



Università degli Studi di Ferrara

DOTTORATO DI RICERCA IN

SCIENZE CHIMICHE

CICLO XXVI

COORDINATORE Prof. Carlo Alberto Bignozzi

Progettazione e preparazione di nuovi  
materiali per applicazioni sostenibili in  
chimica organica e ambientale

Settore Scientifico Disciplinare CHIM/06

**Dottorando**

Dott. Caciolli Lorenzo

**Tutore**

Dott. Massi Alessandro

Anni 2011/2013



“Meeting the needs of the present generation without compromising the ability of future generation to meet their own needs”

The World Commission for Environment and Development, 1987



# INDICE

Sommario .....	3
Abstract .....	5
Premessa.....	6
Prima parte	
1. La Green Chemistry .....	7
2. La Flow Chemistry.....	13
2.1 Vantaggi dell'impiego dei microreattori rispetto ai sistemi batch.....	15
2.1.1 Miglior mixing .....	15
2.1.2 Maggior controllo termico .....	16
2.1.3 Incremento di velocità di reazione, resa e selettività .....	17
2.1.4 Maggior efficienza .....	17
3. Catalisi eterogenea .....	20
3.1 Catalizzatori asimmetrici eterogenei.....	20
3.1.1 I monoliti.....	23
4. L'organocatalisi .....	27
4.1 La prolina come organocatalizzatore .....	28
4.1.1 La reazione di condensazione aldolica.....	31
4.1.2 La reazione di Mannich.....	37
4.1.3 La reazione di Michael.....	39
4.1.4 La reazione di $\alpha$ -amminazione.....	40
4.2 Catalisi via N-eterociclocarbeni.....	43
4.2.1 La reazione di condensazione benzoica.....	47
4.2.2 La reazione di Stetter .....	50
5. Risultati e discussione.....	53
5.1 Sintesi di 5-(pirrolidin-2-il)tetrazolo supportato su silice: sviluppo di un.....	53
processo organocatalitico in flusso .....	53
5.2 Sintesi di un monolite polistirenico funzionalizzato con un sale di tiazolio per.....	63
processi di <i>umpolung</i> in flusso continuo.....	63

## Seconda parte

1. I composti perfluorurati .....	72
2. La Fluorous Chemistry.....	75
3. Processi di adsorbimento ed isoterme di eccesso.....	78
3.1 Isoterme di eccesso .....	81
4. Risultati e discussione.....	85
Bibliografia .....	91

## Sommario

La *Green Chemistry* è una tematica che sta riscuotendo crescente attenzione negli ultimi anni, sia per la ricerca scientifica che per l'industria. Aumenta infatti ogni giorno l'interesse verso lo sviluppo di processi che richiedano una minor quantità di materiali, che impieghino prodotti e solventi poco inquinanti, che utilizzino tipi di energia eco-compatibili (luce, microonde, ultrasuoni,...) e che producano una minor quantità di sottoprodotti e di scarti. In questo contesto si inseriscono perfettamente l'organocatalisi e la *flow-chemistry*: da una parte l'impiego di molecole organiche come catalizzatori garantisce processi di sintesi assai efficienti e altamente stereoselettivi, senza dover ricorrere all'impiego di metalli, i cui residui sono spesso tossici e costosi da smaltire; dall'altra l'utilizzo di microreattori offre una serie di importanti vantaggi, riconducibili al miglioramento dei processi di trasferimento di massa e di calore, quali una diminuzione dei tempi di reazione, migliore resa e selettività e un facile controllo delle variabili di reazione (temperatura e pressione), determinando, in ultima analisi, un processo sintetico meno costoso, più sostenibile e più sicuro.

Nella prima parte del mio lavoro mi sono occupato della funzionalizzazione di supporti solidi silicei e polistirenici con organocatalizzatori; le fasi solide sintetizzate sono state impiegate per la realizzazione di reattori a letto impaccato e di tipo monolitico. È stato dimostrato come, attraverso l'impiego di questi reattori, sia possibile, oltre alla produzione in continuo di prodotti chimici, aumentare la produttività del sistema rispetto ai corrispettivi processi in *batch*, grazie soprattutto all'incremento del tempo di vita della specie catalitica.

Le stesse conoscenze nella funzionalizzazione di supporti inerti sono state utilizzate nella seconda parte del mio lavoro, per preparare fasi perfluorate con lo scopo di valutarne l'utilizzo come mezzi di pre-concentrazione e determinazione di una serie di importanti contaminanti emergenti perfluorurati. Questo tipo di attività è riconosciuta appartenere, anche se sotto aspetti diversi, a tematiche di *Green Chemistry*. I composti perfluorurati, negli ultimi decenni, sono stati utilizzati ampiamente a livello industriale e rappresentano oggi giorno contaminanti ambientali ubiquitari. L'interesse scientifico verso questa categoria di molecole è nato quando livelli rilevanti di molecole perfluorate sono stati riscontrati in diverse matrici ambientali come acque di scarto, campioni atmosferici, sedimenti, terreni e tessuti biologici.

Il lavoro di ricerca è stato concentrato sulla sintesi di una fase solida di tipo siliceo funzionalizzata con molecole ad alto contenuto di atomi di fluoro, che è stata impiegata come fase adsorbente per applicazioni cromatografiche e simil-cromatografiche. Sfruttando la

capacità che molecole con porzioni perfluorate hanno di riconoscersi selettivamente (fluorofilicità), è stato dimostrato come la forza di questo tipo di interazione dipenda dalla composizione della fase mobile: è quindi possibile impiegare queste fasi stazionarie per eseguire la pre-concentrazione di inquinanti fluorurati da matrici ambientali, effettuandone prima la cattura e successivamente il rilascio, variando solamente la composizione della fase eluente.



## Abstract

In recent years Green Chemistry has become a central area of research for chemists working in both industry and academia. The fundamental concepts of sustainable chemistry are, among others, atom efficiency, waste prevention, use of renewable materials and innocuous solvents, as well as design of safer products. Within this context, microreactor technology offers, on the one hand, safe, environmentally benign, and high throughput processes typically intensified by a fast postreaction phase (workup and purification) and direct scalability; on the other hand, asymmetric organocatalysis allows for new and unique opportunities towards efficient and highly stereoselective metal-free catalytic syntheses.

In the first part of this thesis project it has been carried out the synthesis of new heterogeneous organocatalysts for their ultimate utilization in continuous-flow processes. Precisely, proline-like mimetics and thiazolium salt pre-catalysts have been immobilized on silica and polystyrene macroporous supports, respectively; next, these functionalized solid materials have been employed as packing material for the fabrication of fixed-bed microreactors in the form of either packed or monolithic columns. During this research, it has been demonstrated that operation of this type of organocatalytic microreactors results in flow processes with levels of stereoselectivity comparable to those of the corresponding homogeneous batch processes, allowing at the same time productivity enhancements thanks to the higher long-term stability of the heterogeneous organocatalytic species in flow regime.

In the second part of this thesis project, the same techniques of support functionalization have been employed to prepare perfluorinated stationary phases for the determination of perfluorinated compounds (PFCs). These are emerging pollutants widely spread in the environment. They can be found in soils, sediments, superficial waters, particulate matter, as well as in animal and human tissues or organs. PFC are characterized by environmental persistence and have negative side effects for the biota where they accumulate. The chromatographic behavior of perfluorinated acid pollutants have been investigated on the basis of the specific fluorine-fluorine interactions (fluorophilicity) occurring between these analytes and the perfluoroalkyl groups of the newly prepared stationary phases. It has been demonstrated that the retention profile of perfluorinated acids is dependent on the composition of the mobile phase, thus permitting the use of the prepared fluorinated stationary phases as means of pre-concentration of PFCs from environmental and biological matrices.

## Premessa

La mia attività di ricerca svolta presso il dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche dell'Università di Ferrara ha riguardato due progetti, uno di chimica organica, sotto la supervisione del Dott. Massi, e uno di chimica analitica sotto la supervisione del Dott. Cavazzini.

L'ambito generale all'interno del quale si è svolto il mio lavoro di ricerca è quello della *Green Chemistry*, che non solo si occupa di studiare processi efficienti da un punto di vista prettamente chimico, ma che considera come aspetti fondamentali anche la sostenibilità, il tipo di energia impiegata, la riduzione dei materiali di scarto e la sicurezza dell'operatore e dell'ambiente. Più nello specifico mi sono occupato della sintesi di supporti solidi funzionalizzati con applicazioni sia di tipo sintetico che ambientale: da un punto di vista di chimica organica ho effettuato la sintesi di materiali di tipo siliceo e polistirenico derivatizzati con molecole di organocatalizzatori; è noto infatti come l'impiego di specie supportate consenta facilmente la separazione e il ri-utilizzo di molecole chimiche ad elevato valore aggiunto, garantendo efficienza chimica, risparmio economico e allo stesso tempo prodotti di scarto meno inquinanti.

Dal un punto vista della chimica analitica il mio lavoro si è concentrato su una particolare categoria di inquinanti emergenti, i composti perfluorurati. Nonostante queste di molecole siano presenti nell'ambiente in bassa concentrazione, risultano estremamente bio-accumulabili e quindi molto dannose: durante il mio progetto di ricerca mi sono occupato della sintesi di un materiale siliceo perfluorurato e dello studio, mediante tecniche cromatografiche, sul suo possibile impiego come mezzo di pre-concentrazione e separazione di molecole appartenenti a questa categoria di inquinanti.

## 1. La Green Chemistry

Il termine “*Green Chemistry*” è stato coniato nei primi anni '90 da Anastas e suoi colleghi [1] dell'Agenzia per la Protezione Ambientale (EPA) americana, durante la stesura di un report sulle prospettive di impatto ambientale dei prodotti chimici nell'ambiente per i decenni a seguire. Da quel momento, spinti da una parte da un crescente interesse verso tematiche ambientaliste e dall'altra dal costante aumento dei costi per lo smaltimento dei prodotti di scarto dei processi chimici, sia il mondo accademico che quello dell'industria chimica si sono dedicati alacremente allo sviluppo di processi sempre più ecosostenibili.

In quel rapporto la *Green Chemistry* viene definita come l'applicazione di una serie di principi che riducano o eliminino l'utilizzo o la formazione di sostanze pericolose nella progettazione e nella realizzazione di processi e prodotti chimici; per meglio inquadrare le problematiche che si propone di affrontare questo nuovo settore trasversale della chimica, e il modo in cui si intende farlo, ne vengono espressi in 12 punti i principi ispiratori:

- 1) Prevenzione (è meglio prevenire la formazione di rifiuti che dover effettuare smaltimenti o bonifiche quando questi si sono formati)
- 2) Atom economy (i metodi sintetici devono essere progettati per massimizzare l'incorporazione nel prodotto finale di tutte le sostanze utilizzate)
- 3) Sintesi chimiche meno pericolose (dove possibile, devono essere ridotti l'uso e la formazione di sostanze dannose per l'uomo e l'ambiente)
- 4) Ideazione di prodotti chimici più sicuri (le molecole prodotte devono essere progettate per svolgere la loro funzione minimizzando effetti secondari nocivi)
- 5) Solventi ed ausiliari più sicuri (solventi e sostanze per la separazione e purificazione devono essere eliminati dove possibile e scelti considerandone l'ecocompatibilità)
- 6) Progettazione di processi ad alta efficienza energetica (l'energia richiesta per un processo deve essere considerata nel valutarne l'impatto ambientale, preferendo quindi reazioni a pressione e temperatura ambiente)
- 7) Uso di materie prime rinnovabili (dove tecnicamente ed economicamente possibile i materiali grezzi e le materie prime devono provenire da fonti rinnovabili)
- 8) Riduzione delle derivatizzazioni (passaggi di protezione/de-protezione e modifiche temporanee dei substrati devono essere ridotte al minimo indispensabile)
- 9) Catalisi (impiegare reagenti in quantità catalitica produce meno scarti che utilizzarli in quantità stechiometrica)

- 10) Progettazione per la degradazione (i prodotti chimici devono essere progettati per degradarsi a molecole innocue e non bioaccumulabili)
- 11) Analisi in tempo reale (parallelamente al processo produttivo, devono essere sviluppate metodologie analitiche per monitorare la formazione di sostanze pericolose)
- 12) Processi intrinsecamente più sicuri (progettare processi e utilizzare sostanze chimiche che minimizzino le possibilità di incidenti quali il rilascio nell'ambiente, esplosioni o incendi)

Quello che viene quindi sostenuto, è l'impulso ad adottare un nuovo modo di pensare e realizzare i processi chimici, considerando come aspetti cardine, oltre che la resa chimica ed il costo di attuazione, anche l'impatto ambientale (nella forma di quantità e tipo di rifiuti prodotti, di origine dei materiali grezzi e di destino degli scarti, di valutazione dei rischi per l'uomo e l'ambiente e della quantità e del tipo di energia impiegata).

Una volta definiti ed accettati i principi ispiratori, nella comunità scientifica è sorta la necessità di creare un metodo univoco per poter valutare e confrontare i processi chimici secondo questi nuovi criteri, una sorta di "metro *green*"; con questo scopo, il primo tentativo viene fatto nel 1991 da Trost [2], che definisce "*atom economy*" (o *atom efficiency*) il valore, espresso come percentuale, ottenuto dal rapporto fra il peso molecolare del prodotto desiderato e la somma dei pesi molecolari di tutte le sostanze prodotte. Con questo sistema è possibile, semplicemente conoscendo l'equazione stechiometrica di un processo, stimare la quantità di rifiuti generati per formare un dato prodotto, ancora prima di aver fisicamente effettuato alcun esperimento.

Il metodo proposto da Trost si basa però su alcuni presupposti che fanno discostare molto i risultati dei calcoli teorici dall'applicazione pratica: viene infatti considerata una resa chimica del 100% e si assume che i reagenti vengano utilizzati secondo i rapporti stechiometrici; inoltre non si tiene conto della quantità e del tipo di solvente impiegato e delle sostanze necessarie per il *work-up*.

Cercando di accrescere il "significato reale" e quindi l'applicabilità della misura dell'impatto ambientale di un processo, Sheldon [3] definisce "*Environmental Factor*" (E-factor) come il valore del rapporto fra la massa dei prodotti di scarto di un processo e la massa del prodotto desiderato ottenuto. Sebbene intorno a questa definizione si siano sviluppati alcuni dibattiti (per esempio se la massa d'acqua dovesse o no essere considerata in questo calcolo [4]) e nonostante siano stati creati negli anni altri parametri di valutazione dei processi più o meno simili (come *mass productivity* [5], *process mass intensity* [6] e *effective mass yield* [7]), l'E-factor risulta ad oggi il sistema più utilizzato per quantificare l'impatto ambientale di un processo, sia da chimici che da ingegneri e manager [8]; i suoi punti di forza risiedono nella generalità e nella facilità di

applicazione: può essere infatti calcolato semplicemente conoscendo la quantità di materiale grezzo acquistato e la quantità di prodotto ottenuto per un particolare processo, per un impianto produttivo o per un'intera azienda.

L'E-factor e gli altri metodi proposti considerano meramente la quantità di prodotti di scarto, senza però valutarli in base alla loro natura: produrre per esempio una tonnellata l'anno di NaCl non ha lo stesso impatto ambientale che produrre il medesimo quantitativo di sali di cromo. Sheldon stesso [9], attraverso l'*Environmental Quotient* (EQ), propone di modificare l'E-factor moltiplicandolo per un coefficiente Q, il cui valore va definito in base alla tossicità delle sostanze di scarto, alla facilità di stoccaggio e alle possibilità di recupero e riciclo: sebbene l'attribuzione del valore di Q sia del tutto arbitraria, l'EQ rappresenta un metodo per misurare l'effettivo impatto ambientale di un processo o di un impianto produttivo.

Come si può dedurre sia dai 12 punti attraverso i quali è stata definita la *Green Chemistry*, sia dai metodi proposti per valutare l'effettiva ecocompatibilità di un processo, la riduzione del quantitativo di scarti di un processo è sicuramente uno dei principali obiettivi che ci propone di perseguire, ma non l'unico; pensare ed operare in modo "green" riguarda infatti molti aspetti della progettazione e della realizzazione di un processo chimico, quali la scelta del solvente, il passaggio da processi stechiometrici a processi catalitici e l'utilizzo di nuove fonti di energia.

Quando i principi della *Green Chemistry* hanno iniziato ad essere riconosciuti a livello mondiale, una delle maggiori fonti di prodotti di scarto per un processo di sintesi organica derivava dall'impiego di prodotti inorganici, quali metalli e idruri per le riduzioni (Na, Zn, LiAlH<sub>4</sub>, NaBH<sub>4</sub>), sali di permanganato e cromo(VI) per le ossidazioni, acidi di Bronsted (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) e di Lewis (AlCl<sub>3</sub>, BF<sub>3</sub>) [10]; la sostituzione di questi prodotti, impiegati in quantità stechiometrica o in larghi eccessi, con catalizzatori, è apparsa sin da subito come una possibile soluzione per migliorare l'impatto ambientale di questi processi. Inoltre l'impiego di catalizzatori chirali altamente enantioselettivi ha consentito di eliminare la necessità di risoluzioni cinetiche, portando alla sintesi di prodotti enantiopuri [11].

Sebbene ad oggi siano numerosi i processi che vengono effettuati per via catalitica (catalisi omogenea, eterogenea, organocatalisi), vi è una costante ricerca di specie sempre più chimicamente efficienti e allo stesso tempo ecocompatibili; è proprio in quest'ottica che, negli ultimi anni, la biocatalisi sta ricevendo un crescente interesse, forte del fatto che gli enzimi, attivi a pH fisiologico, in ambiente acquoso e a pressione e temperatura ambiente, si prospettino come dei perfetti catalizzatori "green" [12].

Dato l'elevato impatto sull'ambiente e sull'uomo di molti solventi organici (oltre al cospicuo costo di smaltimento) e considerato che i solventi costituiscono un'elevata percentuale del materiale di scarto di un impianto produttivo [13], si è registrata negli ultimi decenni una crescente attenzione verso la scelta del mezzo di reazione da impiegare, sia a livello accademico [14] che industriale [15,16]. Dopo una classificazione dei solventi effettuata tenendo conto di tossicità, pericolosità, impatto ambientale e problematiche di smaltimento ( Tabella 1) [17], si è pensato in primo luogo a sostituire solventi più inquinanti o pericolosi con analoghi maggiormente eco-compatibili, più sicuri o provenienti da fonti "green" come le biomasse ( Tabella 2) [18].

<b>Preferibili</b>	<b>Usabili</b>	<b>Sconsigliati</b>
Acqua, Acetone, Etanolo, 2-Propanolo, Etil-acetato, Metanolo, 1-Butanolo, t-Butanolo, MEK, Eptano	Cicloesano, Eptano, Toluene, TBME, Isoottano, Acetonitrile, THF, DMSO	Pentano, Esano, Dietil- etere, Diisopropil-etere, Diclorometano, Dicloroetano, DMF, Piridina, Benzene

**Tabella 1 – Classificazione dei solventi**

<b>Solventi sconsigliati</b>	<b>Solventi alternativi</b>
Pentano, Esano	Eptano
Diisopropil-etere o Dietil-etere	TBME
DMF, NMP, Dimetil-acetamide	Acetonitrile
Piridina	Et <sub>3</sub> N
Benzene	Toluene
Diclorometano	Etil-acetato, TBME, Toluene

**Tabella 2 - Solventi alternativi**

Sebbene solventi ottenibili da fonti rinnovabili come l'etanolo e il THF stiano ricevendo una crescente attenzione, l'acqua è quello che negli ultimi anni ha ricevuto maggior interesse [19]: essendo poco costosa, facilmente ottenibile, non tossica e non infiammabile e (ovviamente) ecocompatibile, possiede tutti i requisiti per essere definita un ottimo solvente *green*; anche da un punto di vista puramente chimico (resa, selettività, tempo di reazione) l'impiego di acqua può portare in alcuni casi a risultati migliori rispetto all'utilizzo di solventi organici, come riportato per esempio da Breslow [20] e Sharpless [21]: grazie a quello che viene definito "effetto idrofobico" [22] si osserva un incremento di selettività e una diminuzione dei tempi di reazione, anche per reazioni "on water" (dove si impiega l'acqua come mezzo di reazione sebbene i composti organici di partenza risultino insolubili) rispetto agli stessi processi condotti in solventi organici.

Poiché la riduzione dei prodotti di scarto e la semplificazione dei processi di purificazione sono tra i punti fondamentali della *Green Chemistry*, l'impiego dell'acqua risulta importante considerando anche che alcune reazioni organiche non avvengono in questo solvente: è riportato come sia possibile, sostituendo i tradizionali solventi organici con l'acqua, evitare reazioni secondarie indesiderate [23] o passaggi di protezione e successiva de-protezione di gruppi funzionali [24]; poiché anche l'energia spesa nella preparazione di un reagente o di un solvente viene considerata nella valutazione della sua sostenibilità, sono da notare esempi nei quali si evidenzia come importanti reazioni chimiche (come la metatesi degli alcheni o l'addizione di Michael) possano procedere senza sostanziale peggioramento di resa o selettività anche in acqua "di rubinetto" [25] o in acqua di mare [26,27].

Negli ultimi anni, come possibile alternativa *green* per rimpiazzare i tradizionali solventi organici, stanno ricevendo particolare attenzione anche solventi "non convenzionali" come la CO<sub>2</sub> supercritica [28,29] e i liquidi ionici [30,31]; la CO<sub>2</sub> si può ottenere come sottoprodotto di molti processi chimici (tra cui la fermentazione delle biomasse), può essere portata nelle condizioni critiche senza un eccessivo consumo energetico e si è rivelata molto utile per processi che coinvolgono fasi gassose (come l'idrogenazione con H<sub>2</sub> o l'ossidazione con O<sub>2</sub>) o che richiedono la totale assenza di tracce di solvente nel prodotto (come per esempio i processi legati all'industria alimentare). I liquidi ionici, oltre alle loro proprietà chimico-fisiche altamente modificabili (capacità solventi, solubilità in acqua, viscosità), risultano facilmente isolabili e quindi riutilizzabili, oltre a presentare una volatilità nulla, minimizzando quindi il rischio di dispersione nell'ambiente.

Oltre alla scelta del mezzo di reazione, anche il tipo e l'origine dell'energia da somministrare ad un dato sistema sono stati oggetto di studio da parte di chimici e ingegneri negli ultimi decenni: la maggior parte dei processi chimici richiedono somministrazione di energia e questo avviene principalmente attraverso energia termica, che risulta spesso costosa, potenzialmente pericolosa e poco efficiente (facilmente disperdibile e che può generare gradienti di temperatura) [32]. L'energia derivante da irraggiamento con radiazioni nella regione dell' UV-Vis è nota ed utilizzata da anni anche a livello industriale, dove risultano ormai numerosi i processi fotochimici per la sintesi o la degradazione di prodotti chimici; anche l'utilizzo di microonde come possibile alternativa al riscaldamento termico è ormai un metodo diffuso, che può consentire, oltre che un incremento dell'efficienza di una reazione chimica [33], anche la sostituzione di solventi organici con acqua [34].

Fonti innovative di energia estremamente efficienti da un punto di vista *green* sono anche gli ultrasuoni e l'energia meccanica: generando onde soniche ad elevata frequenza (20kHz-1MHz) in un liquido, si crea una vibrazione delle particelle che lo costituiscono: queste vibrazioni generano elevate compressioni e rarefazioni; la bassa pressione porta alla formazione di cavità (o bolle) di dimensioni via via maggiori che alla fine collassano violentemente generando localmente elevati valori di temperatura e pressione [35]. Questo fenomeno, noto come cavitazione, è risultato efficace nel promuovere un'ampia varietà di processi di sintesi organica a temperatura ambiente, aumentando anche la velocità di reazione [32].

Sotto ponendo invece delle sostanze solide ad un'elevata energia meccanica le particelle vengono ridotte a dimensioni piccolissime, aumentando la superficie di contatto fra loro; inoltre sotto l'effetto della pressione le strutture cristalline si deformano creando punti nei quali le molecole giungono ad elevati livelli di eccitazione vibrazionale: l'energia rilasciata nel processo di rilassamento è capace di rompere legami chimici dando potenzialmente vita ad una ampia serie di processi chimici come decomposizioni [36], ossidazioni e riduzioni [37,38], reazioni di coupling [39,40], il tutto in totale assenza di solvente e in tempi ridotti.



## 2. La Flow Chemistry

Come diretta conseguenza della volontà di applicare i principi della *Green Chemistry*, è sorta l'esigenza di rivoluzionare il modo di eseguire un processo chimico dalle fondamenta, compresa la ricerca di nuove alternative all'attrezzatura classica (sostanzialmente invariata negli ultimi secoli) con la quale effettuare le reazioni; in questo contesto, negli ultimi decenni, effettuare processi in flusso all'interno di microreattori, ha dimostrato di essere una metodologia estremamente utile ai chimici, fornendo una valida alternativa in ogni fase di esecuzione di un processo di sintesi, dall'ottimizzazione alla realizzazione (aggiunta dei reagenti, *mixing*, reazione chimica, *work-up*), comprese la separazione dei prodotti e la loro analisi. I microreattori, economicamente accessibili, semplici da costruire e facilmente modificabili, hanno portato alla realizzazione di processi di sintesi in flusso chimicamente più efficienti dei corrispettivi processi batch, con un minor quantitativo di solventi impiegati e di scarti prodotti. I microreattori consistono in una serie di canali di dimensioni variabili fra 10 e 1000  $\mu\text{m}$  (se superiori (1-10 mm) si parla di mesoreattori) connessi in varie geometrie. I microreattori possono essere fabbricati utilizzando un'ampia gamma di materiali [<sup>41</sup>]; tra questi i materiali polimerici (come poli-dimetilsilossano (PDMS) o PEEK) e i metalli risultano meno impiegati, mentre acciaio inossidabile (utilizzato soprattutto per impianti pilota di dimensioni meso), silicone (sfruttato principalmente per la sua elevata conducibilità termica) e vetro (facilmente lavorabile per litografia [<sup>42</sup>], trasparente e chimicamente compatibile con molti reagenti e solventi) risultano più impiegati [<sup>43</sup>].

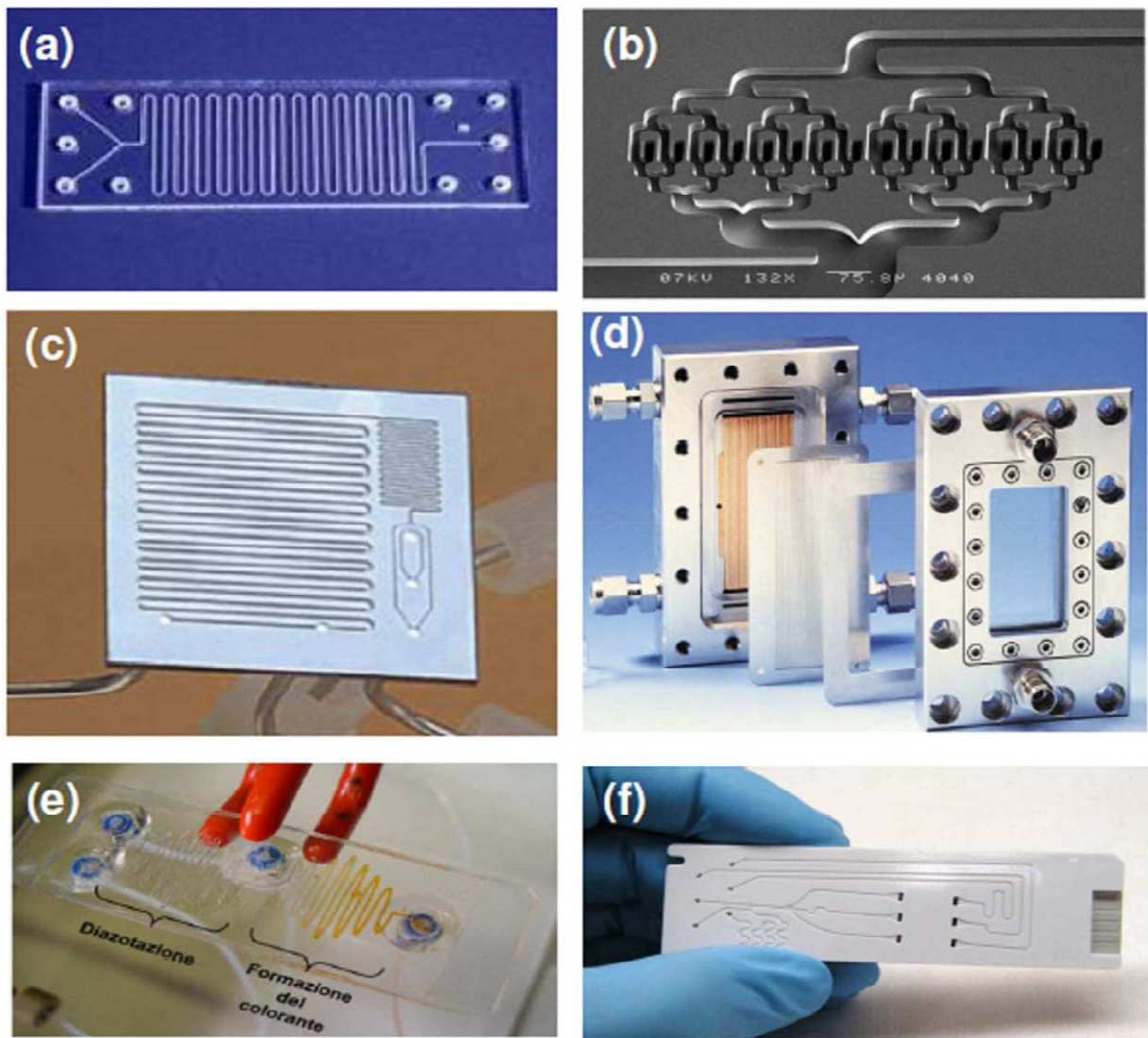


Figura 1 – Tipologie di microreattori: (a) in vetro, (b,c) in silicio, (d) in acciaio, (e,f) in materiale polimerico

Il flusso dei fluidi all'interno di un microreattore può essere garantito in diversi modi, a seconda del materiale costituente il reattore e alle esigenze applicative:

- Flusso capillare: sebbene consenta un preciso controllo della quantità di fluido attraverso il reattore [44], risulta poco diffuso a causa della ridotta portata di esercizio.
- Flusso elettroosmotico (EOF): viene ottenuto applicando una differenza di potenziale alle estremità del reattore; se da una parte questo tipo di flusso abbia il vantaggio di poter essere controllato con estrema precisione elettronicamente e di non utilizzare parti meccaniche in movimento, dall'altra richiede solventi polari, dipende dalla concentrazione del soluto e può generare reazioni elettrochimiche indesiderate.

- Flusso idrodinamico: risulta il metodo può diffuso poiché facilmente effettuabile con semplici apparecchi come premi-siringa o pompe HPLC; garantisce un flusso principalmente di tipo laminare [45] in un ampio *range* di velocità, dai  $\mu\text{l}/\text{min}$  ai  $\text{ml}/\text{min}$ .

## 2.1 Vantaggi dell'impiego dei microreattori rispetto ai sistemi batch

Impiegare sistemi in flusso può portare notevoli vantaggi rispetto all'utilizzo dei tradizionali sistemi batch, derivanti principalmente dall'elevato rapporto superficie/volume (Figura 2) e dalle piccole quantità di sostanze coinvolte in ogni momento della sintesi.

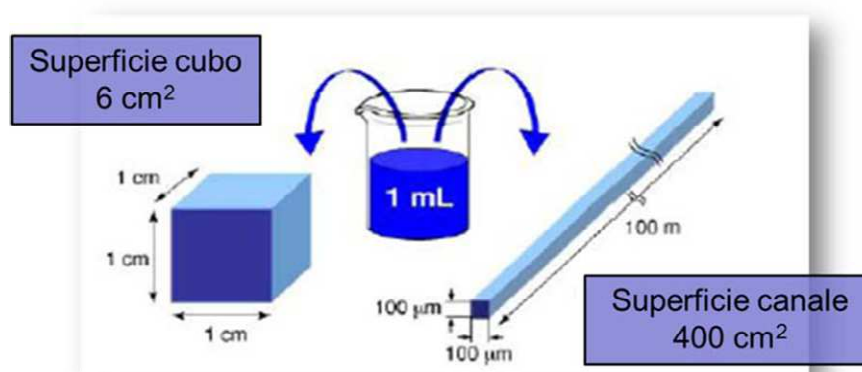


Figura 2 - Aumento della superficie di scambio in un microreattore rispetto ad un reattore di tipo batch

### 2.1.1 Miglior mixing

Il mescolamento dei reagenti all'interno dei classici apparati di reazione, sia su scala di laboratorio che industriale, avviene per agitazione meccanica: questo sistema crea moti convettivi turbolenti e caotici, che spesso decrescono rapidamente con l'allontanarsi dall'agitatore [46,47]; sono state inoltre rivelate, in diversi casi, inomogeneità nell'ambiente di reazione e zone prive di agitazione persistenti nel tempo [48]. La presenza di queste "zone morte" può portare a gradienti di concentrazione nell'ambiente di reazione e ad uno scarso trasferimento di calore, il che conduce, in ultima analisi, ad un processo meno efficiente. Queste problematiche possono essere risolte aumentando il tempo di reazione fino al completamento del processo, ma abbassando la produttività del sistema e rischiando un calo di selettività e di resa [49].

All'interno dei microreattori, grazie alle ridotte dimensioni e a vari accorgimenti ingegneristici [50], è possibile ottenere un rapido ed omogeneo mescolamento, che avviene nell'ordine dei microsecondi, quindi diversi ordini di grandezza più velocemente rispetto ai sistemi batch, che richiedono tempi nell'ordine dei secondi o superiore [51].

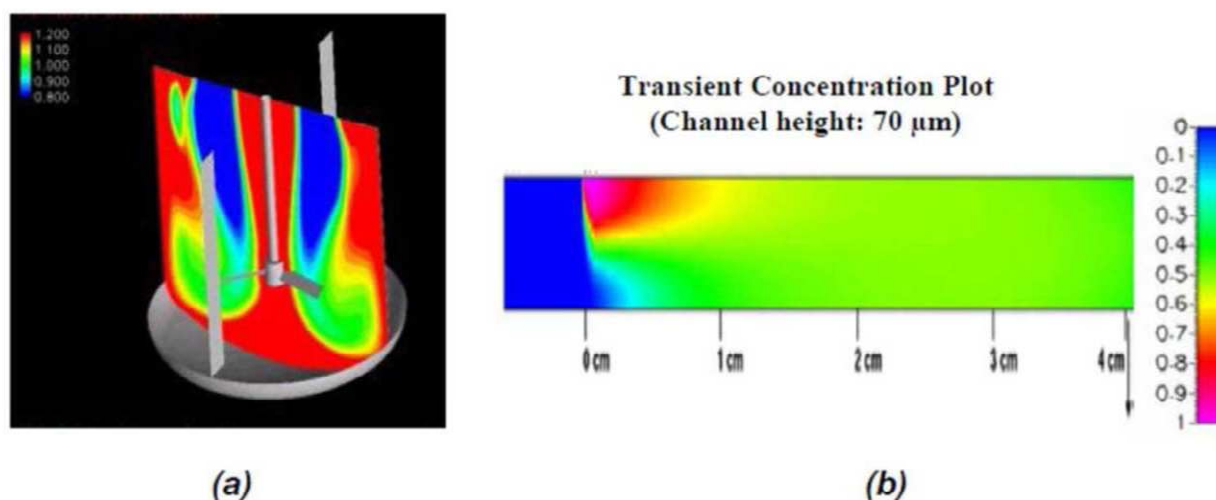


Figura 3 – (a) Mescolamento in un sistema *batch* con *range* di concentrazione compreso fra 0,8 equivalenti (blu) e 1,2 equivalenti (rosso); (b) Mescolamento nel canale di un microreattore (il colore verde indica un rapporto 1:1)

### 2.1.2 Maggior controllo termico

Il riscaldamento o il raffreddamento di una reazione sono parametri importanti di un processo chimico che possono portare, se non avvengono in maniera efficace, a reazioni molto lente (se è carente la somministrazione di calore) o a reazioni potenzialmente esplosive (se il raffreddamento non è adeguato); inoltre reazioni che possono portare alla formazione di prodotti diversi (sotto un controllo cinetico o termodinamico) sono molto sensibili alla temperatura.

I sistemi batch danno un ampio profilo di distribuzione di temperatura al loro interno (Figura 4) [52], facilitando la formazione di prodotti secondari indesiderati, mentre i microreattori consentono una rapida e precisa somministrazione o rimozione di calore [53] grazie all'elevato valore del rapporto superficie/volume e alle ridotte quantità di materia coinvolte in ciascun momento della sintesi; è quindi possibile effettuare reazioni altamente esotermiche o con composti esplosivi (come la nitratura di composti aromatici [54] o reazioni con diazometano [55]) in maggior sicurezza, oltre che con maggior selettività.

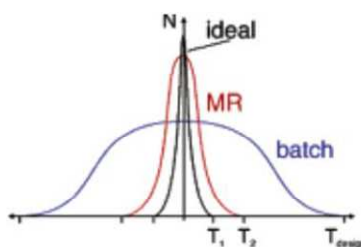


Figura 4 – Confronto fra un profilo di distribuzione di temperatura ideale, di un microreattore (MR) e di un sistema batch

### 2.1.3 Incremento di velocità di reazione, resa e selettività

A causa del miglioramento dei processi di trasferimento di massa e di calore e del *mixing* altamente efficiente, i microreattori consentono di eseguire processi chimici con tempi di reazioni inferiori rispetto ai sistemi batch, spesso con un incremento dei valori di resa e selettività [56]. Un incremento di resa è stato registrato per esempio per reazioni di Wittig [54], reazioni di ossidazione e riduzione [57], reazioni di *coupling* [58], formazione di eterocicli [59] ed altre [60]. Un maggior controllo sulla regioselettività è stato ottenuto per esempio per reazioni con composti di Grignard [61] e per reazioni di Wittig [62], dove è stato possibile, variando la concentrazione dei reagenti, regolare il rapporto E/Z dei prodotti in un *range* 0,5-5. Anche per processi di sintesi asimmetrica, con l'impiego di apparecchiature in flusso, si è registrato un aumento di enantioselettività, sia per reazioni con catalizzatori omogenei che eterogenei [63].

### 2.1.4 Maggior efficienza

Effettuare un processo all'interno di un microreattore piuttosto che in un sistema batch può portare anche ad una maggior efficienza, aumentando la quantità di prodotto ottenuto in un dato tempo e riducendo il quantitativo di sostanze di scarto; il miglioramento dei processi di trasferimento di massa e di calore, può consentire infatti, oltre ad un incremento dei valori di resa e selettività, di poter impiegare i reagenti in concentrazioni maggiori (col limite della solubilità) e di ridurre il quantitativo di catalizzatore: questo si traduce in una minor quantità di solvente e di scarti per unità di prodotto, il che porta, in ultima analisi, ad un processo più sostenibile. Da questo punto di vista i microreattori risultano un mezzo ideale anche in fase di ottimizzazione di un processo chimico: date le piccole quantità di reagenti e solventi necessari

per un esperimento, è possibile eseguire numerose reazioni di screening a costi ridotti generando meno prodotti di scarto [61].

Nell'ottica di sviluppare processi sempre più efficienti, i microreattori risultano ottimi anche per effettuare processi bi- e tri-fasici che coinvolgano specie catalitiche supportate, con gli ulteriori benefici che questo *set-up* strumentale comporta (vedi paragrafo 3.1).

Utilizzando i tradizionali sistemi batch, una delle problematiche che ricercatori e progettisti devono affrontare risiede nello *scale-up* del processo, ovvero nelle differenze che si riscontrano nel passaggio da una scala ridotta come quella di laboratorio ad una maggiore come quella di un impianto industriale: con l'impiego di sistemi di tipo microfluidico, le cui caratteristiche risiedono proprio nelle piccole dimensioni, questo passaggio viene evitato lasciando in funzione il sistema per un tempo maggiore (*scale-on*) o facendo lavorare più unità in parallelo (*numbering-up*) [64].

Ulteriori vantaggi dall'impiego dei microreattori si ottengono quando questi apparecchi sono integrati in sistemi in flusso più complessi: è infatti possibile interfacciare più microreattori consecutivamente, effettuando diversi processi chimici in serie; questa metodologia è risultata molto efficace sia per la produzione di ampie librerie di composti [65,66] che per la “*total-synthesis*” di complesse molecole naturali [67], consentendo di effettuare più reazioni in serie o in parallelo senza la necessità di isolare prodotti intermedi. Oltre alla possibilità di effettuare trasformazioni chimiche consecutive, l'adozione di sistemi in flusso ha dimostrato di poter essere applicabile, all'interno di un processo chimico, anche alle fasi successive a quella propriamente sintetica: una volta effettuata la reazione desiderata è possibile eseguire in-line il *quenching* dei reagenti (per esempio attraverso l'aggiunta di acqua o la variazione di pH), oppure effettuare direttamente lo *step* di purificazione attraverso la cattura di sottoprodotti e sali con apposite resine [68], mediante estrazioni liquido-liquido [69] o con separazioni cromatografiche in continuo [70]. Processi di sintesi in flusso possono inoltre essere monitorati in tempo reale grazie all'interfacciamento con strumenti analitici come apparecchi UV, FT-IR o spettrometri di massa [71].

È importante notare che tutti gli aspetti positivi elencati in precedenza relativi al passaggio da un sistema di tipo batch ad un sistema in flusso non si applicano necessariamente ad ogni processo: alcune reazioni chimiche non sono sufficientemente veloci da poter trarre benefici dal miscelamento che si ha nei microreattori, altre sono scarsamente esotermiche o comunque non richiedono uno stretto controllo termico tale da necessitare l'impiego di questo tipo di apparecchiatura, altre ancora non mostrano alcun incremento di resa nel passaggio a sistemi in

flusso; è quindi importante valutare alcuni parametri del processo in esame (come aspetti cinetici e termodinamici e dipendenza dalla concentrazione) prima di asserire che l'impiego di microreattori sia da preferire alle apparecchiature tradizionali [<sup>72</sup>].

## 3. Catalisi eterogenea

### 3.1 Catalizzatori asimmetrici eterogenei

Parallelamente alla necessità di sviluppare processi chimici sempre più sostenibili, sta crescendo negli ultimi decenni il numero di applicazioni (per esempio nell'industria farmaceutica, agrochimica e alimentare) che richiedono l'impiego di *building-block* e intermedi enantiomericamente puri. In questo contesto la catalisi asimmetrica risulta una delle strategie più promettenti poiché consente di trasformare con elevata efficienza ed *atom economy*, prodotti di partenza achirali in sostanze enantiomericamente arricchite, richiedendo solamente una minima quantità di un composto chirale [73,74]. A livello produttivo, sia su scala industriale che di “*fine chemicals*”, le principali caratteristiche richieste per un processo di sintesi comprendono una veloce fase di ottimizzazione (compreso lo *screening* delle specie catalitiche) e la possibilità di automazione (per le fasi di sintesi, monitoraggio e *scale-up*); a queste, per processi catalitici, si aggiunge la necessità di separare e riutilizzare la specie catalitica, soprattutto considerando l'elevato valore economico che queste molecole possono avere. Per soddisfare le prime due richieste il passaggio a sistemi in flusso può rappresentare un'ottima soluzione, mentre per quanto riguarda la possibilità di riciclare il catalizzatore, i chimici hanno identificato nella catalisi eterogenea un'efficiente metodologia [75,76].

In questo contesto i catalizzatori asimmetrici eterogenei, ottenibili attraverso l'immobilizzazione di catalizzatori chirali o mediante la modifica con specie chirali di catalizzatori eterogenei, presentano molti vantaggi rispetto ai propri analoghi omogenei: la facilità con cui possono essere separati dall'ambiente di reazione ne consente da una parte un facile riciclo, dell'altra permette di ottenere il prodotto desiderato senza alcuna traccia di catalizzatore (aspetto cruciale per esempio nel campo farmaceutico, dove la presenza di residui metallici è un problema rilevante). Inoltre è importante sottolineare come, essendo gli apparecchi in flusso adatti ad effettuare processi bi- e tri-fasici, specie catalitiche eterogenee siano facilmente utilizzabili con questo tipo di strumenti [77]. Effettuare reazioni catalitiche in flusso consente di poter eseguire il processo sintetico senza dover successivamente rimuovere il catalizzatore dall'ambiente di reazione, e offre i vantaggi direttamente derivanti dall'impiego di microreattori (facile e rapido *screening* dei leganti/catalizzatori con una minor quantità di specie catalitica, preciso controllo di temperatura e pressione di esercizio, analisi in-line, possibilità di effettuare trasformazioni *multi-step*, maggior sicurezza ed efficienza). Oltre a questo, essendo i microreattori privi di



sistemi di agitazione meccanica, la degradazione fisica della specie supportata risulta ridotta rispetto a quella del medesimo tipo di catalizzatore impiegato in sistemi batch.

I materiali sui quali può essere supportato un catalizzatore sono molteplici, sia di tipo inorganico (come silice, zeoliti o allumina) che organico (tra questi vi sono supporti solubili come i dendrimeri o il PEG (poli-etilenglicole) [78], sia insolubili, come le resine polimeriche). La scelta del materiale da utilizzare è fondamentale poiché le caratteristiche del supporto possono influire in modo considerevole sia per quanto riguarda l'apparecchiatura da impiegare, sia da un punto di vista propriamente sintetico: i materiali polimerici possono avere una struttura più o meno densa, con canali al loro interno di dimensioni variabili da poche unità fino a diverse decine di Å, il che può rendere i loro siti catalitici più o meno accessibili a molecole e ioni. La natura del supporto solido influisce notevolmente anche sull'ambiente che si crea intorno alla specie catalitica, il che va ad incidere in maniera diretta sulla sua efficienza: la resa e la stereoselettività di una reazione promossa da un catalizzatore chirale possono variare molto a seconda che questo sia circondato da un intorno idrofobico (creato per esempio da un supporto di tipo polistirenico) o idrofilico (creato per esempio da un supporto di tipo siliceo).

Per ottenere un catalizzatore eterogeneo esistono diverse strategie di immobilizzazione, che possono essere scelte in base al tipo di catalizzatore, al diverso supporto solido, al tipo di reazione da eseguire e alla diversa tipologia di microreattore che si intende impiegare:

- Formare un legame covalente fra il catalizzatore e il supporto solido risulta indubbiamente la metodologia più utilizzata: una volta identificata la strategia chimica che si intende utilizzare per effettuare questo legame, è sufficiente derivatizzare la specie catalitica con un opportuno gruppo funzionale per ottenere un legame stabile e riproducibile con la parte insolubile, sia che questa sia stata precedentemente formata (si parla quindi di *grafting*), sia che si intenda formare un copolimero supporto-catalizzatore (tipo monolite).

Il supporto solido così ottenuto può essere utilizzato per riempire i canali di un reattore (dando vita a quelli che vengono definiti *packed-bed microreactors*) [79,80] semplicemente per gravità oppure sospendendo il materiale impaccante in un opportuno solvente e depositando quindi la sospensione all'interno del canale sotto l'effetto di un'elevata pressione.

Sebbene questi metodi possano portare ad una distribuzione non omogenea del materiale impaccante e quindi ad un tempo di residenza variabile, risultano molto utilizzati, forti della loro semplicità di attuazione e dell'ampio *range* di applicabilità; sono infatti

riportati in letteratura numerosi esempi in cui vengono impiegati *packed-bed microreactors*, per reazioni di idrogenazione [81], reazioni organometalliche [82], reazioni di condensazione aldolica [83], reazioni di Mannich [84] e di Michael [85], reazioni di cicloaddizione [86] e di formazione di  $\beta$ -lattami [87].

- Metodi che sfruttano l'adsorbimento costituiscono una possibile strategia di immobilizzazione per ottenere un catalizzatore eterogeneo; poiché questa tecnica si basa solo su interazioni deboli come le forze di van der Waals o il legame a idrogeno, può portare ad un processo di funzionalizzazione poco stabile, che può facilmente causare una riduzione del *loading* della specie catalitica per interazioni con il solvente e/o il substrato. Nonostante ciò esistono diversi esempi in cui questa metodologia viene impiegata: essendo estremamente semplice e veloce da effettuare, può rappresentare un ottimo modo per condurre un rapido *screening* di specie catalitiche o leganti chirali, che possono essere adsorbiti, testati, e lavati creando efficienti cicli, ripetibili per specie diverse o in condizioni operative diverse [88].
- Anche interazioni elettrostatiche fra ioni possono essere sfruttate per funzionalizzare un supporto solido; la specie catalitica deve essere sintetizzata in modo tale da possedere una carica al suo interno e può quindi essere fatta aderire su un supporto di carica opposta, sia esso inorganico (come le zeoliti) o organico (come le resine a scambio ionico). Sebbene questa strategia di funzionalizzazione, esattamente come quella che sfrutta le interazioni deboli, possa portare ad una riduzione della quantità di specie supportata a causa delle interazioni competitive con altre specie cariche in soluzione, si è dimostrata utile in alcuni casi [89,90], grazie anche alla possibilità di poter generare (e successivamente rigenerare) il catalizzatore chirale *in situ*.

Esistono anche altri metodi (meno diffusi e di più recente sviluppo) per ottenere una specie catalitica eterogenea: un catalizzatore insolubile "*self-supported*" a base di rodio impiegato per reazioni di idrogenazione asimmetrica in flusso è stato creato per semplice reazione del complesso metallo-ligando con un apposito *linker*, senza la necessità di un ulteriore supporto solido [91] (Figura 5).

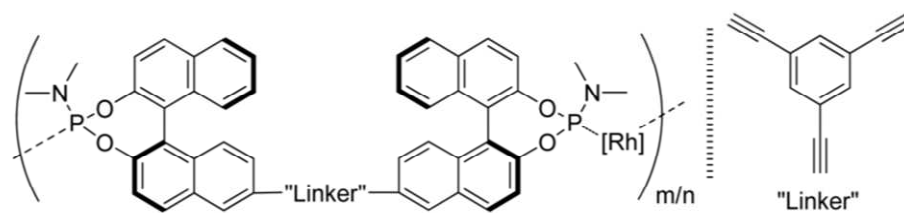


Figura 5 – Catalizzatore chirale “self-supported” a base di rodio

È stato inoltre dimostrato come sia possibile funzionalizzare le pareti interne di un microreattore mediante tecniche elettrochimiche con specie metalliche cataliticamente attive [92], o come un catalizzatore possa essere depositato su apposite strutture rigide all’interno di un reattore di dimensioni maggiori rispetto a quelle micro [93].

### 3.1.1 I monoliti

Col termine monolite (la cui etimologia deriva dal greco “*mono*” e “*lithos*”, singola-pietra) ci si riferisce ad un singolo blocco di materiale meso- o macro-poroso contenente una specie catalitica, attraverso il quale vengono fatti fluire reagenti e prodotti. Le dimensioni di queste strutture sono tali che uno o pochi monoliti sono in grado di riempire completamente il letto catalitico di un reattore; in questo risultano quindi totalmente opposti ai reattori a letto impaccato, formati da un numero elevatissimo di particelle.

I parametri principali attraverso i quali vengono caratterizzate queste strutture sono le dimensioni e la forma dei canali, il *loading* della specie catalitica e lo spessore delle pareti; queste caratteristiche possono essere variate facilmente in base all’uso al quale i monoliti sono destinati (che può essere sia sintetico che analitico).

La struttura interna di un monolite consente di ottenere un flusso più omogeneo se comparato con quello dei tradizionali reattori a letto impaccato, nei quali è dimostrata la formazione di canali preferenziali (definiti fenomeni di *channeling*), di zone di stagnazione e di *hot-spot*, il che porta ad un maggior controllo sul tempo di residenza e quindi ad un processo più efficiente [94]. Inoltre lo scheletro rigido di queste strutture evita le variazioni di volume (*swelling* e *shrinking*) del materiale impaccante e assicura una maggior resistenza meccanica della fase eterogenea, garantendo una specie catalitica più stabile nel tempo [95].

I monoliti possono essere costituiti da diversi materiali, tra i quali metalli, ceramiche, carbonio, silice o polimeri organici [96]; dal materiale, dalla destinazione d'uso e dalle dimensioni richieste dipende la tecnica con la quale un monolite può essere prodotto: monoliti di grosse dimensioni, impiegati soprattutto a livello industriale, vengono fabbricati per estrusione o per deposizione della specie catalitica: mentre la prima metodologia offre un elevato *loading* del catalizzatore (essendo del tutto assente un supporto rigido inerte), la seconda consente di accedere ad una funzionalizzazione più varia (Figura 6).

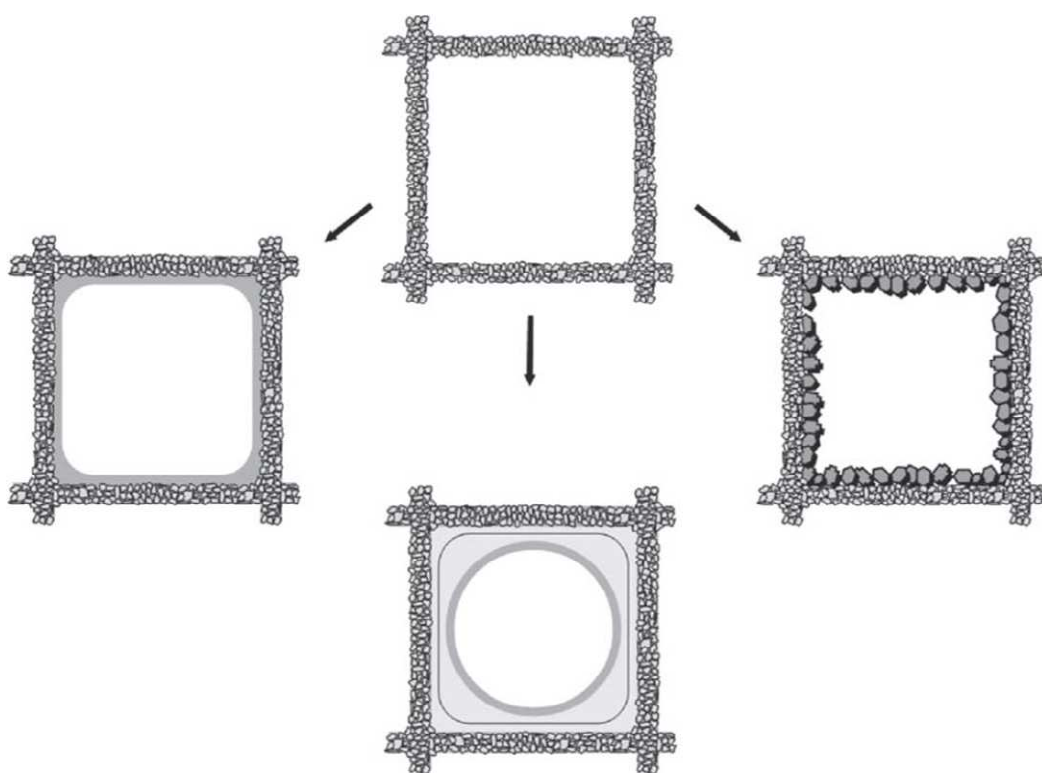


Figura 6 – Rivestimento dello scheletro di un monolite: rivestimento a singolo strato (sinistra), a strato multiplo (al centro) e attraverso al formazione di cristalli sulla superficie (a destra)

Monoliti impiegati invece per sintesi in chimica fine o con scopi cromatografici [97] (dove ovviamente non è presente alcuna specie catalitica) possono essere prodotti per polimerizzazione. In questo ambito una delle tecniche più diffuse è quella che viene chiamata “*molding*” e prevede che una soluzione omogenea di monomeri e *cross-linker* venga inserita

all'interno del reattore nel quale si desidera formare il monolite e, con l'ausilio di un promotore radicalico, venga fatto partire il processo di polimerizzazione, sia esso termico o fotoindotto.

I pori all'interno della struttura rigida sono ottenuti grazie all'aggiunta alla soluzione di partenza di agenti del tutto inerti nel processo di polimerizzazione (detti porogeni), che vengono rimossi una volta completato il processo. Le dimensioni dei pori costituiscono una delle principali caratteristiche di un monolite (poiché ne regolano le capacità di trasferimento di massa) e possono essere controllate agendo su diversi fattori, quali la temperatura di polimerizzazione, la natura dei porogeni e la quantità di agente di *cross-linking* [98]. Quando il processo di polimerizzazione inizia, le prime unità iniziano a reagire dando vita a specie di dimensioni via via maggiori (detti nuclei) la cui solubilità nei porogeni diminuisce progressivamente, mentre tendono ad essere comunque solvatati dalle molecole di monomero ancora in soluzione; la polimerizzazione procede poi attraverso la lenta precipitazione e aggregazione di queste unità fino alla formazione del monolite. Poiché tanto più cresce la temperatura, tanto più diminuisce la vita dell'iniziatore radicalico (per esempio per l'AIBN l'emivita passa da 37 ore a 55°C a 6 ore a 70°C), ne consegue che a temperature più elevate la velocità di polimerizzazione sarà maggiore e si formerà un numero maggiore di nuclei che andranno a competere l'un l'altro per le molecole di monomero rimaste: questo fa sì che cresca il numero di nuclei, ma che le loro dimensioni rimangano relativamente piccole: lo spazio interstiziale fra le varie particelle sarà quindi minore (poiché essendo più piccole si compatteranno meglio), dando vita a canali di dimensioni minori [99].

In maniera analoga la natura dei porogeni va ad influire sulle dimensioni dei canali interni di un monolite: come miscela di porogeni vengono infatti impiegati un "buon solvente" per i nuclei che si formano (come per esempio il toluene) e un "peggior solvente" (come l' 1-dodecanolo o il cicloesanololo); quando un nucleo si forma sarà più o meno solvatato da molecole di monomero a seconda che queste debbano competere o no con le molecole dei porogeni: aumentando quindi la quantità del porogeno con scarse qualità solventi, la concentrazione di monomero intorno ai nuclei sarà maggiore che nel resto della soluzione, favorendo il processo di polimerizzazione intorno ad essi. Si avrà così la formazione di meno nuclei di dimensioni maggiori piuttosto che un numero maggiore di nuclei a dimensioni ridotte: come detto in precedenza, più sono elevate le dimensioni dei nuclei, tanto maggiore sarà lo spazio fra di essi, e quindi le dimensioni dei pori [100].

La percentuale di agente di *cross-linking* influenza in maniera diretta la natura del polimero, e di conseguenza le dimensioni dei canali interni: è dimostrato come nuclei più o meno grandi con

elevato contenuto di agente *cross-linker* abbiano una scarsa tendenza ad aggregarsi, dando vita ad un materiale polimerico con ridotte dimensioni dei pori, ma con un'elevata area superficiale. Queste caratteristiche possono risultare molto utili qualora non si sia interessati alla permeabilità ai liquidi del polimero, ma piuttosto si intenda funzionalizzare la superficie esterna delle particelle [101].

