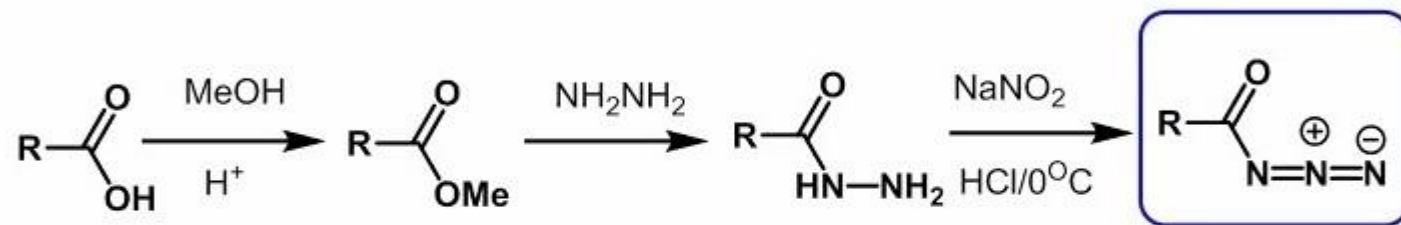


Методы активации карбоксильной группы

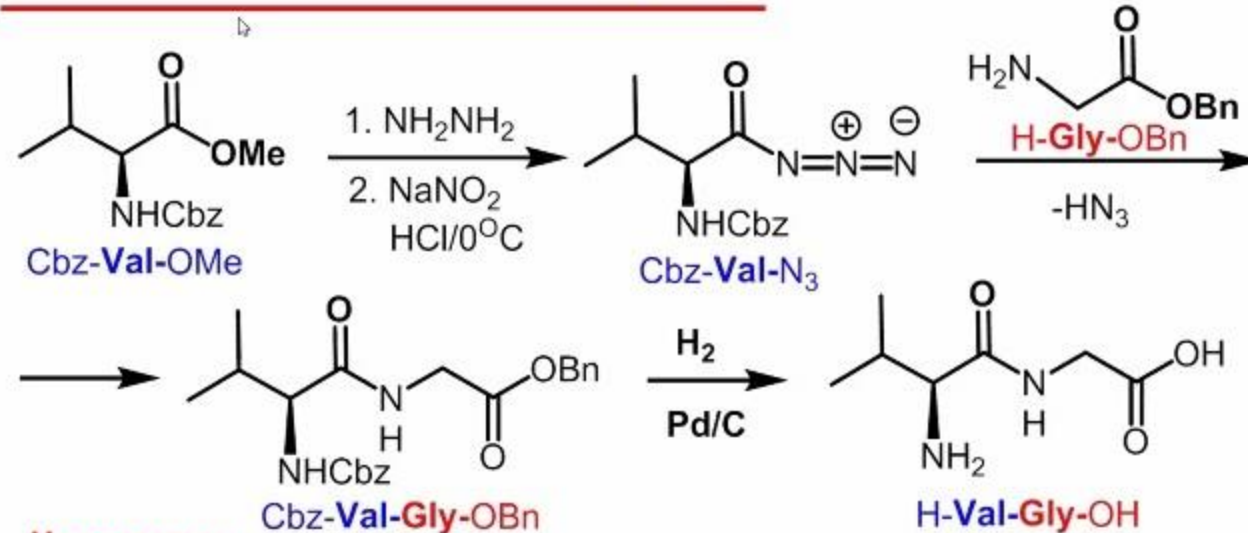
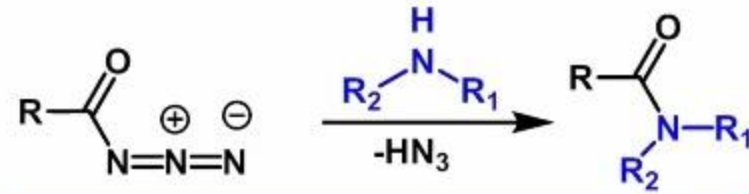
3. Азидный метод (Курциуса)

Методы получения азидов



Методы активации карбоксильной группы

Применение азидного метода в синтезе амидов и пептидов



Недостатки

-низкий выход <80%; ступенчатая активация; нестабильность азидов

Достоинства

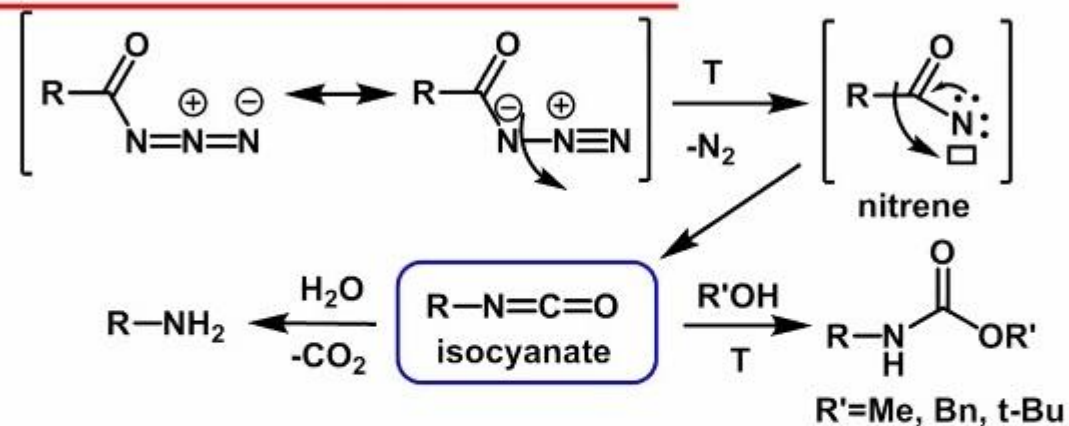
-отсутствие рацемизации; доступность реагентов

