

Alma Mater Studiorum - Università' di Bologna

FACOLTA' DI CHIMICA INDUSTRIALE

Dipartimento di Chimica Industriale e dei Materiali

Corso di Laurea Magistrale

Chimica Industriale

Classe LM-71 Scienze e Tecnologie della Chimica Industriale

**Sintesi e caratterizzazione
di nuovi monomeri cianoacrilici
per applicazioni in
embolizzazione arteriosa**

TESI DI LAUREA SPERIMENTALE

Presentata da

Francesca Egenolf

Relatore

Prof. Daniele Caretti

Correlatore

Dr.ssa Johanna Ertl

Sessione I

Anno Accademico 2011-2012

"...ho tentato di conciliare due aspirazioni inconciliabili, secondo il grande poeta Yeats: «Perfection of the life or of the work». Così facendo, e secondo le sue predizioni, ho realizzato quella che si può definire «imperfection of the life and of the work». Il fatto che l'attività svolta in modo così imperfetto sia stata e sia tuttora per me fonte inesauribile di gioia, mi fa ritenere che l'imperfezione nell'eseguire il compito che ci siamo prefissi o ci è stato assegnato, sia più consona alla natura umana così imperfetta che non la perfezione..."

"Elogio dell'imperfezione" Rita Levi Montalcini

ad A. e R.

INDICE

RIASSUNTO / ABSTRACT	1
PAROLE CHIAVE	2
SIGLE ADOTTATE NELL'ELABORATO	2
1. SCOPO	3
2. INTRODUZIONE	5
2.1. I biomateriali	5
2.1.1. Polimeri in medicina	7
2.1.2. Biodegradazione e risposta immunitaria	8
2.2. Embolizzazione arteriosa	10
2.3. Adesivi tissutali	11
2.4. Cianoacrilati	13
2.4.1. Polimerizzazione dei cianoacrilati	14
2.4.2. Polimerizzazione anionica	16
2.4.3. Degradazione dei cianoacrilati	17
2.4.4. Cianoacrilati per embolizzazione arteriosa	18
2.4.5. Cianoacrilati come adesivi tissutali	21
3. RISULTATI E DISCUSSIONE	23
3.1. Monomeri sintetizzati	23
3.2. La sintesi	26
3.3. Misura dei tempi di polimerizzazione	35
3.3.1. Laser	37
3.4. Misura della forza di adesione	39
4. CONCLUSIONI	42
5. PARTE SPERIMENTALE	45
5.1. Sintesi e caratterizzazione dei monomeri	45
6. BIBLIOGRAFIA	58
7. RINGRAZIAMENTI	61

RIASSUNTO

Questo elaborato di tesi descrive l'attività scientifica svolta presso il Dipartimento di Chimica Industriale e dei Materiali della Facoltà di Chimica Industriale dell'Università degli Studi di Bologna, il cui scopo principale è stato la sintesi e la caratterizzazione di nuovi monomeri cianoacrilici ad uso biomedicale che auspicabilmente presentino elevata velocità di polimerizzazione e minima adesività. Mediante il metodo di protezione e deprotezione, con reazioni di Diels Alder, dell' etil-2-cianoacrilato (SuperAttack™) sono stati sintetizzati tre monomeri cianoacrilici aromatici fluorurati e un monomero cianoacrilico alifatico iodurato. Successivamente i prodotti sono stati testati per valutarne i tempi di polimerizzazione e le proprietà adesive rispetto ad uno dei cianoacrilati maggiormente impiegati in chirurgia. Il risultato di questi studi è stato l'effettivo ottenimento di tre monomeri aventi elevata velocità di polimerizzazione e dotati di scarsa adesività. Il quarto monomero, a causa della sua spiccata tendenza alla polimerizzazione non è risultato testabile.

ABSTRACT

The aim of the present experimental activity, achieved in the Department of Industrial and Material Chemistry, faculty of Industrial Chemistry, University of Bologna, was the development and the characterization of new cyanoacrylic monomers useful for biomedical applications, which polymerize quickly upon contact with blood but don't show strong adhesion to the catheter. Three aromatic fluorinated cyanoacrylic monomers and one alifatic iodated cyanoacrylic monomer have been synthesized by the method of protection and deprotection, via Diels Alder reactions, of ethyl-2-cyanoacrylate (SuperAttack™). Afterwards the monomers have been tested in order to evaluate their polymerization rates and their adhesive properties and have been compared to one of the most used surgical cyanoacrilates. The result was the obtainment of three monomers with fast polymerization rates and extremely low adhesion forces toward the catheter. The fourth monomer wasn't tested because of its instantaneous polymerization.

PAROLE CHIAVE

Cianoacrilati

Embolizzazione arteriosa

Reazioni di Diels Alder

Polimerizzazione zwitterionica

Tempi di polimerizzazione

Adesività

SIGLE ADOTTATE NELL'ELABORATO

NBCA: n-butil-2-cianoacrilato

ISCA: isostearil-2-cianoacrilato

1. SCOPO

Lo scopo di questo lavoro è stato la sintesi e la caratterizzazione di nuovi monomeri cianoacrilici idonei ad essere impiegati nelle pratiche chirurgiche di embolizzazione arteriosa.

L'embolizzazione arteriosa è una metodologia interventistica mini-invasiva che consiste nel sopprimere l'apporto vascolare ad una neoformazione occludendo i vasi sanguigni afferenti ad essa. La pratica di embolizzazione è comunemente applicata nel trattamento di malformazioni arterovenose (AVMs), fibromi uterini, aneurismi cerebrali, tumori muscolo-scheletrici, lesioni e carcinomi al fegato. La tecnica operatoria consiste nell'introduzione tramite catetere di un materiale embolizzante in grado di occludere il sistema arterioso.

I monomeri cianoacrilici risultano ad oggi tra i materiali embolizzanti più comuni il cui utilizzo, tuttavia, non è scevro di rischi. Una delle maggiori problematiche associate a questi materiali è rappresentata dall'elevata forza di adesione tra cianoacrilato, catetere ed arteria che impedisce la corretta estrazione del catetere e può causare la rottura dell'arteria. Ad una auspicabile bassa forza di adesione, d'altra parte, deve però corrispondere un tempo di polimerizzazione sufficientemente breve da garantire l'efficacia dell'occlusione. I cianoacrilati attualmente impiegati in chirurgia, come il n-butil cianoacrilato o l'isostearil cianoacrilato e le loro miscele, non presentano simultaneamente queste caratteristiche perchè, tipicamente, a bassi tempi di polimerizzazione corrispondono alte forze di adesione e viceversa.

In questo lavoro si è affrontata la sintesi e la caratterizzazione di quattro nuovi monomeri cianoacrilici che possano presentare brevi tempi di polimerizzazione e basse forze adesive. In particolare, sono stati sviluppati tre monomeri cianoacrilici aromatici fluorurati e un monomero cianoacrilico alifatico iodurato. Si è supposto che la presenza di atomi di fluoro possa conferire proprietà antiaderenti (al pari del politetrafluoroetilene, PTFE) ma che, allo stesso tempo, il loro effetto elettron-attrattore attivi il doppio legame dei monomeri consentendo di diminuire la velocità di polimerizzazione. La scelta di sintetizzare anche un monomero iodurato è dipesa dal fatto che lo iodio, essendo radiopaco, consentirebbe di rivelare per via radioscopica il materiale embolizzante senza la necessità di ulteriori additivi che possono avere influenza sul tempo di polimerizzazione o

sulla forza adesiva.

La complessità dei monomeri sintetizzati ha inoltre richiesto un approccio piuttosto innovativo alla sintesi. Il metodo di sintesi tradizionale per i monomeri cianoacrilici prevederebbe una condensazione di Knoevenagel tra formaldeide e cianoacetato che, tuttavia, per monomeri fluorurati si rivela poco efficiente. E' stato dunque adottato un metodo di sintesi via protezione e deprotezione, utilizzando la reazione di Diels Alder, del etil-2-cianoacrilato commerciale (SuperAttack™).

Dei monomeri sintetizzati, rappresentati in figura 1.1, sono stati infine testati i tempi di polimerizzazione e le forze adesive.

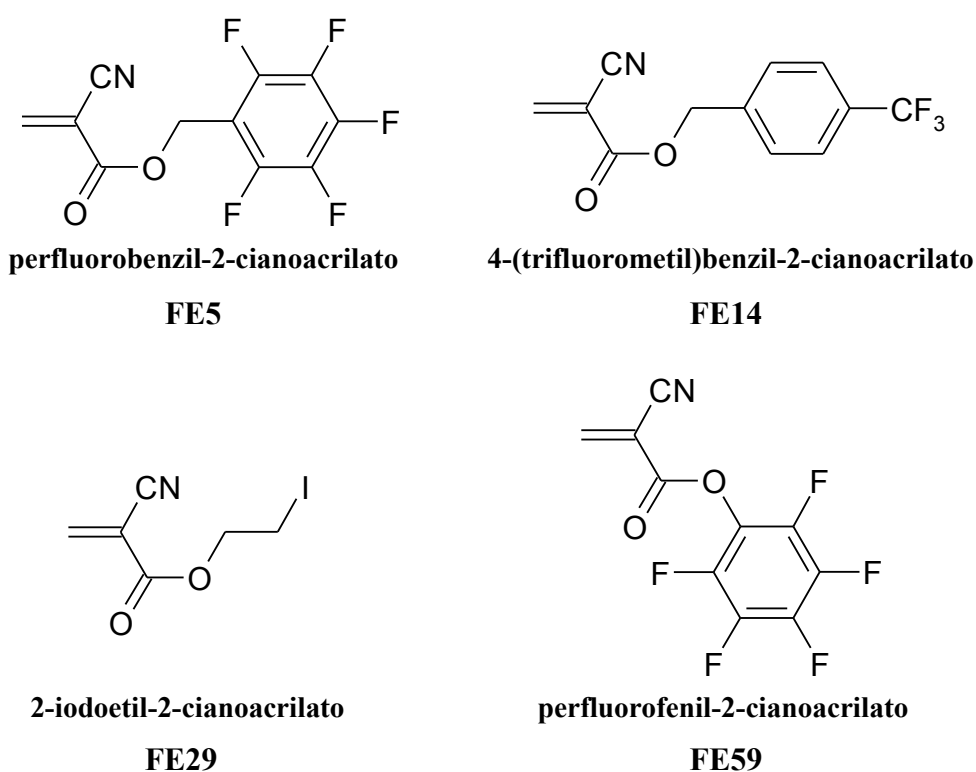


Figura 1.1. Monomeri sintetizzati in questo lavoro

2. INTRODUZIONE

2.1. I BIOMATERIALI

I biomateriali sono sostanze o combinazioni di sostanze concepite per interfacciarsi con i sistemi biologici per dare supporto, trattare o sostituire un qualsiasi tessuto, organo o funzione del corpo. I biomateriali hanno risposto al bisogno dell'uomo di sostituire od integrare tessuti ed organi, non più attivi dal punto di vista funzionale o metabolico, danneggiati da eventi patologici o traumatici. Il numero delle loro applicazioni è cresciuto notevolmente in questi anni e la portata delle innovazioni terapeutiche ha consentito ad un numero elevatissimo di pazienti la sopravvivenza o la restituzione di funzionalità a parti compromesse dell'organismo (Figura 2.1).

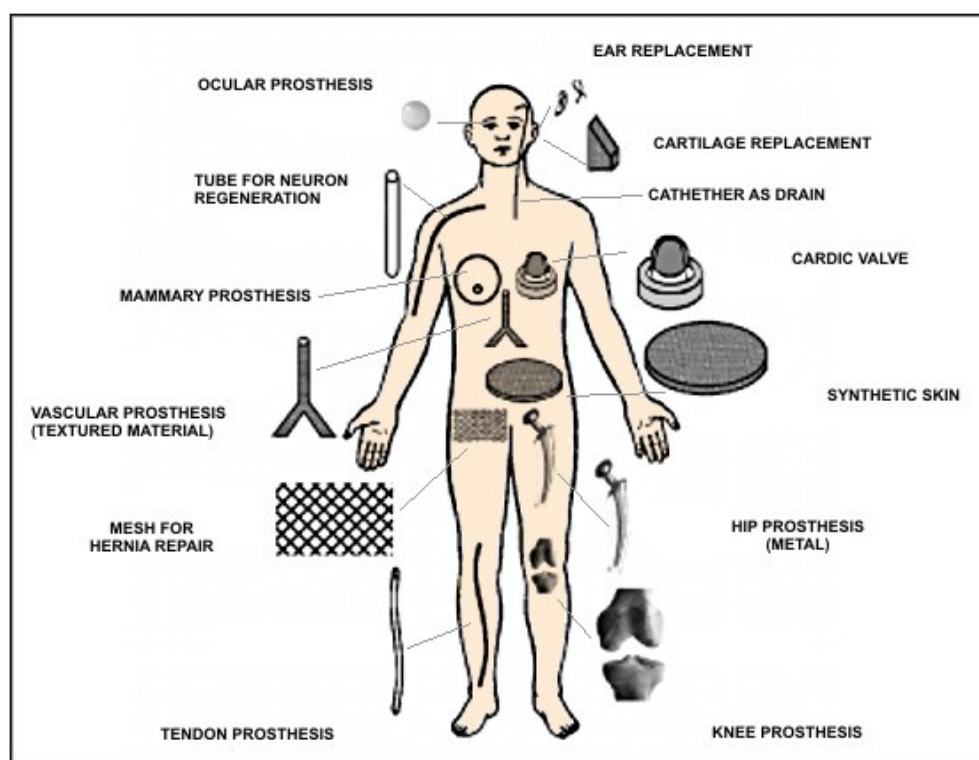


Figura 2.1. Esempi di dispositivi medici [1].

I biomateriali possono essere utilizzati sia in impianti permanenti o protesi, sia in dispositivi che sono a contatto con il corpo umano per un periodo di tempo limitato. Alcuni dispositivi medici possono essere utilizzati identicamente per qualsiasi paziente ne abbia necessità, altri invece devono essere realizzati per il singolo caso clinico, con forma, dimensioni e caratteristiche individuali; questo

aumenta la difficoltà della progettazione e della scelta dei materiali.

Le principali situazioni che richiedono l'applicazione di un dispositivo medico sono:

- gravi difetti congeniti che danno luogo ad insufficienze funzionali;
- difetti dello sviluppo con conseguenze funzionali;
- patologie che causano danni irreversibili ai tessuti;
- atrofia tessutale o graduale mancanza di rigenerazione dei tessuti;
- tumori che necessitano di una rimozione chirurgica;
- sostegno ai tessuti durante la cicatrizzazione;
- rilascio di farmaci in maniera controllata;
- compensazione di problemi psicologici ed estetici.

Le prestazioni dei materiali impiegati in campo medico sono valutate in base alla loro biofunzionalità e biocompatibilità. La biofunzionalità si riferisce alle proprietà che un dispositivo deve avere per riprodurre una determinata funzione dal punto di vista fisico e meccanico; la biocompatibilità, invece, alla capacità del dispositivo di continuare a svolgere quella determinata funzione durante tutta la vita utile dell'impianto ed è strettamente connessa, quindi, alle interazioni tra i biomateriali ed i tessuti con cui vengono a contatto. La causa principale dell'insuccesso clinico dei dispositivi medici risiede nella biocompatibilità. Le interazioni biomateriale-tessuto possono dar luogo a processi degradativi nei materiali ed a reazioni di intolleranza nell'organismo, specialmente per i componenti destinati ad operare per tempi lunghi in ambienti aggressivi e sotto l'azione di carichi ciclici. La biocompatibilità, inoltre, non è funzione solo delle caratteristiche e delle proprietà dei materiali (proprietà chimiche, rugosità, energia e carica superficiale, stabilità chimica, proprietà dei prodotti di degradazione) e dei dispositivi impiantati (dimensioni, forma, rigidità), ma anche delle condizioni dell'organismo ospite (tipo di tessuto, luogo di impianto, età, sesso, condizioni generali di salute, assunzione di farmaci) e della tecnica chirurgica.

Due sono quindi le caratteristiche principali che vanno considerate nella valutazione della biocompatibilità di un materiale: la resistenza del materiale ai processi di degradazione e gli effetti che i prodotti di tali processi hanno sui tessuti [2,3,4].

2.1.1. POLIMERI IN MEDICINA

Numerosi polimeri vengono attualmente impiegati in dispositivi di uso medico. I campi in cui trovano maggiore applicazione sono il controllo del flusso sanguigno o di altri fluidi corporei (cateteri, cannule, drenaggi), la ricostruzione di superfici articolari nelle protesi ortopediche, le lenti a contatto ed intraoculari, le membrane per la somministrazione di farmaci, i rivestimenti per sensori e dispositivi elettronici impiantabili, la rigenerazione tissutale, il riempimento di cavità, le valvole cardiache, le protesi vascolari, gli organi bioartificiali (Tabella 2.1).

I principali vantaggi che i polimeri presentano rispetto alle altre classi di materiali sono una maggiore biocompatibilità (dovuta generalmete alla loro inerzia chimica), la possibilità di modificarne ampiamente composizione e proprietà fisico-meccaniche, bassi coefficienti di attrito, facile lavorabilità anche in forme e strutture complesse, possibilità di modificarne chimicamente e fisicamente la superficie. Gli svantaggi principali sono la presenza di sostanze che possono essere rilasciate nell'organismo (monomeri, catalizzatori, additivi, ecc.), la facilità di assorbimento di acqua e biomolecole dall'ambiente circostante (anche nelle applicazioni in cui non è richiesto), le basse proprietà meccaniche e, in alcuni casi, la difficoltà di sterilizzazione. Le proprietà finali del dispositivo dipendono sia dalla struttura molecolare intrinseca del polimero che dai processi chimici e fisici a cui è sottoposto e possono essere ampiamente modulate intervenendo sulle condizioni operative di tali processi e sulla reazione di polimerizzazione [2,3,4].

Tabella 2.1. Materiali polimerici maggiormente impiegati in campo medico e loro principali applicazioni.