Per quanto riguarda il tipo di monomeri e *cross-linker*, la tecnica del *molding* consente di impiegare un'ampia varietà di molecole con ogni tipo di gruppo funzionale (idrofilico (8,6), reattivo (5,2,7), nucleofilo (3), idrofobico (1,4), zwitterionico (9)), richiedendo semplicemente la presenza di un doppio legame perché la molecola possa partecipare al meccanismo di polimerizzazione (Figura 7). Sfruttando questi gruppi funzionali è quindi possibile effettuare quasi ogni tipo di derivatizzazione del monolite (*grafting*), cambiandone le caratteristiche di reattività chimica, alcune proprietà chimico-fisiche (come la polarità o lo swelling) e di adsorbimento di altre molecole; è possibile inoltre fornire capacità catalitiche al monolite stesso, sia attraverso il *grafting*, sia aggiungendo la specie catalitica opportunamente modificata alla soluzione dei monomeri prima del processo di polimerizzazione.

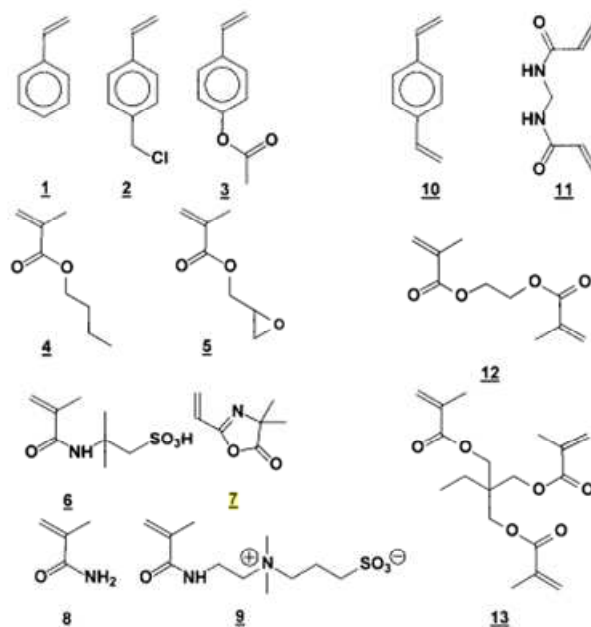


Figura 7 – Possibili unità monomeriche (1-9) e agenti di cross-linking (10-13) utilizzabili

## 4. L'organocatalisi

L'organocatalisi costituisce una delle tre branche principali della catalisi asimmetrica (insieme alla catalisi metallica e alla biocatalisi) e prevede l'uso di molecole organiche di piccole dimensioni per catalizzare reazioni di sintesi organica. Sebbene fosse noto sin dall'inizio del '900 che alcune molecole organiche (come ammine primarie e secondarie e loro sali) possedessero una potenziale attività catalitica [<sup>102,103</sup>], solo negli ultimi decenni questo settore della chimica è tornato in auge, forte sia dei vantaggi sintetici ad esso associati, sia dell'affinità con diversi punti cardine della *Green Chemistry*. L'impiego di organocatalizzatori consente infatti di eseguire reazioni chimiche in condizioni operative semplici (senza doversi preoccupare per esempio del contatto con l'aria o dell'umidità) e senza costi eccessivi: poiché queste molecole sono spesso di origine naturale o comunque derivano da fonti naturali, hanno fra le loro caratteristiche sia quella di essere facilmente accessibili a basso costo, sia quella di essere attive in condizioni blande (pressione e temperatura ambiente) e in solventi ecocompatibili (come acqua, etanolo, ecc). Inoltre, poiché la capacità catalitica deriva dalla struttura stessa della molecola, gli organocatalizzatori consentono di ottenere processi efficienti (sia per resa che stereoselettività) senza la presenza di ioni metallici: è quindi possibile evitare lunghi processi di purificazione e il costoso smaltimento dei loro residui, il che rende questo tipo di catalisi molto interessante anche dal punto di vista applicativo su scala industriale oltre che per la ricerca in laboratorio. Un ulteriore vantaggio derivante dall'impiego di organocatalizzatori asimmetrici risiede nella varietà di modi in cui queste molecole si attivano e nella semplicità della loro struttura, fornendo ai chimici la possibilità di effettuare un'ampia serie di processi sintetici estremamente efficienti e di studi meccanicistici relativi al loro funzionamento e alle loro capacità stereoselettive.

Generalmente, all'interno dell'organocatalisi, si distinguono dei sottogruppi, a seconda del modo di attivazione della specie catalitica (che si formi cioè un'iterazione covalente o non covalente catalizzatore-substrato) e della sua natura chimica (acido o base di Lewis o acido o base di Brønsted); nonostante questo, è importante sottolineare come, e qui risiede un ulteriore aspetto positivo degli organocatalizzatori, queste molecole agiscano spesso attraverso meccanismi sia di tipo covalente che non covalente, o che contengano al loro interno gruppi funzionali diversi (catalizzatori polifunzionali). Queste possibili differenze strutturali, unite al fatto che trattandosi di molecole organiche gli organocatalizzatori siano facilmente modificabili a seconda delle esigenze, hanno reso possibile il loro utilizzo in un'ampia serie di reazioni

chimiche, esaltando, oltre a tutti i vantaggi descritti in precedenza, la vasta applicabilità di questo tipo di catalisi. Tra i principali impieghi possibili, negli ultimi anni, sono riportati processi organocatalizzati per reazioni di Friedel-Craft [104], reazioni di riduzione [105], epossidazione [106], reazioni di addizioni di aldeidi a nitroalcheni [107], reazioni fotochimiche [108] e molte altre [109].

#### 4.1 La prolina come organocatalizzatore

Rientrano nell'ambito dell'amminocatalisi quelle reazioni organiche catalizzate da ammine primarie e secondarie che avvengono attraverso due possibili meccanismi: uno che sfrutta la formazione di uno ione imminio (specie più reattiva del corrispettivo carbonilico perchè abbassa il livello energetico del LUMO del sistema) che facilita processi come le reazioni di cicloaddizione e di addizione nucleofila, l'altro che prevede la formazione di un intermedio di tipo enamminico (formato per deprotonazione dello ione imminio, alza il livello energetico dell'HOMO), capace di reagire con vari elettrofili e di dare reazioni pericicliche. Questo tipo di reazioni effettuate in laboratorio, non sono altro che processi biomimetici di importanti enzimi come quelli appartenenti alla classe delle aldolasi di tipo I (catalisi via enammina) e chetoacidi decarbossilasi (catalisi via ione imminio).

Sebbene vi siano in letteratura esempi risalenti ai primi anni '70 del secolo scorso [110,111], il campo dell'amminocatalisi asimmetrica è oggetto di crescente interesse da parte dei chimici organici da quando, all'inizio degli anni 2000, sono stati riportati esempi di reazioni di condensazione aldolica intermolecolari [112,113], reazioni di Mannich [114] e reazioni di Diels-Alder catalizzate da (L)-prolina.

Questo amminoacido ha dimostrato di poter essere impiegato come ligando nella catalisi asimmetrica mediata da metalli di transizione, come modificatore chirale in processi eterogenei di idrogenazione, ma soprattutto di poter costituire da solo un efficiente organocatalizzatore per reazioni di sintesi asimmetrica. Oltre ad alcuni vantaggi di tipo economico (la prolina è una molecola chirale molto abbondante, disponibile in entrambe le sue forme enantiomeriche), da un punto di vista chimico questo amminoacido si presenta con una struttura bifunzionale, in cui il gruppo carbossilico e il gruppo amminico possono agire in maniera concertata. Inoltre la struttura ciclica dell'anello pirrolidinico e il gruppo amminico secondario (con una  $pK_a$  maggiore rispetto agli altri amminoacidi) le conferiscono una particolare reattività, che le



consente di poter formare una specie contenente uno ione imminio o un'enammina con composti carbonilici in maniera più efficiente di altri amminoacidi o di altre ammine cicliche come la piperidina [<sup>115</sup>]; anche il gruppo carbossilico partecipa attivamente al meccanismo di reazione, fungendo da co-catalizzatore come acido di Brønsted. Grazie a queste caratteristiche la prolina risulta capace di mimare le trasformazioni enzimatiche in modo efficiente ed altamente stereoselettivo.

Dato l'enorme interesse riscosso negli ultimi anni dall'organocatalisi e il vasto numero di reazioni chimiche che possono essere catalizzate dalla prolina, sono stati compiuti numerosi studi atti a migliorare l'efficienza di questi processi: agire sulla natura del catalizzatore si è dimostrata in molti casi una conveniente strategia. In letteratura sono riportati numerosi esempi di molecole mimetiche della prolina che, pur mantenendo una struttura chimica di base simile, hanno dimostrato di migliorarne le prestazioni (di resa, regio- o stereoselettività) per una specifica reazione, o in particolari condizioni (come nel passaggio da solventi organici a solventi acquosi) o che sono risultate più stabili nel tempo; altri organocatalizzatori mimetici della prolina, chimicamente progettati ad-hoc, sono stati utilizzati per funzionalizzare specifici supporti solidi, oppure hanno dimostrato di poter fornire una selettività (diastereo- o enantioselettività) invertita rispetto ai precursori (attraverso l'aggiunta di gruppi ingombranti e/o l'inversione di un centro stereogenico), ampliando così il numero di prodotti di sintesi a disposizione dei chimici organici.

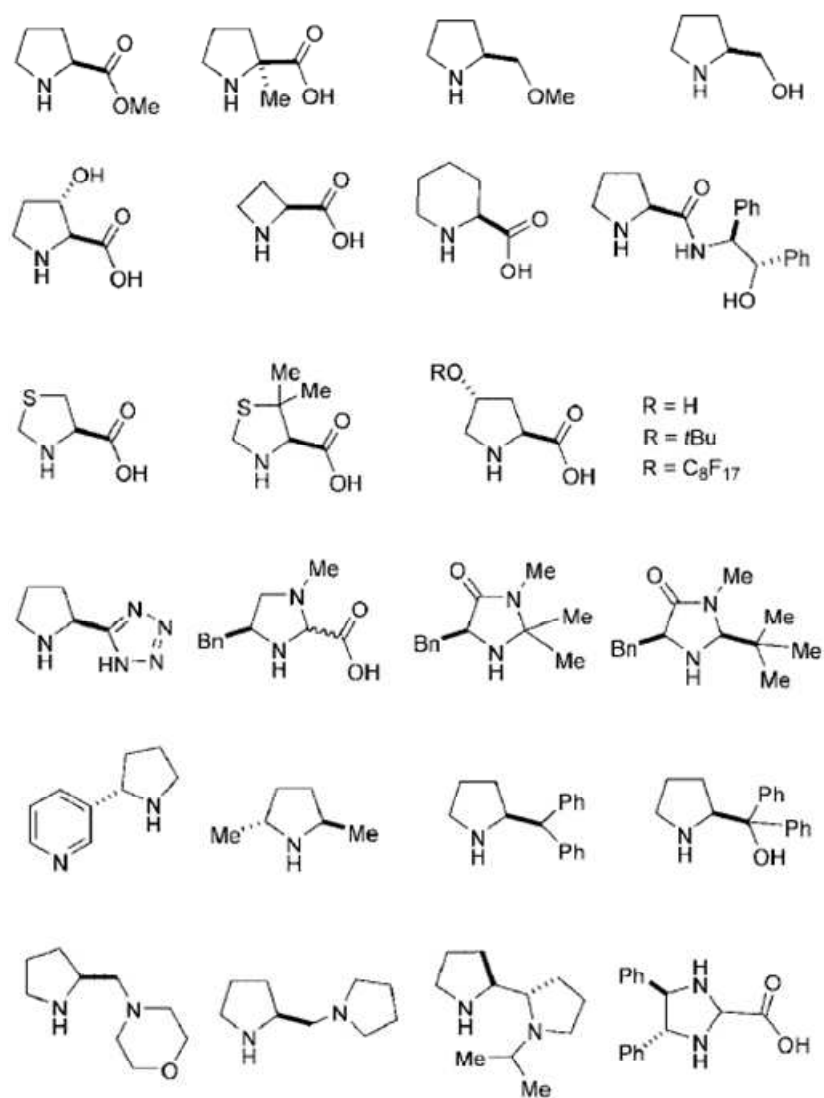


Figura 8 – Alcuni dei catalizzatori mimetici della prolina noti in letteratura

### 4.1.1 La reazione di condensazione aldolica

La reazione di condensazione aldolica fra due composti carbonilici è un'importante reazione per la formazione di un legame C-C, sfruttata sia in chimica che in biologia; prima dell'avvento dell'organocatalisi veniva generalmente eseguita attraverso la formazione di enolati (o equivalenti) ed un'eventuale controllo stereoselettivo avveniva mediante l'ausilio di complessi metallici.

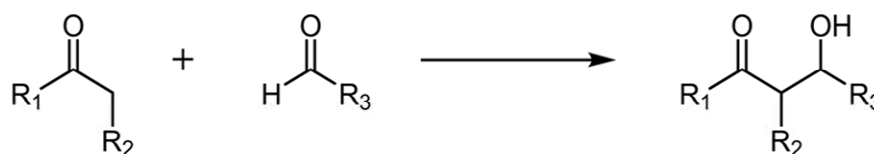
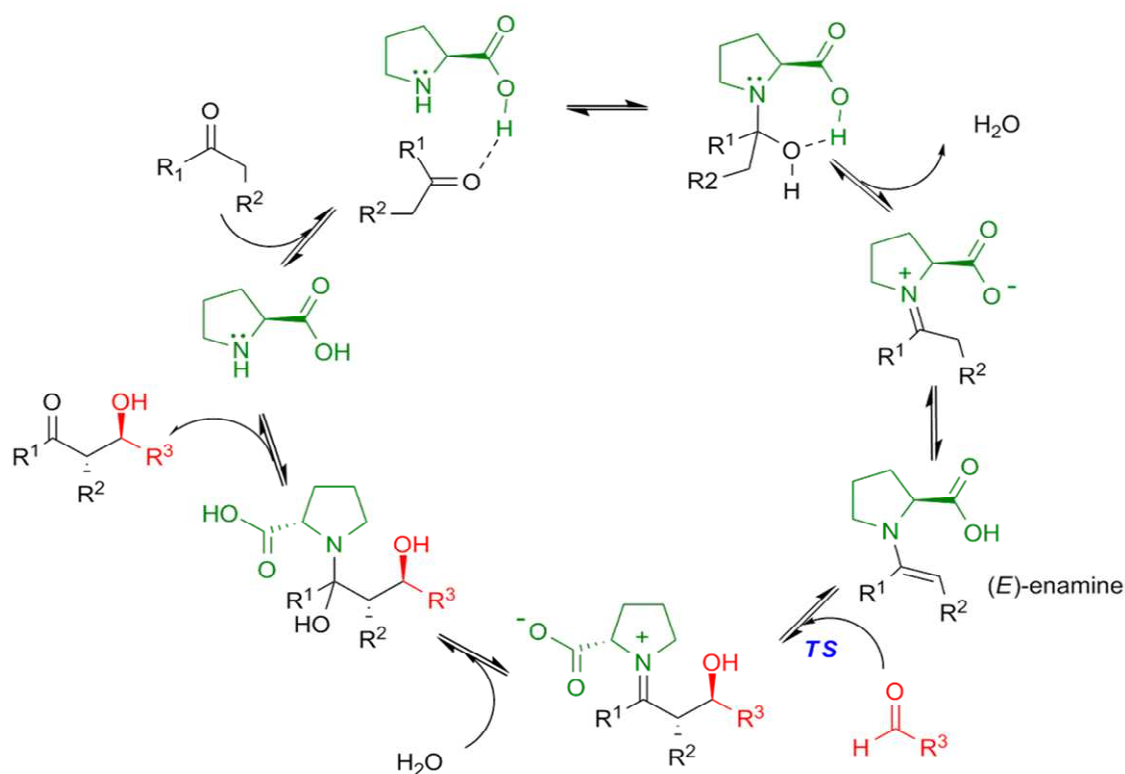


Figura 9 – Reazione di condensazione aldolica: schema generale

Come accennato in precedenza, il primo esempio di reazione di condensazione aldolica asimmetrica mediata da prolina fu condotto da Hajos–Parrish–Eder–Sauer–Wiechert nel 1971: si trattava di un processo intramolecolare atto a creare un intermedio utile alla sintesi di composti steroidei di interesse farmacologico. Sebbene questa reazione sia stata utilizzata abbondantemente nei decenni a seguire per la *total-synthesis* di diversi prodotti naturali [116], il suo meccanismo è stato scarsamente investigato per anni; solo negli ultimi decenni sono state condotte indagini meccanicistiche su questo processo: molti meccanismi di reazione, compreso quello dei primi autori, sono stati proposti e successivamente esclusi [117,118,119], fino a giungere a quello suggerito da List, Lerner e Barbas III (Figura 10), e successivamente confermato da Houk e collaboratori attraverso calcoli meccanicistici [120], che prevede la formazione di una specie enamminica in modo simile a quanto avviene con le aldolasi di tipo I.



**Figura 10 – Meccanismo catalitico mediato da L-Prolina per la reazione di condensazione aldolica fra un chetone e un'aldeide**

Questo meccanismo prevede l'iniziale coordinazione, attraverso un legame ad idrogeno, di una molecola di chetone da parte del gruppo carbossilico della L-prolina e successivamente la formazione di un addotto prolina-chetone; attraverso l'eliminazione di una molecola di acqua si ha poi la formazione di uno ione imminio, che risulta in equilibrio con la corrispettiva enammina. È proprio quest'ultima specie ad effettuare un attacco nucleofilo sull'aldeide (il cui processo di avvicinamento è coordinato dal legame ad idrogeno tra l'ossigeno del carbonile aldeidico e l'idrogeno del carbossile della prolina) e a generare lo stato di transizione nel quale si determina la stereoselettività della reazione. È opportuno evidenziare come diversi fattori contribuiscano all'elevata capacità stereoselettiva dell'organocatalizzatore in questo passaggio: nel passaggio da ione imminio ad enammina, l'(E)-enammina risulta favorita rispetto a quella a configurazione di tipo (Z) per ingombro sterico e, per lo stesso motivo, la conformazione *anti* risulta favorita rispetto a quella *syn* (Figura 11).

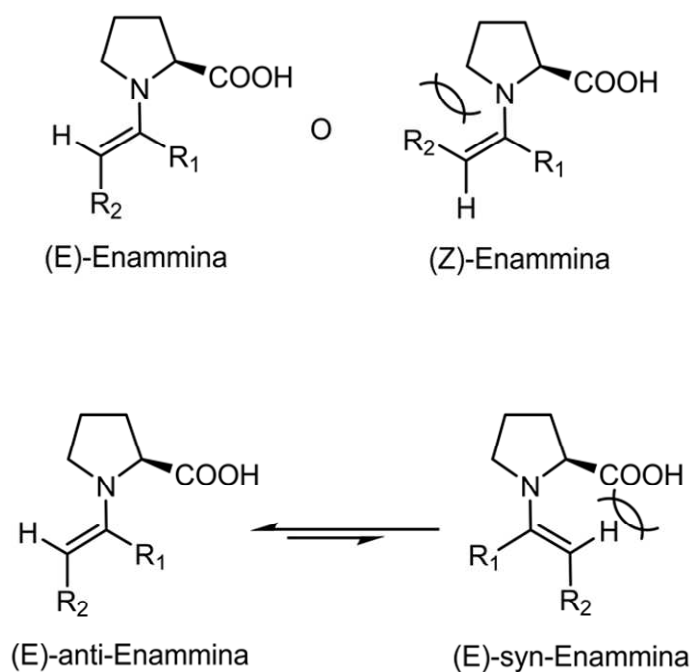


Figura 11 – Formazione dell’enammina in una specifica conformazione: (E)-anti-enammina

L’aldeide si avvicina quindi all’enammina per formare lo stato di transizione, coordinata dal gruppo carbossilico della L-prolina: essendo questo gruppo funzionale legato all’anello pirrolidinico su un carbonio chirale, l’avvicinamento avverrà esclusivamente su una delle due facce dell’organocatalizzatore; anche per quanto riguarda l’aldeide entrante, l’attacco avverrà preferenzialmente su una delle due facce (quella *re*), così da disporre, nello stato di transizione, il suo sostituito in posizione equatoriale, minimizzando l’interazione sterica (Figura 12). È la precisa combinazione di questi fattori che definisce la geometria dello stato di transizione e che porta quindi da una parte alla formazione preferenziale del diastereoisomero *anti* e dell’altra determina l’elevata capacità di stereoinduzione da parte dell’organocatalizzatore.

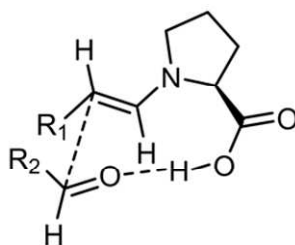


Figura 12 – Stato di transizione del processo catalitico

Il ciclo catalitico si chiude poi attraverso la reintroduzione di una molecola d'acqua, la successiva formazione del prodotto e il ripristino della molecola di L-prolina nel suo stato iniziale.

Un'alternativa a questo modello, proposta nel 2007 da Seebach [121], prevede che il ruolo chiave nel meccanismo di reazione sia rivestito da una specie ossazolidinonica invece che dall'enammina (Figura 13).

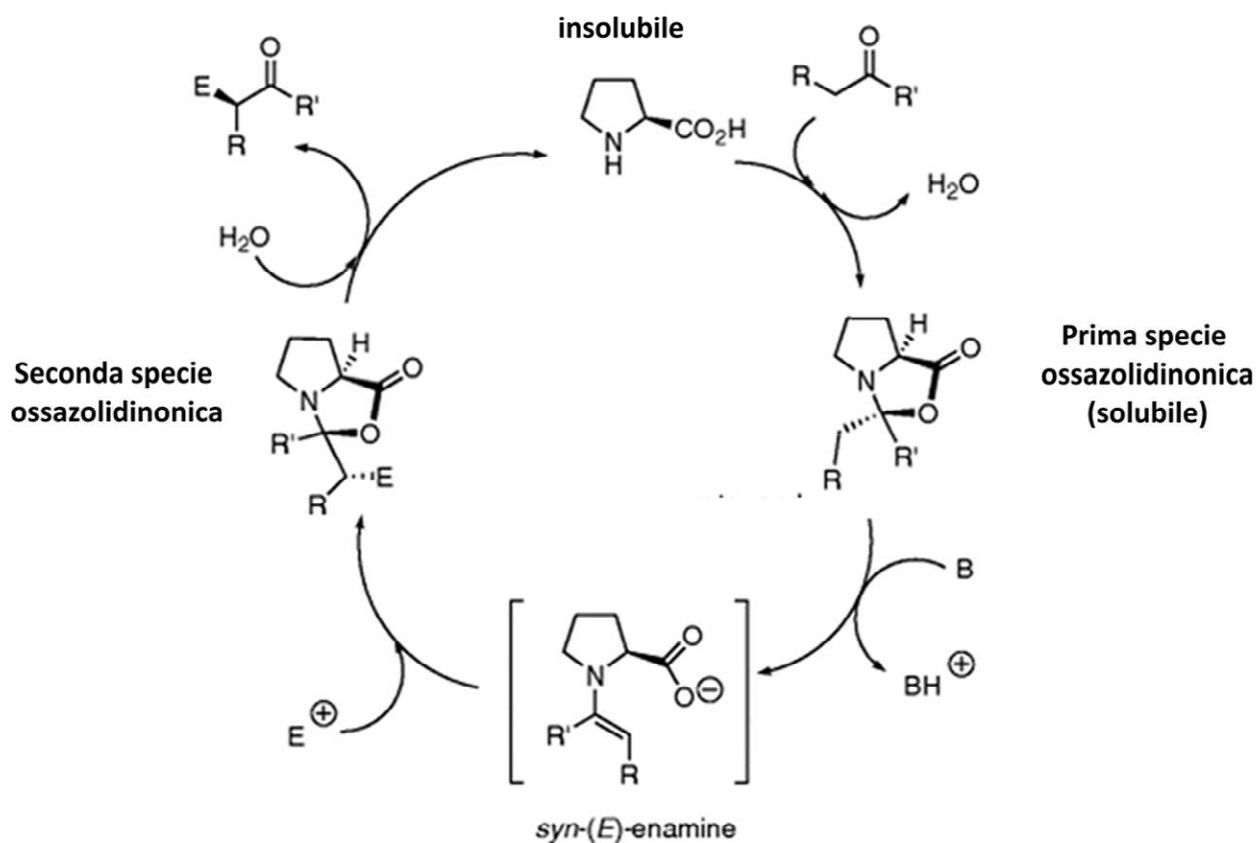


Figura 13 – Meccanismo di reazione proposto da Seebach nel 2007

In questo meccanismo di reazione, che si prevede avvenire in un solvente organico, si ipotizza la formazione iniziale di un ossazolidinone tra la prolina e il composto carbonilico con l'eliminazione di una molecola d'acqua: questa nuova specie dovrebbe contribuire a portare la prolina (altrimenti scarsamente solubile) in soluzione. Questo passaggio è seguito dalla lenta trasformazione della specie ossazolidinonica in un intermedio enamina carbossilato attraverso un processo di  $\beta$ -eliminazione con una base esterna; successivamente è previsto che avvenga una trans-addizione al doppio legame dell'enammina indotta da un elettrofilo con la formazione di un  $\gamma$ -lattone (in questo passaggio si determina la stereoselettività della reazione). Il ciclo

catalitico si chiude quindi con il *cleavage* idrolitico dell'ossazolidinone (con la reintroduzione nel ciclo di una molecola d'acqua) che porta alla rigenerazione della molecola di prolina nel suo stato iniziale e alla formazione del prodotto. In questo modello l'attivazione intramolecolare dell'elettrofilo da parte dell'acido di Brønsted prevista nel modello di Houk-List, è rimpiazzata da un trasferimento protonico esterno da parte di un solvente protico o da parte della prolina; anche la base necessaria per la generazione dell'enammina carbossilato può essere di nuovo derivante o dal solvente o dalla prolina stessa. La formazione di una specie ossazolidinonica come quella ipotizzata da Seebach, era stata prevista anche da Houk e List, ma era stata etichettata come una reazione parallela il cui unico prodotto era una specie indesiderata e soprattutto inattiva. Sebbene ad oggi l'esistenza della specie ossazolidinonica sia stata ampiamente dimostrata da indagini spettroscopiche, è in fase di studio e di dibattito se questa sia l'intermedio chiave nel meccanismo di azione della prolina (non solo nella reazione di condensazione aldolica, ma anche in altri processi) o se la catalisi proceda attraverso un meccanismo mediato da una specie enamminica. Molti studi (spettroscopi come NMR e raggi-X, cinetici e computazionali) sono stati condotti e sono in corso d'opera: da alcuni di essi emerge come il meccanismo proposto da Seebach sia più attendibile, mentre altri asseriscono che quest'ultimo modello non giustifichi efficacemente la diastereoselettività del processo di condensazione aldolica e di altre reazioni; alcuni identificano la specie ossazolidinonica come "in competizione" con quella enamminica, altri come un semplice precursore [122].

Per quanto riguarda invece le specie coinvolte, la reazione di condensazione aldolica può essere eseguita sia fra un chetone e un'aldeide (dove il chetone funge da donatore e l'aldeide da accettore), portando alla formazione di un  $\beta$ -idrossichetone, sia fra due aldeidi (con la formazione di una  $\beta$ -idrossialdeide): in questo caso esistono esempi sia di reazioni *self-aldol* (dove si impiega la stessa aldeide sia come accettore che come donatore), sia di *cross-aldol* (fra aldeidi diverse) [123,124,125]. In quest'ultimo caso è necessario aggiungere lentamente la specie donatrice all'ambiente di reazione, così da evitare il processo di dimerizzazione indesiderato [126]. In linea generale, aldeidi che tendono facilmente a dare auto-condensazione non possono essere usate come specie accettrici, mentre risultano più funzionali a questo scopo aldeidi  $\alpha,\alpha$ -disostituite, aldeidi con un sostituente ingombrante e aldeidi non enolizzabili (come le arilaldeidi). In letteratura esistono anche esempi in cui vengono usati due chetoni per effettuare reazioni di *cross-aldol*, ma questi processi risultano più rari e più difficili (da un punto di vista di reattività e stereocontrollo) dei corrispettivi che impiegano aldeidi come specie accettrici [127,128].

Oltre ad eventuali reazioni di dimerizzazione indesiderate che si possono avere in alcuni casi (in quantità variabile a seconda della natura dell'acceptore e del donatore), il principale processo secondario che può avvenire durante la reazione di condensazione aldolica, è la disidratazione del prodotto desiderato, con la formazione di un chetone (o un'aldeide)  $\alpha,\beta$ -insaturo (Figura 14).

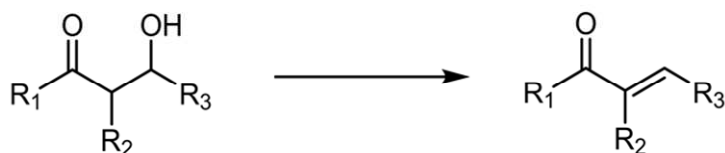


Figura 14 – Formazione del prodotto secondario di disidratazione

Un'altra problematica riguardante la reazione di condensazione aldolica (e più in generale ogni reazione che coinvolga la prolina e una specie aldeidica), è la disattivazione del catalizzatore attraverso la formazione irreversibile di una specie ossazolidinonica con aldeidi elettron-povere come la *p*-nitrobenzaldeide: la molecola di prolina può infatti formare una specie contenente uno ione imminio esattamente come fa nel corso del ciclo catalitico; in seguito ad una successiva reazione di decarbossilazione e ad un processo di cicloaddizione dipolare di un'ulteriore molecola di *p*-nitrobenzaldeide si può giungere alla disattivazione dell'organocatalizzatore (Figura 15). Si può ovviare a questo problema attraverso l'impiego di derivati della *L*-prolina incapaci di formare la specie ossazolidinonica con l'aldeide, come il derivato tetrazolico, che riesce a riprodurre gli ottimi valori di resa e stereoselettività del suo precursore risultando più stabile ed efficace nel tempo [129].

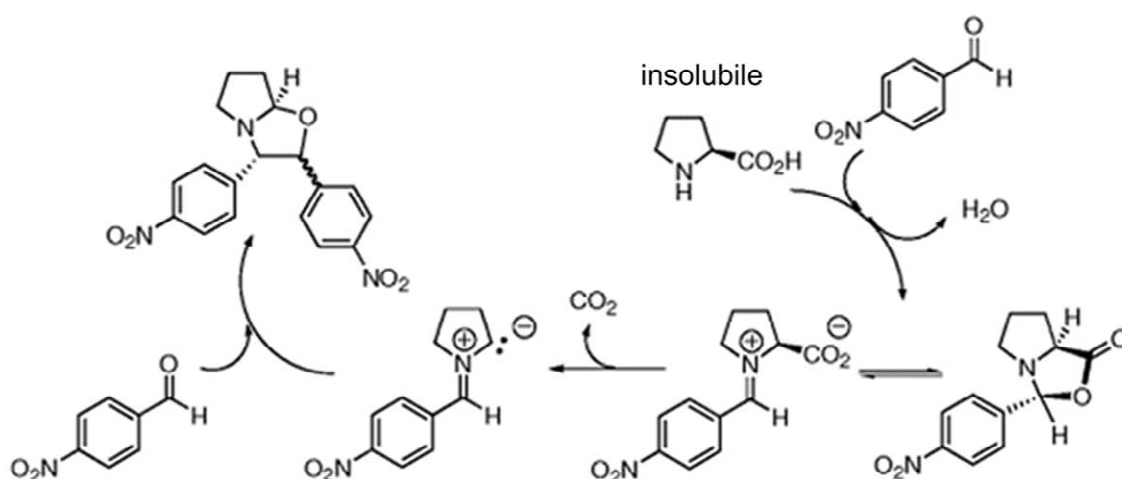


Figura 15 – Processo di disattivazione della *L*-Prolina con *p*-nitrobenzaldeide



### 4.1.2 La reazione di Mannich

La reazione di Mannich è un importante processo che consente, contemporaneamente alla formazione di un legame C-C, l'introduzione di un atomo di azoto, il che può risultare estremamente utile nella sintesi di composti di interesse biologico. La reazione avviene fra una un composto carbonilico enolizzabile (donatore), un'ammina e un'aldeide; l'enolato si può formare *in-situ* (reazione diretta) o può essere pre-formato (reazione indiretta). Anche l'intermedio imminico che si crea fra l'aldeide e l'ammina può essere generato *in-situ* o precedentemente.

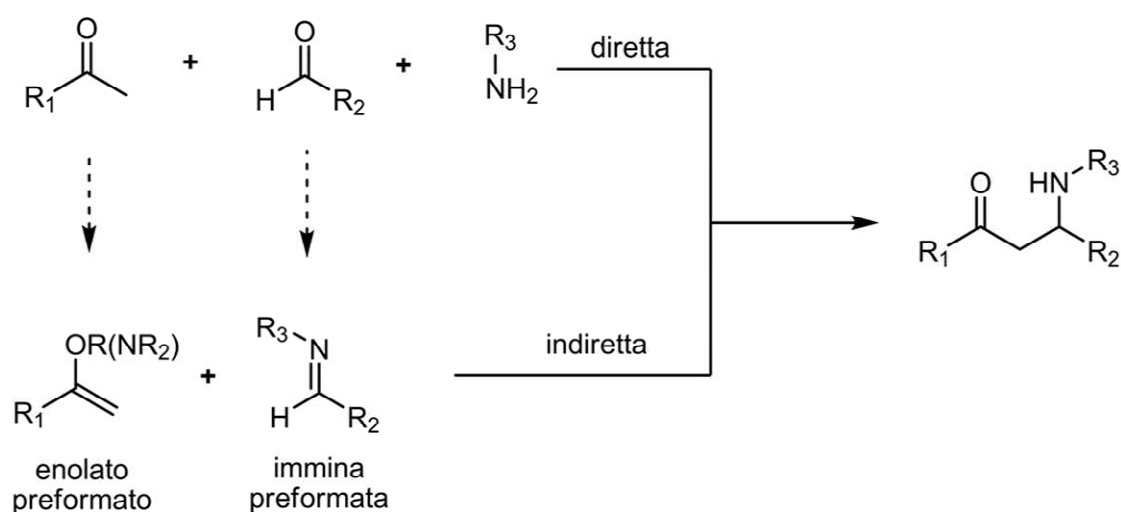


Figura 16 – Reazione di Mannich: schema generale

La prolina, in modo del tutto analogo a quello della reazione di condensazione aldolica, è in grado di catalizzare questo processo stereoselettivamente, senza la necessità di pre-formare alcun reagente; il primo esempio di questa reazione è stato riportato in letteratura nel 2000 da List [<sup>130</sup>]. Studi successivi effettuati dallo stesso gruppo di ricerca hanno dimostrato che sia chetoni che aldeidi enolizzabili possano essere impiegati come specie donatrici per eseguire questa reazione prolina-catalizzata con ottimi risultati sia dal punto di vista della resa che della stereoselettività [<sup>131</sup>]; ovviamente nel caso in cui si utilizzi un chetone il prodotto sarà un β-amminochetone, nel caso in cui si impieghi un'aldeide si otterrà una β-amminoaldeide. La reazione è stata effettuata con ottimi risultati utilizzando un ampio numero di aldeidi come substrato; molto interessante, da un punto di vista biologico, è l'impiego dell'etil-gliossalto, che porta alla formazione di un α-amminoacido esterificato sul gruppo carbossilico [<sup>132</sup>].

La reazione di Mannich catalizzata da prolina porta alla formazione preferenziale del prodotto di tipo *syn* (a differenza della condensazione aldolica che dava l'addotto *anti* come specie maggioritaria): l'ipotesi meccanicistica sviluppata da List e Houk ipotizza la formazione di una specie enamminica tra la prolina e la specie donatrice in maniera del tutto analoga a quando previsto per la reazione di condensazione aldolica (quindi una (E)-*anti*-enammina). Per quanto riguarda invece l'immina (che si forma fra l'ammina e l'aldeide), si presuppone che questa assuma preferenzialmente una conformazione di tipo *trans* (perchè più stabile) dando vita ad un intermedio nel quale viene attaccata preferenzialmente la sua faccia *si* (Figura 17); questo posizionamento favorisce infatti il trasferimento del protone dal gruppo carbossilico della prolina all'atomo di azoto dell'immina (il che aumenta l'elettrofilicità dell'immina) e porta alla formazione di un prodotto di tipo *syn*.



Figura 17 – Stato di transizione proposto per la reazione di Mannich

Una delle principali caratteristiche di un organocatalizzatore è che la sua struttura possa essere studiata e progettata come quella di qualsiasi altra molecola organica: Barbas III e colleghi hanno ottenuto un importante risultato nell'ambito della reazione di Mannich (e dell'organocatalisi in generale) ideando un derivato della prolina con una struttura tale da catalizzare la formazione preferenziale del prodotto *anti* [133]. Inserendo un gruppo metilico in posizione 5 dell'anello pirrolidinico e spostando il gruppo carbossilico in posizione 3, viene favorita la formazione dell'enammina di tipo *syn*, portando quindi, in ultima analisi, all'ottenimento del prodotto a configurazione invertita (Figura 18); è da notare come il gruppo metilico sia in *trans* rispetto al gruppo carbossilico, così da non interferire stericamente nella sua funzione di determinazione della faccia di attacco da parte dell'enammina.

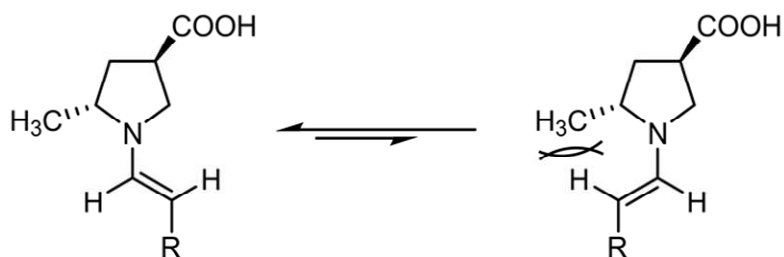
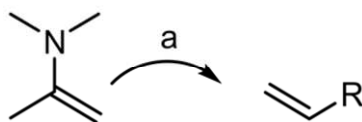


Figura 18 – Formazione preferenziale della (E)-*syn*-enammina

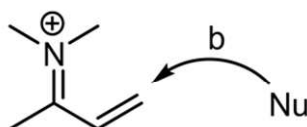
### 4.1.3 La reazione di Michael

La reazione di Michael è un altro importante processo per la formazione di legami C-C; può procedere attraverso due diversi meccanismi:

- a) un chetone può essere attivato attraverso la formazione di una specie enamminica e fungere da donatore



- b) un composto carbonilico  $\alpha,\beta$ -insaturo può essere attivato attraverso la formazione di uno ione imminio e subire un attacco nucleofilo (fungendo quindi da accettore)



Uno dei modi più comuni per eseguire la reazione di Michael era attraverso la formazione di uno ione imminio, impiegando aldeidi  $\alpha,\beta$ -insature come substrati e avvalendosi dell'ausilio di ioni metallici [<sup>134</sup>]; nel 2001, List e collaboratori hanno presentato il primo esempio di questa reazione organocatalizzata da L-prolina attraverso un meccanismo via enammina [<sup>135</sup>]; il processo, che prevedeva in una fase iniziale l'impiego di chetoni, esteri e ammidi  $\alpha,\beta$ -insature, era stato eseguito con scarsi risultati sia dal punto di vista della resa che della stereoselettività. Impiegando invece specie più reattive (come nitro-olefine) sono stati ottenuti prodotti con rese fortemente incrementate: sebbene siano rimasti bassi i livelli di enantioselettività, il processo si è dimostrato molto interessante per i chimici organici, oltre che per la buona resa e per la

semplicità di esecuzione, perché in grado di generare  $\gamma$ -nitrochetoni, specie estremamente utili per sintetizzare composti di interesse farmaceutico come pirrolidine variamente sostituite [136]. Il meccanismo proposto prevede uno stato di transizione simile a quello delle altre reazioni prolina-catalizzate attraverso la formazione di una specie enamminica (Figura 19).

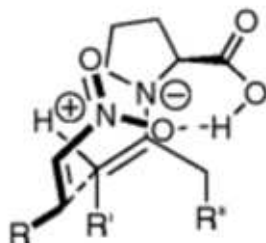


Figura 19 – Stato di transizione per la reazione di Michael

Negli ultimi anni, con l'aumentare del numero degli studi condotti su questa reazione e con lo sviluppo di nuovi organocatalizzatori mimetici della prolina, l'efficienza di questo processo è stata ulteriormente migliorata rispetto ai primi tentativi di List, soprattutto dal punto di vista dell'enantioselettività; numerosi esempi sono riportati in letteratura, compresi interessanti processi domino [137,138] e reazioni di Michael in ambiente acquoso [139,140].

#### 4.1.4 La reazione di $\alpha$ -amminazione

La molecola di prolina, reagendo con composti carbonilici, è in grado di generare una specie enamminica che a sua volta può reagire con composti elettrofilici come aldeidi, immine o olefine (come avviene per esempio nelle reazioni di Michael e di Mannich); un'altra specie elettrofila in grado di subire un attacco da parte dell'intermedio enamminico può essere un dialchil azadicarbossilato, generando un legame C-N sull'atomo di carbonio adiacente a quello carbonilico: questo processo prende il nome di reazione di  $\alpha$ -amminazione (Figura 20). Il notevole interesse riscosso da questa reazione nel corso degli anni è facilmente spiegabile poiché garantisce una facile e rapida sintesi di  $\alpha$ -amminoacidi (naturali e non), ossazolidinoni e  $\alpha$ -idrazinoacidi (composti biologicamente attivi con affetti strutturali e metabolici [141]).

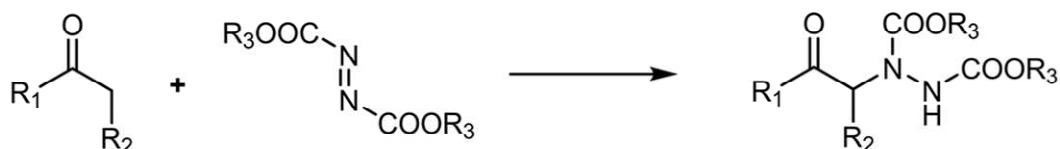


Figura 20 – Reazione di  $\alpha$ -amminazione: schema generale

Il primo esempio di reazione di  $\alpha$ -amminazione asimmetrica catalizzata da L-prolina è stato presentato nel 2002 da List [<sup>142</sup>], il quale ha dimostrato come sia possibile eseguire questo processo in maniera efficiente (sia per resa che per stereoselettività) impiegando come substrato aldeidi sia lineari che ramificate.

Poiché i prodotti di  $\alpha$ -amminazione tendono facilmente a racemizzare, vengono comunemente trattati con NaBH<sub>4</sub> immediatamente dopo la loro formazione, così da ottenere il corrispondente 2-idrazino alcol e in modo tale da preservarne l'informazione stereogenica.

Anche i chetoni possono essere impiegati come substrati per reazioni di  $\alpha$ -amminazione: diversi esempi hanno mostrato come sia possibile eseguire questo processo con ottimi risultati dal punto di vista della resa, della stereoselettività e anche della regioselettività (nel caso di chetoni asimmetrici la reazione procede quasi esclusivamente sul carbonio più sostituito); prodotti derivanti da chetoni hanno inoltre dimostrato di essere meno soggetti al processo di racemizzazione [<sup>143</sup>].

Il meccanismo di reazione proposto prevede, in modo del tutto simile alle altre reazioni catalizzate da L-prolina, che l'elettrofilo venga coordinato grazie al gruppo carbossilico dell'organocatalizzatore, favorendo l'attacco preferenzialmente da una delle due facce dell'enammina (Figura 21-(a)). Questo modello è supportato dai risultati ottenuti impiegando derivati prolinici con sostituenti ingombranti sul gruppo carbossilico (o molecole con il gruppo carbossilico salificato con l'impiego di una base): in questi casi è stata osservata la formazione un centro stereogenico a configurazione invertita. Questo risultato è dovuto alla sostituzione dell'attrazione derivante dal legame ad idrogeno con un preponderante “*shielding*” sterico (Figura 21-(b)).

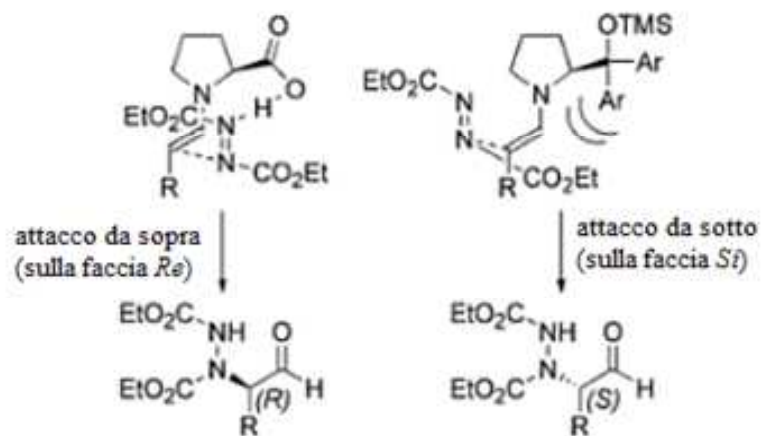


Figura 21 – Differenti stati di transizione per la reazione di  $\alpha$ -amminazione

## 4.2 Catalisi via N-eterociclocarbeni

I carbeni sono composti neutri contenenti un atomo di carbonio bivalente circondato da sei elettroni di valenza; mentre quattro elettroni sono impiegati in legami di tipo  $\sigma$ , due di essi restano sull'atomo centrale e possono disporsi in maniera diversa, così da formare o uno stato di singoletto o uno di tripletto. Nel primo caso i due elettroni risultano accoppiati nell'orbitale molecolare a più alta energia (HOMO)  $\sigma$  (con l'orbitale  $p_\pi$  che rimane vuoto), mentre nel secondo caso sono i due orbitali  $p_x$  e  $p_y$  degeneri ad essere occupati ciascuno da un elettrone.

Poiché i carbeni non rispettano la regola dell'ottetto, risultano specie estremamente reattive; i carbeni nel loro stato di singoletto possono però essere stabilizzati sia da un punto di vista cinetico attraverso l'introduzione di un sostituente ingombrante in posizione  $\alpha$  al centro carbenico, sia da un punto di vista termodinamico grazie all'interazione degli orbitali  $\sigma$  e  $p_\pi$  con opportuni sostituenti: se da una parte la presenza di atomi elettrone-attrattori vicini al carbonio carbenico stabilizza l'orbitale  $\sigma$  riducendone la densità elettronica (e quindi il carattere nucleofilo), dall'altra doppietti di non legame su eventuali eteroatomi (quali O, S, N) aumentano la densità elettronica sull'orbitale  $p_\pi$ , riducendone il carattere elettrofilo [144].

Sebbene l'esistenza dei carbeni sia nota sin dai primi del '900 [145], a causa della loro reattività sono stati a lungo considerati soltanto come intermedi di reazione [146]; nel periodo a cavallo fra gli anni '80 e '90, grazie al lavoro di Bertrand [147] e Arduengo [148], vengono riportati i primi esempi di carbeni stabili, nella struttura di N-eterociclocarbeni (NHCs). I principali rappresentanti di questa categoria di composti sono i tiazolideni (a), i triazolideni (b), gli imidazolilideni (c) e gli imidazolinilideni (d) (Figura 22).

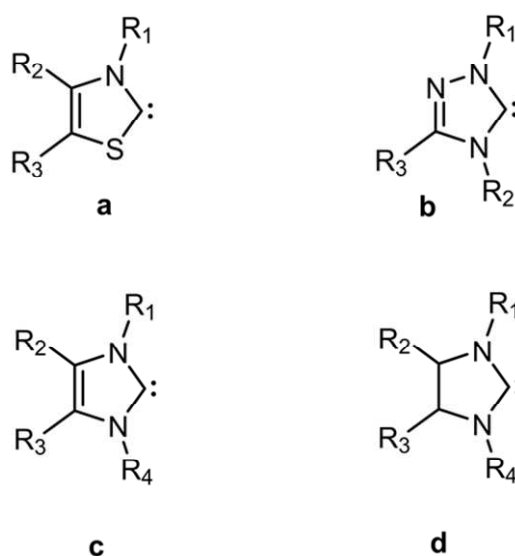


Figura 22 – Principali categorie di N-eterociclocarbeni

Dal momento della loro scoperta, questa classe di organocatalizzatori ha assunto un'enorme importanza per i chimici, grazie alle loro peculiari caratteristiche: se da una parte le loro proprietà di forti  $\sigma$ -donatori ne consentono l'impiego come leganti in una vasta serie di processi metallo-catalizzati <sup>[149]</sup>, dall'altra la loro struttura chimica consente di svolgere loro stessi il ruolo di organocatalizzatori. È stato infatti dimostrato come la tiamina (o vitamina B1), un importante cofattore enzimatico contenente un anello tiazolico (Figura 23), riesca a promuovere processi chimici grazie alla formazione di una specie carbenica <sup>[150]</sup>: tra questi, per esempio, ci sono le reazioni di acilazione nucleofila, catalizzate dall'enzima transchetolasi grazie alla presenza di questo cofattore nel suo sito attivo. Gli NHCs, come altri organocatalizzatori, non sono quindi altro che molecole di sintesi in grado di mimare l'attività di enzimi naturali.

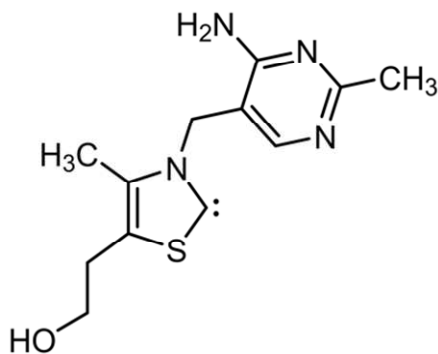


Figura 23 – Struttura chimica della tiamina

Sebbene la buona stabilità degli NHCs abbia consentito il loro isolamento e il loro studio, il modo comunemente più utilizzato per ottenere la specie carbenica rimane la generazione *in situ* da precursori più stabili. Uno dei metodi più impiegati è la deprotonazione di sali di imidazolio, triazolio o tiazolio con basi come la trietilammina o il potassio *t*-butilossido <sup>[151]</sup>; un altro metodo molto versatile consiste nello sfruttamento dell'abilità di alcuni NHCs di formare addotti con specie alchiliche e ariliche contenenti un legame C-H acido come cloroformio, pentafluorobenzene, acetilene o alcol <sup>[152,153]</sup>: questa strategia è stata impiegata sia per la sintesi di complessi con metalli di transizione, sia per la generazione *in situ* di specie carbeniche per reazioni di *ring-opening polymerization* <sup>[154]</sup>.

L'impiego di NHCs come catalizzatori comporta come vantaggio, oltre a tutti quelli direttamente derivanti dall'organocatalisi in sé, già ampiamente descritti in precedenza, la possibilità di ampliare notevolmente il numero di specie chimiche accessibili attraverso processi



di *umpolung*: rientrano sotto questo nome tutte quelle reazioni organiche nelle quali si genera una reattività inversa rispetto a quella che un dato gruppo funzionale avrebbe normalmente.

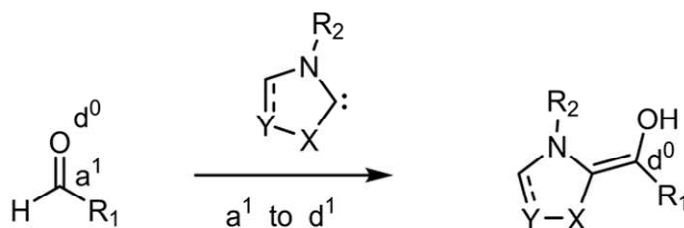
Il concetto di *umpolung*, sebbene già noto in precedenza [155], è stato ridefinito e razionalizzato da Seebach [156] nel 1979, il quale ha appunto proposto questa parola tedesca per descrivere l'inversione di polarità di un gruppo funzionale; per spiegare questo principio l'autore considera la presenza di doppietti non condivisi su un eteroatomo (quale O oppure N) e le conseguenti caratteristiche elettrone-donatrici di quest'ultimo. Di conseguenza all'atomo successivo nello scheletro della molecola viene assegnato un comportamento elettrone-accettore; così a seguire tutti gli altri atomi avranno caratteristiche alternate di donatori (quelli in posizioni "pari", indicati con "d") o di accettori (in posizioni "dispari", indicati con "a") (Figura 24). Ogni processo che dia vita ad una inversione di questa normale reattività genererà una situazione di *umpolung*.



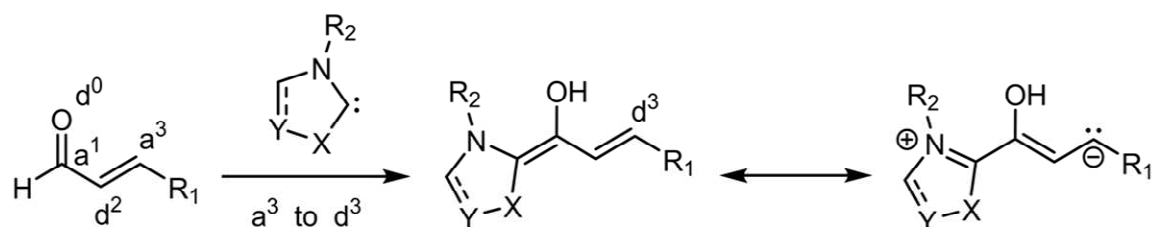
Figura 24 – Molecola a reattività diretta (a) e a reattività inversa (b)

Esistono diversi tipi di processi di *umpolung* mediati da NHCs [157], quali

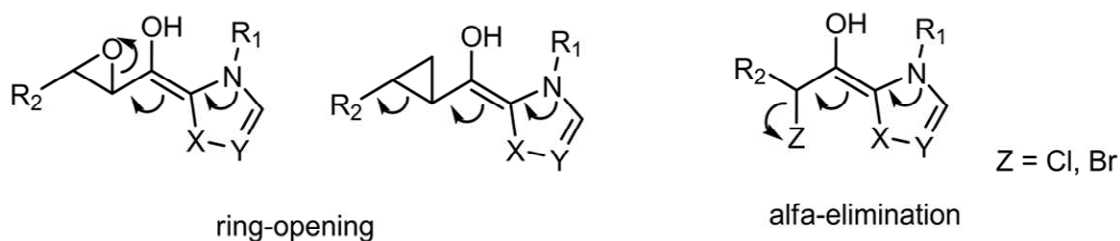
- *umpolung* "a<sup>1</sup> to d<sup>1</sup>", come l'inversione del gruppo carbonilico con la generazione di acil-nucleofili



- *umpolung* “a<sup>3</sup> to d<sup>3</sup>” (o *umpolung* coniugato) che si ottiene quando un NHCs viene combinato (per esempio) con un'aldeide α,β-insatura: ne risulta il trasferimento delle proprietà nucleofile alla posizione β



- *umpolung* esteso: la reattività di *umpolung* può essere estesa utilizzando ulteriori gruppi funzionali donatori come epossidi o formilciclopropani (*ring-opening umpolung*) o aldeidi con un alogeno in posizione α (*α-elimination umpolung*)<sup>[158]</sup>.



#### 4.2.1 La reazione di condensazione benzoinica

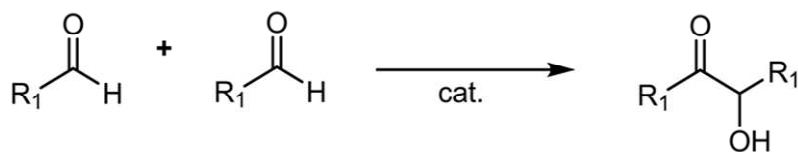


Figura 25 – Reazione di condensazione benzoinica: schema generale

La reazione di condensazione benzoinica è uno dei processi organocatalitici mediati da NHCs più studiato ed utilizzato e costituisce uno dei primi esempi di *umpolung* del carbonile. Questa reazione è nota sin dal 1832, quando Liebig e Wohler riportarono la formazione di una molecola di benzoino attraverso il *coupling* di due molecole di benzaldeide mediato da ioni cianuro <sup>[159]</sup>; nel 1903 Lapworth ne descrisse il meccanismo, postulando la formazione di un intermedio carbanionico attraverso l'addizione del cianuro alla benzaldeide seguita da deprotonazione <sup>[160]</sup>: questo intermedio, descritto come “aldeide attivata” esemplifica ciò che verrà successivamente definito *umpolung* da Seebach. Il primo esempio di condensazione benzoinica mediato da NHCs risale invece al 1943, dove è stato impiegato un sale di tiazolio per generare, in ambiente basico, il carbene cataliticamente attivo *in situ* <sup>[161]</sup>; il meccanismo di questo processo, descritto qualche anno dopo da Breslow <sup>[162]</sup>, risulta ad oggi ancora accettato, nonostante qualche dibattito a cavallo fra gli anni '80 e '90 <sup>[163,164]</sup>.

Breslow presume che la molecola di sale di tiazolio sia deprotonata sulla sua posizione più acida, formando un tiazolin-2-ilidene; il successivo attacco nucleofilo sulla funzione carbonilica di un'aldeide genera l'addotto **3**. Un processo di riarrangiamento (deprotonazione/riprotonazione) porta quindi alla formazione di una specie idrossienamminica (comunemente nota come intermedio di Breslow (**4**)) in grado di agire chimicamente come un acil-anione. È proprio quest'ultimo intermedio (che secondo la terminologia introdotta da Seebach sarebbe definibile come un sintone d<sup>1</sup>) che genera un attacco nucleofilo su un substrato elettrofilico come il gruppo carbonilico di una seconda molecola di aldeide: l'intermedio **5** così ottenuto, attraverso un processo di riarrangiamento, elimina il benzoino rigenerando contemporaneamente il catalizzatore nel suo stato iniziale.

