



# UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

*Facoltà di Scienze MM.FF.NN*

*Dipartimento di Scienze Chimiche*

*SCUOLA DI DOTTORATO IN SCIENZE MOLECOLARI  
INDIRIZZO SCIENZE CHIMICHE  
XXII ciclo*

## **Sintesi organiche in reattori microfluidici**

**Direttore della scuola:** Ch.mo Prof. Maurizio Casarin

**Coordinatore d'indirizzo:** Ch.mo Prof. Maurizio Casarin

**Supervisore:** Ch.mo Prof. Michele Maggini

**Dottoranda :** Paola Donnola

31 Dicembre 2009



# UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

*Facoltà di Scienze MM.FF.NN*

*Dipartimento di Scienze Chimiche*

*SCUOLA DI DOTTORATO IN SCIENZE MOLECOLARI  
INDIRIZZO SCIENZE CHIMICHE  
XXII ciclo*

## **Sintesi organiche in reattori microfluidici**

**Direttore della scuola:** Ch.mo Prof. Maurizio Casarin

**Coordinatore d'indirizzo:** Ch.mo Prof. Maurizio Casarin

**Supervisore:** Ch.mo Prof. Michele Maggini

**Dottoranda :** Paola Donnola

31 Dicembre 2009





---

# Indice

<b>Indice</b>	1
<b>Riassunto</b>	5
<b>Abstract</b>	7
<b>Abbreviazioni</b>	9
<b>Capitolo 1: Introduzione alla microfluidica</b>	11-40
<b>1.1</b> Introduzione	13
<b>1.2</b> Movimento dei fluidi nei microreattori	14
<b>1.3</b> Fluidodinamica nei microreattori	16
<b>1.4</b> Mescolamento nei microreattori	17-20
1.4.1 Mescolamento di fluidi miscibili	17
1.4.2 Mescolamento di fluidi non miscibili	19
<b>1.5</b> Vantaggi dei microreattori rispetto ai sistemi batch	20
<b>1.6</b> Tipologie di microreattori	23
<b>1.7</b> Costruzione di microreattori in materiale polimerico	26
1.7.1 Assemblaggio della testa del microreattore	32
1.7.2 Assemblaggio del reattore	35
<b>1.8</b> Sintesi Organiche in microreattore	36
<b>1.9</b> Bibliografia	39
<b>Capitolo 2: Foto-ossidazioni con ossigeno singoletto in microreattore</b>	41-64
<b>2.1</b> Introduzione: le reazioni fotochimiche	43
<b>2.2</b> Risultati e discussione	50-56
2.2.1 Foto-ossidazione di $\alpha$ -terpinene (1)	50
2.2.2 Foto-ossidazione di (L)-metionina metilestere (3)	52
<b>2.3</b> Conclusioni	57
<b>2.4</b> Parte Sperimentale	58-62
2.4.1 Solventi e reagenti	58
2.4.2 Materiali	58
2.4.3 Strumentazione e procedure analitiche	58

2.4.4	Foto-ossidazione di <b>(1)</b> in fase omogenea	59
2.4.5	Foto-ossidazione di <b>(1)</b> con TG-C <sub>60</sub>	60
2.4.6	Foto-ossidazione di <b>(3)</b> con Si-C <sub>60</sub>	61
2.4.7	Immobilizzazione C <sub>60</sub> su resina TentaGel HL-NH <sub>2</sub>	62
<b>2.5</b>	<b>Bibliografia</b>	<b>63</b>
<b>Capitolo 3: <math>\alpha</math>-alogenazione selettiva di composti 1,3-dicarbonilici</b>		<b>67-78</b>
<b>3.1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>67</b>
<b>3.2</b>	<b>Risultati e discussione</b>	<b>70</b>
<b>3.3</b>	<b>Conclusioni</b>	<b>73</b>
<b>3.4</b>	<b>Parte Sperimentale</b>	<b>74-77</b>
3.4.1	Strumentazione e procedure analitiche	74
3.4.2	Procedura generale per la reazione di $\alpha$ -alogenazione in MR	75
<b>3.5</b>	<b>Bibliografia</b>	<b>78</b>
<b>Capitolo 4: Sintesi di Midazolam</b>		<b>79-100</b>
<b>4.1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>81</b>
4.1.1	Benzodiazepine	81
4.1.2	Midazolam	87
<b>4.2</b>	<b>Risultati e discussione</b>	<b>92-94</b>
4.2.1	Studio di una via di sintesi alternativa di Midazolam	92
<b>4.3</b>	<b>Conclusioni</b>	<b>94</b>
<b>4.4</b>	<b>Parte Sperimentale</b>	<b>95-99</b>
4.4.1	Materiali	95
4.4.2	Strumentazione e procedure analitiche	95
4.4.3	Sintesi di DOR-AA ( <b>27</b> )	96
4.4.4	Decarbossilazione termica batch di ( <b>27</b> )	98
4.4.5	Decarbossilazione termica di ( <b>27</b> ) in MR	98
<b>4.5</b>	<b>Bibliografia</b>	<b>100</b>
<b>Capitolo 5: Reazioni di epossidazione mediate da diossirani</b>		<b>101-132</b>
<b>5.1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>103</b>
<b>5.2</b>	<b>Risultati e discussione</b>	<b>108</b>

---

5.2.1	Eossidazione batch	108
5.2.2	Eossidazione in microreattore	112
5.2.3	Sintesi dell'1,2-epossi-3-(2-metossifenossi)propano ( <b>9</b> )	114
5.2.4	Sintesi dell'epicloridrina ( <b>18</b> ) in microreattore	117
5.2.5	O-alchilazione del 2-metossifenolo ( <b>11</b> )	119
5.2.6	Eossidazione di CBZ ( <b>19</b> ) a ECBZ ( <b>20</b> )	122
<b>5.3</b>	<b>Conclusioni</b>	126
<b>5.4</b>	<b>Parte Sperimentale</b>	127-130
5.4.1	Solventi e reagenti	127
5.4.2	Strumentazioni e procedure analitiche	128
5.4.3	Procedura generale per l'eossidazione batch in modalità eterogenea	129
5.4.4	Procedura generale per l'eossidazione batch in modalità omogenea	130
5.4.5	Procedura generale per la reazione in microreattore	130
<b>5.5</b>	<b>Bibliografia</b>	131
<b>Conclusioni</b>		133
<b>Ringraziamenti</b>		137

Il progetto di questa tesi di dottorato ha riguardato lo studio di nuove sintesi in microreattore di molecole di interesse farmaceutico ed è stato finanziato e svolto in collaborazione con *Fabbrica Italiana Sintetici* (FIS S.p.a), con sede a Montecchio Maggiore (Vicenza).

Il lavoro svolto in questi anni di dottorato mi ha permesso di valutare le caratteristiche e le possibili applicazioni di una nuova classe di reattori, definiti comunemente microreattori (MR), ossia sistemi in cui le reazioni avvengono in modo continuo all'interno di una rete di canali di diametro inferiore a 1 millimetro.

Tali dispositivi possono essere una risposta alla necessità, in questi anni ormai impellente, di sviluppare processi non invasivi per l'ambiente e allo stesso tempo economicamente vantaggiosi.

I MR rappresentano una possibile soluzione a molti dei problemi operativi connessi all'utilizzo dei tradizionali dispositivi *batch*. Infatti, l'elevato rapporto area superficiale-volume garantisce un miglioramento della resa e della selettività delle reazioni dovute al miglioramento dell'efficienza del mescolamento e del controllo della temperatura.

Lavorare con quantità ridotte di sostanze permette poi di condurre in relativa sicurezza anche sintesi finora evitate per la pericolosità dei reagenti impiegati.

Nel presente lavoro di tesi è stata valutata l'applicabilità dei MR in reazioni che richiedono l'uso di reagenti pericolosi o instabili perché facilmente degradabili.

L'uso di MR si è rivelato efficace nell' $\alpha$ -alogenazione selettiva del composto dicarbonilico 3,5-eptandione utilizzando cloruro di solforile ( $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ ) come agente clorurante. L'impiego di un dispositivo a flusso continuo riduce la pericolosità del processo perché l' $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ , agente tossico e altamente corrosivo, viene utilizzato in piccole quantità in un sistema confinato.

Inoltre, l'uso di due MR in serie si è rivelato efficace nella riduzione della quantità di prodotto bis-alogenato generata.

Un semplice dispositivo microfluidico, costruito a partire da un tubo in PTFE, si è rivelato efficiente nell'ottimizzazione del passaggio finale della sintesi di Midazolam, importante benzodiazepina ad azione ultrabreve utilizzata principalmente in campo



# RIASSUNTO

---

anestetico. I risultati ottenuti sono stati raccolti in un brevetto la cui stesura è attualmente in corso.

È stata inoltre studiata l'eossidazione in flusso continuo di substrati olefinici con diossirani generati *in situ* a partire da acetone ed Oxone. La reazione si è rivelata efficiente per eossidare una serie di olefine caratterizzate da una diversa reattività del doppio legame all'attacco elettrofilo del diossirano.

Durante il dottorato è stata anche sviluppata una tecnica per la progettazione e realizzazione di MR in tempi brevi e con attrezzature facilmente reperibili.

I MR da noi realizzati sono dispositivi ibridi in vetro e materiale polimerico realizzati con litografia ottica basata su un processo di fotopolimerizzazione in cui la rete di microcanali disegnata su una maschera viene trasferita al materiale polimerico fotosensibile mediante esposizione a luce UV.

La tecnica riportata in letteratura per la costruzione di tali MR è stata da noi migliorata sviluppando un sistema nuovo di connessione dei microcanali con i sistemi di distribuzione dei fluidi. Sono state inoltre sviluppate architetture opportune che hanno permesso di confinare reagenti e solidi all'interno del microreattore a fini catalitici.

I reattori così costruiti sono stati impiegati per condurre alcune reazioni modello di ossidazione con ossigeno singoletto ( $^1\text{O}_2$ ) che è stato generato *in situ* utilizzando come fotosensibilizzatori derivati fullerenici sia in fase omogenea sia in fase eterogenea.

I risultati ottenuti in quest'ultimo studio di fotoossidazione sono stati raccolti nell'articolo: Donnola, P.; Carofiglio, T.; Maggini, M.; Rossetto, M.; Rossi, E.; "Fullerene-Promoted Singlet Oxygen Photochemical Oxygenation in Glass-Polymer Microstructured Reactors" pubblicato su *Advanced Synthesis and Catalysis* (2008, 350, 2815-2822)<sup>1</sup>.

1. P. Donnola, T. Carofiglio, M. Maggini, M. Rossetto and E. Rossi, *Adv. Synth. Catal.*, 2008, **350**, 2815.

Organic synthesis is a powerful enterprise that continues to develop more selective and efficient chemical methods and synthetic routes.

To synthesize complex molecules, whether in academic laboratories or industrial manufacturing, reactions are often performed iteratively in batch reactors. Although these stepwise methods are effective, they are also very wasteful. The pharmaceutical industry, for example, produces 25–100 kg of waste for every kilogram of a complex molecule synthesized.

Though chemists are constantly striving to devise more efficient syntheses, recent reminders of a resource-limited world underscore the need for more sustainable methods and technologies to synthesize molecules of importance.

The application of new technologies, such as microreactors (MR), to organic synthesis can be used to achieve this goal, because MR can be considered as promising tools for studying and optimization of chemical reactions.

A MR is generally defined as a series of interconnecting channels in which small quantities of reagents are manipulated.

The continuous mode of operation offers several advantages over a batch process such as simplified operations, reduced reaction time, precise process control, higher reproducibility, and in some cases, even enhanced reaction selectivity. Hazardous intermediates can be prepared and converted directly to more advanced non-hazardous products.

In addition to the above benefits, MR offer their own unique advantages over traditional continuous processing systems including highly efficient heat transfer and small reaction volumes that allow safer handling of exothermic reactions, reactions involving explosive and toxic materials, and other hazardous reactions that are normally difficult to scale up. Making increased amounts of materials becomes a matter of simply “*numbering up*” the microreactor systems.

In this thesis work we demonstrated the successful use of the MR in several classes of reactions and developed continuous processes for the synthesis of desired molecules.

# ABSTRACT

---

Moreover, the synthesis studied in this thesis proved that among the many benefits derived from MR, safety is a major one. Chemicals that are dangerous to manufacture, handle, ship, or store can be produced in small quantities on-site, as needed.

In particular, we have shown that MR can be useful in the selective  $\alpha$ -halogenation of 1,3-dicarbonyl compounds with sulphuryl chloride ( $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ ) and in the epoxidation of different model olefines with dioxiranes generated *in situ*.

MR have also proven to be useful to perform the thermal decarboxylation of an important intermediate in the synthesis of a top-selling API. The use of a continuous-flow technique allowed a better control of the reaction temperature and minimized the formation of by-products.

Also, the doctorate thesis we improved the fabrication protocol of thiolene-based MR that were specifically designed to include solid-supported reagents within the microchannels network. We propose a convenient solution to realize reversible press-fit, leak-proof interconnects that greatly simplify the MR coupling to the external environment such as capillary tubing, sample reservoirs and pumps. These MR have been used to carry out the oxidation of  $\alpha$ -terpinene and methionine using [60]fullerene derivatives as a singlet oxygen sensitizer, covalently linked to Tentagel and silica matrices, as a singlet oxygen sensitizer. Interestingly, in the case of methionine, a quantitative conversion to the corresponding sulfoxides was achieved in about 40 seconds, using low power, white LED illumination. The reaction time is considerably shorter when compared to the batch procedure that requires, for the same process, about one hour illumination and the use of a 300 W tungsten halogen lamp.

The results collected in the photooxygenation of these model substrates have been collected in the paper: Donnola, P.; Carofiglio, T.; Maggini, M.; Rossetto, M.; Rossi, E.; **“Fullerene-Promoted Singlet-Oxygen Photochemical Oxygenation in Glass-Polymer Microstructured Reactor”**, published on **Advanced Synthesis and Catalysis** (2008, 350, 2815-2822)<sup>1</sup>.

1. P. Donnola, T. Carofiglio, M. Maggini, M. Rossetto and E. Rossi, *Adv. Synth. Catal.*, 2008, **350**, 2815.

<b>MR</b>	reattori microfluidici
<b>GC</b>	gas cromatografia
<b>HPLC</b>	cromatografia liquida ad alta pressione
<b>CE</b>	elettroforesi capillare
<b>DNA</b>	acido desossiribonucleico
<b>R<sub>e</sub></b>	numero di Reynolds
<b>P<sub>e</sub></b>	numero di Peclet
<b>C<sub>a</sub></b>	numero capillarico
<b>PDMS</b>	polidimetilsilossano
<b>PTFE</b>	politetrafluoroetilene
<b>PEEK</b>	polietere etere chetone
<b>NMP</b>	<i>N</i> -metil-2-pirrolidone
<b>Et<sub>3</sub>N</b>	triethylammina
<b>Sens</b>	fotosensibilizzatore
<b><sup>1</sup>Sens</b>	fotosensibilizzatore eccitato allo stato di singoletto
<b><sup>3</sup>Sens</b>	fotosensibilizzatore eccitato allo stato di tripletto
<b>ISC</b>	intersystem crossing
<b>NCS</b>	<i>N</i> -clorosuccinimide
<b>MTBE</b>	metil <i>ter</i> -butil etere
<b>BDZ</b>	benzodiazepine
<b>GABA</b>	acido $\gamma$ -aminobutirrico
<b><i>n</i>-BuOH</b>	<i>n</i> -butanolo
<b>t<sub>R</sub></b>	tempo di ritenzione
<b>MeOH</b>	metanolo
<b>P<sub>f</sub></b>	punto di fusione
<b><i>m</i>-CPBA</b>	acido <i>m</i> -cloroperbenzoico
<b><i>t</i>-BuOOH</b>	<i>ter</i> -butil perossido
<b>DMD</b>	dimetildiossirano
<b>TFD</b>	metil(trifluorometil)diossirano
<b>TFAc</b>	trifluoroacetone
<b>Na<sub>2</sub>EDTA</b>	sale disodico dell'acido etilendiamminotetraacetico
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>EMA</b>	European Medicines Agency
<b>CHMP</b>	Committee for Medicinal Products for Human Use

## *Abbreviazioni*

---

<b>EtOH</b>	etanolo
<b>CBZ</b>	Carbamazepina
<b>ECBZ</b>	Carbamazepina Epossido
<b>OXCBZ</b>	Oxcarbazepina
<b>AcOOH</b>	Acido perossiacetico

# **Capitolo 1**

Introduzione alla microfluidica

## 1.1 Introduzione

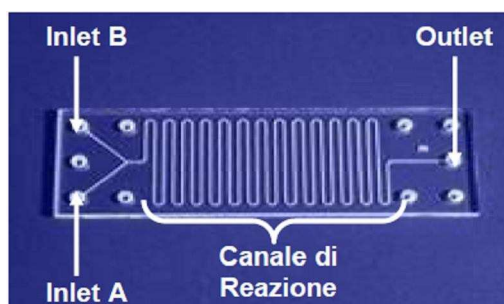
La chimica moderna è una scienza in continua evoluzione. La chimica organica, in particolare, in 200 anni di sviluppo ha accumulato una vasta gamma di tecniche analitiche e metodologie di sintesi che vengono applicate, con esiti a volte molto diversi, dal piccolo laboratorio di ricerca al grande impianto industriale. Alcune di queste tecniche vanno però riviste alla luce della considerazione posta a temi importanti come la difesa dell'ambiente e il risparmio energetico.

È stato infatti stimato che nell'industria farmaceutica per ogni chilogrammo (Kg) di intermedio farmacologicamente attivo generato vengono prodotti 25-100 Kg di scarti con conseguenti problemi di inquinamento e costi elevati di smaltimento<sup>1,2</sup>.

Pertanto, la necessità di sviluppare processi meno invasivi per l'ambiente ed economicamente vantaggiosi ha favorito lo sviluppo di tecniche di sintesi innovative<sup>3,4</sup> come ad esempio:

- la sintesi in fase solida;
- l'uso di microonde;
- l'impiego di solventi alternativi (come ad esempio i liquidi ionici);
- e lo sviluppo di nuove tipologie di reattori, e in particolare di reattori microfluidici.

Nell'ambito chimico si definiscono reattori microfluidici, o più semplicemente microreattori (MR), sistemi in cui le reazioni chimiche avvengono in modo continuo all'interno di una rete di canali di diametro inferiore a 1 mm (Fig.1)<sup>5-7</sup>.



**Figura 1.** Schema di un MR commerciale MICRONIT in vetro boro-silicato.

La tecnologia microfluidica nacque negli anni Settanta essenzialmente per applicazioni nel campo della chimica analitica. I primi precursori dei MR possono essere considerate le moderne strumentazioni di analisi di tipo capillare come gas cromatografia (GC),

cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC) e l'elettroforesi capillare (CE), tecniche estremamente efficaci, veloci e in grado di assicurare alta sensibilità e risoluzione consumando solo piccole quantità di analiti.

Le sintesi in continuo permettono di ridurre i costi e i tempi operativi e di monitorare e controllare più efficacemente le reazioni. Inoltre, lavorare con quantità ridotte di sostanze permette di condurre in relativa sicurezza anche sintesi finora evitate per la pericolosità dei reagenti impiegati.

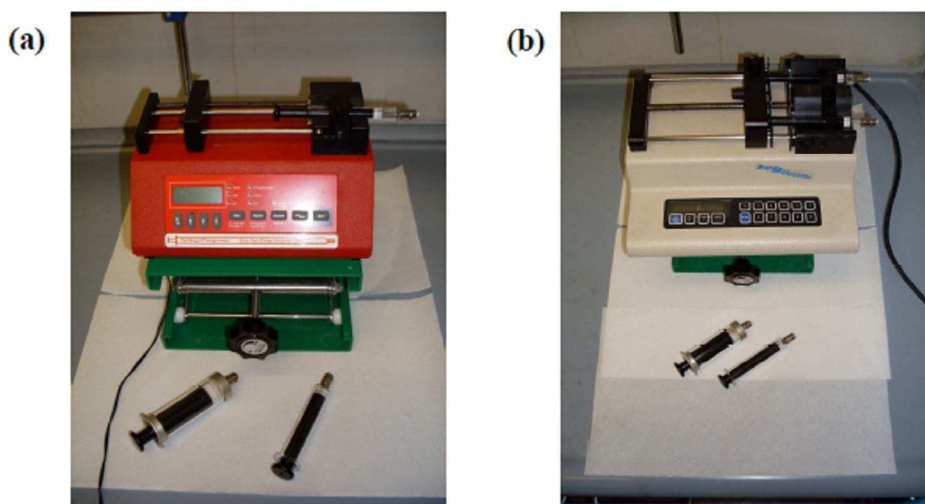
L'applicabilità di un MR in campo chimico è una funzione delle sue dimensioni, delle proprietà chimiche e fisiche dei materiali con cui è costruito, delle modalità di introduzione del solvente e dei reagenti nel dispositivo e delle reazioni studiate.

La microfluidica, infatti, è adatta per:

1. reazioni veloci;
2. reazioni che richiedono un preciso controllo della temperatura al fine di evitare reazioni secondarie;
3. reazioni che in batch sono caratterizzate da una bassa resa e/o selettività a causa dell'inefficienza nel trasferimento di massa o calore, o a causa dell'instabilità dei reagenti o dei prodotti.

### **1.2 Movimento dei fluidi nei microreattori<sup>8</sup>**

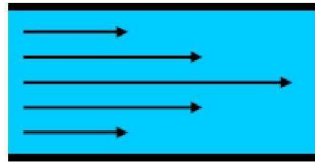
Il flusso tra ingresso ed uscita di un MR viene generalmente ottenuto applicando una leggera pressione positiva in ingresso utilizzando ad esempio pompe a siringa (Fig. 2).



**Figura 2.** Pompe a siringa utilizzate nel presente lavoro di tesi.

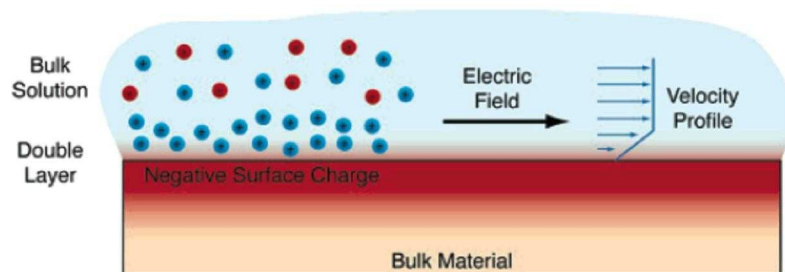


Gli inconvenienti derivanti dall'utilizzo di questo sistema di pompaggio sono la complessità meccanica del sistema, dovuta anche alle dimensioni ridotte, il ritorno di flusso dovuto alla pulsazione della pompa stessa, la scarsità in commercio di pompe in grado di lavorare a bassi regimi di flusso e la non uniformità del profilo della velocità di flusso. All'interno dei microcanali, infatti, il profilo del flusso ha un andamento parabolico che può influire sul tempo di residenza dei reagenti e sulla resa della reazione (Fig. 3).



**Figura 3.** Andamento parabolico del flusso all'interno dei canali del MR<sup>4</sup>.

Un secondo metodo per movimentare i fluidi all'interno dei MR è il flusso elettroosmotico<sup>9, 10</sup>, generato dall'applicazione di una differenza di potenziale all'interno dei microcanali (Fig. 4).



**Figura 4.** Flusso elettroosmotico.

La limitazione di questo tipo di flusso, che rispetto a quello idrodinamico ha il vantaggio di non coinvolgere parti mobili e di essere facilmente miniaturizzato, è quella di essere dipendente dalla concentrazione del soluto, di poter causare trasformazioni e/o separazioni elettrochimiche indesiderate e di richiedere l'uso di solventi polari.

Benché il flusso elettroosmotico si sia rivelato particolarmente efficiente nella separazione del DNA<sup>11</sup>, gli alti potenziali richiesti e l'elevata sensibilità ad eventuali inquinanti della superficie, ne riducono fortemente l'applicazione sostanzialmente a processi di tipo analitico.

### **1.3 Fluidodinamica nei microreattori<sup>12, 13</sup>**

La fisica che descrive il comportamento dei fluidi in moto in canali del diametro dei micrometri è molto diversa da quella che noi conosciamo a livello macroscopico.

Il moto di un fluido all'interno di un canale è descritto dall'equazione di Navier-Stokes. La natura delle forze agenti su un qualsiasi elemento di fluido cambia quando il diametro della condotta diminuisce. In particolare, a dimensioni ridotte, il comportamento dei fluidi è maggiormente influenzato dalle forze viscosive che dalle forze di inerzia.

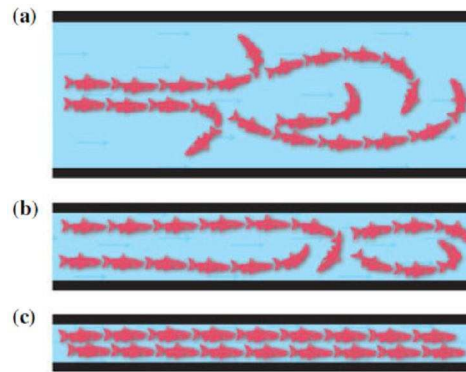
Per descrivere il bilancio tra queste due forze si ricorre al Numero di Reynolds ( $Re$ ), parametro adimensionale che esprime il rapporto fra le forze d'inerzia, capaci di generare un moto caotico del fluido (flusso turbolento), e le forze viscosive, che inducono nei fluidi un moto in piani paralleli (flusso laminare). Il numero di Reynolds viene espresso dalla seguente relazione:

$$Re = \frac{\rho \cdot u \cdot L}{\eta} \quad (\text{Eq. 1})$$

dove  $\rho$  è la densità del fluido,  $u$  la velocità lineare di un elemento di fluido,  $\eta$  la viscosità e  $L$  è una dimensione caratteristica del sistema, ad esempio il diametro nel caso di un fluido in moto all'interno di una condotta.

Empiricamente si evidenzia che per numeri di Reynolds superiori a 2000 si ha un regime di tipo turbolento, con linee di flusso che si intersecano in maniera caotica, causando vortici (Fig. 5 a,b). Questo comporta che il trasferimento di materia ed energia avvenga in direzione perpendicolare alla direzione del moto, da cui derivano il mescolamento e il trasferimento di calore nei sistemi macroscopici.

Al contrario, per valori di  $Re$  inferiori a 2000, si instaura un regime di flusso laminare e il trasferimento di materia avviene esclusivamente per via diffusiva tra i vari piani (Fig. 5c). Poiché nei sistemi microfluidici il numero di Reynolds è generalmente compreso tra  $10^{-6}$  e  $10^2$ , si ha un regime di flusso laminare che influenza drasticamente alcuni dei fenomeni fisici che avvengono nel MR, in particolare il mescolamento.



**Figura 5.** Effetto del diametro del canale sul moto di un fluido. In canali aventi dimensioni superiori ai micrometri **(a,b)** si ha un regime di flusso turbolento dovuto a  $Re > 2000$ ; in canali aventi dimensioni nell'ordine dei micrometri **(c)** si hanno invece  $Re < 2000$  che determinano pertanto un regime di flusso laminare<sup>14</sup>.

## 1.4 Mescolamento nei microreattori<sup>15, 16</sup>

### 1.4.1 Mescolamento di fluidi miscibili

Poiché in un MR ci troviamo in un regime di flusso laminare, l'unico meccanismo disponibile per il mescolamento dei reagenti è la diffusione.

Per illustrare questo concetto, consideriamo, a titolo di esempio, una semplice giunzione a T del tipo mostrato in Figura 6, nella quale si incontrano due fluidi miscibili tra loro<sup>17</sup>. Si tratta di un sistema considerato passivo, ovvero che sfrutta le proprietà geometriche dei canali per massimizzare l'area di contatto attraverso la quale può avvenire la diffusione. Poiché il processo è governato dalle leggi della diffusione di Fick, conoscendo proprietà come temperatura, pressione e caratteristiche fisiche dei fluidi, è possibile prevedere la dinamica di mescolamento, cosa molto più complicata in un sistema in regime di flusso vorticoso.

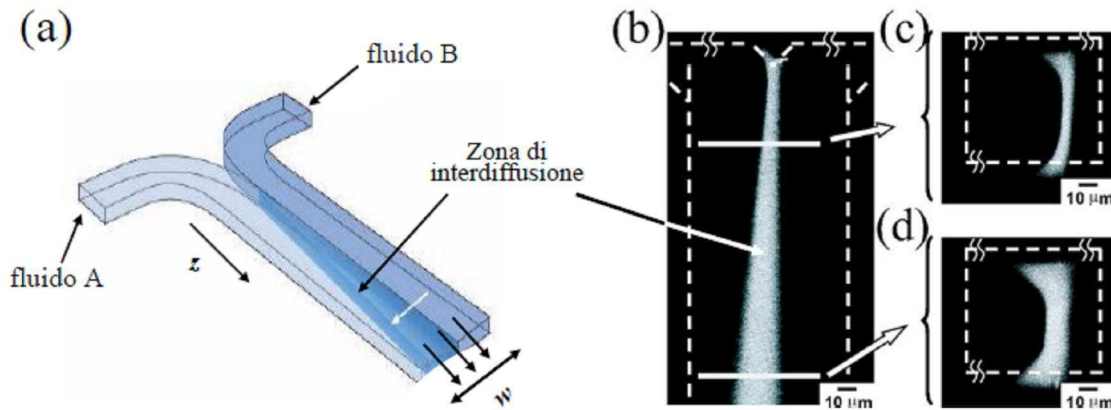
Il tempo ( $\tau_D$ ) impiegato da un soluto per diffondere lungo tutta la larghezza del canale di larghezza  $w$ , è proporzionale al quadrato di tale larghezza:

$$\tau_D \approx w^2/D \quad (\text{Eq. 2})$$

dove  $D$  è il coefficiente di diffusione del soluto stesso.

In questo tempo il fronte del fluido avrà percorso una distanza  $Z$  pari a:

$$Z \sim u w^2/D \quad (\text{Eq. 3})$$



**Figura 6.** Esempio di giunzione a T per il mescolamento di fluidi miscibili. All'interfaccia si crea una zona di interdiffusione dove avviene il mescolamento<sup>13, 17</sup>.

Di conseguenza, il “numero di diametri” necessario al completo mescolamento sarà dato da:

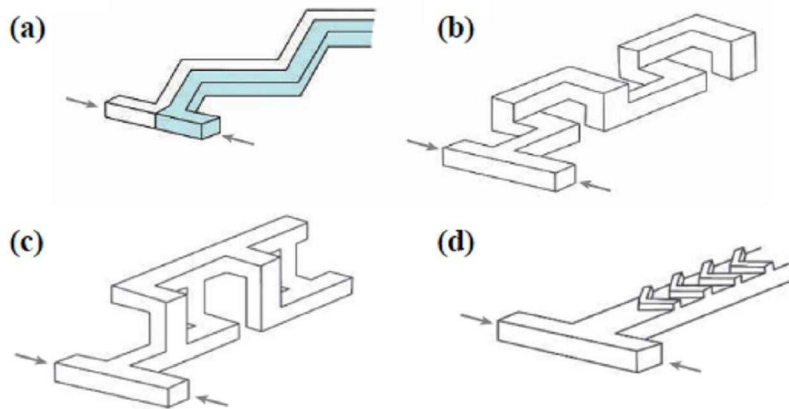
$$\frac{Z}{w} \approx \frac{uw}{D} \equiv Pe \quad (\text{Eq. 4})$$

$Pe$  è un altro parametro adimensionale noto come Numero di Peclet ed esprime l'importanza relativa dei processi di mescolamento convettivi rispetto a quelli diffusivi. A livello macroscopico la diffusione rappresenta spesso un fattore limitante della velocità di reazione in quanto altamente inefficiente, essendo molto più lenta del mescolamento per convezione.

In un MR, invece, il mescolamento per diffusione è veloce ed efficiente perché l'elevato rapporto area superficiale-volume mette a disposizione una grande area interfacciale che consente un rapido trasferimento di specie tra gli elementi di fluido eliminando in tempi brevi i gradienti di concentrazione.

In alcuni casi però la lunghezza del canale ed il tempo di mescolamento ottimali per ottenere un mescolamento completo sono troppo lunghi. È pertanto necessario generare un moto caotico all'interno del fluido, in modo da promuovere un mescolamento più rapido<sup>18</sup>.

Tale moto turbolento è indotto con metodi passivi: le turbolenze vengono generate dall'interazione del fluido in scorrimento con elementi fissi, come ad esempio scanalature con orientazioni diverse, presenti lungo il percorso (Fig. 7). Si generano in questo modo dei flussi secondari trasversali che a loro volta generano moti turbolenti incrementando la velocità di mescolamento<sup>19</sup>.



**Figura 7.** Metodi passivi per generare un moto turbolento all'interno di un canale microfluidico<sup>15</sup>.

#### 1.4.2 Mescolamento di fluidi non miscibili<sup>20</sup>

Nel caso di fluidi non miscibili il mescolamento non avviene per diffusione ma attraverso la generazione di gocce all'interno delle quali possono avvenire reazioni chimiche<sup>21, 22</sup>.

In assenza di tensioni interfaciali due fluidi non miscibili scorrerebbero paralleli lungo il canale; tuttavia l'elevato rapporto superficie/volume che si realizza nei MR aumenta l'importanza della tensione superficiale e tende a diminuire l'area di contatto. Di contro le forze viscosi allargano e deformano le interfacce lungo le linee di flusso. L'azione di queste due opposte tendenze destabilizza la superficie di contatto tra i due fluidi producendo microbolle regolari e di raggio  $R$  definito, calcolabile considerando l'equilibrio tra effetti viscosi e superficiali:

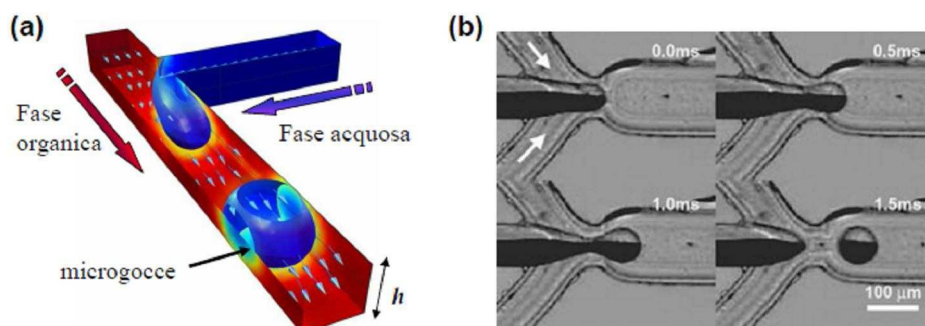
$$R \approx \frac{\gamma}{\eta u} h = \frac{h}{Ca} \quad (\text{Eq. 5})$$

$\eta$  rappresenta la viscosità,  $\gamma$  la tensione superficiale,  $u$  la velocità lineare del fluido e  $h$  l'ampiezza del canale.  $Ca$  è un parametro adimensionale detto Numero Capillare che esprime il bilancio tra le forze viscosi e le forze superficiali agenti all'interfaccia tra i fluidi.

La possibilità di generare gocce in modo controllato può essere molto utile in quanto ogni singola goccia può agire da MR a pareti permeabili all'interno del quale possono avvenire reazioni in modo veloce e controllato.

Per favorire la generazione di treni regolari di bolle all'interno dei canali di reazione sono state studiate geometrie particolari delle giunzioni di mescolamento.

Tra queste le più utilizzate sono una semplice geometria a T<sup>21</sup> (Fig. 8a) e una geometria convergente definita anche giunzione a tridente (Fig. 8b).



**Figura 8.** Geometrie utilizzate per la generazione di treni regolari di bolle in un microcanale. **(a)** geometria a T; **(b)** geometria convergente (*giunzione a tridente*)<sup>14</sup>.

### 1.5 Vantaggi dei microreattori rispetto ai sistemi batch<sup>7, 23-26</sup>

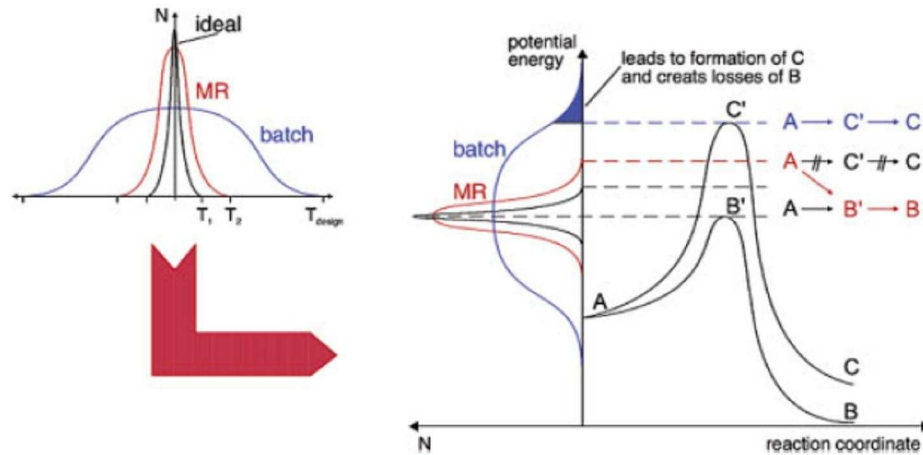
Attualmente la strumentazione chimica più importante e diffusa è il classico reattore discontinuo a mescolamento meccanico (*reattore batch*).

La difficoltà di controllo di molti processi condotti in questo tipo di reattori impone all'industria chimica di evitare reazioni molto esotermiche impiegando accorgimenti specifici per limitare la velocità di reazione come, ad esempio, l'aggiunta lenta dei reagenti e la diluizione con conseguente spreco di tempo, una ridotta produttività e un ampio impiego di solventi. Reazioni che in laboratorio si dimostrano efficienti ma rischiose spesso non vengono considerate a livello industriale<sup>7</sup>.

Una delle principali limitazioni delle reazioni condotte in batch riguarda l'inefficienza del sistema di mescolamento. Infatti, il mescolamento meccanico dei grandi reattori, per quanto tecnicamente molto avanzato e spesso migliore rispetto al piccolo apparato di laboratorio, non evita completamente situazioni di disomogeneità per cui non tutto il sistema viene mescolato efficacemente. Ciò può comportare accumulo di materiale e tempi effettivi di reazione che tendono a favorire reazioni parassite con conseguente aumento del rischio e diminuzione della resa.

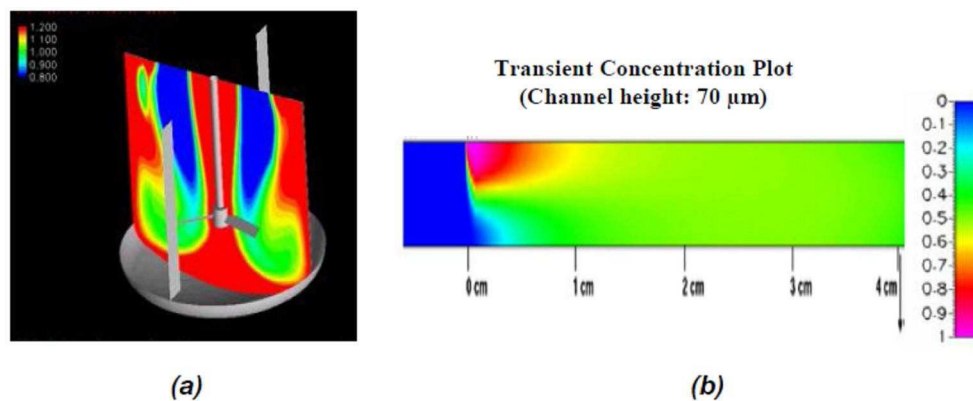
Altro inconveniente delle reazioni batch riguarda la dispersione termica. Scaldare e raffreddare una miscela di reazione è un passaggio importante e delicato che, se non adeguatamente controllato, può consentire reazioni secondarie anche esplosive. Nei reattori batch classici il trasferimento termico è spesso poco efficiente a causa della

ridotta superficie di scambio disponibile. Può essere possibile la formazione di gradienti termici e punti di accumulo del calore (*hot-spots*) che impediscono un controllo efficace della reazione. Come si può notare dalla Figura 9, infatti, l'ampia distribuzione di temperatura nei reattori batch rende accessibili cammini di reazione alternativi che causano la conversione parziale dei reagenti nei prodotti desiderati.



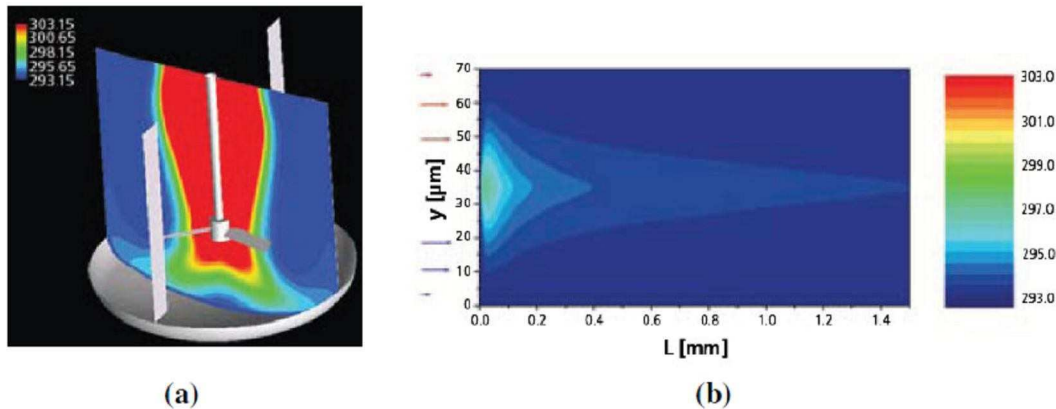
**Figura 9.** Il grafico di sinistra mette a confronto la distribuzione ideale della temperatura di un'ipotetica reazione (nero) e la distribuzione di temperatura nei sistemi batch (blu) e MR (rosso). A destra lo stesso grafico è confrontato con i possibili cammini di reazione. L'ampia distribuzione di temperatura delle reazioni batch fornisce al sistema energia sufficiente perché possano avvenire reazioni parassite con formazione di sottoprodotti e riduzione della resa. In MR, invece, la ristretta distribuzione di temperatura riduce la possibilità che si inneschino reazioni secondarie, favorendo pertanto la formazione del prodotto di reazione desiderato<sup>14</sup>.

Nei MR l'elevato rapporto area superficiale-volume favorisce rese migliori e più elevate in seguito ad un mescolamento più efficace e ad un controllo della temperatura più preciso (Fig. 10).



**Figura 10.** (a) mescolamento in un tradizionale reattore batch; (b) mescolamento in un MR.<sup>27, 28</sup>

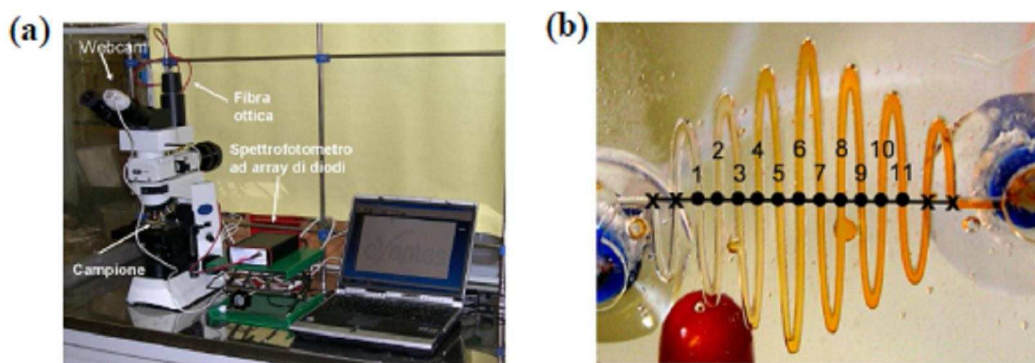
L'ampia superficie disponibile per lo scambio di calore nei MR migliora l'efficienza di trasferimento termico<sup>29</sup> evitando la formazione di *hot-spots* all'interno della miscela di reazione e riducendo quindi la possibilità che si verifichino reazioni secondarie (Fig. 11)<sup>30</sup>.



**Figura 11.** (a) distribuzione del calore in un tradizionale reattore batch; (b) distribuzione del calore in un MR. In un tradizionale reattore batch il trasferimento di calore è ottimale solo nelle zone più esterne. Nei MR le ridotte dimensioni dei microcanali velocizzano lo scambio termico in conseguenza dell'aumento del rapporto area superficiale-volume<sup>28</sup>.

È importante sottolineare come sia possibile condurre reazioni multistadio<sup>31-33</sup> mettendo in serie diversi MR o addirittura integrando più elementi su un singolo chip.