POLIMERO	SIGLA	APPLICAZIONI
Acido poliglicolico	PGA	Suture biodegradabili, placche e chiodi intramidollari, placche di frattura degradabili
Acido polilattico	PLA	Placche e chiodi intramidollari, legamenti artificiali, placche di frattura degradabili, drug delivery, impianti dentali
Copolimeri butadiene-stirene	BS	Articoli monouso, imballaggi
Copolimeri stirene-acrilonitrile	SAN	Aspiratori per sangue, componenti di emodializzatori
Poliacrilonitrile	PAN	Membrane per emodialisi, guanti monouso

Poliammidi	PA	Suture
Policarbonato	PC	Membrane per ossigenatori ed emodialisi, linee ematiche
Poliidrossietilmetacrilato	PHEMA	Lenti a contatto, legamenti artificiali, materiali dentali
Polietilene	PE	Film, imballaggi, cateteri, tubi, connettori, drug delivery
Polietilene (pm>2000000)	UHMWPE	Superfici articolari, fibre per compositi, placche ortopediche, rivestimenti steli femorali
Polietilentereftalato	PET	Protesi vascolari, anelli di sutura, suture, passaggi transcutanei, componenti di protesi valvolari, componenti di assistenza cardiaca
Polimetilmetacrilato	PMMA	Cemento osseo, lenti a contatto, lenti intraoculari, membrane per emodialisi, materiali dentali
Polipropilene	PP	Imballaggi sterili, siringhe, connettori, membrane per ossigenatori, fili di sutura, anse di supporto lenti intraoculari
Polisolfone	PSU	Membrane per ossigenatori ed emodialisi
Politetrafluoroetilene	PTFE	Protesi vascolari, componenti di protesi valvolari, legamenti artificiali rivestimenti
Poliuretani	PURs	Cateteri, cannule, tubi endotracheali, protesi valvolari, membrane per emodialisi, sacche ventricolari, rivestimenti emocompatibili, dispositivi di assistenza cardiaca, drug delivery, protesi vascolari
Polivinilcloruro	PVC	Sacche per sangue, tubi endotracheali, guanti monouso, cateteri, accessori monouso
Siliconi		Cateteri, drenaggi membrane, pelle artificiale, impianti per chirurgia plastica, protesi vascolari, protesi tracheali, rivestimenti, infusori, componenti di protesi valvolari

2.1.2. BIODEGRADAZIONE E RISPOSTA IMMUNITARIA

Il corpo umano può essere considerato un ambiente acquoso altamente aggressivo, la cui temperatura è stabilizzata a 37°C ed il cui pH è mantenuto ad un valore medio pari a 7.4. I materiali impiantati sono dunque soggetti a processi di degradazione. La soluzione salina presente nel corpo umano è, infatti, un eccellente elettrolita che facilita i meccanismi di corrosione elettrochimica dei

metalli e di idrolisi dei materiali organici. Nei tessuti, inoltre, sono presenti numerose molecole e cellule che hanno la capacità di catalizzare determinate reazioni chimiche o di isolare, attaccare e distruggere rapidamente i corpi estranei. La maggior parte dei polimeri utilizzati in dispositivi medici consente, oltretutto la diffusione dell'acqua all'interno della struttura molecolare che può quindi subire processi di idrolisi. La biodegradazione dei materiali polimerici non è semplicemente la conseguenza dell'assorbimento di acqua: vanno considerati molti altri fattori che ne aumentano notevolmente la velocità in vivo. Numerose cellule, infatti, producono enzimi che catalizzano alcune reazioni degradative con conseguente alterazione della struttura molecolare dei materiali impiantati. Alcune cellule specifiche (i fagociti) inoltre migrano verso le zone coinvolte in fenomeni di irritazione ed infiammazione per la presenza di corpi impiantati e si adsorbono sulla loro superficie, riconosciuta come estranea dagli anticorpi, attivando processi di degradazione dei materiali polimerici. Si riscontra inoltre una risposta dell'organismo a livello locale nella zona circostante il dispositivo impiantato. Questa risposta si articola in due fasi: inizialmente si sviluppa un'infiammazione poichè la prima reazione del meccanismo di difesa dell'organismo ad un corpo estraneo è una modifica della struttura microvascolare e, quindi, della natura dei tessuti. Successivamente si assiste ad un processo riparativo in cui i tessuti tentano di risanare strutturalmente e funzionalmente il danno. In generale se il materiale impiantato è tossico, questo provoca la necrosi del tessuto circostante; se non è tossico ed inerte dal punto di vista biologico si forma intorno all'impianto una capsula fibrosa se, infine, il materiale è bioattivo, stimola una precisa risposta biologica e viene progressivamente integrato con il tessuto circostante.

Nella maggior parte dei casi comunque il materiale subisce una qualche forma di degradazione ed i prodotti di questo processo vengono rilasciati nei tessuti influenzando i meccanismi di difesa dell'organismo e l'attività cellulare. Questi prodotti, se non sono biologicamente attivi e non sono tossici, vengono eliminati con i normali processi metabolici, se però la loro concentrazione raggiunge valori elevati possono accumularsi localmente o in organi bersaglio (milza, reni, linfonodi) dando luogo a patologie acute o croniche. Nel caso di prodotti tossici, invece, si sviluppa un'infiammazione persistente ed una interruzione dei processi riparativi fino ad arrivare, in alcuni casi, alla necrosi tessutale di alcune zone. I prodotti dei processi di degradazione, inoltre, possono restare confinati nella zona

di rilascio, con effetti solo locali, o possono diffondere nel sistema vascolare ed avere così effetti anche su organi e tessuti lontani dalla zona di rilascio [5].

2.2. EMBOLIZZAZIONE ARTERIOSA

La chirurgia endovascolare è attualmente una delle strategie principali nel trattamento di patologie neurovascolari come malformazioni arterovenose cerebrali e spinali (AVMs), fistole arterovenose, aneurismi cerebrali. La pratica interventistica per il trattamento di queste patologie consiste nell'introduzione di un microcatetere per via femorale, brachiale, fino alla lesione, o in prossimità di questa, e nella somministrazione di un materiale embolizzante che occlude la lesione o sopprime l'apporto vascolare prima di procedere con l'embolizzazione. L'introduzione di un mezzo di contrasto attraverso il catetere permette di eseguire un esame diagnostico (angiografia) per la precisa valutazione del tipo e grado di vascolarizzazione della lesione. Se da tale studio emerge la fattibilità della procedura, viene introdotto il materiale embolizzante che occluderà i vasi patologici (figura 2.2.).

L'embolizzazione endovascolare transcateretere è attualmente considerata l'opzione terapeutica primaria nella cura delle malformazioni vascolari, è comunemente applicata come intervento preoperatorio a scopo emostatico e sta trovando una sempre maggiore applicazione nel trattamento delle lesioni tumorali e pseudo-tumorali dell'osso o delle parti molli.

La procedura può dunque assumere un significato:

- curativo, nelle lesioni benigne ipervascolarizzate;
- adiuvante, in fase chirurgica per ridurre l'apporto ematico e di conseguenza il rischio operatorio;
- palliativo, per controllare l'aggressività della lesione e limitare il dolore.

Numerosi biomateriali sono stati finora utilizzati nelle tecniche di embolizzazione; tipicamente si impiegano soluzioni polimeriche di poli etilene-co-vinilalcol (Onyx™), acetato di cellulosa, copolimeri metacrilici o poli vinilacetato. Questi, tuttavia, contengono solventi organici come dimetil solfossido o etanolo che risultano essere notevolmente tossici per i tessuti circostanti (il DMSO può addirittura danneggiare il materiale plastico di cui è costituito il microcatetere usato per la sua introduzione). Per superare questa

problematica, da una decina di anni a questa parte, si è proposto l'impiego di adesivi cianoacrilici nel trattamento delle malformazioni arterovenose, non prevedendo questi materiali l'uso di solventi e polimerizzando rapidamente a contatto con il sangue [7,8].



Figura 2.2. A.L'angiografia mostra la presenza di un aneurisma renale. B.Dopo l'embolizzazione l'aneurisma è stato occluso preservando il funzionamento delle altre arterie [6]

2.3. ADESIVI TISSUTALI

Gli adesivi tissutali (o colle chirurgiche) possono essere genericamente definiti come quelle sostanze la cui polimerizzazione consente di unire tessuti e di impedire la perdita o l'ingresso di fluidi nell'area danneggiata. Idealmente la sostanza dovrebbe unire i tessuti per consentirne la guarigione, al termine della quale, l'adesivo dovrebbe spontaneamente degradarsi evitando la permanenza di corpi estranei.

Sono essenzialmente tre gli impieghi degli adesivi tissutali:

- uso emostatico;
- uso sigillante;
- somministrazione controllata di farmaci (*drug delivery*).

E' importante sottolineare come l'ampio mercato degli adesivi tissutali (ogni anno nei soli USA si verificano 7 milioni di lacerazioni traumatiche e tra i 26 e i 90 milioni di interventi chirurgici richiedenti sutura) sia sempre alla ricerca di

prodotti altamente performanti, semplici e rapidi da applicare, indolori e senza necessità di rimozione.

Le colle chirurgiche devono quindi presentare alcuni requisiti essenziali:

- possedere una adeguata forza di adesione;
- polimerizzare in ambiente acquoso;
- essere biocompatibili;
- gradualmente riassorbirsi senza causare l'insorgenza di risposta immunitaria.



Figura 2.3. Applicazione di adesivo suturante in una lacerazione al collo [9].

La biocompatibilità deve essere valutata molto attentamente prima di qualsiasi applicazione clinica. Nessun singolo test può predire la biocompatibilità perciò è necessario un approccio multiparametrico. Lo standard EN 30993 suggerisce che gli effetti di questa tipologia di dispositivi medici sia valutata in base a: fase plasmatica di coagulazione, conta di piastrine, leuciti ed eritrociti. La fase plasmatica di coagulazione può essere valutata misurando *l'activated partial thromboplastin time* (APTT) e l'attività delle prototrombine e determinando la concentrazione di fibrogeno nel plasma dopo il contatto con la colla. Il conteggio delle piastrine permette di valutare l'adesione delle piastrine al materiale testato. Il conteggio totale e differenziale dei leucociti permette di valutare come i globuli bianchi del sangue siano condizionati dal contatto con il nuovo materiale.

Gli adesivi utilizzati attualmente nelle pratiche chirurgiche sono: i sigillanti

fibrinici, i derivati dell'albumina, i cianoacrilati, gli idrogeli di polietilenglicole (PEG) e i composti a base di collagene. Nonostante la loro elasticità, le colle fibriniche, gli adesivi tissutali biologici più utilizzati, non presentano nè una significativa resistenza a trazione nè una ottimale forza di adesione e richiedono oltretutto di essere applicate su substrati asciutti. Al contrario i cianoacrilati garantiscono adeguate proprietà adesive e meccaniche (anche se inferiori rispetto alla maggior parte delle suture chirurgiche) per le applicazioni su tessuti viventi, sono facili e veloci da applicare, si deteriorano spontaneamente in 5-10 giorni senza richiedere rimozione chirurgica, nelle applicazioni esterne conseguono un risultato estetico accettabile e mostrano inoltre interessanti proprietà antibatteriche (soprattutto contro le specie Gram +) [10, 11].

2.4. CIANOACRILATI

I cianoacrilati sono, generalmente, liquidi in grado di polimerizzare in presenza di acqua e tracce di composti leggermente basici (come il sangue) e che si comportano come adesivi o colle dando luogo alla formazione di film. Furono sintetizzati per la prima volta da Ardis nel 1949 e dieci anni dopo Coover (Eastman Kodak) ne descrisse le proprietà adesive ed ipotizzò un loro utilizzo come adesivi chirurgici.

La polarità del gruppo estereo è estremamente modulabile in funzione della sostituzione e contribuisce significativamente alle proprietà chimiche, fisiche e biologiche del materiale. I cianoacrilati a catena corta come il metil e l'etil cianoacrilato, risultano, ad esempio, estremamente tossici per i tessuti e vengono per questo utilizzati esclusivamente per applicazioni non mediche mentre i derivati a catena lunga mostrano una progressiva perdita della tossicità associata. La catena alchilica è anche responsabile del tempo di indurimento e della velocità di degradazione del polimero: per lunghe catene alchiliche si riscontrano tempi di polimerizzazione maggiori associati a calori di reazione inferiori (aspetto positivo nelle applicazioni mediche in quanto direttamente legati alla sensazione dolorosa).

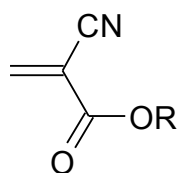


Figura 2.4. Struttura chimica degli alchil cianoacrilati

I cianoacrilati sono comunemente utilizzati in campo medico come:

- adesivi tissutali
- materiali embolizzanti

Le eccellenti caratteristiche adesive di questi materiali li rendono, in particolare, idonei come adesivi tissutali e costituiscono oggi una vantaggiosa alternativa ai dispositivi di sutura classici. L'adesione dei cianoacrilati si snoda attraverso due meccanismi indipendenti: la formazione di interazioni molecolari forti attraverso legami covalenti con i gruppi funzionali delle proteine e la penetrazione del materiale nelle fenditure dei tessuti.

Grazie alla loro bassa viscosità i cianoacrilati sono facilmente dispensabili attraverso microcateteri nelle pratiche di embolizzazione arteriosa anche se, non essendo radiopachi, necessitano di essere additivati con polveri metalliche come tantalio, tungsteno o oli iodati.

Esistono naturalmente aspetti negativi non trascurabili per quanto riguarda l'impiego chirurgico dei cianoacrilati. Tutti i cianoacrilati possono infatti dare degradazione a formaldeide e cianoacetato che si dissolvono nel sangue e a causa della loro elevata permeabilità in tutti i tessuti diffondono velocemente nei tessuti cerebrali o nel liquido cerebro-spinale. La reazione infiammatoria è inoltre ulteriormente aggravata dall'elevato calore di polimerizzazione. Per quanto riguarda l'uso esterno dei cianoacrilati il rilascio di formaldeide non comporta alcun pericolo avvenendo solo molto tempo dopo la rimarginazione della ferita [12,13,14].

2.4.1. POLIMERIZZAZIONE DEI CIANOACRILATI

I monomeri cianoacrilici si presentano generalmente come liquidi a bassa viscosità, difficili da maneggiare a causa della loro estrema reattività dovuta all'effetto elettron-attrattore del gruppo nitrile e del gruppo estereo che rendono il doppio legame suscettibile dell'attacco da parte di nucleofili anche deboli. I monomeri tendono infatti a polimerizzare molto rapidamente in presenza di umidità (come l'acqua dei tessuti corporei) o di tracce di composti leggermente basici (come il sangue). Le proprietà adesive possono essere modulate variando la lunghezza del gruppo alchilico mentre l'uso di opportuni inibitori permette di ritardare la polimerizzazione. Stabilizzanti, plasticizzanti e altri additivi migliorano viscosità, stabilità termica e resistenza meccanica e in genere arrivano

a raggiungere il 10% della formulazione del prodotto finale.

La polimerizzazione dei cianoacrilati può teoricamente decorrere secondo un meccanismo a catena per via:

- radicalica
- anionica
- zwitterionica

In realtà la via anionica e quella zwitterionica sono largamente favorite perché rapidamente attivate a temperatura ambiente. In questo particolare caso possono fungere da iniziatori anioni, basi deboli come alcoli, acqua ed amminoacidi presenti nei tessuti viventi. Il fatto che gli amminoacidi delle proteine possano fungere da iniziatori di reazione giustifica dunque il forte legame di adesione che si instaura tra i cianoacrilati e i tessuti [15].

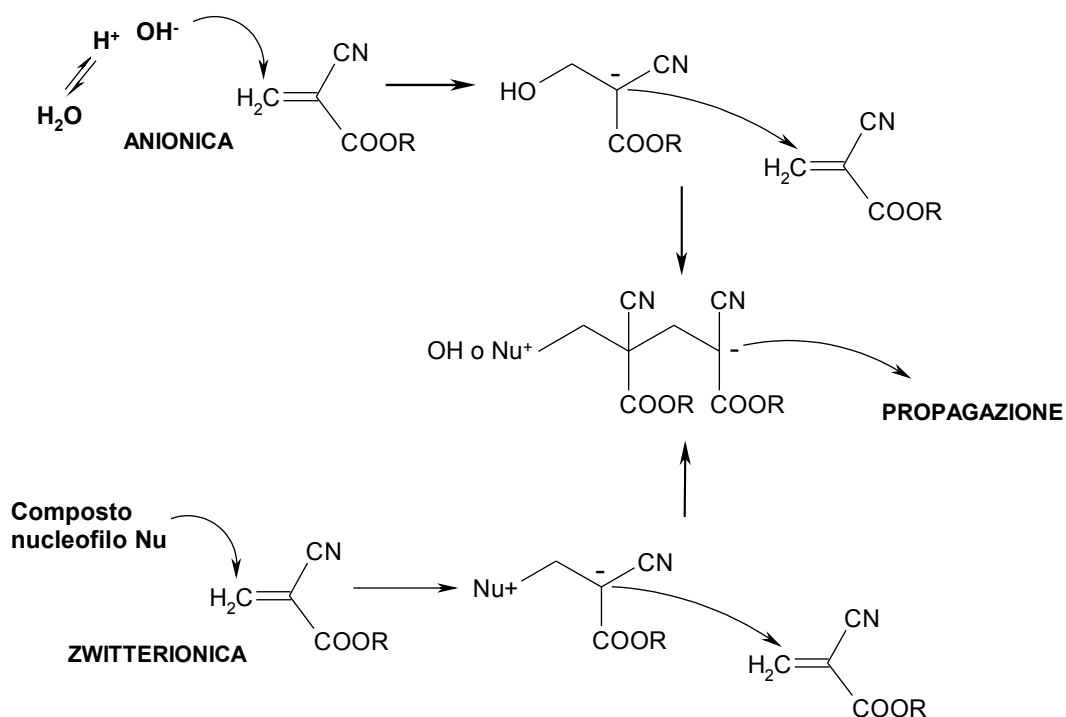


Figura 2.5. Meccanismo di polimerizzazione degli alchil-cianoacrilati [21]

2.4.2 POLIMERIZZAZIONE ANIONICA

Una polimerizzazione a catena prevede la crescita di una catena A_n^* , dotata di un centro reattivo, per successive addizioni di unità monomeriche.

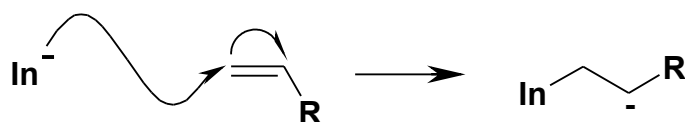


Le principali polimerizzazioni a catena sono le polimerizzazioni radicaliche, in cui il centro attivo è un radicale, e la polimerizzazioni ioniche. Si definiscono

polimerizzazioni anioniche quei processi di poliaddizione nei quali i centri attivi responsabili della propagazione manifestano una reattività nucleofila. La formazione di questi centri attivi implica l'uso di monomeri con strutture capaci di sostenere la presenza di una carica negativa, cioè con un comportamento elettrofilo o con una struttura capace di delocalizzare la carica. Un sistema di polimerizzazione anionica è quindi costituito da un iniziatore nucleofilo (base di Lewis) e da un monomero a carattere elettrofilo (acido di Lewis) in un solvente non polare o debolmente basico. E' indispensabile evitare la presenza di impurezze a carattere acido che fungono da terminatori di polimerizzazione a causa della loro capacità di eliminare le specie propaganti.

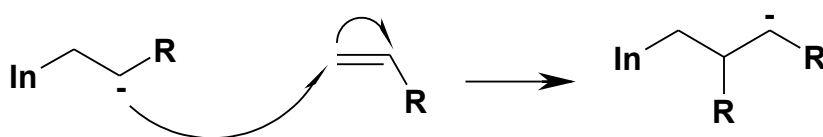
Le polimerizzazioni anioniche si svolgono secondo un meccanismo costituito da tre fasi distinte:

- **reazione di iniziazione**

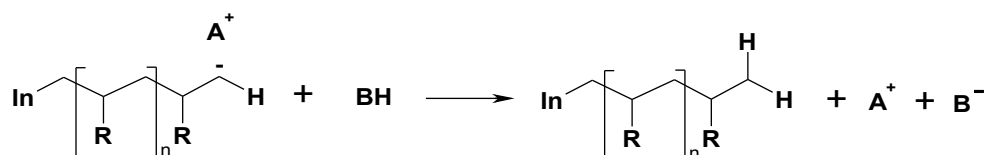


l'iniziatore In, nel caso degli adesivi cianoacrilici, è costituito da anioni come I⁻, CH₃COO⁻, Br⁻ e OH⁻, basi deboli come alcoli, acqua ed amminoacidi.

