

# Festphasenpeptidsynthese und kombinatorische Bibliotheken

**Christoph Dräger**  
**20.06.2011**

Institut für Organische Chemie – Seminar zum Fortgeschrittenenpraktikum

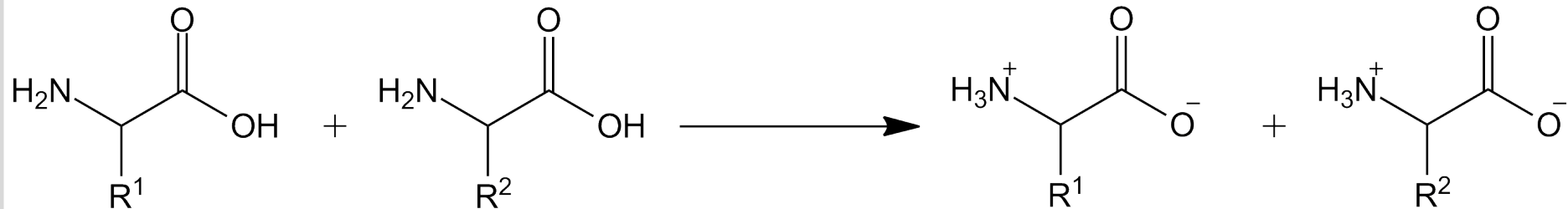


# Inhalt

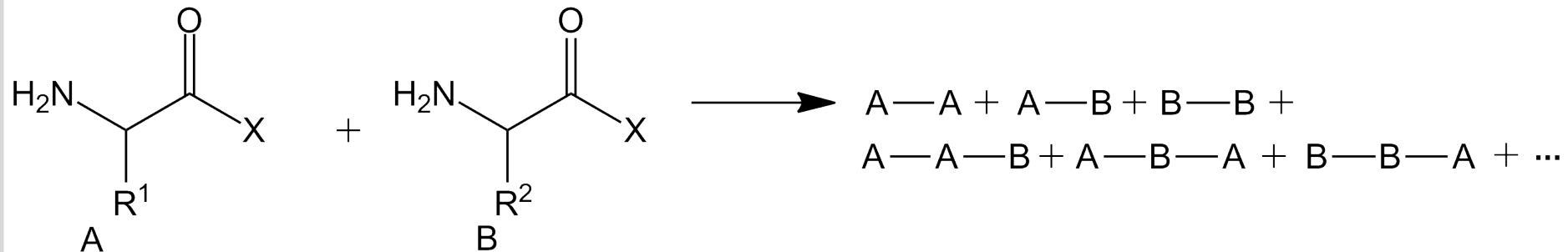
- Rückblick
- Das Problem der Racemisierung/Epimerisierung
- Die Festphasenpeptidsynthese
- Allgemeine Vorteile/Nachteile
- Schutzgruppenkonzepte
- Festphasen
- Was beinhaltet die kombinatorische Chemie
- „Split and Mix“-Verfahren
- Neuere Methoden und Entwicklungen

