



# NUOVE TECNOLOGIE PER LA SINTESI DI API

L'INNOVAZIONE È LA MIGLIORE DIFESA CHE LE AZIENDE OCCIDENTALI POSSONO METTERE IN ATTO NEI CONFRONTI DELLA CONCORRENZA IN GENERALE E DI QUELLA ASIATICA IN PARTICOLARE.

RIDUZIONE DELL'ENERGIA UTILIZZATA, AUMENTO DELLA QUALITÀ, OTTIMIZZAZIONE DI DIMENSIONE DEL BATCH E DURATA DEL CICLO, UTILIZZO DI CONDIZIONI DI REAZIONE PIÙ MITI ED ECO-COMPATIBILI, REATTIVI MENO INQUINANTI E RIDUZIONE DEGLI SCARTI SONO IMPORTANTI OBIETTIVI CHE LE AZIENDE PRODUTTRICI DI PRINCIPI ATTIVI FARMACEUTICI (API) CERCANO DI PERSEGUIRE E RAGGIUNGERE. FIS FABBRICA ITALIANA SINTETICI HA INDIVIDUATO IN STUDIO ED IMPLEMENTAZIONE DEI MICROREATTORI IN FLUSSO E NELLA BIOCATALISI DUE SETTORI DI INNOVAZIONE STRATEGICI PER RAGGIUNGERE GLI OBIETTIVI SOPRAELENCATI. LA SINTESI BIOCATALIZZATA DI TESTOSTERONE ED UN EXCURSUS SULLE POTENZIALITÀ DEI MICROREATTORI SONO QUI PRESENTATE E DISCUSSE

La produzione di principi attivi farmaceutici (API) è un settore tecnologico di punta che richiede forte spinta innovativa, oltre che l'implementazione di nuove tecnologie che permettano un vantaggio competitivo sul mercato internazionale. Per le aziende europee ed italiane in particolare, lo sviluppo tecnologico legato alla qualità delle produzioni è una competenza chiave per sopravvivere nella moderna economia globale. Per reggere la concorrenza asiatica, forte del costo ridotto di materie prime e manodopera, l'industria chimica occidentale deve contare sull'innovazione tecnologica per realizzare processi produttivi caratterizzati dagli elevati standard di qualità richiesti dalle Agenzie regolatorie internazionali, mantenendo al contempo costi contenuti nonché un occhio di riguardo verso aspetti chiave quali efficienza energetica, sostenibilità ambientale e responsabilità sociale.

La competitività in un settore complesso come la produzione di intermedi e principi attivi per l'industria farmaceutica, si misura sulla scala commerciale di applicazione del processo di fabbricazione, ma si genera con un'intensa attività di ricerca. I processi devono portare a:

- contenere i costi di produzione;
- aumentare continuamente qualità e purezza del prodotto finale;



- semplificare la sintesi;
  - innovare;
  - dare luogo ad una chimica più sostenibile.
- Abbassare i costi di produzione non significa solo usare materie prime meno costose. Una buona economia di processo globale può essere raggiunta utilizzando meno energia, riducendo i passaggi di sintesi, evitando materie prime pericolose, producendo minori quantità di rifiuti o, almeno, rifiuti meno pericolosi, ottimizzando la dimensione del lotto e così via. Per esempio un processo biocatalitico funziona in

condizioni meno drastiche di un processo con catalisi convenzionale e consente l'impiego di mezzi di reazione acquosi. Analogamente un processo in flusso che utilizzi un microreattore risulta molto più sicuro anche se le condizioni di reazione sono 'estreme'.

Migliorare la purezza finale significa cercare di abbassare il numero e la quantità di scorie prodotte durante il processo, un punto di grande importanza nell'ottica della sostenibilità. Tale importanza è esemplificata dal fatto che quando i chimici hanno iniziato a

discutere il concetto di chimica verde, il primo parametro quantitativo usato per valutare la 'greenishness' di un processo è stato il "fattore E" introdotto da R. Sheldon [1, 2], cioè il rapporto tra chilogrammi di rifiuti prodotti e chilogrammi di prodotto ottenuto. Ottenere un prodotto grezzo con alta purezza permette un isolamento più semplice riducendo il numero delle purificazioni, permette di ridurre la quantità di solventi coinvolti, permette rese più elevate, portando complessivamente ad una riduzione dei reflui e ad una maggiore produttività o, se vogliamo usare una frase diversa, ad un miglior rapporto spazio/tempo/resa. La biocatalisi è intrinsecamente un metodo con maggiore chemoselettività, quindi con minore diversificazione di prodotti di reazione e maggiore resa nel prodotto desiderato. La microfluidica permette di esporre reagenti e prodotti alle condizioni di reazione per tempi ridotti, aumentando resa e qualità del prodotto finale.