- **reazione di propagazione**



- **reazione di terminazione**



la reazione di terminazione della catena in propagazione avviene tramite l'interazione con un donatore di protoni della molecola polimerica carica

negativamente. E' bene sottolineare che in molte polimerizzazioni anioniche, condotte in appropriate condizioni (mancanza di solvente o solvente poco polare), la reazione di terminazione non si verifica. Il polimero continua quindi a esistere in forma anionica e viene definito come "polimero vivente" [16].

Pe quanto riguarda la polimerizzazione zwitterionica, il meccanismo è analogo anionico. Si ricorda che per zwitterione si intende una molecola complessivamente neutra dotata sia di una carica positiva sia di una carica negativa, come ad esempio gli amminoacidi delle proteine che possiedono gruppi amminici e gruppi carbossilici.

2.4.3. DEGRADAZIONE DEI CIANOACRILATI

La principale via di degradazione degli alchil cianoacrilati è quella che prevede una reazione retro-Knoevenagel con formazione di formaldeide e cianoacetato. L'idrogeno metilenico della catena polimerica risulta fortemente attivato per effetto dei gruppi elettron-attrattori adiacenti: l'acqua dei tessuti può indurre l'idrolisi del cianoacrilato.

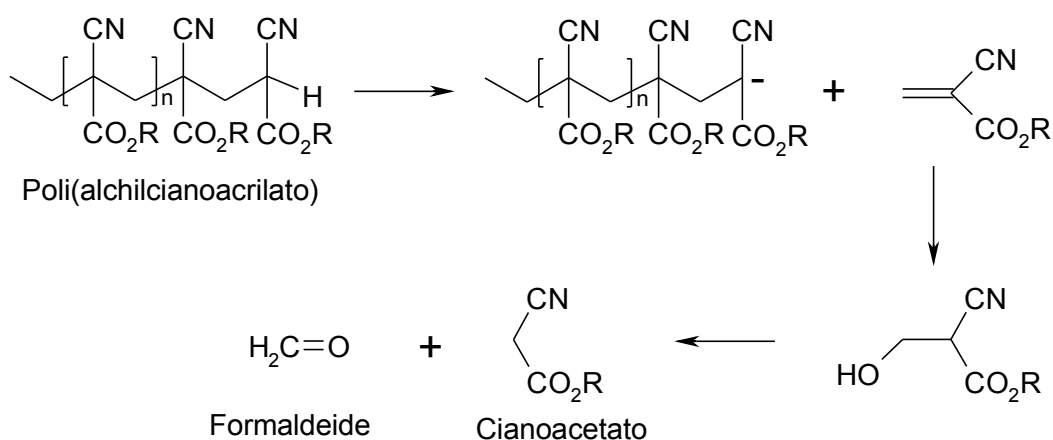


Figura 2.6. Meccanismo di degradazione dei policianoacrilati mediante retro-Knoevenagel [17]

E' stato anche proposto uno schema di degradazione che prevede l'idrolisi del gruppo estereo con produzione di acido poli-cianoacrilico e alcol.

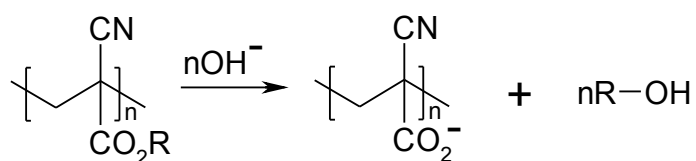


Figura 2.7. Meccanismo di degradazione dei polialchil-cianoacrilati mediante idrolisi [17]

2.4.4. CIANOACRILATI PER EMBOLIZZAZIONE ARTERIOSA

n-BUTIL CIANOACRILATO (*n*BCA)

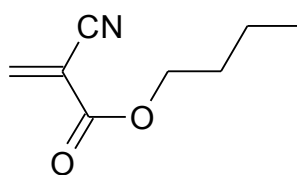


Figura 2.8. Struttura chimica del n-BCA

E' il cianoacrilato ad uso embolizzante più utilizzato in Europa e negli USA. Con il nome commerciale di *HistoacrylTM*; *TrufillTM*, polimerizza praticamente istantaneamente a contatto con i fluidi biologici e presenta una velocità di degradazione piuttosto bassa. La sua forza adesiva è tuttavia talmente elevata da causare, talvolta, l'adesione tra la punta del microcatetere e l'arteria. Nelle formulazioni commerciali la velocità di polimerizzazione e la forza adesiva vengono quindi abbassate aggiungendo al monomero olio di semi di papavero iodato (*LipiodolTM*, *EthiodolTM*) che funge oltretutto da mezzo di contrasto, non essendo l'nBCA radiopaco. La radiopacità viene ulteriormente aumentata aggiungendo polveri di tantalio o tungsteno che, tuttavia, presentano l'inconveniente di essere iniziatori di reazione e devono essere quindi aggiunti solo poco prima dell'uso [18]. Come è inoltre possibile evincere dalla tabella 2.2., l'utilizzo del n-BCA presenta una serie di vantaggi rispetto ai materiali embolizzanti a base di polivinilalcol (come ad esempio *OnyxTM*). E' interessante notare come l'uso di n-BCA conduca ad una drastica diminuzione delle complicazioni emorragiche, soprattutto per quanto riguarda le emorragie post-operatorie [19].

Tabella 2.2. Complicazioni emorragiche operatorie: confronto tra nBCA e PVA [19]

	n-BCA (54 pazienti)	PVA (52 pazienti)
Complicazioni emorragiche totali	7 (13%)	15 (29%)
Perforazione dei vasi con catetere coassiale da 3 1,9 Fr	1 (2%)	3 (6%)
Perforazione dei vasi con catetere flottante	0	1 (2%)
Emorragie intracerebrali prechirurgiche post-embolizzazione	4 (7%)	3 (6%)
Emorragie post-operatorie	2 (4%)	8 (15%)

2-ESIL CIANOACRILATO

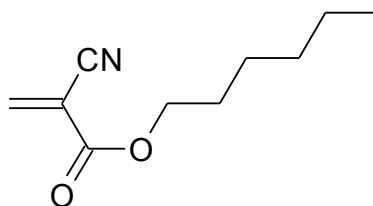


Figura 2.9. Struttura chimica del 2-esil cianoacrilato

E' uno dei monomeri cianoacrilici ad uso medico più recentemente introdotti sul mercato, studiato per ovviare alle problematiche di adesione catetere-arteria riscontrabili con l'nBCA. E' commercialmente noto con i nomi di *NeuracrylMTM*, *NeuracrylM2TM* (addizionato di Lipiodol).

Come si può osservare dalla figura 2.7., il NeuracrylM richiede una forza di estrazione del catetere decisamente inferiore rispetto all'Histoacryl (prodotto a base di nBCA); l'addizione di Lipiodol diminuisce ulteriormente la forza di adesione rendendo il prodotto molto performante per le pratiche di embolizzazione [18].

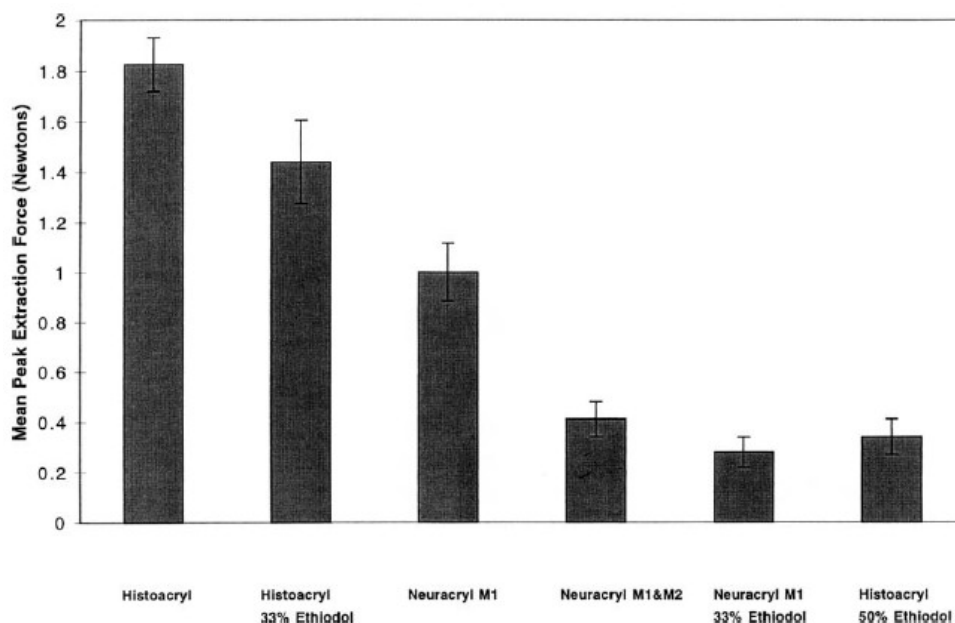


Figura 2.10. Forze medie di estrazione di microcateteri dal fondo di pozzetti con sangue umano eparinato per alcune miscele di cianoacrilati [18].

ISOBUTIL-2-CIANOACRILATO (IBCA)

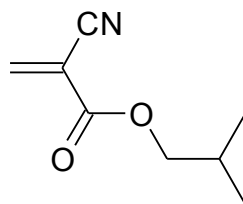


Figura 2.11. Struttura chimica del isobutil-2-cianoacrilato

E' stato uno dei primi monomeri utilizzati per embolizzazioni al pari del nBCA. Come nBCA presenta una bassa viscosità e velocità di polimerizzazione elevate non appena viene a contatto con acqua o sangue. Non è tossico ma nei test sugli animali ha portato a risposta infiammatoria [8].

ISOSTEARIL-2-CIANOACRILATO (ISCA)

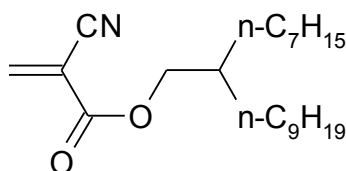


Figura 2.12. Struttura chimica del isostearil-2-cianoacrilato

L'isostearil-2-cianoacrilato è stato sviluppato una decina di anni fa allo scopo di ottenere un materiale embolizzante che polimerizzasse abbastanza rapidamente a contatto con il sangue ma che, al contrario di nBCA e IBCA non dimostrasse forte adesione al microcatetere. Come si evince dalle figure 2.10. e 2.11. miscelando ISCA con nBCA si ottiene un materiale con caratteristiche intermedie tra i due prodotti: il tempo di polimerizzazione è piuttosto basso ma, allo stesso tempo, la forza di adesione catetere-arteria risulta decisamente inferiore rispetto a quella del nBCA [8].

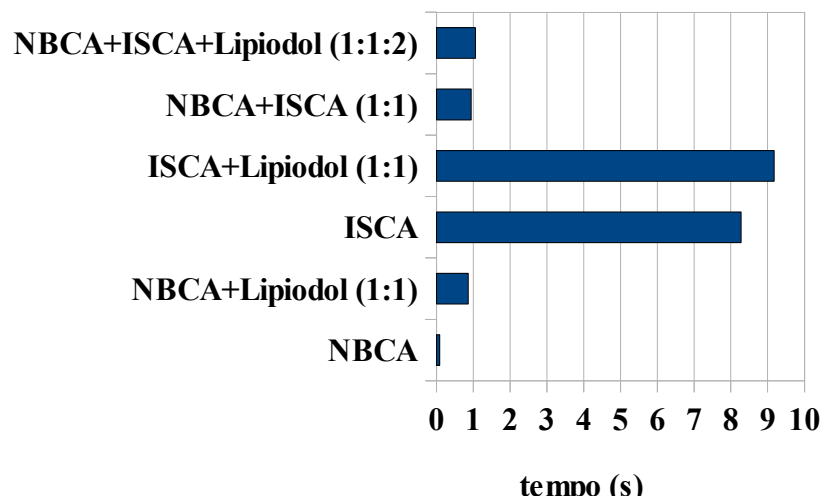


Figura 2.13. Confronto dei tempi di polimerizzazione di nBCA e ISCA con e senza aggiunta di Lipiodol [8]

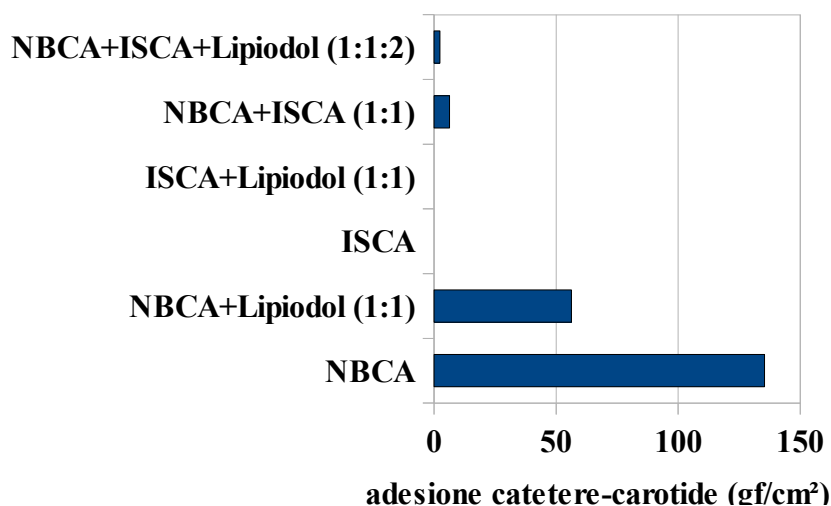


Figura 2.14. Confronto delle forze di adesione catetere-carotide di maiale di nBCA e ISCA con e senza aggiunta di Lipiodol [8]

2.4.5 CIANOACRILATI COME ADESIVI TISSUTALI

2-OCTIL CIANOACRILATO (OCA)

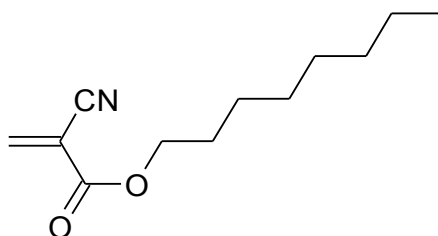


Figura 2.15. Struttura chimica del 2-octil cianoacrilato

Questo prodotto, commercialmente noto come Dermabond™, è stato approvato dalla FDA nel 1998 per riparare lacerazioni e incisioni al posto dei metodi di

sutura classici. Presenta una viscosità maggiore di quella dell'acqua, aspetto questo che lo rende particolarmente idoneo per le applicazioni cutanee. La lunga catena alchilica rende questo cianoacrilato meno reattivo ma più flessibile e più resistente dei suoi omologhi a catena corta. Anche la velocità di degradazione risulta decisamente inferiore, aspetto questo che si riflette in una risposta infiammatoria dei tessuti minima [13,20,21].

GLUBRANTM e GLUBRAN2TM

Glubran e *Glubran2* sono i nomi commerciali delle colle chirurgiche prodotte e distribuite dalla General Enterprise Marketing (Lucca, Italia). I componenti di *Glubran* sono: etil cianoacrilato, butil acrilato e metacrilossisolfolano (che riduce l'adesività).

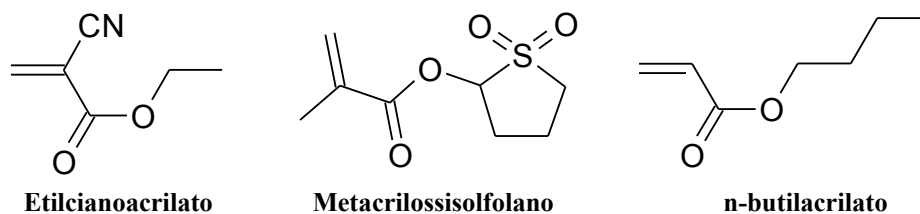


Figura 2.16. Componenti del Glubran

I componenti di *Glubran2* sono n-butil-2-cianoacrilato e metacrilossisolfolano.

Entrambe le colle presentano elevata velocità di polimerizzazione, altissima forza adesiva ed eccellenti proprietà emostatiche. A causa della tossicità dell'etil-2-cianoacrilato è tuttavia preferibile l'utilizzo del *Glubran2* rispetto al *Glubran*. [22]

3. RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 MONOMERI SINTETIZZATI

In questo lavoro di tesi si è affrontata la sintesi di quattro monomeri cianoacrilici: tre con catena esterea aromatica differentemente fluorurata e uno con catena esterea alifatica iodata.

Le proprietà dei monomeri cianoacrilici dipendono largamente dalla lunghezza e dalla complessità della catena alchilica. Derivati a catena corta e lineare presentano tempi di polimerizzazione molto bassi, elevata forza adesiva e tempi di degradazione molto brevi; derivati a catena lunga mostrano invece tempi di polimerizzazione più elevati, forza adesiva inferiore e tempi di degradazione piuttosto lunghi.

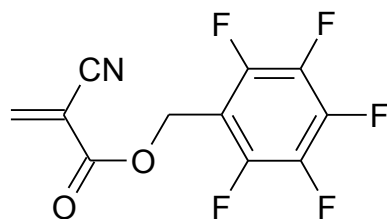
Nella prospettiva di utilizzare questi monomeri nelle pratiche interventistiche di embolizzazione arteriosa si richiedono al materiale essenzialmente tre caratteristiche:

- brevi tempi di polimerizzazione
- bassa forza adesiva catetere-arteria
- bassa velocità di degradazione

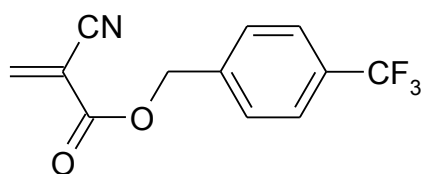
Gli adesivi cianoacrilici attualmente impiegati in campo chirurgico (nBCA o ISCA) risultano, tuttavia, essere sprovvisti di questi requisiti simultaneamente. Questi monomeri presentano infatti un comportamento non ottimale, in quanto bassi tempi di polimerizzazione coincidono con forze adesive molto elevate e viceversa.

Allo scopo di ottenere adesivi cianoacrilici ad elevata efficienza, in questo lavoro è stata affrontata la sintesi di monomeri cianoacrilici aromatici fluorurati. Si ipotizza infatti che il fluoro possa conferire al materiale proprietà antiaderenti (si prenda come modello il poli-tetrafluoroetilene) e che influisca quindi sulla forza adesiva catetere-arteria. D'altra parte, il forte effetto elettrone-attrattore del fluoro permette di attivare maggiormente il doppio legame acrilico, velocizzandone la polimerizzazione che avviene mediante meccanismo anionico. È stato inoltre sintetizzato un monomero con catena esterea alifatica iodata poiché la presenza dello iodio, che è radiopaco, dovrebbe permettere di rilevare il materiale angiograficamente senza la necessità di aggiungere alla formulazione additivi che ne modificherebbero le caratteristiche.