# Problematik der Peptidsynthese

- Unaktivierte AS reagieren unter Salzbildung

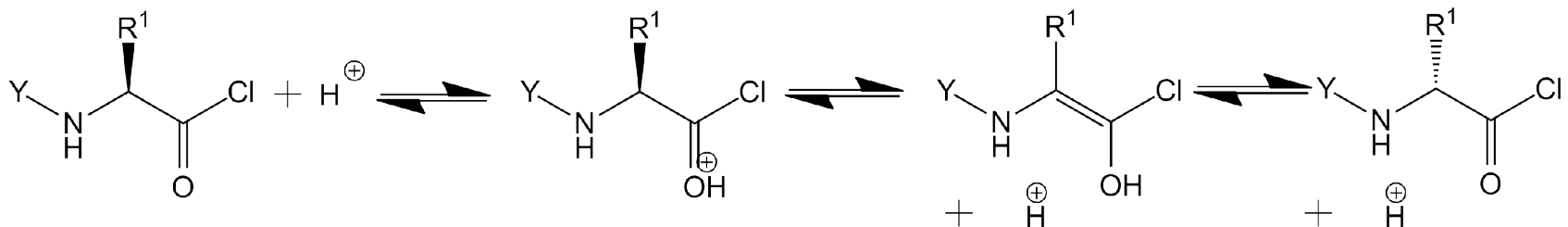
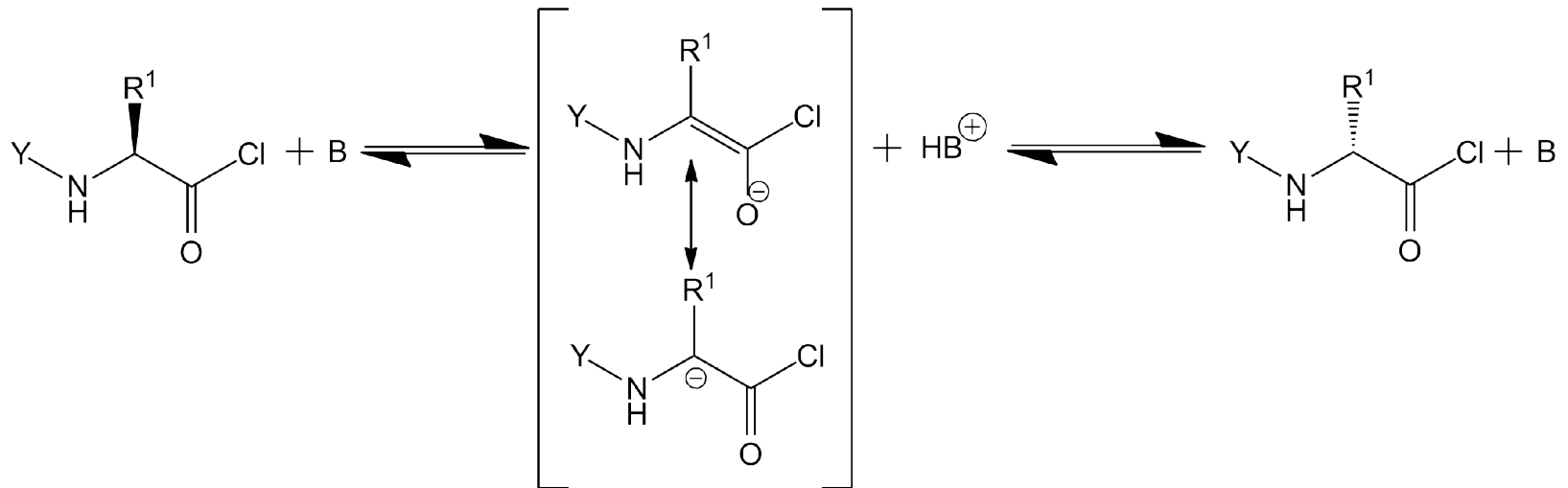