Используют для синтеза коротких пептидов или сшивки пептидных блоков

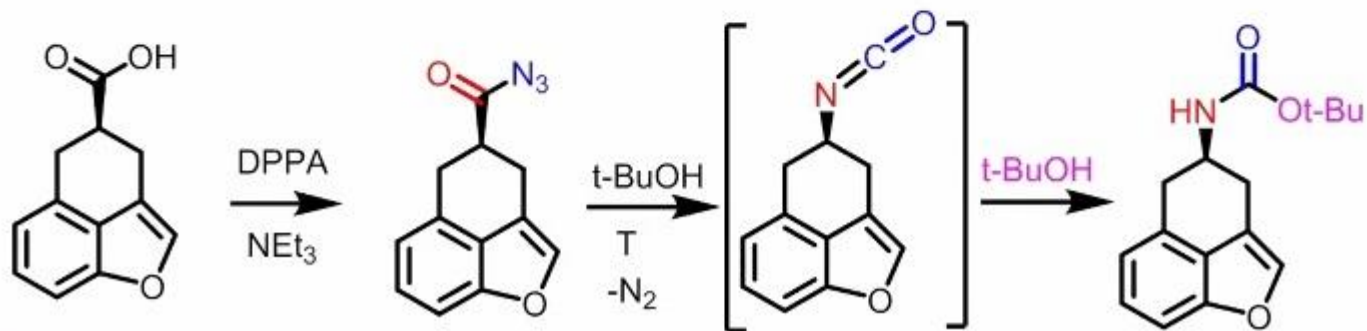
Методы активации карбоксильной группы

3. Азидный метод (Курциуса)

Применение азидов в синтезе аминов и карбаматов
(перегруппировка Курциуса)



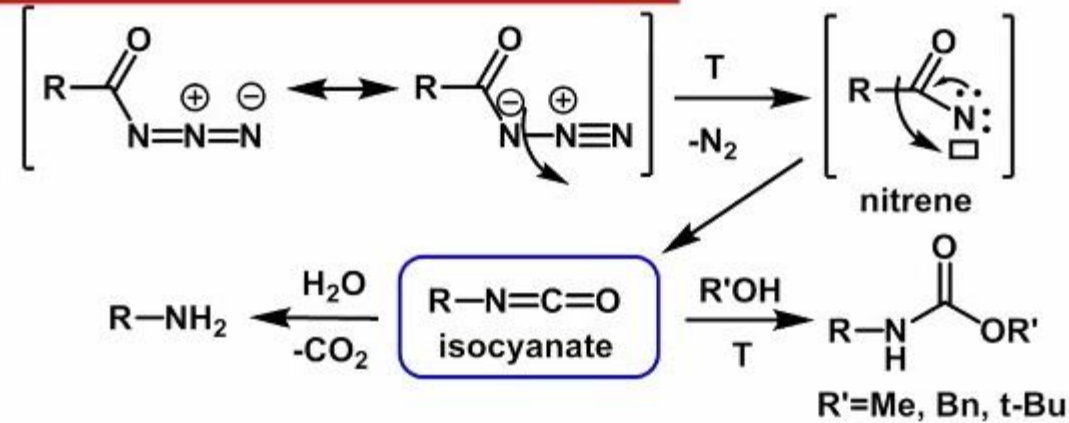
Перегруппировка Курциуса стереоселективна (с сохранением стереохимии)



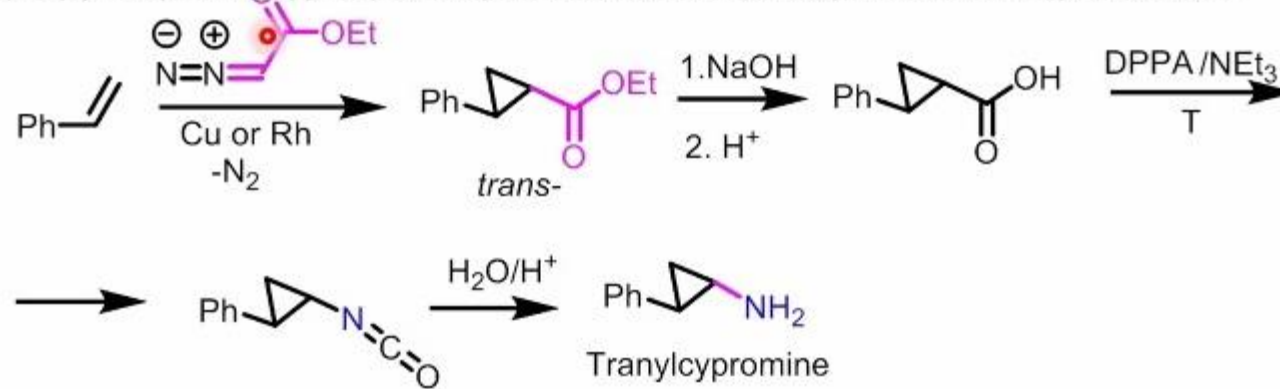
Методы активации карбоксильной группы

3. Азидный метод (Курциуса)

Применение азидов в синтезе аминов и карбаматов
(перегруппировка Курциуса)



Перегруппировка Курциуса стереоселективна (с сохранением стереохимии)

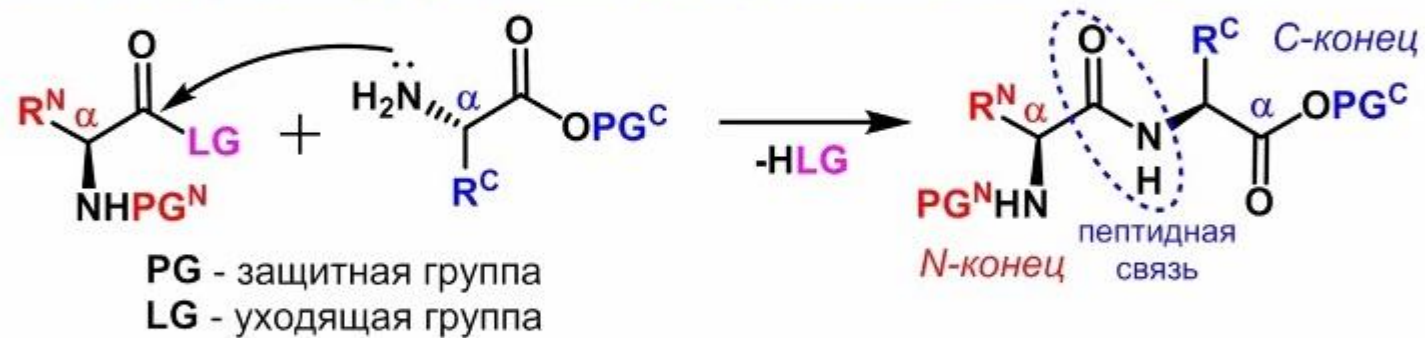


Пептидный синтез

«Среди химиков-органиков широко бытует мнение, что синтез пептидов является искусством или даже таинством со своей собственной символикой, языком и ритуалом, нечто совершенно чуждое интересам тех, кто работает в других областях»