Inoltre è poi possibile seguire facilmente on-line l'andamento delle reazioni mediante, ad esempio, tecniche spettrofotometriche in punti specifici della rete dei microcanali del MR (Fig. 12).



**Figura 12.** (a) dispositivo microspettrofotometrico ottenuto interfacciando con una fibra ottica un microscopio ottico confocale e una serie di diodi; (b) canale di reazione con evidenziati i punti in cui è stata effettuata la lettura spettrofotometrica (strumentazione presente nel laboratorio di microfluidica in cui è stato condotto il presente lavoro di tesi).

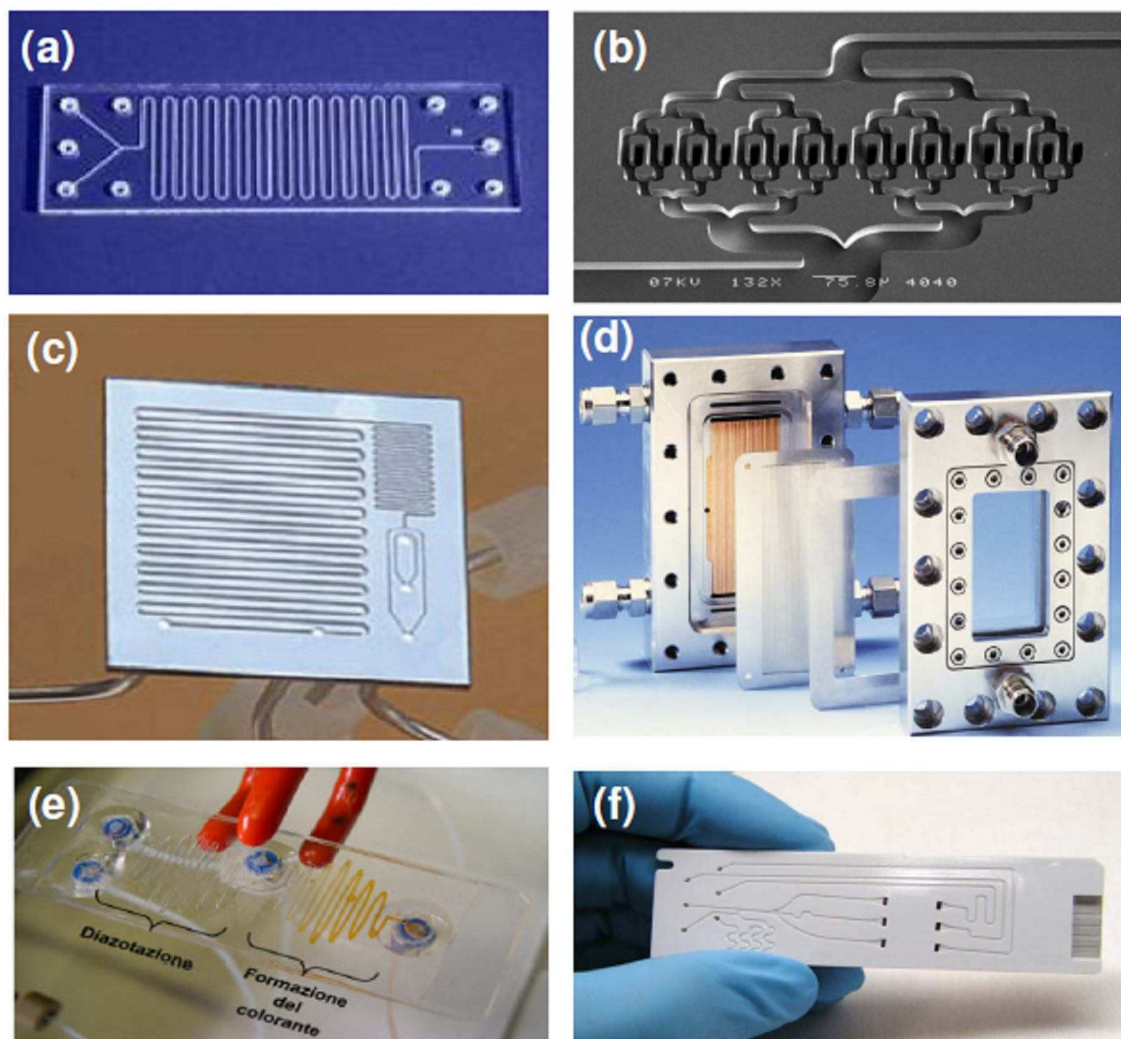


## 1.6 Tipologie di microreattori<sup>34, 35</sup>

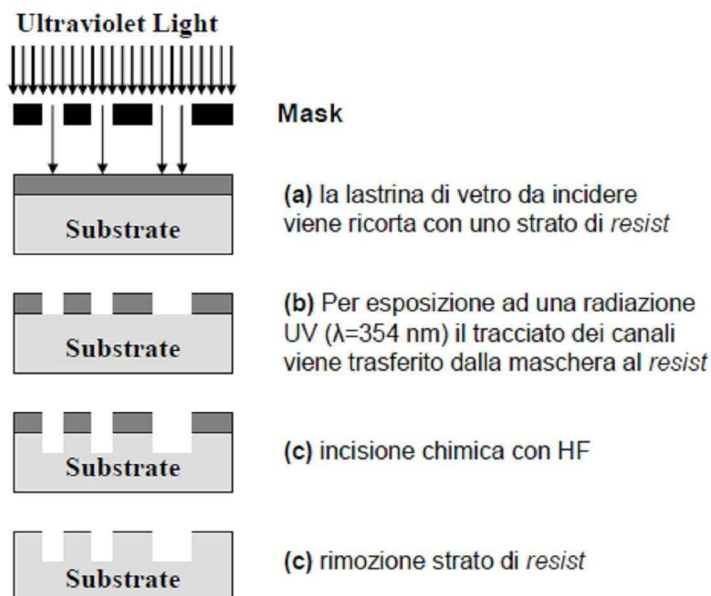
Negli ultimi anni sono state messe a punto numerose metodologie per la fabbricazione di MR, alcune delle quali sono già state commercializzate.

Per la realizzazione di MR sono stati utilizzati vari materiali tra cui vetro, silicio, acciaio inossidabile e materiali polimerici (Fig. 13)<sup>36, 37</sup>.

Tra questi il vetro è quello che viene comunemente utilizzato nella pratica di laboratorio perché è chimicamente inerte alla maggior parte di solventi e reagenti e, grazie alla sua trasparenza, permette di seguire visivamente il progredire delle reazioni<sup>6, 38</sup>. Inoltre, il basso coefficiente di espansione termica del vetro fa sì che possa essere utilizzato anche a temperature elevate.



**Figura 13.** Tipologie di MR: (a) MR in vetro; (b,c) MR in silicio; (d) MR in acciaio<sup>39</sup>; (e,f) MR in materiale polimerico.



**Figura 14.** Costruzione dei microcanali di un MR in vetro attraverso fotolitografia ed incisione chimica (*etching*).

Le tecniche maggiormente utilizzate per la costruzione di MR in vetro sono la fotolitografia e l'*etching* chimico isotropico: il tracciato dei canali viene trasferito da una maschera a un sottile strato di materiale fotosensibile (chiamato *resist*) e poi al vetro mediante *etching* selettivo con acido fluoridrico (Fig. 14)<sup>38,40</sup>.

Le applicazioni di questi dispositivi sono molto varie e spaziano dalla sintesi peptidica, alle reazioni di nitratura, idrogenazione, ossido-riduzione, condensazioni di Claisen e reazioni fotochimiche.

Anche il silicio è stato utilizzato per la costruzione di MR. Tuttavia, benché questo abbia proprietà chimiche molto simili a quelle del vetro, questo tipo di MR trovano oggi impiego limitato, in quanto sono preferiti i più semplici ed economici reattori in vetro.

I MR in acciaio inossidabile sono usati soprattutto per la sintesi su larga scala in ambito industriale (Fig. 15)<sup>39</sup>.

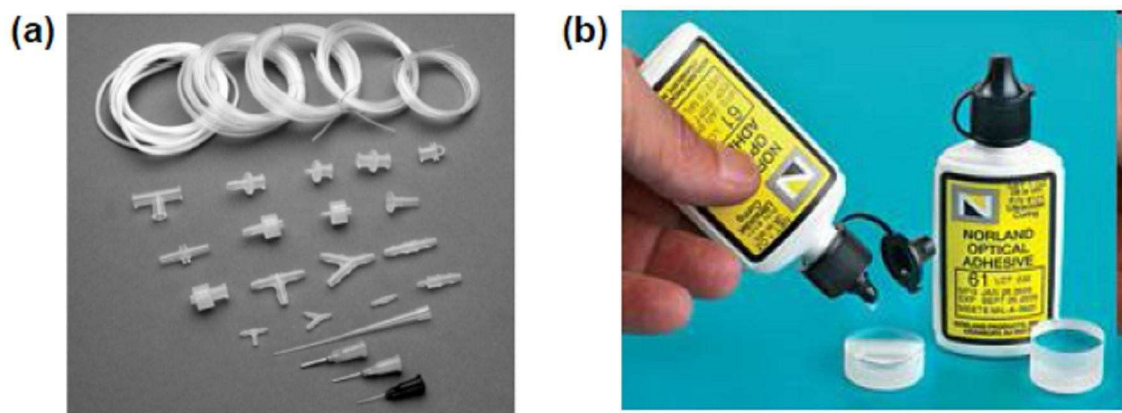


**Figura 15.** Esempi di microreattori in acciaio<sup>4</sup>.

Lo sviluppo della microingegneria di precisione ha permesso lo sviluppo di numerose tecniche di costruzione per i MR in acciaio. In particolare, mediante tecniche di microformatura a caldo, si costruisce il reattore su uno stampo modello dei canali che può essere realizzato per via meccanica o con la tecnica L.I.G.A (acronimo per **L**ithographic **G**alvano**f**ormung **A**bformung): mediante fotolitografia si trasferisce il tracciato voluto su un *resist*, che viene utilizzato poi per produrre uno stampo mediante elettrodeposizione; il vantaggio di queste tecniche è che lo stampo realizzato può essere usato più volte per una produzione in massa. Sono impiegate anche le tecniche di incisione meccanica diretta, l'incisione *laser* e l'*etching* chimico del metallo<sup>36</sup>.

I MR in acciaio sono utilizzati per condurre svariate reazioni, tra le quali troviamo cicloaddizioni, nitrazioni, acilazioni, alchilazioni, idroborazioni, reazioni di Wittig, Mitsunobu, idrogenazioni selettive e deidrogenazioni.

I MR in materiale polimerico sono poco costosi e abbastanza semplici da produrre in laboratorio a partire da semplici tubi di Teflon e giunzioni come quelle usate nella tecnica HPLC e prepolimeri liquidi (Fig. 16)<sup>41</sup>.



**Figura 16.** Esempi di materiale utilizzabili per la costruzione di MR polimerici. **(a)** tubi in Teflon®; **(b)** prepolimero liquido fotosensibile<sup>4, 42, 43</sup>.

La scarsa stabilità meccanica, la bassa conducibilità termica e l'intolleranza verso la maggior parte dei comuni solventi organici (che possono provocare fenomeni di rigonfiamento del polimero e di solubilizzazione dello stesso con conseguente contaminazione della miscela di reazione), ne riducono l'applicabilità ad una ristretta gamma di reazioni. Tuttavia la grande varietà di monomeri polimerizzabili disponibili in commercio rendono i MR in materiale polimerico una valida alternativa a quelli in vetro o in silicio quando le condizioni operative lo consentono.

La tecnica di costruzione dei MR polimerici viene definita anche *Rapid* o *Fast Prototyping*, in quanto permette di ottenere rapidamente, e senza l'uso di tecniche complesse, un reattore modello da utilizzare per individuare la geometria dei canali più opportuna e le condizioni di una reazione. Una volta che la reazione è stata ottimizzata si costruisce il reattore in vetro o in acciaio più robusto e versatile. I materiali polimerici più usati sono il polidimetilsilossano (PDMS) e le resine tioleniche, in quanto i rispettivi prepolimeri sono liquidi e facilmente manipolabili.

I dispositivi in PDMS vengono generalmente costruiti per polimerizzazione a caldo del prepolimero liquido attorno a uno stampo dei microcanali preparato mediante tecniche litografiche. Le resine tioleniche invece hanno il vantaggio di non necessitare di stampi, in quanto la geometria dei canali viene trasferita direttamente al polimero fotosensibile. Vedremo ora più nel dettaglio le caratteristiche di questa tecnica, essendo stata utilizzata per questo lavoro di tesi.

### **1.7 Costruzione di microreattori in materiale polimerico**

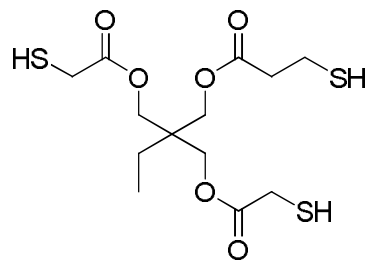
I MR realizzati in questo lavoro di tesi sono dispositivi polimerici ibridi in vetro e materiale polimerico realizzati con un processo di fotopolimerizzazione in cui la rete di microcanali disegnata su una maschera viene trasferita al materiale polimerico fotosensibile mediante esposizione a luce UV<sup>44</sup>.

Fra la gamma di monomeri fotopolimerizzabili disponibili in commercio, è stato utilizzato un prepolimero liquido a bassa viscosità commercializzato dalla Norland Optical Adhesive con il nome NOA81 (Tabella 1).

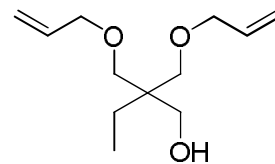
Il NOA81 è un prepolimero tiolenico (Fig. 17) che per irraggiamento UV fotopolimerizza rapidamente per mezzo di un meccanismo radicalico (Schema 1)<sup>45-47</sup> in un materiale resistente e otticamente trasparente, compatibile con i solventi organici comunemente utilizzati, eccezion fatta per i solventi clorurati in presenza dei quali si osservano fenomeni di rigonfiamento del polimero e delaminazione del dispositivo stesso (Tabella 2)<sup>42, 48</sup>.

**Tabella 1.** Principali proprietà fisiche della resina tiolenica utilizzata per la costruzione dei MR polimerici

Adesione al vetro	Ottima
Adesione a materiali metallici	Buona
Adesione a materiali polimerici	Scarsa
Viscosità a 25 °C	0.3 Pa s <sup>-1</sup>
Colore	Trasparente
Indice di rifrazione	1.56

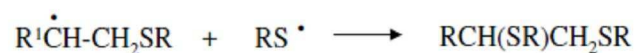
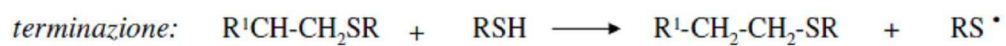
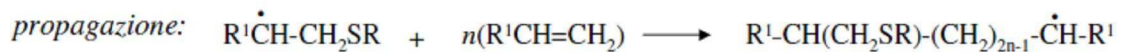
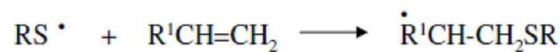


trimetilolpropano tris(2-mercaptoacetato)



trimetilolpropano diallil etere

**Figura 17.** Monomeri usati nella formulazione della resina tiolenica NOA81.



**Schema 1.** Rappresentazione schematica del meccanismo di polimerizzazione radicalica tra un tiolo organico e un derivato vinilico. Per generare il radicale RS<sup>•</sup> viene impiegato un fotoiniziatore in grado di generare una specie radicalica.

**Tabella 2.** Resistenza del materiale tiolenico polimerizzato agli agenti chimici.

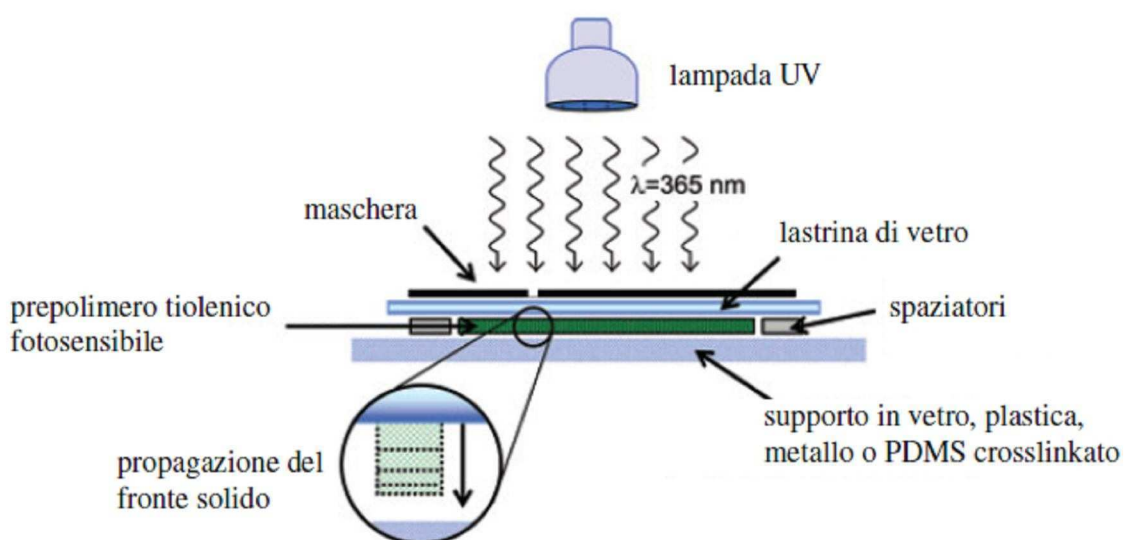
Sostanza	Esposizione diretta per 1 h <sup>a</sup>	Esposizione indiretta per 24 h <sup>b</sup>
Acido Solforico 10% Acido Acetico 5% Acido Fosforico 5% Acqua	Nessun effetto	Nessun effetto
NaOH 10%	dissoluzione	dissoluzione
NaOH 1% Trisodio fosfato 5% Sodio carbonato 5% Sodio borato 5%	rammollimento	Nessun effetto
Esano, metanolo, toluene, metilchetone, tricloroetilene	Nessun effetto	Nessun effetto
Dimetilformammide, acetone, dicloroetile	rammollimento	Nessun effetto

<sup>a</sup> per esposizione diretta si intende che una pellicola di resina tiolenica rimanga in contatto con il solvente;

<sup>b</sup> per esposizione indiretta si considera di far scorrere il solvente all'interno di un microreattore polimerico.

Secondo la procedura descritta in letteratura<sup>42, 49</sup>, il materiale tiolenico viene steso fra due vetrini in modo da formare un film sottile il cui spessore è determinato dallo spessore di alcuni spaziatori in plastica inseriti tra essi.

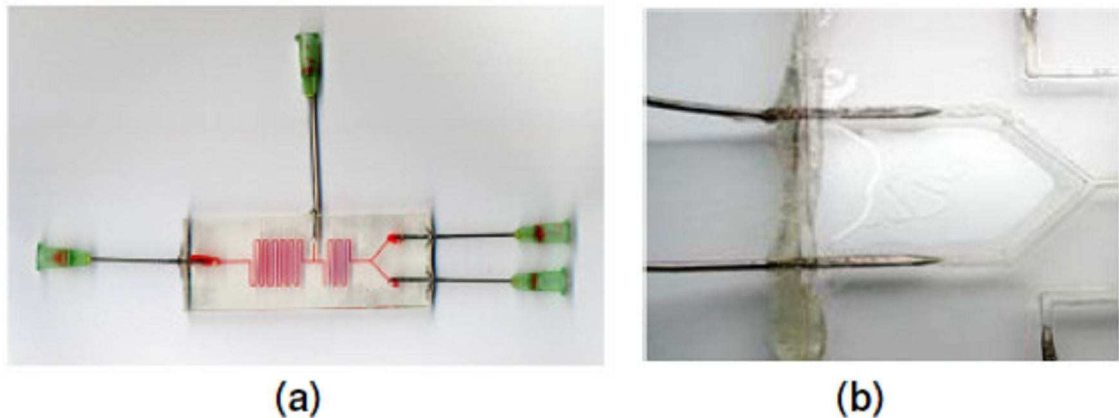
Poiché la polimerizzazione avviene in direzione parallela a quella di irraggiamento<sup>42</sup>, il tracciato dei canali può essere trasferito al polimero mediante una maschera interposta tra il polimero e la lampada UV (Fig. 18).



**Figura 18.** Schema generale per la costruzione di MR in materiale polimerico fotosensibile.

Nelle zone oscurate della maschera il prepolimero rimane fluido e viene allontanato dall'interno dei microcanali attraverso lavaggi successivi con acetone ed etanolo. Per indurire la microstruttura e migliorarne l'adesione al vetro si espone ulteriormente il dispositivo alla radiazione UV per alcuni minuti, questa volta però senza maschera<sup>42</sup>.

La procedura descritta in letteratura affronta solo superficialmente il problema fondamentale delle connessioni del MR con l'ambiente esterno, quelle connessioni cioè che lo collegano ai sistemi di pompaggio e di raccolta dei prodotti.



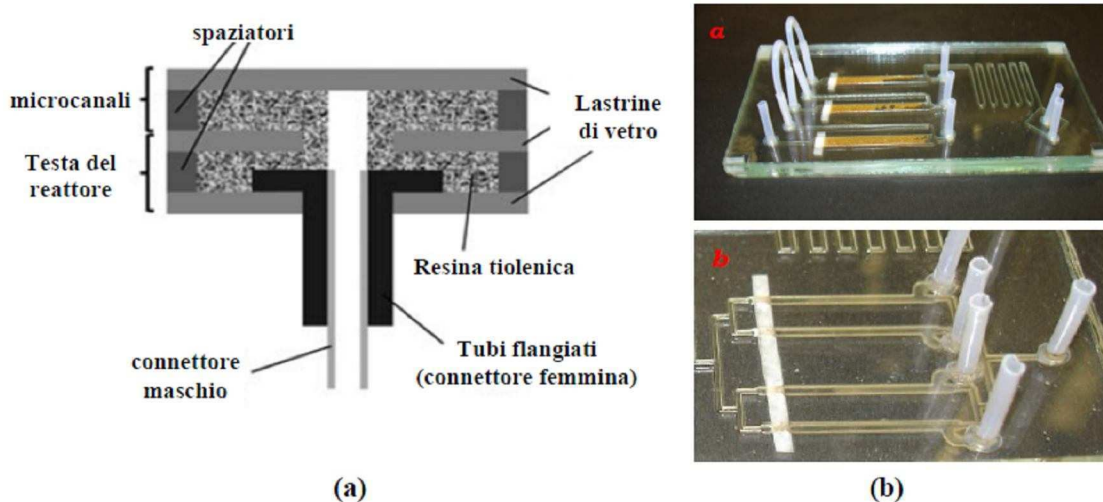
**Figura 19.** (a) MR costruito presso il nostro laboratorio con la tecnica riportata in letteratura; (b) particolare della regione degli inlet. Si può notare la delaminazione del polimero causato dalle tensioni indotte dall'ago.

Come illustrato in Fig. 19 seguendo la procedura riportata in letteratura si ottengono dei MR nei quali la fragilità e la precarietà delle connessioni realizzate influiscono negativamente sulla resistenza globale del dispositivo.

Le difficoltà nel trovare dei modi di connessione semplici e a basso costo in parte deriva dalle proprietà della resina tiolenica che ha un'ottima affinità con i materiali vetrosi ma insufficiente con metalli e materiali polimerici come il Teflon®. Da qui è nata la necessità di trovare una soluzione a questi problemi che rendesse l'uso di questi MR facile e pratico.

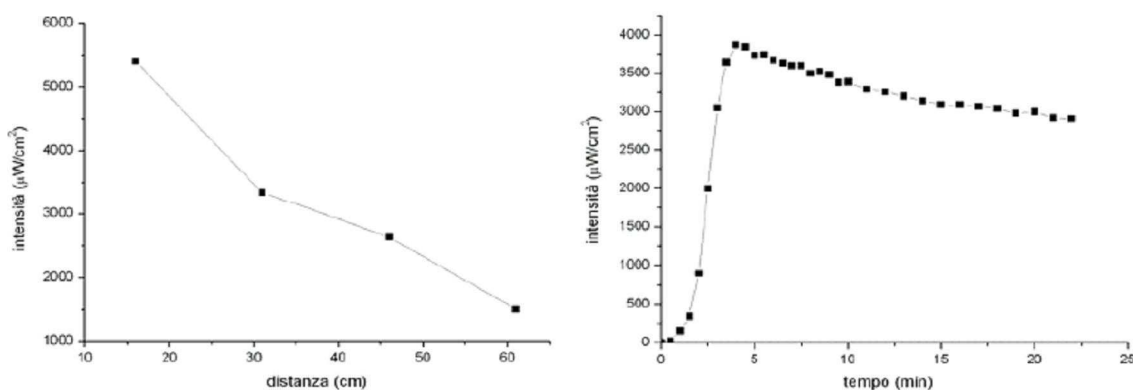
È stata sviluppata una tecnica di costruzione che semplifica molto la connessione del MR con i sistemi di movimentazione dei fluidi. In pratica è stata costruita una cosiddetta "testa del MR" che integra dei tubi in Teflon flangiati (connettori femmina) il cui diametro interno corrisponde al diametro esterno dei tubi comunemente usati per distribuire i fluidi (connettori maschi), che possono essere uniti mediante pressione (Fig. 20a). Un'ulteriore modifica apportata alla tecnica base permette poi di integrare reagenti

solidi all'interno del reattore creando, in fase di costruzione, delle apposite camere per immobilizzare solidi, quali catalizzatori, reagenti supportati e *scavengers* (Fig. 20b).



**Figura 20.** a) principio usato per le connessioni nei MR polimerici; b) esempio di MR polimerici realizzati per reazioni in fase eterogenea.

Per il processo di fotopolimerizzazione è stata utilizzata una lampada UV Spectroline SB-100P di potenza 100 W dotata di filtro collimatore a 365 nm, alloggiata in una camera oscura studiata per permettere il posizionamento dei substrati da irradiare a distanza variabile dalla lampada (46 o 16 cm rispettivamente per le fasi di pre- e post-curing). L'intensità della sorgente luminosa è stata monitorata utilizzando un radiometro/fotometro Spectroline DSE-100 X/L accoppiato ad un sensore UV-A DIX-365A; le curve di calibrazione intensità vs tempo e intensità vs distanza sono riportate in Figura 21.

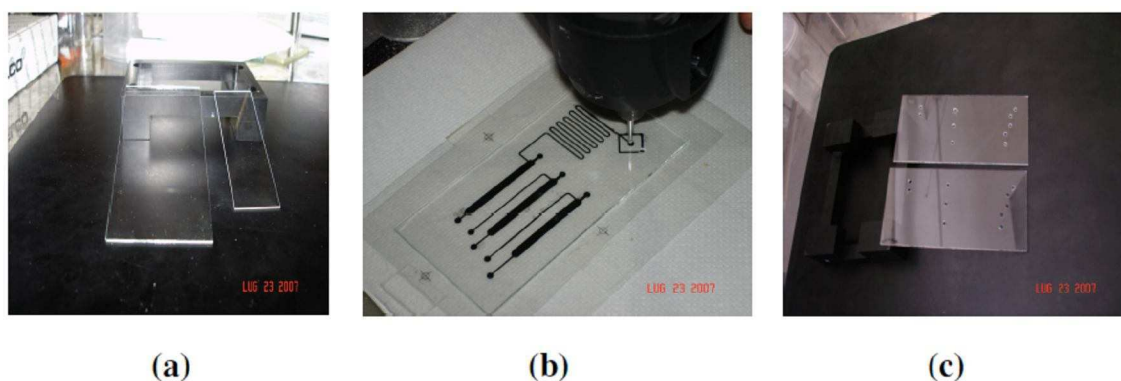


**Figura 21.** Curve di calibrazione della sorgente luminosa usata per le fotopolimerizzazioni.



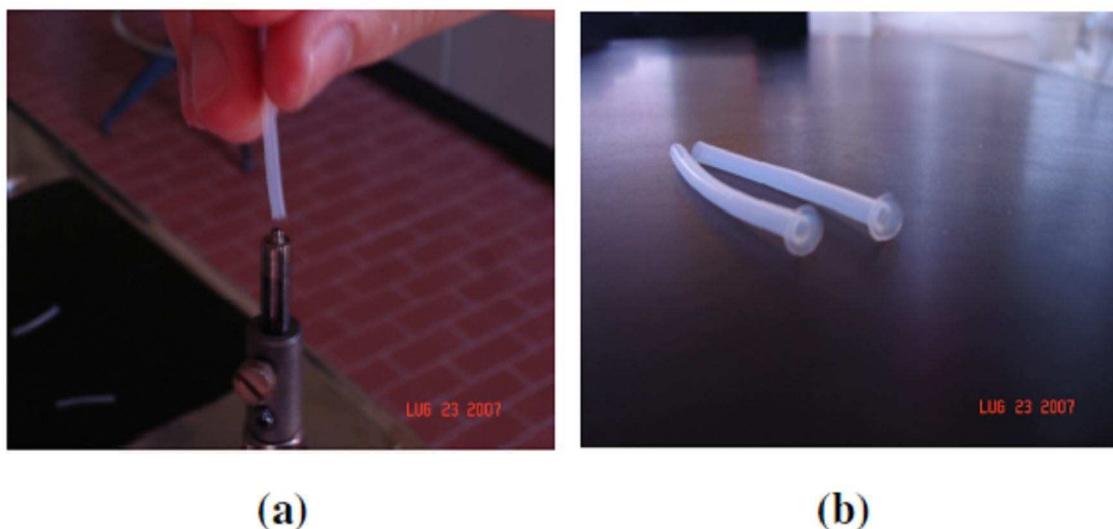
I canali microfluidici sono stati realizzati utilizzando il programma grafico Canvas 9.0.2 (built 722) e stampati ad alta risoluzione (1200 dpi), in doppia copia, su fogli trasparenti di acetato di cellulosa, utilizzando una stampante laser Epson EPL-6200. L'alta qualità della stampa è fondamentale per la buona riuscita del reattore, in quanto la presenza di imperfezioni nella maschera può portare all'ostruzione dei microcanali impedendone lo svuotamento, soprattutto se questi hanno dimensioni inferiori ai 300 micron. Le due stampe vengono fatte combaciare per ottenere la totale esclusione della luce e l'assenza di difetti.

Per la costruzione possono essere usati vetrini da microscopio (2.5x7.5x0.1 cm) oppure vetrini di dimensioni maggiori (5x10x0.14 cm) come quelli utilizzati per le lastre TLC (Fig. 22). I vetrini vengono forati in corrispondenza dei punti di inlet e outlet utilizzando un trapano a colonna con punta sferica diamantata (Dremel 7103, diametro 2.0 mm) (Fig. 22).



**Figura 22.** (a) vetrini; (b) esempio di maschera disegnata con Canvas 9.0.2 e stampata su lucido con stampante laser ad alta risoluzione; (c) vetrini forati in corrispondenza dei punti di inlet ed outlet.

Per la pulizia dei vetrini si è fatto uso di un sistema UVO cleaner della Jellight Company Inc. (Mod. No. 42-220). I tubi utilizzati sono in Teflon e vengono commercializzati dalla Supelco; per i connettori femmina si sono utilizzati tubi di diametro esterno 3.2 mm e diametro interno 1.6 mm (item n. 58699) che sono stati flangiati ad un'estremità utilizzando un apposito kit acquistato dalla Valco Instruments; per i connettori maschi si sono invece utilizzati diametri esterni di 1.6 mm ed interni di 0.8 mm (item n. 58701) (Fig. 23).

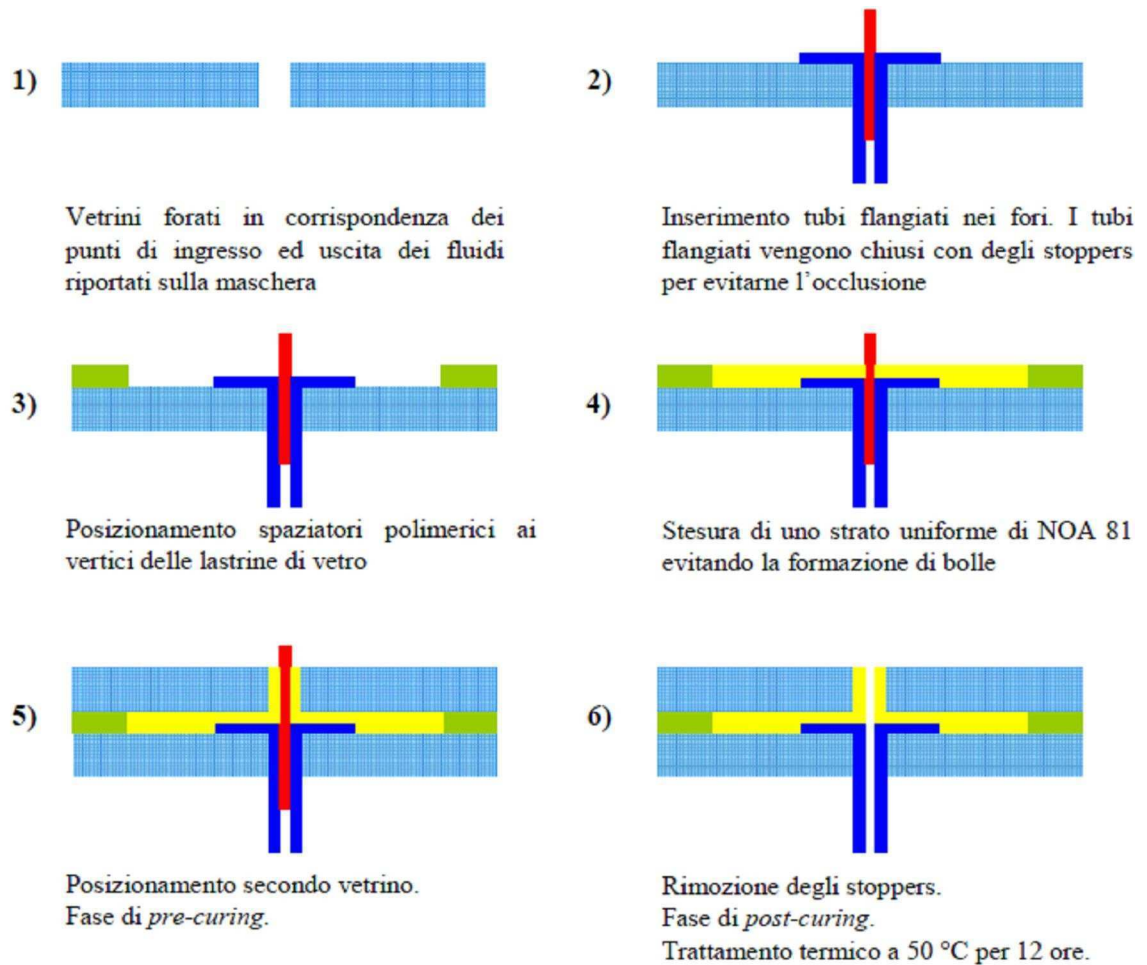


**Figura 23.** (a) tubicini in teflon appoggiati all'estremità di uno stampo caldo (300°C); (b) tubi flangiati che collegheranno i fori di inlet ed outlet alle riserve di reagenti.

In tutte le reazioni condotte in MR per la movimentazione dei fluidi sono state utilizzate siringhe in vetro Hamilton di tipo gas-tight connesse con tubi in PTFE mediante giunzioni in Peek® della Supelco. Le siringhe sono state montate su sistemi di distribuzione a pompe a siringa della KD-Scientific (Mod. No. KDS200 e KDS100). In tutti gli esperimenti il flusso di prodotto in uscita dal MR è stato scartato fino al raggiungimento di uno stato stazionario all'interno del dispositivo. Pertanto, prima di iniziare la raccolta del campione da analizzare si è atteso un tempo superiore al tempo di percorrenza impostato, in modo da assicurare la riproducibilità dei risultati.

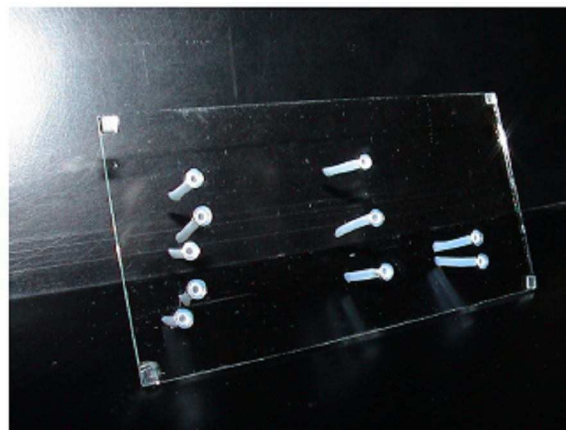
### **1.7.1 Assemblaggio della testa nel microreattore**

In Figura 24 è riportato uno schema delle fasi di costruzione della “testa” del MR polimerico. Due vetrini identici vengono forati in modo uguale in corrispondenza dei punti di ingresso dei fluidi riportati sulla maschera (1). Prima di essere utilizzati, i vetrini vengono sottoposti ad accurata pulizia mediante lavaggi successivi con acqua e sapone, acqua distillata, acetone ed isopropanolo, ed infine trattati per 30 minuti in UVO cleaner.



**Figura 24.** Fasi di costruzione della testa di un MR polimerico.

Il primo vetrino viene posizionato su un supporto di plastica forata (con il lato pulito rivolto verso l'alto) e vengono inseriti nei fori dei tubi flangiati ad un'estremità in modo che non possano sfilarsi; i tubi flangiati vanno inseriti in modo che il lato flangiato sia rivolto verso l'alto (Fig. 25) (2).



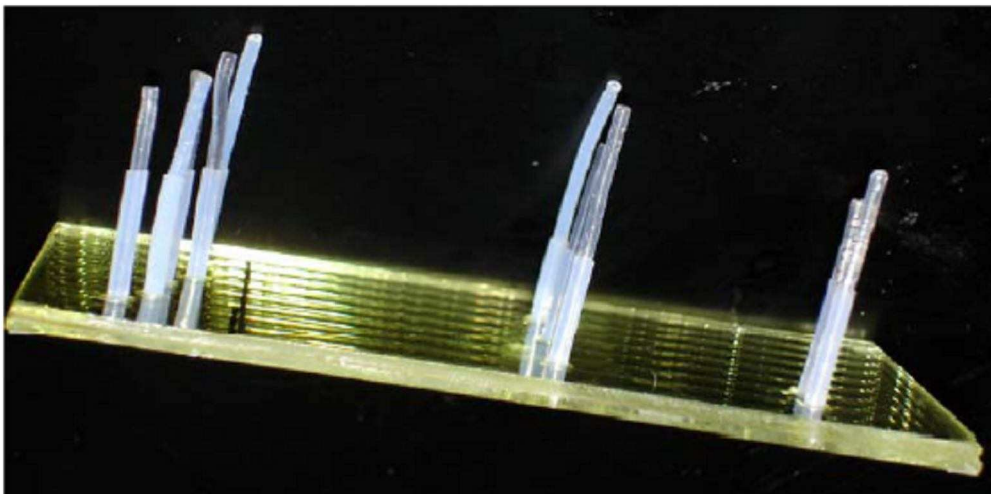
**Figura 25.** Vetrino con flange inserite nei fori (visione anteriore).

Per evitare che la colla vada ad occludere i tubi si utilizzano dei segmenti di tubo da 1/16 riempiti di colla già polimerizzata (*stoppers*). Si stende quindi uno strato omogeneo di NOA 81 ai quattro angoli del vetrino e si posizionano gli spaziatori costituiti da pezzetti di materiale polimerico che determineranno lo spessore finale del film di resina (3).

In particolare, nella costruzione della testa del reattore si utilizzano spaziatori aventi spessore 0.45 mm in modo da creare un'intercapedine in cui le flange siano ben inglobate nella resina solidificata e rimangano pertanto bloccate. Si prosegue quindi stendendo uno strato uniforme di prepolimero tiolenico (4) e posizionando sopra esso un secondo vetrino (5) facendo attenzione a far combaciare i fori e cercando di evitare la formazione di bolle d'aria che comprometterebbero la resistenza meccanica dell'intero dispositivo.

Il tutto viene quindi esposto alla lampada UV per 2 minuti (fase di *pre-curing*) prima di rimuovere gli stoppers (6). Seguono 20 minuti di *post-curing* a distanza ravvicinata dalla lampada per completare la polimerizzazione: in questa fase il substrato viene ruotato di 90°C ogni 5 minuti circa per assicurare un'esposizione omogenea.

La testa così completata presenta una colorazione gialla che è indice di una reticolazione non ancora completata (Fig. 26). Pertanto, la polimerizzazione del materiale tiolenico viene completata con un trattamento termico a 50°C per 12 ore.



**Figura 26.** Testa del MR. La colorazione gialla del materiale polimerico è indice di una reticolazione non ancora completa.

### 1.7.2 Assemblaggio del reattore

In Figura 27 sono schematicamente riportate le fasi della costruzione del reattore vero e proprio. Infatti, il corpo del reattore contenente il network di canali viene costruito direttamente sulla testa del reattore. Questa ultima e un altro vetrino vengono sottoposti alla procedura standard di pulizia, comprendente anche il passaggio in UVO cleaner (30 minuti). I connettori femmina della testa del MR vengono bloccati con gli stoppers prima di adagiarla su una base d'appoggio con il lato pulito verso l'alto (1).

Si fissano gli spaziatori (realizzati con carta fa filtro avente spessore 0.32 mm) agli angoli della testa utilizzando una goccia di colla ed una esposizione alla lampada di circa 1 minuto per fissarli in posizione (2).

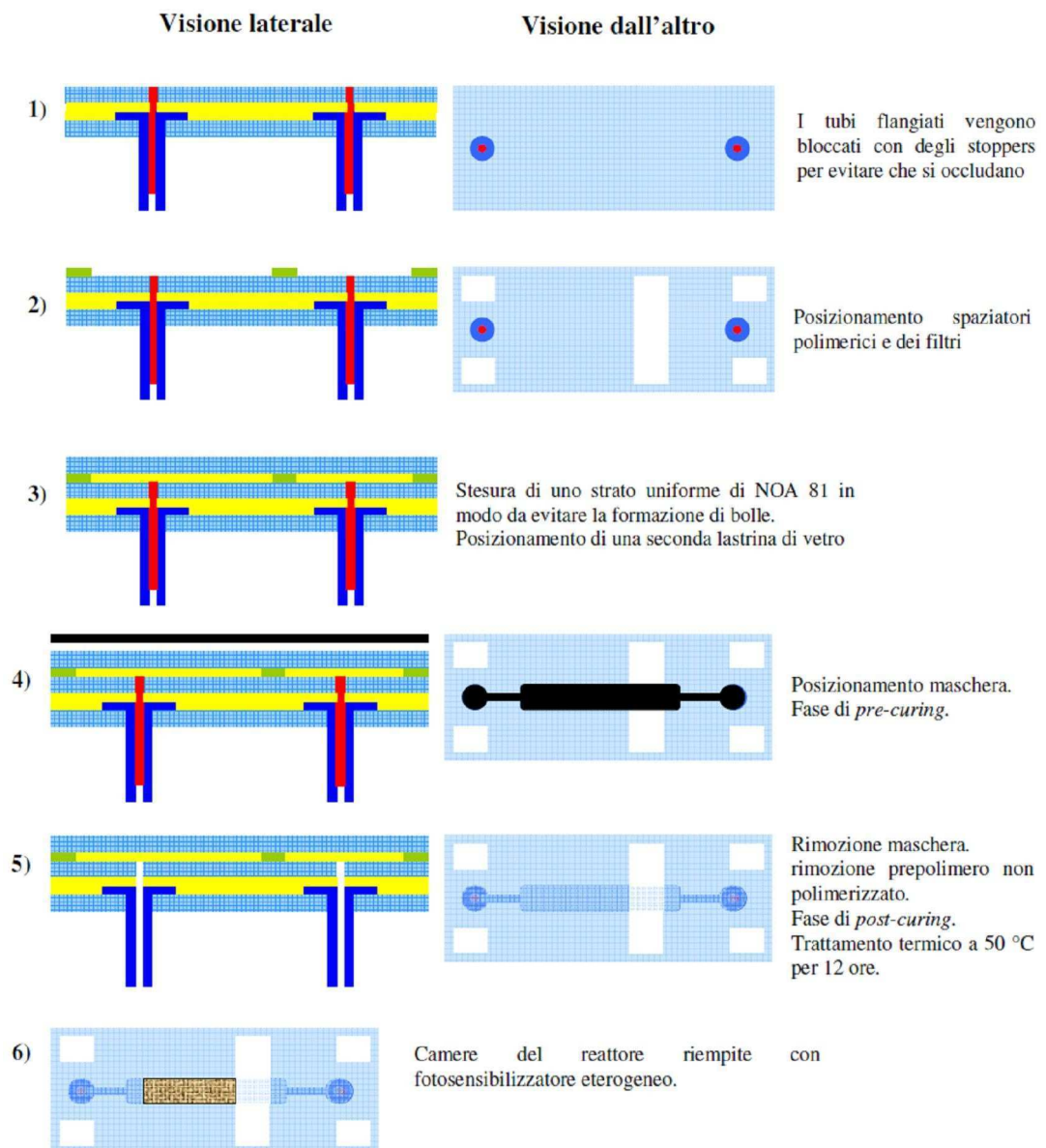


Figura 27. Assemblaggio del reattore.