- Stark aktivierte AS reagieren unkontrollierbar



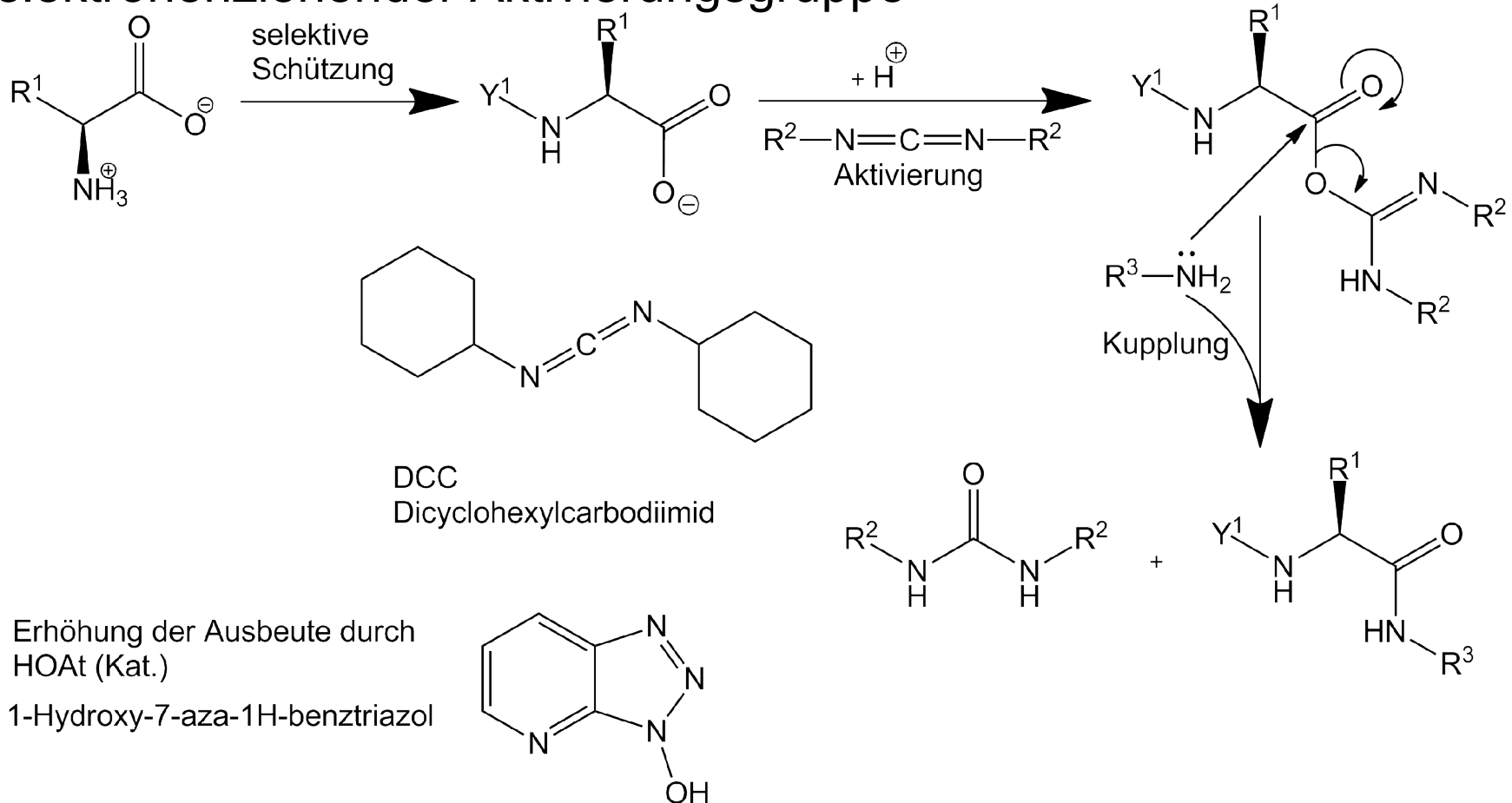
# Racemisierung/Epimerisierung

- Säurechloride neigen zur Epimerisierung bei Peptidkupplungen
- Stabilisierung durch -I-Effekt des Cl-Atoms



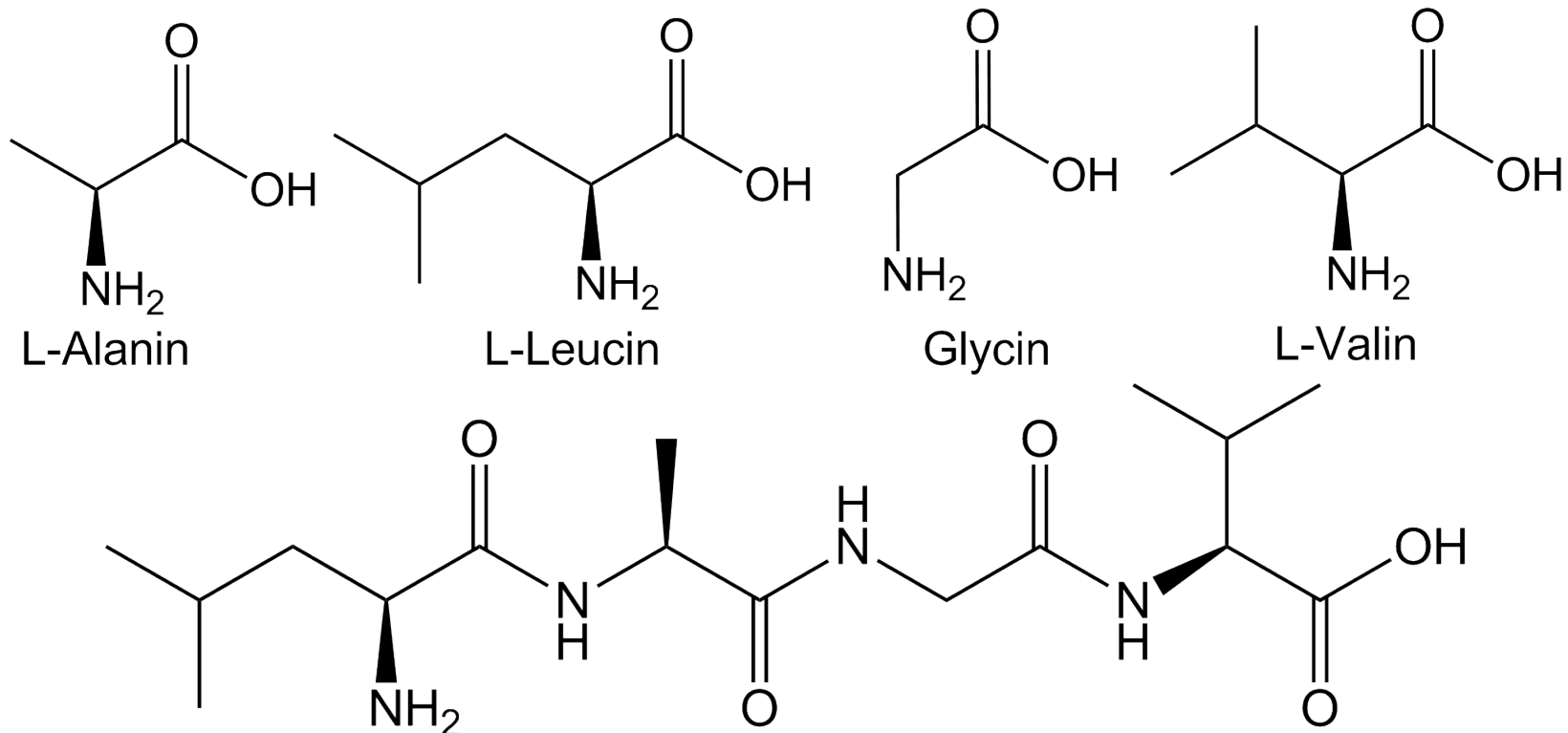
# Vermeidung der Epimerisierung

- Vermeidung der Enolatbildung durch Verwendung weniger elektronenziehender Aktivierungsgruppe