### Biocatalisi

L'impiego quanto più esteso possibile della catalisi può essere una delle soluzioni al rispetto dei cinque obiettivi sopraccitati.

Una reazione catalizzata è generalmente più specifica ed ha bisogno di meno energia per avvenire. La complessità di un progetto sintetico richiede, di conseguenza, anche un'ampia disponibilità di differenti tipi di catalizzatori e la maggiore sorgente di questi ultimi è sicuramente il corredo enzimatico cellulare rinvenibile in Natura. Gli enzimi sono proteine che catalizzano tutte le reazioni che si verificano nelle cellule. Gli enzimi poi - aspetto fondamentale per un'applicazione industriale - mantengono la loro attività catalitica anche quando sono isolati. Questo è tuttavia vero solo se operiamo in un 'ambiente di reazione' che non sia denaturante.

Vari approcci possono essere usati per aumentare la stabilità di un enzima a determinate condizioni di reazione. Uno dei più utili è forse l'immobilizzazione. L'uso di enzimi immobilizzati presenta molti vantaggi soprattutto per le applicazioni industriali: maggiore stabilità, come già accennato, e la possibilità di recuperare e riutilizzare il catalizzatore sono probabilmente i più importanti [3].

La catalisi enzimatica non può certamente risolvere ogni problema sintetico. Quando si progetta una nuova via di sintesi per ottenere un API od un suo intermedio, gli enzimi pos-

sono essere particolarmente utili specialmente per ottenere enantiomeri (o diastereomeri) puri o per eseguire reazioni su specifici gruppi funzionali di molecole complesse senza necessità di proteggere/deproteggere altri gruppi funzionali presenti.

Un esempio di applicazione della biocatalisi sviluppato in FIS è relativo alla sintesi del testosterone.

Il testosterone, come farmaco, è utilizzato per differenti trattamenti quali il mancato sviluppo nella pubertà, l'ipogonadismo secondario a malattia ipofisaria o testicolare.

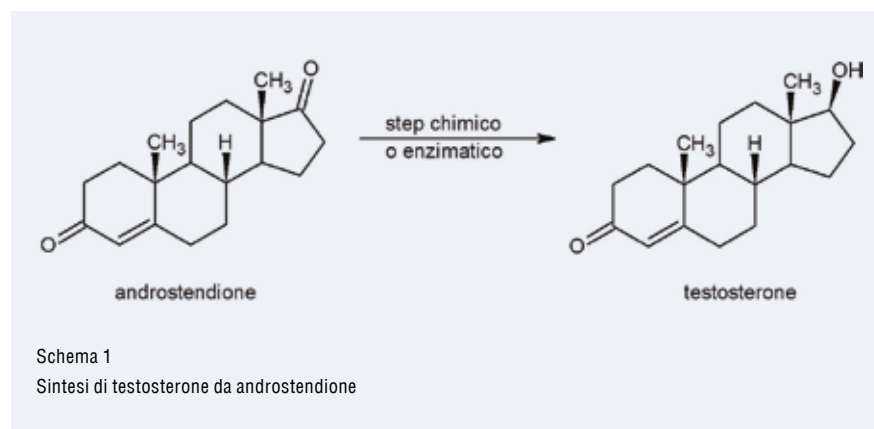
La trasformazione dell'economico androstendione (AD) in testosterone (TS), ad alto valore aggiunto, consta di una riduzione del carbonile in posizione 17 a dare la relativa forma  $\beta$ -idrossilata (Schema 1).