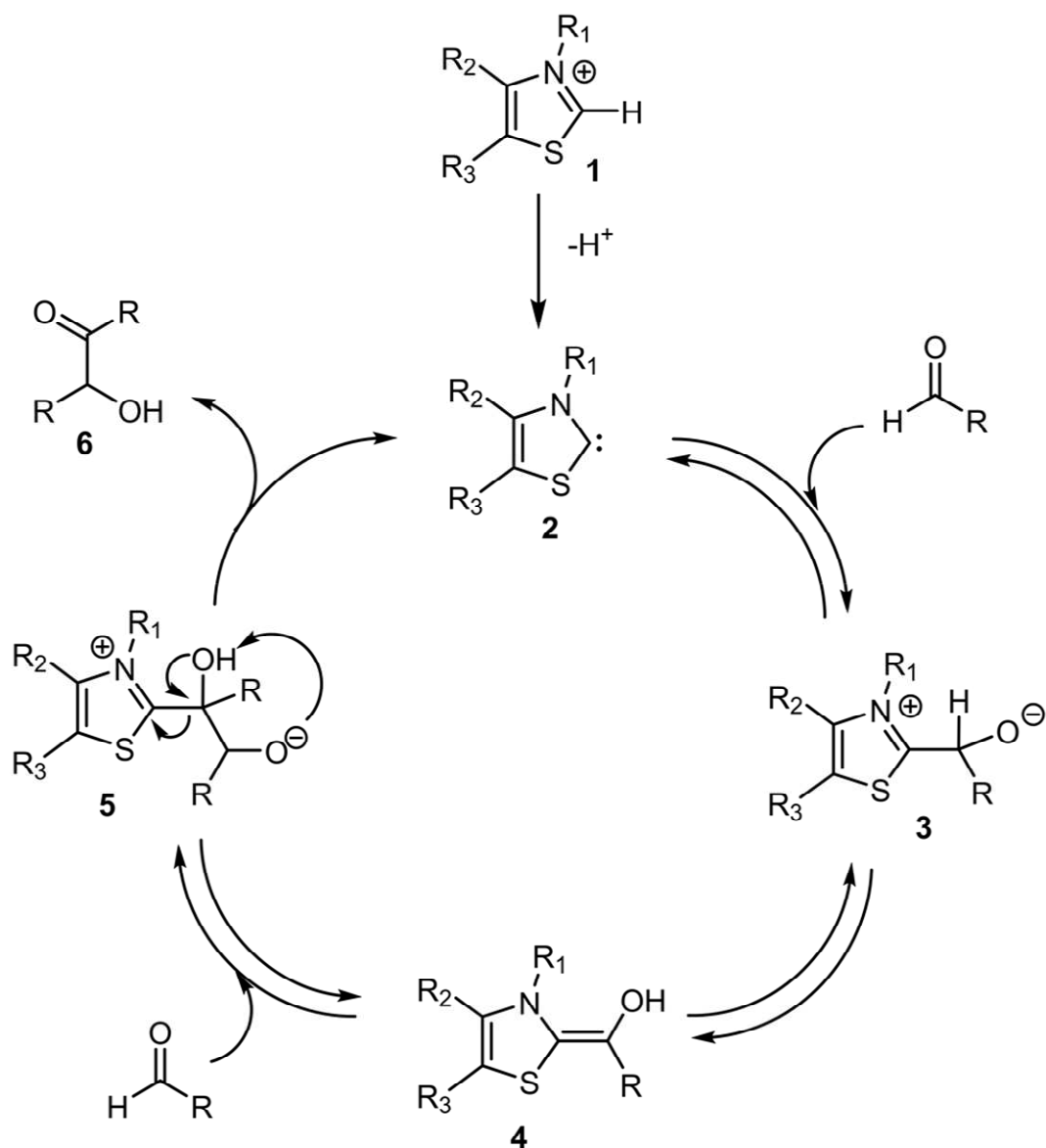


Figura 26 – Meccanismo della reazione di condensazione benzoinica proposto da Breslow

Poiché il prodotto della reazione di condensazione benzoinica contiene uno stereocentro, gli sforzi dei chimici organici si sono concentrati sulla sintesi di catalizzatori modificati, in modo da ottenere un processo asimmetrico efficiente. Con questo scopo sono stati sintetizzati svariati catalizzatori, sia variando il tipo di anello eterociclico, sia diversificando i sostituenti sull'anello stesso, così da creare un maggior ingombro su una delle due facce dell'intermedio di Breslow. Nonostante siano riportati in letteratura tentativi di reazioni di condensazione benzoinica asimmetrica sin dal 1966 [165], solo negli ultimi anni questo processo è stato effettuato con buoni risultati di resa e stereoselettività. I risultati migliori in questo ambito sono stati ottenuti da Enders e collaboratori [166] grazie all'impiego di un catalizzatore biciclico a base triazolica:

sia l'anello condensato (e il suo sostituito *t*-butilico), sia il gruppo fenilico sul terzo atomo di azoto, contribuiscono ad aumentare l'ingombro sterico da entrambi i lati del carbene (Figura 27); questo comporta che la faccia *Re* dell'intermedio di Breslow risulti schermata, facilitando l'attacco preferenziale sulla seconda aldeide da parte della faccia *Si*. Nel contempo l'aldeide esporrà preferenzialmente la sua faccia *Re* (essendo coordinata attraverso il legame ad idrogeno dell'ossidrilico dell'enammina) così da minimizzare l'interazione sterica con l'anello aromatico dell'enammina stessa (Figura 28).

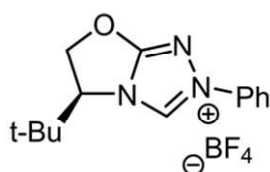


Figura 27 – Catalizzatore con struttura triazolica utilizzato da Enders

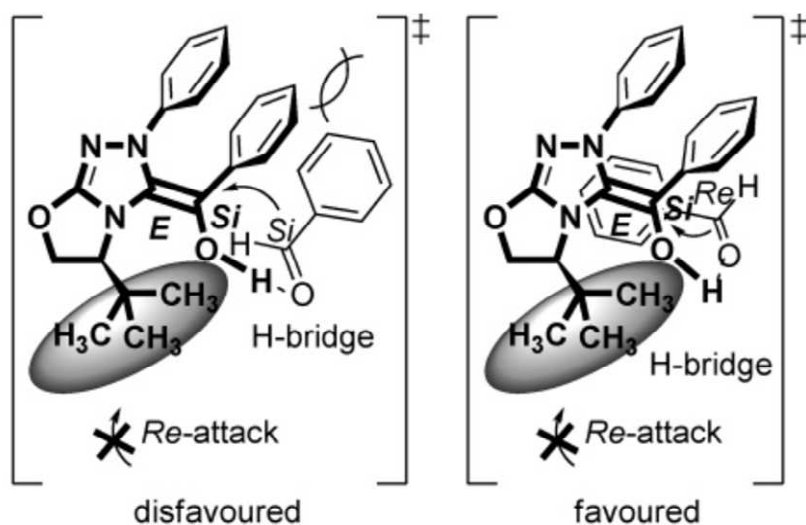


Figura 28 – Stato di transizione sfavorito per ingombro sterico (a sinistra) e stato di transizione favorito (a destra)

Le ipotesi relative al meccanismo di azione di questo NHC funzionalizzato sono state successivamente confermate da calcoli computazionali [167] e sono consistenti con i dati di laboratorio, poiché prevedono la formazione del prodotto a configurazione assoluta (*S*).

La reazione di condensazione benzoinica non consiste solamente in reazioni di *homo coupling*, ma può essere eseguita anche con soluzioni contenenti aldeidi diverse: così facendo si giunge però alla formazione di quattro prodotti (due di *homo coupling* e due di *cross coupling*), il che

rende questo processo decisamente meno diffuso. Sono comunque riportati in letteratura alcuni esempi di reazioni fra aldeidi diverse, dove, sfruttando alcune particolari caratteristiche chimiche dei reagenti, è stata ottenuta una buona chemo-selettività [168]: tra questi, per esempio, è stato dimostrato come miscelando aldeidi alifatiche e aromatiche sia possibile sfruttare la maggior stabilità dell'intermedio di Breslow con aldeidi aromatiche e contemporaneamente la maggior reattività di quelle alifatiche per ottenere praticamente un solo prodotto di *cross coupling* [169].

#### 4.2.2 La reazione di Stetter

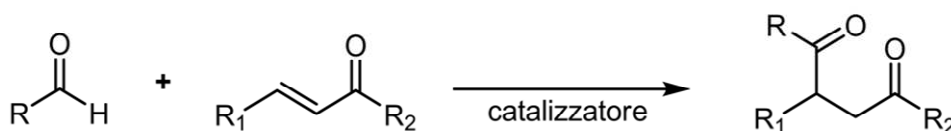


Figura 29 – Reazione di Stetter: schema generale

Nel 1976 Stetter e collaboratori hanno presentato per la prima volta una reazione chimica fra una specie corrispondente ad un acil-anione (generata attraverso l'*umpolung* “a<sup>1</sup> to d<sup>1</sup>” di un carbonile aldeidico mediante NHCs) e un accettore di Michael [170]. Attraverso questo processo, noto comunemente come reazione di Stetter, è possibile sintetizzare composti 1,4 bifunzionali come 1,4-dichetoni, 1,4-chetoesteri, 1,4-chetonitrili. Da un punto di vista meccanicistico, la reazione inizia in modo del tutto simile a quella di una condensazione benzoinica, con la generazione di una specie carbenica attraverso la deprotonazione di un NHCs in ambiente basico. Si ha quindi la formazione dell'addotto con la specie aldeidica (7), che attraverso un processo di riarrangiamento, genera la specie idrossiamminica altrimenti nota come intermedio di Breslow (8). L'addizione coniugata di questa specie equivalente ad un acil-anione (per esempio) ad un composto carbonilico  $\alpha,\beta$ -insaturo genera l'intermedio 9, che dopo un processo di riarrangiamento, porta alla formazione del prodotto (un 1,4-dichetone in questo caso) e alla rigenerazione dell'organocatalizzatore nel suo stato iniziale (Figura 30).

Anche dal punto di vista dell'accettore, la reazione di Stetter si presenta come un processo estremamente versatile, risultando molto efficiente (per esempio nel caso della sintesi di 1,4-dichetoni) sia con chetoni alifatici, aromatici o eterociclici [171]; in linea generale la reazione

sarà tanto più efficiente quanto più risulterà attivato l'accettore di Michael attraverso la presenza di uno o più gruppi elettron-attrattori.

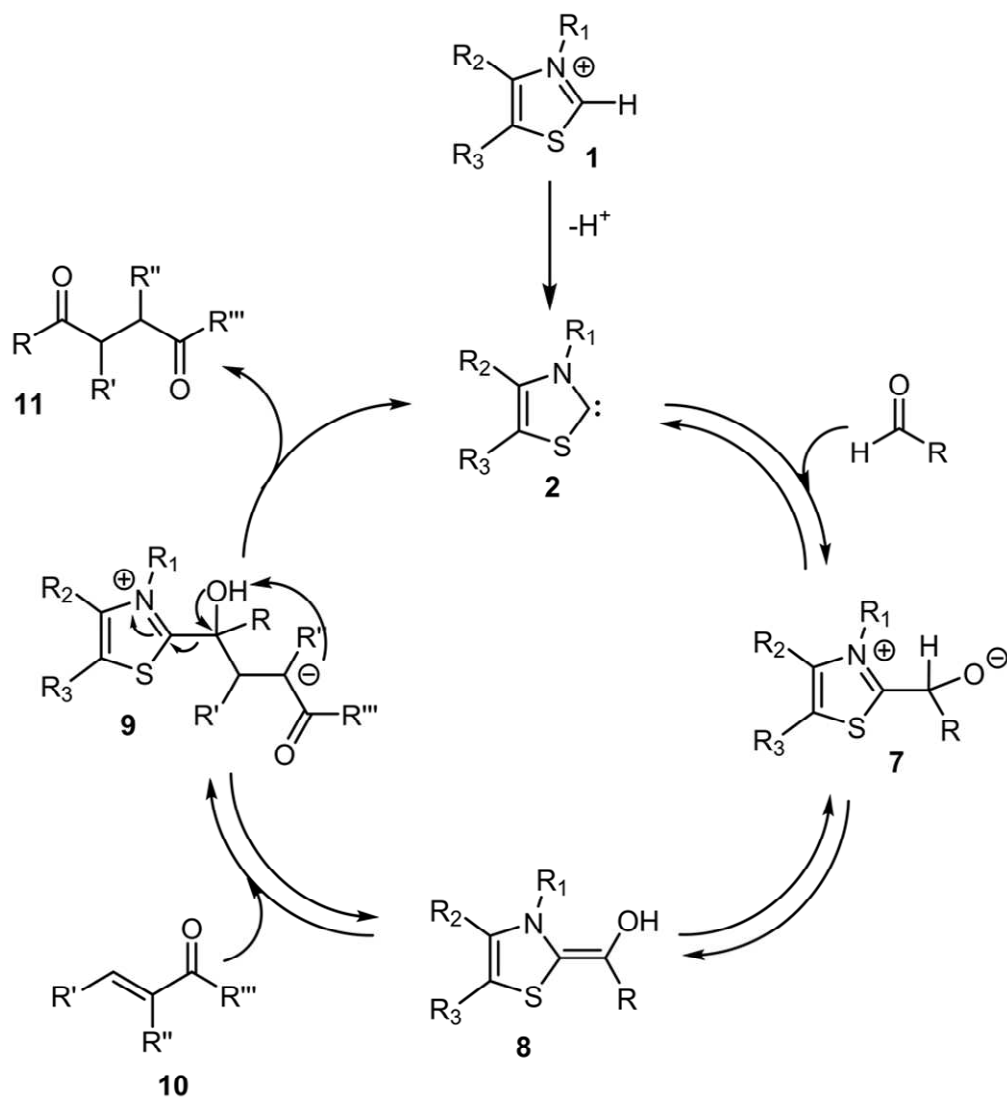


Figura 30 – Meccanismo della reazione di Stetter mediata da un NHC a base tiazolica con un chetone  $\alpha,\beta$ -insaturo

Per effettuare questo processo possono essere impiegate aldeidi sia aromatiche che alifatiche variamente sostituite o ramificate, sebbene sia stato dimostrato come gruppi ingombranti in posizione  $\alpha$  riducano la resa di reazione.

Durante la formazione del prodotto della reazione di Stetter, teoricamente, può avvenire anche l'indesiderata autocondensazione dell'aldeide; nonostante il fatto che i prodotti di condensazione benzoinica si formino in maniera reversibile (mentre l'addizione coniugata a sistemi insaturi è un processo irreversibile) già consenta di isolare il prodotto di Stetter in buone rese, questo tipo di reazione secondaria può essere ulteriormente limitato. Scheidt e

collaboratori [172] hanno infatti dimostrato che l'impiego di acil-silani come donatori di acil anioni possa limitare la formazione del prodotto di autocondensazione, grazie sia alla minor elettrofilicità dell'acil-silano rispetto all'aldeide, sia al maggior ingombro sterico dovuto al gruppo silile.

Considerando anche la vasta gamma di prodotti ai quali si può accedere attraverso la reazione di Stetter, numerosi tentativi sono stati condotti per eseguire efficacemente questo processo in maniera asimmetrica; come per la condensazione benzoinica, la sintesi di catalizzatori chirali ingombrati è apparsa sin da subito una promettente strategia. In letteratura sono riportati numerosi esempi di reazioni di Stetter enantioselettive [173] sia con aldeidi alifatiche [174] che aromatiche [175], sia intermolecolari che intramolecolari [176]; tra gli altri, interessanti risultati sono stati ottenuti da Rovis e collaboratori, con l'utilizzo di un catalizzatore triazolico N-sostituito con un gruppo pentafluorofenilico (Figura 31), che si è dimostrato molto efficiente sia nella generazione di stereocentri quaternari enantiomericamente puri [177], sia nell'ottenimento di elevati livelli di enantio- e diastereo-selettività nel caso di accettori di Michael  $\alpha,\beta$ -disostituiti [178].

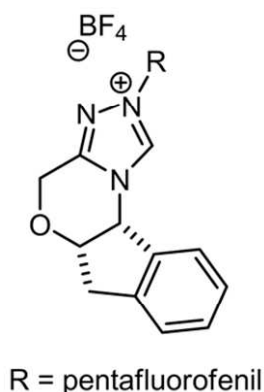


Figura 31 – Catalizzatore chirale a base triazolico introdotto da Rovis e collaboratori



## 5. Risultati e discussione

### 5.1 Sintesi di 5-(pirrolidin-2-il)tetrazolo supportato su silice: sviluppo di un processo organocatalitico in flusso

Questa parte del mio progetto di dottorato è stata svolta continuando un lavoro già avviato all'interno del gruppo di ricerca, che aveva avuto come oggetto di studio la funzionalizzazione di supporti solidi con l'amminoacido naturale L-prolina [<sup>179</sup>]. Sebbene questa specie catalitica avesse dimostrato di poter raggiungere buoni livelli di resa e stereoselettività, la principale problematica incontrata era costituita dalla veloce degradazione del materiale impaccante, soprattutto sotto l'effetto del riscaldamento: questo fenomeno indesiderato era stato imputato principalmente ad una reazione secondaria della prolina stessa con la specie aldeidica accettrice (aldeide aromatica), portando alla formazione di un intermedio ossazolidinonico con conseguente perdita di capacità catalitica.

Sono state quindi identificate tre molecole mimetiche della prolina, una di tipo ammidico (**17**), una di tipo sulfonammidico (**16**) e una di tipo tetrazolico (**19**) che presentano contemporaneamente la funzionalità basica dell'anello pirrolidinico e la funzionalità acida simile a quella del gruppo carbossilico dell'amminoacido naturale: preservando questi fondamentali gruppi funzionali, queste molecole dovrebbero conservare l'attività catalitica, evitando però la reazione collaterale indesiderata.

La silice è stata scelta come supporto solido poiché risulta compatibile con una vasta gamma di solventi, non risente di condizioni acide o basiche forti e, rispetto a supporti come il polistirene, risulta migliore come materiale impaccante per colonne poiché non è soggetta a fenomeni di *swelling* o *shrinking*.

Come strategia di coniugazione fra l'organocatalizzatore e il supporto solido è stata scelta la reazione radicalica fra un alchene e un tiolo (detta *thiol-ene coupling*, TEC), il cui meccanismo prevede la formazione di un sulfanyl-radicale mediante l'azione di un iniziatore, diverso a seconda che la reazione sia termica o fotoindotta. Si ha quindi il legame con la molecola di alchene secondo un andamento anti-Markovnikov con la conseguente formazione di una nuova specie radicalica al carbonio; avviene quindi uno *step* di propagazione in cui quest'ultima specie reagisce con un'ulteriore molecola di tiolo strappandole un radicale idrogeno: si ha quindi la formazione del prodotto (un tio-etero) e la prosecuzione della reazione attraverso un nuovo ciclo radicalico (Figura 32).

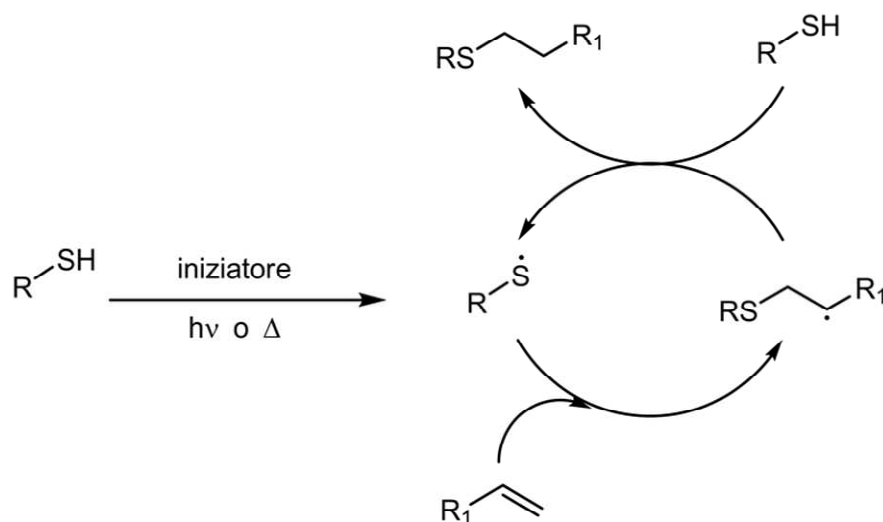
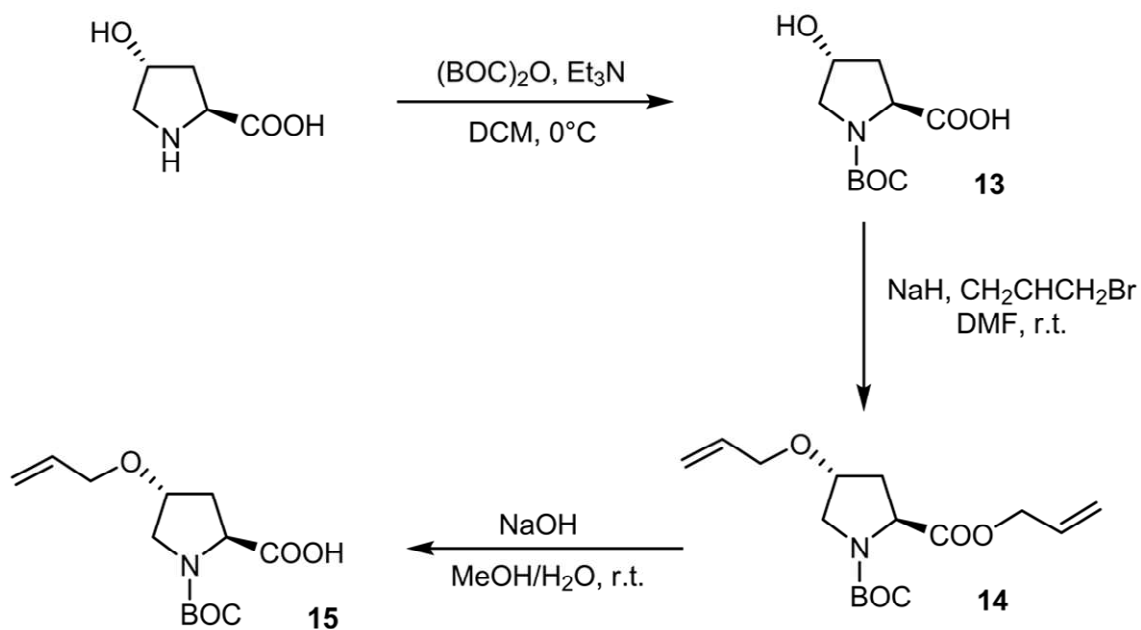


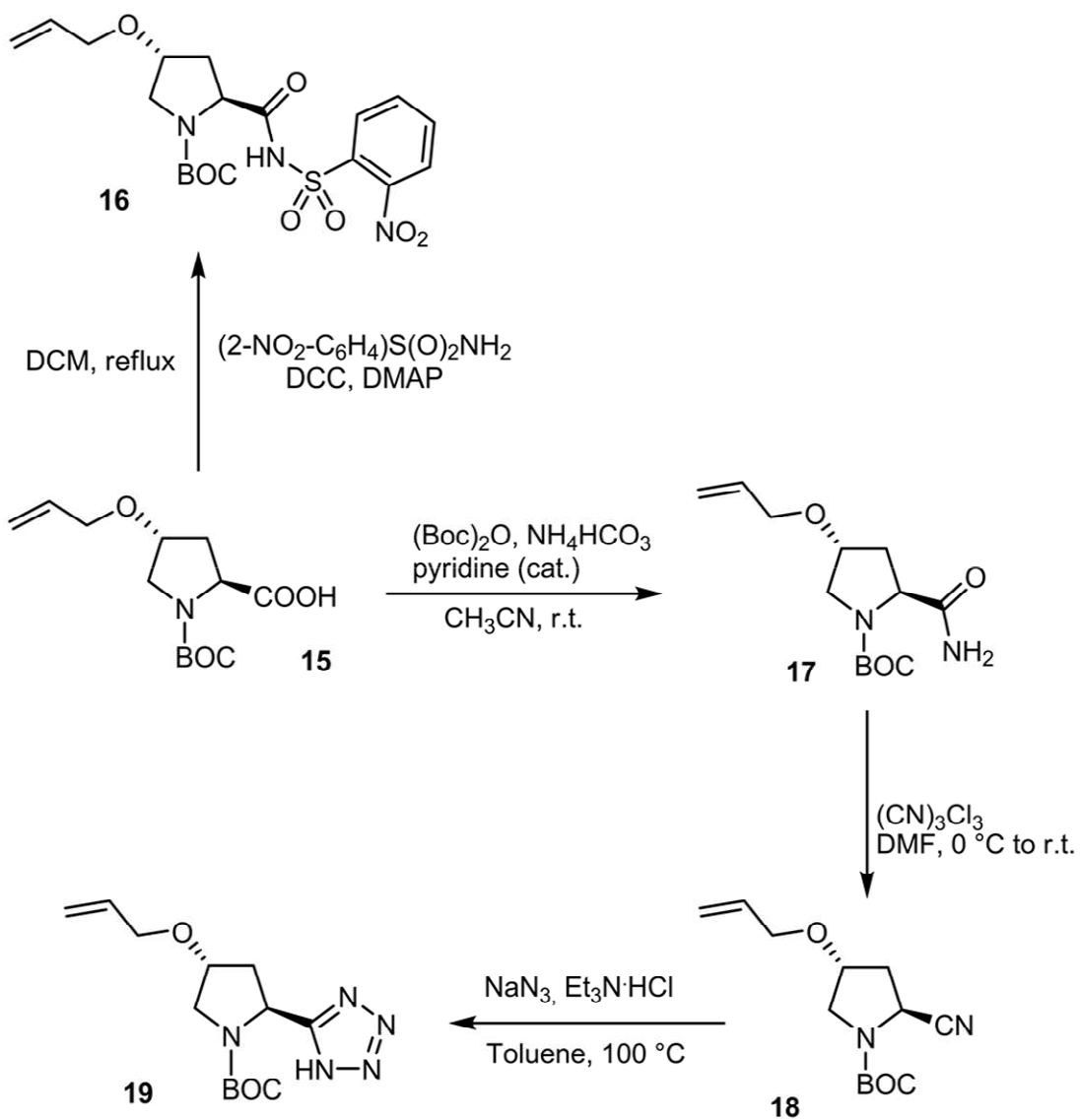
Figura 32 – Thiol-ene coupling: schema generale

È stata quindi progettata ed eseguita la sintesi dei tre derivati della prolina funzionalizzati con un doppio legame e parallelamente è stata effettuata la reazione di derivatizzazione di particelle di silice con un gruppo tiolico, così da poter effettuare il *coupling*.

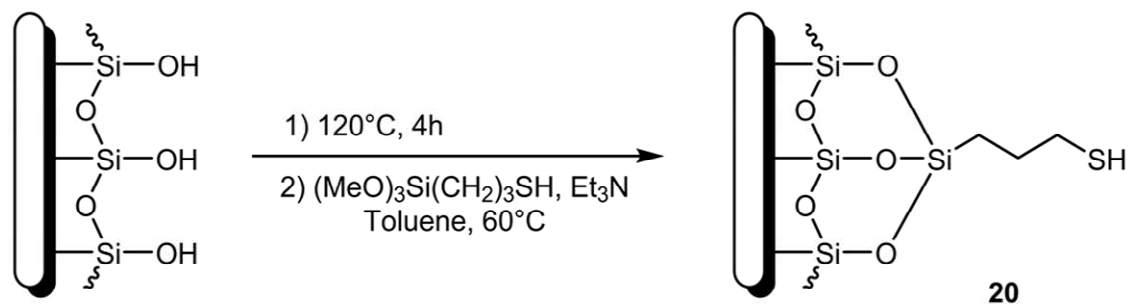
Per quanto riguarda la sintesi delle molecole di organocatalizzatore, partendo dalla *trans*-4-idrossi-L-Prolina è stata eseguita, come primo passaggio, la protezione con il gruppo *tert*-butilossicarbonile (BOC) dell'atomo di azoto dell'anello pirrolidinico, ottenendo il composto (13). È stata quindi effettuata la reazione di allilazione per derivatizzare la molecola con il doppio legame necessario per eseguire la TEC: in questo passaggio si ottiene l'addizione del gruppo allilico sia sull'ossidrile che sul gruppo carbossilico; trattando il composto (14) in un forte ambiente basico si otterrà l'idrolisi dell'estere, mentre il gruppo etero risulterà inalterato, portando alla formazione del composto (15).



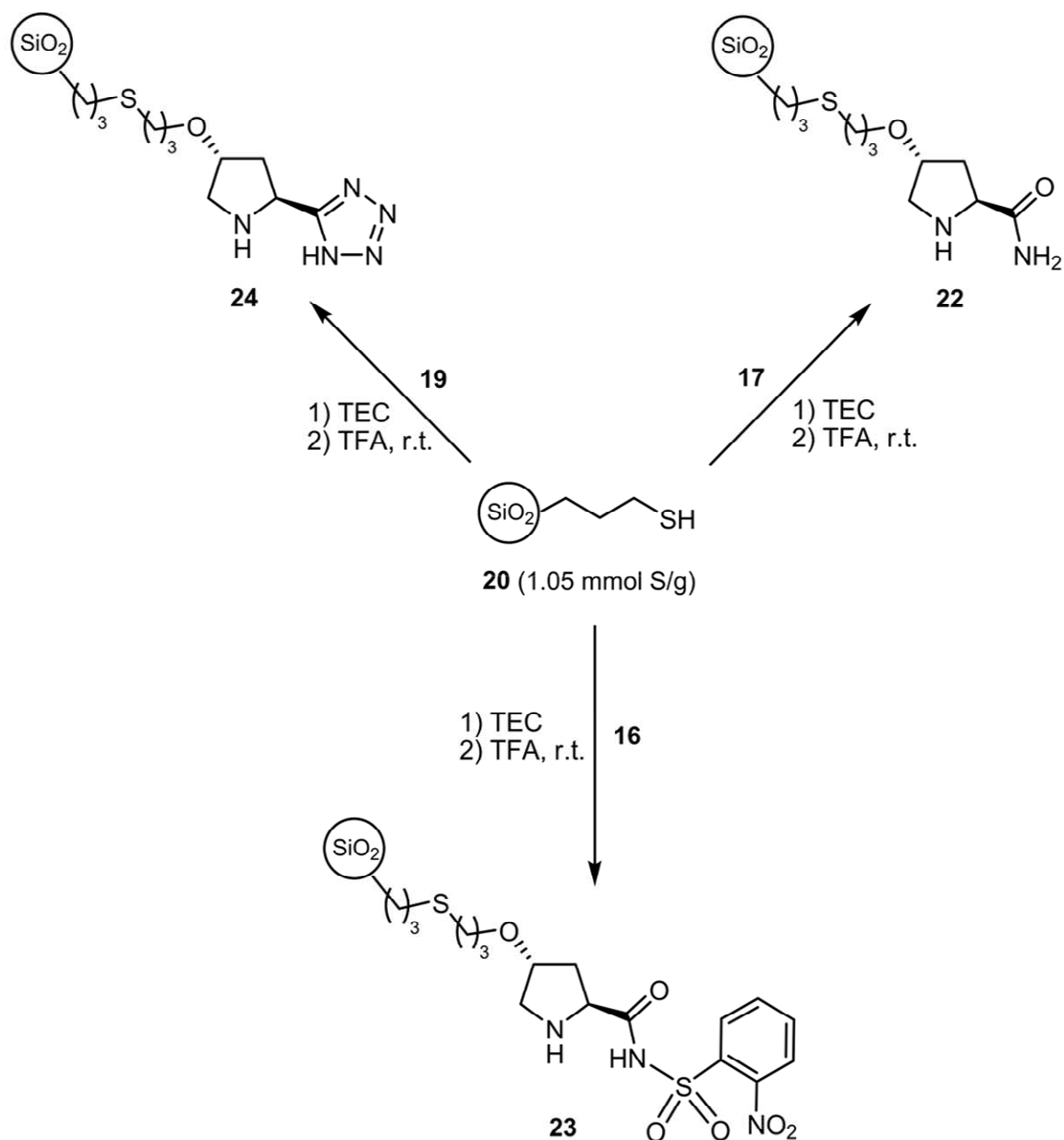
Da quest'ultimo intermedio è possibile ricavare direttamente due delle tre specie catalitiche desiderate, quella sulfonammidica (**16**) e quella ammidica (**17**). Il composto (**15**) serve anche come punto di partenza per sintetizzare il catalizzatore tetrazolico: da questo infatti si procede formando il corrispettivo cianuro (**18**) e successivamente, attraverso una reazione di cicloaddizione, si forma l'organocatalizzatore desiderato contenente l'anello tetrazolico (**19**).



Per quanto riguarda la silice, sono state impiegate particelle di dimensioni di circa 50  $\mu\text{m}$  con pori approssimativamente di 60  $\text{\AA}$ ; dopo uno *step* di attivazione (a temperatura elevata e pressione ridotta) per rimuovere eventuali molecole d'acqua, le particelle di silice sono state funzionalizzate con il gruppo tiolico.

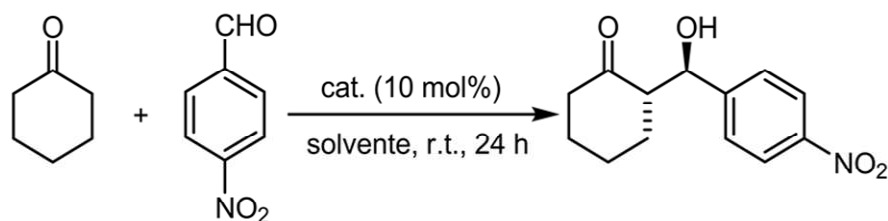


È stato quindi effettuata la derivatizzazione del supporto solido con gli organocatalizzatori mediante la reazione tiol-ene; il *coupling* è stato eseguito sia per via termica (usando AIBN come iniziatore radicalico) che per via fotochimica (processo promosso da DPAP); entrambe le strategie si sono dimostrate efficienti, consentendo un buon grado di funzionalizzazione. È stata quindi effettuata la deprotezione sull'atomo di azoto dell'anello pirrolidinico attraverso un trattamento acido, seguito da dei lavaggi basici per desalificare. Sono stati così ottenuti i tre organocatalizzatori supportati desiderati (**22,23,24**).



Le capacità catalitiche delle specie supportate così ottenute sono state verificate attraverso uno *screening in batch* in vari solventi; la reazione di condensazione aldolica fra cicloesانونe e p-nitrobenzaldeide è stata scelta come reazione modello per effettuare questo studio esplorativo (Tabella 3, entry 1-12). Poiché il catalizzatore tetrazolico ha mostrato i risultati migliori sia per resa che per eccesso enantiomerico, il suo utilizzo è stato successivamente esteso ad altri solventi (entry 13-15); i buoni risultati ottenuti con solventi a bassa polarità come il toluene o il diisopropil etere ( $(i\text{Pr})_2\text{O}$ ) sono molto probabilmente da imputare ad interazioni idrofobiche tra lo stato di transizione e il supporto siliceo polare. Il catalizzatore impiegato nella reazione con  $(i\text{Pr})_2\text{O}$  è stato lavato e riutilizzato in un secondo esperimento identico al precedente per

valutarne la stabilità nel tempo ed ha mostrato un'ottima capacità di conservazione dei valori di resa ed eccesso enantiomerico (entry 16).



Entry	Cat.	Solvente	Resa [%] <sup>[a]</sup>	d.r. <i>anti/syn</i> <sup>[b]</sup>	<i>ee</i> <sub>anti</sub> [%] <sup>[c]</sup>
1	<b>22</b>	CH <sub>3</sub> CN	24	2:1	26
2	<b>22</b>	Toluene	45	4:1	23
3	<b>22</b>	DMSO	12	3:1	23
4	<b>22</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	18	4:1	8
5	<b>23</b>	CH <sub>3</sub> CN	21	4:1	9
6	<b>23</b>	Toluene	58	3:1	30
7	<b>23</b>	DMSO	25	2:1	9
8	<b>23</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	15	4:1	15
9	<b>24</b>	CH <sub>3</sub> CN	75	4:1	74
10	<b>24</b>	Toluene	>95	3:1	82
11	<b>24</b>	DMSO	>95	1:1	50
12	<b>24</b>	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	84	3:1	51
13	<b>24</b>	MeOH	45	3:1	32
14	<b>24</b>	Et <sub>2</sub> O	>95	2:1	90
15	<b>24</b>	( <i>i</i> Pr) <sub>2</sub> O	>95	2:1	95
16	<b>24</b>	( <i>i</i> Pr) <sub>2</sub> O <sup>[e]</sup>	>95	2:1	92

[a] Resa isolata della miscela *anti/syn*. [b] Valutato mediante <sup>1</sup>H NMR del grezzo di reazione. [c] Determinato mediante analisi HPLC. [e] Reazione eseguita con catalizzatore riciclato.

**Tabella 3 – Valutazione delle capacità catalitiche di 22,23,24 mediante *screening in batch***

Essendo risultato il più efficiente, il catalizzatore tetrazolico **24** è stato quindi impiegato per effettuare altre reazioni in *batch*, con lo scopo di valutare la potenziale applicazione di questo sistema catalitico eterogeneo ad altri processi: sono state quindi eseguite tre reazioni modello (di Mannich (**b**), di Michael (**c**), e di  $\alpha$ -amminazione (**d**), Figura 33) nelle quali il catalizzatore ha dimostrato di poter garantire livelli di resa ed enantioselezione comparabili con quelli del suo analogo non supportato (Tabella 4).

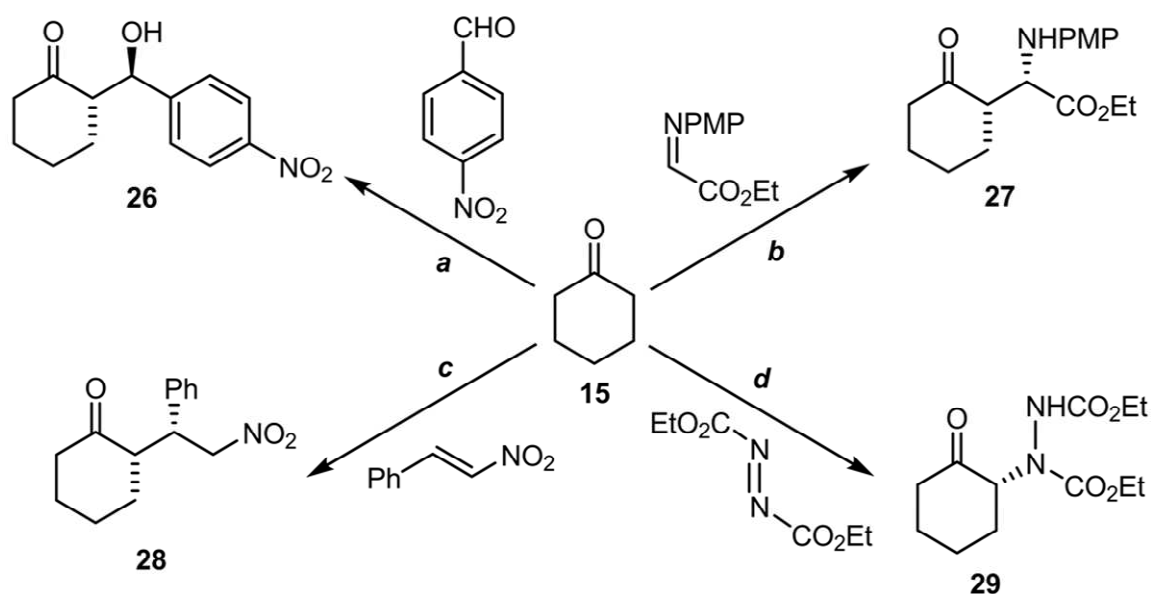


Figura 33 – Reazioni modello eseguite in *batch*: reazione di condensazione aldolica (a), di Mannich (b), di Michael (c), e di  $\alpha$ -aminazione (d)

Entry	Reazione	Solvente	Resa [%] <sup>[a]</sup>	d.r. <i>anti/syn</i> <sup>[b]</sup>	<i>ee</i> [%] <sup>[c]</sup>
1	<i>a</i>	( <i>iPr</i> ) <sub>2</sub> O	90 ( <b>26</b> )	2:1	95 <sub>anti</sub>
2	<i>a</i>	DMSO	92 ( <b>26</b> )	1:1	50 <sub>anti</sub>
3 <sup>[d]</sup>	<i>b</i>	( <i>iPr</i> ) <sub>2</sub> O	82 ( <b>27</b> )	1:>19	90 <sub>syn</sub>
4 <sup>[d]</sup>	<i>b</i>	Toluene	>95 ( <b>27</b> )	1:>19	95 <sub>syn</sub>
6	<i>c</i>	( <i>iPr</i> ) <sub>2</sub> O	80 ( <b>28</b> )	1:15	55 <sub>syn</sub>
5	<i>c</i>	DMSO	92 ( <b>28</b> )	1:9	45 <sub>syn</sub>
7 <sup>[d]</sup>	<i>d</i>	CH <sub>3</sub> CN	95 ( <b>29</b> )	-	42
8 <sup>[d]</sup>	<i>d</i>	Toluene	72 ( <b>29</b> )	-	71

[a] Resa isolata della miscela *anti/syn*. [b] Valutato mediante <sup>1</sup>H NMR del grezzo di reazione. [c] Determinato mediante analisi HPLC. [d] Reazione eseguita con 20 vol% di cicloesano

Tabella 4 - Valutazione delle capacità catalitiche di **24** in altre reazioni modello

Una volta terminato lo studio esplorativo in fase *batch*, il catalizzatore supportato **24** è stato utilizzato per impaccare gravitazionalmente una colonna cromatografica di 5 cm di lunghezza e 2,1 mm di diametro. Il *packed-bed microreactor* così ottenuto è stato caratterizzato attraverso il calcolo della quantità di materiale impaccante, del volume morto e dei fattori di ritenzione delle molecole di reattivo mediante esperimenti cromatografici. La reazione di condensazione aldolica fra cicloesano e p-nitrobenzaldeide è stata mantenuta come reazione modello; attraverso l'interfacciamento con uno strumento HPLC sono stati quindi eseguiti una serie di esperimenti preliminari atti ad ottimizzare condizioni operative quali la velocità di flusso e la concentrazione dei reagenti nella soluzione iniziale. È stato quindi possibile effettuare un primo

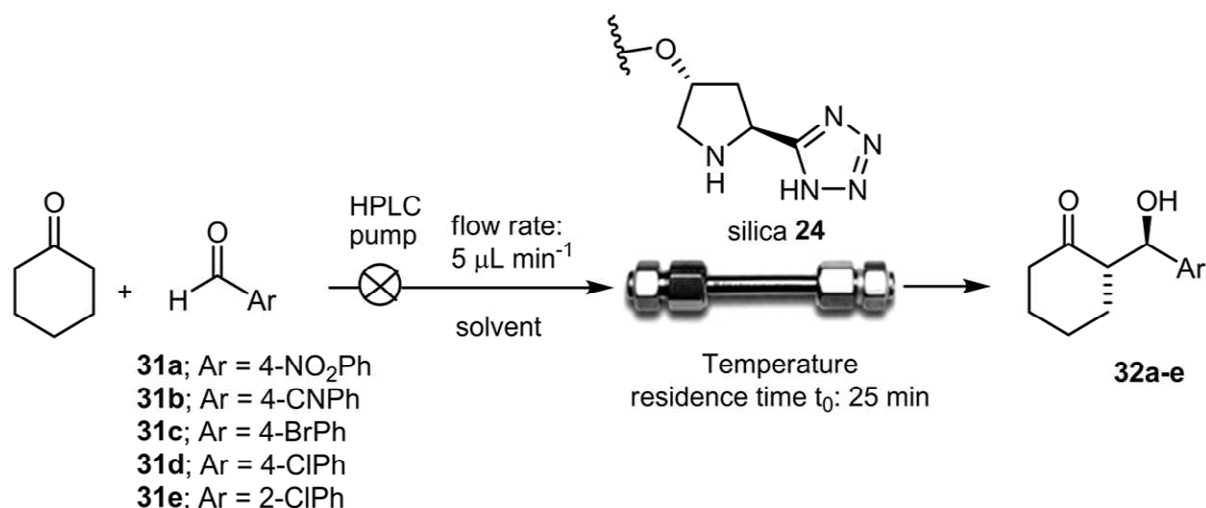


esperimento in flusso nelle condizioni ottimali (Tabella 5, entry 1), verificando il mantenimento costante dei valori di resa e stereoselettività degli esperimenti in batch durante tutta la durata del processo. Con lo scopo di aumentare la produttività sono poi stati eseguiti due esperimenti, uno in toluene ed uno in una miscela 9:1 (iPr)<sub>2</sub>O/DMF (entry 2,3); in questi solventi è possibile aumentare la concentrazione di aldeide di partenza evitando problemi di precipitazione, a scapito però dei valori di resa ed eccesso enantiomerico.

Poiché uno dei principali obiettivi di un processo di produzione in continuo è l'ottenimento del prodotto desiderato senza la necessità di ulteriori procedimenti separativi, sono stati condotti due esperimenti alla temperatura di 50°C, al fine di raggiungere la conversione completa di reazione: è stato così possibile ottenere il prodotto di reazione per semplice evaporazione del solvente e del cicloesano in eccesso (entry 4,5); nonostante l'aumento di temperatura la stereoselettività del processo non è stata alterata, rimanendo agli stessi livelli dei corrispettivi processi a temperatura ambiente.

L'applicabilità del sistema è stata successivamente estesa verificando le capacità catalitiche del *packed-bed microreactor* con altre aldeidi elettron-povere come prodotti di partenza (entry 6-9); anche in questi casi l'organocatalizzatore supportato ha mostrato ottimi valori di conversione e discreti livelli di enantioselezione.

Poiché tutti gli esperimenti sopra descritti sono stati effettuati con il medesimo reattore, è stato infine condotto un ulteriore processo di sintesi identico ad uno svolto in precedenza, così da verificare che l'attività catalitica fosse rimasta inalterata (entry 4).



Entry	Solvente	Aldeide (c [M])	Temp. [°C]	Conv. [%] <sup>[a]</sup>	Produttività [mmolh <sup>-1</sup> mmol <sub>cat</sub> <sup>-1</sup> ] $\times 10^3$	d.r. <i>anti/syn</i> <sup>[b]</sup>	<i>ee</i> <sub>anti</sub> [%] <sup>[c]</sup>
1	( <i>i</i> Pr) <sub>2</sub> O	<b>31a</b> (0.03)	25	65	50	2:1	95
2	Toluene	<b>31a</b> (0.10)	25	62	159	3:1	82
3	( <i>i</i> Pr) <sub>2</sub> O <sup>[d]</sup>	<b>31a</b> (0.10)	25	58	149	2:1	85
4	( <i>i</i> Pr) <sub>2</sub> O <sup>[e]</sup>	<b>31a</b> (0.03)	50	>95	77	1:1	92
5	Toluene	<b>31a</b> (0.10)	50	95	256	2:1	80
6	Toluene	<b>31b</b> (0.10)	50	>95	256	3:1	75
7	Toluene	<b>31c</b> (0.10)	50	95	256	3:1	78
8	Toluene	<b>31d</b> (0.10)	50	>95	256	3:1	82
9	Toluene	<b>31e</b> (0.10)	50	>95	236	2:1	68

[a] Conversione calcolata in regime di stato stazionario mediante <sup>1</sup>H NMR [b] Valutato mediante <sup>1</sup>H NMR del grezzo di reazione. [c] Determinato mediante analisi HPLC. [d] Reazione eseguita con 10 vol% di DMF. [e] Gli stessi risultati sono stati ottenuti in un esperimento di controllo eseguito al termine di questa serie di studi.

**Tabella 5 – Ottimizzazione delle condizioni operative in flusso e *screening* con varie aldeidi**

In conclusione sono stati sintetizzati tre organocatalizzatori derivati della prolina supportati su materiale siliceo e le loro capacità catalitiche sono state valutate attraverso reazioni in *batch*. Il mimetico della prolina più efficiente (pirrolidinil-tetrazolo) è stato impiegato per la realizzazione di un *packed-bed microreactor* con il quale sono state eseguite reazioni aldoliche in flusso continuo: oltre al mantenimento degli ottimi valori di resa e stereoselettività del corrispettivo in fase omogenea, l'organocatalizzatore supportato ha dimostrato di poter essere attivo per più di 80 ore senza alcun deterioramento.

Questo studio è stato oggetto di una pubblicazione (Silica-supported 5-(pyrrolidin-2-yl) tetrazole: development of organocatalytic processes from batch to continuous-flow conditions; O. Bortolini, L. Caciolli, A. Cavazzini, V. Costa, R. Greco, A. Massi, L. Pasti, *Green Chemistry*, **2012**, 14, 992) allegata nella parte finale di questo lavoro di tesi, alla quale si rimanda per maggiori dettagli sulla parte sperimentale.

## 5.2 Sintesi di un monolite polistirenico funzionalizzato con un sale di tiazolio per processi di *umpolung* in flusso continuo

Anche questo progetto di ricerca ha avuto come obiettivo il coniugare i vantaggi derivanti dall'organocatalisi eterogenea con quelli della chimica in flusso. Oggetto di indagine sono stati i processi di *umpolung* mediati da N-eterociclo carbeni; in particolare, è stata studiata l'attività di tiazolil carbeni immobilizzati su silice e polistirene in reazioni benzoiniche, aciloiniche e di Stetter.

La strategia sintetica scelta ha previsto la preparazione di tiazolil derivati funzionalizzati con un gruppo stirenile opportunamente spaziato, così da poter funzionalizzare i due diversi tipi di supporti solidi sfruttando la presenza del doppio legame carbonio-carbonio e garantire nel contempo un sistema di ancoraggio di tipo covalente abbastanza flessibile per massimizzare le prestazioni del catalizzatore stesso.

Per quanto riguarda il sale di tiazolio supportato su silice, la TEC è stata mantenuta come strategia di immobilizzazione, dati gli ottimi risultati forniti durante esperienze precedenti per lo stesso tipo di matrice; così, una volta ultimata la sintesi del materiale siliceo funzionalizzato col gruppo tiolico, è stata eseguita la reazione di derivatizzazione con lo stirenil-derivato (**33**). Il tiazolo immobilizzato è poi stato sottoposto a reazione di N-alchilazione per ottenere il sale di tiazolio (**S36a-b**), che è il pre-catalizzatore desiderato (Figura 34).

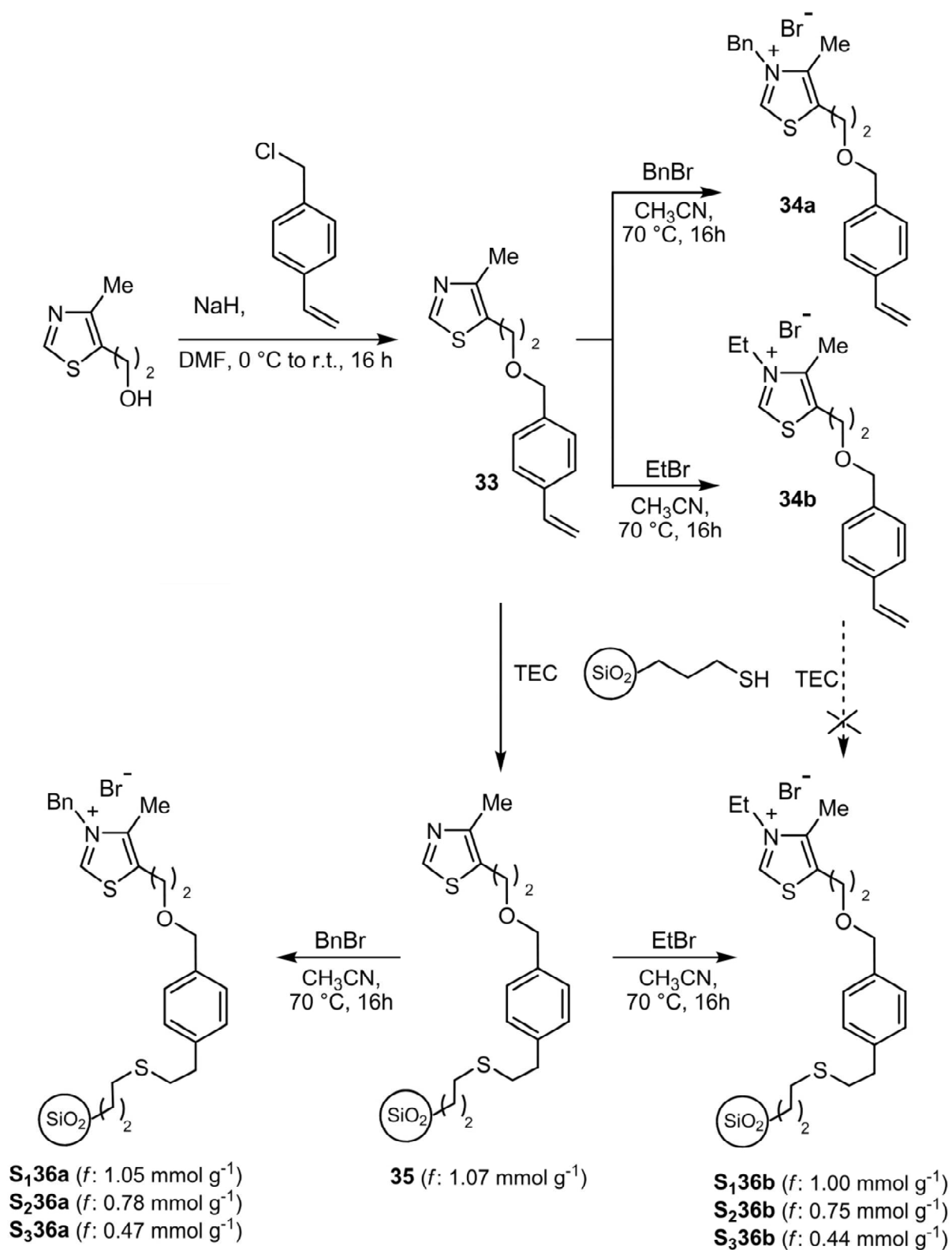


Figura 34 – Sintesi dei sali di tiazolio (S<sub>1</sub>36a-S<sub>3</sub>36a e S<sub>1</sub>36b-S<sub>3</sub>36b) supportati su silice

Per quanto riguarda invece la sintesi del derivato polistirenico, è stato deciso di produrre un supporto di tipo monolitico macroporoso per polimerizzazione termica di una soluzione di monomeri (stirene e stirenil-tiazolo), l'agente reticolante (di-vinil benzene, DVB) e porogeni (toluene e 1-dodecanolo), impiegando AIBN come iniziatore radicalico (Figura 35).

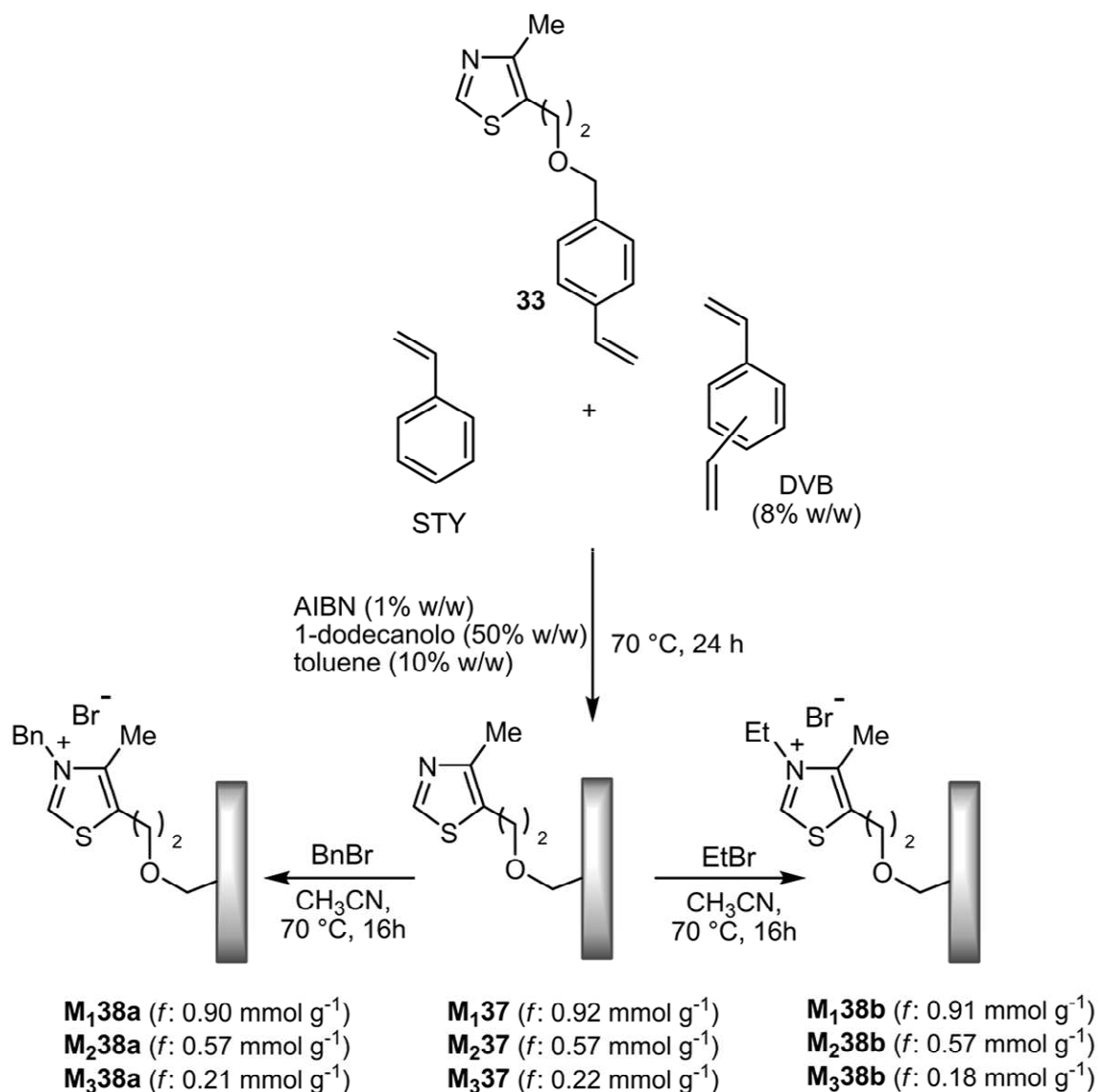


Figura 35 – Sintesi dei sali di tiazolo (M<sub>1</sub>38a-M<sub>3</sub>38a e M<sub>1</sub>38b-M<sub>3</sub>38b) supportati su polistirene

È importante sottolineare che sia il TEC, sia il processo di polimerizzazione non procedono minimamente in presenza della specie tiazolica già quaternarizzata: poiché la presenza di queste molecole salificate è risultata inibire il processo radicalico, è stato necessario ottenere prima il supporto solido funzionalizzato con il derivato tiazolico, e successivamente condurre la N-alchilazione con agenti alchilanti.

