



ALBERTO MASSIMI
DAVIDE SALAFFI
SARA LUSIGNANI

Corso Chimici H_2 

aa.ss. 2007/08

SINTESI DI UN AROMA CARATTERISTICO DEL FUNGO PORCINO SECCO



In collaborazione con

l'ASSOCIAZIONE MICOLOGICA FIDENTINA



SOMMARIO

SCOPO	4
INTRODUZIONE	4
Generalità.....	4
Pirolisi.....	4
Distillazione frazionata a bassa pressione.....	7
Alchilazione sull'azoto pirrolico	7
Caratteristiche chimico fisiche generali del pirrolo	7
Acidità del pirrolo.....	8
Catalisi a trasferimento di fase	8
Cenni di tecniche preparative e per la caratterizzazione.....	9
Cromatografia su strato sottile (T.L.C)	9
Cromatografia su colonna	9
Spettrofotometria I.R.	9
Spettrometria di massa	10
Risonanza Magnetica Nucleare (NMR).....	10
I sensori e la chimica supramolecolare	11
PARTE SPERIMENTALE.....	12
SINTESI DI 1-(2-FENILETIL)PIRROLO	12
Codice sintesi: 1a.....	12
step 1	12
step 2a	13
Caratterizzazione IR.....	13
Caratterizzazione ESI-MS.....	15
Caratterizzazione NMR (300 MHz).....	16

H-NMR	16
C-NMR.....	18
step 2b	18
Codice sintesi: 1b	19
step 1	19
Codice sintesi: 2a.....	20
step 1	20
Codice sintesi: 2b	20
step 1	20
Codice sintesi: 2c.....	21
step 1	21
Caratterizzazione GC-MS.....	22
DISCUSSIONE DEI RISULTATI	27
BIBLIOGRAFIA	27

SCOPO

Da molto tempo il nostro Istituto ed in particolare il Corso Chimici collabora con l'Associazione Micologica Fidentina per la divulgazione e la ricerca in campo micologico. In accordo con il Comitato Scientifico dell'associazione, visti i precedenti risultati ottenuti nei nostri laboratori sull'argomento, si è deciso di intraprendere una via sintetica per l'ottenimento di un aroma caratteristico del fungo porcino. Un risultato positivo porterebbe ad ampliare la documentazione relativa al riconoscimento di markers specifici anche in relazione alla zona di provenienza con evidenti risvolti sulla tutela di prodotto. Ancora si potrebbe pensare di intraprendere uno studio per la realizzazione di un sensore specifico a livello molecolare per scopi di controllo sulle possibili frodi alimentari a tutela del consumatore. Per verificare l'attendibilità dell'ipotesi che il prodotto sintetizzato sia realmente un aroma del fungo porcino lo si sottopone ad esame olfattivo "in cieco" agli esperti micologi e raccoglitori dell'Associazione Micologica Fidentina.

INTRODUZIONE

Generalità

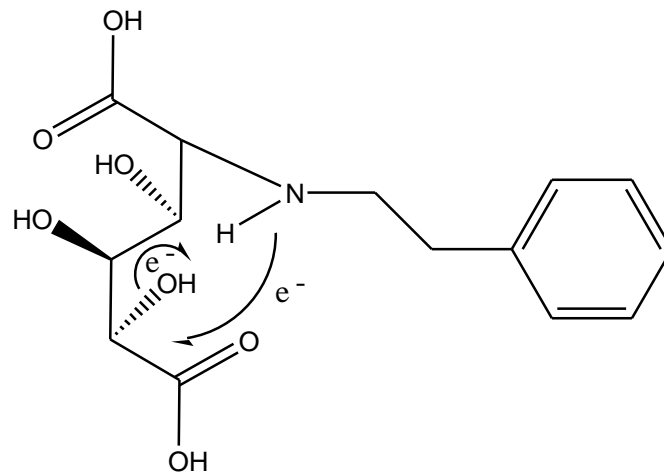
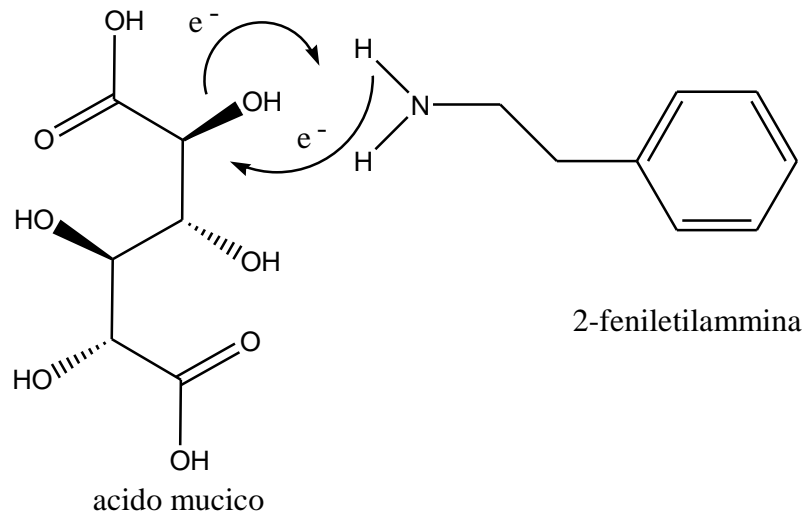
Un aroma è la caratteristica sensoriale data da un cibo o da un'altra sostanza derivante dalla combinazione di odore e sapore. L'aroma tipico di un alimento, di una spezia, di una pianta aromatica è conferito da specifiche sostanze chimiche naturalmente presenti in essi. Nel campo dell'industria alimentare, al fine di riprodurre, standardizzare o rafforzare certi aromi, alcune sostanze naturali o prodotte per sintesi chimica sono aggiunte ai cibi. Tali sostanze possono essere definite col termine aromi, o meglio *aromatizzanti*. Gli aromi non vengono utilizzati solamente nel campo dell'industria alimentare, ma anche in quella cosmetica o del tabacco e si dividono in due categorie: *aromi naturali* e *aromi artificiali* a seconda che siano frutto o meno di una sintesi chimica. La principale differenza tra aromi naturali ed artificiali consiste nel fatto che, secondo la normativa vigente in Europa, ai primi appartengono gli aromi ottenuti attraverso diversi procedimenti (tra cui la distillazione e l'estrazione con solventi) da ingredienti naturali (ad esempio l'essenza di limone estratta dalla scorza degli agrumi), mentre ai secondi tutti quegli aromi ottenuti per sintesi chimica di laboratorio e che imitano (o meno) l'originale presente in natura. La normativa Europea di conseguenza identifica 3 categorie di aromi: aromi naturali, estratti da prodotti naturali, aromi natural-identici, ottenuti per sintesi chimica, ma uguali a prodotti presenti in natura, aromi artificiali ottenuti per sintesi chimica e non presenti in natura. Gli aromatizzanti aggiunti agli alimenti devono essere indicati nella lista degli ingredienti, e il termine "aromi naturali" viene utilizzato esclusivamente per quelli ottenuti per estrazione da ingredienti naturali.

Il lavoro precedentemente affrontato sull'estrazione degli aromi naturali del fungo porcino secco ¹ non ha dato risultati univoci e definitivi, ma ha fornito indicazioni importanti suffragate anche da altre pubblicazioni ^{2,3}. Da tali pubblicazioni si prende spunto per progettare una strategia sintetica adeguata alle capacità analitiche dei nostri laboratori utilizzando diverse vie sintetiche purificando e caratterizzando di volta in volta i prodotti dei singoli step di reazione (intermedi sintetici).

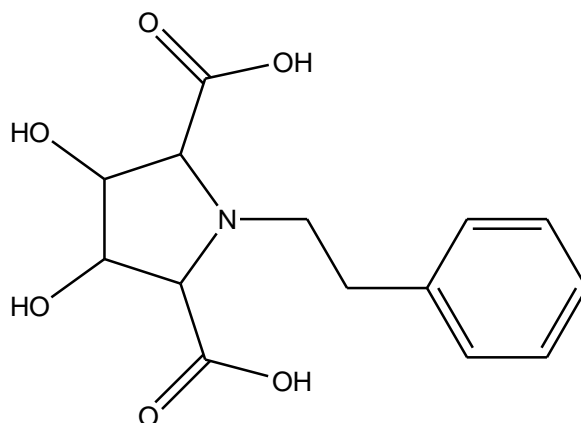
Pirolisi

La pirolisi è intesa in genere come un processo di decomposizione termochimica di materiali organici, ottenuto mediante l'applicazione di calore e in completa assenza di un agente ossidante (normalmente ossigeno). In pratica mentre riscaldando il materiale in presenza di ossigeno avviene una combustione che genera calore e produce composti gassosi ossidati, effettuando

invece lo stesso riscaldamento in condizioni però di assenza totale di ossigeno il materiale subisce la scissione dei legami chimici originari con formazione di molecole più semplici. Il calore fornito nel processo di pirolisi viene quindi utilizzato per scindere i legami chimici, attuando quella che viene definita *omolisi termicamente indotta*. Tra i principali processi pirolitici sfruttati su larga scala spiccano il cracking industriale e il trattamento termico dei rifiuti. Prima del 1925 la pirolisi del legno costituì la fonte principale di metanolo. Nel nostro caso il meccanismo di pirolisi è solo susseguente alla formazione di un addotto fra due molecole lineari con formazione di un composto ciclico ed è responsabile della formazione dell'anello pirrolico.

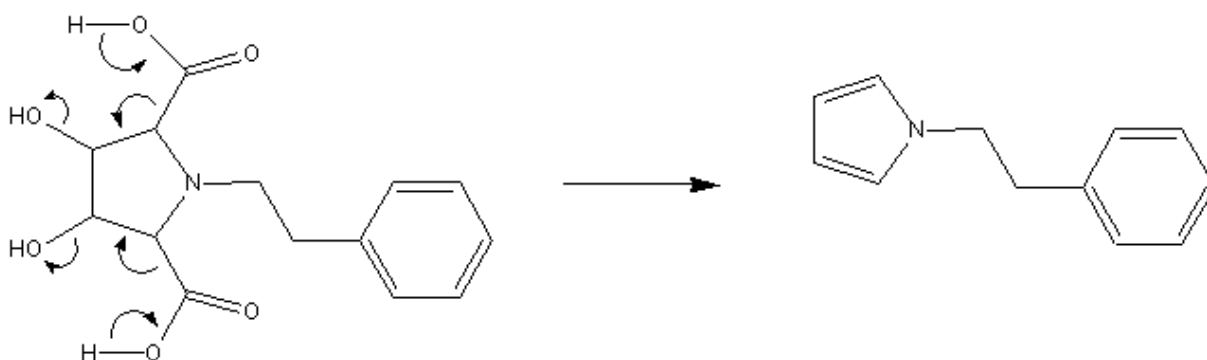


Il primo passaggio consiste nella formazione dell'addotto ciclico con formazione di due molecole di acqua.

