

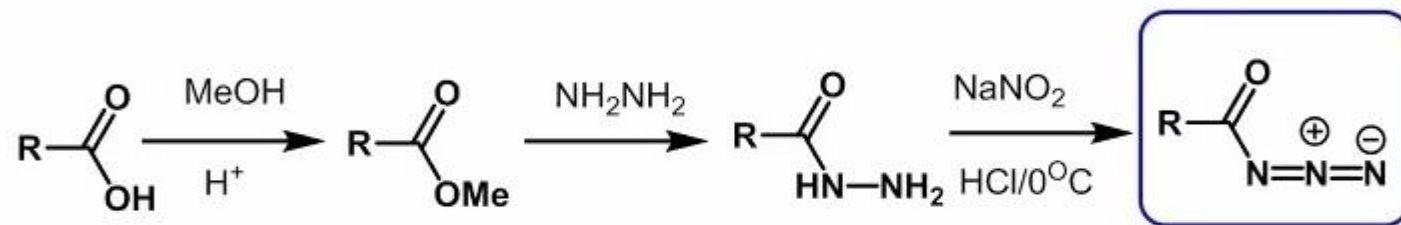
# Методы активации карбоксильной группы

## 3. Азидный метод (Курциуса)

---

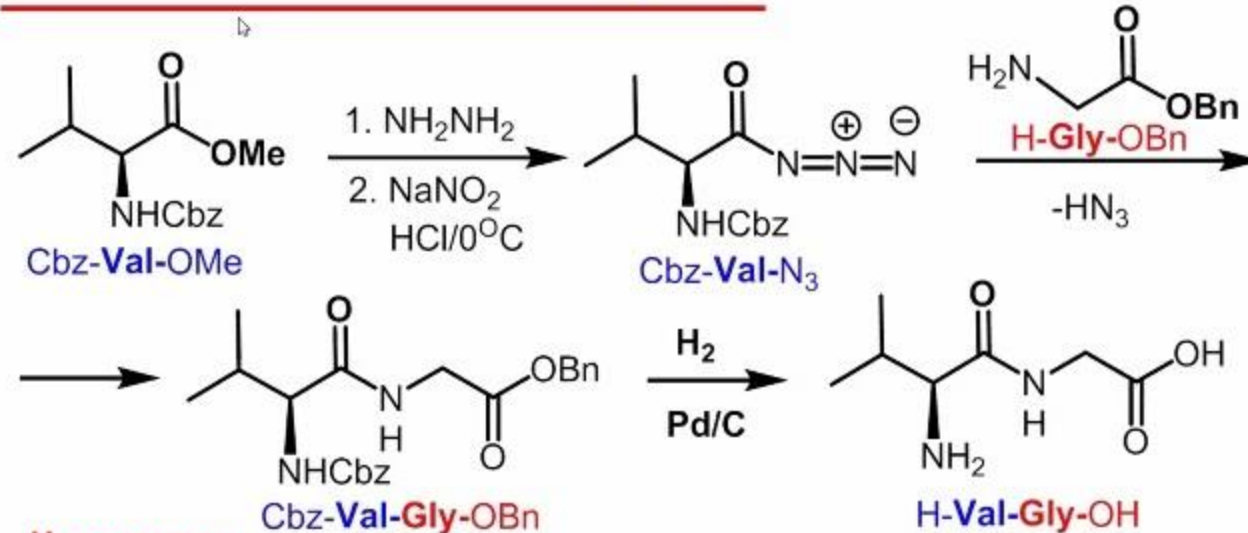
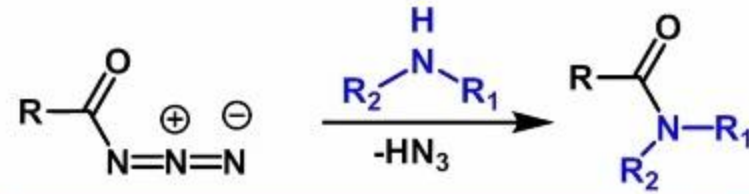
### Методы получения азидов

---



# Методы активации карбоксильной группы

## Применение азидного метода в синтезе амидов и пептидов



### Недостатки

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

### Достоинства

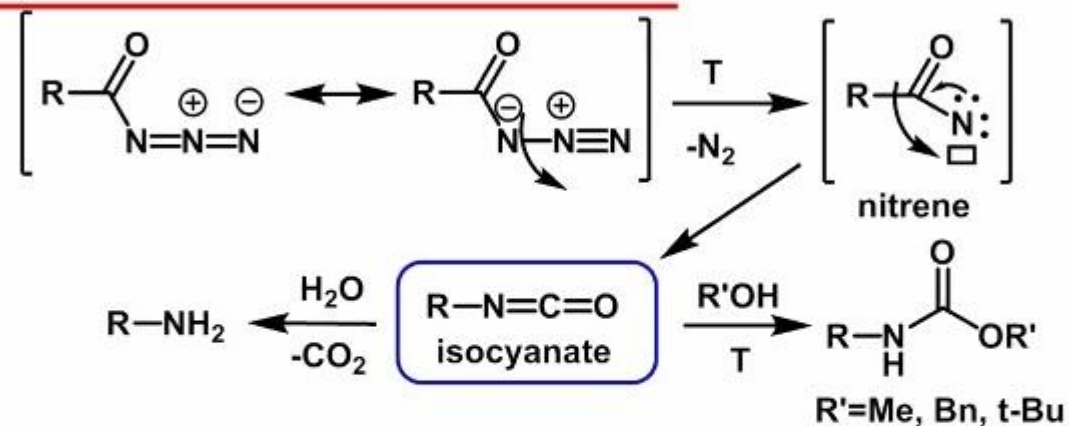
-отсутствие рацемизации; доступность реагентов