Un'altra problematica da affrontare con l'utilizzo di tiazol carbeni è la reazione di dimerizzazione (Figura 36) che queste molecole possono subire: per evitare questa complicazione e preservare le capacità catalitiche del materiale solido funzionalizzato, è necessario che le molecole di catalizzatore siano opportunamente spaziate sulla matrice. Al fine di massimizzare il *loading* di specie catalitica minimizzando allo stesso tempo questo fenomeno indesiderato, per entrambe le tipologie di pre-catalizzatore supportato, sono stati sintetizzati campioni a diverso grado di funzionalizzazione.

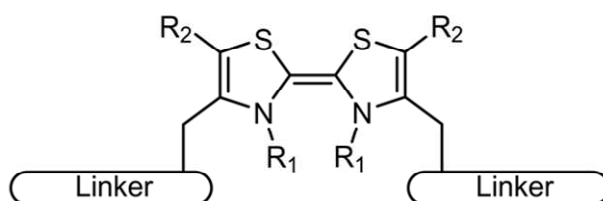


Figura 36 – Prodotto di dimerizzazione dell'organocatalizzatore tiazolico

Per valutare, oltre al livello di loading ottimale, anche l'influenza del tipo di supporto solido e del diverso agente quaternarizzante, l'efficienza di ciascuna specie catalitica supportata è stata studiata attraverso tre processi modello: la reazione di condensazione benzoinica, la reazione di Stetter e la reazione di tipo aciloinico del biacetile (Figura 37, Tabella 6); come accennato in precedenza, al fine di realizzare un processo il più possibile eco-sostenibile, sono stati scelti acqua ed etanolo come solventi di reazione.

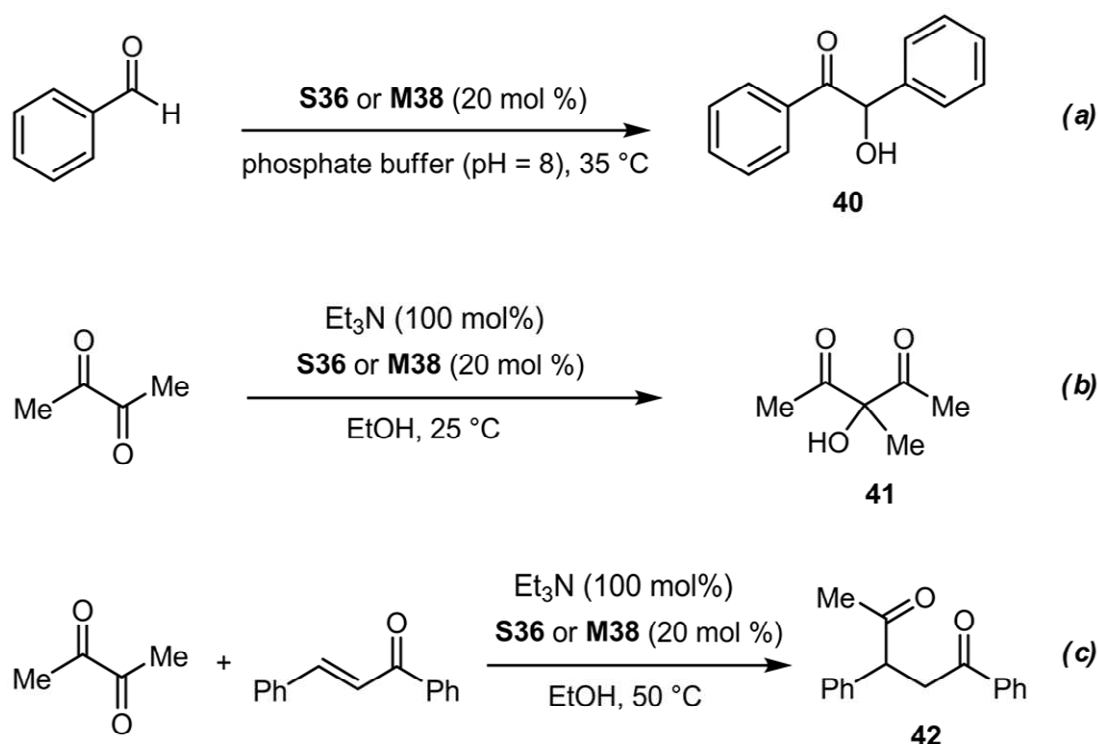


Figura 37 – Schema delle tre reazioni modello

Entry	Reaction	Catalyst	Product	Yield [%] <sup>a</sup>
1	a	S <sub>2</sub> 36a	40	15 (-) <sup>b</sup>
2	b	S <sub>2</sub> 36a	41	42 (-) <sup>b</sup>
3	c	S <sub>2</sub> 36a	42	38 (-) <sup>b</sup>
4	a	M <sub>2</sub> 38a	40	>95 (-) <sup>b</sup>
6	b	M <sub>2</sub> 38a	41	>95 (5) <sup>b</sup>
5	c	M <sub>2</sub> 38a	42	>95 (-) <sup>b</sup>
7	a	M <sub>1</sub> 38a	40	85 (-) <sup>b</sup>
8	a	M <sub>3</sub> 38a	40	61 (-) <sup>b</sup>
9	a	M <sub>2</sub> 38b	40	84 (12) <sup>b</sup>
10	b	M <sub>2</sub> 38b	41	88 (44) <sup>b</sup>
11	c	M <sub>2</sub> 38b	42	81 (15) <sup>b</sup>

[a] Resa isolata. [b] Resa isolata al secondo utilizzo della specie catalitica.

Tabella 6 - Valutazione delle capacità catalitiche dei catalizzatori supportati

Da questa prima serie di esperimenti è emerso come il catalizzatore polistirenico quaternarizzato col gruppo etilico (**M<sub>2</sub>38b**) abbia raggiunto il miglior compromesso fra resa e riciclabilità, evidenziando la necessità di un buon bilanciamento fra *loading* della specie catalitica e isolamento dei siti catalitici stessi.

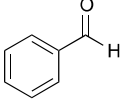
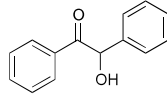
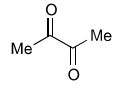
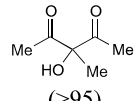
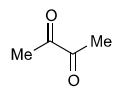
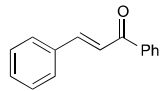
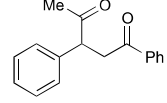
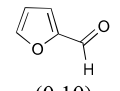
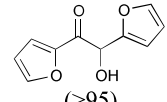
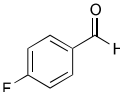
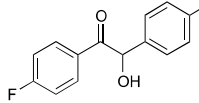
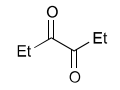
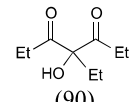
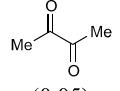
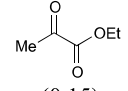
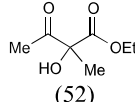
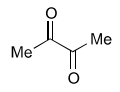
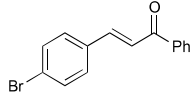
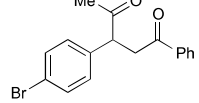
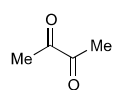
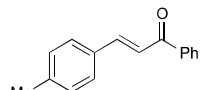
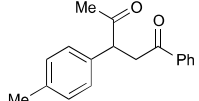
Utilizzando le stesse proporzioni di monomeri e porogeni impiegate per la sintesi di (**M<sub>2</sub>38b**) è stato successivamente prodotto un monolite all'interno di una colonna cromatografica, per effettuare esperimenti in flusso. Una volta eseguita la quaternarizzazione della specie catalitica

con la tecnica dello *stop flow*, il reattore è stato caratterizzato, valutandone il volume morto, il *loading* di pre-catalizzatore e i valori di contropressione a diverse velocità di flusso.

Sono stati quindi eseguiti degli esperimenti di sintesi in flusso, mantenendo le tre reazioni effettuate in precedenza, come processi modello (Tabella 7); le condizioni operative sono state variate usando l'apparato riscaldante dello strumento HPLC per la temperatura e impostando diversi valori di velocità di flusso dei reagenti (quest'ultimo parametro è stato variato cercando sì di aumentare la produttività, ma mantenendo come obiettivo primario la massimizzazione della conversione del materiale di partenza, così da ottenere il prodotto desiderato senza bisogno di ulteriori separazioni). E' importante sottolineare che tutte le reazioni sono state condotte sotto atmosfera di argon utilizzando il *purge system* dello strumento HPLC.

La generalità della metodologia proposta è stata dimostrata effettuando con successo anche altri processi in flusso: la condensazione benzoica del furfurale e della 4-fluoro benzaldeide hanno fornito ottimi valori di conversione (entry 4,5); altrettanto soddisfacenti risultati sono stati ottenuti per l'*homo-coupling* del 3,4-esandione e il *cross-coupling* del biacetile con l'etil piruvato (entry 6,7). Ottimi valori di conversione e selettività sono stati ottenuti anche nelle prove di reazione di Stetter effettuata con due calconi, funzionalizzati rispettivamente con un gruppo elettron-attrattore e un gruppo elettron-donatore (entry 8,9).



Entry	Donatore ( <i>c</i> [M])	Accettore ( <i>c</i> [M])	Solvente	Temp. [°C]	Velocità di flusso [μL/min]	Tempo [min] <sup>a</sup>	Prodotto (Conv. [%]) <sup>b</sup>	Produttività <sup>c</sup>
1	 (0.10)	[d]	buffer (pH 8)	35	10	105	 (>95)	207
2	 (0.10)	[d]	EtOH	25	10	105	 (>95)	207
3	 (0.15)	 (0.05)	EtOH	50	5	210	 (>95)	52
4	 (0.10)	[d]	buffer (pH 8)	35	15	70	 (>95)	310
5	 (0.10)	[d]	buffer (pH 8)	50	10	105	 (95)	207
6	 (0.10)	[d]	EtOH	25	10	105	 (90)	186
7	 (0.05)	 (0.15)	EtOH	25	10	105	 (52)	54
8	 (0.15)	 (0.05)	EtOH	50	5	210	 (75)	78
9	 (0.15)	 (0.05)	EtOH	50	5	210	 (69)	36

[a] Residence time calcolato. [b] Conversione calcolata in regime di stato stazionario mediante <sup>1</sup>H NMR o GC. [c] Produttività espresso in mmol(prodotta) h<sup>-1</sup> mmol(catalizzatore)<sup>-1</sup> × 10<sup>3</sup>. [d] Reazione di homo-coupling.

**Tabella 7 – Esperimenti di sintesi in flusso**

Particolare interesse durante questo studio è stato dedicato alla stabilità nel tempo della specie catalitica; andando ad analizzare l'andamento della conversione nel tempo (Figura 38(a)), si osserva come, per la reazione di condensazione benzoinica, un livello costante di conversione sia raggiunto dopo 36 ore di utilizzo, e come inizi poi a decadere, mostrando completa

disattivazione dopo 95 ore; il *turn over number* (TON) al raggiungimento dello stato stazionario è simile a quello osservato per il sistema *batch*, il che indica che non vi sia un sostanziale miglioramento nel passaggio ad un sistema in flusso per questo processo (dovuto probabilmente alla scarsa stabilità del catalizzatore in un sistema acquoso basico).

Risultati decisamente migliori sono stati ottenuti per la reazione di Stetter e la reazione aciloinica: nel passaggio al sistema in flusso si è registrata una stabilità nel tempo della specie catalitica (Figura 38(b), (c)), con un deciso incremento del valore di TON, soprattutto per il secondo dei due processi (da 6,4 a 37,5).

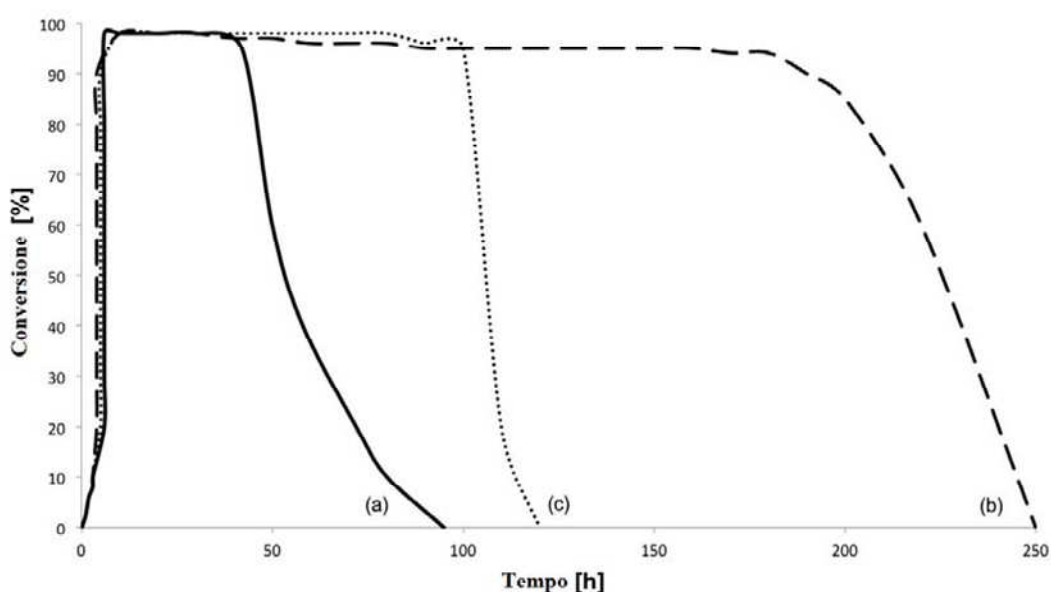


Figura 38 – Andamento nel tempo dei valori di conversione per le reazioni modello

In conclusione sono stati sintetizzati alcuni esempi di organocatalizzatori eterogenei costituiti da tiazol carbeni supportati su silice o polistirene; la loro attività è stata valutata sulla base di tre processi modello effettuati in solventi “*green*”. È stato quindi prodotto un reattore monolitico polistirenico contenente la specie catalitica più efficiente; attraverso la realizzazione di processi di sintesi in flusso e il confronto con i corrispettivi in *batch* è stato dimostrato come sia possibile, in diversi casi, ottenere un aumento notevole della produttività del sistema. Questo risultato è riconducibile ad un incremento della vita della specie catalitica, imputabile da una

parte al regime di flusso, dall'altra alla rimozione in continuo di eventuali impurezze e all'assenza di aria nel sistema.

Questo studio è stato oggetto di una pubblicazione (Thiazolium-functionalized polystyrene monolithic microreactors for continuous-flow umpolung catalysis; O. Bortolini, A. Cavazzini, P. Dambruoso, P. P. Giovannini, L. Caciolli, A. Massi, D. Ragno, *Green Chemistry*, **2013**, 15, 2981) allegata nella parte finale di questo lavoro di tesi, alla quale si rimanda per maggiori dettagli sulla parte sperimentale.

## 1. I composti perfluorurati

Con il termine PFAS (polyfluorinated alkylated substances) ci si riferisce ad una famiglia di composti organici di sintesi costituiti da una catena alchilica idrofobica di varia lunghezza (in genere da 4 a 16 unità di carbonio) alla cui estremità si trova un gruppo funzionale polare (principalmente carbossilato, sulfonato o fosfato). La catena carboniosa può essere parzialmente o totalmente fluorurata: nel caso in cui sia totalmente fluorurata si parla di PFC (perfluorinated compounds, come, per esempio, l'acido perfluorottanoico (PFOA) e il perfluorottan sulfonato (PFOS), mentre per quanto riguarda invece le molecole parzialmente fluorurate, le più importanti sono i fluorotelomeri ( $F(CF_2)_n-CH_2CH_2-R$ ), che sono stati identificati come precursori di PFC trovati in diversi comparti ambientali.

PFOA e PFOS (che sono solo i principali rappresentanti di un'ampia serie di molecole perfluorurate) sono considerati "emerging pollutants"; sono cioè inclusi nell'insieme di quelle sostanze di sintesi (fra le quali troviamo surfattanti, farmaci e loro metaboliti, prodotti per la cura del corpo e la pulizia, plastificanti, solventi, ecc.) la cui presenza nell'ambiente è stata presa in considerazione solo negli ultimi anni. Si tratta di composti per i quali spesso non esistono ancora dei precisi limiti di legge che ne regolino la concentrazione massima in matrici quali, per esempio, le acque potabili; dei contaminanti emergenti (la cui lista è in continuo aggiornamento), non è detto si conoscano a pieno gli effetti a lungo termine sull'ambiente e sull'uomo, ma si ipotizzano o, in alcuni casi, si ha la certezza di effetti sullo sviluppo e sul sistema endocrino.

Essendo il legame carbonio-fluoro uno dei più forti in chimica organica, i PFC risultano estremamente stabili anche a temperature superiori a  $150^\circ C$ , non infiammabili, non degradabili in condizioni acide o basiche forti, resistenti ad agenti ossidanti e alla fotolisi e non soggetti a processi metabolici o di biodegradazione <sup>[1,2,3]</sup>. La catena perfluorurata, unitamente alla presenza di un gruppo polare (acido nel caso di PFOA e PFOS), impartisce a queste molecole proprietà tensioattive e una discreta anfifilicità (cioè sono allo stesso tempo idrofobiche e idrofiliche). Queste particolari caratteristiche hanno consentito, nella seconda metà del 1900, un ampio utilizzo di queste molecole per scopi molto diversificati <sup>[4]</sup>. Tra gli impieghi di maggior successo si riportano quelli come additivi o materie prime in rivestimenti anti-macchia per tessuti, pellicole per imballaggi alimentari, strati antiaderenti per pentole e tegami, lubrificanti, inchiostri, tensioattivi in vari prodotti per la pulizia, ritardanti di fiamma nelle schiume antincendio, e infine come prodotti di partenza per la produzione di fluoropolimeri a diverso

contenuto di fluoro, impiegati sia nell'industria elettronica, sia nei materiali da laboratorio, come ad esempio il politetrafluoroetile (PTFE) e il Polivinildenfluoruro (PVDF) [<sup>5,6</sup>].

La produzione di PFC avviene essenzialmente attraverso due metodologie [<sup>7,8</sup>]:

- 1- processo elettrochimico (noto anche come metodo di Simons) basato sulla reazione di molecole alchiliche di partenza (come l' 1-eptancarbone fluoruro per il PFOA) con acido fluoridrico anidro. La reazione di sostituzione degli atomi di idrogeno sulla catena carboniosa con atomi di fluoro viene effettuata attraverso l'impiego di celle elettrolitiche. Durante il processo si possono avere fenomeni di frammentazione e riarrangiamento della catena alchilica che portano alla formazione di sottoprodotti di reazione, principalmente molecole con scheletro carbonioso di diversa lunghezza, sia lineare o ramificato. Questa tecnica ha come conseguenza diretta il fatto che non si possano produrre composti ad elevato grado di purezza, ma piuttosto miscele di isomeri conformazionali con catene carboniose diverse (per lunghezza ed eventuale ramificazione);
- 2- sintesi organica (telomerizzazione): procede attraverso la polimerizzazione di unità tetrafluoroetilene a partire da un alcol non fluorurato. I prodotti principali di reazione sono alcoli a catena non ramificata  $(F(CF_2CF_2)_nCH_2CH_2OH)$ , denominati comunemente FTOHs, fluorotelomer-alcohols) in cui il numero di gruppi tetrafluoroetili non supera comunemente il valore di  $n=10$ . Questi possono poi essere convertiti in un secondo momento nei prodotti finali per applicazioni industriali o commerciali.

Dato il largo impiego dei PFC, le probabilità che questi contaminino sia spazi aperti, sia luoghi chiusi sono molto elevate. Quindi il contatto tra questi composti e la popolazione può avvenire con estrema facilità. Inoltre un fattore molto importante è che i PFC sono solo raramente chimicamente legati ai materiali che li contengono, mentre più spesso questi sono semplicemente additivati ai materiali plastici oppure li ricoprono superficialmente. Il rilascio nell'ambiente di queste molecole può avvenire in ogni momento del loro "ciclo vitale", partendo cioè da quando vengono prodotti, durante il loro impiego industriale, durante l'utilizzo dei manufatti che li contengono, fino allo smaltimento o stoccaggio non controllato degli stessi.

L'interesse scientifico verso questa categoria di molecole è nato quando livelli rilevanti di PFOA e PFOS, assieme ad altri composti di questa famiglia, sono stati riscontrati in matrici ambientali (ad es. acque di scarto, campioni atmosferici, sedimenti, terreni) provenienti dalle zone circostanti gli impianti di produzione e di utilizzo [<sup>9,10,11,12</sup>], ma anche da regioni molto più

remote (ad es. continente artico). Le concentrazioni rilevate erano estremamente variabili, in un *range* compreso tra qualche decina di µg/L e qualche unità di mg/L. La preoccupazione verso la salute umana è sorta quando PFOA e PFOS sono stati rivelati anche in numerosi campioni biologici (compresi quelli di origine umana) [<sup>13,14,15</sup>], tra cui tessuti di diversa natura e fluidi biologici, come latte, urine e sangue.

Una distribuzione ubiquitaria di questo tipo è stata ricondotta al fatto che a) PFOA e PFOS sono molto persistenti nell'ambiente, b) molti FTOH sono composti alquanto volatili e quindi facilmente soggetti a fenomeni di trasporto ambientale anche a lungo raggio, c) i FTOH, a differenza dei PFC, sono meno stabili e sono soggetti a processi di biotrasformazione che sono in grado di degradare ed ossidare queste molecole nei rispettivi acidi, fino alla formazione in ultima analisi di PFOA [<sup>16,17,18</sup>]. D'altra parte l'elevata stabilità dei PFC consente il loro impiego in condizioni nelle quali altre molecole non sarebbero utilizzabili (come ad es. condizioni estreme di pH e alta temperatura), e contemporaneamente li rende estremamente persistenti e facilmente bioaccumulabili [<sup>19</sup>] (PFOA e PFOS hanno un tempo di bioeliminazione dal corpo umano di 3,8 e 5,4 anni, rispettivamente): molti composti di questa famiglia rispondono infatti ai requisiti per essere classificati come POP (persistent organic pollutants) e sono stati inseriti nella lista dei contaminanti soggetti a forti controlli e limitazioni, sia nella produzione sia nell'utilizzo [<sup>20</sup>].

A differenza di altri inquinanti organici alogenati, come per esempio i policlorobifenili, i PFC hanno una maggiore lipofobicità e quindi non si accumulano nei tessuti adiposi, ma hanno un'elevata affinità per le proteine, con le quali possono legarsi molto fortemente e questo porta ad un accumulo preferenziale nei tessuti ad elevato contenuto proteico (ad esempio reni, fegato, sangue o latte materno) [<sup>21,22</sup>]. Tale caratteristica dei PFAS è nota ed è stata anche sfruttata a vantaggio di importanti applicazioni liquido-cromatografiche per la misurazione delle costanti di *binding* tra PFAS (principalmente PFOA) e proteine [<sup>23</sup>]. Recentemente sono stati condotti diversi studi mirati all'analisi del contenuto di PFC in campioni umani di unghie o capelli: oltre a richiedere metodologie di prelievo molto meno invasive, matrici di questo tipo consentono anche di fornire utili informazioni di screening sull'esposizione nel tempo di un determinato soggetto a questa classe di composti. Le informazioni che si possono ottenere hanno dato utili indicazioni sull'esposizione sia domestica che nei luoghi di lavoro ai PFC. Per quanto riguarda l'uomo, l'alimentazione (acqua, carne, pesce) è stata individuata come la principale fonte di assunzione di PFC, sebbene anche l'ingestione di polvere (soprattutto per i bambini) sia una causa di contaminazione da non sottovalutare [<sup>23</sup>]. Gli effetti sistemici di questi composti sono

molteplici: i PFC possono infatti alterare il metabolismo degli acidi grassi, disturbare il sistema riproduttivo, indurre effetti negativi sul fegato e sul sistema immunitario, e sono inoltre risultati essere una causa importante nella formazione di neoplasie [8].

## 2. La Fluorous Chemistry

La *fluorous chemistry* è quella branca della chimica che prevede l'impiego di reagenti (e/o solventi) fluorurati; queste molecole sono in genere costituite da una porzione organica che ne determina la reattività chimica e da una parte fluorurata (chiamata anche *fluorous tag*) che può essere sia alchilica che aromatica. La porzione fluorurata, che risulta spesso separata dal resto della molecola da una breve catena alchilica, così da non alterarne la reattività, può essere parte integrante della molecola o può esservi legata temporaneamente in modo da poter essere rimossa una volta terminata la sua funzione. In base al contenuto di atomi di fluoro si parla di *heavy-* e *light-fluorous molecules*, in cui questo elemento è presente rispettivamente al 60 e al 40% circa del peso molecolare totale.

La funzionalizzazione di una comune molecola organica con un *tag* fluorurato viene effettuata così da poterne sfruttare le particolari caratteristiche chimico-fisiche: oltre alla bassa polarizzabilità e all'elevata stabilità termica e chimica, i composti fluorurati presentano caratteristiche sia idrofobiche che lipofobiche; è inoltre noto come molecole contenenti atomi di fluoro siano particolarmente affini per altre molecole fluorurate e come la forza di questa interazione sia proporzionale al contenuto in fluoro nella loro struttura [24]. Quest'ultimo principio, che viene definito *fluorous affinity*, può essere sfruttato sia in chimica organica che in chimica analitica per eseguire processi di separazione semplici ed efficienti.

L'uso di reagenti o gruppi protettori contenenti atomi di fluoro consente di separare i prodotti o eventuali sottoprodotti dall'ambiente di reazione, attraverso semplici estrazioni liquido-liquido con solventi fluorurati; un'ulteriore peculiarità di quest'ultimi è che l'immiscibilità con molti solventi organici o acquosi (che consente di effettuare le estrazioni) è dipendente dalla temperatura: è quindi possibile scaldare l'ambiente di reazione, sfruttare la miglior cinetica di un sistema omogeneo e, una volta completato il processo, semplicemente raffreddando, riottenere un sistema bifasico e la contemporanea separazione delle specie fluorurate da quelle non fluorurate.

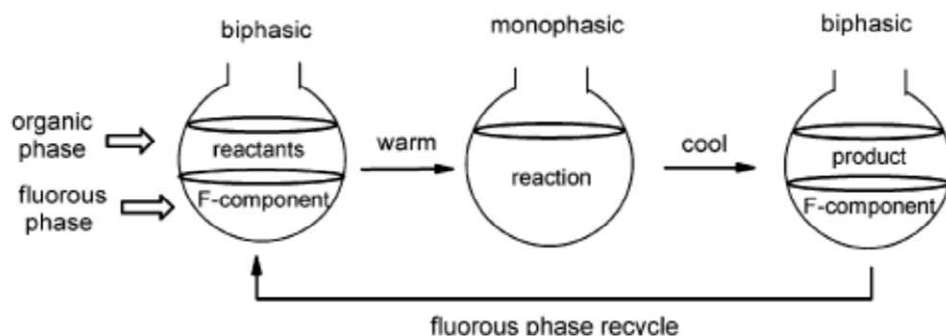


Figura 39 - Catalisi fluorurata in sistemi bifasici

Un'ulteriore importante applicazione della *fluorous chemistry* è costituita dall'uso di catalizzatori fluorurati: se da una parte questo consente di separare e successivamente riciclare una specie catalitica con notevole risparmio economico, allo stesso tempo questa tecnica permette (per esempio nel caso di specie organometalliche fluorurate) di purificare il prodotto da residui inquinanti indesiderati come quelli di ioni metallici.

Anche da un punto di vista analitico la *fluorous affinity* è stata sfruttata attraverso l'impiego di fasi solide fluorurate con le quali si possono effettuare sia estrazioni solido-liquido (F-SPE) sia vere e proprie separazioni di cromatografia liquida.

La F-SPE prevede l'impiego di cartucce impaccate con fasi solide (in genere di tipo siliceo) fluorurate attraverso le quali, dopo una fase di condizionamento, viene eluita una soluzione con gli analiti (tale soluzione può essere anche la miscela contenente il grezzo di una reazione organica con composti fluorurati). Eluendo in una prima fase con un solvente fluorofobico si avrà il prevalere delle forze attrattive tra composti fluorurati, con il conseguente adsorbimento selettivo delle specie contenenti atomi di fluoro e la contemporanea eluizione di tutte le altre molecole. Facendo poi passare attraverso la cartuccia un solvente fluorofilico (come il metanolo o l'acetonitrile) si può ottenere, in una seconda fase, il rilascio dei composti adsorbiti. La F-SPE si è dimostrata una tecnica molto utile, dando miglior risultati in termini di recupero rispetto all'estrazione liquido-liquido, soprattutto per molecole a basso contenuto di atomi di fluoro.

Fasi solide fluorurate sono state anche impiegate per impaccare colonne cromatografiche per esperimenti HPLC sia di tipo analitico che semi-preparativo. Su questo tipo di fasi solide i normali composti organici presentano una scarsa ritenzione mentre quelli fluorurati risultano più trattenuti, grazie alla contemporanea natura lipofobica e idrofobica delle catene fluorurate; inoltre, nel processo separativo, è proprio il numero di atomi di fluoro a fare da discriminante: miscele, anche complesse, di analiti chimicamente simili, ma a diverso contenuto di atomi di



fluoro possono essere separati su colonne fluorurate (Figura 40). Un'ulteriore caratteristica delle fasi fluorurate è che presentano in genere un tempo di vita più lungo rispetto alle fasi non fluorurate.

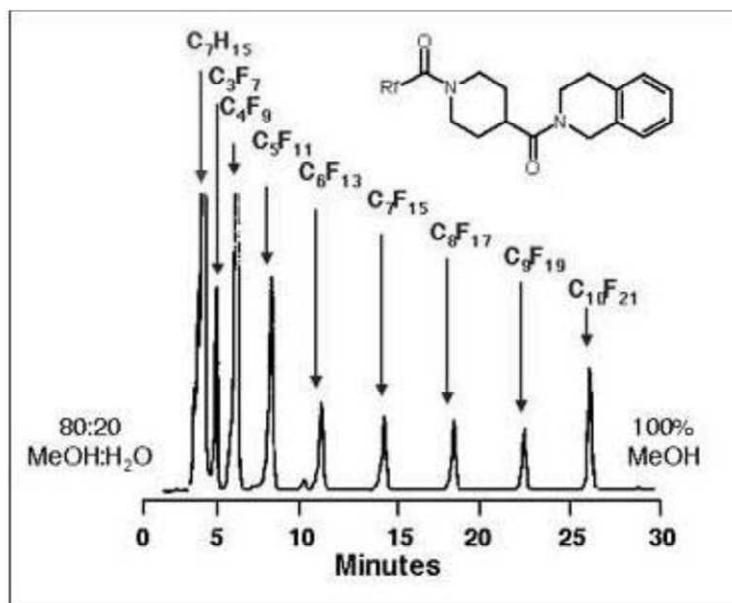


Figura 40 - Esempio di cromatogramma: separazione di ammidi a diverso contenuto di atomi di fluoro su fase fluorurata

Esistono diversi tipi di funzionalizzazioni fluorurate per fasi stazionarie (per esempio di tipo siliceo), sia di tipo alchilico che aromatico: sebbene ad oggi siano diffusi svariati protocolli per la sintesi di questo tipo di supporti e siano quindi riportati in letteratura esempi con diversi tipi di funzionalizzazione sia lineari che ramificati, le più comuni risultano essere le fasi perfluoro-ottiliche lineari e le pentafluorofeniliche [25]; quest'ultime, sebbene non offrano prestazioni ottimali nella separazione di composti fluorurati a causa del basso contenuto di atomi di fluoro, presentano una miglior selettività per i composti aromatici [26].

Un'ulteriore peculiarità delle fasi stazionarie fluorurate è il particolare profilo di ritenzione (detto anche “*U-shaped*”) per molecole polari (Figura 41): se si va ad analizzare l'andamento della ritenzione di questo tipo di composti si vede che inizialmente i valori del tempo di ritenzione calano all'aumentare della frazione di componente organico nella fase mobile; in questa zona quindi le fasi stazionarie presentano un comportamento di tipo fase inversa (*reversed phase chromatography*, RPLC). La curva giunge però ad un punto di minimo e successivamente inizia ad avere un andamento opposto al precedente: si osserva infatti l'aumento del tempo di ritenzione di un composto polare al crescere della percentuale di componente organico della fase mobile: in questo intervallo il comportamento della fase viene

definito di tipo HILIC (hydrophilic interaction chromatography) [27]. Un'interpretazione di questo andamento può essere proposta sulla base della determinazione delle isoterme di eccesso che consentono di caratterizzare la composizione della fase stazionaria in funzione della composizione della fase mobile (eluente)

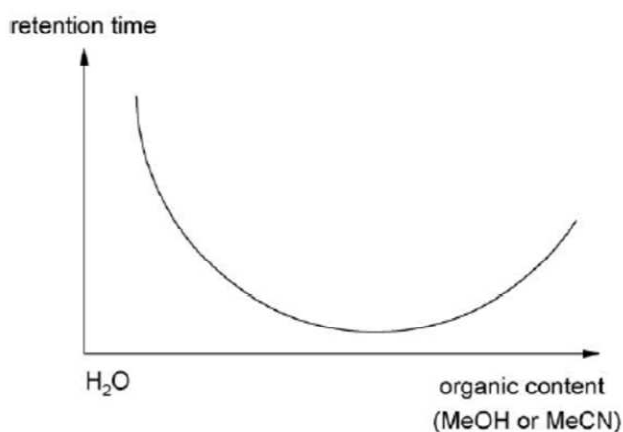


Figura 41 - Grafico del profilo di ritenzione *U-shape*

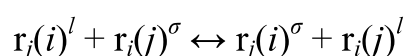
### 3. Processi di adsorbimento ed isoterme di eccesso

In un tipico sistema di cromatografia liquida a fase inversa la fase stazionaria è costituita da gruppi funzionalizzanti apolari legati covalentemente alla superficie della silice che incorporano le molecole dell'eluente, sia quelle della componente organica (metanolo, acetonitrile,...) che di acqua. La concentrazione dei solventi nella fase stazionaria, che differisce da quella nella fase mobile, viene determinata dallo stabilirsi di un equilibrio termodinamico tra le due fasi; tra le condizioni che vanno ad influenzare questo equilibrio vi sono la composizione della fase mobile, la natura chimica dei gruppi legati sulla fase stazionaria (e la loro concentrazione) e la temperatura. La diversa composizione dell'eluente influenza ulteriormente la struttura spaziale della fase stazionaria poiché da essa può dipendere anche la conformazione spaziale che i gruppi funzionalizzanti assumono a seconda dall'ambiente nel quale si trovano. Anche se le fasi adsorbenti utilizzate in RPLC sono considerate idrofobiche, esse contengono sempre una certa quantità di gruppi silanologici non derivatizzati. Su questi siti hanno origine interazioni di tipo "silanofílico" che spiegano la capacità della fase, in certe specifiche condizioni, di essere caratterizzata da un eccesso di acqua (rispetto alla composizione della fase mobile).

Tra i diversi modelli che possono essere utilizzati per descrivere il meccanismo della ritenzione in RPLC, quello di Jaroniec [28] prevede la differenziazione, all'interno di un qualsiasi processo HPLC, di due fasi distinte: la prima è costituita dalla formazione della fase stazionaria come risultato delle interazioni tra la superficie solida e la fase eluente. Questo fenomeno avviene durante il condizionamento della colonna cromatografica, attraverso la realizzazione di un equilibrio di composizione, tramite adsorbimento competitivo dei solventi costituenti la fase eluente; come detto in precedenza, questo equilibrio dipende dalla natura dei leganti, dalla loro concentrazione, dalle caratteristiche del supporto solido e da quelle della fase eluente.

Nel caso in cui si consideri una fase eluente binaria (per esempio acqua/acetonitrile in RPLC), poiché i due solventi mostreranno affinità diversa per la fase solida, si avrà l'accumulo preferenziale di uno dei due sulla superficie. Nel caso per esempio della cromatografia a fase inversa, essendo la fase adsorbente apolare, ci si aspetta un accumulo preferenziale sulla fase solida (o in prossimità di essa) del componente più lipofilo, la cui concentrazione sarà quindi maggiore in quella zona rispetto al resto della fase mobile.

L'adsorbimento competitivo dei due solventi (che viene detto *displacement*), viene generalmente descritto dalla reazione di scambio di fase (per i solventi  $i$  e  $j$ ):



dove il parametro  $r_i$  è una misura delle dimensioni molecolari del solvente  $i$ -esimo e  $(i)^l$  definisce l' $i$ -esimo solvente nella fase mobile e  $(i)^\sigma$  definisce l' $i$ -esimo solvente nella fase stazionaria. Questa reazione è caratterizzata dalla costante di equilibrio  $K_{ij}$ :

$$K_{ij} = \left( \frac{a_i^\sigma}{a_i^l} \right)^{r_j} \left( \frac{a_j^l}{a_j^\sigma} \right)^{r_i}$$

Dove  $a_i^\sigma$  e  $a_i^l$  indicano l'attività del componente  $i$  rispettivamente nella fase stazionaria e nella fase mobile; l'attività a sua volta è definibile attraverso la frazione di volume  $\varphi$  e il coefficiente di attività  $\gamma$ :

$$a_i^\sigma = \varphi_i^\sigma \gamma_i^\sigma \quad ; \quad a_i^l = \varphi_i^l \gamma_i^l \quad \text{per il componente } i\text{-esimo in ciascuna delle due fasi}$$

I coefficienti di attività possono essere valutati tramite misure indipendenti, come la cromatografia gas-liquido [29] o equilibri liquido-vapore [30]. In ogni caso espressioni analitiche per i coefficienti di attività possono essere ottenute solo grazie all'assunzione di un modello molecolare per la fase mobile; in molti modelli di ritenzione del soluto, la composizione di solventi sulla fase superficiale è espressa attraverso equazioni semplificate come quella di Everett [31]) che corrisponde al modello di adsorbimento più semplice, in cui si assume che: (a) equilibrio termodinamico di una miscela binaria ideale liquida non elettrolitica su di un solido inerte, (b) identiche dimensioni e forma sferica per tutte le molecole, (c) fase solida ideale. Anche se un modello di questo tipo risulta molto semplificato, per molti sistemi LC è sufficiente per rappresentare la composizione di fase superficiale dei solventi.

La seconda fase inizia nel momento in cui avviene l'iniezione di un soluto  $s$ , disciolto a concentrazione infinitamente bassa in una miscela di solventi generalmente identica per proporzioni alla fase eluente. Inizia quindi un processo di partizione del soluto tra la fase mobile e la fase stazionaria: per descrivere questo processo è necessario considerare le sue interazioni con i solventi in entrambe le fasi. In genere questo fenomeno è caratterizzato dalla costante di equilibrio  $K_{si}$  (analogo alla costante  $K_{ij}$  vista in precedenza):

$$K_{si} = \left( \frac{a_s^\sigma}{a_s^l} \right)^{r_i} \left( \frac{a_i^l}{a_i^\sigma} \right)^{r_s}$$

Definendo il coefficiente di distribuzione del soluto  $k_s$  come il rapporto delle frazioni di volume del soluto nella fase stazionaria e nella fase mobile

$$k_s = \left[ \frac{\varphi_s^\sigma}{\varphi_s^l} \right]$$

ed esprimendo il tutto in termini di attività, è possibile ottenere:

$$\ln K_s = \ln k_{si}^* + \ln \left( \frac{\gamma_s^l}{\gamma_s^\sigma} \right) + n \ln \left( \frac{\varphi_i^\sigma}{\varphi_i^l} \right) + n \ln \left( \frac{\gamma_i^\sigma}{\gamma_i^l} \right)$$

Con  $K_{si}^* = (K_{si})^{\frac{1}{r}}$  e  $n = r_s / r_i$

L'equazione sopra descrive la distribuzione del soluto nel modo più generale possibile, tenendo conto di tutti i tipi di interazione: soluto-solvente (primo termine), soluto-solvente e soluto-superficie (secondo termine), solvente-superficie e solvente-solvente (terzo e quarto termine). Da questa espressione generale si può ricavare una relazione più semplice, tralasciando le interazioni soluto-solvente e solvente-solvente in entrambe le fasi:

$$\ln K_S = \ln k_{si}^* + n \ln \left( \frac{\varphi_i^s}{\varphi_i^l} \right)$$

Questa equazione descrive un semplice processo di *displacement* delle molecole del solvente fisicamente adsorbite sulla fase stazionaria con le molecole di solvente contenute nella fase mobile, caratterizzato esclusivamente dalle differenze in termini di interazioni soluto-superficie e solvente-superficie. Al di là di questa espressione semplificata, è possibile ricavare dall'equazione generale diverse altre equazioni utili per descrivere sistemi nei quali vengano trascurati o equiparati vari parametri.

### 3.1 Isoterme di eccesso

Come accennato in precedenza, nel momento in cui si effettua il condizionamento di una fase stazionaria con una miscela binaria di solventi, si avrà l'adsorbimento preferenziale di uno dei due componenti della fase mobile sulla superficie solida; nel caso di una fase solida inversa, sulla sua superficie si avrà una maggior concentrazione delle molecole del componente organico, concentrazione che diminuirà progressivamente allontanandosi da essa fino a raggiungere un valore medio nella fase di *bulk* ad una certa distanza (generalmente indicata come  $Z^{bulk}$ ) (Figura 42).

Per esprimere la quantità di materiale adsorbito ci si può riferire o all'adsorbimento totale (detto anche assoluto) o di eccesso, a seconda di dove si posizioni il piano interfase che separa la zona di *bulk* da quella della fase stazionaria. Questa differenza è dovuta al fatto che esistano diversi modelli di adsorbimento corrispondenti a diversi profili di concentrazione (Figura 42): poiché anche in assenza di interazioni soluto-fase stazionaria vi sono delle molecole di soluto nelle vicinanze dell'interfase solido-liquido, a seconda che il piano che delimita l'inizio della zona di *bulk* comprenda o no queste molecole, si parla di adsorbimento totale o di eccesso.

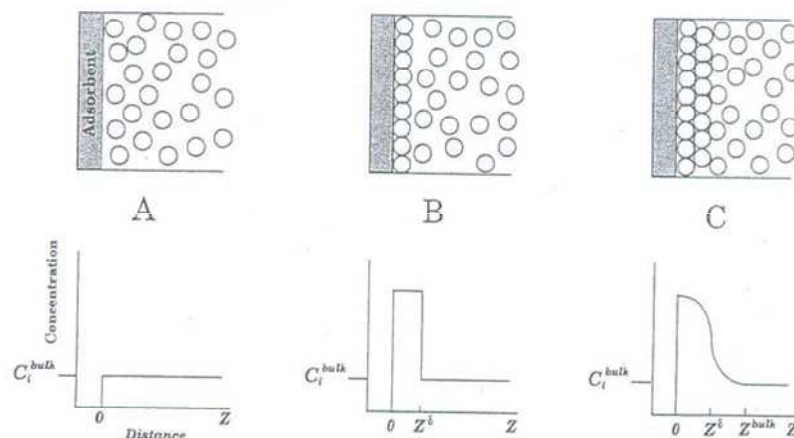


Figura 42 – Modelli di adsorbimento e profili di concentrazione

Questo piano immaginario, detto anche piano di Gibbs, ha volume nullo, ma proprietà chimico-fisiche diverse da zero; esso può essere posto esattamente sulla superficie fisica del materiale adsorbente (in tal caso si parlerà di adsorbimento di eccesso), oppure ad una certa distanza  $z$  da quest'ultima, all'interfaccia fra un film di materiale adsorbito e il *bulk* (si considererà allora un adsorbimento totale). Nel primo caso (che si basa sulla convenzione detta v-NA [32]), il volume morto, definito anche “*thermodynamic dead volume*” ( $V_0$ ) della colonna è dato dal volume totale dell'eluente nella colonna e può essere determinato per picnometria o con tecniche cromatografiche, mentre nel secondo caso (che si basa sulla convenzione detta J-NA [32]) il volume morto, definito anche “*kinetic void volume*” ( $V_M$ ) viene generalmente determinato con l'iniezione di un componente che si assume non essere ritenuto.

$$V_M = A_s \int_{z^\delta}^{\infty} dz$$

$$V_0 = A_s \int_0^{\infty} dz$$

Le isoterme di adsorbimento rivestono un ruolo importante in cromatografia liquida, poiché danno informazioni dirette per valutare la dipendenza della ritenzione dalla concentrazione; inoltre consentono di ricavare informazioni importanti, come l'area superficiale del materiale solido e l'energia di interazione tra adsorbato e materiale adsorbente.

Uno dei metodi principali per avere informazioni sulla distribuzione tra due fasi di una specie è il calcolo dell'isoterma di eccesso, che misura la quantità di un solvente presente nella fase stazionaria (o "sotto l'effetto della fase stazionaria") in equilibrio con la fase mobile a diverse composizioni. L'eccesso superficiale di un adsorbato, esprime la differenza tra il quantitativo del componente in esame effettivamente presente sulla superficie e quello che sarebbe presente su di essa in un sistema immaginario con la medesima geometria, ma totalmente privo di interazione fra fase stazionaria e soluto.

Sostanzialmente si possono ottenere cinque tipi di isoterme di eccesso, riportate come eccesso superficiale (in ordinata) vs la frazione molare (in ascissa) del componente in esame. Come si evince dai grafici (Figura 43), l'isoterma di eccesso va a zero nel caso in cui si abbia un componente puro (frazione molare uguale a 0 o a 1) e può avere un massimo a diversi valori di frazione molare (casi 1-3); da isoterme come quelle dei casi 4 e 5 si nota invece come il sistema adsorba preferenzialmente un componente a bassi valori di frazione molare, e come successivamente la curva assuma valori negativi, indicando cioè che, all'aumentare del valore di frazione del componente in esame, questo risulta meno adsorbito dell'altro.

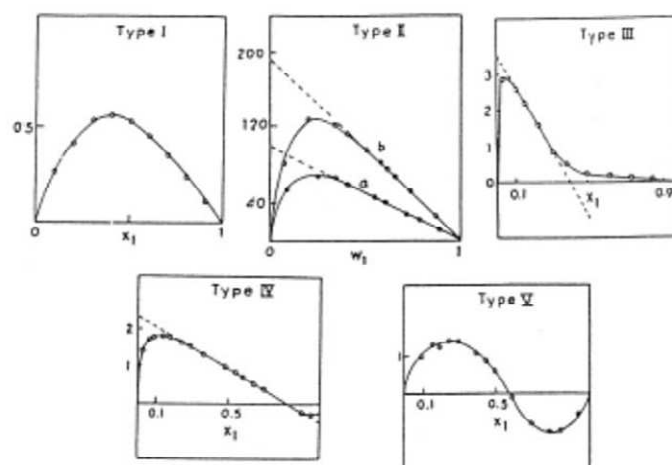


Figura 43 – Possibili forme di isoterme di eccesso

La misura di un'isoterma di eccesso può avvenire, da un punto di vista sperimentale, attraverso diversi metodi:

- Metodo statico: consiste nell'immergere una quantità nota di materiale adsorbente in una soluzione a titolo noto; dopo aver fatto raggiungere l'equilibrio al sistema si analizza la soluzione. Il procedimento viene ripetuto più volte, fino all'ottenimento di un set di valori

sperimentali. Questo metodo è poco diffuso, soprattutto a causa dei lunghi tempi di analisi necessari per l'equilibratura del sistema

- Metodi dinamici: si tratta di metodi cromatografici dalla rapida esecuzione, ma che richiedono una strumentazione più sofisticata; esistono diversi tipi di esperimenti appartenenti a questa tipologia, tra questi i più diffusi sono la *Frontal Analysis* (FA) e i metodi perturbativi.

La FA prevede il condizionamento iniziale della colonna con un solvente puro e la successiva iniezione di una soluzione a concentrazione nota del composto in esame; il cromatogramma mostrerà quindi una curva (denominata curve di *breakthrough*) [33] dalla quale è possibile ricavare la concentrazione dell'analita in fase stazionaria (q) secondo la relazione:

$$q = C * \frac{V_R - V_0}{V_{ads}}$$

Dove C corrisponde alla concentrazione dell'analita nella fase mobile,  $V_R$  indica il volume di ritenzione corrispondente al punto di flesso della curva di *breakthrough*,  $V_0$  è il volume morto del sistema e  $V_{ads}$  corrisponde al volume della fase adsorbente (ottenuto per differenza fra il volume della colonna e il volume morto). Variando la concentrazione della soluzione iniettata si ha lo spostamento del punto di flesso, consentendo di ottenere diversi valori di q: l'isoterma di eccesso può essere quindi ottenuta ripetendo questo esperimento più volte, poiché ogni valore di q corrisponde ad un punto dell'isoterma stessa.

L'analisi frontale risulta un metodo molto accurato e sensibile, i cui risultati sono indipendenti dall'efficienza della colonna; d'altra parte richiede una gran quantità di solventi e molto tempo di lavoro, necessario per raccogliere una lunga serie di dati.

I metodi perturbativi prevedono invece il condizionamento della colonna cromatografica con una soluzione a titolo noto di analita e la successiva perturbazione dell'equilibrio con un'iniezione di una soluzione diluita dell'analita stesso. La fase mobile può anche essere costituita da una miscela binaria di solventi: in tal caso il composto in esame può essere uno dei due componenti della miscela (o entrambi) e verrà successivamente iniettato per perturbare l'equilibrio.



L'esperimento viene ripetuto condizionando il sistema con soluzioni a diversa concentrazione di analita: per ogni esperimento, ricavando il volume di ritenzione dal picco del cromatogramma, si ottiene un punto dell'isoterma di eccesso [34].

Esistono due tipi di metodi perturbativi: l'eluizione di una perturbazione su plateau e l'eluizione di una perturbazione isotopica su plateau (detta anche tecnica *tracer pulse*). Quest'ultima metodologia impiega come analita per perturbare l'equilibrio del sistema una specie marcata isotopicamente; questo metodo è ovviamente vincolato alla possibilità di marcare isotopicamente una determinata specie chimica e di avere a disposizione un opportuno rivelatore (come uno spettrometro di massa interfacciato con lo strumento HPLC).

#### 4. Risultati e discussione

Nell'ambito di questo progetto di ricerca, per prima cosa è stata eseguita la sintesi del materiale siliceo derivatizzato con gruppi perfluorurati; sono state utilizzate particelle di silice sferica di dimensioni di circa 5  $\mu\text{m}$  con pori approssimativamente di 100  $\text{\AA}$ , che, dopo un primo *step* di attivazione (per eliminare eventuali molecole di acqua adsorbite), sono state funzionalizzate con tricloro-perfluoroesiletil silano. Per effettuare questa reazione e preservare allo stesso tempo la struttura sferica delle particelle, il processo è stato eseguito in un pallone collegato ad un rotavapor, per sfruttarne il meccanismo di rotazione lungo il suo asse al posto dei tradizionali sistemi di agitazione meccanica.

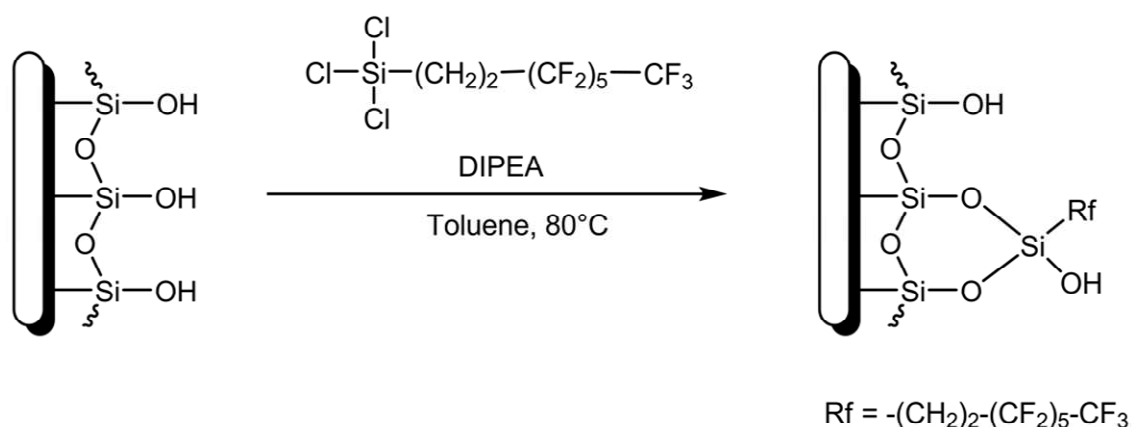


Figura 44 – Funzionalizzazione della silice con catena fluorurata

La silice fluorurata è stata poi sottoposta a procedura di *end-capping*, con lo scopo di ridurre il più possibile il numero dei gruppi silanici liberi non derivatizzati; la reazione, in condizioni operative analoghe a quelle della procedura di funzionalizzazione, è stata eseguita con trimetil-silil imidazolo.

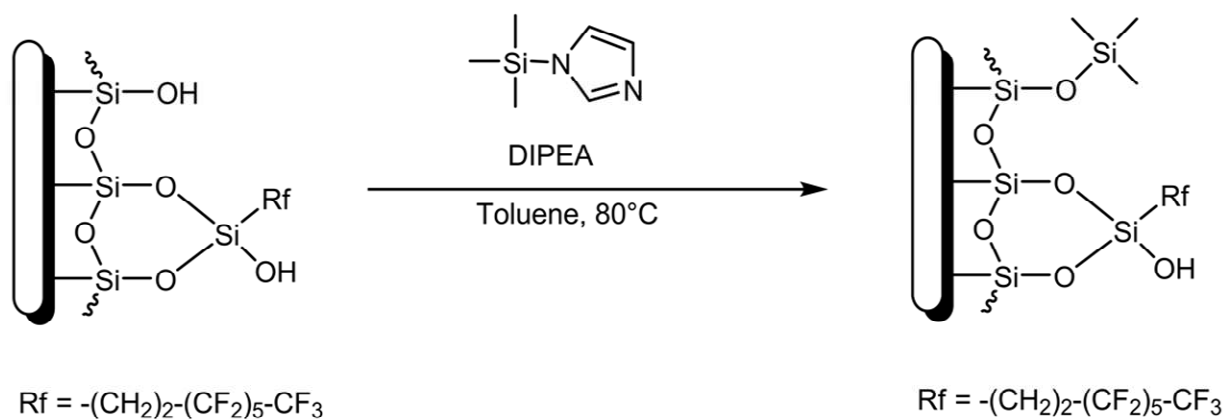


Figura 45 – Reazione di *End-capping*

Le particelle di silice così ottenute sono state impiegate per impaccare una colonna di acciaio (10 cm di lunghezza, 2,1 mm di diametro) con la tecnica dello *slurry*; una volta creata la colonna cromatografica, è stato studiato il comportamento della fase stazionaria attraverso il calcolo dell'isoterma di eccesso con la tecnica *tracer pulse*, monitorando i tempi di ritenzione di due specie marcate isotopicamente (ACN-d<sub>3</sub> e D<sub>2</sub>O) con uno strumento HPLC-MS a diverse proporzioni dei due componenti della fase mobile.

Il volume di eccesso della specie marcata isotopicamente *i* può essere calcolato secondo la formula:

$$V_i^{exc} = (V_{R,i}^* - V_{R,j}^*) \theta_i^M \theta_j^M$$

Dove  $V_{R,i}^*$  e  $V_{R,j}^*$  sono i volumi di ritenzione dei due componenti marcati *i* e *j*, e dove  $\theta_i^M$  e  $\theta_j^M$  indicano la frazione molare dei due componenti nella fase mobile.

Riportando il volume di eccesso di ACN-d<sub>3</sub> al variare della frazione molare di acetonitrile nella fase mobile, si ottiene l'isoterma riportata in figura (Figura 46).

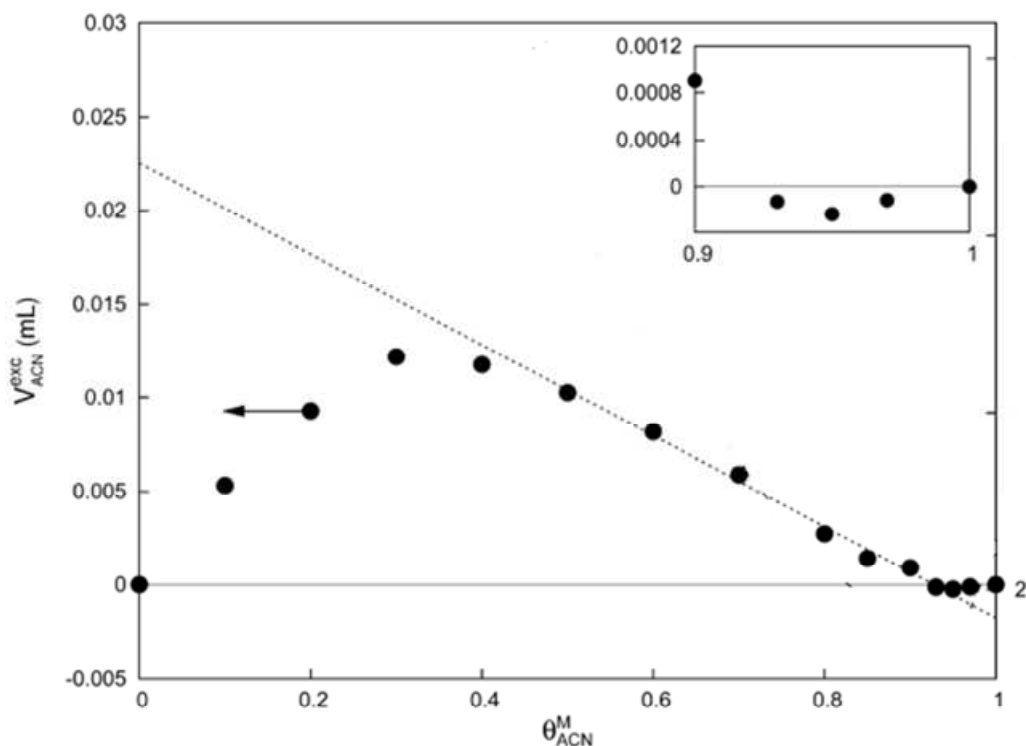


Figura 46 – Isoterma di eccesso

Andando ad analizzare l'isoterma di eccesso ottenuta si osserva che:

- Nella zona con  $0 < \theta_{ACN}^M < 0,35$  si ha un incremento del volume di eccesso di ACN, il che corrisponde alla formazione di uno strato superficiale sulla fase stazionaria via via più ricco del componente organico; l'eccesso cresce rapidamente all'inizio, mentre rallenta successivamente fino a raggiungere un massimo intorno al valore di  $\theta_{ACN} = 0,35$
- Nella zona con  $0,5 < \theta_{ACN}^M < 0,9$  il volume di eccesso di ACN decresce pressoché linearmente all'aumentare della percentuale di ACN nella fase mobile: questo è coerente con quanto ci si possa aspettare poiché la fase stazionaria è ormai saturata e ogni ulteriore incremento di ACN porta ad una diminuzione dell'eccesso
- A valori di  $\theta_{ACN}^M > 0,9$  il volume di eccesso di ACN diventa negativo, il che significa che vi sia un eccesso di acqua sulla fase stazionaria. Questo indica che sulla superficie della fase solida siano presenti, oltre ai gruppi perfluorurati, anche gruppi silanologici liberi, che contribuiscono alla formazione dell'eccesso di acqua sulla superficie ad elevati valori di componente organico nella fase eluente.

