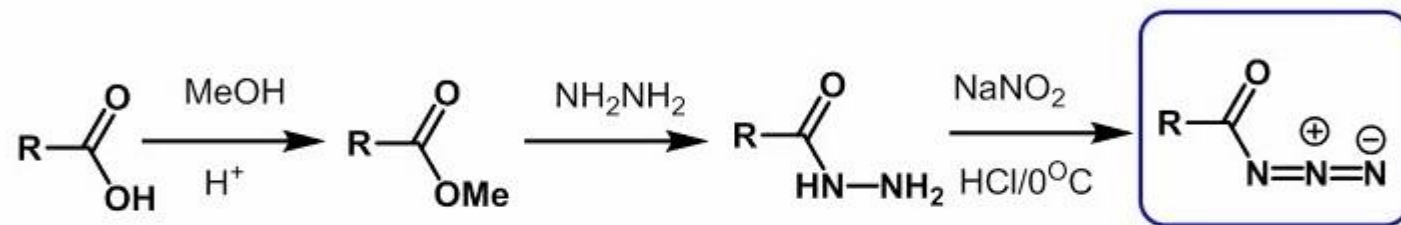


Методы активации карбоксильной группы

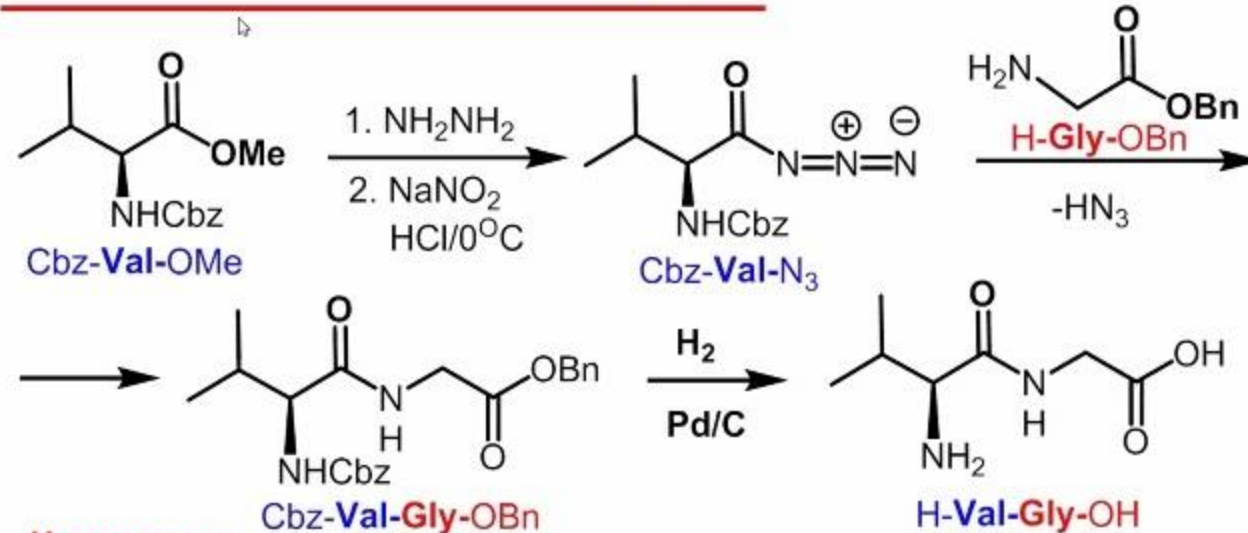
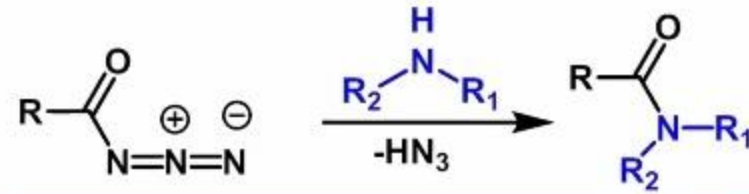
3. Азидный метод (Курциуса)

Методы получения азидов



Методы активации карбоксильной группы

Применение азидного метода в синтезе амидов и пептидов



Недостатки

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

Достоинства

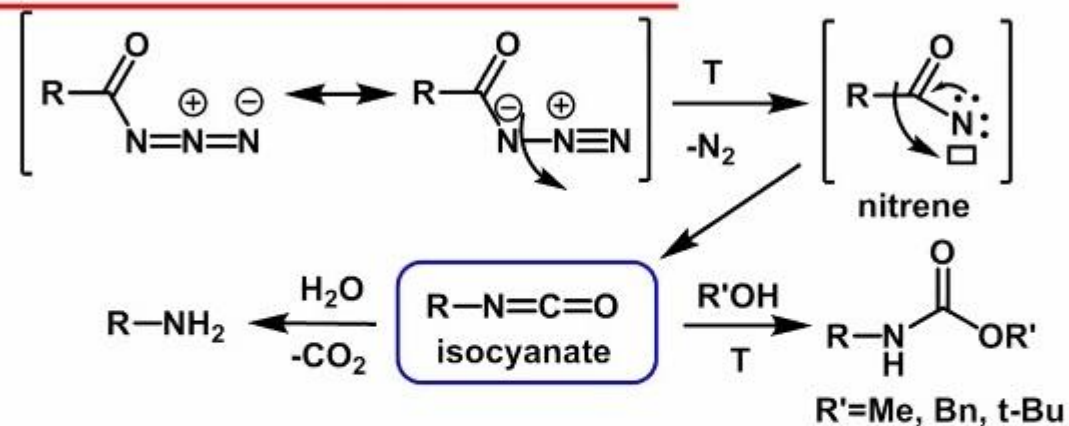
-отсутствие рацемизации; доступность реагентов