Si procede quindi stendendo uno strato uniforme di NOA 81 su tutta la superficie della testa (3). In questa fase è possibile inserire nelle posizioni adeguate, se previsto dal tracciato dei canali, i filtri necessari per immobilizzare reagenti solidi nel reattore, avendo cura di lasciare assorbire bene la colla per aumentare l'adesione al vetro e mantenendoli fermi durante la chiusura del reattore, che avviene posizionando con cautela un vetrino pulito ed evitando la formazione di bolle d'aria.

Viene quindi posizionata la maschera (4), controllando l'allineamento con i connettori sulla testa del reattore e con i filtri per i solidi; in genere si utilizza un altro vetrino pulito per mantenere in posizione la maschera. A questo punto un'esposizione alla lampada UV di circa 40 secondi farà polimerizzare parzialmente la colla rendendola semisolida, eccetto che nelle zone oscurate della maschera, dove il polimero rimasto fluido può essere aspirato attraverso i connettori mediante una pompa ad acqua.

Completato lo svuotamento dei canali (5), il reattore può essere lavato ripetutamente in modo alternato con etanolo ed acetone: l'alcool asporta meccanicamente la colla fluida ancora rimasta, mentre l'acetone rammollisce eventuali residui parzialmente polimerizzati che possono quindi essere più facilmente asportati. È importante in questa fase non eccedere con la quantità di acetone e lavare immediatamente con etanolo. Quando i canali sono perfettamente lavati e asciutti, il reattore viene sottoposto alla fase di *curing* (20 minuti a distanza ravvicinata dalla lampada) e infine a trattamento termico per 12 ore a 50°C per renderlo resistente ai solventi organici.

L'efficienza dei reattori polimerici realizzati con la tecnica appena descritta è stata testata nello studio di reazioni di fotoossigenazione dei substrati modello  $\alpha$ -terpinene e (L)-metionina metil estere come descritto nel Capitolo 2.

### **1.8 Sintesi Organiche in microreattori<sup>4, 6, 39</sup>**

L'uso dei MR per la sintesi organica è un campo relativamente nuovo ma in rapida espansione e con promettenti prospettive, grazie alle particolari caratteristiche dei microreattori precedentemente illustrate.

L'impiego di MR si è rivelato efficiente in un gran numero di reazioni chimiche quali:

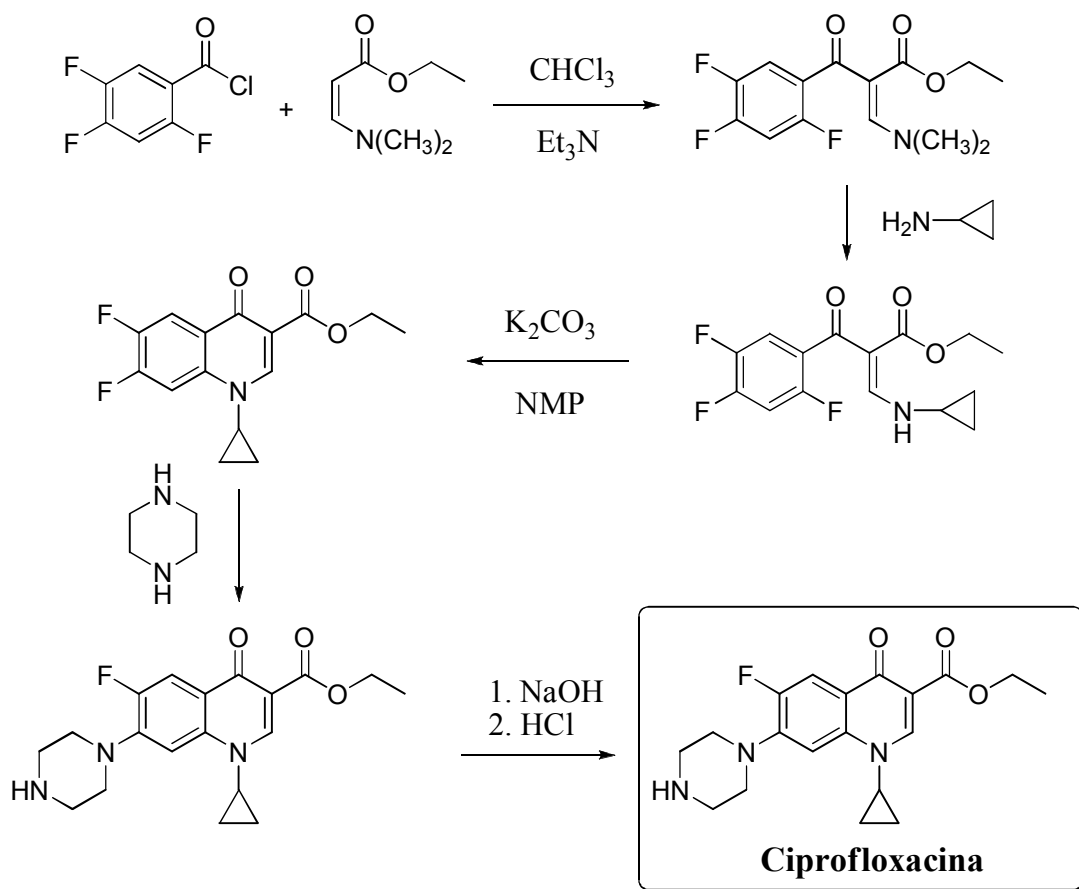
1. reazioni che impiegano reagenti o intermedi pericolosi, come alogenazioni<sup>50-53</sup>, nitrazioni, idrogenazioni e la generazione del diazometano<sup>7</sup>;

2. reazioni che includono intermedi altamente reattivi, come reazioni con organo metalli<sup>7, 54</sup> e ossidazioni di Swern<sup>55</sup>;
3. reazioni molto veloci che sarebbero difficili da controllare in batch<sup>56</sup>. L'impiego di MR permette di condurre queste reazioni in modo controllato e di ottenere i prodotti desiderati in modo selettivo.
4. reazioni multifase<sup>50</sup>.

In letteratura si possono anche trovare pubblicazioni riguardo la sintesi totale, o parziale, in MR di composti di interesse industriale.

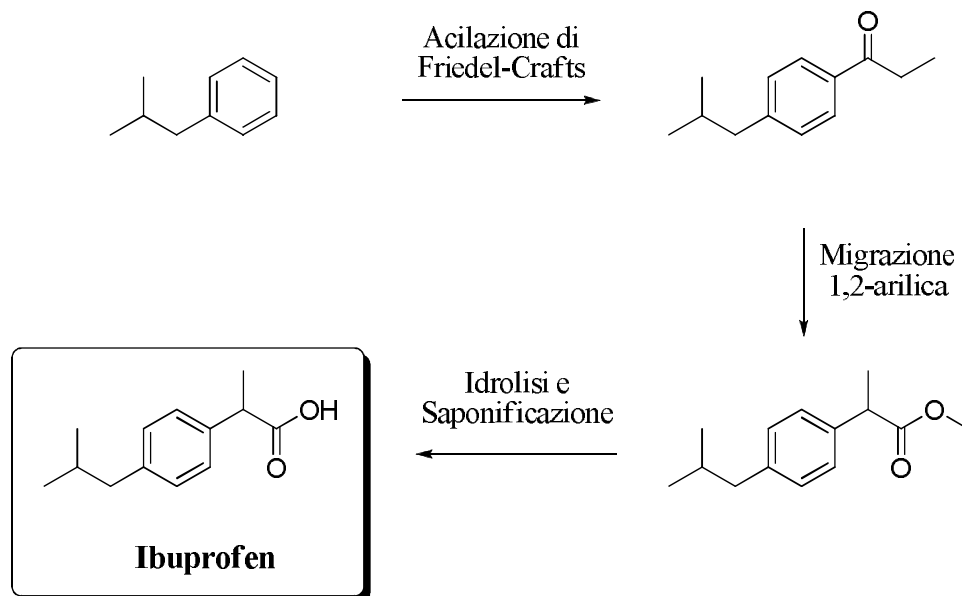
Ad esempio, sono stati riportate le sintesi *multistep* di composti biologicamente attivi condotte MR con buone rese grazie all'incremento di efficienza di ogni singolo passaggio. Watts e coll. hanno dimostrato l'efficienza dei MR nella sintesi peptidica e nella generazione in situ di intermedi potenzialmente tossici<sup>40, 57, 58</sup>.

Schwalbe e coll. hanno condotto la sintesi della Ciprofloxacina® in MR, la più complessa sintesi microfluidica finora tentata (Schema 3)<sup>27</sup>.

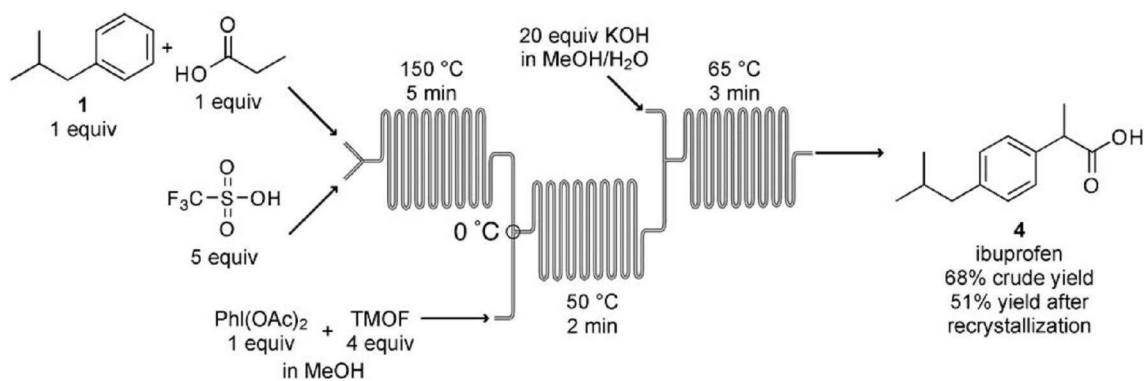


**Schema 3.** Schema di sintesi della Ciprofloxacina®. [ $\text{CHCl}_3$  cloroformio;  $\text{Et}_3\text{N}$  trietil ammina;  $\text{K}_2\text{CO}_3$  carbonato di potassio; NMP N-metilpirrolidone; NaOH idrossido di sodio, HCl acido cloridrico].

McQuade e coll.<sup>59</sup> hanno descritto la sintesi completa dell'Ibuprofene in microreattore (Schema 4).



**Schema 4.** Schema di sintesi dell'Ibuprofene.



**Schema 5.** Sintesi dell'Ibuprofene in MR.

La scelta dei reagenti e delle condizioni di reazione ha permesso di sviluppare un processo efficiente e sicuro che non richiede l'isolamento e la purificazione di intermedi di reazione.

Rispetto al processo batch, l'impiego di un reattore a flusso continuo a basso costo e ad alta resa, ha consentito la riduzione dei tempi di reazione e della formazione di sottoprodotti.



## 1.9 Bibliografia

1. R. A. Sheldon, *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 1997, **68**, 381.
2. P. J. Dunn, S. Galvin and K. Hettenbach, *Green Chem.*, 2004, **6**, 43.
3. P. T. Anastas and M. M. Kirchhoff, *Acc. Chem. Res.*, 2002, **35**, 686.
4. D. T. McQuade, J. L. Steinbacher, K. E. Price, B. P. Mason and A. R. Bogdan, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 2300.
5. P. H. Seeberger, K. Geyer and J. D. C. Cod e, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 8434.
6. P. Watts and S. J. Haswell, *Chem. Soc. Rev.*, 2005, **34**, 235.
7. V. Hessel, P. Lob and H. Lowe, *Current Organic Chemistry*, 2005, **9**, 765.
8. B. P. Mason, K. E. Price, J. L. Steinbacher, A. R. Bogdan and D. T. McQuade, *Chem. Rev.*, 2007, **107**.
9. D. Li, *Electrokinetics in Microfluidics*, Elsevier, 2004.
10. J. W. Joregenese and al., *Anal. Chem.*, 1981, **53**, 1298.
11. M. A. Burns, *Science*, 1998, **282**, 484.
12. S. R. Quake and T. M. Squires, *Rev. Mod. Phys.*, 2005, **77**, 977.
13. J. Atencia and D. J. Beebe, *Nature*, 2005, **437**, 648.
14. D. T. McQuade and J. L. Steinbacher, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 2006, **44**, 6505.
15. A. J. De Mello, *Nature*, 2006, **442**, 394.
16. T. Wirth, *Microreactors in Organic Synthesis and Catalysis*, Wiley-VCH, NY, 2008.
17. T. M. Squires, *Rev. Mod. Phys.*, 2005, **77**, 977.
18. J. M. Ottini, *Anal. Rev. Fluid. Mech.*, 1990, **22**, 207.
19. A. D. Stroock, S. K. W. Dertinger, A. Ajdari, I. Mezic, H. Stone and G. M. Whitesides, *Science*, 2002, **295**, 647.
20. H. Song, J. D. Tice and R. F. Ismagilov, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, **42**, 767.
21. T. R. Thorsen and al., *Phys. Rev. Lett.*, 2001, **86**, 4163.
22. J. D. Tice, H. Song, A. D. Lyon and R. F. Ismagilov, *Langmuir*, 2003, **19**, 9127.
23. A. J. De Mello and R. C. R. Wootton, *Lab Chip*, 2002, **2**, 7N.
24. K. P. Jackel, *Microsystem Technology for Chemical and Biological Microreactors*, Ehrfeld, 1996.
25. O. Worz, K. P. Jackel, T. Richter and A. Wolf, *Acc. Chem. Res.*, 2001, **34**, 138.
26. H. Pennemann, V. Vessel and H. Lowe, *Chem. Eng. Sci.*, 2004, **59**, 4789.
27. T. Schwalbe, V. Autze and G. Wille, *Chimia*, 2002, **56**, 636.
28. T. Schwalbe, V. Autze, M. Hohmann and W. Stirner, *Org. Process Res. Dev.*, 2004, **8**, 440.
29. J. J. Lerou and al., *Microsystems Technology for Chemical and Biological Microreactors*, Ehrfeld, 1996.
30. N. K. Kockmann, M. Gottsponer, B. Zimmermann and D. M. Roberge, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 7470.
31. J. Yoshida, A. Nagaki and T. Yamada, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 7450.
32. H. R. Sahoo, J. G. Kralj and K. F. Jensen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 5704.
33. I. R. Baxendale, S. V. Ley, A. C. Mansfield and C. D. Smith, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 4017.
34. W. Ehrfeld, V. Hessel and H. Lowe, *Microreactors*, Wiley-VCH, Weinheim, 2000.
35. K. Geyer, J. D. C. Cod e and P. H. Seeberger, *Chem. Eur. J.*, 2006, **12**, 8434.

36. W. Ehrfeld, V. Hessel and H. Lowe, *Microreactors: New Technology for Modern Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2000.
37. K. F. Jensen and R. L. Hartman, *Lab. Chip.*, 2009, **9**, 2495.
38. P. D. I. Fletcher, S. J. Haswell, E. Pombo-Villar, B. H. Warrington and P. Watts, *Tetrahedron*, 2002, **58**, 4735.
39. K. Jahnisch, V. Hessel, H. Lowe and M. Baerns, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, **43**, 406.
40. P. Watts, C. Wiles, S. J. Haswell and E. Pombo-Villar, *Tetrahedron*, 2002, 5427.
41. S. R. Quake, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, **128**, 3142.
42. J. T. Cabral, S. D. Hudson, C. Harrison and J. F. Douglas, *Langmuir*, 2004, **20**, 10020.
43. Z. T. Cygan, J. T. Cabral, K. L. Beers and E. J. Amis, *Langmuir*, 2005, **21**, 3629.
44. K. I. Beers and J. T. Cabral, *Langmuir*, 2005, **21**, 3629.
45. N. B. Cramer, S. K. Reddy, A. K. O'Brien and C. N. Bowman, *Macromolecules*, 2003, **36**, 7964.
46. N. B. Cramer, T. Davies, A. K. O'Brien and C. N. Bowman, *Macromolecules*, 2003, **36**, 4631.
47. N. B. Cramer, J. P. Scott and C. N. Bowman, *Macromolecules*, 2002, **35**, 5361.
48. J. T. Cabral and al., *J. Micromech. Microeng.*, 2004, **14**, 153.
49. NIST, *Thiolene Microfluidic Device Fabrication, Specification and Procedural Guidelines*, Combinatorial Method Centre.
50. P. Watts and C. Wiles, *Chem. Common.*, 2007, 443.
51. R. D. Chambers and R. C. H. Spink, *Chem. Common.*, 1999, 883.
52. R. D. Chambers, D. Holling and R. C. H. Spink, *Lab. Chip.*, 2001, **1**, 132.
53. K. Jahnisch, M. Baerns, V. Hessel, W. Ehrfeld, V. Haverkamp, H. Lowe, C. Wille and A. Guber, *J. Fluorine Chem.*, 2000, **105**, 117.
54. Y. Ushioji, T. Hase and Y. Iinuma, *Chem. Common.*, 2007, 2947.
55. T. Hawaguchi, H. Miyata and K. Ataka, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 2413.
56. Z. I. Yoshida, A. Nagaki and T. Yamada, *Chem. Eur. J.*, 2008, **14**, 7450.
57. P. Watts, C. Wiles, S. J. Haswell, E. Pombo-Villar and P. Styring, *Chem. Common.*, 2001.
58. P. Watts, S. J. Haswell and E. Pombo-Villar, *Chem. Eng. J.*, 2004, **101**, 237.
59. D. T. McQuade and al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 8547.

# Capitolo 2

Foto-ossidazioni con ossigeno  
singoletto in microreattore

## 2.1 Introduzione: le Reazioni Fotochimiche

Nel corso degli ultimi anni, la necessità di sviluppare processi non invasivi per l'ambiente ha accresciuto l'interesse per la Chimica Verde, o Chimica Sostenibile, che promuove la progettazione, la fabbricazione e l'impiego di sostanze chimiche e processi che eliminano o riducono l'utilizzo di sostanze nocive per l'ambiente o per la salute.

Tra le possibili applicazioni della chimica verde, la fotochimica riveste un ruolo importante perché la luce è considerata un reagente pulito che consente di condurre le reazioni in modo più sicuro ed efficiente<sup>1</sup>.

Tra i vari processi fotochimici comunemente utilizzati in sintesi organica particolarmente importanti sono le reazioni di foto-ossidazione di substrati elettronricchi (olefine, composti aromatici, composti eterociclici o eteroatomi con doppietti di non legame)<sup>2</sup> con ossigeno singoletto (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) perché consentono di sintetizzare intermedi versatili con buone rese<sup>3,4</sup>.

L'ossigeno singoletto viene prodotto per trasferimento di energia da un sensibilizzatore fotoeccitato all'ossigeno molecolare (O<sub>2</sub>) (Schema 1):



**Schema 1.** Meccanismo di fotosensibilizzazione.

Le reazioni possono essere condotte in fase omogenea, solubilizzando il fotosensibilizzatore nel solvente di reazione, o in fase eterogenea, utilizzando cioè dei fotosensibilizzatori supportati che ne consentano un più facile recupero dall'ambiente di reazione.

Tuttavia, nonostante gli indiscutibili vantaggi in termini di sicurezza e sostenibilità ambientale, l'impiego di reazioni di foto-ossidazione su scala industriale presenta delle difficoltà tecniche, legate alla difficile scalabilità del processo e alla sicurezza dello stesso<sup>1,5-7</sup>, che fanno prevedere un uso vantaggioso dei MR.

L'uso dei MR permette, grazie ai ridotti spessori in gioco, di massimizzare l'assorbimento della radiazione da parte del fotosensibilizzatore e minimizzare la pericolosità della reazione stessa perché il solvente organico e l'ossigeno vengono a contatto solo nel microreattore, formando di volta in volta una quantità limitata di miscela potenzialmente pericolosa.

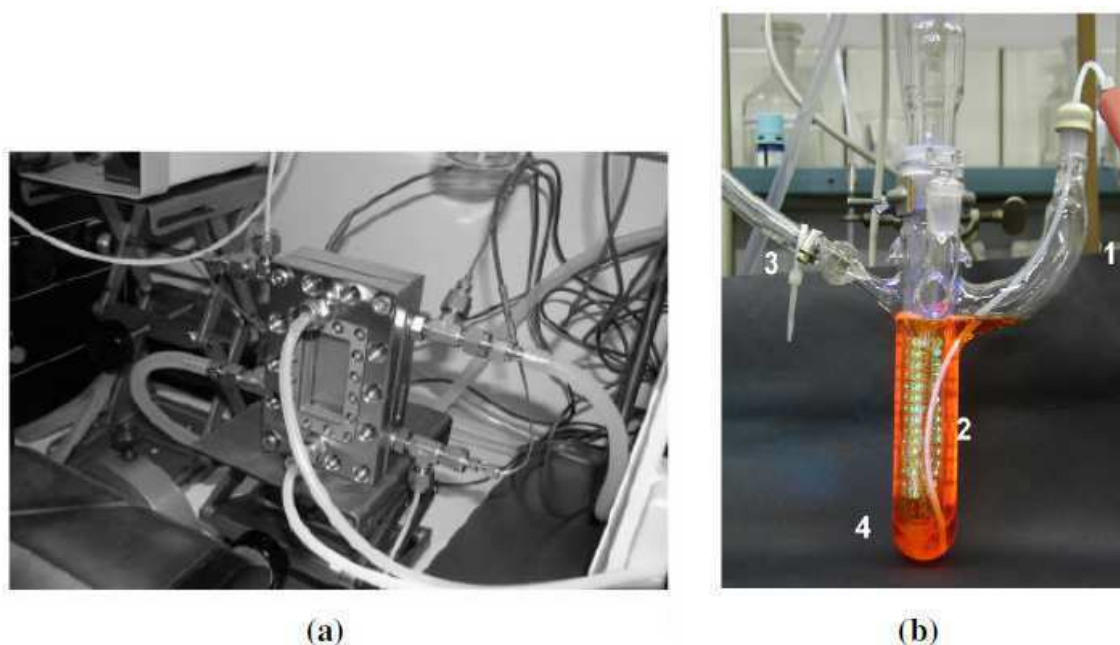
Nonostante gli indiscutibili vantaggi offerti dalla strategia microfluidica, ci sono pochi esempi di foto-ossidazioni in MR pubblicati in letteratura.

Jensen e coll. per primi hanno descritto l'applicazione di un MR nella sintesi fotochimica del pinacolo a partire da benzofenone e alcol isobutilico<sup>8</sup>.

Fukuyama e coll. hanno riportato la cicloaddizione fotochimica di cicloesani variamente sostituiti a vinil acetati<sup>9</sup>.

Nel 2002, De Mello e coll. hanno condotto la foto-ossidazione dell' $\alpha$ -terpinene ad ascaridolo in un MR in vetro con ossigeno di singoletto<sup>10</sup>.

A questi studi sono seguiti quelli di Jahnish<sup>11</sup> sulla cicloaddizione [4+2] di ciclopentadieni e quello di Meyer<sup>12</sup> sulla foto-ossidazione del citronellolo (Fig. 1)

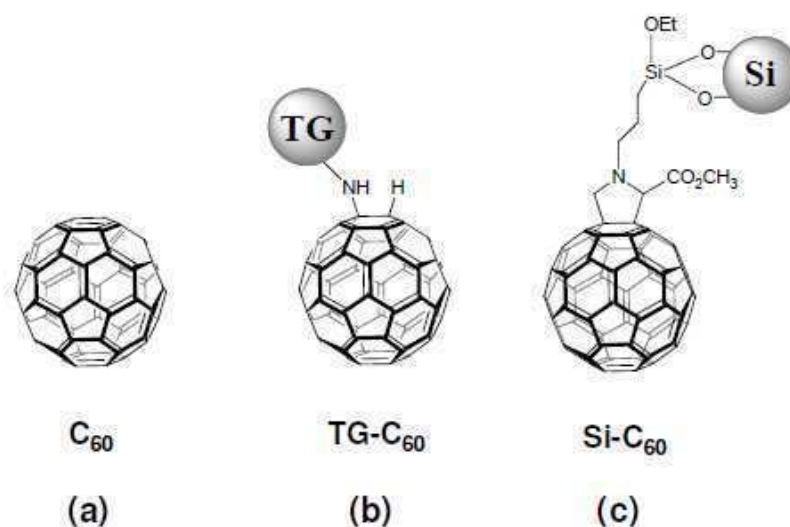


**Figura 1.** (a) MR utilizzato da Jahnish nello studio sulla cicloaddizione [4+2] di ciclopentadieni<sup>11</sup>; (b) MR utilizzato da Meyer nello studio di foto-ossidazione del citronellolo<sup>12</sup>.

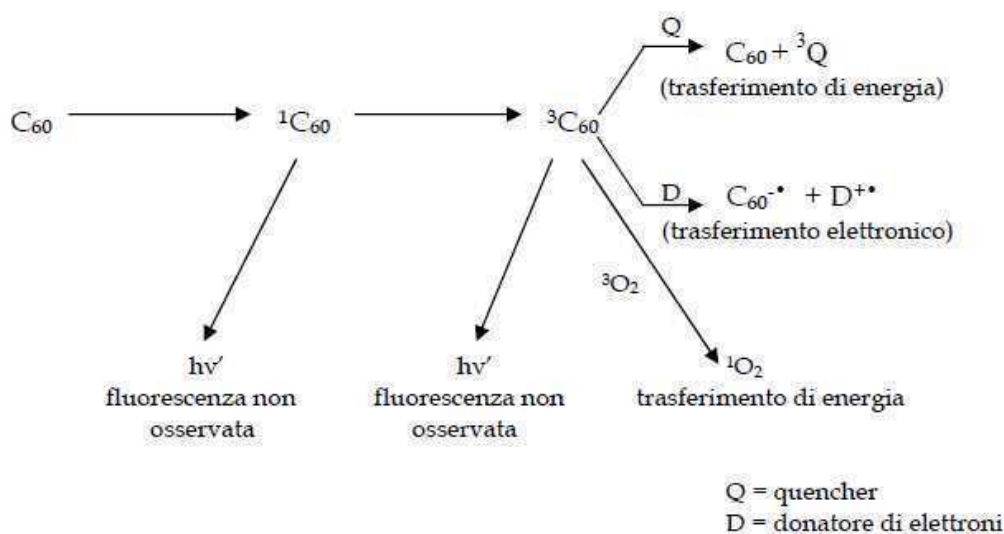
In questo lavoro di tesi è stata studiata la foto-ossidazione dei due substrati modello  $\alpha$ -terpinene e (L)-metionina metil estere, mediante la produzione di  $^1\text{O}_2$  promossa da fotosensibilizzatori di tipo fullerenico (Fig. 2).

I fullereni, e in particolare il  $\text{C}_{60}$ , esibiscono, infatti, una serie di caratteristiche fotofisiche che li rendono, tra l'altro, ottimi fotosensibilizzatori per la produzione di ossigeno di singoletto. In seguito ad irraggiamento con una radiazione di lunghezza d'onda opportuna, il fullerene passa dallo stato fondamentale allo stato di singoletto eccitato ( $^1\text{C}_{60}$ ) caratterizzato da un tempo di vita molto breve (1.3 ns). Questo decade

molto efficacemente allo stato di tripletto ( $^3C_{60}$ ) secondo un meccanismo di *Intersystem Crossing (ISC)* che garantisce una resa quantica pressoché unitaria. Lo stato di tripletto eccitato possiede un tempo di semivita di circa 50-100  $\mu$ s ed è suscettibile di deattivazione mediante vari processi. Quello rilevante per la foto-ossidazione è il quenching per trasferimento di energia ad ossigeno molecolare a formare  $^1O_2$  (Fig. 3).



**Figura 2.** Fotosensibilizzatori utilizzati nelle reazioni di foto-ossidazione. **(a)** fullerene  $C_{60}$ ; **(b)** fullerene ancorato su un copolimero di polistirene reticolato e polietilenglicole (TentaGel HL-NH<sub>2</sub>®, TG); **(c)** fulleropirrolidina ancorata su gel di silice (Si- $C_{60}$ ) ;

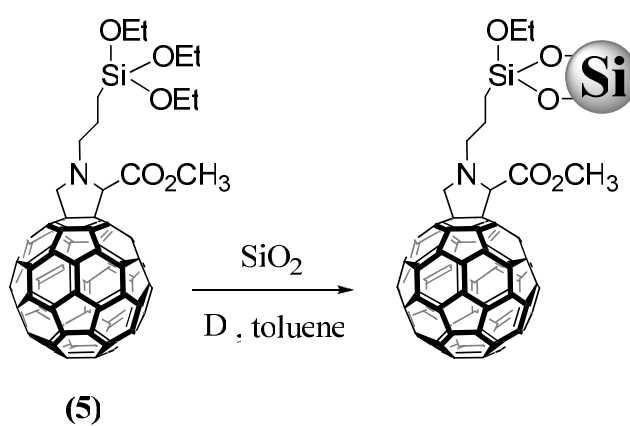


**Figura 3.** Processi fotofisici che avvengono in seguito all'eccitazione del  $C_{60}$  con la luce.

L'inerzia chimica dei derivati fullerenici nei confronti di  $^1\text{O}_2$ <sup>13-15</sup> li rende dei fotosensibilizzatori ideali per lo studio di processi biologici e fotodinamici in cui sia coinvolto  $^1\text{O}_2$ .

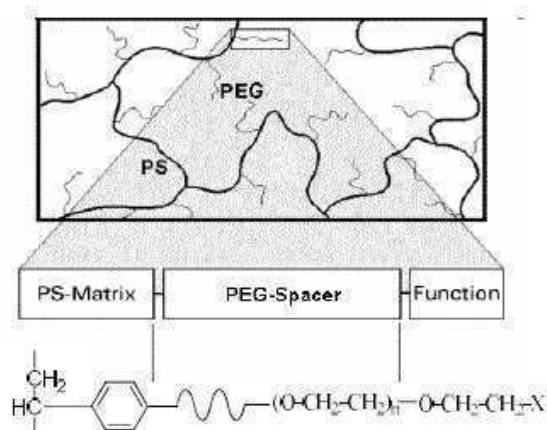
L'impiego di derivati fullerenici supportati risolve il problema della loro scarsa solubilità e forte tendenza a formare *clusters* in solventi polari<sup>16-18</sup> e ne facilita inoltre il recupero dall'ambiente di reazione.

Il fotosensibilizzatore Si-C<sub>60</sub> (e) è stato studiato dalla Dott.ssa Foltran<sup>19</sup> nella propria tesi di laurea seguendo la procedura schematicamente riportata nello Schema 2<sup>20</sup>.



**Schema 2.** Immobilizzazione su gel di silice del fullerene (5).

Il fotosensibilizzatore eterogeneo TG-C<sub>60</sub> è stato invece preparato a temperatura ambiente sospendendo il TentaGel HL-NH<sub>2</sub>® (copolimero di polistirene reticolato e polietilenglicole, diametro particellare medio 110  $\mu\text{m}$ ) (Fig. 4) in una soluzione di toluene dove era stata precedentemente solubilizzata una quantità di C<sub>60</sub> tale da funzionalizzare il 10 % delle funzioni amminiche libere della resina.

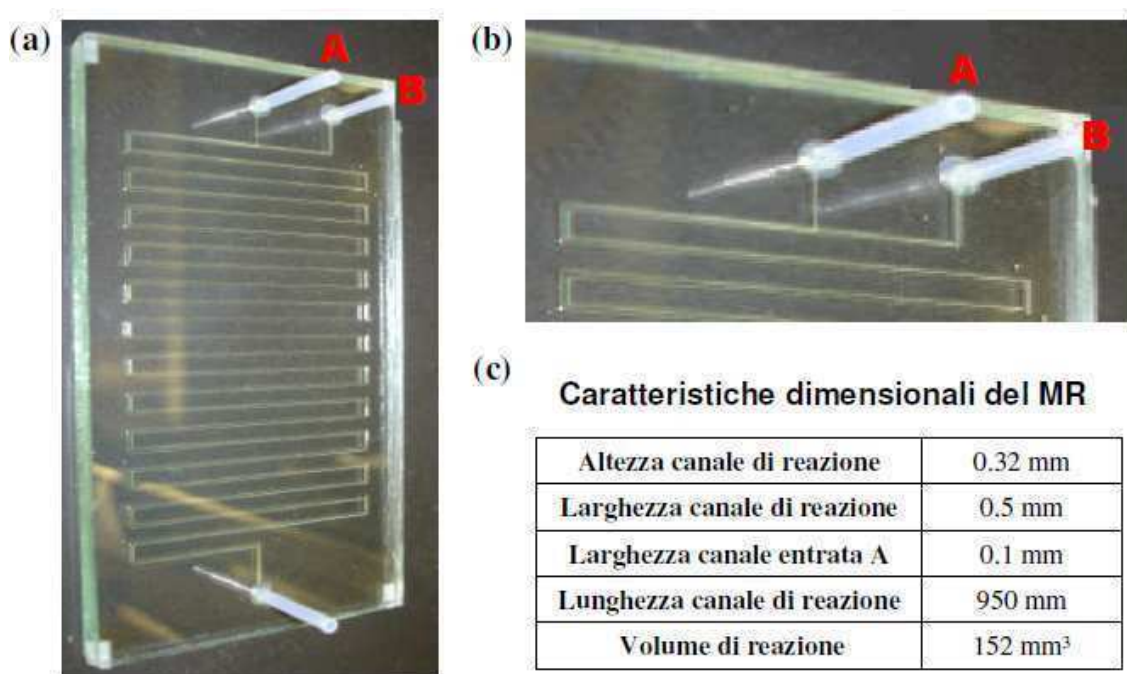


**Figura 4.** Struttura chimica della resina TentaGel® (nel caso della resina TentaGel HL-NH<sub>2</sub> X=NH<sub>2</sub>).

Al termine della funzionalizzazione, la resina è stata ripetutamente lavata con toluene per eliminare eventuale  $C_{60}$  adsorbito.

Sono stati condotti esperimenti di foto-ossidazione sia in fase omogenea, solubilizzando il sensibilizzatore nel solvente di reazione, che in fase eterogenea introducendo il fotosensibilizzatore supportato nelle apposite camere del MR.

Le reazioni di foto-ossidazione in fase omogenea sono state condotte nel MR polimerico riportato in Fig. 5 collegando l'inlet A ad una siringa riempita di ossigeno gassoso e l'inlet B ad una siringa contenente la soluzione del substrato da ossidare e il fotosensibilizzatore.



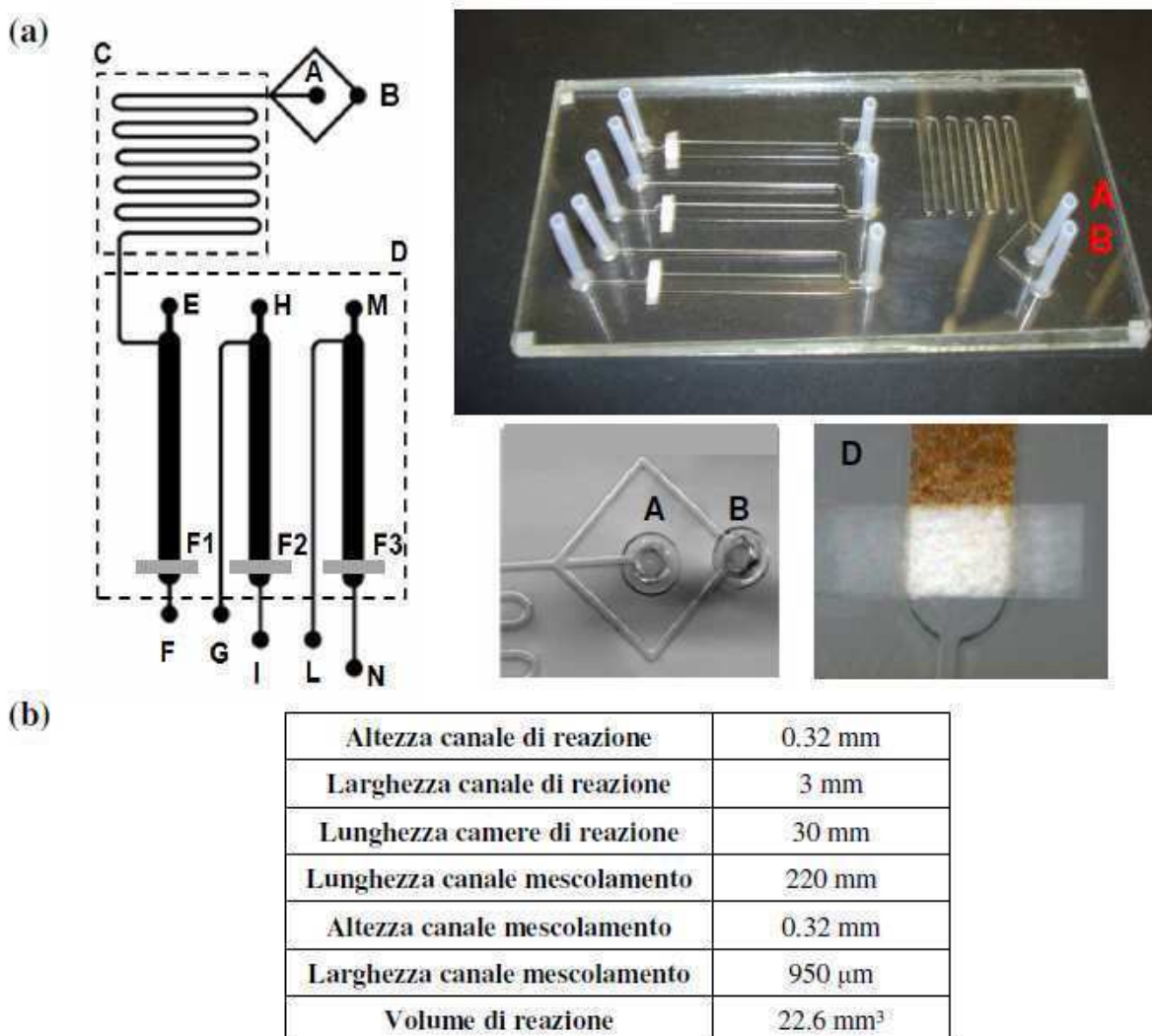
**Figura 5.** (a) MR polimerico utilizzato per le reazioni di foto-ossidazione in fase omogenea; (b) ingrandimento della regione degli inlet; (c) caratteristiche dimensionali del MR.

La configurazione a T della giunzione di mescolamento assicura la generazione costante di microbolle di ossigeno nella miscela di reazione che successivamente è sottoposta ad irraggiamento per formare ossigeno di singoletto in presenza del sensibilizzatore fullerenico.

Le reazioni di foto-ossidazione in fase eterogenea sono state realizzate nel MR riportato in Fig. 6 collegando l'inlet B ad una siringa contenente la soluzione del substrato da ossidare e l'inlet A ad una riserva di ossigeno gassoso. La geometria a tridente della



giunzione di mescolamento promuove la regolare alternanza di bolle di ossigeno nel flusso del liquido, garantendo così un'efficace ossigenazione della soluzione. Le microcamere (D) permettono l'immobilizzazione del fotosensibilizzatore supportato: questo viene introdotto come sospensione in un opportuno solvente, in genere toluene, attraverso le porte E, H, M, e viene bloccato dai filtri F1, F2 ed F3. Questo sistema permette anche la rimozione del catalizzatore esausto attraverso le stesse porte. La prima camera è connessa direttamente alla zona di mescolamento, mentre le altre possono essere connesse in serie (attraverso le porte di uscita F, I, N e le porte di connessione G e L) per permettere un uso modulare del reattore a seconda del tempo di residenza sul catalizzatore necessario ad ottenere la migliore conversione o per monitorare gli stadi intermedi della sintesi.



**Figura 6.** MR polimerico utilizzato nelle reazioni di fotoossidazione in fase eterogenea.

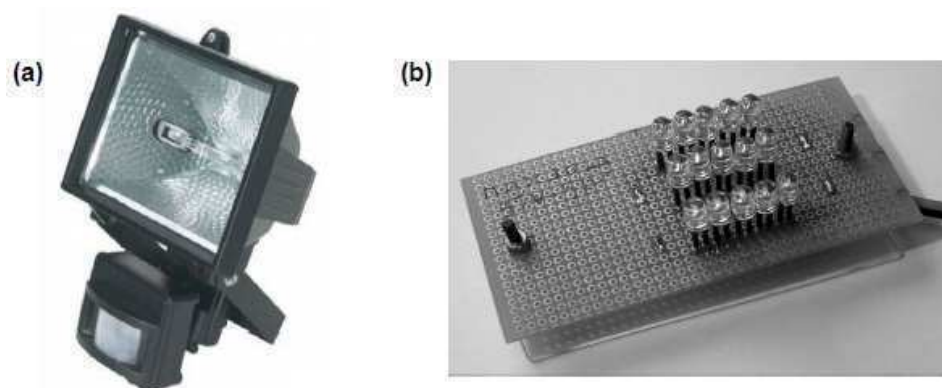
Il tempo di residenza dei reagenti nel MR si ricava secondo la formula:

$$\text{tempo di residenza (sec)} = [\text{volume di reazione (mL)} / \text{velocità di flusso (mL/h)}] * 3600$$

Una stima del volume libero di reazione nelle camere di ossidazione è stata fatta utilizzando il seguente metodo spettroscopico<sup>21</sup>: il reattore vuoto è stato riempito con una soluzione a concentrazione nota di tetrafenilporfirina in toluene, quindi svuotato e la soluzione raccolta è stata portata a volume noto. Mediante misure di assorbanza è stato possibile determinare, conoscendo il coefficiente di estinzione molare della porfirina, la quantità esatta di porfirina e quindi il volume del reattore. Ripetendo la procedura con le camere piene di fotosensibilizzatore è stato possibile risalire al volume libero per differenza.

L'<sup>1</sup>O<sub>2</sub> è stato inizialmente generato a seguito di irraggiamento con una lampada a tungsteno da 300 W posizionata perpendicolarmente ad una distanza di 25 cm dal fotoreattore. È importante sottolineare che l'impiego di una lampada alogena a 300 W (Fig. 7a) rende necessaria la refrigerazione del MR con un letto di ghiaccio e sale (NaCl) per evitarne l'eccessivo surriscaldamento. Si crea però in questo modo uno sbalzo termico tra la faccia superiore e la faccia inferiore del MR, che ne determina spesso la delaminazione e la rottura dopo pochi utilizzi.

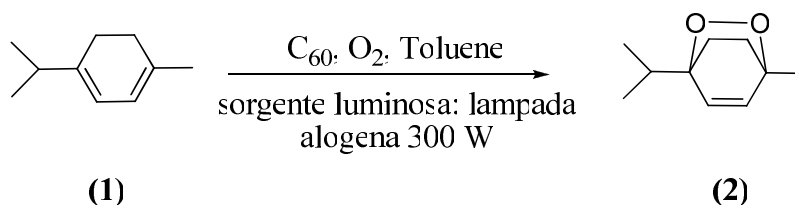
Il problema del surriscaldamento dei MR può essere risolto utilizzando come sorgente luminosa un array di LED a luce bianca (Fig. 7b). In queste condizioni la reazione viene condotta a temperatura ambiente, evitando di sottoporre i MR ad eccessive sollecitazioni termiche. Inoltre, la possibilità di condurre le foto-ossidazioni utilizzando una fonte luminosa fredda e compatta rappresenta un ulteriore vantaggio in termini di semplicità, costi e riduzione delle dimensioni.



**Figura 7.** (a) lampada alogena a 300 W; (b) array di LED a luce bianca.

## 2.2 Risultati e Discussione

### 2.2.1 Foto-ossidazione di $\alpha$ -terpinene



**Schema 3.** Fotoossidazione di  $\alpha$ -terpinene (1) ad ascaridolo (2).

La foto-ossidazione di  $\alpha$ -terpinene (1) è stata dapprima condotta in fase omogenea nel MR polimerico riportato in Fig. 5, collegando l'inlet A ad una riserva di  $\text{O}_2$  e l'inlet B ad una riserva di soluzione contenente (1) e il fotosensibilizzatore ( $\text{C}_{60}$ ) in quantità tale da realizzare un rapporto molare  $\text{C}_{60}$ /substrato pari all'1%. Le reazioni sono state seguite per via gas cromatografica analizzando la scomparsa del reagente (1) e la formazione del prodotto (2). I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 1.