Successivamente è stato studiato il comportamento di molecole fluorurate su questo tipo di fase stazionaria. Sono stati scelti 4 acidi perfluorurati con catene a diversa lunghezza, contenenti dalle 4 alle 7 unità perfluorometilene (-CF<sub>2</sub>-), che sono stati iniettati in colonna impiegando fasi mobili costituite da acetonitrile e acqua in diversi rapporti. Per ciascun composto, ad una data composizione della fase mobile, è possibile calcolare il fattore di ritenzione k, secondo la formula:

$$k = \frac{(V_R - V_M)}{V_M}$$

Dove V<sub>R</sub> e V<sub>M</sub> rappresentano rispettivamente il volume di ritenzione e il cosiddetto volume vuoto cinetico della colonna (stimabile, ad esempio, attraverso l'utilizzo di un componente non ritenuto).

Andando ad analizzare l'andamento del fattore di ritenzione k (del quale viene riportato il ln) per ciascun composto ad una data  $\theta_{ACN}^M$ , si ottiene un grafico come quello in figura:

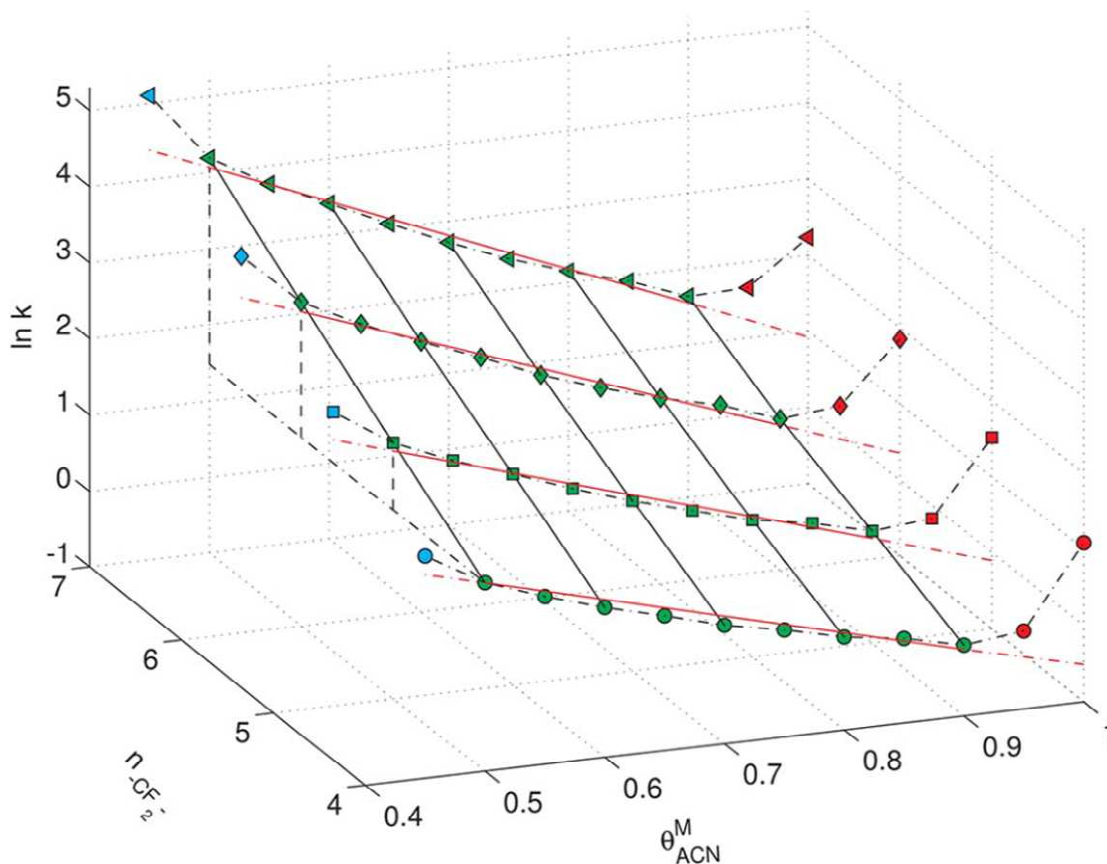


Figura 47 - Andamento cromatografico dei quattro acidi perfluorurati (ln k vs frazione molare ACN)

Dal grafico, per ciascun composto esaminato, è possibile distinguere tre regioni, che corrispondono a quelle identificate in precedenza per l'isoterma di eccesso:

- 1- Per valori di  $\theta_{ACN}^M < 0,5$  il  $\ln k$  risulta molto elevato: questo indica che in queste condizioni vi sia una forte interazione fra fase solida e analita: il fenomeno prevalente è quindi l'adsorbimento. Poiché, come evidenziato dallo studio dell'isoterma di eccesso, in questa regione la fase solida non è del tutto solvatata dalle molecole di ACN, l'elevata ritenzione è da imputare alle forti interazioni fra le parti fluorurate
- 2- Per valori di  $\theta_{ACN}^M$  compresi fra 0,5 e 0,9 circa si ha una diminuzione lineare del  $\ln k$  all'aumentare di  $\theta_{ACN}^M$ : lo stesso tipo di andamento era stato registrato nell'isoterma di eccesso in queste condizioni di composizione della fase mobile
- 3- A valori di  $\theta_{ACN}^M > 0,9$  il  $\ln k$  torna a crescere, il che è concorde con il classico andamento "U-shape": vi è infatti un'interazione attraverso legami ad idrogeno degli acidi perfluorurati con i silanoli non funzionalizzati.

Dal grafico è possibile ricavare un'ulteriore importante informazione: ad un dato valore di  $\theta_{ACN}^M$ , il  $\ln k$  per ciascun composto cresce proporzionalmente al numero di unità perfluorometileniche presenti sulla catena dei quattro acidi esaminati; questo, oltre a rimarcare il fatto che la fluorofilicità sia il principio alla base del processo separativo e come questo dipenda direttamente dal numero di atomi di fluoro presenti in una molecola, consente di definire il concetto di "perfluoromethylene selectivity": dati i fattori di ritenzione  $k_1$  e  $k_2$  di due diversi composti, in chimica analitica viene definita selettività ( $\alpha$ ):

$$\alpha = \frac{k_1}{k_2}$$

Dati due composti che differiscano (per esempio) per un'unità perfluorometilenica, da un punto di vista termodinamico [35], calcolando il valore di  $-RT \ln \alpha$ , si ottiene la variazione di energia libera nel processo di trasferimento di una unità perfluorometilenica dalla fase mobile alla fase stazionaria. Questo valore, che viene appunto definito *perfluoromethylene selectivity*, può essere considerato una misura dell'abilità di un sistema di discriminare, in determinate condizioni, fra due molecole che differiscano appunto per una singola unità perfluorometilenica.

In conclusione quindi sono state sintetizzate delle particelle di silice funzionalizzate con gruppi perfluorurati, ottenendo dei livelli di funzionalizzazione comparabili con quelli delle comuni fasi inverse. Queste particelle sono state impiegate per impaccare una colonna cromatografica, il cui comportamento è stato studiato mediante il calcolo dell'isoterma di eccesso con la tecnica *tracer pulse*, impiegando acetonitrile ed acqua marcati isotopicamente. È stato dimostrato come l'affinità per questo tipo di fase da parte di quattro acidi perfluorurati (scelti come rappresentanti di una classe di importanti inquinanti ambientali) dipenda dalla composizione della fase mobile: è quindi possibile impiegare questo tipo di fase stazionaria per eseguire la pre-concentrazione di queste molecole da campioni ambientali, effettuandone prima la cattura (con una fase mobile povera di componente organico) e successivamente il rilascio, semplicemente variando la composizione della miscela eluente.

La parte analitica di questo studio è stata oggetto di una pubblicazione (Fluorous affinity chromatography for enrichment and determination of perfluoroalkyl substances; N. Marchetti, L. Caciolli, A. Laganà, F. Dondi, F. Gasparri, L. Pasti, A. Cavazzini, *Analytical Chemistry*, **2012**, 84, 7138) allegata nella parte finale di questo lavoro di tesi, alla quale si rimanda per maggiori dettagli.

## Bibliografia

---

- <sup>1</sup> Green Chemistry: Theory and Practice, ed. P. Anastas and J. C. Warner, Oxford University Press, Oxford, **1998**
- <sup>2</sup> B. M. Trost, *Science*, **1991**, 254, 1471
- <sup>3</sup> R. A. Sheldon, *Chem. Ind. (London)*, **1992**, 903
- <sup>4</sup> R. A. Sheldon, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **1997**, 68, 381
- <sup>5</sup> D. J. C. Constable, A. D. Curzons and V. L. Cunningham, *Green Chem.*, **2002**, 4, 521
- <sup>6</sup> ACS Green Chemistry Institute Pharmaceutical Roundtable, presentation on website [http://portal.acs.org/portal/fileFetch/C/CTP\\_005585/pdf/CTP\\_005585.pdf](http://portal.acs.org/portal/fileFetch/C/CTP_005585/pdf/CTP_005585.pdf) last checked on 10 June 2011
- <sup>7</sup> T. Hudlicky, D. A. Frey, L. Koroniak, C. Claeboe and L. E. Brammer, *Green Chem.*, **1999**, 1, 57
- <sup>8</sup> C. Jimenez-Gonzalez, D. Constable, C. S. Ponder, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 1485
- <sup>9</sup> R. A. Sheldon, *Chemtech*, **1994**, 38
- <sup>10</sup> R. A. Sheldon, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 1437
- <sup>11</sup> Denmark, S. E.; Jacobsen, E. N. *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33, 324
- <sup>12</sup> C. M. Clouthier, J. N. Pelletier, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 1585
- <sup>13</sup> D. Constable, C. Jimenez-Gonzalez and R. K. Henderson, *Org. Process Res. Dev.*, **2007**, 11, 133
- <sup>14</sup> C. Capello, U. Fischer and K. Hungerbuhler, *Green Chem.*, **2007**, 9, 917
- <sup>15</sup> C. Jimenez-Gonzalez, A. D. Curzons, D. Constable, V. L. Cunningham, *Clean Technol. Environ. Policy*, **2005**, 7, 42
- <sup>16</sup> K. Alfonsi, J. Colberg, P. J. Dunn, T. Fevig, S. Jennings, T. A. Johnson, H. P. Kleine, C. Knight, M. A. Nagy and M. Stefaniak, *Green Chem.*, **2008**, 10, 31
- <sup>17</sup> G. P. Taber, D. M. Pfistere and J. C. Colberg, *Org. Process Res. Dev.*, **2004**, 8, 385
- <sup>18</sup> P. J. Dunn, A. S. Wells and M. T. Williams, Future Trends for Green Chemistry in the Pharmaceutical Industry, in *Green Chemistry in the Pharmaceutical Industry*, Wiley-VCH, 2010, pp. 333
- <sup>19</sup> M. O. Simon, C. J. Li, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 1415
- <sup>20</sup> D. C. Rideout and R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 7816
- <sup>21</sup> S. Narayan, J. Muldoon, M. G. Finn, V. V. Fokin, H. C. Kolb and K. B. Sharpless, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2005**, 44, 3275
- <sup>22</sup> R. Breslow, *Acc. Chem. Res.*, **1991**, 24, 159
- <sup>23</sup> R. Portmann, World Patent, WO 9802423, 1998
- <sup>24</sup> A. Lubineau, J. Augè, N. Bellanger and S. Caillebourdin, *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31, 4147
- <sup>25</sup> F. Giacalone, M. Gruttadauria, P. L. Meo and R. Noto, *Adv. Synth. Catal.*, **2008**, 350, 2747
- <sup>26</sup> A. Carlone, M. Marigo, C. North, A. Landa and K. A. Jørgensen, *Chem. Commun.*, **2006**, 4928
- <sup>27</sup> B. H. Lipshutz and S. Ghorai, *Org. Lett.*, **2009**, 11, 705
- <sup>28</sup> J. R. Hyde, P. Licence, D. Carter and M. Poliakov, *Appl. Catal. A*, **2001**, 222, 119
- <sup>29</sup> P. G. Jessop, T. Ikariya and R. Noyori, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 475
- <sup>30</sup> T. Welton, *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 2071
- <sup>31</sup> M. J. Earle and K. R. Seddon, *Pure Appl. Chem.*, **2000**, 72, 1391
- <sup>32</sup> R. B. Nasir, R. S. Varma, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 1559
- <sup>33</sup> (a) R. Gedye, F. Smith, K. Westaway, H. Ali, L. Baldisera and J. Rousell, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 279; (b) R. J. Giguere, T. L. Bray, S. M. Duncan and G. Majetich, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 4945

- <sup>34</sup> (a) V. Polshettiwar and R. S. Varma, *Acc. Chem. Res.*, **2008**, 41, 629; (b) D. Dallinger and C. O. Kappe, *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 2563
- <sup>36</sup> G. Heinicke, Tribochemistry, Akademic-Verlag, Berlin, 1984
- <sup>37</sup> F. Toda, K. Kiyoshige and M. Yagi, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1989**, 28, 320
- <sup>38</sup> T. Szuppa, A. Stolle, B. Ondruschka and W. Hopfe, *Chem. Sus. Chem.*, **2010**, 3, 1181
- <sup>39</sup> D. A. Fulmer, W. C. Shearouse, S. T. Medonza and J. Mack, *Green Chem.*, **2009**, 11, 1821
- <sup>40</sup> R. Thorwirth, A. Stolle and B. Ondruschka, *Green Chem.*, **2010**, 12, 985
- <sup>41</sup> W. Ehrfeld, V. Hessel, H. Lowe, *Microreactors: New Technology for Modern Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2000
- <sup>42</sup> P. Watts, S. J. Haswell, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, 34, 235
- <sup>43</sup> K. Geyer, J. D. C. Cod and P. H. Seeberger, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 8434
- <sup>44</sup> N. Nikbin, P. Watts, *Org. Process Res. Dev.* **2004**, 8, 942
- <sup>45</sup> J. Branbjerg, J. P. Krog, C. R. Nielsen, IEEEMEMS'96 (San Diego, USA, 1996), p. 441
- <sup>46</sup> J. Baldyga, R. Pohorecki, *Chem. Eng. J.* **1995**, 58, 183
- <sup>47</sup> B. Bilgen, I. M. Chang-Mateu, G. A. Barabino, *Biotechnol. Bioeng.* **2005**, 92, 907
- <sup>48</sup> M. M. Alvarez, P. E. Arratia, F. J. Muzzio, *Can. J. Chem. Eng.* **2002**, 80, 546
- <sup>49</sup> A. Nagaki, M. Togai, S. Suga, N. Aoki, J. Yoshida, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 11666
- <sup>50</sup> V. Hessel, H. Lowe, T. Stange, *Lab Chip*, **2002**, 2, 14N
- <sup>51</sup> K. Jahnisch, V. Hessel, H. Lowe, M. Baerns, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2004**, 43, 406
- <sup>52</sup> T. Schwalbe, V. Autze, M. Hohmann, W. Stirner, *Org. Process Res. Dev.*, **2004**, 8, 440
- <sup>53</sup> K. Sue, K. Murata, K. Kimura, K. Arai, *Green Chem.*, **2003**, 5, 659
- <sup>54</sup> G. N. Doku, S. J. Haswell, T. McCreedy, G. M. Greenway, *Analyst*, **2001**, 126, 14
- <sup>55</sup> X. N. Zhang, S. Stefanick, F. J. Villani, *Org. Process Res. DeV.*, **2004**, 8, 455
- <sup>56</sup> P. Watts, S. J. Haswell, *Chem. Soc. Rev.*, **2005**, 34, 235
- <sup>57</sup> S. Walter, S. Malmberg, B. Schmidt, M. A. Liauw, *Chem. Eng. Res. Des.*, **2005**, 83, 1019
- <sup>58</sup> G. M. Greenway, S. J. Haswell, D. O. Morgan, V. Skelton, *Sens. Actuators, B*, **2000**, B63, 153
- <sup>59</sup> E. Garcia-Egido, V. Spikmans, S. Y. Wong, B. H. Warrington, *Lab Chip*, **2003**, 3, 73
- <sup>60</sup> H. Becker, L. E. Locascio, *Talanta*, **2002**, 56, 267
- <sup>61</sup> S. Taghavi-Moghadam, A. Kleemann, K. G. Golbig, *Org. Process Res. DeV.*, **2001**, 5, 652
- <sup>62</sup> V. Skelton, G. M. Greenway, S. J. Haswell, P. Styring, D.O. Morgan, B. H. Warrington, S. Y. Wong, *Analyst*, **2001**, 126, 11
- <sup>63</sup> D. Zhao, K. Ding, *ACS Catal.*, **2013**, 3, 928
- <sup>64</sup> A. M. Thayer, *Chem. Eng. News*, **2005**, 83, 43
- <sup>65</sup> T. Schwalbe, D. Kadzimirsz, G. Jas, *QSAR Comb. Sci.*, **2005**, 24, 758
- <sup>66</sup> P. Watts, *QSAR Comb. Sci.*, **2005**, 24, 701
- <sup>67</sup> J. C. Pastre, D. L. Browne, S. V. Ley, *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 8849
- <sup>68</sup> S. V. Ley, I. R. Baxendale, R. N. Bream, P. S. Jackson, A. G. Leach, D. A. Longbottom, M. Nesi, J. S. Scott, R. I. Storer and S. J. Taylor, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 3815
- <sup>69</sup> M. O'Brien, P. Koos, D. L. Browne and S. V. Ley, *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, 10, 7031
- <sup>70</sup> A. G. O'Brien, Z. Horvath, F. Lèvesque, J. W. Lee, A. Seidel-Morgenstern and P. H. Seeberger, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2012**, 51, 7028
- <sup>71</sup> (a) C. F. Carter, I. R. Baxendale, M. O'Brien, J. B. J. Pavey and S. V. Ley, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, 7, 4594; (b) D. L. Browne, S. Wright, B. J. Deadman, S. Dunnage, I. R. Baxendale, R. M. Turner and S. V. Ley, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2012**, 26, 1999
- <sup>72</sup> F. E. Valera, M. Quaranta, A. Moran, J. Blacker, A. Armstrong, J. Cabral, D. G. Blackmond, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49, 2478
- <sup>73</sup> *New Frontiers in Asymmetric Catalysis*; K. Mikami, M. Lautens; John Wiley & Sons Inc.: New York, 2007
- <sup>74</sup> *Catalytic Asymmetric Synthesis*, 3rd ed.; I. Ojima; John Wiley & Sons Inc.: New York,



---

2010

- <sup>75</sup> T. Tsubogo, T. Ishiwata, S. Kobayashi; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52, 6590
- <sup>76</sup> D. Zhao, K. Kuiling; *ACS Catal.*, **2013**, 3, 928
- <sup>77</sup> A. Puglisi, M. Benaglia, V. Chiroli; *Green Chem.*, **2013**, 15, 1790
- <sup>78</sup> S. Kee, A. Gavriiliidis; *J. Mol. Cat. A: Chem.*, **2007**, 263, 156
- <sup>79</sup> S. Saaby, K. R. Knudsen, M. Ladlow, S. V. Ley, *Chem. Commun.*, **2005**, 23, 2909
- <sup>80</sup> S. J. Haswell, B. Sullivan, P. Styring, *Lab Chip*, **2001**, 1, 164
- <sup>81</sup> A. J. Sandee, D. J. Petra, J. N. Reek, P. C. Kamer, P. W. van Leeuwen; *Chem. Eur. J.*, **2001**, 7, 1202
- <sup>82</sup> P. Hodge; *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2003**, 7, 362
- <sup>83</sup> S. Mukherjee, J. W. Yang, S. Hoffmann, B. List; *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 5471
- <sup>84</sup> S. M. Opalka, A. R. Longstreet, D. T. McQuade; *Beilstein J. Org. Chem.*, **2011**, 7, 1671
- <sup>85</sup> F. Bonfils, I. Cazaux, P. Hodge, C. Caze; *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, 4, 493
- <sup>86</sup> K. Takeda, T. Oohara, N. Shimada, H. Nambu, S. Hashimoto; *Chem. Eur. J.*, **2011**, 17, 13992
- <sup>87</sup> A. M. Hafez, A. E. Taggi, H. Wack, W. J. Drury, T. Lectka; *Org. Lett.*, **2000**, 2, 3963
- <sup>88</sup> R. Abdallah, B. Fumey, V. Meille, C. de Bellefon; *Catal. Today*, **2007**, 125, 34
- <sup>89</sup> R. L. Augustine, S. K. Tanielyan, N. Mahata, Y. Gao, A. Zsigmond, H. Yang; *Appl. Catal., A*, **2003**, 256, 69
- <sup>90</sup> A. L. Demuynck, L. Peng, F. de Clippel, J. Vanderleyden, P. A. Jacobs, B. F. Sels; *Adv. Synth. Catal.*, **2011**, 353, 725
- <sup>91</sup> L. Shi, X. Wang, C. A. Sandoval, Z. Wang, H. Li, J. Wu, L. Yu, K. Ding; *Chem. Eur. J.*, **2009**, 15, 9855
- <sup>92</sup> G. M. Greenway, S. J. Haswell, D. O. Morgan, V. Skelton, *Sens. Actuators, B*, **2000**, B63, 153
- <sup>93</sup> K. F. Jensen, *Chem. Eng. Sci.*, **2001**, 56, 293
- <sup>94</sup> M. I. Burguete, A. Cornejo, E. Garcia-Verdugo, M. J. Gil, S. V. Luis, J. A. Mayoral, V. Martinez-Merino, M. Sokolova; *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 4344
- <sup>95</sup> R. J. Ingham, E. Riva, N. Nikbin, I. R. Baxendale, S. V. Ley; *Org. Lett.*, **2012**, 14, 3920
- <sup>96</sup> J. A. Moulijn, M. T. Kreutzer, T. A. Nijhuis, F. Kapteijn; *Adv. Cat.*, **2011**, 54, 249
- <sup>97</sup> G. Guiochon; *J. Chromatogr. A*, **2007**, 1168, 101
- <sup>98</sup> Monolithic Materials: Preparation, Properties and Applications; F. Svec, T. B. Tennikova, Z. Deyl, Elsevier, 2003
- <sup>99</sup> F. Svec, J. M. J. Frechet; *Macromolecules*, **1995**, 28, 7580
- <sup>100</sup> C. Viklund, F. Svec, J. M. J. Frechet, K. Irgum; *Macromolecules*, **1999**, 32, 6377
- <sup>101</sup> A. S. Zalusky, R. Olayo-Valles, C. J. Taylor; *J. Am. Soc.*, **2001**, 123, 1519
- <sup>102</sup> B. List; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2010**, 49, 1730
- <sup>103</sup> H. D. Dakin; *J. Biol. Chem.*, **1910**, 7, 49
- <sup>104</sup> N. A. Paras, D. W. C. MacMillan; *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 4243
- <sup>105</sup> J. W. Yang, F. M. T. Hechavaria, B. List; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2005**, 44, 108
- <sup>106</sup> M. Mariago, J. Franzen, T. B. Poulsen, K. A. Jorgensen; *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 6964
- <sup>107</sup> Y. Hayashi, H. Gotoh, T. Hayashi, M. Shoji, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2005**, 44, 4212
- <sup>108</sup> D. A. Nagib, M. E. Scott, D. W. C. MacMillan; *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 10875
- <sup>109</sup> Stereoselective Organocatalysis; Ramon Rio Torres; John Wiley & Sons Inc.: New York, 2013
- <sup>110</sup> Z. G. Hajos, D. R. Parrish; *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 1615
- <sup>111</sup> U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1971**, 7, 496
- <sup>112</sup> (a) S. Kandasamy, W. Notz, T. Bui, C. F. Barbas III; *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 5260.  
(b) A. Cordova, W. Notz, C. F. Barbas III.; *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 301
- <sup>113</sup> W. Notz, B. List; *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 7386
- <sup>114</sup> B. List; *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 9336
- <sup>115</sup> P. W. Hickmott; *Tetrahedron*, **1982**, 38, 1975

- <sup>116</sup> S. J. Danishefsky, J. J. Masters, W. B. Young, R. C. Isaacs, W. G. Bornmann, W. G. Alaimo, C. A. Di Grandi; *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 2843
- <sup>117</sup> C. Agami, F. Meynier, C. Puchot, J. Guilhem, C. Pascard; *Tetrahedron*, **1984**, 40, 1031
- <sup>118</sup> C. Agami; *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1987**, 3, 499
- <sup>119</sup> D. Rajagopal, M. S. Moni, S. Subramanian, S. Swaminathan; *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 1631
- <sup>120</sup> (a) S. Bahmanyar, K. N. Houk; *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 11273  
(b) S. Bahmanyar, K. N. Houk; *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 12911
- <sup>121</sup> D. Seebach, A. K. Beck, D. M. Badine, M. Limbach, A. Eschenmoser, A. M. Treasurywala, R. Hobi; *Helvetica Chimica Acta*, **2007**, 90, 426
- <sup>122</sup> Per una dettagliata analisi si rimanda a: Stereoselective Organocatalysis; Ramon Rio Torres; John Wiley & Sons Inc.: New York, 2013 e agli articoli qui citati
- <sup>123</sup> A. B. Northrup, D. W. C. MacMillan; *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 6798
- <sup>124</sup> A. B. Northrup, J. K. Mangion, F. Heltche, D. W. C. MacMillan; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2004**, 43, 2152
- <sup>125</sup> R. Thayumanavan, F. Tanaka, C. F. Barbas III; *Org. Lett.*, **2004**, 6, 3541
- <sup>126</sup> B. List; *Synlett*, **2001**, 11, 1675
- <sup>127</sup> S. Samanta, C. G. Zhao; *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 7442
- <sup>128</sup> P. Dambruoso, A. Massi, A. Dondoni; *Org. Lett.*, **2005**, 7, 4657
- <sup>129</sup> A. J. A. Cobb, D. M. Shaw, D. A. Longbottom, J. B. Gold, S. V. Ley; *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3, 84
- <sup>130</sup> B. List; *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 9336
- <sup>131</sup> B. List; *Tetrahedron*, **2002**, 58, 5573
- <sup>132</sup> A. Cordova, W. Notz, G. Zhong, J. M. Betancort, C. F. Barbas III; *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 1842
- <sup>133</sup> S. Mitsumori, H. Zhang, P. H. Cheong, K. N. Houk, F. Tanaka, C. F. Barbas III; *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 1040
- <sup>134</sup> M. Yamaguchi, N. Yokota, T. Minami; *J. Chem. Soc., Chem Comm.*, **1991**, 1088
- <sup>135</sup> B. List, P. Pojarliev, H. J. Martin; *Org. Lett.*, **2001**, 3, 2424
- <sup>136</sup> (a) D. Seebach, E. W. Colvin, F. Lehr, T. Weller; *Chimia*, **1979**, 33, 1.  
(b) K. A. Svensson, PCT Int. Appl. WO 9218475, **1992**
- <sup>137</sup> S. Brandau, E. Maerten, K. A. Jørgensen; *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 14986
- <sup>138</sup> J. W. Xie, W. Chen, R. Li, M. Zeng, W. Du, J. G. Deng; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 389
- <sup>139</sup> S. Zhu, S. Yu, D. Ma; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47, 545
- <sup>140</sup> H. L. Wei, L. Y. Wu, Y. B. Zhao, Y. M. Liang; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 3288
- <sup>141</sup> L. K. Lam, L. D. Arnold, T. H. Kalantar, J. G. Kelland, P. M. Lane-Bell, M. M. Palcic, J. C. Vederas; *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263, 11814
- <sup>142</sup> B. List; *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 5656
- <sup>143</sup> Enantioselective Organocatalysis: Reactions and Experimental Procedures; P. I. Dalko; John Wiley & Sons Inc.: New York, 2007
- <sup>144</sup> M. Fèvre, J. Pinaud, Y. Gnanou, J. Vignolle, D. Taton; *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, 42, 2142
- <sup>145</sup> H. Staudinger, O. Kupfer; *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1912**, 45, 501
- <sup>146</sup> A. J. Arduengo III, R. Kraftczyk; *Chem. Unserer Zeit*, **1998**, 32, 6
- <sup>147</sup> A. Igau, A. Baceiredo, G. Trinquier, G. Bertrand; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1989**, 28, 621
- <sup>148</sup> A. J. Arduengo III, R. L. Harlow, M. Kline; *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 361
- <sup>149</sup> W. A. Herrmann; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 1290
- <sup>150</sup> (a) U. Schoerken, G. A. Sprenger; *Biochem. Biophys. Acta*, **1998**, 1385, 229  
(b) G. A. Sprenger, M. Pohl; *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **1999**, 6, 145
- <sup>151</sup> R. W. Alder, M. E. Blake, J. M. Oliva; *J. Phys. Chem. A*, **1999**, 103, 11200

- 
- <sup>152</sup> R. Stefan, G. Simon, W. Hideaki, B. Siegfried; *Synlett*, **2001**, 3, 430
- <sup>153</sup> G. W. Nyce, T. Glauser, E. F. Connor, A. Mock, R. M. Waymouth, J. L. Hedrick; *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 3046
- <sup>154</sup> G. W. Nyce, S. Csihony R. M. Waymouth, J. L. Hedrick; *Chem-Eur. J.*, **2004**, 10, 4073
- <sup>155</sup> L. Wöhler; *Annalen der Pharmacie*, **1832**, 3, 249
- <sup>156</sup> D. Seebach; *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.*, **1979**, 18, 239
- <sup>157</sup> X. Bugaut, F. Glorius; *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 3511
- <sup>158</sup> New Discoveries in N-heterocyclic Carbene-catalyzed Homo-enolate and Hydroacylation Reactions; Audrey Chan; ProQuest: 2008
- <sup>159</sup> F. Wohler, J. Liebig; *Ann. Pharm.*, **1832**, 3, 249
- <sup>160</sup> A. Lapworth; *J. Chem. Soc.*, **1903**, 83, 995
- <sup>161</sup> T. Ugai, S. Tanaka, S. Dokawa; *J. Pharm. Soc. Jpn.*, **1943**, 63, 296
- <sup>162</sup> R. Breslow; *J. Am. Chem. Soc.*, **1958**, 80, 3719
- <sup>163</sup> J. Castells, L. Domingo, F. Lopez-Calahorra, F., J. Marti, *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34, 517
- <sup>164</sup> (a) F. Lopez-Calahorra, R. Rubires, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 35, 9713  
(b) R. Breslow, C. Schmuck; *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 8241
- <sup>165</sup> J. C. Sheehan, D. H. Hunneman; *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, 88, 3666
- <sup>166</sup> D. Enders, U. Kallfass; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, 41, 1743
- <sup>167</sup> T. Dudding, K. N. Houk; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2004**, 101, 5770
- <sup>168</sup> D. Enders, O. Niemeier, A. Henseler; *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 5606
- <sup>169</sup> H. Stetter, G. Dambkes; *Synthesis*, **1980**, 309
- <sup>170</sup> H. Stetter; *Angew. Chem.*, **1976**, 88, 695; *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1976**, 15, 639
- <sup>171</sup> H. Stetter, J. Krasselt; *J. Heterocycl. Chem.*, **1977**, 14, 573
- <sup>172</sup> (a) A. E. Mattson, A. R. Bharadwaj, K. A. Scheidt; *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 2314.  
(b) A. E. Mattson, A. R. Bharadwaj, A. M. Zuhl, K. A. Scheidt; *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 5715
- <sup>173</sup> D. Enders, O. Niemeier, A. Henseler; *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 5606
- <sup>174</sup> D. Enders; In *Stereoselective Synthesis*; Springer-Verlag: Heidelberg, Germany, 1993; p 63
- <sup>175</sup> T. Nakamura, O. Hara, T. Tamura, K. Makino, Y. Hamada; *Synlett*, **2005**, 155
- <sup>176</sup> J. Read de Alaniz, T. Rovis; *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 6284
- <sup>177</sup> (a) M. S. Kerr, T. Rovis; *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 8876  
(b) J. L. Moore, M. S. Kerr, T. Rovis; *Tetrahedron*, **2006**, 62, 11477
- <sup>178</sup> J. Read de Alaniz, T. Rovis; *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 6284
- <sup>179</sup> A. Massi, A. Cavazzini, L. Del Zoppo, O. Pandoli, V. Costa, L. Pasti, P. P. Giovannini; *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 619

## Seconda parte

- <sup>1</sup> Y. Wu, J. Li, F. Guo, Y. Wang, J. Liu, Z. Cai, J. Zhang, Y. Zhao; *J. Chromatogr. A*, **2012**, 1219, 54
- <sup>2</sup> E. Kissa, *Fluorinated Surfactants and Repellents*, 2<sup>nd</sup> Ed., Marcel Dekker, New York, 2001
- <sup>3</sup> M. So, S. Taniyasu, N. Yamashita, J. Giesy, J. Zheng, Z. Fang, P. Lam; *Environ. Sci. Technol.*, **2004**, 38, 4056
- <sup>4</sup> B. Veyrand, H. Kadar, A. Barbarossa, G. Pagliuca, A. Legrand, C. Boshier, C. Boquien, S. Durand, F. Monteau, J. Antignac, B. Bizec; *Chemosphere*, **2011**, 85, 473
- <sup>5</sup> B. D. Key, R. D. Howell, C. S. Criddle; *Environ. Sci. Technol.*, **1997**, 31, 2454
- <sup>6</sup> A. Karrman, B. Van Bavel, U. Jarnberg, L. Hardell, G. Lindstrom; *Anal. Chem.*, **2005**, 77, 864
- <sup>7</sup> H. Lehmler; *Chemosphere*, **2005**, 58, 1471

- 
- <sup>8</sup> C. Lau, K. Anitole, C. Hodes, D. Lai, J. Seed; *Toxicol. Sci.*, **2007**, 99, 366
- <sup>9</sup> D. Muir, J. W. Martin, M. Houde, R. J. Letcher, K. R. Solomon; *Environ. Sci. Technol.*, **2006**, 40, 3463
- <sup>10</sup> C. M. Butt, U. Berger, R. Bossi, G. Tomy; *Sci. Total Environ.*, **2010**, 408, 2936
- <sup>11</sup> J. Giesy, K. Kanna; *Environ. Sci. Technol.*, **2005**, 39, 5517
- <sup>12</sup> N. Yamashita, S. Taniyasu, K. Kannan, Y. Horii, N. Hanari; *Environ. Sci. Technol.*, **2003**, 37, 2634-2639
- <sup>13</sup> L. Haug, S. Salihovic, I. Jogsten, C. Thomsen, B. Bavel, G. Lindstrom, G. Becher; *Chemosphere*, **2010**, 80, 1137
- <sup>14</sup> A. Schuetze, T. Heberer, S. Effkemann, S. Juergensen; *Chemosphere*, **2010**, 78, 647
- <sup>15</sup> K. Kannan; *Environ. Sci. Technol.*, **2004**, 38, 4489
- <sup>16</sup> D. Hagen, J. Belisle, J. Johnson, P. Venkateswarlu; *Anal. Biochem.*, **1981**, 118, 336
- <sup>17</sup> S. A. Mabury, M. J. Dinglasan, Y. Ye, E. Edwards; *Environ. Sci. Technol.*, **2004**, 38, 2857
- <sup>18</sup> S. A. Mabury, D. Ellis, J. Martin, A. De Silva, M. Hurley, T. Wallington; *Environ. Sci. Technol.*, **2004**, 38, 3316
- <sup>19</sup> W. D'Hollander, L. Roosens, A. Covaci, C. Cornelis, H. Reynders, P. de Voogt, L. Bervoets; *Chemosphere*, **2010**, 81, 478
- <sup>20</sup> Stockholm Convention, <http://www.pops.int>
- <sup>21</sup> M. Houde, G. Czub, J. Small, S. Backus, X. Wang, M. Alae, D. Muir; *Environ. Sci. Technol.*, **2008**, 42, 9397-9403
- <sup>22</sup> B. Veyrand, H. Kadar, A. Barbarossa, G. Pagliuca, A. Legrand, C. Boshier, C. Boquien, S. Durand, F. Monteau, J. Antignac, B. Le Bizec; *Chemosphere*, **2011**, 85, 473
- <sup>23</sup> S. Haug, S. Huber, G. Becher, C. Thomsen; *Environment International*, **2011**, 37, 687
- <sup>24</sup> W. Zhang; *J. Fluorine Chem.*, **2008**, 129, 910
- <sup>25</sup> Handbook of Fluorous Chemistry; J. A. Gladysz, D. P. Curran, I. Horvath; WILEY-VCH: 2004
- <sup>26</sup> E. Csato, N. Folop, G. Szabo; *J. of Chrom.*, **1990**, 511, 79
- <sup>27</sup> Introduction to Modern Liquid Chromatography; L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. W. Dolan; WILEY-VCH: 2008
- <sup>28</sup> M. Jaroniec, D. E. Martire; *J. of Chrom.*, **1986**, 351, 1
- <sup>29</sup> Physicochemical measurement by gas chromatography; J. R. Conder, C. L. Young; WILEY: 1979
- <sup>30</sup> Molecular thermodynamics of fluid-phase equilibria; J. M. Prausnitz; Prentice-Hall: 1986
- <sup>31</sup> D. H. Everett; *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **1964**, 60, 1803
- <sup>32</sup> F. Riedo, E. Kovats; *J. of Chrom.*, **1982**, 239, 1
- <sup>33</sup> F. Gritti, W. Piatkowski, G. Guiochon; *J. of Chrom. A*, **2002**, 978, 81
- <sup>34</sup> Y. V. Kazakevich, H. M. McNair; *J. of Chromatographic science*, **1995**, 33, 321
- <sup>35</sup> A. Cavazzini, F. Gritti, K. Kaczmarek, N. Marchetti, G. Guiochon; *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 5972

---

## **Articoli pubblicati**

Cite this: *Green Chem.*, 2012, **14**, 992

www.rsc.org/greenchem

PAPER

## Silica-supported 5-(pyrrolidin-2-yl)tetrazole: development of organocatalytic processes from batch to continuous-flow conditions†

Olga Bortolini,<sup>a</sup> Lorenzo Cacioli,<sup>a</sup> Alberto Cavazzini,<sup>\*b</sup> Valentina Costa,<sup>b</sup> Roberto Greco,<sup>b</sup> Alessandro Massi<sup>\*a</sup> and Luisa Pasti<sup>b</sup>

Received 27th December 2011, Accepted 19th January 2012

DOI: 10.1039/c2gc16673a

5-(Pyrrolidin-2-yl)tetrazole functionalized silica prepared by photoinduced thiol–ene coupling is packed into a short stainless steel column. The resulting packed-bed microreactor is conveniently heated to perform environmentally benign continuous-flow aldol reactions with good stereoselectivities, complete conversion efficiencies, and long term stability of the packing material.

### Introduction

In the context of a growing competition in which time, cost, and sustainability issues of the synthesis play an increasingly important role even at a research stage, chemical efficiency has become one of the leading concepts for chemists working in both industry and academia. Key criteria include intrinsic (yield, (stereo)selectivity, atom economy) and extrinsic (time, waste, equipment, environment, safety) factors of the synthetic process.<sup>1</sup> Hence, the booming field of asymmetric organocatalysis is opening, on the one hand, new and unique opportunities towards efficient and highly stereoselective metal-free catalytic syntheses.<sup>2</sup> On the other hand, microreactor technology is offering safe, environmentally benign, and high-throughput processes typically intensified by a fast postreaction phase (workup and purification) and direct scalability.<sup>3</sup> Very recently, we have embarked on a research program aimed at preparing and testing organocatalytic packed-bed microreactors<sup>4</sup> to prove the potential benefits arising from the combination of the above synthetic methodology and production technology.<sup>5</sup> Currently, this program is being developed on the basis of the following general thread: (i) heterogenization of a successful asymmetric organocatalyst on silica and optimization of its performance (yield and stereoselectivity) under batch conditions; (ii) preparation of the corresponding packed-bed microreactor and preliminary testing in continuous-flow regime; (iii) development of a suitable in-line analysis method and final optimization of the continuous-flow process based on kinetic and thermodynamic characterization

thereof. It is worth noting that while a (limited) number of notable examples of asymmetric syntheses in continuous-flow have been reported,<sup>6</sup> only a few studies have dealt with the use of immobilized organocatalysts.<sup>7</sup> Indeed, peculiar benefits of heterogeneous organocatalysis in conjunction with microreactor technology are the absence of metal leaching (a problematic issue especially in pharmaceutical applications), the enhanced resistance of supports to mechanical degradation, and the potential long-term usage of (micro)reactors that is highly desirable for complex and costly immobilized catalysts. As a matter of fact, the main limitation encountered in our first investigation<sup>4</sup> on the proline-catalyzed continuous-flow aldol reaction of cyclohexanone with *p*-nitro benzaldehyde was the progressive loss of catalytic activity of the packing material **1** (Fig. 1). Deactivation of immobilized proline **1** occurred through irreversible decarboxylation<sup>8</sup> after 24 h on stream at room temperature and was greatly accelerated by increasing the process temperature. Herein, we report on the synthesis and catalytic activity under batch conditions of immobilized proline mimetics, namely heterogeneous prolyl amide **2**,<sup>9</sup> sulfonamide **3**,<sup>10</sup> and pyrrolidinyl tetrazole **4**,<sup>11</sup> which are not prone to the above deactivation pathway and thus are expected to provide organocatalytic packed-bed

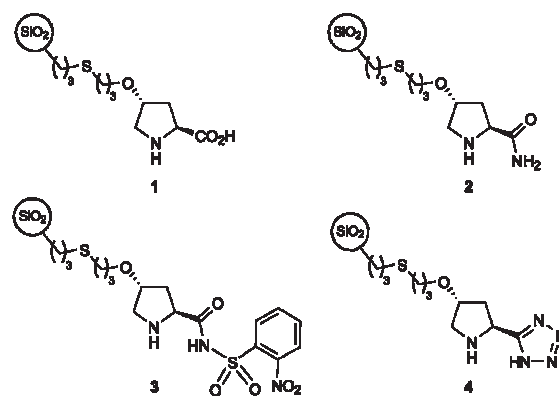


Fig. 1 Silica-immobilized proline and proline-like organocatalysts 1–4.

<sup>a</sup>Dipartimento di Chimica, Laboratorio di Chimica Organica, Università di Ferrara, Via L. Borsari 46, I-44121 Ferrara, Italy. E-mail: alessandro.massi@unife.it; Fax: +39 0532 455183; Tel: +39 0532 455183

<sup>b</sup>Dipartimento di Chimica, Laboratorio di Chimica Analitica, Università di Ferrara, Italy. E-mail: alberto.cavazzini@unife.it; Fax: +39 0532 455133; Tel: +39 0532 455133

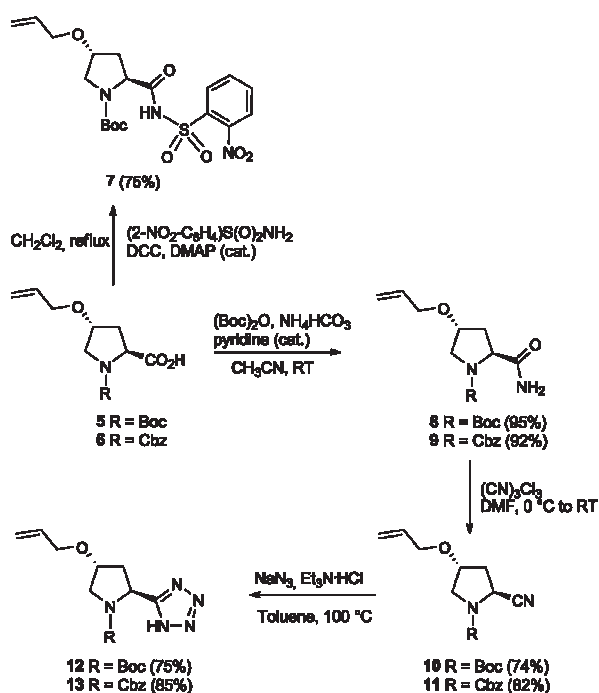
† Electronic supplementary information (ESI) available: Copies of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra for new compounds, FT-IR spectra of silicas **2**–**4**, chiral HPLC chromatograms. See DOI: 10.1039/c2gc16673a

microreactors with improved stability and, eventually, better reaction profiles.<sup>9–11</sup> Preliminary results on the continuous-flow aldol reaction promoted by the best performing silica-supported 5-(pyrrolidin-2-yl)tetrazole catalyst **4** are finally presented.

## Results and discussion

The thermal/photoinduced thiol–ene coupling (TEC)<sup>12</sup> was chosen as the covalent immobilization strategy for the preparation of heterogeneous proline-like organocatalysts **2–4** in analogy with the synthesis of the previously reported immobilized proline **1**. Accordingly, the novel *N*-Boc pyrrolidine 2-carboxamide **7** and sulfonamide **8** equipped with the ene functionality (4-allyloxy group) were readily prepared in a single step from (2*S*,4*R*)-*N*-Boc-4-*O*-allyl-hydroxyproline **5**<sup>4</sup> by standard chemistry (Scheme 1). The tetrazolyl alkene **13** bearing a Cbz protecting group at the pyrrolidine nitrogen atom was next synthesized by adapting the procedures already optimized by Ley *et al.*,<sup>11m</sup> Hartikka and Arvidsson,<sup>11i</sup> and Saito, Yamamoto *et al.*<sup>11j</sup> for the synthesis of a *N*-Cbz protected pyrrolidinyl tetrazole analogue. Accordingly, (2*S*,4*R*)-*N*-Cbz-4-*O*-allyl-hydroxyproline **6**<sup>13</sup> was almost quantitatively converted to the corresponding amide **9** by *in situ* activation of the carboxylic acid. Subsequent dehydration promoted by cyanuric chloride gave the nitrile **11** in high yield (82%), which in turn was transformed into the corresponding tetrazole **13** (85%) by cycloaddition with sodium azide.

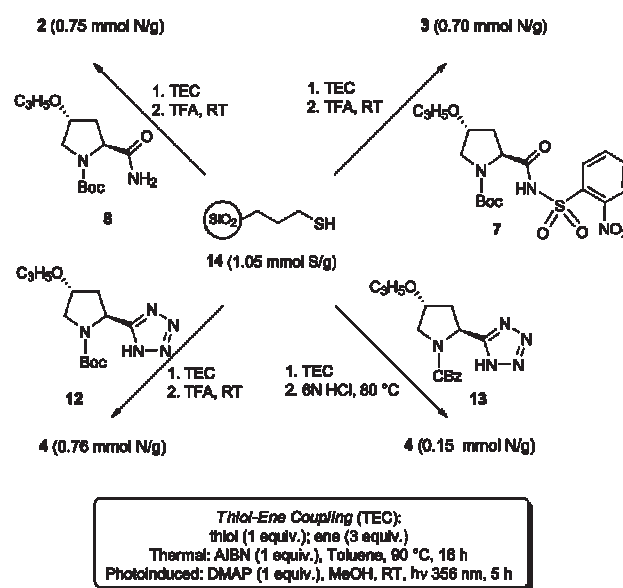
The thermally (toluene, 90 °C) and photochemically (MeOH, room temperature,  $\lambda_{\max}$  365 nm) induced TECs of thiol–silica **14**<sup>14</sup> with alkenes **7** or **8** (3 equiv.) were next carried out under the previously optimized conditions<sup>4</sup> by using 2,2'-azobis(2-methylpropionitrile) (AIBN) and 2,2-dimethoxy-2-phenyl-acetophenone (DMPAP) as the radical initiators, respectively. Both



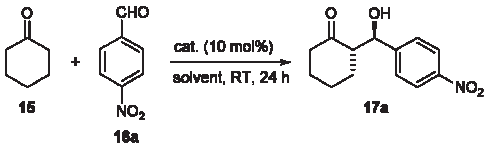
**Scheme 1** Synthesis of the ene-functionalized proline mimetics **7**, **8**, **12**, and **13**.

immobilization strategies resulted equally effective producing, after TFA-promoted Boc deprotection, the target prolyl amide and sulfonamide functionalized silicas **2** and **3**, respectively, with a comparable degree of functionalization (0.75–0.70 mmol g<sup>-1</sup>), as determined by elemental analysis (Scheme 2). A lower loading (0.15 mmol g<sup>-1</sup>) was instead achieved for the tetrazole functionalized silica **4** prepared by TEC (thermal or photo-induced) of **14** with *N*-Cbz pyrrolidinyl tetrazole **13**. This unsatisfactory result was determined by the harsh acidic conditions required for Cbz group removal (6N HCl, 80 °C). Nevertheless, while milder Cbz deprotection procedures proved to be unsuccessful on silica support, the synthetic sequence optimized for the preparation of *N*-Cbz pyrrolidinyl tetrazole **13** was practicable and effective for the synthesis of the *N*-Boc analogue **12** as well (Scheme 1). Gratifyingly, TEC of **14** with **12** followed by Boc deprotection afforded the tetrazole functionalized silica **4** with a suitable loading (0.76 mmol g<sup>-1</sup>; Scheme 2).

Next, on the basis of our previous experience with proline catalyst **1**, the activity of the newly prepared heterogeneous proline mimetics **2–4** was evaluated in selected solvents (acetonitrile, toluene, DMSO, and dichloromethane) by using the aldol condensation of cyclohexanone **15** with *p*-nitro benzaldehyde **16a** as the benchmark (Table 1). Proline amide **2** was the less active catalyst in terms of both chemical yield and stereoselectivity (entries 1–4). As already observed for immobilized proline **1**,<sup>4</sup> the use of the low-polarity toluene produced the best results for the sulfonamide **3** and tetrazole **4** as well, the latter being much more active than the former (entries 6 and 10). Different solvents were then screened to further improve catalyst **4** profile (entries 13–15). Pleasingly, the utilization at room temperature of diisopropyl ether allowed isolation of the mixture of *anti*–*syn* adducts (d.r. = 2 : 1) in quantitative yield and high enantioselectivity (95% ee<sub>anti</sub>) after 12 h reaction time (entry 15). It is important to note that tetrazole catalyst **4** outperforms the supported proline **1**, which promoted the formation of **17a** (d.r. = 4 : 1) in lower yield (67%) and enantioselectivity (78% ee<sub>anti</sub>; entry 16).<sup>4</sup> Finally,



**Scheme 2** Thermally and photochemically induced TEC of thiol silica **14** with 4-*O*-allyl-hydroxyproline derivatives **7**, **8**, **12**, and **13**.

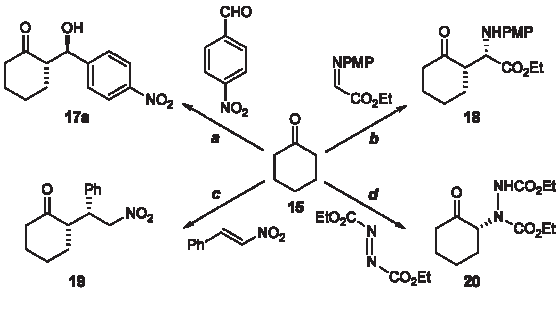
**Table 1** Evaluation of catalysts **2–4** performance under batch conditions<sup>a</sup>

Entry	Cat.	Solvent	Yield <sup>b</sup> [%]	d.r. <i>anti-syn</i> <sup>c</sup>	ee <sup>d</sup> [%]
1	2	CH <sub>3</sub> CN	24	2 : 1	26
2	2	Toluene	45	4 : 1	23
3	2	DMSO	12	3 : 1	23
4	2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	18	4 : 1	8
5	3	CH <sub>3</sub> CN	21	4 : 1	9
6	3	Toluene	58	3 : 1	30
7	3	DMSO	25	2 : 1	9
8	3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	15	4 : 1	15
9	4	CH <sub>3</sub> CN	75	4 : 1	74
10	4	Toluene	>95	3 : 1	82
11	4	DMSO	>95	1 : 1	50
12	4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	84	3 : 1	51
13	4	MeOH	45	3 : 1	32
14	4	Et <sub>2</sub> O	>95	2 : 1	90
15	4	(iPr) <sub>2</sub> O	>95 <sup>e</sup>	2 : 1	95
16	1	Toluene	68	4 : 1	78
17	4	(iPr) <sub>2</sub> O <sup>f</sup>	>95	2 : 1	92

<sup>a</sup> Reactions performed in the stated solvent with 0.25 mmol of aldehyde (0.15 M) and 0.75 mmol of ketone. <sup>b</sup> Isolated yield of the *anti-syn* diastereomeric mixture. <sup>c</sup> Estimated by <sup>1</sup>H NMR analysis of crude reaction mixtures. <sup>d</sup> Determined by chiral HPLC analysis. <sup>e</sup> Reaction time: 12 h. <sup>f</sup> Reactions performed with recycled catalyst.

a substantial maintenance of catalyst efficiency was detected in diisopropyl ether for recycled **4** (entry 17). Indeed, the evaluation of catalyst stability (recyclability) was a crucial experiment to envisage the potential application of **4** in continuous-flow processes.

Since its discovery,<sup>11g,h,j</sup> the unsupported (*S*)-5-(pyrrolidin-2-yl)-1*H*-tetrazole has proven to be a successful catalyst due to its efficacy in a wide range of organocatalytic reactions.<sup>11a</sup> Therefore, with the aim to gain more information about the potential applications of the supported analogue **4** in continuous-flow heterogeneous catalysis, the activity of **4** was tested in model Mannich (eq. *b*, Table 2), Michael (eq. *c*), and  $\alpha$ -amination (eq. *d*) reactions. Table 2 summarizes the results of this short study reporting for each transformation the best reaction profiles based on product yield and/or stereoselectivity.<sup>15</sup> Selected outcomes of the model aldol reaction are also included in Table 2 (eq. *a*). It appears from these preliminary results that heterogeneous catalyst **4** behaves in a comparable manner to the unsupported counterpart in terms of yield<sup>16</sup> and diastereo- and enantioselectivity. A direct comparison with literature data was, in fact, possible for the Mannich,<sup>11c</sup> Michael,<sup>11c,16</sup> and  $\alpha$ -amination reactions.<sup>11b</sup> As far as the aldol reaction is concerned (entries 1–2), the observed poor diastereoselectivity was demonstrated to be an intrinsic feature of tetrazole catalysis. Indeed, an experiment (entry 9) performed in DMSO (room temperature, 24 h) with the unsupported (*S*)-5-(pyrrolidin-2-yl)-1*H*-tetrazole catalyst (10 mol%) gave the mixture of aldol products in identical quantitative yield and 1 : 1 diastereomeric ratio (entries 9 and 2).

**Table 2** Short study on the catalytic activity of **4** in model organocatalytic reactions<sup>a</sup>

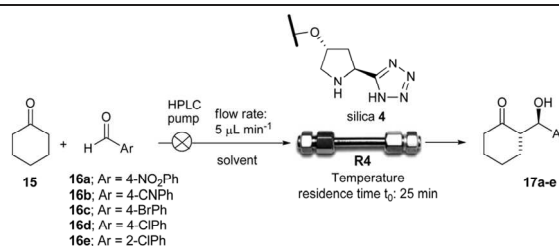
Entry	React.	Solvent	Yield <sup>b</sup> [%]	d.r. <i>anti-syn</i> <sup>c</sup>	ee <sup>d</sup> [%]
1	<i>a</i>	(iPr) <sub>2</sub> O	90 ( <b>17a</b> )	2 : 1	95 <sup>anti</sup>
2	<i>a</i>	DMSO	92 ( <b>17a</b> )	1 : 1	50 <sup>anti</sup>
3 <sup>e</sup>	<i>b</i>	(iPr) <sub>2</sub> O	82 <sup>f</sup> ( <b>18</b> )	1 : >19	90 <sup>syn</sup>
4 <sup>e</sup>	<i>b</i>	Toluene	>95 <sup>f</sup> ( <b>18</b> )	1 : >19	95 <sup>syn</sup>
6	<i>c</i>	(iPr) <sub>2</sub> O	80 ( <b>19</b> )	1 : 15	55 <sup>syn</sup>
5	<i>c</i>	DMSO	92 ( <b>19</b> )	1 : 9	45 <sup>syn</sup>
7 <sup>e</sup>	<i>d</i>	CH <sub>3</sub> CN	95 <sup>f</sup> ( <b>20</b> )	—	42
8 <sup>e</sup>	<i>d</i>	Toluene	72 <sup>f</sup> ( <b>20</b> )	—	71
9 <sup>g</sup>	<i>a</i>	DMSO	92 ( <b>17a</b> )	1 : 1	95 <sup>anti</sup>

<sup>a</sup> Reactions performed at room temperature for 24 h in the stated solvent with 0.25 mmol of acceptor (0.1 M), 0.75 mmol of cyclohexanone, and 0.075 mmol of **4**. <sup>b</sup> Isolated yield of the stereomeric mixture of adducts. <sup>c</sup> Estimated by <sup>1</sup>H NMR analysis of crude reaction mixtures. <sup>d</sup> Determined by chiral HPLC analysis. <sup>e</sup> Reaction performed with 20 vol % of **15**. Reaction time: 2 h. <sup>f</sup> Yield determined by <sup>1</sup>H NMR analysis. <sup>g</sup> Reaction performed under homogeneous conditions with (*S*)-5-(pyrrolidin-2-yl)-1*H*-tetrazole catalyst (10 mol%).