Используют для синтеза коротких пептидов или сшивки пептидных блоков

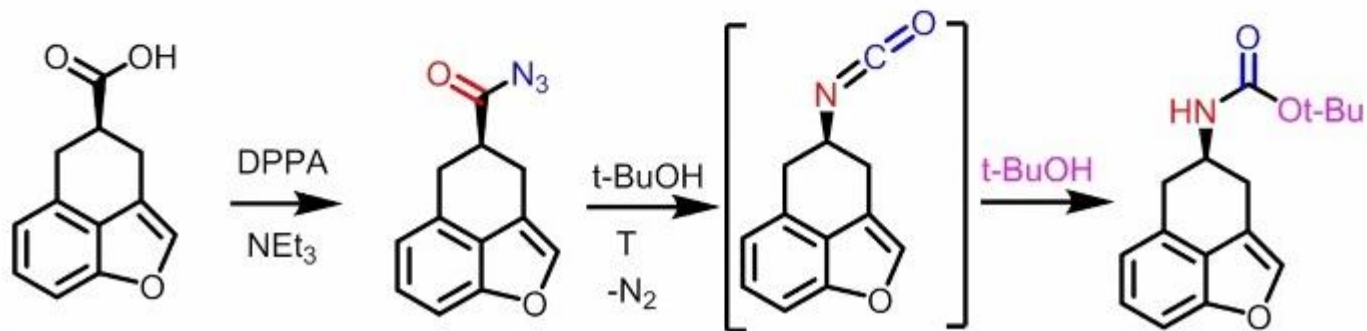
# Методы активации карбоксильной группы

## 3. Азидный метод (Курциуса)

Применение азидов в синтезе аминов и карбаматов  
(перегруппировка Курциуса)



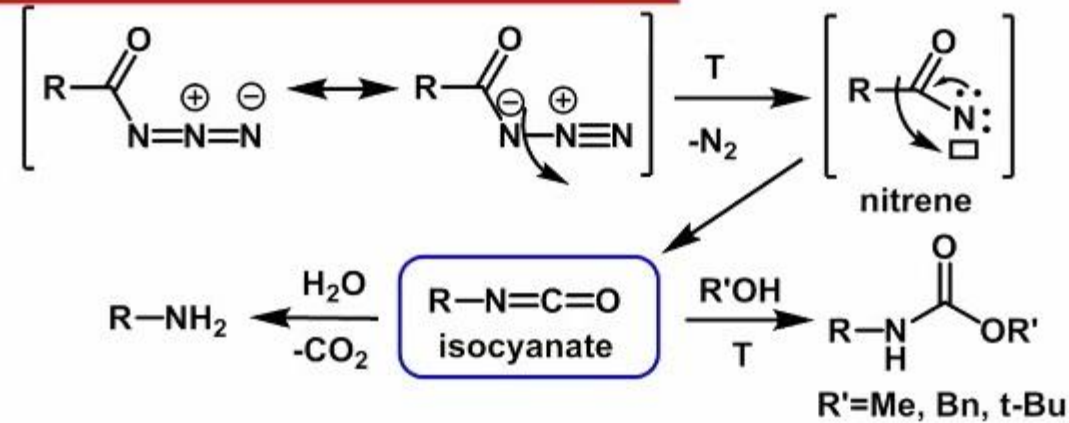
Перегруппировка Курциуса стереоселективна (с сохранением стереохимии)



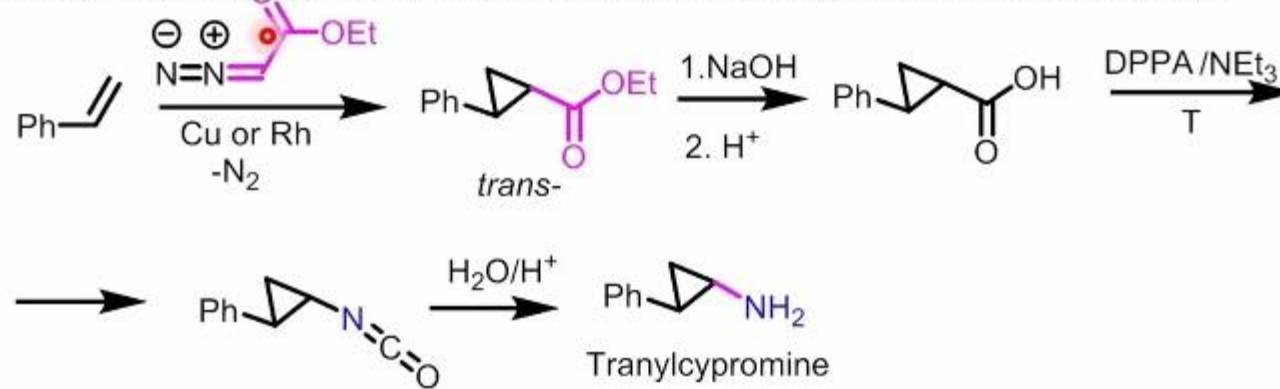
# Методы активации карбоксильной группы

## 3. Азидный метод (Курциуса)

Применение азидов в синтезе аминов и карбаматов  
(перегруппировка Курциуса)