И. Рудингер 1963 г

Основная цель пептидного синтеза - образование пептидной связи



Формирование пептидной связи включает несколько основных этапов:

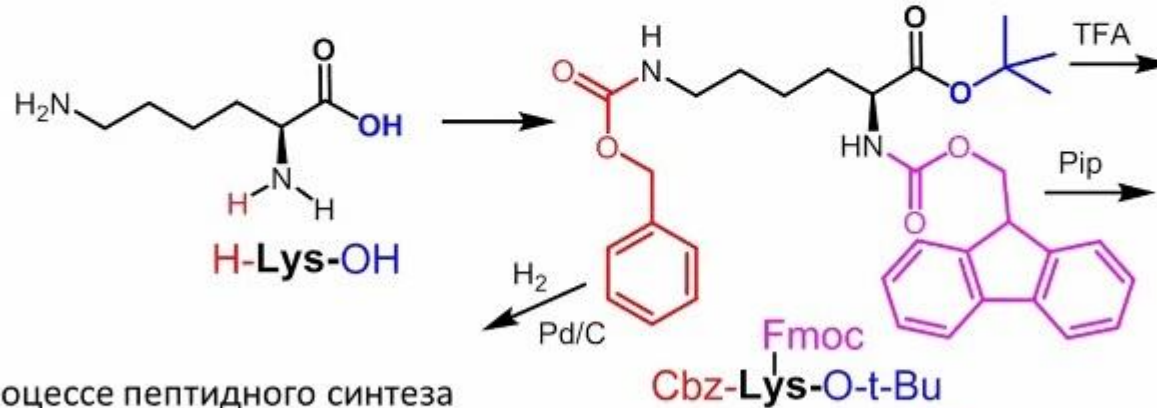
- Защита N-концевой АК по аминогруппе ($PG^N = Boc, Fmoc$)
- Защита C-концевой АК по карбокси группе ($PG^C = Me, Bn, t-Bu$)
- Конденсация amino кислот путем активации N-концевой АК (введение LG)
- Удаление защитных групп
- Кроме того, необходима защита функциональных групп боковых цепей

Пептидный синтез

Развитие пептидной химии привело к появлению и развитию новых подходов и методов защиты функциональных групп АК, активации карбоксильной группы, которые сегодня широко используют в различных областях органической и медицинской химии.

1. Защитные группы

Для синтеза полипептидов разработана концепция «ортогональной защиты» (Р. Мерифилд): каждая защитная группа может быть удалена независимо от других



В процессе пептидного синтеза

- на каждом цикле наращивания цепи приходится удалять PG с α -аминогруппы («временная» защитная группа);
- реже удаляют PG α -карбокси группы (при сшивке олигопептидов);
- PG боковых цепей удаляется на заключительном этапе синтеза («стабильная» защитная группа)

Пептидный синтез

Выбор защитных групп определяется схемой синтеза пептида.

В зависимости от используемой «временной» защитной группы наиболее распространены:

1. **Вос- стратегия** (N^α – Вос , C^α и PG-боковых цепей удаляются в основаниями)
2. **Fmoc- стратегия** (N^α – Fmoc , C^α и PG-боковых цепей удаляются в кислотами)

При планировании схемы пептидного синтеза применяют две тактики защиты боковых цепей (в зависимости от методов активации карбоксильной группы)

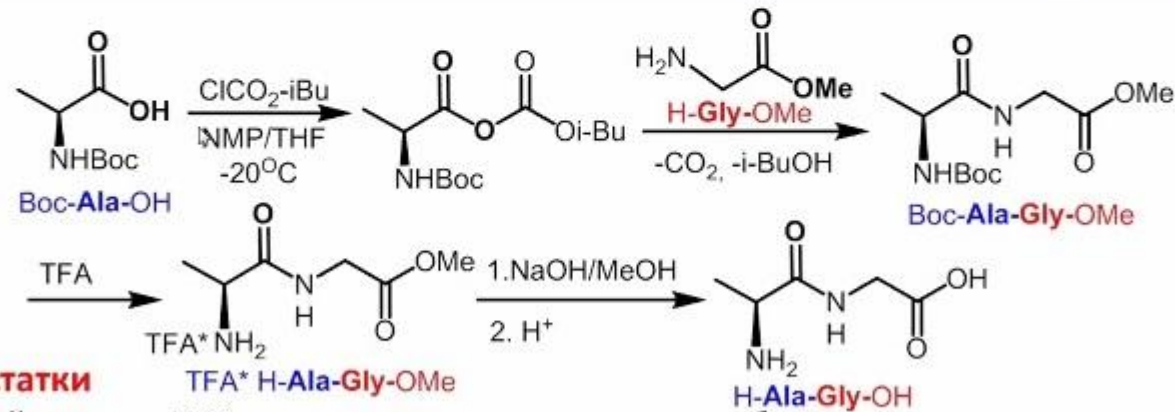
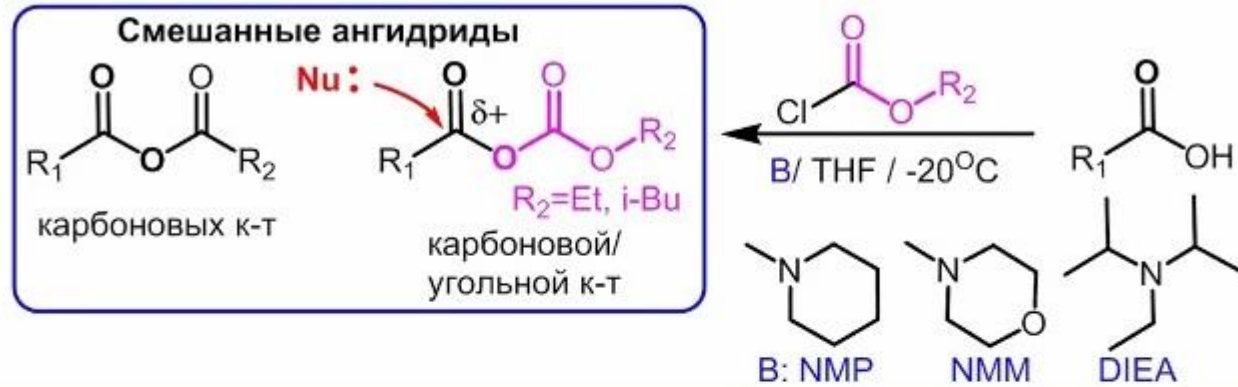
- **Максимальная защита** - защищают все функциональные группы боковых цепей (смешанные ангидриды, карбодиимидный метод)
- **Минимальная защита** - защищают ионизируемые группы (конденсирующие агенты).

