HIGHLIGHTS
TECNOLOGIE INNOVATIVE

a cura di Pierfausto Seneci - Dipartimento di Chimica organica - Università di Milano

In questo numero vorrei trattare di microreazioni e microreattori, comprendendo nell'argomento le strutture di reazione stesse, la maniera di analizzare i prodotti di reazione e le applicazioni possibili (ahimè, visto il mio background, soprattutto legate alla ricerca farmaceutica).
Un microreattore monolitico carbonioso costituito da nanotubi paralleli (CNT) inseriti fra due strati di carbonio, e poi in un supporto rigido che permette l'effettuazione di reazioni a flusso continuo è recentemente apparso in letteratura (A. Popp, J.A. Schneider, *Angew. Chem. Int. Ed.,* 2008, **47**, 8958). La natura carboniosa/CNT garantisce un'estrema conducibilità del calore, e permette la dispersione di un catalizzatore sulla superficie interna dei CNT; ogni CNT ha un diametro medio di 161 nm, un'altezza di circa 50 μm, e di conseguenza un rapporto superficie/volume, indice della sua efficienza, pari a ≈5,5x10^6 m^2 m^3 (due ordini di grandezza (!!!!) superiore ai microreattori standard). Questo microreattore è stato testato con successo nella idrogenazione di 4-cloronitrobenzene ad anilina catalizzata da palladio adsorbito sui CNT.
Una colonna microcapillare di 50 cm di lunghezza e 250 μm di diametro interno, ricoperta da polisilossano su cui è immobilizzato dell'oro è stata preparata (N. Wang *et al., Angew. Chem. Int. Ed.,* 2009, **48**, 4744) ed utilizzata per ossidare alcooli benzilici o insaturi a composti carbonilici (Fig. 1) con ossigeno molecolare in condizioni multifasiche; si noti come le rese e le conversioni siano molto elevate, e come l'efficienza sia notevole (99% dell'iniziale dopo 4 giorni!).

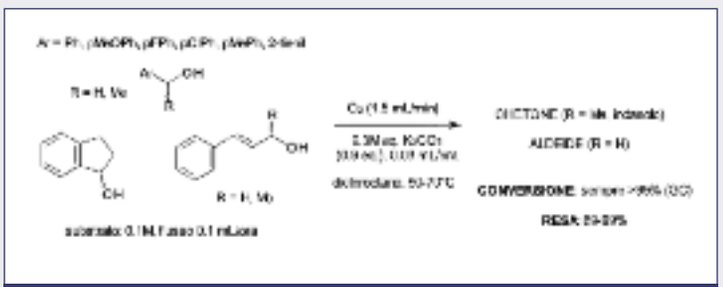

Fig. 1

Volete un reattore più complicato? Che ne dite di un apparato di Golgi artificiale, che permetta reazioni enzima-catalizzate su *heparan sulfate* (HS) in microgocce contenute in un microchip? Dei ricercatori (J.G. Martin *et al., JACS,* 2009, **131**, 11041) hanno supportato HS biotinilato su nanoparticelle magnetiche ricoperte con streptavidina (diametro 600 nm), ottenendo un caricamento intorno al 20% dei siti teorici di streptavidina (forse dovuto alle grandi dimensioni del costrutto HS-**1** in Fig. 2, dove la catena di HS per semplicità è ridotta a tre residui); le hanno poi trattate con l'enzima 3-OST-1, che O-sulfonila in 3 le glucosammine in HS, osservando l'introduzione del sulfone seppur solo sul 5% delle teoriche catene di HS (forse per

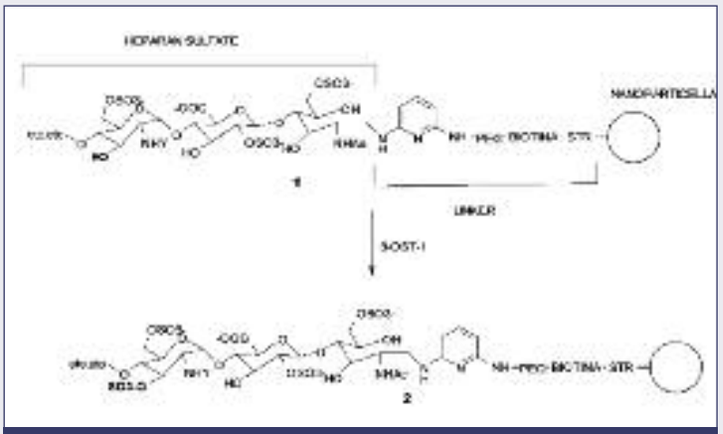

Fig. 2

poca accessibilità per l'enzima di HS "congestionato", a dare **2**, Fig. 2); e hanno verificato come l'affinità delle nanoparticelle supportanti **2** per la proteina anticoagulante antitrombina III (ATIII) fosse molto più alta rispetto alle nanoparticelle supportanti **1** (32% di superficie interagente con ATIII osservata in microscopia confocale nel primo caso, nulla nel secondo).
La stessa procedura (sulfonazione, riconoscimento con ATIII) è stata ripetuta in un chip microfluidico, portando in contatto microgocce contenenti le nanoparticelle HS (400-800 nL di volume, mosse nei microcanali con olio di silicone e attraverso l'applicazione di pulsazioni elettriche/elettrowetting) con altre microgocce contenenti la preparazione enzimatica di 3-OST-1; dopo incubazione di un'ora (sufficiente ad introdurre almeno un gruppo solfato per catena di HS), le microgocce sono state raccolte con micropipetta, lavate ognuna con una microgoccia d'acqua, e trattate con microgocce contenenti ATIII. Circa il 30% della superficie delle nanoparticelle supportanti **2** si lega ad ATIII (praticamente identico al 32% osservato in precedenza), di nuovo senza legame aspecifico di ATIII a particelle supportanti **1**.
L'estrema semplicità di questo microsistema basato su nanoparticelle magnetiche, microfluidica e enzimologia ricombinante, se confrontata con l'organello di Golgi in cui le catene di HS sono funzionalizzate in alcuni punti (non tutti: il grado e la posizione delle funzionalizzazioni influenzano le interazioni di HS con altre biomacromolecole, come visto per ATIII) da enzimi specifici per sulfonazioni, acetilazioni, epimerizzazioni e via dicendo, non impedisce di concepire l'obiettivo di creare una piattaforma di Golgi artificiale per meglio comprendere il funzionamento della biosintesi dei glicani, per creare una *factory* per la sintesi di glicani razionalmente disegnati e modificati, e per produrre analoghi dell'eparina e l'eparina stessa con metodi più controllabili di quelli biotecnologici.
Al prossimo appuntamento per parlare di microMS e microNMR, e per citare alcune reviews recenti sull'argomento.