Используют для синтеза коротких пептидов или сшивки пептидных блоков

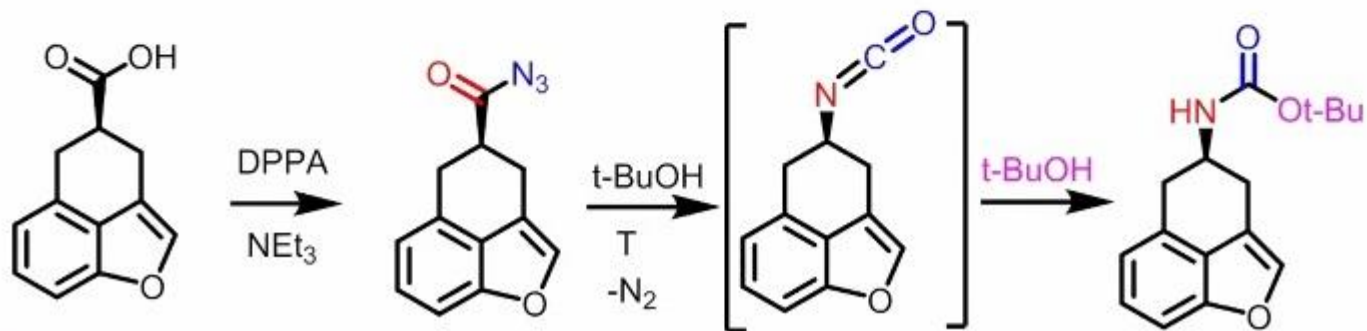
Методы активации карбоксильной группы

3. Азидный метод (Курциуса)

Применение азидов в синтезе аминов и карбаматов
(перегруппировка Курциуса)



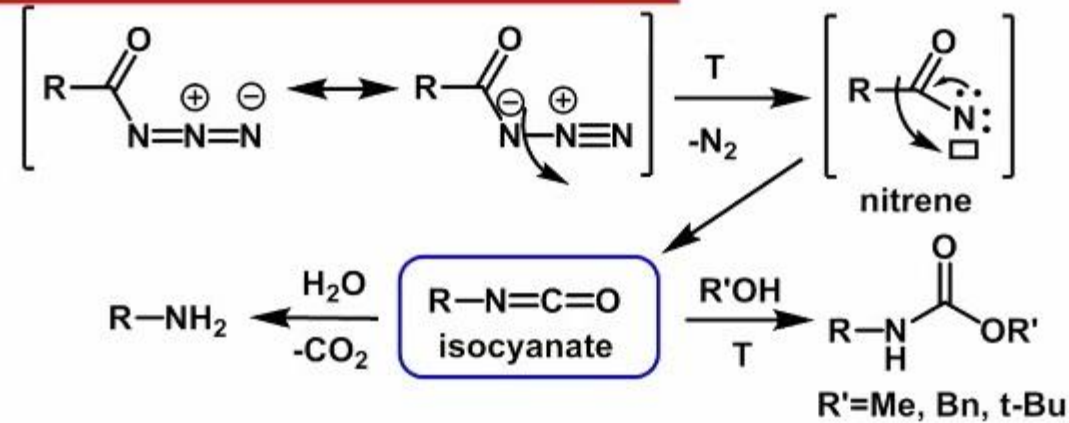
Перегруппировка Курциуса стереоселективна (с сохранением стереохимии)



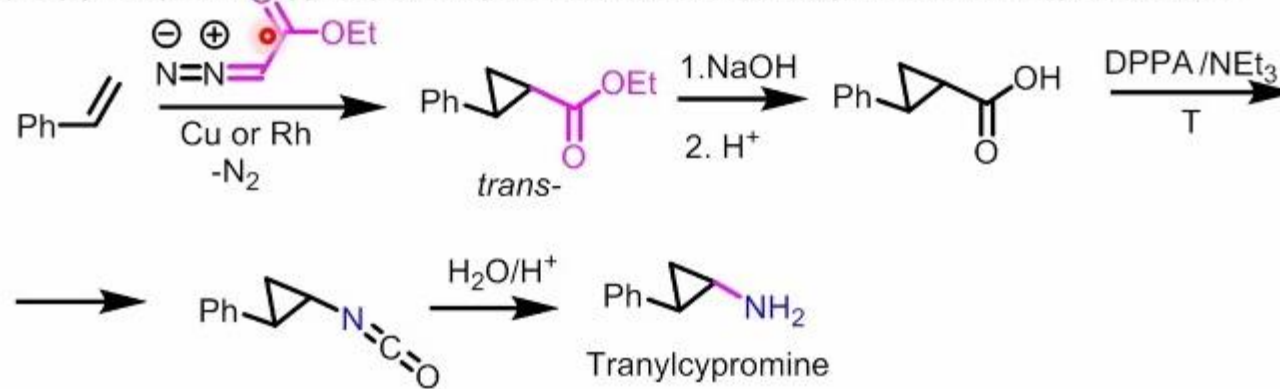
Методы активации карбоксильной группы

3. Азидный метод (Курциуса)

