

● **L'uso di sequenze nucleotidiche** come promotori di reazioni chimiche è ormai di fatto comune, avendo ricevuto nell'ultimo decennio l'attenzione di molti gruppi di ricerca nel mondo. In questa Rubrica abbiamo in passato trattato dei cosiddetti ribozimi, cioè di acidi ribonucleici ad attività catalitica che promuovono reazioni chimiche (ad esempio ammidazione, idrolisi di esteri, ma anche reazioni di Diels-Alder), funzionando come enzimi nello stabilizzare stati di transizione, o nell'allineare spazialmente partner di reazione, o nel formare legami preferenziali nel sito attivo con i prodotti della reazione catalizzata dal ribozima stesso. Più di recente è emersa la capacità da parte di doppie eliche complementari di Dna, attraverso la loro forte interazione specifica, nell'avvicinare partner di reazione e quindi nell'accelerare l'interazione. Esempi riportanti trasformazioni di nucleobasi o nucleotidi modificati, di amminoacidi o di ibridi peptidici/nucleotidici (PNA) sono presenti in letteratura.

Meno comune e più intrigante è il lavoro del gruppo di Liu ad Harvard, che da alcuni anni studia la cosiddetta "Dna-templated synthesis" per influenzare la reattività di piccole molecole organiche, strutturalmente dissimili da qualsiasi oligomero naturale, e, come obiettivo ultimo, per ottenere l'evoluzione di strutture non naturali attraverso gli stessi meccanismi utilizzati nella sintesi di proteine ed oligonucleotidi (cicli iterativi di selezione ed amplificazione di sequenze target). Nel loro primo lavoro su questo argomento (Z.J. Gartner, D.R. Liu, *JACS*, 2001, **123**, 6961) gli autori hanno riportato la struttura di due templati oligonucleotidici supportanti due partner di reazione e basati su due diverse architetture: *hairpin*, H (a spilla) o *end of helix*, E (terminale), rispettivamente **1a-f** e **2a-f** in Figura 1. L'aggiunta di residui amminici o tiolici (Nu, supportati su una sequenza di Dna) su derivati α,β -insaturi o la sostituzione nucleofila su alogenuri alchilici procede a 25 °C in