Перегруппировка Курциуса стереоселективна (с сохранением стереохимии)

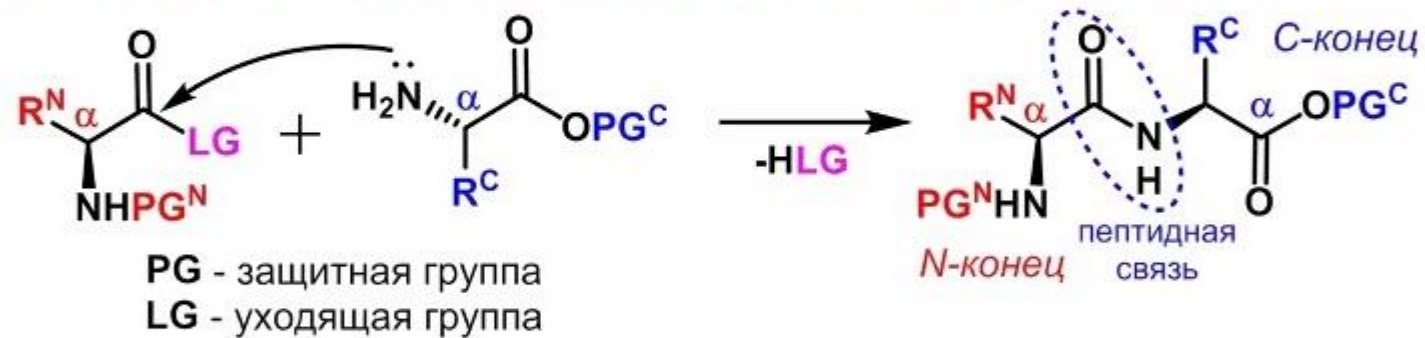


## Пептидный синтез

«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:

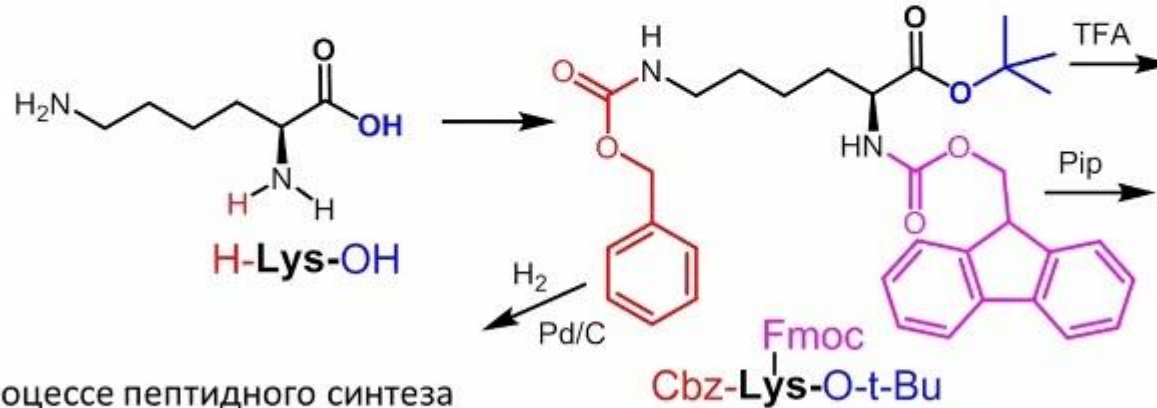
- Защита N-концевой АК по аминогруппе ( $PG^N = Boc, Fmoc$ )
- Защита C-концевой АК по карбокси группе ( $PG^C = Me, Bn, t-Bu$ )
- Конденсация amino кислот путем активации N-концевой АК (введение LG)
- Удаление защитных групп
- Кроме того, необходима защита функциональных групп боковых цепей

# 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** ( $N^\alpha$ – Вос ,  $C^\alpha$  и PG-боковых цепей удаляются в основаниями)
2. **Fmoc- стратегия** ( $N^\alpha$ – Fmoc ,  $C^\alpha$  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)

