

Oggi ci occuperemo di un argomento da tempo popolare nella ricerca medico-biologica e cioè dell'uso dei cosiddetti "microarrays". Sin dai tempi dei primi lavori riguardanti oligonucleotidi o peptidi/proteine (S.P. Fodor *et al.*, *Science*, 1991, **251**, 267; J.L. DeRisi *et al.*, *Science*, 1997, **278**, 680; S. Singh-Gasson *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, 1999, **17**, 974), la semplicità di sintesi di microarray di oligomeri naturali utilizzando sintesi *in situ* e, per lo più, gruppi proteggenti ortogonali è apparsa evidente: ad oggi questi microarray sono strumenti essenziali in genomica, proteomica e farmacogenomica e sono disponibili commercialmente in vari formati e specifiche.

Da qualche tempo, però, l'attenzione (specialmente dei chimici farmaceutici) si è focalizzata sui microarray organici, chiamati anche chemical, oppure small organic molecule (SOM) microarray. Alcune review recenti (ad esempio K.S. Lam *et al.*, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2002, **6**, 353; D. Vetter, *J. Cell. Biochem.*, 2002, Suppl. **39**, 79; M. Uttamchandani *et al.*, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 2005, **9**, 4) mettono in luce, fra le altre cose, tre degli ostacoli più importanti che al momento impediscono ai microarray organici di prendere piede come strumento versatile per la scoperta e l'ottimizzazione di nuovi lead nella ricerca farmaceutica:

- 1) la possibilità di usare sintesi *in situ* anche per preparare microarray molecole organiche non oligomeriche;
- 2) la riduzione del rischio di non scoprire interazioni ligando-bersaglio, dovuto all'orientazione "sbagliata" del ligando nel microarray (perché legato alla superficie solida attraverso un gruppo funzionale necessario per l'interazione, o perché costretto in una conformazione sbagliata dal legame con la superficie);
- 3) la necessità di introdurre nelle librerie di potenziali ligandi da immobilizzare sulla superficie solida, alcuni fra i pochi gruppi funzionali ad oggi adatti per il supporto su lastre di vetro, e cioè sui classici supporti per microarray.

Oggi esamineremo un esempio recente riguardante il primo punto, mentre nel prossimo appuntamento ci occuperemo dei due restanti.

Belshaw e collaboratori (*J. Am. Chem. Soc.*, 2004, **126**, 16704) hanno introdotto l'uso di tre gruppi protettivi fotolabili, fra loro ortogonali, per la sintesi *in situ* di microarray organici (da contrapporre alla più comune sintesi che implica l'ancoraggio su lastrina di vetro di librerie di ligandi pre-sintetizzati, attraverso un gruppo funzionale comune a tutta la libreria). I tre gruppi **1-3**,

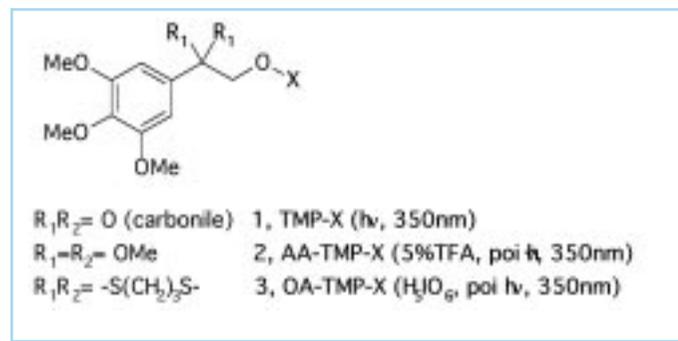


Fig. 1

contenenti una struttura trimetossifenacilica in cui il carbonile chetonico è libero (**1**) oppure protetto come dimetossi chetale acido-labile (**2**) o come 1,3-ditiano ossidazione-labile (**3**), sono mostrati in Figura 1, insieme alle condizioni necessarie per la loro deprotezione (**1**) o attivazione-deprotezione (**2, 3**).

