

*Claudio Santi,
Maria Vincenza Anna Dragone,
Lorenzo Di Schino,
Anita Antoszewska,
Caterina Tidei
Dipartimento di Chimica
e Tecnologia del Farmaco
Sezione di Chimica Organica
Università di Perugia
santi@unipg.it*

OSSIDAZIONI “BIO-LOGICHE”

Ispirandosi al meccanismo con cui nei sistemi viventi la glutatione perossidasi riduce i perossidi a spese del glutatione, sono stati messi a punto nuovi processi green che sfruttano derivati selenorganici come catalizzatori nell'attivazione ossidativa di doppi legami carbonio-carbonio e carbonio-azoto.

Da un punto di vista industriale le ossidazioni sono una classe di reazioni di notevole importanza e rappresentano il metodo più efficace per la funzionalizzazione di materie prime, come idrocarburi ed olefine. Si stima che attraverso processi di ossidazione si producano nel mondo oltre un milione di tonnellate/anno di prodotti chimici di base sfruttando come ossidanti aria, ossigeno o perossidi. Tra questi ultimi quello di idrogeno costituisce sempre di più una valida alternativa a numerosi metodi usati anche in alcuni processi industriali [1] e ciò grazie sia alla riduzione dei costi di produzione sia alla sua proprietà chimica di produrre come unico co-prodotto una molecola d'acqua, contribuendo così ad aumentare l'eco-sostenibilità ed il carattere *green* dell'intero processo sintetico.

Nella ricerca di metodiche sempre più aderenti ai paradigmi della *Green Chemistry*, la catalisi enzimatica, attraverso la quale i sistemi viventi realizzano processi sintetici anche molto complessi in condizioni blande, senza produzione di rifiuti tossici, e con livelli di totale chemio, regio e stereo selettività, offre, senza dubbio, un'importante fonte di ispirazione ed al tempo stesso un modello da interpretare e riprodurre adattandolo alle proprie esigenze in termini di versatilità, velocità di reazione e semplicità di processo, attraverso un approccio che possiamo definire “*bio-logico*”.

La vita dei sistemi aerobi si relaziona in maniera diretta con la chimica redox e si basa da una parte sulla capacità di alcune proteine contenenti metalli di manipolare la chimica dell'ossigeno e dall'altra sullo sviluppo di sequenze altamente conservative che codificano