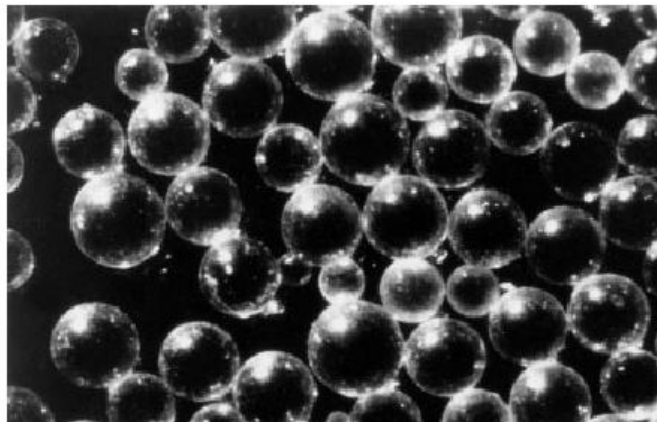
# Entwicklung

- Erste Publikation von R. B. Merrifield am 20.07.1963 „Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide“ zum Aufbau von L-Leu-L-Ala-Gly-L-Valin
- Nobelpreis 1984



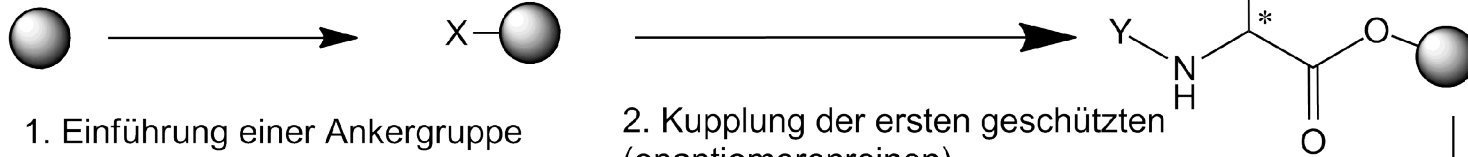
# Was bedeutet Festphasensynthese?

- › Ausgangsstoffe werden an feste Phase gekuppelt
- › Peptidketten werden am Harz (feste Phase) aufgebaut
- › Mehrstufige Synthesen durch Eintauchen in verschiedene Reaktionslösungen
- › Leichte Abtrennung durch Entfernung der Reaktionslösung und Abspülen des Harzes
- › Überschuss an Reagenzien einsetzbar durch leichte Abtrennbarkeit → höherer Umsatz

