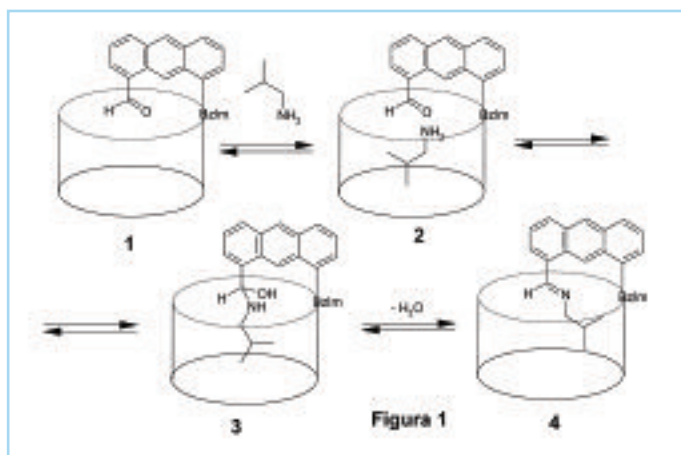




a cura di Pierfausto Seneci
Dipartimento di Chimica organica - Università di Milano

Alla fine di ogni anno, le più importanti riviste scientifiche internazionali riportano quelli che, a loro avviso, sono stati i lavori più rilevanti dell'anno stesso: mentre vi segnalo queste interessanti rubriche (*Science*, 2007, **318**, 1842 e *Nature*, 2007, **450**, 1130), che spaziano fra pianeti extrasolari e fisica quantica, fra la matematica e la climatologia, vorrei brevemente commentare cinque lavori chimici, o ad attinenza chimica, comparsi in queste top list.



Iniziamo dallo studio di meccanismi di reazione usando tecniche innovative che stabilizzano intermedi di reazione elusivi. Il gruppo di Rebek allo Scripps Institute di San Diego ha riportato (*Science*, 2007, **317**, 493) un recettore sintetico, o cavitando, composto da un nucleo di anelli 1,2-diamminofenilici sovrastato da un'impalcatura di legami ammidici preparati a partire dalle funzioni amminiche; le ammine di uno degli anelli, invece, vengono fatte reagire con una funzione aldeidica di un dialdeidoantracene a dare l'addotto benzimidazolico **1** (Fig. 1; lascio al Lettore l'esame della struttura dettagliata del cavitando sul lavoro originale). Questo addotto ha la particolarità di orientare il gruppo aldeidico restante verso l'interno del "contenitore", ed è dimensionato in modo tale da poter ospitare al suo interno una sola molecola di reattivo: scegliendo un'ammina alifatica, come l'isopropilammina, la reazione procede attraverso l'ingresso di una molecola di ammina in **1** (**2**), la formazione dell'emiaminale intermedio (**3**) e la disidratazione di **3** a dare l'immina finale (**4**, Fig. 1). Nell'addizione classica di ammine a carbonili, l'intermedio **3** non è osservabile se non in condizioni particolari estreme, e con reagenti particolarmente stabilizzati; in questo caso l'intermedio **3** è stabile per alcune ore, ed osservabile mediante NMR, a temperatura ambiente.

Gli autori ritengono che tecniche simili, dove intermedi instabili sono "artificialmente" stabilizzati in recettori sintetici adeguati (in questo caso attraverso legami a idrogeno dell'impalcatura ammidica con l'intermedio tetraedrico, e attraverso il "freezing" nella cavità dell'isopro-