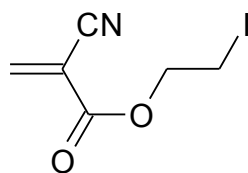
Qui di seguito sono riportati i quattro monomeri sintetizzati durante il periodo di tesi:



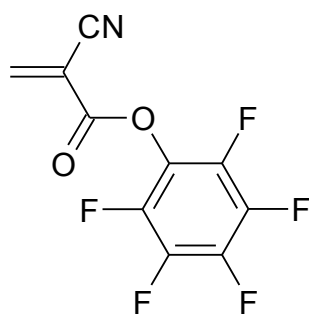
perfluorobenzil-2-cianoacrilato FE5



4-(trifluorometil)benzil-2-cianoacrilato FE14



2-iodoetil-2-cianoacrilato FE29



perfluorofenil-2-cianoacrilato FE59

E' stato inoltre preparato del n-butilcianoacrilato che sarà utile nelle prove di polimerizzazione e di adesione come campione di confronto, non potendo, per ragioni pratiche, disporre di campioni commerciali di Glubran.

In lavori precedenti erano stati sintetizzati i seguenti monomeri:

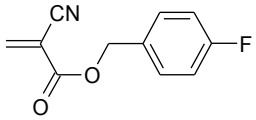
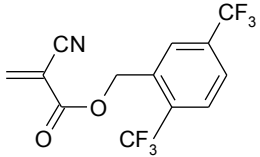
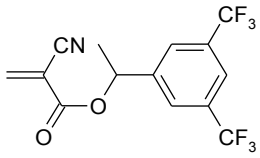
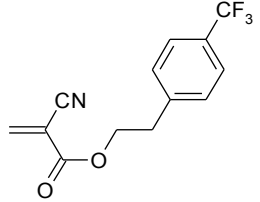
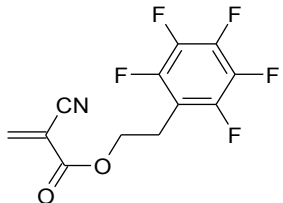
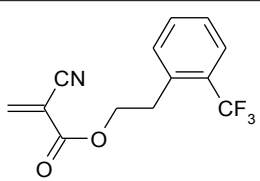
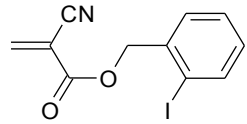
Monomero	Nome	Tempo di polimerizzazione*
	4-fluorobenzil-2-cianoacrilato	3,2s
	2,5-[bis(trifluorometil)benzil]- 2-cianoacrilato	0,9 s
	1-[3,5- bis(trifluorometil)fenil]etil-2- cianoacrilato	1,3 s
	4-(trifluorometil)fenil-etil-2- cianoacrilato	4,3 s
	perfluorofenil-etil-2- cianoacrilato	1,5 s
	2-(trifluorometil)fenil-etil-2- cianoacrilato	6,2 s
	2-iodobenzil-2-cianoacrilato	Solido, non applicabile

Tabella 3.1. Monomeri cianoacrilici preparati e testati in precedenti lavori (*i tempi sono stati determinati mediante il metodo riportato in letteratura, pagina 37).

L'adesivo commerciale Glubran2 era stato testato con gli stessi metodi utilizzati per i monomeri sopra riportati e aveva mostrato un tempo di polimerizzazione di

3,9 s e una forza di adesione di 12,4 kgf/cm².

I prodotti FE5 ed FE14, erano già stati preparati e testati in precedenza ed avevano mostrato eccellenti caratteristiche sia in termini di tempi di polimerizzazione, rispettivamente 0,5 s e 0,4 s, che in termini di forza di adesione catetere-arteria, 4,2 kgf/cm² e 11,6 kgf/cm². Poichè questi due prodotti erano stati sintetizzati tramite reazione di Knoevenagel, in questo lavoro ci si propone di sintetizzarli con il metodo di protezione e deprotezione di Diels Alder in modo da ottenerne maggiori quantitativi e testarli successivamente con un diverso metodo per la determinazione dei tempi di polimerizzazione

3.2. LA SINTESI

Il metodo più comune per la sintesi degli alchil cianoacrilati, proposto da Ardis nel 1949, prevede una condensazione di Knoevenagel di alchil cianoacetati con formaldeide in presenza di un catalizzatore basico (tipicamente piperidina). Questa via di sintesi, tuttavia, conduce, a causa dell'elevata reattività dei monomeri, alla formazione di catene oligomeriche che richiedono quindi uno step di depolimerizzazione a circa 200°C per ottenere i monomeri cianoacrilici (figure 3.4. e 3.5). Questo step risulta estremamente critico, sia per la bassa resa, sia perchè a 200°C l'oligomero, prima di depolimerizzare, va incontro a degradazione.

Numerose strade alternative a questo metodo di sintesi sono state proposte come, ad esempio la pirolisi del 3-alcossi-2-cianopropionato o la transesterificazione dell' etil-2-cianoacrilato.

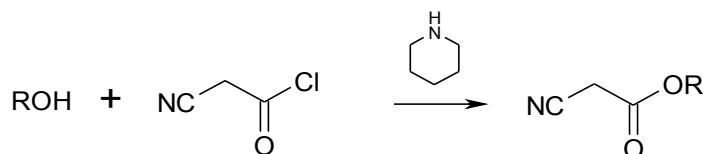


Figura 3.1. Reazione di formazione del cianoacetato

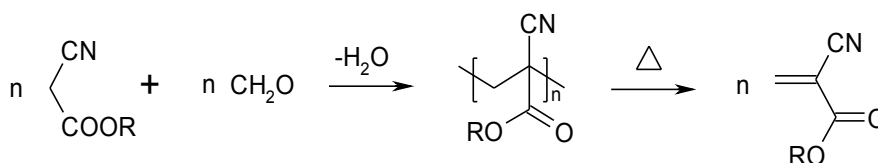
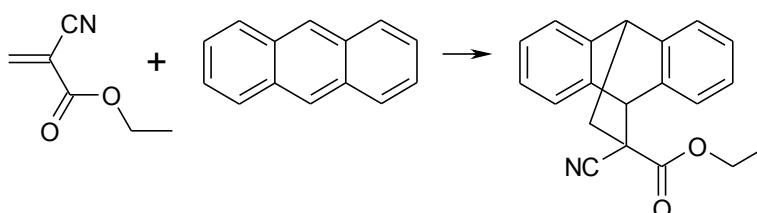


Figura 3.2. Condensazione di Knoevenagel e depolimerizzazione

I monomeri cianoacrilici considerati in questo elaborato prevedono una strategia di sintesi via protezione e deprotezione di Diels Alder dell' etil-2-cianoacrilato (SuperAttack™) con antracene. Questa via di sintesi consente di evitare lo stadio di depolimerizzazione grazie alla formazione di un addotto antracene-cianoacrilato che satura il doppio legame impedendone la polimerizzazione. Dopo aver compiuto le successive reazioni su questo intermedio, l'estere monomero può essere riottenuto riscaldando l'addotto in presenza di un dienofilo più reattivo, come l'anidride maleica, e di stabilizzanti. Un ulteriore vantaggio ricavabile da questo metodo di sintesi consiste nella possibilità di sintetizzare monomeri non accessibili o difficili da preparare tramite depolimerizzazione come, ad esempio, cianoacrilati difunzionali, tiocianoacrilati o monomeri perfluorurati. Inoltre, a differenza del metodo di sintesi via condensazione di Knoevenagel nel quale il prodotto nel nostro caso più costoso, cioè l'alcol fluorurato, veniva utilizzato già nei primi step di reazione, in questo nuovo metodo l'alcol viene coinvolto solo nel penultimo step di reazione, consentendo una massima efficienza di utilizzo del reagente [24,25,26].

Nel dettaglio la sintesi prevede cinque step di reazione:

- 1) Formazione dell'addotto dell'etil-2-cianoacrilato con antracene tramite reazione di Diels Alder.



Il doppio legame dell'etil-2-cianoacrilato (SuperAttack™) viene protetto con antracene facendo gorgogliare SO₂ per acidificare l'ambiente di reazione ed evitare la polimerizzazione del monomero.

In figura 3.3 è riportato lo spettro FTIR dell'etil-2-cianoacrilato. E' possibile osservare una banda intensa a 2988 cm⁻¹ dovuta allo stretching C-H e una a 1732 cm⁻¹ dovuta allo stretchig C=O. E' inoltre ben visibile la banda di stretching del nitrile a 2238 cm⁻¹ mentre gli assorbimenti del legame C-O si collocano a 1000-1300 cm⁻¹.

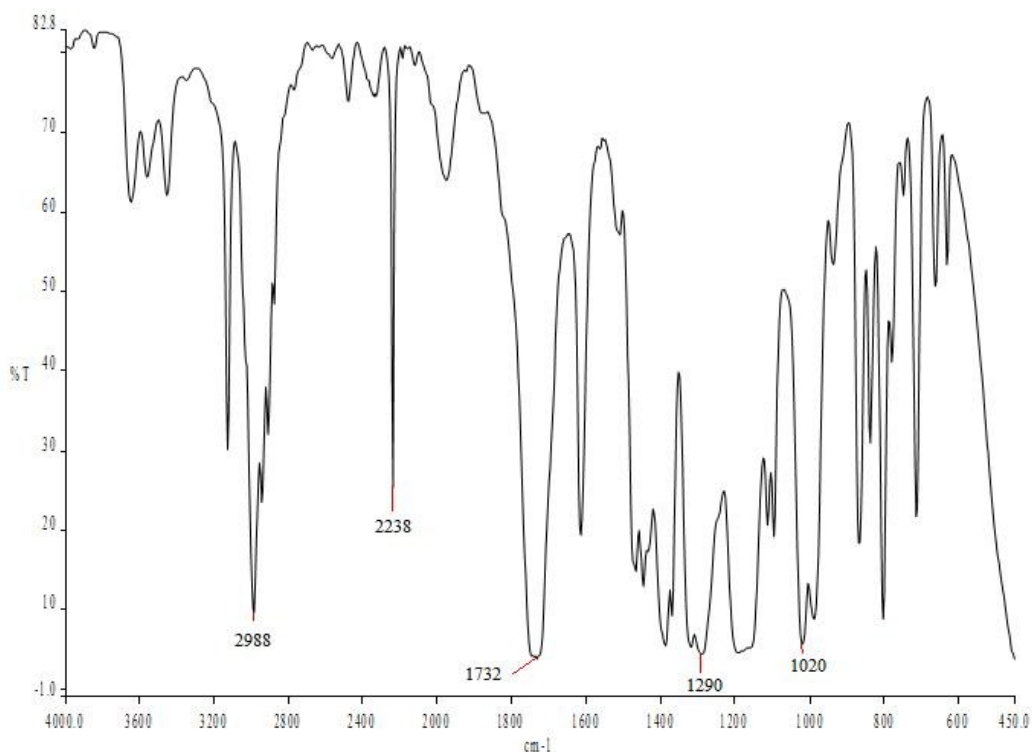


Figura 3.3 Spettro FTIR dell'etil-2-cianoacrilato

Di fondamentale importanza risulta la banda a 1600 cm⁻¹ tipica dello stretching C=C. Nella figura 3.4 infatti la banda non è praticamente più presente per effetto della protezione del doppio legame e la banda del legame C=O subisce uno spostamento a 1748 cm⁻¹ a causa della scomparsa di coniugazione.

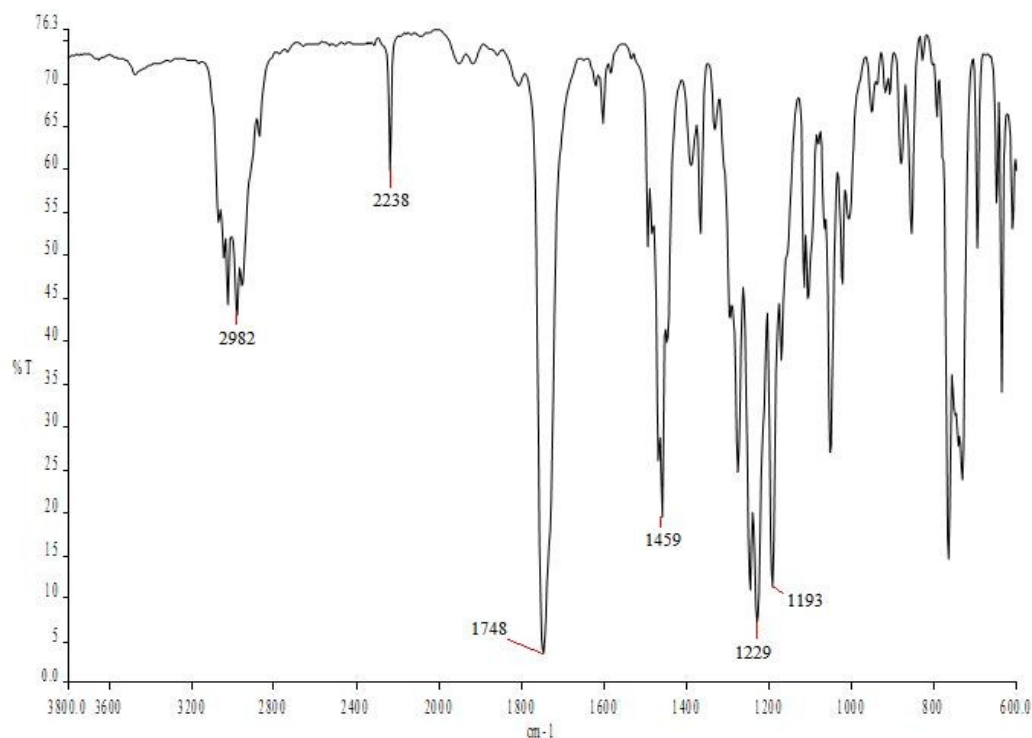
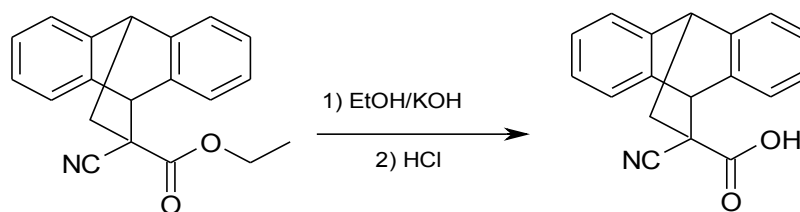


Figura 3.4 Spettro FTIR dell'etil-2-cianoacrilato protetto con antracene.

2) Idrolisi del gruppo estereo con formazione dell'acido carbossilico



Il gruppo estereo viene idrolizzato con KOH ed etanolo ottenendo l'acido carbossilico che precipita per successiva acidificazione con HCl.

In figura 3.5 è riportato lo spettro FTIR dell'acido carbossilico. E' possibile osservare lo spostamento del picco relativo allo stretching del gruppo carbonile che passa da 1748 cm^{-1} (figura 3.4) nell'estere a 1719 cm^{-1} nell'acido. Particolarmente intensa ed allargata diventa la banda intorno ai 3000 cm^{-1} per effetto dello stretching del legame O-H.

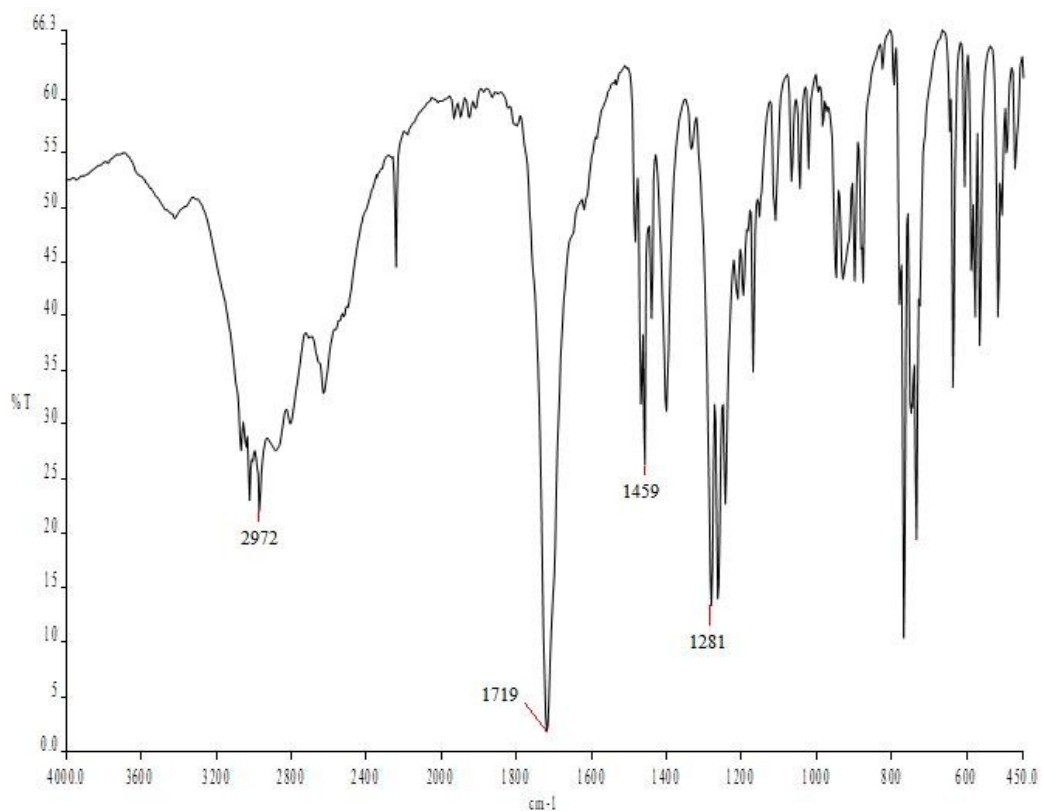
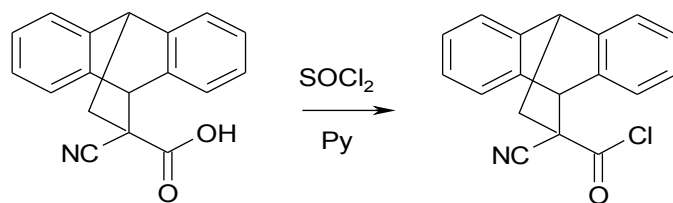


Figura 3.5 Spettro FTIR dell'acido carbossilico

3) Clorurazione dell'acido



La clorurazione dell'acido risulta necessaria al fine di una buona riuscita del successivo step di esterificazione. Il cloro, infatti, è un migliore gruppo uscente rispetto al gruppo ossidrilico dell'acido ed essendo maggiormente elettron-attrattore attiva il carbonile facilitando l'attacco nucleofilo da parte dell'ossigeno dell'alcol. L'aggiunta di una quantità catalitica di piridina dà luogo ad un fenomeno di "catalisi nucleofila" nel quale si realizzano complessivamente due meccanismi tetraedrici consecutivi: inizialmente l'azoto piridinico attacca il carbonio del carbonile, successivamente è il cloro ad attaccare lo stesso carbonio ripristinando la piridina [27].