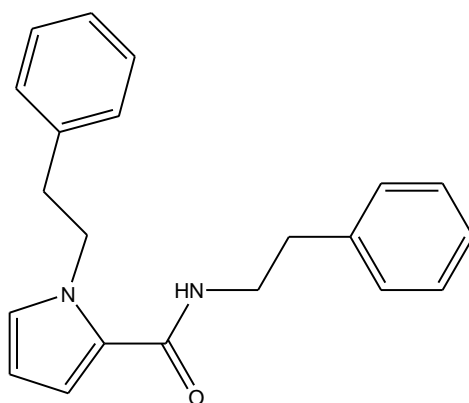


3,4-diidrossi-1-feniletilpirrolidina-2,5-acido dicarbossilico

La pirolisi successiva porta alla formazione del prodotto desiderato con ulteriore formazione di due molecole di acqua e due di anidride carbonica (elevato fattore entropico).

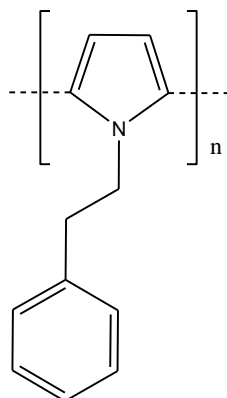


Una volta che si è formato il primo legame fra l'acido mucico e l'ammina, la formazione dell'addotto ciclico è estremamente favorita (reazione intramolecolare) mentre durante la fase della pirolisi sono possibili differenti meccanismi che portano alla formazione di prodotti diversi dal target. Una parziale decarbossilazione potrebbe portare alla formazione dell'ammide con l'intervento di un'altra molecola di ammina.



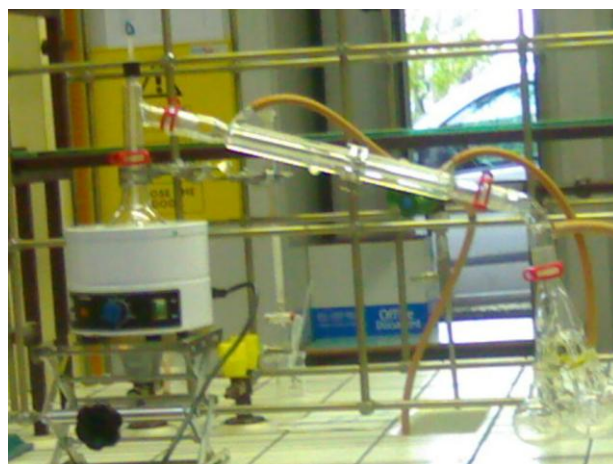
N-1-difeniletil-1H-pirrolo-2-carbossiamide

Mediante meccanismi sia ionici che radicalici (questi ultimi molto usuali nelle pirolisi) si potrebbe arrivare alla formazione di polipirroli che quasi esclusivamente hanno struttura lineare e non ramificata.



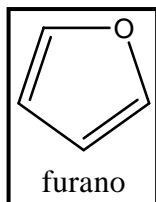
Distillazione frazionata a bassa pressione

A livello di laboratorio, una distillazione viene condotta utilizzando una *caldaia* in cui scaldare la miscela da separare, un *condensatore* in cui i vapori che si separano dalla miscela bollente vengono raffreddati ed un contenitore che raccoglie i vapori condensati, arricchiti delle sostanze aventi punto di ebollizione inferiore. Sostanze con temperatura di ebollizione eccessivamente elevata a pressione atmosferica, o che si decomporrebbero a tale temperatura, possono essere sottoposte a distillazione sottovuoto a temperatura sensibilmente minore.

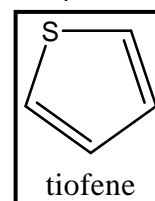
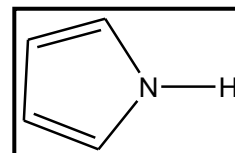


Alchilazione sull'azoto pirrolico 4,5

Caratteristiche chimico fisiche generali del pirrolo

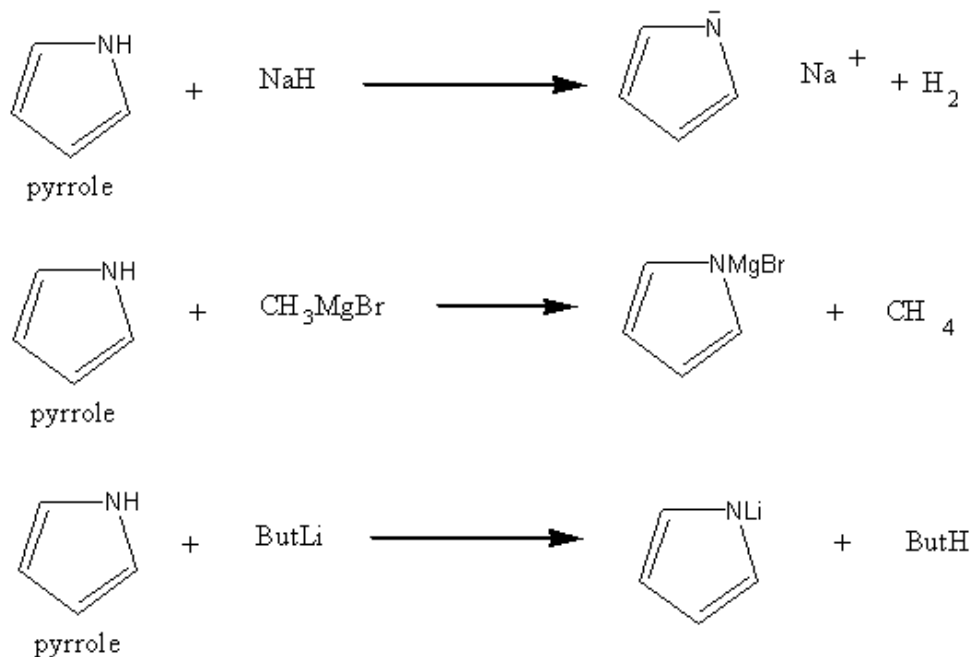


La struttura del pirrolo, così come quella degli eteroaromatici a 5 termini, risulta praticamente planare. La descrizione della struttura elettronica del pirrolo, in analogia con gli altri eteroaromatici, è basata sull'assunto che tutti gli atomi dell'anello siano ibridizzati sp^2 . La sovrapposizione dei cinque orbitali atomici $2p_z$ fornisce orbitali p-MO delocalizzati, tre dei quali sono di legame e gli altri due di non-legame. Il fatto che sei elettroni si distribuiscano sopra 5 atomi rende anche il pirrolo un *eterociclo elettron ricco*. In questo caso però, il dipolo presente ha il polo positivo sull'eteroatomo, probabilmente a causa del fatto che l'eteroatomo nel pirrolo possiede solo due paia di elettroni *non-legame*. Da un punto di vista dell'aromaticità, almeno per quanto riguarda la cosiddetta *energia di risonanza empirica* (energia di stabilizzazione), il valore di quella del pirrolo è 100 kJmol^{-1} mentre quella del tiofene è: 120 kJmol^{-1} Il pirrolo è quindi meno aromatico del tiofene, ma più del furano (80 kJ/mol).



Acidità del pirrolo

La molecola del pirrolo possiede il gruppo NH tipico delle ammine secondarie. La basicità del pirrolo ($pK_a = -3.8$) è comunque notevolmente inferiore a quella della dimetilammina ($pK_a = 10.87$). Il pirrolo non è una base, anzi ha caratteristiche di acidità. Questo è dovuto alla disponibilità del doppietto non condiviso sull'atomo di azoto all'aromaticità del sistema. La protonazione pertanto non avviene sull'atomo di azoto, ma riguarda essenzialmente le posizioni α (80%) e β (20%). Come conseguenza della perdita di aromaticità, si ha rapida polimerizzazione del catione così formatosi. In effetti, il pirrolo reagisce con sodio e sodio o potassio idruro in solventi inerti e con sodio ammidati in ammoniaca liquida per dare sali. Così fa anche con butil litio e con reattivi di Grignard.



Il sodio pirrolo ed il potassio pirrolo danno pirrolo-N-sostituiti, mentre il pirrol-1-alcilmagnesio ioduro fornisce 2-alcilderivati. Molto importante è la scelta del solvente in quanto la coppia ionica che si forma per salificazione è molto stretta con gli ioni sodio e potassio e quindi occorre una costante dielettrica elevata. L'uso di idruri impedisce l'utilizzo di acqua come solvente (formazione di miscela esplosiva) e quindi, per motivi di sicurezza occorre prevedere una modalità sintetica che permetta la formazione del sale in ambiente acquoso e l'alchilazione successiva in mezza non acquoso. Sembra opportuna quindi una catalisi a trasferimento di fase.

Catalisi a trasferimento di fase

La catalisi del trasferimento di fase consiste nel trasporto di una specie da una fase ad un'altra, generalmente due liquidi immiscibili. In genere viene utilizzata per solubilizzare sali inorganici in solventi non polari e, quindi, rendere possibile la reazione di questi ultimi con substrati organici lipofili in condizioni omogenee. La solubilizzazione nei solventi organici di anioni reattivi porta ad un aumento della loro reattività di conseguenza anche a quella delle rese di reazione che spesso diventano quantitative invece di appena apprezzabili o nulle. Il processo è catalitico e sono sufficienti solo piccole quantità di catalizzatore (criptando). Man mano che l'anione reagisce il catalizzatore torna all'interfase solvente organico / acqua per prendere altro reagente e rilasciare, invece, sottoprodotti inorganici. La concentrazione del sale inorganico nel solvente organico non è necessariamente elevata e, comunque, non è mai superiore a quella della fase acquosa. Tuttavia, il fatto che l'anione reagisce continuamente provoca

la diffusione di anione fresco nella fase organica trasportato dal catalizzatore attraverso l'interfase. Come catalizzatore è possibile usare un criptando come un etere corona o un sale di ammonio quaternario opportuno. Nel nostro caso si è scelto il triocetil-metil-ammonio cloruro in quanto ha sufficiente carattere lipofilo ed è disponibile con elevato grado di purezza.