Применение азидов в синтезе аминов и карбаматов
(перегруппировка Курциуса)



Перегруппировка Курциуса стереоселективна (с сохранением стереохимии)

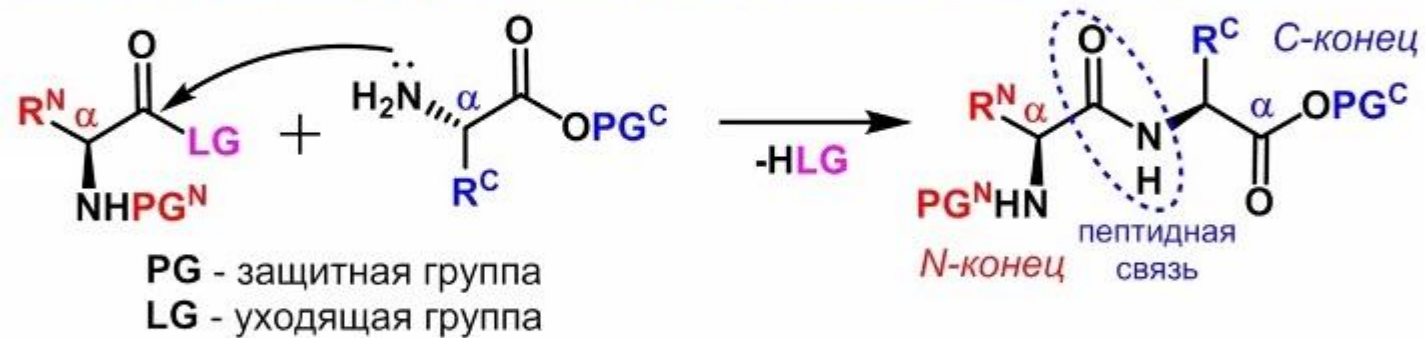


Пептидный синтез

«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:

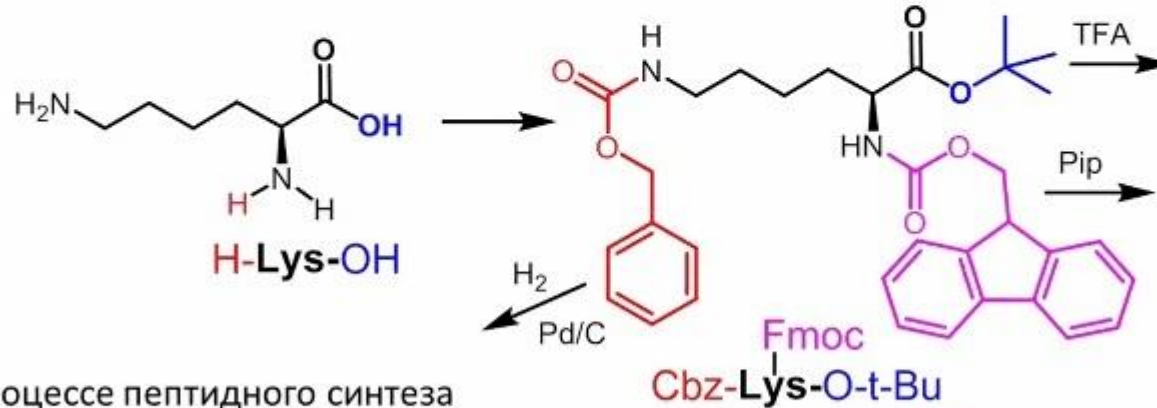
- Защита N-концевой АК по аминогруппе ($PG^N = Boc, Fmoc$)
- Защита C-концевой АК по карбокси группе ($PG^C = Me, Bn, t-Bu$)
- Конденсация amino кислот путем активации N-концевой АК (введение LG)
- Удаление защитных групп
- Кроме того, необходима защита функциональных групп боковых цепей

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)