Mechanistically, though the general mode of pyrrolidinyl tetrazole catalysis is still the subject of debate and discussion,<sup>11a</sup> it can be speculated that the suitable choice of low-polarity solvents such as diisopropyl ether and toluene prevents the free hydroxyls on the silica support of **4** from perturbing the hydrogen-bonding network responsible for the high selectivities detected in homogeneous catalysis.<sup>17</sup>

As anticipated, the tetrazole catalyst **4** was finally tested in the continuous-flow aldol reaction of cyclohexanone with *p*-nitro benzaldehyde with the hope of setting up an effective process with potential long term stability.<sup>18</sup> Thus, a micro-HPLC was suitably adapted for this study with minimized extra-columns volumes. The packed-bed microreactor **R4** (Table 3) was then prepared by filling (packing by gravity) a stainless steel column (50 mm length, 2.1 mm diameter) with tetrazole-functionalized silica **4** (pore size 60 Å, particle size ~50 µm, superficial area 500 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, loading 0.76 mmol g<sup>-1</sup>). Main features of **R4** were determined by pycnometry and included the hold-up (dead) volume (*V*<sub>0</sub> = 125 µL), and the total porosity (0.72). The packing amount of silica (154 mg) was calculated by weighing the column before and after filling. In addition, chromatographic retention factors *k'* of cyclohexanone and *p*-nitro benzaldehyde were measured under linear conditions in diisopropyl ether (DIP) and toluene.<sup>19</sup> These solvents, in fact, were selected as the optimal reaction media for the subsequent continuous-flow experiments (Table 3). Importantly, the determination of *k'* values was crucial for roughly calculating the retention times (*t*<sub>r</sub>) of the above reactants at different flow rates,<sup>19</sup> and thus for



**Table 3** Optimization of continuous-flow aldol reaction in packed-bed microreactors **R4** and short substrate scope study<sup>a</sup>

Entry	Solvent	<b>16</b> (c [M])	$k'_{16}$ <sup>b</sup>	$t_{r(16)}$ <sup>b</sup> (min)	Temp. <sup>c</sup> [°C]	Conv. <sup>d</sup> [%]	Productivity <sup>e</sup> /10 <sup>3</sup> [mmolh <sup>-1</sup> mmol <sub>cat</sub> <sup>-1</sup> ]	d.r. <i>anti-syn</i> <sup>f</sup>	ee <sub>anti</sub> <sup>g</sup> [%]
1	(iPr) <sub>2</sub> O	<b>16a</b> (0.03)	8.56	239	25	65	50	2 : 1	95
2	Toluene	<b>16a</b> (0.10)	0.91	48	25	62	159	3 : 1	82
3	(iPr) <sub>2</sub> O <sup>h</sup>	<b>16a</b> (0.10)	—	—	25	58	149	2 : 1	85
4	(iPr) <sub>2</sub> O <sup>i</sup>	<b>16a</b> (0.03)	8.56	239	50	>95	77	1 : 1	92
5	Toluene	<b>16a</b> (0.10)	0.91	48	50	95	256	2 : 1	80
6	Toluene	<b>16b</b> (0.10)	0.60	45	50	>95	256	3 : 1	75
7	Toluene	<b>16c</b> (0.10)	0.26	31	50	95	256	3 : 1	78
8	Toluene	<b>16d</b> (0.10)	0.27	32	50	>95	256	3 : 1	82
9	Toluene	<b>16e</b> (0.10)	0.28	32	50	>95	236	2 : 1	68

<sup>a</sup> See the Experimental section for a description of the experimental setup. All reactions were performed with a three-fold excess of cyclohexanone.

<sup>b</sup> Chromatographic retention factors  $k'$  and retention times  $t_r$  have been estimated at RT in the reaction solvent as described in ref. 19.  $k'_{15}(\text{DIP}) = 0.84$  ( $t_r = 46$  min);  $k'_{15}(\text{Tol}) = 0.30$  ( $t_r = 33$  min). <sup>c</sup> All temperatures were measured by a thermometer placed inside the thermostatted unit containing the microreactor. <sup>d</sup> Instant conversion in steady-state regime as established by <sup>1</sup>H NMR analysis. <sup>e</sup> Productivities are measured in mmol(product) h<sup>-1</sup> mmol(catalyst)<sup>-1</sup> × 10<sup>3</sup>. <sup>f</sup> Estimated by <sup>1</sup>H NMR analysis of crude reaction mixtures. <sup>g</sup> Determined by chiral HPLC analysis. <sup>h</sup> Reaction performed with 10 vol% of DMF. <sup>i</sup> The same reaction outcome was observed in a control experiment performed at the end of the substrate scope study.

estimating the duration of the process.<sup>20</sup> An initial continuous-flow experiment was performed in DIP by using a three-fold excess of cyclohexanone in analogy to the batch study. The optimal compromise between aldehyde solubility, conversion efficiency, and productivity was obtained by pumping a 0.03 M solution of aldehyde at 5 μL min<sup>-1</sup> (residence time  $t_0 = 25$  min;  $t_{r(16a)}$ : 239 min). As previously observed with proline catalyst **1**,<sup>4</sup> the stereoselectivity of the batch experiment with **4** (Table 1, entry 15) was replicated (d.r. 2 : 1; 95 ee<sub>anti</sub>, Table 3, entry 1) and maintained constant during the continuous process in steady-state regime.<sup>20</sup> The use of toluene or a 9 : 1 DIP–DMF mixture as the solvent improved the process productivity because of the higher concentration of reactants but, at the same time, slightly lowered the reaction conversion and the level of enantioselectivity (entries 2–3). Therefore, having in mind that reaction completion is a fundamental goal in continuous process optimization for easier product purification, the effect of temperature on conversion efficiency was finally examined.<sup>21</sup> To our delight, we found that warming the microreactor **R4** in the HPLC oven set a 50 °C resulted in complete conversion and selectivity (no formation of dehydration by-product was detected) both in DIP and toluene, thus allowing the isolation of the aldol product **17a** by simple evaporation of the solvent and excess cyclohexanone (entries 4 and 5). Notably, the increase of the process temperature did not compromise the enantioselectivity of the process, which proceeded with higher productivity (ca. 8 mg h<sup>-1</sup>) in toluene (entry 5).

The scope and the applicability of the method were shortly investigated by reacting cyclohexanone with various aromatic aldehydes having electron-withdrawing substituents (entries 6–9). Gratifyingly, the corresponding mixtures of aldol adducts

**17b–e** were produced in toluene at 50 °C with high conversion efficiency (≥95%) and a satisfactory level of enantioselectivity (68–82 ee<sub>anti</sub>). We would like to emphasize that the whole optimization and substrate scope study was carried out with the same packed-bed microreactor **R4**, which functioned at 50 °C for an overall time of 80 hours. Remarkably, the packing silica **4** did not show any evidence of deactivation during that period, as demonstrated by a final control experiment that reproduced the optimal **15/16a** coupling outcome (entry 4). A progressive loss of catalytic activity was observed, however, after 120 hours at 50 °C, with catalyst **4** fully deactivated after ca. 7 days on stream.

## Conclusions

In summary, we have synthesized a heterogeneous version of the valuable Ley–Arvidsson–Yamamoto (*S*)-5-(pyrrolidin-2-yl)-1*H*-tetrazole organocatalyst and ascertained that the utilization of silica as the support and thiol–ene coupling (TEC) as the immobilization strategy enables tetrazole organocatalyst **4** to maintain the level of stereoselectivity of its homogeneous counterpart in model batch transformations. Crucial for successful experiments with supported tetrazole **4** was the selection of low-polarity reaction solvents. In addition, we have provided a further example of the effective combination of heterogeneous asymmetric organocatalysis and microreactor technology by preparing a packed-bed microreactor filled with silica **4** and demonstrating its efficacy in the continuous production of optically active aldol products. Further improvements, in particular pertaining to process productivity, are in progress through chemical optimization of the

described catalytic system and by taking advantage of a deeper understanding of the kinetics and thermodynamics of the continuous-flow-process. Nevertheless, we believe this work may represent a useful contribution to the current search for more efficient, economic, and environmentally benign production strategies of valuable chiral targets.

## Experimental section

All moisture-sensitive reactions were performed under a nitrogen atmosphere using oven-dried glassware. Solvents were dried over standard drying agent and freshly distilled prior to use. Flash column chromatograph was performed on silica gel 60 (230–400 mesh). Reactions were monitored by TLC on silica gel 60 F<sub>254</sub> with detection by charring with sulfuric acid and/or ninhydrin. Flash column chromatography was performed on silica gel 60 (230–400 mesh). Optical rotations were measured at 20 ± 2 °C in the stated solvent;  $[\alpha]_D$  values are given in 10<sup>-1</sup> deg cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>H (300 MHz) and <sup>13</sup>C (75 MHz) NMR spectra were recorded for CDCl<sub>3</sub> solutions at room temperature unless otherwise specified. Peak assignments were aided by <sup>1</sup>H–<sup>1</sup>H COSY and gradient-HMQC experiments. Enantiomeric excess (ee) values were determined by HPLC. A two-pump high pressure micro system (Agilent 1100 micro series) equipped with a DAD detector was employed. The column was 150 × 2 mm Lux-1 Cellulose (from Phenomenex), 3 μm particle diameter. The mobile phase was a binary mixture hexanes–i-PrOH 90:10 (v/v). ESI MS (LTQ-XL Linear Trap from Thermo Scientific) analyses were performed in positive ion mode with samples dissolved in 10 mM solution of HCO<sub>2</sub>NH<sub>4</sub> in 1:1 MeCN–H<sub>2</sub>O. FT-IR analyses were performed with the Bruker Instrument Vertex 70. Elemental analyses were performed with FLASH 2000 Series CHNS/O analyzer (ThermoFisher Scientific). Vertical agitation was performed with the FirstMate<sup>TM</sup> synthesizer, Argonaut Technology. The household UVA lamp apparatus was equipped with four 15 W tubes (1.5 × 27 cm each). Photo-induced reactions were carried out in a glass vial (diameter: 1 cm; wall thickness: 0.65 mm), sealed with a natural rubber septum, located 2.5 cm away from the UVA lamp (irradiation on sample: 365 nm, 1.04 W m<sup>-2</sup>). The system used for continuous-flow reactions was composed of an HPLC pump (Agilent 1100 micro series), an in-line pressure transducer, a thermostated microreactor holder (Peltier unit), a system to collect fractions and a data acquisition system (Agilent ChemStation). The units were connected by peek tubing (internal diameter 0.01 inch from Upchurch Scientific). The system hold-up volume was smaller than 80 μL. The temperature was controlled by inserting a thermometer inside the Peltier unit (temperature measurement error: ±0.5 °C). Silica gel (grade 9385, pore size 60 Å, particle size ~50 μm, superficial area 500 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) was purchased from Sigma-Aldrich. (2*S*,4*R*)-*N*-Boc-4-(allyloxy)proline **5**<sup>4</sup> and (2*S*,4*R*)-*N*-Cbz-4-(allyloxy)proline **6**<sup>13</sup> were synthesized as described. Thiol–silica **14**<sup>22</sup> was prepared according to reported procedures with minor modifications. For microreactor **R4** preparation and characterization see the ESI.† Adducts **17a–e**, **18**, **19**, and **20** are known compounds. The self-disproportionation of enantiomers (SDE) test for achiral chromatography<sup>23</sup> has been carried out for derivatives **17a–e**, **19**, and **20** without noting any significant magnitude of SDE.

### (2*S*,4*R*)-*tert*-Butyl 4-(allyloxy)-2-(2-nitrophenylsulfonylcarbamoyl)pyrrolidine-1-carboxylate (7)

To a stirred solution of (2*S*,4*R*)-*N*-Boc-4-(allyloxy)proline **5**<sup>4</sup> (500 mg, 1.85 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8 mL) were added 2-nitrobenzenesulfonamide (337 mg, 1.67 mmol), 4-(dimethylamino)pyridine (DMAP, 61 mg, 0.50 mmol), and *N,N*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 419 mg, 2.03 mmol). The resulting mixture was refluxed for 72 h, then cooled to room temperature, filtered, and washed with fresh portions of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 × 5 mL). The combined filtrates were washed with cold 1 M HCl (5 mL) and brine (5 mL). Then, the organic phase was dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), concentrated, and eluted from a column of silica gel with 2.5:1 cyclohexane–AcOEt to give the sulfonamide **7** (631 mg, 75%) as a white amorphous solid.  $[\alpha]_D = -51.2$  (*c* 1.6, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR: δ = 8.50–8.38 (bm, 2 H, Ar), 7.85–7.62 (bm, 3 H, Ar), 5.90–5.78 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>=CH), 5.28–5.15 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>=CH), 4.50–4.29 (bm, 1 H, H-2), 4.08–3.74 (bm, 3 H, OCH<sub>2</sub>, H-4), 3.52 (bdd, 1 H, *J*<sub>4,5a</sub> = 2.0 Hz, *J*<sub>5a,5b</sub> = 8.5 Hz, H-5a), 3.40 (bdd, 1 H, *J*<sub>4,5b</sub> = 5.0 Hz, *J*<sub>5a,5b</sub> = 10.5 Hz, H-5b), 2.50–2.00 (bm, 2 H, 2 H-3), 1.42 and 1.38 (2 s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (major conformer): δ = 171.1, 157.0, 154.2, 148.1, 134.2, 133.3, 132.3, 124.7, 117.2, 82.3, 76.0, 70.1, 59.5, 51.9, 32.6, 28.2. ESI MS (455.1): 473.4 (M + NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Found: C, 50.02; H, 5.78; N, 9.51; S 7.22. C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>S requires C, 50.10; H, 5.53; N, 9.23; 7.04%.

### (2*S*,4*R*)-*tert*-Butyl 4-(allyloxy)-2-carbamoylpyrrolidine-1-carboxylate (8)

To a stirred mixture of (2*S*,4*R*)-*N*-Boc-4-(allyloxy)proline **5**<sup>4</sup> (1.28 g, 4.72 mmol), di-*tert*-butyl dicarbonate (1.54 g, 7.08 mmol), NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (559 mg, 7.08 mmol), and anhydrous CH<sub>3</sub>CN (20 mL) anhydrous pyridine (286 μL, 3.54 mmol) was added in one portion. The mixture was stirred at room temperature until TLC analysis revealed the disappearance of the starting acid (*ca.* 5 h), then the volume was reduced under vacuum to approximately 5 mL. Subsequently, AcOEt (20 mL) and H<sub>2</sub>O (20 mL) were added and the organic phase separated. The aqueous phase was extracted further with AcOEt (2 × 20 mL) and the combined organic phases washed with brine (10 mL), dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and concentrated to give the amide **8** (1.21 g, 95%) at least 90% pure as judged by <sup>1</sup>H NMR analysis. An analytical sample of **8** was obtained by column chromatography with 1:9 cyclohexane–AcOEt.  $[\alpha]_D = -58.8$  (*c* 0.6, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR: δ = 6.80 and 5.90 (2 bs, 1 H, NH), 6.00–5.80 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>=CH), 5.60–5.45 (bm, 1 H, NH), 5.35–5.15 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>=CH), 4.45–4.15 (bm, 2 H, H-2, H-4), 4.05–3.90 (bm, 2 H, OCH<sub>2</sub>), 3.80–3.40 (m, 2 H, 2 H-5), 2.55–2.00 (bm, 2 H, 2 H-3), 1.42 (s, 9 H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (major conformer): δ = 173.9, 154.0, 134.3, 117.2, 80.8, 75.9, 70.2, 58.2, 51.8, 33.7, 28.3. ESI MS (270.2): 309.8 (M + K<sup>+</sup>). Found: C, 57.48; H, 8.41; N, 10.09. C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> requires C, 57.76; H, 8.20; N, 10.36%.

### (2*S*,4*R*)-Benzyl 4-(allyloxy)-2-carbamoylpyrrolidine-1-carboxylate (9)

To a stirred mixture of (2*S*,4*R*)-*N*-Cbz-4-(allyloxy)proline **6**<sup>13</sup> (1.00 g, 3.28 mmol), di-*tert*-butyl dicarbonate (1.07 g,

4.92 mmol),  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (389 mg, 4.92 mmol), and anhydrous  $\text{CH}_3\text{CN}$  (15 mL) anhydrous pyridine (199  $\mu\text{L}$ , 2.46 mmol) was added in one portion. The mixture was stirred at room temperature until TLC analysis revealed the disappearance of the starting acid (*ca.* 5 h), then the volume was reduced under vacuum to approximately 5 mL. Subsequently, AcOEt (20 mL) and  $\text{H}_2\text{O}$  (20 mL) were added and the organic phase separated. The aqueous phase was extracted further with AcOEt ( $2 \times 20$  mL) and the combined organic phases washed with brine (10 mL), dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), and concentrated to give the amide **9** (917 mg, 92%) at least 90% pure as judged by  $^1\text{H}$  NMR analysis. An analytical sample of **9** was obtained by column chromatography with pure AcOEt.  $[\alpha]_{\text{D}} = -49.9$  (*c* 1.4,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR:  $\delta = 7.40\text{--}7.20$  (m, 5 H, Ar), 6.65 and 5.82 (2 bs, 1 H, NH), 5.92–5.78 (m, 1 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 5.45–5.30 (bm, 1 H, NH), 5.28–5.10 (m, 2 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 4.50–4.35 (m, 1 H, H-2), 4.26–4.10 (m, 1 H, H-4), 4.00–3.90 (m, 2 H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.86–3.50 (m, 2 H, 2 H-5), 2.60–2.40 and 2.30.2.00 (2 bm, 2 H, 2 H-3).  $^{13}\text{C}$  NMR (major conformer):  $\delta = 173.4, 156.2, 136.1, 134.2, 128.5, 128.2, 127.8, 117.3, 76.1, 70.2, 67.5, 58.7, 51.7, 33.9$ . ESI MS (344.1): 343.9 (M +  $\text{K}^+$ ). Found: C, 63.38; H, 6.51; N, 9.01.  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$  requires C, 63.14; H, 6.62; N, 9.20%.

#### (2*S*,4*R*)-*tert*-Butyl 4-(allyloxy)-2-cyanopyrrolidine-1-carboxylate (**10**)

To a cooled (0 °C), stirred solution of crude amide **8** (1.21 g, 4.48 mmol) in anhydrous DMF (20 mL) cyanuric chloride (537 mg, 2.91 mmol) was added in one portion. The mixture was stirred at 0 °C for 1 h, then warmed to room temperature, and stirred at that temperature for additional 24 h. The mixture was then cooled to 0 °C, diluted with  $\text{H}_2\text{O}$  (15 mL), and extracted with AcOEt ( $3 \times 50$  mL). The combined organic phases were washed with brine (10 mL), dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), concentrated, and eluted from a column of silica gel with 4 : 1 cyclohexane–AcOEt to give **11** (835 mg, 74%) as a pale yellow oil.  $[\alpha]_{\text{D}} = -65.4$  (*c* 1.1,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR:  $\delta = 5.98\text{--}5.82$  (m, 1 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 5.34–5.20 (m, 2 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 4.64–4.50 (m, 1 H, H-2), 4.30–4.10 (m, 1 H, H-4), 4.08–3.90 (m, 2 H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.70–3.60 and 3.58–3.48 (2 bm, 2 H, 2 H-5), 2.60–2.30 (bm, 2 H, 2 H-3), 1.48 and 1.4 (2 s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (major conformer):  $\delta = 152.8, 133.7, 118.7, 117.2, 81.3, 74.9, 69.9, 50.5, 45.4, 37.0, 27.9$ . ESI MS (252.1): 275.7 (M +  $\text{Na}^+$ ). Found: C, 61.67; H, 7.81; N, 11.28.  $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$  requires C, 61.88; H, 7.99; N, 11.10%.

#### (2*S*,4*R*)-Benzyl 4-(allyloxy)-2-cyanopyrrolidine-1-carboxylate (**11**)

To a cooled (0 °C), stirred solution of crude amide **9** (1.60 g, 5.26 mmol) in anhydrous DMF (18 mL) cyanuric chloride (630 mg, 3.41 mmol) was added in one portion. The mixture was stirred at 0 °C for 1 h, then warmed to room temperature, and stirred at that temperature for additional 12 h. The mixture was then cooled to 0 °C, diluted with  $\text{H}_2\text{O}$  (10 mL), and extracted with AcOEt ( $3 \times 40$  mL). The combined organic phases were washed with brine (10 mL), dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), concentrated, and eluted from a column of silica gel with 2 : 1

cyclohexane–AcOEt to give **11** (1.23 g, 82%) as a white foam.  $[\alpha]_{\text{D}} = -61.5$  (*c* 0.7,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR:  $\delta = 7.45\text{--}7.25$  (m, 5 H, Ar), 6.00–5.78 (m, 1 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 5.40–5.25 (m, 2 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 4.80–4.58 (m, 1 H, H-2), 4.30–4.12 (m, 1 H, H-4), 4.10–3.80 (m, 2 H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.80–3.72 and 3.64–3.50 (2 m, 2 H, 2 H-5), 2.60–2.20 (m, 2 H, 2 H-3).  $^{13}\text{C}$  NMR (major conformer):  $\delta = 162.0, 135.7, 133.8, 128.6, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 118.7, 117.8, 75.9, 70.3, 68.1, 51.3, 45.5, 37.6$ . ESI MS (286.1): 309.5 (M +  $\text{Na}^+$ ). Found: C, 67.42; H, 6.60; N, 9.98.  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$  requires C, 67.12; H, 6.34; N, 9.78%.

#### (2*S*,4*R*)-*tert*-Butyl 4-(allyloxy)-2-(1*H*-tetrazol-5-yl)pyrrolidine-1-carboxylate (**12**)

A mixture of nitrile **10** (800 mg, 3.17 mmol),  $\text{NaN}_3$  (268 mg, 4.12 mmol),  $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HCl}$  (567 mg, 4.12 mmol), and toluene (5 mL) was stirred at 95 °C under an atmosphere of argon for 24 h. The mixture was then cooled to room temperature and extracted with AcOEt ( $3 \times 40$  mL). The combined organic phases were washed with brine (10 mL), dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), concentrated, and eluted from a column of silica gel with 6 : 4 : 1 cyclohexane–AcOEt–AcOH to give **12** (701 mg, 75%) as a white amorphous solid.  $[\alpha]_{\text{D}} = -92.0$  (*c* 0.6,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR:  $\delta = 6.02\text{--}5.88$  (m, 1 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 5.37–5.22 (m, 2 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 5.17 (dd, 1 H,  $J_{2,3a} = 7.0$  Hz,  $J_{2,3b} = 7.5$  Hz, H-2), 4.35–4.25 (m, 1 H, H-4), 4.15–4.00 (m, 2 H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.64 (dd, 1 H,  $J_{4,5a} = 3.0$  Hz,  $J_{5a,5b} = 11.5$  Hz, H-5a), 3.48 (dd, 1 H,  $J_{4,5b} = 5.0$  Hz,  $J_{5a,5b} = 11.5$  Hz, H-5b), 3.10–3.00 (m, 1 H, H-3a), 2.63–2.51 (m, 1 H, H-3b), 1.42 (s, 9 H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (major conformer):  $\delta = 157.0, 155.9, 134.1, 117.3, 81.6, 76.0, 70.1, 52.0, 49.7, 35.5, 28.2$ . ESI MS (295.2): 296.6 (M +  $\text{H}^+$ ). Found: C, 52.55; H, 7.41; N, 23.46.  $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_3$  requires C, 52.87; H, 7.17; N, 23.71%.

#### (2*S*,4*R*)-Benzyl 4-(allyloxy)-2-(1*H*-tetrazol-5-yl)pyrrolidine-1-carboxylate (**13**)

A mixture of nitrile **11** (800 mg, 2.80 mmol),  $\text{NaN}_3$  (237 mg, 3.64 mmol),  $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HCl}$  (501 mg, 3.64 mmol), and toluene (5 mL) was stirred at 95 °C under an atmosphere of argon for 24 h. The mixture was then cooled to room temperature, diluted with cold 1 M HCl until pH = 3, and extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 40$  mL). The combined organic phases were washed with brine (10 mL), dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), concentrated, and eluted from a column of silica gel with 6 : 4 : 1 cyclohexane–AcOEt–AcOH to give **13** (783 mg, 85%) as a white amorphous solid.  $[\alpha]_{\text{D}} = -42.2$  (*c* 0.9,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$ , 120 °C):  $\delta = 7.45\text{--}7.15$  (m, 5 H, Ar), 6.00–5.84 (m, 1 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 5.32–5.05 (m, 2 H,  $\text{CH}_2=\text{CH}$ ), 5.29 (dd, 1 H,  $J_{2,3a} = 5.0$  Hz,  $J_{2,3b} = 5.5$  Hz, H-2), 4.36–4.28 (m, 1 H, H-4), 4.04–3.98 (m, 2 H,  $\text{OCH}_2$ ), 3.72 (dd, 1 H,  $J_{4,5a} = 5.0$  Hz,  $J_{5a,5b} = 11.5$  Hz, H-5a), 3.64 (dd, 1 H,  $J_{4,5b} = 1.5$  Hz,  $J_{5a,5b} = 11.5$  Hz, H-5b), 2.42 (ddd, 1 H,  $J_{2,3a} = 5.0$  Hz,  $J_{3a,4} = 7.5$  Hz,  $J_{3a,3b} = 12.5$  Hz, H-3a), 2.21 (ddd, 1 H,  $J_{2,3a} = 5.5$  Hz,  $J_{3a,4} = 6.0$  Hz,  $J_{3a,3b} = 12.5$  Hz, H-3b).  $^{13}\text{C}$  NMR (major conformer):  $\delta = 156.7, 156.3, 135.8, 134.1, 128.5, 128.2, 128.0, 127.8, 117.4, 75.7, 70.2, 67.7, 51.9, 50.3, 35.5$ . ESI MS (329.1): 330.5 (M +  $\text{H}^+$ ). Found: C, 58.62; H,

5.99; N, 21.58. C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub> requires C, 58.35; H, 5.81; N, 21.26%.

#### Preparation of 3-mercaptopropyl silica gel 14

To preserve silica particles from mechanical degradation, this derivatization step was carried out in a standard rotary evaporator in which a two-necked flask was fitted with solvent condenser, solvent collector, and nitrogen inlet for syringe addition of reactant solutions under an inert atmosphere. Mixing was obtained by spinning the flask around its axis and warming by means of a standard oil-bath. Silica gel (grade 9385, pore size 60 Å, particle size ~50 μm, superficial area 500 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) was dried before its use (0.1 mbar, *T* = 110 °C, 2 h).

To a stirred slurry of silica gel (5.00 g), anhydrous toluene (60 mL), and freshly distilled triethylamine (0.25 mL) was slowly added a solution of (3-mercaptopropyl)-trimethoxysilane (2.5 mL) in anhydrous toluene (10 mL). The resulting mixture was then warmed to 60 °C and stirred for 20 h. Subsequently, the mixture was refluxed until *ca.* 15 mL of solvent were collected (eventually by the aid of a nitrogen stream). The mixture was then refluxed for an additional 1 h, cooled to room temperature, and centrifuged with 20 mL portions of toluene, MeOH, EtOH, and cyclohexane. The resulting thiol-functionalized silica gel **14** was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 60 °C, 6 h). FT-IR (KBr):  $\nu$  2577(SH) cm<sup>-1</sup>. Elemental analysis (%) found: S 3.36 (estimated loading  $f$  = 1.05 mmol g<sup>-1</sup>).

#### General procedure for the synthesis of silica-supported proline mimetics 2–4 via thermally induced TEC

To preserve silica particles from mechanical degradation, this derivatization step was carried out with the FirstMate™ synthesizer.

A vertically-stirred mixture of thiol-silica **14** (1.00 g, 1.05 mmol;  $f$  = 1.05 mmol S g<sup>-1</sup>), (4-allyloxy)pyrrolidine derivative **7**, **8** or **12** (3.15 mmol), 2,2'-azobis(2-methylpropionitrile) (AIBN, 172 mg, 1.05 mmol), and anhydrous toluene (8 mL) was degassed under vacuum, and saturated with argon (by an Ar-filled balloon) three times. The mixture was then warmed to 90 °C, stirred for 16 h, cooled to room temperature, diluted with AcOEt (8 mL), and centrifuged with 5 mL portions AcOEt (4×). The resulting *N*-Boc protected silica-supported proline mimetic *N*-Boc **2**, *N*-Boc **3** or *N*-Boc **4** was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 40 °C, 6 h). Excess pyrrolidine derivative **7**, **8** or **12** can be easily recycled by column chromatography of the centrifugate.

**Silica N-Boc 2.** Elemental analysis (%) found: N 2.15 (estimated loading  $f$  = 0.77 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  1745 (CO), 1690 (CO), 1455 (*t*-Bu), 1370 (*t*-Bu) cm<sup>-1</sup>.

**Silica N-Boc 3.** Elemental analysis (%) found: N 3.18 (estimated loading  $f$  = 0.76 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  1740 (CO), 1610 (CO), 1545 (SO<sub>2</sub>N), 1450 (*t*-Bu), 1370 (*t*-Bu) cm<sup>-1</sup>.

**Silica N-Boc 4.** Elemental analysis (%) found: N 5.45 (estimated loading  $f$  = 0.78 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  1699 (CO), 1650 (CO), 1457 (*t*-Bu), 1396 (*t*-Bu) cm<sup>-1</sup>.

To a cooled (0 °C), vertically-stirred mixture of silica-supported proline mimetic *N*-Boc **2**, *N*-Boc **3** or *N*-Boc **4** (~1.00 g)

and anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL) was slowly added a solution of TFA (4 mL) in anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL). The mixture was then warmed to room temperature, stirred for 12 h, and centrifuged with 5 mL portions of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×), 1 : 2/Et<sub>3</sub>N-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×; addition at 0 °C), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×), MeOH (2×), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×). The resulting silica-supported proline mimetics **2**, **3** or **4** was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 40 °C, 6 h).

**Silica 2.** Elemental analysis (%) found: N 2.10 (estimated loading  $f$  = 0.75 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  2938 (CH), 1681 (CO) cm<sup>-1</sup>.

**Silica 3.** Elemental analysis (%) found: N 2.94 (estimated loading  $f$  = 0.70 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  2930 (CH), 1613 (CO), 1546 (SO<sub>2</sub>N), 1130 (SO<sub>2</sub>N) cm<sup>-1</sup>.

**Silica 4.** Elemental analysis (%) found: N 5.32 (estimated loading  $f$  = 0.76 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  2938 (CH), 1674 (CO), 1445 (CN) cm<sup>-1</sup>.

#### General procedure for the synthesis of silica-supported proline mimetics 2–4 via photoinduced TEC

To preserve silica particles from mechanical degradation, this derivatization step was carried out with the FirstMate™ synthesizer.

A vertically-agitated mixture of thiol-silica **14** (1.00 g, 1.05 mmol;  $f$  = 1.05 mmol S g<sup>-1</sup>), (4-allyloxy)pyrrolidine derivative **7**, **8** or **12** (3.15 mmol), 2,2-dimethoxy-2-phenyl-acetophenone (DMAP, 269 mg, 1.05 mmol), and MeOH (6 mL) was irradiated at room temperature for 5 h, and then centrifuged with 5 mL portions of MeOH (4×). The resulting *N*-Boc protected silica-supported proline mimetic *N*-Boc **2**, *N*-Boc **3** or *N*-Boc **4** was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 40 °C, 6 h). Excess pyrrolidine derivative **7**, **8** or **12** can be easily recycled by column chromatography of the centrifugate. Silicas *N*-Boc **2**, *N*-Boc **3**, and *N*-Boc **4** were obtained with levels of functionalization which were comparable to those detected in the corresponding thermally induced TECs.

To a cooled (0 °C), vertically-agitated mixture of silica-supported proline mimetic *N*-Boc **2**, *N*-Boc **3** or *N*-Boc **4** (~1.00 g) and anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL) was slowly added a solution of TFA (4 mL) in anhydrous CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 mL). The mixture was then warmed to room temperature, stirred for 12 h, and centrifuged with 5 mL portions of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×), 1 : 2/Et<sub>3</sub>N-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×; addition at 0 °C), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×), MeOH (2×), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×). The resulting silica-supported proline mimetics **2**, **3** or **4** was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 40 °C, 6 h). Silicas **2**, **3**, and **4** were obtained with levels of functionalization which were comparable to those detected in the corresponding thermally induced TECs.

#### Procedure for the model aldol reaction under batch conditions (Table 1)

A mixture of *p*-nitro benzaldehyde (38 mg, 0.25 mmol), cyclohexanone (78 μL, 0.75 mmol), the stated catalyst (0.075 mmol), and the stated solvent (1.7 mL) was vertically-stirred at room temperature for 24 h, and then centrifuged with 2.5 mL-portions of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2×). The combined centrifugates were concentrated and the resulting residue analyzed by <sup>1</sup>H NMR to determine the

diastereomeric ratio and conversion. Subsequently, the residue was eluted from a column of silica gel with 5 : 1 toluene–AcOEt to determine the yield of the *anti*–*syn* diastereomeric mixture and obtain the pure *anti*-adduct **17a** whose enantiomeric excess value<sup>23</sup> was determined by chiral HPLC analysis: Lux-1 cellulose (hexanes–*i*-PrOH 98 : 2 v/v, 400  $\mu\text{L min}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{max}} = 258 \text{ nm}$ );  $t_{\text{R}}$  (major) = 18.5 min;  $t_{\text{R}}$  (minor) = 25.4).

#### Procedure for the model Mannich reaction under batch conditions (Table 2)

A mixture of *N*-*p*-methoxybenzyl- $\alpha$ -iminoglyoxalate (52 mg, 0.25 mmol), cyclohexanone (340  $\mu\text{L}$ , 20 vol%), catalyst **4** (99 mg, 0.075 mmol), and the stated solvent (1.7 mL) was vertically-stirred at room temperature for 2 h, and then centrifuged with 2.5 mL-portions of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 $\times$ ). The combined centrifugates were concentrated and the resulting residue analyzed by  $^1\text{H}$  NMR to determine the diastereomeric ratio and estimate the yield of the *syn*–*anti* diastereomeric mixture. The enantiomeric excess of the *syn*-adduct **18** was determined by chiral HPLC analysis: Lux-1 Cellulose (hexanes–*i*-PrOH 99 : 1 v/v, 300  $\mu\text{L min}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{max}} = 246 \text{ nm}$ );  $t_{\text{R}}$  (minor) = 16.5 min;  $t_{\text{R}}$  (major) = 17.7).

#### Procedure for the model Michael reaction under batch conditions (Table 2)

A mixture of *trans*- $\beta$ -nitrostyrene (37 mg, 0.25 mmol), cyclohexanone (78  $\mu\text{L}$ , 0.75 mmol), the stated catalyst (99 mg, 0.075 mmol), and the stated solvent (1.7 mL) was vertically-stirred at room temperature for 24 h, and then centrifuged with 2.5 mL-portions of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 $\times$ ). The combined centrifugates were concentrated and the resulting residue analyzed by  $^1\text{H}$  NMR to determine the diastereomeric ratio and conversion. Subsequently, the residue was eluted from a column of silica gel with 2 : 1 cyclohexane–AcOEt to determine the yield of the *anti*–*syn* diastereomeric mixture and obtain the pure *syn*-adduct **19** whose enantiomeric excess value<sup>23</sup> was determined by chiral HPLC analysis: Lux-1 Cellulose (hexanes–*i*-PrOH 92 : 8 v/v, 50  $\mu\text{L min}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{max}} = 220 \text{ nm}$ );  $t_{\text{R}}$  (minor) = 34.8 min;  $t_{\text{R}}$  (major) = 36.3).

#### Procedure for the model $\alpha$ -amination reaction under batch conditions (Table 2)

A mixture of diethyl azodicarboxylate (97% purity, 41  $\mu\text{L}$ , 45 mg, 0.25 mmol), cyclohexanone (340  $\mu\text{L}$ , 20 vol%), catalyst **4** (99 mg, 0.075 mmol), and the stated solvent (1.7 mL) was vertically-stirred at room temperature for 2 h, and then centrifuged with 2.5 mL portions of  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 $\times$ ). The combined centrifugates were concentrated and the resulting residue analyzed by  $^1\text{H}$  NMR to estimate the yield of **20**. The enantiomeric excess of **20** was determined by chiral HPLC analysis: Lux-1 cellulose (hexanes–*i*-PrOH 95 : 5 v/v, 200  $\mu\text{L min}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{max}} = 220 \text{ nm}$ );  $t_{\text{R}}$  (minor) = 7.7 min;  $t_{\text{R}}$  (major) = 10.4).

#### Continuous-flow aldol reactions (Table 3)

Microreactor **R4** was fed with a solution in the stated solvent of cyclohexanone and the aromatic aldehyde **16a–e**, and operated at the stated temperature for 4 h (under steady-state conditions) at 5  $\mu\text{L min}^{-1}$  (see Table 3 for molarity concentrations). Instant conversion was determined ( $^1\text{H}$  NMR analysis) every 30 minutes by taking a sample of the eluate. The collected solution was finally concentrated and eluted from a column of silica gel with the suitable elution system to give the corresponding mixture of *anti*–*syn* adducts whose diastereomeric ratio was determined by  $^1\text{H}$  NMR analysis. The enantiomeric excess<sup>23</sup> of the *anti*-adducts **17a–e** was evaluated by chiral HPLC analysis.

**17b.** Lux-1 cellulose (hexanes–*i*-PrOH 99 : 1 v/v, 500  $\mu\text{L min}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{max}} = 220 \text{ nm}$ );  $t_{\text{R}}$  (major) = 30.5;  $t_{\text{R}}$  (minor) = 46.2 min.

**17c.** Lux-1 cellulose (hexanes–*i*-PrOH 99 : 1 v/v, 100  $\mu\text{L min}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{max}} = 220 \text{ nm}$ );  $t_{\text{R}}$  (major) = 57.8;  $t_{\text{R}}$  (minor) = 77.9 min.

**17d.** Lux-1 cellulose (hexanes–*i*-PrOH 98 : 2 v/v, 500  $\mu\text{L min}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{max}} = 220 \text{ nm}$ );  $t_{\text{R}}$  (major) = 5.3;  $t_{\text{R}}$  (minor) = 7.3 min.

**17e.** Lux-1 cellulose (hexanes–*i*-PrOH 99 : 1 v/v, 500  $\mu\text{L min}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{max}} = 220 \text{ nm}$ );  $t_{\text{R}}$  (major) = 5.4;  $t_{\text{R}}$  (minor) = 6.8 min.

#### Acknowledgements

We gratefully acknowledge the University of Ferrara (Progetto FAR 2010) and the Italian Ministry of University and Scientific Research (Progetto FIRB Chem-Profarma-Net Grant RBPR05NWWC 008, Progetto PRIN Grants 2009ZSC5K2 004 and 20098SJJ4F 004) for financial supports. Thanks are also given to Mr Paolo Formaglio for NMR experiments and to Mrs Ercolina Bianchini for elemental analyses.

#### Notes and references

- (a) A. J. von Wangelin, H. Neumann, D. Gördes, S. Klaus, D. Strübing and M. Beller, *Chem.–Eur. J.*, 2003, **9**, 4286–4294; (b) J. Andraos, *Org. Process Res. Dev.*, 2005, **9**, 149–163.
- (a) *Enantioselective Organocatalysis*, ed. P. I. Dalko, Wiley-VCH, Weinheim, 2007; (b) *Chem. Rev.*, guest ed. B. List, 2007, **107**, 5413–5883 (c) A. Dondoni and A. Massi, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2008, **47**, 4638–4660; (d) E. N. Jacobsen and D. W. C. MacMillan, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2010, **107**, 20618–20619.
- (a) K. Geyer, T. Gustafsson and P. H. Seeberger, *Synlett*, 2009, **15**, 2382–2391; (b) B. P. Mason, K. E. Price, J. L. Steinbacher, A. R. Bogdan and D. T. McQuade, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 2300–2318; (c) I. R. Baxendale, S. V. Ley, A. C. Mansfield and C. D. Smith, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, **48**, 4017–4021; (d) I. R. Baxendale, J. J. Hayward, S. Lanners, S. V. Ley and C. D. Smith, in *Microreactors in Organic Synthesis and Catalysis*, ed. T. Wirth, Wiley-VCH, Weinheim, 2008, ch. 4.2, pp. 84–122; (e) I. R. Baxendale, J. J. Hayward and S. V. Ley, *Comb. Chem. High Throughput Screening*, 2007, **10**, 802–836; (f) A. R. Bogdan, S. L. Poe, D. C. Kubis, S. J. Broadwater and D. T. McQuade, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, **48**, 8547–8550. For a recent review, see: (g) C. Wiles and P. Watts, *Green Chem.*, 2012, **14**, 38.
- A. Massi, A. Cavazzini, L. Del Zoppo, O. Pandoli, V. Costa, L. Pasti and P. P. Giovannini, *Tetrahedron Lett.*, 2011, **52**, 619–622.
- In light of this new paradigm, Odera and Seeberger reported the first homogeneous organocatalytic aldol and Mannich reactions in microfluidic devices: (a) A. Odera and P. H. Seeberger, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, **48**, 2699–2702. For a general discussion on the potential of this approach in the field of fine chemicals and pharmaceuticals production, see: (b) A. Kirschning, W. Solodenko and K. Mennecke, *Chem.–Eur. J.*, 2006, **12**, 5972–5990; (c) A. El Kadib, R. Chimenton, A. Sachse,

- F. Fajula, A. Galarneau and B. Coq, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, **48**, 4969–4972; (d) F. E. Valera, M. Quaranta, A. Moran, J. Blacker, A. Armstrong, J. T. Cabral and D. G. Blackmond, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2010, **49**, 2478–2485. For a recent review on the combination of heterogeneous catalysis with microreactor technology, see: (e) C. G. Frost and L. Mutton, *Green Chem.*, 2010, **12**, 1687–1703.
- 6 For a review on continuous-flow asymmetric reactions, see: X. Y. Mak, P. Laurino and P. H. Seeberger, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2009, **5**, DOI: 10.3762/bjoc.5.19.
- 7 (a) C. Ayats, A. H. Henseler and M. A. Pericàs, *ChemSusChem*, 2012, DOI: 10.1002/cssc.201100570; (b) X. C. Cambeiro, R. Martín-Rapún, P. O. Miranda, S. Sayalero, E. Alza, P. Llanes and M. A. Pericàs, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2011, **7**, 1486–1493; (c) A. L. W. Demuynck, L. Peng, F. de Clippel and J. Vanderleyden, *Adv. Synth. Catal.*, 2011, **353**, 725–732; (d) E. Alza, S. Sayalero, X. C. Cambeiro, R. Martín-Rapún, P. O. Miranda and M. A. Pericàs, *Synlett*, 2011, 464–468; (e) E. Alza, C. Rodríguez-Esrich, S. Sayalero, A. Bastero and M. A. Pericàs, *Chem.–Eur. J.*, 2009, **15**, 10167–10172; (f) F. Bonfils, I. Cazaux, P. Hodge and C. Caze, *Org. Biomol. Chem.*, 2006, **4**, 493–497; (g) D. Bernstein, S. France, J. Wolfer and T. Lectka, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, **16**, 3481–3483; (h) S. France, D. Bernstein, A. Weatherwax and T. Lectka, *Org. Lett.*, 2005, **7**, 3009–3012; (i) A. M. Hafez, A. E. Taggi, T. Dudding and T. Lectka, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 10853–10859.
- 8 For a rationalization of the solvent/additive effect in the irreversible deactivation *via* decarboxylation of proline in the presence of electron-deficient aromatic aldehydes, see: N. Zotova, A. Franzke, A. Armstrong and D. G. Blackmond, *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, **129**, 15100–15101.
- 9 For the utilization of homogeneous prolinamide organocatalysts, see: (a) W. Notz, F. Tanaka and C. F. Barbas III, *Acc. Chem. Res.*, 2004, **37**, 580–591; (b) J. Xu, X. Fu, C. Wu and X. Hu, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2011, **22**, 840–850, and references therein.
- 10 For a recent review on proline sulfonamide based organocatalysts, see: H. Yang and R. G. Carter, *Synlett*, 2010, 2837–2828.
- 11 For the use of homogeneous 11(*S*)-5-(pyrrolidin-2-yl)-1*H*-tetrazole in organocatalytic strategies, see: (a) D. A. Longbottom, V. Franckevičius, S. Kumarn, A. J. Oelke, V. Wascholowski and S. V. Ley, *Aldrichim. Acta*, 2008, **41**, 3–11; (b) S. Kumarn, A. J. Oelke, D. M. Shaw, D. A. Longbottom and S. V. Ley, *Org. Biomol. Chem.*, 2007, **5**, 2678–2689; (c) A. J. A. Cobb, D. M. Shaw, D. A. Longbottom, J. B. Gold and S. V. Ley, *Org. Biomol. Chem.*, 2005, **3**, 84–96; (d) V. Franckevičius, K. R. Knudsen, M. Ladow, D. A. Longbottom and S. V. Ley, *Synlett*, 2006, 889–892; (e) A. J. Oelke, S. Kumarn, D. A. Longbottom and S. V. Ley, *Synlett*, 2006, 2548–2552; (f) C. E. T. Mitchell, A. J. A. Cobb and S. V. Ley, *Synlett*, 2005, 611–614; (g) A. J. A. Cobb, D. M. Shaw and S. V. Ley, *Synlett*, 2004, 558–560; (h) A. Hartikka and P. I. Arvidsson, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, **15**, 1831–1834; (i) A. Hartikka and P. I. Arvidsson, *Eur. J. Org. Chem.*, 2005, 4287–4295; (j) H. Torii, M. Nakadai, K. Ishihara, S. Saito and H. Yamamoto, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2004, **43**, 1983–1986; (k) N. Momiyama, H. Torii, S. Saito and H. Yamamoto, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2004, **101**, 5374–5378; (l) N. S. Chowdari, M. Ahmad, K. Albertshofer, F. Tanaka and C. F. Barbas III, *Org. Lett.*, 2006, **8**, 2839–2842. For the optimized synthesis of 11(*S*)-5-(pyrrolidin-2-yl)-1*H*-tetrazole and previous reports on this matter, see: (m) V. Aureggi, V. Franckevičius, M. O. Kitching, S. V. Ley, D. A. Longbottom, A. J. Oelke and G. Sedelmeier, *Org. Synth.*, 2008, **85**, 72–87; (n) J. M. McManus and R. M. Herbst, *J. Org. Chem.*, 1959, **24**, 1643–1649; (o) R. G. Almquist, W.-R. Chao and C. Jennings-White, *J. Med. Chem.*, 1985, **28**, 1067–1071. For an application to natural product synthesis, see: (p) D. E. Ward, V. Jheengut and G. E. Beye, *J. Org. Chem.*, 2006, **71**, 8989–8992.
- 12 (a) A. B. Lowe, *Polym. Chem.*, 2010, **1**, 17–36; (b) P. Jonkheijm, D. Weinrich, M. Köhn, H. Engelkamp, P. C. M. Christianen, J. Kuhlmann, J. C. Maan, D. Nüsse, H. Schroeder, R. Wacker, R. Breinbauer, C. M. Niemeyer and H. Waldmann, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2008, **47**, 4421–4424.
- 13 F. Fache and O. Piva, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, **14**, 139–143.
- 14 Thiol–silica **14** is commercially available from Sigma-Aldrich. Nevertheless, better results in continuous-flow experiments were detected by using immobilized proline mimetics **2–4** obtained from freshly prepared **14** (see Experimental section for details).
- 15 Screened solvents were toluene, acetonitrile, dichloromethane, DMSO, and diisopropyl ether. The effect of temperature and variation of reagent molar ratios were not considered at this stage of the study.
- 16 It has to be pointed out that reactions considered in this comparison have been optimized with a lower loading of homogeneous catalyst (typically, 5–15 mol% of unsupported tetrazole *vs.* 30 mol% of **4**). Moreover, modest enantioselectivities were also detected in Michael and  $\alpha$ -amination reactions under homogeneous tetrazole catalysis. Higher enantioselectivities were achieved by Ley and co-workers in Michael additions to nitro-olefins by using a homo-proline tetrazole catalyst (ref. 11f).
- 17 The effect on catalyst **4** activity of free hydroxyls capping with hydrophilic and hydrophobic moieties is currently under investigation in our laboratories.
- 18 A detailed study on the kinetics and thermodynamics of the continuous-flow model aldol reaction promoted by either catalyst **1** or **4** will be reported in due course along with a suitable in-line analysis method.
- 19 The equation for the experimental determination of the retention factor  $k'$  is:  $k' = (t_r - t_0)/t_0$ , where  $t_r$  is the retention time of the species under evaluation and  $t_0$  is the hold-up time of the column. The hold-up time  $t_0$  can be easily calculated by dividing the hold-up volume  $V_0$  by the flow rate. In microreactor technology literature, this is the so called residence time.
- 20 Typically, the steady-state regime is reached *ca.* 30 minutes after the first elution of the more retained aldehyde.
- 21 For a discussion on the beneficial effect of temperature on the catalytic activity of unsupported (*S*)-5-(pyrrolidin-2-yl)-1*H*-tetrazole, see ref. 5d.
- 22 (a) F. Gasparrini, D. Misiti and C. Villani, *J. Org. Chem.*, 1995, **60**, 4314–4315; (b) F. Gasparrini, G. Cancelliere, A. Ciogli, I. D'Acquarica, D. Misiti and C. Villani, *J. Chromatogr., A*, 2008, **1191**, 205–213.
- 23 V. A. Soloshonok, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2006, **45**, 766–769.

## Thiazolium-functionalized polystyrene monolithic microreactors for continuous-flow umpolung catalysis†

Cite this: *Green Chem.*, 2013, **15**, 2981

Olga Bortolini,<sup>a</sup> Alberto Cavazzini,<sup>a</sup> Paolo Dambruoso,<sup>\*b</sup> Pier Paolo Giovannini,<sup>a</sup> Lorenzo Caciolli,<sup>a</sup> Alessandro Massi,<sup>\*a</sup> Salvatore Pacifico<sup>a</sup> and Daniele Ragno<sup>a</sup>

Thiazolium salt pre-catalysts have been immobilized on silica and monolithic polystyrene and their activity was tested under batch conditions in three model umpolung reactions, namely the benzoin condensation of benzaldehyde, the acyloin-type condensation of biacetyl, and the Stetter reaction of biacetyl with *trans*-chalcone. A prerequisite of the study has been the utilization of environmentally benign water and ethanol solvents. After having established the higher performance of polystyrene monolithic thiazolium carbene catalysts, their effectiveness has been tested under the flow regime by fabricating the corresponding monolithic microreactors (pressure-resistant stainless-steel columns). Importantly, it has been demonstrated by a brief substrate scope study that the polymeric matrix and the continuous flow regime synergistically contribute to preserve the activity of the carbene catalysts over time, thus permitting the long-term operation (up to 7 days) of the prepared monolithic reactors for the production of valuable compounds *via* the umpolung strategy.

Received 2nd July 2013,  
Accepted 19th August 2013

DOI: 10.1039/c3gc41284a

www.rsc.org/greenchem

### Introduction

The generation of acyl anions by the polarity reversal of carbonyl compounds through N-heterocyclic carbene (NHC) catalysis is today a well-established methodology, which provides access to unconventional strategies for the successful synthesis of target molecules such as natural products and drugs.<sup>1</sup> The unique catalytic activity of NHCs has therefore spurred intensive research on the fixation of this valuable class of catalysts onto different types of solid<sup>2,3</sup> and soluble supports,<sup>4</sup> with the aim to not only simplify work-up procedures but also improve NHCs' stability towards air and moisture.<sup>5,6</sup> Surprisingly, although the advantages associated with continuous-flow techniques have been amply demonstrated in different chemistries,<sup>7</sup> process intensification with the assistance of flow strategies has been almost ignored in the field of polarity inversion.<sup>8</sup> On the other hand, heterogeneous catalysis in microstructured flow reactors appears to be a well suited synthetic platform for NHC-based processes,<sup>9</sup> offering advantages over conventional batch systems in terms of mechanical degradation of supports, stability of the sensitive carbene species

and thus, ultimately, in terms of process productivity. Recently, our group<sup>10</sup> and other groups<sup>11</sup> have demonstrated the high synthetic potential of organocatalytic packed-bed microreactors in the continuous-flow production of valuable (chiral) molecules. Ease of product purification, high (stereo) selectivity, reproducibility, and absence of metal contamination, which is a problematic issue especially in pharmaceutical applications, were the most striking features of the disclosed procedures.

As part of our ongoing studies in the fields of NHC-catalysis<sup>12</sup> and flow-chemistry,<sup>10</sup> we herein describe the synthesis of thiazolium salt pre-catalysts immobilized on silica and monolithic polystyrene, and their utilization in fundamental benzoin, acyloin-type, and Stetter reactions. Initial batch investigations were propaedeutic for selecting polystyrene over silica as the support; the macroporous polymeric matrix, in fact, imparted higher activity to fixed NHC catalysts when water and the ecofriendly alternative ethanol were used as the solvents.<sup>13</sup> The study culminated with the fabrication of the corresponding polystyrene monolithic microreactors,<sup>14</sup> and the subsequent analysis of productivity and long-term stability thereof. Monolithic columns of the type first described by Fréchet and Svec<sup>15</sup> were preferred to randomly packed reactors for their improved flow characteristics<sup>16</sup> and, specifically, for avoiding stagnation zones and hot-spot formation that we envisaged could be detrimental to carbene stability. Indeed, the results of this study clearly indicate that the polymeric support and the flow regime of the process contribute in a synergic way to preserve the activity of the monolithic carbene catalysts over

<sup>a</sup>Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche, Università di Ferrara, Via Fossato di Mortara 17, I-44121 Ferrara, Italy

<sup>b</sup>ISOF-CNR, Area della Ricerca di Bologna, Via P. Gobetti 101, I-40129 Bologna, Italy. E-mail: alessandro.massi@unife.it, paolo.dambruoso@isof.cnr.it

† Electronic supplementary information (ESI) available: Copies of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra for new compounds, FT-IR spectra of thiazolium salt-functionalized supports **S7a,b** and **M9a,b**. See DOI: 10.1039/c3gc41284a

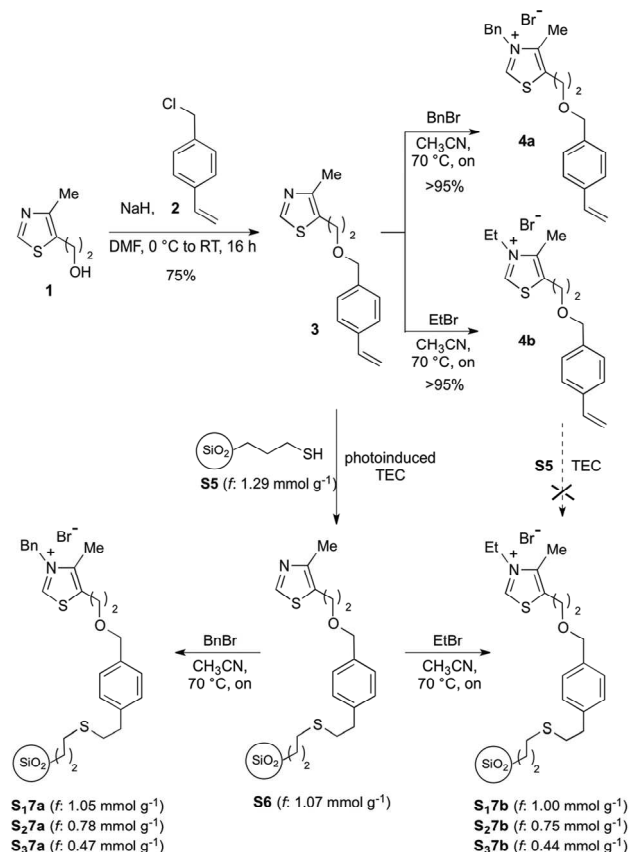
time (up to 7 days on stream), thus making them suitable tools for continuous-flow applications in the field of umpolung catalysis.

## Results and discussion

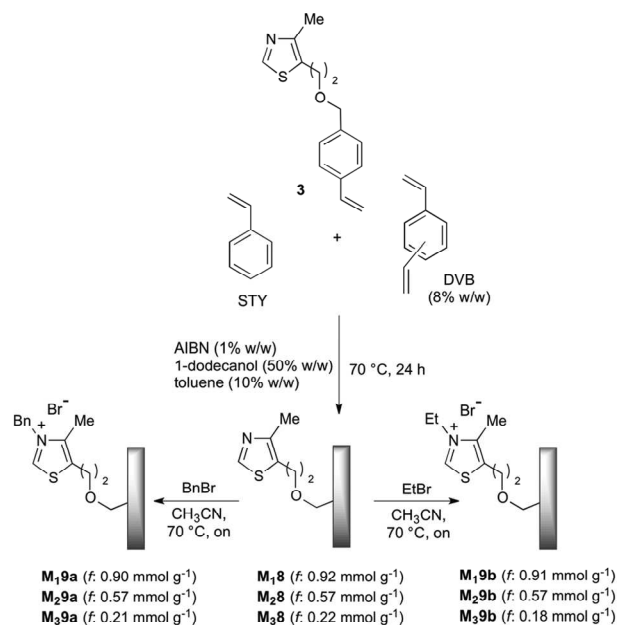
The synthesis of the styryl thiazole derivatives **4a** (R = Bn) and **4b** (R = Et) was initially considered for the preparation of the target silica-supported thiazolium salts **S7a,b** (Scheme 1) and the polystyrene monolithic counterparts **M9a,b** (Scheme 2).

As far as the catalyst structure is concerned, both types of heterogeneous species **S7** and **M9** were designed to display the active thiazolium moiety covalently linked to the matrix through quite a flexible spacer. Earlier studies, in fact, demonstrated the low catalytic activity of analogous, ionically bound derivatives prepared by *N*-alkylation of the thiazole ring with chloromethyl polystyrene;<sup>8,17</sup> a decreased activity was also observed for covalent polymeric thiazolium salts with shorter spacers.<sup>2i</sup>

Therefore, the intermediate **3** was readily obtained from the commercially available 5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazole **1**



Scheme 1 Synthesis of silica-immobilized thiazolium salts **S1-3a** and **S1-3b**.



Scheme 2 Synthesis of polystyrene monolithic thiazolium salts **M1-3a** and **M1-3b**.

and 4-vinylbenzyl chloride **2** (75% yield), and quantitatively converted into the thiazolium salts **4a** and **4b** by standard chemistry. In analogy with our previous works on silica-supported organocatalysts,<sup>10</sup> the synthesis of heterogeneous **S7a,b** was addressed using the photoinduced thiol-ene coupling (TEC) as the covalent immobilization strategy.<sup>18</sup> The main advantage of this approach is the utilization of mild reaction conditions (RT, *hν*),<sup>19</sup> which may prevent sensitive substrates from side-reactions occurring on the solid matrix and thus of difficult interpretation. Surprisingly, the photoinduced TEC ( $\lambda_{\max} = 365$  nm) of thiol-silica **S5**<sup>10b</sup> with either **4a** or **4b** in the presence of the sensitizer 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone (DMAP) resulted in no formation of target **S7a,b**, as confirmed by FT-IR and elemental analyses of the solid matrix. A similar, unsatisfactory outcome was also detected under standard thermal conditions (AIBN, 90 °C), thus confirming an inhibition effect of the thiazolium salt unit towards the free-radical coupling.<sup>20</sup> Fortunately, the photoinduced TEC of the styryl thiazole **3** with thiol-silica **S5** proceeded in a straightforward manner furnishing the thiazole silica **S6** with a satisfactory level of functionalization (*f*: 1.07 mmol g<sup>-1</sup>; Scheme 1).

Since the catalyst loading (*i.e.* the degree of thiazole *N*-alkylation) has been reported to strongly influence the catalytic activity of supported NHCs because of unfavorable carbene dimer formation,<sup>2j,21</sup> quaternization of **S6** (acetonitrile, 70 °C) was modulated by varying the equivalents of the alkylating agents BnBr and EtBr. By this procedure, two triads of functionalized silica **S1-3a** and **S1-3b** were obtained with a different loading of thiazolium units (*f*: 0.44–1.05 mmol g<sup>-1</sup>) as determined by elemental analysis (Scheme 1).