Industrialmente la sintesi chimica convenzionale richiede quattro passaggi chimici. Dal momento che un secondo carbonile, quello in posizione 3, può essere ridotto a dare il relativo idrossile, la reazione deve essere sia stereoselettiva che regioselettiva. La complessità della trasformazione chimica deriva proprio dalla necessità di proteggere, ridurre selettivamente e deproteggere i gruppi carbonilici della molecola.

presentano composti naturali, diffusi soprattutto in organismi evoluti, dove svolgono principalmente un'attività di segnalazione ormonale. Esiste in natura una categoria enzimatica, quella delle  $17\beta$ -hydrosteroid dehydrogenases ( $17\beta$ HSD) (E.C. 1.1.1.51), che catalizza la riduzione del gruppo carbonilico in posizione 17 nei sistemi steroidei. Trattandosi di una riduzione, l'enzima necessita di un co-fattore che per questa categoria enzimatica è rappresentato da NADH o NADPH. Mediante uno studio bibliografico [4] è stato individuato nella  $17$  HSD di tipo 5 murina un valido candidato per la sintesi stereo e regio selettiva del testosterone dall'androstendione in un contesto industriale, essendo l'enzima già stato in parte caratterizzato.

L'enzima identificato è stato prodotto in via ricombinante in *E. coli* sia in forma nativa (NT) che modificata per aggiunta di una coda di istidine (HT) che ne facilita la purificazione. Entrambe le forme dell'enzima (nativa ed HT) sono state isolate e purificate con metodi standard.

Dopo una preliminare fase di studio dell'espressione enzimatica, che ha permesso di



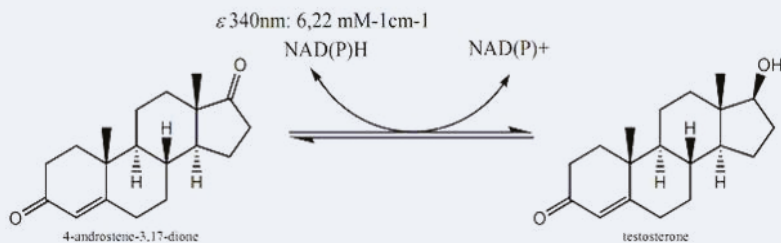
tivamente e deproteggere i gruppi carbonilici della molecola.

L'idea di partenza di questo studio è stata quella di eseguire la trasformazione per via biocatalitica in un unico passaggio stereo- e regio-selettivo. La reazione risulta tra quelle che possono essere effettuate mediante l'impiego di una chetoreduktasi che, come appena accennato, dovrebbe però essere in grado di ridurre con una particolare stereo-selettività ( $\beta$  e non  $\alpha$ ) e regioselettività (carbonile in 17 anziché in 3).

Sia il testosterone che l'androstendione rap-

individuare le condizioni ideali di induzione e di verificare l'effettiva espressione degli enzimi, si è passati a valutare l'attività degli enzimi prodotti in forma ricombinante.

La riduzione di androstendione in testosterone da parte dell'enzima  $17\beta$ HSD5 implica, come precedentemente introdotto, l'utilizzo del cofattore in forma ridotta: NADPH (Schema 2). Un semplice test per osservare se l'enzima ricombinante è stato espresso in forma attiva è rappresentato da un'analisi spettrofotometrica a 340 nm, in funzione del tempo, di una soluzione acquosa contenente



Schema 2

Trasformazione catalizzata dalla 17 $\beta$ HSD5 murina

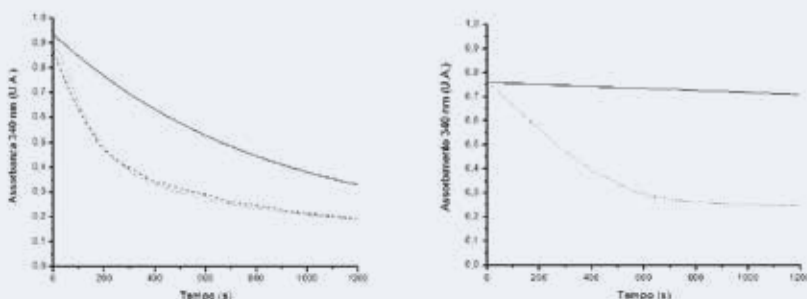


Fig. 1

Studio cinetico della riduzione dell'AD dopo l'aggiunta dell'enzima 17 $\beta$ HSD5. A destra, assorbimento a 340 nm, in funzione del tempo, di una soluzione satura di AD in presenza di NADPH 0,2 mM dopo l'aggiunta della frazione solubilizzata di cellule *E. coli* BL21 contenenti il plasmide vuoto come controllo negativo (—), la frazione solubilizzata di cellule esprimenti la 17 $\beta$ HSD5 in forma nativa (....) o in forma HT (---). A destra, studio effettuato utilizzando una soluzione analoga senza (—) o con l'aggiunta della frazione purificata mediante IMAC dell'enzima in forma HT (....)