**Tabella 1.** Risultati della reazione di foto-ossidazione dell' $\alpha$ -terpinene (1) con  $\text{C}_{60}$  in fase omogenea e lampada alogena al tungsteno da 300 W come sorgente luminosa

Exp.	T ( $^{\circ}\text{C}$ )	Flusso di (1) (mL/h)	Flusso $\text{O}_2$ (mL/h)	Tempo di Residenza (sec)	Conversione di (2) (%) <sup>(4)</sup>	Ascaridolo (%) <sup>(4)</sup>
1	-5 <sup>(1)</sup>	2	5	78	38	30
2	-5 <sup>(1)</sup>	1	3	138	70	40
3	-5 <sup>(1)</sup>	1	2	180	97	51
4	10 <sup>(2)</sup>	1	0.2	138	45	32
5	> 50 <sup>(3)</sup>	1	0.7	324	29	25

<sup>(1)</sup> MR raffreddato mediante contatto con letto di ghiaccio e sale

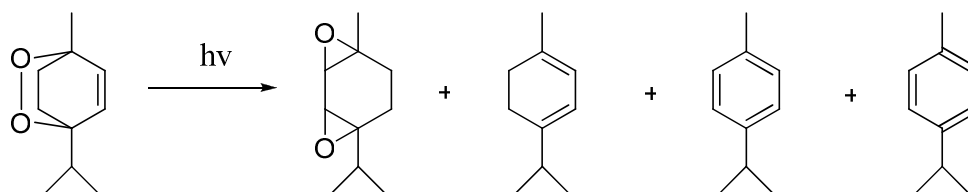
<sup>(2)</sup> raffreddamento con bagno ad acqua

<sup>(3)</sup> temperatura registrata sulla faccia del microreattore esposta all'irraggiamento della lampada UV senza refrigerazione.

<sup>(4)</sup> determinate via gas cromatografica.

L'incremento del tempo di percorrenza da 78 (Exp. 1) a 180 secondi (Exp. 3) consente di raggiungere una conversione massima del 97%. Tuttavia, la resa in ascaridolo (2) non

risulta soddisfacente probabilmente a causa della tendenza di (3) alla degradazione fotochimica per dare i prodotti riportati nello Schema 4<sup>22, 23</sup>.



**Schema 4.** Prodotti di riarrangiamento fotochimico e decomposizione fotoindotta dell'ascaridolo.

Dai risultati ottenuti è altresì possibile notare che l'incremento di temperatura da -5 a 10 °C (Exp 2 e 4) determina, a parità di tempo di residenza nel MR, una riduzione della conversione dell' $\alpha$ -terpinene (1). Ciò è probabilmente dovuto alla riduzione della solubilità dell'ossigeno di singoletto in toluene all'aumentare della temperatura d'esercizio. Tale ipotesi è confermata dall'esperimento 5 nel quale l'aumento della temperatura a 50 °C determina la conversione più bassa registrata nel corso dello studio (25 %).

La foto-ossidazione di (1) è stata condotta anche in fase eterogenea nel MR polimerico riportato in Fig. 6 nelle condizioni operative impiegate per il sistema omogeneo. I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 2. Nell'intervallo di tempi di residenza esplorati (27-109 sec) la conversione di (1) è pressoché quantitativa (94-97 %).

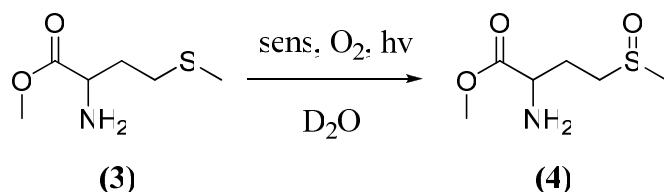
Tuttavia, la resa in ascaridolo (2), pur restando costante in tutti gli esperimenti, non supera mai il 53 % a causa della tendenza alla degradazione fotochimica di (2) precedentemente discussa.

**Tabella 2.** Risultati della reazione di foto-ossidazione dell' $\alpha$ -terpinene (1) con fotosensibilizzatore eterogeneo TG-C<sub>60</sub> e lampada alogena al tungsteno da 300 W<sup>(1)</sup>

Exp.	T (°C)	Flusso di (1) (mL/h)	Flusso O <sub>2</sub> (mL/h)	Tempo di Residenza (sec)	Conversione di (2) (%) <sup>(3)</sup>	Ascaridolo (%) <sup>(3)</sup>
1	-5 <sup>(2)</sup>	1	2	27	94	52
2	-5 <sup>(2)</sup>	0.5	1	54	97	53
3	-5 <sup>(2)</sup>	0.25	0.5	109	96	53

<sup>(1)</sup> fotosensibilizzatore eterogeneo preparato funzionalizzando la resina TentaGel-NH<sub>2</sub> con C<sub>60</sub> come descritto in dettaglio nella Parte Sperimentale; <sup>(2)</sup> MR raffreddato mediante contatto con letto di ghiaccio e sale; <sup>(3)</sup> determinate via gas cromatografica.

### 2.2.2 Foto-ossidazione della (L)-metionina metil estere

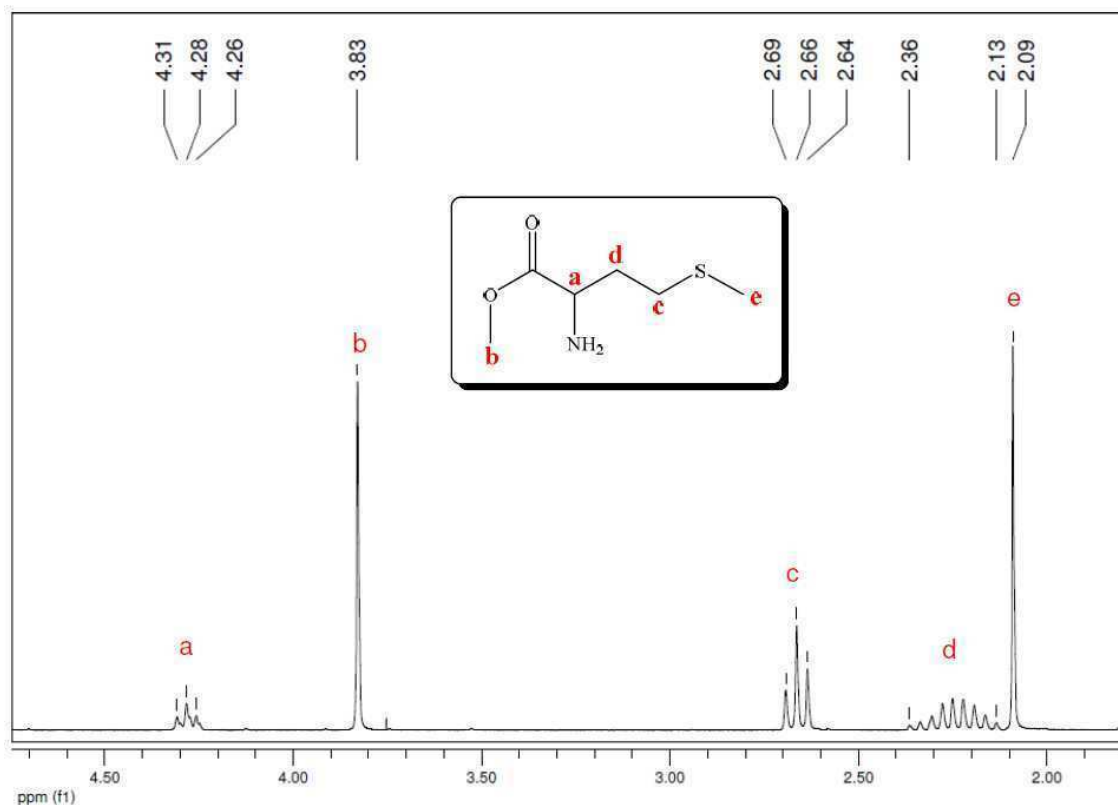


**Schema 5.** Foto-ossidazione della (L)-metionina metilestere (3) al corrispondente solfossido (4).

La foto-ossidazione della (L)-metionina metilestere (3) a solfossido (4) con ossigeno singoletto è stata condotta in acqua deuterata ( $\text{D}_2\text{O}$ )<sup>24</sup> e seguita mediante  $^1\text{H-NMR}$  seguendo la scomparsa del reagente (3) e la formazione del prodotto (4).

Il pD della soluzione è stato mantenuto a 6 per evitare la formazione di sottoprodotti<sup>25</sup>.

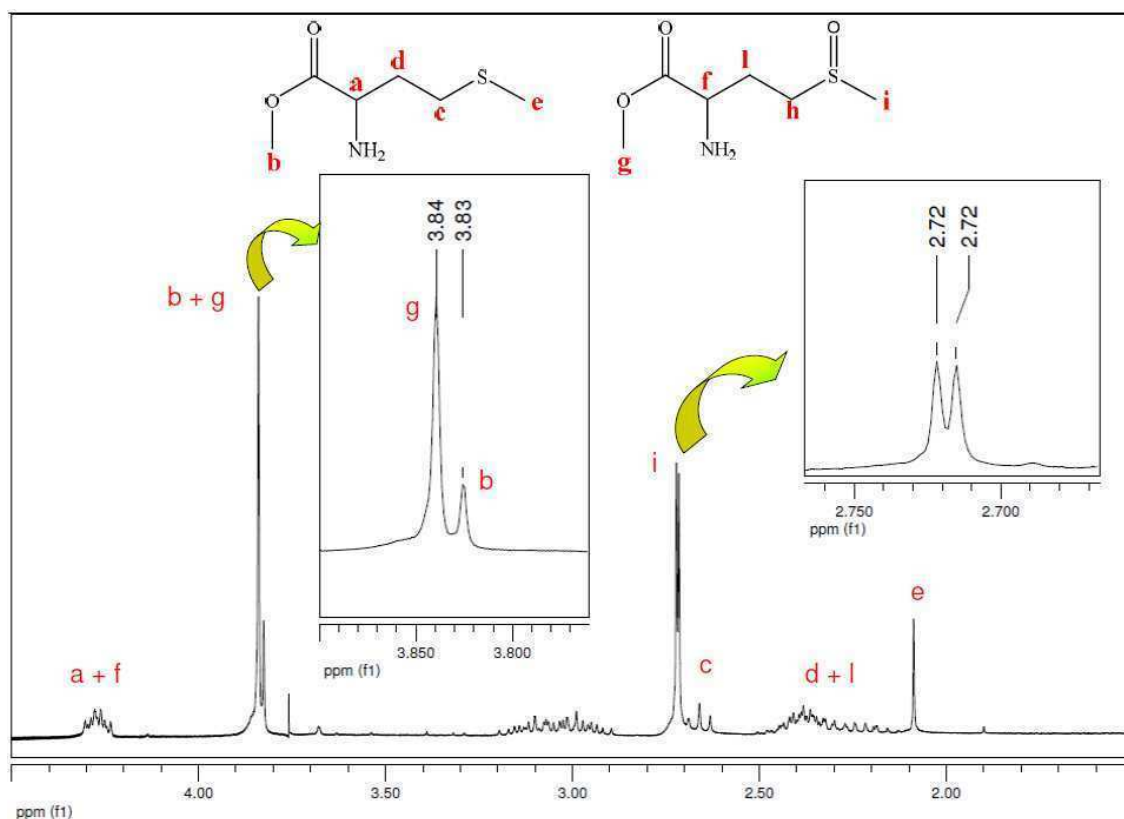
In Fig. 8 è riportato lo spettro della (L)-metionina metilestere (3) reagente.



**Figura 8.** Spettro  $^1\text{H-NMR}$  della (L)-metionina metilestere (3) (250 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).

Il tripletto a 4.28 ppm è dovuto al protone in  $\alpha$  al carbonile (a), che accoppia con il metile adiacente (d). Il singoletto a 3.83 ppm è invece attribuibile al metile dell'estere (b), mentre a 2.66 ppm si trova il segnale di tripletto dovuto al metile adiacente allo

zolfo (c) che accoppia con i protoni (d). Il multipletto centrato a 2.25 ppm è assegnato al metile centrale (d) e infine il singoletto a 2.09 ppm è dovuto al metile legato all'atomo di zolfo (e). L'ossidazione a solfossido causa uno spostamento di quasi tutti i segnali protonici, in particolare di quelli adiacenti allo zolfo. In caso di conversione incompleta, come è possibile vedere nello spettro riportato in Figura 9, i segnali del reagente e del prodotto ossidato sono molto vicini e spesso sovrapposti, tanto da rendere difficile una determinazione quantitativa diretta della conversione mediante semplice rapporto tra due integrali.



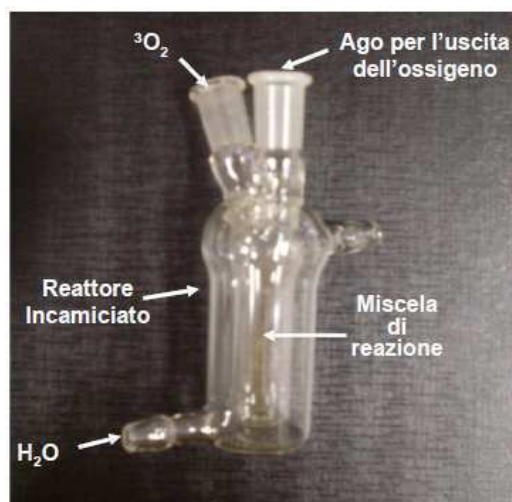
**Figura 9.** Spettro <sup>1</sup>H-NMR della (L)-metionina metilestere (3) e del corrispondente solfossido (250 MHz, D<sub>2</sub>O)

Per ovviare a questo si sono considerati i singoletti dei due metili esterei, a 3.83 ppm il segnale dovuto alla metionina (b) e a 3.84 ppm quello del solfossido (g), e calcolato l'integrale comune.

Abbiamo poi considerato il segnale isolato a 2.1 ppm dovuto al metile legato allo zolfo della metionina (e); la differenza fra questi due integrali fornisce una stima dell'integrale esatto dovuto ai protoni metilici esterei del solo solfossido. Il rapporto fra

l'integrale così calcolato e l'integrale somma dei segnali attorno a 3.8 ppm fornisce il dato numerico della conversione della metionina.

La reazione è stata inizialmente condotta in un reattore fotochimico incamiciato munito di agitatore magnetico e di raccordo doppio chiuso da due setti in gomma. Un tubicino in Teflon® collega il reattore ad un pallone contenente ossigeno molecolare ( $O_2$ ) (Fig. 10).



**Figura 10.** Apparecchiatura utilizzata per la reazione di fotoossidazione in condizioni batch.

La soluzione di (L)-metionina metilestere introdotta nel fotoreattore incamiciato è stata aggiunta di una quantità di fotosensibilizzatore eterogeneo TG-C<sub>60</sub> (Fig. 2) tale da realizzare un rapporto molare fotosensibilizzatore/substrato pari all'1%. La reazione non ha però avuto l'andamento atteso perché, anche con un tempo di irraggiamento elevato (> 120 min), non si è osservata la formazione di (4).

La reazione è stata condotta anche in MR polimerico riportato in Fig. 6, collegando l'inlet A ad una riserva di  $O_2$  e l'inlet B ad una soluzione di (3).

Le tre camere del microreattore sono state impaccate con il fotosensibilizzatore TG-C<sub>60</sub> nel primo set di esperimenti e con il fotosensibilizzatore Si-C<sub>60</sub> nel secondo set di esperimenti.

Negli esperimenti condotti utilizzando il fotosensibilizzatore TG-C<sub>60</sub> (Tabella 3) l'incremento del tempo di residenza da 32 (Exp. 1) a 102 secondi (Exp. 5) determina un incremento della conversione di (3) dal 38 % all'85 %.

**Tabella 3.** Risultati della reazione di foto-ossidazione di (3) con il fotosensibilizzatore eterogeneo TG-C<sub>60</sub> e lampada alogena al tungsteno da 300 W come sorgente luminosa.

Exp.	T (°C) <sup>(1)</sup>	Flusso di (3) (mL/h)	Flusso O <sub>2</sub> (mL/h)	Tempo di Residenza (sec)	Conversione di (3) (%) <sup>(2)</sup>
1	0	1	1.5	32	38
2	0	0.7	1.5	37	40
3	0	0.7	1.0	48	55
4	0	0.3	0.8	74	59
5	0	0.2	0.6	102	85

<sup>(1)</sup> reattore adagiato su letto di ghiaccio e sale

<sup>(2)</sup> determinato via <sup>1</sup>H-NMR

La sostituzione del fotosensibilizzatore supportato su resina con l'ibrido fulleropirrolidina-silice (Si-C<sub>60</sub>) permette di raggiungere una conversione quantitativa con tempi di residenza inferiori (Tabella 4).

**Tabella 4.** Risultati della foto-ossidazione di (3) con il fotosensibilizzatore eterogeneo Si-C<sub>60</sub><sup>(1)</sup> e lampada alogena al tungsteno da 300 W come sorgente luminosa

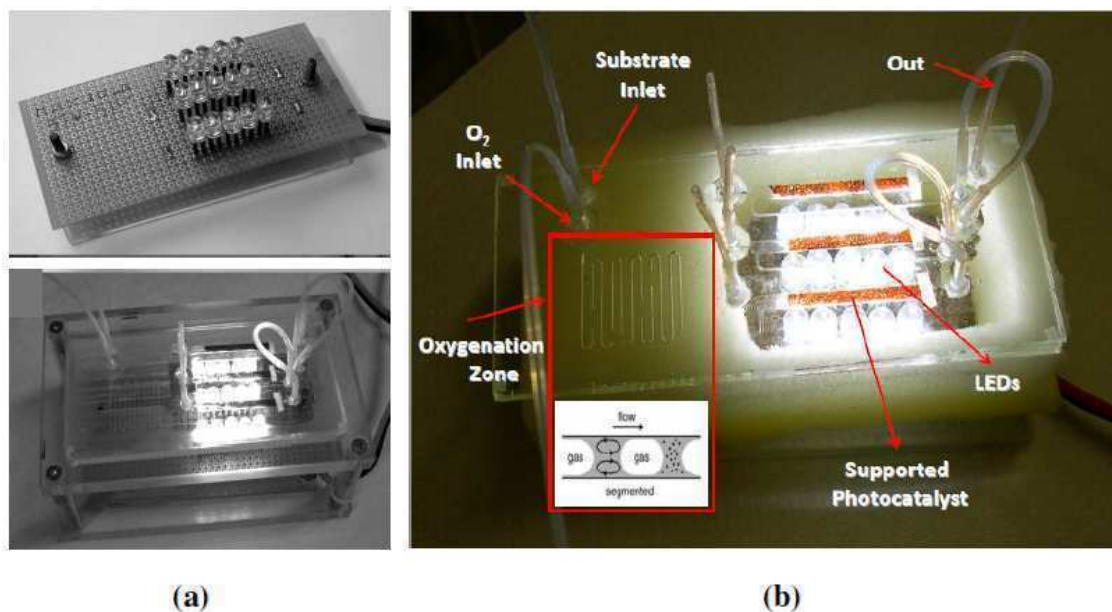
Exp.	T (°C) <sup>(1)</sup>	Flusso di (3) (mL/h)	Flusso O <sub>2</sub> (mL/h)	Tempo di Residenza (sec)	Conversione di (3) (%) <sup>(2)</sup>
1	0	0.7	1.5	21	83
2	0	0.8	2.5	33	100
3	0	0.5	2.0	42	100

<sup>(1)</sup> preparato secondo la procedura riportata in Advanced Materials 1995, 7, 404<sup>26</sup>

<sup>(2)</sup> determinata via <sup>1</sup>H-NMR

I problemi di surriscaldamento del MR indotti dalla lampada alogena sono stati risolti utilizzando come sorgente luminosa un array di LED a luce bianca integrato su un supporto di policarbonato costruito su misura per alloggiare il reattore e illuminare specificatamente solo le zone delle camere contenenti il fotosensibilizzatore (Fig. 11).





**Figura 11.** (a) array di LED a luce bianca e alloggiamento in policarbonato; (b) immagine del MR posizionato sul supporto integrante i LED nel corso della reazione.

In queste condizioni la reazione è stata condotta a temperatura ambiente. I risultati ottenuti utilizzando l'array di LED sono riportati in Tabella 5.

**Tabella 5.** Risultati della foto-ossidazione di (3) con il fotosensibilizzatore eterogeneo Si-C<sub>60</sub> e utilizzando un array di LED a luce bianca come sorgente luminosa.

Exp.	T (°C) <sup>(1)</sup>	Flusso di (3) (mL/h)	Flusso O <sub>2</sub> (mL/h)	Tempo di Residenza (sec)	Conversione di (3) (%) <sup>(2)</sup>
1 <sup>(2)</sup>	25	0.5	1.0	23	57
2 <sup>(3)</sup>	25	0.5	2.0	28	42
3 <sup>(4)</sup>	25	1.0	2.5	30	89
4 <sup>(4)</sup>	25	0.5	2.0	42	100

<sup>(1)</sup> senza refrigerazione; <sup>(2)</sup> reazione condotta utilizzando una sola camera; <sup>(3)</sup> reazione condotta utilizzando due camere; <sup>(4)</sup> reazione condotta utilizzando tre camere

Il miglior risultato si ottiene quando il flusso dei reagenti attraversa le tre camere contenenti il fotosensibilizzatore supportato. In queste condizioni è infatti possibile ottenere una conversione completa del substrato al corrispondente solfossido impostando un tempo di percorrenza di soli 42 secondi (Exp 4 Tab. 5).

## 2.3 Conclusioni

È stata messa a punto la costruzione di MR compositi vetro-polimero contenenti, oltre ai microcanali, anche delle camere di contenimento per reagenti solidi.

I reattori sono stati utilizzati per studiare la foto-ossidazione dei substrati modello  $\alpha$ -terpinene (**1**) e (L)-metionina metil estere (**3**) con  $^1\text{O}_2$  generato *in situ*, utilizzando come fotosensibilizzatori derivati fullerenici sia in fase omogenea che in fase eterogenea.

Per entrambe i substrati studiati è stato possibile ottenere conversioni quantitative nei prodotti attesi (**2**) e (**4**) con tempi di residenza più brevi (50 e 40 secondi rispettivamente) rispetto a quelli delle medesime reazioni batch (60 min).

Un tale risultato è probabilmente dovuto al fatto che le ridotte dimensioni del MR favoriscono la diffusione dell'ossigeno di singoletto velocizzando pertanto la reazione.

L'array di LED a luce bianca utilizzato come sorgente luminosa alternativa alla tradizionale lampada alogena a 300 W si è rivelato efficiente nella foto-ossidazione di (**3**) ma non in quella di (**1**). Le due sorgenti luminose, infatti, pur avendo intensità luminose paragonabili (19000 lux per l'array di LED e 18000 lux per la lampada alogena) emettono in regioni diverse dello spettro UV-vis: i LED emettono nel visibile (400-700 nm) mentre la lampada alogena a tungsteno emette nella regione UV (200-350 nm).

Si è pertanto supposto che l'inefficienza dei LED nella foto-ossidazione di (**1**) potesse essere attribuita al loro ristretto intervallo di emissione che probabilmente influenza la generazione dell' $^1\text{O}_2$  rendendo la reazione meno efficiente.

I risultati ottenuti da questo studio sono stati pubblicati nel 2008 su *Advanced Synthesis and Catalysis*<sup>27</sup>. Altri substrati saranno studiati in futuro.

## 2.4 Parte Sperimentale

### 2.4.1 Solventi e reagenti

I reagenti e i solventi commerciali impiegati per le sintesi sono stati utilizzati senza ulteriori purificazioni.

Il fotosensibilizzatore Si<sub>B</sub>-C<sub>60</sub> immobilizzato su gel di silice è stato preparato seguendo una procedura di letteratura<sup>26</sup>.

### 2.4.2 Materiali

In tutte le reazioni condotte in MR per la movimentazione dei fluidi sono state utilizzate siringhe in vetro Hamilton di tipo gas-tight di volume opportuno (5 e 10 mL) (item n. 81527 e 81627) connesse con tubi in PTFE mediante giunzioni in PEEK® (Upchurch Scientific, item n. P-662).

Le siringhe sono state montate su pompe a siringa KD Scientifics (modello KDS100).

Per alimentare l'array di LED è stato utilizzato un generatore HAMEG modello HM7042-S della Elpav Instruments.

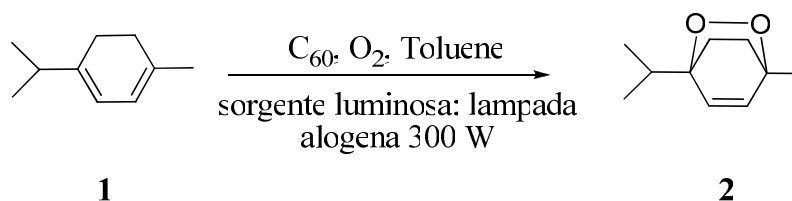
### 2.4.3 Strumentazione e Procedure Analitiche

**Spettroscopia <sup>1</sup>H-NMR:** gli spettri di risonanza magnetica nucleare sono stati registrati con uno spettrometro Bruker AC 250 operante a 250.13 MHz ed elaborati con il programma Mestrec 4.9.9.0. I *chemical shift* sono riportati in  $\delta$  (ppm) rispetto al segnale del TMS o al segnale dovuto alle parte non deuterata del cloroformio (CDCl<sub>3</sub>,  $\delta = 7.26$  ppm) o dell'acqua (D<sub>2</sub>O,  $\delta = 4.79$  ppm). La molteplicità dei segnali negli spettri del protone è descritta con la seguente terminologia: *s* = singoletto, *d* = doppietto, *t* = tripletto, *q* = quartetto, *qn* = quintetto, *m* = multipletto, *br* = *broad* denota un segnale allargato. Eventuali segnali dovuti a solventi residui vengono indicati sullo spettro con “s”.

**Gascromatografia:** i cromatogrammi sono stati registrati con un gas cromatografo Hewlett Packard HP 6890 con rivelatore ad ionizzazione di fiamma interfacciato ad un pc dotato del sistema di integrazione HP Chem Station 3365. Le condizioni operative sono le seguenti:

<b>Colonna:</b>	EC-1000 (Alltech, item n. 101249); lunghezza 30 m, ID 0.250 mm spessore film 0.25 $\mu\text{m}$
<b>Temperatura Iniettore:</b>	200 $^{\circ}\text{C}$
<b>Temperatura Rivelatore:</b>	240 $^{\circ}\text{C}$
<b>Programma Temperatura</b>	50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min) $\rightarrow$ 240 $^{\circ}\text{C}$ (2 min) a (14 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )
<b>Flusso:</b>	2 mL/min (costant flow)
<b>Split Ratio:</b>	26 : 1

#### 2.4.4 Foto-ossidazione di (1) con fotosensibilizzatore in fase omogenea



Schema 6.

	MW	mg	mL (d, g/mL)	mmol	eq.
(1)	136.24	163	0.195 (0.837 g/mL)	1.2	1
<b>C<sub>60</sub></b>	720.66	8.8	-	0.012	0.01
<b>n-tetradecano</b>	198.39	99	0.130 (0.762 g/mL)	0.5	0.5
<b>toluene</b>	92.14	-	10	-	-

In un matraccio da 10 mL sono stati aggiunti (1) (0.195 mL, 1.2 mmol, ), *n*-tetradecano (0.130 mL 0.5 mmol) e C<sub>60</sub> (8.8 mg, 0.012 mmol). Si porta a volume con toluene e si trasferisce la soluzione in una siringa gas-tight in vetro da 10 mL collegata all'inlet B del MR riportato in Figura 5. All'inlet A viene invece collegata una siringa gas-tight in vetro da 10 mL riempita di ossigeno.

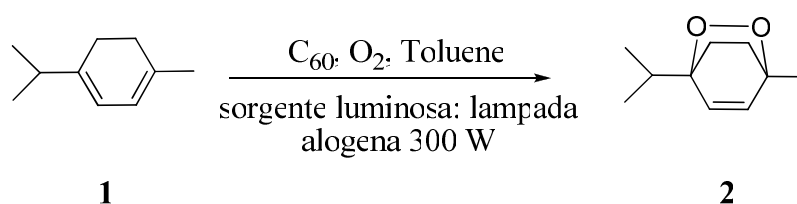
Le due siringhe gas-tight sono montate su due pompe a siringa modello KDS100.

Il MR è stato adagiato su un letto di ghiaccio a sale (NaCl), per evitarne il surriscaldamento, ed illuminato con lampada al filamento di tungsteno da 300 W.

Il crudo di reazione raccolto in uscita dal microreattore è stato analizzato via gas cromatografica ottenendo i risultati riportati in Tabella 1.

GC (50 °C (1 min) → 240 °C (2 min) a 14 °C/min) :  $t_R$   $\alpha$ -terpinene = 5.7 min;  $t_R$  *n*-tetradecano = 7.7 min;  $t_R$  ascaridolo = 12 min

### 2.4.5 Foto-ossidazione di (1) con fotosensibilizzatore eterogeneo TG-C<sub>60</sub>



Schema 7.

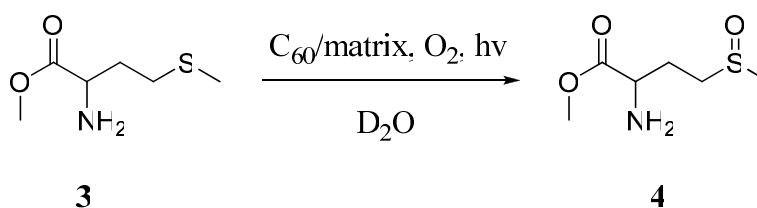
	MW	mg	mL (d, g/mL)	mmol	eq.
(1)	136.24	214	0.256 (0.837 g/mL)	1.5	1
C <sub>60</sub>	720.66	045	-	0.6 x 10 <sup>-3</sup>	0.1 x 10 <sup>-3</sup>
<i>n</i> -tetradecano	198.39	133	0.174 (0.762 g/mL)	0.7	0.5
toluene	92.14	-	25	-	-

In un matraccio da 25 mL vengono aggiunti (1) (0.256 mL, 1.5 mmol) e *n*-tetradecano (0.174 mL, 0.7 mmol) quale standard interno. La soluzione viene portata a volume con toluene e caricata in una siringa gas-tight in vetro da 10 mL collegata all'inlet A del MR riportato in Figura 6. All'inlet B viene invece collegata una siringa gas-tight in vetro da 10 mL riempita di ossigeno. Nelle tre camere del MR sono stati immobilizzati 14.3 mg di TG-C<sub>60</sub> per un totale di 0.45 mg di C<sub>60</sub> (0.6  $\mu$ mol).

Le due siringhe gas-tight sono state montate su due pompe KDS100. Il dispositivo è stato adagiato su un letto di ghiaccio e sale per evitarne il surriscaldamento, ed illuminato con lampada alogena al tungsteno da 300 W.

Il crudo di reazione in uscita dal microreattore è stato analizzato via gas cromatografica ottenendo i risultati riportati in Tabella 2.

GC (50 °C (1 min) → 240 °C (2 min) a 14 °C/min) :  $t_R$   $\alpha$ -terpinene = 5.7 min;  $t_R$  *n*-tetradecano = 7.7 min;  $t_R$  ascaridolo = 12 min

2.4.6 Foto-ossidazione di (3) con fotosensibilizzatore eterogeneo Si<sub>B</sub>-C<sub>60</sub>

Schema 6.

	MW	mg	mL	mmol	eq.
(L)-metionina metil estere	199.70	24.1	-	0.121	1
Si-C <sub>60</sub>	-	42.5	-	-	-
TG-C <sub>60</sub>		14.3			
D <sub>2</sub> O	20.03	-	5	-	-

Una soluzione di (3) (0.121 mmol) in acqua deuterata (D<sub>2</sub>O) (4 mL), addizionata di due gocce di DCl diluite in 1 mL di D<sub>2</sub>O, viene caricata in una siringa Hamilton gas-tight da 5 mL e inviata all'inlet A del MR. All'inlet B viene invece collegata una siringa gas-tight in vetro da 5 mL riempita di ossigeno. Nelle tre camere del MR sono stati immobilizzati 14.3 mg di TG-C<sub>60</sub> nel primo set di esperimenti e 42.5 mg di fotosensibilizzatore Si-C<sub>60</sub>.

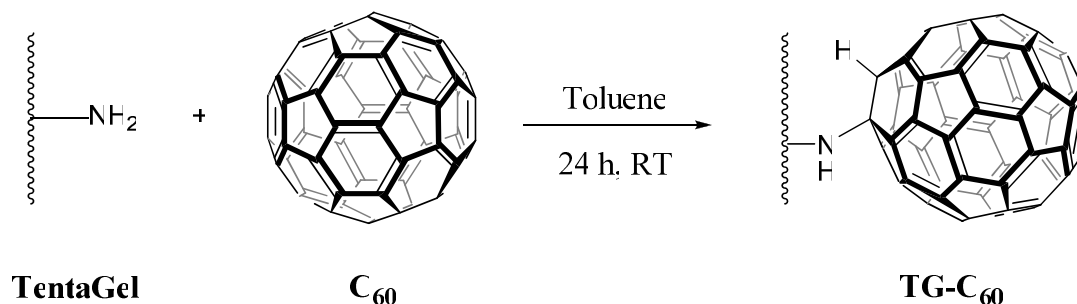
Le due siringhe gas-tight sono state montate su due pompe KDS100.

Utilizzando la lampada alogena al tungsteno da 300 W come sorgente luminosa è necessario adagiare il reattore su un letto di ghiaccio e sale per evitarne il surriscaldamento. Al contrario, non è necessario refrigerare il dispositivo quando si usa come sorgente luminosa l'array di LED.

Il grezzo di reazione è stato diluito 1:1 (v/v) con D<sub>2</sub>O e la conversione di (3) a (4) è stata determinata via <sup>1</sup>H-NMR ottenendo i risultati riportati in Tabella

**<sup>1</sup>H-NMR (250MHz, D<sub>2</sub>O) δ (ppm):** 4.31 (q, 1H); 3.84 (s, 3H); 2.99 (m, 2H); 2.71 (s, 3H); 2.83 (s, 3H); 2.40 (m, 2H)

### 2.4.7 Immobilizzazione del C<sub>60</sub> su resina TentaGel®



Schema 7.

200 mg di resina TentaGel® sono stati lasciati sotto agitazione in 5 mL di una soluzione  $2 \times 10^{-3}$  M di C<sub>60</sub> in toluene, fino a quando la soluzione di C<sub>60</sub> è diventata completamente incolore (~24 h).

Il solvente è quindi stato allontanato e la resina funzionalizzata è stata seccata sotto flusso d'azoto. Nella resina TentaGel® funzionalizzata sono stati quindi immobilizzati  $8.8 \times 10^{-3}$  moli di C<sub>60</sub>.

## 2.5 Bibliografia

1. R. Roberts, *Applications of Photochemistry*, Technomic publishing, Lancaster, Pennsylvania, 1984.
2. A. P. Dermanyan, *J. Phys. Chem.*, 1998, **102**, 9833.
3. J. J. M. Lamberts, *Tetrahedron*, 1985, **41**, 2183.
4. P. Donnola, T. Carofiglio, M. Maggini, M. Rossetto and E. Rossi, *Adv. Synth. Catal.*, 2008, **350**, 2815.
5. H. Bottcher, *Technical Applications of Photochemistry*, Leipzig, 1991.
6. E. G. Redemann, *J. Am. Chem. Soc.*, 1942, **64**, 3049.
7. I. J. Wilk, *J. Chem. Ed.*, 1968, **45**, A547.
8. K. F. Jensen, M. A. Schmidt and H. Lu, *Lab Chip*, 2001, **1**, 22.
9. T. Fukuyama, Y. Hino, N. Kamata and I. Ryu, *Chem. Lett.*, 2004, **33**, 1430.
10. A. J. De Mello, R. C. R. Wootton and R. Fortt, *Org. Proc. Res. & Dev.*, 2002, **6**, 187.
11. K. Jahnisch and U. Dingerdissen, *Chem. Eng. Technol.*, 2005, **28**, 426.
12. S. T. Meyer, D.; S. Rau, B. Schafer and G. Kreisel, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, 2007, **186**, 248.
13. C. Taliani and al., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1993, 220.
14. L. Juha and al., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1994, 2437.
15. D. I. Schuster, *Chem. Commun.*, 1998, 2493.
16. T. De Ros and M. Prato, *Chem. Commun.*, 1999, 663.
17. A. Ikeda and al., *Chem. Commun.*, 1999, 1403.
18. R. S. Ruoff, *J. Phys. Chem.*, 1993, **97**, 3379.
19. V. Foltran, *Derivati Fullerenici come Fotosensibilizzatori Eterogenei*, Università degli Studi di Padova, 1999.
20. M. Maggini, F. Gasparini, A. Bianco, D. Misiti, A. Polese, M. Prato, G. Scorrano, C. toniolo and C. Villani, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 7550.
21. M. Rossetto, Università degli Studi di Padova, 2007.
22. K. K. Maheshwari, P. De Mayo and D. Wiegand, *Canadian Journal of Chemistry*, 1970, **48**, 3265.
23. R. Srinivasan, K. H. Rbrowne, J. A. Ors and L. S. White, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 7424.
24. M. Bonchio, T. Carofiglio, M. Carraro, R. Fornasier and U. Tonellato, *Organic Letters*, 2002, **4**, 4635.
25. P. K. Sysak, C. S. Foote and T. Y. Ching, *Photochemistry and Photobiology*, 1977, **26**, 19.
26. M. Maggini, G. Scorrano, M. Prato, M. Meneghetti and et al., *Adanced Materials*, 1995, **7**, 404.
27. T. Carofiglio, P. Donnola, M. Maggini, M. Rossetto and E. Rossi, *Adv. Synth. Catal.*, 2008, **350**, 2815.

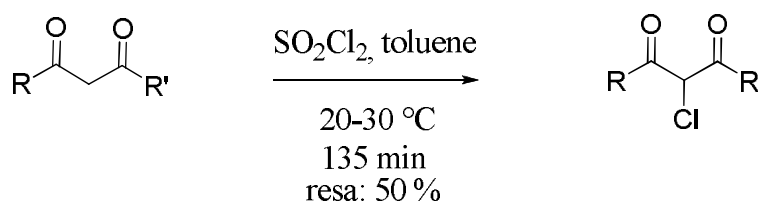


# Capitolo 3

$\alpha$ -alogenazione selettiva di  
composti 1,3-dicarbonilici

### 3.1 Introduzione

I prodotti di  $\alpha$ -alogenazione di composti 1,3-dicarbonilici (Schema 1) sono importanti intermedi di interesse farmacologico<sup>1</sup> in quanto vengono impiegati nella sintesi di composti quali agenti citoprotettivi, antiulcera, gastroprotettori ed anti HIV<sup>2</sup>. Essi vengono preparati per reazione con cloro, *N*-clorosuccinimide (NCS)<sup>3, 4</sup> o cloruro di solforile (SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)<sup>5</sup>.



**Schema 1.** Alogenazione in  $\alpha$  di composti 1,3-dicarbonilici.

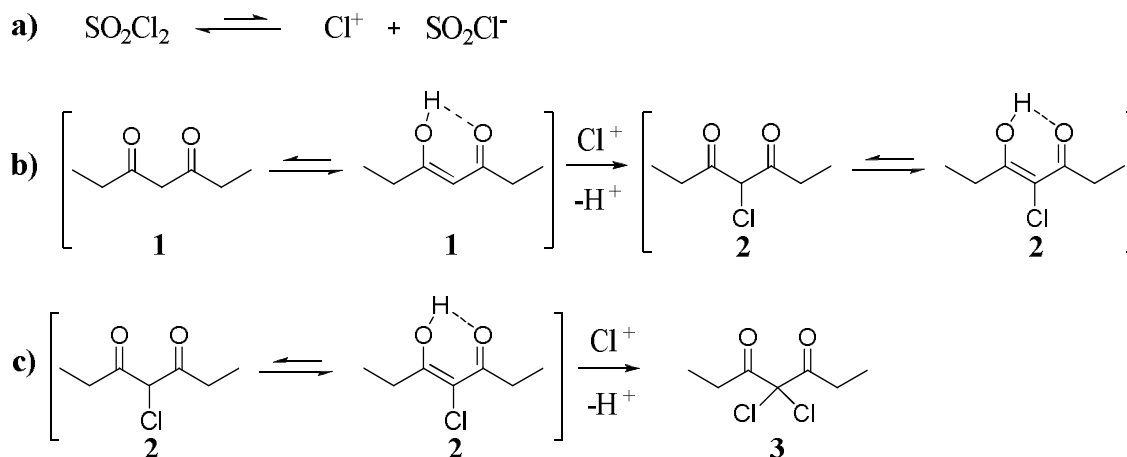
Cl<sub>2</sub> e NCS richiedono l'impiego di catalizzatori acidi o basici e l'uso di solventi polari come dimetilformamide, dimetilsolfossido o acetonitrile. I tempi di reazione sono piuttosto lunghi, le procedure di rettificazione del prodotto finale complesse (generalmente l'addotto monoclorurato viene separato dai sottoprodotti della reazione per distillazione frazionata) e si possono formare derivati  $\alpha,\alpha$ -dialogenati in quantità rilevanti.

Anche il cloruro di solforile, nonostante sia un reattivo tossico e altamente corrosivo, è molto usato come agente clorurante perché consente di condurre l' $\alpha$ -alogenazione dei composti 1,3-dicarbonilici in modo selettivo e con buone rese<sup>6</sup>.

L'addizione di SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a 1,3-dichetoni è una reazione di addizione elettrofila in cui lo ione cloronio (Cl<sup>+</sup>), generato dalla dissociazione del cloruro di solforile<sup>7</sup> (Schema 2a), reagisce con la forma enolica del composto carbonilico per dare il prodotto  $\alpha$ -alogenato (Schema 2b) rapidamente e con buone rese accanto a tracce di composto  $\alpha,\alpha$ -dialogenato (Schema 2c).

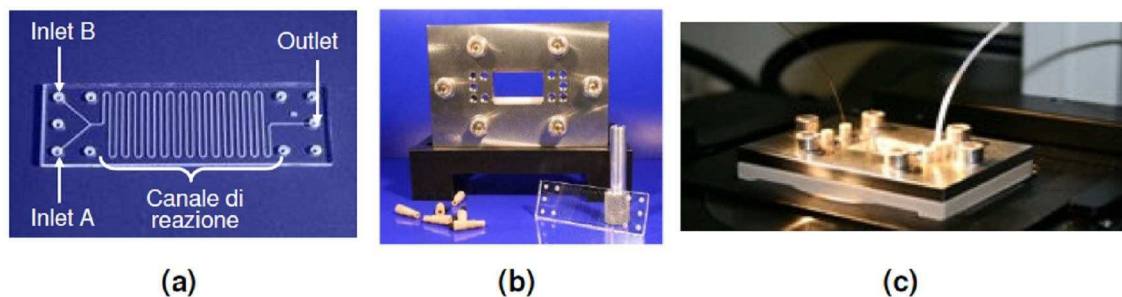
Nelle condizioni batch ottimizzate da FIS<sup>1</sup>, l'aggiunta di SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> in porzioni successive porta alla formazione di un grezzo di reazione contenente il 98 % di 4-cloro-3,5-eptandione (**2**) e il 2 % di 4,4-dicloro-3,5-eptandione (**3**). La purificazione di (**2**) per distillazione frazionata è un'operazione complicata dal fatto che (**2**) subisce degradazione termica con conseguente diminuzione della resa.

<sup>1</sup> comunicazione personale del Dott. Andrea Castellin



**Schema 2.** a) Equilibrio di dissociazione del cloruro di solforile. La formazione dello ione cloronio ( $\text{Cl}^+$ ) è favorita da solventi coordinanti come ad esempio l'etere etilico; b) formazione dell'addotto monoalogenato; c) formazione del prodotto bis-alogenato.

Separare (2) da (3) per distillazione frazionata risulta infatti difficile poiché i due addotti hanno punti di ebollizione piuttosto vicini (206 °C e 212 °C rispettivamente). Si è ipotizzato che l'efficienza nel trasferimento di massa offerto dal MR potesse essere sfruttata per ridurre ulteriormente la percentuale di (3) generata, eliminando pertanto la necessità di purificare il prodotto per distillazione frazionata. Inoltre l'uso del MR avrebbe minimizzato il rischio associato all'uso di  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  che verrebbe utilizzato in piccole quantità in un sistema confinato.