2. Методы активации карбоксильной группы

2.1. Азидный метод (применяется сравнительно редко)

Пептидный синтез

2.2. Метод смешанных ангидридов



Недостатки

-низкий выход <80%; ступенчатая активация; нестабильность ангидридов

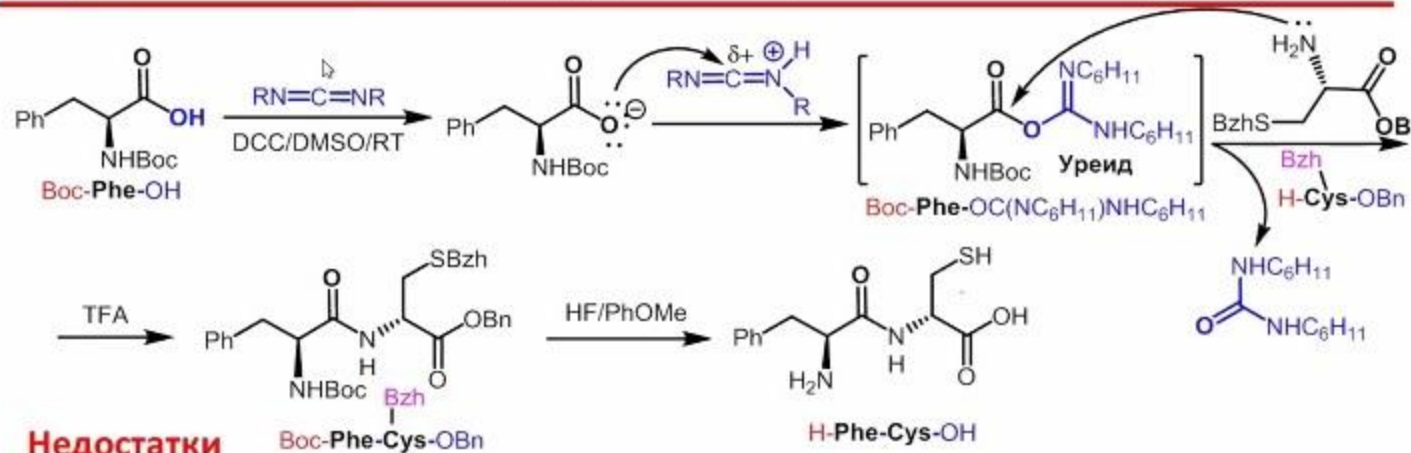
Достоинства

-отсутствие рацемизации; высокая скорость реакции, доступность реагентов

Широко используют для синтеза амидов и коротких пептидов

Пептидный синтез

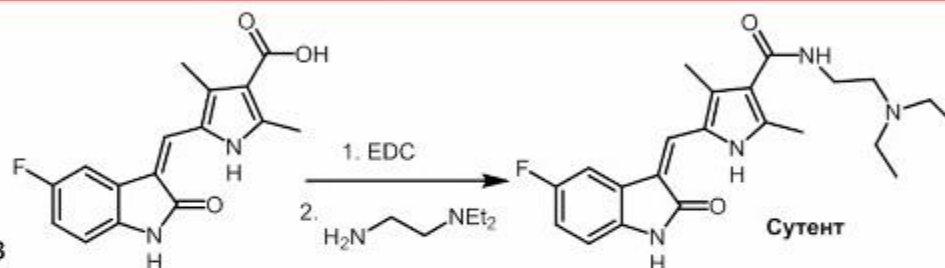
2.3. Карбодиимидный метод



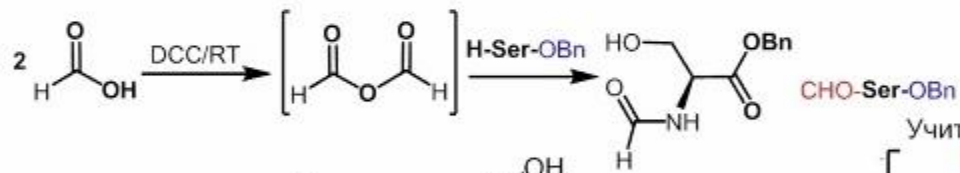
Применение производных карбодиимида в органическом синтезе

Карбодиимиды широко используют для синтеза амидов, лактамов, эфиров, активированных эфиров, ангидридов, дегидратации, окисления спиртов

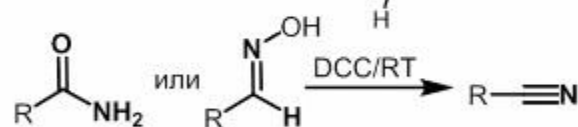
1. Синтез амидов



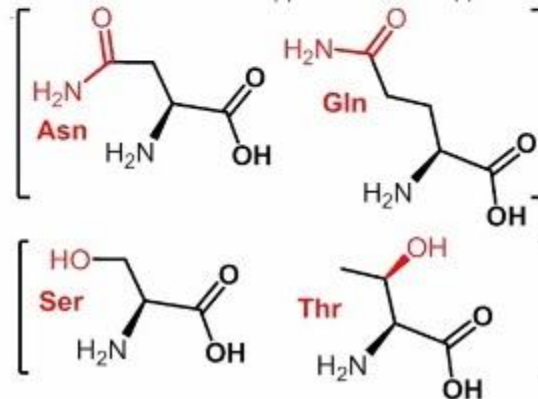
2. Синтез ангидридов



3. Дегидратация



Учитывать в пептидном синтезе для:



