



HIGHLIGHTS TECNOLOGIE INNOVATIVE

a cura di Pierfausto Seneci - Dipartimento di Chimica organica - Università di Milano, pierfausto.seneci@unimi.it

Anni fa questa rubrica si occupava spesso di librerie, di sintesi e *screening* ad alta capacità-*high throughput* e di argomenti a tutto ciò connessi. Oggi questi termini sono caduti in disuso, ma ancora - oltre all'uso routinario di protocolli sperimentali per la sintesi parallela di decine, od anche centinaia di composti per le più svariate applicazioni - si possono trovare articoli "combinatoriali" di grande interesse.

Una libreria di 1.536 nanoparticelle - NPs - variamente funzionalizzate è stata sintetizzata da ricercatori di Harvard e dell'MIT (D.J. Siegwart *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011, **108**, 12996) per acquisire rapidamente una QSAR riguardante la loro capacità di veicolare all'interno delle cellule delle sequenze di *small interfering RNA* - siRNA. Le NPs in questione sono formate da un nucleo a carattere cationico, potenzialmente adatto per il legame con acidi nucleici, ed un guscio esterno; le reazioni di polimerizzazione implicate nella sintesi dei 1.536 composti garantiscono controllo sulla composizione chimica, sulla dimensione e sull'architettura di ogni particella. La reazione chiave per formare le diverse NPs impiega 16 co-polimeri a blocchi - *block copolymers* - contenenti unità sfalsate non reattive ed epossidi terminali (identificati da lettere A-P, Figura). Tali co-polimeri sono a loro volta ottenuti per co-polimerizzazione radicalica in condizioni controllate e descritte nella *Supporting Information* del lavoro, effettuate fra oligomeri commercialmente disponibili a base di polietilenglicole meta-acrilato - unità non reattive - e di glicidil meta-acrilato - unità epossidiche terminali reattive. I 16 co-polimeri sono fatti reagire con 96 poliammine a varia struttura, lipofilia, carica (identificate da numeri n, ed esemplificate in quattro strutture modello riportate in Figura); il cross-linking fra i co-polimeri è assicurato dalle due funzioni amminiche, che reagiscono con due gruppi epossidici di due catene A-P diverse, mentre sia la diversa struttura di A-P che la natura delle poliammine contribuisce a creare NPs di generica struttura comune LettNum, molto diversi fra loro (Figura).

Vi lascio verificare nel lavoro stesso come lo screening dei 1.536 composti - reso possibile in tempi rapidi, come del resto la loro sintesi, da

apparecchiature robotizzate - abbia evidenziato relazioni struttura-attività, fra cui alcune poco prevedibili che giustificano la sintesi di librerie come questa; come la caratterizzazione effettuata abbia permesso di verificare il tipo di interazione che si instaura fra NPs e siRNA e, addirittura, di osservare effetti RNA- o DNA-specifici; come alcune fra le NPs migliori abbiano caratteristiche di efficienza comparabili ad agenti di trasfezione commerciali; e come una fra queste NPs abbia mostrato efficacia *in vivo* nel veicolare una sequenza di siRNA in epatociti murini. Gli autori, pur riconoscendo alcune limitazioni attuali, prevedono che l'applicazione di metodiche combinatoriali alla veicolazione mirata di composti farmacologicamente attivi da parte di nano particelle prometta grandi risultati: hanno convinto me, spero pure voi...

Più rapidamente tre altri contributi recenti. Una *review* in cui si parla di *phage display* (S. Ng *et al.*, *ACS Chem. Biol.*, 2012, **7**, 123), tecnica da me spesso usata a lezione per convincere gli studenti dell'utilità delle biotecnologie: espressione di sequenze peptidiche più o meno lunghe attraverso modifica del codice genetico di un virus, e quindi sintesi di librerie peptidiche sulla superficie del fago - *phage display* appunto - per i più diversi scopi. L'ovvia limitazione rispetto a librerie sintetiche è la poca diversità chimica accessibile, vista la "limitazione intrinseca" ad oligomeri naturali peptidici o nucleotidici: la *review* che qui vi cito mostra invece come si possano applicare parametri combi-chem - ad esempio dimensioni del supporto-fago, *loading*-caricamento, funzionalità reattiva, etc. - e soprattutto come si possano effettuare reazioni organiche su funzioni tioliche - cisteina - guanidiniche - arginina - idrossiliche - tirosina - od amminiche - lisina - in maniera quantitativa e controllata. Modificazioni genetiche e considerazioni di efficienza di reazione si intrecciano in un'esposizione rigorosa, che vi consiglio caldamente.

Un altro esempio di *combi-chem-accelerated discovery* è l'identificazione di nuovi agenti di contrasto per tecniche NMR di *imaging* (R. Napolitano *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 13023) attraverso lo *screening on-bead* - senza distacco dei composti dalla biglia - di una libreria parallela su supporto solido di 80 componenti caratterizzati da un nucleo tetraamminico ciclico derivatizzato con varie ammine primarie. Anche in questo caso, viene identificata una SAR preliminare che mostra quali fattori strutturali influenzino maggiormente la *performance* dei membri della libreria; gli autori rivendicano - nel caso si utilizzino tecniche combinatoriali più "spinte" - la possibilità di espandere a numeri ben più alti questo studio, il che mi sembra rilevante ed utile. Per finire, Steve Ley a Cambridge, insieme a ricercatori Hoffmann-La Roche, ha deciso di combinare due suoi amori - chimica parallela e sintesi a flusso-*flow chemistry* - in un approccio integrato e modulare per la sintesi di una libreria di pirrolidine *drug-like* (S. Ley *et al.*, *ACS Comb. Chem.*, 2011, **13**, 405). Se cercate ottima chimica, tecnologie innovative, produttività e rigore nella pianificazione ed esecuzione di esperimenti, sarete serviti. Buona lettura!