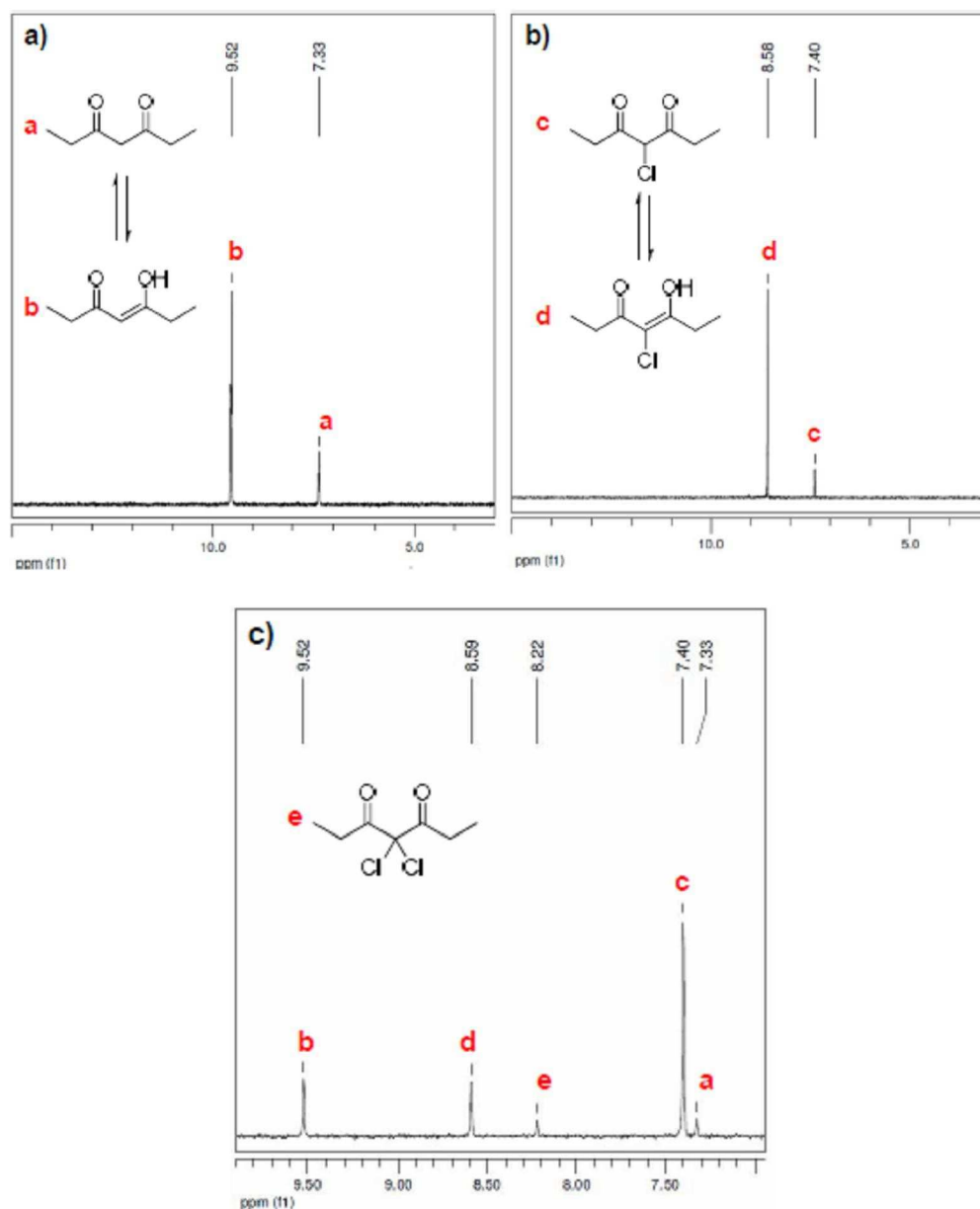
**Figura 1.** (a) MR commerciale MICRONIT; (b) il supporto e le connessioni microfluidiche; (c) set-up di reazione.

Nei nostri esperimenti la clorurazione  $\alpha$ -selettiva di (1) è stata condotta in reattore commerciale MICRONIT in vetro borosilicato (Fig. 1) a circa 0 °C utilizzando solventi quali il metil *ter*-butil etere (MTBE) e il toluene, che si differenziano per la reattività nei confronti della specie clorurante.

È infatti riportato in letteratura<sup>7</sup> che solventi coordinanti, come ad esempio gli eteri, sono in grado di spostare l'equilibrio di dissociazione di  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  verso la formazione

della specie elettrofila della quale però riducono la reattività per solvatazione della carica. Al contrario, il toluene è un solvente non coordinante e inerte all'alogenazione con  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  nelle condizioni di reazione da noi adottate<sup>11</sup>.

La composizione della miscela di reazione è stata determinata via  $^{13}\text{C}$ -NMR considerando gli integrali dei segnali nell'intervallo 7.3-9.5 ppm attribuibili agli atomi di carbonio metilici del 3,5-eptandione (**1**), del 4-cloro-3,5-eptandione (**2**), e del 4,4-dicloro-3,5-eptandione (**3**) (Fig. 2).



**Figura 2.** Spettri  $^{13}\text{C}$ -NMR (62.9 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ). **a)** atomi di carbonio metilici di (**1**); **b)** atomi di carbonio metilici di (**2**); **c)** intervallo in cui risuonano i segnali considerati per la determinazione della composizione del grezzo di reazione.

I risultati ottenuti sono stati anche validati da analisi gas cromatografiche eseguite sui medesimi campioni preparati per l'analisi  $^1\text{H-NMR}$  (Tabella 1).

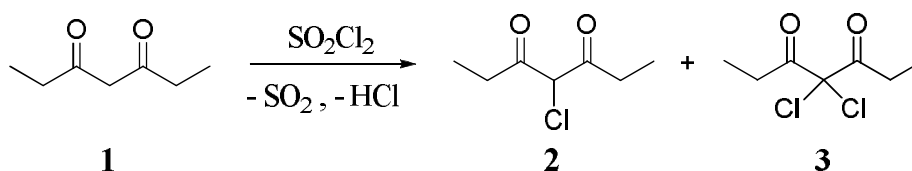
**Tabella 1.** Confronto fra la determinazione della composizione di un grezzo di reazione eseguita via GC e via  $^{13}\text{C-NMR}$  per una reazione condotta in MR.

Composto	% <sup>a</sup>	% <sup>b</sup>
1	n.d.	n.d.
2	53.0	58.0
3	41.2	42.0

<sup>a</sup> determinata via GC

<sup>b</sup> determinata via  $^{13}\text{C-NMR}$

### 3.2 Risultati e discussione



Sono state inizialmente eseguite delle prove di clorurazione di (1) in MR impiegando  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  sia in presenza sia in assenza di solvente con scarso successo (Tabella 2), in quanto nelle condizioni di reazione sperimentate sono state ottenute delle miscele in cui la percentuale di (3) non è mai scesa al di sotto del 30%.

Prendendo spunto dalla procedura batch ottimizzata da FIS, che prevede aggiunte successive di  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ , è stato montato il sistema microfluidico illustrato in Figura 3. Due MR in vetro MICRONIT sono stati messi in serie per l'aggiunta di  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  in due frazioni successive di 0.5 equivalenti ciascuna.

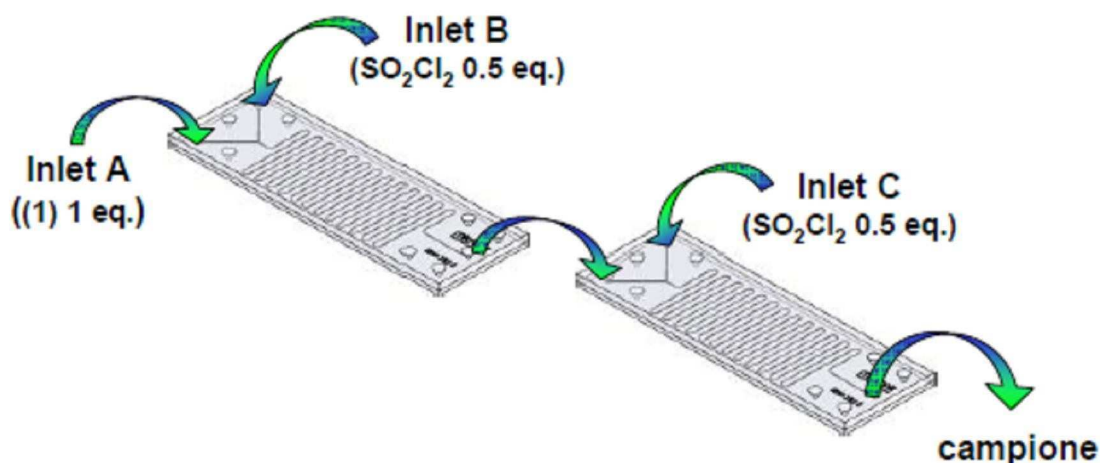
**Tabella 2.**  $\alpha$ -clorurazione selettiva di (1) in MR.

Exp. <sup>a</sup>	Solvente	Tempo di percorrenza (min)	Reagenti (eq.)		Prodotti (%) <sup>b</sup>		
			(1)	SO <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	(1)	(2)	(3)
1	<i>neat</i>	2.2	1 eq.	1 eq.	n.d.	59	41
2	MTBE <sup>c</sup>	2.2	1 eq (2 M)	1 eq (2 M)	3.5	66	30.5

<sup>a</sup> MR immerso in bagno di ghiaccio e sale per mantenere la temperatura a 0 °C

<sup>b</sup> determinata via <sup>13</sup>C-NMR

<sup>c</sup> metil *ter*-butil etere (MTBE)



**Figura 3.** Set-up utilizzato negli esperimenti di  $\alpha$ -alogenazione selettiva di (1).

La reazione condotta in MTBE (Tabella 3) non va a termine e porta all'ottenimento di un grezzo di reazione contenente il 78 % di (2), il 4 % di (3) e il 18 % di (1) (Exp. 1 Tab. 3). La riduzione della concentrazione delle soluzioni dei reagenti, a parità di tempo di percorrenza, porta all'ottenimento di un grezzo di reazione in cui la percentuale di addotto bisalogenato (3) si riduce al 2 % (Exp. 2 Tab. 3).

**Tabella 3.** *α*-clorurazione di (1) in MTBE

Exp. <sup>a</sup>	Tempo di percorrenza (min)	Reagenti (eq.)			Prodotti (%) <sup>b</sup>		
		Inlet A (1) [1 eq.]	Inlet B (SO <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ) [0.5 eq.]	Inlet C (SO <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ) [0.5 eq.]	(1)	(2)	(3)
1	4.0	4 M	2 M	1 M	18	78	4
2 <sup>c</sup>	4.0	1 M	0.5 M	0.25 M	18	80	2

<sup>a</sup> sistema immerso in bagno di ghiaccio e sale per mantenere la temperatura a 0 °C

<sup>b</sup> determinata via <sup>13</sup>C-NMR

<sup>c</sup> reazione condotta a temperatura ambiente

Inoltre, cambiando solvente ed impiegando toluene la percentuale di prodotto monoclорurato (2) diventa del 90 % con un leggero aumento anche della percentuale del prodotto bisclorurato (3) (Exp. 1 Tab 4).

**Tabella 4.** *α*-clorurazione di (1) in toluene.

Exp. <sup>a</sup>	Tempo di percorrenza (min)	Reagenti (eq.)			Prodotti (%) <sup>b</sup>		
		Inlet A (1) [1 eq.]	Inlet B (SO <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ) [0.5 eq.]	Inlet C (SO <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ) [0.5 eq.]	(1)	(2)	(3)
1	4.0	1 M	0.5 M	0.25 M	7	90	3
2	4.0	0.5 M	0.25 M	0.125 M	17	82	1

<sup>a</sup> sistema immerso in bagno di ghiaccio e sale per mantenere la temperatura a 0 °C

<sup>b</sup> determinata via <sup>13</sup>C-NMR

Abbassando ulteriormente la concentrazione dei reagenti (Exp. 2 Tab. 4) si ottiene una resa discreta nel prodotto (2) e tracce dell'addotto (3) al prezzo di avere del dichetone (1) non reagito.

Dal momento però che è più semplice separare per distillazione frazionata il 3,5-eptandione (1) (T<sub>eb</sub> = 175 °C a 760 mmHg) dal 4-cloro-3,5-eptandione (2) (T<sub>eb</sub> = 206 °C a 760 mmHg) piuttosto che il prodotto monoclорurato da quello bisclorurato (T<sub>eb</sub> = 212 °C a 760 mmHg), le condizioni dell'esperimento 2 (Tab. 4) possono essere considerate

soddisfacenti per condurre ulteriori esperimenti su scala preparativa, in corso presso FIS, per la mono-alogenazione del composto **(1)**.

### **3.3 Conclusioni**

L'uso di MR si è rivelato efficace nell' $\alpha$ -alogenazione selettiva del composto 1,3-dicarbonilico 3,5-eptandione **(1)** utilizzando cloruro di solforile ( $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ ) come agente clorurante.

In particolare, l'uso di due MR in serie ha portato alla riduzione della quantità di prodotto bisalogenato **(3)**. Infatti, come determinato dall'analisi  $^{13}\text{C}$ -NMR e confermato da analisi GC, il grezzo di reazione che si ottiene per aggiunta frazionata di  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  utilizzando soluzioni diluite dei reagenti e scegliendo un solvente non coordinate, come il toluene, consente di ridurre all'1 % la percentuale di addotto bisalogenato **(3)** generata nel processo.

La riduzione della frazione di **(3)** non elimina la necessità di rettificare il prodotto **(2)** per distillazione frazionata, ma ne semplifica la purificazione riducendone la perdita per degradazione termica.

L'uso di MR riduce inoltre la pericolosità del processo perché l' $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ , agente tossico e altamente corrosivo, viene utilizzato in piccole quantità in un sistema confinato.

L'applicabilità del processo microfluidico sviluppato a livello industriale è tuttora in corso di valutazione.



## 3.4 Parte Sperimentale

### 3.4.1 Strumentazione e Procedure Analitiche

Le reazioni sono state condotte nel MR commerciale MICRONIT in vetro borosilicato con canale di reazione a sezione quadrata (150  $\mu\text{m}$  x 150  $\mu\text{m}$ ) avente lunghezza 676 mm (volume interno = 15  $\mu\text{L}$ ).

Il MR è stato connesso alle siringhe gas-tight in vetro di volume opportuno (2.5, 5 e 10 mL) (Hamilton, item n. 81427, 81527, 81627) contenenti le soluzioni dei reagenti mediante colonna capillare Supelco (ID=0.250 mm, item n. 24059) e giunzioni in PEEK® (Upchurch Scientific, item n. P-662, F-385, N-123, F-123H). La stessa colonna capillare è stata utilizzata anche per connettere il MR al vial di raccolta del grezzo di reazione.

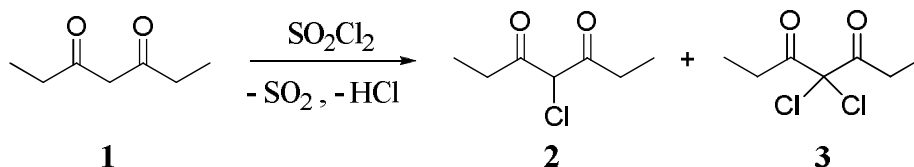
Le siringhe sono state montate su pompe KD Scientifics (modello KDS100 e KDS200) e il MR è stato immerso in bagno di ghiaccio e sale (NaCl) per mantenere la temperatura a circa 0 °C.

**Spettroscopia  $^{13}\text{C}$ -NMR:** gli spettri di risonanza magnetica nucleare sono stati registrati con uno spettrometro Bruker AC 250 operante a 62.9 MHz ed elaborati con il programma Mestrec 4.9.9.0. I *chemical shift* ( $\delta$ ) sono riportati in ppm rispetto al segnale del solvente deuterato ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta = 77$  ppm).

**Gascromatografia:** le condizioni operative adottate sono le seguenti:

<b>Colonna:</b>	Rtx-5 Amine lunghezza 30 m; ID = 0.32 mm; spessore film = 1 $\mu\text{m}$
<b>Temperatura Iniettore:</b>	250 °C
<b>Temperatura Rivelatore:</b>	300 °C
<b>Programma Temperatura:</b>	50 °C (1 min) $\rightarrow$ 300 °C (10 min) a (10 °C/min)
<b>Flusso:</b>	2.0 mL/min
<b>Split Ratio:</b>	1 : 20
<b>Tempi di ritenzione:</b>	$t_R$ (1)=8.5 min; $t_R$ (2)=10.3 min; $t_R$ (3)=11.5 min

### 3.4.2 Procedura generale per la reazione di $\alpha$ -clorurazione di (1) in MR



Schema 4.

	MW	g	mL (d, g/mL)	mol	eq.	flusso (ml/h)
(1)	128.2	1.28	1.36 (0.946 g/mL)	0.01	1	1.0
$\text{SO}_2\text{Cl}_2$	134.96	1.35	0.81 (1.667 g/mL)	0.01	1	1.0

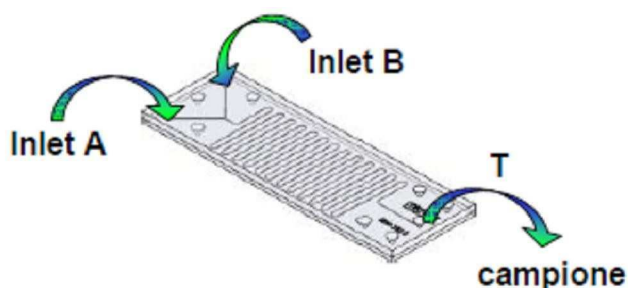


Figura 4.

**Reazione in assenza di solvente:** il dichetone (1) viene caricato in una siringa gas-tight in vetro da 2.5 mL e inviato all'Inlet A del MR. All'Inlet B viene invece collegata una siringa gas-tight in vetro da 2.5 mL riempita con  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ . Il MR è collegato al vial di raccolta da uno spezzone di colonna capillare (T) lungo 30 cm (Fig. 4).

Le due siringhe gas-tight sono state montate su una pompa a siringa KDS200 impostando un tempo di percorrenza di 2.2 minuti (flusso: 1.0 mL/h).

Il grezzo di reazione viene spento in 2 mL di miscela 1:1  $\text{H}_2\text{O}/\text{MTBE}$ . Si separano le fasi e la fase acquosa viene lavata con 2 mL di MTBE. Le fasi organiche vengono riunite, lavate con 2 mL di soluzione satura di  $\text{NaCl}$ , anidificate con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed il solvente viene allontanato a pressione ridotta ottenendo un olio giallo chiaro la cui composizione viene determinata via  $^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) ottenendo i risultati riportati in Tabella 2 Exp.1.

$^{13}\text{C-NMR}$  (62.9 MHz,  $\text{CDCl}_2$ )  $\delta$  (ppm): 201.31, 197.24, 191.73, 106.69, 85.65, 66.57, 33.03, 30.24, 29.41, 8.59, 8.22, 7.40

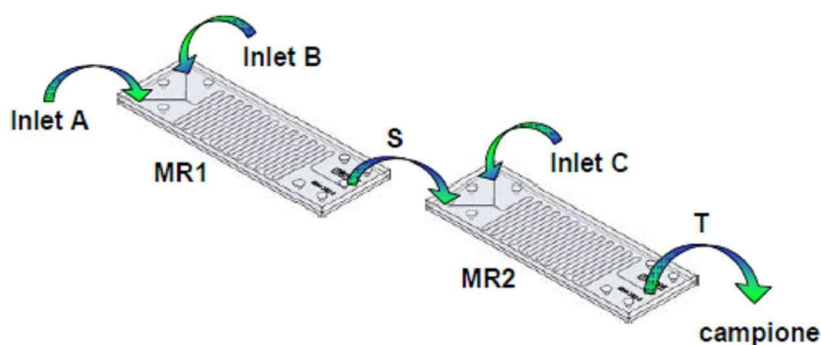
**Reazione con MTBE:** in un matraccio da 5 mL viene aggiunto (**1**) (1.36 mL, 0.01 mol) e si porta a volume con MTBE. La soluzione così ottenuta viene caricata in siringa gas-tight in vetro da 5 mL collegata all'Inlet A del MR. In un secondo matraccio da 5 mL viene aggiunto  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  (0.81 mL, 0.01 mol) e si porta a volume con MTBE. La soluzione così ottenuta viene caricata in siringa gas-tight in vetro da 5 mL collegata all'Inlet B.

Il *set-up* di reazione e la procedura di preparazione del campione da analizzare sono gli stessi sopra descritti.

La composizione del grezzo di reazione è stata determinata via  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ottenendo i risultati riportati in Tabella 2 Exp. 2.

$^{13}\text{C-NMR}$  (62.9 MHz,  $\text{CDCl}_2$ )  $\delta$  (ppm): 201.33, 196.29, 195.00, 191.74, 181.73, 106.69, 97.52, 66.58, 51.94, 33.01, 31.28, 30.42, 29.40, 9.52, 8.59, 8.22, 7.40, 7.33

**Reazione condotta mettendo in serie due MR ed utilizzando MTBE o toluene come solvente:** la reazione è stata condotta mettendo in serie due MR (Fig. 5). L'uscita del primo MR (**MR1**) viene collegata al secondo MR (**MR2**) con uno spezzone di colonna capillare (**S**) lungo 11 cm. L'uscita di **MR2** viene collegata al vial di raccolta da uno spezzone di colonna capillare (**T**) lungo 30 cm.



**Figura 5.**

In un matraccio da 5 mL viene aggiunto (**1**) (1.36 mL, 0.01 mol) e si porta a volume con il solvente di reazione. La soluzione così ottenuta viene caricata in siringa gas-tight in vetro da 5 mL collegata all'Inlet A. In un secondo matraccio da 5 mL viene aggiunto SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.405 mL, 0.005 mol) e si porta a volume con il solvente di reazione. La soluzione così ottenuta viene caricata in siringa gas-tight in vetro da 5 mL collegata all'Inlet B. Le due siringhe sono state montate su una pompa a siringa KDS200 impostando un tempo di percorrenza di 2.0 minuti (flusso: 0.55 mL/h).

In un matraccio da 10 mL viene aggiunto SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.405 mL, 0.005 mol) e si porta a volume con il solvente di reazione. La soluzione, viene caricata in siringa gas-tight in vetro da 10 mL collegata all'Inlet C e montata su pompa a siringa KDS100 impostando un tempo di percorrenza di 2.0 minuti (flusso: 1.1 mL/h).

La procedura per la preparazione del campione da analizzare è la stessa precedentemente descritta.

La composizione del grezzo di reazione è stata determinata via <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) ottenendo i risultati riportati in Tabella 3 e 4.

<sup>13</sup>C-NMR (62.9 MHz, CDCl<sub>2</sub>)  $\delta$  (ppm): 204.71, 201.34, 196.30, 195.01, 191.75, 106.69, 97.53, 66.58, 51.95, 36.92, 33.02, 31.28, 30.42, 29.40.

### **3.5 Bibliografia**

1. R. C. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, Wiley, NY, 1999.
2. P. Pohto and all., 1994, **US 5288750**.
3. D. T. Davis, N. Kapur and A. F. Parson, *Tetrahedron*, 2000, **56**, 3941.
4. K. Tanaka, X. Chen and F. Yoneda, *Tetrahedron*, 1988, **44**, 3241.
5. N. De Kimpe, W. De Cock and N. Schamp, *Synthesis*, 1987, 188.
6. H. House, *Modern Synthetic Reactions*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1972.
7. D. Masilamani and M. M. Rogic, *J. org. Chem.*, 1981, **46**.
8. J. L. Burdett and M. T. Rogers, *J. Am. Chem. Soc.*, 1964, **86**, 2105.
9. J. March, *Advanced Organic Chemistry, 4th ed.*, Wiley, p. 70, 1992.
10. R. A. Jonas and M. J. Stokes, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 1051.
11. M. S. Kharasch and H. C. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, 1939, **61**, 2142.

# Capitolo 4

Sintesi di Midazolam

## **4.1 Introduzione**

Nel presente lavoro di tesi è stata valutata l'applicabilità della strategia microfluidica nella sintesi di Midazolam, importante imidazobenzodiazepina utilizzata in campo anestetico.

Lo sviluppo di un metodo di sintesi in grado di ridurre la percentuale di Isomidazolam, prodotto non farmacologicamente attivo generato nei tradizionali processi batch, è particolarmente interessante da un punto di vista industriale perché permetterebbe di ridurre i costi associati alla purificazione di Midazolam.

### **4.1.1 Benzodiazepine**

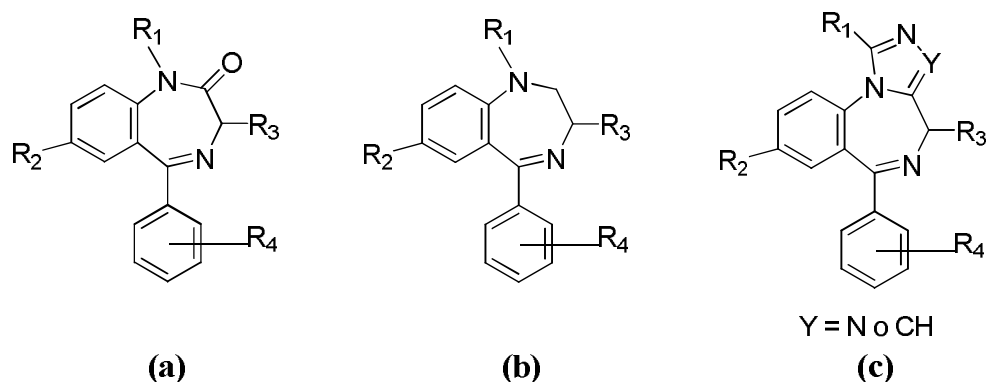
Le Benzodiazepine (BDZ) sono una classe di sostanze psicoattive introdotte nel 1960 per il trattamento dell'ansia e dei disturbi del sonno<sup>1</sup> e rappresentano la categoria di farmaci più venduti in Italia e nei paesi occidentali.

L'incremento della prescrizione delle BDZ negli ultimi 25 anni si può interpretare alla luce sia di un'espansione della "domanda" che di un incremento dell' "offerta" di tali psicofarmaci. La prima appare conseguente a vari fattori:

- 1) il marcato aumento della patologia da stress e da disadattamento (insonnia, sindromi nevrotiche e ansioso-depressive, psicosomatosi, etc.);
- 2) la territorializzazione dell'assistenza psichiatrica, in cui la risposta psicofarmacoterapeutica gioca un ruolo determinante;
- 3) la progressiva diffusione della cultura della fuga dalla sofferenza mediante il ricorso a sostanze psicoattive.

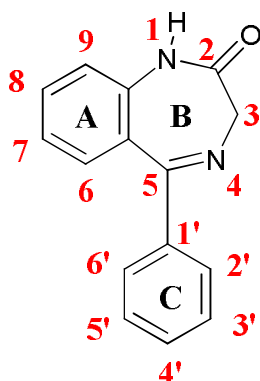
Il secondo è riconducibile all'ampia disponibilità delle BDZ sui mercati legale e illegale (cosiddetto "mercato grigio") e alla scarsa vigilanza che i medici talvolta operano nella prescrizione degli psicofarmaci, spesso prestando insufficiente attenzione ai rischi di abuso e di dipendenza che questi possono indurre nel paziente<sup>2</sup>.

Le BDZ sono molecole a struttura eterociclica che possono essere suddivise principalmente in tre classi: 1,4-benzodiazepin-2-oni **(a)**; 1,4-benzodiazepine **(b)**; imidazo- e triazolo-1,4-benzodiazepine **(c)** (Fig. 1).



**Figura 1.** Principali classi di BDZ.

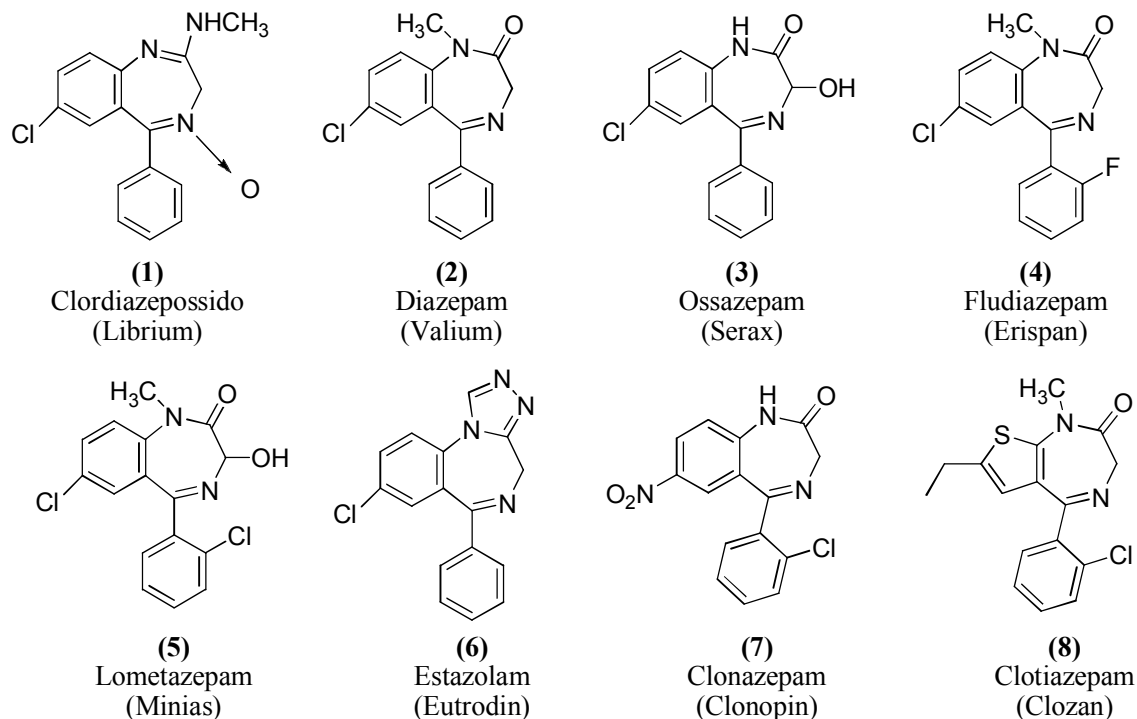
Gli studi di relazione struttura attività condotti da Sternbach e coll.<sup>1, 3, 4</sup> hanno dimostrato che la presenza dell'anello diazepinico a 7 termini (anello imminolattamico B) è essenziale per l'attività biologica. In particolare, è stato dimostrato che possono essere introdotti vantaggiosamente sostituenti solo nelle posizioni 1 e 3 (anello B), 7 (anello A) e 2' (anello C) (Fig. 2).



**Figura 2.** Sistema eterociclico classico delle 1,4-benzodiazepine.

La prima BDZ sintetizzata fu il Clordiazepossido (Librium®), a cui seguì, la sintesi di Diazepam (Valium®) che fino alla metà degli anni ottanta fu la BDZ più prescritta al mondo. Oggi sul mercato esistono almeno 30 diversi tipi di BDZ, che differiscono tra loro per la velocità nell'indurre l'effetto psicoattivo e per la durata dello stesso (Fig. 3). Indipendentemente dalla loro potenza, velocità di eliminazione e durata degli effetti, le BDZ esercitano cinque effetti principali che vengono utilizzati in ambito terapeutico: ansiolitico, ipnotico-inducente, miorilassante, anticonvulsivante ed amnesico (Tabella 1)<sup>5</sup>.





**Figura 3.** Formule di struttura e nomi d'uso di alcune BDZ d'impiego corrente.

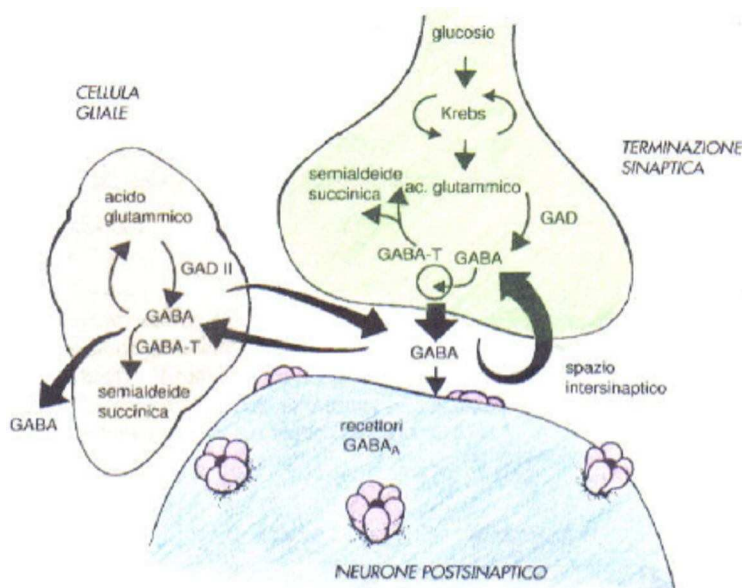
**Tabella 1.** Azione terapeutica delle BDZ (nell'azione a breve termine)

Azione		Uso Clinico
<b>Ansiolitica</b>	- sollievo dell'ansia	- ansia, - attacchi di panico, - fobie
<b>Ipno-inducente</b>	- favorisce il sonno	- insonnia
<b>Miorilassante</b>	- rilassa i muscoli	- spasmi muscolari, - disordini di tipo spastico
<b>Anticonvulsivante</b>	- arresta gli attacchi e le convulsioni	- attacchi in seguito ad intossicazione da farmaco - alcune forme di epilessia
<b>Amnesia</b>	- riduce la memoria a breve termine	- premedicazione prima degli interventi chirurgici - somministrazione di sedativi per interventi di chirurgia minore

Queste azioni, esercitate in misura diversa dai vari tipi di BDZ, conferiscono ai farmaci alcune proprietà utili.

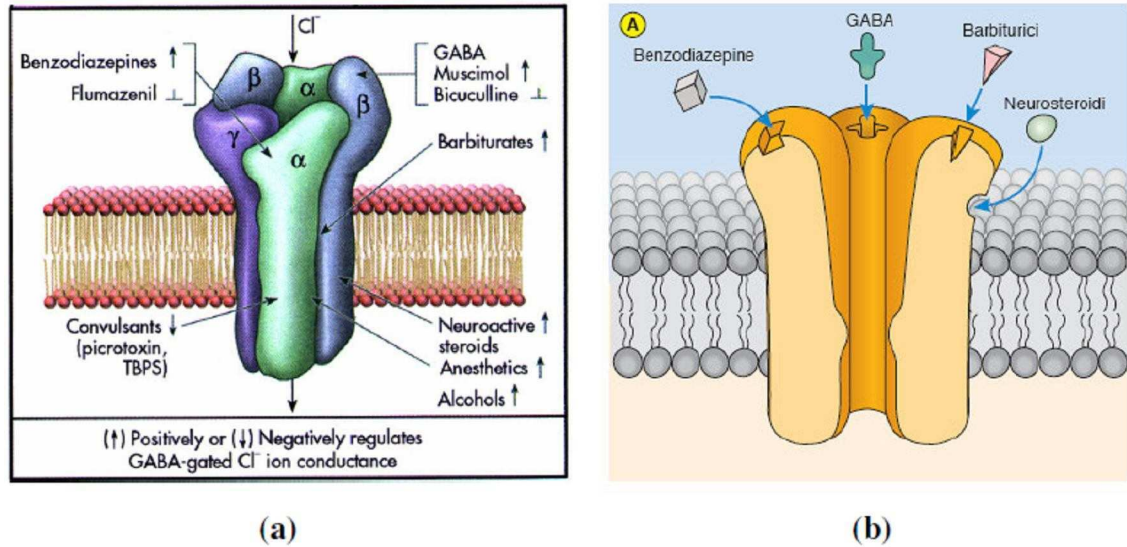
Pochi farmaci, infatti, possono competere con le BDZ in termini di efficacia, immediatezza d'azione e bassa tossicità acuta. Se utilizzate per un breve periodo, le BDZ possono essere d'aiuto, alcune volte possono arrivare a salvare la vita in una vasta gamma di disturbi clinici. Quasi tutti gli svantaggi delle BDZ derivano dall'uso prolungato (uso continuativo per più di alcune settimane) che può causare ridotte performances di tipo cognitivo e psicomotorio (aumento del tempo di reazione e mancanza di coordinazione dei movimenti), sedazione residua diurna (hangover) ed amnesia anterograda.

Sebbene le BDZ abbiano ottenuto un immediato e straordinario successo nella pratica clinica diventando in pochi anni gli psicofarmaci più utilizzati, si è dovuto aspettare la metà degli anni settanta per capire il meccanismo d'azione coinvolto nei loro effetti farmacologici e terapeutici.



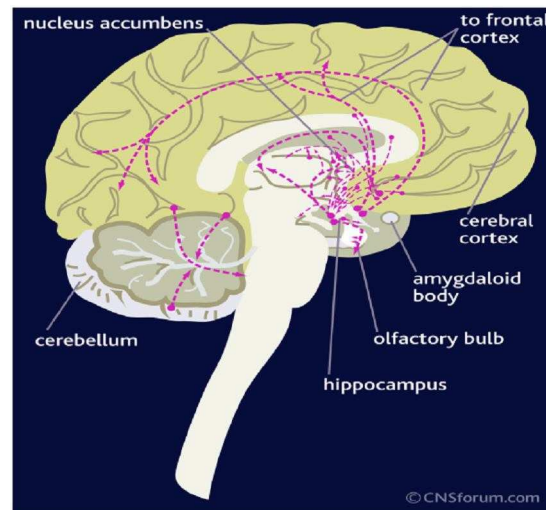
**Figura 4. (a)** Schema di una sinapsi GABAergica.

Risale infatti agli anni 1975-1977 la scoperta che le BDZ agiscono selettivamente a livello delle sinapsi GABAergiche (Fig. 4) comportandosi da modulatori allosterici positivi del recettore GABA<sub>A</sub> legandosi ad un sito d'azione specifico (BZR) diverso da quello del GABA ma ad esso strutturalmente correlato (Fig. 5)<sup>6,7,8</sup>.



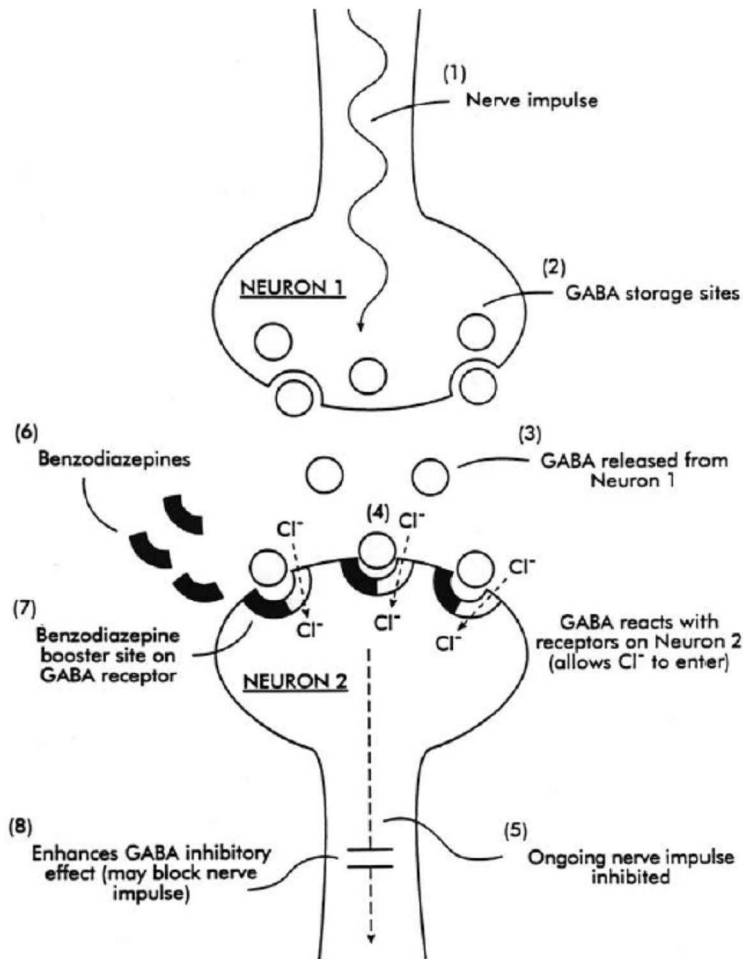
**Figura 5.** (a) recettore per le BDZ localizzato a livello della subunità  $\alpha$  del recettore GABA; (b) recettore GABA<sub>A</sub>.

Le BDZ hanno pertanto un effetto inibitorio generalizzato nel SNC che esplicano potenziando gli effetti del GABA (acido  $\gamma$ -aminobutirrico)<sup>9, 10</sup>, principale neurotrasmettitore inibitore del sistema nervoso centrale (SNC) dei mammiferi identificato per la prima volta da Roberts ed Awapara nel 1950 (Fig. 6).



**Figura 6.** Distribuzione del GABA e nel SNC.

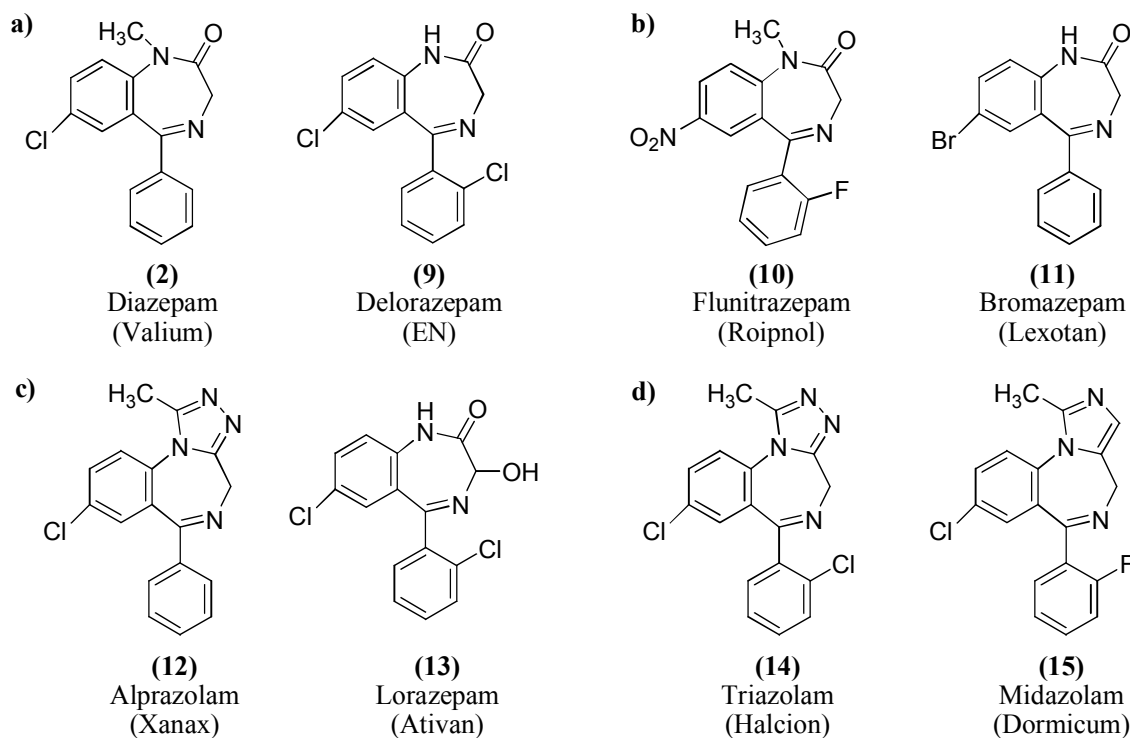
La conseguente diminuzione della produzione a livello centrale di neurotrasmettitori eccitatori (norepinefrina, serotonina, acetilcolina e dopamina) consente alle BDZ di esercitare la loro funzione terapeutica (Fig. 7).



**Figura 7.** Diagramma raffigurante il meccanismo d'azione del neurotrasmettitore GABA e delle BDZ sulle cellule nervose del cervello. (1) impulso nervoso; (2) siti di immagazzinamento del GABA; (3) GABA rilasciato dal neurone 1; (4) il GABA si lega ai recettori del neurone 2 (permette che entri il Cl<sup>-</sup>); (5) impulso nervoso inibito; (6) BDZ; (7) sito in cui avviene il potenziamento del recettore del GABA da parte delle BDZ; (8) incremento dell'effetto inibitorio del GABA (può addirittura bloccare l'impulso nervoso).

In base alla loro emivita, le BDZ possono essere classificate in (Fig. 8):

- BDZ a lunga durata d'azione (emivita > 48 h), generalmente utilizzate nel trattamento dell'ansia;
- BDZ ad azione intermedia (emivita 24-48 h);
- BDZ ad azione breve (emivita < 24 h)
- BDZ a durata d'azione brevissima (emivita 1-7 h).