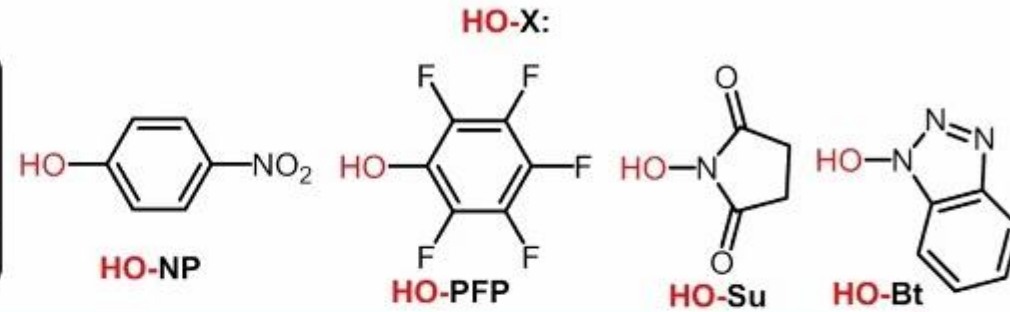
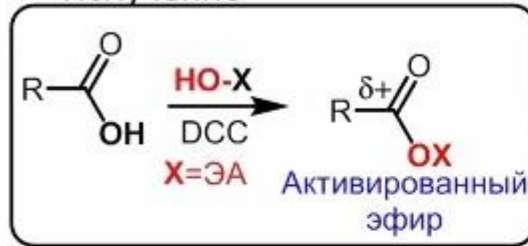
4. Окисление



Пептидный синтез

2.4. Метод активированных эфиров

Получение



Достоинства

- **стабильность**, выход >90%, высокая скорость реакции, отсутствие рацемизации, доступность реагентов

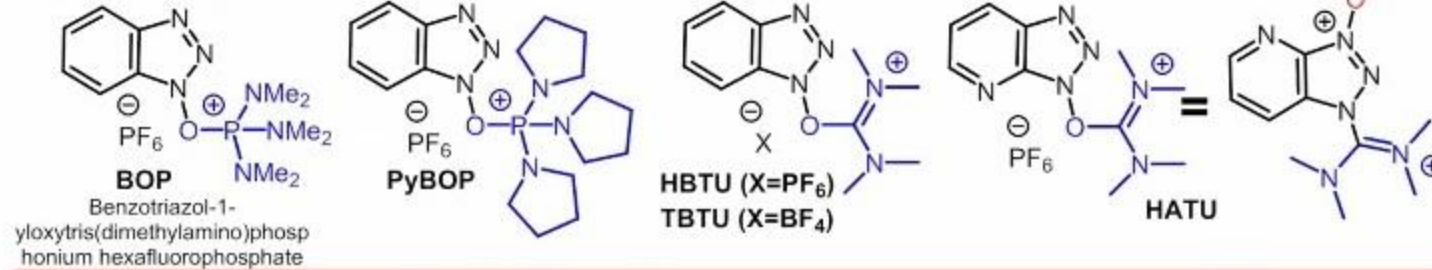
Недостатки

- стоимость

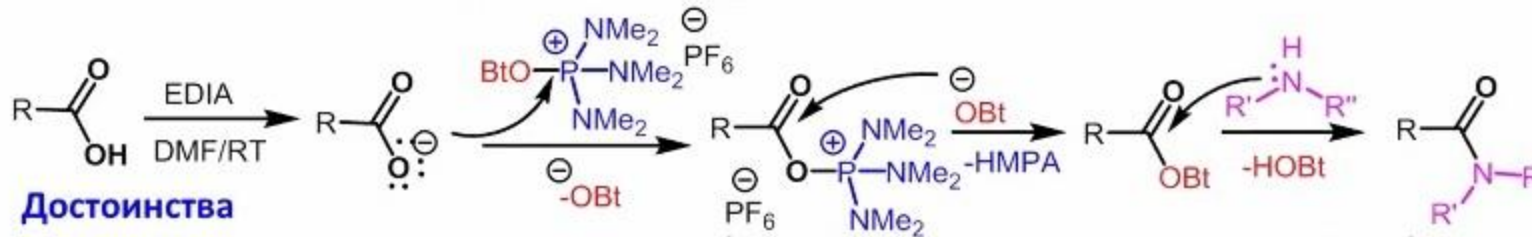
Пептидный синтез

2.5. Конденсирующие реагенты

реагент Кастро



Механизм активации карбоксильной группы



Достоинства

- не взаимодействуют с N-компонентой (не требуют предварительной активации); TFA не активируется (можно использовать TFA*AK); выход >95%; возможность использования «минимальной защиты»; высокая скорость реакции; отсутствие рацемизации

Недостатки

- Стоимость

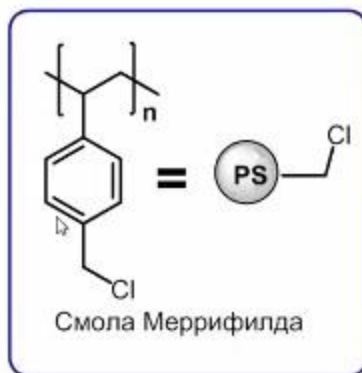
Конденсирующие реагенты широко используют для синтеза амидов и пептидов



Пептидный синтез

2.6. Твердофазный метод синтеза (SPS-synthesis)

Стратегическая модификация синтеза пептидов в растворе проведена в 1963 г. Р. Меррифилдом, который предложил проводить синтез на полимерных носителях. Исходная С-концевая АК связывается ковалентно с нерастворимым полимером и все последовательные стадии синтеза пептидной цепи проводятся на этом носителе. При этом отпадает необходимость выделения на каждой стадии синтеза полученных пептидов, так как они остаются связаны с носителем, что позволяет простой промывкой носителя удалять побочные продукты синтеза и непрореагировавшие исходные вещества.