Cenni di tecniche preparative e per la caratterizzazione

Cromatografia su strato sottile (T.L.C)

La cromatografia su strato sottile o TLC, acronimo dell'inglese *Thin Layer Chromatography*, è una tecnica cromatografica di semplice preparazione e rapida esecuzione; questo la rende particolarmente adatta per l'esecuzione di valutazioni qualitative o semi-quantitative, nonché per seguire una reazione chimica durante il suo svolgersi. Come tutte le cromatografie, si basa sulla diversa ripartizione di diverse sostanze tra una fase stazionaria ed una fase mobile, in funzione dell'affinità di ogni sostanza con esse. La fase stazionaria è generalmente uno strato dallo spessore uniforme di circa 1 mm di materiale adsorbente, depositato su una lastra di vetro. Il materiale adsorbente può essere gel di silice, allumina, cellulosa in polvere o polvere di diatomee (*kieselguhr*), a seconda dell'applicazione richiesta. La fase mobile è un solvente opportunamente scelto (o una miscela di solventi), capace di separare i componenti della miscela da analizzare e poco affine per polarità alla fase stazionaria scelta. Uno strato di fase mobile alto circa 1 cm viene posto sul fondo di un contenitore, nel quale si immerge l'estremità inferiore della lastra di vetro preparata col materiale adsorbente, sulla quale è stata previamente posta una goccia del campione da separare (o di una sua soluzione). Il contenitore viene poi chiuso in modo da mantenere l'ambiente saturo di vapori di solvente. Per effetto di capillarità il solvente sale lungo la lastrina, trascinando con sé in maniera differente i componenti della miscela e separandoli.

Cromatografia su colonna

La cromatografia su colonna separa i vari componenti di una miscela. Essa sfrutta la diversa affinità delle molecole e degli ioni nei confronti di due fasi. Nella nostra esperienza è stata utilizzata come tecnica preparativa. Nella cromatografia una delle due fasi viene immobilizzata, e perciò è detta fase stazionaria, l'altra invece viene fatta scorrere in modo continuo sulla prima ed è detta fase mobile. In ogni istante del processo cromatografico si realizza una sorta di competizione tra le due fasi nei confronti della sostanza fluída; durante l'eluizione in ogni punto della colonna la sostanza è coinvolta in un processo dinamico di trasferimento: dalla fase stazionaria a quella mobile. La separazione avviene per gravità dove l'eluente trascina la miscela lungo la fase stazionaria (gel di silice), l'interazione con la miscela da separare che si instaura sulla superficie granulare della fase stazionaria avviene per adsorbimento

Spettrofotometria I.R.

La spettrofotometria I.R. si basa sull'assorbimento, da parte di molecole o più in generale di composti, delle radiazioni con lunghezza d'onda comprese fra 0,78 μm (limite del visibile) e 100 μm . Quest'ampia gamma spettrale viene suddivisa in tre regioni principali:

IR vicino 0,78 – 2,5

IR medio 2,5 – 50

IR lontano 50 – 100

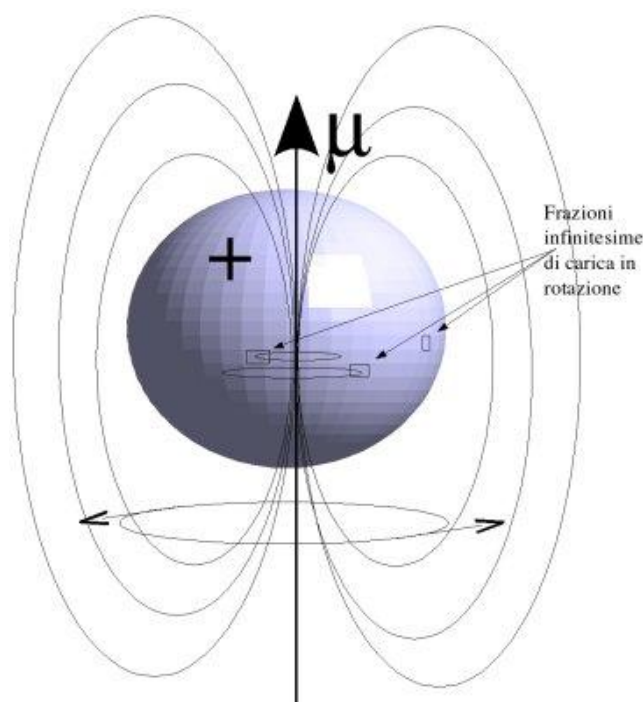
La regione più interessante dal punto di vista analitico è il medio IR, che fornisce informazioni sulla struttura dei composti (soprattutto organici). Il vicino IR presenta insiemi di bande piuttosto complessi, che possono essere correlati ad un numero ristretto di gruppi funzionali. Infine il lontano IR presenta pochi picchi utili allo studio di composti organici, ma è di grande interesse per la caratterizzazione di composti inorganici e metallorganici.

Spettrometria di massa

La spettrometria di massa è una tecnica analitica applicata sia all'identificazione di sostanze sconosciute, sia all'analisi in tracce di sostanze. Viene comunemente usata in combinazione con tecniche separative, quali la gascromatografia e la cromatografia in fase liquida (HPLC), o - più recentemente - con tecniche ionizzanti quali il plasma a induzione. Il principio su cui si basa la spettrometria di massa è la possibilità di separare una miscela di ioni in funzione del loro rapporto massa/carica generalmente tramite campi magnetici statici o oscillanti. Tale miscela è ottenuta ionizzando le molecole del campione, principalmente facendo loro attraversare un fascio di elettroni ad energia nota. Le molecole così ionizzate sono instabili e si frammentano in ioni più leggeri secondo schemi tipici in funzione della loro struttura chimica. Il diagramma che riporta l'abbondanza di ogni ione in funzione del rapporto massa/carica è il cosiddetto spettro di massa, tipico di ogni composto in quanto direttamente correlato alla sua struttura chimica ed alle condizioni di ionizzazione cui è stato sottoposto.

Risonanza Magnetica Nucleare (NMR)

La spettroscopia di risonanza magnetica nucleare, detta anche NMR, è un metodo spettroscopico basato sulle proprietà magnetiche dei nuclei di alcuni atomi/isotopi. La rotazione dei nuclei atomici su sé stessi è capace di procurare un momento magnetico μ ad alcuni di essi. Il più semplice tra gli elementi aventi momento magnetico nucleare, ed il più importante a fini pratici, è l'idrogeno. Si può grossolanamente visualizzare l'unico protone di cui è composto l'atomo di idrogeno come una palla in rotazione su sé stessa e uniformemente carica: le porzioni infinitesime di carica generano un campo magnetico in funzione della loro distanza dall'asse di rotazione.



Le proprietà di spin dei protoni e dei neutroni che compongono gli atomi più pesanti si combinano per definire lo spin totale dei nuclei di elementi più pesanti, da cui il loro eventuale momento magnetico. Solo nuclei con numero atomico e/o massa atomica dispari mostrano proprietà magnetiche: si dice che il loro numero quantico di spin I è $\pm 1/2$. La direzione del momento magnetico così prodotto è, per un protone nel vuoto, assolutamente casuale: tra un'orientazione e l'altra non v'è differenza. Fortunatamente, è rarissimo che i nuclei attivi mostrino assorbimento quando dovrebbero. Questo non perché la teoria sia sbagliata. Si è teorizzato il comportamento di un protone nel vuoto: un'eventualità abbastanza rara. Nella realtà i nuclei attivi sono immersi in un intorno chimico: altri atomi, altre molecole, li circondano, con le relative nubi elettroniche, ed anche esso stesso è circondato dalla sua "nube" di particelle cariche in moto. Il campo magnetico applicato induce, sull'intorno elettronico di ogni nucleo, un campo magnetico locale opposto (fenomeno di induzione). La nube elettronica provoca cioè una modulazione locale del campo applicato, detta schermatura. Il campo *effettivo* residuo viene indicato $B_{locale} = B_0(1 - \sigma)$. Dove σ è lo schermo elettronico (attenzione: σ non è ancora lo spostamento chimico!). Cioè, a seconda dell'intorno chimico di un certo nucleo, la frequenza di risonanza può risultare più bassa di un fattore $1 - \sigma$, poiché solitamente il campo magnetico indotto è opposto a quello applicato. Osservando la posizione relativa dei picchi di assorbimento, è possibile fare considerazioni sullo schermo elettronico associato ai vari nuclei che li hanno generati.

I sensori e la chimica supramolecolare

La chimica supramolecolare è una branca interdisciplinare, organizzatasi sistematicamente e razionalmente verso la fine degli anni sessanta, che riprendendo principi e concetti della chimica moderna rappresenta oggi un campo di ricerca in forte espansione. L'attuale definizione largamente accettata di chimica supramolecolare risale a Jean-Marie Lehn (1978) ed è la seguente:

« chimica degli aggregati molecolari di più alta complessità risultanti dall'associazione di due o più specie chimiche legate assieme da forze intermolecolari »

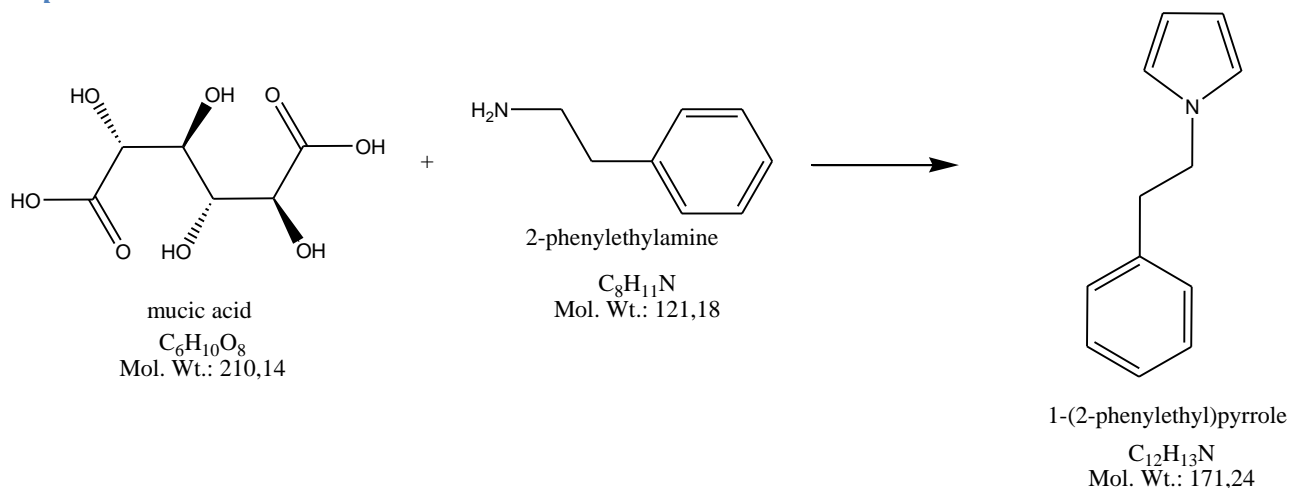
Questa disciplina, volendone esemplificare gli scopi di studio, tende a focalizzarsi sui sistemi multimolecolari piuttosto che sulle molecole. Importanza basilare assumono i calcoli di chimica teorica per la progettazione di nuovi composti e l'ausilio della meccanica molecolare per la determinazione della struttura spaziale tridimensionale. La chimica supramolecolare è una componente fondamentale delle nanotecnologie. Nella formazione di un composto supramolecolare la specie ospite (guest) deve avere una geometria strutturale complementare a quella del recettore (host). I composti host, in relazione alla relazione spaziale host-guest, si suddividono in cavitandi o clatrandi. I cavitandi sono caratterizzati dall'aver una cavità intramolecolare che, essendo una caratteristica peculiare, si ritrova sia allo stato solido che in soluzione. I clatrandi possiedono invece cavità extramolecolari generate da uno spazio tra due o più molecole host e pertanto tali cavità possono esistere solamente allo stato solido cristallino.