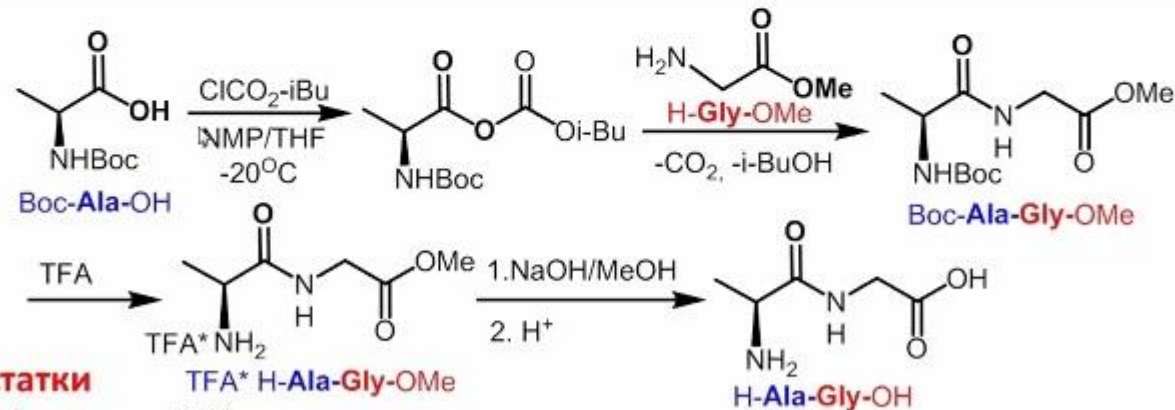
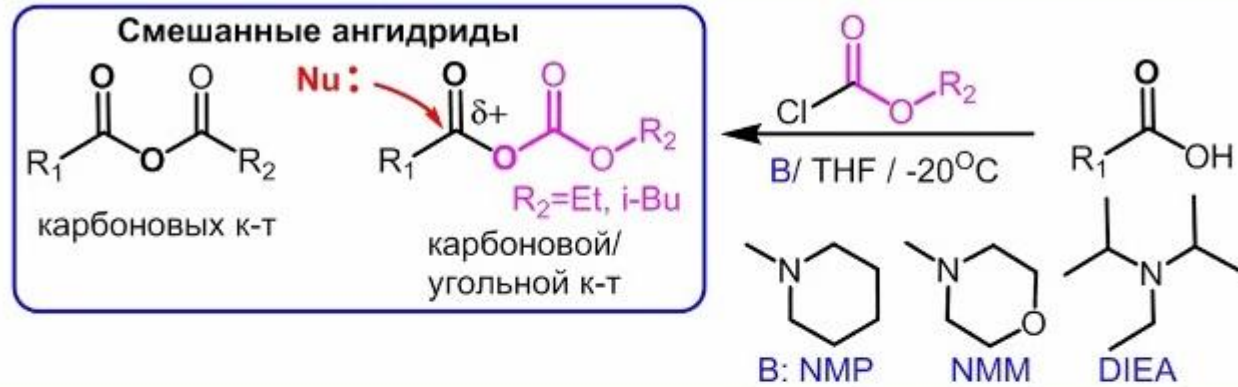
- **Максимальная защита** - защищают все функциональные группы боковых цепей (смешанные ангидриды, карбодиимидный метод)
- **Минимальная защита** - защищают ионизируемые группы (конденсирующие агенты).

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

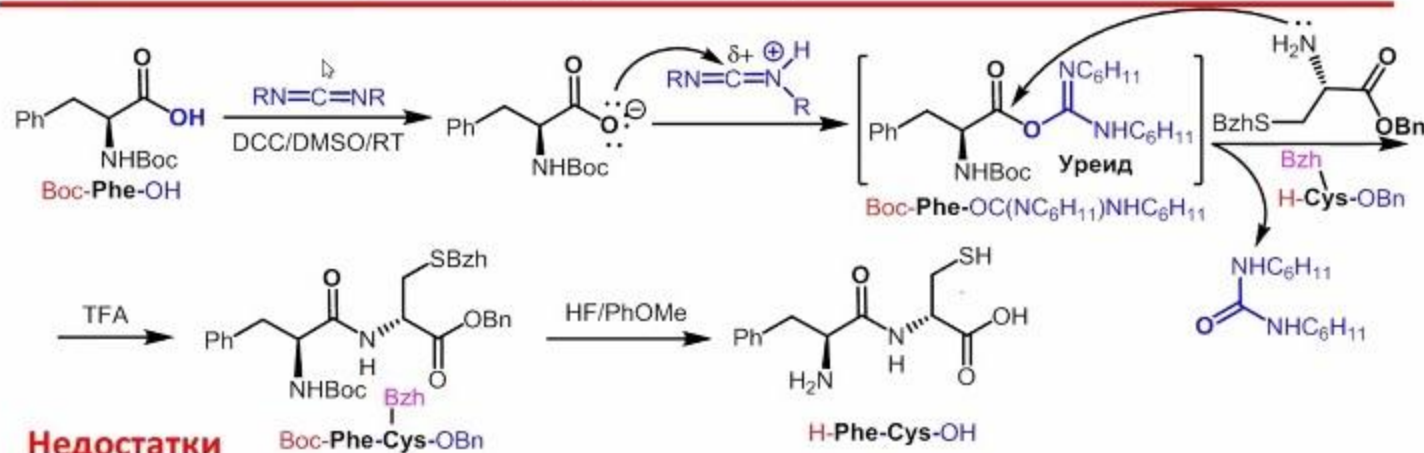
Достоинства

-отсутствие рацемизации; высокая скорость реакции, доступность реагентов

Широко используют для синтеза амидов и коротких пептидов

Пептидный синтез

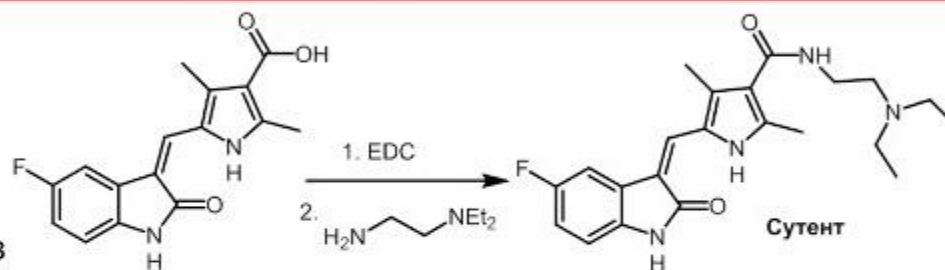
2.3. Карбодиимидный метод



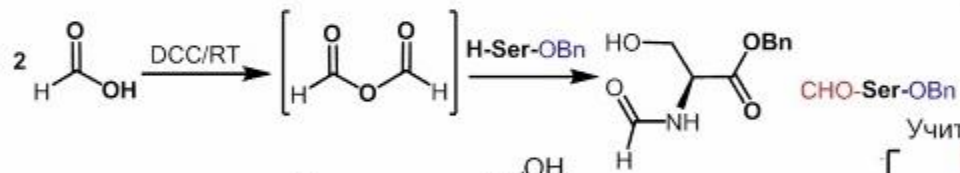
Применение производных карбодиимида в органическом синтезе

