

Ricerca e sviluppo del farmaco e aspetti regolatori



Scoperta dei farmaci



Tecniche e
strumentazioni
sintetiche innovative



Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Spazio chimico

Il numero di molecole che possono essere sintetizzate da combinazioni diverse di atomi di C, N, O e S è di 10^{63}

Nel 2011, il numero di molecole organiche ed inorganiche registrate da Chemical Abstract Service (**CAS**) ammontava a 6×10^7

Di conseguenza il numero di molecole riportate fino ad oggi rappresenta solo una piccola parte rispetto all'enorme numero di molecole sintetizzabili.

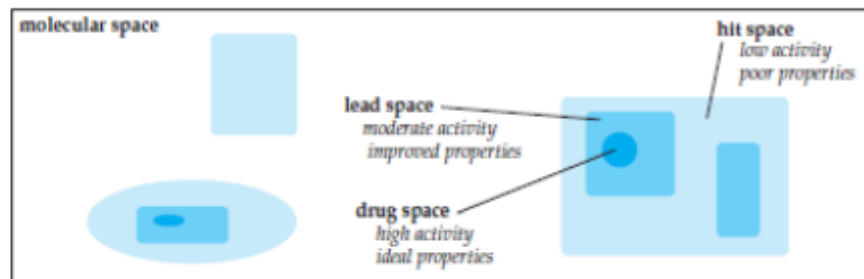
Tuttavia solo una parte di esse potrà essere attiva nei confronti di un dato target ed avere le caratteristiche di un farmaco.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Spazio molecolare

Considerando un dato target, è possibile definire uno **spazio molecolare** che include:

- Composti non attivi;
- Composti con modesta attività (hit);
- Composti con buone proprietà (lead);
- Farmaci.



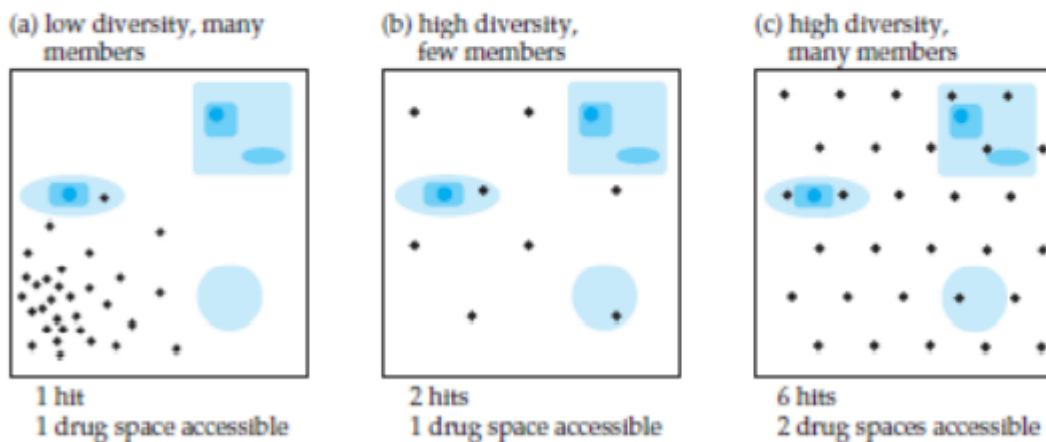
Si noti che la maggior parte dello spazio molecolare è di fatto una *dead zone* che caratterizza le molecole inattive (in bianco).

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Spazio molecolare

L'obiettivo di uno screening è quello di trovare il maggior numero possibile di composti inclusi nello spazio degli hit, lead o, idealmente, farmaci.

A tale scopo è importante disporre di un'ampia library di composti caratterizzati da notevole **diversità strutturale**.



Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Spazio molecolare

Allo stesso tempo, individuato un hit/lead nei confronti di un dato target, è importante esplorare le relazioni struttura-attività (**SAR**) a carico dello scaffold di interesse.