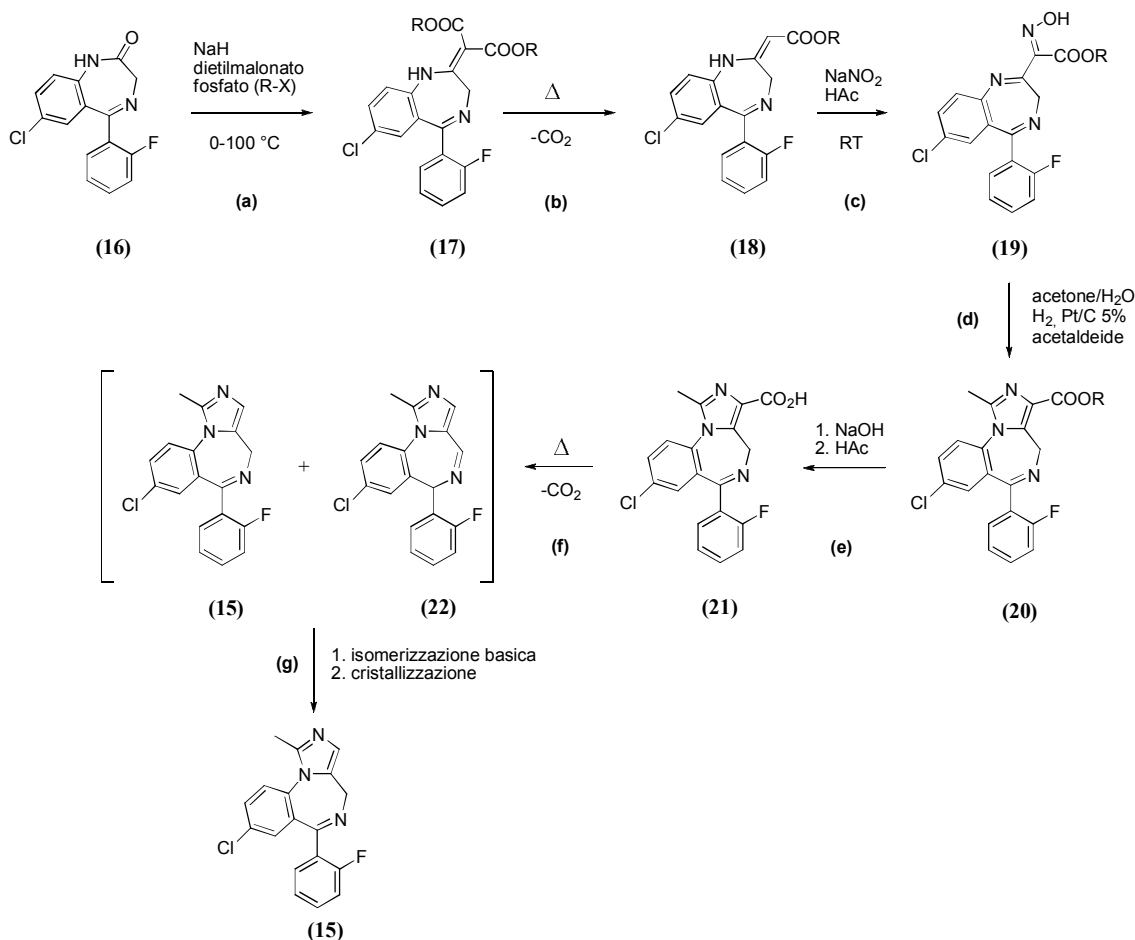


**Figura 8.** Classificazione delle BDZ in base alla loro durata d'azione. **(a)** BDZ a lunga durata d'azione; **(b)** BDZ a durata d'azione intermedia; **(c)** BDZ ad azione breve; **(d)** BDZ ad azione ultrabreve.

Tra le numerose BDZ clinicamente testate, quelle in cui il legame ammidico 1,2 dell'anello diazepinico è fuso con un anello eterociclico, hanno un'affinità maggiore per il recettore BZR e un'emivita ultra breve perché vengono velocemente degradate a livello epatico<sup>11</sup>. Fra queste particolarmente importante è il Midazolam **(15)**, imidazobenzodiazepina ad azione ultra breve sintetizzata per la prima volta nel 1976 da Fryer e Walzer<sup>12-14</sup>. Il composto **(15)** è utilizzato principalmente in campo anestetico per la sua immediata azione di sedazione, blanda miorsoluzione e amnesia anterograda<sup>15</sup>. È utilizzato anche come farmaco di induzione dell'ipnosi nei soggetti instabili da un punto di vista emodinamico perché provoca una minima depressione cardiorespiratoria.

#### 4.1.2 Midazolam

Sono state sviluppate numerose metodologie per la sintesi di Midazolam<sup>12, 13, 16, 17</sup>. Tra queste, quella maggiormente utilizzata è schematicamente riportata in Fig. 9 a partire dal composto **(16)**.



**Figura 9.** Sintesi di Midazolam a partire dal lattame (16).

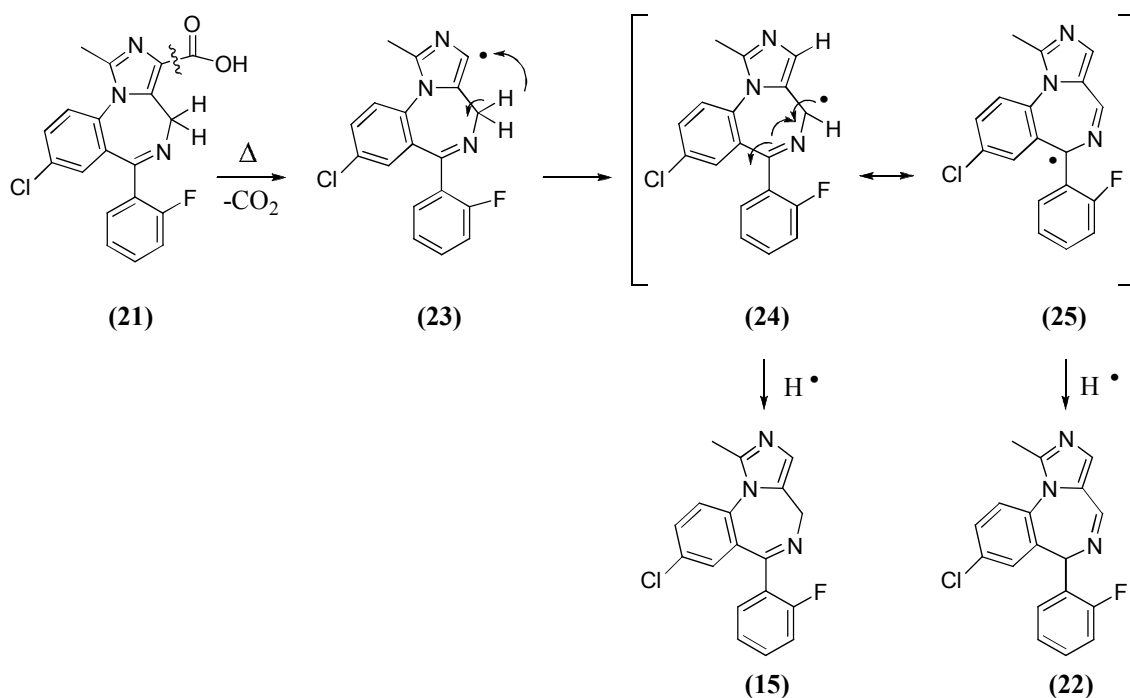
Per reazione di Wittig-Horner<sup>18-21</sup> (a), il clorofluorolattame (16)<sup>22-24</sup> viene convertito a diestere malonico (17). La reazione viene condotta in ambiente basico in presenza di dietilmalonato e di un fosfato (come ad esempio il difenil clorofosfato) e porta all'ottenimento del prodotto atteso con resa dell'80-90 %.

Il diestere malonico (17) viene poi decarbossilato a (18) con resa quantitativa (b). Per reazione con acido nitroso generato *in situ* (c) si forma l'idrossilammina (19) che in ambiente riducente e in presenza di acetaldeide (d) porta alla formazione dell'estere (20) dalla cui saponificazione (e) si prepara l'acido carbossilico (21).

La decarbossilazione termica in solvente alto bollente (f) porta alla formazione di un grezzo di reazione contenete Midazolam (15) unitamente al 20 % di isomero non farmacologicamente attivo Isomidazolam (22).

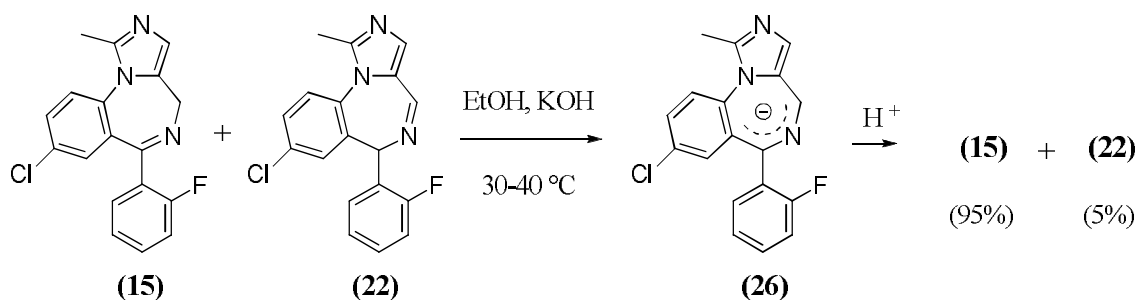
Durante il processo di decarbossilazione infatti la rottura omolitica del legame C-C della funzione carbossilica genera l'intermedio radicalico (23) che per riarrangiamento intramolecolare porta alla formazione di (24) e (25) in rapporto 80:20. Il successivo

passaggio di addizione di idrogeno porta alla formazione di una miscela contenente principalmente il prodotto desiderato **(15)** (Schema 1).



**Schema 1.** Meccanismo di decarbossilazione nella sintesi di Midazolam **(15)**.

La formazione di **(22)** rende necessaria una isomerizzazione per convertire l'isomero **(22)** nel prodotto attivo **(15)**<sup>12</sup>. La miscela dei due isomeri ottenuti dalla decarbossilazione termica viene solubilizzata in etanolo basico per KOH. Per estrazione di un protone dalla posizione 4 dell'anello diazepinico si forma l'anione **(26)** dalla cui protonazione si forma una miscela di **(15)** e **(22)** in rapporto 95:5 (Schema 2).



**Schema 2.** Meccanismo di isomerizzazione basica.

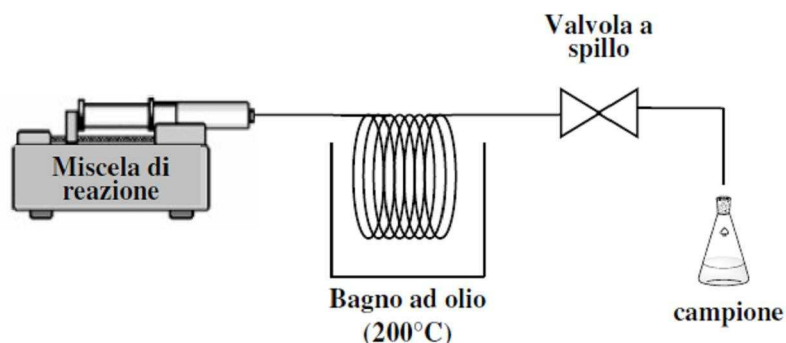
Il composto **(15)** viene recuperato dall'ambiente di reazione per cristallizzazione da etile acetato ed etanolo.

Nel presente lavoro di tesi la sintesi di **(15)** per decarbossilazione termica di **(21)** è stata studiata in flusso continuo per valutare se l'efficienza nel trasferimento di massa e calore offerti dal MR potesse essere sfruttata per migliorare la selettività della reazione incrementando la percentuale di Midazolam **(15)** generata, rendendo la fase di isomerizzazione non necessaria.

Infatti, come riportato nel brevetto *US 5693795* concesso a Hoffmann-La Roche nel 1999, è possibile condurre la decarbossilazione di una sospensione di **(16)** in *n*-butanolo in un reattore tubolare continuo con una resa del 60-80 %<sup>25</sup>. La reazione, condotta a temperatura e pressione elevate (280 °C, 100 bar), porta tuttavia alla formazione di una percentuale importante di Isomidazolam **(22)** che rende comunque necessario il passaggio di isomerizzazione basica.

L'elevata temperatura d'esercizio e la necessità di controllare l'effetto della CO<sub>2</sub> sviluppata nel processo hanno precluso sia l'utilizzo dei MR commerciali in vetro (MICRONIT), sia l'impiego dei MR polimerici in NOA81 precedentemente descritti.

La reazione è stata pertanto condotta utilizzando il dispositivo microfluidico schematicamente riportato in Fig. 10.



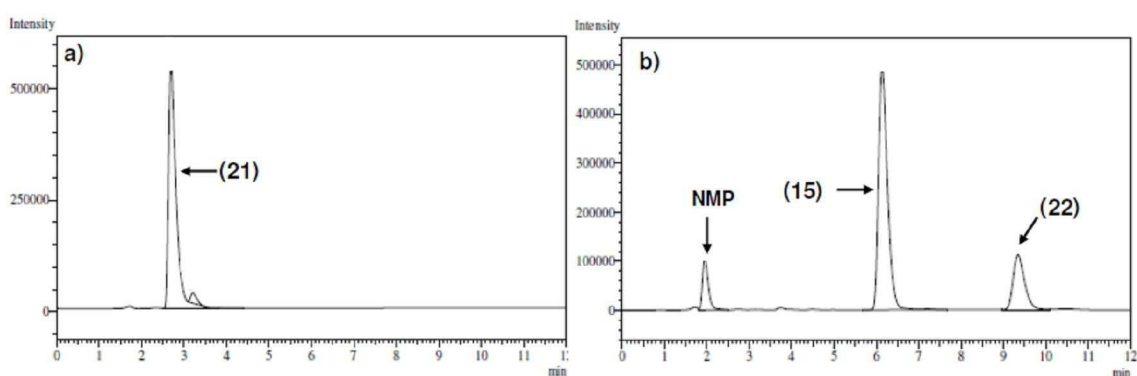
**Figura 10.** Rappresentazione schematica del MR in PTFE® utilizzato nello studio di decarbossilazione termica di **(21)**.

La soluzione contenente il substrato da decarbossilare è stata caricata in una siringa gastight in vetro montata su una pompa a siringa e collegata ad una spirale di tubo in PTFE®. Il canale di reazione così ottenuto (L=1 m; V=503 µL) è stato immerso in bagno ad olio termostato a 200 °C.



Per aumentare la pressione all'interno del microcanale a valori tali da determinare la solubilizzazione della CO<sub>2</sub> nella miscela di reazione e la conseguente stabilizzazione del flusso, è stata posta a valle del canale di reazione una valvola di contropressione.

La composizione del grezzo di reazione è stata determinata via HPLC utilizzando il metodo delle aggiunte tarate di uno standard (in questo caso una soluzione a titolo noto di **15**) per determinare la concentrazione effettiva di Midazolam nel campione raccolto (Fig. 11)



**Figura 11.** Cromatogrammi HPLC. **(a)** Midazolam Acido (**21**)  $t_R$  2.7 min; **(b)** NMP  $t_R$  2.2 min; Midazolam (**15**)  $t_R$  6.3 min; Isomidazolam (**22**)  $t_R$  9.5 min.

Con l'esperimento 4 in Tabella 2, è stato possibile riprodurre le condizioni batch messe a punto da FIS ottenendo una conversione del 98% con una resa in Midazolam (**15**) dell'81% a fronte di un tempo di percorrenza di soli 38 minuti. Si può notare che comunque il rapporto tra i due isomeri, nelle condizioni impiegate, non ha subito variazioni rispetto a quello della reazione batch.

È stato pertanto individuato e messo a punto un metodo di sintesi alternativo di (**15**) in MR che ha consentito di ridurre al 3 % l'Isomidazolam (**22**) con la prospettiva di eliminare il passaggio di isomerizzazione basica.

**Tabella 2.** Risultati delle reazioni di decarbossilazione termica di (21) condotte sia con metodica batch che in MR in PTFE®

Exp. <sup>b</sup>	Tempo di Reazione (min)	Prodotti (%) <sup>a</sup>		
		(21)	(15)	(22)
1 <sup>c</sup>	60	n.d.	80	20
2 <sup>d</sup>	15	20	58	22
3 <sup>d</sup>	20	5	77	18
4 <sup>d</sup>	38	2	81	17

<sup>a</sup> determinato via HPLC

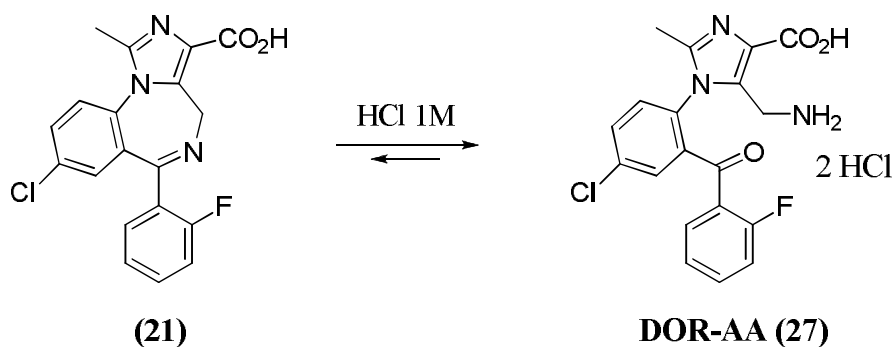
<sup>b</sup> reazioni condotte a 200 °C

<sup>c</sup> decarbossilazione batch di (21) condotta presso i laboratori FIS S.p.a.

<sup>d</sup> decarbossilazione di (21) condotta nel dispositivo microfluidico in PTFE®

## 4.2 Risultati e Discussione

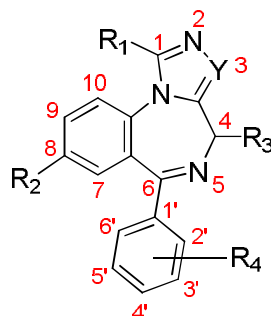
### 4.2.1 Studio di una via di sintesi alternativa di Midazolam



**Schema 3.** Sintesi di DOR-AA (27) per idrolisi acida di (21).

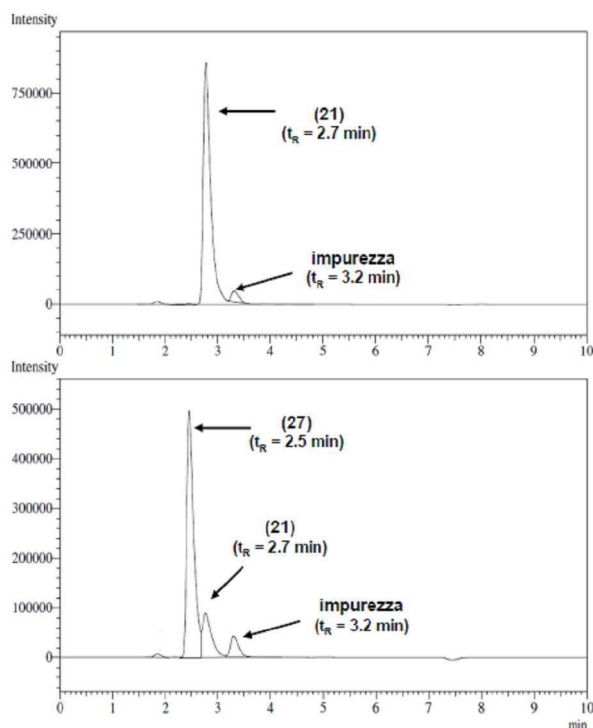
Il fenomeno dell'isomerizzazione del legame imminico 5,6 dell'anello diazepinico osservato durante la decarbossilazione termica ha fatto ipotizzare che un metodo valido per migliorare la selettività del processo potesse essere quello di eseguire la decarbossilazione sull'intermedio bis-cloridrato aperto DOR-AA (27) ottenuto per idrolisi acida di (21) (Schema 3).

Come infatti è riportato in letteratura in mezzo acquoso acido i composti 1,4-benzodiazepinici, in cui il legame ammidico 1,2 è fuso con un anello eterociclico, subiscono idrolisi a livello del legame imminico 5,6<sup>12,26,27</sup> (Fig. 12).



**Figura 12.** Struttura generale delle imidazo- e triazolo- 1,4-benzodiazepine.

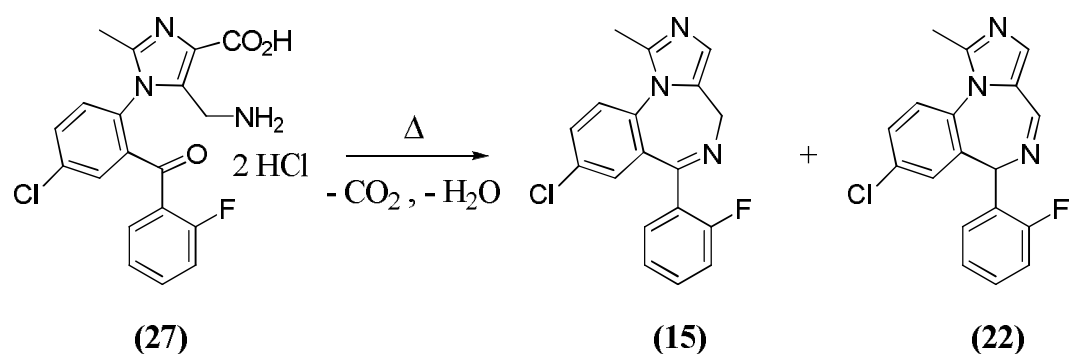
L'idrolisi di **(21)** è stata condotta in HCl 1 M e ha consentito di isolare l'intermedio biscloridrato aperto **DOR-AA (27)** con resa dell'83 %. L'analisi HPLC del prodotto aperto ha evidenziato che non si tratta di un prodotto puro ma di una miscela costituita dal 75.3 % di **(27)**, il 17 % di **(21)** e il 7.7 % di un'impurezza già presente nel campione **(21)** di partenza (Fig. 13).



**Figura 13.** Idrolisi acida del legame ammidico 5,6 dell'anello diazepinico di **(21)**. **(a)** Midazolam Acido **(21)**; **(b)** cromatogramma del grezzo di reazione ottenuto dall'idrolisi acida.

La decarbossilazione termica di (27) è stata eseguita sia con metodica batch sia nel dispositivo a flusso precedentemente illustrato (Fig. 10) utilizzando *N*-metilpirrolidone (NMP) come solvente di reazione e lavorando a 200 °C.

Gli esperimenti condotti con metodica batch hanno evidenziato che la decarbossilazione di (27) è seguita da ciclizzazione a dare (15) con rese, calcolate via HPLC, pari all'82 % (Schema 4). Nella reazione si osserva comunque Isomidazolam (22), anche se in percentuale inferiore rispetto a quella ottenuta nel tradizionale processo di decarbossilazione a partire dal composto (21). Il bilancio di massa non è favorevole come quello della reazione riportata in Tabella 2, esperimento 1, in quanto si sono osservati una serie di sottoprodotti non presenti nel caso precedente.



**Schema 4.** Decarbossilazione termica di (27).

La decarbossilazione di **DOR-AA** (27) è stata condotta anche nel dispositivo microfluidico in PTFE® precedentemente illustrato (Fig. 10) che ha consentito di ottenere Midazolam (15) con rese (HPLC) pari all'89 % in 30 minuti, accanto al 3 % di Isomidazolam (22).

### 4.3 Conclusioni

È stata messa a punto una nuova metodologia per migliorare il passaggio finale della sintesi del farmaco Midazolam (15). Essa si basa sulla decarbossilazione termica dell'intermedio (27) condotta in reattore microfluidico che porta ad una resa cromatografica dell'89 % in 30 minuti e ad una drastica riduzione del composto non farmacologicamente attivo Isomidazolam (22).

È attualmente in corso la stesura di un brevetto in collaborazione con FIS S.p.a. per il processo studiato.

## 4.4 Parte Sperimentale

### 4.4.1 Materiali

Il Midazolam Acido (**21**) e il Midazolam (**15**) utilizzati negli esperimenti condotti sono stati forniti da Fabbrica Italiana Sintetici FIS S.p.a. ed usati senza ulteriori purificazioni. Le soluzioni contenenti i substrati da decarbossilare sono state caricate in siringhe gas-tight in vetro da 5 e 10 mL (Hamilton, item n. 81527, 81627) montate su pompe a siringa (KD Scientifics, modello KDS100). Per la realizzazione del canale di reazione è stato utilizzato un tubo di PTFE® (OD = 1.58 mm, ID = 0.8 mm, Supelco, item n. 58696-U).

Per regolare il flusso all'interno del canale è stata utilizzata una valvola di contropressione commercializzata da Swagelok (item n. SS-SS1-VH).

### 4.4.2 Strumentazione e procedure analitiche

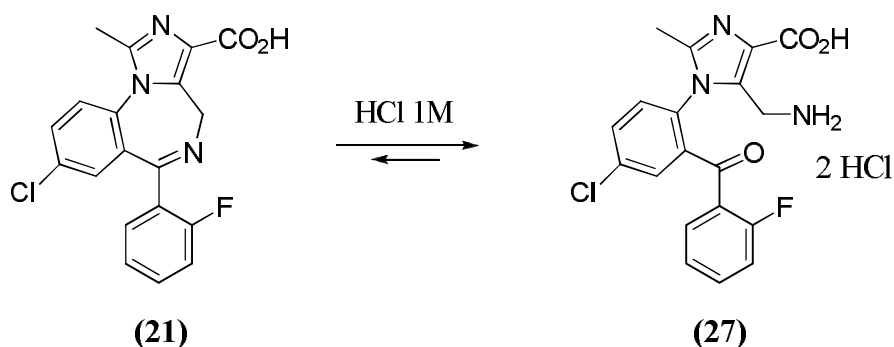
**HPLC:** la determinazione della composizione dei grezzi di reazione ottenuti nelle prove di decarbossilazione è stata condotta via HPLC. Lo strumento utilizzato è uno Shimadzu LC-10AT VP con un rivelatore UV/Vis SPD-10AV.

Le condizioni analitiche sono state le seguenti:

<b>fase stazionaria:</b>	Phenomenex Gemini C18
<b>fase mobile:</b>	MeOH/MeCN/Tampone fosfato 20 mM pH 7 25/35/40
<b>condizioni:</b>	flusso 1 mL/min; volume iniettato: 20 µL
<b>eluizione:</b>	isocratica
<b>rivelatore:</b>	220 nm
<b>Preparazione campione:</b>	10 µL di grezzo di reazione vengono solubilizzati in 10 mL di soluzione MeOH/MeCN/H <sub>2</sub> O 35/40/25
<b>Tempi di ritenzione:</b>	$t_R$ 2.5 min ( <b>15</b> ); $t_R$ 2.7 min ( <b>16</b> ); $t_R$ 3.2 min (impurezza presente nel materiale di partenza)

**ESI-MS:** gli spettri di massa sono stati effettuati utilizzando uno strumento Agilent Technologies LC/MSD Trap SL mediante iniezioni in flusso di una soluzione del campione in concentrazione  $10^{-4} \div 10^{-5}$  M.

### 4.4.3 Sintesi di DOR-AA (27)



**Schema 5.**

In un pallone a due colli da 500 mL, munito di agitatore magnetico, si caricano 50 g (0.135 mol) di **(21)** e 250 mL di etanolo. Si gocciolano, in circa 10 minuti, 40 mL di una soluzione acquosa di HCl 1 M. L'intermedio bis-cloridrato aperto inizia a precipitare nell'ambiente di reazione già dopo 3 minuti dall'inizio dell'aggiunta della soluzione acida. Si mantiene in agitazione la miscela a temperatura ambiente per 3 h e quindi si filtra su bukner lavando il solido con etanolo. Il prodotto umido viene essiccato in stufa sotto vuoto a 60 °C fino al raggiungimento di un peso costante. Si ottiene un prodotto cristallino giallo chiaro (51.5 g, resa 83 %) come miscela con il composto **(21)**. Il grezzo è stato impiegato per la decarbossilazione senza ulteriori purificazioni.

**ESI-MS** [MeCN + 0.1 % HCOOH]: *m/z* 388 (**15**); 370 (**16**)

**<sup>1</sup>H-NMR** (250 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 2.52 (s, 3H); 4.27-4.41 (m, 2H); 5.9 (d, 1H); 7.22-8.1 (m, 7H)

**P<sub>f</sub>**: 217 °C

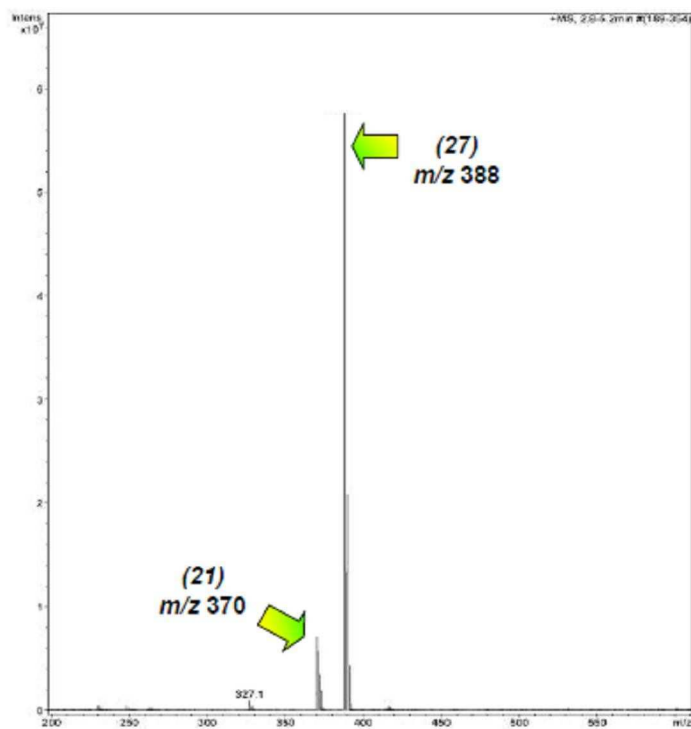


Figura 14. Spettro ESI-MS del prodotto (27) contenente il 17 % di acido carbossilico (21).

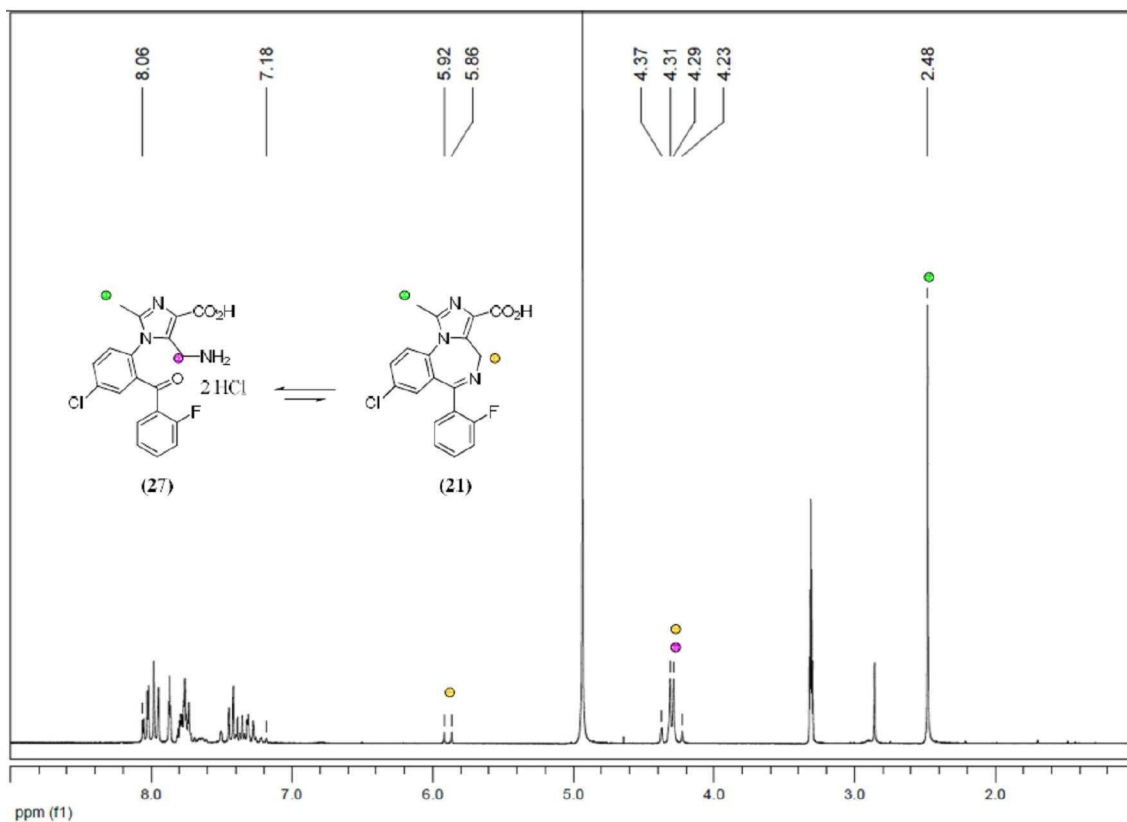
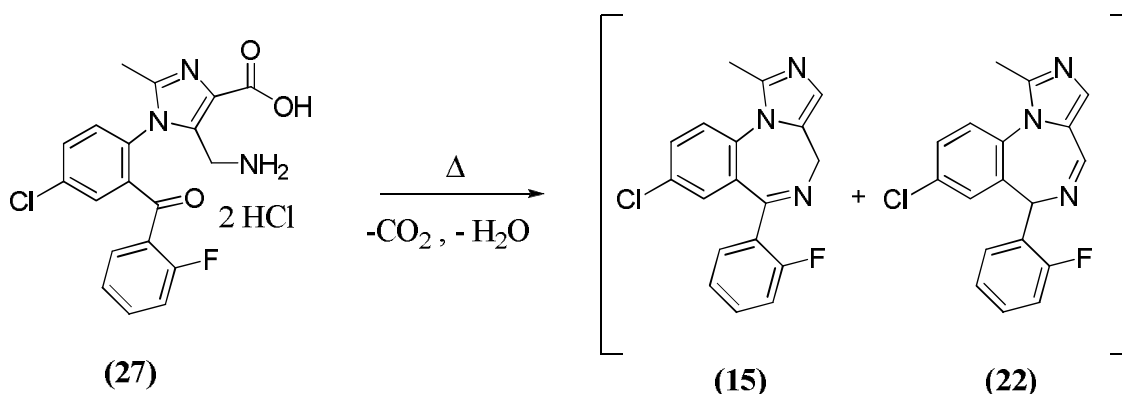


Figura 15. Spettri <sup>1</sup>H-NMR (250MHz, CD<sub>3</sub>OD). a) Midazolam Acido (21); DOR-AA (27).

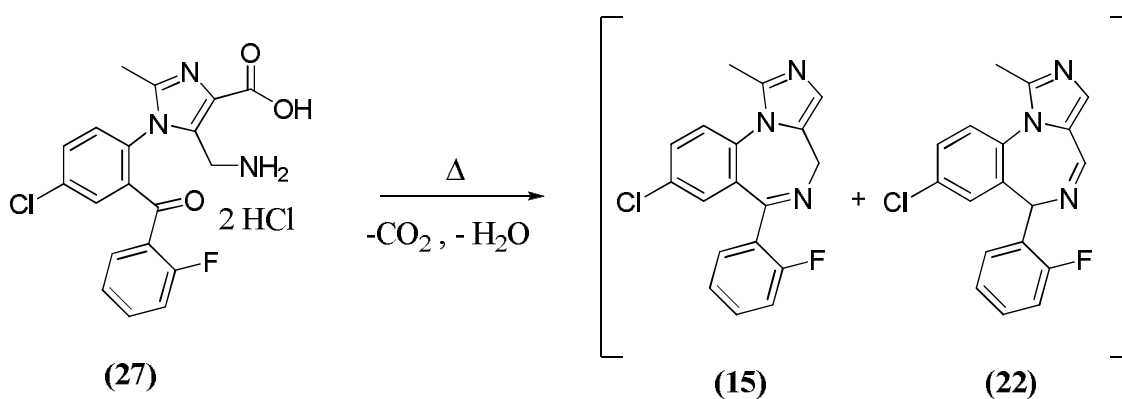
4.4.4 Decarbossilazione termica di (27) condotta con metodica batch



Schema 6.

In un pallone a tre colli da 250 mL, munito di agitatore magnetico e refrigerante a bolle, si caricano 30 g (0.065 mol) di (27) e 90 mL di NMP. Si scalda con bagno ad olio la massa a T= 195-203 °C per un'ora. Si esegue quindi un prelievo di 1 mL di soluzione per eseguire analisi HPLC. Il grezzo di reazione risulta essere una miscela costituita dall'82 % di (15), l'1.0 % di (22) e il 17 % di sottoprodotto non identificati.

4.4.5 Decarbossilazione termica di (27) condotta in MR



Schema 7.

In un pallone da 10 mL, munito di agitatore magnetico, si caricano 3.22 g (7 mmol) di (27) e 10 mL di NMP. Per favorire la completa solubilizzazione del substrato è necessario scaldare leggermente la miscela di reazione (ca. 40 °C) per alcuni minuti. La soluzione così ottenuta viene trasferita in siringa gas-tight in vetro da 10 mL montata su



pompa a siringa KDS100 e il flusso viene regolato a 1.0 mL/h in modo tale da impostare un tempo di residenza di 30 minuti. Il grezzo di reazione, analizzato via HPLC risulta essere una miscela costituita dall'89 % di **(15)**, il 3 % di **(22)** e il 2 % di **(21)**.

## 4.5 Bibliografia

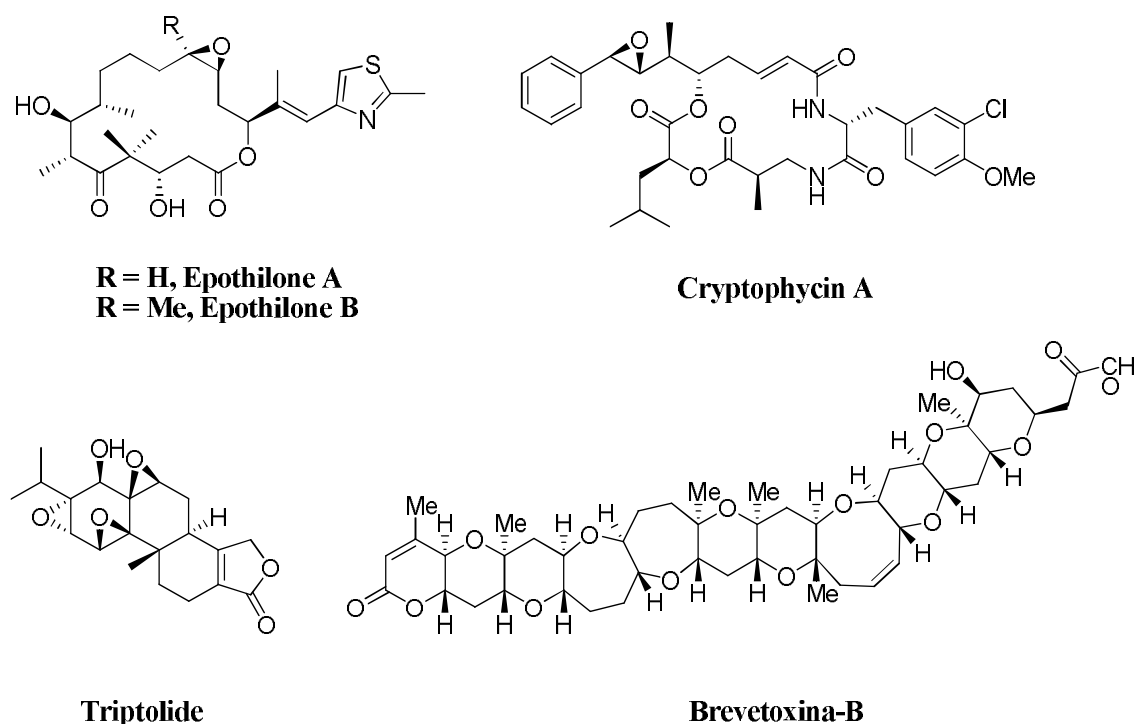
1. W. O. Foye, T. L. Lemke and D. A. Williams, *Principi di Chimica Farmaceutica*, Piccin Ed., 2002.
2. E. Tempesta and L. Janiri, in *Patologia Ambientale e Sociale*, ed. ANMIRS, Rome, Editon edn., 1986, p. 108.
3. L. H. Sternbach, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1971, **10**, 34.
4. E. Kyburz, *Il Farmaco*, 1989, **44**, 345.
5. C. H. Ashton, *The Ashton Manual*, University of Newcastle, 2002.
6. E. Costa, A. Guidotti and C. C. Mao, *Adv. Biochem. Psychopharmacol*, 1975, **14**, 113.
7. W. Haefely, A. Kulcsar, H. Mohler and all., *Adv. Biochem. Psychopharmacol*, 1975, **14**, 131.
8. G. Biggio, *Le Benzodiazepine: dalle molecole alla pratica clinica*, Springer, Milano, 2000.
9. E. Costa, *Neuropsychopharmacology*, 1991, **4**, 225.
10. E. Costa, A. Guidotti and G. Toffano, *Br. J. Psychiatry*, 1978, **133**, 239.
11. M. Gerecke, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1983, **16**.
12. A. Walser, L. E. Benjamin, T. Flynn, C. Mason and R. Schwartz, *J. Org. Chem.*, 1978, **43**, 936.
13. A. Walser, T. Flynn and R. I. Fryer, *J. Heterocycl. Chem.*, 1978, **15**, 577.
14. R. I. Fryer and A. Walser, *Chem. Abstr.*, 1976, **85**, 21497n.
15. A. Parroto, A. Morinan, M. Moss and A. Scholey, *Understanding Drugs and Behaviour*, Wiley, NY, 2004.
16. G. F. Field and W. J. Zally, *US 4194049*, 1980.
17. A. Walser and R. Fryer, 1981, **US 4280957**.
18. V. K. Aggarwal, J. R. Fulton, C. G. Sheldon and J. De Vicente, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 6034.
19. D. J. Schauer and P. Helquit, *Synthesis*, 2006, 3654.
20. T. Olpp and R. Brucker, *Synthesis*, 2004, 2135.
21. D. C. Reuter, J. E. McIntosh, A. C. Guinn and A. M. Madera, *Synthesis*, 2003, 2321.
22. E. Cortes, I. Martinez and O. Mellardo, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 2002, **39**, 1189.
23. B. Narayana, K. K. Vijaya Raj, B. V. Ashalatha and N. S. Kumari, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2006, **41**, 417.
24. P. Cheng, Q. Zhang, Y. Ma and Z. Jiang, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2008, **18**, 3787.
25. K. H. Bender and all., *US 5693795*, 1997.
26. N. Inotsume and M. Nakano, *Chem. Pharm. Bull.*, 1980, **28**, 2536.
27. L. B. Pfendt and G. Popovic, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1994, 1845.

# Capitolo 5

Reazioni di epossidazione  
mediate da diossirani

## 5.1 Introduzione

Gli epossidi sono un'importante classe di gruppi funzionali che trovano largo impiego in sintesi chimica<sup>1</sup>. Molti prodotti naturali, come il Triptolide, gli Epothiloni<sup>2</sup> e la Cryptophycin A contengono gruppi epossidici fondamentali per la loro attività biologica. Inoltre, alcuni epossidi sono intermedi chiave nella biosintesi di prodotti naturali, come ad esempio la Brevetoxina-B (Fig. 1)<sup>3</sup>.



**Figura 1.** Esempi di composti naturali contenenti unità epossidiche o biosintetizzati a partire da intermedi epossidici.

Pertanto, lo sviluppo di un metodo di epossidazione efficiente, sicuro e selettivo ricevere grande attenzione da parte di molti gruppi di ricerca.

Generalmente l'epossidazione delle olefine è condotta con peracidi organici<sup>4, 5</sup> (come acido *m*-cloroperbenzoico, *m*-CPBA, e magnesio monoperossifalato) o con un sistema catalitico formato da un catalizzatore contenente un metallo di transizione (V, Mo, Ti, Mn, Cr, Co) e un donatore di ossigeno (come ad esempio H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, *t*-BuOOH, PhIO, NaOCl)<sup>6, 7</sup>. Attualmente una nuova classe di ossidanti versatili e selettivi, i diossirani, trova ampio impiego nell'epossidazione di intermedi olefinici<sup>1</sup> (Fig. 2).