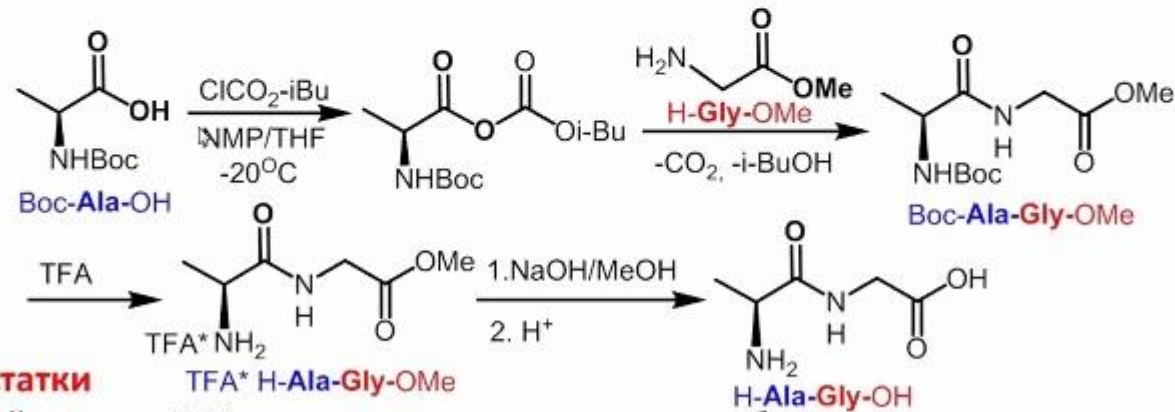
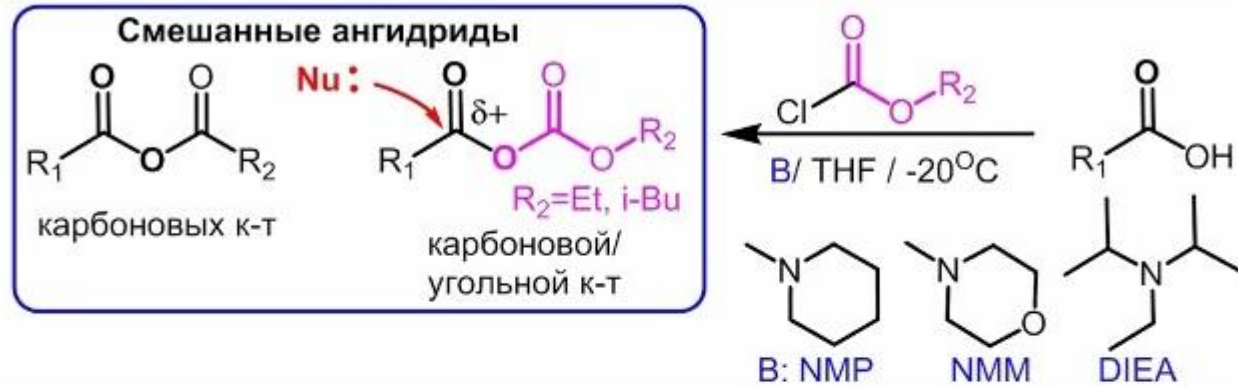
- **Максимальная защита** - защищают все функциональные группы боковых цепей (смешанные ангидриды, карбодиимидный метод)
- **Минимальная защита** - защищают ионизируемые группы (конденсирующие агенты).

## 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

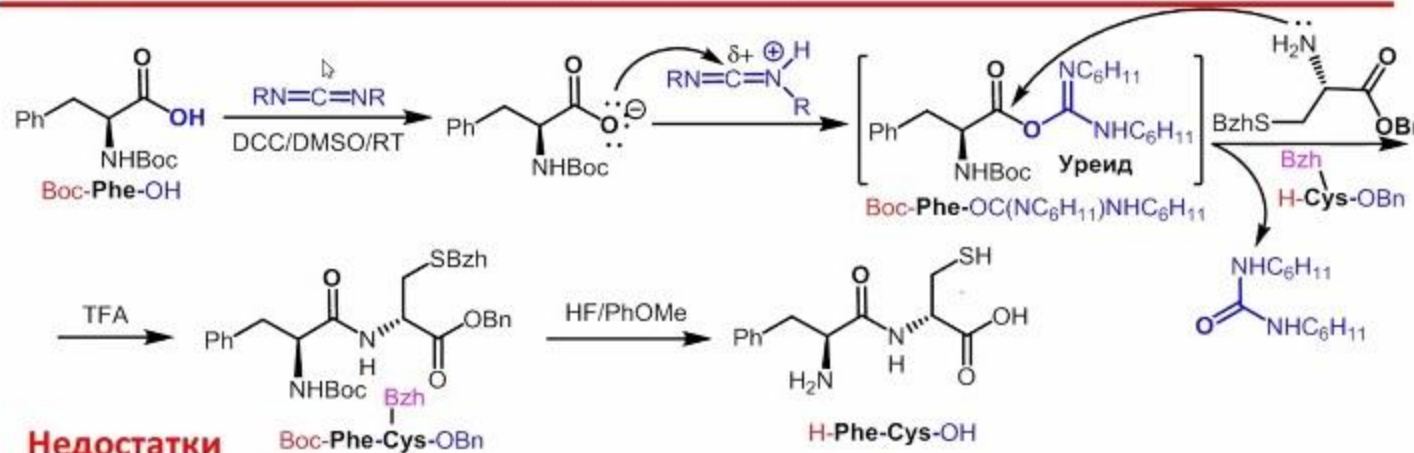
-отсутствие рацемизации; высокая скорость реакции, доступность реагентов

Широко используют для синтеза амидов и коротких пептидов



# Пептидный синтез

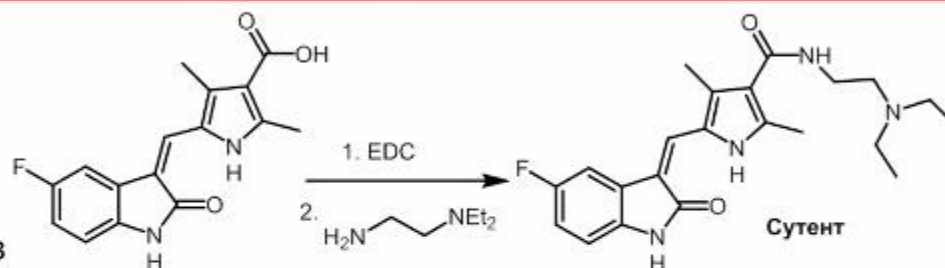
## 2.3. Карбодиимидный метод



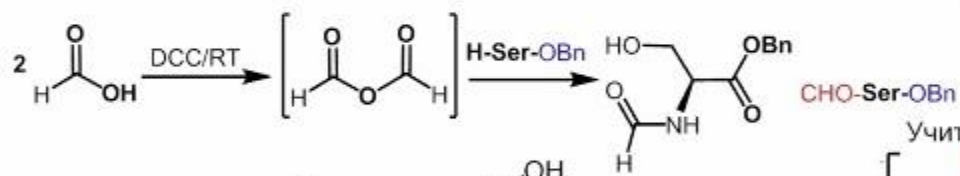
# Применение производных карбодиимида в органическом синтезе