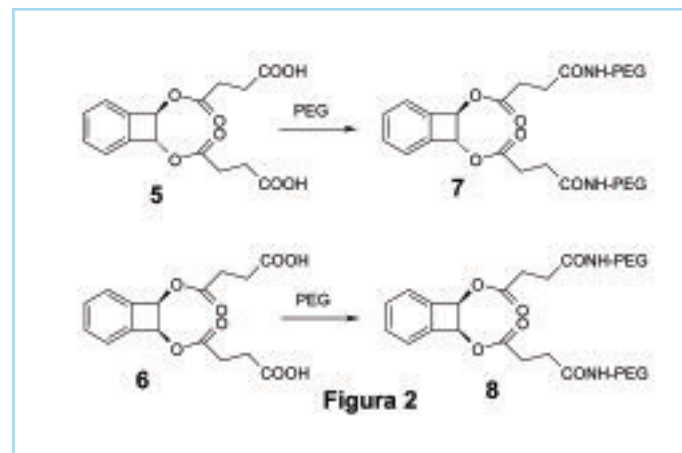
pilamina che rende la reazione quasi intramolecolare dal punto di vista entropico), potranno essere utili per studiare e comprovare sperimentalmente altri meccanismi di reazione.

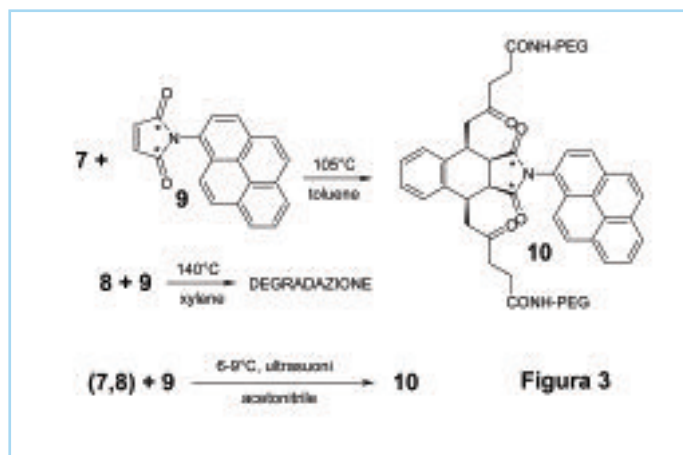
Restiamo nell'ambito di reazioni chimiche e del loro meccanismo. Pensate che sia possibile alterare il corso di reazioni a meccanismo noto applicando stimoli meccanici, cioè di distorsione fisica, sulle molecole coinvolte? No? Allora leggetevi un articolo di Moore (*Nature*, 2007, **446**, 423), dell'Università di Urbana-Illinois, in cui la frase sopra citata viene dimostrata. Nello specifico, gli autori preparano un polimero a base di PEG (polietilenglicole) contenente la versione trans (**7**, da **5**) e quella cis (**8**, da **6**, Fig. 2) di un benzociclobutene funzionalizzato.

La reazione termica (105 °C, toluene) fra **7** (o meglio, fra il diene generato tramite la sua apertura) e il dienofilo **9** (Fig. 3) produce il corrispondente addotto **10**; nel caso di **8**, invece, la cicloaddizione (fino a 140 °C, xilene) non avviene. Tutto ciò è in accordo con il meccanismo di attivazione/apertura termica di **5** (trans, a dare il diene E,E, che poi può reagire con **9**) e di **6** (cis, a dare il diene E,Z, che poi si decompone), che avviene in maniera conrotatoria.

Gli autori, usando un software specialistico (COGEF, COstrained Geometries simulate External Force), hanno previsto che una deformazione molecolare dovuta ad effetti meccanici sui due benzociclobutani avrebbe dovuto provocare un'ancor maggiore reattività/apertura conrotatoria per la coppia **5/7**, ed un "anormale-proibito" meccanismo disrotatorio per la coppia cis **6/8** a dare il diene E,E, poi in grado di reagire col dienofilo **9**. Come applicare, però, stimoli meccanici? Attraverso l'uso di ultrasuoni, noti per provocare (nel caso di catene polimeriche, e non per molecole piccole: da qui la necessità di inglobare **5** e **6** in polimeri a base di PEG) effetti simili a deformazioni meccaniche.