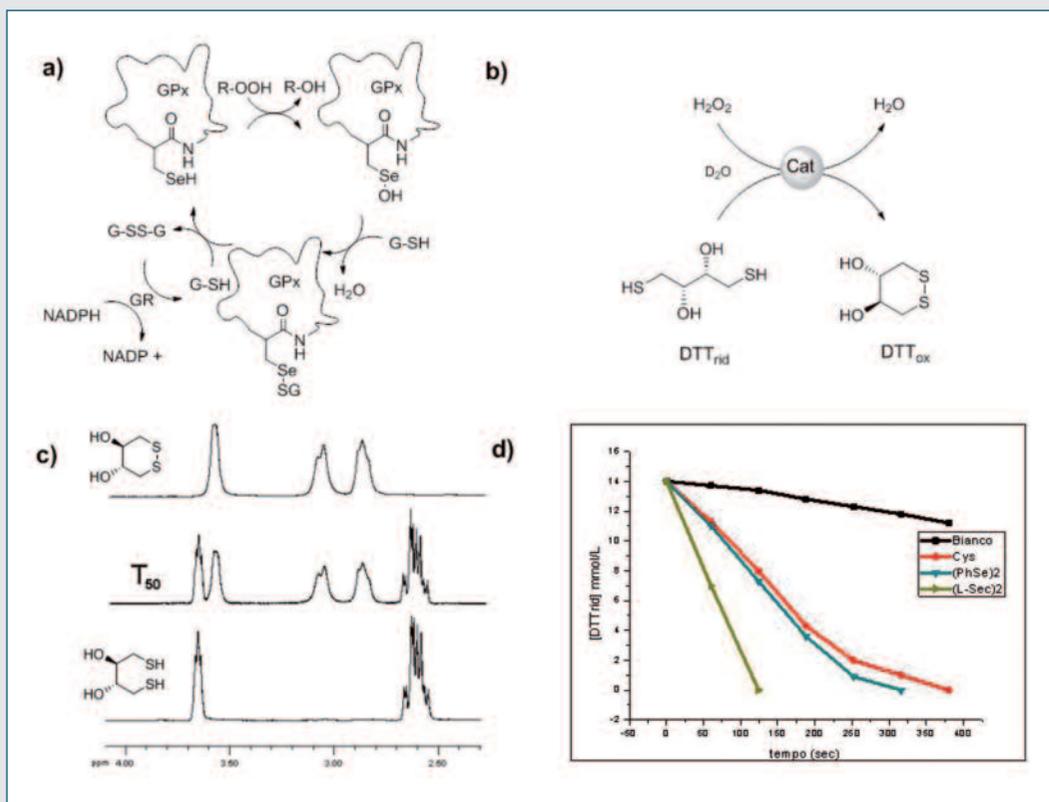


Fig. 1 - Attività GPx mimetica: a) ciclo catalitico della glutazione perossidasi, b) ossidazione catalizzata del DTT, c) valutazione della cinetica di ossidazione del DTT via ¹H-NMR, d) confronto delle cinetiche di ossidazione del DTT in presenza di differenti catalizzatori

proteine in grado di difendere la cellula dallo stress ossidativo prodotto soprattutto da specie perossidiche. In particolare questo secondo aspetto viene regolato dalla famiglia delle glutazione perossidasi attraverso l'azione di una selenocisteina che, nel sito catalitico dell'enzima, è stabilizzata da interazioni deboli nella forma di selenolato [2].

L'enzima glutazione perossidasi catalizza la riduzione dei perossidi attraverso l'ossidazione del selenolato ad acido selenenico, che, successivamente, reagisce con il glutatione ridotto (GSH) per formare un addotto seleno-solfuro (ESeSG). La rigenerazione della forma attiva dell'enzima avviene a seguito dell'attacco di una seconda molecola di glutatione all'intermedio ESeSG e la formazione di glutatione ossidato (GSSG) (Fig. 1a) [3]. Utilizzando un sistema modello semplificato (Fig. 1b), che sfrutta come sonda riducente il ditiotreitolo (DTT_{riid}), attraverso l'analisi ¹H-NMR del rapporto (DTT_{riid})/(DTT_{ox}) (Fig. 1c) è stato possibile valutare la capacità di alcuni composti selenorganici di mimare il funzionamento della glutazione perossidasi e quindi la loro capacità di funzionare come catalizzatori in processi di ossidazione mediati dall'idrogeno perossido. In particolare si è potuto dimostrare che due diseleniuri disponibili commercialmente, la L-selenocistina (L-Sec) e il difenil diseleniuro, mostrano una marcata attività GPx mimetica e sono in grado di ossidare quantitativamente il DTT in pochi minuti, accelerando sensibilmente la reazione non solo rispetto a quella dell'ossidazione spontanea in presenza di H₂O₂

ma anche rispetto a quella catalizzata dagli analoghi solforati (Fig. 1d). È noto che, in assenza di un tiolo, i derivati selenorganici (selenoli e diseleniuri) si perossidano a dare il corrispondente acido perselenenico e che questi ultimi sono reattivi in grado di promuovere una serie di reazioni che vanno dall'eossidazione delle olefine all'ossidazione di Baeyer-Villiger [4]. L'utilizzo di composti selenorganici in processi catalitici è conosciuto da tempo ed è stato recentemente riassunto in alcune review [5]. In particolare il difenil diseleniuro è stato da noi recentemente utilizzato in numerosi processi catalitici in presenza di un eccesso di ammonio persolfato nella realizzazione di selenazioni e deselenazioni *one-pot* in cui il diseleniuro viene convertito dall'ossidante nella specie elettrofila fenilselenenil solfato, un forte elettrofilo che è il vero catalizzatore del processo [6]. Questo promuove reazioni di addizione o ciclofunzionalizzazione, portando ad un

seleniuro intermedio che, in presenza di un eccesso di ammonio persolfato, viene ossidato nel corrispondente selenossido o ione selenonico, due buoni gruppi uscenti che rendono possibile la deselenazio-

