

SINTESI IN FLUSSO 'BIO-LOGICO'

Grazie ad un approccio multidisciplinare, nuove tecnologie emergenti come i sintetizzatori a flusso continuo hanno permesso lo sviluppo di sintesi più sicure e green a costi più bassi ed alta produttività. Ispirandoci alla natura, in questo lavoro abbiamo riprodotto il processo ossidativo catalizzato dalla glutazione perossidasi in un sistema 'bio-logico' in flusso.

Nel corso dell'ultimo secolo, la sintesi chimica ha vissuto una continua evoluzione nello sviluppo di nuove reazioni e nell'applicazione di metodologie sintetiche avanzate [1]. In questo contesto, i risultati ottenuti hanno arricchito la conoscenza della reattività di strutture chimiche complesse, permettendo la delucidazione di meccanismi alla base di sistemi biologici e, soprattutto, l'accesso a (quasi) qualsiasi struttura chimica, inimmaginabile fino a qualche anno fa. Sebbene la capacità di preparare nuove entità chimiche sia migliorata notevolmente negli anni, l'efficienza con cui vengono condotte le trasformazioni sintetiche necessita di ulteriori sforzi scientifici, risorse economiche e capitale intellettuale. Infatti, da una parte si producono ancora significative quantità di materiale di scarto con la produzione di tonnellate di rifiuti da gestire e mettere in sicurezza, dall'altra si impiega forza lavoro altamente qualificata e specializzata anche quando le attività da svolgere sono semplici, tediose e ripetitive. Analogamente, l'ottimizzazione, la purificazione e l'analisi delle reazioni sono spesso operazioni costose e lunghe, ciò provoca il rallentamento del percorso progettuale che porta al raggiungimento degli obiettivi prefissati. Anche per queste ragioni, negli ultimi anni, il chimico impegnato nel settore farmaceutico e di processo, sia in ambito accademico che industriale, è stato chiamato ad un significativo cambiamento sia di mentalità che nel modo di affrontare le problematiche sintetiche adottando un approccio sempre più interdisciplinare e caratterizzato da alta innovazione. A tal proposito, l'avvento e l'impiego di nuove metodologie, le cosiddette 'enabling technologies', hanno ampliato il campo di applicazione, consentendo un accesso più facile alle principali trasformazioni chimiche, in precedenza difficili o addirittura impossibili da attuare a causa delle restrizioni imposte dagli standard di sicurezza, dalle tempistiche e dai costi.

Tra questi sistemi, una tecnologia emergente che sta rivoluzionando il settore della chimica farmaceutica e sintetica nel processo di 'drug discovery' è la chimica in flusso [2-5]. Questa metodologia prevede che substrati, reagenti e solventi siano continuamente processati in un reattore così che il composto risultante sia prodotto in continuo. Nella fase di ottimizzazione dei passaggi sintetici, le condizioni di reazione ed i parametri sperimentali possono essere modificati indipendentemente, in maniera automatizzata e

con elevata precisione anche in condizioni supercritiche. Tra gli altri vantaggi, la chimica in flusso garantisce una buona riproducibilità e scalabilità dei processi sintetici in piena sicurezza. Inoltre, i composti generati possono essere lavorati e purificati in linea e i vari passaggi sintetici possono essere condotti in maniera telescopica così da eseguire l'intera sequenza sintetica in un flusso continuo. Recentemente, le potenzialità associate all'impiego della tecnologia in flusso sono state sfruttate per sviluppare nuovi protocolli di sintesi più robusti ed affidabili per la costruzione di librerie di composti per campagne di screening [6], così come per la produzione in larga scala di composti biologicamente attivi [7], di intermedi di processo difficili da realizzare e di farmaci in commercio [8, 9]. Inoltre,

