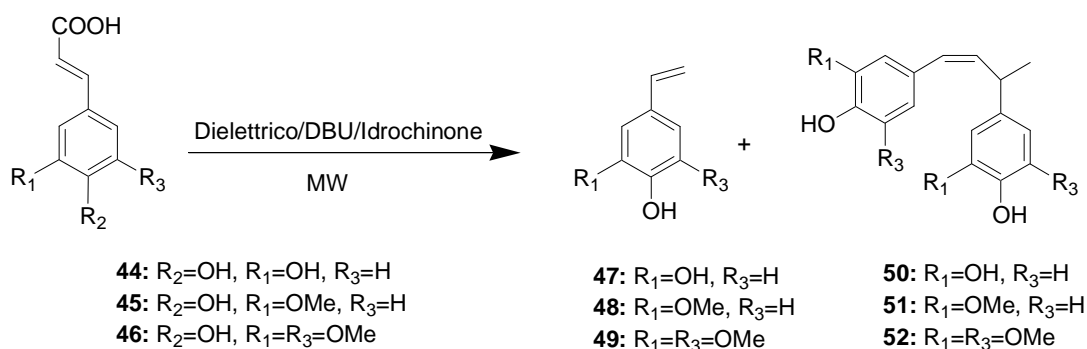
Il meccanismo di decarbossilazione proposto è riportato nello **Schema 21**.²⁰³ Come si può osservare, è indispensabile la presenza di un gruppo ossidrilico libero in posizione para alla catena laterale da cui per deidrogenazione ad opera della base, si avvia il processo di decarbossilazione con formazione dei *p*-idrossi stireni e anidride carbonica.



Schema 21. Meccanismo di decarbossilazione base-catalizzata di acidi cinnamici

La procedura appena descritta è stata quindi estesa ad altri acidi cinnamici quali l'acido caffeico **44**, l'acido ferulico **45** e l'acido sinapico **46** (**Schema 22**). I risultati ottenuti sono riportati in **Tabella 18**. In tutti i casi, le conversioni e i recuperi di reazione sono stati elevati, ma le rese sono drasticamente diminuite dopo purificazione cromatografica dei grezzi di reazione, a causa della evidente decomposizione dei prodotti desiderati.

Per risolvere tale problema, la silice, utilizzata come dielettrico, è stata sostituita dall'allumina basica (Al_2O_3). In tali condizioni, estraendo con etere etilico, sono stati recuperati selettivamente i prodotti di decarbossilazione e non sono state necessarie successive purificazioni cromatografiche.



Schema 22. Decarbossilazione acidi cinnamici

Dielettrico	Acido cinnamico	Tempo (min.)	Recupero (%)	Prodotti (rese %)
SiO ₂	41	10	>98	42 (20), 43 (8)
Al ₂ O ₃	41	30	90	42 (90)
SiO ₂	44	25	88	47 (15), 50 (tracce)
Al ₂ O ₃	44	15	75	47 (35)
SiO ₂	45	30	>98	48 (50), 51 (10)
Al ₂ O ₃	45	20	75	48 (75)
SiO ₂	46	10	85	49 (10), 52 (10)
Al ₂ O ₃	46	15	85	49 (85)

Tabella 18. Dati sperimentali della decarbossilazione di acidi cinnamici

Come si può notare dalla **Tabella 18**, solo con l'acido caffeico non sono stati ottenuti risultati soddisfacenti. Questo substrato, infatti, per la presenza del sistema *o*-catecolico è estremamente reattivo e dalla decarbossilazione sono stati ottenuti prodotti collaterali a conversione elevata. Per questo motivo si è quindi preferito bloccare la reazione a conversioni più basse (~50%) prima della formazione di sottoprodotti. In queste condizioni, dal grezzo di reazione, filtrato su allumina basica, è stato ottenuto il prodotto **47** puro in resa pari al 35%.

La procedura di decarbossilazione messa a punto su molecole commerciali è stata testata su un campione di acido ferulico purificato con resine a scambio ionico proveniente da un estratto acquoso di crusca, fornito dal gruppo di ricerca del Dott. L. Setti del Dipartimento di Chimica Industriale, Università di Bologna. Anche in questo caso, il prodotto principale di reazione è stato il vinil fenolo con una resa pari al 70%.¹¹⁵ Questo risultato ha dimostrato che la metodologia di decarbossilazione messa a punto su molecole modello è applicabile anche a matrici vegetali e rappresenta un esempio di “valorizzazione chimica” di uno scarto dell'industria agroalimentare.

3.3 Protezioni selettive di funzioni alcoliche presenti in molecole fenoliche

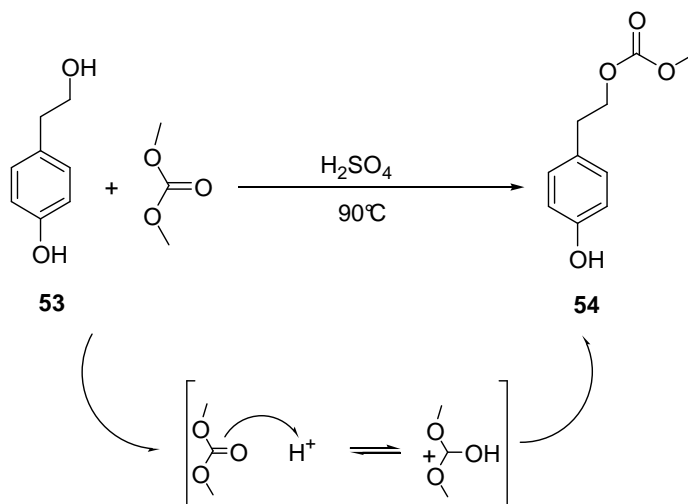
3.3.1 Carbosimetilazione selettiva

In sintesi organica, in molti casi, è indispensabile ricorrere ad una protezione chemoselettiva di gruppi funzionali per direzionare un reagente su un sito specifico della molecola, evitando la formazione di complesse miscele di prodotti finali, a volte difficili da separare. Tali protezioni, per essere utili, devono procedere con rese e selettività elevate; inoltre il gruppo protettore introdotto deve essere stabile nelle condizioni di reazione, ma facilmente rimovibile alla fine dei processi sintetici per ripristinare il gruppo iniziale.

In letteratura sono descritte un numero elevato di reazioni di protezione/deprotezione di vari gruppi funzionali; tuttavia sono riportati pochi esempi di protezione di funzioni alcoliche rispetto a quelle fenoliche.²⁰⁴

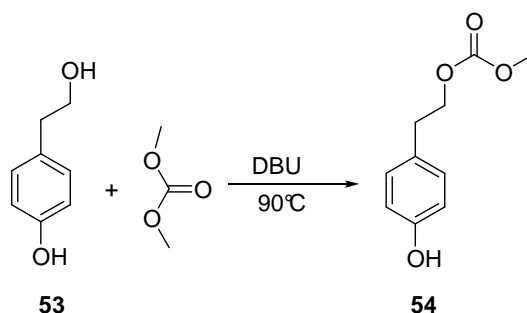
Considerate le proprietà del DMC come agente metilante e carbossimetilante, una parte dell'attività di ricerca di questo dottorato ha riguardato l'utilizzazione di tale reagente per proteggere i gruppi alcolici potenzialmente presenti in catene laterali di molecole fenoliche, sfruttando la loro differenza di pK_a e quindi di nucleofilicità. Questo lavoro ha portato alla messa a punto di una nuova metodologia di introduzione di gruppi protettori ecocompatibile finora non riportata in letteratura.^{116,117,118}

Il substrato modello è stato il tirosolo **53**. Dopo varie prove sperimentali, si è visto che tale substrato, solubilizzato in DMC in ambiente acido per acido solforico (20%), ha reagito a dare, come unico prodotto, il corrispondente carbossimetilato **54** (**Schema 23**). L'ambiente acido, esaltando l'elettrofilicità del gruppo carbonilico del dimetilcarbonato, ha evidentemente favorito la reazione con il gruppo alcolico che è il nucleofilo hard della molecola del tirosolo.



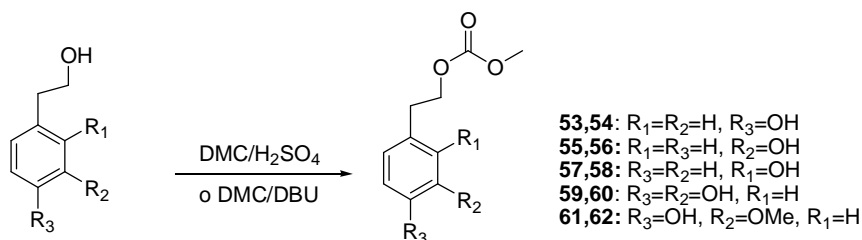
Schema 23. Carbossimetilazione del tirosolo in ambiente acido

La reazione è stata provata anche in ambiente basico. In tal caso, esaltando la nucleofilicità dell'ossidrilico alcolico, la reazione è stata selettivamente orientata sul centro elettrofilo hard del DMC. Pertanto, utilizzando la 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU), è stato ottenuto il prodotto carbossimetilato **54** (**Schema 24**).



Schema 24. Carbossimetilazione del tirosolo in ambiente acido

Considerando i buoni risultati ottenuti, l'originalità e l'ecompatibilità della metodologia sviluppata, tali condizioni di reazione sono state estese ad una serie di composti caratterizzati dalla presenza degli stessi centri reattivi quali il 2-idrossi-fenetil alcool, il 3-idrossi-fenetil alcool, l'alcool omovanillico e l'idrossitirosolo (**Schema 25**). I risultati sono riportati in **Tabella 19**. Come si può osservare, tutte le reazioni hanno dato ottime rese e conversioni. Inoltre, anche riducendo la quantità di base, la selettività della protezione non è stata compromessa e si è osservato solo un prolungamento dei tempi di reazione.



Schema 25. Reazioni di carbossimetilazione di fenoli con DMC

Substrati	Condizioni sperimentali	Conversioni (%)	Prodotti (rese %)
53	DBU (1.2 mmol), 90°C, 7.5 h	>98	54 (>98)
53	H ₂ SO ₄ (20%), 90°C, 7 h	>98	54 (90)
55	DBU (1.2 mmol), 90°C, 4.5 h	>98	56 (>98)
55	H ₂ SO ₄ (20%), 90°C, 4.5 h	>98	56 (>98)
57	DBU (1.2 mmol), 90°C, 2 h	>98	58 (>98)
57	H ₂ SO ₄ (20%), 90°C, 1.5 h	>98	58 (>98)
59	DBU (1.2 mmol), 90°C, 1 h	>98	60 (>98)
59	H ₂ SO ₄ (20%), 90°C, 6.5 h	>98	60 (>98)
61	DBU (1.2 mmol), 90°C, 7.5 h	>98	62 (>98)
61	H ₂ SO ₄ (20%), 90°C, 7 h	>98	62 (>98)
53	DBU (0.1 mmol), 90°C, 12 h	>98	54 (>98)

Tabella 19. Risultati sperimentali della reazione riportata nello **Schema 25**.

Per alcuni dei prodotti ottenuti, è stata misurata l'attività antiossidante con il metodo spettrofotometrico Uv-Vis della 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH, **Figura 21**),²⁰⁵ un

radicale libero che in metanolo forma una soluzione colorata di viola, mentre la sua forma ridotta è incolore.

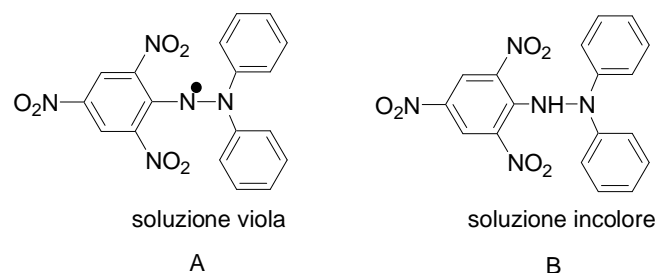


Figura 21. A) struttura della DPPH; B) DPPH ridotta

Questo metodo si basa sulla caratteristica dei composti antiossidanti di neutralizzare i radicali liberi reattivi, convertendoli in radicali liberi stabili o composti neutri. I risultati riportati in **Tabella 20** mostrano che l'introduzione del carbossimetile non ha diminuito l'attività antiossidante dei prodotti di partenza, mentre ne ha modificato alcune proprietà chimico-fisiche, quali, ad esempio, la solubilità nei solventi organici.

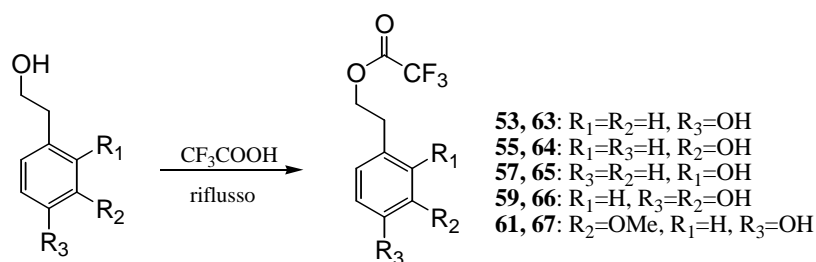
Composto	EC50(lineare) (mmol composto/mmol DPPH)	EC50(lineare)
Alcol omovanillico 61	0.22	13 μ M
Alcol omovanillico carbossimetilato 62	0.22	14 μ M
Idrossitirosolo 59	0.15	9.0 μ M
Idrossitirosolo carbossimetilato 60	0.11	6.6 μ M

Tabella 20. Dati di attività antiossidante con il metodo della DPPH

Infine, sono state messe a punto le condizioni sperimentali per la deprotezione del gruppo protettivo. Quella che consente la rimozione quantitativa di tale gruppo è risultata essere l'idrolisi basica condotta con KOH 1 M in THF a temperatura ambiente. Inefficace, è risultata l'idrolisi acida per HCl o H₂SO₄.

3.3.2 Trifluoroacetilazione selettiva

La funzione carbossilica dell'acido trifluoroacetico ha un'elevata elettrofilicità dovuta all'effetto elettron-attrattore dei tre atomi di fluoro legati al carbonio in α al gruppo carbonilico. Anche questo reagente è stato utilizzato per proteggere selettivamente la funzione alcolica dei substrati tirosolo, 2-idrossi-fenetil alcool, 3-idrossi-fenetil alcool, alcool omovanillico, idrossitirosolo. La reazione è stata condotta solubilizzando il substrato in acido trifluoroacetico e lasciandolo reagire alla temperatura di riflusso fino alla completa conversione del prodotto desiderato (**Schema 26**).



Schema 26. Trifluoroacetilazione selettiva di fenoli

Come si può notare dai dati riportati in **Tabella 21**, le reazioni sono state completate in tempi brevi con rese e selettività totali.

Substrato	Tempo (h)	Conv.(%)	Prodotti (Resa%)
53	2	>98	63 (94)
55	2.5	>98	64 (96)
57	3	>98	65 (>98)
59	3	>98	66 (>98)
61	2	>98	67 (>98)

Tabella 21. Dati sperimentali relativi alla trifluoroacetilazione di fenoli

La deprotezione è stata condotta in ambiente basico, acido e via riduzione con sodioboroidruro ($NaBH_4$).

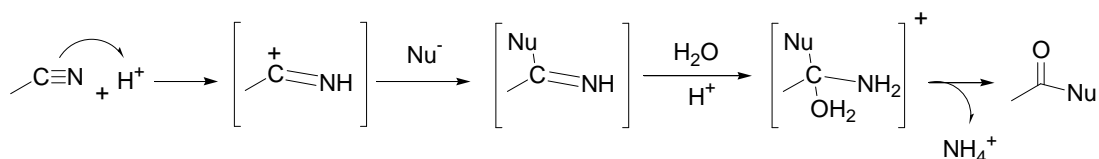
3.3.3 Acetilazione selettiva

Una delle reazioni più conosciute ed utilizzate per la protezione di ossidrili alcolici e/o fenolici, è l'acetilazione condotta con anidride acetica/piridina.²⁰⁶ Tuttavia, in tal caso non si osserva selettività fra gruppi fenolici e alcolici. Recentemente è stato pubblicato, un lavoro di esterificazione selettiva di gruppi alcolici in sistemi fenolici.²⁰⁷ Le reazioni sono state condotte in ambiente anidro, difficilmente ottenibile e riproducibile sia su scala di

laboratorio che su scala industriale, utilizzando il costoso cerio tricloruro (III) come catalizzatore e procedono con rese che vanno dal 27 al 70 %.

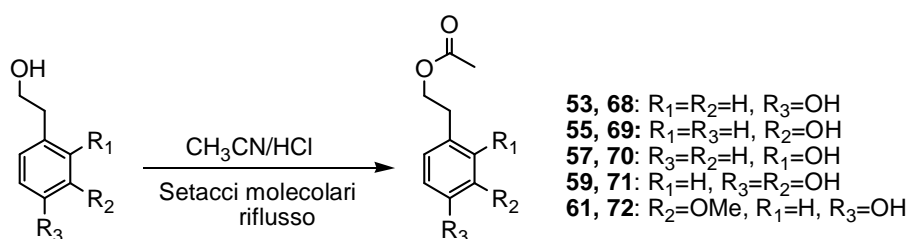
Volendo sfruttare ancora una volta la maggiore nucleofilicità che caratterizza gli ossidrili alcolici rispetto a quelli fenolici, abbiamo ritenuto utile utilizzare alcuni elettrofili hard.

Il gruppo nitrile, in ambiente fortemente acido, esalta l'elettrofilicità del carbonio insaturo. Infatti, in seguito alla formazione di un carbocatione avente carattere elettrofilo, reazione con un nucleofilo hard e successiva idrolisi, può essere introdotto un acetile su una funzione alcolica (**Schema 27**).



Schema 27. Meccanismo di reazione di un nitrile in ambiente acido con un nucleofilo

Sulla base di questa considerazione, è stata messa a punto una metodologia basata sull'impiego di acetonitrile in ambiente acido, per HCl concentrato, alla temperatura di riflusso (**Schema 28**).^{116, 117, 118}



Schema 28. Acetilazione selettiva di fenoli con acetonitrile/acido cloridrico

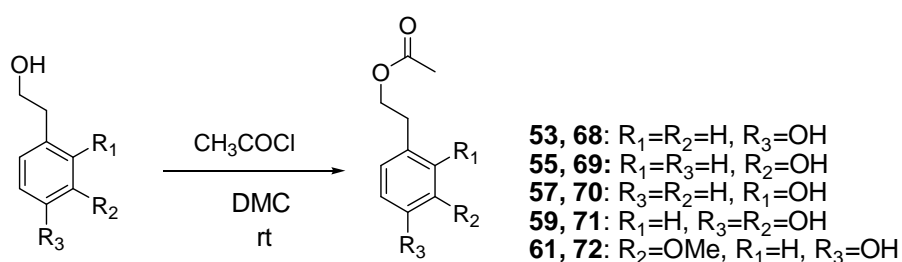
Substrato	Tempo (h)	Conv. (%)	Prodotti (Resa%)
53	26	95	68 (93)
55	28	75	69 (75)
57	28	75	70 (73)
59	17	>98	71 (>98)
61	24	85	72 (85)

Tabella 22. Dati sperimentali dell'acetilazione di fenoli con acetonitrile/acido cloridrico

I risultati descritti in **Tabella 22** mostrano una selettività totale. L'impiego dei setacci molecolari si è reso necessario per trattenere l'acqua. Infatti, pur essendo indispensabile

una quantità stechiometrica di acqua, la sua presenza in ambiente acido produceva l'idrolisi del prodotto, spostando la reazione verso i reagenti.

La reazione di acetilazione selettiva dell'ossidrilico nei composti precedentemente descritti è stata inoltre ottenuta per reazione con cloruro di acile in dimetilcarbonato (**Schema 29, Tabella 23**). Sfruttando la presenza di acido cloridrico, derivante dall'idrolisi del cloruro causata dall'umidità dell'aria e l'assenza di un ambiente anidro, la protezione è risultata selettiva sull'ossidrilico.

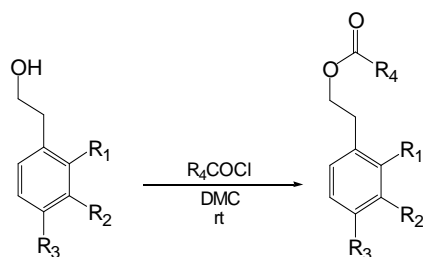


Schema 29. Acetilazione selettiva con cloruro di acile in DMC

Substrato	Tempo (h)	Conv. (%)	Prodotti (Resa%)
53	24	80	68 (80)
55	24	86	69 (86)
57	24	>98	70 (>98)
59	24	95	71 (95)
61	24	>98	72 (>98)

Tabella 23. Dati sperimentali delle acetilazione con cloruro di acetile in DMC

Tale procedura è stata estesa per esterificare la funzione alcolica di fenoli variamente sostituiti utilizzando cloruri acilici, quali esanoil cloruro, palmitoil cloruro, oleoil cloruro e linoleoil cloruro per ottenere i corrispondenti prodotti esterificati, con catene sature ed insature, molecole lipofile ad attività antiossidante anche in matrici oleose (**Schema 30**).²⁰⁸



- 53:** R₁=R₂=H, R₃=OH
55: R₁=R₃=H, R₂=OH
57: R₃=R₂=H, R₁=OH
59: R₁=H, R₃=R₂=OH
61: R₂=OMe, R₁=H, R₃=OH
73: R₄=CH₃(CH₂)₄
74: R₄=CH₃(CH₂)₁₄
75: R₄=CH₃(CH₂)₇(CH)₂(CH₂)₇
76: R₄=CH₃(CH₂)₄(CH)₂CH₂(CH)₂(CH₂)₇
78: R₃=R₂=H, R₁=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄
79: R₁=R₃=H, R₂=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄
80: R₁=R₂=H, R₃=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄
81: R₁=H, R₃=R₂=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄
82: R₂=OMe, R₁=H, R₃=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄
83: R₃=R₂=H, R₁=OH, R₄=CH₃(CH₂)₁₄
84: R₁=R₃=H, R₂=OH, R₄=CH₃(CH₂)₁₄
85: R₁=R₂=H, R₃=OH, R₄=CH₃(CH₂)₁₄
86: R₁=H, R₃=R₂=OH, R₄=CH₃(CH₂)₁₄
87: R₂=OMe, R₃=OH, R₁=H, R₄=CH₃(CH₂)₁₄
88: R₃=R₂=H, R₁=OH, R₄=CH₃(CH₂)₇(CH)₂(CH₂)₇
89: R₁=R₃=H, R₂=OH, R₄=CH₃(CH₂)₇(CH)₂(CH₂)₇
90: R₁=R₂=H, R₃=OH, R₄=CH₃(CH₂)₇(CH)₂(CH₂)₇
91: R₁=H, R₃=R₂=OH, R₄=CH₃(CH₂)₇(CH)₂(CH₂)₇
92: R₂=OMe, R₁=H, R₃=OH, R₄=CH₃(CH₂)₇(CH)₂(CH₂)₇
93: R₃=R₂=H, R₁=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄(CH)₂CH₂(CH)₂(CH₂)₇
94: R₁=R₃=H, R₂=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄(CH)₂CH₂(CH)₂(CH₂)₇
95: R₁=R₂=H, R₃=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄(CH)₂CH₂(CH)₂(CH₂)₇
96: R₁=H, R₃=R₂=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄(CH)₂CH₂(CH)₂(CH₂)₇
97: R₂=OMe, R₁=H, R₃=OH, R₄=CH₃(CH₂)₄(CH)₂CH₂(CH)₂(CH₂)₇

Schema 30. Esterificazioni selettive con cloruri degli acidi in DMC

Dai dati riportati in **Tabella 23** è possibile concludere che tale metodologia è risultata essere versatile ed efficiente sia utilizzando diversi fenolici differientemente sostituiti che cloruri acilici di varia natura.

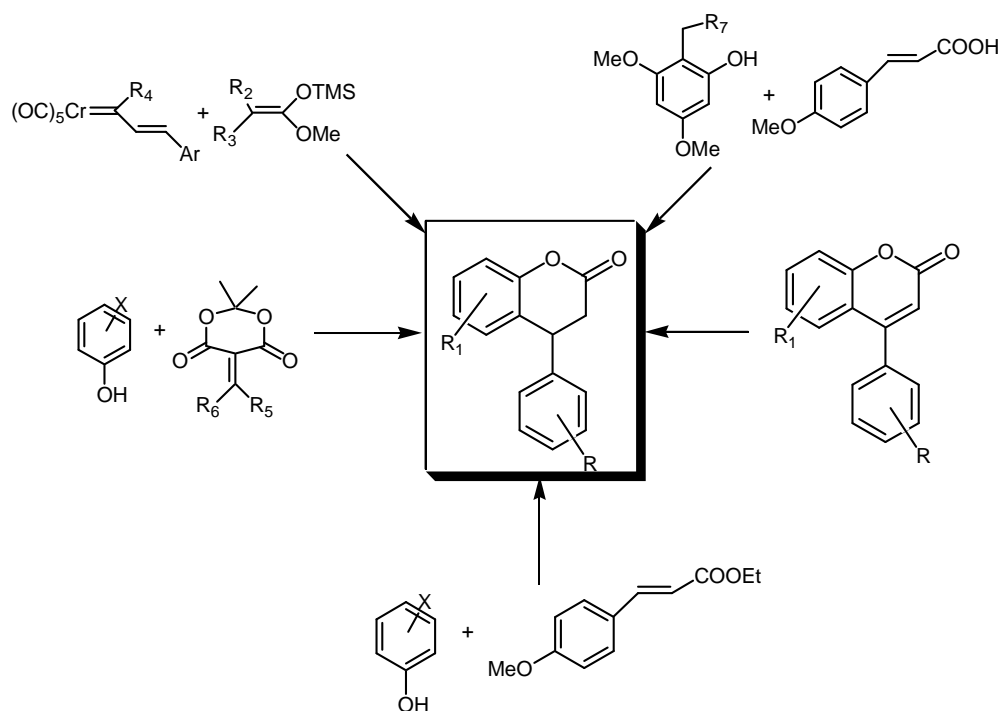
Substrati	Tempi (h)	Conv. (%)	Prodotti (rese %)
57, 73	24	76	78 (70)
55, 73	24	86	79 (75)
53, 73	24	70	80 (65)
59, 73	22	>98	81 (>98)
61, 73	24	>98	82 (>98)
57, 74	24	81	83 (80)
55, 74	24	86	84 (81)
53, 74	24	89	85 (86)
59, 74	24	>98	86 (>98)
61, 74	22	>98	87 (>98)
57, 75	24	74	88 (70)
55, 75	22	88	89 (81)
53, 75	24	92	90 (90)
59, 75	24	>98	91 (>98)
61, 75	24	>98	92 (>98)
57, 76	22	80	93 (78).
55, 76	24	83.5	94 (75)
53, 76	21	92	95 (90)
59, 76	24	>98	96 (>98)
61, 76	24	>98	97 (>98)

Tabella 24. Dati sperimentali delle reazioni di esterificazioni selettive di fenoli naturali

Le funzioni alcoliche sono stae ripristinate per idrolisi basica con KOH o acida con HCl o per riduzione con NaBH₄ in THF.