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

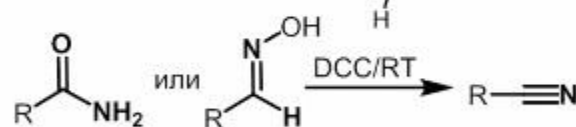
## 1. Синтез амидов



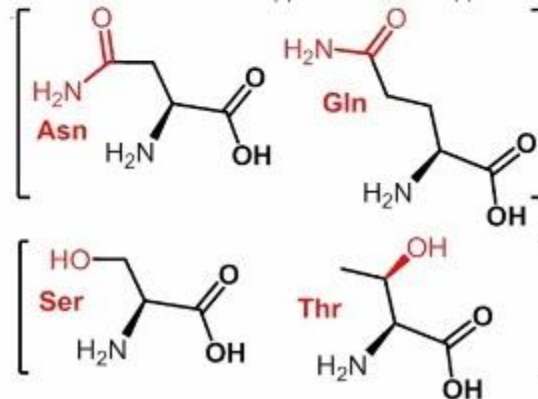
## 2. Синтез ангидридов



## 3. Дегидратация



Учитывать в пептидном синтезе для:



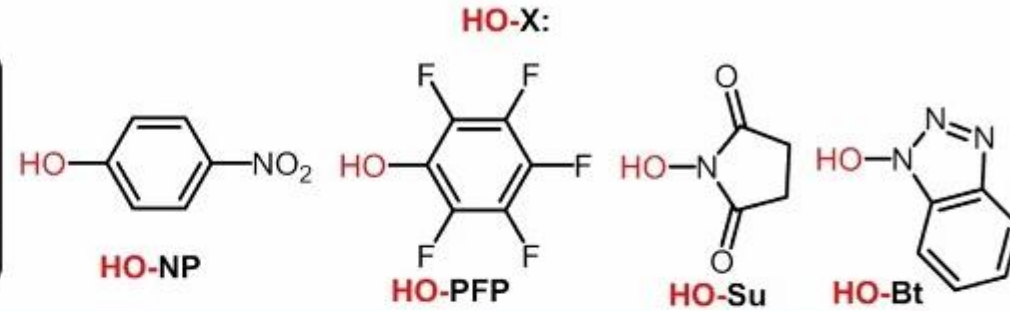
## 4. Окисление



# Пептидный синтез

## 2.4. Метод активированных эфиров

Получение



### Достоинства

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

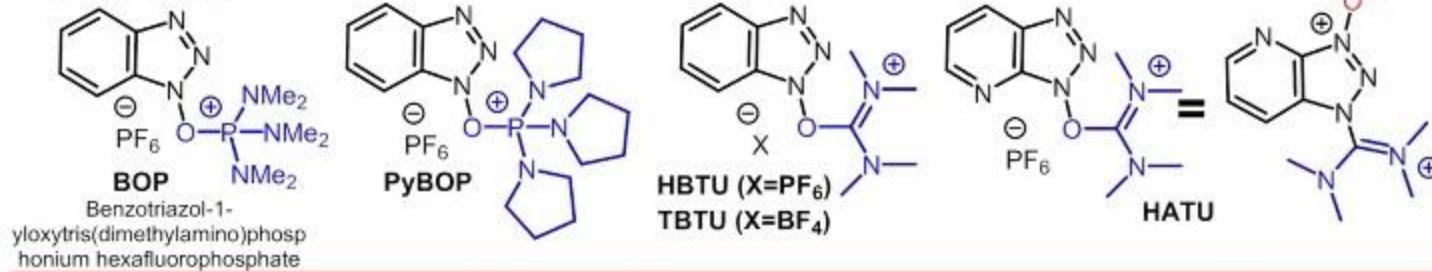
### Недостатки

- стоимость

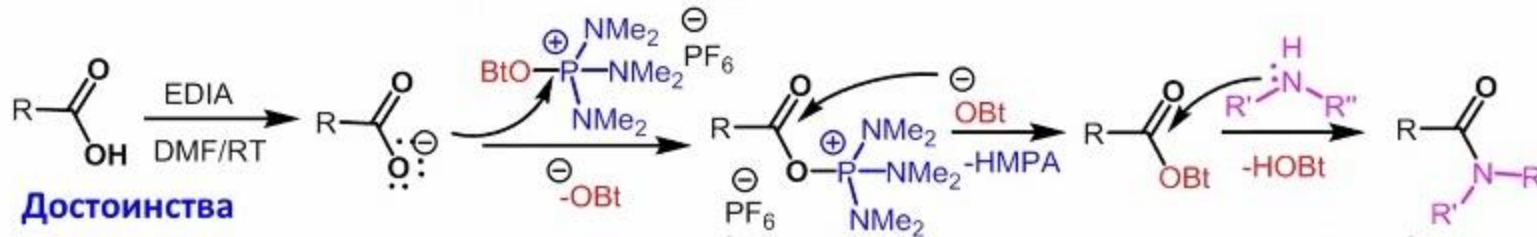