NADPH e androstendione, a cui viene aggiunto l'enzima. Se l'enzima è attivo, cioè in grado di catalizzare la riduzione dell'androstendione in testosterone, dovrà essere in grado di ossidare il NADPH in NADP+, che, a differenza della forma ridotta, non assorbe a 340 nm. La catalisi determina dunque il consumo del NADPH e di conseguenza la riduzione del livello di assorbimento a 340 nm.

Ora, dopo l'induzione della coltura di *E. coli* alle condizioni ottimali individuate, la fase iniziale di purificazione dell'enzima, in entrambe le forme, consiste nella separazione delle proteine solubili da quelle insolubili mediante rottura cellulare e successiva centrifugazione. Questa frazione, parzialmente purificata dalle proteine insolubili e di membrana nonché delle componenti lipidiche e delle pareti cellulari, è stata utilizzata per eseguire l'analisi spettrofotometrica appena descritta, al fine di osservare il consumo di NADPH in presenza del substrato androstendione (Fig. 1).

L'analisi ha dimostrato chiaramente che entrambe le forme enzimatiche, nativa (NT) e con coda di istidine (HT), sono espresse in forma attiva. Quello che appare dal confronto tra gli estratti contenenti l'enzima 17 $\beta$ HSD5 NT o HT e il controllo negativo, è rappresentato da un più rapido consumo del cofattore in presenza degli enzimi ricombinanti, che procedono con velocità tra loro analoghe. Tuttavia il consistente consumo di cofattore da parte del controllo negativo, ci ha portati ad isolare l'enzima 17 $\beta$ HSD5, in particolare la sua forma HT facilmente purificabile. Questo al fine di valutare la reale velocità di consumo di cofattore determinata solo dall'enzima, e quindi la sua velocità di sintesi del TS. L'enzima in forma HT è stato purificato mediante una cromatografia per affinità ed analizzato su gel di poliaccrilammide. L'analisi spettrofotometrica ha successivamente permesso di valutare il consumo di cofattore determinato solo dall'enzima in forma purificata (Fig. 1).

L'analisi spettrofotometrica del consumo del cofattore rappresenta un sistema veloce per valutare le caratteristiche cinetiche dell'enzima, tuttavia non fornisce alcuna informazione riguardo la sua regio- e stereo-selettività nella riduzione dell'AD. Per chiarire, dunque, questo punto è stata condotta un'analisi HPLC. In particolare, è stata misurata l'assorbanza nel tempo di una miscela contenente NADPH, AD ed enzima 17 $\beta$ HSD5 HT a 249 nm, lunghezza d'onda alla quale assorbono sia il substrato AD e il prodotto TS. Il risultato ottenuto ha evidenziato come l'AD venga effettivamente convertito solo in TS: nessun'altra specie è stata osservata formarsi parallelamente al TS, dimostrando l'assoluta stereo- e regio-selettività della catalisi (Fig. 2).

È poi stata eseguita una serie di analisi sull'enzima purificato.

È stata osservata la capacità dell'enzima di catalizzare la conversione dell'AD in TS sia utilizzando il cofattore ridotto in forma di NADPH che in forma di NADH. Da un altro studio condotto si è potuto constatare come l'emivita dell'enzima sia superiore ai 15 giorni in acqua a temperatura ambiente, dimostrando una notevole stabilità.

La principale difficoltà riscontrata durante questi esperimenti preliminari è stata la scarsa solubilità sia del substrato AD che del prodotto TS in soluzione acquosa.