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

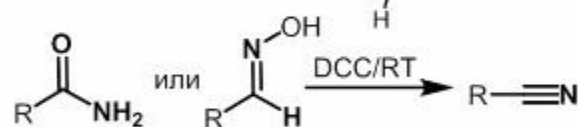
1. Синтез амидов



2. Синтез ангидридов



3. Дегидратация



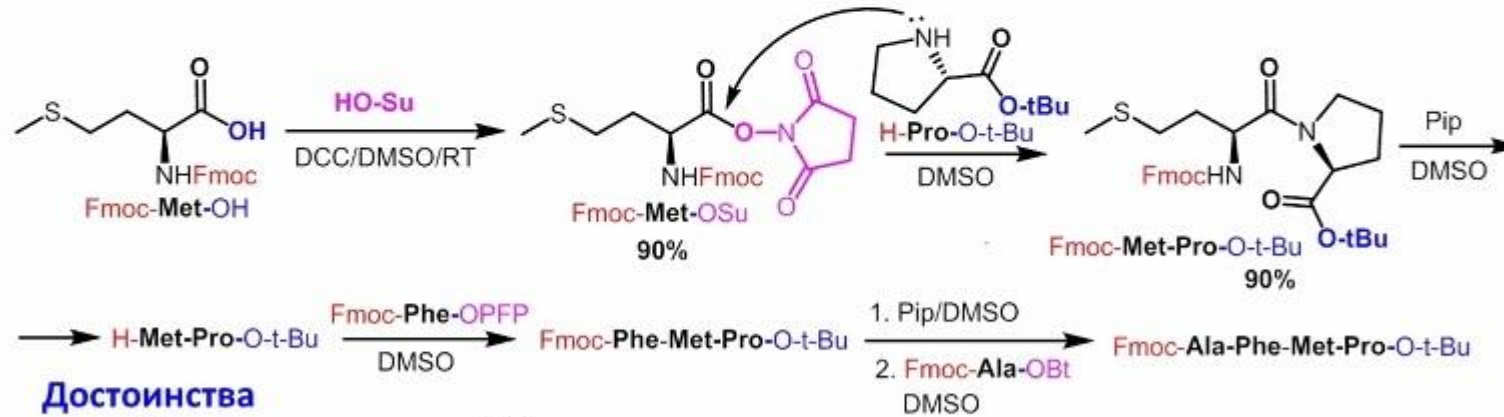
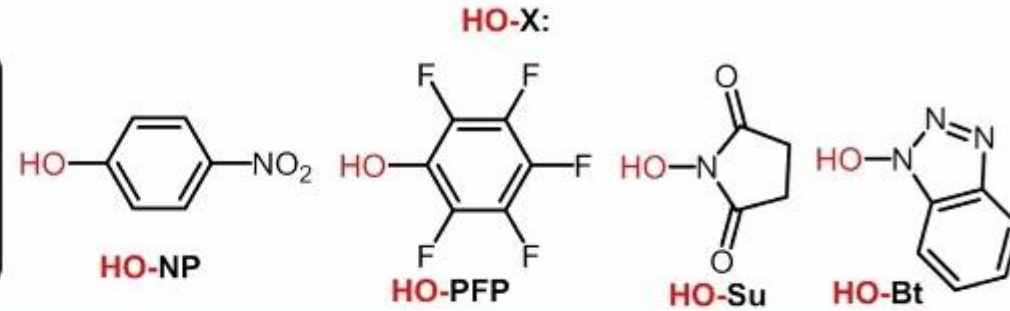
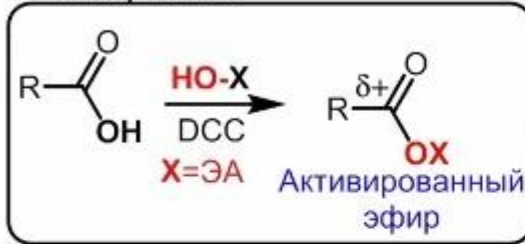
4. Окисление



Пептидный синтез

2.4. Метод активированных эфиров

Получение



Достоинства

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

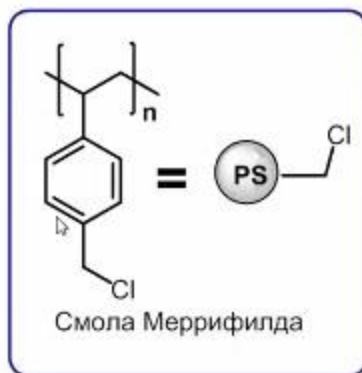
Недостатки

- стоимость

Пептидный синтез

2.6. 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.