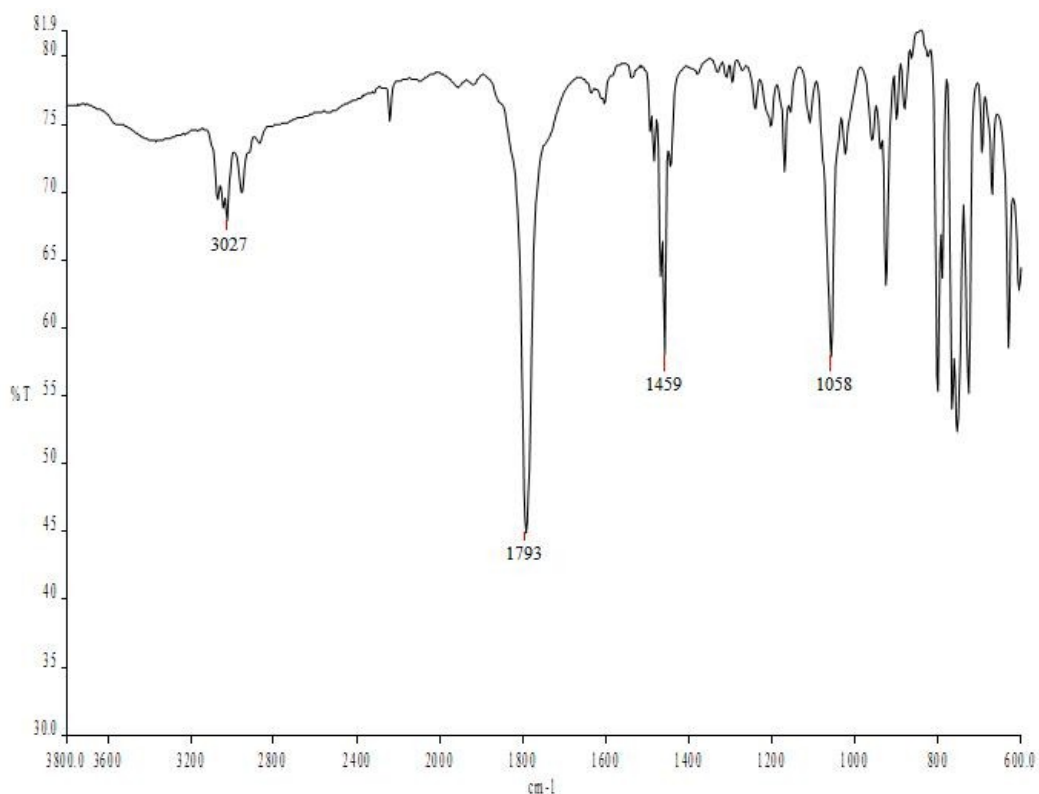
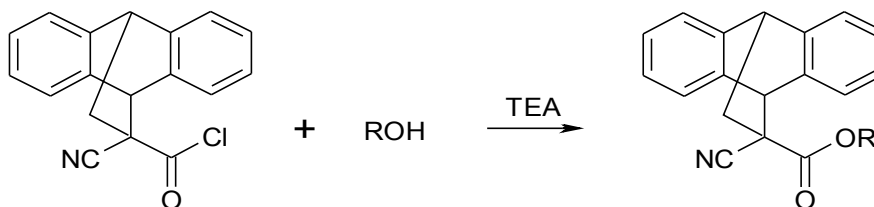


Figura 3.6 Spettro FTIR del cloruro acilico

Anche per il cloruro l'analisi FTIR si dimostra uno strumento efficace per determinare l'effettiva riuscita della sintesi (figura 3.6). Lo spostamento della banda di stretching del carbonile a 1793 cm^{-1} e la scomparsa delle

ampie bande a 1000-1300 cm^{-1} , tipiche degli stretching C-O, permette di constatare l'avvenuta clorurazione. Si osserva inoltre una significativa diminuzione della banda a 3000 cm^{-1} relativa al legame O-H e compare a 1058 cm^{-1} una banda stretta attribuibile al legame C-Cl.

4) Addizione dell'alcol fluorurato o iodato scelto



La sostituzione nucleofila del cloruro acilico con l'alcol fluorurato o iodato scelto permette di ottenere un addotto antracene-cianoacrilato con la sostituzione esterea desiderata.

La trietilammina, aggiunta in quantità stechiometriche, manifesta il suo carattere mediamente basico sottraendo l'acido cloridrico e favorendo così la sostituzione nucleofila.

Nelle figura 3.7 è riportato lo spettro FTIR del 4-(trifluorometil)benzil-2-cianoacrilato protetto con antracene. Gli spettri degli altri cianoacrilati protetti sono sostanzialmente uguali e presentano la banda di stretching del carbonile a 1750-1760 cm^{-1} .

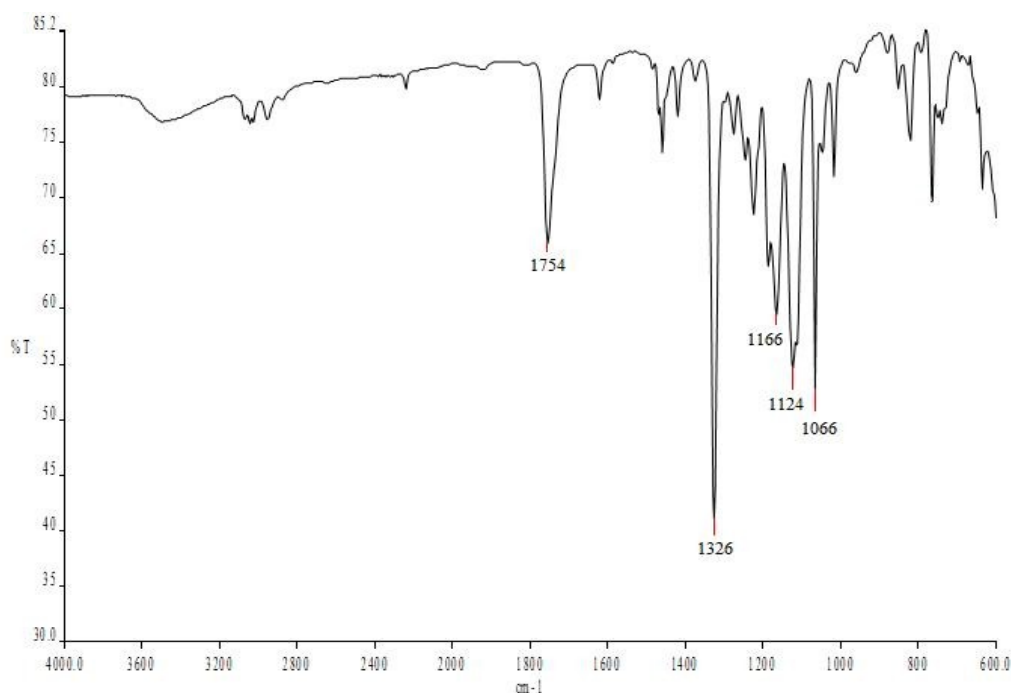


Figura 3.7 Spettro FTIR del 4-(trifluorometil)benzil-2-cianoacrilato protetto con antracene

L'unica eccezione è costituita dal pentafluorofenolo protetto. A differenza degli altri esteri sintetizzati, che presentavano, rispetto al cloruro acilico un evidente shifting della banda del carbonile a 1750-1760 cm^{-1} , il pentafluorofenolo non mostra spostamento poichè l'anello aromatico pentafluorurato, attaccato direttamente al gruppo estereo, essendo un gruppo elettron-attrattore mantiene la frequenza del carbonile simile a quella caratteristica di un cloruro acilico. Risulta quindi necessario avvalersi di uno spettro ^{19}F NMR per valutare la completezza della reazione attraverso lo shift dei picchi dei nuclei di fluoro.

Il confronto tra le figure 3.8 e 3.9 permette di stabilire l'effettiva riuscita della sostituzione nucleofila. Dai tre picchi tipici del pentafluorofenolo di figura 3.8 si passa infatti ai cinque picchi, peraltro completamente shiftati, di figura 3.9. E' interessante notare che, per questo tipo di struttura, che risulta particolarmente vincolata a causa della presenza del gruppo protettivo, infatti, ogni fluoro si rivela con un proprio chemical shift

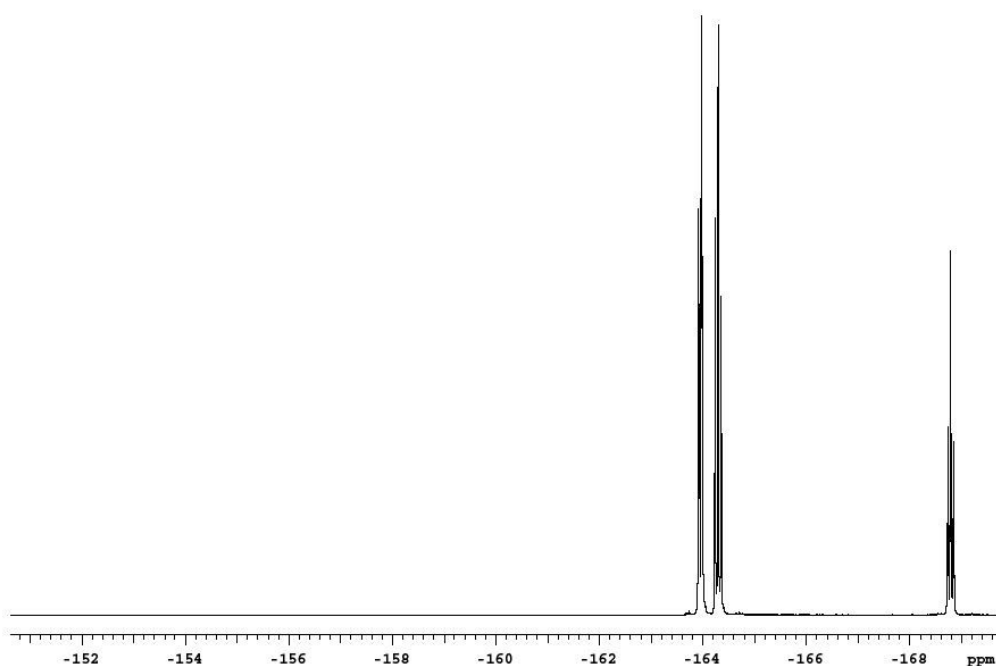


Figura 3.8. Spettro ^{19}F NMR del pentafluorofenolo (400 MHz CDCl_3)

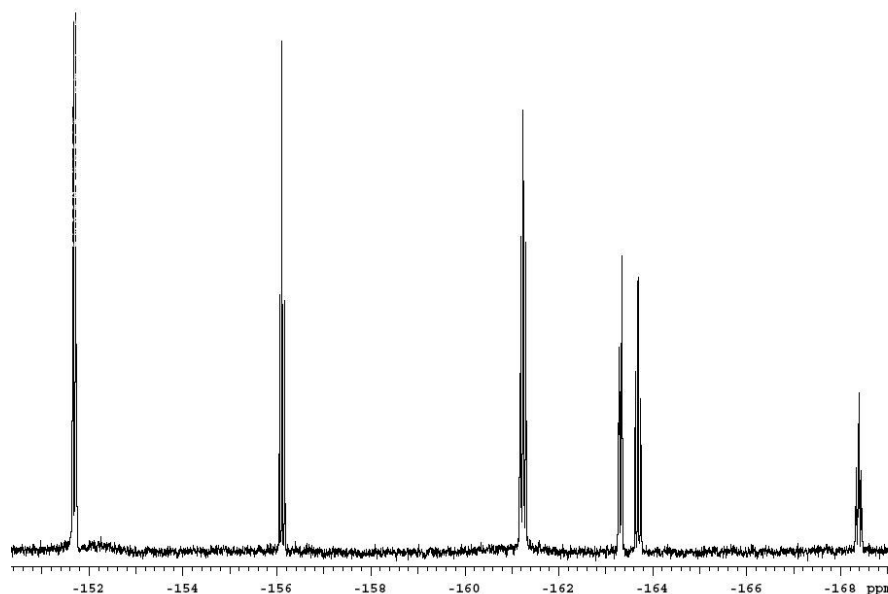
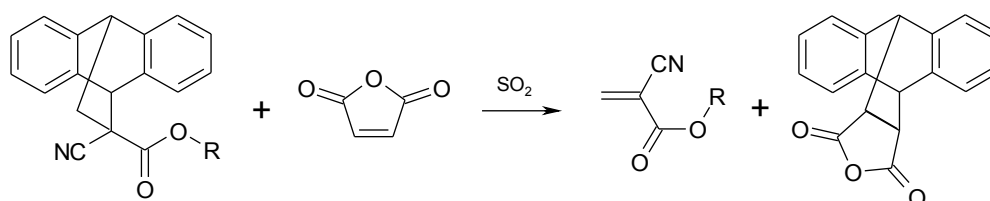


Figura 3.9. Spettro ^{19}F NMR di FE58 (400 MHz CDCl_3)

5) Reazione di deprotezione con anidride maleica



Riscaldando l'addotto del cianoacrilato con l'antracene in presenza di un dienofilo molto attivo come l'anidride maleica è possibile ottenere il cianoacrilato monomerico. L'anidride maleica, infatti, presentando gruppi elettron-accettori in posizione coniugata al legame insaturo, consente di far decorrere la reazione di Diels Alder con l'antracene in condizioni piuttosto blande permettendo la deprotezione del monomero. Per evitare che il monomero polimerizzi, in questo stadio si aggiungono stabilizzanti come l'idrochinone, che è un ottimo inibitore di radicali, P_2O_5 , come disidratante ed SO_2 , per creare un ambiente acido che sfavorisca la polimerizzazione anionica [26].

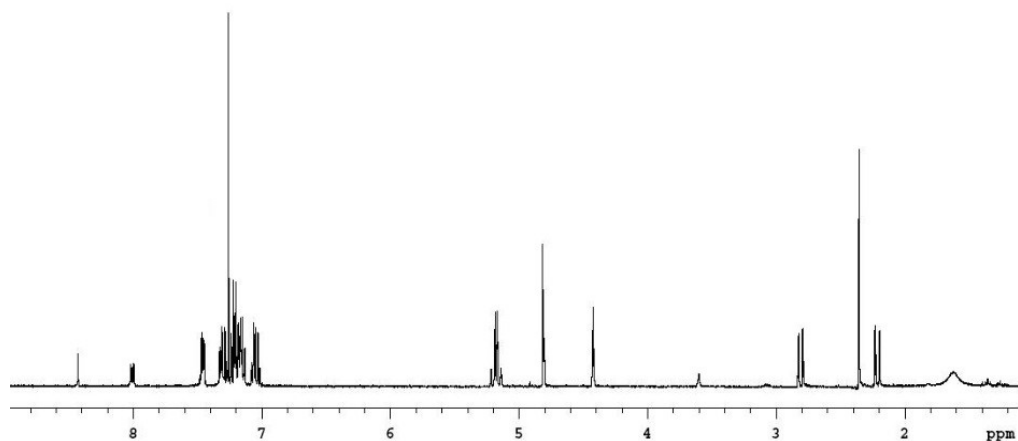


Figura 3.10. Spettro $^1\text{H-NMR}$ del pentafluorobenzil-2-cianoacrilato protetto con antracene (400 MHz, CDCl_3)

L'analisi $^1\text{H-NMR}$ si rivela uno strumento assai efficace per il monitoraggio dell'andamento della reazione di deprotezione. A titolo d'esempio, in figura 3.10 è riportato lo spettro del pentafluorobenzil-2-cianoacrilato protetto con antracene. In particolare si evidenziano i due doppi doppietti a 2,2 ppm e a 2,8 ppm caratteristici dei due protoni collocati a ponte. Con l'avanzare della reazione (figura 3.11) si osserva una progressiva diminuzione del segnale di questi protoni a fronte di un aumento del picco a 6,7 ppm tipico di uno dei protoni legati al doppio legame carbonio-carbonio del monomero. Il termine della deprotezione è segnato dalla scomparsa dei picchi dei protoni a ponte.

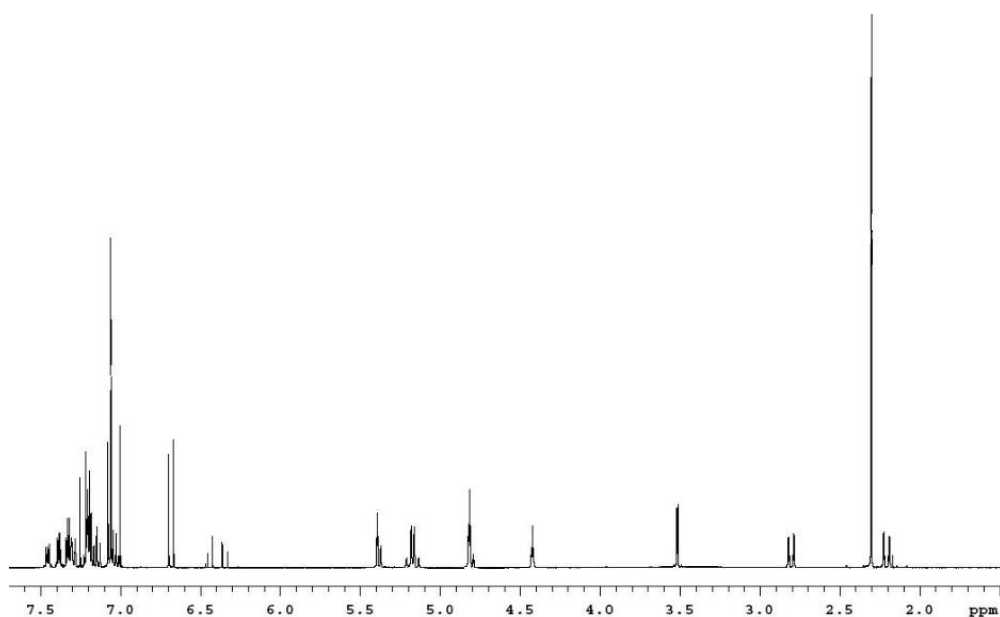


Figura 3.11. Spettro $^1\text{H-NMR}$ del pentafluorobenzil-2-cianoacrilato (400 MHz, CDCl_3)

3.3. MISURA DEI TEMPI DI POLIMERIZZAZIONE

In prove eseguite in precedenza i tempi di polimerizzazione erano stati valutati seguendo la comune procedura descritta in letteratura. Il metodo consisteva nell'inserire 300 μ l di plasma umano in uno dei 24 pozzetti di una piastra in plastica trasparente. Sotto alla piastra veniva collocato un foglio di giornale. Successivamente, tramite una siringa, si aggiungeva ai pozzetti una goccia (~100 μ l) di cianoacrilato. Il tempo necessario affinché le lettere del giornale diventassero opache ed illeggibili veniva assunto come il tempo di polimerizzazione. Con l'aiuto di una videocamera e di un cronometro, rallentando il filmato e analizzando le immagini in sequenza, era possibile individuare il momento esatto di polimerizzazione, ottenendo una sensibilità di misurazione attorno al trentesimo di secondo [8].