Dati di letteratura riportano una solubilità in acqua di entrambe le specie uguale o inferiore a 0,1 mM. Concentrazioni così basse rendono

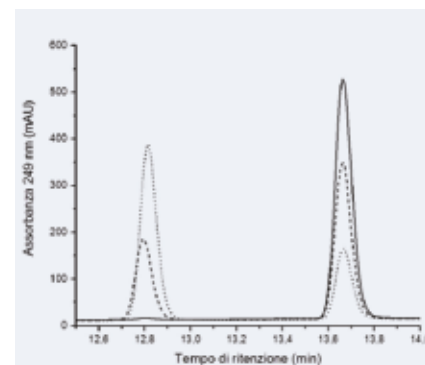


Fig. 2

Analisi HPLC al tempo 0 (—), 30 min. (----) e 60 min. (....), condotta su una soluzione satura di AD, 10 mM NADPH a cui è stato aggiunto l'enzima 17 HSD5 HT. Il tempo di ritenzione dell'AD è di ~13,65 min. mentre quello del TS di 12,8 min.

improponibile il processo enzimatico immaginando di lavorare in solvente acquoso con substrato e prodotto completamente sciolti. Per ovviare a questo problema è stata considerata la possibilità di lavorare in soluzioni acquose contenenti delle frazioni di solvente organico, in modo da aumentare la solubilità del substrato e del prodotto. Metanolo, etanolo, isopropanolo e DMSO sono solventi in cui AD e TS sono solubili. È stata dunque studiata la capacità dell'enzima, a parità di condizioni, di lavorare con concentrazioni crescenti di solvente organico. In tutti i casi i risultati hanno mostrato un rallentamento della velocità della reazione direttamente dipendente dalla frazione organica del solvente. Tuttavia questo decremento, molto sensibile nel caso dell'etanolo, appare più contenuto usando metanolo. Impiegando tale alcol come co-solvente l'enzima sembra poter catalizzare la reazione anche a concentrazioni di alcol in acqua superiori al 20% v/v.

È stata quindi messa a punto una metodica per la conversione di alcuni milligrammi di AD utilizzando un sistema a due enzimi che consenta di rigenerare "in loco" il cofattore. Infatti il costo proibitivo di quest'ultimo ne impedisce l'utilizzo equimolare nella sintesi. A tal fine è stato utilizzato un sistema di rigenerazione del cofattore in forma ridotta, basato sulla contemporanea ossidazione di glucosio da parte di una glucosio deidrogenasi (GDH). Varie prove sono state dunque condotte in soluzione acquosa con D-glucosio, AD, glucosio deidrogenasi commerciale, 17 $\beta$ HSD5 purificata, cofattore NADP<sup>+</sup> o NAD<sup>+</sup>. Ed a percentuali variabili di solvente organico. Le miscele, mantenute a temperatura e pH costante, sono state mescolate vorticosamente fino all'ottenimento di un livello sufficiente di conversione monitorato mediante analisi HPLC. I risultati ottenuti, dimostrano che, con diversi livelli di conversione, il sistema utilizzato è effettivamente in grado di generare il TS. Le condizioni migliori si sono ottenute utilizzando alcoli semplici e il cofattore in forma fosforilata.

I risultati ottenuti sono stati brevettati [5]. La diluizione del processo a questo livello (30 L per 1 g di testosterone) era tuttavia tale da non permettere un'applicazione industriale. Vari tentativi di eseguire la reazione in presenza di reagente (AD) indisciolti hanno portato ad una veloce deattivazione dell'enzima. L'aggiunta di un tensioattivo non ionico

(Triton X-100), associato alla presenza di metanolo co-solvente (già citato) ha permesso di stabilizzare l'enzima e di rendere le quantità di solvente necessario (30 ml per 1 g di TS) compatibili con i requisiti di scalaggio industriale. La modifica è stata brevettata [6] ed il processo ottimizzato mediante studio DoE (Design of Experiment) per la determinazione degli intervalli operativi critici di processo e dei parametri chiave.

La sintesi biocatalizzata di testosterone è ora applicata a livello industriale su scala superiore ai 100 kg di AD di partenza.

### Microreattori

La tecnologia dei reattori a flusso continuo milli- e micro-strutturati si è sviluppata negli ultimi decenni. Consiste nell'impiego di reattori le cui dimensioni di diametro caratteristiche variano da pochi micrometri ad alcuni millimetri e che operano in modo continuo. L'associazione tra produzioni in continuo e maggiore riproducibilità e robustezza dei processi, elevata automazione e minori costi operativi è ben nota nell'industria chimica, tuttavia la relativa complessità degli impianti ed i superiori costi di implementazione rendono tale approccio economicamente svantaggioso nella produzione di API, dove, a fronte dell'attenzione elevata alla qualità del prodotto, si associano volumi di lavorazione contenuti. Tuttavia la diminuzione estrema delle dimensioni dei reattori si è recentemente ri-proposta come una via per incrementare la convenienza dei processi in continuo ed adattare alle richieste delle produzioni farmaceutiche.

