



a cura di Silvia Cauteruccio e Monica Civera

Dipartimento di Chimica
Università di Milano
silvia.cauteruccio@unimi.it
monica.civera@unimi.it

Un esempio di enzima ingegnerizzato per la formazione di legami Si-C

Gli enzimi sono proteine che catalizzano le reazioni chimiche in natura. Molti ricercatori, come il premio Nobel Frances Arnold, hanno sfruttato gli enzimi come un modo altamente selettivo ed ecologico di fare chimica in laboratorio. In particolare, il gruppo di ricerca della Arnold ha recentemente sviluppato un citocromo c modificato (*Rma cyt c*) per catalizzare la formazione di un legame silicio-carbonio attraverso l'inserzione di un carbene in legami Si-H [M. Garcia-Borràs, *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, <https://doi.org/10.1021/jacs.1c02146>].

Gli autori hanno studiato a fondo il meccanismo di reazione e i fattori alla base della selettività dell'enzima ingegnerizzato utilizzando una combinazione di calcoli, esperimenti di cinetica e mutazioni.

Dal punto di vista computazionale, è stato applicato un protocollo ibrido di simulazioni QM/MM (*quantum mechanics/molecular mechanics*) per studiare il meccanismo della reazione tra il silano mostrato in Fig. 1 e l'etil 2-diazopropanoato basato sull'intermedio reattivo ferro-porfirina carbene-IPC che si forma nel sito attivo. La reazione avviene attraverso un meccanismo concertato, non radicale in cui la formazione del legame Si-C corrisponde al *rate-limiting step*.

Per studiare l'efficienza catalitica e il legame del silano al sito attivo sono state fatte della simulazioni di dinamica classica sul complesso IPC-e-

nizma *wild type* (*wt*), e alcuni mutanti che migliorano la velocità di formazione del legame C-Si. I risultati delle simulazioni mostrano come il legame del silano all'enzima, per avvenire in modo cataliticamente competente, richieda uno spostamento di un *loop* frontale che chiude il canale di ingresso del substrato. Rispetto all'enzima *wt*, la variante *Rma TDE* presenta in questo *loop* due residui idrofili al posto di due metionine (idrofobiche) che lo rendono più flessibile e facilitano l'accesso del substrato e quindi l'interazione con IPC (in questo modo si riduce la barriera energetica che determina la velocità dell'inserimento del carbene nel legame Si-H).

Confrontando, inoltre, il *binding mode* del silano legato al carbene nel sito catalitico di *Rma wt* e *Rma TDE*, le simulazioni mostrano come il substrato sia solo debolmente legato da entrambi i complessi proteici e risulti altamente esposto al solvente. Dall'altra parte, la conformazione del carbene nel sito attivo dell'enzima sembra non essere influenzata da come il silano si avvicina all'enzima. Questa osservazione, insieme alla natura concertata della reazione, supporta l'ipotesi che la proteina *Rma cyt c* controlli la stereoselettività unicamente sulla base di come il silano entri nel sito attivo.

I calcoli DFT e le simulazioni MD suggeriscono, inoltre, che la conformazione del *loop* sia anche responsabile della chemoselettività di *Rma TDE* relativa alla formazione di legami C-N rispetto al legame Si-C. La mutagenesi di residui, che sulla base dell'analisi computazionale alternano la conformazione del *loop*, è stata sfruttata per invertire la chemoselettività della proteina

La meccanochimica: una valida alternativa solvent-free in sintesi organica

Tra le diverse metodologie *solvent-free* ad oggi utilizzate, la sintesi meccanochimica rappresenta un approccio molto vantaggioso sotto diversi punti di vista, soprattutto per quanto riguarda la sostenibilità