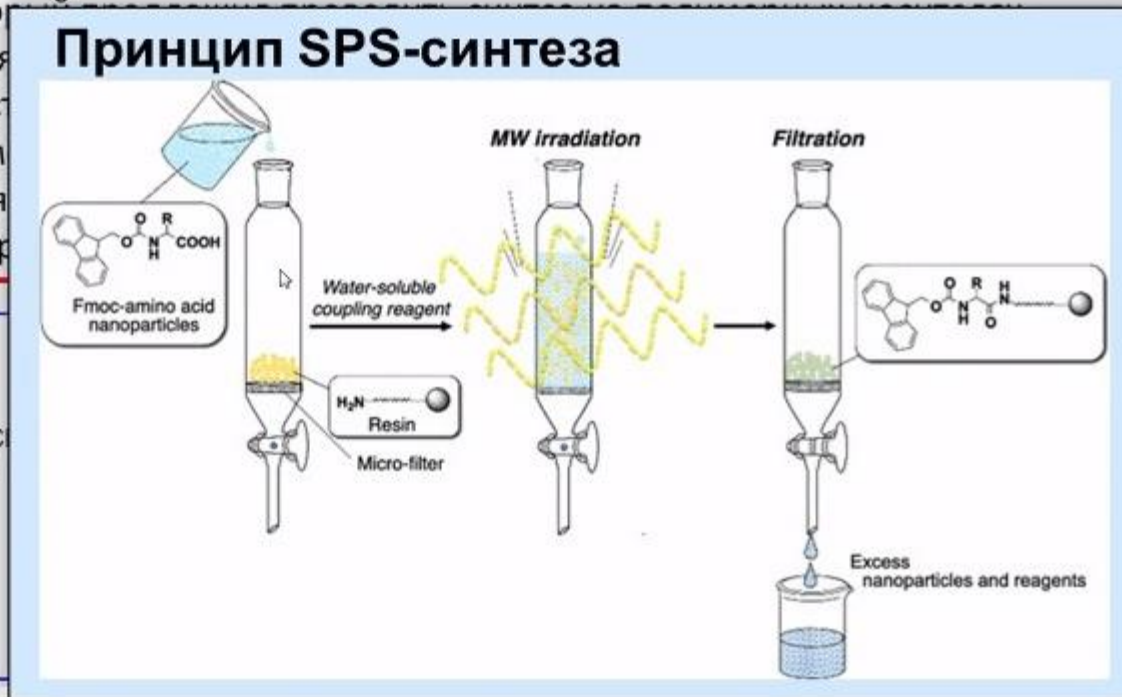
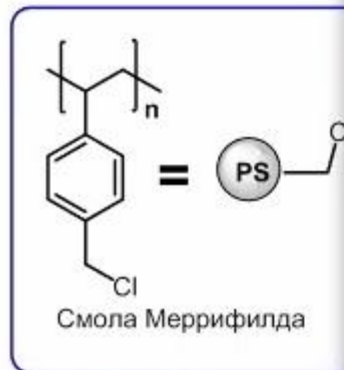


Проточные реакторы для SPS

Пептидный синтез

2.6. Твердофазный метод синтеза (SPS-synthesis)

Стратегическая модификация синтеза пептидов в растворе проведена в 1963 г. Р. Меррифилдом, который предложил твердофазный метод синтеза пептидов. Исходная С-концевая аминокислота пептида, участвующая в последовательных стадиях синтеза, не удаляется, а остается связанной с полимерной смолой, так как она остается связанной с полимерной смолой. Удалять побочные продукты не требуется.



Достоинства

- Выход >99%; упрощены процедуры синтеза и очистки, возможность автоматизации синтеза; высокая скорость;

Недостатки

- Образование побочных «missense» пептидов, трудность контроля протекания реакций;

Пептидный синтез

2.6. Твердофазный метод синтеза (SPS-synthesis)

Высокая эффективность SPSS позволили 1968 г. Р. Меррифилду синтезировать рибонуклеазу (124 АК, 370 стадий, выход 7%).



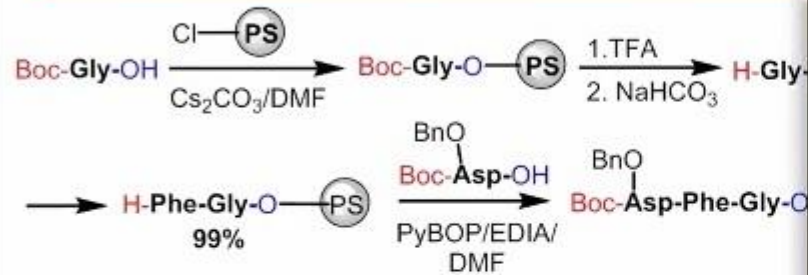
Стратегия синтеза полипептидов SPSS

1. Автоматическим SPS-синтезатором получают блоки по 15-20АК (с концевыми не рацемизирующимися АК (Gly, Pro))
2. Очищают полученные пептиды ВЭЖХ
3. Сшивают блоки в полипептидную цепь «вручную» (азидным методом или PyBOP).
4. Удаляют стабильные PG и очищают полипептид

Пептидный синтез

2.6. Твердофазный метод синтеза (SPS-synthesis)

Высокая эффективность SPSS позволили 1968 г. Р. Меррифилду синтезировать рибонуклеазу (124 АК, 370 стадий, выход 7%).



Стратегия синтеза полипептидов SPSS

1. Автоматическим SPS-синтезатором получают блоки по 15-20АК (с концевыми не рацемизирующимися АК (Gly, Pro))
2. Очищают полученные пептиды ВЭЖХ
3. Сшивают блоки в полипептидную цепь «вручную» (азидным методом или PyBOP).
4. Удаляют стабильные PG и очищают полипептид

Автоматический MW/SPS-синтезатор



Пептидный синтез

2.6. Твердофазный метод синтеза. Матрицы (resins) для SPSS

1. Смола Меррифилда



Применение

Иммобилизация кислот, фенолов, спиртов, аминов, пептидов (Вос-стратегия)

Расщепление

HF/PhOMe; TfOH/PhOMe; NaOH; H₂/Pd/C

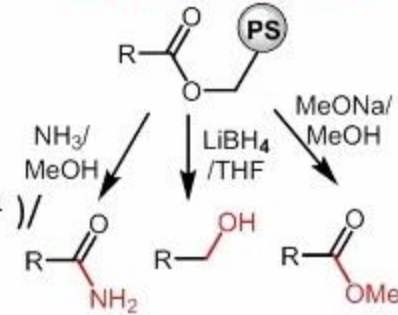
Достоинства

Низкая цена, высокая загрузка (2 ммоль*г⁻¹)