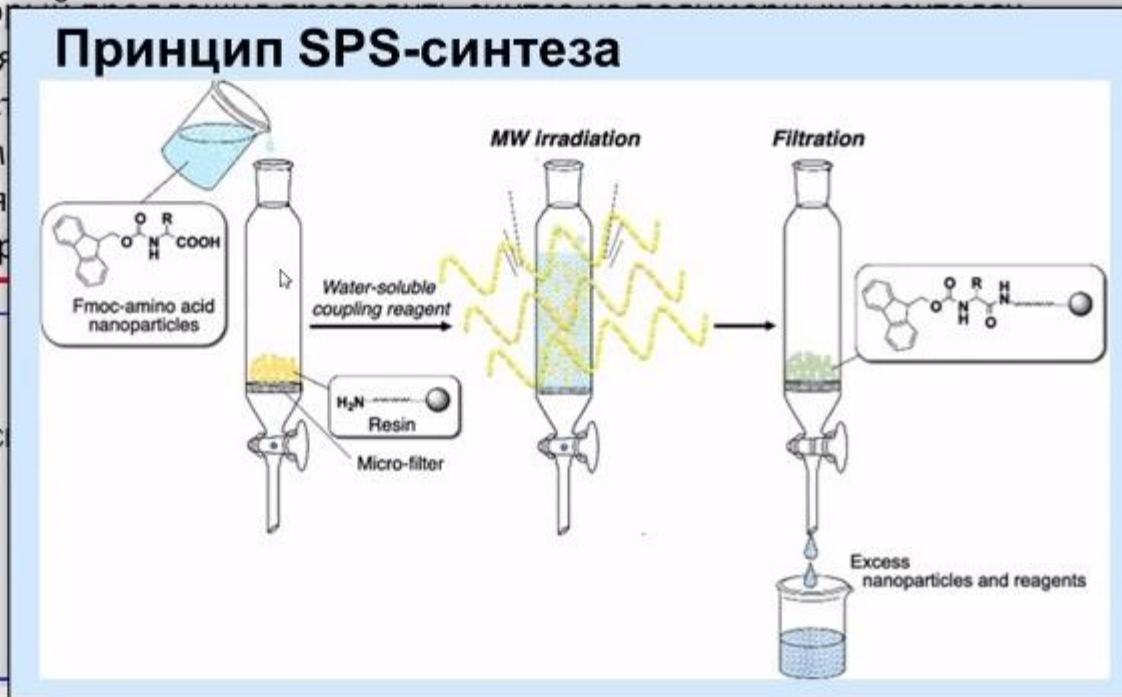
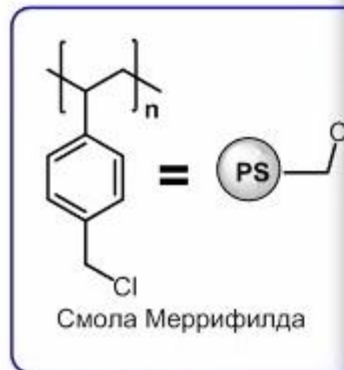


Проточные реакторы для SPS

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 реакциях, не удаляется, а остается связанной с полимерной смолой, как они остаются связанными с полимерной смолой. Таким образом, не требуется удалять побочные продукты.



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%).