Vi risparmio per brevità i dettagli rigorosi del lavoro in questione, confermando però che a condizioni di reazione blande (6-9 °C, sonica-





zione in acetonitrile) sia il polimero trans **7** che quello cis **8** (quindi con apertura termicamente "proibita" disrotatoria) forniscono in maniera pulita e con buone rese lo stesso polimero **10**, come verificato anche per analisi ^{13}C -NMR dei due carboni carbonilici marcati derivanti dalla maleimide (Fig. 3). Gli autori promettono la scoperta di nuovi "meccanofori", cioè gruppi e composti capaci, una volta sottoposti a stress meccanico, di cambiare o addirittura invertire la loro reattività in determinate condizioni sperimentali.

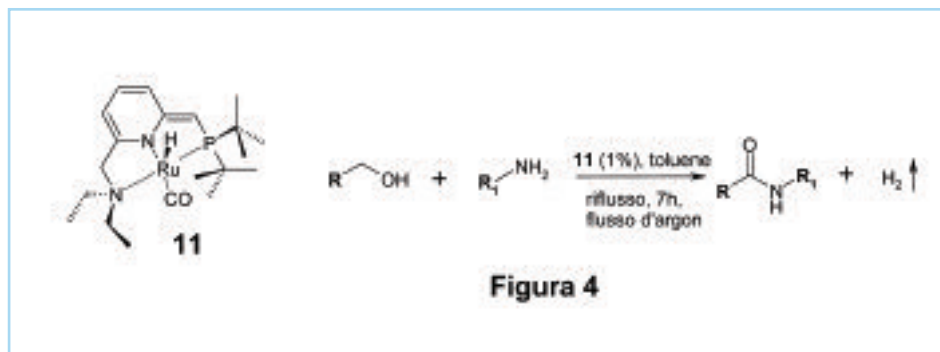
Passiamo ora a uno dei più comuni (ed importanti) gruppi chimici, ottenuto però con una metodologia innovativa e scevra di sottoprodotti legati ad agenti di coupling, ad acidi o a basi. Il gruppo di Milstein al Weizmann Institute di Rehovot in Israele ha riportato (*Science*, 2007, **317**, 790) la sintesi di ammidi da ammine ed alcoli primari catalizzato dal complesso di rutenio **11** (Fig. 4).

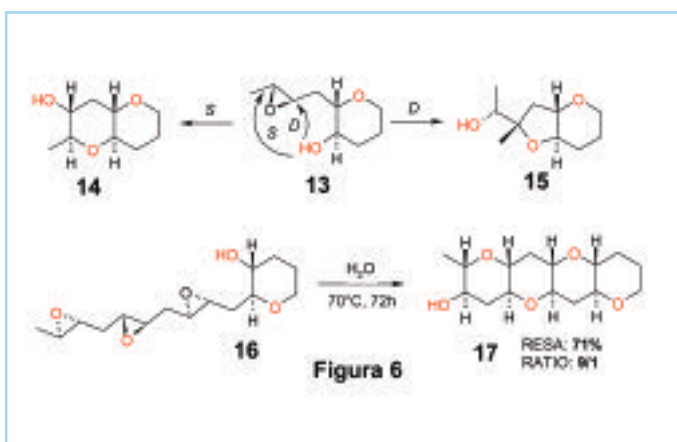
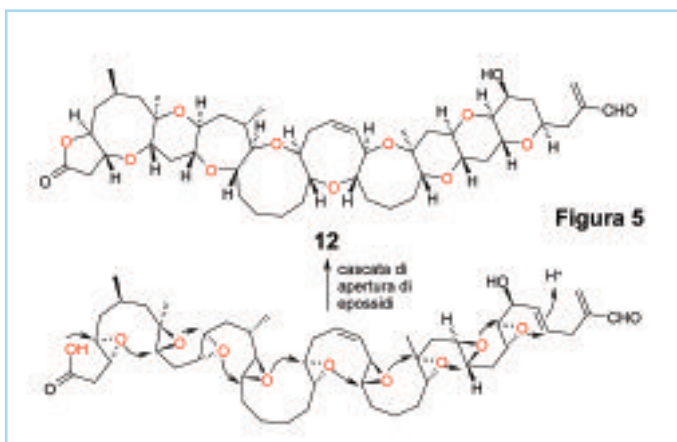
Di seguito, alcuni dettagli sulla reazione che ne delineano i vantaggi (molti) e le limitazioni (poche). La reazione prevede probabilmente una prima ossidazione parziale dell'alcool primario ad aldeide, seguita dalla formazione di un emiaminale transiente subito ossidato ad ammidi, con eliminazione di idrogeno. La reazione viene promossa dall'eliminazione dell'idrogeno sviluppato (esso stesso interessante, come prodotto!) attraverso un flusso d'argon nella miscela a riflusso; nel caso di benzilammina ed 1-esanolo, la reazione sotto flusso d'argon costante porta ad una resa del 96%, che si riduce al 63% senza uso di argon. La reazione è fortemente sensibile all'ingombro sterico: per quanto riguarda gli alcoli primari, un CH_2 in beta all' OH è sempre associato a rese >90%, mentre l'introduzione di un sostituito in beta (ad esempio, con 2-metil-1-butanol) porta a rese intorno al 70%; per quanto riguarda le ammine, le ammine secondarie non reagiscono,