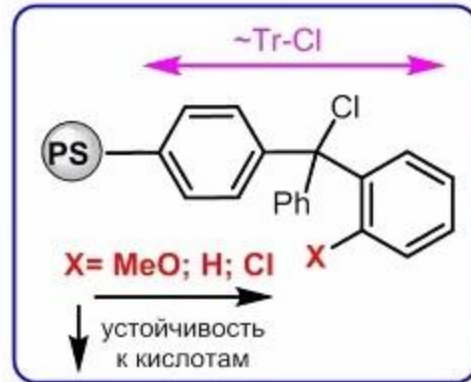
Недостатки

жесткие условия снятия

Расщепление с трансформацией



2. Тритильная смола



Применение

Иммобилизация кислот, фенолов, спиртов, аминов, имидазолов, пептидов (Fmoc-стратегия)

Расщепление

TFA (5%)/DCM

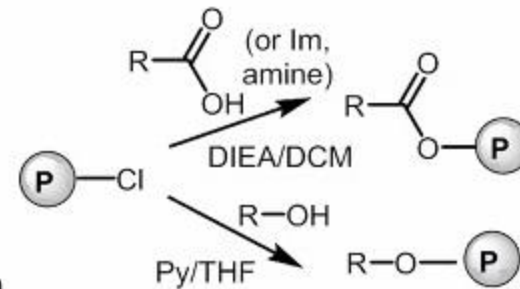
Достоинства

Мягкие условия снятия

Недостатки

Нестабильность к кислотным реагентам

Иммобилизация



Пептидный синтез

2.6. Твердофазный метод синтеза. Матрицы (resins) для SPSS

3. Смола Ванга



Применение

Иммобилизация кислот (OH-resin/CDI), фенолов, спиртов, аминов (Br-resin), синтез пептидов (Фмос-стратегия), нуклеотидов

Расщепление

TFA /DCM; CAN; H₂/Pd/C

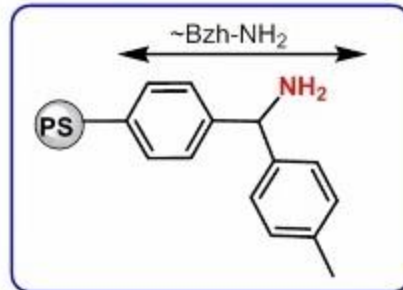
Достоинства

Мягкие условия снятия, устойчивость к Nu

Недостатки

Нестабильность к кислотным реагентам

4. MBHA-смола



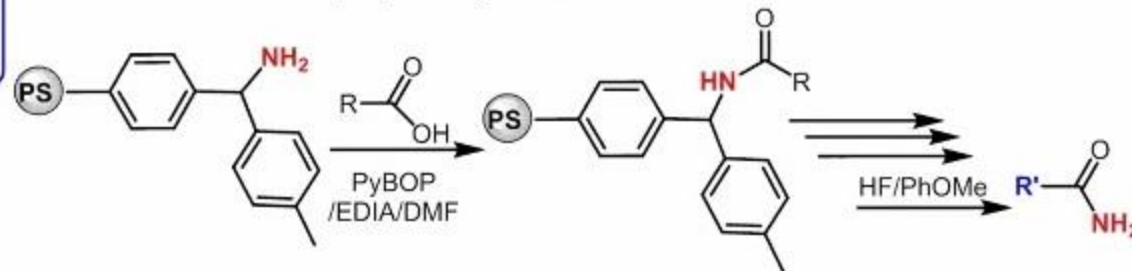
Применение

Синтез амидов, амидов-пептидов

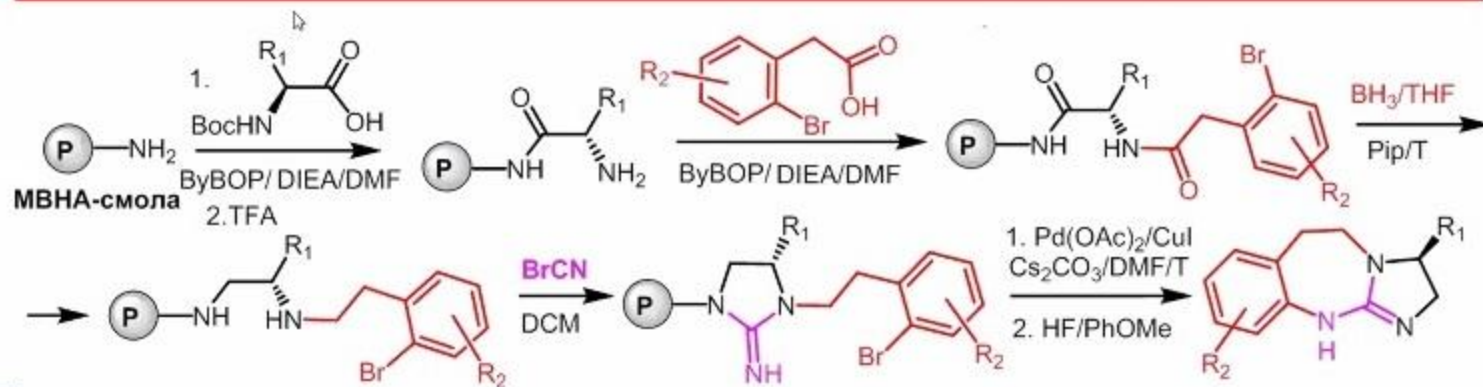
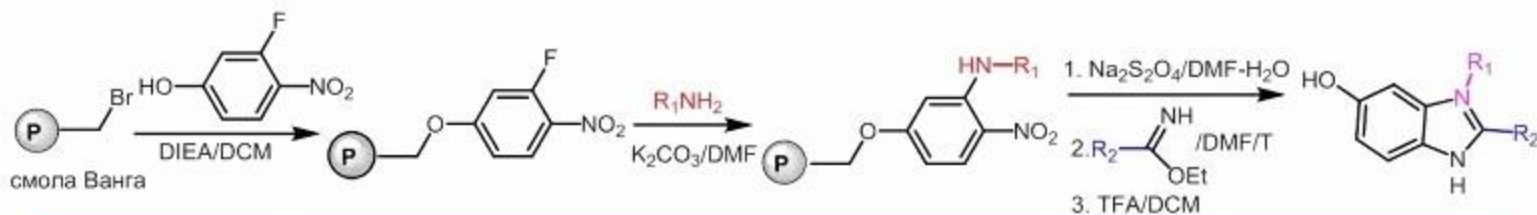
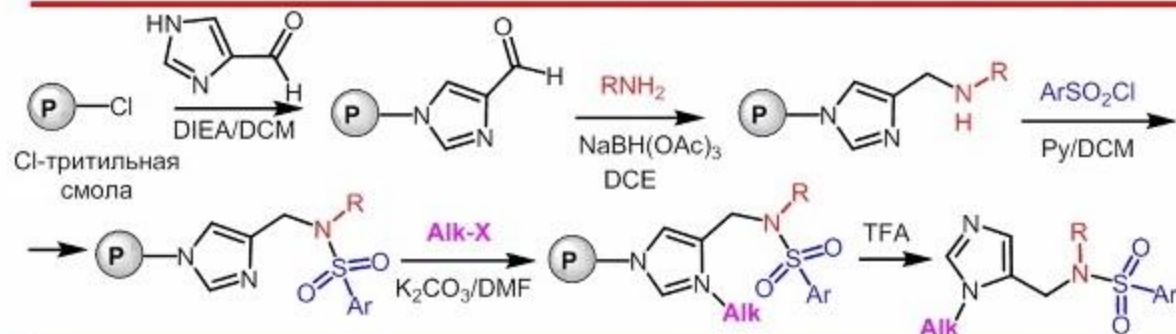
Расщепление