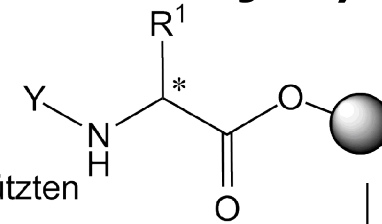


# Schematischer Ablauf einer Festphasenpeptidsynthese (Merrifield-Syn.)

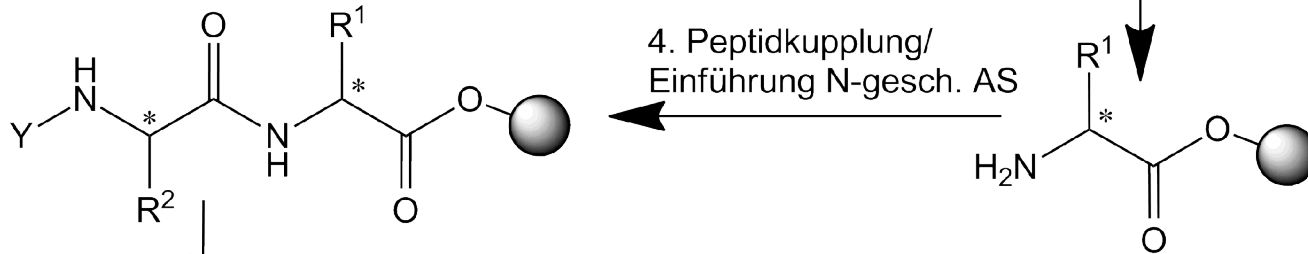
Polymer



2. Kupplung der ersten geschützten (enantiomerenreinen) Aminosäure durch Veresterung

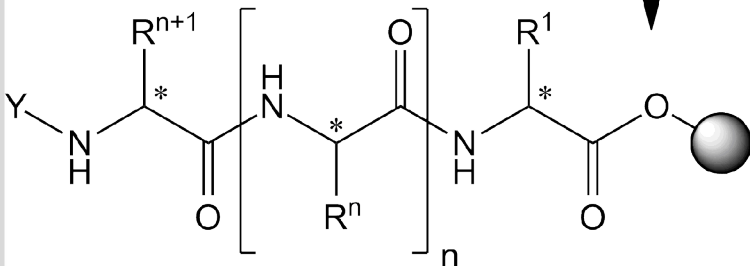
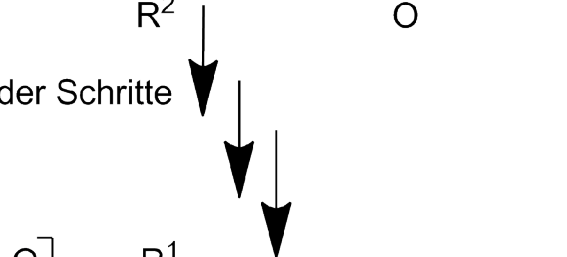


3. Selektive Entschützung der Aminfunktion

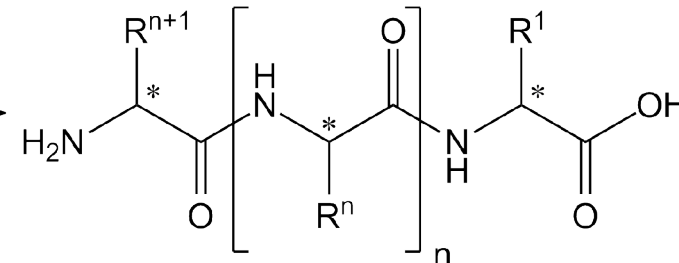


4. Peptidkupplung/ Einführung N-gesch. AS

5. Wiederholung der Schritte 3 und 4



6. Abspaltung aller Schutzgruppen und des Polymers





# Vorteile und Nachteile der SPPS

## Vorteile:

- Leichte Abtrennung der Edukte
- Automatisierbar
- Hohe Reinheit und Ausbeute
- Schneller als Synthese in flüssiger Phase
- Erstellung von Bibliotheken

## Nachteile:

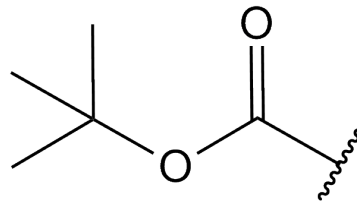
- Kupplungen und Entschützungen nicht immer quantitativ
- Hohe Reinheit der Edukte erforderlich
- Vollständigkeit schwierig zu verfolgen (über NMR usw.)
- Abtrennung vom Harz z. T. unter „drastischen“ Bedingungen
- Überschuss auch von aufwendigen Verb. nötig

# Häufig verwendete Schutzgruppen

- Schutzgruppen wichtig, um gewollte Sequenzen zu gewährleisten
- Unterteilung in temporäre und permanente Schutzgruppen
- Temporäre Schutzgruppen werden in Reaktion abgespalten

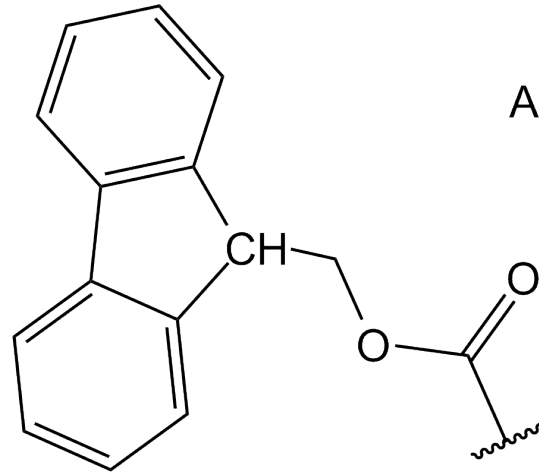
## temporäre Aminschutzgruppen:

Boc-Gruppe



Abspaltung durch TFA,  
TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>...

Fmoc-Gruppe



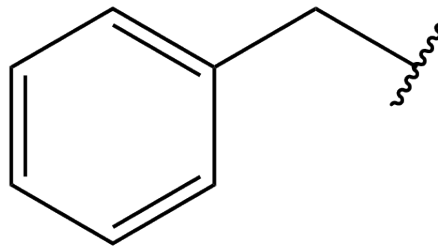
Abspaltung: Piperidin, DBU, NH<sub>3</sub>, ...