PARTE SPERIMENTALE

SINTESI DI 1-(2-FENILETIL)PIRROLO

Codice sintesi: 1a

step 1



Reagenti e Prodotti	Peso molecolare	Peso tal quale (g)	moli	Rapporto molare
Acido Mucico	210.14	30.16	0.1435	1
2-Feniletilammina	121.18	20.26	0.1672	1.165

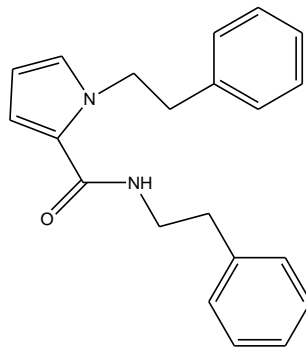
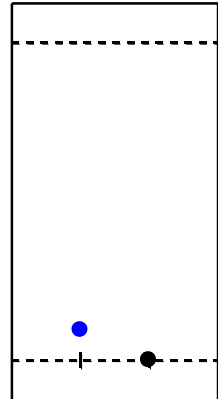
La quantità di acido mucico è stata introdotta in pallone ad un collo da 250 ml ed è stata aggiunta la quantità di ammina. Non si forma una fase omogenea anzi molto acido (solido) resta separato dal reagente liquido (ammina). Si nota immediatamente la formazione di un composto nerastro e di vapori. Il pallone contenente la miscela viene montato nell'apparecchiatura e sottoposto a lento riscaldamento (sino a 180 °C in un'ora). Viene applicato un vuoto corrispondente a circa 60 mm Hg. Durante la distillazione aumenta la porzione nerastra e il ricadere dei vapori trascina l'acido mucico sul fondo del pallone. Dopo aver distillato tutta l'acqua, la temperatura sale bruscamente e altri vapori salgono verso il refrigerante. Questi, a contatto con il refrigerante solidificano anziché condensarsi. Il solido così formatosi viene ripreso con pentano e la soluzione viene introdotta nel pallone di reazione previamente raffreddato. Al suo interno, il residuo di reazione appare come una massa viscosa nerastra. Dopo una settimana di contatto fra la fase pentanica e il residuo si separa la fase liquida da quella pastosa.

step 2a

Le fasi liquida e pastosa vengono separatamente trattate. La prima subisce un lavaggio con 50 ml di sodio idrossido 10% e successivamente con HCl 10%. Ancora viene trattata con sodio idrossido 10% ed infine con acqua. Dalla fase organica si cristallizzano circa 0,3 grammi di solido biancastro. La TLC (silice) mostra una unica macchia fluorescente (violetta) non riconducibile a quelle dei reagenti avente Rf di 0,07 usando come eluente una miscela n-esano etere nel rapporto 8 a 2 con supporto in silice. Viene determinato il punto di fusione che risulta essere di 72,3 – 73,4 °C.

Il prodotto voluto presenta una polarità molto bassa e quindi dovrebbe avere un Rf di molto più alto. Il punto di fusione non corrisponde a quello teorico di circa 35 °C.

Il sottoprodotto amidico di sostituito presenta un punto di fusione molto simile a quello misurato ed una polarità maggiore che giustificerebbe un Rf basso.

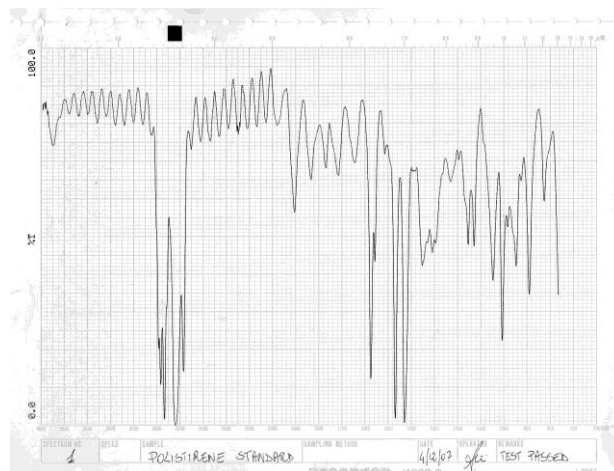


N,1-diphenethyl-1*H*-pyrrole-2-carboxamide

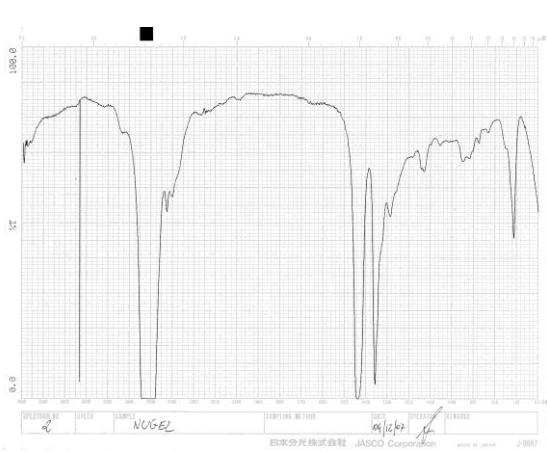
$C_{21}H_{22}N_2O$
Exact Mass: 318,17
Mol. Wt.: 318,41

Caratterizzazione IR

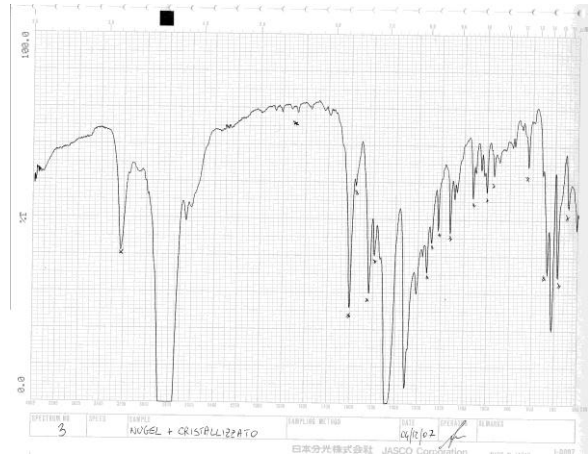
Viene registrato lo spettro di assorbimento IR in sospensione con Nugal.



Spettro polistirene (riferimento)



Spettro Nugel



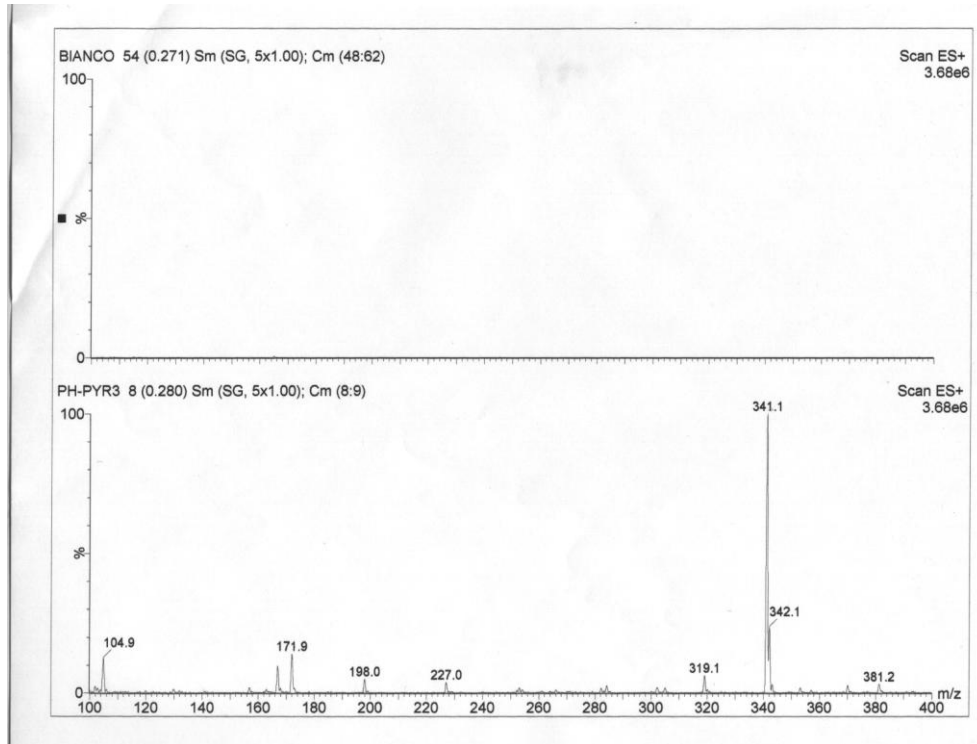
Spettro Nugel + prodotto



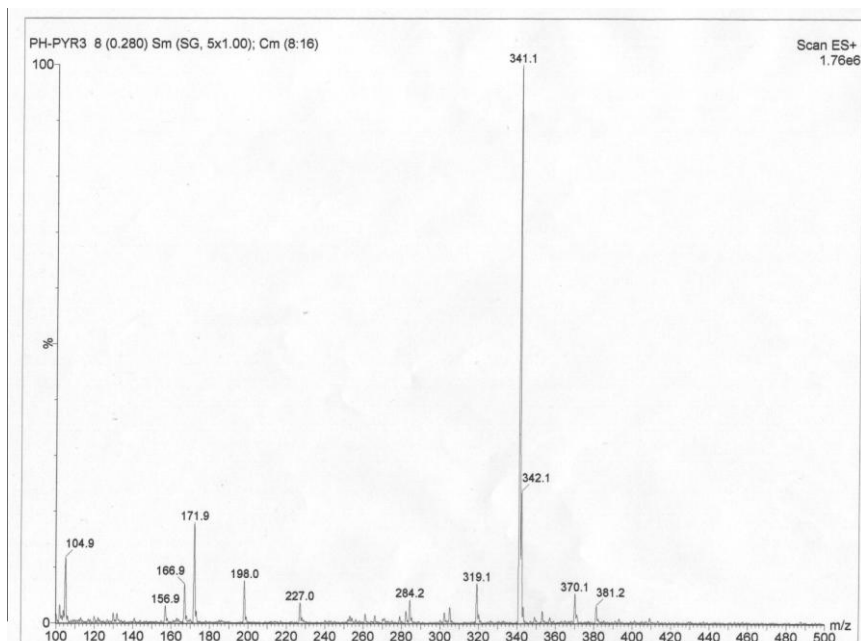
Sovrapposizione degli spettri

Dal confronto fra lo spettro del nugel e della miscela nugel + prodotto si possono osservare tre bande caratteristiche di una ammido: la vibrazione di stretching di N-H a 3220 cm^{-1} ; il segnale dovuto al legame C=O a 1600 cm^{-1} ; la deformazione (bending) del legame N-H amidico a 1530 cm^{-1} .