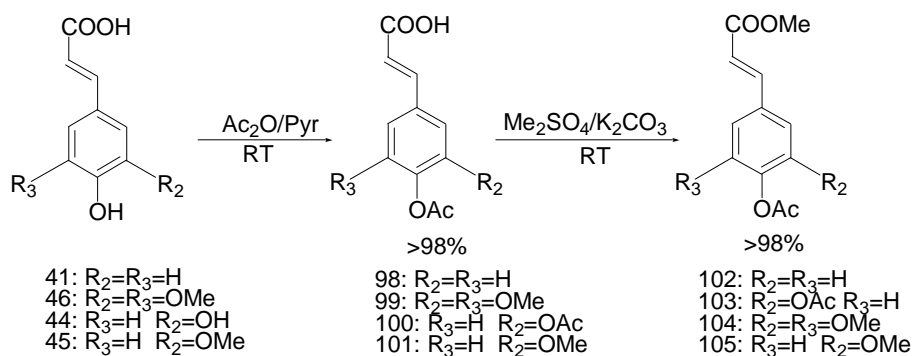
3.3.4 Utilizzazione del tirosolo e di acidi cinnamici per l'ottenimento di di 4-aril-3,4-diidro-cumarine e di nuovi derivati del tirosolo

Le 4-aril-3,4-diidro-cumarine sono molecole dotate di importanti attività biologiche come l'inibizione dell'aldoso-reduttasi e della proteina chinasi,²⁰⁹ l'attività anti-herpes,²¹⁰ la selettiva inibizione della replicazione dell'HIV.²¹¹ Nello **Schema 31** sono riportate le metodologie sintetiche più significative riportate in letteratura per la preparazione di tali molecole.²¹²

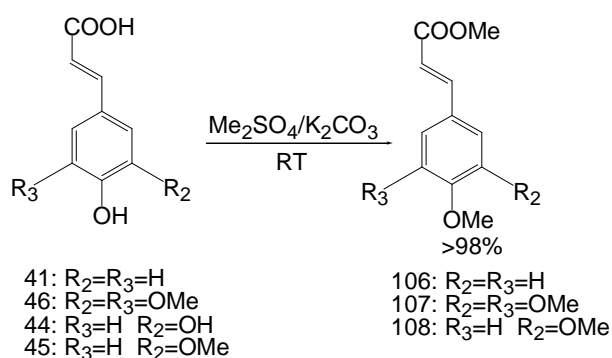


Schema 31. Metodologie sintetiche di 4-aril-diidro-cumarine riportate in letteratura

La strategia sintetica messa a punto in questo dottorato ha sfruttato una reazione di transesterificazione e di ciclizzazione tra il tirosolo e gli esteri metilici degli acidi cinnamici in ambiente acido. Per evitare reazioni competitive di transesterificazione tra gli stessi acidi cinnamici, è stato necessario proteggere le funzioni alcoliche sia sotto forma di esteri acetici per reazione con anidride acetica/piridina (**Schema 32**) che applicando una metilazione esauriente di tutti i gruppi funzionali presenti nella molecola (**Schema 33**).



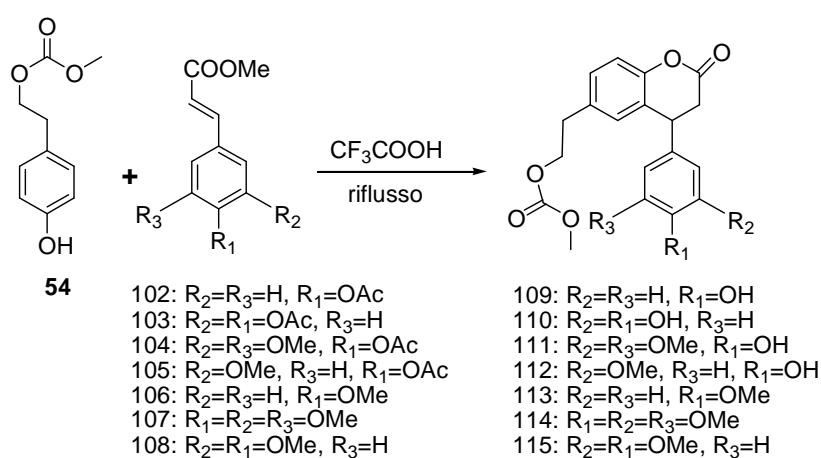
Schema 32. Protezione degli ossidril fenolici e della funzione carbossilica presente negli acidi cinnamici



Schema 33. Metilazione esauriente degli acidi cinnamici

Inoltre, si è ricorso alla protezione selettiva dell'ossidril alcolico del tirosolo, sfruttando la carbossimetilazione precedentemente descritta in DMC.¹¹⁸

Dopo aver introdotto le protezioni selettive, è stata condotta una reazione di transesterificazione in acido trifluoroacetico a cui è seguita una reazione one-pot di chiusura d'anello tramite sostituzione elettrofila aromatica (**Schema 34**).



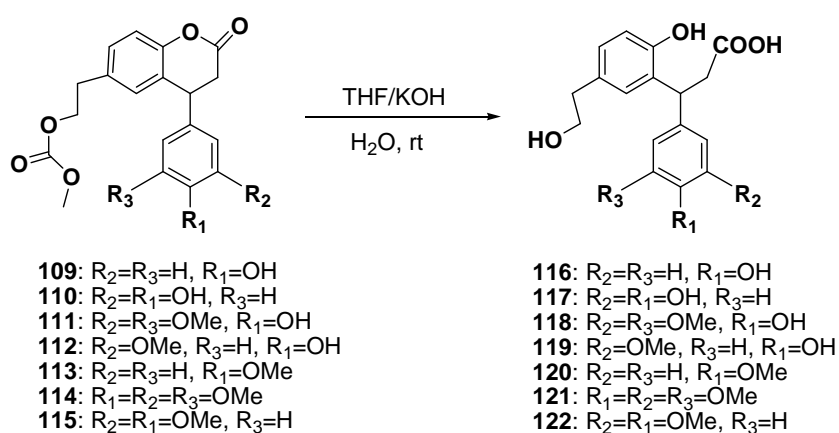
Schema 34. Sintesi 4-aryl-3,4-diidrocumarine

Come si può osservare dalla **Tabella 25**, le reazioni sono procedute con conversioni quantitative, portando alla formazione di miscele complesse di prodotti. Dopo purificazione i composti desiderati sono stati isolati in rese che vanno dal 20 al 50%, paragonabili a quelle riportate in letteratura con metodologie diverse.

Substrati	Tempo (h)	Conv. (%)	Prodotti (Resa%)
54, 102	4	>98	109 (50)
54, 103	3	>98	110 (20)
54, 104	6	>98	111 (28)
54, 105	26	>98	112 (35)
54, 106	5	>98	113 (47)
54, 107	18	>98	114 (40)
54, 108	4	>98	115 (50)

Tabella 25. Dati sperimentali relativi alla sintesi di 4-aril-diidrocurmarine

L'idrolisi basica di tali composti ha portato contemporaneamente alla deprotezione dei gruppi funzionali carbossimetilati all'apertura dell'anello lattonico, dando luogo a nuovi prodotti aventi lo scheletro del tirosolo (**Schema 35**).



Schema 35. Idrolisi basica delle 4-aril-diidrocurmarine

Dei prodotti ottenuti è stata testata l'attività antiossidante con il metodo spettrofotometrico della DPPH.²⁰⁵ Come si può osservare in **Tabella 26**, i nuovi composti hanno mostrato un'attività antiossidante maggiore del tirosolo ed il più attivo è risultato il composto **118**.

Composto testato	EC ₅₀ (mmol composto/mmol DPPH)	EC ₅₀ (mM)	Rapporto stechiometrico ^a (mM)	Moli DPPH ridotto /moli ArOH ^b
Tirosolo (53)	21	1.26	2.52	0.024
116	2.04	0.12	0.24	0.25
118	0.24	0.014	0.028	2.08
119	0.86	0.052	0.10	0.58
120	2.32	0.14	0.28	0.21
121	3.00	0.18	0.36	0.17
122	2.49	0.15	0.30	0.20

^a Il rapporto stechiometrico della reazione è ottenuto moltiplicando EC₅₀(mM) di ogni ossidante per due; questo valore è la concentrazione teorica efficiente necessaria per ridurre il 100% di DPPH

^b L'inverso del doppio dell'EC₅₀ (mmol ArOH/mmol DPPH) è il numero di molecole di DPPH ridotte da una molecola di antiossidante

Tabella 26. Dati di attività antiossidante dei prodotti sintetizzati confrontati con il tirosolo

3.4 Sintesi di idrossitirosolo e derivati a partire da tirosolo o alcol omovanillico via ossidazione con reagenti dello iodio ipervalente

Il tirosolo e l'alcol omovanillico sono stati utilizzati come materiali di partenza anche per una nuova e vantaggiosa sintesi dell'idrossitirosolo.

L'idrossitirosolo (3,4-diidrossifenil etanolo) è un fenolo naturale contenuto in un prodotto tipico dell'area del Mediterraneo, l'olio di oliva²¹³ ed è presente anche nelle acque di vegetazione che ne derivano dalla sua produzione (**Figura 22**).²¹⁴

Hydroxytyrosol
CAS Number: 10597-60-1
Molecular Formula: C₈H₁₀O₃
Formula Weight: 154.2

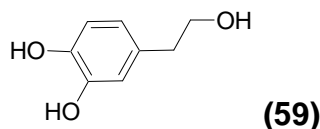


Figura 22. Idrossitirosolo

In tali matrici può trovarsi sia in forma libera che esterificata (**Figura 23**). Una molecola molto comune è l'oleuropeina da cui si ottiene l'idrossitirosolo per reazione di idrolisi catalizzata da β-glicosidasi.

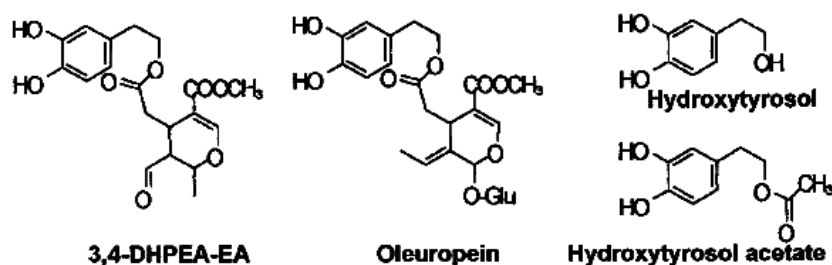


Figura 23. Idrossitirosolo esterificato

L'idrossitirosolo viene utilizzato come principio attivo o additivo nel settore farmaceutico, per la prevenzione e/o il trattamento di malattie cardiovascolari, disturbi neurovegetativi, ischemia cerebrale, diabete;²¹⁵ nel settore cosmetico, per la preparazione di creme protettive per la pelle e di rossetti per labbra; nel settore alimentare, per stabilizzare o migliorare la qualità di alimenti e bevande, in particolare gli oli vegetali. Di recente è stato utilizzato anche in campo agrochimico, per il controllo della crescita di funghi e batteri patogeni.²¹⁶ Molte di queste applicazioni derivano dalle proprietà antiossidanti e di scavenger di radicali liberi dell'idrossitirosolo.²¹⁷ Attraverso un'analisi in vitro del comportamento dell'idrossitirosolo su cellule in cui è stato indotto il processo tumorale, si è evidenziato che questa molecola agisce come detossificante nei confronti di agenti mutageni, composti che possono indurre il cancro, aumentando la capacità della cellula di riparare il proprio patrimonio genetico. Inoltre, è stato dimostrato che nel caso in cui il processo tumorale progredisca oltre la fase di iniziazione, l'idrossitirosolo è in grado di esplicare un'azione positiva evitando la proliferazione e la mitosi della cellula, oppure favorendo l'apoptosi cellulare prima dell'insorgenza della neoplasia vera e propria.²¹⁸ Studi condotti somministrando l'idrossitirosolo in animali da esperimento (ratti) hanno dimostrato che dosi basse di tale composto (0.5 mg/Kg) sono in grado di ridurre sostanzialmente la formazione di prodotti di perossidazione lipidica generati in vivo (isoprostani) da uno stress ossidativo (fumo passivo).²¹⁹ In **Tabella 27** è possibile osservare come tale molecola abbia il maggiore potere di scavenger verso la DPPH rispetto ad altri composti di riferimento.

	Tempo:15 min ^a	Tempo:60 min ^a	Tempo:250 min ^a
Composti	EC ₅₀ ^b	EC ₅₀ ^b	EC ₅₀ ^b
Estratto fenolico	0.40 ^a (±0.01)	0.36 ^a (±0.01)	0.26 ^a (±0.01)
Idrossitirosolo acetato	0.26 ^a (±0.01)	0.22 ^a (±0.01)	0.14 ^a (±0.01)
α-Tocoferolo	0.25 ^a (±0.01)	0.25 ^b (±0.01)	0.24 ^b (±0.01)
Trolox	0.24 ^a (±0.01)	0.24 ^b (±0.02)	0.24 ^b (±0.02)
Oleuropeina	0.22 ^b (±0.01)	0.18 ^b (±0.01)	0.12 ^b (±0.01)
Idrossitirosolo	0.19 ^b (±0.01)	0.13 ^b (±0.01)	0.099 ^b (±0.004)

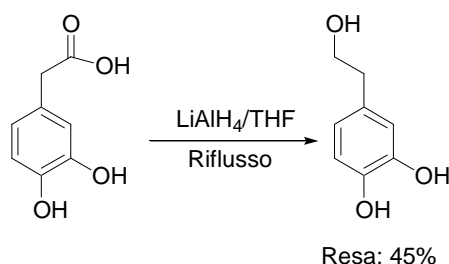
^a: media di quattro misure (deviazione standard in parentesi); ^b:EC₅₀ espresso come moli antiossidante/moli di radicale DPPH

Tabella 27. Effetto scavenger sul radicale DPPH di estratti e composti fenolici

L'idrossitirosolo è commercializzato in quantità dell'ordine dei milligrammi ad un prezzo pari a circa 1000 Euro/grammo. E' inoltre presente come componente, seppure in piccole percentuali, in molti estratti vegetali commercializzati dalla Società CreAgri, INC (Olivenol, Hidrox) e da Indena (Oleselect).

Considerata la sua presenza nelle matrici vegetali di origine naturale, sono stati messi a punto numerosi protocolli di estrazione dalle olive ²²⁰ dalle foglie d'olivo, ²²¹ dall'olio di oliva ²²² e dalle acque di vegetazione. ^{214,223} Tali procedure sono spesso laboriose, richiedono l'uso di notevoli quantità di solventi organici nocivi e infiammabili e adeguate apparecchiature di estrazione e di purificazione. Inoltre, in alcuni casi l'idrossitirosolo non è recuperato in resa elevata e con l'adeguata purezza e viene estratto insieme ad altri componenti fenolici.

In letteratura sono riportate alcune procedure sintetiche dell'idrossitirosolo che utilizzano come materiali di partenza il 3,4-dimetossifenil etanolo; ²²⁴ l'acido 3,4-dimetossifenil acetico; ²²⁵ la 3,4-dimetossi benzaldeide. ²²⁶ Tuttavia, tali sintesi richiedono quattro-cinque passaggi e le rese finali di idrossitirosolo non sono elevate. Più convenientemente, può essere preparato per riduzione dell'acido 3,4-diidrossifenil acetico (**Schema 36**). In tal caso, però è richiesto l'uso di un reagente pericoloso, quale il litio alluminio idruro e di un solvente anidro, il tetraidrofurano (resa: 45%). ²²⁷

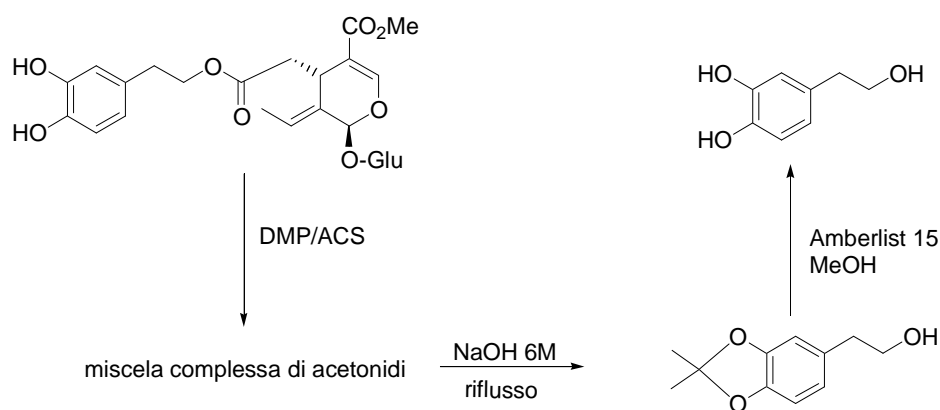


Schema 36. Sintesi dell'idrossitirosolo a partire dall'acido 3,4-diidrossifenilacetico

Recentemente, sono stati messi a punto alcuni procedimenti sintetici a partire da materiali di partenza contenuti essi stessi nelle foglie di olivo, nell'olio di oliva e nelle acque di vegetazione, quali l'oleuropeina e il tirosolo.

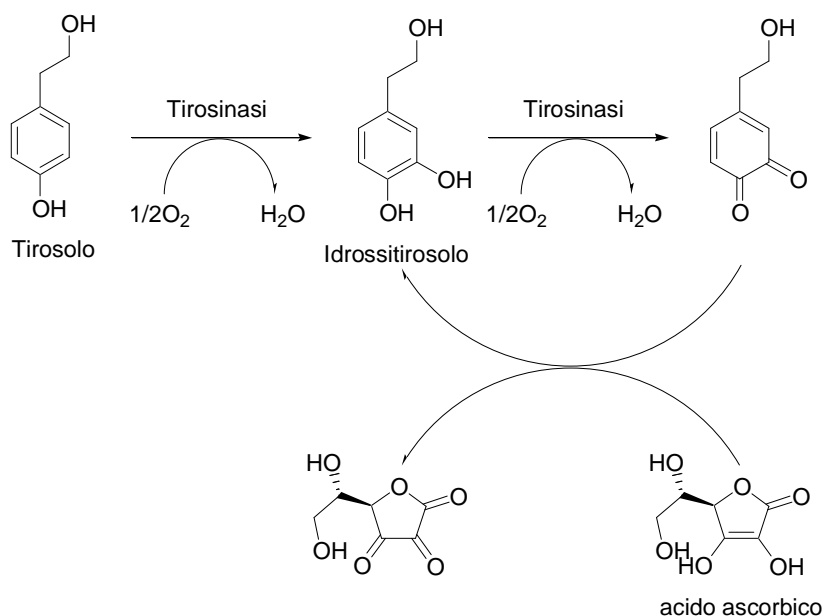
Un esempio di utilizzazione dell'oleuropeina descrive una procedura che consente di ottenere una soluzione 0.1 M di idrossitirosolo in acido cloridrico dopo idrolisi basica sotto flusso di azoto e successiva acidificazione dell'idrolizzato.²²⁸ Questa metodologia non permette di ottenere elevate rese di idrossitirosolo puro.

Un esempio più recente di utilizzazione dell'oleuropeina è riportata nello (Schema 37).²²⁹ Per stabilizzare la funzione catecolica, inizialmente si procede alla protezione degli ossidrilici fenolici utilizzando il dimetossipropano (DMP) in presenza di acido canforsolfonico (ACS); successivamente si procede all'idrolisi basica e alla successiva rimozione del gruppo protettore per ottenere idrossitirosolo.



Schema 37. Sintesi di idrossitirosolo a partire dall'oleuropeina

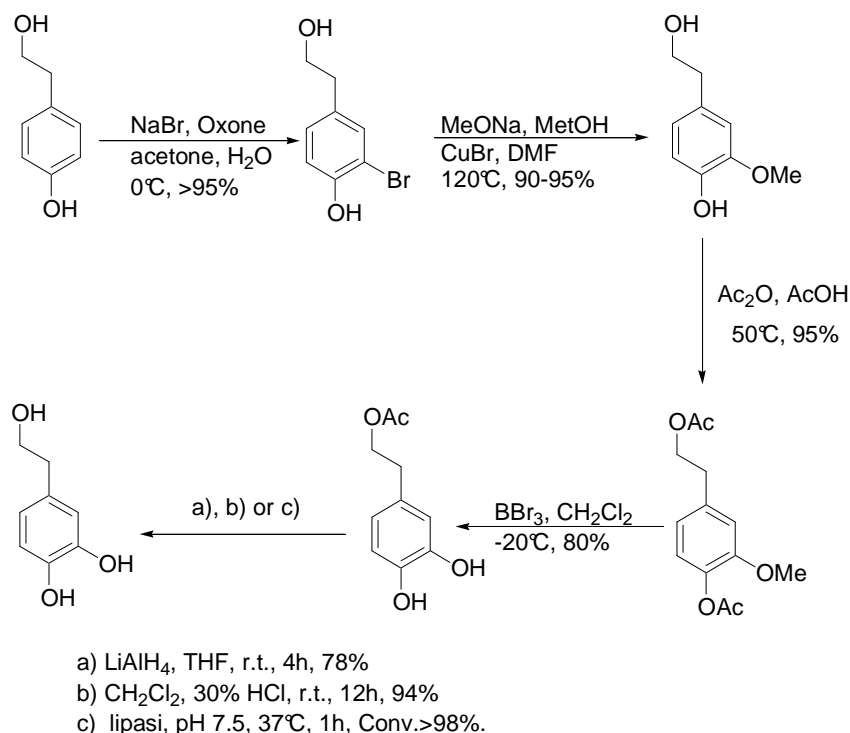
Una interessante utilizzazione del tirosolo per produrre idrossitirosolo è stata sviluppata sfruttando l'ossidrilazione aromatica operata da una polifenolo-ossidasi, la tirosinasi EC 1.14.18.1, cui segue un work-up riducente in presenza di acido ascorbico (Schema 38).²³⁰



Schema 38. Sintesi enzimatica dell' idrossitirosolo

La sintesi procede in resa quantitativa in un mezzo acquoso, a pH neutro e a temperatura ambiente. Tuttavia, per ottenere 1 grammo di idrossitirosolo è necessario utilizzare 1 litro di soluzione acquosa tamponata (circa 0.006 mM). Pertanto, la sua estensione a livello industriale risulta essere di difficile attuazione.

Recentemente è stata pubblicata un'altra sintesi dell'idrossitirosolo a partire dal tirosolo (**Schema 39**).²³¹ Anche questa strategia sintetica, pur procedendo con rese soddisfacenti, è di difficile applicazione a livello industriale, in quanto richiede troppi passaggi, condizioni drastiche di reazione e utilizza reagenti tossici, come il cloruro di metilene e tribromuro di boro.

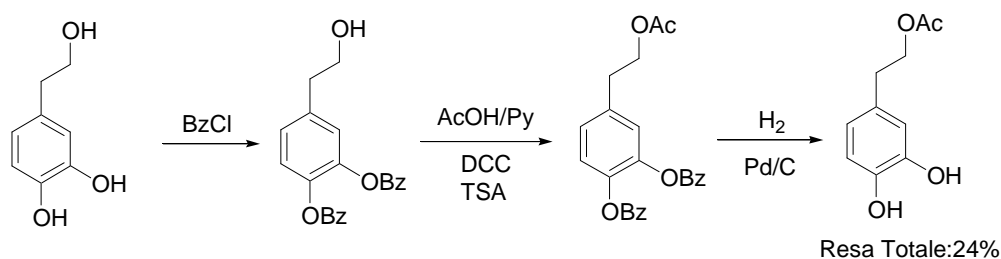


Schema 39. Altra via sintetica dell'idrossitirosolo a partire dal tirosolo

Le possibili applicazioni in campo industriale dell'idrossitirosolo possono essere estese aumentandone la liposolubilità e la stabilità, con un aumento diretto della sua biodisponibilità all'interno delle cellule. Queste proprietà possono essere realizzate derivatizzando la funzione alcolica primaria con gruppi protettivi facilmente rimuovibili per idrolisi (acida, basica o enzimatica) e lasciando inalterata la funzione *o*-difenolica, cui sono attribuite le attività biologiche dell'idrossitirosolo.²³²

Il più semplice derivato lipofilo dell'idrossitirosolo è l'idrossitirosolo acetato (3,4-diidrossifenil etil acetato), recentemente identificato qualitativamente e determinato quantitativamente nell'olio di oliva.²³³ Di tale composto è stata anche studiata l'attività antiossidante che è risultata essere confrontabile a quella dell'idrossitirosolo in oli ed emulsioni; trova applicazioni come additivo in alimenti (quali burro e latte) e in composizioni farmaceutiche e cosmetiche.²³⁴

Le sintesi chimiche di tale composto descritte in letteratura utilizzano come materia prima di partenza l'idrossitirosolo, prevedono più passaggi che coinvolgono protezioni e deprotezioni degli ossidrili alcolici e fenolici²³⁴ con una resa totale molto bassa. Un esempio è riportato nello **Schema 40**.



Schema 40. Procedura sintetica per l'ottenimento di idrossitirosolo acetato

Lo stesso composto è ottenibile come intermedio di reazione dalla sintesi precedentemente descritta,²³¹ ma con gli stessi problemi legati all'ottenimento dell'idrossitirosolo.

Più recentemente è stata riportata un'esterificazione enzimatica dell'idrossitirosolo utilizzando etil acetato come agente acilante e lipasi.

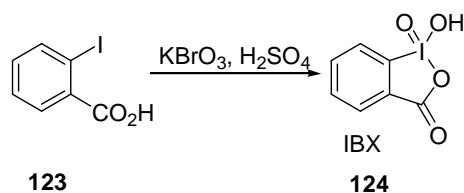
Utilizzando catalizzatori acidi (ad esempio, acido solforico o acido *p*-toluenosolfonico) ed agenti acilanti a catena lunga, a partire dall'idrossitirosolo, sono stati preparati esteri a catena lunga.^{234,235}

Da qualche tempo nel nostro laboratorio è stato introdotto l'impiego di ossidanti appartenenti alla famiglia dei composti dello iodio ipervalente, quali l'acido 2-iodossibenzoico (IBX) e il reattivo di Dess Martin (DMP). Utilizzando tali reagenti è stato preparato l'drossitirosolo a partire da tirosolo ed acido omovanillico con rese soddisfacenti, utilizzando semplici strategie sintetiche, estendibili anche a livello industriale.

3.4.1 Ossidanti della famiglia dello Iodio ipervalente

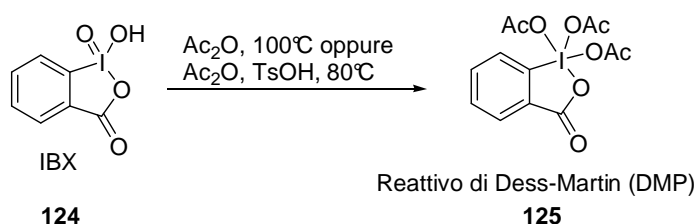
Già dai primi anni del 1800, i composti dell'iodio ipervalente erano noti come efficienti agenti ossidanti. Negli anni successivi hanno attirato l'interesse di molti chimici per la loro elevata chemoselettività, unita alla loro ecocompatibilità e disponibilità commerciale.²³⁶

Tra questi, di particolare interesse è l'acido 2-iodossibenzoico (IBX, **124**) sintetizzato per la prima volta nel 1893 per ossidazione dell'acido 2-iodobenzoico con potassio bromato in ambiente acido per acido solforico (**Schema 41**).²³⁷



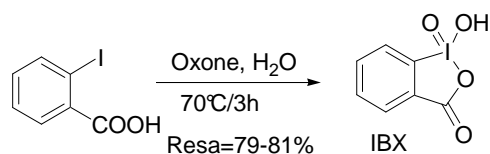
Schema 41. Sintesi dell'IBX per ossidazione di acido 2-iodobenzoico con potassio bromato

Tuttavia, inizialmente tali reattivi, a causa delle loro immiscibilità nella maggior parte dei solventi organici, e della loro esplosività per impatto o riscaldamento, sono stati poco utilizzati. Soltanto un secolo dopo, Dess e Martin hanno messo a punto una procedura di acetilazione, trasformando l'IBX in un nuovo composto denominato “reattivo di Dess e Martin” (DMP **125**, **Schema 42**) che, malgrado mantenesse le caratteristiche reattive, era completamente solubile nei solventi organici²³⁸; essi inoltre hanno dimostrato che l'esplosività dell'IBX era legata ad impurezze di potassio bromato che rimanevano nella miscela di reazione.