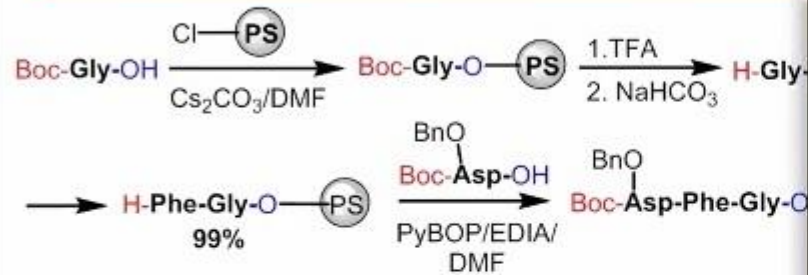
Стратегия синтеза полипептидов SPSS

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

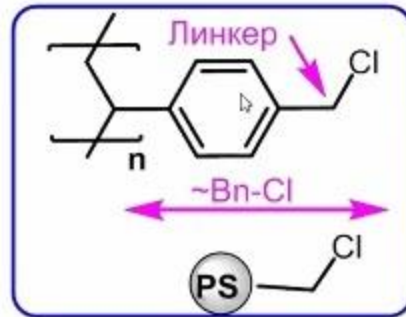
Автоматический MW/SPS-синтезатор



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

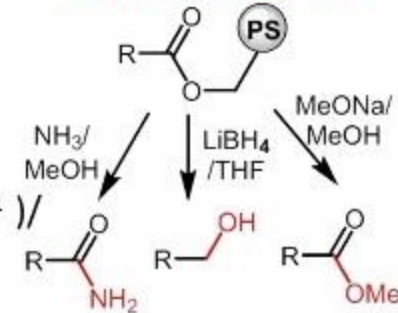
Достоинства

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

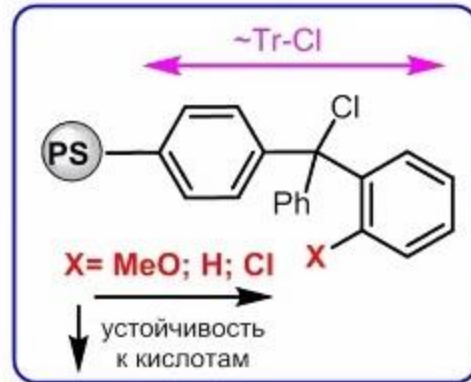
Недостатки

жесткие условия снятия

Расщепление с трансформацией



2. Тритильная смола



Применение

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

Расщепление

TFA (5%)/DCM

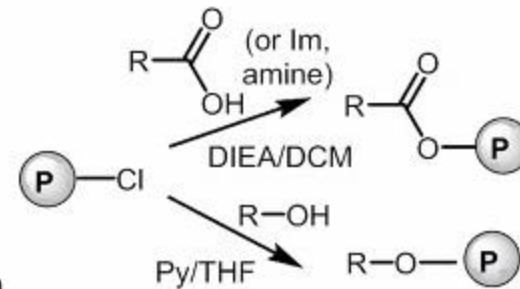
Достоинства

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

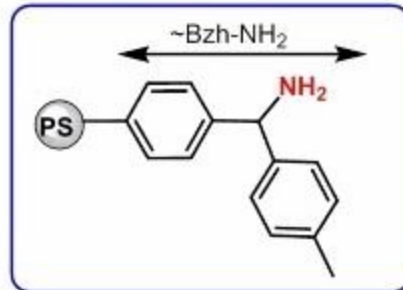
Достоинства

Мягкие условия снятия, устойчивость к Nu

Недостатки

Нестабильность к кислотным реагентам

4. MBHA-смола



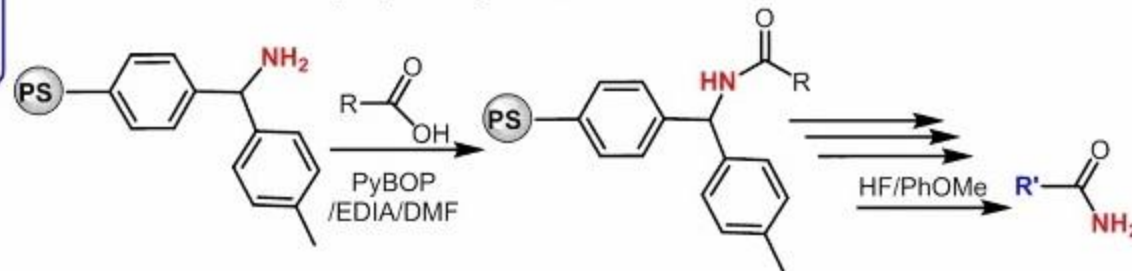
Применение

Синтез амидов, амидов-пептидов

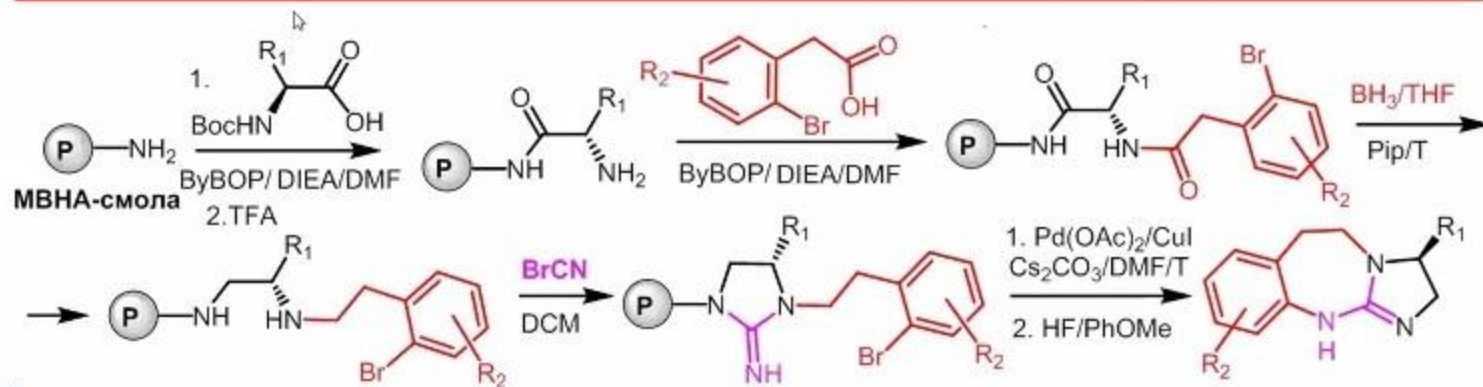
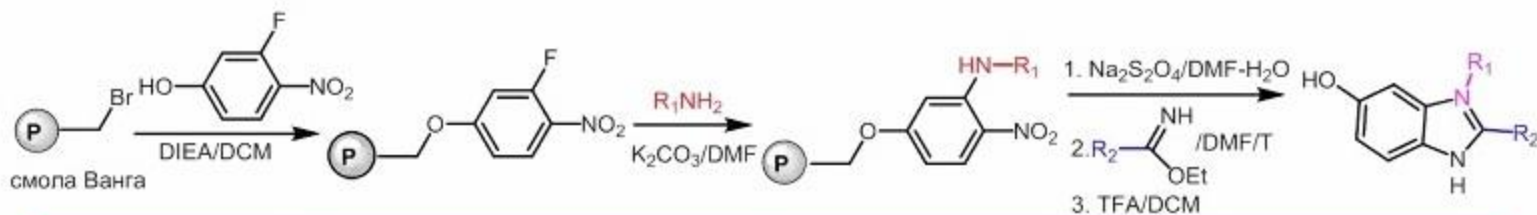
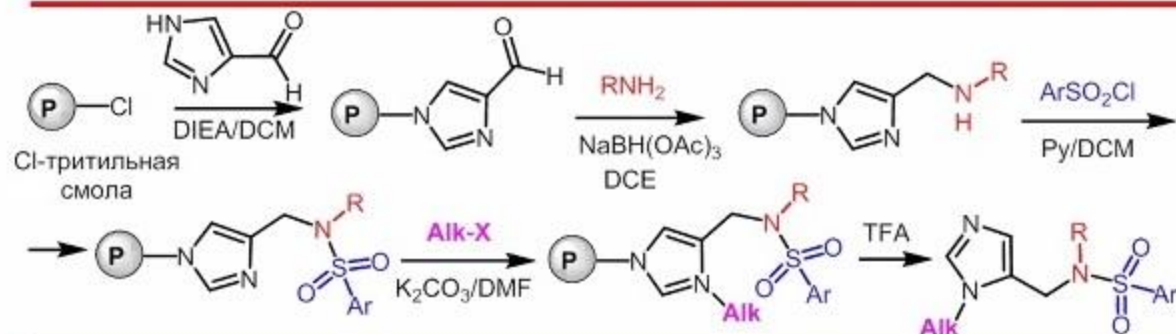
Расщепление