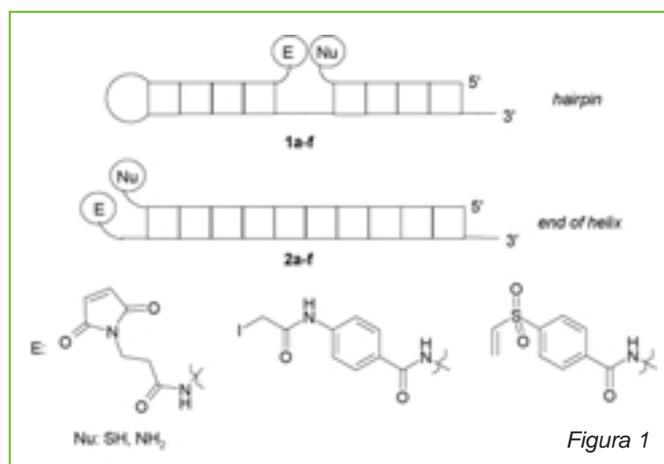


Figura 1

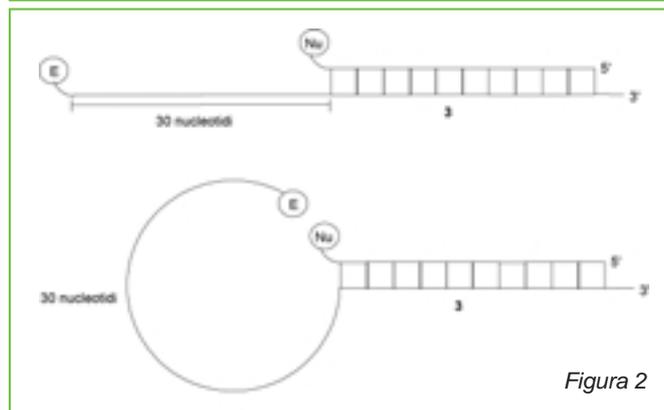


Figura 2

pochi minuti quando vi è complementarità fra le due catene di Dna. Questa zona complementare è tipicamente di una decina di nucleotidi, e provoca un innalzamento notevole della velocità di reazione: gli stessi reagenti non supportati e in condizioni sperimentali simili (pH 7,5, 250 mM NaCl, acqua) non reagiscono. Sia l'architettura H sia E producono simili risultati, dimostrando che l'enorme attrazione totale provocata dal base pairing nucleotidico avvicina i partner di reazione e li "obbliga" a reagire. La specificità ed efficacia del sistema è messa in risalto da due esperimenti riportati nello stesso lavoro. La presenza di un singolo "mismatch", cioè di una coppia di nucleobasi non complementari nella sequenza di riconoscimento dei dieci nucleotidi, provoca un abbassamento della velocità di reazione di almeno 200 volte a 25 °C; variando la temperatura di reazione la selettività fra matched e mismatched sale ulteriormente, producendo sequenze specifiche per singole reazioni fra singoli substrati. Si può quindi immaginare di avere librerie di substrati nucleofili ed elettrofili, ognuno "codificato-templato" da una diversa sequenza di Dna; ogni sequenza supportante un nucleofilo è complementare ad una ed una sola supportante un elettrofilo. Una volta miscelate le due librerie, ogni prodotto supportato reagirà con un solo elettrofilo supportato, provvedendo una selettività di substrato determinata dalla sequenza di Dna. Nel caso di architetture di tipo E, è stata anche studiata l'influenza della distanza fra i due partner di reazione. Sorprendentemente, fino a 30 nucleotidi interposti fra il nucleofilo e l'elettrofilo (come in **3**, Figura 2 in alto) non alterano sensibilmente l'accelerazione della reazione organica promossa dal Dna ibridizzato. Ciò può essere spiegato attraverso la flessibilità della catena non ibridizzata di 30 nucleotidi, che può deformarsi, come mostrato in Figura 2, in basso per avvicinare, tramite un grande loop, i due partner di reazione. È da rimarcare che un intermedio del genere provoca una macrociclicizzazione attraverso un intermedio di transizione di circa 200 atomi, cioè un intermedio che nella "classica" chimica in soluzione sarebbe altamente sfavorito: la potenza dell'ibridazione delle due catene complementari di Dna precedenti la catena non ibridizzata permette di compensare tranquillamente un gap energetico così importante. Alcune comunicazioni successive dello stesso gruppo di ricercatori hanno ampliato lo scopo della "Dna-templated synthesis". Più in dettaglio:

- molte altre reazioni sono state validate in questo formato: ad esempio reazioni catalizzate in presenza di catalizzatore solubile, amminazioni riduttive, formazione di ammidi, reazioni di Henry e di Wittig, cicloaddizioni dipolari, coupling di Heck Pd-catalizzato (Z.J. Gartner *et al.*, *Ang. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 1796);
- reazioni fra loro incompatibili sono state eseguite nella stessa miscela di reazione con diversi substrati supportati/codificati da Dna con perfetta selettività e senza formare prodotti secondari: ad esempio, miscele di ammine/Dna supportate originano ammine alchilate, ammidi e amminosuccinimidi a struttura desiderata quando incubate con le opportune aldeidi, acidi carbossilici e maleimmidi/Dna-supportate (C.T. Calderone *et al.*, *Ang. Chem. Int. Ed.*, 2002, **41**, 4104);
- sintesi multi-step sono state eseguite in questo formato, utilizzando opportuni linker fra il Dna e i partner di reazione: traceless linkers, linker autorilascianti e linker classici sono stati impiegati nella sintesi di un peptidomimetico (Z.J. Gartner *et al.*, *JACS*, 2002, **124**, 10304);
- nuove architetture di supporto su doppie eliche di Dna, capaci di promuovere meglio e più rapidamente la reazione fra i più diversi partner sintetici, ivi incluse reazioni a 3 componenti tutti supportati su catene di Dna, sono state disegnate e realizzate (Z.J. Gartner *et al.*, *Ang. Chem. Int. Ed.*, 2003, **42**, 1370).