Date le premesse, nella chimica farmaceutica è di fondamentale importanza attuare **tecniche innovative** ed utilizzare **strumenti sintetici avanzati** tali da consentire l'esplorazione dell'**intorno chimico**.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Aspetti critici da considerare durante la sintesi

- Buone rese;
- Tempi di reazione ridotti;
- Facilità di work-up e purificazione;
- Ottenimento di ampie library;
- Sicurezza dell'operatore;
- Utilizzo di solventi eco-friendly.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Combichem

La chimica combinatoriale o **combichem** è una tecnica sintetica finalizzata ad ottenere un **gran numero** di molecole a partire da un numero relativamente piccolo di composti di partenza (building blocks). E' dunque molto utile nella preparazione di una ampia library di composti.



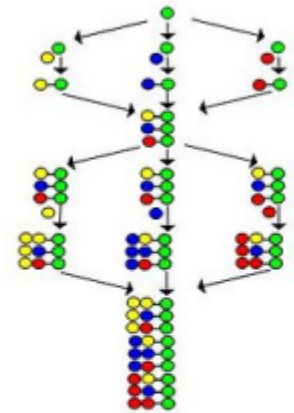
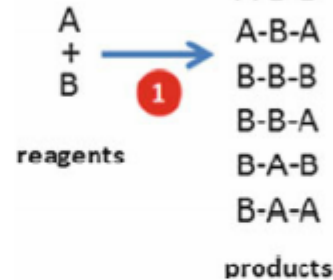
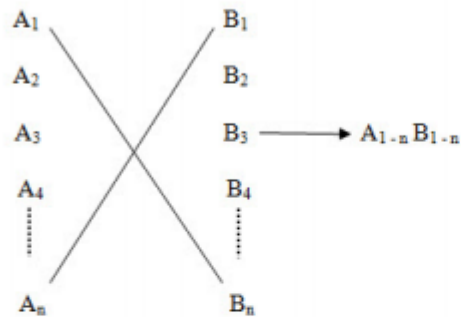
Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Combichem



VS.

CLASSICAL SYNTHESIS

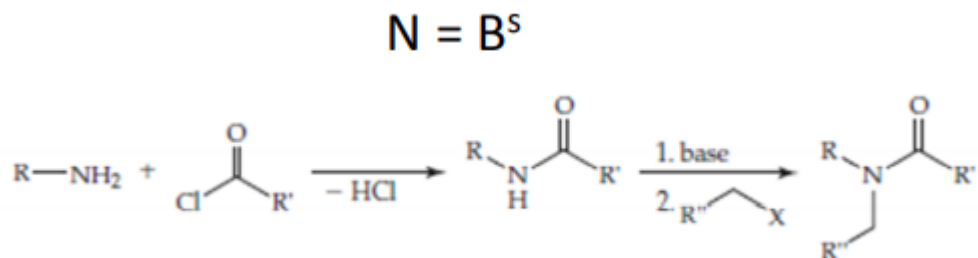


Rispetto alla sintesi tradizionale, introducendo variabili (diversi building blocks) in uno o più step sintetici è possibile ottenere un elevato numero di molecole attraverso un'unica sintesi.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Combinchem

Se in ogni passaggio viene utilizzato un ugual numero di reagente B e s è il numero di reazioni (numero di volte in cui vengono utilizzati) si avranno N prodotti



Sintesi di una ammido terziaria mediante acilazione di ammina primaria e successiva N-alchilazione. Ci sono tre variabili (R , R' , R''). Utilizzando 5 building blocks diversi per ogni gruppo è possibile preparare una piccola library di 125 (5^3) ammidi terziarie.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Sintesi in parallelo (I)

E' una tipologia di combichem in cui varie sintesi vengono condotte contemporaneamente in parallelo; ogni composto è sintetizzato nel proprio reattore in miniatura (es tubo, vial) o pozzetto (un composto-un pozzetto).

Per poter gestire un gran numero di reazioni, spesso tali sistemi sono automatizzati; un braccio robotico, che si muove gestendo il contenuto di diversi rack, dispensa soluzioni di reagenti o solventi in pozzetti predefiniti e in accordo con i comandi dettati dal computer.