The synthesis of the polystyrene monolithic counterparts of **S7** was next addressed by an extensive polymerization study



(Scheme 2). Notably, as the ultimate goal of this work was the execution of continuous-flow processes, monolithic materials were molded into both glass and stainless-steel columns (10 cm length, 4.6 mm internal diameter) in parallel experiments. This approach allowed one to estimate the influence of the polymerization parameters on the flow-through behavior of the monolithic reactors ("wall effect" and very high back-pressure had to be avoided) and, at the same time, to evaluate the mechanical and morphological properties of the prepared materials. Technically, the new polymers obtained within the glass tube were first triturated for loading determination and then tested in the form of powder in batch experiments.

As expected, the free-radical polymerization (AIBN, 70 °C, 24 h) of the styryl thiazolium salts **4a** or **4b**, styrene (STY), and divinylbenzene (DVB), in the presence of toluene–1-dodecanol as the porogenic mixture, did not produce any polymeric product. Hence, after some experimentation with a suitable thiazole monomer **3**, the composition of the polymerization mixture was optimized as follows: 1-dodecanol (50% w/w), toluene (10% w/w), styrene (23% w/w), DVB (8% w/w), **3** (8% w/w), and AIBN (1% w/w). Under these conditions, the polymerization was quantitative allowing a complete incorporation of monomers into the polymeric monolith.<sup>22</sup> Elemental analysis of the resulting monolith **M<sub>1</sub>8** indicated a satisfactory loading of thiazole units (*f*: 0.92 mmol g<sup>-1</sup>). Nonetheless, following the previous reasoning on carbene activity on supports, monoliths **M<sub>2</sub>8** and **M<sub>3</sub>8** were also prepared with a lower degree of functionalization (*f*: 0.57 and 0.22 mmol g<sup>-1</sup>, respectively) by diminishing the amount of **3** while keeping constant the sum of STY and **3** in the polymerization mixture. Afterwards, each triturated **M8** resin was quantitatively alkylated to afford the two sets of polymeric thiazolium salts **M<sub>1-3</sub>9a** and **M<sub>1-3</sub>9b** (Scheme 2; see below for the *N*-alkylation step under flow conditions).

At this stage of the study, preliminary batch experiments were performed with **S7** and **M9** for establishing the influence of the support, the level of functionalization, and also of the *N*-substituent on the activity and recyclability of the prepared heterogeneous thiazolium salt pre-catalysts. Accordingly, the classical benzoin condensation, and our recently developed acyloin-type homocoupling of biacetyl **12a**<sup>12c</sup> and Stetter reaction of **12a** with chalcone<sup>12b</sup> were selected as the benchmarks (Table 1).

As anticipated, a prerequisite of the present study was the utilization of water or ethanol solvent for the subsequent development of green applications of the newly prepared materials. Thus, under these solvent conditions, it was found that polystyrene monoliths **M9** outperformed the silica analogues **S7** in all the model reactions investigated (entries 1–3 vs. entries 4–6; only selected experiments are reported in Table 1).<sup>23</sup> In general, this result might be explained by the occurrence of favorable hydrophobic interactions between the catalytic sites and the polymeric support in polar media.<sup>24</sup> To this end, it is important to remember that the umpolung of  $\alpha$ -diketone **12a** strictly requires the use of amphiprotic solvents;<sup>12b,c</sup> therefore, this mechanistic constraint prevented us from evaluating a

**Table 1** Evaluation of catalysts **S7** and **M9** performance under batch conditions<sup>a</sup>

Entry	Reaction	Catalyst	Product	Yield <sup>b</sup> [%]
1	<i>a</i>	<b>S<sub>2</sub>7a</b>	<b>11a</b>	15 (–) <sup>c</sup>
2	<i>b</i>	<b>S<sub>2</sub>7a</b>	<b>13a</b>	42 <sup>e</sup> (–) <sup>c,e</sup>
3	<i>c<sup>d</sup></i>	<b>S<sub>2</sub>7a</b>	<b>16a</b>	38 (–) <sup>c</sup>
4	<i>a</i>	<b>M<sub>2</sub>9a</b>	<b>11a</b>	>95 (–) <sup>c</sup>
5	<i>b</i>	<b>M<sub>2</sub>9a</b>	<b>13a</b>	>95 <sup>e</sup> (5) <sup>c,e</sup>
6	<i>c<sup>d</sup></i>	<b>M<sub>2</sub>9a</b>	<b>16a</b>	>95 (–) <sup>c</sup>
7	<i>a</i>	<b>M<sub>1</sub>9a</b>	<b>11a</b>	85 (–) <sup>c</sup>
8	<i>a</i>	<b>M<sub>3</sub>9a</b>	<b>11a</b>	61 (–) <sup>c</sup>
9	<i>a</i>	<b>M<sub>2</sub>9b</b>	<b>11a</b>	84 (12) <sup>c</sup>
10	<i>b</i>	<b>M<sub>2</sub>9b</b>	<b>13a</b>	88 <sup>e</sup> (44) <sup>c,e</sup>
11	<i>c<sup>d</sup></i>	<b>M<sub>2</sub>9b</b>	<b>16a</b>	81 (15) <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Reaction performed with 0.125 mmol of acyl anion donor and an equimolar acceptor (reaction time: 24 h). <sup>b</sup> Isolated yield. <sup>c</sup> Isolated yield at the 2nd cycle. <sup>d</sup> Reaction performed with 0.125 mmol of **15a** and 3 equiv. of **12a**. <sup>e</sup> Yield determined by <sup>1</sup>H NMR analysis of the crude reaction mixture using bromoform as an internal standard.

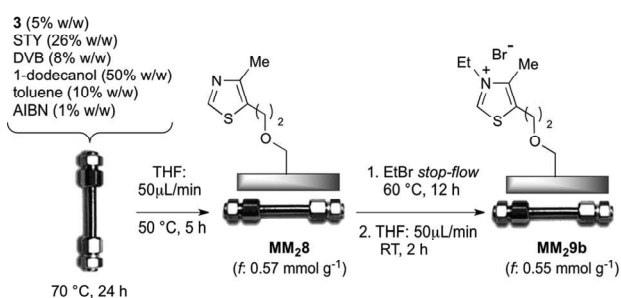
plausible positive effect of the polar silica support on the activity of thiazolium salts **S7** in acyloin-type and Stetter reactions performed in apolar solvents.<sup>25</sup> Additionally, the utilization of biacetyl **12a** was precluded in aqueous basic medium because of the preferential formation of the lactone **14** through an aldol/cyclization sequence (see the Experimental section). Biacetyl, however, works nicely in EtOH–Et<sub>3</sub>N and it may be preferred to acetaldehyde as an acetyl anion equivalent in virtue of its higher boiling point (88 vs. 21 °C) and, consequently, of its safer handling in thermal flow processes. Overall, the results of the batch study indicated monolith **M<sub>2</sub>9a** as the most active catalyst among the materials tested. Indeed, this polymer furnished complete conversions (>95%) within 24 hours in the benzoin condensation (phosphate buffer pH = 8, RT), acetyl acetoin **13a** formation (Et<sub>3</sub>N, EtOH, RT), and in the synthesis of  $\gamma$ -diketone **16a** (Et<sub>3</sub>N, EtOH, 50 °C; entries 4–6). Remarkably, monolith **M<sub>2</sub>9a** displayed the same activity as its homogeneous counterpart, that is, the 3-benzyl-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium chloride, in all the model reactions investigated in terms of both the reaction rate and productivity. A direct comparison was, in fact, possible thanks to our previous studies on acyloin-type and Stetter

reactions,<sup>12b,c</sup> and through a dedicated experiment with the above unsupported thiazolium salt utilized catalytically (20 mol%) in the aqueous benzoin condensation of **10a** (isolated yield of **11a**: 95% in 24 hours reaction time).

Monoliths **M<sub>1</sub>9a** and **M<sub>3</sub>9a** with higher and lower levels, respectively, of thiazolium functionalization were less active than **M<sub>2</sub>9a** (entries 7–8), thus confirming the requirement of a suitable balance between the catalyst loading and catalyst site isolation for good activity of polystyrene-supported NHC species.<sup>2j</sup> Additionally, it was observed that the presence of the ethyl instead of the benzyl *N*-thiazolium group caused a slight decrease (*ca.* 10%) in the catalytic activity of monoliths **M<sub>2</sub>9**. Nevertheless, **M<sub>2</sub>9b** was the sole monolith that, after the first recycling, only very partially retained its catalytic activity in all the reactions examined (entries 9–11).<sup>26</sup> Taken as a whole, the recycling experiments showed the complete deactivation of catalysts **M<sub>9</sub>a** within 24 hours<sup>27</sup> and, at the same time, indicated the improved stability of monoliths **M<sub>9</sub>b** when reacted at room temperature with the EtOH–Et<sub>3</sub>N system. The highest turnover number value (TON = 6.4) was in fact observed for the catalyst **M<sub>2</sub>9b** in the model acyloin-type condensation.

With this information in hand, we next tested the performance of the monolith **M<sub>2</sub>9b** as a column microreactor with the hope that the continuous removal of trace impurities and exclusion of air could improve catalyst stability for longer-term utilization of flow reactors. Accordingly, a micro-HPLC was suitably adapted for this study with minimized extra-column volumes. For the preparation of the monolithic microreactor (hereafter designated as **MM**), the optimized polymerization mixture containing monomer **3** was transferred into the stainless-steel column, which was subsequently sealed at both ends and heated at 70 °C for 24 h in a standard convection oven (Scheme 3). After cooling, the resulting monolithic microreactor **MM<sub>2</sub>8** was connected to the HPLC instrument and then washed with THF (50 μL min<sup>-1</sup>; HPLC oven: 50 °C; 5 h) to remove the porogen and residual non-polymeric material.

The thiazolium-functionalized monolithic microreactor **MM<sub>2</sub>9b** was then prepared by the *stop-flow* reaction technique. Hence, an input stream of pure EtBr was pumped inside the microreactor to completely fill the monolith; subsequently, the column was tightly sealed and warmed at 60 °C for 12 h. Finally, the column was washed with THF (50 μL min<sup>-1</sup>; RT; 2 h) to eliminate the excess alkylating agent. The hold-up



Scheme 3 Fabrication of monolithic microreactor **MM<sub>2</sub>9b**.

Table 2 Main features of microreactors **MM<sub>2</sub>8** and **MM<sub>2</sub>9b**<sup>a</sup>

Reactor	Loading <sup>b</sup> [mmol g <sup>-1</sup> ]	V <sub>0</sub> <sup>c</sup> [mL]	Total porosity <sup>d</sup>	Time <sup>e</sup> [min]	Pressure <sup>f</sup> [bar]
<b>MM<sub>2</sub>8</b>	0.52	1.32	0.80	132	5
<b>MM<sub>2</sub>9b</b>	0.48 <sup>g</sup>	1.16	0.77	116	5

<sup>a</sup> Geometric volume (V<sub>G</sub>) of the stainless-steel column: 1.66 mL. <sup>b</sup> Determined by elemental analysis of reference monolithic columns and expressed as mmol of thiazole units per gram of functionalized resin. <sup>c</sup> Determined by pycnometry (see the Experimental section). <sup>d</sup> Total porosity  $\epsilon_{\text{tot}} = V_0/V_G$ . <sup>e</sup> Residence time calculated at 10 μL min<sup>-1</sup>. <sup>f</sup> Backpressure measured at 10 μL min<sup>-1</sup> (RT, THF). <sup>g</sup> Amount of active thiazolium salt.

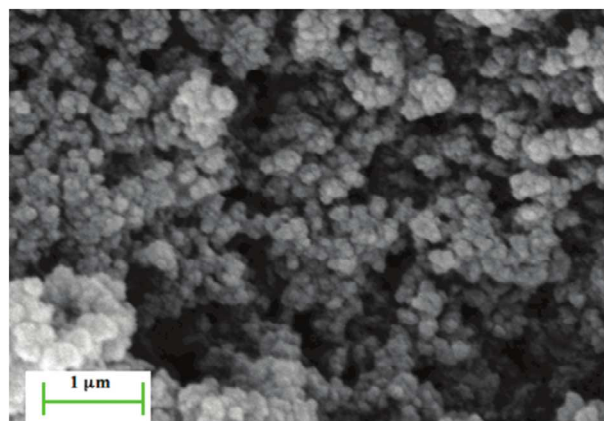


Fig. 1 SEM picture of the macroporous polymer **MM<sub>2</sub>9b**.

(dead) volume V<sub>0</sub> and the total porosity  $\epsilon_{\text{tot}}$  of **MM<sub>2</sub>8** and **MM<sub>2</sub>9b** were determined by pycnometry. The main features of these microreactors including the loaded amount of catalyst, residence time, and the observed backpressure are summarized in Table 2.

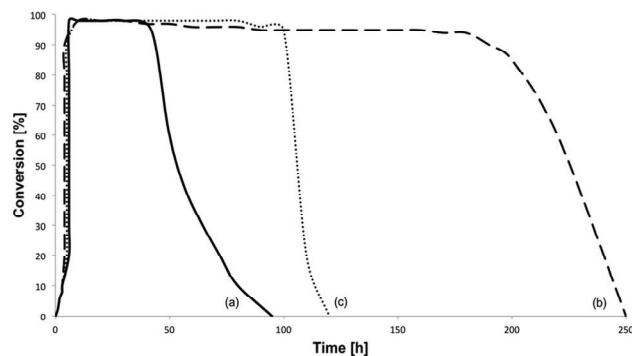
An SEM image of monolith **MM<sub>2</sub>9b** fracture surface shows the macroporous nature of this material (Fig. 1). Monolith **MM<sub>2</sub>9b** is mechanically stable and displays nearly no swelling in aqueous buffer and ethanol solvents.<sup>28</sup>

Continuous-flow experiments were performed by first considering the benzoin condensation of benzaldehyde **10a**. It turned out that the preparation of a fully homogeneous 0.10 M solution of **10a** in the reaction phosphate buffer (pH = 8) required the addition of DMSO (10% v/v). Then, the above reaction mixture was continuously degassed with argon using the purge system of the HPLC instrument and pumped at different flow rates through the microreactor **MM<sub>2</sub>9b** for establishing the influence of the residence time on conversion efficiency. Accordingly, portions of the outlet stream were taken at regular time intervals (60 min) and analyzed (NMR spectroscopy) to determine the **11a/10a** ratio. While good levels of conversion (>50%) were detected at 35 °C with flow rates up to 50 μL min<sup>-1</sup>, complete conversion of benzaldehyde into benzoin was obtained with a flow rate of 10 μL min<sup>-1</sup> (residence time: 116 min; Table 3, entry 1). Actually, driving

**Table 3** Optimization of continuous-flow model reactions in monolithic microreactor **MM<sub>2</sub>9b** and a short substrate scope study<sup>a</sup>

Entry	Donor ( <i>c</i> [M])	Acceptor ( <i>c</i> [M])	Solvent	Temp. <sup>b</sup> [°C]	Flow rate [μL min <sup>-1</sup> ]	Time <sup>c</sup> [min]	Product <sup>d</sup> (Conversion [%])	Productivity <sup>e</sup>
1	 <b>10a</b> (0.10)	<i>f</i>	Buffer (pH 8) <sup>g</sup>	35	10	116	 <b>11a</b> (>95)	207
2	 <b>12a</b> (0.10)	<i>f</i>	EtOH <sup>h</sup>	25	10	116	 <b>13a</b> (>95)	207
3	 <b>12a</b> (0.15)	 <b>15a</b> (0.05)	EtOH <sup>i</sup>	50	10	232	 <b>16a</b> (>95)	104
4	 <b>10b</b> (0.10)	<i>f</i>	Buffer (pH 8) <sup>g</sup>	35	15	77	 <b>11b</b> (>95)	310
5	 <b>10c</b> (0.10)	<i>f</i>	Buffer (pH 8) <sup>g</sup>	50	10	116	 <b>11c</b> (95)	207
6	 <b>12b</b> (0.10)	<i>f</i>	EtOH <sup>h</sup>	25	10	116	 <b>13b</b> (90)	186
7	 <b>12a</b> (0.05)	 <b>17</b> (0.15)	EtOH <sup>h</sup>	25	10	116	 <b>18</b> (52)	54
8	 <b>12a</b> (0.15)	 <b>15b</b> (0.05)	EtOH <sup>i</sup>	50	10	232	 <b>16b</b> (75)	78
9	 <b>12a</b> (0.15)	 <b>15c</b> (0.05)	EtOH <sup>i</sup>	50	5	232	 <b>16c</b> (69)	36

<sup>a</sup> See the Experimental section for a description of the experimental setup. <sup>b</sup> All temperatures were measured by a thermometer placed inside the thermostated unit containing the microreactor. <sup>c</sup> Calculated residence time. <sup>d</sup> Instant conversion in the steady-state regime as established by <sup>1</sup>H NMR or GC analysis. <sup>e</sup> Productivities are measured in mmol(product) h<sup>-1</sup> mmol(catalyst)<sup>-1</sup> × 10<sup>3</sup>. <sup>f</sup> Homo-coupling reaction. <sup>g</sup> Reaction performed with DMSO (10% v/v). <sup>h</sup> Reaction performed with [Et<sub>3</sub>N] = 0.10 M. <sup>i</sup> Reaction performed with [Et<sub>3</sub>N] = 0.15 M.



**Fig. 2** Conversion of the model reactions as a function of time in microreactor **MM<sub>2</sub>9b**. (a) Benzoin condensation of **1a** in phosphate buffer (pH = 8) at 35 °C (plain line). (b) Acyloin-type condensation of **12a** in EtOH–Et<sub>3</sub>N at room temperature (dashed line). (c) Stetter reaction of **12a** with **15a** in EtOH–Et<sub>3</sub>N at 50 °C (dotted line).

the reaction to completion is an important goal in continuous process optimization for the easier purification of target molecules; indeed, under the above operative conditions, isolation of pure **11a** was simply achieved by extraction of the collected eluate with organic solvent. The long-term stability of monolithic microreactor **MM<sub>2</sub>9b** was next examined to determine the effect of the flow regime on catalyst deactivation rate. The analysis of the conversion *versus* process time plot (model benzoin reaction, Fig. 2a) shows that the steady-state conversion<sup>29</sup> is reached after *ca.* 6 h at 35 °C and it is maintained at elevated values ( $\geq 95\%$ ) for 36 h. A progressive loss of catalytic activity is observed after that time with monolith **MM<sub>2</sub>9b** fully deactivated after *ca.* 95 h on stream. The turnover number after 36 h for the process presented in Fig. 2a is 7.4, a value close to that found in the corresponding batch process ( $\text{TON}_{\text{batch}} = 4.8$ ). Taken together, these results indicate the poor stability of catalysts of type **M9b** in aqueous basic medium as well as the modest effect of the continuous set-up on the productivity of benzoin condensation.<sup>30</sup>

The transition of acyloin-type and Stetter reactions from batch to flow conditions was next addressed following the thread of a previous study on benzoin reaction.<sup>29</sup> Accordingly, a solution of biacetyl **12a** and Et<sub>3</sub>N in absolute EtOH ( $[\mathbf{12a}] = 0.10 \text{ M}$ ;  $[\text{Et}_3\text{N}] = 0.10 \text{ M}$ ) was continuously degassed and injected into the microreactor **MM<sub>2</sub>9b** with a flow rate of  $10 \mu\text{L min}^{-1}$  to give acetyl acetoin **13a** with almost complete conversion, as detected by GC analysis (entry 2). Isolation of the valuable  $\alpha$ -hydroxyketone **13a** was achieved by fractional distillation of the collected eluate, which permitted the removal of the EtOH solvent and triethyl ammonium salt by-product.<sup>31</sup> Remarkably, the efficiency of the continuous-flow process was maintained unaltered for *ca.* 180 h (Fig. 2b). This result corresponds to a turnover number of 37.5 and demonstrates that the productivity of the model acyloin condensation can be maximized under flow conditions with a 5-fold increase relative to the batch process ( $\text{TON}_{\text{batch}} = 6.4$ ). A beneficial, but less marked effect of the flow regime on process productivity was also detected for the Stetter reaction of

biacetyl **12a** with chalcone **15a** (entry 3). This process was optimized at 50 °C with a flow rate of  $10 \mu\text{L min}^{-1}$  and using excess of biacetyl in analogy to the batch study (feed composition:  $[\mathbf{12a}] = 0.15 \text{ M}$ ;  $[\text{Et}_3\text{N}] = 0.15 \text{ M}$ ;  $[\mathbf{15a}] = 0.05 \text{ M}$ ).<sup>29</sup> High conversions into the  $\gamma$ -diketone **16a** ( $\geq 90\%$ ) were maintained for 90 h ( $\text{TON}_{\text{flow}} = 9.3$ ;  $\text{TON}_{\text{batch}} = 4.8$ ); after that period, however, catalytic **MM<sub>2</sub>9b** quickly degraded (Fig. 2c), this being further evidence of the detrimental effect of temperature on the stability of the prepared monolithic carbene catalysts.

Finally, the scope and the applicability of the disclosed flow processes were briefly investigated. Gratifyingly, the benzoin condensation of both furfural **10b** and 4-fluorobenzaldehyde **10c** proceeded with high conversion efficiencies ( $\geq 95\%$ ) by suitably adjusting the flow rate of the optimized feed solutions as reported in Table 3 (entries 4 and 5). The homocoupling of 3,4-hexanedione **12b** and the cross-coupling of **12a** with ethyl pyruvate **17** also proved to be compatible with the continuous-flow set-up, thus offering further operational simplicity and practicability to the synthesis of the challenging tertiary alcohols **13b** and **18** (entries 6 and 7). Satisfactory conversion efficiencies were lastly detected in the Stetter reactions of biacetyl with chalcone **15b** and **15c** having, respectively, an electron-withdrawing and an electron-donating substituent on the aromatic ring (entries 8 and 9). Notably, the high selectivity of the disclosed continuous-flow processes was confirmed by the unique formation of the target products and, in the case of incomplete conversions, by the recovery of unmodified starting materials.

## Conclusions

In summary, we have prepared unprecedented thiazolium-functionalized monolithic microreactors and demonstrated their synthetic potential in continuous-flow umpolung transformations such as benzoin, acyloin-type, and Stetter reactions. The utilization of environmentally benign reaction media (aqueous buffer or ethanol), the ease of product/catalyst separation, and the continuous-flow operation synergistically contributed to the development of effective and green umpolung processes. In this endeavor, the observed increase of carbene stability moving from batch to flow conditions was an additional and fundamental benefit, which permitted productivity enhancements up to fivefold as in the case of the acyloin-type reaction. While small-scale monolithic reactors have been presented in this work, an easy scale-up of the disclosed flow procedures may be envisaged by the use of multiple columns (numbering up) and the design of monoliths with larger diameters. On the other hand, monolithic microreactors can be fabricated a low cost without the need for specialist equipment, as demonstrated in this study. Therefore, we believe that the methodology herein described may represent an attractive strategy for the development of efficient continuous-flow processes based on thiazolium carbene catalysis.

## Experimental section

Liquid aldehydes were freshly distilled before their utilization. All moisture-sensitive reactions were performed under a nitrogen atmosphere using oven-dried glassware. Solvents were dried over a standard drying agent and freshly distilled prior to use. Flash column chromatography was performed on silica gel 60 (230–400 mesh). Reactions were monitored by TLC on silica gel 60  $F_{254}$  with detection by charring with sulfuric acid and/or ninhydrin. Flash column chromatography was performed on silica gel 60 (230–400 mesh).  $^1\text{H}$  (300 MHz) and  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) NMR spectra were recorded for  $\text{CDCl}_3$  solutions at room temperature unless otherwise specified. Peak assignments were aided by  $^1\text{H}$ – $^1\text{H}$  COSY and gradient-HMQC experiments. ESI MS (LTQ-XL Linear Trap from Thermo Scientific) analyses were performed in positive ion mode with samples dissolved in a 10 mM solution of  $\text{HCO}_2\text{NH}_4$  in 1 : 1 MeCN– $\text{H}_2\text{O}$ . FT-IR analyses were performed using the Bruker Instruments Vertex 70. Elemental analyses were performed using a FLASH 2000 Series CHNS/O analyzer (ThermoFisher Scientific). SEM analyses were performed using a Zeiss Gemini 1530 scanning electron microscope. Vertical agitation was performed using the FirstMate™ synthesizer from Argonaut Technology. The household UVA lamp apparatus was equipped with four 15 W tubes (1.5 × 27 cm each). Photoinduced reactions were carried out in a glass vial (diameter: 1 cm; wall thickness: 0.65 mm), sealed with a natural rubber septum, located 2.5 cm away from the UVA lamp (irradiation on sample: 365 nm, 1.04 W m<sup>-2</sup>). The system used for continuous-flow reactions was composed of an HPLC pump (Agilent 1100 micro series), an in-line pressure transducer, a thermostated microreactor holder (Peltier unit), a system to collect fractions, and a data acquisition system (Agilent ChemStation). The units were connected by peek tubing (internal diameter 0.01 inch from Upchurch Scientific). The system hold-up volume was smaller than 80 μL. The temperature was controlled by inserting a thermometer inside the Peltier unit (temperature measurement error: ±0.5 °C). Silica gel (grade 9385, pore size 60 Å, particle size ~50 μm, superficial area 500 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) and 5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazole **1** were purchased from Sigma-Aldrich. The level of functionalization  $f$  of solid supports is expressed as mmol of ligand per gram of bare support;  $f$  is utilized to evaluate the conversion of solid-phase reactions by elemental analysis and it is determined using nitrogen as the reference atom [ $N(\%) = (f \times 14 \times 100 / 1 + f \times (\text{MW}_{\text{ligand}})) \times 10^3$ ]. The loading value is expressed as mmol of ligand per gram of functionalized support. To preserve support particles from mechanical degradation, the derivatization steps on solid-phase were carried out using the FirstMate™ synthesizer. Continuous-flow benzoin, acyloin-type, and Stetter reactions were performed with continuous degassing of the input stream with Ar using the purge system of the HPLC instrument. Spectroscopic data of compounds **11a-c**,<sup>32</sup> **13a,b**,<sup>12c</sup> **18**,<sup>12c</sup> and **16a-c**<sup>12b</sup> were identical to those reported in the literature.

### 4-Methyl-5-(2-((4-vinylbenzyl)oxy)ethyl)thiazole (**3**)

To a cooled (0 °C), stirred mixture of NaH (134 mg, 3.36 mmol of a 60% dispersion in oil), 4-vinylbenzyl chloride (592 μL, 4.20 mmol), and anhydrous DMF (4 mL), a solution of 2-(4-methylthiazol-5-yl)ethanol (335 μL, 2.80 mmol) in anhydrous DMF (1 mL) was added dropwise. The resulting mixture was then warmed to room temperature, stirred overnight, diluted with AcOEt (45 mL), and washed with saturated aqueous  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2 × 10 mL), brine (2 × 10 mL), and  $\text{H}_2\text{O}$  (2 × 5 mL). Then, the organic phase was dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), concentrated, and eluted from a column of silica gel with 3.5 : 1 cyclohexane–AcOEt to give **3** (545 mg, 75%) as a pale yellow oil.  $^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8.30 (s, 1 H, H-2), 7.42–7.38 (m, 2 H, Ar), 7.35–7.24 (m, 2 H, Ar), 6.70 (dd, 1 H,  $J = 10.9$  Hz,  $J = 17.6$  Hz, H-1''), 5.74 (dd, 1 H,  $J = 0.9$  Hz,  $J = 17.6$  Hz, H-2''a), 5.23 (dd, 1 H,  $J = 0.9$  Hz,  $J = 10.9$  Hz, H-2''b), 4.51 (s, 2 H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.64 (t, 2 H,  $J = 6.5$  Hz, 2 H-2'), 3.04 (t, 2 H,  $J = 6.5$  Hz, 2 H-1'), 2.39 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  149.8, 149.2, 137.6, 137.0, 136.4, 128.0, 127.8 (2 C), 126.3 (2 C), 113.9, 72.8, 70.0, 27.0, 14.9. ESI-MS (259.4): 260.9 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ). HRMS (ESI/Q-TOF): calcd  $m/z$  for  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NOS}$  [ $\text{M} + \text{H}$ ]<sup>+</sup>: 260.1109; found: 260.1135. Found: C, 69.46; H, 6.61; N, 5.40; S, 12.36.  $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NOS}$  requires C, 69.61; H, 6.85; N, 5.32; S, 12.53%.

### 3-Benzyl-4-methyl-5-(2-((4-vinylbenzyl)oxy)ethyl)thiazol-3-ium bromide (**4a**)

A screw-capped vial, containing a magnetic bar, was charged with a solution of **3** (100 mg, 0.39 mmol) in acetonitrile (0.5 mL); then, benzyl bromide (70 μL, 0.59 mmol) was added into one portion. The mixture was warmed to 70 °C, stirred at that temperature for 16 h, and then cooled to room temperature and concentrated. The excess benzyl bromide was removed by repeatedly adding pentane to the residue and pipetting away the upper portions of the liquid to give **4a** (167 mg, >95%), at least 95% pure as determined by  $^1\text{H}$  NMR analysis.  $^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  11.27 (s, 1 H, H-2), 7.32–7.14 (m, 9 H, Ar), 6.61 (dd, 1 H,  $J = 10.9$  Hz,  $J = 17.6$  Hz, H-1''), 6.01 (s, 2 H,  $\text{NCH}_2\text{Ph}$ ), 5.69 (dd, 1 H,  $J = 0.9$  Hz,  $J = 17.6$  Hz, H-2''a), 5.20 (dd, 1 H,  $J = 0.9$  Hz,  $J = 10.9$  Hz, H-2''b), 4.43 (s, 2 H,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.61 (t, 2 H,  $J = 6.5$  Hz, 2 H-2'), 3.00 (t, 2 H,  $J = 6.5$  Hz, 2 H-1'), 2.34 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  157.7, 142.0, 137.4, 136.5, 136.3, 135.5, 131.9, 129.4 (2 C), 129.3 (2 C), 128.3 (2 C), 128.2 (2 C), 126.4, 114.3, 73.1, 67.7, 56.9, 27.8, 12.6. ESI-MS (430.4): 430.9 ( $\text{M}^+$ ).

### 3-Ethyl-4-methyl-5-(2-((4-vinylbenzyl)oxy)ethyl)thiazol-3-ium bromide (**4b**)

A screw-capped vial, containing a magnetic bar, was charged with a solution of **3** (100 mg, 0.39 mmol) in acetonitrile (0.5 mL); then, ethyl bromide (146 μL, 1.95 mmol) was added into one portion. The mixture was warmed to 70 °C, stirred at that temperature for 16 h, and then cooled to room temperature and concentrated. The resulting residue was co-evaporated three times with toluene to give **4b** (141 mg, >95%), at least 95% pure as determined by  $^1\text{H}$  NMR analysis.  $^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  11.3

(s, 1 H, H-2), 7.42–7.38 (m, 2 H, Ar), 7.25–7.20 (m, 2 H, Ar), 6.70 (dd, 1 H,  $J = 10.9$  Hz,  $J = 17.6$ , Hz, H-1'), 5.74 (dd, 1 H,  $J = 0.9$  Hz,  $J = 17.6$  Hz, H-2'a), 5.23 (dd, 1 H,  $J = 0.9$  Hz,  $J = 10.9$  Hz, H-2'a), 4.76 (q, 2 H,  $J = 8.0$  Hz, NCH<sub>2</sub>), 4.51 (s, 2 H, CH<sub>2</sub>Ph), 3.64 (t, 2 H,  $J = 6.5$  Hz, 2 H-2'), 3.04 (t, 2 H,  $J = 6.5$  Hz, 2 H-1'), 2.39 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>), 1.60 (t, 3 H,  $J = 8.0$  Hz, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR:  $\delta$  157.3, 141.1, 137.3, 136.5, 136.2, 135.5, 127.9 (2 C), 126.3 (2 C), 114.2, 73.1, 67.8, 49.2, 27.8, 15.6, 12.1. ESI-MS (368.3): 368.8 (M<sup>+</sup>).

### Preparation of 3-mercaptopropyl silica gel (S5)

To preserve silica particles from mechanical degradation, this derivatization step was carried out in a standard rotary evaporator in which a two-necked flask was fitted with a solvent condenser, a solvent collector, and a nitrogen inlet for syringe addition of reactant solutions under an inert atmosphere. Mixing was obtained by spinning the flask around its axis and warming by means of a standard oil-bath. Silica gel (grade 9385, pore size 60 Å, particle size ~50  $\mu$ m, superficial area 500 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) was dried before its use (0.1 mbar,  $T = 110$  °C, 2 h). To a stirred slurry of silica gel (5.00 g), anhydrous toluene (60 mL), and freshly distilled triethylamine (0.25 mL) was slowly added a solution of (3-mercaptopropyl)-trimethoxysilane (2.5 mL) in anhydrous toluene (10 mL). The resulting mixture was then warmed to 60 °C and stirred for 20 h. Subsequently, the mixture was refluxed until ca. 15 mL of solvent were collected (eventually with the aid of a nitrogen stream). The mixture was then refluxed for an additional 1 h, cooled to room temperature, and centrifuged with 20 mL portions of toluene, MeOH, EtOH, and cyclohexane. The resulting thiol-functionalized silica gel S5<sup>10b</sup> was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 60 °C, 6 h). FT-IR (KBr):  $\nu$  2577(SH) cm<sup>-1</sup>. Elemental analysis (%) found: S 3.36 ( $f = 1.29$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 1.05 mmol g<sup>-1</sup>).

### Synthesis of silica-supported thiazole S6 via photoinduced TEC

A vertically-agitated mixture of thiol-silica S5 (1.00 g, 1.05 mmol; loading = 1.05 mmol g<sup>-1</sup>), thiazole derivative 3 (816 mg, 3.15 mmol), 2,2-dimethoxy-2-phenyl-acetophenone (DMAP, 267 mg, 1.05 mmol), and MeOH (6 mL) was irradiated at room temperature for 5 h, and then centrifuged with 5 mL portions of MeOH (4 $\times$ ). The resulting silica-supported thiazole S6 was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 40 °C, 6 h). Elemental analysis (%) found: N 1.02 ( $f = 1.07$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.73 mmol g<sup>-1</sup>). The excess intermediate 3 can be easily recycled by column chromatography of the centrifugate.

### Synthesis of silica-supported *N*-benzyl thiazolium salts (S<sub>1-3</sub>7a)

A mixture of thiazole-silica S6 (500 mg, 0.37 mmol; loading = 0.73 mmol g<sup>-1</sup>), benzyl bromide (131  $\mu$ L, 1.11 mmol), and acetonitrile (4 mL) was vertically-agitated at 70 °C for 12 h, and then cooled to room temperature and centrifuged with 5 mL portions of acetonitrile (4 $\times$ ). The resulting silica-supported *N*-benzyl thiazolium salt S<sub>1</sub>7a was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 40 °C, 6 h). Elemental analysis (%) found:

N 0.89 ( $f = 1.05$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.64 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  2947, 1496, 1455 cm<sup>-1</sup>.

Silica S<sub>2</sub>7a was obtained by the same procedure using 2.0 equiv. of benzyl bromide. Elemental analysis (%) found: N 0.73 ( $f = 0.78$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.52 mmol g<sup>-1</sup>).

Silica S<sub>3</sub>7a was obtained by the same procedure using 1.0 equiv. of benzyl bromide. Elemental analysis (%) found: N 0.51 ( $f = 0.47$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.36 mmol g<sup>-1</sup>).

### Synthesis of silica-supported *N*-ethyl thiazolium salts (S<sub>1-3</sub>7b)

A mixture of thiazole-silica S6 (500 mg, 0.37 mmol; loading = 0.73 mmol g<sup>-1</sup>), ethyl bromide (138  $\mu$ L, 1.85 mmol), and acetonitrile (4 mL) was vertically-agitated at 70 °C for 12 h, and then cooled to room temperature and centrifuged with 5 mL portions of acetonitrile (4 $\times$ ). The resulting silica-supported *N*-ethyl thiazolium salt S<sub>1</sub>7b was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 40 °C, 6 h). Elemental analysis (%) found: N 0.89 ( $f = 1.00$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.64 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  2860, 1607, 1514, 1416 cm<sup>-1</sup>.

Silica S<sub>2</sub>7b was obtained by the same procedure using 3.0 equiv. of ethyl bromide. Elemental analysis (%) found: N 0.74 ( $f = 0.75$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.53 mmol g<sup>-1</sup>).

Silica S<sub>3</sub>7b was obtained by the same procedure using 2.0 equiv. of ethyl bromide. Elemental analysis (%) found: N 0.49 ( $f = 0.44$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.35 mmol g<sup>-1</sup>).

### Synthesis of thiazole-functionalized monoliths (M<sub>1-3</sub>8)

A homogeneous mixture of thiazole derivative 3 (130 mg, 0.50 mmol), styrene (400  $\mu$ L, 3.46 mmol), divinylbenzene (technical grade, 80%; 140  $\mu$ L, 1.00 mmol), toluene (180  $\mu$ L, 1.74 mmol), 1-dodecanol (940  $\mu$ L, 4.18 mmol), and AIBN (6 mg, 0.04 mmol) was degassed under vacuum, and saturated with argon (by an Ar-filled balloon) three times. The mixture was then poured into a glass column (length: 10 cm, 0.46 cm internal diameter) sealed at both ends, and placed in a vertical position in a standard convection oven. The polymerization was allowed to proceed for 24 h at 70 °C, and then the column was cooled to room temperature, the glass was broken, and the resulting monolith M<sub>1</sub>8 was triturated to obtain a yellow powder. This powder was suspended in THF (5 mL) and centrifuged with 5 mL portions of THF (2 $\times$ ). The collected supernatants were analyzed (<sup>1</sup>H NMR analysis) to verify the complete incorporation of monomer 3 into the polymer. The triturated M<sub>1</sub>8 resin was utilized for elemental and FT-IR analyses and subsequent derivatization steps. Elemental analysis (%) found: N 1.12 ( $f = 0.92$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.80 mmol g<sup>-1</sup>).

Monolith M<sub>2</sub>8 was obtained by the same procedure but varying the amounts of styrene (508  $\mu$ L, 4.42 mmol) and 3 (80 mg, 0.31 mmol). Elemental analysis (%) found: N 0.73 ( $f = 0.57$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.52 mmol g<sup>-1</sup>).

Monolith M<sub>3</sub>8 was obtained by the same procedure but varying the amounts of styrene (419  $\mu$ L, 3.65 mmol) and 3 (30 mg, 0.12 mmol). Elemental analysis (%) found: N 0.30 ( $f = 0.22$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.21 mmol g<sup>-1</sup>).

### Synthesis of *N*-benzyl thiazolium salt-functionalized monoliths (**M**<sub>1–3</sub>**9a**)

A mixture of triturated **M**<sub>1</sub>**8** (100 mg, 0.40 mmol; loading = 0.80 mmol g<sup>-1</sup>), benzyl bromide (143 μL, 1.20 mmol), and acetonitrile (2 mL) was vertically-agitated at 70 °C for 12 h, and then cooled to room temperature and filtered. The resulting *N*-benzyl thiazolium salt-functionalized monolith **M**<sub>1</sub>**9a** was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 40 °C, 6 h). Elemental analysis (%) found: N 0.97 ( $f = 0.90$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.69 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  3025, 2922, 1601, 1510, 1493, 1452 cm<sup>-1</sup>.

Monolith **M**<sub>2</sub>**9a** was obtained by the same procedure starting from **M**<sub>2</sub>**8**. Elemental analysis (%) found: N 0.67 ( $f = 0.57$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.48 mmol g<sup>-1</sup>).

Monolith **M**<sub>3</sub>**9a** was obtained by the same procedure starting from **M**<sub>3</sub>**8**. Elemental analysis (%) found: N 0.28 ( $f = 0.21$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.20 mmol g<sup>-1</sup>).

### Synthesis of *N*-ethyl thiazolium salt-functionalized monoliths (**M**<sub>1–3</sub>**9b**)

A mixture of triturated **M**<sub>1</sub>**8** (100 mg, 0.40 mmol; loading = 0.80 mmol g<sup>-1</sup>), ethyl bromide (149 μL, 2.00 mmol), and acetonitrile (2 mL) was vertically-agitated at 70 °C for 12 h, and then cooled to room temperature and filtered. The resulting *N*-ethyl thiazolium salt-functionalized monolith **M**<sub>1</sub>**9b** was finally dried at reduced pressure (0.1 mbar, 40 °C, 6 h). Elemental analysis (%) found: N 1.02 ( $f = 0.91$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.73 mmol g<sup>-1</sup>). FT-IR (KBr):  $\nu$  3024, 2920, 1601, 1492, 1425 cm<sup>-1</sup>.

Monolith **M**<sub>2</sub>**9b** was obtained by the same procedure starting from **M**<sub>2</sub>**8**. Elemental analysis (%) found: N 0.70 ( $f = 0.57$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.50 mmol g<sup>-1</sup>).

Monolith **M**<sub>3</sub>**9b** was obtained by the same procedure starting from **M**<sub>3</sub>**8**. Elemental analysis (%) found: N 0.24 ( $f = 0.18$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.17 mmol g<sup>-1</sup>).

### Procedure for the model benzoin reaction under batch conditions (Table 1, entry 9)

A mixture of benzaldehyde **11a** (25 μL, 0.25 mmol), monolith **M**<sub>2</sub>**9b** (0.025 mmol, 50 mg; 20 mol%), and phosphate buffer pH = 8 (1 mL) was vertically-stirred for 24 h at 35 °C, and then filtered. The filtrate was analyzed by <sup>1</sup>H NMR to determine the reaction conversion. Subsequently, the residue was eluted from a column of silica gel with 4 : 1 cyclohexane–AcOEt to give benzoin **11a**<sup>32</sup> (23 mg, 84%). The recycled catalyst **M**<sub>2</sub>**9b** was subjected to the same reaction furnishing **11a** in 12% isolated yield. Catalyst **M**<sub>2</sub>**9b** was inactive at the third run. This result corresponds to a turnover number of 4.8 for **M**<sub>2</sub>**9b** in the model benzoin reaction.

### Procedure for the model acyloin-type reaction under batch conditions (Table 1, entry 10)

A mixture of biacetyl **12a** (22 μL, 0.25 mmol), monolith **M**<sub>2</sub>**9b** (0.025 mmol, 50 mg; 20 mol%), Et<sub>3</sub>N (34 μL, 0.25 mmol), and EtOH (1 mL) was vertically-stirred for 24 h at room

temperature, and then filtered. The filtrate was analyzed by <sup>1</sup>H NMR to evaluate the yield of acetyl acetoin **13a**<sup>12c</sup> (88%) using bromoform as the internal standard. The recycled catalyst **M**<sub>2</sub>**9b** was subjected to the same reaction furnishing **13a** in 44% isolated yield. Catalyst **M**<sub>2</sub>**9b** was inactive at the third run. This result corresponds to a turnover number of 6.4 for **M**<sub>2</sub>**9b** in the model acyloin-type reaction.

### Procedure for the model Stetter reaction under batch conditions (Table 1, entry 11)

A mixture of *trans*-chalcone **15a** (26 mg, 0.125 mmol), biacetyl **12a** (33 μL, 0.38 mmol), monolith **M**<sub>2</sub>**9b** (0.025 mmol, 50 mg; 20 mol%), Et<sub>3</sub>N (52 μL, 0.38 mmol), and EtOH (1 mL) was vertically-stirred for 24 h at 50 °C, and then cooled to room temperature and filtered. The filtrate was analyzed by <sup>1</sup>H NMR to determine the reaction conversion. Subsequently, the residue was eluted from a column of silica gel with 12 : 1 cyclohexane–AcOEt to give the  $\gamma$ -diketone **16a**<sup>12b</sup> (26 mg, 81%). The recycled catalyst **M**<sub>2</sub>**9b** was subjected to the same reaction furnishing **16a** in 15% isolated yield. Catalyst **M**<sub>2</sub>**9b** was inactive at the third run. This result corresponds to a turnover number of 4.8 for **M**<sub>2</sub>**9b** in the model Stetter reaction.

### Preparation of monolithic microreactor (**MM**<sub>2</sub>**9b**)

A homogeneous mixture of thiazole derivative **3** (80 mg, 0.31 mmol), styrene (508 μL, 4.42 mmol), divinylbenzene (technical grade, 80%; 140 μL, 1.00 mmol), toluene (180 μL, 1.74 mmol), 1-dodecanol (940 μL, 4.18 mmol), and AIBN (6 mg, 0.04 mmol) was degassed under vacuum, and saturated with argon (by an Ar-filled balloon) three times. The mixture was then poured into a stainless-steel column (length: 10 cm, 0.46 cm internal diameter) sealed at both ends, and placed in a vertical position in a standard convection oven. The polymerization was allowed to proceed for 24 h at 70 °C, then the column **MM**<sub>2</sub>**8** was cooled to room temperature and the seals removed. The column was provided with fittings, connected to the HPLC pump, and warmed to 50 °C. Then, THF was pumped through the warmed column at a flow rate of 50 μL min<sup>-1</sup> for 5 h to remove the porogenic solvents and residual non-polymeric materials. The column **MM**<sub>2</sub>**8** was cooled to room temperature and then an input stream of pure EtBr (2 mL) was pumped at 50 μL min<sup>-1</sup> inside the column to completely fill the microreactor ( $V_0 = 1.07$  mL). The pump was then stopped, the column sealed at both ends, and placed in a vertical position in a standard convection oven. The *N*-alkylation step was allowed to proceed for 12 h at 60 °C, then the column **MM**<sub>2</sub>**9b** was cooled to room temperature and the seals removed. The column was provided with fittings, connected to the HPLC pump, and washed at room temperature with THF at a flow rate of 50 μL min<sup>-1</sup> for 2 h to remove the excess BnBr. The whole procedure was performed with a reference microreactor in a parallel experiment with the aim to establish the level of *N*-alkylation and the weight of dried polymer inside the stainless-steel column (604 mg). Elemental analysis (%) found: N 0.67 ( $f = 0.55$  mmol g<sup>-1</sup>; loading = 0.48 mmol g<sup>-1</sup>).

### Determination of microreactor void-volume

Microreactor void volume ( $V_0$ ) was determined by pycnometry.<sup>33</sup> This method consists of filling the microreactor successively with two distinct solvents (solvent 1: water; solvent 2: *n*-hexane) and weighing the filled microreactor accurately. Simple math shows that:<sup>34</sup>

$$V_0 = \frac{w_1 - w_2}{\delta_1 - \delta_2}$$

where  $w_1$  and  $w_2$  are the weights of the microreactor filled with solvents 1 and 2 and  $\delta_1$  and  $\delta_2$  the densities of the solvents.

### Continuous-flow benzoin reactions (Table 3, entries 1, 4, and 5)

Microreactor **MM<sub>2</sub>9b** was fed with a continuously degassed solution of the aromatic aldehyde **10** in phosphate buffer (pH 8) and DMSO (10% v/v; see Table 3 for molarity concentrations), and operated at the stated temperature for 5 h (under steady-state conditions) at the stated flow rate. Instant conversion was determined (<sup>1</sup>H NMR analysis) every 60 min by taking a sample of the eluate. The collected solution was finally extracted with Et<sub>2</sub>O (3 × 25 mL), and the resulting organic phase was concentrated to give the corresponding adduct **11**<sup>32</sup> (yield: >95%), at least 95% pure as established by <sup>1</sup>H NMR analysis.

The long-term stability experiment was performed using benzaldehyde **10a** (0.10 M) as the substrate; microreactor **MM<sub>2</sub>9b** was operated at 35 °C with a flow rate of 10 μL min<sup>-1</sup> for ca. 100 h. After the achievement of the steady-state regime (ca. 6 h), full conversion of **10a** was maintained for 36 h, while a progressive loss of catalytic activity was observed after that time (TON<sub>flow</sub> = 7.4).

### Continuous-flow acyloin-type reactions (Table 3, entries 2, 6, and 7)

Microreactor **MM<sub>2</sub>9b** was fed with a continuously degassed solution of donor **12a** or **12b**, acceptor **12a**, **12b**, or **17**, and Et<sub>3</sub>N in absolute EtOH (see Table 3 for molarity concentrations), and operated at 25 °C for 5 h (under steady-state conditions) at the stated flow rate. Instant conversion was determined (<sup>1</sup>H NMR or GC analysis) every 60 min by taking a sample of the eluate. The collected solution containing the adduct **13a** or **13b** was bulb-to-bulb distilled (**13a**: 50 °C, 5 mmHg; **13b**: 84 °C, 5 mmHg) to give the corresponding product **13**<sup>12c</sup> (yield: >90%), at least 95% pure as established by <sup>1</sup>H NMR analysis. In the case of product **18**, the collected solution was concentrated and eluted from a column of silica gel with 3 : 1 cyclohexane–AcOEt to give **18**<sup>12c</sup> (yield: 52%).

The long-term stability experiment was performed using biacetyl **12a** (0.10 M) as the substrate; microreactor **MM<sub>2</sub>9b** was operated at 25 °C with a flow rate of 10 μL min<sup>-1</sup> for ca. 250 h. After the attainment of the steady-state regime (ca. 4 h), full conversion of **12a** was maintained for ca. 180 h, while a progressive loss of catalytic activity was observed after that time (TON<sub>flow</sub> = 37.5).

### Continuous-flow Stetter reactions (Table 3, entries 3, 8, and 9)

Microreactor **MM<sub>2</sub>9b** was fed with a continuously degassed solution of biacetyl **12a**, chalcone **15**, and Et<sub>3</sub>N in absolute EtOH (see Table 3 for molarity concentrations), and operated at 50 °C for 5 h (under steady-state conditions) at the stated flow rate. Instant conversion was determined (<sup>1</sup>H NMR analysis) every 60 min by taking a sample of the eluate. The collected solution was concentrated and eluted from a column of silica gel with a suitable elution system to give the  $\gamma$ -diketone **16**<sup>12b</sup> (yield: 69–95%).

The long-term stability experiment was performed using biacetyl **12a** (0.15 M) and *trans*-chalcone **15a** (0.05 M) as the substrates; microreactor **MM<sub>2</sub>9b** was operated at 25 °C with a flow rate of 10 μL min<sup>-1</sup> for ca. 130 h. After the attainment of the steady-state regime (ca. 5 h), full conversion of **15a** was maintained for ca. 90 h, while a progressive loss of catalytic activity was observed after that time (TON<sub>flow</sub> = 9.3).

## Acknowledgements

We gratefully acknowledge the University of Ferrara (Progetto FAR 2011) and the Italian Ministry of University and Scientific Research (Progetto PRIN grants 2009ZSC5K2 004 and 20098SjX4F 004) for financial support. Thanks are also given to Mr Paolo Formaglio for NMR experiments, to Mrs Tatiana Bernardi for HRMS analyses, and to Mrs Ercolina Bianchini for elemental analyses.

## Notes and references

- For a recent review, see: (a) J. Izquierdo, G. E. Hutson, D. T. Cohen and K. A. Scheidt, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2012, **51**, 11686–11698; (b) Y. Suzuki, Y. Fukuta, S. Ota, M. Kamiya and M. Sato, *J. Org. Chem.*, 2011, **76**, 3960–3967; (c) E. M. Phillips, J. M. Roberts and K. A. Scheidt, *Org. Lett.*, 2010, **12**, 2830–2833.
- (a) A. G. M. Barrett, A. C. Love and L. Tedeschi, *Org. Lett.*, 2004, **6**, 3377–3380; (b) J. M. D. Storey and C. Williamson, *Tetrahedron Lett.*, 2005, **46**, 7337–7339; (c) M. Tan, Y. Zhang and J. Y. Ying, *Adv. Synth. Catal.*, 2009, **351**, 1390–1394; (d) K. Motesharei and D. C. Myles, *J. Am. Chem. Soc.*, 1997, **119**, 6674–6675; (e) C. L. Schilling Jr. and J. E. Mulvaney, *Macromolecules*, 1968, **1**, 452–455; (f) H. Tajima, T. Niitsu, H. Inoue and M. M. Ito, *J. Chem. Eng. Jpn.*, 2001, **34**, 553–557; (g) K. Yamashita, T. Osaki, K. Sasaki, H. Yokota, N. Oshima, M. Nango and K. Tsuda, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 1994, **32**, 1711–1717; (h) M. C. Faber, H. J. van den Berg, G. Challa and U. K. Pandit, *React. Polym.*, 1989, **11**, 117–126; (i) K. Yamashita, H. Tokuda and K. Tsuda, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, 1989, **27**, 1333–1339; (j) H. J. van den Berg, G. Challa and U. K. Pandit, *React. Polym.*, 1989, **11**, 101–116; (k) K. Yamashita, J.-i. Watanabe, R. Ikeda, D. Abe and K. Tsuda, *Macromolecules*, 1989, **22**, 4392–4394.