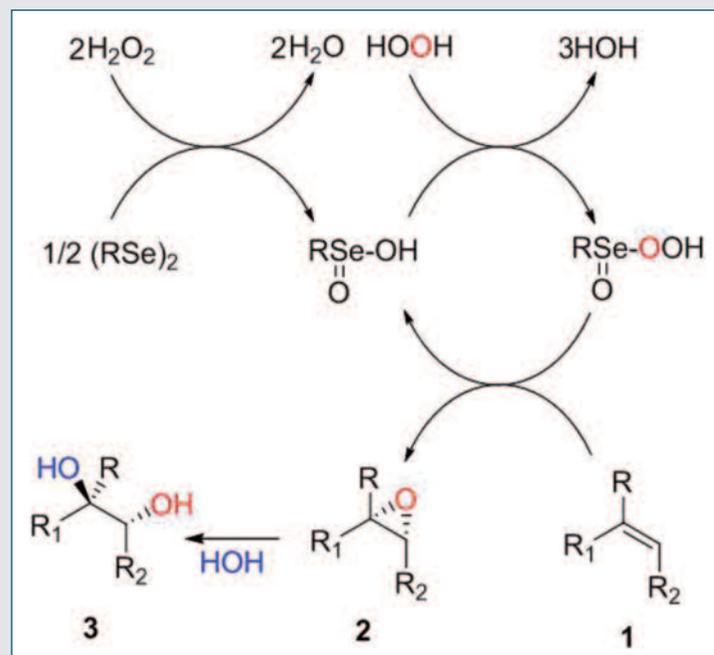


Fig. 2 - Sintesi di 1,2-dioili attraverso l'ossidazione di doppi legami carbonio-carbonio catalizzata da diseleniuri

| substrato | prodotti | condizioni | |
|-----------|-----------|--|---|
| | | 10 % (PhSe) ₂ 40 eq H ₂ O ₂ MeCN/H ₂ O | 1% (L-Sec) ₂ 4 eq H ₂ O ₂ H ₂ O |
| 1a | 3a | resa 76% 97:3 | resa 78% 100:0 ee > 99% |
| 1b | 3b | resa 98% 89:11 | resa 75% 100:0 |
| 1c | 3c | resa 47% 54:46 | resa 48% 66:34 |

Tab. 1 - Sintesi di 1,2-dioli, confronto tra rese e diastereoselettività ottenute utilizzando come catalizzatori il difenil diseleniuro o la selenocistina

ne ed il ripristino della specie elettrofila che funge da catalizzatore attraverso un meccanismo di eliminazione o sostituzione la cui selettività dipende sostanzialmente dalla tipologia del substrato considerato. Applicando un approccio di tipo "biologico", a fronte dei risultati ottenuti dalla valutazione NMR delle attività GPx-mimetiche, è stata investigata la possibilità di utilizzare il difenil diseleniuro e la selenocistina come pre-catalizzatori in processi di ossidazione dei doppi legami carbonio-carbonio, utilizzando come ossidante stechiometrico il perossido di idrogeno.

La reazione di ossidazione di olefine **1** conduce alla sintesi di dioli vicinali **3** con una selettività stereochimica che indica, chiaramente, il passaggio attraverso un intermedio epossidico **2** (Fig. 2), che non è stato possibile isolare ma la cui formazione è stata messa in evidenza per via spettroscopica effettuando la reazione direttamente nel tubo di analisi NMR. È interessante mettere a confronto le condizioni di reazione ottimizzate per i due catalizzatori ed osservare come il dimero dell'amminoacido, che costituisce il sito catalitico della glutazione perossidasi, mostri un'efficacia decisamente superiore (Tab. 1) rispetto a quella del difenil diseleniuro. Le reazioni catalizzate da L-

Sec procedono in condizioni molto interessanti per la sostenibilità del processo: 1 mol% di catalizzatore organico, 4 equivalenti di ossidante in acqua a pressione e temperatura ambiente. È interessante osservare anche come la reazione di apertura dell'eossido sia maggiormente selettiva nel caso della L-Sec a favore dell'isomero *anti* che, nel caso del metil-cicloesene **1a**, si ottiene con un eccesso enantiomerico superiore al 99%.

La solubilità in acqua del catalizzatore offre un notevole vantaggio nella lavorazione della reazione nonché la possibilità di riutilizzare l'ambiente acquoso per successivi cicli catalitici dopo estrazione dei prodotti di reazione con un solvente non miscibile, come etile acetato o etere etilico, e l'aggiunta di un equivalente di idrogeno perossido.

Come riassunto nella Fig. 3 la resa del diolo **3a** rimane soddisfacente per almeno cinque cicli catalitici, senza peraltro riscontrare perdita di enantioselettività.