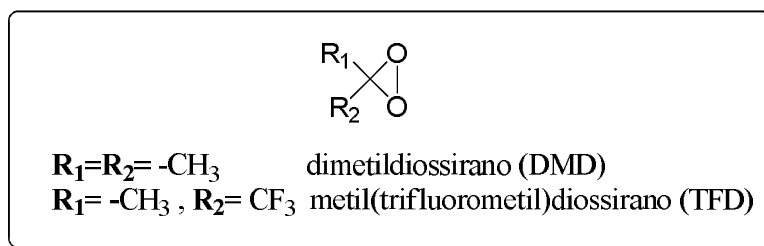


Figura 2. Struttura generale del diossirano.

I diossirani, perossidi organici ciclici a tre termini nei quali la funzione perossidica O-O risulta fortemente attivata da una notevole tensione di anello, trovano impiego in sintesi organica, sia in forma isolata che generati *in situ*, perché costituiscono una classe di ossidanti versatili, selettivi e di ampia applicazione nei confronti di substrati organici di difficile funzionalizzazione, quali ad esempio idrocarburi saturi anche di struttura complessa (Fig. 3).

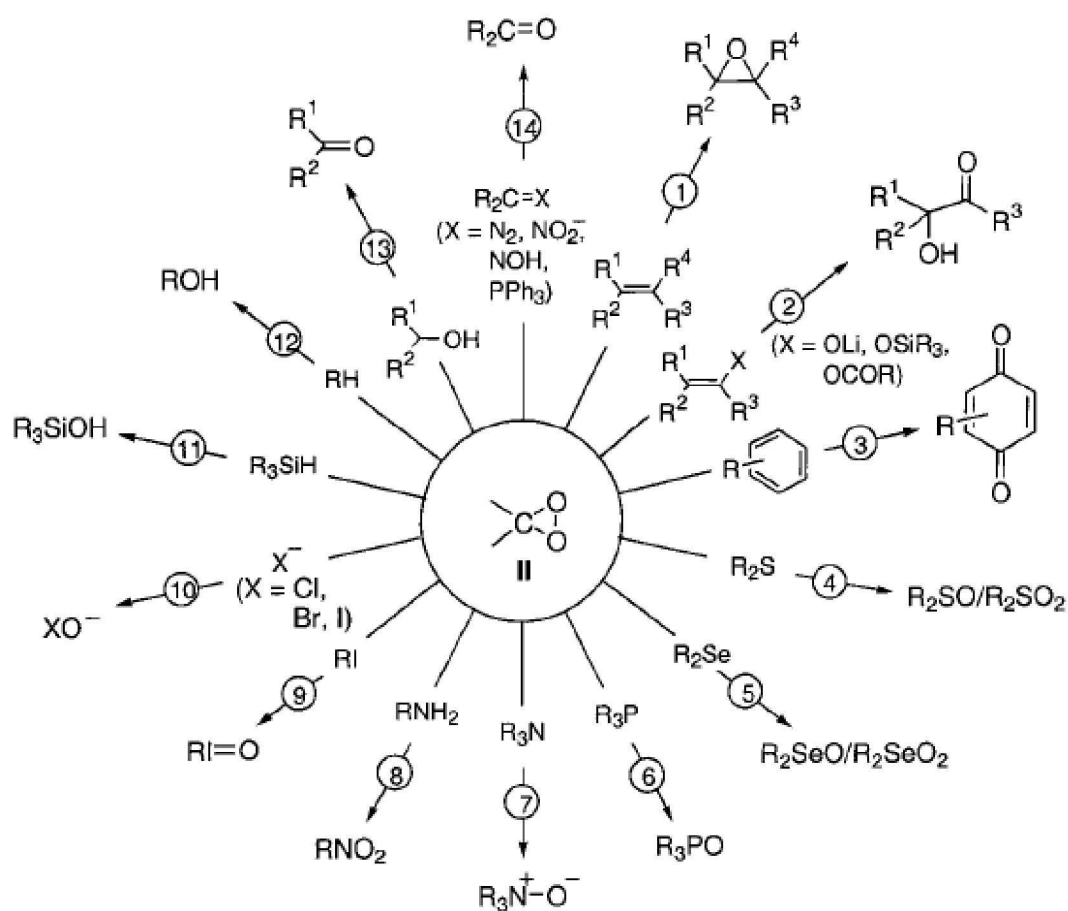
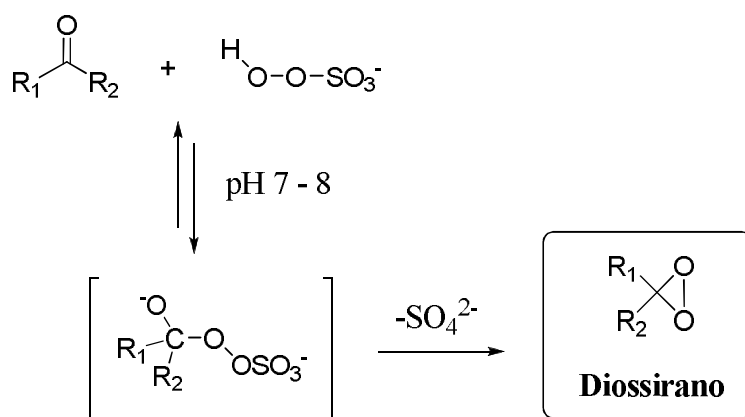


Figura 3. Esempi di reazioni promosse dai diossirani.

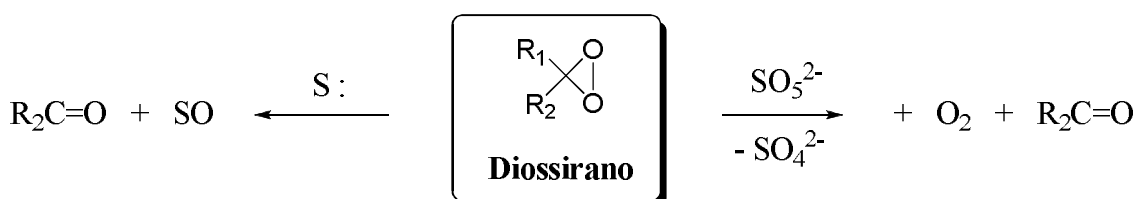
I diossirani sono infatti in grado di effettuare reazioni di trasferimento di ossigeno a substrati elettron-ricchi tra i quali solfuri, ammine, fosfine, etc.; ma le reazioni di maggior interesse sintetico includono l'epossidazione di doppi legami di olefine cicliche e terminali, e l'inserzione diretta di ossigeno in legami C-H di idrocarburi disattivati<sup>8,9</sup>.

La scoperta di queste molecole risale al 1979 quando per la prima volta è stata studiata la reazione di addizione del persolfato inorganico  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$  (commercializzato con il nome di Oxone®) a chetoni semplici, quali l'acetone, in soluzione acquosa a pH ca. neutro (7.5-8.0)<sup>10</sup>. Studi cinetici e di marcatura isotopica con  $^{18}\text{O}$ , hanno portato ad evidenze chiare circa il meccanismo di formazione del ciclo diossirano. Uno schema generale è riportato in Fig. 4.



**Figura 4.** Schema generale di formazione del diossirano.

I diossirani possono essere isolati per distillazione dalla miscela che contiene il chetone e il persolfato in soluzione tampone<sup>11-14</sup>. Tuttavia, data l'elevata reattività di questa specie, le soluzioni di diossirano devono essere conservate tra  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  e  $0\text{ }^\circ\text{C}$  per evitare l'auto-decomposizione del perossido (Schema 1)<sup>15</sup>.



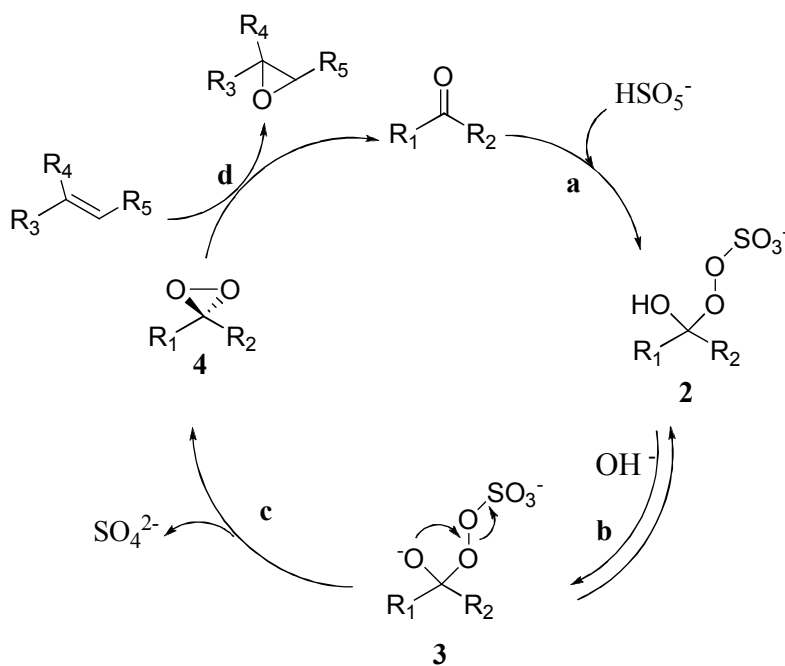
**Schema 1.** Meccanismo di decomposizione di un diossirano.

## Reazioni di Epossidazione mediate da diossirani

Il diossirano isolato viene generalmente usato in quantità stechiometrica e porta alla conversione quantitativa dell'ossidante nei prodotti, ma il suo uso è limitato alla scala di laboratorio.

Infatti, l'impiego di dimetildiossirano (DMD) isolato consente di ottenere buone rese su scala non superiore a 100 mmol dal momento che le soluzioni di DMD usate sono abbastanza diluite (ca. 0.08 M). Utilizzando invece il più reattivo metil(trifluorometil)diossirano (FTD) si ottengono soluzioni più concentrate (ca. 0.6 M), ma l'elevato costo del precursore chetonico 1,1,1-trifluoroacetone (TFAc) ne limita l'utilizzo a scale non superiori a 10 mmol.

Pertanto, si preferisce generare il diossirano *in situ* secondo il meccanismo catalitico riportato nello Schema 2.

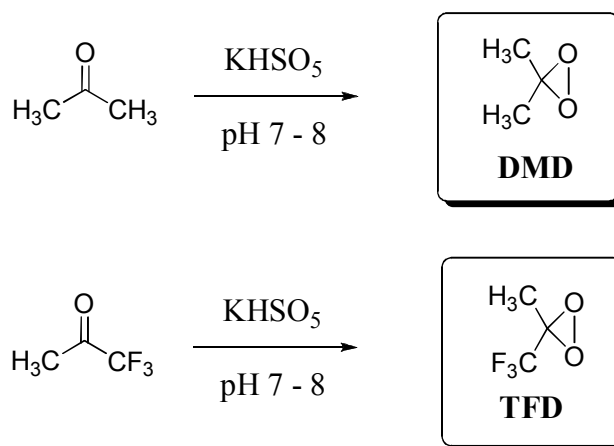


**Schema 2.** Schema generale della reazione di epossidazione condotta con diossirani generati *in situ*.

Questo sistema è interessante dal punto di vista della sostenibilità ambientale e della sicurezza di processo, poiché l'intermedio perossidico, altamente reattivo e instabile, non si accumula durante la reazione ma viene generato e convertito in prodotti attraverso cicli di reazione successivi.

Inoltre, la generazione *in situ* del diossirano offre la possibilità di realizzare reazioni di epossidazione enantioselettive in cui i diossirani chirali non sono facilmente isolabili dall'ambiente di reazione<sup>16-21</sup>.

In questo lavoro di tesi è stata studiata l'ossidazione in microreattore di olefine con diossirani generati *in situ* a partire da chetoni, quali acetone e TFAc, per reazione con il persolfato inorganico  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$  (Oxone ®) (Fig. 5).



**Figura 5.** Diossirani utilizzati nel presente lavoro di tesi.

Al fine di mettere a punto le tecniche analitiche per il monitoraggio delle reazioni e la caratterizzazione dei prodotti, è stata studiata l'eossidazione di una serie di substrati olefinici modello che si differenziano per la diversa reattività del doppio legame all'attacco elettrofilo del diossirano. Essi sono stati studiati da numerosi gruppi di ricerca, permettendo quindi il confronto dei dati ottenuti con quanto già riportato in letteratura<sup>22</sup> (Fig. 6).

L'eossidazione è stata dapprima studiata con metodica batch e successivamente è stata ottimizzata in MR ottenendo ottimi risultati.



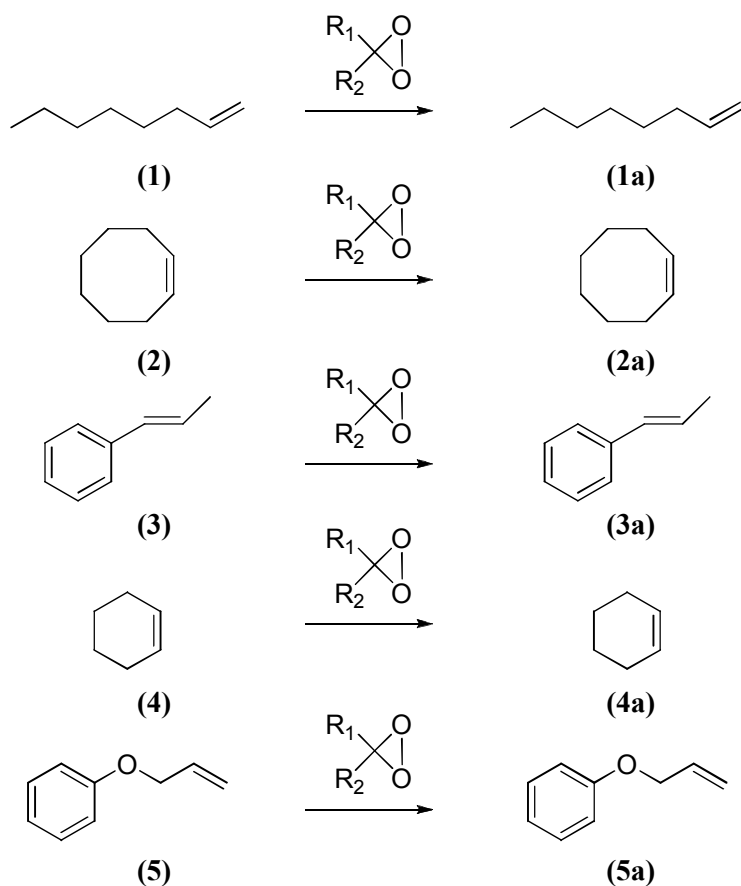


Figura 6. Substrati olefinici modello studiati.

## 5.2 Risultati e discussione

### 5.2.1 Eossidazioni batch

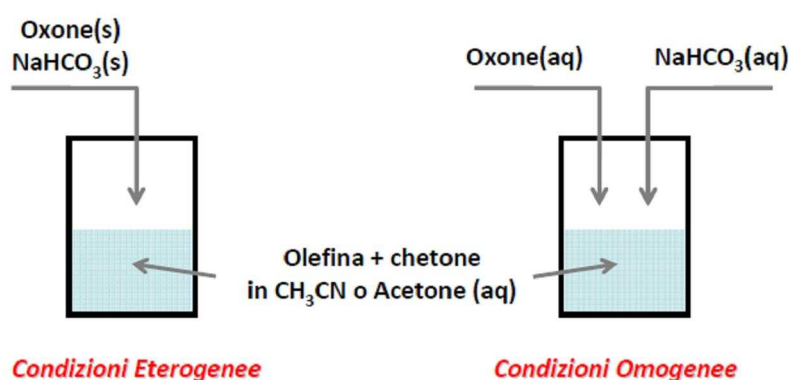
Le reazioni sono state in un primo momento condotte in condizioni convenzionali (batch) lavorando sia in fase omogenea che in fase eterogenea.

In fase eterogenea la reazione è stata condotta secondo la procedura riportata da Yang e coll.<sup>23</sup>, nella quale ad una soluzione di olefina e chetone si aggiunge una miscela solida di Oxone e sodio bicarbonato (NaHCO<sub>3</sub>) in porzioni uguali a intervalli di 30 minuti.

In fase omogenea ad una soluzione di olefina e chetone sono state aggiunte, con due pompe a siringa, due soluzioni acquose di Oxone e NaHCO<sub>3</sub>; la velocità dei flussi è stata regolata in modo da mantenere costante il rapporto molare Oxone/NaHCO<sub>3</sub>/olefina (Fig. 7).

In entrambi i casi la reazione è stata condotta a temperatura ambiente (ca. 25-30 °C) utilizzando come solvente di reazione una miscela omogenea formata da un solvente organico (scelto tra acetonitrile e acetone) e una soluzione acquosa di Na<sub>2</sub>EDTA 4x10<sup>-4</sup> M in percentuali diverse. Il Na<sub>2</sub>EDTA viene utilizzato per evitare che eventuali ioni metallici presenti nell'ambiente di reazione possano favorire la decomposizione del diossirano.

La composizione del grezzo di reazione è stata determinata al gas cromatografo come rapporto percentuale tra le aree.



**Figura 7.** Rappresentazione schematica della procedura eterogenea e della procedura omogenea utilizzate per condurre le epossidazione batch dei substrati modello studiati.

**Tabella 1.** Epossidazione batch eterogenea ed omogenea dei substrati olefinici modello con diossirani generati *in situ*.

Exp. <sup>a</sup>	Substrato (Sub)	Catalizzatore (Cat)	Rapporto Molare (Sub:Cat:KHSO <sub>5</sub> )	Solvente <sup>c</sup>	Tempo (min)	Epossido (%) <sup>e</sup>
1	1	TFAc <sup>b</sup>	1:11:1.5	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O	100	100
2 <sup>d</sup>	1	TFAc	1:11:1.5	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O	90	100
3	1	Acetone	1:11:1.5	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O	185	91
4	1	Acetone	1:11:1.5	acetone/H <sub>2</sub> O	120	100
5	2	Acetone	1:11:1.5	acetone/H <sub>2</sub> O	90	100

<sup>a</sup> reazioni condotte a temperatura ambiente (ca. 25-30 °C) in condizioni eterogenee

<sup>b</sup> 1,1,1-trifluoroacetone (TFAc)

<sup>c</sup> condizioni monofasiche (acetonitrile/acqua o acetone /acqua 1.5:1)

<sup>d</sup> reazione condotta in condizione batch omogenea

<sup>e</sup> determinata via gas cromatografica come rapporto percentuale fra le aree

## Reazioni di Epossidazione mediate da diossirani

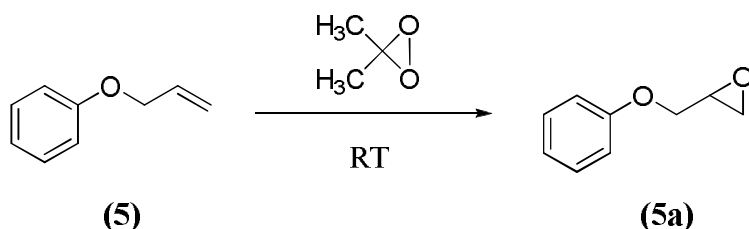
Gli esperimenti condotti hanno messo in luce che la resa e la velocità del processo variano a seconda degli equivalenti di catalizzatore utilizzati. È infatti necessario l'impiego di un largo eccesso di chetone perché la reazione proceda velocemente portando a completa conversione dell'olefina nell'eossido atteso.

Le reazioni condotte utilizzando TFAc come precursore del diossirano (Exp. 1-2 Tab. 1) decorrono più velocemente di quelle condotte utilizzando acetone perché il TFD generato è circa 1000 volte più reattivo del corrispondente derivato non fluorurato (Exp. 3 Tab. 1)<sup>24</sup>.

La minore efficienza del sistema catalitico che usa l'acetone come precursore del diossirano può essere contrastata utilizzando l'acetone non solo come catalizzatore ma anche come solvente di reazione. L'impiego di un largo eccesso di acetone compensa la bassa reattività del DMD, consentendo alla reazione di raggiungere una conversione quantitativa (Exp. 4-5 Tab. 1).

Nel caso di olefine elettrone-povere, l'efficienza del DMD si riduce notevolmente a causa della scarsa reattività del doppio legame all'attacco elettrofilo del diossirano. La reazione diventa pertanto più lenta e prevalgono così i fenomeni di decomposizione del diossirano che rendono necessario l'uso di un largo eccesso di Oxone per farla procedere.

L'allil fenil etere (**5**) è un perfetto esempio di questo comportamento perché, come riportato in letteratura, si tratta di un'olefina disattivata dalla vicinanza dell'ossigeno eterico<sup>22</sup>. Il doppio legame terminale, reso più elettrone-deficiente dall'effetto elettrone-attrattore dell'ossigeno, rende più difficile l'attacco elettrofilo del diossirano e pertanto la formazione dell'eossido. L'eossidazione di **5** (Schema 3) procede infatti più lentamente di quella degli altri substrati modello studiati (Tabella 2).



**Schema 3.** Epossidazione di **(5)** con DMD.

Se la reazione viene condotta utilizzando una quantità stechiometrica di Oxone si ottiene una conversione massima del 41 % in 150 minuti (Exp. 1 Tab. 2).

Tabella 2. Epossidazione batch dell'allil fenil etere (5) con DMD

Exp. <sup>a</sup>	Rapporto Molare (Sub:Cat:KHSO <sub>5</sub> )	Solvente	Tempo di reazione (min)	Epossido (%) <sup>c</sup>
1	1:11:1.5	Acetone/H <sub>2</sub> O	150	41
2	1:11:3.0	Acetone/H <sub>2</sub> O	190	61
3	1:11:4.5	Acetone/H <sub>2</sub> O	150	80
4	1:11:6.0	Acetone/H <sub>2</sub> O	150	85
5 <sup>b</sup>		CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	113 h (60 °C)	100

<sup>a</sup> reazioni condotte utilizzando acetone come catalizzatore

<sup>b</sup> dato riportato da Alun e coll.<sup>22</sup> utilizzando 5-PCP (1.2 eq.) come catalizzatore

<sup>c</sup> determinata via GC come rapporto percentuale tra le aree.

Sulla base di questo risultato si è pertanto ipotizzato che la riduzione di efficienza del sistema catalitico, dovuta alla progressiva decomposizione del diossirano generato in situ, potesse essere contrastata aumentando la quantità di Oxone utilizzata.

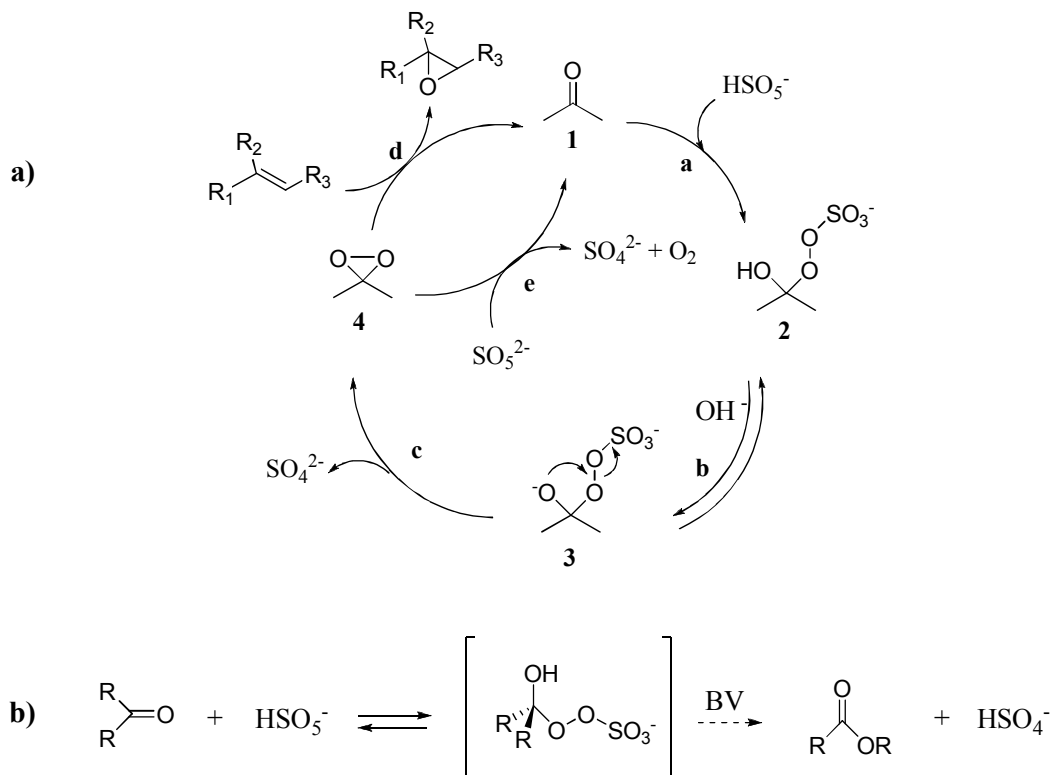


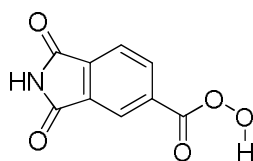
Figura 8. a) decomposizione dell'Oxone ad ossigeno e solfato (cammino e); b) decomposizione del catalizzatore attraverso reazione di Baeyr-Villiger.

Aumentando, infatti, gli equivalenti di Oxone la reazione procede fino a raggiungere una conversione massima a 1,2-epossi-3-fenossi propano (**5a**) dell'85 % in 150 minuti a temperatura ambiente (Exp. 4 Tab. 2).

È però importante sottolineare che l'incremento della specie ossidante nel sistema catalitico ha il duplice effetto di velocizzare la decomposizione dell'Oxone (Fig. 8a cammino e) e di favorire reazioni collaterali, come la decomposizione del catalizzatore attraverso reazioni di Baeyer-Villiger (Fig. 8b)<sup>1, 10, 25</sup>.

Comunque, se confrontato con quanto riportato in letteratura<sup>9</sup>, il sistema catalitico sviluppato è più efficiente in quanto consente di ottenere una conversione massima dell'85% utilizzando sia come precursore della specie diossiranica che come solvente della reazione una specie poco costosa ed ecocompatibile come l'acetone.

Per confronto, in letteratura i risultati migliori si ottengono utilizzando il sistema catalitico basato sul 5-idroperossicarbonil ftalaldeide (5-PCP) (Fig. 9) che consente di raggiungere una conversione quantitativa dopo 113 ore a 60°C.



(5-PCP)

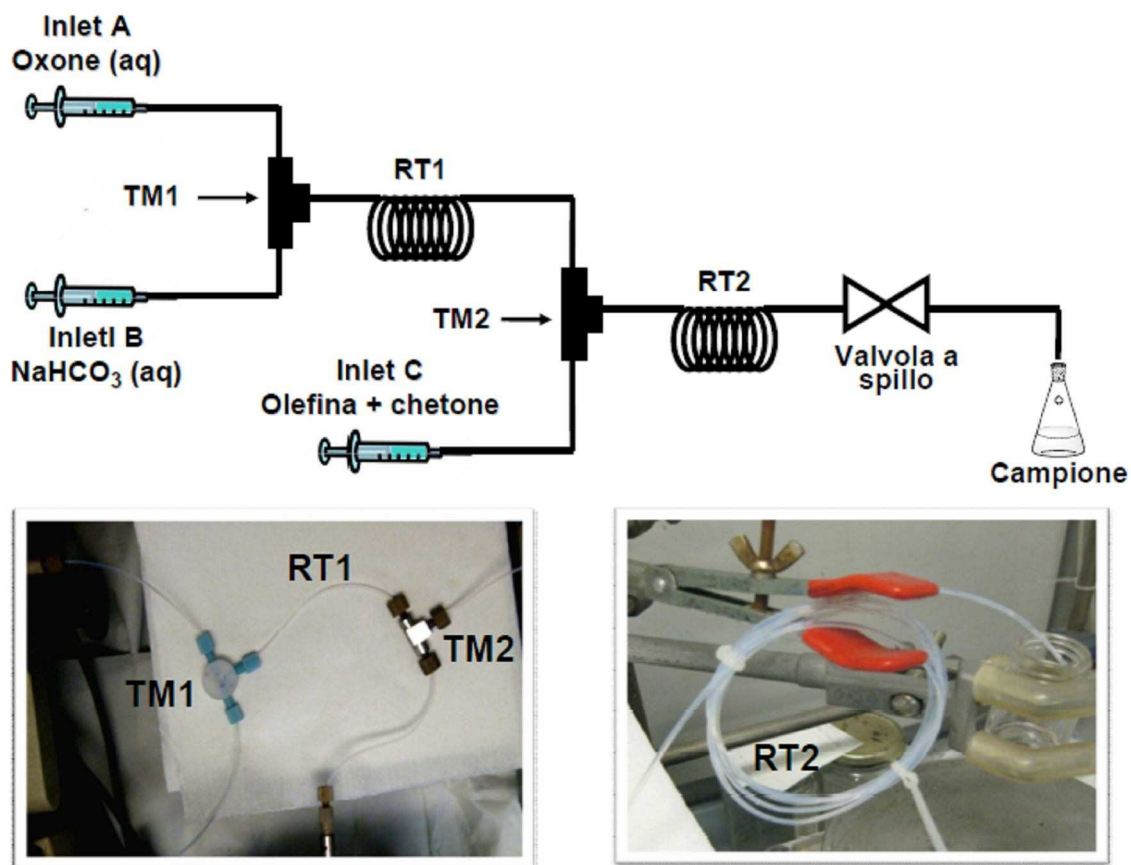
**Figura 9.** Peracido organico usato per l'epossidazione di (**5**).

### 5.2.2 Epossidazioni in microreattore

Le epossidazione delle olefine modello sono state studiate anche nel dispositivo microfluidico schematicamente riportato in Figura 10.

Le soluzioni di Oxone, NaHCO<sub>3</sub>, olefina e chetone sono state caricate in siringhe gas-tight in vetro montate su pompe a siringa e collegate al dispositivo microfluidico realizzato avvolgendo a spirale la porzione centrale di due spezzoni di tubo in PTFE® collegati da una giunzione di mescolamento a T (TM2).

Nella prima sezione del dispositivo (RT1) si mescolano le soluzioni acquose di Oxone (**Sol A**) e NaHCO<sub>3</sub> (**Sol B**) per formare l'anione perossi-monosolfato (HSO<sub>5</sub><sup>-</sup>), specie deputata alla formazione del diossirano per reazione con il derivato carbonilico.



**Figura 10.** Schema del dispositivo microfluidico utilizzato negli esperimenti di epossidazione.

Successivamente, la soluzione omogenea in uscita da RT1 viene mescolata con una soluzione contenente l'olefina e il chetone (**Sol C**). Campioni della miscela di reazione sono stati raccolti in uscita da RT2 ed analizzati via gas cromatografica per determinare la conversione dell'olefina nel corrispondente epossido.

Gli esperimenti condotti sui substrati olefinici modello hanno evidenziato l'efficienza del dispositivo microfluidico sviluppato (Tabella 3). Impostando un tempo di percorrenza di 33.5 minuti è stato, infatti, possibile ottenere una conversione quasi quantitativa per tutti i substrati studiati.

## Reazioni di Eossidazione mediate da diossirani

**Tabella 3.** Eossidazione dei substrati olefinici modello nel dispositivo microfluidico in PTFE®.

Exp. <sup>a,b</sup>	Substrato (Sub)	Catalizzatore (Cat)	Rapporto Molare (Sub:Cat:KHSO <sub>5</sub> )	Solvente <sup>d</sup>	Epossido (%) <sup>e</sup>
1	1	TFAc <sup>c</sup>	1:11:1.5	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O	100
2	1	Acetone	1:11:1.5	acetone/H <sub>2</sub> O	100
3	2	Acetone	1:11:1.5	acetone/H <sub>2</sub> O	96
4	3	Acetone	1:11:1.5	acetone/H <sub>2</sub> O	89
5	4	Acetone	1:11:1.5	acetone/H <sub>2</sub> O	100

<sup>a</sup> reazioni condotte a temperatura ambiente

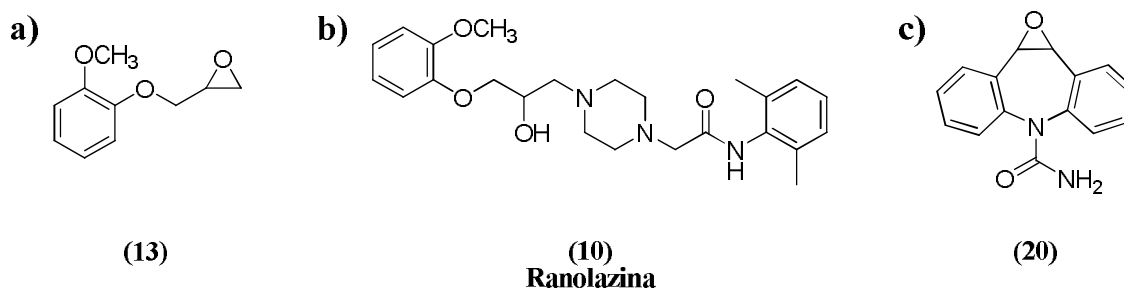
<sup>b</sup> tempo di residenza impostato: 33.5 min

<sup>c</sup> 1,1,1-trifluoroacetone (TFAc)

<sup>d</sup> solvente organico/acqua in rapporto 1.5:1

<sup>e</sup> determinata via GC come rapporto percentuale tra le aree

La procedura di eossidazione messa a punto con i substrati modello è stata applicata anche nella sintesi dell'1,2-eossi-3-(2-metossifenossi)propano (**9**), intermedio fondamentale nella sintesi della Ranolazina (**10**), e della Carbamazepina Eossido (**20**) (Fig. 11).



**Figura 11.** (a) 1,2-eossi-3-(2-metossifenossi)propano (**9**); (b) struttura generale della Ranolazina (**10**); (c) Carbamazepina Eossido (**20**).

### 5.2.3 Sintesi dell'1,2-eossi-3-(2-metossifenossi)propano (**9**)

La Ranolazina (**10**) è un farmaco anti-anginoso approvato nel 2006 dalla FDA (Ranexa®) e nel 2008 dall'EMA (Latixa®) nella terapia di supporto per il trattamento

dell'Angina Pectoris (patologia che causa disturbi quali dolore toracico, alla mandibola e alla schiena in seguito a sforzo fisico per problemi di afflusso del sangue al cuore).

Il comitato per i medicinali per uso umano (CHMP), organismo scientifico dell'EMA, ha osservato che l'efficacia della Ranolazina per il miglioramento dei sintomi in pazienti affetti da Angina Pectoris stabile è modesto, ma potrebbe essere apprezzabile in pazienti non pienamente rispondenti al trattamento con altri farmaci antianginosi di prima linea (come beta-bloccanti e calcio-antagonisti).

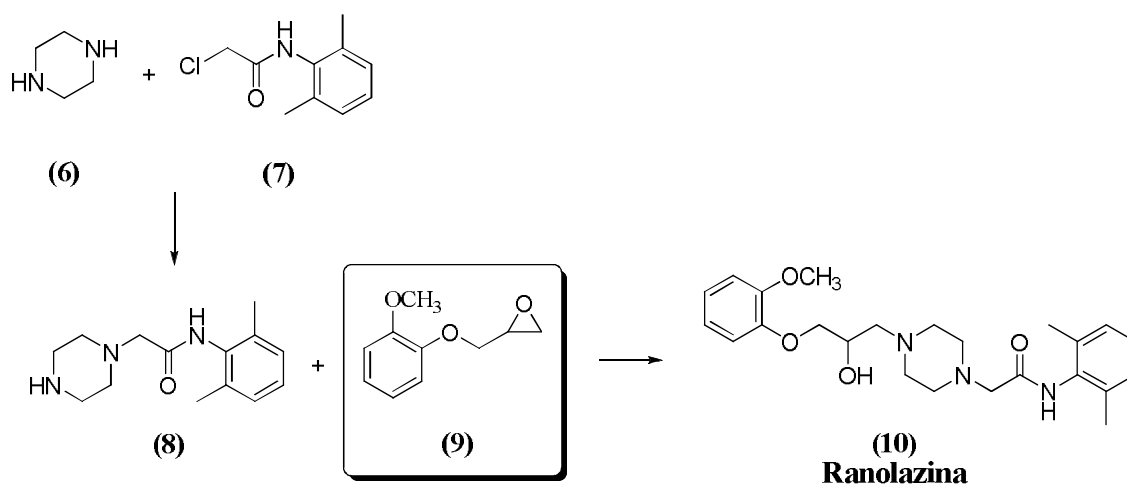
Gli studi finora condotti hanno comunque dimostrato che il farmaco aumenta in modo clinicamente rilevante la durata dello sforzo, ritardando pertanto l'insorgenza di Angina Pectoris ed è privo di effetti emodinamici negativi<sup>26</sup>.

Inoltre, alcuni studi condotti su 823 individui, di cui 189 affetti da diabete, hanno evidenziato che la Ranolazina non provoca l'insorgenza di problematiche in questo tipo di pazienti e che riesce anche a migliorare il controllo glicemico.

La Ranolazina agisce sui canali del calcio sodio-dipendenti riducendo sia il flusso di calcio che il flusso di sodio verso le cellule cardiache.

Poiché gli ioni del calcio causano le contrazioni del muscolo cardiaco, si pensa che, riducendo il flusso di calcio verso le cellule, la Ranolazina favorisca il rilassamento del cuore migliorando pertanto il flusso sanguigno al muscolo cardiaco ed alleviando i sintomi dell'Angina Pectoris<sup>27</sup>.

La Ranolazina viene generalmente sintetizzata secondo lo schema di seguito riportato (Schema 4)<sup>28</sup>.

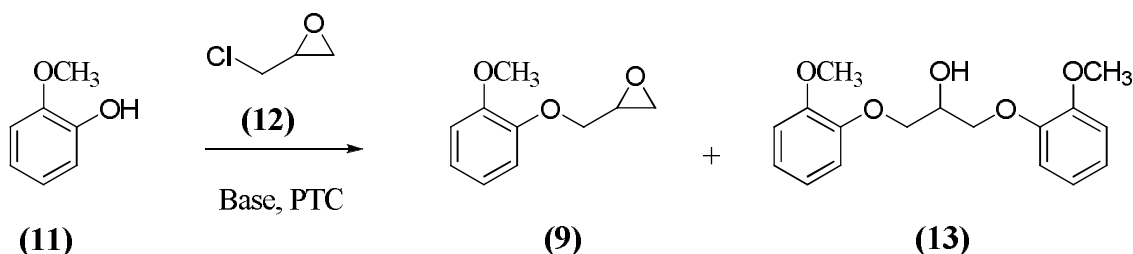


**Schema 4.** Schema di sintesi della Ranolazina®.



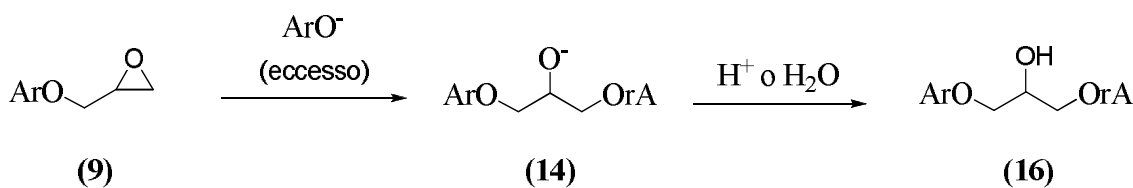
## Reazioni di Epossidazione mediate da diossirani

Intermedio chiave nella sintesi di (10) è l'1,2-epossi-3-(2-metossifenossi)propano (9), sintetizzato per O-alcilazione diretta del 2-metossi fenolo (11) con epichelidrina (12) in un opportuno solvente organico ed in presenza di una base e di un catalizzatore per trasferimento di fase (PTC) (Schema 5).



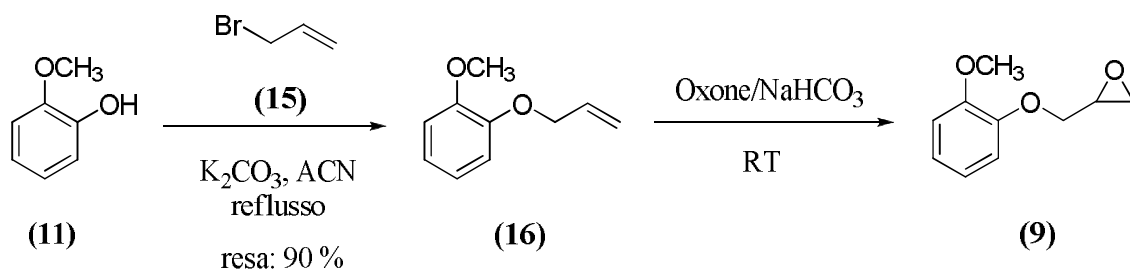
Schema 5. Sintesi dell'1,2-epossi-3-(2-metossifenossi)propano (9).

Dalla reazione si ottiene anche il dimero (13) la cui formazione è probabilmente dovuta all'eccesso di fenato nell'ambiente di reazione. E' infatti ipotizzabile che l'epossido appena formatosi subisca attacco nucleofilo da parte del fenato in eccesso portando alla formazione di un intermedio (17) che in ambiente acquoso si protona portando alla formazione del dimero (16) (Schema 6).



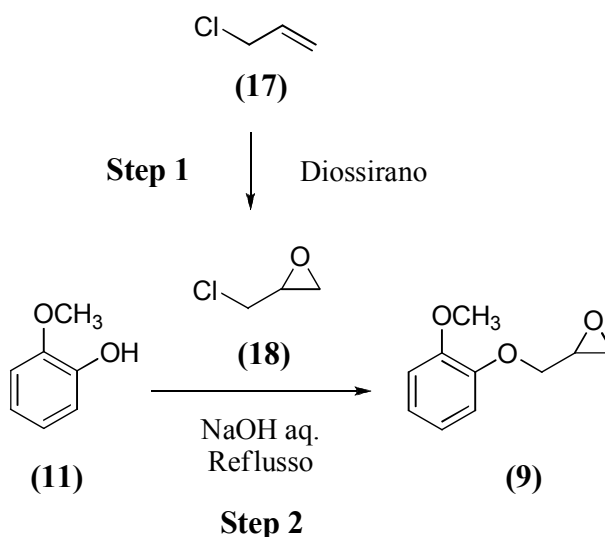
Schema 6. Meccanismo di formazione della specie dimerica (13)

La sintesi diretta dell' 1,2-epossi-3-(2-metossifenossi)propano (9) per epossidazione con DMD e TFD dell'olefina (16), prodotta dall'O-alcilazione del catecolo (11) con allil bromuro (15)<sup>29</sup>, si è rivelata inefficiente perché, come nel caso dell'allil fenil etere (5), si tratta di un substrato disattivato poco reattivo all'ossidazione con specie elettrofile quali i diossirani (Schema 7).



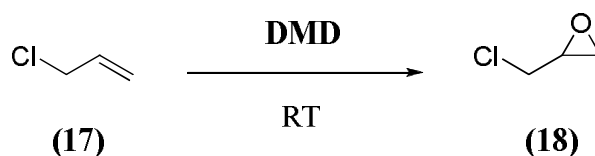
**Schema 7.** Procedura messa a punto per la sintesi di (9).

Pertanto, è stato sviluppato un procedimento di sintesi alternativo (Schema 8) nel quale l'epicloridrina (18), reagente tossico e potenzialmente pericoloso sia per l'uomo sia per l'ambiente, viene sintetizzato *in situ* in MR e fatto reagire immediatamente, in un secondo MR, con una soluzione basica di 2-metossi fenolo (11) in modo da formare l'intermedio (9) in condizioni di sicurezza.



**Schema 8.** Schema di sintesi in MR proposta per l'intermedio (9). **Step 1:** epossidazione dell'allil cloruro (17) a epicloridrina (18); **Step 2:** O-alcilazione del 2-metossifenolo (11) in ambiente basico per NaOH.

#### 5.2.4 Sintesi dell'epicloridrina in microreattore



**Schema 9.**

## Reazioni di Epossidazione mediate da diossirani

In letteratura esistono due metodi principali per la sintesi di epichelidrina (**18**):

- deidroclorurazione del dicloropropanolo in ambiente acquoso basico<sup>30</sup>.
- ossidazione del legame olefinico di un cloruro allilico con un idroperossido alchilico in presenza di un catalizzatore contenente atomi di Ti e gruppi silanolicci ancorati su uno scheletro di SiO<sub>2</sub><sup>31</sup>.

Poiché questi processi sono difficilmente realizzabili in un MR, si è deciso di studiare l'eossidazione dell'allil cloruro (**17**) ad epichelidrina (**18**) con DMD come riportato in letteratura<sup>32</sup>. L'eossidazione dell'allil cloruro (**17**) è stata studiata sia in MR che con metodica batch, sia in fase omogenea che in fase eterogenea, utilizzando l'acetone sia come precursore del diossirano che come solvente di reazione. L'andamento della reazione è stato seguito via gas cromatografica e i risultati ottenuti sono riportati in Tabella 4.