Caratterizzazione ESI-MS



Sovrapposizione in scala di bianco e prodotto



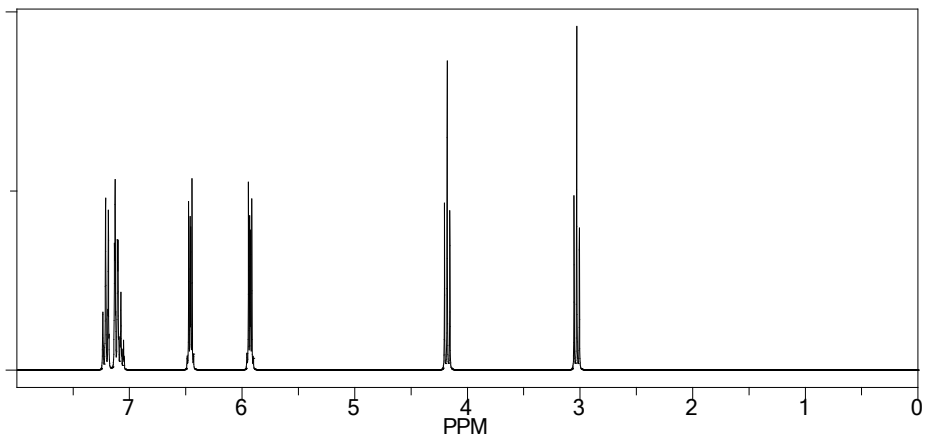
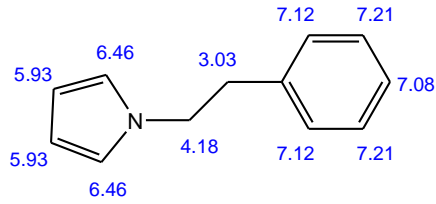
Spettro prodotto

Si evidenziano segnali di rapporto massa / carica a 341,1 che corrisponde all'amide come sodiato; il segnale a 319,1 corrisponde all'amide protonata. Si nota anche la presenza, seppure in minima quantità, del prodotto voluto responsabile del segnale a 171,9 come protonato.

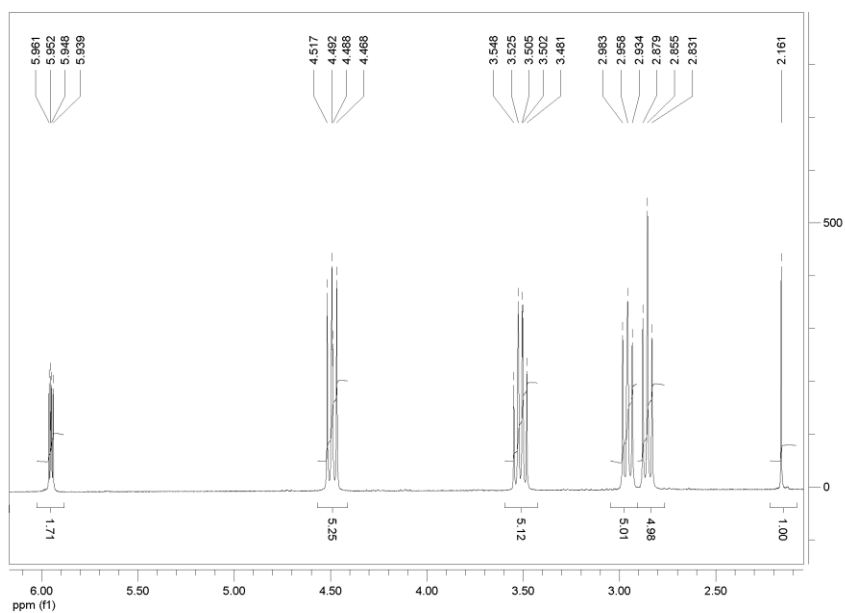
Caratterizzazione NMR (300 MHz)

H-NMR

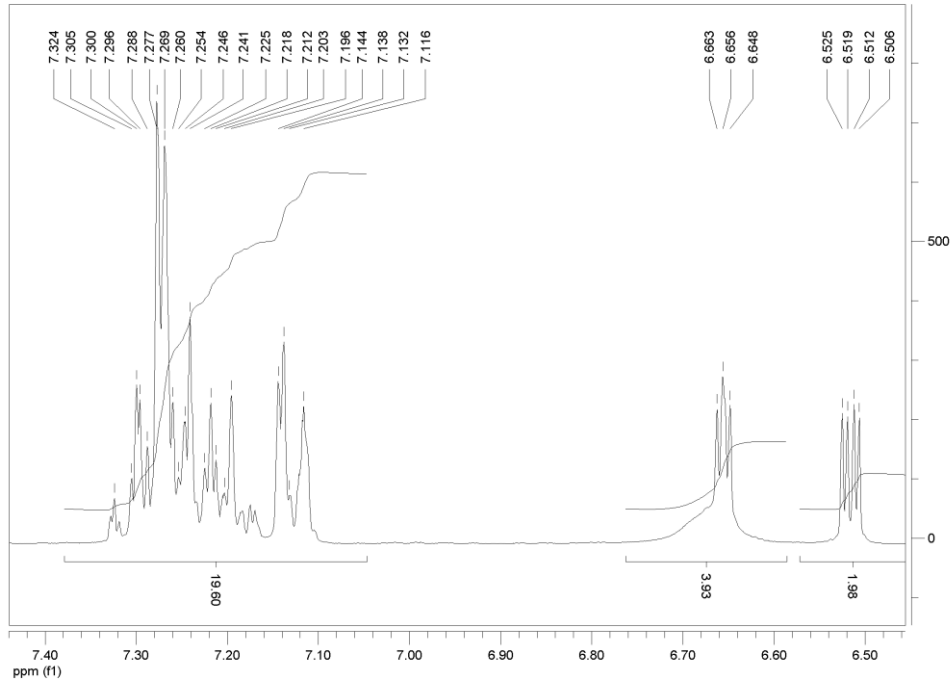
ChemNMR H-1 Estimation



Simulazione delle spettro del prodotto voluto



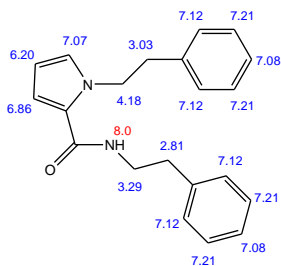
Spettro registrato



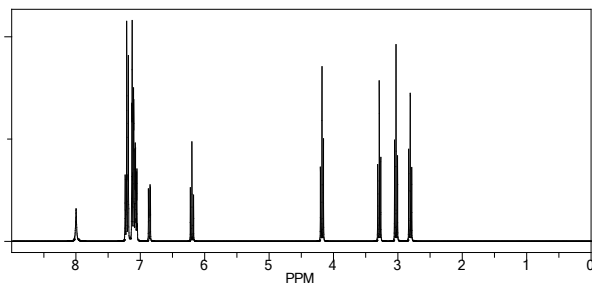
Spettro registrato (zona aromatica)

CHEMICAL SHIFT	MOLTEPLICITA'	COSTANTE DI ACCOPPIAMENTO
2.831 – 2.879	tripletto	7.2
2.934 – 2.983	tripletto	7.2
3.481 – 3.548	quadrupletto	7.2 - 6.0
4.468 – 4.517	tripletto	7.5
5.939 – 5.961	quadrupletto	2.7
6.506 – 6.523	Doppietto di doppietti	1.8
6.648 – 6.663	tripletto	2.4
7.10 – 7.40	multipletto	

ChemNMR H-1 Estimation

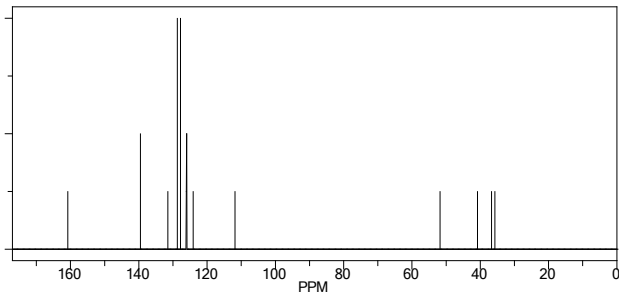
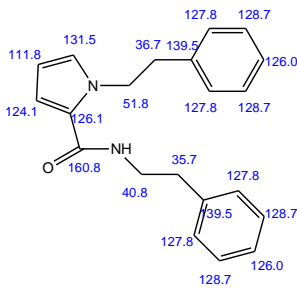


Il chemical shift, le costanti di accoppiamento e l'integrazione rendono conto della presenza dell'amide (sottoprodotto) contaminata dal prodotto voluto. Si registra anche lo spettro NMR riferito al carbonio ottenendo la conferma della presenza quasi esclusiva del sottoprodotto.