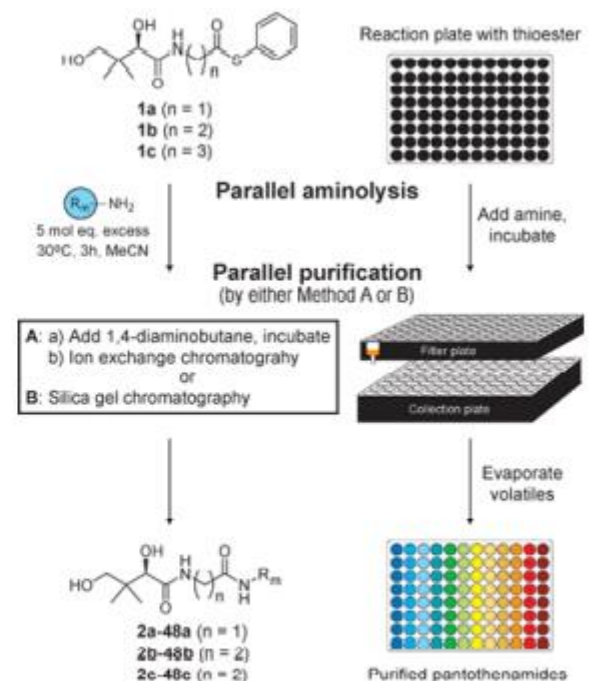


Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

- Sintesi in parallelo

Ogni rack contenente i tubi può operare a temperature diverse o essere adatto per reazioni in atmosfera inerte.

Il braccio robotico può anche essere programmato per operare il successivo work-up (es rimozione del liquido, filtrazione) o essere collegato a strumenti di purificazione opportuni.

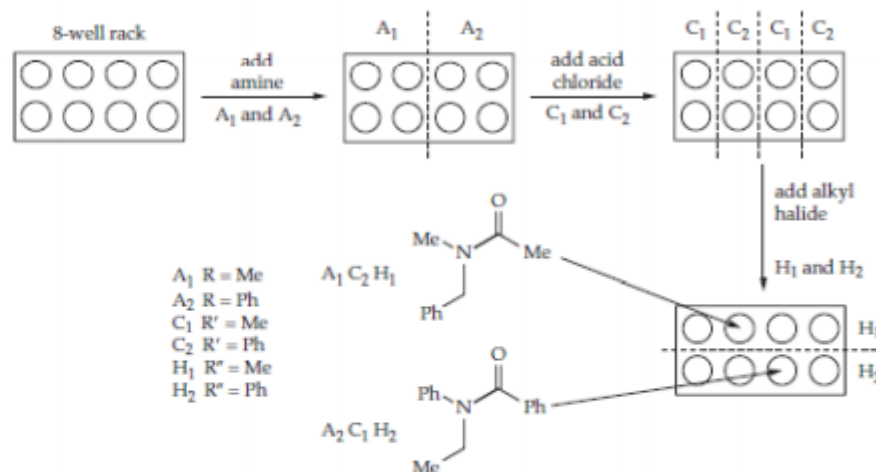


Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

- Sintesi in parallelo

Alla fine della sintesi è nota l'esatta posizione ed il contenuto di ogni pozzetto, poiché definito tramite i comandi che il computer trasmette al braccio robotico.

Le reazioni possono essere condotte in **fase liquida** o in **fase solida**.



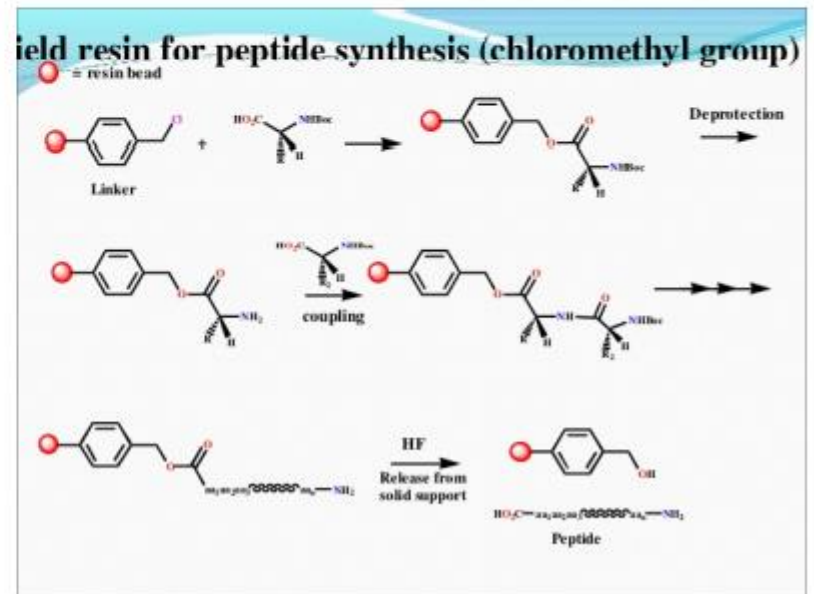
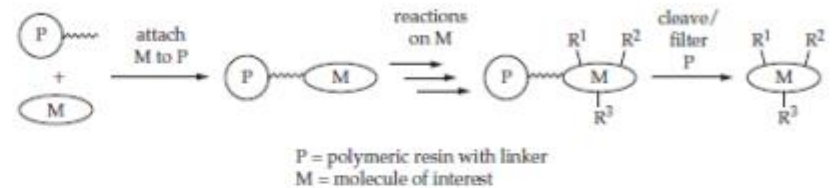
Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Reazioni in fase solida (I)