# Häufig verwendete Schutzgruppen

- Permanente Schutzgruppen (für Seitenketten) abhängig vom verwendeten Schutzgruppenprotokoll (Orthogonalität)
- Werden erst am Ende der Synthese abgespalten

Boc-Protokoll:

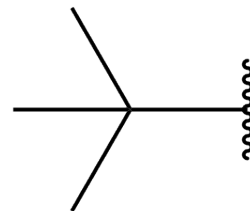
Benzyl-Gruppe (Bzl)



Abspaltung: HF

Fmoc-Protokoll:

tert-Butyl-Gruppe



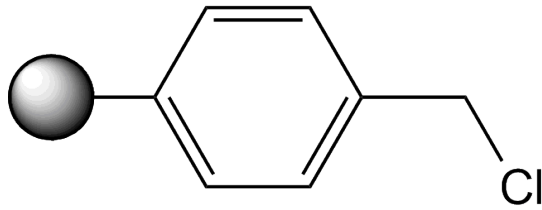
Abspaltung: TFA

- Geschützt werden müssen auch: Ser, Tyr, Thr (OH), Asp, Glu (COOH), Lys (Amin), Cys (SH)...

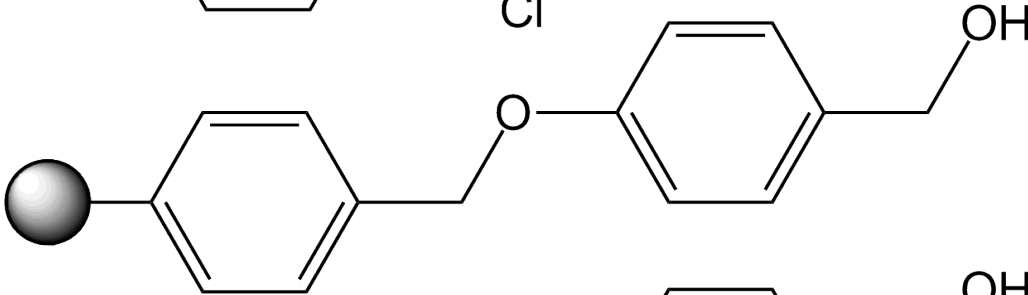
# Eigenschaften der festen Phase

- Muss chemisch inert sein
- Muss quellfähig sein (Durchdringung mit Reagenzien!)
- Ankergruppe muss einführbar sein und auf die Synthesestrategie abgestimmt sein (Schutzgruppentaktik!)
- Mechanisch stabil (bei Filtration/Zentrifugation, Vortex usw)

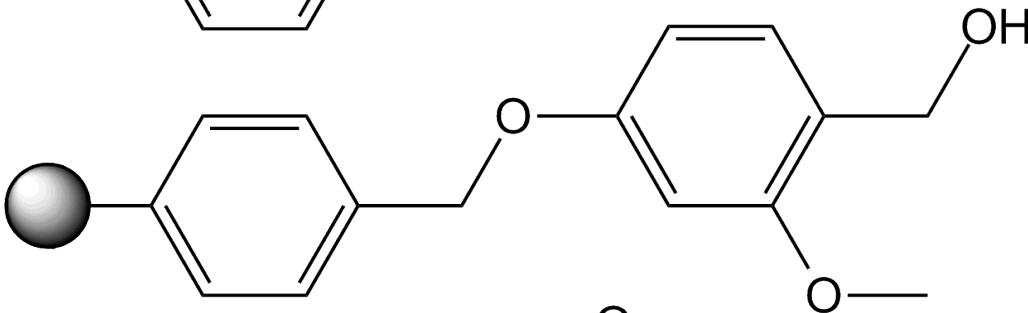
# Beispiele für Polymerharze



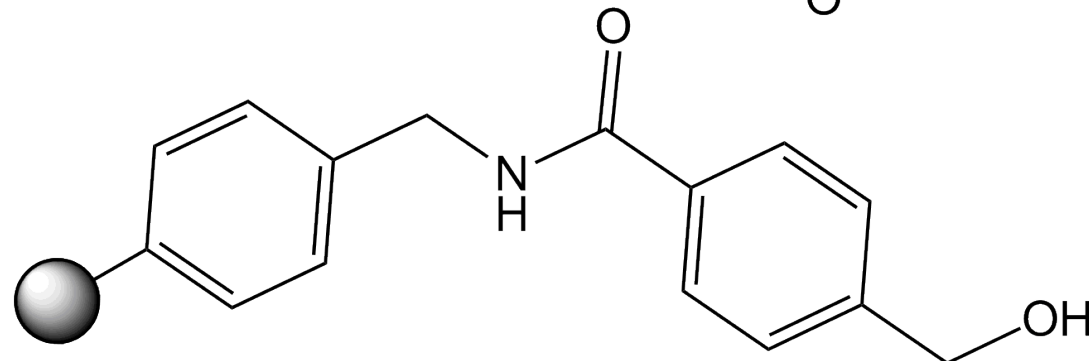
Merrifield-Harz



Wang-Harz



Sasrin-Harz (super acid-sensitive resin)



