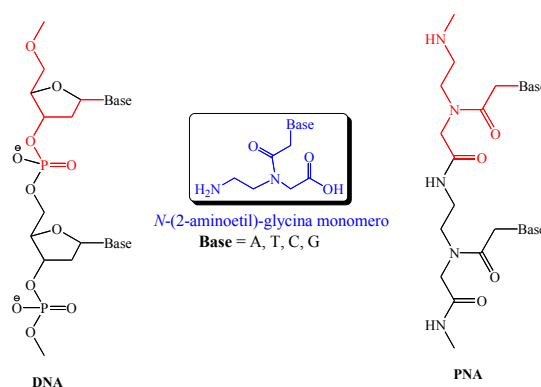


SINTESI DI PNA: UNA STRATEGIA SEMPLICE ED EFFICIENTE

Mariolino Carta, Giampaolo Giacomelli, Andrea Porcheddu, Margherita Salaris*Università degli Studi di Sassari, Dipartimento di Chimica, via Vienna 2, 07100 Sassari**anpo@uniss.it*

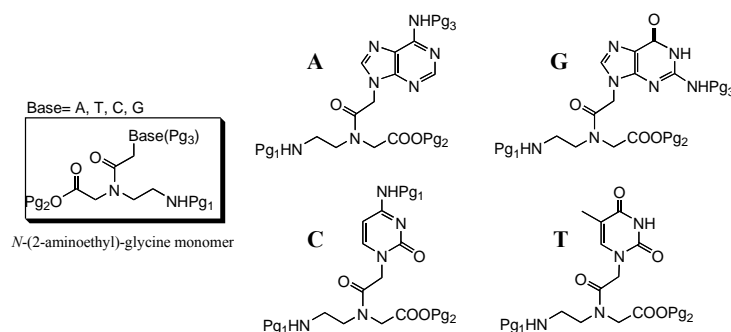
I PNA (Peptide Nucleic Acids) sono molecole analoghe del DNA in cui uno scheletro di tipo peptidico sostituisce i blocchi zucchero-fosfato. L'unità ripetitiva è costituita da 2-amminoetilglicina, le basi eterocicliche sono legate mediante un gruppo metilencarbonilico all'azoto della glicina, fornendo un composto achirale e privo di carica, a differenza del DNA (**Schema 1**).¹

**Schema 1**

Queste differenze strutturali influenzano le proprietà degli oligomeri in questione. I PNA, chimicamente stabili e resistenti alla degradazione enzimatica, riconoscono in maniera specifica filamenti complementari di DNA e RNA formando composti di elevata stabilità termica.² Pertanto i PNA risultano utili dal punto di vista biologico per l'inibizione della traslazione, come agenti antisenso ed antigene, per le interazioni con ribonucleoproteine e come inibitori di enzimi quali la telomerasi. Per utilizzare i PNA in applicazioni *in vivo*, si rende necessario sviluppare una strategia di sintesi in grado di prepararli facilmente ed in quantità sufficiente per un uso clinico.

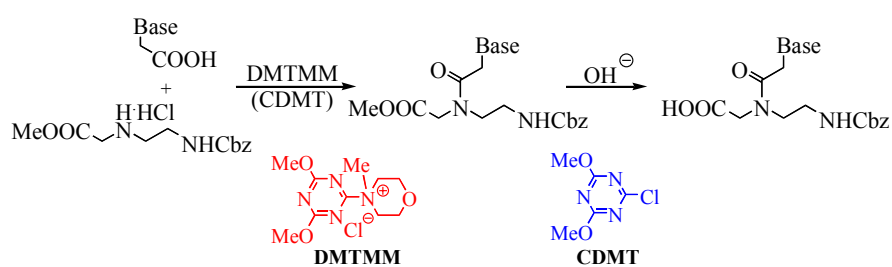
Nell'ambito del nostro gruppo di ricerca è stato sviluppato un processo di sintesi dei singoli monomeri PNA, utilizzando metodologie efficienti e riproducibili, che non comportano purificazioni cromatografiche degli intermedi e che permettono di ottenere i monomeri su larga scala. Si è cercato di ottenere monomeri in cui fosse rispettata l'ortogonalità tra i vari gruppi protettori (Pg_1 , Pg_2 , Pg_3) sia dello scheletro che delle nucleobasi (**Schema 2**). E' stato eseguito, in particolare, uno studio sistematico dei gruppi

protettori per le basi, di facile rimozione e che permettessero una migliore solubilità delle basi nell'ambiente di reazione, uno dei principali ostacoli nella sintesi dei monomeri. La soluzione trovata ha consentito di condurre tutte le reazioni in THF anziché nei classici solventi, piridina e DMF, più difficili da manipolare.



Schema 2

Nella sintesi dello scheletro amminoetilglicinicico Cbz-protetto è stata posta particolare cura nell'ottimizzazione dei singoli passaggi, allo scopo di poter eseguire l'intera sequenza senza ricorrere a purificazioni cromatografiche degli intermedi. E' stato quindi possibile preparare con buone rese complessive gli *N*-acetilderivati della timina, citosina, adenina e guanina, che sono stati sottoposti a reazioni di coupling con lo scheletro amminoetilglicinicico. Come reattivi di coupling sono stati utilizzati sia il sale di *N*-metilmorfolinio della dimetossiclorotriazina (DMTMM) che la stessa dimetossiclorotriazina (CDMT) (**Schema 3**), che si sono rivelati particolarmente adatti per le reazioni qui proposte.



Schema 3.

Attualmente è in fase di studio la sintesi di PNA-Chimere, in cui lo scheletro amminoetilglicinicico sia sostituito da un anello piperazinico recante un gruppo carbossilico in posizione 2.

1. Nielsen, P. E. Egholm, M "Peptides Nucleic Acids: Protocols and Applications" **1999**, Horizon Scientific Press. 2. Nielsen, P. E; Egholm, M; Berg, RH; Buchardt, O. "Sequence-Selective Recognition of DNA by Strand Displacement with a Thymine-Substituted Polyamide" *Science* **1991**; 254; 1497-1500.