La miniaturizzazione dei sistemi produttivi in flusso si accompagna ad alcuni vantaggi peculiari. Grazie all'elevato rapporto superficie su volume e alle ridotte dimensioni, nei microreattori è possibile tipicamente ottenere alte velocità di trasferimento termico e di massa. Questo porta alla soppressione o per lo meno alla riduzione delle reazioni parassite dovute ai gradienti termici e diffusivi che si instaurano tipicamente nei grandi reattori operanti in *batch*: ne deriva che i processi di sintesi in microreattore sono potenzialmente caratterizzati da elevata riproducibilità, selettività di reazione e ridotto contenuto di impurezze.

L'efficacia del controllo termico unito ai volumi ridotti rendono possibile gestire in maggiore sicurezza reazioni veloci, fortemente esotermiche e potenzialmente fuggitive, che a livello di impianto produttivo devono essere

artificialmente rallentate e mantenute sotto stretto controllo. Per analoghe motivazioni inoltre, i microreattori si prestano bene all'investigazione di vie sintetiche innovative come all'implementazione di approcci sintetici che vengono tipicamente evitati su larga scala, per via della ridotta compatibilità con gli equipaggiamenti tradizionali. Per le stesse motivazioni, l'introduzione negli impianti chimici della tecnologia dei microreattori in continuo può rappresentare il mezzo ideale attraverso il quale trasportare nella pratica produttiva ulteriori tecnologie per l'intensificazione di processo, quali ad esempio riscaldamento con microonde, fotochimica e bioenzimatica. In termini di sviluppo di processo infine, l'impiego di microreattori opportunamente ingegnerizzati promette di abbreviare il *time to market* e ridurre i costi abolendo le incognite legate alle classiche procedure di scale up industriale [7].

L'impiego della tecnologia dei reattori micro strutturati a flusso continuo rappresenta, dunque, un approccio moderno alla produzione di API, caratterizzato da maggiore efficienza e sostenibilità rispetto alle tecniche tradizionali. Visto l'arco temporale di sviluppo relativamente breve, gli esempi di applicazioni industriali dei reattori in continuo sono tuttora limitati o scarsamente documentati. È evidente che, d'altro canto, tale tecnologia presenta tuttora alcune problematiche chiave che ne limitano in parte la diffusione, in particolare legate all'elevato costo iniziale dell'equipaggiamento, alla limitata disponibilità di manodopera addestrata e a limitazioni tecniche nella gestione di reattivi o prodotti solidi e precipitati. Grandi aziende come BASF, Bayer, DSM e Lonza hanno investigato l'applicazione di dispositivi microfluidici per la produzione industriale, aprendo la strada con i primi esempi di integrazione di microreattori in impianti preesistenti, per effettuare passaggi sintetici particolarmente difficili o che presentano rese ridotte utilizzando le tradizionali vie di sintesi.

FIS, in quanto media azienda italiana fortemente improntata all'innovazione, sta investendo risorse importanti nello sviluppo del *know how* e della tecnologia connessa ai microreattori per le produzioni chimiche. Di seguito sono riportati alcuni esempi della filosofia che FIS cerca di implementare nello sviluppo di tale tecnologia: da una parte la revisione di processi "storici" in cerca di oppor-





tunità per migliorare efficienza ed affidabilità, dall'altra lo screening dei nuovi progetti al fine di cogliere possibilità applicative già nelle fasi iniziali di sviluppo.

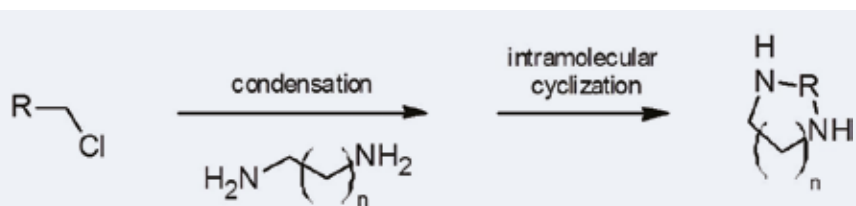
Una potenziale applicazione studiata nei laboratori di Montecchio ha riguardato un processo già eseguito negli impianti produttivi da diversi anni, che coinvolge uno step di condensazione tra un cloruro alchilico e un'ammina seguita da una ciclizzazione intramolecolare a cascata (Schema 3).