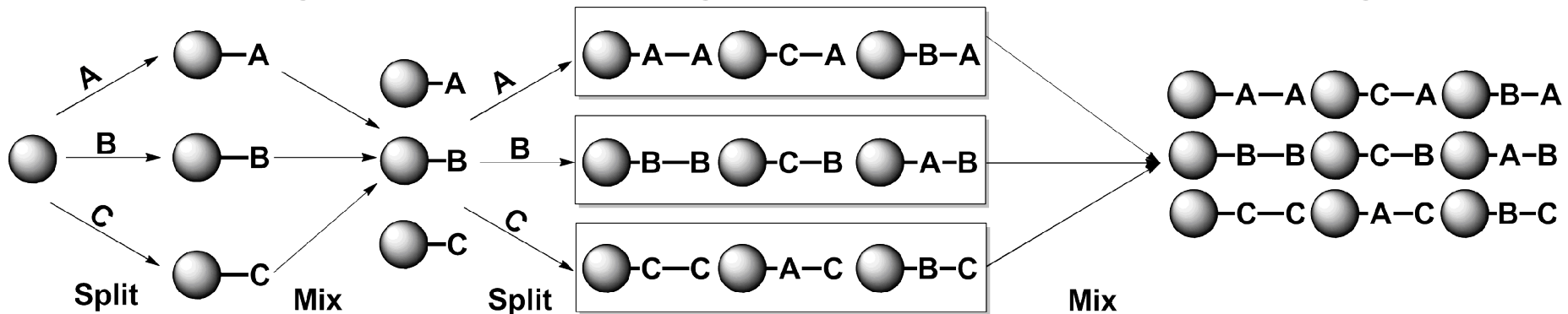
HMBA-Harz  
(Hydroxymethylbenzoic acid)

# Was beinhaltet kombinatorische Chemie?

- Präparative Chemie
- Virtuelle Synthese (library design, Computersimulationen)
- Kombinierung chemischer Bausteine in allen Permutationen
- **Ziel:** möglichst schnell möglichst viele ähnliche/unterschiedliche Moleküle zu erzeugen oder allgemein:
  - Synthese aller möglichen Permutationen in einem System
- Testsysteme der Pharmaforschung können mehr als  $10^5$  Verbindungen pro Tag testen → viele Verbindungen notwendig
- Auffindung neuer Leitstrukturen/Epitrope/Polymere/etc...

# Split-Synthese an der festen Phase

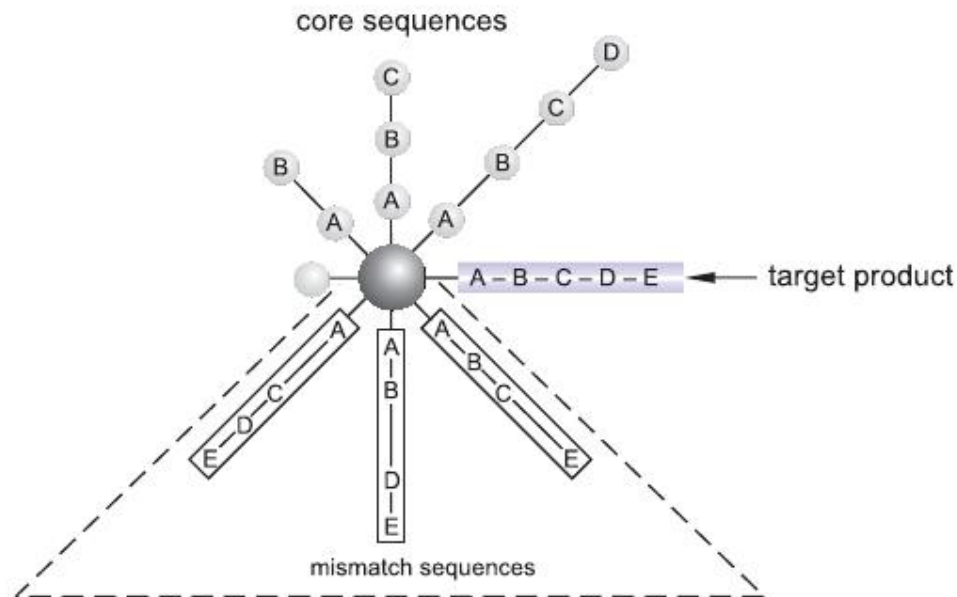
- Ziel: festphasengebundene Substanzbibliothek
- Unterschiedliche Kügelchen enthalten unterschiedliche Verbindungen, aber pro Kügelchen nur eine Verbindung



Monomer	Dimer	Trimer	Tetramer	Pentamer
20	400	8.000	160.000	3.200.000
19	361	6.859	130.321	2.476.039