La misura dei tempi di polimerizzazione, in questo lavoro, viene effettuata con un nuovo metodo che prevede l'utilizzo di un laser elio-neon, il cui funzionamento verrà descritto in un successivo capitolo. Si pone sul cammino ottico del laser una provetta contenente 200 μ l di plasma suino (che risulta più semplice da reperire e più sicuro del plasma umano) al quale vengono addizionati 100 μ l di cianoacrilato. Con l'ausilio di una videocamera è possibile osservare come, una volta addizionato il cianoacrilato, lo spot luminoso del laser venga diffuso e sparisca poi del tutto per effetto della formazione del polimero che non permette il passaggio della radiazione (figure 3.12, 3.13, 3.14). Analizzando i singoli fotogrammi (trenta per secondo) è possibile determinare il tempo di polimerizzazione.



Figura 3.12 Spot prodotto dal laser prima dell'aggiunta del cianoacrilato al plasma

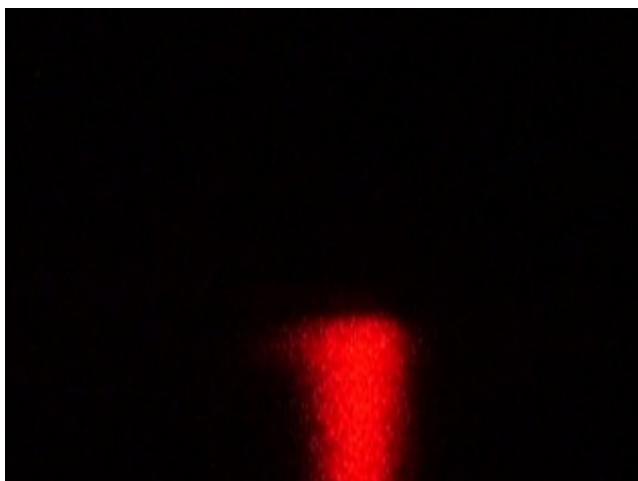


Figura 3.13 Spot scatterato durante la fase di polimerizzazione del cianoacrilato

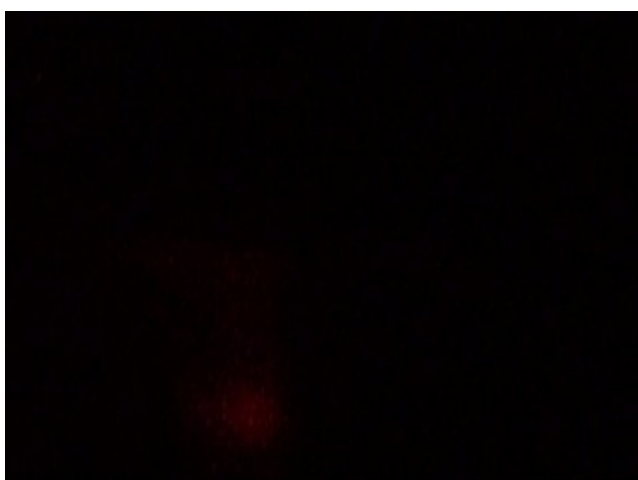


Figura 3.14 Fondo nero, la completa polimerizzazione impedisce il passaggio del raggio laser.

In tabella 3.2 sono riportati i tempi di polimerizzazione dei monomeri cianoacrilici sintetizzati. Come si può osservare, sono stati ottenuti eccellenti risultati. Fatta eccezione per FE 59, che a causa dell'elevata reattività polimerizza già in fase di deprotezione e non è stato dunque testato, per tutti gli altri monomeri si sono ottenuti tempi di polimerizzazione brevissimi e nel caso di FE 5 addirittura inferiori a quelli del n-butilcianoacrilato (il cianoacrilato che viene utilizzato commercialmente). Il tempo di polimerizzazione di FE 5 è talmente breve da superare la sensibilità del metodo, cioè il trentesimo di secondo. Le prove sono state condotte alla temperatura di 29°C.

Tabella 3.2 Tempi di polimerizzazione dei cianoacrilati sintetizzati

	Prova 1 (s)	Prova 2 (s)	Prova 3 (s)	Prova 4 (s)	Media (s)	DevStd (s)
perfluorobenzil-2-cianoacrilato FE5	<0,033	<0,033	<0,033	<0,033	<0,033	N.D.
4-(trifluorometil)benzil-2-cianoacrilato FE14	0,333	0,267	0,333	0,267	0,30	0,03
2-iodoetil-2-cianoacrilato FE29	0,367	0,367	0,400	0,500	0,41	0,05
n-butil-2-cianoacrilato	0,167	0,233	0,167	-	0,19	0,03
perfluorofenil-2-cianoacrilato FE59	ND					

3.3.1. LASER

Il LASER (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) è una sorgente in grado di emettere radiazioni monocromatiche di elevata coerenza ed intensità attraverso un processo di emissione stimolata. Il processo di emissione stimolata (enunciato da Einstein nel 1917) prevede che un atomo eccitato, investito da un fotone, emetta un fotone della stessa energia, fase, direzione e polarizzazione.

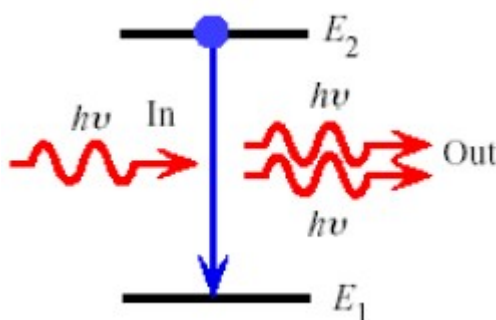


Figura 3.15. Emissione stimolata [28]

Utilizzando la statistica di Boltzmann e la legge di Planck, si scopre che in un sistema atomico, dati i livelli energetici E_1 ed E_2 con popolazioni N_1 ed N_2 , in condizioni di equilibrio termodinamico si verificherà sempre che $N_2 < N_1$ e il numero di fotoni emessi per emissione stimolata sarà sempre inferiore al numero di fotoni assorbiti. Per avere emissione stimolata, quindi, è necessario provocare un'inversione di popolazione dei livelli energetici. La condizione di inversione

($N_2 > N_1$) si può ottenere solo fornendo energia al sistema tramite una azione di pompaggio. Le tecniche di pompaggio sono diverse e dipendono dal mezzo nel quale si vuole ottenere inversione di popolazione (mezzo attivo). Le tecniche principali sono il pompaggio per scarica elettrica, il pompaggio ottico e il pompaggio per iniezione di carica.

Una volta emessi, i fotoni sono costretti a oscillare fra i due specchi, uno riflettente e l'altro semiriflettente, di cui è dotata la cavità ottica risonante. Raggiunta una certa intensità i fotoni riescono ad uscire dallo specchio semiriflettente (trasmissanza 1%) in un unico raggio monocromatico ed in fase.

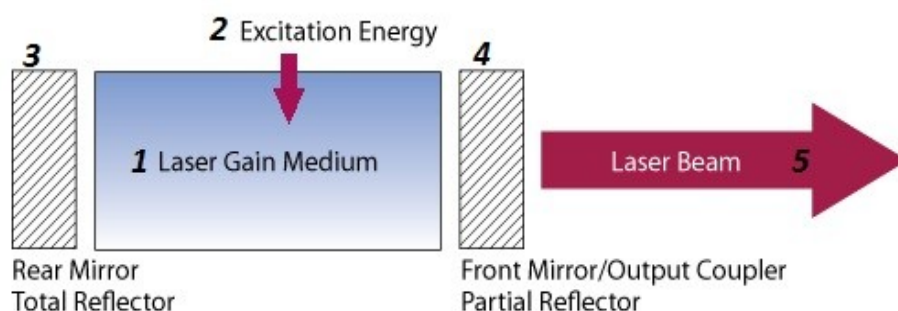


Figura 3.16. Parti costitutive del laser 1) mezzo ottico attivo, 2) energia fornita al mezzo ottico, 3) specchio, 4) specchio semiriflettente, 5) fascio laser in uscita [29]

Il laser utilizzato in questo lavoro è un laser a gas elio-neon nel quale, come suggerisce il nome, il mezzo attivo è una miscela di elio e neon in proporzioni da 5:1 a 20:1. L'energia della fonte di pompaggio deriva da una scarica elettrica di circa 1000V tra un anodo e un catodo posti agli estremi del tubo di vetro contenente i gas.

Come si evince dalla figura 3.17. nei laser He-Ne gli elettroni collidono con l'elio portandolo dallo stato fondamentale a quello eccitato. Gli atomi eccitati di elio collidono poi con quelli di neon che si eccitano a loro volta. L'emissione stimolata che avviene tra i livelli 3s e 2p del neon dà luogo ad una radiazione con lunghezza d'onda di 632,8nm [28].

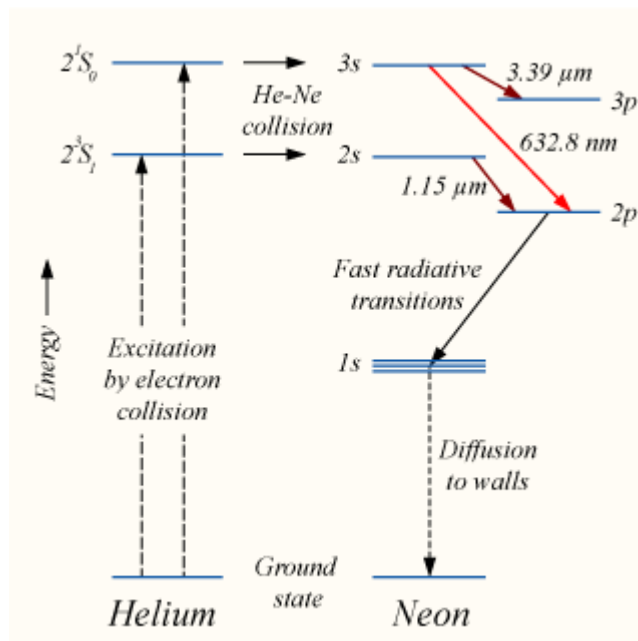


Figura 3.17. Livelli energetici e transizioni elettroniche per i sistemi laser He-Ne [30]

3.4. MISURA DELLA FORZA DI ADESIONE

Una delle maggiori problematiche relative all'uso dei cianoacrilati nelle pratiche interventistiche di embolizzazione arteriosa è rappresentata dalla eccezionale forza adesiva che si sviluppa tra il polimero, l'arteria e il microcatetere. Questa elevata adesione costituisce un notevole rischio operatorio in quanto l'estrazione forzata del catetere può comportare la rottura dell'arteria.

Uno degli scopi di questo lavoro è quello di individuare un policianoacrilato che manifesti una forza di adesione catetere-arteria sufficientemente bassa da renderlo idoneo ad un utilizzo medico.

In precedenza la prove di adesione venivano svolte utilizzando vene safene umane e microcateteri per embolizzazione. Le vene venivano chiuse ad una estremità, riempite con plasma e tramite catetere si introduceva il cianoacrilato. Successivamente vena e catetere venivano inseriti nei morsetti di uno strumento per le misure di trazione e si applicava un carico unidirezionale fino allo sfilamento della vena dal catetere. L'utilizzo di vene safene nelle prove di adesione risulta tuttavia scarsamente valevole e poco accurato. Le vene safene utilizzate in queste prove, infatti, vengono estratte a causa di varie patologie che ne compromettono inevitabilmente la resistenza e l'elasticità. Ovviamente, inoltre, le vene sono dimensionalmente tutte diverse, aspetto questo assai negativo per

quanto riguarda la riproducibilità delle misure. Non rappresenta invece un problema l'utilizzo di una vena piuttosto che un'arteria in quanto la loro parete interna è fisiologicamente molto simile.

In questo lavoro le prove di adesione sono state condotte sostituendo alle vene safene provette Eppendorf da 200µl in polipropilene ed utilizzando al posto del plasma umano (non semplice da reperire oltre che caratterizzato da problemi di sicurezza) del plasma suino, gentilmente fornito dalla Facoltà di Medicina Veterinaria. Il procedimento prevede la chiusura con il tappo della provetta, la foratura dell'estremità inferiore, l'introduzione di 100µl di plasma suino e l'aggiunta, tramite microcatetere (diametro esterno 5Fr = 1,70mm; diametro interno 0,73mm), di 50µl di cianoacrilato. Il cianoacrilato a contatto con il plasma polimerizza in modo rapido. La forza di adesione tra catetere e cianoacrilato viene misurata con uno strumento per misure di trazione (INSTRON modello 4465) dotato di cella di carico da 0,1KN. Negli appositi morsetti si inseriscono il catetere e la provetta quindi si applica un carico unidirezionale di trazione fino allo sfilamento del catetere dalla provetta. La velocità di trazione è di 2mm/min e la forza applicata viene misurata in KN. Il risultato finale delle prove è stato calcolato in Kg/cm²; per ogni prodotto sono state eseguite tre prove. [15].

Tabella 3.3 Prove di adesione tra cianoacrilati sintetizzati e catetere da 5Fr.

	Prova 1 (Kg/cm ²)	Prova 2 (Kg/cm ²)	Prova 3 (Kg/cm ²)	Media (Kg/cm ²)	DevStd (Kg/cm ²)
perfluorobenzil-2-cianoacrilato FE5	0,810	0,810	0,799	0,806	0,005.
4-(trifluorometil)benzil-2- cianoacrilato FE14	~ 0	~ 0	~ 0	~ 0	~ 0
2-iodoetil-2-cianoacrilato FE29	0,730	0,666	0,730	0,71	0,03
n-butyl-2-cianoacrilato	1,000	0,951	1,130	1,03	0,07
perfluorofenil-2-cianoacrilato FE59	ND				

Come si può osservare dalla tabella 3.3, i prodotti fluorurati e iodati mostrano una adesività inferiore rispetto al n-butyl-cianoacrilato. FE5 ed FE29 presentano una diminuzione dell'adesività del 20% e polimerizzano, similmente al n-butyl-cianoacrilato, formando una massa solida compatta. FE14, invece, polimerizza formando una massa viscosa che azzerava l'adesione con il catetere. Per tutti i

prodotti (compreso il n-butil-cianoacrilato) lo sfilamento del catetere non comporta nè la rottura del catetere stesso nè il trascinamento del polimero fuori dalla provetta.

4. CONCLUSIONI

In questo lavoro di tesi sono stati sintetizzati e caratterizzati quattro nuovi monomeri cianoacrilici fluorurati e iodati per applicazioni in embolizzazione arteriosa.

Lo scopo principale di questo lavoro è stata la sintesi di monomeri cianoacrilici che possano presentare elevata velocità di polimerizzazione e bassa adesività catetere-arteria.

I monomeri sono stati sintetizzati tramite il nuovo metodo di protezione e deprotezione, mediante reazioni di Diels Alder, dell' etil-2-cianoacrilato commerciale. Questa tipologia di sintesi, presenta una serie di vantaggi rispetto alla metodologia classica via condensazione di Knoevenagel. Se si utilizzasse tale metodo via condensazione, per questa particolare tipologia di monomeri, sarebbe necessario uno stadio di depolimerizzazione finale eseguito a temperature talmente elevate da condurre alla degradazione del prodotto prima dell'ottenimento dei monomeri.

Il vecchio metodo di sintesi inoltre prevedeva l'introduzione del reagente fluorurato, che è particolarmente costoso, fin dai primi stadi di reazione mentre il nuovo metodo consente di inserirlo solo nel penultimo, realizzando così un processo più economico.

Le rese di reazione, con il metodo di protezione e deprotezione, risultano superiori al 95% per i primi quattro stadi di reazione. La fase più problematica risulta comunque essere ancora quella finale di deprotezione: la conduzione della reazione a temperature elevate per tempi prolungati porta in alcuni casi ad una parziale decomposizione del prodotto ed in ogni caso la resa di reazione è inferiore al 50% per i monomeri fluorurati e arriva al 70% per il n-butilcianoacrilato. Un'ulteriore complicazione è costituita dalla fase di purificazione dei prodotti che, a causa dell'instabilità termica e della forte tendenza alla polimerizzazione dei monomeri, è stata effettuata soltanto mediante una rapida distillazione in bolla. I prodotti testati non sono quindi perfettamente puri perciò i tempi di polimerizzazione e l'adesività potrebbero risultare influenzati dalle impurezze presenti.

Eccellenti risultati sono stati ottenuti per quanto riguarda i tempi di polimerizzazione dei cianoacrilati prodotti a contatto con plasma suino (figura

4.1). Il 4-(trifluorometil)benzil-2-cianoacrilato (FE14) e il 2-iodoetil-2-cianoacrilato (FE29) polimerizzano in tempi assolutamente confrontabili con quelli del n-butyl-cianoacrilato (il prodotto che viene più comunemente utilizzato nelle pratiche di embolizzazione arteriosa). Più sorprendente è risultato ottenuto con il perfluorobenzil-2-cianoacrilato (FE5): il tempo di polimerizzazione di questo prodotto è risultato infatti inferiore al trentesimo di secondo.

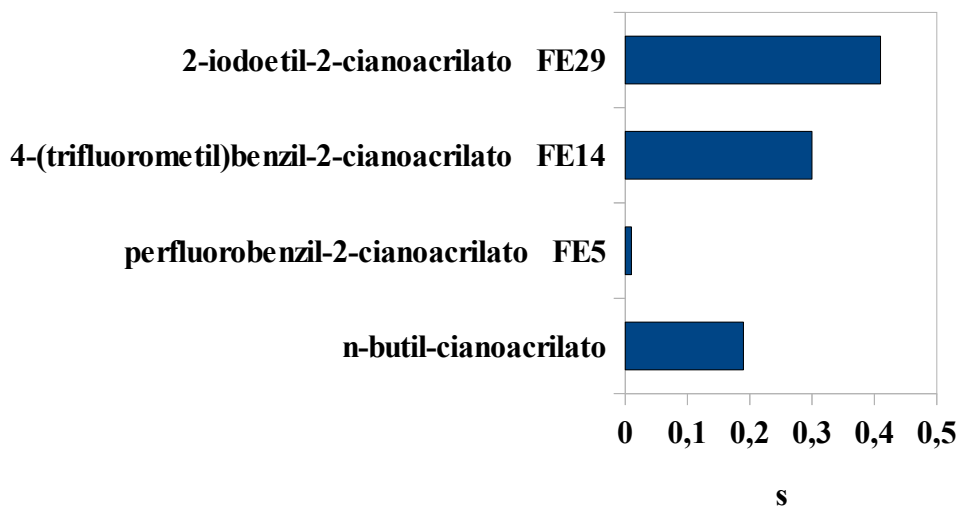


Figura 4.1. Tempi di polimerizzazione dei cianoacrilati sintetizzati

Incoraggianti risultati sono stati ottenuti infine anche dalle prove di adesione: perfluorobenzil-2-cianoacrilato (FE5) e 2-iodoetil-2-cianoacrilato (FE29) mostrano una riduzione del 20% della forza adesiva rispetto al n-butyl-cianoacrilato mentre il 4-(trifluorometil)benzil-2-cianoacrilato (FE14) non mostra alcuna adesività (figura 4.2).