Il processo è caratterizzato da un'elevata esotermia nelle fasi di miscelamento dei reattivi, e successivamente fino al completamento della reazione. In impianto dunque, tale passaggio richiede condizioni criogeniche spinte e un prolungato tempo di dosaggio dei reattivi

al fine di gestire il considerevole *batch size*. Precedenti dati sperimentali evidenziavano, inoltre, una considerevole perdita di resa imputata alla stabilità limitata del prodotto nelle condizioni impiegate. Tali problematiche si adattano bene ad essere affrontate utilizzando la tecnologia dei reattori in continuo. La precipitazione del prodotto dall'ambiente di reazione, che avviene nel corso del processo, rappresenta tuttavia un problema per l'implementazione. Per i test iniziali è stato quindi scelto un reattore Miprowa<sup>®</sup>, costituito da canali a sezione rettangolare equipaggiati con inserti di tipo mixer statico e disposti in una configurazione a fascio tubiero (Fig. 3). Il design di tale reattore fornisce ottime capacità di scambio termico, oltre a facilitare le ope-

razioni di disassemblaggio e pulizia. Poiché i test iniziali hanno evidenziato l'incompatibilità della miscela di reazione, a cristallizzazione completa, con i sistemi microstrutturati, ci si è focalizzati sull'impiego del reattore continuo per controllare il picco di esotermia dovuto al miscelamento dei reattivi, completando poi la successiva reazione e l'isolamento del prodotto in un reattore discontinuo tradizionale. Un approccio statistico di tipo Design of Experiments (DoE) è stato impiegato per caratterizzare e ottimizzare i parametri di processo. Nelle condizioni ottimali, il reattore a flusso ha permesso di eseguire la fase di miscelamento con un tempo di permanenza nel reattore di circa 5 minuti, contro un tempo medio di dosaggio di 4 ore in impianto. Il ridotto *hold up* del sistema ha reso inoltre più agevole gestire l'esotermia di processo e il sistema risulta linearmente scalabile con facilità attraverso parallelizzazione, ovvero aumento del numero di reattori identici che lavorano in parallelo. Il sistema ha dimostrato inoltre, nelle condizioni ottimizzate, una discreta robustezza e tolleranza al particolato, lavorando per diverse ore senza problemi di precipitazione e bloccaggio (Fig. 4).

Il processo continuo così strutturato non ha portato tuttavia a un sostanziale incremento di resa, suggerendo di ricercare i fattori di instabilità del prodotto nella composizione della miscela stessa piuttosto che nella temperatura di reazione. Tale esperienza evidenzia alcuni aspetti chiave nello sviluppo di processi continui: la scelta del corretto equipaggiamento è fondamentale già a livello di sviluppo di laboratorio, ne deriva dunque la necessità nel disegno dei processi continui di un'esperienza multi-disciplinare di tipo chimico-ingegneristico; l'applicazione in continuo rappresenta inoltre un cambio di paradigma che permette spesso di acquisire nuova conoscenza su un processo dato per assodato. Un ulteriore ambito applicativo per i microreattori riguarda la gestione di reattivi caratterizzati da difficoltà di utilizzo su larga scala, quali ad esempio diazocomposti ed azidi, caratterizzati da pericolosità intrinseca dovuta ad instabilità termica e chimica. L'innegabile utilità sintetica di tali sintoni tuttavia richiede sempre più spesso un loro utilizzo su scala produttiva, ponendo l'attenzione alla sicurezza di tali processi. FIS sta dunque investigando l'utilizzo di microreattori per lo sviluppo di tali processi, con l'obiettivo di incrementarne



Schema 3  
Reazione sequenziale di condensazione e ciclizzazione testata in reattore continuo