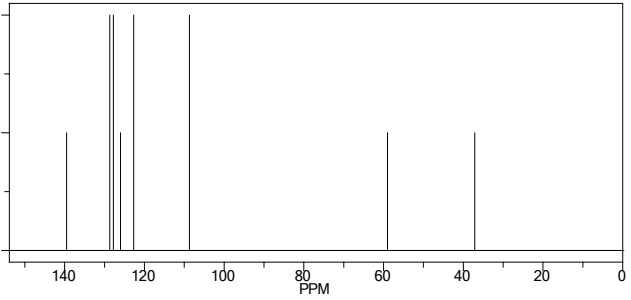
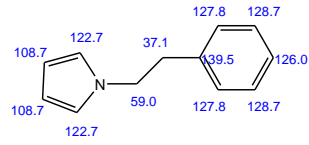


C-NMR

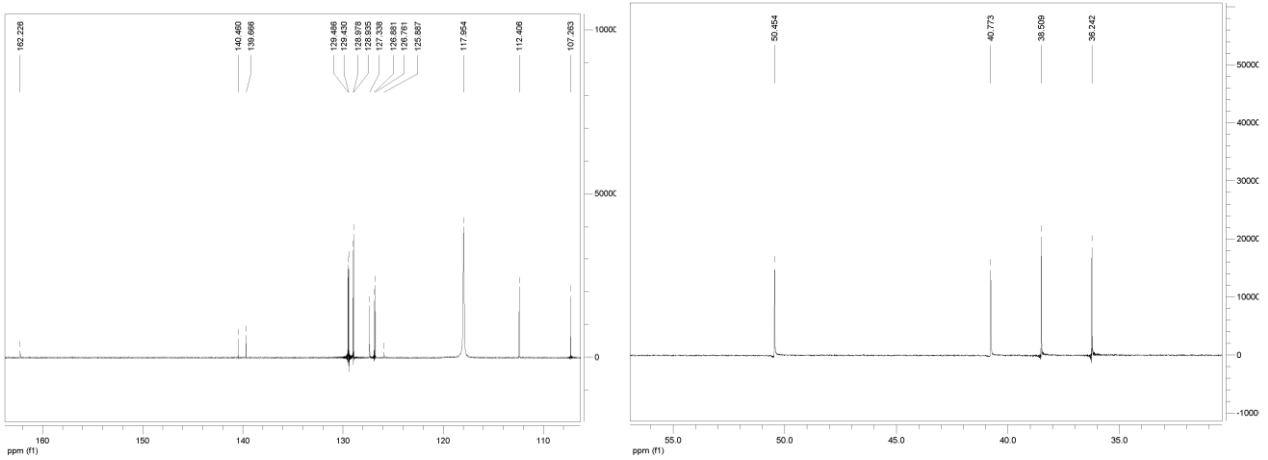
ChemNMR C-13 Estimation



ChemNMR C-13 Estimation



Stima degli spettri C-NMR



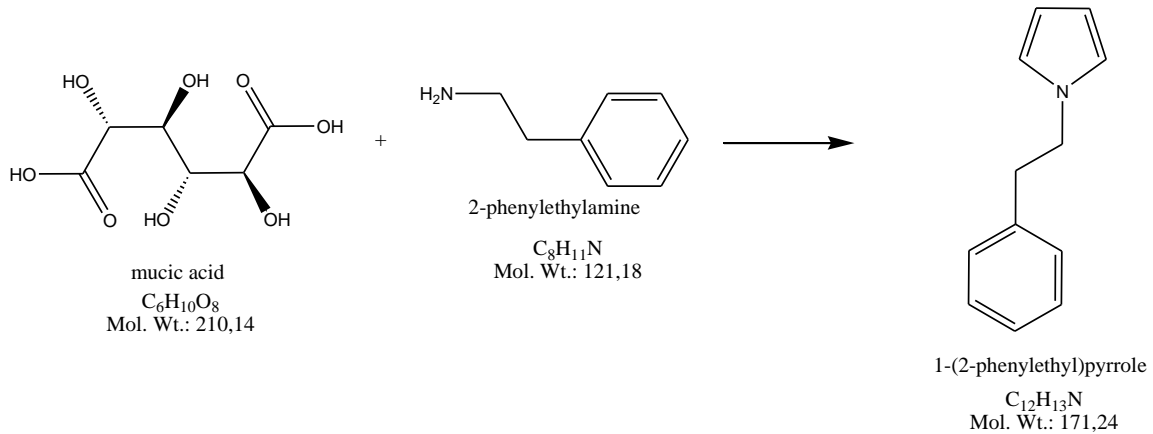
Spettro C-NMR registrato

step 2b

La fase pastosa viene sciolta nella minima quantità di acetone (50 ml) e vengono aggiunti 50 ml di pentano. Si tenta di effettuare la stessa serie di lavaggi dello step precedente senza però ottenere una separazione di fasi per cui questa fase viene scartata.

Codice sintesi: 1b

step 1



Reagenti e Prodotti	Peso molecolare	Peso tal quale (g)	moli	Rapporto molare
Acido Mucico	210.14	29.9	0.1423	1
2-Feniletilammina	121.18	21.15	0.1745	1.226

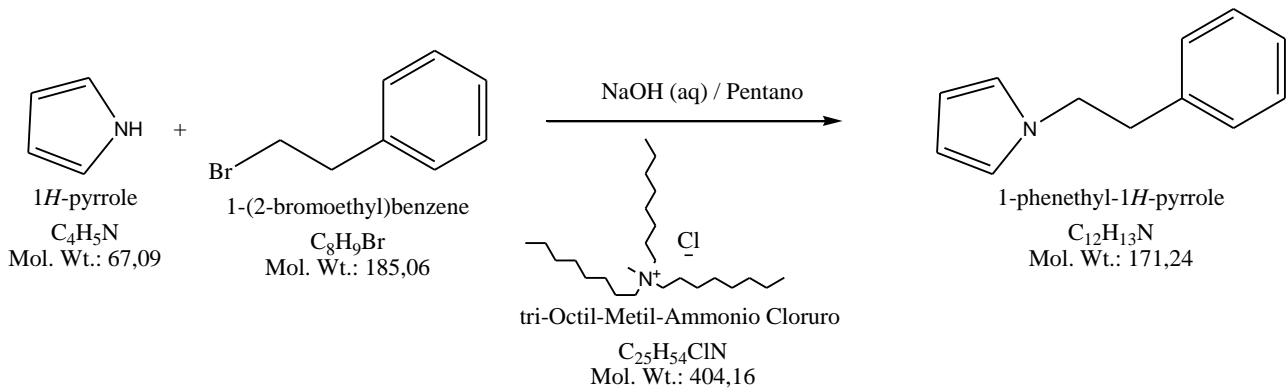


La quantità di acido mucico è stata introdotta in pallone ad due colli da 250 ml e sospeso in 50 ml di pentano. E' stata aggiunta la quantità di ammina sotto agitazione. In questo caso non si nota la formazione di sostanze scure e di vapori e la miscela risulta omogenea. Il pallone contenente la miscela viene montato nell'apparecchiatura e sottoposto a lento riscaldamento (sino a 180 °C in un'ora). Viene applicato un vuoto corrispondente a circa 60 mm Hg. Durante la distillazione si forma gradualmente la porzione nerastra. Dopo aver distillato tutta l'acqua, la temperatura sale bruscamente e altri vapori salgono verso il refrigerante. Questi, a contatto con il refrigerante solidificano anziché condensarsi. Il solido così formatosi

viene ripreso con pentano e la soluzione viene introdotta nel pallone di reazione previamente raffreddato. Al suo interno, il residuo di reazione appare come una massa viscosa nerastra. Si decide di abbandonare questa strategia sintetica in favore della successiva.

Codice sintesi: 2a

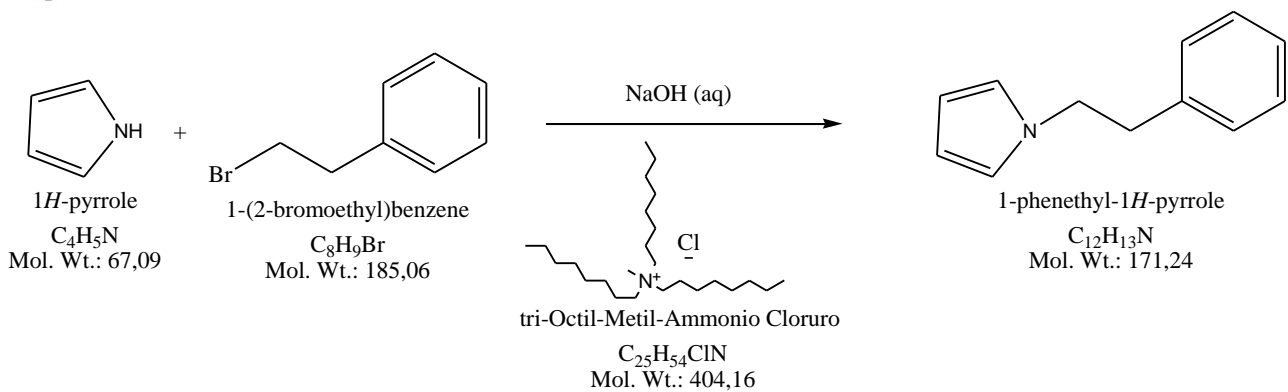
step 1



Reagenti e Prodotti	Peso molecolare	Peso tal quale o Volume	Densità g / ml	moli	Rapporto molare
Pirrolo	67.09	1.38 ml	0.97	0.02	1
1-(2bromoetil)benzene	185.06	3.25 ml	1.368	0.024	1.2
Triocetil-metil ammonio cloruro	404.16	8.08 g		0.02	1

Codice sintesi: 2b

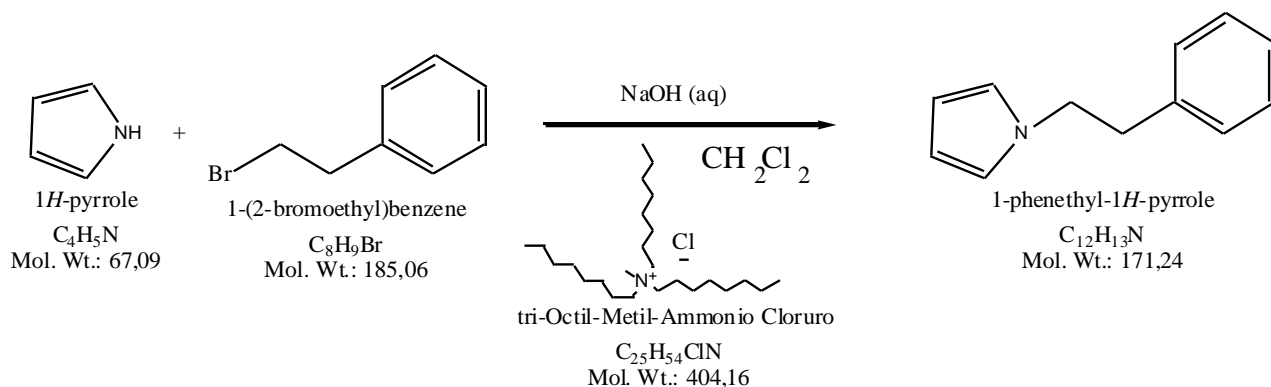
step 1



Reagenti e Prodotti	Peso molecolare	Peso tal quale o Volume	Densità g / ml	moli	Rapporto molare
Pirrolo	67.09	1.38 ml	0.97	0.02	1
1-(2bromoetil)benzene	185.06	3.25 ml	1.368	0.024	1.2
Triocetil-metil ammonio cloruro	404.16	0.81 g		0.002	0.1