HF/PhOMe; MsOH/PhOMe

Иммобилизация/Расщепление



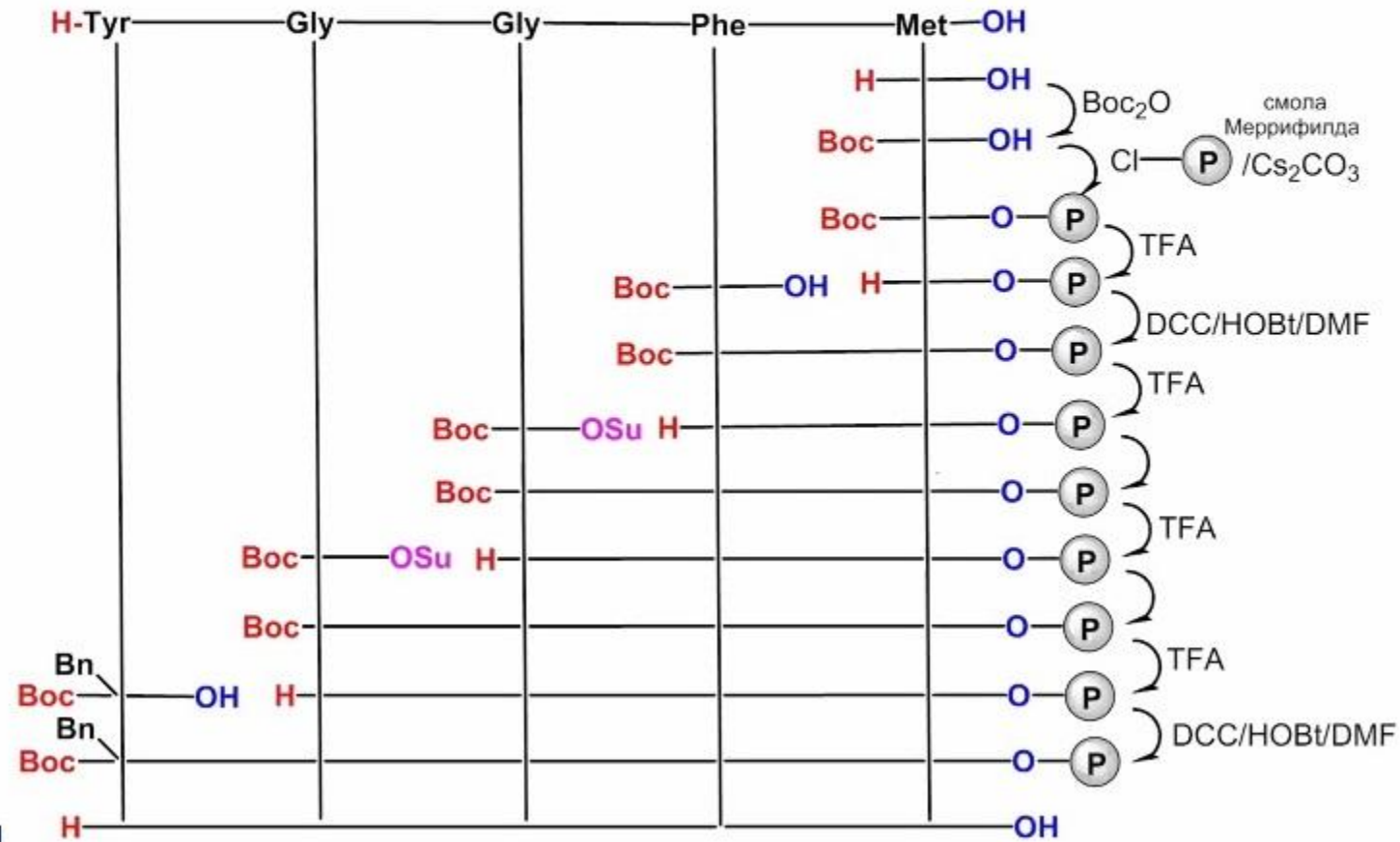
Применение SPS-матриц в комбинаторной химии



Пептидный синтез

Представление схем синтеза

Привести схему синтеза метионилэнкефалина с использованием смолы Меррифилда (Boc - стратегия)



Пептидный синтез

Представление схем синтеза

На дом:

Составить схему синтеза Цетрореликса с использованием MBHA-смолы (Woc - стратегия)



Дополнительная литература

1. Гершкович А.А. Синтез пептидов. Реагенты и методы, 1987, 264 с
2. Peptide Chemistry and Drug Design. Ben M. Dunn (Ed.), 2015