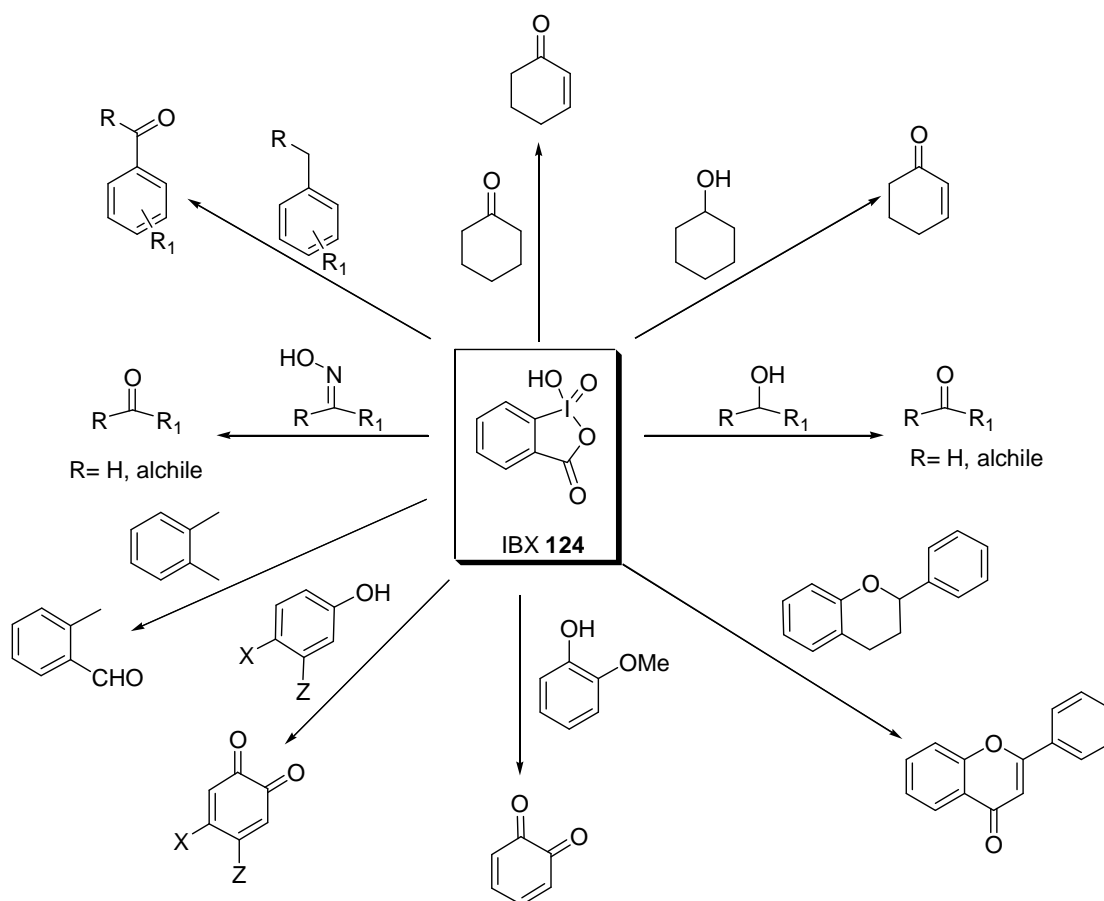
Schema 42. Preparazione del DMP per acetilazione dell'IBX

Sulla base di questi dati, dopo poco tempo è stata pubblicata una nuova sintesi basata sull'utilizzazione dell'Oxone, un ossidante ecocompatibile, per ossidare l'acido o-iodobenzoico ad IBX (**Schema 43**).²³⁹



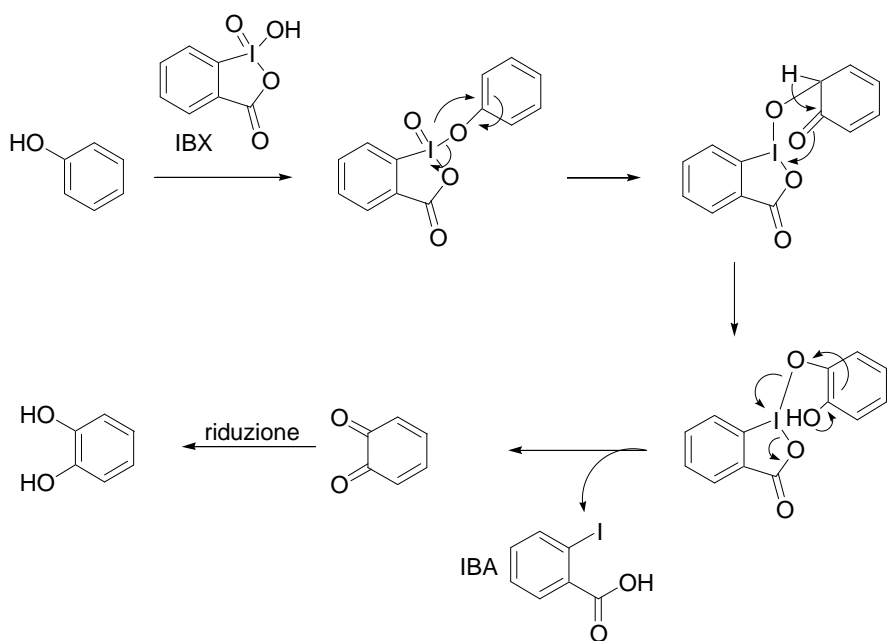
Schema 43. Sintesi “safe” dell'IBX per ossidazione di acido 2-iodobenzoico con Oxone

Nel frattempo, alcuni studi avevano dimostrato che, anche se l'IBX non era completamente solubile nei solventi organici, manteneva una buona reattività anche in sospensione. Da allora, l'utilizzo dell'IBX, ha avuto un notevole incremento nel campo delle ossidazioni di un'ampia classe di substrati. Lo **Schema 44** riassume le potenzialità sintetiche di tale ossidante.²⁴⁰

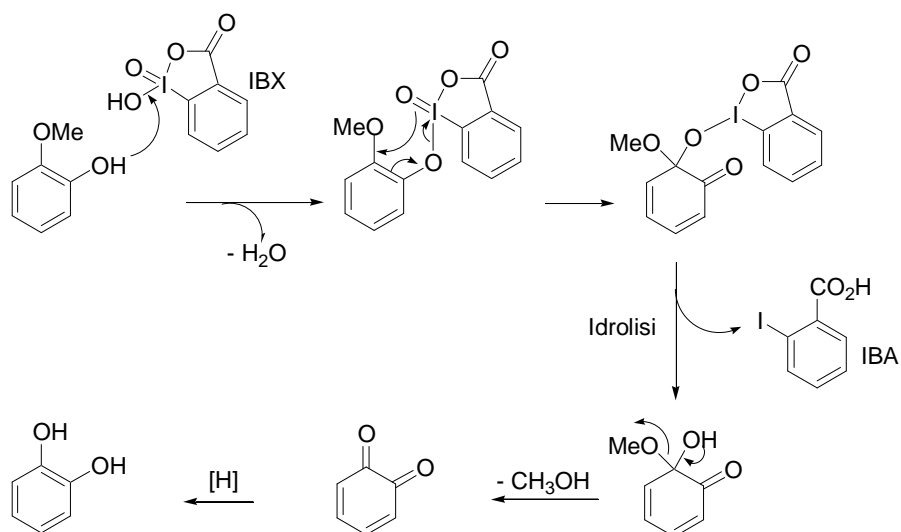


Schema 44. Alcune delle possibili conversioni ossidative realizzabili con IBX

In una fase iniziale di progettazione dell'utilizzazione dell'IBX nel campo delle sostanze organiche naturali, un particolare interesse è stato rivolto alla peculiare proprietà di inserire un ossidrile in posizione orto all'anello aromatico di sistemi fenolici²⁴¹ e di demetilare eteri aril metil fenolici.²⁴² I meccanismi di reazione sono riportati negli **Schemi 45** e **46**. Dopo la coordinazione substrato-IBX con successiva formazione di *orto*-chinoni, per riduzione one-pot si ottengono i corrispondenti *orto*-difenoli.^{241,242} Da entrambe le reazioni, come sottoprodotto si ottiene l'acido *o*-iodobenzoico, che può essere recuperato e riossidato per rigenerare IBX.



Schema 45. Ossidrilazione aromatica di sistemi fenolici con IBX



Schema 46. Demetilazione ossidativa di eteri aril metil fenolici

Dopo un'accurata indagine bibliografica è risultato che questa peculiare potenzialità ossidativa dell'IBX e del DMP è stata finora poco sfruttata in campo sintetico. Infatti, sono stati riportati solo alcuni esempi di sintesi di semplici sistemi catecolici e di sistemi steroidici.²⁴³

Tra questi, è stata descritta l'ossidazione del tirosolo ad idrossitirosolo.²⁴³ Tale ossidazione procedeva, però, con una resa molto bassa (30%) che, sebbene gli autori non abbiano spiegato, può essere giustificata in parte dalla mancanza di selettività tra l'ossidazione della funzione alcolica e fenolica da parte dell'IBX, entrambi presenti nella molecola di

tirosolo, e in parte a difficoltà operative di estrazione del prodotto finale idrofilo dall'ambiente di reazione.

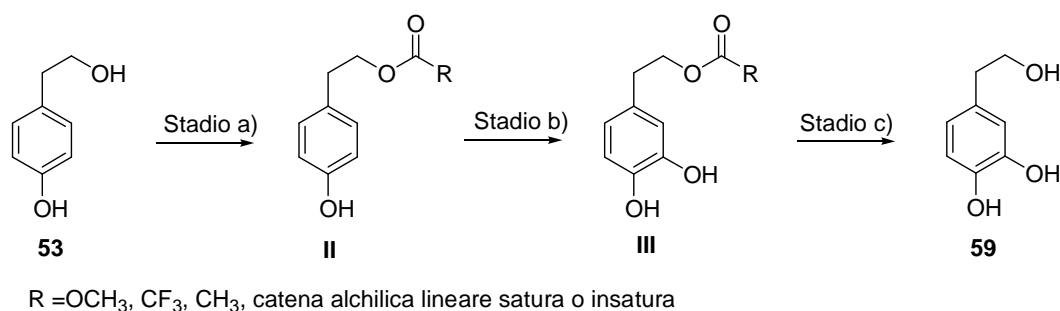
Pertanto, sulla base di questi dati, un altro obiettivo della presente tesi di dottorato è stato quello di mettere a punto una nuova strategia sintetica per l'ottenimento di idrossitirosolo con IBX e DMP che migliorasse le rese già riportate in letteratura²⁴³ e che permettesse, al tempo stesso, di ottenere derivati lipofili dell'idrossitirosolo.

Contemporaneamente, nel nostro laboratorio sono state messe a punto e sono tuttora in corso, applicazioni sull'uso dell'IBX su un'ampia classe di sostanze organiche naturali, oggetto di una tesi di dottorato del XXI ciclo.

3.4.2 Sintesi dell'Idrossitirosolo e suoi derivati

La strategia sintetica messa a punto per la sintesi di idrossitirosolo e dei suoi derivati è riportata nello **Schema 47** ed è costituita da tre passaggi:

- 1) protezione selettiva della catena alcolica primaria del tirosolo **53**,
- 2) ossidrilazione selettiva del tirosolo protetto **II** (**54**, **63**, **68**, **80**, **85**, **90**, **95**) a dare idrossitirosolo derivato **III** (**60**, **66**, **71**, **81**, **86**, **91**, **96**).
- 3) idrolisi dei derivati **III** (**60**, **66**, **71**, **81**, **86**, **91**, **96**) a dare idrossitirosolo **59**.

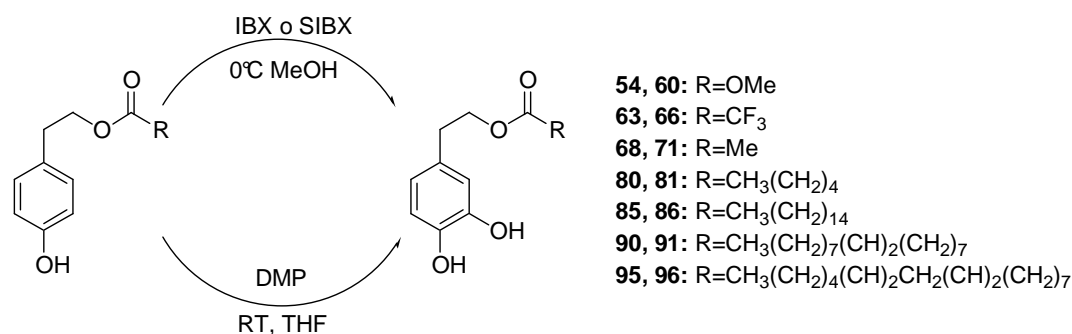


Schema 47. Strategia sintetica dell'idrossitirosolo a partire da tirosolo messa a punto

Il primo passaggio è stato condotto impiegando le metodologie di protezione selettive precedentemente messe a punto e descritte nel capitolo 3, paragrafo 8 per ottenere tirosolo carbossimetilato **54**, tirosolo acetato **68**, tirosolo trifluoroacetato **63** e tirosolo esterificato con catene lineari sature o insature (**80**, **85**, **90**, **95**).

Il secondo passaggio è stato inizialmente eseguito utilizzando IBX, DMP (**Schema 48**). Dopo la scomparsa del substrato di partenza, si è proceduto con la riduzione one-pot della miscela di reazione utilizzando sodio ditionito (Na₂S₂O₄) ed acqua, ottenendo

selettivamente il prodotto a struttura catecolica. I risultati ottenuti sono riportati in **Tabella 28**.



Schema 48. Ossidazione dei derivati del tirosolo derivato con IBX, DMP.

Ossidante	Substrato	Tempo (min)	Conv.(%)	Prodotto (resa %)
IBX	54	30	>98	60 (86)
DMP	54	30	>98	60 (85)
IBX	63	30	>98	66 (77)
DMP	63	30	>98	66 (80)
IBX	68	30	>98	71 (80)
DMP	68	30	>98	71 (81)
IBX	80	30	>98	81 (84)
DMP	80	30	>98	81 (82)
IBX	85	30	>98	86 (88)
DMP	85	30	>98	86 (85)
IBX	90	30	>98	91 (89)
DMP	90	30	>98	91 (90)
IBX	95	30	>98	96 (73)
DMP	95	30	>98	96 (77)
IBX	80	30	>98	81 (84)
DMP	80	30	>98	81 (82)

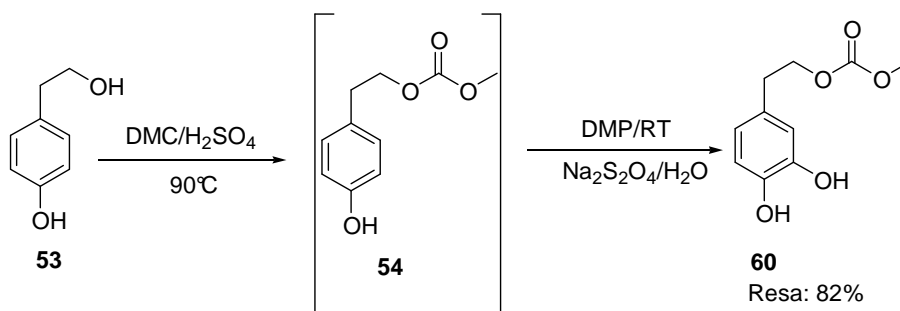
Tabella 28. Risultatisperimentali ottenuti dall'ossidazione con IBX

Tramite questa strategia sintetica, sono stati preparati derivati lipofili dell'idrossitirosolo con rese soddisfacenti a partire da un materiale di scarto e a basso costo, quale il tirosolo. Di particolare interesse è l'idrossitirosolo carbossimetilato **60**, le cui proprietà antiossidanti sono già state descritte nel capitolo 3, paragrafo 8.

L'ultimo passaggio è stato condotto per l'ottenimento di idrossitirosolo. Tutti i composti sono stati deprotetti mediante idrolisi acida o basica o riduzione con NaBH₄ con conversioni quantitative e rese pari all'85%.

Visti i risultati ottenuti, dopo un attento studio dei singoli reattivi utilizzati e dei meccanismi di reazione in gioco, è stata condotta una sintesi totale one-pot dell'idrossitirosolo carbossimetilato **60** a partire dal tirosolo utilizzando il dimetil carbonato come solvente e reagente al tempo stesso (**Schema 49**). I risultati ottenuti sono

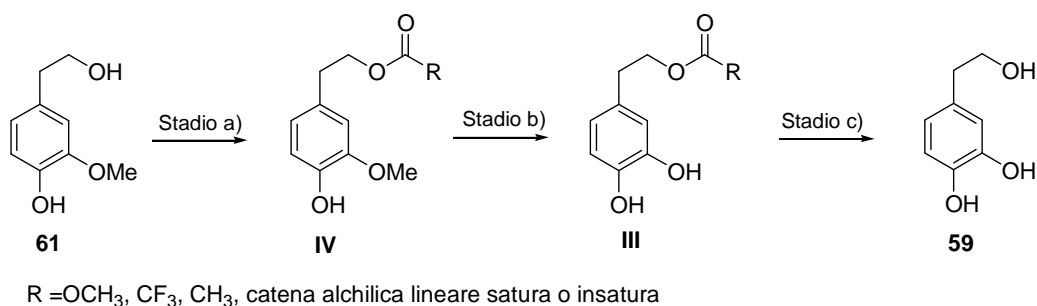
stati soddisfacenti, portando alla formazione del prodotto finale con una resa complessiva dell'82% senza dover ricorrere a purificazioni cromatografiche.



Schema 49. Sintesi one-pot dell'idrossitirosolo carbossimetilato

Una parte di lavoro è stata dedicata alla possibilità di recuperare l'acido *o*-iodobenzoico per rigenerare IBX al fine di ottenere sia un abbattimento dei costi che un miglioramento dell'impatto ambientale del processo ossidativo. Infatti, lavando le fasi organiche con una soluzione satura di bicarbonato di sodio, l'acido *o*-iodobenzoico, passando nella fase acquosa, è stato successivamente riestratto, portando il pH a valori acidi per acido cloridrico, mediante estrazione con etilacetato. I migliori risultati ottenuti hanno consentito di recuperarne l'85%. Utilizzando la sintesi descritta, considerando solo il materiale di consumo utilizzato, i costi per la produzione di un grammo di idrossitirosolo sono stati quantificati in circa 25 euro, contro l'attuale prezzo di mercato che è pari a 1000 euro per grammo.

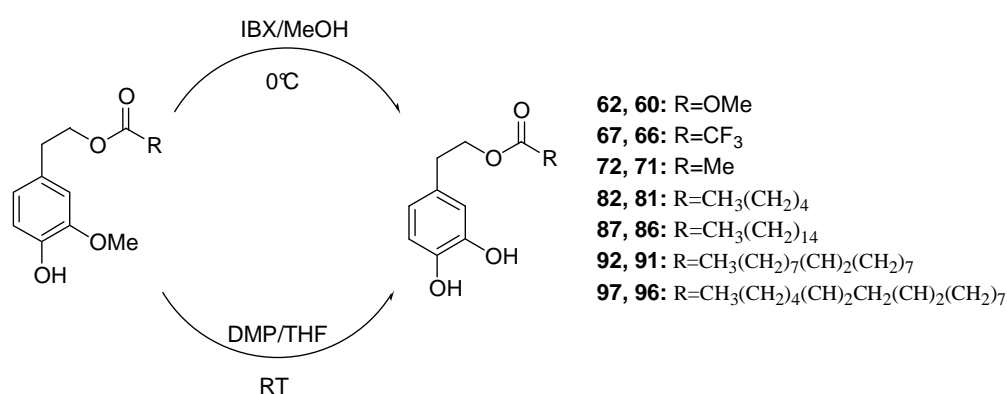
Sfruttando l'altra interessante peculiarità ossidativa dell'IBX e del DMP, ossia quella della demetilazione di eteri aril metil fenolici, è stata messa a punto la sintesi di idrossitirosolo a partire da alcol omovanillico (**Schema 50**).



Schema 50. Sintesi di idrossitirosolo a partire da alcol omovanillico

Anche in questo caso, i derivati protetti dell'alcol omovanillico sono stati ottenuti utilizzando le procedure descritte nel capitolo 3 e nel paragrafo 8. Le rese della demetilazione ossidativa condotta con IBX, DMP descritte nello **Schema 51** sono riportate in **Tabella 29**.

Utilizzando tale strategia sintetica, alcune delle reazioni di demetilazione ossidativa non sono state ottenute con la conversione completa dei substrati. Pertanto, si sono rese necessarie alcune purificazioni cromatografiche. Anche in questa sintesi è stato possibile recuperare l'acido o-iodobenzoico proveniente dalla riduzione del DMP.



Schema 51. Demetilazione ossidativa dell'alcool omovanillico derivato con IBX o DMP

Ossidante	Substrato	Tempo (min)	Conv.(%)	Prodotto (resa %)
IBX	62	30	>98	60 (91)
DMP	62	30	>98	60 (86)
IBX	67	30	83	66 (69)
DMP	67	30	>98	66 (77)
IBX	72	30	89	71 (85)
DMP	72	30	>98	71 (80)
IBX	82	30	85	81 (70)
DMP	82	30	>98	81 (84)
IBX	87	30	>98	86 (80)
DMP	87	30	>98	86 (88)
IBX	92	30	81	91 (66)
DMP	92	30	>98	91 (89)
IBX	97	30	75	96 (52)
DMP	97	30	>98	96 (73)

Tabella 29. Risultati sperimentali della demetilazione ossidativa condotta con IBX

I **Diagrammi 3 e 4** riportano le rese finali di idrossitirosolo acetato **71**, carbossimetilato **60**, trifluoroacetato **66** e idrossitirosolo **59**, calcolate a partire rispettivamente dal tirosolo e dall'alcol omovanillico, secondo le strategie sintetiche descritte negli **Schemi 47 e 50**.

Come è evidente, i risultati ottenuti sono stati soddisfacenti in tutti i casi. ottenendo rese di idrossitirosolo protetto pari al 69-85% e di idrossitirosolo pari a 60-80%.

La via sintetica migliore, sia in termini di rese che di impatto ambientale, è risultata essere quella che, a partire da tirosolo, procede attraverso la carbossimetilazione.

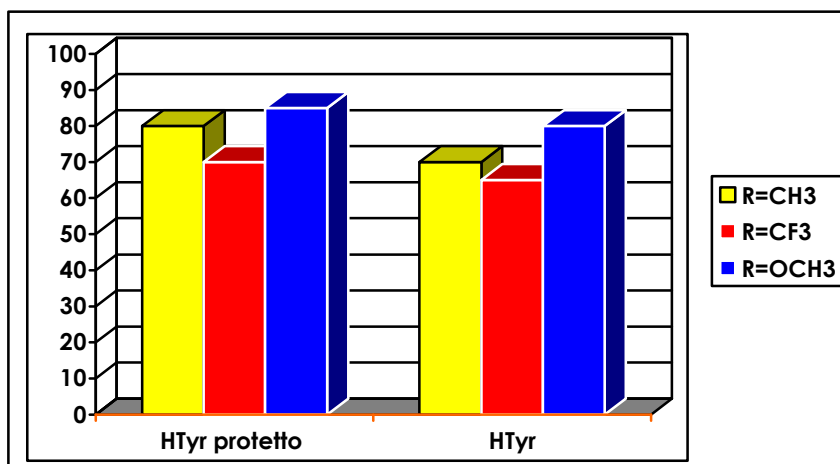


Diagramma 3. Rese finali di idrossitirosolo e idrossitirosolo protetto a partire dal tirosolo

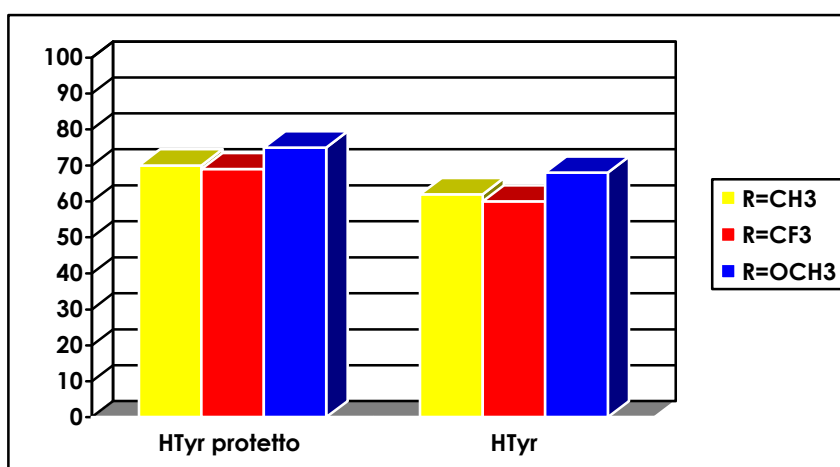


Diagramma 4. Rese finali di idrossitirosolo e idrossitirosolo protetto a partire dall'alcol omovanillico

4 CONCLUSIONI

L'attività di ricerca svolta in questo dottorato si è basata sullo sviluppo e sull'applicazione di nuove metodologie sintetiche innovative ed ecocompatibili, nel rispetto di alcuni principi della green chemistry.

In particolare, nella prima parte del lavoro, è stata estesa l'applicabilità del sistema catalitico acqua ossigenata (H_2O_2)/metiltriossorenio (CH_3ReO_3 , MTO) in solventi innovativi a basso impatto ambientale, quali il liquido ionico [bmim(BF₄)] e il dimetil carbonato (DMC) per condurre ossidazioni catalitiche di un cospicuo numero di sostanze organiche. I buoni risultati ottenuti hanno evidenziato che tale sistema ossidante ha mantenuto la sua efficienza e versatilità in entrambi i solventi. Tuttavia in generale, l'utilizzo del DMC è risultato più vantaggioso rispetto al liquido ionico per una serie di fattori, quali la bassa tossicità, la maggiore disponibilità commerciale, il minor costo, la maggiore reattività e versatilità del sistema ossidativo; la maggiore facilità di lavorazione.

Di particolare interesse sono risultati i chinoni alchilati ottenuti dall'ossidazione catalitica dei corrispondenti fenoli, in quanto hanno mostrato una buona attività antifungina verso un discreto numero di specie contaminanti il suolo ed alimenti, che in alcuni casi è risultata anche superiore a quella di un antifungino commerciale, preso come riferimento.

Successivamente, con l'obiettivo di condurre processi a basso impatto ambientale e di recuperare e valorizzare alcuni dei componenti fenolici presenti nei reflui agroindustriali, è stata sviluppata una sintesi di 4-vinil fenoli a partire dagli acidi cinnamici, utilizzando le microonde senza ricorrere all'uso dei solventi organici. Le condizioni sperimentali ottimizzate hanno permesso di ottenere le molecole target in tempi brevi e in buone rese. Tale metodologia è stata estesa anche a campioni di acido ferulico provenienti da estratti naturali di crusca, dimostrando la sua validità anche su matrici vegetali.

La ricerca è successivamente proseguita con l'obiettivo di utilizzare acidi cinnamici e tirosolo per la sintesi di molecole ad alto valore aggiunto, quali le 4-aryl-3,4-diidrocumarine. Di particolare interesse sono risultati anche i prodotti derivanti dall'apertura idrolitica dell'anello lattonico, in quanto hanno mostrato un'attività antiossidante superiore a quella del tirosolo.

Nel corso di queste sintesi si è reso necessario lo sviluppo di nuove metodologie di protezione selettiva di funzioni alcoliche presenti nelle molecole fenoliche utilizzate. In particolare, sono state messe a punto nuove metodologie di:

1. carbossimetilazioni, utilizzando il DMC come solvente e reagente;
2. trifluoroacetilazioni con acido trifluoroacetico;
3. acetilazioni, utilizzando acetonitrile/acido cloridrico oppure cloruro di acetile/DMC;
4. esterificazioni con cloruri degli acidi a catena lunga, satura ed insatura.

Oltre alla metodologia di protezione, sono risultati interessanti anche i prodotti ottenuti, in quanto molecole antiossidanti dotate di una maggiore lipofilità e quindi maggiore biodisponibilità rispetto a quelle naturali.