Codice sintesi: 2c

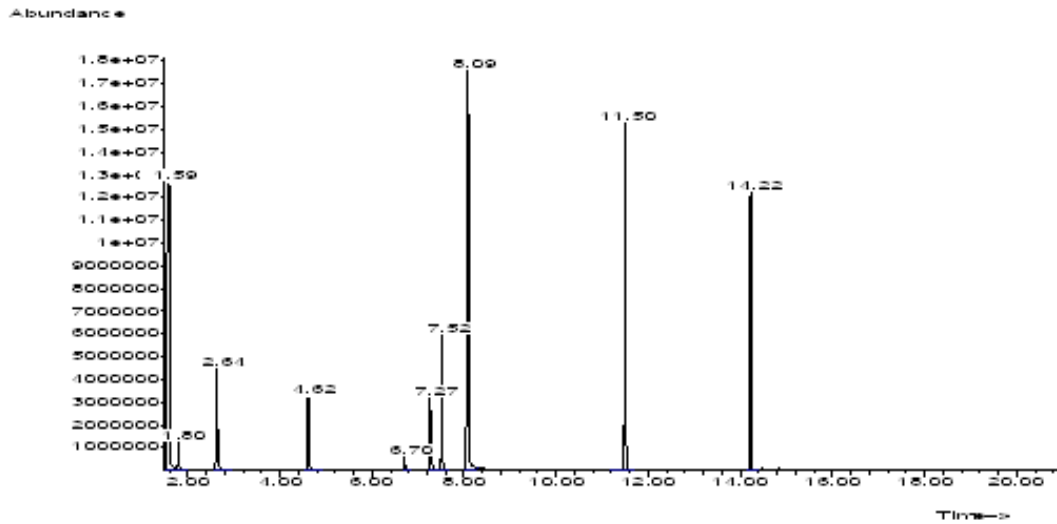
step 1



Reagenti e Prodotti	Peso molecolare	Peso tal quale o Volume	Densità g / ml	moli	Rapporto molare
Pirrolo	67.09	1.38 ml	0.97	0.02	1
1-(2bromoetil)benzene	185.06	3.25 ml	1.368	0.024	1.2
Triocil-metil ammonio cloruro	404.16	0.81 g		0.002	0.1

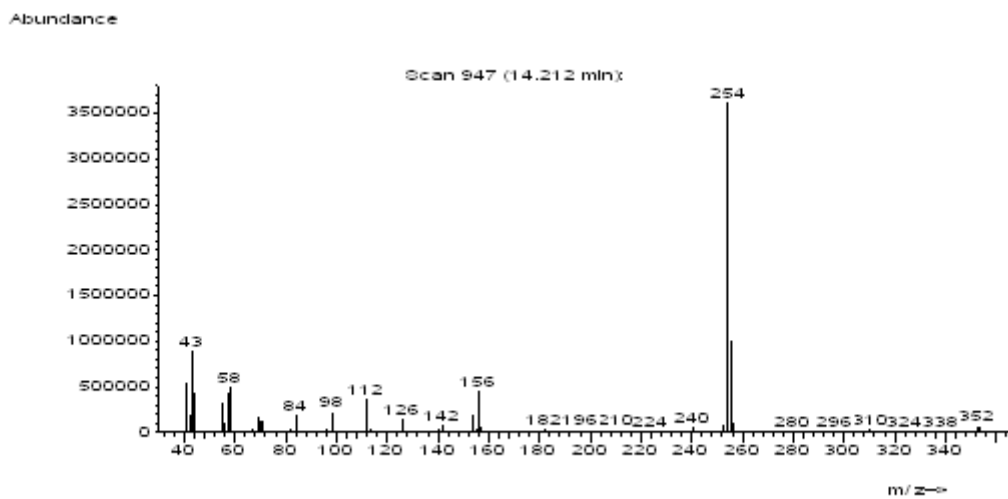
Sono state eseguite tre sintesi in parallelo modificando i rapporti molari fra pirrolo e catalizzatore ed utilizzando differenti solventi. La quantità di catalizzatore non sembra essere particolarmente influente, mentre l'utilizzo del solvente opportuno modifica sostanzialmente il sistema reattivo. Il cloruro di metilene ha un "potere solvente" molto elevato e quindi si può limitarne la quantità ottenendo una fase organica ben separata da quella acquosa. Dopo 72 ore si effettuano prelievi per la caratterizzazione che, in questo caso viene effettuata sulla sintesi 2c per mezzo di una gas-massa.

Caratterizzazione GC-MS

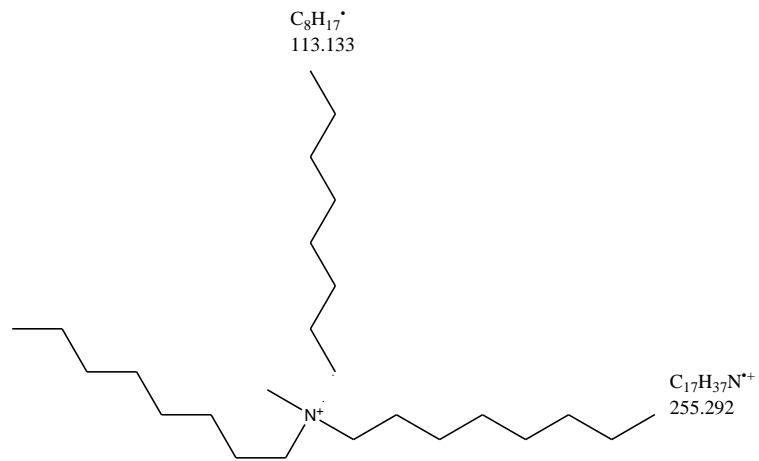


Gas - Cromatogramma

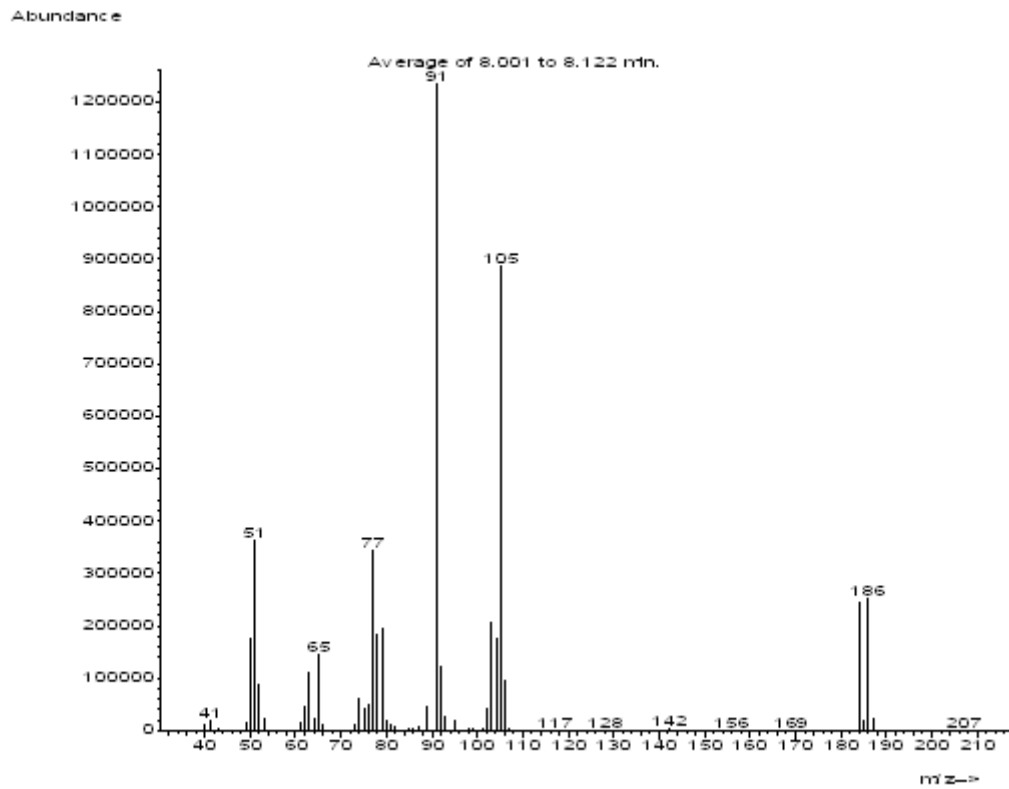
Il gas-cromatogramma mostra una serie di picchi abbondanti e ben separati che vengono indagati nelle loro frammentazioni.

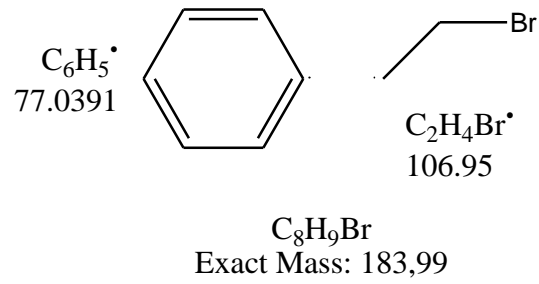


Il picco a 14,22 minuti risulta corrispondere al catalizzatore come si può osservare dalla figura seguente