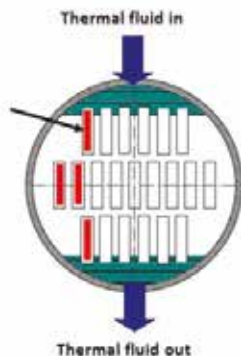
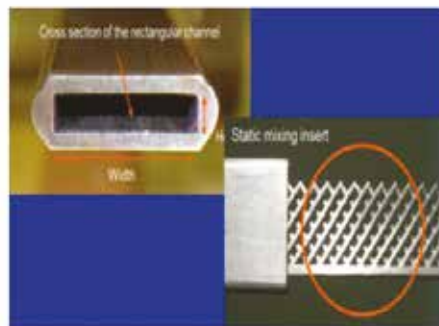
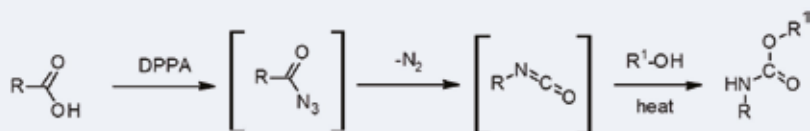


Fig. 3  
Reattore a flusso continuo Miprowa<sup>®</sup> (Ehrfeld) impiegato in FIS per testing di processi continui



Fig. 4  
Set up per il test di un processo continuo in condizioni criogeniche



Schema 4  
Reazione di riarrangiamento di Curtius, che coinvolge azidi ed un intermedio isocianato

la sicurezza intrinseca in vista di campagne produttive grazie al ridotto volume di hold up di reattivi o intermedi. In questo ambito rientra l'investigazione di una reazione di riarrangiamento di Curtius (Schema 4), la cui applicabilità in flusso continuo è stata dimostrata in laboratorio e di cui è attualmente in corso l'ottimizzazione.

Infine la sinergia tra chemoenzimatica e reattori a flusso continuo è un ulteriore potenziale campo di studio, al fine di integrare i benefici di entrambe queste tecniche innovative attenandone al contempo i rispettivi svantaggi.

### Conclusioni

Le tecnologie innovative, quali microreattori e biocatalisi, rappresentano uno strumento potenzialmente formidabile per le produzioni chimiche, e in particolare di intermedi farmaceutici, grazie all'elevata qualità del prodotto, riduzione dell'impatto ambienta-

le, contenimento dei costi, miglioramento dell'efficienza e della sicurezza dei processi produttivi, che sono fattori chiave nel determinare l'affidabilità di un produttore. Sebbene tali tecnologie presentino tuttora alcune criticità che ne limitano in parte l'efficacia, dimostrano altresì di avere ampio margine per un ulteriore sviluppo tecnico che ne espanda il campo di utilizzo. FIS, come impresa fortemente votata all'efficienza e all'innovazione, crede nelle potenzialità di sviluppo di queste tecnologie innovative, nonché nell'opportunità di collaborare attivamente con il mondo accademico ed altri partner industriali specializzati in automazione e PAT (Process Analytical Technology) per controlli di processo in continuo, al fine di costruire l'esperienza necessaria ad un'efficace ed effettiva implementazione nella produzione di principi attivi farmaceutici.

### BIBLIOGRAFIA

- [1] R.A. Sheldon, *Chem. Ind. (London)*, 1992, 903.
- [2] R.A. Sheldon, *Chem. Ind. (London)*, 1997, 12.
- [3] J.M. Guisan, *Immobilization of enzymes and cells*, Humana Press, New Jersey, 2006.
- [4] I. Dufort *et al.*, *Endocrinology*, 1999, **140**, 568.
- [5] S. Fogal *et al.*, IT1398729B e WO2011000693.
- [6] S. Fogal, R. Motterle *et al.*, MI2011A001338.
- [7] N.G. Anderson, *Org. Process Res. Dev.*, 2012, **16**, 852.

### New Technologies for API Synthesis

Innovation is the most powerful defense that western Companies can use against competition in general and Asiatic competitors in particular. Reduction of need-ed energy, quality increase, batch size and cycle time optimization, use of mild and eco-friendly conditions, less pollutant reagents, wastes reduction, are important goals that Active Pharmaceutical Ingredients (API) suppliers must pursuit and reach. FIS Fabbrica Italiana Sintetici identified in microreactors and biocatalysis deep study and implementation, two strategic fields to reach the just present-ed goals. The biocatalyzed synthesis of testosterone and an excursus on industrial applicability of microreactors are presented and discussed.

STEFANO FOGAL - RICCARDO MOTTERLE - EMILIANO ROSSI

F.I.S. FABBRICA ITALIANA SINTETICI SPA  
MONTECCHIO MAGGIORE (VI)

EMILIANO.ROSSI@FISVI.COM