Fra i risultati ottenuti in questa tesi di dottorato, di particolare interesse è stato il lavoro svolto per la messa a punto di due nuove procedure sintetiche dell'idrossitirosolo, una molecola dotata di molteplici attività biologiche, a partire da materiali di partenza presenti negli scarti agroindustriali, quali il tirosolo e l'alcol omovanillico e l'utilizzazione di alcuni reattivi dello iodio ipervalente (IBX, DMP). Tali procedure, per la loro originalità, semplicità, economicità, efficienza e il loro basso impatto ambientale, sono state oggetto di due brevetti nazionali depositati e sono promettenti per applicazioni a livello industriale.

5 PARTE SPERIMENTALE

Strumenti e materiali utilizzati

Gli spettri di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) sono stati registrati con uno spettrofotometro Bruker 200 MHz, usando solventi deuterati quali cloroformio deuterato (CDCl_3), metanolo deuterato (CD_3OD) ed acqua deuterata (D_2O). I chemical shift sono espressi in parti per milione (ppm) e le costanti di accoppiamento in Hertz (Hz).

Gli spettri di massa sono stati registrati utilizzando un gascromatografo Shimadzu GC-17 A con un rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) interfacciato con uno spettrometro di massa GC/MS QP 5050A, equipaggiato con una colonna capillare Supelco CPSIL8CB lunga 30 metri. La programmata più utilizzata è stata la seguente: temperatura iniziale: 100°C; temperatura finale: 280°C; velocità: 10°C/min; temperatura dell'iniettore e del detector: 280°C.

Gli spettri HPLC sono stati registrati con uno strumento Varian ProStar con un rivelatore UV, equipaggiato con una colonna Varian Pursuit 5 C18 150*4,6 mm.

Il programma utilizzato è stato:

Tempo (min)	Eluente	
	Acqua (%)	Acetonitrile (%)
Prerun	90	10
10	90	10
25	40	60
30	40	60
35	90	10

Le analisi UV-Vis sono state condotte con uno strumento Perkin Elmer Lamda 20, con cuvette in quarzo (1x1x3 cm).

Il decorso delle reazioni è stato monitorato attraverso cromatografia su strato sottile (TLC), utilizzando come fase stazionaria gel di silice Merck (230-400 mesh) e come fase mobile miscela di etere di petrolio/etil acetato. I rivelatori utilizzati sono stati la lampada UV ($\lambda=254$ nm); una soluzione etanolica di p-anisalaldeide; il reattivo molibdico; un reattivo allo iodio; un reattivo contenente acido solforico.

I prodotti chimici commerciali e i solventi utilizzati sono stati acquistati presso le ditte Sigma-Aldrich, Fluka, Acros.

5.1 Procedura generale di ossidazione di fenoli e fenol-eteri a chinoni in liquidi ionici bmim[BF₄] con il sistema catalitico MTO/H₂O₂

In un tipico esperimento, il substrato (1 mmole) è stato solubilizzato in liquido ionico (1 ml); dopo aggiunta di acqua ossigenata ed MTO, la soluzione è stata posta sotto agitazione magnetica alla adeguata temperatura fino a completa conversione del substrato. La reazione è stata monitorata via TLC e GC/MS, previa microestrazione con etere etilico.

Successivamente, si è proceduto all'estrazione del prodotto organico dal liquido ionico utilizzando etere etilico. Per garantire una efficiente estrazione, la procedura è stata ripetuta fino a 5 volte. La fase eterea così ottenuta, è stata lavata con una soluzione acquosa satura di cloruro di sodio (NaCl). Alla fase organica è stato aggiunto sodio solfato anidro per eliminare residui acquosi della lavorazione. Dopo filtrazione del sodio solfato, è stato eliminato il solvente organico per distillazione sotto pressione, recuperando il prodotto desiderato.

5.2 Procedura Generale di ossidazione in dimetil carbonato (DMC) con il sistema catalitico MTO/H₂O₂

In un tipico esperimento, il substrato (1 mmole) è stato solubilizzato in DMC (10 ml); dopo aggiunta di acqua ossigenata ed MTO, la soluzione è stata posta sotto agitazione magnetica alla adeguata temperatura fino a completa conversione del substrato. La reazione è stata monitorata via TLC e GC/MS. Successivamente, il solvente è stato allontanato per evaporazione a pressione ridotta dopo l'aggiunta di 3 volumi di MeOH al fine di produrre un azeotropo con il DMC.²⁴⁴ Il residuo organico ottenuto è stato solubilizzato con etil acetato, procedendo quindi alla fase di lavaggio con una soluzione acquosa satura di cloruro di sodio (NaCl). Alla fase organica è stato aggiunto sodio solfato anidro per eliminare residui acquosi della lavorazione. Dopo filtrazione del sodio solfato, è stato eliminato il solvente organico per distillazione sotto pressione, recuperando il prodotto desiderato.

5.3 Procedura generale di metilazione di ossidrili fenolici, alcolici e acidi carbossilici

In un tipico esperimento, il substrato (1 mmole) è stato solubilizzato in acetone (10 ml); dopo aggiunta di carbonato di potassio e ioduro di metile (rispettivamente 1.5 e 3 equivalenti per ogni ossidrile alcolico o carbossilico), la miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica alla appropriata temperatura fino a conversione completa del substrato. La reazione è stata monitorata via TLC, e GC/MS. Successivamente, il solvente

è stato allontanato per evaporazione a pressione ridotta, quindi è stata aggiunta una soluzione di HCl 1M fino a portare il pH a circa 7 e si è proceduto alla fase di estrazione con etil acetato della soluzione acquosa (3 estrazioni). Le fasi organiche sono state quindi riunite e lavate con una soluzione acquosa satura di cloruro di sodio (NaCl); alla fase organica così ottenuta è stato aggiunto sodio solfato anidro per eliminare residui acquosi della lavorazione. Dopo filtrazione del sodio solfato, è stato eliminato il solvente organico per distillazione sotto pressione, recuperando il prodotto desiderato.

5.4 Procedura generale di acetilazione di ossidrili fenolici ed alcolici

In un tipico esperimento, il substrato (1 mmole) è stato solubilizzato in piridina e dopo l'aggiunta di anidride acetica (10 equivalenti per ogni ossidrile), la miscela è stata lasciata in agitazione alla appropriata temperatura fino a conversione completa del substrato. La reazione è stata monitorata via TLC e GC/MS. Successivamente, è stata aggiunta una soluzione di HCl 1M per neutralizzare la piridina e si è proceduto alla fase di estrazione con etil acetato della soluzione acquosa (3 estrazioni). Le fasi organiche sono state quindi riunite e lavate con una soluzione acquosa satura di cloruro di sodio (NaCl); alla fase organica così ottenuta è stato aggiunto sodio solfato anidro per eliminare residui acquosi della lavorazione. Dopo filtrazione del sodio solfato, è stato eliminato il solvente organico per distillazione sotto pressione, recuperando il prodotto desiderato.

5.5 Procedura generale di decarbossilazione “solvent free” via “microwave irradiation”

In un tipico esperimento, ad una soluzione di acido cinnamico (1 mmole), solubilizzato in metanolo (20 ml), sono stati aggiunti DBU (6 mmoli), idrochinone (0.1 mmole) e silice o allumina basica (2 grammi). Il metanolo è stato completamente evaporato via distillazione a pressione ridotta, ottenendo una miscela solida che è stata direttamente riscaldata nel forno a microonde ad una potenza di 650 Watt. A cicli continui di 10 minuti, la reazione è stata raffreddata e monitorata mediante TLC e GC/MS, dopo microestrazione con solvente. Dopo completa conversione del substrato, la miscela solida è stata raffreddata a temperatura ambiente e neutralizzata con una soluzione 1M di HCl, quindi si è proceduto alla fase di estrazione dei prodotti organici utilizzando etilacetato (3x10 ml). Le fasi organiche riunite sono state lavate con una soluzione acquosa satura di cloruro di sodio e è stato aggiunto sodio solfato anidro per eliminare residui acquosi della lavorazione. Dopo

filtrazione del sodio solfato, è stato eliminato il solvente organico per distillazione sotto pressione, recuperando i prodotti ottenuti.

5.6 Procedura Generale di carbossimetilazione di ossidrili alcolici

In un tipico esperimento, il substrato (1 mmole) è stato solubilizzato in dimetil carbonato (10 ml); dopo aggiunta di acido solforico (0.2 equivalenti) o DBU (0.1 equivalenti), la miscela di reazione è stata lasciata sotto agitazione magnetica alla temperatura di riflusso fino a completa conversione del substrato. La reazione è stata monitorata via TLC e via GC/MS. Successivamente, il solvente è stato allontanato per evaporazione a pressione ridotta dopo l'aggiunta di 3 volumi di MeOH. Il residuo organico ottenuto è stato solubilizzato con etil acetato, procedendo quindi alla fase di lavaggio con una soluzione acquosa satura di cloruro di sodio (NaCl). Alla fase organica è stato aggiunto sodio solfato anidro per eliminare residui acquosi della lavorazione. Dopo filtrazione del sodio solfato, il solvente organico è stato eliminato per distillazione sotto pressione, recuperando il prodotto ottenuto.

5.7 Procedura generale di acetilazione di ossidrili alcolici con acetonitrile

Ad una soluzione del substrato (1 mmole) in acetonitrile (3 ml), sotto agitazione magnetica, alla temperatura di riflusso, sono stati aggiunti setacci molecolari (sodio Y zeolite, polvere, 340 mg) e HCl 37% (10 mmoli, 0.79 ml). La reazione è stata monitorata via TLC e GC/MS. Alla scomparsa del substrato, la miscela di reazione è stata filtrata e il solvente organico è stato allontanato per evaporazione a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto è stato solubilizzato con etil acetato e trattato con una soluzione satura di NaCl. La fase acquosa è stata estratta con etil acetato per tre volte. Le fasi organiche riunite sono state lavate con una soluzione satura di NaCl fino a neutralità, quindi seccate su Na₂SO₄ anidro. Dopo evaporazione del solvente organico per distillazione a pressione ridotta, il grezzo ottenuto è stato purificato tramite colonna cromatografica utilizzando come fase fissa gel di silice (230-400 mesh, Aldrich), ottenendo il prodotto desiderato puro.

5.8 Procedura generale di esterificazione degli ossidrili alcolici con i cloruri acilici

Ad una soluzione di substrato (1 mmole) in dimetilcarbonato (3 ml), posta sotto agitazione magnetica, a temperatura ambiente, è stato aggiunto il cloruro dell'acido (1.4 mmoli). La reazione è stata monitorata via TLC. Successivamente, dopo aver allontanato il solvente di

reazione per distillazione a pressione ridotta, il residuo è stato solubilizzato con etil acetato e trattato con una soluzione satura di NaCl. La fase acquosa è stata estratta con etil acetato. Le fasi organiche riunite sono state lavate con una soluzione satura di NaCl fino a neutralità, quindi seccate su Na₂SO₄ anidro. Dopo evaporazione del solvente organico per distillazione a pressione ridotta, il prodotto ottenuto è stato purificato tramite colonna cromatografica utilizzando come fase fissa gel di silice (230-400 mesh).

5.9 Procedura generale di trifluoroacetilazione

Una soluzione di substrato (1 mmole) in acido trifluoroacetico (2 ml), posta sotto agitazione magnetica, è stata portata alla temperatura di riflusso. La reazione è stata monitorata via TLC. Dopo la completa conversione del substrato, il grezzo di reazione è stato trattato con una soluzione satura di NaHCO₃ ed estratto con etil acetato. Le fasi organiche sono state lavate con una soluzione satura di cloruro di sodio fino a neutralità, poi seccate su solfato di sodio anidro. Dopo aver allontanato il solvente per distillazione a pressione ridotta, il prodotto ottenuto è stato purificato su colonna cromatografica utilizzando come fase fissa gel di silice (230-400 mesh).

5.10 Procedura generale di idrolisi basica o acida di gruppi esterei o carbossimilici

In un tipico esperimento, il substrato (1 mmole) è stato solubilizzato in acqua:THF (1:1). Dopo l'aggiunta di HCl 37% (1.5 mmoli per ogni gruppo idrolizzabile) o KOH (1.5 mmoli per ogni gruppo idrolizzabile), la miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica alla temperatura opportuna fino a completa scomparsa del substrato. La reazione è stata monitorata via TLC e GC/MS. Alla fine, il solvente è stato allontanato per distillazione a pressione ridotta, quindi è stata aggiunta una soluzione di HCl 1M o KOH fino a portare il pH a circa 7 e si è proceduto all'estrazione con etil acetato per 3 volte. Le fasi organiche sono state quindi riunite e lavate con una soluzione acquosa satura di cloruro di sodio; alla fase organica così ottenuta è stato aggiunto sodio solfato anidro per eliminare residui acquosi della lavorazione. Dopo filtrazione del sodio solfato, è stato eliminato il solvente organico per distillazione a pressione ridotta, recuperando il prodotto ottenuto.

5.11 Riduzione con sodioboroidruro

Il substrato (1 mmole), solubilizzato in THF (10 ml), dopo aggiunta di sodioboroidruro (5 mmoli) è stato lasciato sotto agitazione magnetica a temperatura ambiente fino a completa conversione nel prodotto desiderato. La reazione è stata monitorata via TLC e GC/MS.

Successivamente,, il solvente è stato allontanato per evaporazione a pressione ridotta; il residuo organico è stato solubilizzato con etil acetato e lavato con una soluzione acquosa satura di cloruro di sodio. Alla fase organica è stato aggiunto sodio solfato anidro per eliminare residui acquosi della lavorazione. Dopo filtrazione del sodio solfato, il solvente organico è stato eliminato per distillazione a pressione ridotta, recuperando il prodotto ottenuto.

5.12 Ossidazione di composti fenolici con IBX

Ad una soluzione di 1 mmole di fenolo in metanolo (4 ml), posta sotto agitazione magnetica, alla temperatura di 0 °C, è stato aggiunto IBX (1.2 mmoli, 747 mg). Dopo 30 minuti, è stata osservata la scomparsa del substrato. Alla soluzione sono stati aggiunti acqua (4 ml) e sodio ditionito (2 mmoli, 348 mg); la miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica fino ad osservare una variazione cromatica da rosso a bianco (5 minuti). Dopo aver allontanato il metanolo per distillazione a pressione ridotta, il grezzo di reazione è stato solubilizzato con etil acetato e trattato con una soluzione satura di sodio bicarbonato. La fase acquosa è stata estratta con etil acetato. Le fasi organiche riunite sono state lavate con una soluzione satura di cloruro di sodio fino a neutralità e seccate su solfato di sodio anidro. Dopo distillazione del solvente a pressione ridotta, è stato ottenuto il prodotto ossifunzionalizzato.

5.13 Ossidazione di composti fenolici con DMP

Ad una soluzione di substrato (1 mmole) in tetraidrofurano (4 ml), posta sotto agitazione magnetica a temperatura ambiente, sono state aggiunte 1.2 mmoli di reattivo di Dess-Martin. Dopo un'ora, è stata osservata la scomparsa del substrato. Alla soluzione è stata aggiunta acqua (4 ml) e sodio ditionito (2 mmoli, 348 mg). La miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica fino ad osservare una variazione cromatica da rosso a bianco (5 minuti). Dopo aver allontanato il solvente per distillazione a pressione ridotta, il residuo di reazione è stato solubilizzato con etil acetato e trattato con una soluzione satura di sodio bicarbonato. La fase acquosa è stata estratta con etil acetato. Le fasi organiche riunite sono state lavate con una soluzione satura di cloruro di sodio fino a neutralità e seccate su solfato di sodio anidro. Dopo distillazione del solvente a pressione ridotta, è stato recuperato il prodotto ossifunzionalizzato.

5.14 Demetilazione ossidativa di eteri metil aril fenolici con IBX

Ad una soluzione di 1 mmole di substrato in tetraidrofurano (3 ml) e acqua (2 mmoli), posta sotto agitazione magnetica, alla temperatura ambiente, sono stati aggiunti 1.2 mmoli di IBX (747 mg). Dopo circa 40 minuti, è stata osservata la scomparsa del substrato. Alla soluzione sono stati aggiunti acqua (3 ml) e $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (2 mmoli, 348 mg); la miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica per 5 minuti. La variazione cromatica osservata da rosso a bianco ha indicato la fine della reazione. Dopo aver allontanato il tetraidrofurano per distillazione a pressione ridotta, il grezzo di reazione è stato solubilizzato con etil acetato e trattato con una soluzione satura di NaHCO_3 . La fase acquosa è stata estratta con etil acetato. Le fasi organiche riunite sono state lavate con una soluzione satura di NaCl fino a neutralità e seccate su Na_2SO_4 anidro. Dopo distillazione del solvente a pressione ridotta, è stato ottenuto il prodotto demetilato.

5.15 Demetilazione ossidativa di eteri metil aril fenolici con DMP

Ad una soluzione di substrato (1 mmole), in tetraidrofurano (3 ml) e acqua (2 mmole), posta sotto agitazione magnetica a temperatura ambiente, sono state aggiunte 1.2 mmoli di reattivo di Dess-Martin. Dopo circa un'ora, è stata osservata la scomparsa del substrato. Alla soluzione è stata aggiunta acqua (3 ml) e $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (2 mmoli, 348 mg) ed è stata mantenuta l'agitazione magnetica per 5 minuti. La variazione cromatica da rosso intenso a giallo pallido ha indicato la fine della reazione. Dopo aver allontanato il solvente per distillazione a pressione ridotta, il residuo di reazione è stato solubilizzato con etil acetato e trattato con una soluzione satura di NaHCO_3 . La fase acquosa è stata estratta per tre volte con etil acetato. Le fasi organiche riunite sono state lavate con una soluzione satura di NaCl fino a neutralità e seccate su Na_2SO_4 anidro. Dopo distillazione del solvente a pressione ridotta, è stato ottenuto il prodotto demetilato.

5.16 Ossidazione dell'acido o-iodobenzoico ad IBX

Ad una soluzione di acido o-iodobenzoico (20 mmoli), solubilizzato in acqua (65 ml) è stato aggiunto oxone (29 mmoli). La miscela è stata lasciata sotto agitazione magnetica per circa 3 ore alla temperatura di 70°C . La sospensione è stata quindi raffreddata a 5°C ed è stata mantenuta a questa temperatura per circa 1.5 ore sotto leggera agitazione. La miscela

è stata quindi filtrata sotto vuoto, lavando ripetutamente il solido prima con acqua (6x10 ml) e poi con acetone (2x10 ml). Il solido è stato seccato a temperatura ambiente per tutta la notte ed è stato recuperato con una resa del 75-80 %.

5.17 Sintesi 4-aril-diidrocumarine

Una quantità equimolecolare di acido cinnamico precedentemente protetto e di tirosolo carbossimetilato (1 mmole) sono stati posti in acido trifluoroacetico alla temperatura di riflusso. La reazione è stata monitorata viaTLC e GC/MS. Successivamente, è stato aggiunto alla miscela una soluzione satura di sodio carbonato fino ad arrivare ad un pH neutro, e quindi si è proceduto all'estrazione della fase acquosa con etilacetato (3x20 ml). Le fasi organiche riunite sono state prima lavate con una soluzione di cloruro di sodio e quindi seccate su sodio solfato anidro. Dopo filtrazione, il solvente organico è stato allontanato per distillazione a pressione ridotta. Il grezzo di reazione è stato purificato mediante colonna cromatografica flash.

5.18 Misure di attività antiossidante con il metodo della DPPH

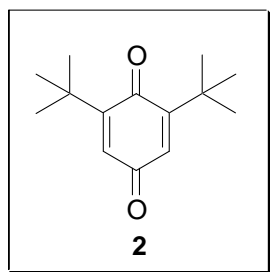
Aliquote di una soluzione di molecola da testare come antiossidante, solubilizzata in metanolo, sono state aggiunte a 2.8 ml di una soluzione 6×10^{-5} M di DPPH in metanolo. Il decremento di assorbanza del radicale libero della DPPH è stato determinato per via spettrofotometrica, registrando i valori ottenuti alla $\lambda=516$ nm ($\epsilon_{516} = 10357 \pm 162$ M⁻¹cm⁻¹) a 25°C nel tempo, fino ad arrivare ad un plateau. Per ogni concentrazione di antiossidante, è stata registrata la cinetica di reazione. Il valore percentuale di assorbanza della DPPH rimasta inalterata nei vari tempi dopo l'aggiunta del composto in esame, è stata determinata attraverso la comparazione delle misure di assorbanza di tale soluzione con quello di una soluzione di DPPH pura. Dall'estrapolazione di un grafico che correla la percentuale di assorbanza della DPPH rimasta inalterata e il valore della concentrazione molare del composto in esame si ricava l'attività antiradicalica del composto stesso, espressa come segue:

$$\text{concentrazione Efficiente (EC}_{50}\text{)} = \text{moli antiossidante/moli DPPH}$$

5.19 Misure UV-VIS del complesso H₂O₂/MTO in DMC

Sono state preparate due soluzioni, rispettivamente solubilizzando MTO in DMC con una concentrazione 0.93 mM (soluzione A) e H₂O₂ al 35% in DMC con una concentrazione 42 mM (soluzione B). Dopo tale preparazione, sono state condotte misure UV-Vis di assorbanza nel range di lunghezza d'onda 300-500 nm, utilizzando cuvette in quarzo (1x1x3 cm). La prima misura è stata effettuata per registrare lo spettro di assorbanza del solo catalizzatore metallico (soluzione A) e verificare che non ci fossero interazioni con il DMC. Il bianco di riferimento per questa prima analisi è stato il DMC. La seconda misura è stata effettuata per verificare sia la formazione del monoperossicompleso **mpRe** (λ_{\max} =330 nm) che del diperossicompleso **dpRe** (λ_{\max} = 360 nm). La soluzione B è stata impiegata come bianco di riferimento; mentre il campione da analizzare è stato preparato miscelando volumi uguali della soluzione A e B (soluzione C). L'analisi spettrofotometrica sulla soluzione C, ad intervalli regolari di tempo (1 h), ha permesso la registrazione sia dello spettro relativo al **mpRe** che del **dpRe**.

6 DATI SPETTROSCOPICI E SPETTRI NMR

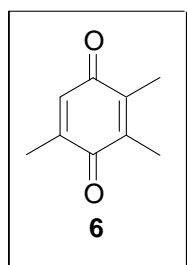


Dati spettroscopici

ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 1650, 2880, 3060.

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 1.27 (18H, s), 6.48 (2H, s).

δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 29.3, 35.5, 130.1, 157.7, 187.7, 188.6.

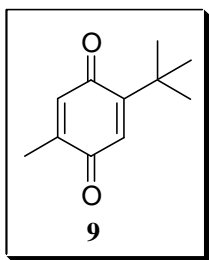


Dati spettroscopici

ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 1650, 2880, 3060.

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.01 (9H, m), 6.50 (1H, q, $J=1.57$ Hz).

δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 12.0, 12.3, 15.8, 133.0, 140.7, 140.8, 145.3, 187.4, 187.8.



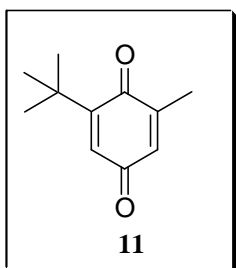
Dati spettroscopici

ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 1605, 1650, 2960, 3060.

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 1.19 (9H, s, CH_3), 1.96 (3H, q, CH_3 , $J=1.5$ Hz), 6.46 (1H, q, $J=1.5$ Hz, CH), 6.52 (1H, s, CH).

δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 14.9, 29.1, 131.5, 135.9, 144.1, 156.0, 187.8, 188.9.

M/z 178 (M^+).



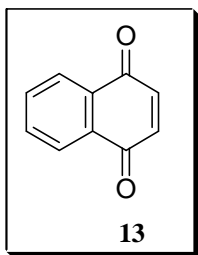
Dati spettroscopici

ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 1600, 1650, 2960, 3060.

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 1.10 (9H, s, CH_3), 1.91 (3H, s, CH_3), 6.41 (2H, m, CH);

δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 16.1, 27.80, 28.7, 131.3, 131.9, 147.6, 156.2, 187.6, 188.6.

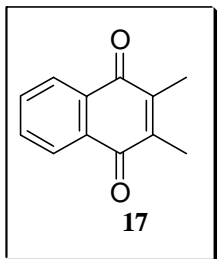
M/z 178 (M^+).



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 6.98 (s, 2H), 7.68 (q, 2H, J=1.85), 7.98 (q, 2H, J=1.85).

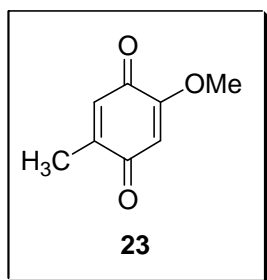
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 126.2, 131.8, 133.7, 138.5, 184.7.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.07 (s, 6H), 7.58 (q, 2H, J=2.44), 7.94 (q, 2H, J=2.43).

δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 12.8, 126.1, 132.0, 133.3, 143.4, 184.8.

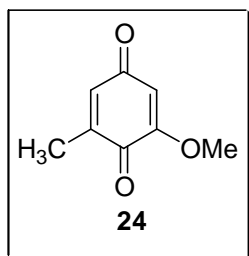


Dati spettroscopici

ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 1660, 1640

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.08 (d, 3H, CH_3 , $J=1.58$), 3.78 (s, 3H, CH_3O), 5.90 (s, 1H, CH), 6.50 (1H, q, CH, $J=1.58$).

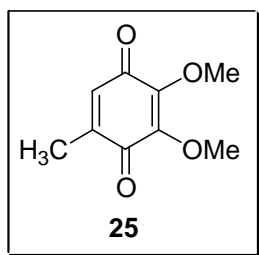
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 15.7, 56.2, 107.5, 131.2, 146.9, 158.6, 182.1, 187.7



Dati spettroscopici

ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 1650, 1625.

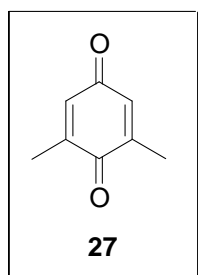
δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz) 2.00 (s, 3H, CH_3), 3.74 (s, 3H, CH_3O), 5.81 (s, 1H, CH), 6.47 (1H, m, CH).



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 1.96 (d, 3H, J= 1.14), 3.93 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 6.38 (q, 1H, J= 1.14).

δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 15.3, 61.1, 61.1, 131.2, 142.7, 144.0, 148.1, 172.1, 184.3.

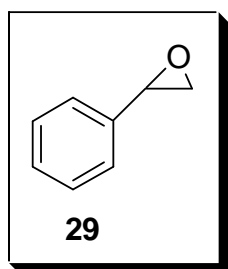


Dati spettroscopici

ν_{max} (KBr): 1650, 2880, 3060.

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.02 (6H, d, J=1.52), 6.52 (2H, q, J=1.53Hz).

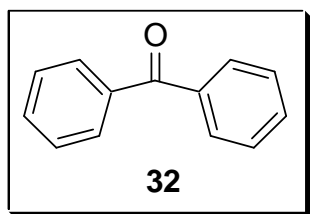
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 16.0, 133.3, 145.8, 187.7, 188.2.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.81 (dd, 1H, $J_{\text{g}}=5.5$, $J_{\text{v}}=2.6$), 3.15 (dd, 1H, $J_{\text{g}}=5.5$, $J_{\text{v}}=4.1$), 3.87 (dd, 1H, $J_1=2.6$, $J_2=4$), 7.30 (m, 5H).

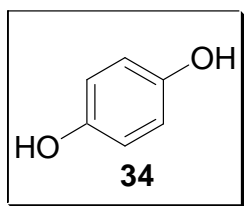
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 51.2, 52.4, 125.5, 128.2, 128.4, 137.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 7.30-7.55(m, 6H), 7.90-8.00 (m, 4H).

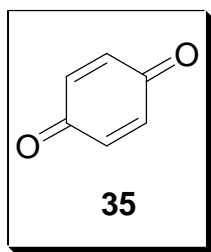
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 128.3, 130.0, 132.4, 137.6, 196.7



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 6.52 (s, 4H).

