



A CURA DI SILVIA CAUTERUCCIO E MONICA CIVERA
 DIPARTIMENTO DI CHIMICA
 UNIVERSITÀ DI MILANO
 SILVIA.CAUTERUCCIO@UNIMI.IT
 MONICA.CIVERA@UNIMI.IT

La basi molecolari dell'aggregazione della microglobulina beta 2 D76N

Molte patologie sono associate alla trasformazione di proteine solubili in fibrille amiloidi. In questo recente lavoro [T. Le Marchand, *Nat. Commun.*, 2018, **9**, 1658] gli autori studiano il comportamento di una proteina globulare, la beta-2-microglobulina ($\beta 2m$), che acquisisce la capacità di formare fibrille a seguito di una singola mutazione D76N (acido aspartico Asp76 sostituito con asparagina Asn). La posizione 76 si trova in una regione della proteina esposta al solvente e, data la mutazione isosterica tra i residui Asp e Asn, non introduce elementi idrofobici o modifiche strutturali (appartiene ad un *loop*) che possano spiegare il cambiamento osservato (solubilità vs. aggregazione). Per studiare quindi le proprietà amiloidogeniche di D76N- $\beta 2m$ rispetto alla forma *wild type*, wt- $\beta 2m$, è stata utilizzata la spettroscopia MAS-NMR (tecnica *magic angle spinning* NMR applicata allo stato solido) combinata a simulazioni avanzate di dinamica molecolare. Mentre a livello cristallografico le strutture di wt- $\beta 2m$ e D76N- $\beta 2m$ sono simili, i parametri d'ordine ottenuti con MAS-NMR per i residui del *loop* del sito di mutazione sono diversi per i due sistemi e, nel caso di D76N- $\beta 2m$, indicano una maggiore flessibilità. Questo comportamento è stato confermato dalle simulazioni di dinamica molecolare in soluzione acquosa, suggerendo che i movimenti osservati siano indipendenti dalle condizioni (soluzione o stato cristallino) ed intrinseci della proteina. Inoltre, per entrambe le forme di proteina gli esperimenti di rilassamento ^{15}N R1 ρ rivelano stati eccitati in equilibrio, su una scala di tempi di micro-millisecondi, con lo stato fondamentale. Tuttavia, nel caso di D76N- $\beta 2m$, i residui del *loop* e del

beta *strand* vicini al sito di mutazione hanno valori di rilassamento molto più elevati. Per interpretare questo effetto su base molecolare sono state fatte simulazioni di metadinamica con il metodo RAM (*Replica-averaged metadynamics*) in cui i dati sperimentali (i *chemical shifts* NMR) vengono integrati al *force field* della meccanica molecolare al fine di esplorare correttamente lo spazio conformazionale. Calcolati gli insiemi di strutture per i sistemi wt e D76N- $\beta 2m$, sono state generate le corrispondenti superfici di energia libera in funzione della distribuzione di rotameri delle catene laterali dei residui e del contenuto di struttura secondaria di tipo beta. Per entrambi i sistemi le strutture si concentrano in due *bundles*, uno simile alla struttura cristallina e uno (quello degli stati eccitati) in cui si osservano differenze nel contenuto di elementi di struttura secondaria. In particolare, in questo secondo *bundle*, la perdita di contenuto di struttura beta per D76N- $\beta 2m$ rispetto alla forma wt si correla con una diminuzione di solubilità (la regione è più esposta al solvente), spiegando in questo modo la maggiore tendenza all'aggregazione. In accordo con la diminuzione di stabilità termica, la mutazione D76N fa perdere due ponti salini con la parte C- e N-terminale della proteina indebolendone la struttura (Fig. 1).

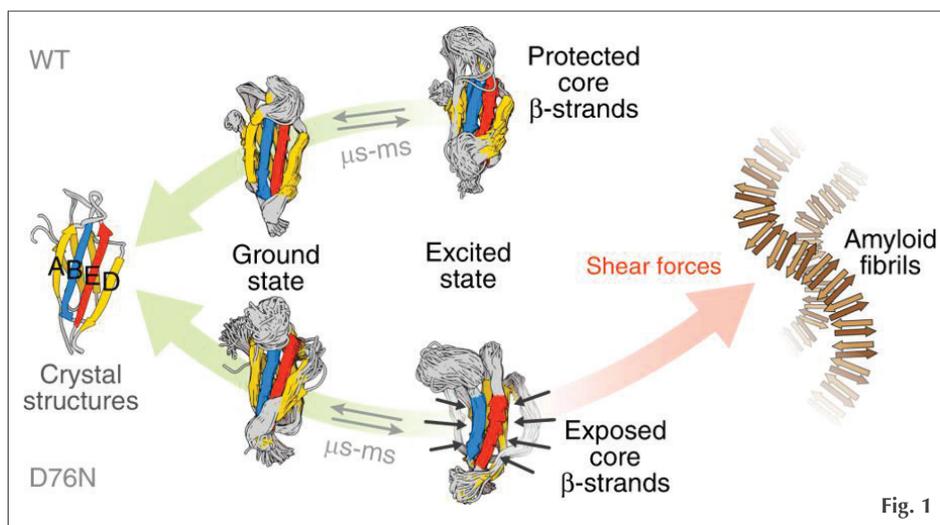


Fig. 1



Elettrochimica organica: un approccio semplice e sostenibile alla sintesi organica