- 3 For CO<sub>2</sub> adducts of supported NHCs, see: (a) H. Zhou, Y.-M. Wang, W.-Z. Zhang, J.-P. Qu and X.-B. Lu, *Green Chem.*, 2011, **13**, 644–650; (b) J. Pinaud, J. Vignolle, Y. Gnanou and D. Taton, *Macromolecules*, 2011, **44**, 1900–1980; (c) G. Manohar Pawar and M. R. Buchmeiser, *Adv. Synth. Catal.*, 2010, **352**, 917–928; (d) H. Zhou, W.-Z. Zhang, Y.-M. Wang, J.-P. Qu and X.-B. Lu, *Macromolecules*, 2009, **42**, 5419–5421.
- 4 (a) A. B. Powell, Y. Suzuki, M. Ueda, C. W. Bielawski and A. H. Cowley, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 5218–5220; (b) K. Zeitler and I. Mager, *Adv. Synth. Catal.*, 2007, **349**, 1851–1857; (c) H. Zhao, F. W. Foss Jr. and R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 12590–12591.
- 5 For selected examples of NHC-functionalized ionic liquids, see: (a) F.-l. Yu, R.-l. Zhang, C.-x. Xie and S.-t. Yu, *Tetrahedron*, 2010, **66**, 9145–9150; (b) Z.-Z. Zhou, F.-Q. Li, M. Cao and G.-F. Yang, *Adv. Synth. Catal.*, 2006, **348**, 1826–1830.
- 6 (a) A. Ueno, Y. Kayaki and T. Ikariya, *Green Chem.*, 2013, **15**, 425–430; (b) T. Zeng, G. Song and C.-J. Li, *Chem. Commun.*, 2009, 6249–6251.
- 7 (a) V. Hessel, D. Kralisch, N. Kockmann, T. Noël and Q. Wang, *ChemSusChem*, 2013, **6**, 746–789; (b) S. C. Stouten, T. Noël, Q. Wang and V. Hessel, *Aust. J. Chem.*, 2013, **66**, 121–130; (c) D. T. McQuade and P. H. Seeberger, *J. Org. Chem.*, 2003, **68**, 6384–6389; (d) T. Illg, P. Löb and V. Hessel, *Bioorg. Med. Chem.*, 2010, **18**, 3707–3719; (e) K. Geyer, T. Gustafsson and P. H. Seeberger, *Synlett*, 2009, 2382–2391; (f) B. P. Mason, K. E. Price, J. L. Steinbacher, A. R. Bogdan and D. T. McQuade, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 2300–2318; (g) I. R. Baxendale, S. V. Ley, A. C. Mansfield and C. D. Smith, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, **48**, 4017–4021; (h) I. R. Baxendale, J. J. Hayward, S. Lanners, S. V. Ley and C. D. Smith, in *Microrreactors in Organic Synthesis and Catalysis*, ed. T. Wirth, Wiley-VCH, Weinheim, 2008, ch. 4.2, pp. 84–122; (i) A. R. Bogdan, S. L. Poe, D. C. Kubis, S. J. Broadwater and D. T. McQuade, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2009, **48**, 8547–8550; (j) F. E. Valera, M. Quaranta, A. Moran, J. Blacker, A. Armstrong, J. T. Cabral and D. G. Blackmond, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2010, **49**, 2478–2485.
- 8 For a semi-continuous approach, see: H. J. van den Berg, C. Challa and U. K. Pandit, *React. Polym.*, 1989, **11**, 127–134.
- 9 (a) T. Tsubogo, T. Ishiwata and S. Kobayashi, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2013, **52**, 6590–6604; (b) C. G. Frost and L. Mutton, *Green Chem.*, 2010, **12**, 1687–1703; (c) A. R. Bogdan, B. P. Mason, K. T. Sylvester and D. T. McQuade, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2007, **46**, 1698–1701; (d) A. Kirschning, W. Solodenko and K. Mennecke, *Chem.–Eur. J.*, 2006, **12**, 5972–5990; (e) A. Puglisi, M. Benaglia and V. Chiroli, *Green Chem.*, 2013, **15**, 1790–1813.
- 10 (a) O. Bortolini, A. Cavazzini, P. P. Giovannini, R. Greco, N. Marchetti, A. Massi and L. Pasti, *Chem.–Eur. J.*, 2013, **19**, 7802–7808; (b) O. Bortolini, L. Caciolli, A. Cavazzini, V. Costa, R. Greco, A. Massi and L. Pasti, *Green Chem.*, 2012, **14**, 992–1000; (c) A. Massi, A. Cavazzini, L. Del Zoppo, O. Pandoli, V. Costa, L. Pasti and P. P. Giovannini, *Tetrahedron Lett.*, 2011, **52**, 619–622.
- 11 (a) G. Kardos and T. Soós, *Eur. J. Org. Chem.*, 2013, 4490–4494; (b) P. Kasaplar, C. Rodríguez-Esrich and M. A. Pericàs, *Org. Lett.*, 2013, **15**, 3498–3501; (c) Y. Arakawa and H. Wennemers, *ChemSusChem*, 2013, **6**, 242–245; (d) S. B. Otvos, I. M. Mandity and F. Fulop, *ChemSusChem*, 2012, **5**, 266–269; (e) L. Osorio-Planes, C. Rodríguez-Esrich and M. A. Pericàs, *Org. Lett.*, 2012, **14**, 1816–1819; (f) C. Ayats, A. H. Henseler and M. A. Pericàs, *ChemSusChem*, 2012, **5**, 320–325; (g) X. C. Cambeiro, R. Martín-Rapún, P. O. Miranda, S. Sayalero, E. Alza, P. Llanes and M. A. Pericàs, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2011, **7**, 1486–1493; (h) A. L. W. Demuyck, L. Peng, F. de Clippel and J. Vanderleyden, *Adv. Synth. Catal.*, 2011, **353**, 725–732; (i) E. Alza, S. Sayalero, X. C. Cambeiro, R. Martín-Rapún, P. O. Miranda and M. A. Pericàs, *Synlett*, 2011, 464–468; (j) E. Alza, C. Rodríguez-Esrich, S. Sayalero, A. Bastero and M. A. Pericàs, *Chem.–Eur. J.*, 2009, **15**, 10167–10172; (k) F. Bonfils, I. Cazaux, P. Hodge and C. Caze, *Org. Biomol. Chem.*, 2006, **4**, 493–497; (l) D. Bernstein, S. France, J. Wolfer and T. Lectka, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2005, **16**, 3481–3483; (m) S. France, D. Bernstein, A. Weatherwax and T. Lectka, *Org. Lett.*, 2005, **7**, 3009–3012; (n) A. M. Hafez, A. E. Taggi, T. Dudding and T. Lectka, *J. Am. Chem. Soc.*, 2001, **123**, 18853–18859. For a review on continuous-flow asymmetric reactions, see: (o) X. Y. Mak, P. Laurino and P. H. Seeberger, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2009, **5**, DOI: 10.3762/bjoc.5.19.
- 12 (a) V. Bertolasi, O. Bortolini, A. Donvito, G. Fantin, M. Fogagnolo, P. P. Giovannini, A. Massi and S. Pacifico, *Org. Biomol. Chem.*, 2012, **10**, 6579–6586; (b) O. Bortolini, G. Fantin, M. Fogagnolo, P. P. Giovannini, A. Massi and S. Pacifico, *Org. Biomol. Chem.*, 2011, **9**, 8437–8444; (c) O. Bortolini, G. Fantin, M. Fogagnolo, P. P. Giovannini, V. Venturi, S. Pacifico and A. Massi, *Tetrahedron*, 2011, **67**, 8110–8115.
- 13 R. A. Sheldon, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**, 1437–1451.
- 14 For a recent review, see: (a) A. Sachse, A. Galarneau, B. Coq and F. Fajula, *New J. Chem.*, 2011, **35**, 259–264. For polymeric monolithic microreactors in continuous-flow catalytic processes, see: (b) B. Altava, M. I. Burguete, E. García-Verdugo, S. V. Luis and M. J. Vicent, *Green Chem.*, 2006, **8**, 717–726; (c) M. I. Burguete, A. Cornejo, E. García-Verdugo, J. I. García, M. J. Gil, S. V. Luis, V. Martínez-Merino, J. A. Mayoral and M. Sokolova, *Green Chem.*, 2007, **9**, 1091–1096; (d) M. I. Burguete, A. Cornejo, E. García-Verdugo, M. J. Gil, S. V. Luis, J. A. Mayoral, V. Martínez-Merino and M. Sokolova, *J. Org. Chem.*, 2007, **72**, 4344–4350; (e) A. Gömann, J. A. Deverell, K. F. Munting, R. C. Jones, T. Rodemann, A. J. Canty, J. A. Smith and R. M. Guijt, *Tetrahedron*, 2009, **65**, 1450–1454; (f) B. Ngamsom, A. M. Hickey, G. M. Greenway, J. A. Littlechild, P. Watts and C. Wiles, *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2010, **63**, 81–86; (g) C. Aranda,

- A. Cornejo, J. M. Fraile, E. García-Verdugo, M. J. Gil, S. V. Luis, J. A. Mayoral, V. Martínez-Merino and Z. Ochoa, *Green Chem.*, 2011, **13**, 983–990; (h) N. Nikbin, M. Ladlow and S. V. Ley, *Org. Process Res. Dev.*, 2007, **11**, 458–462; (i) K. A. Roper, H. Lange, A. Polyzos, M. B. Berry, I. R. Baxendale and S. V. Ley, *Beilstein J. Org. Chem.*, 2011, **7**, 1648–1655; (j) H. Lange, M. J. Capener, A. X. Jones, C. J. Smith, N. Nikbin, I. R. Baxendale and S. V. Ley, *Synlett*, 2011, 869–873; (k) C. J. Smith, C. D. Smith, N. Nikbin, S. V. Ley and I. R. Baxendale, *Org. Biomol. Chem.*, 2011, **9**, 1927–1937. For a recent application of monoliths in a “catch-react-release” approach, see: (l) R. J. Ingham, E. Riva, N. Nikbin, I. R. Baxendale and S. V. Ley, *Org. Lett.*, 2012, **14**, 3920–3923.
- 15 E. C. Peters, F. Svec and J. M. Fréchet, *Adv. Mater.*, 1999, **11**, 1169–1181.
- 16 (a) G. Jas and A. Kirschning, *Chem.–Eur. J.*, 2003, **9**, 5708–5723; (b) A. Stankiewicz, *Chem. Eng. Sci.*, 2001, **56**, 359–361.
- 17 H. J. van den Berg, G. Challa and U. K. Pandit, *J. Mol. Catal.*, 1989, **51**, 13–27.
- 18 (a) A. B. Lowe, *Polym. Chem.*, 2010, **1**, 17–36; (b) P. Jonkheijm, D. Weinrich, M. Köhn, H. Engelkamp, P. C. M. Christianen, J. Kuhlmann, J. C. Maan, D. Nüsse, H. Schroeder, R. Wacker, R. Breinbauer, C. M. Niemeyer and H. Waldmann, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2008, **47**, 4421–4424.
- 19 A. Massi, O. Pandoli, A. Cavazzini, L. Del Zoppo, P. P. Giovannini and C. Bendazzoli, *Italian Patent*, No. 0001398243, 2013.
- 20 It is likely that the thiazolium salt acts as a radical sponge. For ESR evidence of the addition of hydroxyalkyl radicals to thiazolium yielding enamine radical cations, see: D. Rügge and H. Fischer, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 1989, 1993–1997.
- 21 R. W. Alder, M. E. Blake, L. Chaker, J. N. Harvey, F. Paolini and J. Schütz, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2004, **43**, 5896–5911.
- 22 The complete incorporation of thiazole-functionalized monomers into the corresponding monoliths was checked by <sup>1</sup>H NMR analysis of the THF solution used to wash the solid material. FT-IR and UV analyses proved to be less effective in this determination because of the complexity of the washing solution.
- 23 A negative effect of silica acidity on the activity of catalysts S7 can be reasonably excluded by the large excess of the base used to promote carbene formation.
- 24 (a) D. G. Blackmond, A. Armstrong, V. Coombe and A. Wells, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2007, **46**, 3798–3800; (b) Y. Hayashi, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2006, **45**, 8103–8104; (c) A. P. Brogan, T. J. Dickerson and K. D. Janda, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2006, **45**, 8100–8102.
- 25 Very poor results were detected when the benzoin condensation was performed with catalysts S7 and M9 in the low-polarity solvents toluene and diisopropyl ether under the conditions of Table 1 (isolated yields of 11a: 5–10%).
- 26 At this stage of the study we cannot firmly suggest the mechanism of degradation of monoliths M9. Dedicated FT-IR and MAS-NMR analyses are currently underway in our laboratories.
- 27 Regeneration of the catalytic activity of monoliths M9 by washing the polymeric material with dilute methanolic HCl as previously reported (see ref. 8) did not produce any satisfactory result.
- 28 Dedicated experiments showed a linear relationship between backpressure and flow rate for aqueous buffer and ethanol solvents; this clearly demonstrates that the monolith MM<sub>2</sub>9b is mechanically stable and that no swelling occurs (Y. Li, H. D. Tolley and M. L. Lee, *Anal. Chem.*, 2009, **81**, 9416–9424).
- 29 The attainment of the steady-state regime was assumed when constant reactant/product outlet concentrations accompanied by complete inlet mass recovery in the eluate were detected. It is important to note that steady-state conditions have been optimized in this study by finding the best compromise between conversion efficiency and catalyst stability. To achieve this aim, a limited number of experiments were performed with different feed compositions, flow rates, and reaction temperatures. Of course, this cannot exclude that an in-depth study on process productivity might result in improved process conditions.
- 30 The premature deactivation of NHC catalysts was also observed in benzoin condensations promoted by poly-(NHC-CO<sub>2</sub>) adducts (see ref. 3b).
- 31 The asymmetric version of the continuous-flow acyloin-type condensation of 1,2-diones using an enzymatic packed-bed reactor will be the object of a forthcoming publication.
- 32 I. Chiarotto, M. Feroci, M. Orsini, M. M. M. Feeney and A. Inesia, *Adv. Synth. Catal.*, 2010, **352**, 3287–3292.
- 33 R. M. McCormick and B. L. Karger, *Anal. Chem.*, 1980, **52**, 2249–2257.
- 34 F. Gritti, Y. Kazakevich and G. Guiochon, *J. Chromatogr., A*, 2007, **1161**, 157–169.

# Fluorous Affinity Chromatography for Enrichment and Determination of Perfluoroalkyl Substances

Nicola Marchetti,<sup>†</sup> Lorenzo Caciolli,<sup>†</sup> Aldo Laganà,<sup>‡</sup> Francesco Gasparri,<sup>§</sup> Luisa Pasti,<sup>||</sup> Francesco Dondi,<sup>||</sup> and Alberto Cavazzini<sup>\*,||</sup>

<sup>†</sup>Lab "Terra&Acqua Tech"-Water Quality, Technopole of Ferrara and Department of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, University of Ferrara, Ferrara, Italy

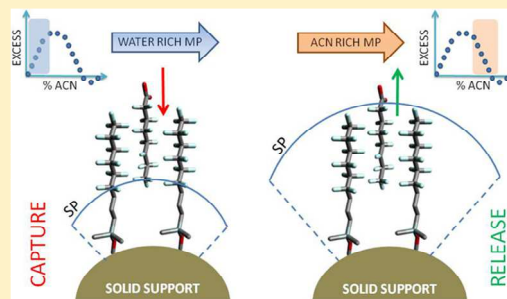
<sup>‡</sup>Department of Chemistry, University "La Sapienza", Rome, Italy

<sup>§</sup>Dipartimento di Chimica e Tecnologia del Farmaco, University "La Sapienza", Rome, Italy

<sup>||</sup>Department of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, University of Ferrara, Ferrara, Italy

## Supporting Information

**ABSTRACT:** The adsorption behavior of four perfluoroalkyl acids, including the environmentally relevant perfluorooctanoic acid, has been investigated on a straight-chain perfluorohexyl adsorbent. The aim of this study was to probe the potential of perfluorinated materials for the analysis and enrichment of perfluoroalkyl analytes. Water/acetonitrile mixtures, to which formic acid had been added (generally, 0.1%), were employed as mobile phases. For all perfluorinated acids, a U-shaped retention profile was observed by changing the amount of acetonitrile in the mobile phase. This behavior has been correlated to the excess adsorption of the organic component on the adsorbent surface. The concept of perfluoromethylene selectivity has been defined as the ability of a chromatographic system to discriminate between molecules that differ by a single perfluoromethylene group. The contribution to the Gibbs free energy of phase transfer for the passage of a perfluoroalkyl carbon from the mobile to the stationary phase has been evaluated. This information, in addition to the traditional van't Hoff analysis, has also been used to estimate the analogous contribution for the transfer of a carboxylic unit. Finally, insights into the retention mechanisms of perfluoroalkyl acids on straight-chain perfluorohexyl sorbents are discussed.



Perfluorinated alkylated substances (PFAS) are emerging contaminants that include, as major classes, perfluoroalkyl acids (usually with fluorinated carbon chains of four to sixteen atoms), their salts (perfluoroalkyl carboxylates and perfluoroalkyl sulfonates), and perfluorooctanesulfonamides. Intensively used in consumer and industrial products since the 1950s, PFAS are regarded as extremely persistent and highly toxic compounds that pervasively contaminate the biota.<sup>1</sup> PFAS have been detected in a variety of matrices such as air, sediment, drinking water, seawater, seafood, and meats, and in humans (principally in the blood, liver, and kidneys).<sup>2–9</sup> They are reported to have hepatotoxicity, developmental toxicity, immunotoxicity, and carcinogenic potency.<sup>10–13</sup> Provisional Health Advisories (i.e., guidance levels pertaining to drinking water), established by the U.S. Environmental Protection Agency (EPA), for perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctanesulfonate (PFOS), two among the most environmentally relevant PFAS, are 0.2 and 0.4  $\mu\text{g}/\text{L}$ , respectively.<sup>14</sup> The European Food Safety Authority (EFSA) fixed tolerable daily intake (TDI) at 150 and 1500 ng (kg of body weight)<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> for PFOS and PFOA, respectively.<sup>15</sup> In 2009 the Stockholm Convention classified PFAS as Persistent Organic Pollutants (POPs).<sup>16</sup> PFAS are also categorized as

Persistent Bioaccumulative Toxic (PBT) chemicals or Toxic Organic Micro Pollutants (TOMPs).

In this scenario, there is an increasing demand for novel, efficient, and selective analytical strategies for the determination of PFAS in matrices of different origins.<sup>17</sup> The preferred instrumental method for the determination of perfluoroalkyl carboxylates and perfluoroalkyl sulfonates is high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry applying negative electrospray ionization interfaces (HPLC/ESI-MS/MS).<sup>18–20</sup> Because of the significantly low levels at which PFAS are found in real samples (typical concentration values are sub-to low-nanograms per liter), commonly analyte enrichment through solid phase extraction (SPE) is required before analysis.<sup>21,22</sup> Depending on sample matrix (e.g., aqueous, solid) and sample type (biological fluid or tissue, food, etc.), different SPE procedures have been employed.<sup>18,19</sup> In the great majority of cases, however, weak anion exchangers (WAX) and reversed phase (RP) adsorbents are preferentially employed as SPE media.

Received: May 31, 2012

Accepted: July 19, 2012

Published: July 19, 2012

Fluorine–fluorine-based binding and separation exploit the unique properties of heavily fluorinated materials.<sup>23,24</sup> Fluorous affinity arises by strong noncovalent interactions between highly fluorinated or perfluorinated chemical moieties. It has been demonstrated that tagging an organic substrate with a short perfluoroalkyl moiety enables the selective separation of the tagged species from other mixture components by solid phase extraction over fluorous-functionalized silica gel.<sup>25,26</sup> This principle has been extensively employed in chemical synthesis,<sup>27</sup> in chiral resolution,<sup>28</sup> for the recycling and reuse of catalysts,<sup>29</sup> for removal of reaction intermediates,<sup>30</sup> and for the purification of synthetic peptides<sup>31</sup> and oligosaccharides,<sup>32</sup> and more recently, fluorous affinity techniques were introduced to proteomics,<sup>33</sup> metabolomics,<sup>34</sup> and microarrays for probing small molecules.<sup>35</sup>

The scope of this work is to investigate if fluorocarbon-bonded phases, such as fluorous silica gel,<sup>36</sup> can be used as a means of preconcentration and analysis of PFAS. Surprisingly, in spite of the broad range of described applications for these materials, the concept of fluorous-based separations applied to the analysis of PFAS has not been exploited to its full potential yet.<sup>37</sup> On the other hand, due to the physicochemical properties of these compounds and the highly fluorinated portions in their structures, we expect a strong, selective interaction between analytes and perfluorinated adsorbents that could make these adsorbents especially attractive for future analytical/environmental applications. In doing this, we have systematically studied the chromatographic behavior of four perfluoroalkyl acids (with carbon chain lengths ranging from four to seven carbon units) on a perfluorohexylpropylsiloxane-bonded silica adsorbent by changing some experimental variables, such as mobile phase composition, pH, and temperature. The retention behavior of all acids is characterized by a “U-shape” course that has been correlated with the adsorption characteristics of the mobile phase constituents, water, and acetonitrile (ACN). The composition of the solvent–surface stationary phase may be studied on the basis of excess sorption measurements. The presence of solvents in the chemically bonded phases has been demonstrated to significantly affect solute retention in RP systems,<sup>38</sup> and it is also expected to be the key for understanding the retention behavior of analytes on perfluorinated adsorbents.

## THEORY

For the sake of space and because the theory is well-known, only a short review of the most relevant equations used in this work will be presented herein. For a detailed discussion about how these equations can be obtained, readers are referred to the Theory section of the Supporting Information.

**Tracer Pulse Chromatography.** According to the tracer pulse (TP) method for a binary system,<sup>39–48</sup> operational definitions of the excess volume of the isotopically labeled *i* compound,  $V_i^{\text{exc}}$ , and of the thermodynamic void volume,  $V_0$ , are<sup>40</sup>

$$V_i^{\text{exc}} = (V_{R,i}^* - V_{R,j}^*)\theta_i^M\theta_j^M \quad (1)$$

and

$$V_0 = V_{R,i}^*\theta_i^M + V_{R,j}^*\theta_j^M \quad (2)$$

where  $V_{R,i}^*$  and  $V_{R,j}^*$  are the elution volumes for each labeled component *i* and *j*, and  $\theta_i^M$  and  $\theta_j^M$  are the volume fractions in the bulk mobile phase. Excess adsorption isotherms can be

employed to estimate the capacity and thickness of the surface phase (absolute adsorption).<sup>40,46,49</sup> The volume of *i* in the stationary phase,  $V_i^S$ , and the stationary phase volume,  $V_S$ , can be assessed by the linear region of the excess isotherm, being<sup>39,49,50</sup>

$$V_i^{\text{exc}} = V_i^S - V_S\theta_i^M \quad (3)$$

**Thermodynamic Quantities in Linear Chromatography.** The retention factor, *k*, is traditionally defined as

$$k = \frac{V_R - V_M}{V_M} = KF \quad (4)$$

where  $V_R$  is the solute retention volume and  $V_M$ , the kinetic void volume, is

$$V_M = V_0 - V_S \quad (5)$$

*K* and *F* (eq 4) are respectively the equilibrium constant for the transfer of a solute from the mobile to the stationary phase and the phase ratio defined by

$$F = V_S/V_M \quad (6)$$

The van't Hoff relationship correlates *k* to the enthalpy and entropy change of the transfer of solute from the mobile to the stationary phase ( $\Delta H^\circ$  and  $\Delta S^\circ$ , respectively):<sup>45</sup>

$$\ln k = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} + \ln F \quad (7)$$

where *R* is the universal gas constant and *T* the temperature in kelvin. Finally the selectivity,  $\alpha$ , is defined by

$$\alpha = \frac{k_1}{k_2} \quad (8)$$

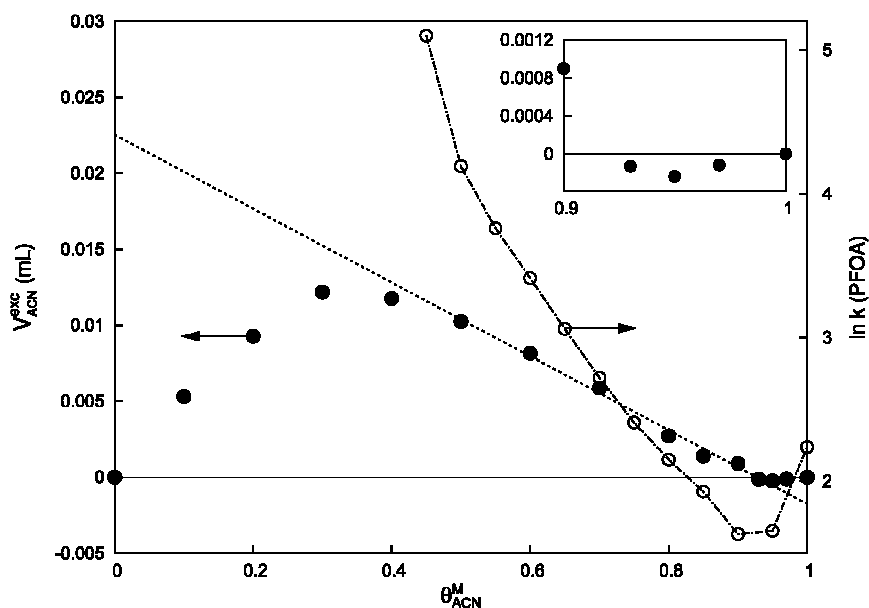
where  $k_1$  and  $k_2$  are the retention factors of two solutes (1 and 2). If calculated for alkyl homologues,  $\alpha$  is the said methylene selectivity. In this case,  $\alpha$  is best calculated by the slope of the plot of  $\ln k$  versus carbon number in the aliphatic chain.<sup>51</sup> The natural logarithm of methylene selectivity multiplied by the factor  $-RT$  gives the change in Gibbs free energy for the transfer of a methylene group from the mobile to the stationary phase,  $\Delta G^\circ_{-\text{CH}_2-}$ :

$$-RT \ln \alpha = \Delta G^\circ_{-\text{CH}_2-} \quad (9)$$

## EXPERIMENTAL SECTION AND METHODS

**Column and Materials.** Unless otherwise specified, all reagents (at the maximum available purity) and analytical-grade solvents were purchased from Sigma Aldrich. A commercial 50 × 2.1 mm stainless-steel column, packed with perfluorohexylpropylsiloxane-bonded silica of 5 μm particle size and 100 Å pore size (Fluophase-RP, Thermo Scientific), was used for all measurements. The four perfluoroalkyl acids were perfluoropentanoic acid (PFPeA), perfluorohexanoic acid (PFHxA), perfluoroheptanoic acid (PFHpA), and perfluorooctanoic acid (PFOA). Ultrahigh-quality Milli-Q water was obtained by a Milli-Q water purification system (Millipore). ACN was LC/MS grade. Deuterated water, D<sub>2</sub>O, and deuterated ACN, D<sub>3</sub>-ACN, were from Cambridge Isotope Laboratories Inc.

**Equipment and MS Parameters.** An LC/MS instrument composed of a micro-HPLC (Finnigan Surveyor Plus) interfaced to a LTQ-XL linear ion-trap MS detector (Thermo Scientific) was used for all measurements. Two ion sources were employed: ESI for detection of perfluoroalkyl acids and



**Figure 1.** ACN excess isotherm ( $V_{\text{ACN}}^{\text{exc}}$ , left y-axis) and natural logarithm of PFOA retention factors ( $\ln k$ , right y-axis) vs ACN volume fraction ( $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$ ). ACN excess volume (per column) ( $\bullet$ ); linear regression of  $V_{\text{ACN}}^{\text{exc}}$  vs  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  calculated over the interval  $0.5 < \theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} < 0.9$  (dotted line); PFOA  $\ln k$  ( $\circ$  connected by a dashed dotted line). Arrows show which y-axis (left or right) data refer to. Small square inset:  $V_{\text{ACN}}^{\text{exc}}$  vs  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  plot for  $0.9 < \theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} < 1$ .

atmospheric pressure chemical ionization (APCI) for TP experiments. Details about the operational conditions of the ion source are reported under the Experimental section of the Supporting Information.

**Chromatographic Conditions.** *Perfluoroalkyl Acid Analysis.* The experiments were carried out over a concentration range of 45–100% ACN in water (eleven different mobile phase compositions were considered with a 5% ACN increment between each measure) to which formic acid (FA) had been added. Three FA concentrations were considered, namely 0.01, 0.1, and 0.2% v/v. Stock standard solutions, each containing a single perfluoroalkyl acid at 0.5 mg/mL, were prepared in pure methanol. Injected solutions were at 0.5  $\mu\text{g/mL}$  (prepared by dilution of stock solutions in the same mobile phase composition used for analysis). Retention data were collected at 10, 20, 30, 40, 50, and  $60 \pm 0.1$  °C at three different mobile phase compositions (60, 80, and 90% ACN). The temperature of the chromatograph Peltier unit was controlled by a digital contact thermometer (IKA Laboratory Equipment). All measurements were performed as triplicate determinations. Retention volumes of perfluoroalkyl acids were obtained by multiplying their retention times (estimated through the peak's first statistical moments) by the constant flow rate (0.25 mL/min).<sup>52,53</sup>

**Tracer Pulse Chromatography Experiments.** A steady stream of a solution of the studied component in the mobile phase was pumped through the column until equilibrium was reached (i.e., until the breakthrough of the constant concentration plateau was reached). Then a small pulse (5  $\mu\text{L}$ ) of the labeled component ( $\text{D}_3\text{-ACN}$  and  $\text{D}_2\text{O}$ ) was injected.<sup>54</sup> Table S1 of the Supporting Information lists the experimental retention volumes of isotopically labeled compounds together with the calculated excess volumes. In Figure S1 of the Supporting Information, on the other hand, some exemplifying LC/MS chromatograms of labeled compound peaks are represented.

ACN concentration in the mobile phase was varied with increments of 10% in the range of 0–80%. Between 80 and 100%, the following concentrations were prepared: 85, 90, 93, 95, 97, and 100%. The flow rate was 0.1 mL/min. Retention volumes of pulse peaks were calculated by multiplying the corresponding retention times by the constant flow rate. Retention times were determined through the peak's first statistical moment. Measurements were done in triplicate.

## RESULTS AND DISCUSSION

Perfluoroalkyl columns are not widely used, but their remarkable selectivity has long been recognized.<sup>55–60</sup> Even though the origin of this specificity is the subject of much debate, several findings suggest that it comes as a consequence of the significantly low polarizability of fluorinated ligands, evidenced by their low refractive index values, compared to hydrocarbons. This induces a sort of “like dissolves like” interaction between solvents and stationary phases with a similar refractive index.<sup>61</sup> As pointed out by many research groups, in addition to fluorophilicity, secondary effects such as silanol activity in the packing particles, or even ionic interactions, have to be accounted for to explain retention and selectivity on fluorocarbon sorbents.<sup>36,58,60,62–66</sup> Indeed, fluorophilicity alone could not, for instance, account for the U-shaped retention observed for some basic compounds eluted with water/ACN mixtures on fluorinated material,<sup>65</sup> or for the retention of fluorine-labeled biological samples on fluorine monoliths of different density and composition.<sup>62</sup>

**The Excess Isotherm.** Solvent composition in the stationary bonded phase can be determined by measuring the excess isotherm from the mixed eluent–chromatographic packing system. The excess volume per column of ACN,  $V_{\text{ACN}}^{\text{exc}}$ , plotted against ACN bulk concentration,  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$ , in Figure 1 ( $\bullet$ , left y-axis) for the adsorption on the Fluophase-RP column from binary water/ACN mixtures.  $V_{\text{ACN}}^{\text{exc}}$  values were calculated according to eq 1.

As is evident in Figure 1, straight-chain perfluorohexyl functionalized silica particles incorporate molecules of mobile phase components during the conditioning of the chromatographic column. Accordingly, stationary phase equilibrium composition is expected to be (in general) different from the mobile phase bulk composition and a function of it. This equilibrium is not disturbed by injections of small volumes of diluted solutions.<sup>67</sup> As the organic component is preferentially adsorbed by the fluorinated adsorbent,  $V_{ACN}^M$  is almost always positive. Obviously, excess is zero in pure water and pure ACN.<sup>68</sup> Three distinct regions can be distinguished in the isotherm course.

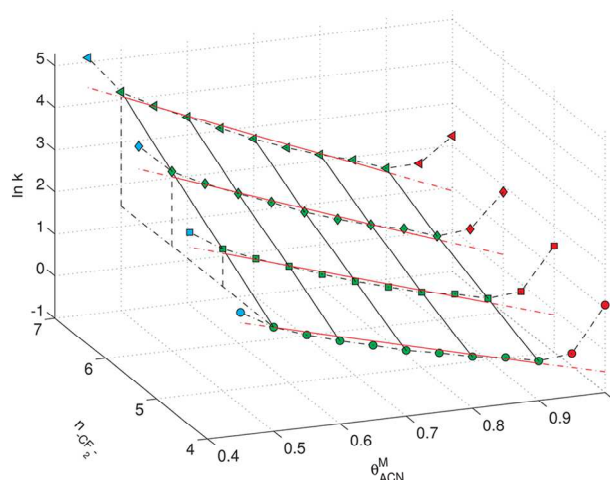
**Adsorbed Layer Formation Zone.** From  $\theta_{ACN}^M = 0$  until approximately  $\theta_{ACN}^M = 0.35$ ,  $V_{ACN}^{exc}$  increases constantly. However, the rise is at first steep, and later, for  $0.3 < \theta_{ACN}^M < 0.35$ , it flattens out as it becomes increasingly difficult to accommodate more ACN molecules in a surface phase that is going to be saturated.  $V_{ACN}^{exc}$  passes through a maximum for  $\theta_{ACN}^M$  at roughly 0.35.

**Adsorbed Layer Constant Composition Zone.** In the region of approximately  $0.5 \leq \theta_{ACN}^M \leq 0.9$ ,  $V_{ACN}^{exc}$  decreases almost linearly with rising  $\theta_{ACN}^M$  (the dotted line in Figure 1 shows the linear regression calculated over this region, for which  $R^2 = 0.9945$ ). Herein, saturation of the stationary phase has been reached, and any further increase in the bulk concentration leads to decrease of the excess, as a consequence of the fact that there is no room on the surface for additional accumulation.<sup>69</sup> In this portion of the excess isotherm, the stationary phase composition is constant and independent of  $\theta_{ACN}^M$ .<sup>49</sup> By means of eq 3, the stationary phase volume can be calculated as the absolute value of the slope of the linear regression.  $V_S$  was found to be  $0.024 \pm 0.001$  mL. The intercept of the linear fitting, instead, gives an estimation of the ACN volume in stationary phase, which was calculated to be  $V_{ACN}^S = 0.022 \pm 0.001$  mL. Accordingly, in the range  $0.5 \leq \theta_{ACN}^M \leq 0.9$ , the equilibrium fraction of the organic component in the stationary phase is 0.92.

**Slightly Positive Water Excess Zone.** Finally, at large  $\theta_{ACN}^M$  ( $>0.9$ ) values,  $V_{ACN}^{exc}$  becomes slightly negative (see the inset in Figure 1), which means water excess is positive. At the point where the excess passes through zero, the composition of the stationary and the mobile phases is equal (surface azeotrope<sup>70</sup>). The presence of a surface azeotrope indicates that the fluorinated surface consists of two different types of sites, perfluoroalkyl moieties and residual silanols, which preferentially adsorb ACN and water molecules, respectively.

**Perfluoroalkyl Acid Chromatographic Behavior.** Figure 2 shows how the natural logarithm of retention factors of the four perfluoroalkyl acids investigated in this work changes with  $\theta_{ACN}^M$ . Experimental data are presented as a three-dimensional (3D) plot. (Retention factors of the four perfluoroalkyl acids together with calculated selectivity are reported in Table S2 of the Supporting Information.)

The y-axis reports the number of perfluoroalkyl carbons present on the molecule,  $n_{-CF_2-}$ , which varies from four for PFPeA to seven for PFOA. FA had been added to ACN/water mobile phases to buffer the pH so as to suppress silanol ionization, on one hand, and to control perfluoroalkyl acid ionization degree, on the other. (Literature reveals an open debate about acid constant values for this class of compounds.<sup>71–74</sup>) This information is significantly important to assess problems such as modeling fate and transport of



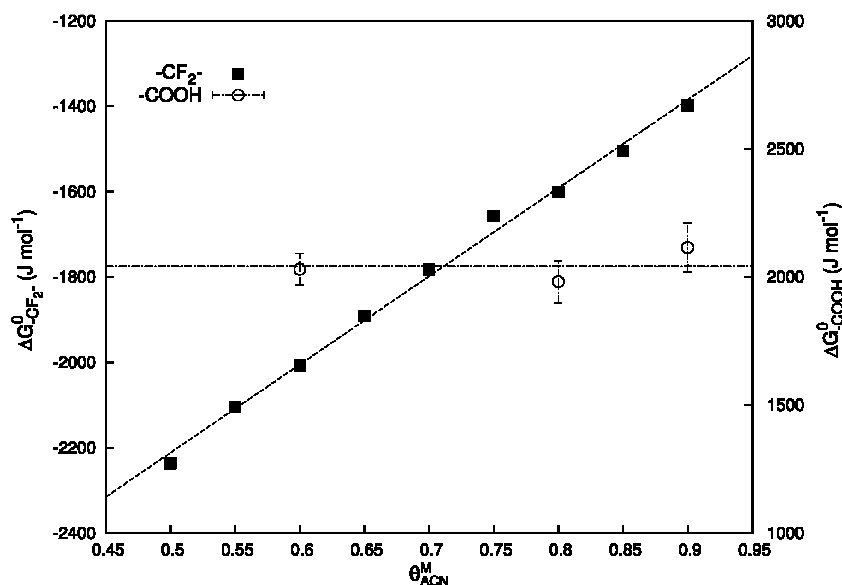
**Figure 2.** Dependence of natural logarithm of retention factor ( $\ln k$ ) vs ACN volume fraction ( $\theta_{ACN}^M$ ) for the four perfluoroalkyl acids considered in this work. Formic acid concentration in mobile phase, 0.1% v/v. Perfluoroalkyl carbon number,  $n_{-CF_2-}$ . Acids are as follows: PFPeA,  $n_{-CF_2-} = 4$  (●); PFHeA,  $n_{-CF_2-} = 5$  (■); PFHeA,  $n_{-CF_2-} = 6$  (◆); PFOA,  $n_{-CF_2-} = 7$  (▲). The meaning of the experimental data colors and the red and black lines is described in the text.

fluorinated compounds in the environment, for instance. As for the purpose of this work, our concern was basically to prevent changes of analyte ionization degree, during chromatographic migration (as a consequence of acid–base equilibria). For data of Figure 2, FA was 0.1% v/v. As shown in the figure, all perfluoroalkyl acids exhibit U-shaped retention with minima at  $\theta_{ACN}^M$  values slightly larger than 0.9.

Three regions can also be distinguished in this plot. For the sake of clarity, they have been represented with points of different colors. The first region, the widest one, spans from approximately  $\theta_{ACN}^M \leq 0.5$  to  $\theta_{ACN}^M \leq 0.9$  (green symbols); the second region (cyan symbols) is that for  $\theta_{ACN}^M < 0.5$ , and the third one (red symbols) goes from roughly  $\theta_{ACN}^M = 0.9$  to  $\theta_{ACN}^M = 1$ . As will be shown, these regions closely match the regions previously singled out in the excess isotherm. Visual evidence of this is given in Figure 1, where PFOA's  $\ln k$  (○ connected by a dashed dotted line, right y-axis) and excess isotherm data, measured at corresponding  $\theta_{ACN}^M$  values, have been overlaid.

**Adsorbed Layer Constant Composition Region.** For all fluorinated acids, the widest region is characterized by a linear  $\ln k$  decrease with increasing  $\theta_{ACN}^M$  (the continuous red lines in Figure 2 show the linear regressions calculated in this region, for which  $R^2$  values were always  $>0.99$ ). This behavior closely resembles that typical of RP LC.  $k$  values were calculated by eq 4.  $V_M$  was estimated by eq 5 by assuming  $V_S = 0.022 \pm 0.001$  mL (see before) and  $V_0 = 0.126 \pm 0.002$  mL (that is the average of nine  $V_0$  values estimated by eq 2 in the interval  $0.5 \leq \theta_{ACN}^M \leq 0.9$ ). A  $V_M$  value of  $0.102 \pm 0.003$  mL was accordingly obtained.

By considering now the behavior at constant  $\theta_{ACN}^M$ , one observes  $k$  values to increase in the order PFPeA  $<$  PFHxA  $<$  PFHpA  $<$  PFOA, in support of the fact that fluorophilicity is the driving force of separation. This is evidenced in Figure 2, where the continuous, black straight lines show the dependence of the  $\ln k$  values on  $n_{-CF_2-}$  at a fixed mobile phase composition (to avoid overcrowding the figure, only lines at  $\theta_{ACN}^M = 0.5, 0.6,$



**Figure 3.** Dependence of the Gibbs free energy change on the transfer of a  $-\text{CF}_2-$  ( $\Delta G^\circ_{-\text{CF}_2-}$ , left y-axis) and a  $-\text{COOH}$  ( $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$ , right y-axis) unit from the mobile to the stationary phase as a function of the ACN volume fraction ( $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$ ). Formic acid concentration in mobile phase: 0.1% v/v. Linear regression of  $\Delta G^\circ_{-\text{CF}_2-}$  vs  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  plot: dashed line. Line at  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}} = 2020 \text{ J mol}^{-1}$ : dashed dotted line. Error bars around  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$  points:  $\pm 1$  standard deviation (see text for details).

**Table 1.** Gibbs Free Energy Change for the Transfer of a Solute ( $\Delta G^\circ$ ), a  $-\text{CF}_2-$  ( $\Delta G^\circ_{-\text{CF}_2-}$ ), and a  $-\text{COOH}$  ( $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$ ) Unit from the Mobile to the Stationary Phase for the Perfluoroalkyl Acids Considered in this Work<sup>a</sup>

$\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$	$\Delta G^\circ (\text{J mol}^{-1})$				$\Delta G^\circ_{-\text{CF}_2-} (\text{J mol}^{-1})$	$\Delta G^\circ_{-\text{COOH}} (\text{J mol}^{-1})$			
	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA		PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA
0.6	-6085	-7977	-9964	-12039	-2008	1948	2065	2086	2020
0.8	-4433	-5975	-7554	-9338	-1601	1971	2031	2052	1870
0.9	-3560	-4832	-6158	-7748	-1398	2032	2158	2231	2039

<sup>a</sup> $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$ : ACN volume fraction. See text for details.

0.7, 0.8, and 0.9 are represented). Linearity of  $\ln k$  versus  $n_{-\text{CF}_2-}$  has also been reported for homologous compounds in RP LC.<sup>75</sup> Remarkably, this linearity spans a noticeably wide range of  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  values.

**Perfluoromethylene Selectivity.** In analogy to the methylene selectivity concept in RP LC, “perfluoromethylene” selectivity,  $\alpha_{\text{pf}}$  can be defined by considering the dependence of  $\ln k$  values on  $n_{-\text{CF}_2-}$  values. In fact,  $\ln \alpha_{\text{pf}}$  is readily obtained from the slope of  $\ln k$  versus  $n_{-\text{CF}_2-}$  plots. For the sake of clarity, the graphical slope of one of these plots, at  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} = 0.5$ , is shown in Figure 2.  $\alpha_{\text{pf}}$  can be considered a measure of the ability of a chromatographic system to discriminate between molecules differing by a single perfluoromethylene group. Numerically, in the region  $0.5 \leq \theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} \leq 0.9$ ,  $\alpha_{\text{pf}}$  was found to be approximately equal to 2 (as an example, the following  $\alpha_{\text{pf}}$  averages were found:  $2.25 \pm 0.10$ ,  $2.05 \pm 0.10$ , and  $1.9 \pm 0.10$  at  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} = 0.6$ , 0.7 and 0.8, respectively). Incidentally and for the sake of completeness, we want to mention that methylene selectivity of fluorinated phases and perfluoro-methylene selectivity of traditional RP phases will be compared in a forthcoming work.<sup>76</sup> From the thermodynamical viewpoint,  $-RT \ln \alpha_{\text{pf}}$  is the Gibbs free energy change,  $\Delta G^\circ_{-\text{CF}_2-}$  for the transfer of a perfluoromethylene group from the mobile to the stationary

phase, in analogy to eq 9. The calculated  $\Delta G^\circ_{-\text{CF}_2-}$  values are presented in Figure 3 (■, left y-axis).

As can be seen, a linear dependence was found between them and  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$ , with  $\Delta G^\circ_{-\text{CF}_2-}$  values becoming increasingly less negative by raising  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$ . Thermodynamically, this means that the passage of a  $-\text{CF}_2-$  unit from the mobile to the stationary phase is less favorable at large  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  values, as a consequence of the improved solvation of the group in organic-rich bulk phases (solubility of perfluoroalkyl acids remarkably increases by raising  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$ ).

**Contribution to the Gibbs Free Energy Coming from the Transfer of a Carboxylic Unit.** As in this region,  $F$  can easily be calculated by eq 6 with  $V_{\text{S}}$  and  $V_{\text{M}}$  known ( $F$  was found to be 0.23); the traditional van’t Hoff analysis can be employed for estimating  $\Delta H^\circ$  and  $\Delta S^\circ$  for the transfer from the mobile to the stationary phase of the solute. van’t Hoff plots, eq 7, for the perfluoroalkyl acids are shown in Figure S2 of the Supporting Information. For each compound, three different mobile phase compositions were considered ( $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} = 0.6, 0.8$ , and 0.9), and  $T$  was varied from 10 to 60 °C. Calculated  $\Delta H^\circ$  and  $\Delta S^\circ$  values are reported in Table S1 (of the Supporting Information). These results show that at  $T = 298 \text{ K}$ , the process is enthalpically driven, being that  $|\Delta H^\circ| \gg |T\Delta S^\circ|$ . Finally, from  $\Delta H^\circ$  and  $\Delta S^\circ$ , the change in the Gibbs free energy,  $\Delta G^\circ$ , for the transfer of the solute (entire molecule) from the mobile to

the stationary phase can be obtained. The results are reported in Table 1 (columns 2–5).

Let us now assume that each group  $k$  of a molecule is associated with its unique change in free energy,  $\Delta G^\circ_k$ , independent of the presence of other groups.<sup>52</sup> Thus

$$\Delta G^\circ = \sum_k \Delta G^\circ_k \quad (10)$$

and in the case of perfluoroalkyl acids, can be written

$$\Delta G^\circ \approx n_{-\text{CF}_2-} \times \Delta G^\circ_{-\text{CF}_2-} + \Delta G^\circ_{-\text{COOH}} \quad (11)$$

where  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$  is the Gibbs free energy change for the transfer of a  $-\text{COOH}$  group from the mobile to the stationary phase. The symbol  $\approx$  serves to indicate the approximation assumed in eq 11, namely that the contribution to the Gibbs free energy of phase transfer of a  $-\text{CF}_3$  terminal group is equivalent to that of a  $-\text{CF}_2-$  group. Thus, by eq 11,  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$  values can be calculated by the data reported in Table 1 and Figure 3. For the sake of convenience,  $\Delta G^\circ_{-\text{CF}_2-}$  measured at the same  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  values (0.6, 0.8, and 0.9) at which  $\Delta G^\circ$  values were evaluated have also been reported in Table 1 (column 6).

In spite of the approximation introduced in eq 11, the  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$  values obtained (columns 7–10 of Table 1) show some interesting features. First, they are always positive. This means that the transfer of a  $-\text{COOH}$  group from the mobile to the stationary phase is an unfavorable process from the thermodynamical viewpoint. Second,  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$  values are significantly close to each other, and this holds not only for data calculated at the same  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  (which is expected based on eq 11) but also, more surprisingly, for those obtained at different mobile phase compositions. This is better evidenced in Figure 3 where the average values of  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$  calculated for the four perfluoroalkyl acids at the same  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  value are plotted ( $\circ$ , right y-axis) versus  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  (error bars are  $\pm 1$  standard deviation). The “grand” average calculated over the twelve  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$  data is  $2020 \pm 93 \text{ J mol}^{-1}$  (%CV < 5%). The dashed dotted line in Figure 3 was drawn at this average value. As the error bars of all points include this value, the differences between  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$  values estimated at the three  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  values can be assumed not to be statistically significant. A  $\Delta G^\circ_{-\text{COOH}}$  contribution, independent of both perfluoroalkyl chain length and  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$ , might be in relationship with tensioactive properties of these molecules, and it could suggest a specific orientation of the hydrophobic portion of the molecule in the passage from the mobile to the stationary phase.

Several arguments favor retention as a partition process in the region  $0.5 \leq \theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} \leq 0.9$ . First, evidence is given by the previously described RP-like features, such as the linearity of  $\ln k$  versus  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  and  $\ln k$  versus  $n_{-\text{CF}_2-}$  plots. Second, for all perfluoroalkyl acids (Table S1 of the Supporting Information), it was found that equilibrium was largely ruled by enthalpy (or energy) factors, which is commonly observed in separation systems involving partitioning.<sup>52</sup>

It is worthwhile to specify that the term partition has been herein used in its broadest sense, that is without differentiating among the traditional representation of partitioning where molecules vertically penetrate into the solvated bonded layer<sup>77</sup> and the so-called adsorption/partitioning model in which the stationary phase volume is on the top of the (collapsed) bonded layer, and molecules adsorb on it after partitioning from the eluent into the adsorbed layer.<sup>78</sup>

Additional work is in progress to better address this point.<sup>76</sup> In addition, it is also important to note that only in this region (adsorbed layer constant composition) can linear retention data be consistently used for estimation of adsorption/partition thermodynamic parameters, inasmuch as  $k$  reflects the average of all possible interactions between the solute and stationary phase. On the other hand, false conclusions could be reached if data were collected from regions where the stationary phase composition is a function of the bulk mobile phase.

**Regions at Low and Elevated Concentrations of ACN in the Mobile Phase.** Considering Figure 2, the region for  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} < 0.5$  (cyan points) is characterized by a remarkable increase of retention by decreasing  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$ . As an example, for PFOA at  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} = 0.45$ , a  $k > 150$  was experimentally obtained against a value of  $< 80$  predicted by the linear regression calculated over the interval  $0.5 \leq \theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} \leq 0.9$ . This feature has been visually evidenced in Figure 2 for all perfluoroalkyl acids by extending the linear regressions until  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} = 0.45$  (red dashed dotted lines). In this region,  $\alpha_{\text{pf}}$  (eq 8) was found to significantly change depending on the perfluoroalkyl acid couple considered for calculation (as an example,  $\alpha_{\text{pf}} = 2.5$  was obtained with PFHxA–PFPeA and  $\alpha_{\text{pf}} = 3.15$  with PFOA–PFHpA).

By looking at the corresponding region on the excess isotherm (Figure 1), one realizes that for  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} < 0.4$ , the saturation of the sorbent has not been reached yet. The net increase of retention observed herein can thus be ascribed to enhanced interactions between perfluorinated acids and fluororous portions of sorbent, which in these conditions are not fully solvated by the ACN stationary phase volume. From a practical point of view, these interactions can be exploited to “capture” the analytes and to achieve ideal conditions for fluororous solid phase extraction (FSPE). In this portion of the isotherm, adsorption is the principal retention mechanism.

In the region for  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} > 0.9$  (red points), perfluoroalkyl acid retention increases with the rise in  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  and, simultaneously, the effect of perfluoroalkyl chain length (fluorophilicity) diminishes, as if unspecific interactions were active. Decreasing of retention with the percent water increasing is a behavior analogous to that observed in hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC). By considering the region of the excess isotherm for  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} > 0.9$ , a slightly positive water excess can be observed (zoomed area in Figure 1). In this region perfluoroalkyl acids interact via hydrogen bonding with residual silanols present on the functionalized adsorbent. At smaller  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  values, on the other hand, silanols are blocked by water molecules. To further investigate this behavior, a series of  $\ln k$  versus  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  plots were measured for PFOA in mobile phases to which different FA amounts (0.01, 0.1, and 0.2% v/v) had been added. The results are shown in Figure S3 of the Supporting Information. The inversion of elution order, before and after  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} = 0.9$ , following a FA reduction from 0.2 to 0.01% can be explained by a reduced competition for interaction with silanols in less concentrated FA solutions.

## CONCLUSIONS

Perfluoroalkyl acids were found to partition between the mobile phase and the organic-enriched stationary phase, in the region where the stationary phase composition is constant (roughly for  $0.5 \leq \theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} \leq 0.9$ ). At lower  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  values ( $< 0.4$ ), adsorption is the dominant retention mechanism, and perfluoroalkyl acids are efficiently captured by the fluorinated adsorbent, which can be used for FSPE applications. Until  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}} \leq 0.9$ , increasing  $\theta_{\text{ACN}}^{\text{M}}$  determines a decrease of retention (RP-like behavior); the



retention order is PFPeA < PFHxA < PFHpA < PFOA, and fluorophilicity is the driving force for retention. In organic-rich eluents ( $\theta_{ACN}^M \leq 0.9$ ), on the other hand, adsorption via hydrogen bonding on residual silanols explains the observed HILIC-like behavior (decreasing of retention by raising the mobile phase amount of water).

Because of unique fluoruous–fluorous interactions, straight-chain perfluorohexyl materials with mobile phases made of ACN/water mixtures to which FA had been added in small percentages can be employed for enrichment and analysis of perfluoroalkyl analytes. In our opinion these materials are a valid, possibly more efficient, alternative to mixed WAX SPE/RP LC systems, which are by far the most employed means to determine this class of compounds. In addition, as preconcentration does not require the use of salts, the setup of an inline system for simultaneous concentration and analysis of perfluoroalkyl substances is very promising. More investigation is currently being undertaken to implement these ideas.<sup>76</sup>

## ■ ASSOCIATED CONTENT

### 📄 Supporting Information

Additional information as noted in text. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org/>.

## ■ AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*E-mail: [cvz@unife.it](mailto:cvz@unife.it). Phone: +39 0532 455331. Fax: +39 0532 240709.

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## ■ ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Italian University and Scientific Research Ministry (PRIN 20098SJX4F\_004 and PRIN 2009ZSC5K2\_004) and the Regional Operational Programme of the European Regional Development Fund, Industrial Research and Technological Transfer (POR FESR 2007-2013 Priority 1).

## ■ REFERENCES

- (1) Prevedouros, K.; Cousins, I. T.; Buck, R. C.; Korzeniowski, S. H. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 32–44.
- (2) Houde, M.; Martin, J. W.; Letcher, R. J.; Solomon, K. R.; Muir, D. C. G. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 3463–3473.
- (3) Conder, J. M.; Hoke, R. A.; De Wolf, W.; Russel, M. H.; Buck, R. C. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 995–1003.
- (4) Giesy, J. P.; Kannan, K. *Environ. Sci. Technol.* **2001**, *35*, 1339–1342.
- (5) Chang, Y. C.; Cheng, W. L.; Bai, F. Y.; Chen, P. C.; Wang, G. S.; Chen, C. Y. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *402*, 1315–1325.
- (6) Bischel, H. N.; MacManus-Spencer, L. A.; Zhang, C.; Luthy, R. C. *Environ. Toxicol. Chem.* **2011**, *30*, 2423–2430.
- (7) Han, X.; Snow, T. A.; Kemper, R. A.; Jepson, G. W. *Chem. Res. Toxicol.* **2003**, *16*, 775–781.
- (8) Bischel, H. N.; MacManus-Spencer, L. A.; Luthy, R. C. *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 5263–5269.
- (9) Salvalaglio, M.; Muscicchio, I.; Cavallotti, C. *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 14860–14874.
- (10) U.S. Environmental Protection Agency. *Draft Risk Assessment of the potential human health effects associated with exposure to perfluorooctanoic acid and its salts*; 2005.
- (11) Kudo, N.; Kawashima, Y. *J. Toxicol. Sci.* **2003**, *28*, 49–57.
- (12) Kudo, N.; Suzuki-Nakajima, E.; Mitsumoto, A.; Kawashima, Y. *Biol. Pharm. Bull.* **2006**, *29*, 1952–1957.

- (13) Lau, C.; Butenhoff, J. L.; Rogers, J. M. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2004**, *198*, 231–241.
- (14) U.S. Environmental Protection Agency. *Provisional Health Advisories for Perfluorooctanoic Acid and Perfluorooctanoate Sulfonate*; 2009.
- (15) Alexander, J.; et al. *EFSA J.* **2008**, *653*, 1–131, (<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/653.htm>).
- (16) Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Geneva, Switzerland, 2009.
- (17) Richardson, S. D. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 747–778.
- (18) Jahnke, A.; Berger, U. *J. Chromatogr., A* **2009**, *1216*, 410–421.
- (19) de Voogt, P.; Saez, M. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2006**, *25*, 326–342.
- (20) van Leeuwen, S. P. J.; de Boer, J. J. *J. Chromatogr., A* **2007**, *1153*, 172–185.
- (21) Benskin, J. P.; Bataineh, M.; Martin, J. W. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 6455–6464.
- (22) Washington, J. W.; Yoo, H.; Ellington, J. J.; Jenkins, T. M.; Libelo, E. L. *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 8390–8396.
- (23) *Handbook of Fluorous Chemistry*; Gladysz, J. A., Curran, D. P., Horváth, I. T., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2004.
- (24) Gladysz, J. A.; Curran, D. P. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3823–3825.
- (25) Curran, D. P.; Luo, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9069–9072.
- (26) Curran, D. P.; Zhiyong, R. L. *Green Chem.* **2001**, *3*, G3–G7.
- (27) Zhou, H.; Zhang, W.; Yan, B. *J. Comb. Chem.* **2010**, *12*, 206–214.
- (28) Perez, A. M.; Minguillon, C. *J. Chromatogr., A* **2010**, *1217*, 1094–1100.
- (29) Nakamura, Y.; Takeuchi, S.; Ohgo, Y.; Curran, D. P. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 57–60.
- (30) Kainz, S.; Luo, Z.; Curran, D. P.; Leitner, W. *Synthesis* **1998**, *10*, 1425–1427.
- (31) Kim, J. K.; Lee, J. R.; Kang, J. W.; Lee, S. J.; Shin, G. C.; Yeo, W. S.; Kim, K. H.; Park, H. S.; Kim, K. P. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 157–163.
- (32) Miura, T.; Goto, K.; Hosaka, D.; Inazu, T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 2047–2051.
- (33) Brittain, S. M.; Ficarro, S. B.; Brock, A.; Peters, E. C. *Nat. Biotechnol.* **2005**, *23*, 463–468.
- (34) Go, E. P.; Uritboonthai, W.; Apo, J. V.; Trauger, S. A.; Nordstrom, A.; O'Maille, G.; Brittain, S. M.; Peters, E. C.; Siuzdak, G. *J. Proteome Res.* **2007**, *6*, 1492–1499.
- (35) Pohl, N. L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 3868–3870.
- (36) Daley, A. B.; Oleschuk, R. D. *J. Chromatogr., A* **2009**, *1216*, 772–780.
- (37) Schröder, H. F. *J. Chromatogr., A* **2003**, *1020*, 131–151.
- (38) Jaroniec, M. *J. Chromatogr., A* **1993**, *656*, 37–50.
- (39) Weng, M.; Mallette, J.; Parcher, J. F. *J. Chromatogr., A* **2008**, *1190*, 1–7.
- (40) Mallette, J.; Wang, M.; Parcher, J. F. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 3329–3336.
- (41) Lindholm, J.; Forssen, P.; Fornstedt, T. *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 4856–4865.
- (42) Lindholm, J.; Forssen, P.; Fornstedt, T. *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 5472–5478.
- (43) Arnell, R.; Försen, P.; Fornstedt, T. *J. Chromatogr., A* **2005**, *1099*, 167–174.
- (44) Arnell, R.; Ferraz, N.; Fornstedt, T. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 1682–1689.
- (45) Fornstedt, T. *J. Chromatogr., A* **2010**, *1217*, 792–812.
- (46) Gritti, F.; Kazakevich, Y.; Guiochon, G. *J. Chromatogr., A* **2007**, *1161*, 157–169.
- (47) Knox, J. H.; Kaliszan, R. *J. Chromatogr.* **1985**, *349*, 211–234.
- (48) Peterson, D. L.; Helfferich, F. *J. Phys. Chem.* **1965**, *69*, 1283–1293.
- (49) Schay, G.; Nagy, L. *J. Chim. Phys.* **1961**, *140*, 149–158.
- (50) Samuelsson, J.; Arnell, R.; Diesen, J. S.; Tibellin, J.; Paptchikhina, A.; Fornstedt, T.; Sjöberg, P. *J. R. Anal. Chem.* **2008**, *80*, 2105–2112.

- (51) Bhagwat, V.; Bereznitski, T.; Buszewski, B.; Jaroniec, M. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **1998**, *21*, 923–939.
- (52) Giddings, J. C. *Unified Separation Science*; Wiley-Interscience: New York, 1991.
- (53) Cavazzini, A.; Gritti, F.; Kaczmarek, K.; Marchetti, N.; Guiochon, G. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 5972–5979.
- (54) Guiochon, G.; Felinger, A.; Shirazi, D. G.; Katti, A. M. *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, 2nd ed.; Academic Press: Amsterdam, 2006.
- (55) Berendsen, G. E.; De Galan, L. *J. Liq. Chromatogr.* **1978**, *1*, 403–426.
- (56) Billiet, H. A. H.; Schoenmakers, P. J.; De Galan, L. *J. Chromatogr.* **1981**, *218*, 443–454.
- (57) Valkó, K.; Espinosa, S.; Du, C. M.; Bosch, E.; Rosés, M.; Bevan, C.; Abraham, M. H. *J. Chromatogr., A* **2001**, *933*, 73–81.
- (58) Euerby, M. R.; McKeown, A. P.; Petersson, P. *J. Sep. Sci.* **2003**, *26*, 295–306.
- (59) Neue, U. D.; VanTran, K.; Iraneta, P. C.; Alden, B. A. *J. Sep. Sci.* **2003**, *26*, 174–186.
- (60) Yamamoto, F. M.; Rokushika, S. *J. Chromatogr., A* **2000**, *898*, 141–151.
- (61) Marchand, D. H.; Croes, K.; Dolan, J. W.; Snyder, L. R.; Henry, R. A.; Kallury, K. M. R.; Waite, S.; Carr, P. W. *J. Chromatogr., A* **2005**, *1062*, 65–78.
- (62) Daley, A. B.; Xu, Z.; Oleschuk, R. D. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 1688–1695.
- (63) Poole, C. F.; Ahmed, H.; Kiridena, W.; DeKay, C.; Koziol, W. *Chromatographia* **2007**, *65*, 127–139.
- (64) Sakaguchi, Y.; Yoshida, H.; Todoroki, K.; Nohta, H.; Yamaguchi, M. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 5039–5045.
- (65) Bell, D. S.; Jones, A. D. *J. Chromatogr., A* **2005**, *1073*, 99–109.
- (66) Bell, D. S.; Cramer, H. M.; Jones, A. D. *J. Chromatogr., A* **2005**, *1095*, 113–118.
- (67) Gritti, F.; Guiochon, G. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 4257–4272.
- (68) Yun, K. S.; Zhu, C.; Parcher, J. F. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 613–619.
- (69) Chan, F.; Yeung, L. S.; LoBrutto, R.; Kazakevich, Y. V. *J. Chromatogr., A* **2005**, *1082*, 158–165.
- (70) Findenegg, G. H. In *Theoretical Advancement in Chromatography and Related Separation Techniques*; Dondi, F., Guiochon, G., Eds.; NATO ASI Series; Springer: New York, 1992; Vol. 383, pp 227–260.
- (71) Goss, K. U. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 456–458.
- (72) Burns, D. C.; Ellis, D. A.; Li, H.; McMurdo, C. J.; Webster, E. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 9283–9288.
- (73) Goss, K. U.; Arp, H. P. H. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 5150–5151.
- (74) Burns, D. C.; Ellis, D. A.; Webster, E.; McMurdo, C. J. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 5152–5154.
- (75) Johnson, B. P.; Khaledi, G. M.; Dorsey, J. G. *J. Chromatogr., A* **1987**, *384*, 221–230.
- (76) Cavazzini, A.; Marchetti, N.; Pasti, L.; Dondi, F.; Laganà, A.; Gasparrini, F. In preparation.
- (77) Snyder, L. R.; Kirkland, J. J.; Dolan, J. W. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, 3rd ed.; Wiley & Sons: Hoboken, NJ, 2010.
- (78) Kazakevich, Y. V. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1126*, 232–243.