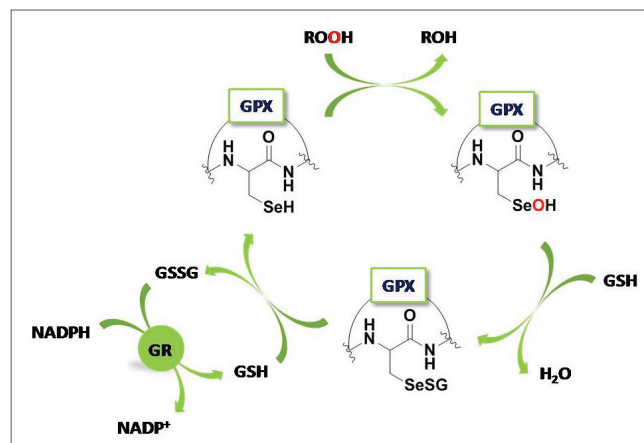


Fig. 1 - Meccanismo catalitico operato dalla GPx

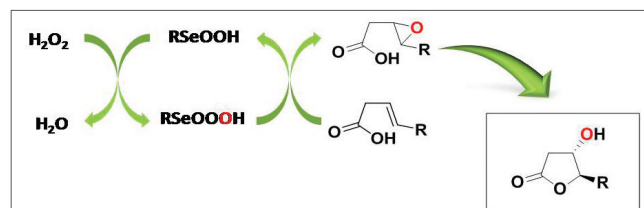


Fig. 2 - Meccanismo catalitico GPx-mimetico

Questo articolo è tratto dall'intervento presentato al convegno WSeS-4, svoltosi a Perugia dal 20 al 21 aprile 2015

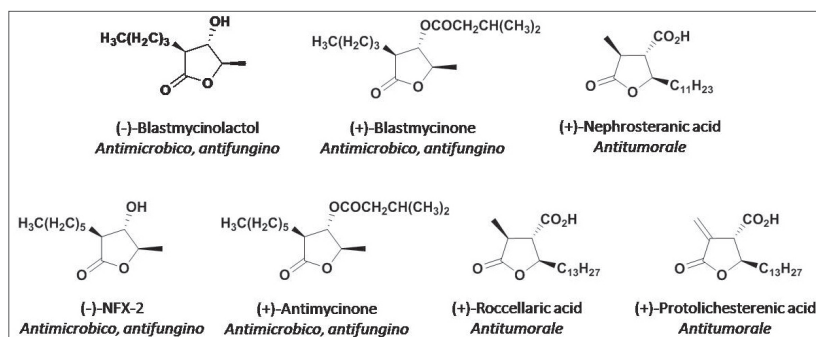


Fig. 3 - γ -Butirrolattoni naturali biologicamente attivi

la definizione dei principi della 'green sustainable chemistry' ha fortemente promosso la ricerca di metodiche che sfruttano l'impiego di catalizzatori sia in fase omogenea che eterogenea per ridurre i costi e la produzione di scarti, aumentando al tempo stesso la resa e il grado di chemo-, regio- e stereoselettività di una reazione.

Nell'ambito del gruppo multidisciplinare 'SeS-Redox and Catalysis', tra le varie attività, sono state integrate competenze nella chimica in flusso con la catalisi promossa da composti selenorganici. In particolare, prendendo ispirazione dall'ormai riconosciuto ruolo del selenio quale micronutriente nel corpo umano [10], dalla sua presenza come eteroatomo nell'amminoacido naturale seleno-cisteina e dal meccanismo catalitico di seleno-enzimi quali le glutazione perossidasi (GPx) [11], si è deciso di studiare la possibilità di mimarne l'attività attraverso una catalisi 'bio-logica' [12] basata sull'impiego di nuovi reagenti seleno-organici in flusso. È noto infatti che il selenolo presente nella seleno-cisteina della triade catalitica delle GPx, neutralizza i perossidi formando i corrispondenti alcoli ed ossidandosi a sua volta ad acido seleninico (Fig. 1). Tale intermedio reagisce in maniera sequenziale con due molecole di glutazione ridotto (GSH) per dare il selenilsolfuro ed il selenolo. Il glutazione ossidato (GS-SG) viene quindi ripristinato in forma ridotta grazie all'azione del sistema glutazione reduttasi (GR)-NADPH [13]. Questo meccanismo enzimatico è stato quindi riprodotto in laboratorio impiegando acidi seleninici come specie catalitiche in presenza di acqua ossigenata come co-ossidante per la generazione dell'acido perseleninico, la specie reattiva ossidante. Il trasferimento dell'ossigeno da parte della specie catalitica al doppio legame dell'acido alchenoico scelto come substrato modello porta alla formazione di un intermedio epossidico, il quale subisce un attacco nucleofilo intramolecolare (Fig. 2).

Il nucleo γ -butirrolattone così ottenuto costituisce un motivo strutturale privilegiato largamente diffuso in composti di origine naturale con attività biologica come il (-)-blastmycinolactol, il (+)-blastmycinone e il (+)-antimycinone (Fig. 3). Inoltre, i sistemi β -idrossi- γ -butirrolattone sono stati variamente usati come 'chiral building block' per la sintesi enantioselectiva di prodotti naturali di alto interesse farmaceutico [14].