Il termine "elettrochimica" è comunemente associato alla chimica analitica e alla chimica fisica, mentre più difficilmente riusciamo a contestualizzarlo all'interno della chimica organica, soprattutto alla chimica organica sintetica. Ad esempio, la ciclovoltammometria ciclica è una tecnica ampiamente utilizzata per descrivere le proprietà elettroniche di una molecola organica, ma raramente pensiamo all'elettrochimica come metodologia per la loro sintesi; e questo è abbastanza strano se pensiamo che gran parte delle trasformazioni organiche coinvolgono, a diversi livelli, processi di ossidoriduzione. Negli ultimi anni questa tendenza sta cambiando, come ci suggerisce R.D. Little nell'editoriale del *Chemical Reviews* [R.D. Little, *Chem. Rev.*, 2018, **118**, 4483], dove è stato dedicato un intero *issue* agli sviluppi più significativi nell'ambito dell'elettrochimica organica, le cui notevoli potenzialità sono riconducibili ad una tecnica di per sé semplice e a basso impatto ambientale. Infatti, al contrario di quello che si possa pensare, le attrezzature per condurre una reazione elettrosintetica sono molto semplici e consistono principalmente in un pallone dove far avvenire la reazione, una coppia di elettrodi e un dispositivo che fornisca corrente elettrica. In questo modo il trasferimento elettronico da o su un elettrodo può portare direttamente all'ossidazione o alla riduzione dei substrati in modo efficiente, senza la necessità di utilizzare classici ossidanti o riducenti chimici in quantità stechiometrica. Lo sviluppo di microreattori a flusso per processi elettrosintetici ha permesso inoltre di diminuire sensibilmente la quantità di solvente e minimizza, se non

elimina completamente, l'impiego dell'elettrolita di supporto [Y. Matsumura, *Chem. Rev.*, 2018, **118**, 4541]. Un altro aspetto molto importante riguarda la possibilità di monitorare l'andamento di queste reazioni e riuscire a definire la natura degli intermedi dell'intero processo attraverso la voltammometria ciclica, che, in questo contesto, assume quindi un ruolo chiave, essendo in grado di fornire i potenziali a cui un substrato si ossida o si riduce, dare un'idea della stabilità e reattività degli intermedi, stimare le velocità di reazioni che coinvolgono intermedi radical cationici o anionici molto reattivi. Tra le molteplici applicazioni dell'elettrochimica organica, recentemente sono stati condotti numerosi studi sull'elettrosintesi di strutture eterocicliche, come ad esempio l'amminazione intramolecolare di legami C(sp³)-H per ottenere pirrolidine e piperidine diversamente funzionalizzate [K. Muñiz, *Green Chem.*, DOI: [10.1039/c8gc01411f](https://doi.org/10.1039/c8gc01411f)]. In questo caso il meccanismo proposto prevede l'attivazione del legame C-H all'anodo, con conseguente formazione di un radicale benzilico a sua volta catturato dall'atomo di azoto nucleofilo (Fig. 2).

Concludo segnalando la messa a punto di una reazione di coupling arile-arile anodico altamente regio e diastereoselettivo, quale passaggio sintetico chiave nella sintesi della (-)-tebaina [T. Opatz, *Angew. Chem. Int. Ed.* DOI: [10.1002/anie.201803887](https://doi.org/10.1002/anie.201803887)].

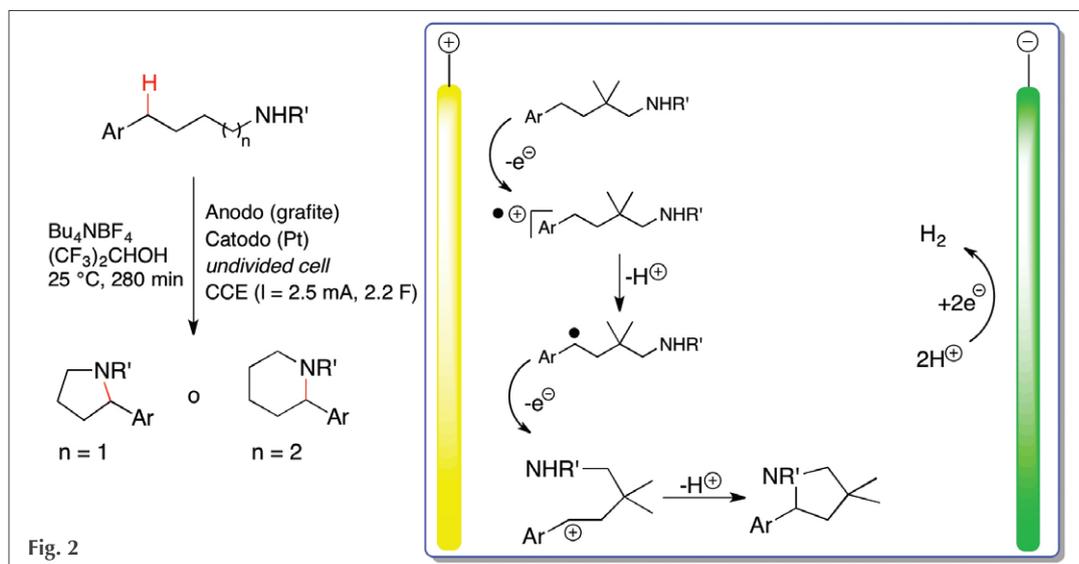


Fig. 2