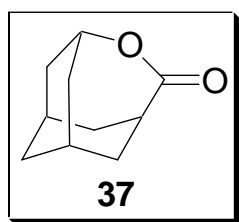
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 115.8, 149.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 6.66 (s, 4H).

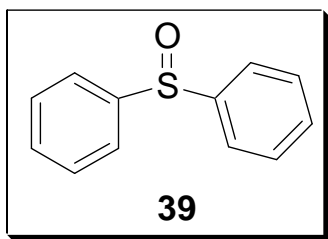
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 136.5, 187.3.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 1.56-1.93 (m, 12H), 2.85 (m, 1H), 4.32 (m, 1H).

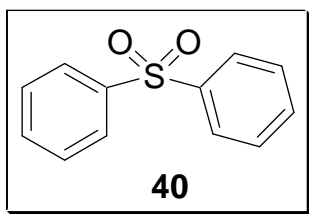
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 25.6, 25.9, 30.7, 33.5, 35.5, 35.8, 41.1, 73.4, 179.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 7.42-7.49 (m, 6 H), 7.63-7.66 (m, 4 H).

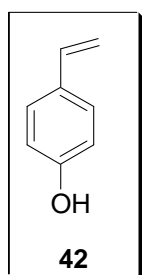
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 124.7, 129.3, 131.0, 145.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 7.48-7.59 (m, 6 H), 7.94-7.97 (m, 4 H).

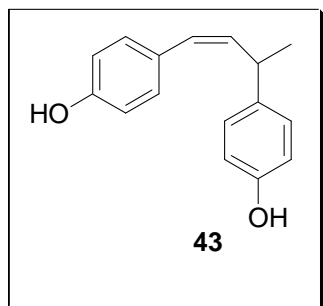
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 127.6, 129.3, 133.2, 141.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 5.09 (d, 1H, $J_{\text{c}} = 10.84$), 5.58 (d, 1H, $J_{\text{t}} = 17.59$), 6.56-6.70 (dd, 1H, $J_{\text{t}} = 17.59$, $J_{\text{c}} = 10.87$), 6.64 (m, 2H), 6.77 (d, 2H, $J_{\text{o}} = 8.54$), 7.28 (d, 2H, $J_{\text{o}} = 8.55$).

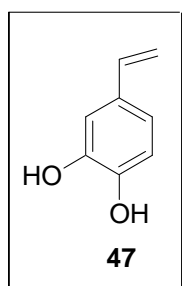
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 111.5, 115.3, 127.5, 130.6, 136.1, 155.3.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 1.39 (d, 3H, J=7.00), 3.52 (m, 1H), 6.11-6.21 (m, 2H), 6.68-6.79 (m, 4H), 7.08-7.26 (m, 4H).

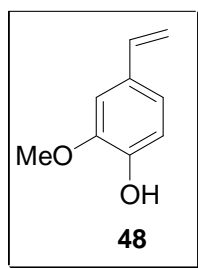
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 18.6, 37.0, 115.8, 115.9, 126.2, 127.5, 132.1, 134.5, 154.2, 159.2.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 4.93 (dd, 1H, $J_{\text{c}}=10.82$, $J_{\text{g}}=1.04$), 5.40 (dd, 1H, $J_{\text{t}}=17.58$, $J_{\text{g}}=1.06$), 6.38-6.52 (dd, 1H, $J_{\text{t}}=17.51$, $J_{\text{c}}=10.82$), 6.64 (m, 2H), 6.81 (m, 1H).

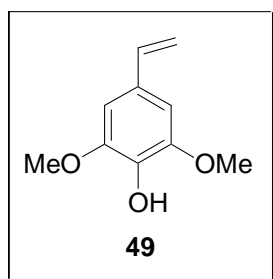
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 110.7, 112.3, 114.8, 118.7, 130.8, 136.4, 145.7, 146.9.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 3.90 (s, 3H), 5.09 (d, 1H, $J_{\text{c}}= 10.62$), 5.56 (d, 1H, $J_{\text{t}}= 17.37$), 6.54-6.692 (dd, 1H, $J_{\text{t}}= 17.40$, $J_{\text{c}}= 10.75$) 7.12 (d, 2H, $J=8.70$).

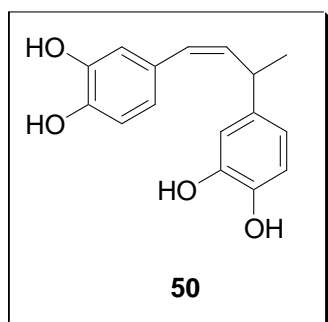
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 55.7, 108.4, 111.0, 114.6, 119.8, 129.9, 136.5, 145.8, 147.0.



Dati spettroscopici

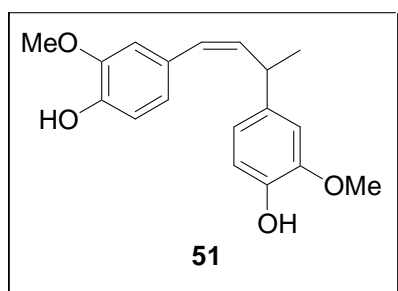
δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 3.89 (s, 6H), 5.13 (dd, 1H, $J_{\text{c}}= 10.84$, $J_{\text{g}}= 0.81$), 5.58 (dd, 1H, $J_{\text{t}}= 17.52$, $J_{\text{g}}= 0.84$), 6.52-6.67 (dd, 1H, $J_{\text{t}}= 17.51$, $J_{\text{c}}= 10.80$) 6.63 (s, 2H).

δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 56.2, 103.0, 111.8, 129.2, 134.8, 136.8, 147.0.



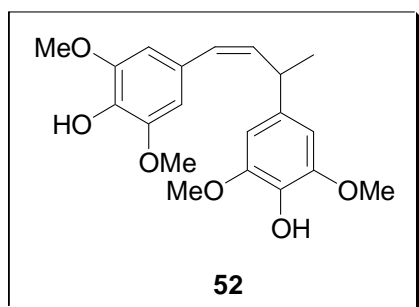
Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 1.34 (d, 3H, $J=7.04$), 3.36 (m, 1H), 6.07-6.14 (m, 2H), 6.54-6.71 (m, 6H).



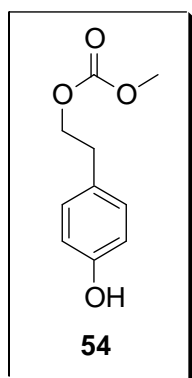
Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 1.41 (d, 3H, $J=7.00$), 3.56 (m, 1H), 3.87 (s, 6H), 6.11-6.34 (m, 2H), 6.73-6.88 (m, 6H)



Dati spettroscopici

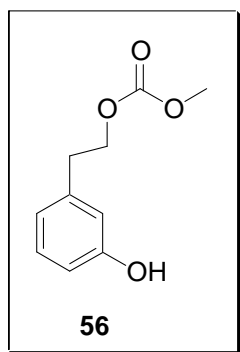
δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 1.41 (d, 3H, J=7.02), 3.56 (m, 1H), 3.87 (s, 12H), 6.20-6.24 (m, 2H), 6.47 (s, 2H), 6.57 (s, 2H).



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.88 (t, 2H J=7.1), 3.75 (s, 3H), 4.28 (t, 2H, J=7.1), 6.74 (d, 2H, J_o=8.6), 7.03 (d, 2H, J=8.6).

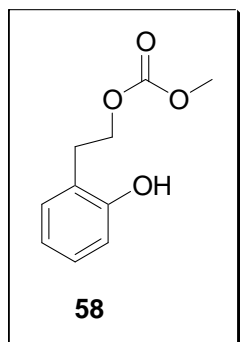
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 34.2, 54.8, 68.7, 115.4, 129.2, 130.1, 154.4, 155.9.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): .91 (t, 2H, J=7.10), 3.75 (s, 3H), 4.31 (t, 2H, J=7.10), 6.68-6.79 (m, 3H), 7.11-7.19 (m, 1H).

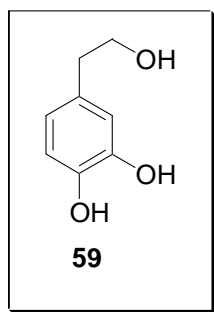
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 34.9, 54.7, 68.2, 113.6, 115.8, 121.2, 129.7, 139.7, 155.7, 155.9.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.98 (t, 2H, J=7.06), 3.76 (s, 3H), 4.33 (t, 2H, J=7.06), 6.77-6.88 (m, 2H), 7.07-7.12 (m, 2H).

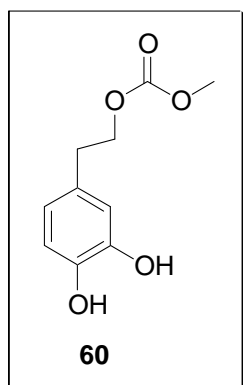
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 29.6, 54.8, 67.7, 115.8, 120.7, 123.3, 128.3, 131.0, 154.3, 156.0.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.58 (t, 2H, J=6.8), 3.66 (t, 2H, J=6.8), 6.44 (dd, 1H, J_m=1.8, J_o=8), 6.59 (d, 1H, J=1.8), 6.64 (d, 1H, J=8).

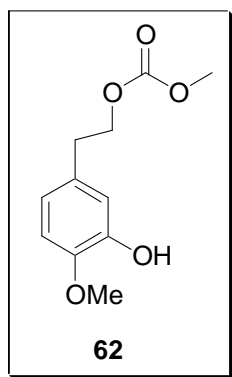
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 38.1, 63.4, 115.3, 115.9, 120.6, 130.6, 143.8, 144.2.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.82 (t, 2H, J=7.18), 3.75 (s, 3H), 4.26 (t, 2H, J=7.18), 6.60 (dd, 1H, J_m=2.03, J_o=8.01), 6.70 (d, 1H, J=1.9), 6.76 (d, 1H, J=8.01).

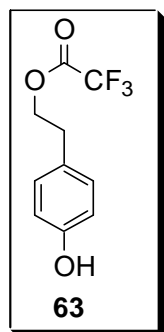
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 34.4, 54.8, 68.7, 115.5, 116.0, 121.4, 130.0, 142.4, 143.6, 155.9.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.88 (t, 2H, J=7.2), 3.75 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 4.29 (t, 2H, J=7.2), 6.68-6.72 (m, 2H), 6.83 (d, 1H, J=8.5).

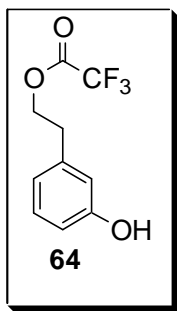
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 34.8, 54.7, 55.9, 68.6, 111.4, 114.4, 121.6, 129.0, 144.4, 146.7, 155.8



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.90 (t, 2H J=7.0), 4.43 (t, 2H, J=7.0), 6.72 (d, 2H, J_o=8.5), 6.98 (d, 1H, J=8.5).

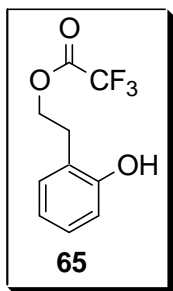
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 33.7, 68.7, 115.5, 120.7, 129.9, 130.3, 155.5, 157.1.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.93 (t, 2H, J=7.07), 4.46 (t, 2H, J=7.07), 6.70 (m, 3H), 7.14 (m, 1H).

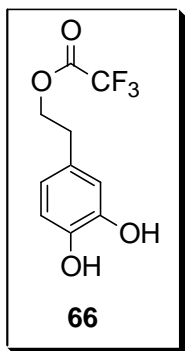
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 34.4, 68.3, 114.0, 114.6, 115.7, 120.4, 129.7, 137.7, 156.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 3.01 (t, ArCH₂, 2H, J=6.96), 4.56 (t, ArCH₂CH₂, 2H, J=6.96), 6.72 (dd, Ar, 1H, J_o=8.06, J_m=1.36), 6.89 (m, Ar, 1H), 7.14 (m, Ar, 2H).

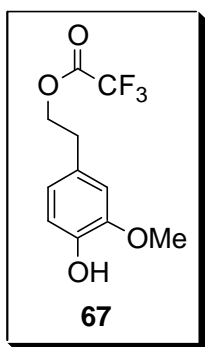
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 29.4, 67.4, 114.3, 115.3, 121.4, 122.6, 128.5, 131.3, 153.8.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.90 (t, 2H, $J=7.0$), 4.46 (t, 2H, $J=7.0$), 6.62 (dd, 1H, $J_{\text{m}}=2.0$, $J_{\text{o}}=8.0$), 6.71 (d, 1H, $J=2.0$), 6.78 (d, 1H, $J=8.0$).

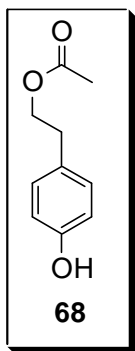
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 33.9, 68.5, 114.0, 115.6, 115.9, 121.4, 129.0, 142.6, 143.8, 157.0.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.95 (t, 2H, $J=6.9$), 3.86 (s, 3H), 4.49 (t, 2H, $J=6.9$), 6.67-6.71 (m, 2H), 6.85 (d, 1H, $J=8.6$).

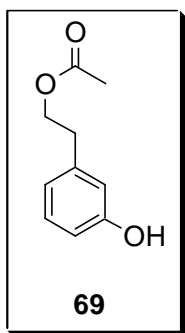
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 34.3, 55.8, 68.6, 111.7, 114.6, 117.3, 121.6, 128.0, 144.7, 146.6, 156.9



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.03 (s, 3H) 2.83 (t, 2H $J=7.1$), 4.22 (t, 2H, $J=7.0$), 6.74 (d, 2H, $J_o=8.6$), 6.59 (d, 1H, $J=1.9$), 7.03 (d, 1H, $J=8.6$).

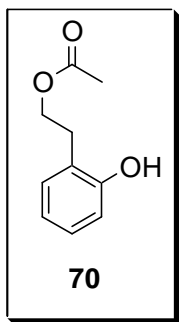
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 21.0, 34.2, 65.4, 115.4, 129.6, 130.0, 154.5, 171.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.03 (s, 3H), 2.85 (t, 2H, $J=7.05$), 4.26 (t, 2H, $J=7.05$), 6.68-6.75 (m, 3H), 7.13 (m, 1H).

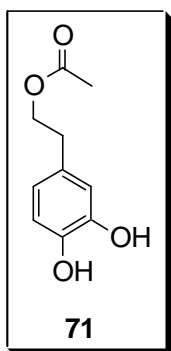
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 21.0, 34.8, 64.9, 113.6, 115.7, 121.1, 129.6, 139.4, 155.9, 171.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.05 (s, 3H), 2.94 (t, 2H, $J=7.04$), 4.28 (t, 2H, $J=7.04$), 6.76-6.87 (m, 2H), 7.06-7.12 (m, 2H).

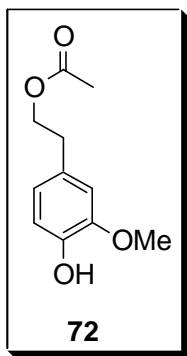
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 21.0, 30.0, 64.5, 115.9, 120.9, 123.6, 128.3, 130.8, 154.4, 171.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 1.93 (s, 3H) 2.68 (t, 2H $J=7.1$), 4.10 (t, 2H, $J=7.0$), 6.46 (dd, 1H, $J_{\text{m}}=2.0$, $J_{\text{o}}=8.0$), 6.59 (d, 1H, $J=1.9$), 6.65 (d, 1H, $J=8.0$).

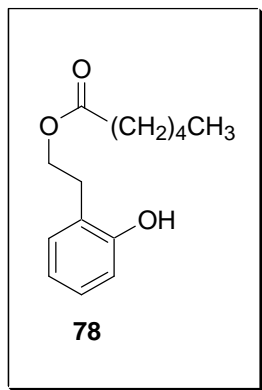
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 20.7, 34.2, 65.4, 115.1, 115.7, 120.4, 129.6, 143.0, 144.2, 171.8.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.02 (s, 3H), 2.83 (t, 2H, J=7.16), 3.85 (s, 3H), 4.22 (t, 2H, J=7.16), 6.66-6.69 (m, 2H), 6.85 (d, 1H, J=8.5).

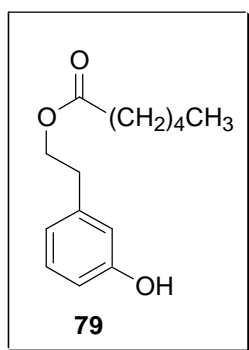
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 20.9, 34.7, 55.8, 65.2, 111.4, 114.4, 121.6, 129.6, 144.3, 146.5, 171.1.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.86 (m, 3H), 1.23-1.32 (m, 4H), 1.56-1.64 (m, 2H), 2.29 (t, 2H, J=7.30), 2.94 (t, 2H, J=7.03), 4.27 (t, 2H, J=7.04), 6.79-6.87 (m, 2H), 7.07-7.15 (m, 2H).

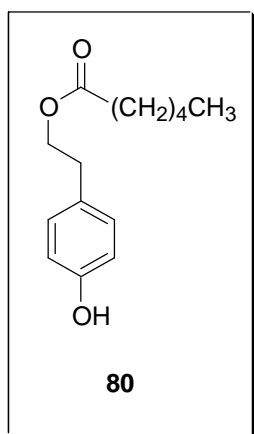
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 13.8, 22.2, 24.5, 30.1, 31.2, 34.3, 64.3, 115.8, 120.5, 123.68, 128.2, 130.8, 154.4, 174.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.85 (m, 3H), 1.20-1.30 (m, 4H), 1.50-1.65 (m, 2H), 2.27 (t, 2H, J=7.71), 2.83 (t, 2H, J=7.04), 4.27 (t, 2H, J=7.04), 6.67-6.76 (m, 3H), 7.09-7.17 (m, 1H).

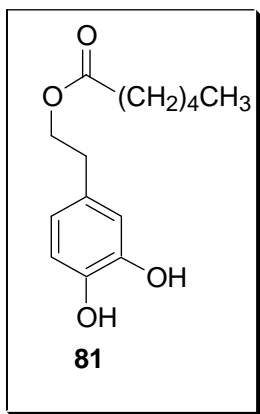
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 13.8, 22.2, 24.5, 31.2, 34.3, 34.9, 64.7, 113.5, 115.8, 121.0, 129.6, 139.5, 155.9, 174.4.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.85 (m, 3H), 1.19-1.32 (m, 4H), 1.50-1.65 (m, 2H), 2.24 (t, 2H, J=7.68), 2.83 (t, 2H, J=7.06), 4.23 (t, 2H, J=7.07), 6.76 (d, 2H, J=8.40), 7.06 (d, 2H, J=8.40).

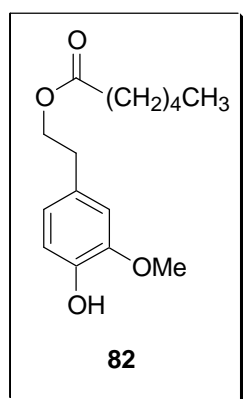
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 13.8, 22.2, 24.6, 31.2, 34.2, 34.3, 65.2, 115.3, 129.5, 129.9, 154.5, 174.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 0.85 (m, 3H), 1.18-1.27 (m, 4H), 1.49-1.64 (m, 2H), 2.26 (t, 2H, $J=7.56$), 2.78 (t, 2H, $J=7.11$), 4.18 (t, 2H, $J=7.11$), 6.58 (dd, 1H, $J_o=8.03$, $J_m=1.94$), 6.70 (d, 2H, $J_m=1.94$), 6.76 (d, 2H, $J=8.03$).

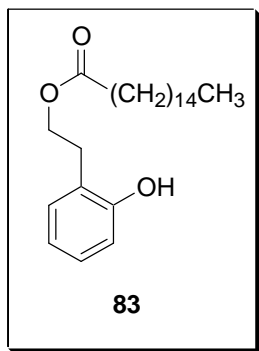
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 13.8, 22.2, 24.5, 31.2, 34.4, 65.2, 115.3, 115.8, 121.1, 130.3, 142.45, 143.7, 174.9.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 0.83 (m, 3H), 1.20-1.29 (m, 4H), 1.53-1.61 (m, 2H), 2.25 (t, 2H, $J=7.68$), 2.82 (t, 2H, $J=7.10$), 3.81 (s, 3H), 4.22 (t, 2H, $J=7.10$), 6.66 (m, 3H, $J=8.40$), 6.82 (d, 1H, $J=7.22$).

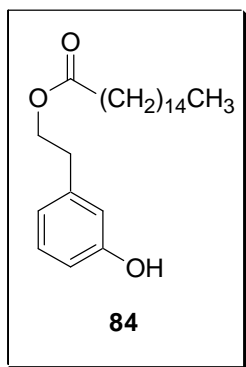
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 13.8, 22.2, 24.6, 31.2, 34.2, 34.7, 55.8, 64.9, 111.4, 114.4, 121.6, 129.6, 144.4, 146.5, 173.8.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.87 (m, 3H), 1.19-1.24 (m, 22H), 1.60 (m, 2H), 2.30 (t, 2H, J=7.65), 2.94 (t, 2H, J=7.03), 4.28 (t, 2H, J=7.02), 6.79-6.87 (m, 2H), 7.07-7.11 (m, 2H).

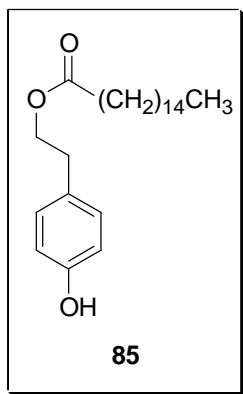
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.1, 22.6, 24.8, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4, 29.6, 29.6, 29.6, 30.1, 31.9, 34.3, 64.3, 115.8, 120.5, 123.7, 128.2, 130.9, 154.5, 174.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.86 (m, 3H), 1.23-1.28 (m, 22H), 1.53 (m, 2H), 2.27 (t, 2H, J=7.28), 2.86 (t, 2H, J=7.06), 4.26 (t, 2H, J=7.06), 6.70 (m, 3H), 7.13 (m, 1H).

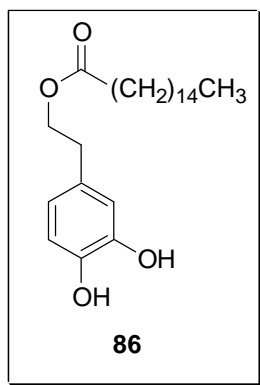
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.0, 22.6, 24.9, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4, 29.6, 29.6, 29.6, 31.9, 34.38, 34.9, 64.7, 113.5, 115.7, 121.1, 129.6, 139.5, 155.9, 174.3.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 0.86 (m, 3H), 1.24-1.29 (m, 24H), 1.55 (m, 2H), 2.28 (t, 2H, $J=7.33$), 2.84 (t, 2H, $J=7.10$), 4.23 (t, 2H, $J=7.11$), 6.75 (d, 2H, $J=8.51$), 7.03 (d, 2H, $J=8.51$).

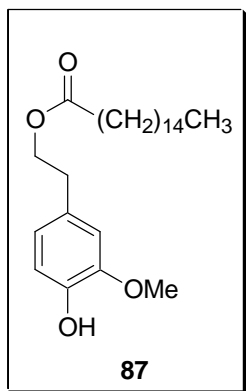
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 14.1, 22.6, 24.9, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4, 29.6, 29.6, 29.6, 31.9, 34.23, 34.4, 65.2, 115.4, 129.4, 129.9, 154.6, 174.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 0.85 (m, 3H), 1.12-1.22 (m, 24H), 1.56 (m, 2H), 2.26 (t, 2H, $J=7.35$), 2.77 (t, 2H, $J=7.16$), 4.16 (t, 2H, $J=7.15$), 6.55 (dd, 1H, $J_{\text{m}}=1.99$, $J_{\text{o}}=8.1$), 6.69 (d, 1H, $J=1.97$), 6.73 (d, 1H, $J=8.2$).

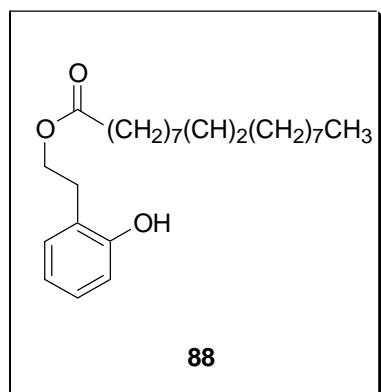
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 14.1, 22.6, 24.9, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4, 29.6, 29.6, 31.9, 34.4, 65.2, 115.2, 115.8, 121.1, 130.2, 142.4, 143.8, 174.7.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.86 (m, 3H), 1.18-1.26 (m, 24H), 1.59 (m, , 2H), 2.26 (t, 2H, J=7.60), 2.83 (t, 2H, J=7.14), 3.83 (s, 3H), 4.22 (t, 2H, J=7.15), 6.66-6.69 (m, 2H), 6.85 (d, 1H, J=8.61).

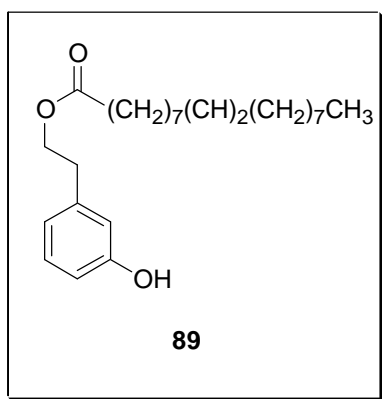
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.1, 22.69, 24.9, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4, 29.6, 29.6, 29.6, 31.9, 34.2, 34.42, 65.2, 115.4, 129.4, 129.9, 154.6, , 174.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.86 (m, 3H), 1.20-1.26 (m, 20H), 1.59 (m, 2H), 1.98 (m, 4H) 2.30 (t, 2H, J=7.34), 2.93 (t, 2H, J=7.00), 4.27 (t, 2H, J=7.00), 5.32 (m, 2H), 6.79-6.87 (m, 2H), 7.06-7.14 (m, 2H).

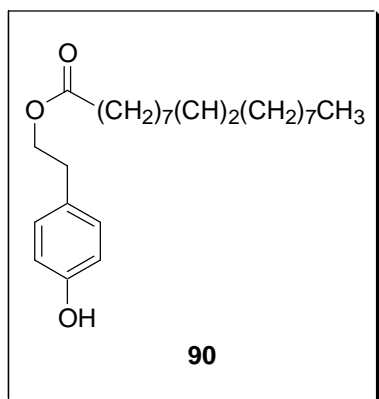
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.0, 22.6, 24.8, 27.1, 27.2, 29.0, 29.1, 29.3, 29.5, 29.6, 29.7, 30.1, 31.9, 34.3, 64.3, 115.9, 120.5, 123.6, 128.2, 129.7, 130.0, 130.8, 154.4, 174.4



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.87 (m, 3H), 1.22-1.28 (m, 20H), 1.58 (m, 2H), 1.96 (m, 4H) 2.28 (t, 2H, J=7.64), 2.86 (t, 2H, J=7.09), 4.27 (t, 2H, J=7.10), 5.33 (m, 2H), 6.69-6.77 (m, 3H), 7.09-7.17 (m, 1H).

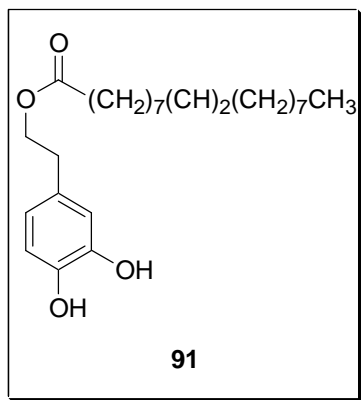
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.1, 22.6, 24.9, 27.1, 27.2, 29.0, 29.1, 29.3, 29.5, 29.6, 29.7, 30.19, 31.9, 34.3, 34.9, 64.8, 113.6, 115.8, 121.0, 129.6, 129.7, 130.0, 139.4, 156.0, 174.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.86 (m, 3H), 1.23-1.31 (m, 20H), 1.58 (m, 2H), 2.01 (m, 4H) 2.27 (t, 2H, J=7.33), 2.83 (t, 2H, J=7.13), 4.23 (t, 2H, J=7.12), 5.33 (m, 2H), 6.75 (d, 2H, J=8.52), 7.03 (m, 2H, J=8.52).