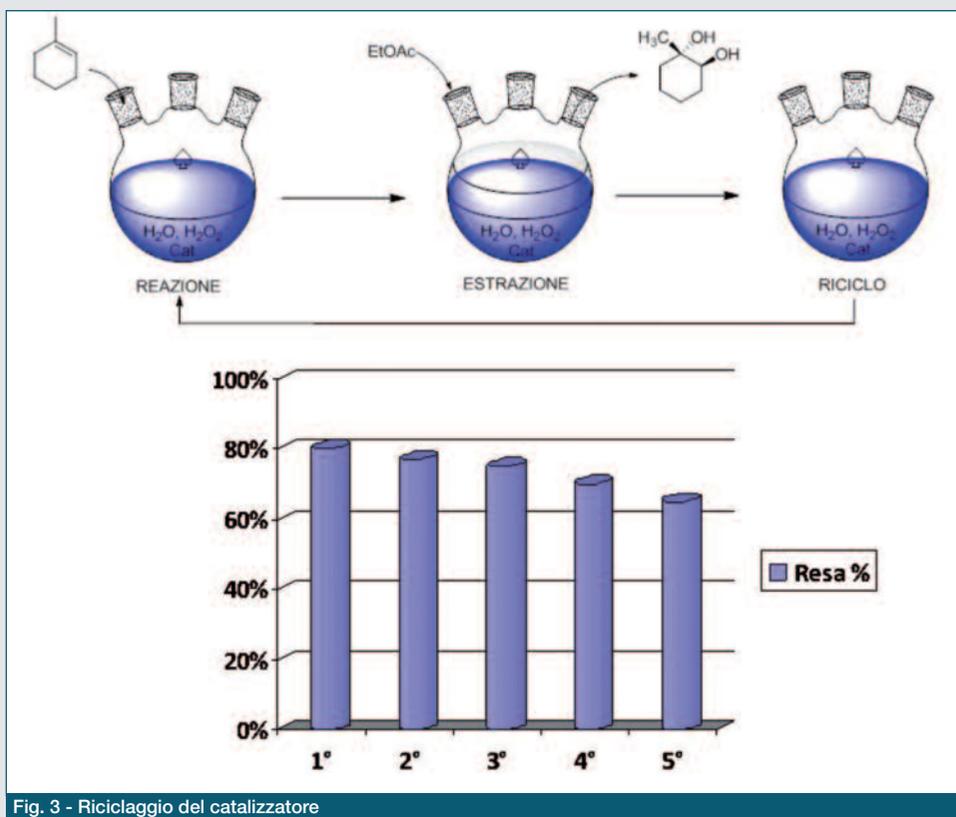


Fig. 3 - Riciclaggio del catalizzatore

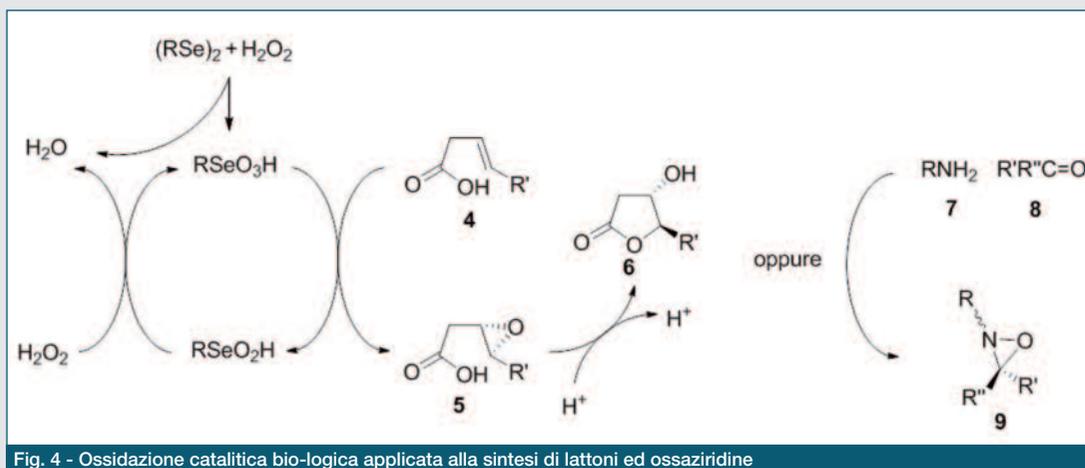


Fig. 4 - Ossidazione catalitica bio-logica applicata alla sintesi di lattoni ed ossaziridine

La stessa reazione è stata messa a punto anche con tecniche in flusso dimostrando la possibilità di ottenere un rapido scale-up della metodica proposta nella sintesi stereoselettiva degli 1,2-dioli *anti*.