Nelle reazioni in fase solida, il reagente di interesse è ancorato ad una **resina** polimerica tramite reazione chimica con i suoi gruppi funzionali.

E' molto impiegata nella sintesi peptidica (es sintesi di Merrifield).

Dopo le successive reazioni, la molecola neo-sintetizzata viene liberata dal polimero mediante reazione chimica; la resina viene recuperata per filtrazione.



Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Reazioni assistite da microonde

Negli ultimi anni, la chimica delle microonde ha destato un crescente interesse, come evidenziato dalle pubblicazioni scientifiche prodotte.

Reazioni assistite da microonde presentano notevoli **vantaggi** in termini di:

- **tempi** (estremamente ridotti se comparati a quelli tipici delle reazioni convenzionali in batch);
- Miglioramento delle **rese**;
- Maggiore **sicurezza** dell'operatore;
- Promozione di reazioni impraticabili in condizioni classiche;
- Consentono di espandere la creatività scientifica, valutare nuove teorie e meccanismi di reazione, sviluppare nuovi processi.

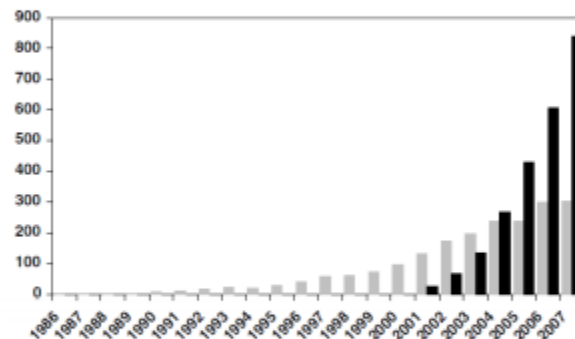
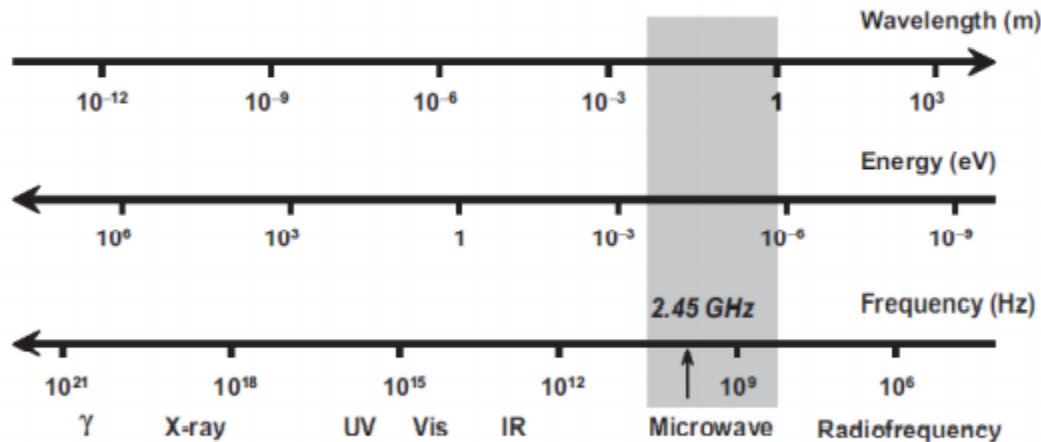