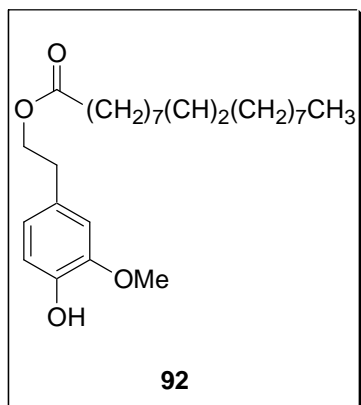
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.0, 22.6, 24.9, 27.1, 27.2, 29.0, 29.1, 29.3, 29.5, 29.6, 29.7, 31.90, 34.2, 34.3, 65.1, 115.3, 129.5, 129.7, 129.9, 130.0, 154.5, 174.4.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.86 (m, 3H), 1.15-1.25 (m, 20H), 1.57 (m, 2H), 2.00 (m, 4H) 2.24 (t, 2H, J=7.63), 2.77 (t, 2H, J=7.15), 4.22 (t, 2H, J=7.15), 5.33 (m, 2H), 6.56 (dd, 1H, J_m=2.03, J_o=8.04), 6.69 (d, 1H, J=2.02), 6.75 (d, 1H, J=8.04).

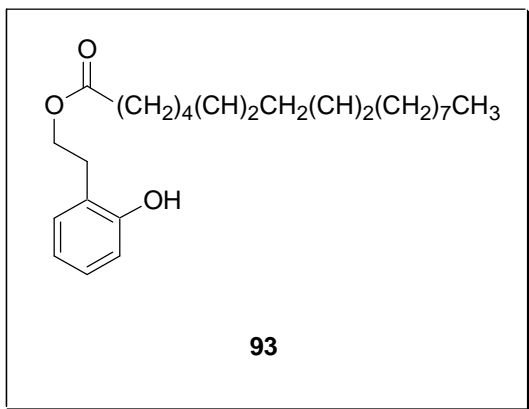
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.0, 22.6, 24.9, 27.1, 27.2, 29.0, 29.1, 29.3, 29.5, 29.6, 29.7, 31.9, 34.4, 65.2, 115.3, 115.8, 121.1, 129.7, 130.0, 130.2, 142.4, 143.7, 174.4.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.86 (m, 3H), 1.15-1.25 (m, 20H), 1.60 (m, 2H), 1.97 (m, 4H) 2.26 (t, 2H, J=7.63), 2.83 (t, 2H, J=7.14), 3.85 (s, 3H), 4.23 (t, 2H, J=7.13), 5.33 (m, 2H), 6.67-6.70 (m, 2H), 6.82 (d, 1H, J=8.57).

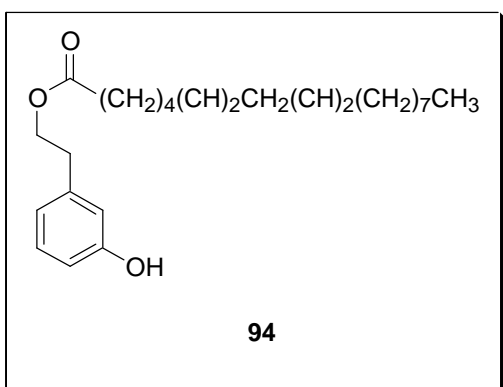
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.0, 22.6, 24.9, 27.1, 27.2, 29.0, 29.1, 29.3, 29.5, 29.6, 29.7, 31.90, 34.3, 34.8, 55.8, 64.9, 111.3, 114.3, 121.6, 129.6, 129.7, 130.0, 144.2, 146.4, 173.8.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.88 (m, 3H), 1.25-1.34 (m, 14H), 1.60 (m, 2H), 2.03 (m, 4H) 2.31 (t, 2H, J=7.60), 2.76 (m, 2H), 2.95 (t, 2H, J=7.02), 4.29 (t, 2H, J=7.03), 5.29-5.39 (m, 4H), 6.79-6.87 (m, 2H), 7.07-7.15 (m, 2H).

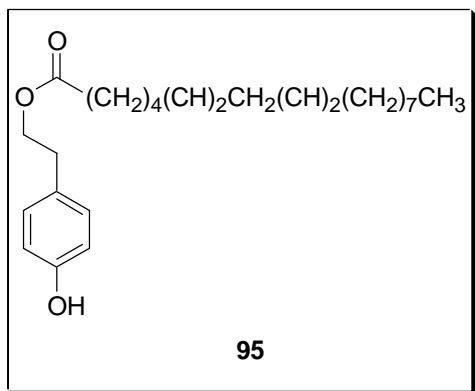
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.0, 22.5, 24.8, 25.6, 27.2, 29.0, 29.1, 29.3, 29.6, 30.1, 31.5, 34.36, 64.3, 115.8, 120.4, 123.7, 127.9, 128.0, 128.1, 130.0, 130.2, 130.9, 154.5, 174.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 0.88 (m, 3H), 1.22-1.28 (m, 14H), 1.58 (m, 2H), 2.02 (m, 4H) 2.25 (t, 2H, J=7.65), 2.33-2.90 (m, 4H), 4.27 (t, 2H, J=7.12), 5.25-5.41 (m, 4H), 6.69-6.76 (m, 3H), 7.09-7.17 (m, 1H).

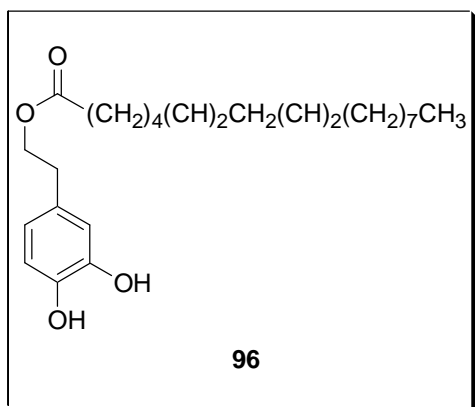
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 14.0, 22.5, 24.9, 25.6, 27.2, 29.0, 29.1, 29.3, 29.6, 31.5, 34.3, 34.95, 64.8, 113.6, 115.8, 120.9, 127.9, 128.0, 129.6, 130.0, 130.2, 139.4, 156.1, 174.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 0.88 (m, 3H), 1.28-1.38 (m, 14H), 1.58 (m, 2H), 2.03 (m, 4H) 2.29 (t, 2H, $J=7.35$), 2.73-2.87 (m, 4H), 4.24 (t, 2H, $J=7.14$), 5.28-5.39 (m, 4H), 6.76 (d, 2H, $J=8.48$), 7.03 (d, 2H, $J=8.48$).

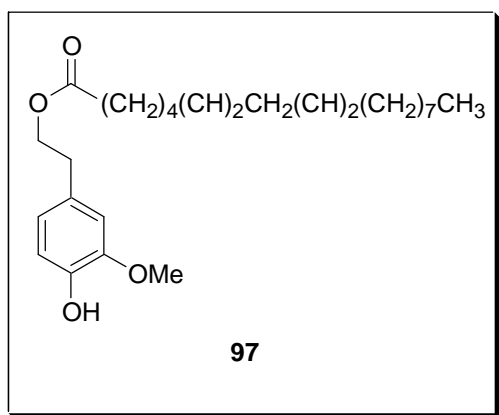
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 14.0, 22.5, 24.9, 25.6, 27.2, 28.8, 29.0, 29.1, 29.6, 31.5, 34.2, 34.4, 65.3, 115.4, 128.0, 129.3, 129.9, 130.0, 130.2, 154.6, 174.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 0.86 (m, 3H), 1.26-1.33 (m, 14H), 1.60 (m, 2H), 2.00 (m, 4H), 2.27 (t, 2H, $J=7.35$), 2.72-2.82 (m, 4H), 4.17 (t, 2H, $J=7.13$), 5.24-5.45 (m, 4H), 6.59 (dd, 1H, $J_{\text{m}}=1.90$, $J_{\text{o}}=8.04$), 6.71 (d, 1H, $J=2.02$), 6.76 (d, 1H, $J=8.04$).

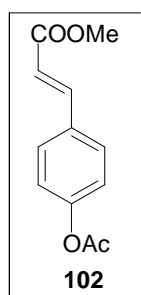
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 14.0, 22.5, 24.7, 24.9, 25.6, 27.1, 28.7, 29.0, 29.1, 29.5, 31.5, 31.6, 34.4, 65.1, 115.3, 115.8, 121.2, 127.9, 128.0, 130.0, 130.2, 130.4, 142.3, 143.7, 174.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 0.87 (m, 3H), 1.27-1.37 (m, 14H), 1.58 (m, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, 2H), 2.01 (m, 4H), 2.27 (t, 2H, $J=7.61$), 2.73-2.87 (m, 4H), 3.84 (s, 3H), 4.23 (t, 2H, $J=7.12$), 5.24-5.38 (m, 4H), 6.65-6.70 (m, 2H), 6.81 (d, 1H, $J=8.60$).

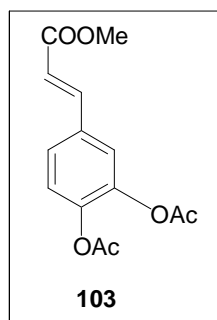
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 14.0, 22.5, 24.9, 25.6, 27.1, 29.0, 29.1, 29.3, 29.5, 31.1, 34.3, 34.8, 55.8, 64.9, 111.3, 114.3, 121.6, 127.9, 128.0, 129.5, 130.0, 130.1, 144.3, 146.4, 173.7.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 6.34 (d, 1H, $J=16.01$), 7.08 (d, 2H, $J_o=8.32$), 7.44 (d, 2H, $J_o=8.32$), 7.57 (d, 1H, $J=15.98$).

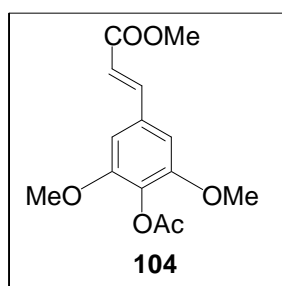
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 21.0, 51.6, 117.9, 122.1, 129.1, 132.0, 143.6, 152.1, 167.7, 169.0.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.25 (s, 6H), 3.74 (s, 3H), 6.33, (d, 1H, J=15.99), 7.16 (d, 1H, J_o=8.22), 7.24-7.37 (m, 2H), 7.57 (d, 1H, J=15.98).

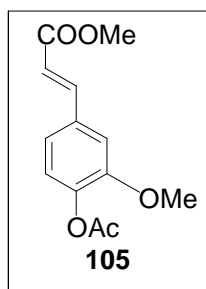
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 20.5, 20.5, 51.7, 118.9, 122.6, 123.9, 126.3, 133.1, 142.4, 142.8, 143.5, 166.9, 167.9, 168.0



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.28 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.76 (s, 6H), 6.32, (d, 1H, J=15.94), 6.70 (s, 2H), 7.54 (d, 1H, J=15.94).

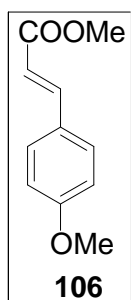
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 20.3, 51.6, 56.0, 104.6, 118.0, 130.4, 132.6, 144.4, 152.3, 167.1, 168.3.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.29 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 6.35 (d, 1H, J=15.97), 7.04 (m, 3H), 7.62 (d, 1H, J=15.96).

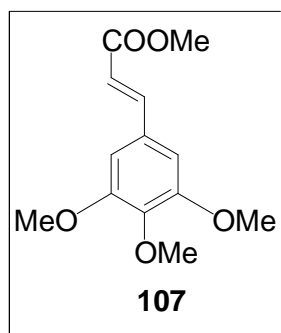
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 20.6, 51.7, 55.8, 111.2, 118.0, 121.1, 123.2, 133.2, 141.6, 144.1, 151.3, 167.2, 168.7



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 3.76 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 6.27 (d, 1H, J=15.94), 6.86 (d, 2H, J=8.35), 7.44 (d, 2H, J=8.33), 7.62 (d, 1H, J=15.93).

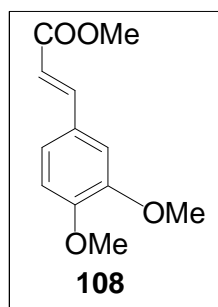
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 51.5, 55.3, 114.3, 115.2, 128.0, 129.7, 144.5, 161.4, 167.1



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz). 3.73 (s, 3H), 3.80 (s, 9H), 6.27, (d, 1H, J=15.93), 6.68 (s, 2H), 7.53 (d, 1H, J=15.94).

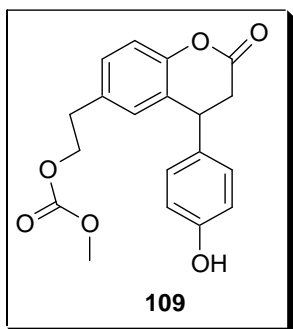
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 51.5, 56.0, 60.8, 105.1, 116.9, 129.8, 144.7, 153.3, 167.2.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz) 3.71 (s, 3H), 3.82 (s, 6H), 6.23 (d, 1H, J=15.91), 6.76 (d, 1H, J=8.20), 6.95-7.03 (m, 2H), 7.54 (d, 1H, J=15.92).

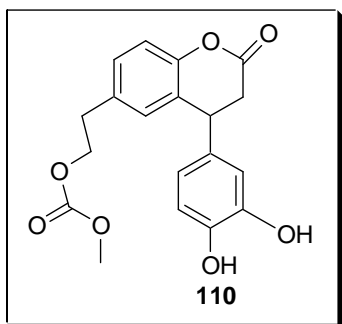
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 51.5, 55.7, 55.8, 109.6, 111.0, 115.4, 122.5, 127.2, 144.7, 149.1, 151.0, 167.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.86 (t, 2H, $J=6.93$), 2.98 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 4.22 (t, 3H), 6.75 (d, 2H, $J_o=8.51$), 6.83 (d, 1H, $J_m=1.57$), 6.95 (d, 2H, $J_o=8.55$), 7.22 (d, 1H, $J_o=8.25$), 7.13 (dd, 1H, $J_o=8.29$, $J_m=1.60$)

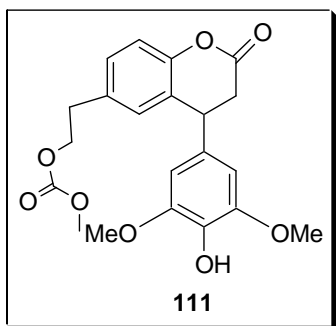
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 34.3, 37.2, 39.8, 54.1, 68.1, 115.9, 117.3, 126.1, 128.6, 129.1, 131.9, 133.8, 148.2, 150.4, 155.3, 155.9, 168.2



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz) : 87 (t, 2H, $J=6.79$), 2.97 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 4.05-4.34 (m, 3H), 6.57 (d, 2H, $J=6.74$), 6.78 (d, 1H, $J_o=7.06$, $J_m=1.65$), 6.88 (d, 1H, $J_m=1.76$), 6.98 (d, 1H, $J=8.29$), 7.01 (dd, 1H, $J_o=8.28$, $J_m=2.05$).

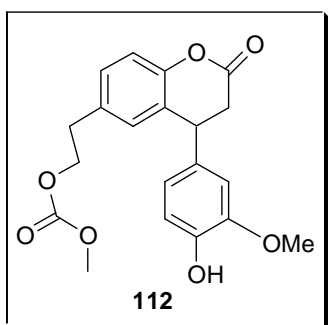
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 34.4, 36.9, 39.8, 54.9, 68.3, 114.4, 115.6, 117.0, 119.9, 125.9, 128.7, 128.97, 132.6, 133.8, 143.4, 144.1, 150.4, 155.6, 168.2.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.81 (t, 2H, $J=6.83$), 2.98 (m, 2H), 3.64 CH_3OCOO (s, 3H), 3.80 (s, 6H), 4.24 (t, 3H), 6.34 (s, 2H), 6.83 (d, 2H, $J_{\text{m}}=2.06$), 7.04 (d, 1H, $J_{\text{o}}=8.26$), 7.14 (dd, 1H, $J_{\text{o}}=8.29$, $J_{\text{m}}=2.05$).

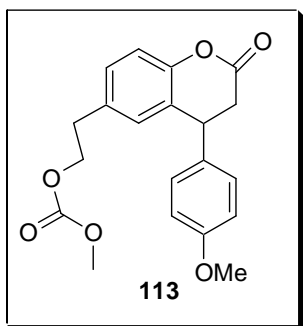
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 37.2, 40.9, 54.7, 56.3, 68.1, 104.2, 117.2, 126.0, 128.6, 129.2, 131.2, 133.9, 134.2, 147.4, 150.4, 155.6, 167.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.87 (t, 2H, $J=6.86$), 2.98 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 4.22 (t, 3H), 6.60-6.65 (m, 2H), 6.83-6.88 (m, 2H), 7.04 (d, 1H, $J_{\text{o}}=8.26$), 7.13 (dd, 1H, $J_{\text{o}}=8.39$, $J_{\text{m}}=2.03$).

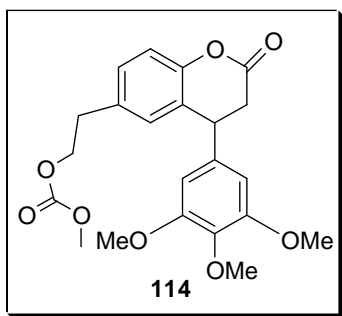
δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 34.4, 37.2, 40.4, 54.7, 55.9, 68.1, 109.7, 114.8, 117.2, 120.5, 126.1, 128.6, 129.1, 132.0, 133.8, 145.1, 146.9, 150.4, 155.6, 167.7.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz) 2.86 (t, 2H, J=6.98), 2.98 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 4.23 (t, 3H), 6.72-6.87 (m, 3H), 7.02-7.16 (m, 4H).

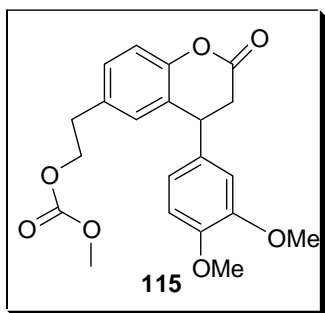
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 34.3, 37.2, 39.9, 54.7, 55.2, 68.1, 114.5, 117.2, 126.2, 128.6, 129.1, 130.1, 132.1, 133.8, 148.5, 150.5, 155.6, 159.0, 167.7.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.88 (t, 2H, J=7.06), 2.99 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.77 (s, 6H), 3.81 (s, 3H), 4.25 (t, 3H), 6.32 (s, 2H), 6.87 (d, 1H, J_m=1.83), 7.05 (d, 1H, J_o=8.18), 7.15 (dd, 1H, J_o=8.29, J_m=1.84).

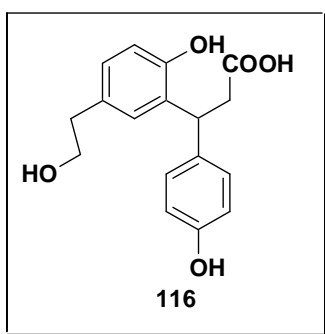
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 34.4, 37.1, 41.0, 54.7, 56.1, 60.8, 68.0, 104.5, 117.2, 125.6, 128.7, 129.3, 133.9, 135.9, 137.4, 150.5, 153.7, 155.6, 167.5.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.86 (t, 2H, J=6.87), 2.98 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.80 (s, 3H), 3.85 (s, 3H), 4.23 (t, 3H), 6.66 (dd, 2H, J_m=2.06, J_o=7.45), 6.81 (d, 2H, J_o=8.04), 7.04 (d, 1H, J_o=8.24), 7.14 (dd, 1H, J_o=8.29, J_m=1.93).

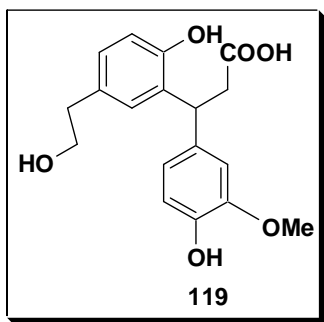
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 34.4, 37.1, 40.4, 54.7, 55.9, 68.1, 110.5, 111.6, 117.2, 119.7, 126.1, 128.6, 129.2, 132.6, 133.8, 148.5, 149.4, 150.6, 162.1, 167.6.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.56 (t, 2H, J=6.73), 2.78-3.01 (m, 2H), 3.57 (t, 2H, J=6.75), 4.65 (t, 1H, J= 7.63), 6.51-6.73 (m, 5H) 7.12 (d, 2H, J=8.70).

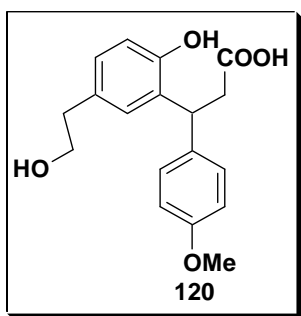
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 37.1, 38.1, 39.6, 63.4, 115.0, 115.7, 127.5, 128.4, 128.4, 129.7, 130.6, 134.3, 152.4, 154.8, 175.3.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.61 (t, 2H, J=6.61), 2.88-3.10 (m, 2H), 3.66 (t, 2H, J=6.58), 3.75 (s, 3H), 4.70 (t, 1H, J= 7.47), 6.59-6.85 (m, 6H).

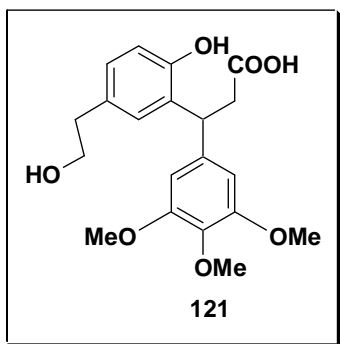
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 38.3, 39.7, 39.7, 55.8, 63.5, 111.0, 114.2, 116.6, 120.0, 127.9, 128.7, 130.26, 130.6, 134.9, 144.7, 146.5, 152.3, 175.3.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl₃, 200 MHz): 2.70 (t, 2H, J=6.72), 2.94-3.02 (m, 2H), 3.61 (t, 2H, J=6.72), 3.67 (s, 3H), 4.72 (t, 1H, J= 7.53), 6.61-7.02 (m, 5H) 7.12 (d, 2H, J=8.70).

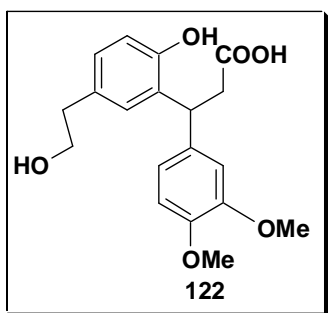
δ_{C} (CDCl₃, 200 MHz): 38.0, 39.6, 39.8, 55.1, 63.5, 113.7, 115.2, 116.1, 127.8, 129.1, 129.9, 130.50, 135.3, 152.4, 157.9, 175.4.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.61 (t, 2H, $J=6.75$), 2.81-3.07 (m, 2H), 3.59 (t, 2H, $J=6.71$), 3.68 (s, 3H), 3.70 (s, 6H), 4.68 (t, 1H, $J=7.80$), 6.45 (s, 2H), 6.65 (d, 1H, $J=8.05$), 6.77-6.86 (m, 2H).

δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 38.1, 39.5, 40.5, 55.8, 60.6, 63.3, 105.0, 115.8, 127.3, 127.9, 129.74, 129.9, 136.0, 139.3, 152.5, 152.7, 175.0.



Dati spettroscopici

δ_{H} (CDCl_3 , 200 MHz): 2.62 (t, 2H, $J=6.58$), 2.85-3.10 (m, 2H), 3.63 (t, 2H, $J=6.88$), 3.68 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 4.71 (t, 1H, $J=7.76$), 6.63-6.85 (m, 6H).

δ_{C} (CDCl_3 , 200 MHz): 38.1, 39.5, 39.7, 55.6, 55.7, 63.3, 111.1, 111.7, 116.0, 119.3, 127.83, 128.5, 129.9, 130.1, 135.9, 147.3, 148.6, 152.3, 175.2.

7 BIBLIOGRAFIA

- ¹ Grassi, G.; Bridwater, A.V. *Biomass for energy and environmental, agriculture and industry in Europe 1990*,—A strategy for the future. Commission of the European Communities
- ² Hermann, K. *Crit. Rev. Food Sci Nutr.* **1989**, 28, 315.
- ³ Seitz, L.M.; *J. Agr. Food Chem.* **1989**, 37, 662.
- ⁴ a) Borja, R.; Martin, A.; Alonso, V.; Garcia, I.; Banks, C. J. *Water Research* **1995**, 19, 489. b) Borja, R.; Alba, J. E.; Banks, C.J. *Proc. Biochem.* **1997**, 32, 121. c) Beccari, M.; Bonemazzi, F.; Magone, M.; Riccardi, C. *Water Res.* **1996**, 30, 183.
- ⁵ *Ital. J. Agron. / Riv. Agron.* **2006**, 1, 203
- ⁶ a) Thompson, L. U. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1994**, 34, 473. b) Jacobs, D. R. Jr.; Meyer, K. A.; Kushi, L. H.; Folsom, A. R. *Am. J. Clin. Nutr.* **1998**, 68, 248.
- ⁷ Meyer, K. A.; Kushi, L. H.; Jacob, D. R. Jr.; Slavin, J.; Sellers, T. A.; Folsom, A. R. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, 71, 921.
- ⁸ a) Jacobs, D. R.; Slavin, J.; Marquart, L. *Nutr. Cancer* **1995**, 22, 221. b) Nicodemus, K. K.; Jacobs, D. R. Jr.; Folsom, A. R. *Cancer Causes Control* **2001**, 12, 917.
- ⁹ Eberhardt, M. V.; Lee, C. Y.; Liu, R. H. *Nature* **2000**, 405, 903.
- ¹⁰ Duthie, S. J.; Ma, A.; Ross, M. A.; Collins, A. R. *Cancer Res.* **1996**, 56, 1291.
- ¹¹ Adom, K. K.; Liu, R. H. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 6182.
- ¹² Adom, K. K.; Sorrells, M. E.; Liu, R. H. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 7825.
- ¹³ Flagella, Z. *Ital. J. Agron. / Riv. Agron.* **2006**, 1, 203.
- ¹⁴ Pastore, D.; Trono, D.; Padalino, L.; Simone, S.; Valenti, D.; Di Fonzo, N.; Passerella, S. *J. Cereal Sci.* **2000**, 31, 41.
- ¹⁵ Vassilev, N.; Fenice, M.; Federici, F.; Azcon, R. *Proc. Biochem.* **1997**, 32, 617.
- ¹⁶ Petruccioli, G. *Agricoltura ed innovazione* **1989**, 11, 60.
- ¹⁷ Sayadi, S.; Ellouz, R. *Appl. Environ. Microbiol.* **1995**, 61, 1098.
- ¹⁸ Psomiadou, E.; Tsimidou, M. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 5132.
- ¹⁹ Pirisi, F. M.; Cabras, P.; Falqui Cao, C.; Migliorini, M.; Suggelli, M. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48(4), 1191.
- ²⁰ Amat di San Filippo, P.; Rinaldi, A.; Sanjust di Teulada, E.; Satta, G.; Viola, A. *Riv. Merceol.* **1986**, 25, 183.
- ²¹ a) Sanjust, E.; Pompei, R.; Rescigno, A.; Rinaldi, A.; Scrugli, S.; Ballero, M. *Mic. Ital.* **1994**, 2, 119. b) Raglione, M.; Bianchi, A. A.; De Simone, C.; Valeriani, V.; Campanelli, G.; Guiducci, M. *Agricoltura Ricerca* **1997**, 168, 31.
- ²² Fki, I.; Allouche, N.; Sayadi, S. *Food Chemistry* **2005**, 93, 197.
- ²³ a) Paredes, C.; Cegarra, J.; Roing, A.; Sànhz-Montedoro, M. A.; Bernal, M. P. *Biores. Technol.* **1999**, 67, 111. b) Levi-Minzi, R.; Saviozzi, A.; Riffaldi, R.; Falzo, L. *Olivae* **1992**, 40, 20. c) Klibanov, A. M.; Alberti, B. N.; Morris, E. D.; Felshin, M. N. *Appl. Bioc.*, **1980**, 2, 414.
- ²⁴ a) Joe, A.; Vinson, Y. H.; Su, X.; Zubik, L. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46, 3630. b) Haslam, E. *J. Nat. Prod. Reviews* **1996**, 59, 205.