# Пептидный синтез

## 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.

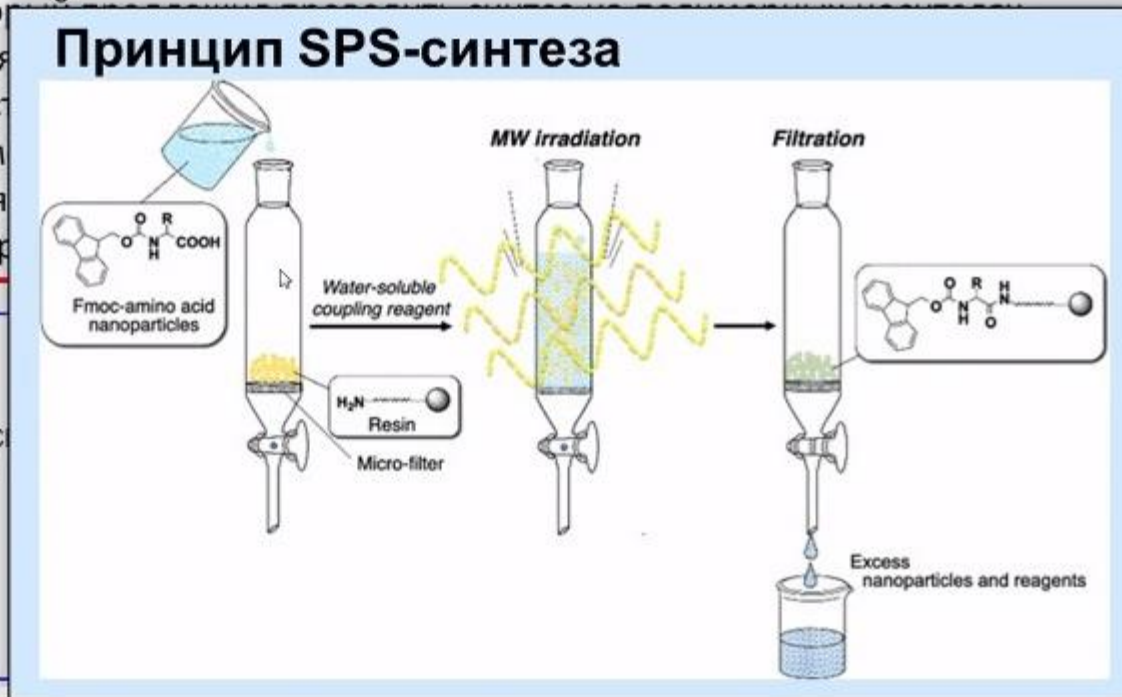
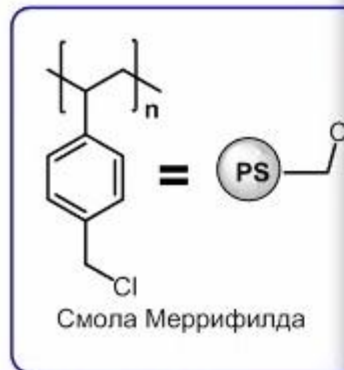


Проточные реакторы для SPS

# 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 реакциях, не удаляется, а остается связанной с полимерной смолой, отпадает необходимость в очистке пептида, так как они остаются связанными с полимерной смолой, которую можно удалять, удаляя побочные продукты.



### Достоинства

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

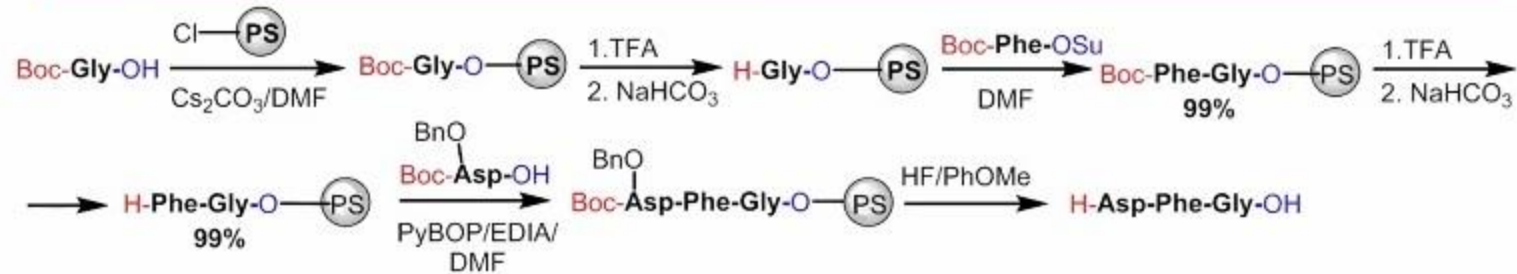
### Недостатки

- 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%).