Nell'ottica di dimostrare la versatilità dell'approccio *bio-logico* la reazione è stata ripetuta modificando il mezzo di reazione ed introducendo altri nucleofili in grado di aprire l'epossido intermedio. Utilizzando il metanolo è stato ad esempio possibile sintetizzare gli analoghi α -idrossimetileteri oppure, lavorando in una soluzione satura di cloruro di sodio, le corrispondenti cloridrine.

Partendo da substrati contenenti un nucleofilo interno ad una distanza opportuna dal doppio legame che viene ossidato (4) si ottengono processi di ciclofunzionalizzazione che conducono alla sintesi di sistemi eterociclici funzionalizzati (6) con un'elevata stereoselettività e rese quantitative. Anche in questo caso la selettività deriva dalla formazione intermedia di un epossido che subisce una reazione di apertura d'anello intramolecolare ad opera del nucleofilo interno che può essere un acido carbossilico o un alcool, producendo rispettivamente come prodotti finali lattoni o eteri ciclici. È attualmente in

corso uno screening di catalizzatori chirali, poiché in questa reazione la selenocistina ha prodotto solo modesti livelli di selettività facciale.

Passando a studiare la possibilità di ossidare con lo stesso protocollo anche doppi legami carbonio-azoto si è osservato che il sistema è in grado di catalizzare la sintesi *one-pot* di ossaziridine (9) a partire direttamente da ammine primarie (7) e derivati chetonici o aldeidici (8).

Quando l'ammina è chirale l'ossaziridina si forma con un rapporto diastereoisomerico che varia da 70:30 a 98:2, in funzione soprattutto della distanza dello stereocentro dall'atomo di azoto dell'anello ossaziridinico (Fig. 4). In conclusione, ispirandosi al meccanismo di azione della glutatione perossidasi e alla sua capacità di catalizzare la riduzione di perossidi a discapito di cofattori tiolici è stato messo a punto un sistema che sfrutta non le proprietà ossidanti dell'acido selenenico (che è la forma attiva nell'enzima) ma del corrispondente peracido che si forma in assenza di tioli.

Questi sistemi catalitici sono in grado di attivare ossidativamente i doppi legami carbonio-carbonio e carbonio-azoto offrendo la possibilità di accedere alla sintesi di numerose classi di composti in maniera altamente selettiva.

L'utilizzo dell'amminoacido naturale può contribuire notevolmente a migliorare la sostenibilità dei processi offrendo un elevato turnover e a permettere di utilizzare come solvente l'acqua e in generale blande condizioni di reazione, con una semplicità di lavorazione e purificazione dei prodotti finali.

Bibliografia

- [1] a) R.A. Sheldon, *Chem. Commun.*, 2008, 3352; b) R.A. Sheldon *et al.*, *Green Chemistry and Catalysis*, Wiley VCH, Weinheim, 2007.
- [2] a) L. Flohé *et al.*, *FEBS Lett.*, 1973, **32**, 132; b) J.T. Rotruck *et al.*, *Science*, 1973, **179**, 588; c) J.G. Bell *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1984, **795**, 91; d) S.T. Omaye, A.L. Tappel, *J. Nutr.*, 1974, **104**, 747.
- [3] B.K. Sarma, G. Muges, *Org. Biomol. Chem.*, 2008, **6**, 965.
- [4] P.A. Grieco *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1977, **42**, 2034.
- [5] a) D.M. Freudendahl *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48**, 8409; b) C. Santi *et al.*, *Curr. Org. Chem.*, 2010, **14**, 2442.
- [6] a) M. Tiecco *et al.*, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 4645; b) C. Santi *et al.*, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 2008, **183**, 956; c) M. Tiecco *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2002, **8**, 1118.

ABSTRACT

"Bio-Logic" Oxidations

New green catalytic procedures were optimized taking inspiration from the mechanism of the glutathione peroxidase, the enzyme that in nature reduces hydrogen and lipidic peroxides using as co-factor two molecules of glutathione. Oxidative activation of carbon-carbon and carbon-nitrogen double bond, catalyzed by organoselenium compounds in the presence of hydrogen peroxide, can be used to obtain highly stereoselective synthesis of functionalized compounds through addition or cyclization reactions.