Figure 1.1 Publications on microwave-assisted organic synthesis (1986–2007). Gray bars: Number of articles involving MAOS for seven selected synthetic organic chemistry journals (*J. Org. Chem.*, *Org. Lett.*, *Tetrahedron*, *Tetrahedron Lett.*, *Synth. Commun.*, *Synthesis*, *Synlett*). Black bars: Number of publications (2001–2007) reporting MAOS experiments in dedicated reactors with adequate process control (about 50 journals, full text search: microwave). Only those articles dealing with synthetic organic chemistry were selected.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Microonde

Le microonde sono radiazioni elettromagnetiche con elevata lunghezza d'onda compresa tra quella del campo dell'infrarosso e quella delle radiofrequenze (cm-m).



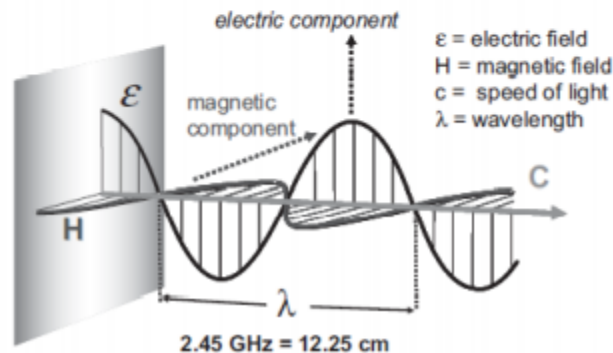
Di conseguenza, la bassa energia ad esse associata (0.037 kcal/mol) non è in grado né di indurre la rottura di legami chimici né transizioni elettroniche, bensì influenzano la rotazione molecolare.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Effetto dielettrico da microonde (I)

La chimica assistita da microonde si basa su tale effetto legato alla capacità di alcuni materiali (solventi, reagenti) di interagire con le microonde e produrre calore.

La componente elettrica delle microonde è quella che principalmente interagisce con i materiali ed è responsabile del riscaldamento.



Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Strumento

Il reattore a microonde consiste di una cavità centrale nella quale è possibile allocare vial di diverso diametro ed in grado di essere sottoposte a pressione diversa (atmosferica o superiore).

Nel caso di reazioni condotte a pressione atmosferica, è possibile alloggiare al suo interno palloni di reazione e relativi equipaggiamenti accessori (refrigerante ecc).

E' possibile impostare i vari parametri dal display sito sullo strumento o tramite computer collegato.



Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Condizioni di reazione

Le reazioni al microonde possono essere condotte in condizioni **open vessel** o in condizione sealed/closed vessel.

Nel primo caso, la reazione è condotta a pressione atmosferica (ad esempio inserendo un pallone da reazione all'interno della cavità del microonde). La reazione potrà beneficiare dell'effetto delle microonde ma potrà essere condotta a temperature simili a quelle raggiungibili in reazioni in batch (\approx punto di ebollizione del solvente)



Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Closed vessel

Al contrario, le reazioni **closed vessel** possono essere condotte anche a temperature superiori rispetto al punto di ebollizione del solvente o dei reagenti impiegati a causa dell'effetto **superheating** (effetto metastabile, quindi è bene far raffreddare la vial prima dell'estrazione dal reattore!). Inoltre, se alcuni componenti inizieranno a bollire essi rimarranno all'interno del sistema (chiuso) contribuendo all'aumento di pressione all'interno della vial fino al valore limite stabilito dall'operatore.

Solvent	$\tan \delta$	b.p. (°C)	Temp. @ 20 bar
Ethylene glycol	1.350	197	314
Ethanol	0.941	78	181
DMSO	0.825	189	
2-Propanol	0.799	82	187
Formic acid	0.722	101	230
Methanol	0.659	64	166
Nitrobenzene	0.589	210	397
1-Butanol	0.571	118	231
2-Butanol	0.447	99	210
1,2-Dichlorobenzene	0.280	180	375
NMP	0.275	204	
Acetic acid	0.174	118	249
DMF	0.161	154	323
1,2-Dichloroethane	0.127	84	221
Water	0.123	100	213
Chlorobenzene	0.101	132	294
Chloroform	0.091	61	193
Acetonitrile	0.062	81	214
Ethyl acetate	0.059	77	208
Acetone	0.054	56	180
THF	0.047	65	200
Dichloromethane	0.042	40	163
Toluene	0.040	111	263

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Sicurezza

Il reattore a microonde consente di condurre reazioni chimiche in sicurezza.