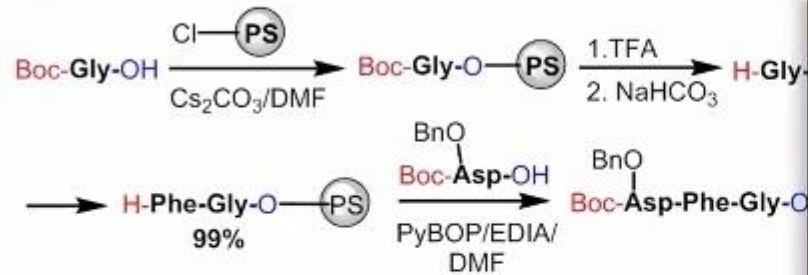
### Стратегия синтеза полипептидов SPSS

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

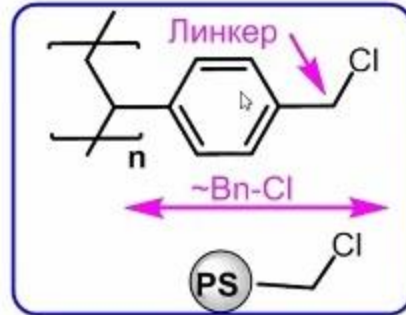




# Пептидный синтез

## 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;  $\text{H}_2/\text{Pd/C}$

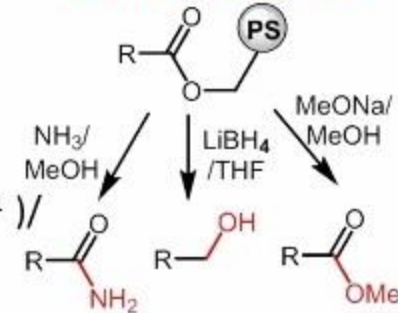
#### Достоинства

Низкая цена, высокая загрузка ( $2 \text{ ммоль} \cdot \text{г}^{-1}$ )