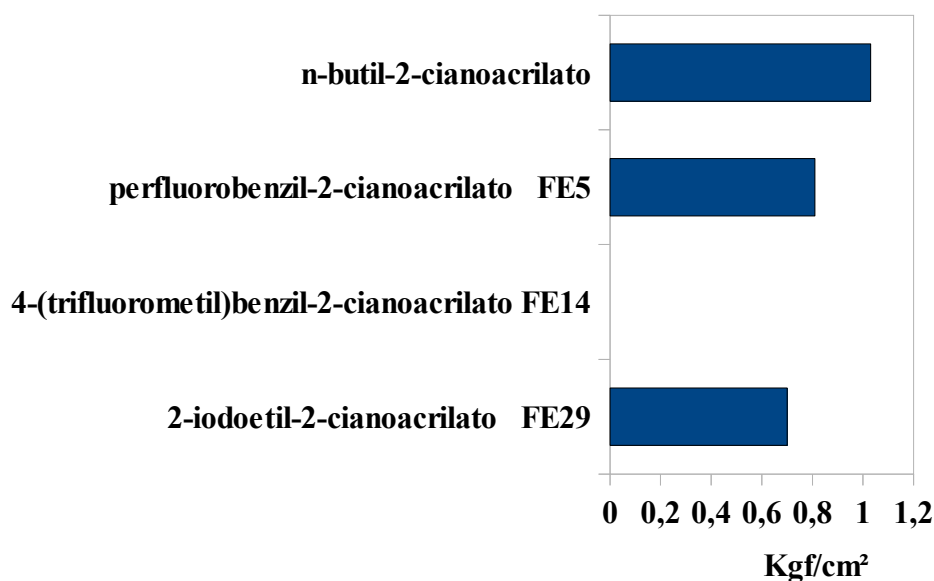


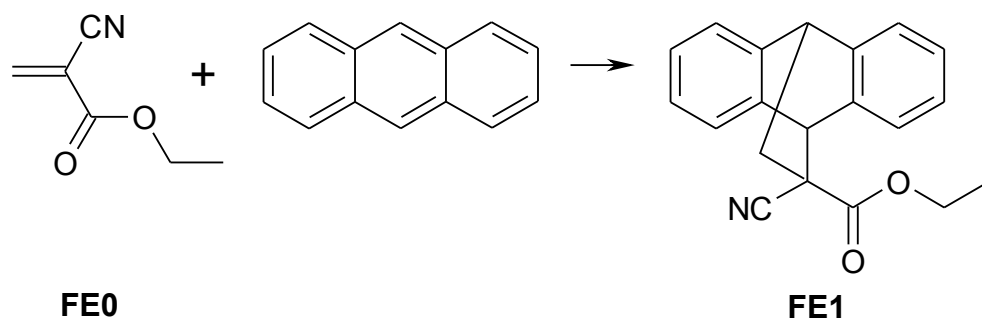
Figura 4.2 Carichi di trazione massimi tra la provetta Eppendorf e i cianoacrilati sintetizzati.

Questi risultati confermano le ipotesi iniziali e dimostrano l'effettiva possibilità di poter ottenere cianoacrilati che presentino sia una elevata velocità di polimerizzazione sia una bassa forza di adesione. Naturalmente i test condotti sono solo orientativi e forniscono un'idea generale delle proprietà dei cianoacrilati sintetizzati. La loro reale efficacia nelle pratiche di embolizzazione arteriosa, oltre alla loro citotossicità, saranno in futuro da testare in vivo.

5. PARTE SPERIMENTALE

5.1. SINTESI E CARATTERIZZAZIONE DEI MONOMERI

5.1.1. Sintesi del 9,10-diidro-9,10-endo-etanoantracene-11-ciano-11-carbossilato (FE1)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti 19,6 g (0,11 mol) di antracene ed 14 g (0,11 mol) di etil-2-cianoacrilato (SuperAttack™). Come solvente si utilizzano 160 ml di toluene saturato con un intenso flusso di anidride solforosa allo scopo di inibire la polimerizzazione. La reazione viene condotta a riflusso per 20 h. Una volta raffreddata la miscela viene filtrata e il solvente viene evaporato a pressione ridotta.

Resa = 99%

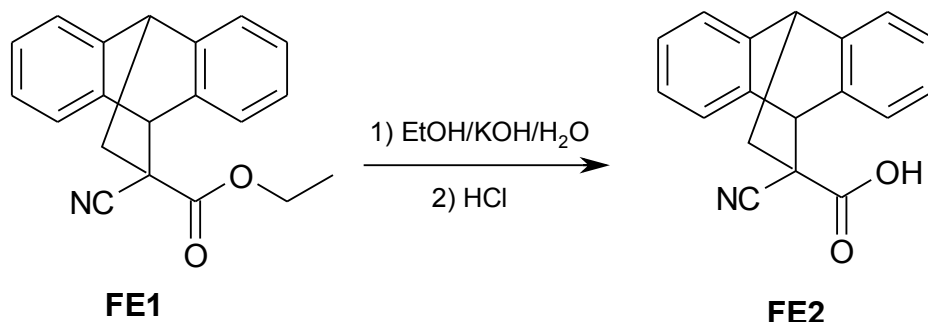
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al TMS):

1,26 (t, 3H); 2,19 (dd, 1H); 2,80 (dd, 1H); 4,17 (m, 2H); 4,42 (t, 1H); 4,87 (s, 1H); 7,10-7,50 (m, 8H).

FT-IR (ν in cm⁻¹ su disco KBr):

2985, 2960 (stretch. C-H); 2233 (stretch. C≡N); 1748 (stretch. C=O); 1468,1458 (bend. C-H + stretch. C=C); 1225, 1192, 1049 (stretch. C-O).

5.1.2. Sintesi del 9,10-diidro-9,10-endo-etanoantracene-11-ciano-11-acido carbossilico (FE2)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore e agitatore vengono inseriti 200 ml di etanolo, 30,8 g (0,10 mol) di FE1 e 10 g (0,18 mol) di KOH disciolta in 50 ml di acqua. La miscela viene mantenuta in agitazione per 3 h a temperatura ambiente, successivamente viene diluita in acqua e filtrata per rimuovere eventuale antracene residuo. Il filtrato di colore arancio viene acidificato con HCl concentrato, fino a pH 2, per consentire la precipitazione dell'addotto cianoacrilico acido. Il solido bianco ottenuto viene filtrato ed essiccato all'aria.

Resa = 99%

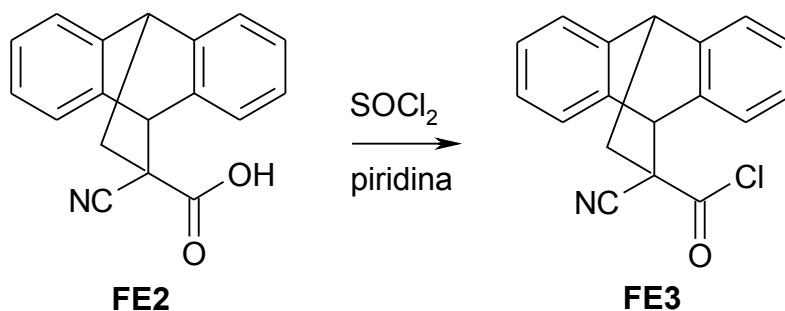
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al TMS):

2,21 (dd, 1H); 2,84 (dd, 1H); 3,57 (s, 1H); 4,63 (t, 1H); 5,08 (s, 1H); 7,10-7,50 (m, 8H).

FT-IR (ν in cm⁻¹ pastiglia KBr):

3024, 2972 (stretch. O-H + stretch. C-H); 2243 (stretch. C≡N); 1719 (stretch. C=O); 1469, 1458 (bend. C-H + stretch. C=C); 1281, 1263 (stretch. C-O).

5.1.3 Sintesi del 9,10-diidro-9,10-endo-etanoantracene-11-ciano-11-carbossilcloruro (FE3)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di N₂, 12,4 g (0,04 mol) di FE2 in 120 ml di toluene. Si aggiungono lentamente 3,9 ml (0,05 mol) di tionil cloruro e dopo 1h viene aggiunta una nuova aliquota da 1,1 ml (0,02 mol). La reazione viene catalizzata con poche gocce (7-8) di piridina ed è condotta a 60°C. Dopo 2 h si procede con una ulteriore aliquota di tionil cloruro da 0,6 ml (0,01 mol) per assicurare la completezza della reazione e si mantiene in agitazione per altre 4 h. La scomparsa della sospensione bianca di FE2 segnala il termine della reazione. La soluzione calda viene filtrata e lasciata raffreddare, successivamente il solvente viene evaporato a pressione ridotta, ottenendo un liquido giallo e viscoso.

Resa = 95%

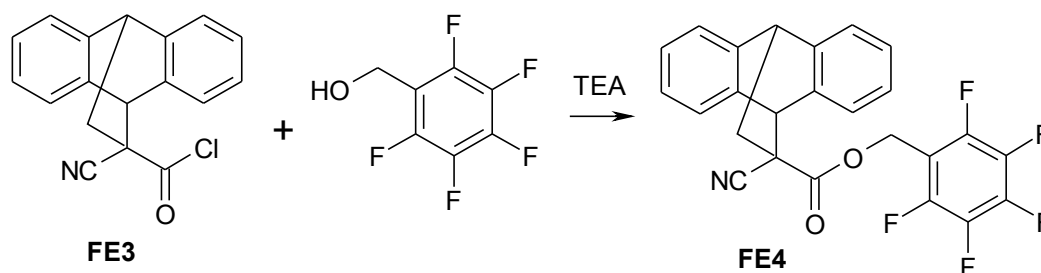
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al TMS):

2,28 (dd, 1H); 2,75 (dd, 1H); 4,45 (t, 1H); 5,06 (s, 1H); 7,10-7,60 (m, 8H).

FT-IR (ν in cm⁻¹ su disco KBr):

3047, 2960 (stretch. C-H); 2243 (stretch. C≡N); 1793 (stretch. C=O); 1469, 1458 (bend. C-H + stretch. C=C); 1059 (stretch. C-Cl).

5.1.4. Sintesi del perfluorobenzil-9,10-diidro-9,10-endo-etanoantracene-11-ciano-11-carbossilato (FE4)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di N₂, 3,4 g (0,012 mol) di FE3, 60 ml di toluene e 1,6 ml (0,012 mol) di trietilammina. Si aggiungono gradualmente 2,28 g (0,012 mol) 2,3,4,5,6-pentafluorobenzil alcol. La reazione viene condotta a 60°C per 3 h. Successivamente la miscela di reazione viene diluita con 100 ml di toluene ed estratta più volte con una soluzione satura di cloruro di ammonio e una di cloruro di sodio. La parte organica viene anidrificata con solfato di sodio anidro ed il solvente viene evaporato a pressione ridotta.

Resa = 95%

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al TMS):

2,25 (dd, 1H); 2,87 (dd, 1H); 4,45 (t, 1H); 4,81 (s, 1H); 5,19 (dd, 2H); 7,10-7,50 (m, 8H).

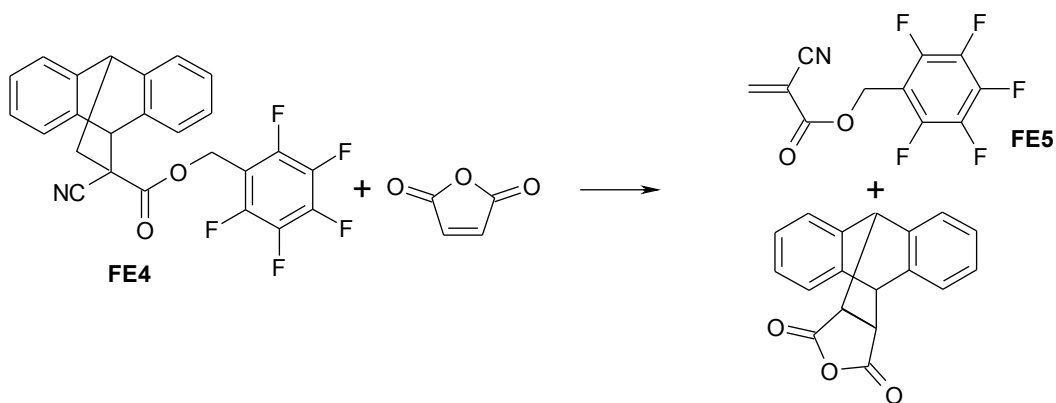
¹⁹F-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti a CFC₃):

-161,3 (m, 2F); -151,8 (m, 1F); -141,5 (m, 2F).

FT-IR (ν in cm⁻¹ su disco KBr):

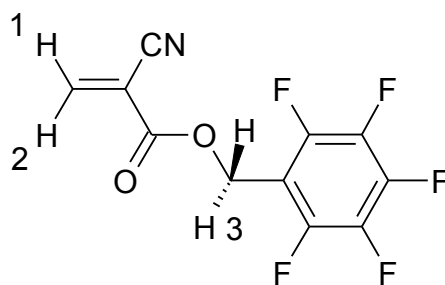
3027, 2948 (stretch. C-H); 2243 (stretch. C≡N); 1759 (stretch. C=O); 1522, 1508 (bend. C-H + stretch. C=C); 1222, 1184, 1038 (stretch. C-O).

5.1.5 Sintesi del perfluorobenzil-2-cianoacrilato (FE5)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di SO_2 , 4,5 g (0,010 mol) di FE4, 15 ml di p-xilene disareato (in SO_2), 0,2 g di pentossido di fosforo, 0,2 g di idrochinone e 0,99 g (0,010 mol) di anidride maleica. La reazione viene condotta a riflusso per 47 h, monitorando l'avanzamento di reazione tramite $^1\text{H-NMR}$. La miscela di reazione, una volta raffreddata, viene filtrata e il solvente evaporato a pressione ridotta. Lo xilene residuo viene eliminato con successivi lavaggi con toluene disareato in SO_2 . Il prodotto viene infine purificato mediante rapida distillazione in bolla a 190°C .

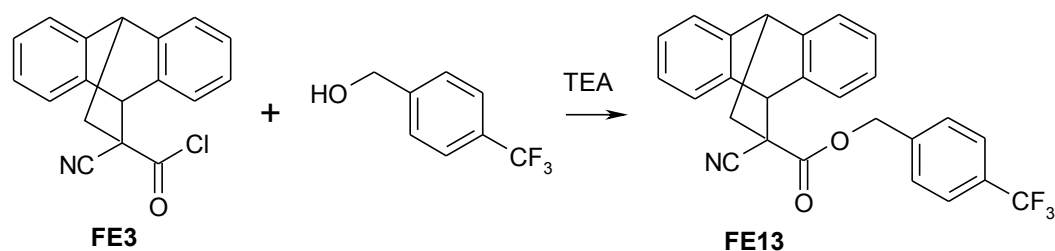
Resa = 47%



$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) (δ in ppm riferiti al TMS):
5,39 (s, 2H, H3); 6,64 (s, 1H, H1); 7,10 (s, 1H, H2).

$^{19}\text{F-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) (δ in ppm riferiti al CFCl_3):
-160,8 (m, 2F); -151,3 (m, 1F); -141,9 (m, 2F).

5.1.6. Sintesi del 4-(trifluorometil)benzil-9,10-diidro-9,10-endo-etanoantracene-11-ciano-11-carbossilato (FE13)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di N₂, 5,2 g (0,018 mol) di FE3, 60 ml di toluene e 2,45 ml (0,018 mol) di trietilammina. Si aggiungono gradualmente 3,1 g (0,018 mol) di 4-(trifluorometil)benzil alcol. La reazione viene condotta a 60°C per 3 h. Successivamente la miscela di reazione viene diluita con 100 ml di toluene ed estratta più volte con una soluzione satura di cloruro di ammonio e una di cloruro di sodio. La parte organica viene anidrificata con solfato di sodio anidro ed il solvente viene evaporato a pressione ridotta.

Resa = 87%

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al TMS):

2,21 (dd, 1H); 2,82 (dd, 1H); 4,41 (t, 1H); 4,79 (s, 1H); 5,20 (dd, 2H); 7,10-7,50 (m, 12H).

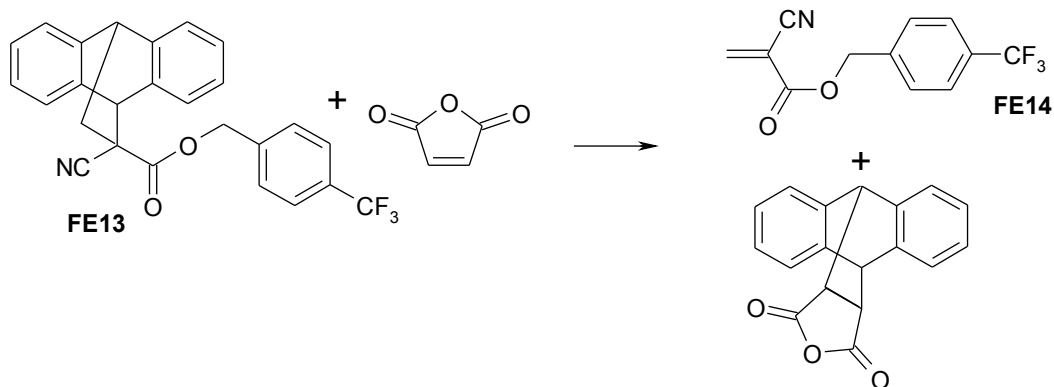
¹⁹F-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al CFCl₃):

-62,9 (s, 3F).

FT-IR (ν in cm⁻¹ su disco KBr):

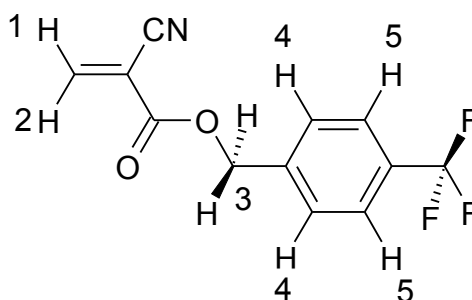
2955 (stretch. C-H); 2240 (stretch. C≡N); 1755 (stretch. C=O); 1469, 1459 (bend. C-H + stretch. C=C); 1166, 1124, 1066 (stretch. C-O).

5.1.7. Sintesi del 4-(trifluorometil)benzil-2-cianoacrilato (FE14)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di SO₂, 7,6 g (0,018 mol) di FE13, 15 ml di p-xilene disareato (in SO₂), 0,2 g di pentossido di fosforo, 0,2 g di idrochinone e 1,76 g (0,018 mol) di anidride maleica. La reazione viene condotta a riflusso per 44 h, monitorando l'avanzamento di reazione tramite HNMR. La miscela di reazione, una volta raffreddata, viene filtrata e il solvente evaporato a pressione ridotta. Lo xilene residuo viene eliminato con successivi lavaggio con toluene disareato in SO₂. Il prodotto viene infine purificato mediante rapida distillazione in bolla a 190°C.