HF/PhOMe; MsOH/PhOMe

Иммобилизация/Расщепление



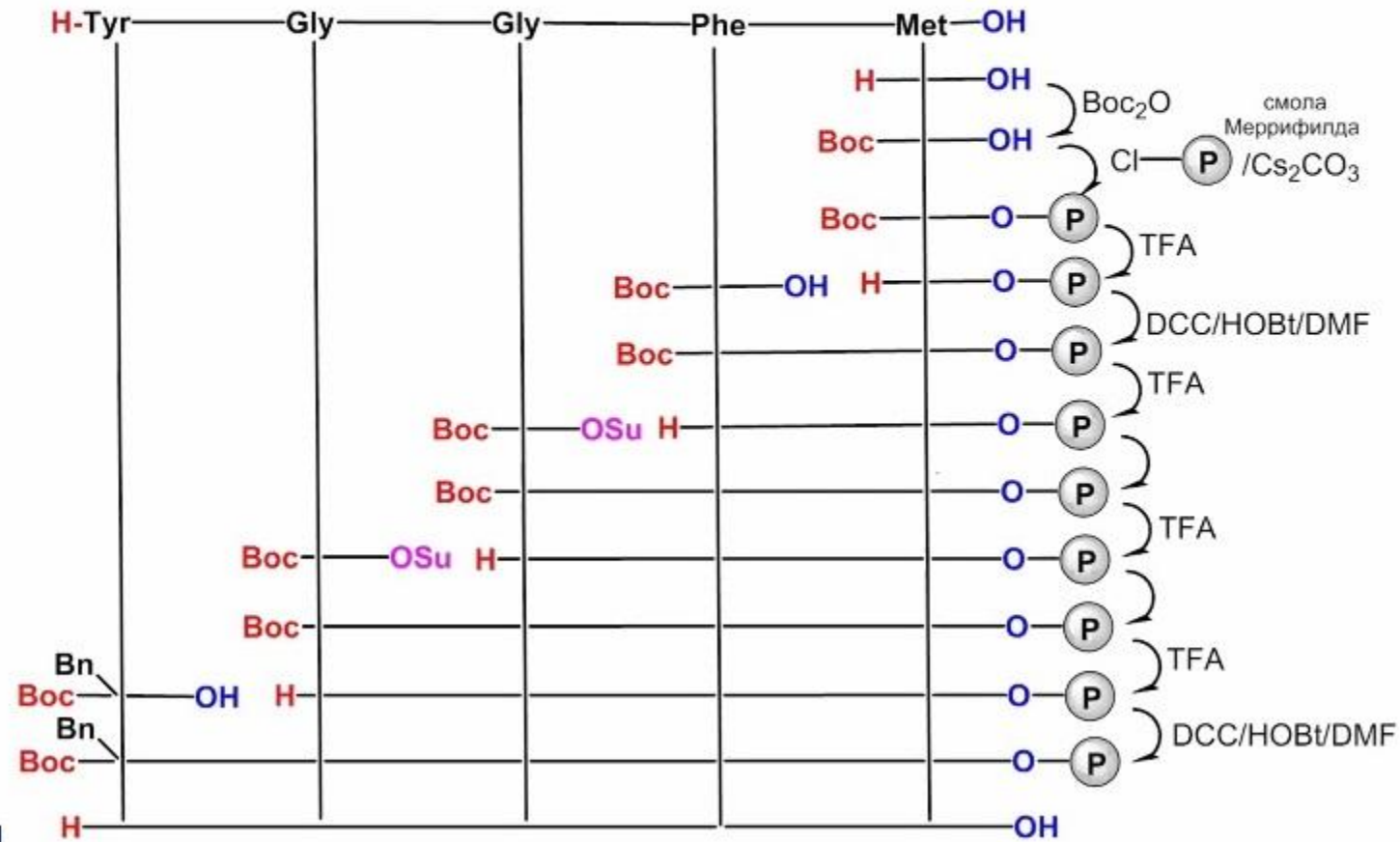
Применение SPS-матриц в комбинаторной химии



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