**Tabella 4.** Eossidazione dell'allil cloruro (**17**) ad epichelidrina (**18**) condotta con metodica batch, omogenea ed eterogenea, ed in MR con diossirani generati in situ.

Exp. <sup>d</sup>	Catalizzatore (Cat)	Rapporto molare (Sub:Cat:KHSO <sub>5</sub> )	Solvente	Tempo di reazione (min)	Epossido (%) <sup>e</sup>
1 <sup>a</sup>	Acetone	1:11:1.5	Acetone/H <sub>2</sub> O	120	68
2 <sup>b</sup>	Acetone	1:11:1.5	Acetone/H <sub>2</sub> O	90	100
3 <sup>b</sup>	Acetone	1:11:1.5	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O	135	100
4 <sup>c</sup>	Acetone	1:11:1.5	Acetone/H <sub>2</sub> O	33.5	85

<sup>a</sup> reazione condotta in batch con metodica eterogenea

<sup>b</sup> reazione condotta in batch con metodica omogenea

<sup>c</sup> reazione condotta in MR

<sup>d</sup> reazioni condotte a temperatura ambiente

<sup>e</sup> determinata via GC come rapporto percentuale tra le aree

L'eossidazione dell'allil cloruro (**17**) condotta in batch in fase eterogenea porta a una conversione massima del 68% dopo 120 min di reazione (Exp. 1 Tab. 4).

La medesima reazione condotta in fase omogenea permette, invece, di raggiungere una conversione pressoché quantitativa in 90 minuti (Exp. 2 Tab. 4).

L'eossidazione dell'allil cloruro (**17**) ad epichelidrina (**18**) è stata condotta in fase omogenea anche utilizzando acetonitrile con solvente di reazione (Exp. 3 Tab. 4). In

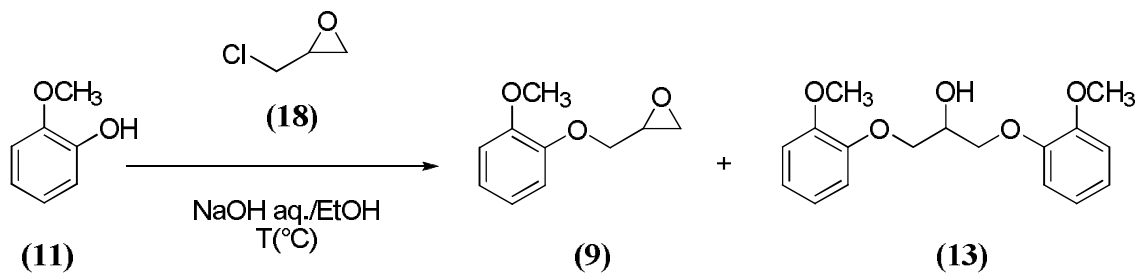
queste condizioni la reazione procede più lentamente della corrispondente reazione condotta utilizzando acetone come solvente, portando ad una conversione quantitativa in 135 minuti. La riduzione di efficienza della reazione è probabilmente dovuta alla minore quantità di DMD generato nell'ambiente di reazione rispetto agli esperimenti precedentemente discussi.

L'epossidazione di (17) è stata condotta anche nel dispositivo microfluidico riportato in Figura 10, portando ad una conversione massima dell'85 % con un tempo di percorrenza di 33.5 minuti (Exp. 4 Tab. 4).

La possibilità di sintetizzare (18) direttamente in MR offre il vantaggio di minimizzare il contatto dell'operatore con un composto potenzialmente pericoloso e allo stesso tempo offre una via sintetica alternativa più efficiente rispetto a quella attualmente in uso in quanto consente di ottenere una conversione quantitativa con un tempo di percorrenza breve.

### 5.2.5 O-alkilazione del 2-metossifenolo (11)

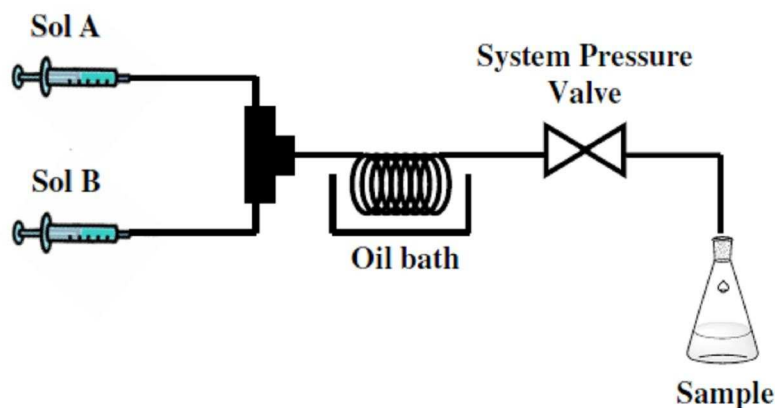
Si è, inoltre, cercato di ottimizzare MR la reazione di O-alkilazione del 2-metossifenolo (11) (Schema 10).



Schema 10. Sintesi di (9) in MR.

La reazione è stata condotta nel dispositivo microfluidico schematicamente riportato in Figura 12.

Le due soluzioni di 2-metossifenolo (Sol A) ed epichloridrina (Sol B) vengono caricate in siringhe gas-tight in vetro montate su pompe a siringa e collegate al dispositivo microfluidico realizzato avvolgendo a spirale un tubo in PTFE® immerso in bagno ad olio termostato.



**Figura 12.** Schema del dispositivo microfluidico in PTFE® utilizzato negli esperimenti di O-alchilazione del 2-metossifenolo (11).

Poiché la temperatura d'esercizio è prossima o uguale alla temperatura di ebollizione del solvente di reazione, è stato necessario posizionare a valle del canale di reazione una valvola di contropressione.

**Tabella 5.** O-alchilazione del 2-metossifenolo (11) in MR utilizzando acqua come solvente di reazione.

Exp.	Rapporto Molare (1:8:NaOH)	T (°C)	Tempo di reazione (min)	Prodotti (%) <sup>c</sup>		
				(11)	(9)	(13)
1 <sup>a</sup>	1:1.3:1.3	100	43	41.5	58.5	n.d.
2 <sup>a</sup>	1:2:1.3	100	43	0	100	n.d.
3 <sup>b</sup>	1:1.3:1.3	100	420	0	68	23

<sup>a</sup> reazione condotta in MR

<sup>b</sup> reazione condotta con metodica batch

<sup>c</sup> conversione calcolata come rapporto fra le aree dei picchi del gas cromatogramma

La reazione è stata inizialmente condotta utilizzando acqua come solvente di reazione. I risultati ottenuti (Tabella 5) hanno messo in luce che per ottenere una conversione quantitativa del 2-metossi fenolo (11) all'intermedio epossidico (9) è necessario utilizzare un eccesso di epicloridrina (18) (Exp. 1-2 Tab. 5).

Confrontando i risultati ottenuti con quanto riportato in letteratura (Exp. 3 Tab. 5) è evidente la maggior efficienza del dispositivo microfluidico rispetto alla tradizionale sintesi batch. Infatti, impostando un tempo di percorrenza di 43 minuti è stato possibile ottenere una conversione quasi quantitativa. La medesima reazione condotta, invece, con metodica batch porta invece ad una conversione massima del 68% in 7 ore di reazione.

Poiché occasionalmente si ottiene precipitazione di materiale organico ed intasamento dei tubi del MR, si è deciso di utilizzare come solvente di reazione una miscela idroalcolica di acqua/EtOH applicando la procedura sintetica riportata in WO 2008/047388. I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 6.

**Tabella 6.** O-alchilazione del 2-metossifenolo (**11**) in MR utilizzando una miscela idroalcolica come solvente di reazione

Exp.	Rapporto Molare (10:14:NaOH)	T (°C)	Tempo di reazione (min)	Prodotti (%) <sup>a</sup>		
				(11)	(*9)	(13)
1 <sup>b</sup>	1:1.3:1.3	100	90	n.d.	65	35
2 <sup>c</sup>	1:1.3:1.3	100	10	n.d.	97	3
3 <sup>d</sup>	1:1.3:1.3	80	20	1.0	92	7.0

<sup>a</sup> conversione calcolata come rapporto tra le aree dei picchi del gas cromatogramma

<sup>b</sup> reazione condotta con metodica batch

<sup>c</sup> reazione condotta in MR a 100°C

<sup>d</sup> reazione condotta in MR 80°C

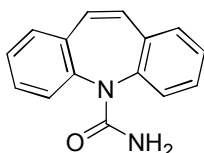
La reazione condotta con metodica batch ha portato alla formazione di un grezzo di reazione contenente il 65% di (**9**) e il 35% di dimero (**13**) (Exp. 1 Tab. 6).

La medesima reazione è stata condotta anche in microreattore termostato a 100 °C e 80 °C. I risultati ottenuti mettono in evidenza l'efficienza del dispositivo microfluidico nell'O-alchilazione nel 2-metossifenolo evidenziando la formazione di una piccola percentuale di impurezza dimerica (Exp. 2-3 Tab. 6).

Mettendomi nelle condizioni operative dell'Exp 2 Tab. 6 ho condotto una reazione preparativa che mi ha permesso di raccogliere un campione di (9) con resa dell'85% dopo purificazione per cromatografia flash.

### 5.2.6 Epossidazione della Carbamazepina (19) a Carbamazepina Epossido (20)

La Carbamazepina (CBZ, 19) (Fig. 13) è un anticonvulsivante di prima generazione che trova largo impiego nel trattamento dell'epilessia, delle nevralgie del trigemino, del dolore neuropatico e come stabilizzatore dell'umore nel disturbo bipolare<sup>33</sup>.



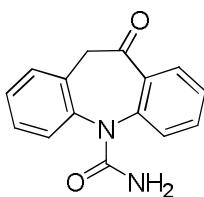
**Figura 13.** Struttura generale della CBZ.

Deriva chimicamente da farmaci antidepressivi tricyclici a struttura dibenzodiazepinica e venne scoperta nel corso dello screening di molecole in grado di inibire la crisi indotta dalla stimolazione elettrica nel topo.

La CBZ può causare anemia e agranulocitosi. Inoltre, tra gli effetti secondari più frequenti sono da segnalare una leggera sonnolenza, diplopia ed irritazione gastrica.

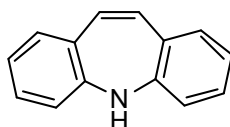
La CBZ provoca inoltre depressione del midollo osseo e danni ematici, per cui i pazienti devono essere periodicamente sottoposti a controlli clinici.

Per migliorare la tollerabilità della CBZ senza però modificarne il profilo farmacologico, è stato sviluppato il cheto analogo Oxcarbazepina (OXCZ, 22), strutturalmente simile ma meglio tollerata (Fig. 14).



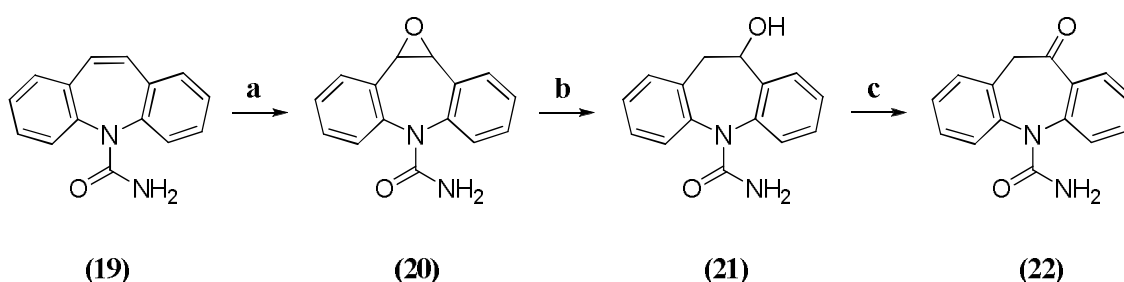
**Figura 14.** Struttura della Oxcarbazepina (22).

L'OXCZ è utile nel trattamento delle convulsioni tonico-cloniche generalizzate e degli accessi parziali, con o senza generalizzazione. L'Oxcarbazepina è attualmente considerata un farmaco antiepilettico di prima scelta<sup>34</sup>. Per la preparazione dell'Oxcarbazepina sono state proposte molte vie sintetiche, la maggior parte delle quali basate sulla trasformazione dell'imminostilbene (Fig. 15), che tuttavia non trovano impiego nella sintesi su larga scala.



**Figura 15.** Imminostilbene

Tra tutti i metodi proposti, quello maggiormente utilizzato è quello descritto in un brevetto del 2006<sup>35, 36</sup> (Schema 11) in cui la Carbamazepina Epossido (ECBZ, **20**), ottenuta dall'eossidazione di CBZ (**19**) con acido *m*-cloroperbenzoico (*m*-CPBA) (**a**), viene ridotta ad alcol (**21**) per disidratazione (**b**). L'alcol viene quindi ossidato al prodotto desiderato OXCZ con acido perossiacetico (AcOOH) in presenza di un catalizzatore metallico (**c**).



**Schema 11.** Schema generale di sintesi dell'Oxcarbazepina (**22**) a partire da Carbamazepina (**19**). (**a**) *m*-CPBA; (**b**) H<sub>2</sub>, 10 % Pd/C; (**c**) AcOOH

ECBZ (**20**) è pertanto un intermedio chiave nella preparazione dell'OXCZ. Come precedentemente riportato, l'eossidazione della CBZ a CBZEP viene generalmente condotta con acido *m*-CPBA in solvente clorurato. Il processo però richiede l'impiego di un largo eccesso di agente eossidante che rende la sua applicazione su larga scala dispendiosa. Altri metodi di eossidazione sono stati proposti, come ad esempio:

- eossidazione microbica<sup>37</sup>;



## Reazioni di Epossidazione mediate da diossirani

- epossidazioni che usano come catalizzatori complessi di perossidi e porfirine di ferro<sup>38</sup>;
- epossidazione che usano come catalizzatori complessi di cobalto<sup>39</sup>.

L'epossidazione di CBZ (**19**) a ECBZ (**20**) utilizzando DMD generato *in situ* è stata studiata in batch con metodica omogenea ed eterogenea. La reazione è stata condotta a temperatura ambiente monitorando via TLC la scomparsa del reagente e la formazione del prodotto. Al termine del processo, la miscela di reazione è stata spenta con una soluzione acquosa al 10 % di sodio metabisolfito ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) e il prodotto è stato estratto con diclorometano.

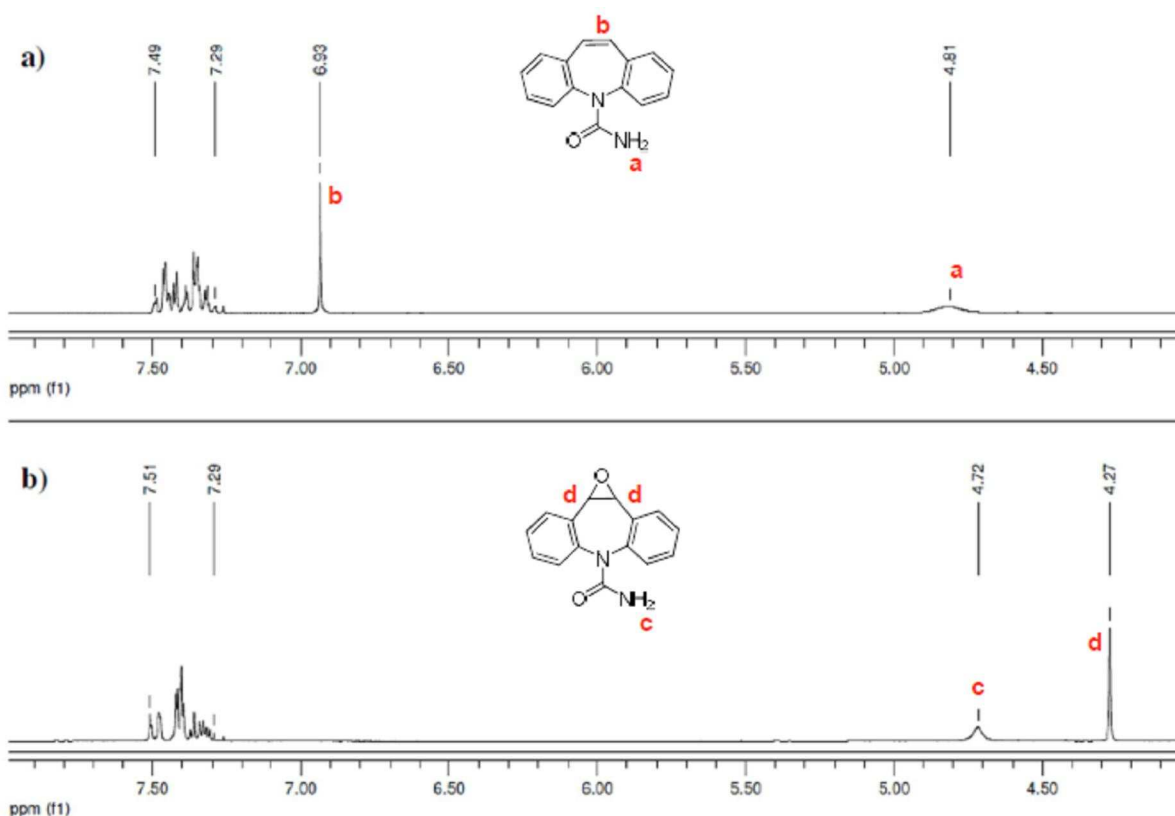


Figura 16. Spettri  $^1\text{H-NMR}$  (250 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ). (a) CBZ; (b) ECBZ

La fase organica, anidrificata con solfato di sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), è stata concentrata a residuo ottenendo un grezzo di reazione la cui composizione è stata determinata via  $^1\text{H-NMR}$  come rapporto percentuale tra gli integrali dei segnali a 6.93 ppm (attribuibili ai protoni **b**) e 1.27 ppm (attribuibili ai protoni **d**) (Fig. 16). I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 7.

L'epossidazione condotta in modalità batch eterogenea porta ad una conversione massima del 91% in 140 minuti utilizzando 2 equivalenti di Oxone (Exp. 1 Tab. 7).

Per determinare la quantità di Oxone necessaria per ottenere una conversione quantitativa di **(19)** a **(20)**, la medesima reazione è stata condotta con modalità batch omogenea (Exp. 2 Tab. 7). I risultati ottenuti hanno messo in luce che per ottenere una conversione quantitativa di CBZ **(19)** a ECBZ **(20)** sono necessari 3.0 eq di Oxone.

**Tabella 7.** Risultati della reazione di epossidazione batch di CBZ **(18)** a ECBZ **(19)** con DMD generato in situ a partire da acetone.

Exp.	Catalizzatore (Cat)	Rapporto Molare (Sub:Cat:KHSO <sub>5</sub> )	Solvente	Tempo di reazione (min)	T (°C)	Epossido (%) <sup>a</sup>
<b>1<sup>b</sup></b>	Acetone	1:11:2	Acetone/H <sub>2</sub> O	140	RT	91
<b>2<sup>c</sup></b>	Acetone	1:11:3	Acetone/H <sub>2</sub> O	110	RT	100
<b>3<sup>d</sup></b>	Acetone	1:11:3	Acetone/H <sub>2</sub> O	170	RT	85

<sup>a</sup> determinato via <sup>1</sup>H-NMR

<sup>b</sup> epossidazione condotta con modalità batch eterogenea

<sup>c</sup> epossidazione condotta con modalità batch omogenea su 0.1 g di CBZ **(19)**

<sup>d</sup> epossidazione condotta con modalità batch omogenea su 0.3 g di CBZ **(19)**

In queste condizioni è poi stata condotta una prova quantitativa che ha consentito di isolare l'eossido **(20)** atteso con una resa dell'85% (Exp. 3 Tab. 7).

L'eossidazione di CBZ **(19)** con DMD non è stata condotta in MR a causa dei lunghi tempi di reazione registrati sia nelle prove batch eterogenee che in quelle batch omogenee.

Si è ipotizzato che l'impiego di un diossirano più attivo del DMD potesse velocizzare la reazione ed eventualmente consentirne l'ottimizzazione nel dispositivo microfluidico precedentemente descritto (Fig. 10).

L'eossidazione di **(19)** a **(20)** è stata pertanto condotta utilizzando TFD generato in situ a partire da 1,1,1-trifluoroacetone. La reazione è stata anche in questo caso dapprima eseguita con metodica batch e successivamente ottimizzata in MR.

I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 8.

## Reazioni di Epossidazione mediate da diossirani

**Tabella 8.** Epossidazione di CBZ (19) a ECBZ (20) con TFD generato in situ.

Exp.	Catalizzatore (Cat)	Rapporto Molare (Sub:Cat:KHSO <sub>5</sub> )	Solvente	Tempo di reazione (min)	T (°C)	Epossido (%) <sup>a</sup>
1 <sup>b</sup>	TFAc <sup>c</sup>	1:11:1.5	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O	90	RT	100
2 <sup>d</sup>	TFAc	1:11:1.5	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O	30	RT	100
3 <sup>e</sup>	TFAc	1:11:1.5	CH <sub>3</sub> CN/H <sub>2</sub> O	23	RT	100

<sup>a</sup> determinata via <sup>1</sup>H-NMR

<sup>b</sup> reazione condotta con modalità batch eterogenea

<sup>c</sup> 1,1,1-trifluoroacetone

<sup>d</sup> reazione condotta con modalità batch omogenea

<sup>e</sup> reazione condotta nel dispositivo microfluidico in PTFE®

La reazione condotta con modalità batch eterogenea porta ad una conversione quantitativa in 30 minuti di reazione (Exp. 1 Tab. 8).

La medesima reazione condotta con la modalità batch eterogenea consente invece di ottenere una conversione quantitativa a ECBZ in tempi molto più brevi (Exp. 2 Tab. 8).

La riduzione dei tempi di reazione ha consentito di condurre la reazione anche nel dispositivo microfluidico precedentemente descritto (Fig. 10), ottenendo una conversione quantitativa impostando un tempo di percorrenza di 23 minuti. Infatti, le ridotte dimensioni del sistema rendono la reazione più efficiente perché il diossirano generato nel ciclo catalitico viene immediatamente utilizzato per l'eossidazione del substrato.

### 5.3 Conclusioni

L'uso di reattori a flusso continuo si è rivelato utile nelle reazioni di eossidazione con diossirani generati *in situ*. Il diossirano è infatti un ossidante forte ma anche pericoloso perché potenzialmente esplosivo. Pertanto, anche se è possibile generare delle soluzioni di diossirano da utilizzare per ossidazioni stechiometriche del substrato, il processo catalitico rappresenta la scelta migliore sotto il profilo della sicurezza e dell'efficienza sintetica<sup>15, 40</sup>.

Il sistema catalitico messo a punto si è rivelato efficiente nell'epossidazione di una serie di substrati caratterizzati da una diversa reattività del doppio legame all'attacco elettrofilo della specie diossiranica. In particolare, è stato possibile condurre in un dispositivo in PTFE® l'epossidazione dell'allil cloruro (**17**) ad epichelidrina (**18**) con una conversione massima dell'85%. La possibilità di sintetizzare (**18**) direttamente in MR offre il vantaggio di minimizzare il contatto diretto dell'operatore con un composto potenzialmente pericoloso e allo stesso tempo offre una via sintetica alternativa più efficiente e sicura di quella attualmente in uso. L'epichelidrina così sintetizzata può inoltre essere fatta reagire immediatamente, in un secondo MR, con una soluzione basica di 2-metossifenolo (**11**) in modo da sintetizzare l'intermedio (**9**) in condizioni di sicurezza.

Inoltre, il dispositivo microfluidico in PTFE® si è rivelato efficiente anche nella sintesi di ECBZ (**20**), intermedio chiave nella sintesi dell'antiepilettico di prima scelta OXCBZ (**22**).

È attualmente in corso la preparazione di un articolo per la presentazione dei risultati ottenuti.

## **5.4 Parte Sperimentale**

### **5.4.1 Solventi e Reagenti**

I reagenti ed i solventi utilizzati sono stati acquistati presso Sigma Aldrich ed utilizzati tal quali. Il 2-metossi fenolo (**11**) e la CBZ (**19**) sono stati forniti da Fabbrica Italiana Sintetici FIS S.p.a ed utilizzati senza ulteriori purificazioni.

Le soluzioni dei substrati da ossidare sono state caricate in siringhe gas-tight in vetro da 10 mL (Hamilton, item n. 81627) montate su pompe a siringa New Era Pump System (modello NE-300).

Tubi di PTFE® (OD = 1.58 mm, ID = 0.8 mm, Supelco, item no. 58696-U) sono stati utilizzati per la costruzione del microreattore e per la connessione dello stesso ai sistemi di movimentazione dei reagenti e raccolta dei prodotti.

## ***Reazioni di Epossidazione mediate da diossirani***

---

Per la connessione del reattore con le siringhe gas-tight sono state utilizzate giunzioni in PEEK® (Upchurch Scientific, item n. F-120, P-659).

Per regolare il flusso all'interno del canale è stata utilizzata una valvola di contropressione commercializzata da Swagelok (item n. SS-SS1-VH).

### **5.4.2 Strumenti e Tecniche analitiche**

**Analisi GC:** la determinazione della composizione dei grezzi di reazione è stata condotta per via gas cromatografica (GC) utilizzando uno strumento GC-2010 Shimadzu. Le condizioni analitiche sono le seguenti:

<b>colonna:</b>	EQUITY™-5 (Sigma Aldrich) L = 15 m; ID = 0.1 mm; Film thickness = 0.1 µm
<b>carrier:</b>	He
<b>Programma temperatura:</b>	
<u>1-ottene (1)</u>	50°C (3 min) → 170°C (45°C/min) t <sub>R</sub> (1) = 2.2 min
<u>Cis-cicloottene (2)</u>	70°C (3 min) → 150°C (45 °C/min) t <sub>R</sub> (2) = 2.4 min
<u>Trans-β-metilstirene (3)</u>	90°C (1 min) → 230°C (45 °C/min) t <sub>R</sub> (3) = 2.0 min
<u>Cicloesene (4)</u>	45°C (3 min) → 150°C (45 °C/min) t <sub>R</sub> (4) = 1.4 min
<u>Allil fenil etere (5)</u>	90°C (2 min) → 230°C (2 min) a (45 °C/min) t <sub>R</sub> (5) = 2.2 min

Per l'epossidazione dell'allil cloruro (17), invece, l'analisi del grezzo di reazione è stata condotta con lo strumento Hewlett Packard 5890 Series II Gas Chromatographer, impostando le seguenti condizioni strumentali:

<b>colonna:</b>	ALCOHOL STABILWAX® (Restek) L = 60 m; ID = 0.53 mm;
<b>carrier:</b>	He
<b>Programma temperatura:</b>	

Allil cloruro (17)

30°C (30 min) → 170°C (3 min) a (45 °C/min)  
 $t_R$  (17) = 4.8 min

**Preparazione del campione per le analisi gas cromatografiche:** 100 µL di miscela di reazione vengono spenti in 1 mL di diclorometano e 1 mL di soluzione satura di Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Si separano le fasi e la fase organica viene lavata con 1 mL di diclorometano. Le fasi organiche riunite vengono anidrificate con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed il solvente viene allontanato a pressione ridotta. Si riprende il residuo con 1.5 mL di diclorometano e si esegue analisi gas cromatografica.

In Tabella 9 sono riportati i tempi di ritenzione degli epossidi studiati:

**Tabella 9.**

<b>Epossido</b>	<b>Tempo di ritenzione (min)</b>
<b>1a</b>	4.6
<b>2a</b>	4.5
<b>3a</b>	2.3
<b>4a</b>	3.6
<b>5a</b>	5.0
<b>18</b>	7.5

**Analisi TLC.** La cromatografia TLC è stata effettuata utilizzando lastre di gel di silice Polygram Sil G/UV<sub>254</sub> Macherey-Nagel. La separazione cromatografica più opportuna è stata decisa in base alla risoluzione ottenuta con questa tecnica e alla solubilità. I composti sono stati rilevati mediante visore UV a doppia lampada (254 nm e 365 nm) o mediante ossidazione con una soluzione di permanganato di potassio in acetone all'1%.

$R_f$  (19) = 0.35

$R_f$  (20) = 0.25

#### **5.4.3 Procedura generale per l'eossidazione batch in modalità eterogenea**

In un pallone da 50 mL, munito di agitatore magnetico, si carica una soluzione omogenea di un solvente organico (acetonitrile o acetone) (4 mL) e una soluzione

acquosa di Na<sub>2</sub>EDTA 4 x 10<sup>-4</sup> M (3 mL). A questa soluzione si aggiungono l'olefina (1 eq.) e il chetone (11 eq.).

A questa soluzione sono stati aggiunti l'Oxone (1.5 eq.) e il NaHCO<sub>3</sub> (4.65 eq.) in tre frazioni equivalenti (ciascuno composta da 0.5 eq. di Oxone e 1.55 eq. di NaHCO<sub>3</sub>) ad intervalli di 30 minuti. Si segue l'andamento della reazione via gas cromatografica con prelievi ad intervalli di tempo regolari.

### **5.4.4 Procedura generale per l'eossidazione batch in modalità omogenea**

In un pallone da 50 mL, munito di agitatore magnetico, si carica una soluzione omogenea di un solvente organico (acetonitrile o acetone) (4 mL) e una soluzione acquosa di Na<sub>2</sub>EDTA 4 x 10<sup>-4</sup> M (3 mL). A questa soluzione si aggiungono l'olefina (1 eq.) e il chetone (11 eq.).

A questa soluzione si aggiungo due soluzioni acquose di Oxone (flusso: 1.6 mL/h) e NaHCO<sub>3</sub> (flusso: 2.9 mL/h). I flussi di aggiunta delle due soluzioni sono regolati in modo tale da mantenere il rapporto molare 1:1.5:4.65 (olefina: Oxone : NaHCO<sub>3</sub>).

### **5.4.5 Procedura generale per la reazione in microreattore**

In un matraccio da 10 mL si aggiunge l'Oxone (1.5 eq.) e si porta a volume con il solvente scelto per la reazione. La soluzione viene caricata in siringa gas-tight in vetro da 10 mL collegata all'Inlet A e montata su pompa a siringa NE-300 (flusso: 1.6 mL/h). In un secondo matraccio da 10 mL si aggiunge l'NaHCO<sub>3</sub> (4.65 eq.) e si porta a volume con il solvente scelto per la reazione. La soluzione viene caricata in siringa gas-tight in vetro da 10 mL collegata all'Inlet B e montata su pompa a siringa NE-300 (flusso: 2.9 mL/H). In un terzo matraccio da 10 mL si aggiunge l'olefina (1 eq.) e si porta a volume con il solvente. La soluzione viene caricata in siringa gas-tight in vetro da 10 mL collegata all'Inlet C e montata su pompa a siringa Ne-300 (flusso: 4.5 mL/h).

Gli esperimenti sono stati condotti nel dispositivo microfluidico illustrato in Fig. 10.

La procedura per la preparazione del campione per l'analisi gas cromatografica è stato preparato come sopra descritto.

## 5.5 Bibliografia

1. W. Adam, *Oxidation of Organic Compounds by Dioxiranes*, Wiley, 2009.
2. K. C. Nicolaou and al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 7974.
3. D. Yang, *Acc. Chem. Res.*, 2004, **37**, 497.
4. D. Swern, *Org. React.*, 1953, **7**, 378.
5. V. G. Dryuk, *Russ. Chem. Rev.*, 1985, **54**, 986.
6. K. A. Jorgensen, *Chem. Rev.*, 1989, **89**, 431.
7. H. Mimoun, *The Chemistry of Peroxides*, Wiley, Chichester, 1983.
8. R. Mello, M. Fiorentino, C. Fusco and R. Curci, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 6749.
9. R. Murray and al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1986, **108**, 2470.
10. R. Murray, *Chem. Rev.*, 1989, **89**, 1187.
11. W. Adam and al., *Chem. Ber.*, 1991, **124**, 2377.
12. R. Murray and al., *J. Org. Chem.*, 1985, **50**, 2847.
13. R. Murray and al., *Org. Synth. Coll.*, 1998, **9**, 288.
14. R. Mello, M. Fiorentino, O. Sciacovelli and R. Curci, *J. Org. Chem.*, 1988, **53**, 3890.
15. R. Curci and al., *J. Org. Chem.*, 1980, **45**, 4758.
16. R. Curci, M. Fiorentino and M. R. Serio, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1984, 155.
17. Y. Shi and al., *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 5377.
18. Y. Shi and al., *J. Org. Chem.*, 2008, **73**, 9539.
19. Y. Shi and al., *Chem. Rev.*, 2008, **108**, 3958.
20. Y. Shi and al., *Acc. Chem. Res.*, 2004, **37**, 488.
21. Z. Wang, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 11224.
22. J. P. Alun and al., *Chem. Commun.*, 1998, 429.
23. D. Yang and al., *Org. Synth.*, 2004, **10**, 537.
24. D. Yang, *J. Org. Chem.*, 1998, **60**, 3887.
25. R. E. Montgomery, *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, **96**, 7820.
26. EMEA, *Relazione Pubblica di Valutazione Europea*, 2008.
27. J. Abrams, C. A. Jones and P. Kirkpatrick, *Nature Reviews*, 2006, **5**, 453.
28. R. Saxena and al., *WO 2008/047388*, 2008.
29. Y. Lin, J. Cheng and Y. Chu, *Tetrahedron*, 2007, **63**, 10949.
30. P. Gilbeau and al., *WO 2008/101866*, 2008.
31. T. Nakanishi; and al., *US 5011953*, 1991.
32. M. Froh, Z. Wang and Y. Shi, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 6425.
33. O. Lohse, *Tetrahedron Letters*, 2001, **42**, 385.
34. S. I. Johannessen and e. al., *Intractable Epilepsy*, Wrihstom Biomedical Publishing: Petersfield, 1995.
35. Portela and C.A., *WO 2006/075925*, 2006.
36. Portela and C.A., *WO 2002/096881*, 2002.
37. M. Kittelmann, R. Lattmann and O. Ghisalba, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 1993, **57**, 1589.
38. S. Y. Yang and W. Nam, *Inorg. Chem.*, 1998, **37**, 606.
39. W. Nam, W. Hwang and J. M. Ahn, *Bull. Korean Chem. Soc.*, 1996, **17**, 414.
40. R. Curci and Al., *Photochem. Photobiol.*, 1979, **30**, 63.

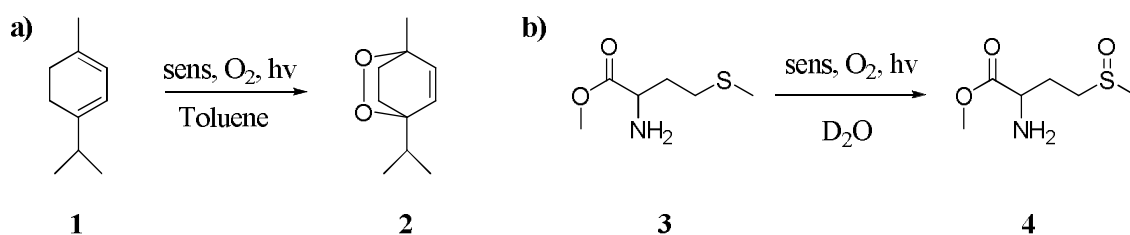


In questo lavoro di tesi è stato studiato l'impiego di reattori in regime di flusso continuo per condurre sintesi organiche tradizionalmente condotte con procedure *batch* o semi-*batch*. Tali dispositivi, comunemente definiti microreattori (MR) possono essere una risposta alla necessità di sviluppare processi meno invasivi per l'ambiente e contemporaneamente economicamente vantaggiosi.

La ricerca è stata condotta in collaborazione con *Fabbrica Italiana Sintetici* (FIS S.p.a), Montecchio Maggiore (VI), e i processi sviluppati hanno avuto per oggetto l'applicazione di MR nella sintesi di molecole di interesse farmaceutico.

Nella prima parte di questa tesi è stata messa a punto una tecnica di costruzione di MR in vetro-polimero, atta a permettere la realizzazione semplice ed economica di dispositivi versatili e di facile impiego in laboratorio, e senza l'utilizzo di apparecchiature o tecniche complesse.

I reattori così costruiti sono stati impiegati per condurre alcune reazioni modello (Schema 1) di foto-ossidazione con ossigeno di singoletto  $^1\text{O}_2$  generato in situ, utilizzando come sensibilizzatori derivati fullerenici sia in fase omogenea che in fase eterogenea con efficienza paragonabile o superiore alle tradizionali tecniche *batch*.

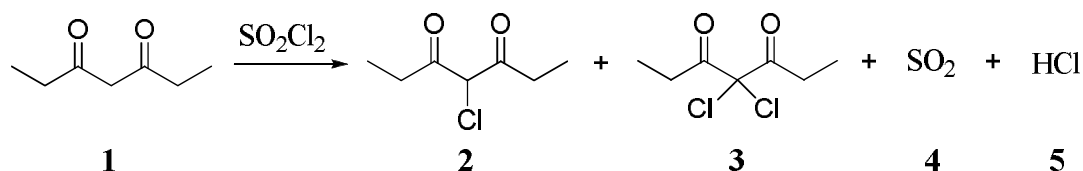


Schema 1.

I MR rappresentano infatti un'alternativa interessante ai tradizionali reattori *batch* perché, grazie alle ridotte dimensioni, permettono un'illuminazione più omogenea ed efficace, e minimizzano la pericolosità della reazione perché il solvente organico e l'ossigeno vengono in contatto soltanto nel microreattore formando pochi microlitri di miscela potenzialmente pericolosa.

## Conclusioni

Nella seconda parte di questa tesi è stato studiato l'utilizzo dei MR nell' $\alpha$ -alogenazione selettiva del 3,5-eptandione (**1**) utilizzando cloruro di solforile ( $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ ) come agente clorurante (Schema 2).



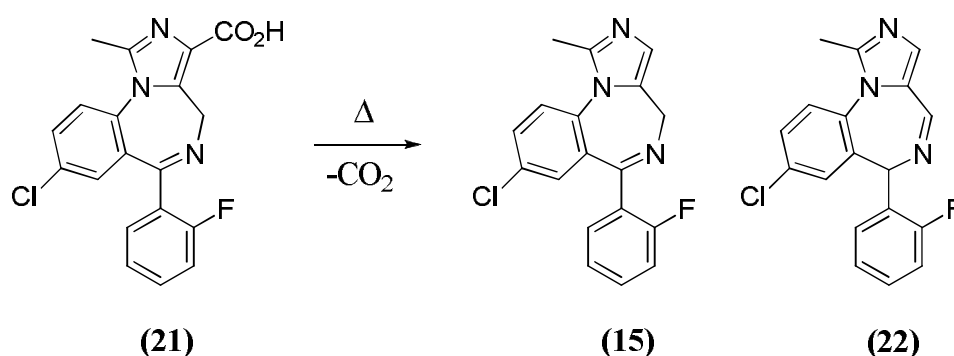
**Schema 2.**

L'uso di due MR in serie si è rivelato efficace nella riduzione della quantità di prodotto bisclorurato (**3**) fino all'1 %.

L'uso di MR, inoltre, attenua la pericolosità del processo perché l' $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ , agente tossico e altamente corrosivo, viene utilizzato in piccole quantità in un sistema confinato.

L'applicabilità del processo microfluidico sviluppato è in corso di valutazione per l'applicazione industriale.

Nella terza parte della tesi è stata valutata l'uso dei MR nella sintesi di Midazolam (**15**) per decarbossilazione termica del corrispondente acido carbossilico (**21**) (Schema 3).

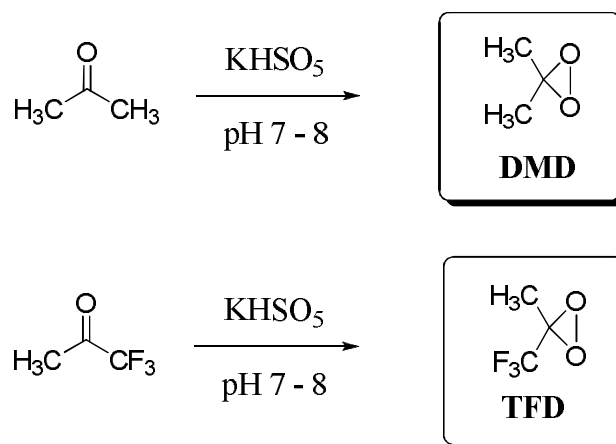


**Schema 3.**

Lo studio condotto ha dimostrato che la decarbossilazione dell'intermedio **DOR-AA**, preparato per idrolisi acida del legame 5,6 dell'anello diazepinico di (**A**), consente di ridurre notevolmente la percentuale di prodotto non farmacologicamente attivo (**22**) generata. La riduzione della formazione di (**22**) consente di eliminare lo stadio di

isomerizzazione basico necessario a convertire l'isomero nel prodotto attivo. È attualmente in corso la stesura di un brevetto per il processo studiato.

Nella parte finale della tesi è stata studiata l'eossidazione di olefine con diossirani generati *in situ* a partire da chetoni, quali ad esempio acetone e TFAc, per reazione con il persolfato inorganico Oxone (Schema 4).

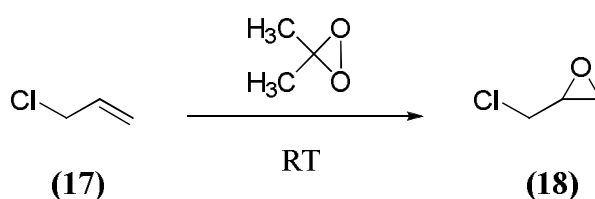


Schema 4.

Il diossirano è un potente ossidante ma anche pericoloso perché potenzialmente esplosivo. Pertanto, anche se è possibile generare delle soluzioni di diossirano da utilizzare per ossidazioni stechiometriche, il processo catalitico rappresenta la scelta migliore sotto il profilo della sicurezza e dell'efficienza sintetica.

Il sistema catalitico messo a punto si è rivelato efficace nell'eossidazione di una serie di substrati modello caratterizzati da una diversa reattività del doppio legame all'attacco elettrofilo della specie diossiranica.

In particolare, è stato possibile condurre in un dispositivo assemblato a partire da tubi in PTFE® e connettori del tipo usato in cromatografia, l'eossidazione dell'allil cloruro (17) ad epicloridrina (18) con una conversione massima dell'85% (Schema 5).

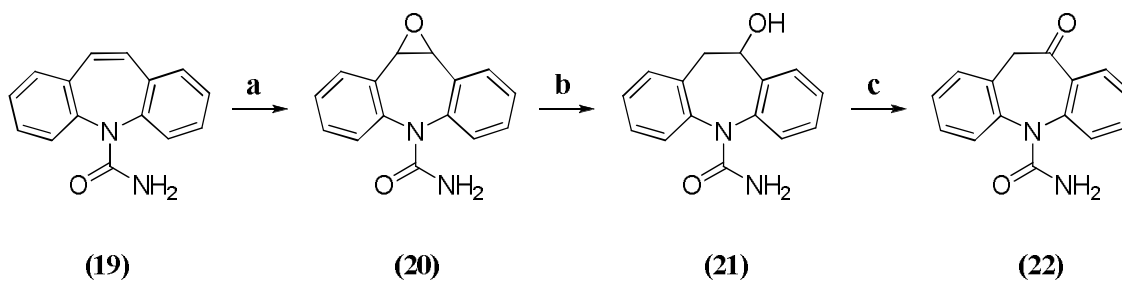


Schema 5.

## Conclusioni

---

La possibilità di sintetizzare **(18)** direttamente in MR offre il vantaggio di minimizzare il contatto diretto dell'operatore con un composto potenzialmente pericoloso e allo stesso tempo offre una via sintetica alternativa più sicura di quella attualmente in uso.



**Schema 6.**

Inoltre, il dispositivo microfluidico in PTFE si è rivelato efficiente anche nella sintesi di ECBZ (**20**), intermedio chiave nella sintesi dell'antiepilettico di prima scelta OXCZ (**22**) (Schema 6).

È attualmente in corso la preparazione di un articolo per la presentazione dei risultati ottenuti.

Ringrazio il Prof. Maggini per avermi dato la possibilità di lavorare nel suo gruppo di ricerca e per avermi costantemente seguito in questi anni con la sua competenza e la sua esperienza nel campo della ricerca scientifica.

Ringrazio *Fabbrica Italiana Sintetici* FIS S.p.a. per la borsa di studio che mi ha messo a disposizione. In particolare, un ringraziamento speciale al Dott. Andrea Castellin e alla Dott.sa Elena Brasola di FIS S.p.a. per i loro consigli scientifici e per la costante disponibilità.