Resa = 55%



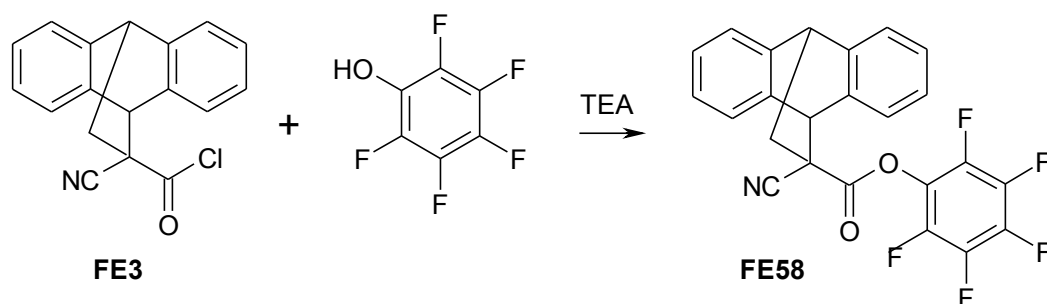
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al TMS):

4,28 (dd, 2H, H3); 6,21 (s, 1H, H1); 7,10-7,50 (m, 5H, H1,4,5).

¹⁹F-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al CFC₃):

-63,2 (s, 3F).

5.1.8. Sintesi del pentafluorofenil-9,10-diidro-9,10-endo-etanoantracene-11-ciano-11-carbossilato (FE58)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di N_2 , 3,9 g (0,013 mol) di FE3, 60 ml di toluene e 1,8 ml (0,013 mol) di trietilammina. Si aggiungono gradualmente 2,43 g (0,013 mol) di pentafluorofenolo. La reazione viene condotta a $60^\circ C$ per 3 h. Successivamente la miscela di reazione viene diluita con 100 ml di toluene ed estratta più volte con una soluzione satura di cloruro di ammonio e una di cloruro di sodio. La parte organica viene anidrificata con solfato di sodio anidro ed il solvente viene evaporato a pressione ridotta.

Resa = 80%

1H -NMR (400MHz, $CDCl_3$) (δ in ppm riferiti al TMS):

2,38 (dd, 1H); 2,81 (dd, 1H); 4,45 (t, 1H); 5,05 (s, 1H); 7,10-7,60 (m, 8H).

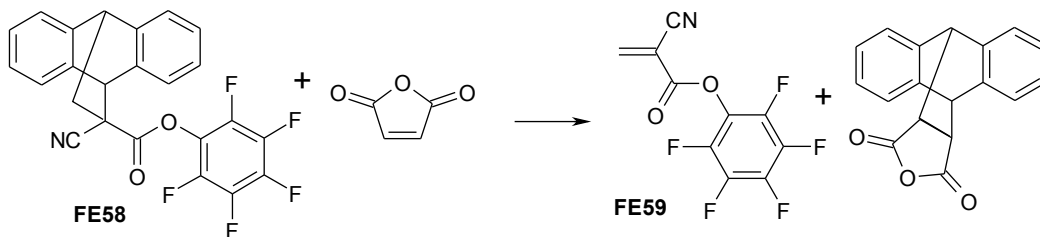
^{19}F -NMR (400MHz, $CDCl_3$) (δ in ppm riferiti al $CFCl_3$):

-151,7 (m, 1F); -156,1 (m, 1F); -161,2 (m, 1F); -163,4 (m, 1F); -163,8 (m, 1F)

FT-IR (ν in cm^{-1} su disco KBr):

3027 (stretch. C-H); 1795 (stretch. C=O); 1523, 1469, 1460 (bend. C-H + stretch. C=C); 1148, 1035 (stretch. C-O).

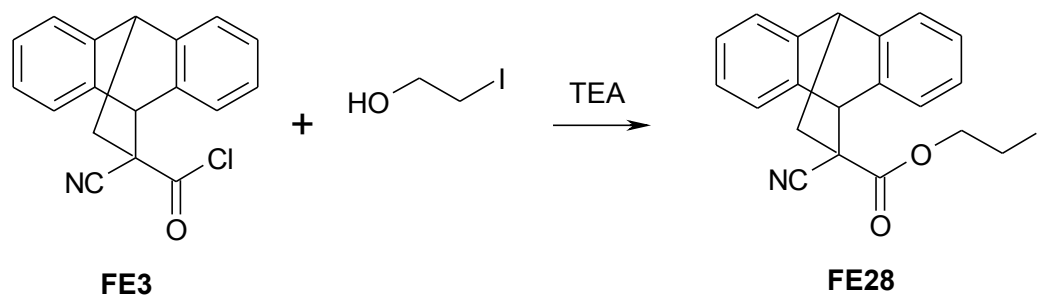
5.1.9. Sintesi del 4-fluorofenil-2-cianoacrilato (FE59)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di SO_2 , 4,5 g (0,010 mol) di FE58, 15 ml di p-xilene disareato (in SO_2), 0,2 g di pentossido di fosforo, 0,2 g di idrochinone e 1,0 g (0,010 mol) di anidride maleica. La reazione viene condotta a riflusso, monitorando l'avanzamento di reazione tramite HNMR.

Non caratterizzabile, l'estrema reattività conduce alla polimerizzazione in fase di deprotezione.

5.1.10. Sintesi del 2-iodoetil-9,10-diidro-9,10-endo-etanoantracene-11-ciano-11-carbossilato (FE28)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di N₂, 6,4 g (0,022 mol) di FE3, 60 ml di toluene e 3,0 ml (0,022 mol) di trietilammina. Si aggiungono gradualmente 3,73 g (0,022 mol) di iodoetano. La reazione viene condotta a 60°C per 3 h. Successivamente la miscela di reazione viene diluita con 100 ml di toluene ed estratta più volte con una soluzione satura di cloruro di ammonio e una di cloruro di sodio. La parte organica viene anidrificata con solfato di sodio anidro ed il solvente viene evaporato a pressione ridotta.

Resa = 95%

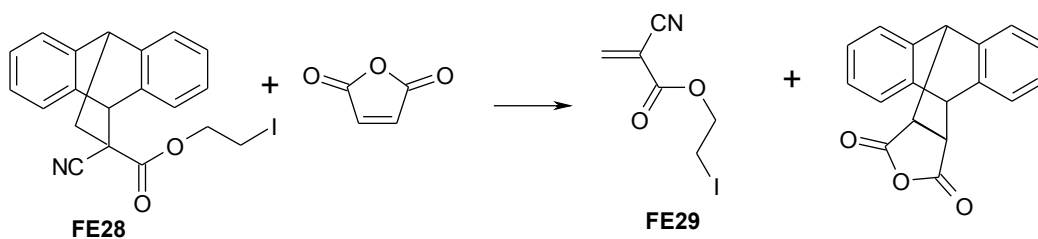
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al TMS):

2,22 (dd, 1H); 2,82 (dd, 1H); 3,23 (t, 2H); 4,27 (t, 2H); 4,48 (t, 1H); 5,00 (s, 1H); 7,10-7,60 (m, 8H).

FT-IR (ν in cm⁻¹ su disco KBr):

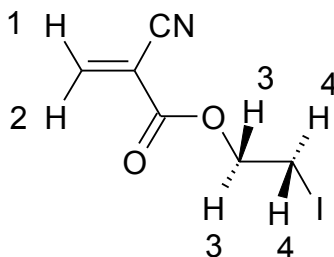
3026, 2954 (stretch. C-H); 2239 (stretch. C≡N); 1752 (stretch. C=O); 1459 (bend. C-H + stretch. C=C); 1277, 1185, 1070 (stretch. C-O).

5.1.11. Sintesi del 2-iodoetil-2-cianoacrilato (FE29)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di SO₂, 7,8 g (0,021 mol) di FE28, 15 ml di p-xilene disareato (in SO₂), 0,2 g di pentossido di fosforo, 0,2 g di idrochinone e 2,0 g (0,021 mol) di anidride maleica. La reazione viene condotta a riflusso per 55 h, monitorando l'avanzamento di reazione tramite ¹HNMR. La miscela di reazione, una volta raffreddata, viene filtrata e il solvente evaporato a pressione ridotta. Lo xilene residuo viene eliminato con successivi lavaggi con toluene disareato in SO₂. Il prodotto viene infine purificato mediante rapida distillazione in bolla a 190°C.

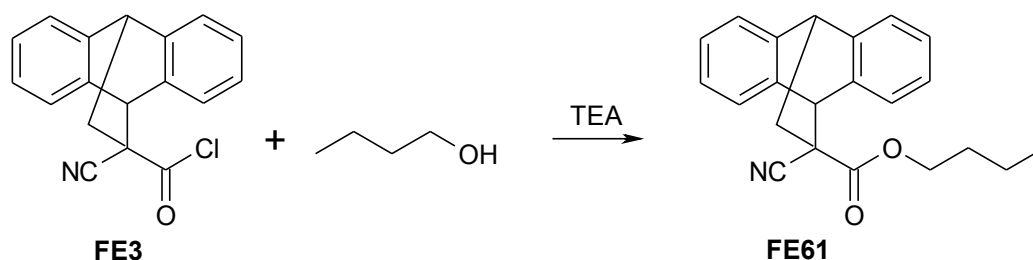
Resa = 40%



¹HNMR (400MHz, CDCl₃) (δ in ppm riferiti al TMS):

3,27 (t, 2H, H3); 4,48 (t, 2H, H4); 6,65 (s, 1H, H1); 7,08 (s, 1H, H2).

5.1.12. Sintesi del n-butil-9,10-diidro-9,10-endo-etanoantracene-11-ciano-11-carbossilato (FE61)



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di N_2 , 6,4 g (0,022 mol) di FE3, 60 ml di toluene e 3,0 ml (0,022 mol) di trietilammina. Si aggiungono gradualmente 2,0 ml (0,022 mol) di n-butanolo. La reazione viene condotta a $60^\circ C$ per 3 h. Successivamente la miscela di reazione viene diluita con 100 ml di toluene ed estratta più volte con una soluzione satura di cloruro di ammonio e una di cloruro di sodio. La parte organica viene anidrificata con solfato di sodio anidro ed il solvente viene evaporato a pressione ridotta.

Resa = 88%

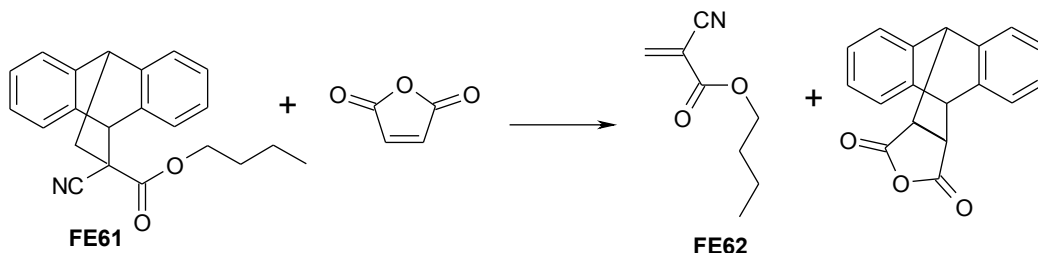
1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) (δ in ppm riferiti al TMS):

0,99 (t, 3H); 1,30 (m, 2H); 1,61 (m, 2H); 2,21 (dd, 1H); 2,80 (dd, 1H); 4,03 (t, 2H); 4,41 (t, 1H); 4,83 (s, 1H); 7,10-7,60 (m, 8H).

FT-IR (ν in cm^{-1} su disco KBr):

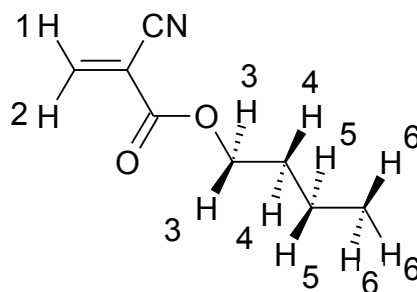
2960 (stretch. C-H); 2239 (stretch. $C\equiv N$); 1748 (stretch. $C=O$); 1459 (bend. C-H + stretch. $C=C$); 1227, 1191 (stretch. C-O).

5.1.13. Sintesi del n-butil-2-cianoacrilato FE62



In un pallone a tre colli equipaggiato di condensatore, agitatore e mantello riscaldante vengono inseriti, sotto flusso di SO_2 , 5,7 g (0,018 mol) di FE61, 15 ml di p-xilene disareato (in SO_2), 0,2 g di pentossido di fosforo, 0,2 g di idrochinone e 1,8 g (0,018 mol) di anidride maleica. La reazione viene condotta a riflusso per 24 h, monitorando l'avanzamento di reazione tramite HNMR. La miscela di reazione, una volta raffreddata, viene filtrata e il solvente evaporato a pressione ridotta. Lo xilene residuo viene eliminato con successivi lavaggi con toluene disareato in SO_2 . Il prodotto viene infine purificato mediante rapida distillazione in bolla a 190°C .

Resa = 78%



$^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) (δ in ppm riferiti al TMS):

0,99 (t, 3H, H6); 1,40 (m, 2H, H5); 1,60 (m, 2H, H4); 4,31 (t, 2H, H3); 6,61 (s, 1H, H1); 6,73 (s, 1H, H2).

6. BIBLIOGRAFIA

1. www.solidmetals.net
2. R.Pietrabissa, "Biomateriali per protesi e organi artificiali", Patron Editore, Bologna, 1996
3. P.Giusti, "Biomateriali: introduzione generale sui settori applicativi", Atti del XIX convegno scuola AIM su polimeri in medicina, Gargnano, 1997
4. www.technica.net
5. G.Camino "Degradazione e stabilizzazione dei polimeri", Atti del XIX convegno scuola AIM su polimeri in medicina, Gargnano, 1997
6. R.L.Vanninen, I.Manninen, "Onyx, a new liquid embolic material for peripheral interventions: preliminary experience in aneurysm, pseudoaneurysm and pulmonary arteriovenous malformation embolization", CardioVascular and Interventional Radiology, Vol.30 (1997), pp.196-200
7. www.ior.it
8. H.Oowaki, S.Matsuda, N.Sakai, T.Ohta, H.Iwata, A.Sadato, W.Taki, N.Hashimoto, Y.Ikata, "Non-adhesive cyanoacrylate as an embolic material for endovascular neurosurgery", Biomaterials, Vol.21 (2000), pp.1039-1046
9. www.howdoesmynecklook.blogspot.net
10. M.Ryou, C.C.Thompson "Tissue Adhesives: a review", Techniques in Gastrointestinal Endoscopy, Vol.8 (2006), pp.33-37
11. T.B.Reece, T.S.Maxey, I.L.Kron, "A prospectus on tissue adhesives", The American Journal of Surgery, Vol.182 (2001), pp.40s-442
12. A.J.Singer, J.V.Quinn, J.E.Hollander, "The cyanoacrylates topical skin adhesives", American Journal of Emergency Medicine, Vol.26 (2008), pp.490-496
13. W.H.Eaglstein, T.Sullivan, "Cyanoacrylates for Skin Closure", Dermatologic Clinics, Vol.23 (2005), pp.193-198
14. J.S.Pollack, R.I.White, "The use of cyanoacrylate adhesives in peripheral embolization", Journal of Vascular and Interventional Radiology, Vol.12 (2001), pp.907-913

15. C.Vauthier, C.Dubernet, E.Fattal, H.Pinto Alphandary, P.Couvreur, "Poly(alkylcyanoacrylates) as biodegradable materials for biomedical applications", *Advanced Drug Delivery Reviews*, Vol.55 (2003), pp.519-548
16. M.Guaita, F.Ciardelli, F.La Mantia, E.Pedemonte, "Fondamenti di scienza dei polimeri", Pacini Editore, Pisa, 1998
17. S.Dumitriu, "Polymeric Biomaterials", CRC Press, 2001
18. J.D.Barr, E.J.Hoffman, B.R.Davis, K.A.Edgar, C.R.Jacobs, "Microcatheter Adhesion of Cyanoacrylates: Comparison of Normal Butyl Cyanoacrylate to 2-hexyl Cyanoacrylate", *Journal of vascular and interventional radiology*, Vol.10 (1999), pp.165-168
19. n-BCA trial investigators, "N-Butyl Cyanoacrylate Embolization of Cerebral Arteriovenous Malformations: Results of a Prospective, Randomized, Multi-center Trial", *American Journal of Neuroradiology*, Vol.23 (2002), pp.248-255
20. A.Silvestri, C.Brandi, L.Grimaldi, G.Nisi, A.Brafa, M. Calabrò, C.D'Aniello, "Octyl-2-Cyanoacrylate Adhesive for Skin Closure and Prevention of Infection in Plastic Surgery", *Aesthetic Plastic Surgery*, Vol.30 (2006), pp.295-299
21. www.dermabond.com
22. L.Montanaro, C.R.Arciola, E.Cenni, G.Ciapetti, F.Savioli, F.Filippini, L.A.Barsanti, "Cytotoxicity, blood compatibility and antimicrobial activity of two cyanoacrylate glues for surgical use", *Biomaterials*, Vol.22 (2001), pp.59-66
23. S.Kull, I.Martinelli, E.Briganti, P.Losi, D.Spiller, S.Tonlorenzi, G.Soldani, "Glubran2 Surgical Glue: In Vitro Evaluation of Adhesive and Mechanical Properties", *Journal of Surgical Research*, Vol.157 (2009), pp.15-21
24. H.W.Coover, T.H.Wickler, "Procédé de fabrication d'un ester alpha-cyanoacrylique monomérique et utilisation de ce produit", Swiss patent CH419097 (1966), assegnato a Eastman Kodak Company
25. N.H.Ray, P.Doran, "Preparation of α -cyanoacrylic esters", U.S. Patent 3461q3804 (1969), assegnato a Imperial Chemical Industries
26. M.Tahtouh, R.Kalman, B.J.Reedy, "Synthesis and Characterization of Four Alkyl 2-Cyanoacrylate Monomers and their Precursors for use in Latent

Fingerprint Detection", Journal of Polymer Science, Vol.49 (2011), pp.257-277

27. J.March, "Advanced organic chemistry", Wiley Interscience, 1985
28. L.Zeni "Appunti di Optoelettronica" corso di Laurea in Ingegneria Elettronica ed Informatica, Seconda Università degli Studi di Napoli
29. www.thefabricator.com
30. www.wikipedia.org

7. RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare il Professor Daniele Caretti per avermi guidata nel lungo ed impervio percorso che ha portato a questo lavoro.

Grazie a tutto il Dipartimento di Chimica Industriale e dei Materiali ed in particolare a Johanna, inossidabile e irrefrenabile correlatrice, a Cami, Eli, Edo, Simo, Nick, Emilio, alla Titti Benelli e a Giacomo per il suo sangue freddo.

Grazie alla Facoltà di Medicina Veterinaria, nella persona della Prof.ssa Bacci, per averci gentilmente procurato il plasma suino.

Grazie alla Prof.ssa Focarete del Dipartimento di Chimica "G.Ciamician", per averci permesso di eseguire i test di adesione.

Grazie a Babbo, Mamma e al piccolo Buddy per l'enorme supporto che mi avete dato in questi anni, grazie per aver sempre creduto in me, grazie per avermi aiutata ad andare avanti anche nei momenti più difficili e grazie, grazie, grazie semplicemente per essere così come siete: unici, meravigliosi e insostituibili.

Grazie a Angela, Carlotta e Giulia le mie adorabili amiche: ragazze è l'unione che fa la forza.

Grazie alle ragazze e alle suore di via S.Isaia 63 per i bellissimi momenti che abbiamo passato assieme in questi due anni, non vi dimenticherò mai.