La reazione modello è stata studiata in una piattaforma chimica in flusso continuo dotata di un modulo di pompaggio equipaggiato con pompe HPLC, di un sistema di iniezione a sei vie, un modulo di reazione che accoglie un mesoreattore a bobina, un detector, un regolatore di pressione e un collettore di frazioni. Il tutto è stato associato ad un sistema di automazione gestito da un software. La soluzione acquosa di acido seleninico ed acqua ossigenata viene quindi pompata e fatta incontrare per mezzo di una giunzione a T con una soluzione organica di acetato di etile in cui è presente il substrato acido alchenoico (Fig. 4). La miscela risultante viene quindi flussata nel reattore posto alla temperatura di 25 °C.

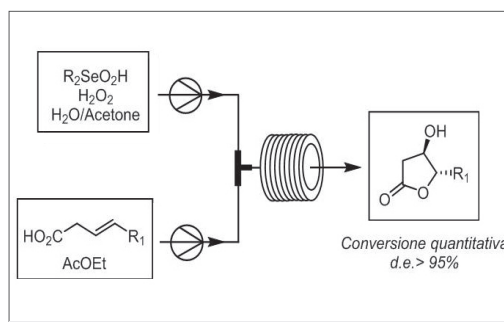


Fig. 4 - Reazione modello per la sintesi in flusso 'bio-logica' di β -idrossi- γ -butirrolattoni

L'intero processo ottimizzato ha permesso di ottenere il lattone desiderato in resa pressoché quantitativa, con un'elevata diastereoselettività e tempi di reazione ridotti di circa dieci volte rispetto alle condizioni adottate in 'batch'. Inoltre, l'impiego di quantità catalitiche di acido seleninico a temperatura ambiente, l'utilizzo di un co-ossidante non tossico che genera una molecola di acqua come unico sotto-prodotto, l'impiego di un sistema solvente bifasico eco-compatibile combinati alla 'atom economy' costituiscono i punti di forza di questa nuova metodologia sintetica ecosostenibile. Incoraggiati da questi risultati preliminari, lo studio che è attualmente in corso nel gruppo di ricerca coordinato dal prof. Antimo Gioiello presso il 'Laboratory of Medicinal and Advanced Synthetic Chemistry (Lab MASC)' del dipartimento di Scienze Farmaceutiche dell'Università di Perugia, è stato indirizzato verso l'ottimizzazione del protocollo sintetico anche attraverso un sistema di purificazione in linea la cui versatilità ed efficienza sarà provata su diversi substrati per generare una libreria focalizzata sul nucleo γ -butirrolattone in maniera diastereoselettiva e con buone rese complessive.

BIBLIOGRAFIA

- [1] S.V. Ley *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, **54**, 3449.
- [2] M. Baumann *et al.*, *Mol. Div.*, 2011, **15**, 613.
- [3] J.C. Pastre *et al.*, *Chem. Soc. Rev.*, 2013, **42**, 8849.
- [4] C. Wiles *et al.*, *Green Chem.*, 2012, **14**, 38.
- [5] J. Wegner *et al.*, *Chem. Commun.*, 2011, **47**, 4583.
- [6] A. Gioiello *et al.*, *ACS Comb. Sci.*, 2013, **15**, 253.
- [7] P. Filippini *et al.*, *Org. Process Res. Dev.*, 2014, **18**, 1345.
- [8] F. Lévésque *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2012, **51**, 1706.
- [9] T. Tsubogo *et al.*, *Nature*, 2015, **520**, 329.
- [10] K. Schwarz *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, **79**, 3292.
- [11] L. Flohè *et al.*, *FEBS Lett.*, 1973, **32**, 132.
- [12] C. Tidei, C. Santi, "Bio-Logic" Catalysis: New Bioinspired Catalytic Reactions from Organoselenium Chemistry: Between Synthesis and Biochemistry, Bentham, 2014.
- [13] C. Santi *et al.*, *Curr. Chem. Biol.*, 2013, **7**, 25.
- [14] R.B. Chhor *et al.*, *Chem. Eur. J.*, 2003, **9**, 260.

Bio-Logical' Flow Synthesis

Facilitating by a multidisciplinary approach, new enabling technologies as flow synthesizers have found application in the development of safer and greener synthesis at lower costs and high productivity. Taken inspiration from nature, we have translated the oxidative pathway of glutathione peroxidase into a 'bio-logical' flow system.