-
- ²⁵ Garnett, E.; Jonsson, L. M.; Dighton, J.; Murnen, K. *Biol. Fertil Soils* **2004**, *40*, 421.
- ²⁶a) Skrzypczak-Pietraszek, E.; Szewczyk, A.; Piekoszewska, A.; Ekiert, H. *Acta Physiologiae Plantarum* **2005**, *27*, 79. b) Parejo, I.; Viladomat, F.; Bastida, J.; Codina, C.; *Phytochem. Anal.* **2001**, *12*, 336.
- ²⁷ Basile, A.; Ferrara, L.; Del Pezzo, M.; Mele, G.; Sorbo, S.; Bassi, P.; Montesano, D. *Journal of Ethnopharmacology* **2005**, *102*, 32.
- ²⁸a) Lehninger, A. L. *Principi di Biochimica* **1998**, *190*, 561. b) Walter, L.; Nogueira, V.; Leverve, X.; Heitz, M. P.; Bernardi, P.; Fontaine, E. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 29521. c) Bader, M. W.; Xie, T.; Yu, C. A.; Bardwell, J. C. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 26082. d) Georgellis, D.; Kwon, O.; Lin, E. C. *Science* **2001**, *292*, 2314. e) Kalen, A.; Norling, B.; Appelkvist, E. L.; Dallner, G. *Biochim. Biophys. Acta* **1987**, *926*, 70. f) Kagan, V. E.; Nohl, H.; Quinn, P. J. *Handbook of Antioxidants (Cadenas, E., and Packer, L., eds)* **1996**, *1*, 157. g) Marcel Decker Inc.; Gille, L.; Nohl, H. *Arch. Biochem. Biophys.* **2000**, *375*, 347. h) Santos-Ocaña, C.; Villalba, J. M.; Córdoba, F.; Padilla, S.; Crane, F. L.; Clarke, C. F.; Navas, P. *J. Bioenerg. Biomembr.* **1998**, *30*, 465. i) Sun, I. L.; Sun, E. E.; Crane, F. L.; Morré, D. J.; Lindgren, A.; Löw, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1992**, *89*, 11126.
- ²⁹ a) Yang, Y.-C.; Lee, H.-S.; Lee, S. H.; Clark, J. M.; Ahn, Y.-J. *International Journal for Parasitology* **2005**, *35* 1595. b) Park, I.-K.; Choi, K.-S.; Kim, D.-H.; Choi, I.-H.; Kim, L.-S.; Bak, W.-C.; Choi, J.-W.; Shin, S.-C. *Pest Manag Sci* **2006**, *62*, 723.
- ³⁰ Sreedhar, R. V.; Roohie, K.; Venkatachalam, L.; Narayan, M. S.; Bhagyalakshmi N. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 2947.
- ³¹ a) Klaas, G.; Nierop, J.; Timothy, R.; Filley *Organic Geochemistry* **2007**, *38*, 551. b) Mitra, A.; Mayer, M. J.; Mellon F. A.; Michael, A. J.; Narbad, A.; Parr, A. J.; Waldron, K. W.; Walton, N. J. *Planta* **2002**, *215*, 79. c) Lomascolo, A.; Stentelaire, C.; Asther, M.; Lesage-Meessen, L. *Trends in Biotechnology* **1999**, *17*(7), 282.
- ³² a) Belmares, R.; Contreras-Esquivel, J. C.; Rodríguez-Herrera, R.; Ramírez Coronel, Cristóbal, A.; Aguilar, N. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **2004**, *37*, 857. b) Clifford, M. N.; Stoupi, S.; Kuhnert N. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 2797. c) Pawlowska, A. M.; De Leo, M.; Braca, A. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 10234.
- ³³ Kahn, V.; Ben-Shalom, N.; Zakin, V. *Journal of Food Biochemistry* **2000**, *24*(1), 1.
- ³⁴ Christov, R.; Trusheva, B.; Popova, M.; Bankova, V.; Bertrand, M. *Natural Product Research* **2005**, *19*(7), 673.
- ³⁵ Valenciennes, E.; Smadja, J.; Conan, J.Y. *Journal of Ethnopharmacology* **1999**, *64*, 283.
- ³⁶a) Boskov Hansen, H.; Andreasen, M.; Nielsen, M.; Larsen, L.; Knudsen, B. K.; Meyer, A.; Christensen, L.; Hansen, Å. *Eur. Foo. Res. Technol.* **2002**, *214*, 33. b) Czyzowska, A.; Pogorzelski, E. *Eur. Food Res. Technol.* **2002**, *214*,148. c) Adom, K. K.; Liu, R. H. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 6182. d) Bryngelsson, S.; Dimberg, L. H.; Kamal-Eldin, A. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 1890. e) Rodriguez-Arcos, R. C.; Smith, A. C.; Waldron, K. W. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3197. f) Del Castillo, M. D.; Ames, J. M.; Gordon, M. H. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 3698. g) Tudela, J. A.; Cantos, E.; Espian, J. C.; Francisco, A.; Tomaa, S.; Barberaa, N.; Mariaa, I. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5925. h) Vallejo, F.; Francisco, A.; Tomaa, S.; Barberaa, N.; Garciaa-Viguera, C. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 3029.
- ³⁷ Garazd, M. M.; Garazd, Ya. L.; Ogorodniichuk, A. S.; Khilya, V. P. *Chemistry of Natural Compounds* **2002**, *38*(6).

-
- ³⁸ a) Babulaa, P.; Mikelova, R.; Potěšil, D.; Adamb, V.; Kizek, R.; Havel, L. *Biomed. Papers* **2005**, *149*(1). b) Zdeněk, S.; Wagner, H. *Pharmaceutische Biologie* **1993**.
- ³⁹ Girzu, M.; Fraisse, D.; Carnat, A. P.; Carnat, A.; Lamaison, J. L. *J. Chrom. A* **1998**, *805*, 315.
- ⁴⁰ a) Sultanbava, M. U. S. *Tetrahedron* **1980**, *36*, 1465. b) Mandal, S. P. C.; Joshi, P. C. *J. Indian Chem. Soc.* **1992**, *69*, 611. c) Qing-Li, W.; Sheng-Ping, W.; Li-Jun, D.; Jun-Shan, Y.; Pei-Gen, X. *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1395. d) Berardini, N.; Fezer, R.; Contrad, J.; Beifuss, U.; Carle, R.; Schieber, A. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 1563.
- ⁴¹ a) Speicher, A.; Scoenborn, R. *Phytochemistry* **1997**, *45*, 1613. b) Cantos, E.; Espin, J. C.; Fernandez, M. J.; Oliva, J.; Thomaas-Barberan N, F. A. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 1208.
- ⁴² a) Ueda, J.; Miyamoto, K.; Sato, T.; Momotani, Y. *Agric. Biol. Chem.* **1991**, *55*(1), 275. b) Ohta, Y.; Abe, S.; Komura, H.; Kobayashi, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 44801.
- ⁴³ a) Matsuda, H.; Morikawa, T.; Toguchida, I.; Park, J.-Y.; Harima, S.; Yoshikawa, M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2001**, *9*, 41. b) Song-Gang, J.; Yi-feng, C.; Yu-Tian, W.; Xue-Ping, Y.; Zhen-Bing, X.; Dongsheng, L.; Zi-ming, X.; Xiao, L. *Biomed. Chromatogr.* **1998**, *12*, 335.
- ⁴⁴ Dewick, P. M. *Medical Natural Products.-A biosynthetic approach* **1997**.
- ⁴⁵ a) Goh, S. H. *Journal of Natural Products* **1992**, *55*, 1415. b) Han, B.; Jaurequi, J.; Wei Tang, B.; Nimni, M. E. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* **2003**, *65A*(1), 118.
- ⁴⁶ Taiz, L.; Geiger, E. *Fisiologia Generale (Seconda edizione Piccin)* **2002**.
- ⁴⁷ Nawrath, C. *The Arabidopsis Book, American Society of Plant Biologists* **2002**.
- ⁴⁸ Cowan, M. M. *Clinical Microbiology Reviews* **1999**, *564*.
- ⁴⁹ Scalbert, A. *Phytochemistry, Oxford : Pergamon Press.* **1991**, *30*(12), 3875.
- ⁵⁰ a) Hearing, V. J.; Ekel, T. M. *Biochem. J.* **1976**, *157*, 549. b) Nordlund, J. J.; Boissy, R. E.; Hearing, V. J.; King, R. A.; Oetting, W. S.; Ortonne, J. P. *The pigmentary system-2^a edizione* **2006**.
- ⁵¹ Kahkonen, M. P.; Hopia, A. I.; Vuorela, H. J.; Rauha, J. P.; Pihlaja, K.; Kujala, T. S.; Heinonen, M. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 3954.
- ⁵² Shinohara, T.; Kubodera, S.; Yanagida, F. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2000**, *90*(1), 90.
- ⁵³ Urquiaga, I.; Leighton, F. *Biol. Res.* **2000**, *33*, 2.
- ⁵⁴ Harman, D. *Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry J Gerontol* **1956**, *11*(3), 298.
- ⁵⁵ Valko, M.; Morris, H.; Cronin, M. T. D. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 1161.
- ⁵⁶ Benzie, I. *Eur J Nutr.* **2000**, *39*(2), 53.
- ⁵⁷ a) Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. *Free Radic. Biol. Med.* **1995**, *18*(1), 125. b) Thomas, M. J. *Crit. Rev. Food Sci.* **1995**, *35*, 21. c) Wickens, A. P. *Aging and the free radical theory Respir Physiol.* **2001**, *128*, 379.
- ⁵⁸ Halliwell, B. *Free Radical Research* **1999**, *31*(4), 261.
- ⁵⁹ Stadmann, E. R. *Curr. Med. Chem.* **2004**, *11*, 1105.
- ⁶⁰ Cohen, J. H.; Kristal, A. R.; Stanford, J. L. *J. Nat. Cancer Inst.* **2000**, *92*, 61.
- ⁶¹ Stefek, M.; Kyselova, Z.; Rackova, L.; Krizanova, L. *Biochim. Biophys. Acta* **2005**, *1741*(1-2), 183.
- ⁶² a) Polidori, M. C.; Frei, B.; Cherubini, A.; Nelles, G.; Rordorf, G.; Keaney, J. F. Jr; Schwamm, L.; Mecocci, P.; Koroshetz, W. J.; Beal, M. F. *Free Radic. Biol. Med.* **1998**, *25*(4-5), 561. b) Rodrigo, J. T.; Fernandez, A. P.; Serrano, J.; Peinado, M. A.; Martinez, A. *Free Radic. Biol. Med.* **2005**, *39*(1), 26. c) Yang, T.; Devaraj, S.; Jialal, I. *Journal of Clinical Ligand Assay (Ed. Italiana)* **2001**, *24*, 13.

-
- ⁶³ McEwen, J. E.; Zimniak, P.; Mehta, J. L.; Reis, R. J. *Curr. Opin. Cardiol.* **2005**, *20*(5), 399.
- ⁶⁴ a) Linert, W.; Jameson, G. N. *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *79*(1-4), 319. b) Sudha, K.; Rao, A.; Rao, S.; Rao, A. *Neurol. India* **2003**, *51*(1), 60.
- ⁶⁵ Utsunomiya, H.; Komatsu, N.; Yoshimura, S.; Tsutsumi, Y.; Watanabe, K. *J. Histochem. Cytochem.* **1991**, *39*(9), 1167.
- ⁶⁶ Stryer, L. *Biochimica (IV ediz. Zanichelli)* **2001**.
- ⁶⁷ Robbins, *Le basi patologiche delle malattie (Ed. Piccin)* **2000**, 3.
- ⁶⁸ a) Halliwell, B. *Nutr. Rev.* **1997**, *55*, S44. b) Gawrieh, S.; Opana, E. C.; Koch, T. R. *J. Invest. Med.* **2004**, *52*, 506. c) Gaetke, L. M.; Chow, C. K. *Toxicology* **2003**, *189*, 147. d) Rice-Evans, C. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 797. e) Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G. *Free Rad. Biol. Med.* **1996**, *20*, 933. f) Rice-Evans, C. *Biochem. Soc. Symp.* **1995**, *61*, 103. g) Hu, J. P.; Calomme, M.; Lasure, A.; De Bruyne, T.; Pieters, L.; Vlietinck, A.; Van den Berge, D. A. *Biol. Trace Elem. Res.* **1995**, *47*, 327. h) Nijveldt, R. J.; van Nood, E.; van Hoorn, D. E.; Boelens, P. G.; van Norren, K.; van Leewen, P. A. *Am. J. Clin. Nutr.* **2001**, *74*, 418.
- ⁶⁹ Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jimenez, L. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *79*, 727.
- ⁷⁰ a) Huxley, R. R.; Neil, H. A. W. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2003**, *57*, 904. b) Hertog, M. G. L.; Hollman, P. C. H. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1996**, *50*, 63. c) Arts, I. C.; Hollman, P. C. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *81*(1), 317S. d) Sesso, H. D.; Gaziano, M.; Buring, J. E.; Hennekens, C. H. *Am. J. Epidemiol.* **1999**, *149*, 162. e) Yochum, L.; Kushi, L. H.; Meyer, K.; Folsom, A. R.; *Am. J. Epidemiol.* **1999**, *149*, 943. f) Hertog, M. G.; Bueno de Mesquita, H. B.; Fehily, A. M.; Sweetnam, P. M.; Elwood, P. C.; Kromhout, D. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **1996**, *5*, 673.
- ⁷¹ a) Bors, W.; Michel, C.; Stettmaier, K. *Methods-Enzymol.* **2001**, *335*, 166. b) Spencer, J. P. E.; Srail, S. K.; Rice-Evans, C. *Metabolism in the small intestine and gastrointestinal tract. In: Rice-Evans C, Parker L (Ed.). Flavonoids in health and disease* **2003**, 363.
- ⁷² a) Heijnen, C. G. M.; Haenen, G. R. M. M.; Oostveen, R. M.; Stalpers, E. M.; Bas, A. *Free Rad. Res.* **2002**, *36*, 575. b) Aviram, M.; Fuhrman, B. *Atherosclerosis* **1998**, *137*, 45. c) Masella, R.; Cantafora, A.; Modesti, D.; Cardilli, A.; Gennaro, L.; Bocca, A.; Coni, E. *Redox Report* **1999**, *4*, 113. d) Coni, E.; Di Benedetto, R.; Di Pasquale, M.; Masella, R.; Modesti, D.; Mattei, R.; Carlini, E. A. *Lipids* **2000**, *35*, 45. e) Masella, R.; Giovannini, C.; Vari, R.; Di Benedetto, R.; Coni, E.; Volpe, R.; Fraone, N.; Bucci, A. *Lipids* **2001**, *36*, 1195. f) Szeto, Y. T.; Benzie, I. F. F. *Free Rad. Res.* **2002**, *36*, 113.
- ⁷³ Luximon-Ramma, A.; Bahorun, T.; Soobratee, M.; Aruoma, O. I. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5042.
- ⁷⁴ Azzi, A.; Davies, K. J. A.; Kelly, F. *Free radical biology: terminology and critical thinking FEBS Lett.* **2004**, *558*, 3.
- ⁷⁵ Naasani, I.; Oh-Hashi, F.; Oh-Hara, T. *Cancer Res.* **2003**, *63*, 824.
- ⁷⁶ a) Laughton, M. J.; Evans, P. J.; Moroney, M. A.; Houlst, J. R. S.; Halliwell, B. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, *42*, 1673. b) O'Leary, K. A.; De Pascual-Tereasa, S.; Needs, P. W.; Bao, Y. P.; O'Brien, N. M.; Williamson, G. *Mutat. Res.* **2004**, *551*, 245. c) Hussain, T.; Gupta, S.; Adhami, V. M.; Mukhtar, H. *Int. J. Cancer* **2005**, *113*, 660.
- ⁷⁷ a) Schewe, T.; Sadik, C.; Klotz, L.O.; Yoshimoto, T.; Kuhn, H.; Sies, H. *Biol. Chem.* **2001**, *382*, 1687. b) Sadik, C. D.; Sies, H.; Schewe, T. *Biochem. Pharmacol.* **2003**, *65*, 773.

- ⁷⁸ Van Hoorn, D. E. C.; Nijveldt, R. J.; Van Leeuwen, P. A. M.; Hofman, Z.; M'Rabet, L.; De Bont, D. B.; Van Norren, K. *Eur. J. Pharmacol.* **2002**, *451*, 111.
- ⁷⁹ a) Isemura, M.; Saeki, K.; Minami, T.; Hayakawa, S.; Kimura, K.; Shoji, Y.; Sazuka, M.; Ann, N. Y. *Acad. Sci.* 1999, *878*, 629. b) Oak, M. H.; El Bedoui, J.; Anglard, P.; Schini-Kerth, V. B. *Circulation* **2004**, *110*, 1861.
- ⁸⁰ Actis-Goretta, L.; Ottavini, J. I.; Keen, C. L.; Fraga, C. G. *FEBS Lett.* **2003**, *555*, 597.
- ⁸¹ a) Agullo, G.; Gamet-Payrastre, L.; Manenti, S.; Viala, C.; Remesy, C.; Chap, H.; Payrastre, B. *Biochem. Pharmacol.* **1997**, *53*, 1649. b) Gamet-Payrastre, L.; Manenti, S.; Gratacap, M. P.; Tulliez, J.; Chap, H.; Peyrastre, B. *Gen. Pharmacol.* **1999**, *32*, 279.
- ⁸² a) Wiseman, S.; Mulder, T.; Rietveld, A. *Antiox. Redox Signal* **2001**, *3*, 1009. b) Kong, A.; Yu, R.; Chen, C.; Mandlekar, S.; Primiano, T. *Arch. Pharm. Res.* **2000**, *23*, 1. c) Spencer, J. P.; Rice-Evans, C.; Williams, R. J. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 34783.
- ⁸³ a) Rosenkranz, S.; Knirel, D.; Dietrich, H.; Flesch, M.; Erdmann, E.; Bohm, M. *FASEB J.* **2002**, *16*, 1958. b) Mueller, S.; Simon, S.; Chae, K.; Metzler, M.; Korach, K. S. *Toxicol. Sci.* **2004**, *80*, 14.
- ⁸⁴ a) Way, T. D.; Kao, M. C.; Lin, J. K. *FEBS Lett.* **2005**, *579*, 145. b) Monasterio, A.; Urdaci, M. C.; Pinchuk, I. V.; Lopez-Moratalla, N.; Martinez-Irujo, J. J. *Nutr. Cancer* **2004**, *50*, 90. c) Sergeev, I. N. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2004**, *321*, 462.
- ⁸⁵ Fischer, P. M.; Lane, D.P. *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 1213.
- ⁸⁶ Birt, D. F.; Hendrich, S.; Wang, W. *Pharmacol. Ther.* **2001**, *90*, 157.
- ⁸⁷ a) Aldini, G.; Carini, M.; Piccoli, A.; Rossoni, G.; Facino, R. M. *Life Science* **2003**, *73*, 2883. b) Wallerath, T.; Poleo, D.; Li, H.; Fostermann, U. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2003**, *41*, 471.
- ⁸⁸ Murphy, K. J.; Chronopoulos, A. K.; Singh, I.; Francis, M. A.; Moriarty, H.; Pike, M. J.; Turner, A. H.; Mann, N. J.; Sinclair, A. J. *Am. J. Clin. Nutr.* **2003**, *77*, 1466.
- ⁸⁹ Vera, J. C.; Reyes, A. M.; Cárcomo, J. G.; Velasquez, F. V.; Rivas, C. I.; Zhang, R. H.; Strobel, P.; Iribarren, R.; Scher, H. I.; Slebe, J. C. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 8719.
- ⁹⁰ So-Young, K.; Seok-Moon, J.; Sun-Jung, K.; Kyung-Im, J.; Eunju, P.; Hae-Ryong, P.; Seung-Cheol, L. *Biotechnol. Biochem.* **2006**, *70(4)*, 999.
- ⁹¹ Lambert, J. D.; Hong, J.; Yang, G.; Liao, J.; Yang, C. S. *Am. J. Clin. Nutr.* **2005**, *81*, 284S.
- ⁹² Valgimigli, L.; Banks, J. T.; Luszyk, L.; Ingold, K. U. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 3381.
- ⁹³ Amatori, R.; Ferrani, F.; Lucarini, M.; Pedulli, G. F.; Valgimigli, L. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9295.
- ⁹⁴ Grant, J. L.; Kramer, V. J.; Ding, R.; Kispert, L. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2151.
- ⁹⁵ Merenyi, G.; Lind, J.; Engman, L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1994**, *2*, 2551.
- ⁹⁶ a) Ebersson, L. *Electron Transfer Reactions in Organic Chemistry (Springer-Verlag Heidelberg)* **1987**. b) Marcus, R. A. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1964**, *15*, 155.
- ⁹⁷ Ingold, K. U. *Acc. Chem. Res.* **1969**, *2*, 1.
- ⁹⁸ Beckwith, A. L. J.; Bowry, V. W.; Ingold, K. U. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4983.
- ⁹⁹ Carloni, P.; Greci, L.; Stipa, P.; Ebersson, L. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4733.
- ¹⁰⁰ Berti, C.; Greci, L. *Atti del XII Convegno Nazionale di Chimica Organica, Università di Ancona* **1980**, 229.
- ¹⁰¹ Greci, L. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 2435.

-
- ¹⁰² Carloni, P.; Cardellini, L.; Greci, L.; Stipa, P.; Faucitano, A. *Gazz. Chim. Ital.* **1989**, *119*, 621.
- ¹⁰³ a) Berti, C.; Colonna, M.; Greci, L.; Marchetti, L. *Tetrahedron* **1977**, *32*, 3149. b) Berti, C.; Colonna, M.; Greci, L.; Marchetti, L. *Tetrahedron* **1977**, *33*, 2321.
- ¹⁰⁴ Damiani, E.; Greci, L.; Rizzoli, C. *J. Chem. Soc. Faraday Perkin Trans 2* **2001**, 1139.
- ¹⁰⁵ Antosiewicz, J.; Bertoli, E.; Damiani, E.; Greci, L.; Popinigis, J.; Przybylski, S.; Tanfani, F.; Wozniak, M. *Free Radic. Biol. Med.* **1993**, *99*, 11.
- ¹⁰⁶ a) Antosiewicz, J.; Popinigis, J.; Wozniak, M.; Damiani, E.; Carloni, P.; Greci, L. *Free Radic. Biol. Med.* **1995**, *18*, 913. b) Antosiewicz, J.; Damiani, E.; Jassem, W.; Wozniak, M.; Orena, M.; Greci, L. *Free Radic. Biol. Med.* **1997**, *22*, 249.
- ¹⁰⁷ Tanfani, F.; Carloni, P.; Damiani, E.; Greci, L.; Wozniak, M.; Kulawiak, D.; Jankowski, K.; Kaczor, J.; Matuskiewicz, A. *Free Radic. Res.* **1994**, *21*, 309.
- ¹⁰⁸ a) Damiani, E.; Carloni, P.; Biondi, C.; Greci, L. *Free Radic. Biol. Med.* **2000**, *28*, 809.
b) Damiani, E.; Castagna, R.; Greci, L. *Free Radic. Biol. Med.* **2002**, *33*, 128.
- ¹⁰⁹ a) Damiani, E.; Greci, L.; Parson, R.; Knowland, J. *Free Radic. Biol. Med.* **1999**, *26*, 809. b) Damiani, E.; Kalinska, B.; Canapa, A.; Canestrai, S.; Wozniak, M.; Olmo, E.; Greci, L. *Free Radic. Biol. Med.* **2000**, *28*, 1257.
- ¹¹⁰ Noguchi, N.; Damiani, E.; Greci, L.; Niki, E. *Chem. Phys. Lipids* **1999**, *99*, 1.
- ¹¹¹ Amorati, R.; Lucarini, M.; Mugnaini, V.; Peduli, G. F.; Minisci, F.; Recupero, F.; Fontana, F.; Astolfi, P.; Greci, L. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1747.
- ¹¹² Anastas, Paul, T.; Warner, J. C. *Green Chemistry Theory and Practice (Oxford University Press, New York)* **1998**.
- ¹¹³ Bernini, R.; Mincione, E.; Barontini, M.; Fabrizi, G.; Pasqualetti, M.; Tempesta, S. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 7733.
- ¹¹⁴ Bernini, R.; Mincione, E.; Barontini, M.; Crisante, F.; Fabrizi, G.; Gambacorta, A. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 6895.
- ¹¹⁵ Bernini, R.; Mincione, E.; Barontini, M.; Provengano, G.; Setti, L. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9663.
- ¹¹⁶ Bernini, R.; Mincione, E.; Barontini, M.; Crisante, F. **15/03/2007**, MI2007A000519.
- ¹¹⁷ Bernini, R.; Mincione, E.; Barontini, M.; Crisante, F. **31/05/2007**, MI2007A001110.
- ¹¹⁸ Bernini, R.; Mincione, E.; Crisante, F.; Barontini, M.; Fabrizi, G.; Gentili, P., *Tetrahedron Letters* **2007**, *48*, 7000.
- ¹¹⁹ Romao, C. C.; Kunh, F. E.; Herrmann, W. A. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 3197.
- ¹²⁰ Herrmann, W. A.; Fischer, R. W.; Marz, D. W. *Angew. Chem. (Int. Ed. Engl.)* **1991**, *30*, 1638.
- ¹²¹ Zhu, Z.; Espenson, J.H. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7728.
- ¹²² a) Adam, W.; Herrmann, W.A.; Lin, J.; Saha-Moller, C. R. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 8281. b) Adam, W.; Herrmann, W. A.; Lin, J.; Saha-Moller, C. R.; Fischer, R. W.; Corriera, J. D. G. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 3475. c) Adam, W.; Herrmann, W. A.; Lin, J.; Saha-Moller, C. R.; Shimizu, M. *J. Mol. Catal. A* **1995**, *97*, 15. d) Saladino, R.; Neri, V.; Mincione, E.; Marini, S.; Coletta, M.; Fiorucci, C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans* **2000**, *1*, 581.
- ¹²³ Abu-Omar, M. M.; Espenson, J. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 272.