Reazioni potenzialmente esplosive o che in condizioni closed vessel determinano fenomeni di sovrappressione rimangono isolate all'interno della cavità: se lo strumento rileva eccessiva temperatura o pressione si blocca automaticamente e non libera la vial finché tali parametri non si sono stabilizzati.

Inoltre, al termine di ogni reazione, lo strumento esegue una fase di cooling per raffreddare il contenuto della vial e ridurre il rischio dell'operatore; la vial verrà rilasciata solo a temperature $< 50^{\circ}\text{C}$.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

- **Flow chemistry**

La flow chemistry rappresenta un approccio sintetico innovativo che si differenzia sia dalle reazioni convenzionali in batch sia da quelle assistite da microonde.

Analogamente al microonde, essa nasce per garantire l'omogeneità dei parametri di reazione (non solo riscaldamento, come nel caso del microonde) e ottimizzare il processo di scale-up



Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

- **Flow chemistry**

Nella flow chemistry, reagenti e solventi non vengono immessi né premiscelati in un'unica sede/via (vial, pallone), bensì essi vengono addizionati separatamente e sottoposti ad un flusso continuo. I reagenti sono dunque inseriti nel reattore in maniera indipendente e sottoposti a flussi (arbitrariamente) diversi: ciò consente di applicare differenti condizioni di reazione (es temperatura, pressione, flusso) ed in modo indipendente alle linee di reagenti.

Solo dopo un certo percorso, le due (o più) linee di reagenti convogliano in un unico canale dove avverrà la reazione.

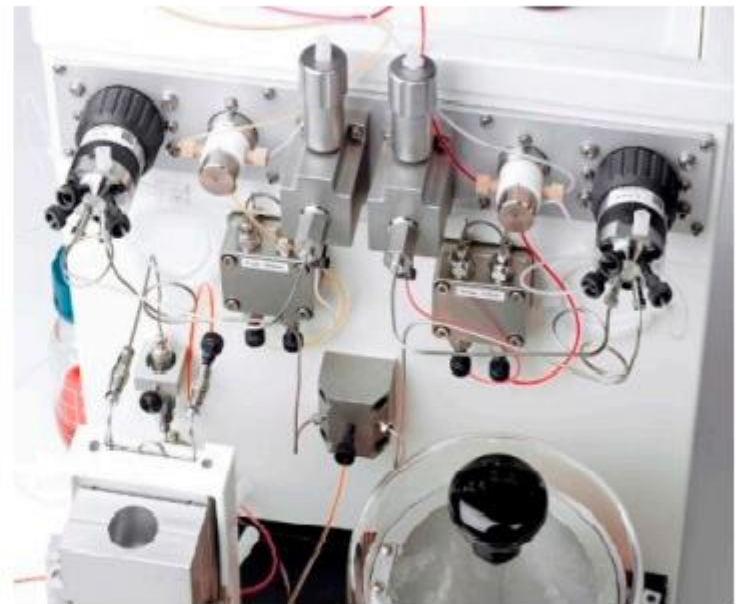


Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

- **Flow chemistry**

I reagenti vengono flussati attraverso canali di piccolo diametro con elevato sviluppo superficiale, in modo da garantire omogeneità dei parametri di reazione in tutte le vie del reattore, trasmettendo in modo omogeneo i parametri settati al contenuto dei canali. Inoltre, viene garantito una miscelazione omogenea nel punto di raccordo delle linee del reattore.

La scelta dei canali da utilizzare dipende dal volume di reagenti che si vuole utilizzare nonché dal flusso scelto.



Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

- **Flow chemistry**

Fattori quali:

- flusso continuo delle specie reagenti indotto dallo strumento;
- elevato sviluppo superficiale dei canali di reazione;

Contribuiscono a:

- rendere i parametri di reazione omogenei nello strumento;
- ridurre i tempi di reazione;
- aumentare la probabilità di incontro delle specie reagenti e dunque la formazione del prodotto e la resa della reazione.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

- **Flow chemistry**

Permette di controllare con precisione parametri quali:

- Temperatura;
- Pressione;
- Velocità di flusso;
- Tempo di reazione;
- Stechiometria della reazione;
- Tempo di raccolta;
- Rapporto tra i volumi delle specie reagenti

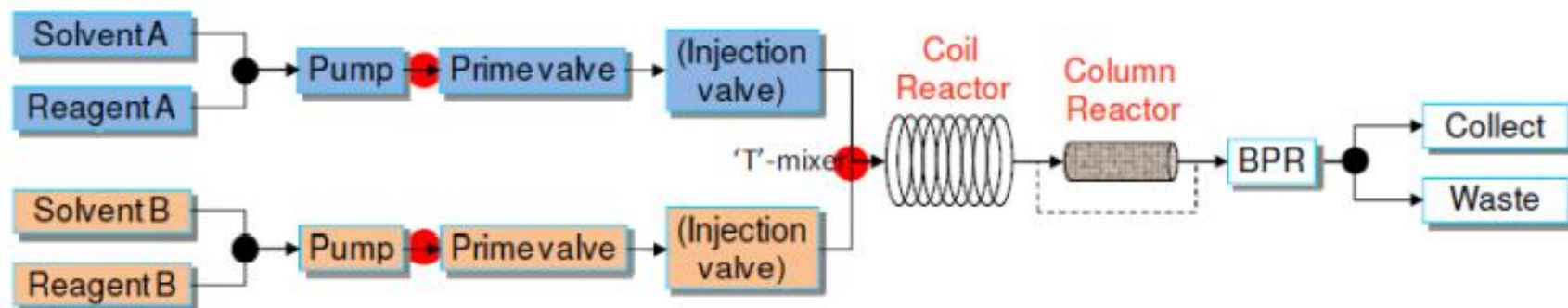


Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

- **Flow chemistry**

Miscelatore,
dove avviene
l'incontro tra
il flusso delle
sostanze

BPR : back pressure regulator,
una valvola di non ritorno che
consente il mantenimento della
pressione del sistema. La scelta
si basa sulla pressione impiegata.



Un sistema di **pompe da HPLC** (almeno due), con pressione regolabile fino a 1000 psi, genera il flusso delle sostanze chimiche, promuovendone l'incontro nel reattore

Reattore: una volta convogliati i flussi dei reagenti, il liquido che emerge dal miscelatore entra nel reattore dove avviene l'intimo contatto tra i flussi che promuove la reazione. Può essere una bobina riscaldante o una colonna

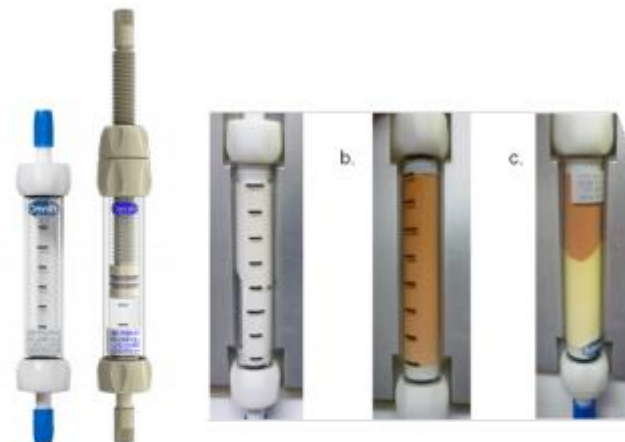
Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

- **Flow chemistry**



Bobina riscaldante:

Ne esistono di varie dimensioni e volume; la scelta si basa sul volume totale di liquidi impiegati. Si utilizza per reazioni omogenee che richiedono riscaldamento, possibilità di riscaldamento fino a 260 °C



Colonna di vetro:

Si utilizza per reazioni eterogenee; è possibile riempirla con diversi materiali (es catalizzatori insolubili, resine); il contatto più o meno prolungato con tali materiali (a seconda del flusso impostato) favorisce la reazione o, in alternativa, il work-up.

Tecniche e strumentazioni sintetiche innovative.

Moduli accessori del Flow reactor



Un reattore a freddo, in grado di condurre reazioni fino a -70 C o comunque garantire un controllo rigoroso della temperatura nel caso di reazioni fortemente esotermiche.