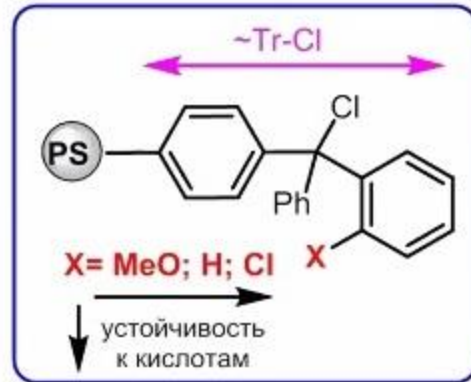
#### Недостатки

жесткие условия снятия

#### Расщепление с трансформацией



### 2. Тритильная смола



#### Применение

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

#### Расщепление

TFA (5%)/DCM

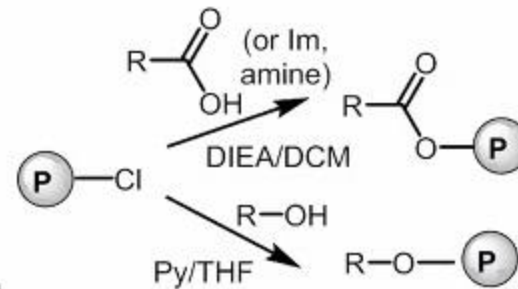
#### Достоинства

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;  $H_2/Pd/C$

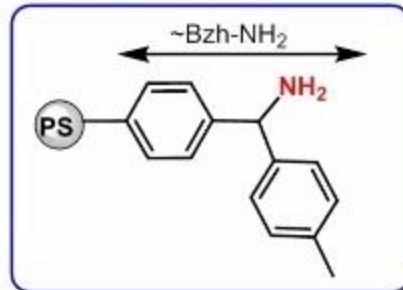
#### Достоинства

Мягкие условия снятия, устойчивость к Nu

#### Недостатки

Нестабильность к кислотным реагентам

### 4. MBHA-смола



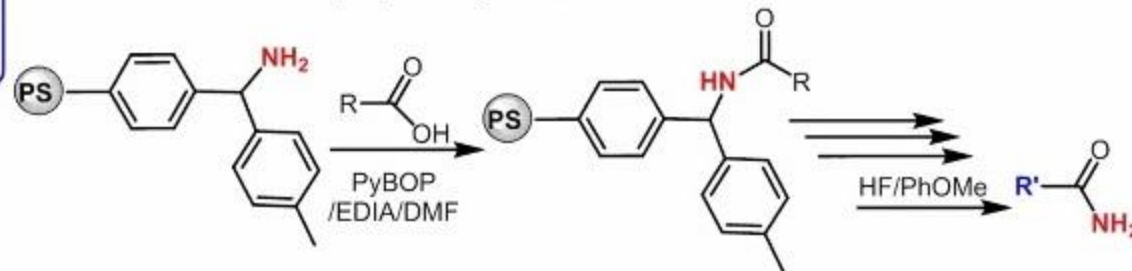
#### Применение

Синтез амидов, амидов-пептидов

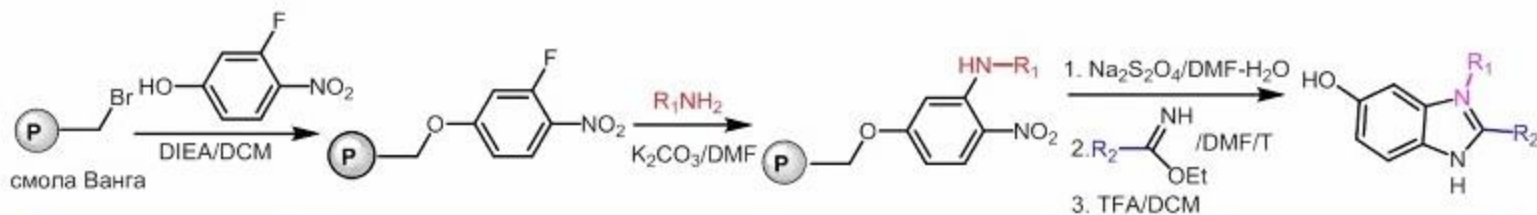
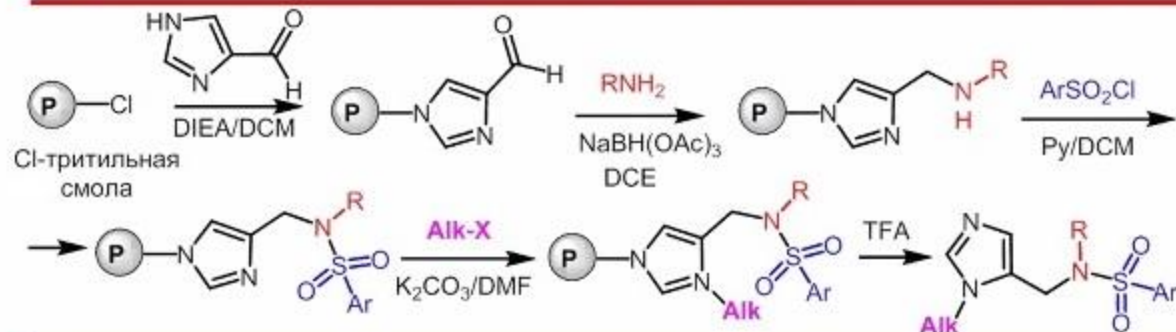
#### Расщепление

HF/PhOMe; MsOH/PhOMe

#### Иммобилизация/Расщепление



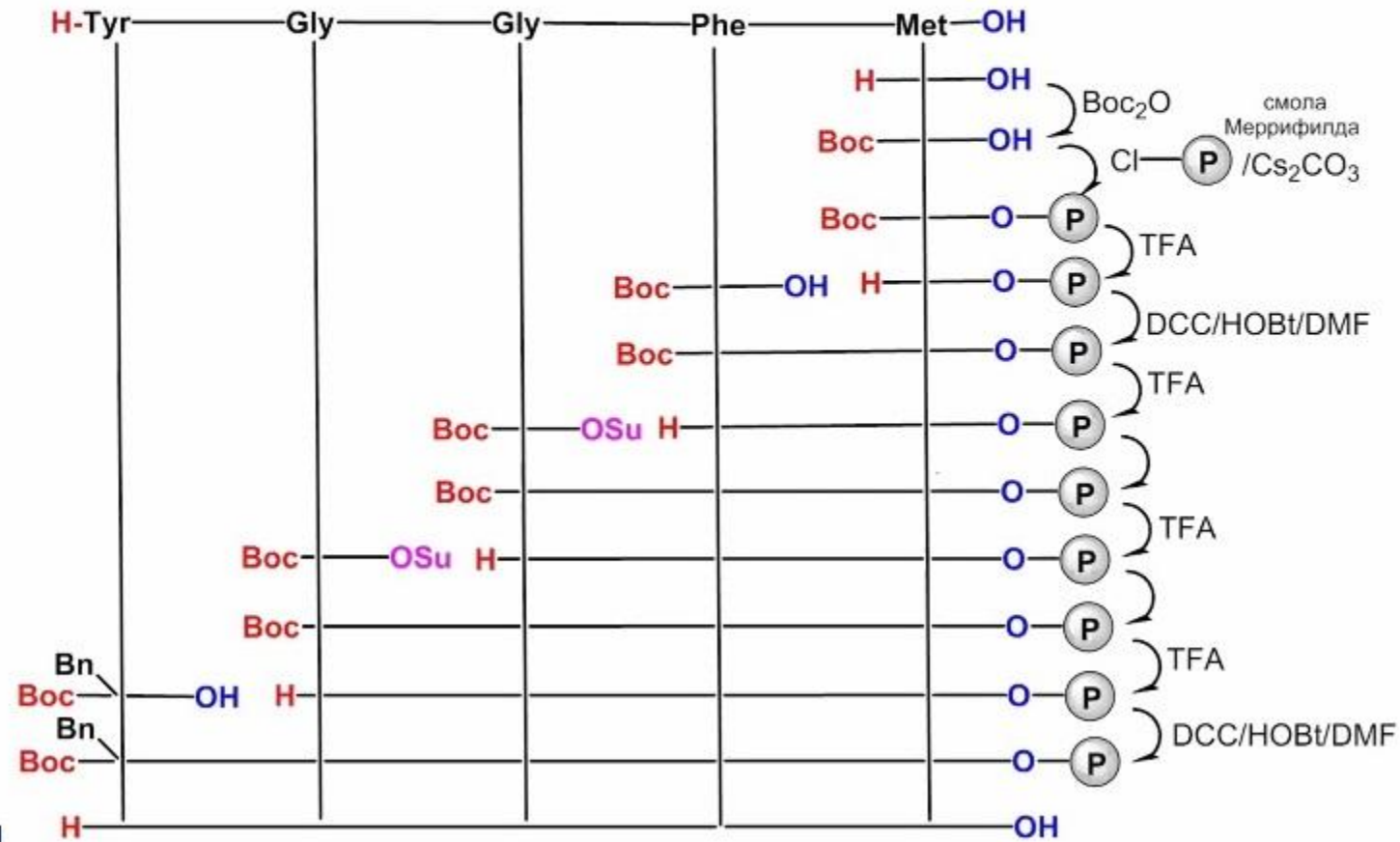
## Применение SPS-матриц в комбинаторной химии



# 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