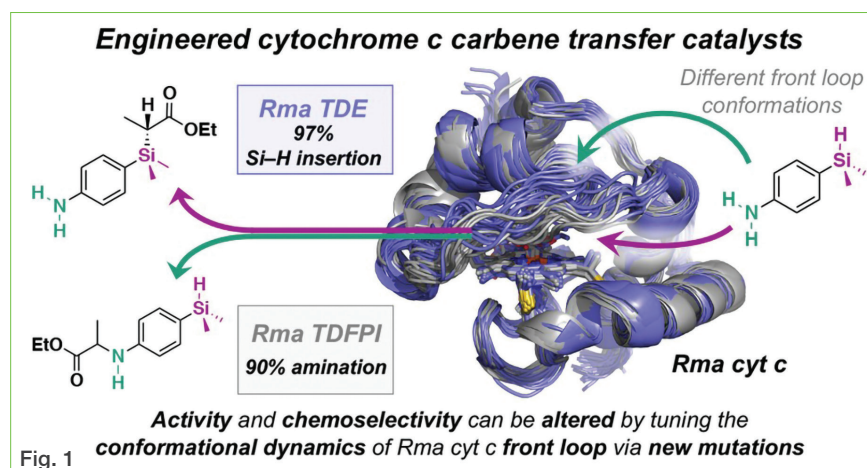


Fig. 1



e l'ottimizzazione di un processo. La possibilità di non utilizzare solventi organici, grazie all'attivazione dei reagenti attraverso il trasferimento di energia per effetto di urti, rotolamento e strofinamento causati da sfere di macinazione, consente, infatti, di condurre le reazioni alla massima concentrazione dei reagenti, riducendo sensibilmente i tempi di reazione, così come permette di superare le problematiche legate alla solubilizzazione dei substrati organici [C. Bolm, *J. Org. Chem.*, 2017, **82**, 4007]. A livello sintetico, le tecniche mecanochemiche sono state quindi utilizzate con successo in diverse tipologie di reazione, come ad esempio le reazioni di polimerizzazione, reazioni stereoselettive e reazioni multicomponente [J.C. Menéndez, *Chem. Sci.*, 2018, **9**, 2042]. In quest'ultimo caso i vantaggi della mecanochemica si uniscono e si integrano a quelli ben noti delle reazioni multicomponente, nelle quali solitamente i prodotti finali si ottengono con ottime rese e selettività. Nel lavoro proposto da A. Majee è stata sviluppata una reazione organocatalizzata a tre componenti per la sintesi di derivati 4-idrossi-3-tiometilcumarinici quali potenziali agenti antimicrobici [A. Majee, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2021, **9**, 5557]. A partire da una vasta gamma di 4-idrossicumarine, aldeidi e tioli di natura aromatica e alifatica è infatti possibile ottenere le corrispondenti 4-idrossi-3-tiometilcumarine con ottime rese in tempi brevi mediante l'impiego di un sale fuso a base imidazolica quale catalizzatore a temperatura ambiente, utilizzando un classico mulino a sfere (Fig. 2a).

Il gruppo di Bolm ha invece messo a punto una reazione multicomponente di tipo Biginelli in con-

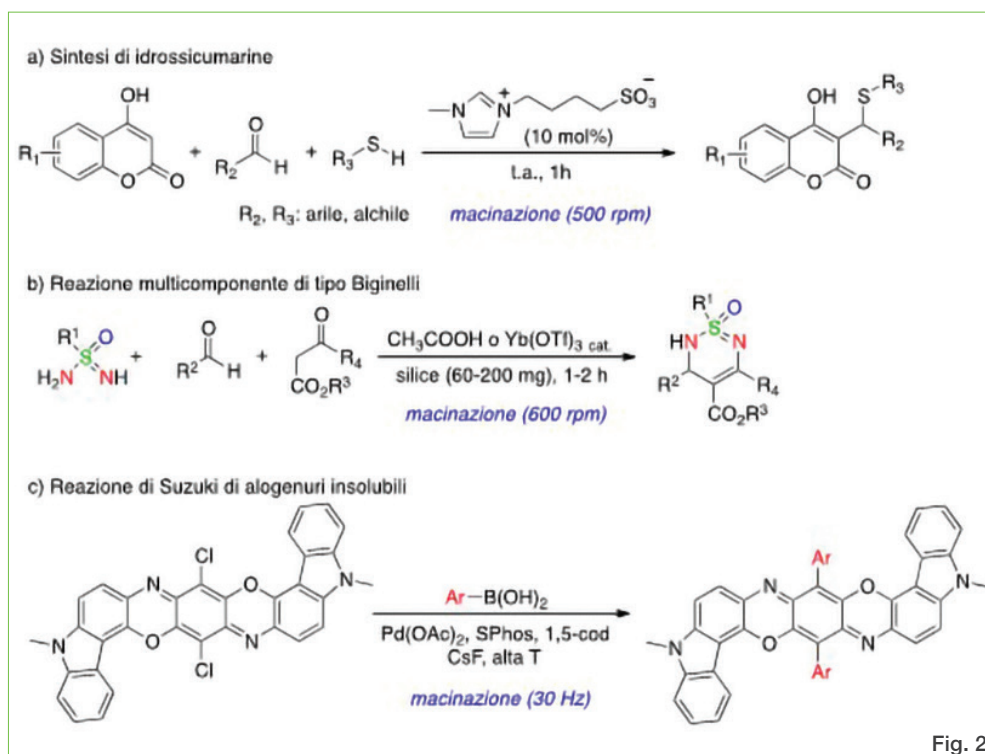


Fig. 2

dizioni mecanochemiche per la preparazione di derivati tiadiazinici [C. Bolm, *Org. Lett.*, 2021, **23**, 2699]. L'efficienza di questa reazione risulta fortemente influenzata dalla presenza di un'opportuna quantità di silice, la quale, secondo gli autori, svolge una triplice funzione aiutando il processo di macinazione, comportandosi da agente essicante e rendendo l'ambiente di reazione debolmente acido in cooperazione con l'acido acetico catalitico (Fig. 2b).

Per concludere, si segnala una reazione di Suzuki condotta con la tecnica di macinazione ad alta temperatura utilizzando alogenuri arilici poco solubili nei comuni solventi organici, in quanto caratterizzati da strutture policicliche aromatiche con un esteso sistema π [H. Ito, *J. Am. Chem. Soc.*, 2021, **143**, 6165, Fig. 2c]. In questo lavoro si dimostra quindi che la tecnica mecanochemica può venire in aiuto nella sintesi di materiali luminescenti e semiconduttori di natura organica, i cui precursori sono spesso substrati insolubili e per i quali le condizioni di reazione convenzionali in soluzione risultano poco efficienti.