# ... Vorausgesetzt die Synthese ist quantitativ

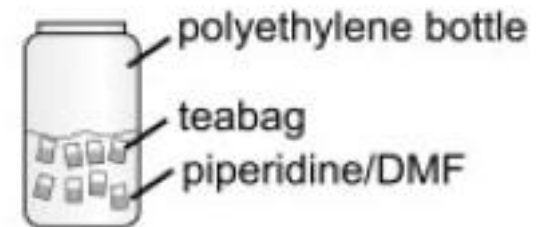
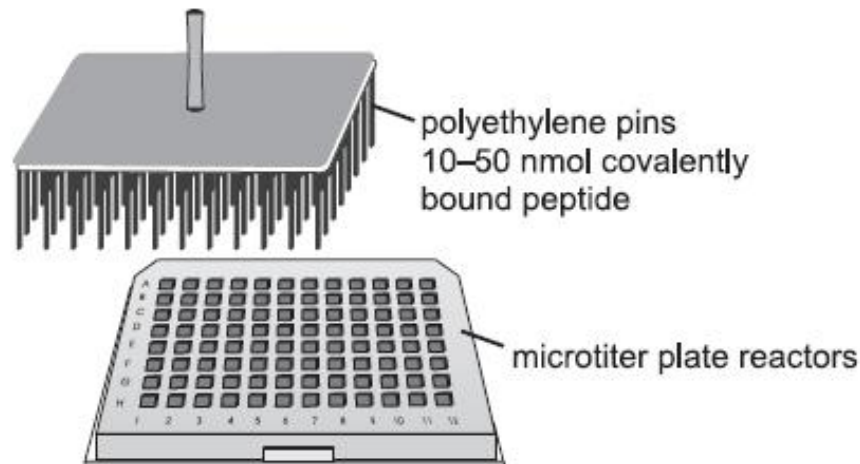
- Zur besseren Rückverfolgung der Substanz, muss die Synthese in **jedem** Schritt quantitativ sein (Dekonvolution!)





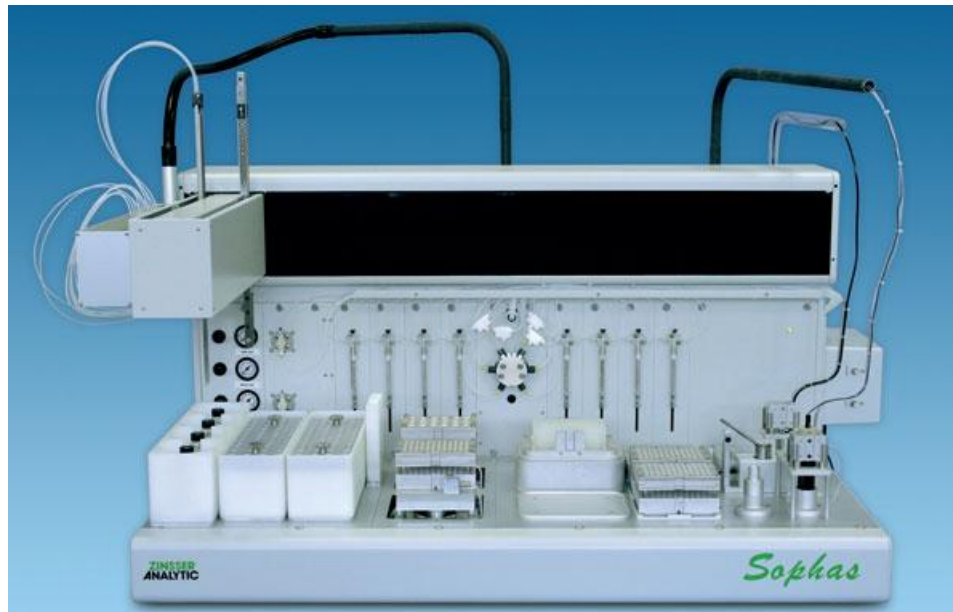
# Verschiedene Methoden

- Merrifield-Methode (solid-phase peptide synthesis, SPPS)
- Tea-Bags
- Lösliche Harze (liquide-phase peptide synthesis)
- Multipin Synthesis
- Hauptaugenmerk: Rückverfolgbarkeit der Synthese (wo ist was drinn?)



# Neuere Entwicklungen

- › Entwicklung neuer Methoden und Polymere
- › Entwicklung komplexerer Schutzgruppentaktiken
- › Stetig steigendes Interesse aus Wirtschaft und Forschung
- › Großer Einsatz bei Entwicklung von Arzneimitteln (Kombinatorische Chemie)
- › Mittlerweile vollautomatische Geräte mit Mikrowellentechnik verfügbar



# Literatur

- 1) H.-D. Jakubke, *Peptides: Chemistry and Biology*, 1. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2002**.
- 2) R. B. Merrifield, *J. Am. Chem Soc.* **1963**, 85, 2149-2154.
- 3) R. Brückner, *Reaktionsmechanismen: Organische Reaktionen, Stereochemie, moderne Synthesemethoden*, 3. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2004**.
- 4) <http://www.roempp.com/prod/> (06.06.2011)