mentre fra le primarie un CH_2 in alfa all' NH_2 porta a rese >90%, mentre l'introduzione di un sostituito in alfa (ad esempio, con cicloesilammina) porta di nuovo a rese intorno al 70%. Bis-ammine primarie portano pure alla formazione con alte rese delle corrispondenti bis-ammidi. La nucleofilicità delle ammine è importante, visto che l'anilina reagita con 1-pentanol produce la fenilpentammide con una resa del 58%. La reazione è estremamente pulita ed efficiente, con un alto turnover del catalizzatore, usato solo all'1% rispetto alle quantità equimolecolari di alcole ed ammina. La reazione, partendo da intermedi poco costosi ed accessibili con varie sostituzioni, è al tempo stesso cost-effective e riconducibile alla produzione di varie ammidi per gli usi più disparati. In una frase: innovativa, utile, semplice, ecologica!

I meccanismi di reazione, legati a composti biologicamente attivi ed estremamente complessi, sono anche l'argomento di un lavoro di Jamison all'MIT di Boston (*Science*, 2007, **317**, 1189). Ciguatossine e brevetossine, prodotte da microrganismi marini ed estremamente tossiche, sono da tempo oggetto di studi biologici, biochimici e sintetici; come esempio in Fig. 5 è riportata la brevetossina A (**12**). La via biosintetica usata dai produttori naturali è tuttora sconosciuta; le vie di sintesi di laboratorio a tutt'oggi sono estremamente complesse (fino a 100 passaggi di reazione), e non riescono a sfruttare un pathway teoricamente proposto più di 20 anni fa da Nakanishi. Esso prevede la trasformazione di un poliepossido a dare un poliestere tossina-like attraverso una cascata di aperture di funzioni epossidiche (Fig. 5): l'ipotesi è proposta tenendo conto delle unità ripetitive O-C-C nelle strutture che si ripetono dall'inizio alla fine dei composti (O evidenziati in rosso), e implica una costante apertura per dare l'anello più grande possibile (vedi frecce in Fig. 5). Proprio questo è il punto: ammesso che poliepossidi simili siano ottenibili, è possibile ipotizzare una loro apertura concertata nel senso della formazione di cicli grandi, piuttosto che piccoli?