- ¹²⁴ a) Zhu, Z.; Espenson, J. H. *Org. Chem.* **1995**, *60*, 1326. b) Murray, R. W.; Iyanar, K.; Chen, J.; Wearing, J. T. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 805. c) Goti, A.; Nannelli, L. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6025.
- ¹²⁵ a) Herrmann, W. A.; Fischer, R. W.; Corriera, J. D. G. *J. Mol. Catal.* **1994**, *94*, 213. b) Bernini, R.; Mincione, E.; Cortese, M.; Aliotta, G.; Saladino, R. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42/32*, 5401.
- ¹²⁶ a) Murray, R. W.; Iyanar, K.; Chen, J.; Wearing, J. T. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6415. b) Schuchart, U.; Mandelli, D.; Schul'pin, G. B. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6487.
- ¹²⁷ a) Bernini, R.; Mincione, E.; Provenzano, G.; Fabrizi, G. *Tetrahedron Letters* **2005**, *46*, 2993. b) Bernini, R.; Mincione, E.; Cortese, M.; Saladino, R.; Gualandi, G.; Belfiore, M. C. *Tetrahedron Letters* **2003**, *44*, 4823. c) Bernini, R.; Mincione, E.; Cortese, M.; Aliotta, G.; Oliva, A.; Saladino, R. *Tetrahedron Letters* **2001**, *42*, 5401. d) Saladino, R.; Fiani, C.; Crestini, C.; Argyropoulos, D. S.; Marini, S.; Coletta, M. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 39. e) Crestini, C.; Caponi, M. C.; Argyropoulos, D. M.; Saladino, R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2006**, *14*, 5292. f) Saladino, R.; Fiani, C.; Belfiore, M. C.; Gualandi, G.; Penna, S.; Mosesso, P. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, *13*, 5949. g) Crestini, C.; Pro, P.; Neri, V.; Saladino, R. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, *13*, 2569. h) Lazzaro, F.; Crucianelli, M.; De Angelis, F.; Neri, V.; Saladino, R. *Tetrahedron Letters* **2004**, *45*, 9237. i) Saladino, R.; Neri, V.; Pelliccia, A. R.; Mincione, E. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 7403. l) Saladino, R.; Neri, V.; Mincione, E.; Filippone, P. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8493.
- ¹²⁸ (a) Herrmann, W. A.; Fischer, R. W.; Scherer, W.; Rauch, M. U. *Angew. Chem. (Int. Ed. Engl.)* **1993**, *32*, 1157. (b) Wang, W. D.; Espenson, J. H. *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 5069. c) Owens, G. S.; Abu-Omar, G. S. *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2002**, *187*, 215.
- ¹²⁹ Davis, J. H.; Fox, P. A. *Chem. Comm.* **2003**, *11*, 1209.
- ¹³⁰ Reichard, C. *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 2319.
- ¹³¹ Seddon, K. R.; Stark, A.; Torres, M. J. *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 2275.
- ¹³² a) Olivier-Bourbigou, H.; Magna, L. *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2002**, *182*, 419. b) Gordon, C. M. *Appl. Catal. A. Gen.* **2001**, *222*, 101.
- ¹³³ a) Earle, M. J.; Mc Cormac, P. B.; Seddon, K. R. *Green Chem.* **1999**, *1*, 23. b) Fisher, T.; Sethy, A.; Welton, T.; Woolf, J. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 793. c) Lee, C. W. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2461.
- ¹³⁴ a) Boon, J. A.; Levisky, J. A.; Pflug, J. L.; Wilkes, J. S. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 480. b) Adams, C. J.; Earle, M. J.; Roberts, G.; Seddon, K. R. *Chem. Commun.* **1998**, 2097. c) Csihony, S.; Mehdi, H.; Horvath, I. T. *Green Chem.* **2001**, *3*, 307.
- ¹³⁵ Deng, Y.; Shi, F.; Beng, J.; Qiao, K. *J. Mol. Catal. A. Chem.* **2001**, *165*, 33.
- ¹³⁶ Earle, M. J.; Mc Cormac, P. B.; Seddon, K. R. *Chem. Commun.* **1998**, 2245.
- ¹³⁷ Chiappe, C.; Capraio, D.; Conte, V.; Pieraccini, D. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1061.
- ¹³⁸ Howarth, J.; James, P.; Ryan, R. *Synth. Commun.* **2001**, *31*, 2935.
- ¹³⁹ Peng, J.; Deng, Y. *Chem. Abstr.* **2002**, *136*, 218602.
- ¹⁴⁰ a) Romano, U.; Rivetti, F.; Di Muzio, N. *U.S. Patent* 4,318,862,1981, C.A. 80141 **1979**. (b) Delledonne, D.; Rivetti, F.; Romano, U. *J. Organomet. Chem.* **1995**, *448*, 15.
- ¹⁴¹ Tundo, P. *Pure Appl. Chem.* **2001**, *73*, 1117. b) Memoli, S.; Selva, M.; Tundo, P. *Chemosphere* **2001**, *43*, 115. c) Tundo, P.; Perosa, A. *Chem. Rec.* **2002**, *2*, 13.

- ¹⁴² a) Memoli, S.; Selva, M.; Tundo, P. *Chemosphere* **2001**, *43*, 115. b) Tundo, P.; Selva, M. *Acc. Chem. Res.* **2002**, *35*, 706. c) Tundo, P.; Memoli, S.; Herault, D.; Hill, K. *Green Chem.* **2004**, *6*, 609. d) Tundo, P.; Rossi, L.; Loris, A. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2219. e) Bonino, F.; Damin, A.; Bordiga, S.; Selva, M.; Tundo, P.; Zecchina, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4774.
- ¹⁴³ Tundo, P. *Continuous Flow Method in Organic Synthesis* (E. Horwood: Chichester, UK) **1991**, *4*, 190.
- ¹⁴⁴ Delledonne, D.; Rivetti, F. *J. Organomet. Chem.* **1995**, *448*, 15.
- ¹⁴⁵ Yoshio, O. *Catalysis Today* **1997**, *35*, 15.
- ¹⁴⁶ a) Itoh, S.; Ogino, M.; Haranou, S.; Terasaka, T.; Ando, T.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y.; Fukuzumi, S.; Kano, K.; Takagi, K.; Ideka, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1485. b) Cherkaoui, O.; Nebois, P.; Fillion, H.; Domard, M.; Fenet, B. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 9499. c) Brimble, M. A.; Duncalf, L. J.; Phytion, S. J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans* **1997**, *1*, 1399. d) McKillop, A.; Perry, D. H.; Edwards, M.; Antus, S.; Farkas, L.; Nogrady, M.; Taylor, E. C. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 282. e) Kato, N.; Sugaya, T.; Mimura, T.; Ikuta, M.; Kato, S.; Kuge, Y.; Tomioka, S.; Kasai, M. *Synthesis* **1997**, 625. f) Tohma, H.; Morioka, H.; Harayama, Y.; Hashizume, M.; Kita, T. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6899. g) Land, T. *Comprehensive Organic Chemistry* (Stoddart, J. F., Ed.; Pergamon: Oxford) **1979**, *1*, 1216.
- ¹⁴⁷ Mostaghim, R.; Ahmadibeni, Y. *Acta Chimica Slovenica* **2003**, *50*, 569.
- ¹⁴⁸ Kholdeeva, O. A.; Trukhan, N. N.; Parmon, V. N.; Yarzhebskii, A.; Mrovets Belon, U. RU 2196764 **2003**.
- ¹⁴⁹ a) Dewkar, G. K.; Shaikh, T. M.; Pardhy, S.; Kulkarni, S. S.; Sudalai, A. *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* **2005**, *44B*, 1530. b) Dewkar, G. K.; Thakur, V. V.; Pardhy, S. A.; Sudalai, A.; Devolta, S. US 6872857 **2005**.
- ¹⁵⁰ Mohapatra, S. K.; Hussain, F.; Selvam, P. *Catalysis Comm.* **2003**, 57.
- ¹⁵¹ Isawa, S.; Fakhrudin, A.; Widagdo, H. S.; Nishiyama, H. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2005**, *347*, 517.
- ¹⁵² Owsik, I.; Kolarz, B. *J. Mol. Catal. A. Chemical* **2002**, *178*, 63.
- ¹⁵³ Saladino, R.; Neri, V.; Mincione, E.; Marini, S.; Coletta, M.; Fiorucci, C.; Filippine, P. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2000**, *1*, 581.
- ¹⁵⁴ Bernini, R.; Coratti, A.; Fabrizi, G.; Goggiamani, A. *Tetrahedron Letters* **2003**, *44*(50), 8991.
- ¹⁵⁵ Owens, G. S.; Abu-Omar, M. M. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* **2002**, *187*, 215.
- ¹⁵⁶ Mahdi, M.; Abu-Omar and J. H. Espenson *Organometallics* **1996**, *15*, 3543-3549
- ¹⁵⁷ Adam, W.; Herrmann, W. A.; Lin, J.; Saha-Moller, C. R. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 8281.
- ¹⁵⁸ Obol'nikova, E.A.; Volkova, O.I.; Samokhvalov, G. I. *Zh. Obshch. Khim.* **1968**, *38*, 453.
- ¹⁵⁹ a) Schudel, P.; Mayer, H.; Isler, O. *The Vitamins* (Sebrell W. H., Harris, R. S. Eds.) **1972**, *5*, 165. b) Yamada, S.; Takeshita, T.; Tanaka, J. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **1982**, *40*, 268
- ¹⁶⁰ a) Fung, F.; Clark, R. F. *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology* **2005**, *42*(2), 217. b) Bohra, N. K.; Purohit, D. K. *Journal of Environmental Biology* **2003**, *24*(3), 213. c) Bennet, J. W.; Klich, M. *Clinical Microbiology Reviews* **2003**, *16*(3), 497.
- ¹⁶¹ a) Heeres, J.; Backx, L. J. J.; Mostmans, J. H.; Van Cutsem, J. *Journal of Medicinal Chemistry*, **1979**, *22*(8), 1003. b) Hong, M.; Yu, C. Y. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **1998**, *42*, 253.
- ¹⁶² Rudolph, J.; Reddy, K. L.; Chiang, J. P.; Sharpless, K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6189.
- ¹⁶³ Coperet, C.; Adolffosson, H.; Sharpless, K. B. *Chem. Commun.* **1997**, 1565.

- ¹⁶⁴ a) Herrmann, W. A.; Kratzer, R. M.; Ding, H.; Thiel, W. R.; Glas, H. *J. Organomet. Chem.* **1998**, 555, 293. b) Da Palma Carreiro, E.; Burke, A. J.; Curto, M. J. M.; Teixeira, A. J. R. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2004**, 217, 69.
- ¹⁶⁵ Owens, G. S.; Abu-Omar, M. M. *Chem. Commun.* **2000**, 1165.
- ¹⁶⁶ a) Adam, W.; Herrmann, W. A.; Lin, J.; Saha-Moller, C. R.; Fischer, R. W.; Correia, J. D. G. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 2475. b) Jacob, J.; Espenson, J. H. *Inorg. Chim. Acta* **1998**, 270, 55.
- ¹⁶⁷ Herrmann, W. A.; Haider, J. J.; Fischer, R. W. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1999**, 138, 115.
- ¹⁶⁸ Murray, R. W.; Iyanar, K.; Chen, J.; Wearing, J. T. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 6415.
- ¹⁶⁹ Adam, W.; Mitchell, C. M.; Saha-Moller, C. R. *Tetrahedron* **1994**, 50, 13121.
- ¹⁷⁰ Bernini, R.; Coratti, A.; Provengano, G.; Fabrizi, G.; Tofani, D. *Tetrahedron* **2005**, 61, 1821.
- ¹⁷¹ Herrmann, W. A.; Fischer, R. W.; Correia, J. D. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1994**, 94, 213.
- ¹⁷² a) Ames, J. M.; Macleod, G. *Phytochemistry* **1990**, 29, 1201. b) Das, B.; Kashinatham, A.; Srinivas, K. V. N. S. *Planta Med.* **1996**, 62, 582. c) Lasekan, O. O.; Teixeira, J. P. F.; Salva, T. *J. Food Chem.* **2001**, 75, 333.
- ¹⁷³ Wang, H.; Race, E. J.; Shrikhande, A. J. *J. Agr. Food Chem.* **2003**, 51, 7989.
- ¹⁷⁴ POzo-Bayon, M. A.; Monagas, M.; Polo, M. C.; Gomez-Cordoves, C. *J. Agr. Food Chem.* **2004**, 52, 1300.
- ¹⁷⁵ Steffen, A. *Perfume and Flavour Chemicals, Aroma Chemicals (Ed.: Allured:Montclair)* **1994**, Vols. I, II.
- ¹⁷⁶ a) Stuart, R. R.; Colette, S. M.; David, J. L. *Bioorg. Med. Chem.* **1994**, 2, 553. b) Michel, C. B.; Adriano, L. M.; Igor, T. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1999**, 143, 131. c) Namboodiri, V. V.; Varma, R. S.; Sahle-Demessie, E.; Pillai, U. R. *Green Chem.* **2002**, 4, 170. (d) Aslam, S. N.; Stevenson, P. C.; Phythian, S. J.; Veitch, N. C.; Hall, D. R. *Tetrahedron* **2006**, 62, 4214.
- ¹⁷⁷ a) Lee, S. M.; Frechet, J. M. J.; Willson, C. G. *Macromolecules* **1994**, 27, 5154. b) Atsushi, T.; Atsushi, M.; Takeo, K.; Yoshinobu, I. *React. Funct. Polym.* **1998**, 37, 39.
- ¹⁷⁸ Ayer, W. A.; Muir, D. J.; Chakravarty, P. *Phytochemistry* **1996**, 42, 1321.
- ¹⁷⁹ Koizumi, S.; Matsushima, Y.; Nagatsu, T.; Inuma, H. *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, 789, 111.
- ¹⁸⁰ a) Koski, A.; Pekkarinen, S.; Hopia, A.; Wahala, K.; Heinonen, M. *Eur. Food Technol.* **2003**, 217, 110. b) Kuwahara, H.; Kanazawa, A.; Wakamatu, D.; Morimura, S.; Kida, K.; Akaide, T.; Maeda, H. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 4380. c) Vuorela, S.; Meyer, A. S.; Heinonen, M. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 8202. d) Fujioka, K.; Shibamoto, T. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 6054.
- ¹⁸¹ a) Simpson, C. J.; Fitzhenry, M. J.; Stamford, N. P. *J. Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 6893. b) Pittet, A. O.; Muralidhara, R. **1982**, U.S. Patent 4,316,995.
- ¹⁸² a) Sinha, A. K.; Sharma, A.; Joshi, B. P. *Tetrahedron* **2007**, 63, 960. b) Sinha, A. K.; Joshi, B. P.; Sharma, A. **2004**, U.S. Patent US2004118673 A1.
- ¹⁸³ a) Hernanz, D.; Nunez, V.; Sancho, A. I.; Faulds, C. B.; Williamson, G.; Bartolome, B.; Gomez-Cordoves, C. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, 49, 4884. b) Bartolome, B.; Gomez-Cordoves, C. *J. Sci. Food Agric.* **1999**, 79, 435.
- ¹⁸⁴ Kim, K.-H.; Tsao, R.; Yang, R.; Cui, S. W. *Food Chem.* **2006**, 95, 466.
- ¹⁸⁵ Pedrosa, M. M.; Muzquiz, M.; Garcia-Vallejo, C.; Burbano, C.; Cuadrado, C.; Ayet, G.; Robredo, L. M. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, 80, 459.
- ¹⁸⁶ a) Gramatica, P.; Ranzi, B. M.; Manitto, P. *Bioorg. Chem.* **1981**, 10, 14; b) Coghe, S.; Benoot, K.; Delvaux, F.; Vanderhaegen, B.; Delvaux, F. R. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 602.

-
- ¹⁸⁷ Huang, Z.; Dostal, L.; Rosazza, J. P. N. *Appl. Environ. Microbiol.* **1993**, *59*, 2244.
- ¹⁸⁸ Lee, I.-Y.; Voltm, T. G.; Rosazza, J. P. N. *Enzyme Microb. Technol.* **1998**, *23*, 261.
- ¹⁸⁹ a) Takemoto, M.; Achiwa, K. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6595. b) Takemoto, M.; Achiwa, K. *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, *49*, 639.
- ¹⁹⁰ a) Johnson, W. S.; Heinz, W. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 2913. b) Zajac, W. W.; Nowicki, R. B. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 2712. c) Kunitsky, K.; Shah, M. C.; Shuey, S. W., Trost, B. M.; Wagman, M. E. **2005**, U.S. Patent US2005228191 A1.
- ¹⁹¹ Nomura, E.; Hosoda, A.; Mori, H.; Taniguchi, H. *Green Chem.* **2005**, *7*, 863.
- ¹⁹² Collin, R. E.; *Foundations for Microwave Engineering* (Second Edition, Donald G. Dudley, Series Editor) **2001**.
- ¹⁹³ Sakamoto, K.; Nishiyama, E.; Aikawa, M. *Electronics and Communications in Japan* **2005**, *1(88)*, 11.
- ¹⁹⁴ a) Loupy, A.; Petit, A.; Hamelin, J.; Texier-Boullet, F.; Jacquault, P.; Mathe', D. *Synthesis* **1998**, 1213. b) Varma, R. S. *Green Chem.* **1999**, 43. c) Kidwai, M. *Pure Appl. Chem.* **2001**, *73*, 147. d) Varma, R. S. *Pure Appl. Chem.* **2001**, *73*, 193. e) Varma, R. S. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 1235.
- ¹⁹⁵ Gabriel, C.; Gabriel, S.; Grant, E. H.; Halstead, B. S. J.; Michael, D.; Mingos, P. *Chemical Society Reviews*, **1998**, 27.
- ¹⁹⁶ Tanaka, K. *Solvent-free Organic Synthesis* (Ed.; Wiley-VCH: Weinheim) **2003**.
- ¹⁹⁷ a) Johrit, G. K.; Roberts, J. A. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 7386. b) Shahidi, M.; Hasted, J. B.; Jonscher, A. K. *Nature* **1975**, *258*, 595.
- ¹⁹⁸ a) Gedye, R.; Smith, F.; Westaway, K.; Ali, H.; Baldisera, L.; Laberge, L.; Rousell, J. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 279. b) Giguere, J.; Bray, T. L.; Duncan, S. M.; Majetich, G. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4945.
- ¹⁹⁹ a) Lidstrom, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 9225. b) Kappe, C. O. *Angew. Chem. Int. Ed. Reviews* **2004**, *43*, 6250.
- ²⁰⁰ Servili, M.; Selvaggini, R.; Esposto, S.; Taticchi, A.; Montedoro, G. F.; Morozzi, G. *Journal of Chromatography A*, **2004**, *113*, 1054.
- ²⁰¹ a) Nomura, E.; Hosoda, A.; Morishita, H.; Murakami, A.; Koshimizu, K.; Ohigashi, H.; Taniguchi, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1069. b) Hosoda, A.; Nomura, E.; Murakami, A.; Koshimizu, K.; Ohigashi, H.; Mizuno, K.; Taniguchi, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1855. c) Taniguchi, H.; Nomura, E.; Hosoda, A.; Fujioka, T.; Kanzaki, H.; Nishioka, S.; Tsuji, K.; Tsuno, T.; Kariya, **2001**, T. *Jpn Pat* JP2001-226431.
- ²⁰² Lidstrom, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 9225.
- ²⁰³ a) Cohen, L. A.; Jones, W. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 1907. b) Nomura, E.; Hosoda, A.; Mori, H.; Taniguchi, H. *Green Chem.* **2005**, *7*, 863.
- ²⁰⁴ Torregiani, E.; Seu, G.; Minassi, A.; Appendino, G. *Tetrahedron Letters*, **2005**, *46*, 2193.
- ²⁰⁵ Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. *Lebensm. Wiss. Technol.* **1995**, *28*, 25.
- ²⁰⁶ a) Malm, C. J.; Genung, L. B.; Williams, R.F. *J. Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, **1942**. b) Verley, A.; Bolsing, F. *Ber.* **1901**, *34*, 3354.
- ²⁰⁷ Torregiani, E.; Seu, G.; Minassi, A.; Appendino, G. *Tetrahedron Letters*, **2005**, *46* 2193.

-
- ²⁰⁸ a) M. H. Gordon, F. Paiva-Martins, and M. Almeida *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2480. b) G.J.H. Buisman, C.T.W. van Helteren, G.F.H. Kramer, J.W. Veldsink, J.T.P. Derksen and F.P. Cuperus *Biotechnology Letters*, **1998** *20*, 2,131
- ²⁰⁹ a) Iinuma, M.; Tanaka, T.; Mizuno, M.; Katsuzaki, T.; Ogawa, H. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 1813. b) Hsu, F.-L.; Nonaka, G.-I.; Nishioka, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 3142.
- ²¹⁰ Takechi, M.; Tanaka, Y.; Takehara, M.; Nonaka, G.-I. Nishioka, I. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 2245.
- ²¹¹ Tillekeratne, L. M. V.; Sherette, A.; Grossman, P.; Hupe, L.; Hupe, D.; Hudson, R. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2763.
- ²¹² a) Fillion, E.; Dumas, A. M.; Kuropatwa, B. A.; Malhotra N. R.; Sitler T. C. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 409. b) Barluenga, J.; Andina, F.; Aznar, F. *Organic Letters* **2006**, *8*, 2703. c) Oyamada, J.; Kitamura, T.; *Tetrahedron* **2006**, *62*, 6918. d) Roelens, F.; Huvaere, K.; Dhooge, W.; Van Cleemput, M.; Comhaire, F.; De Keukeleire, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1042. e) Li, K.; Foresee, L. N.; Tunge, J. A.; *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 2881.
- ²¹³ a) Ragazzi; Veronese *Riv. Ital. Sostanze Grasse* **1973**, *50*, 443. b) Chimi, H.; Cillard, J.; Cillard, P.; Rahmani, M. *JAACS* **1991**, *68*, 5. c) Montedoro, G.; Servili, M.; Baldioli, M.; Miniati, E.; *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 1571. d) Angerosa, F.; D'Alessandro, N.; Konstantinou, P.; Di Giacini, L. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 1802.
- ²¹⁴ a) Vazequez, R. A.; Maestro, D. R.; Graciani, C. E.; *Grasas Aceites* **1974**, *25*, 341. b) Capasso, R.; Cristinzio, G.; Evidente, A.; Scognamiglio, F. *Phytochemistry* **1992**, *12*, 4125.
- ²¹⁵ a) Assmann, G.; DeBasker, G.; Bagnara, S.; *Europ. J. Cancer Prev.* **1997**, *6*, 418. b) Gonzalez, M.; Zarzuelo, A.; Gamez, M. J.; Utrilla, M. P.; Jimenez, J.; Osuna I. *Planta Med.* **1992**, *58*(6), 513. c) Cherif, S.; Rahal, N.; Haouala, M.; Hizaoui, B.; Dargouth, F.; Gueddiche, M.; Kallel, Z.; Balansard, G.; Boukef, K. *J. Pharm. Belg.* **1996**, *51*(2), 69.
- ²¹⁶ a) Aziz, N. H.; Farag, S. E.; Mousa, L. A.; Abo-Zaid, M. A. *Microbios.* **1998**; *93*(374), 43. b) Fleming, H. P.; Walter, W. M. Jr.; Etchells, J. L. *Appl. Microbiol.* **1973**, *26*(5), 777.
- ²¹⁷ a) Visioli; Galli; *Nutr. Metabol. Cardiovasc. Dis.* **1995**, *5*, 306. b) Okezie, I.; Aruoma, M. D.; Jenner, A.; Halliwell, B.; Kaur, H.; Banni, S.; Corongiu, F. P.; Dessi, M. A.; Aeschbach, R. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 5181. c) Manna, C.; Galletti, P.; Cucciolla, V.; Montedoro, G.; Zappia, V. *J. Nutr. Biochem.* **1999**, *10*, 159. d) Della Ragione, F.; Cucciolla, V.; Borriello, A.; Della Pietra, V.; Pontoni, G.; Racioppi, L.; Manna, C.; Zappia, V. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2000**, *278*, 733. e) Visioli, F.; Galli, C.; Plasmati, E.; Viappiani, S.; Hernandez, A.; Colombo, C.; Sala, A. *Circulation* **2000**, *102*, 2169. f) Gordon, M. H.; Paiva-Martins, F.; Almeida, M.; *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2480.
- ²¹⁸ Fabiani, R.; De Bartolomeo, A.; Rosignoli, P.; Servili, M.; Montedoro, G. F.; Morozzi, G. *European Journal of Cancer Prevention* **2002**, *11*(4), 351.
- ²¹⁹ a) Owen, R. W.; Haubner, R.; Wurtele, G.; Hull, E.; Spiegelhalder, B.; Bartsch, H. *Eur. J. Cancer Prev.* **2004**, *13*(4), 319. b) D'Angelo, S.; Ingrosso, D.; Migliardi, V.; Sorrentino, A.; Donnarumma, G.; Baroni, A.; Masella, L.; Tufano, M. A.; Zappia, M.; Galletti, P.; *Free Radical Biology & Medicine* **2005**, *38*, 908.
- ²²⁰ Crea, R. US00616547, **2000**, 1.

-
- ²²¹ Capasso, R.; Evidente, A.; Visca, C.; Gianfreda, L.; Maremonti, M.; Greco, G. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **1996**, *60*, 365.
- ²²² Montedoro, G. F.; Servili, M.; Baldioli, M.; Miniati, E. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 1571.
- ²²³ a) Ragazzi; *Veronese Riv. Ital. Sostanze Grasse* **1973**, *50*, 443. b) Capasso, R.; Evidente, A.; Visca, C. *Agrochimica* **1994**, *38*, 165. c) Capasso, R.; Evidente, A.; Avolio, S.; Solla, F. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 1745. d) Visioli; Galli *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 4292. e) Allouche, N.; Fki, I.; Sayadi, S. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 267. f) Villanova, L.; Villanova, L.; Fastello, G.; Merendino, A.; Lachifarma S.r.l. **2006**, EP1623960.
- ²²⁴ Schopf, C.; Gottmann, G.; Meisel, E. M.; Neuroth, L. *Liebigs Ann. Chem.* **1949**, 563, 86.
- ²²⁵ Baraldi, P. G.; Simoni, D.; Manfredini, F.; Menziani, E. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 684.
- ²²⁶ Verhe, R.; Papadopoulos, G.; Boskou, D. *Bull. Liaison-Groupe Polyphenols* **1992**, *16*, 237.
- ²²⁷ Kellie, L.; Tuck, Hai-Wei, T.; Hayball, P. J.; *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4087.
- ²²⁸ Garcia, P.; Romero, C.; Brenes, M.; Garrido, A. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 2101.
- ²²⁹ Gambacorta, A.; Tofani, D.; Bernini, R.; Migliorini, A. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 3386.
- ²³⁰ Espin, J.C.; Soler-Rivas, C.; Cantos, E.; Tomas-Barberan, F. A.; Wichers, H. J. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 1187.
- ²³¹ Bovicelli, P.; Antonioletti, R.; Mancini, S.; Causio, S.; Borioni, G.; Ammendola, S.; Barontini, M. *Synthetic Communications* **2007**, *37*(23).
- ²³² Rice-Evans, C. A.; Miller, N. J.; Paganga, G.; *Free Rad. Biol. Med.* **1996**, *7*, 933.
- ²³³ Gordon, M. H.; Paiva-Martins, F.; Almeida, M. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2480.
- ²³⁴ Alcludia, F.; Cert, R.; Espartero, L. J.; Mateos, R.; Trujillo Perez-Lanzac, M. **2004**, WO 2004/005237.
- ²³⁵ Trujillo, M.; Mateos, R.; Collantes De Teran, L.; Espartero, J. L.; Cert, R.; Jover, M.; Alcludia, F.; Bautista, J.; Cert, A.; Parrado, J. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 3779.
- ²³⁶ Ladziata, U.; Zhdankin, V. V. *Arkivoc* **2006**, *IX*, 26.
- ²³⁷ Hartman, C.; Mayer, V. *Chem. Ber.* **1893**, *26*, 1727.
- ²³⁸ Dess, D. B.; Martin, J. C. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155.
- ²³⁹ Frigerio, M.; Santagostino, M.; Sputore, S. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4537.
- ²⁴⁰ a) Wirth, T.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3656. b) Nicolaou, K. C.; Baran, P. S.; Zhong, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3183. c) Nicolaou, K. C.; Montagnon, T.; Baran, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*(6), 993.
- ²⁴¹ Magdziak, D.; Rodriguez, A. A.; Van De Water, R. W.; Pettus, T. R. R. *Organic Letters* **2002**, *4*(2), 285.
- ²⁴² Ozanne, A.; Pouysègu, L.; Depernet, D.; Francois, B.; Quideau, S. *Organic Letters* **2003**, *5*(16), 2903.
- ²⁴³ a) Pezzella, A.; Lista, L.; Napoletano, A.; D'Ischia, M. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3541. b) Saeed, M.; Zahid, M.; Rogan, E.; Cavalieri, E. *Steroids* **2005**, *70*, 173.
- ²⁴⁴ a) Luying, W.; Jiding, L.; Yangzheng, L.; Cuixian, C. *Journal of Membrane Science* **2007**, *305*, 238. b) Tundo, P.; Memoli, S.; Herault, D.; Hill, K. *Green Chem.* **2004**, *6*, 609.