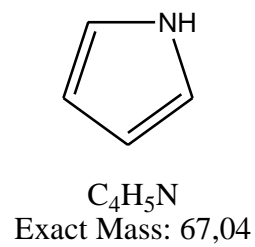
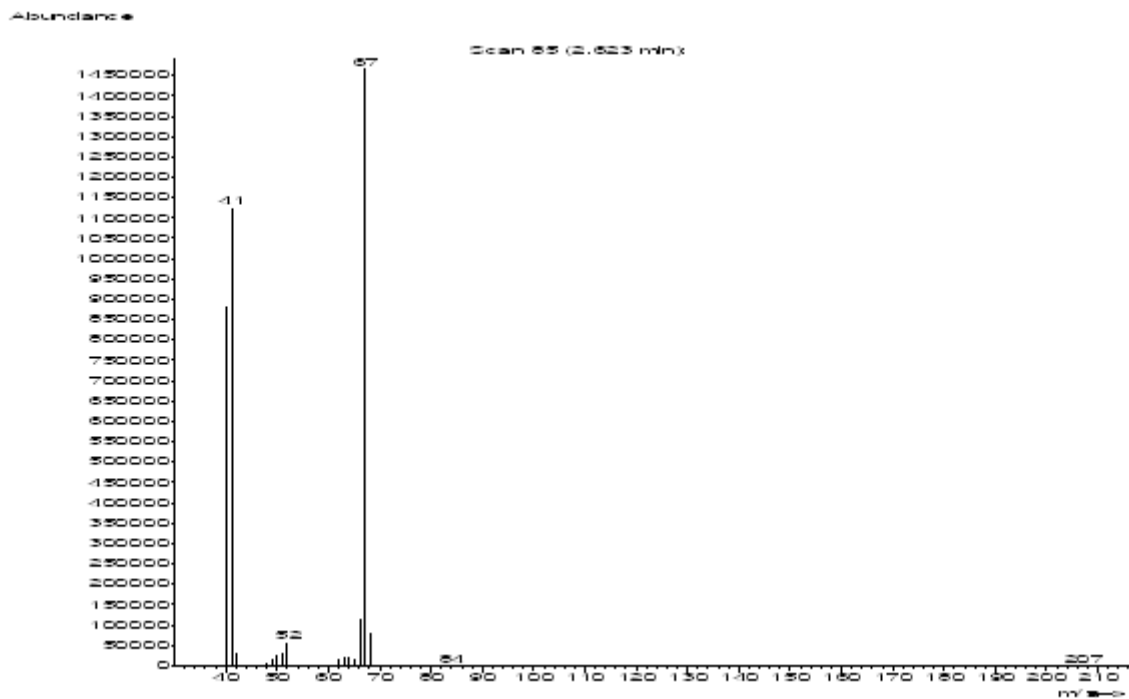


Il picco a 8,09 minuti risulta essere l'alogenuro di partenza

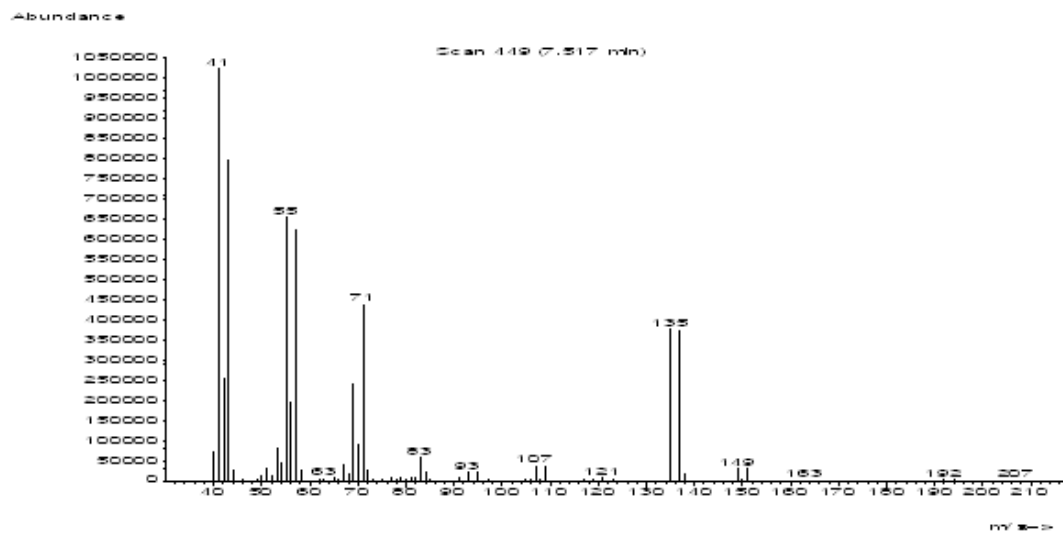
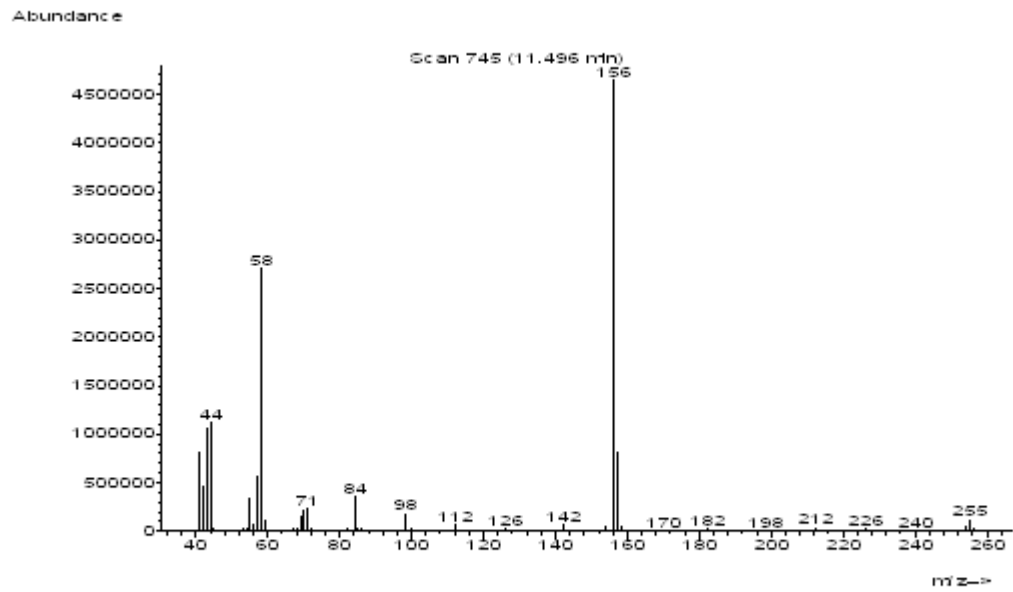


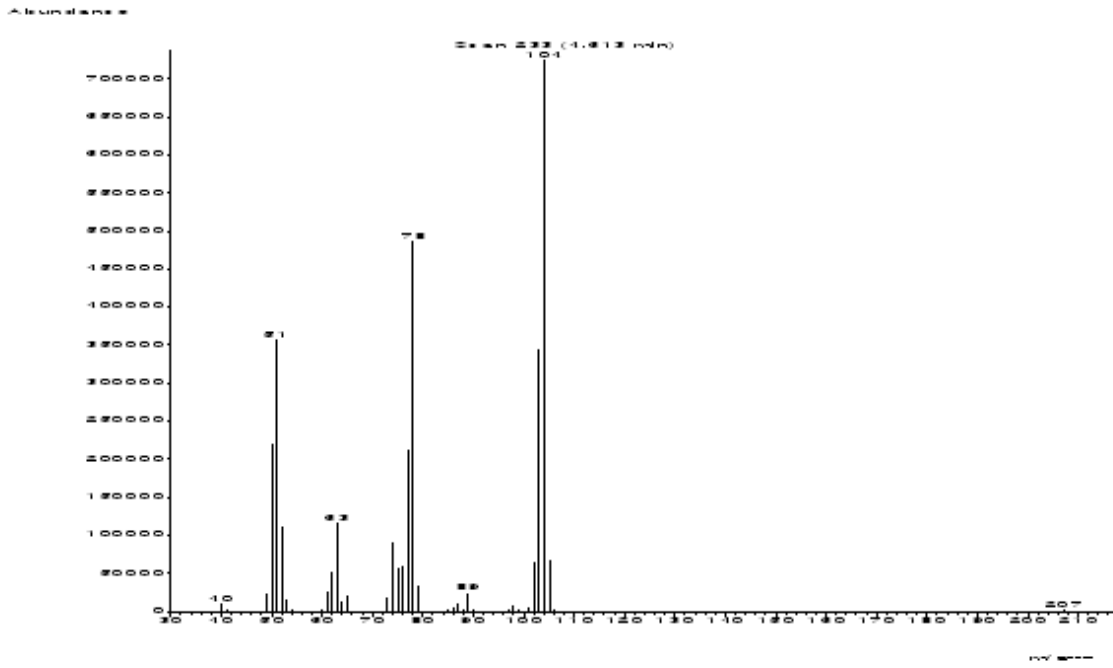


Il picco a 2,6 minuti risulta corrispondere al pirrolo



Gli altri picchi, confrontati in libreria sembrano essere dovuti a composti alogenati che si formano alle alte temperature dovute all'iniezione nel gas-cromatografo.





DISCUSSIONE DEI RISULTATI

A causa dell'impossibilità di un rigoroso controllo termodinamico della reazione durante la pirolisi e alla necessità di una pompa da vuoto adeguata (0.001 mmHg) per poter distillare a temperature molto basse, non è consigliabile seguire questa via sintetica; è stata infatti da noi abbandonata per seguire un'altra strategia di sintesi che prevedeva la catalisi a trasferimento di fase e l'alchilazione diretta sull'azoto pirrolico. Basandoci su pubblicazioni nelle quali veniva usata la catalisi a scambio di fase per alchilare un indolo si è ritenuto opportuno intraprendere questa via sintetica poiché la struttura dell'indolo è simile a quella del pirrolo. Dalla reazione di pirolisi si è ottenuto un prodotto diverso da quello desiderato con una resa molto bassa ma avente caratteristiche aromatiche tipiche del fungo porcino. A causa della resa bassissima della reazione non è consigliabile l'utilizzo di questa sintesi per una produzione di massa. Si ritiene opportuno continuare con la strategia sintetica descritta nella sintesi 2c aumentando la quantità di soluzione di sodio idrossido per favorire il passaggio dello ione reattivo nella fase organica. Per aumentare la velocità si prevede inoltre di scaldare leggermente la miscela. Il prodotto ottenuto non sarà però quello finale ma necessiterà di un ulteriore passaggio sintetico che prevede l'attacco del gruppo aldeidico nella posizione 2 dell'anello pirrolico (reazione di Vilsmeier-Haack). La reazione dovrà essere condotta in DMF utilizzando fosforo ossicloruro riscaldando a riflusso. Il sottoprodotto isolato dalla prima via sintetica verrà comunque posto ad esame olfattivo in quanto risulta molto probabile la sua presenza fra gli aromi naturalmente presenti nel fungo porcino secco.

BIBLIOGRAFIA

1. Gatti, M., *Estrazione di aromi del fungo porcino secco*, Ed. ITIS "Berenini", **2007**
2. Thomas, A.F., *An analysis of the flavor of dried mushroom, Boletus Edulis*, J.Agr.Food Chem., 21, 6, **1973**
955 - 958
3. Bocchi, V., Casnati, G., Dossena, A., Villani, F., *Synthesis of N-Alkylindoles using Tetraalkylammonium Salt Catalysis*, Synthesis Int. J. Of Methods in Synt. Org. Chem., **1976**, 6, 414 - 416
4. Gossauer, A., *Die Chemie der Pyrrole*, Springer, Berlin, **1974**
5. Balon, M., Carmona, M.C., Munoz, M.A., Hidalgo, J., *Tetrahedron*, **1989**, 45, 7501