Per verificare l'utilizzo di questi gruppi nella sintesi di microarray organici, gli Autori hanno scelto uno scaffold idrossiprolinico trifunzionale **4** e l'hanno protetto a dare **5**, ovvero usando ognuno dei tre derivati TMP di cui sopra. Il derivato **5** viene poi elaborato a dare la diammido **8** attraverso un rigoroso schema di deprotezioni ed attivazioni selettive (Fig. 2).

Come si può ben vedere, condizioni sperimentali semplici, adatte a sintesi su supporto solido e ben ottimizzate (deprotezione: hv, 350 nm, 15% cicloesadiene come scavenger radicalico, acetonitrile e poi dimetilsolfuro come scavenger di specie ossidanti durante la lavorazione; attivazione acida: 5% acido trifluoroacetico in acqua/acetonitrile 1/1; attivazione ossidativa: H_2IO_6 in tetraidrofurano) danno rese riproducibili e molto elevate.

Per finire, lo scaffold diprotetto **9** è stato supportato con lega-

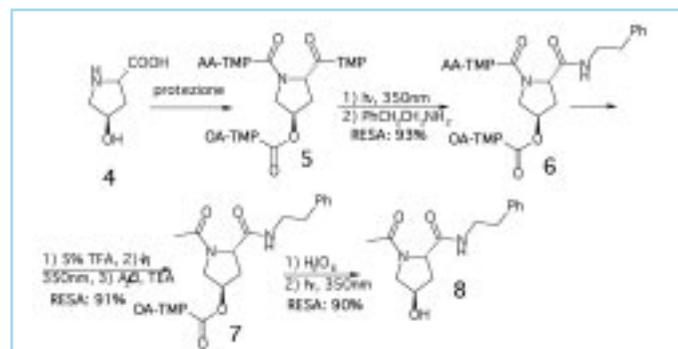


Fig. 2

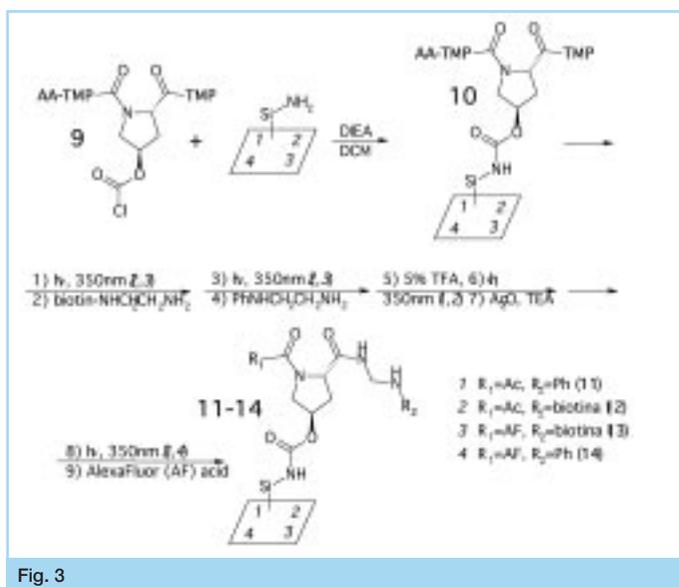


Fig. 3

me carbammato su una lastrina di vetro NH₂-funzionalizzata, e il sintone supportato **10** è stato funzionalizzato selettivamente attraverso l'uso delle condizioni sperimentali riportate in Figura 3, a dare un piccolo microarray organico composto da 4 individui (**11-14**).

L'irraggiamento a 350 nm solo su alcune delle 4 posizioni del piccolo microarray organico (parziale schermatura del microarray, passaggi 1, 3, 6 e 8, Fig. 3) permette, insieme all'ortogonalità di TMP e AA-TMP, di ottenere con alta resa e purezza i 4 composti finali **11-14** nelle 4 posizioni 1-4 (spazialmente segregate) del microarray organico. Una verifica della qualità della sintesi e dell'applicabilità del microarray per saggi biologici si è potuta avere incubando il microarray con streptavidina (interazione con biotina: rilevazione positiva per 2,3, negativa per 1,4) e sottoponendolo ad analisi di fluorescenza (interazione con AF: rilevazione positiva per 3,4, negativa per 1,2).