Gli autori hanno preparato un piccolo composto epossidico modello **13**, contenente un idrossile per l'apertura intramolecolare dell'eossido e un ciclo piranico, e ne hanno studiato la tendenza a dare il bici-





clo 6,6 (**14**, meccanismo desiderato) o il bicciclo 6,5 (**15**, meccanismo da minimizzare, Fig. 6 in alto). Un'accurata analisi ha determinato come l'acqua come solvente e il pH vicino alla neutralità diano forte selettività (fino a 10:1!) per **14**; la temperatura, invece, accelera o rallenta la reazione, ma non ne cambia la selettività. La stessa reazione in condizioni ottimizzate è stata effettuata sul substrato più "tossina-like" **16**, osservando una simile preferenza accentuata per il tetraciclo **17** (Fig. 6, in basso). Da qui alle breve- o ciguatossine la strada è ancora lunga, ma un po' più in discesa (e magari pure più breve)...

Per finire, spostiamoci verso la ricerca farmaceutica. Un gruppo di ricercatori pubblici (Università della Pennsylvania e del Massachusetts) e privati (PTC Therapeutics, New Jersey) ha riportato l'identificazione e la caratterizzazione biologica del composto PTC124 (**18**, Fig. 7) come un potenziale farmaco per la cura di malattie genetiche causate dalla prematura terminazione della sintesi di proteine essenziali, quale ad esempio la fibrosi cistica (*Nature*, 2007, **447**, 87).

In natura, la sintesi di proteine dipende dall'efficienza della lettura delle sequenze dell'mRNA messaggero a livello cellulare, e dalla correttezza

della lettura (inizio della traslazione a specifico segnale, termine in presenza dello stop codon preposto). Alcune malattie genetiche provocano mutazioni in un gene, che portano alla comparsa anormale di uno stop codon all'interno della sequenza nucleotidica codificante una proteina; ciò provoca una terminazione prematura e la produzione di una proteina troncata e non funzionale.

Gli autori hanno messo a punto saggi biologici misuranti la capacità di inibire la terminazione prematura della lettura di un gene in corrispondenza di uno stop codon innaturale, e da qui hanno isolato vari hits e identificato vari chemiotipi attivi; attraverso un programma di chimica medicinale sono giunti a **18** (Fig. 7), cioè a una piccola molecola organica ottimizzata e "drug like". Questa molecola è attiva in vari modelli in vitro di patologie, tra cui quello dell'espressione di distrofina funzionale in cellule di pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne (DMD), e non inibisce un subset di recettori molecolari dando prova di specificità; ha dato buoni risultati nella caratterizzazione eADMET (non inibisce il canale hERG, ha una solubilità limitata ma sufficiente, etc.); ha dato ottimi risultati in termini di efficacia in vari modelli animali (topo) di distrofia muscolare; ha dato ottimi risultati (assenza di tossicità) in test a concentrazioni molto elevate (>1 g/kg) in ratti e cani per 14 giorni; è risultata ben tollerata in volontari sani dopo singola somministrazione di 200 mg/kg. Gli autori dicono che il composto è attualmente in fase di sviluppo clinico per curare DMD e fibrosi cistica e, sebbene la strada sia lunga e qualche dato dia l'impressione di un profilo perfettibile, una cura innovativa per malattie tremende sembra profilarsi all'orizzonte.

A questo proposito, due commenti molto importanti su questa molecola. In primis, la sua azione si effettua tramite "override" del segnale anormale di terminazione, e non attraverso una over-espressione dell'mRNA codificante la sequenza mutata; se così non fosse stato, il rischio di aspecificità/azioni anormali a livello del meccanismo di controllo dell'espressione genica sarebbe stato significativo. In più, il meccanismo d'azione di **18** è ignoto, ma si è dimostrato che agisce solo "ignorando" la presenza di stop codons anormali, mentre non previene la lettura di stop codons fisiologici; la delucidazione del suo bersaglio molecolare permetterà di meglio comprendere i meccanismi che diversificano l'azione (e la lettura da parte della cellula) degli stop codons patologici da quelli fisiologici.

