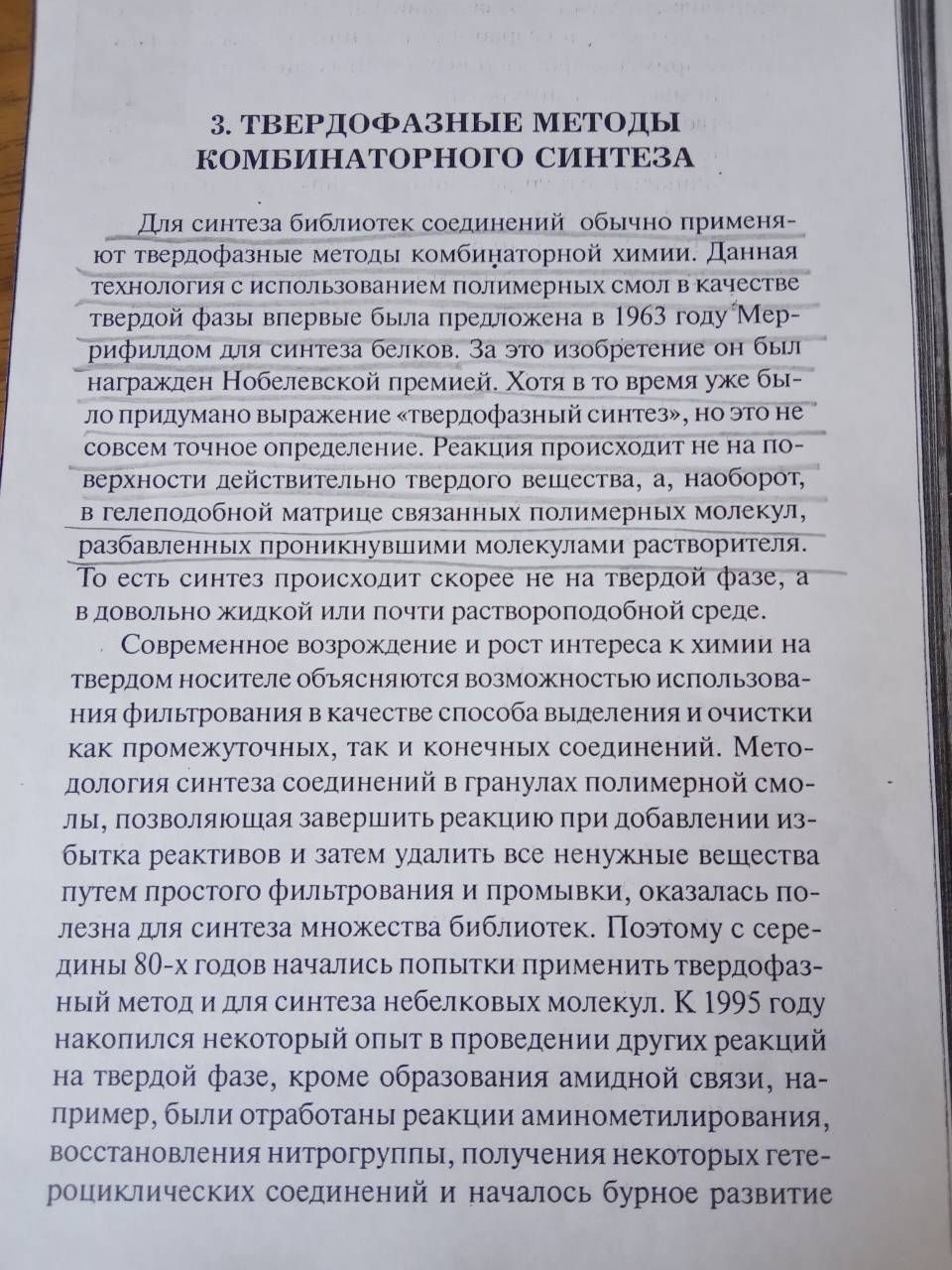
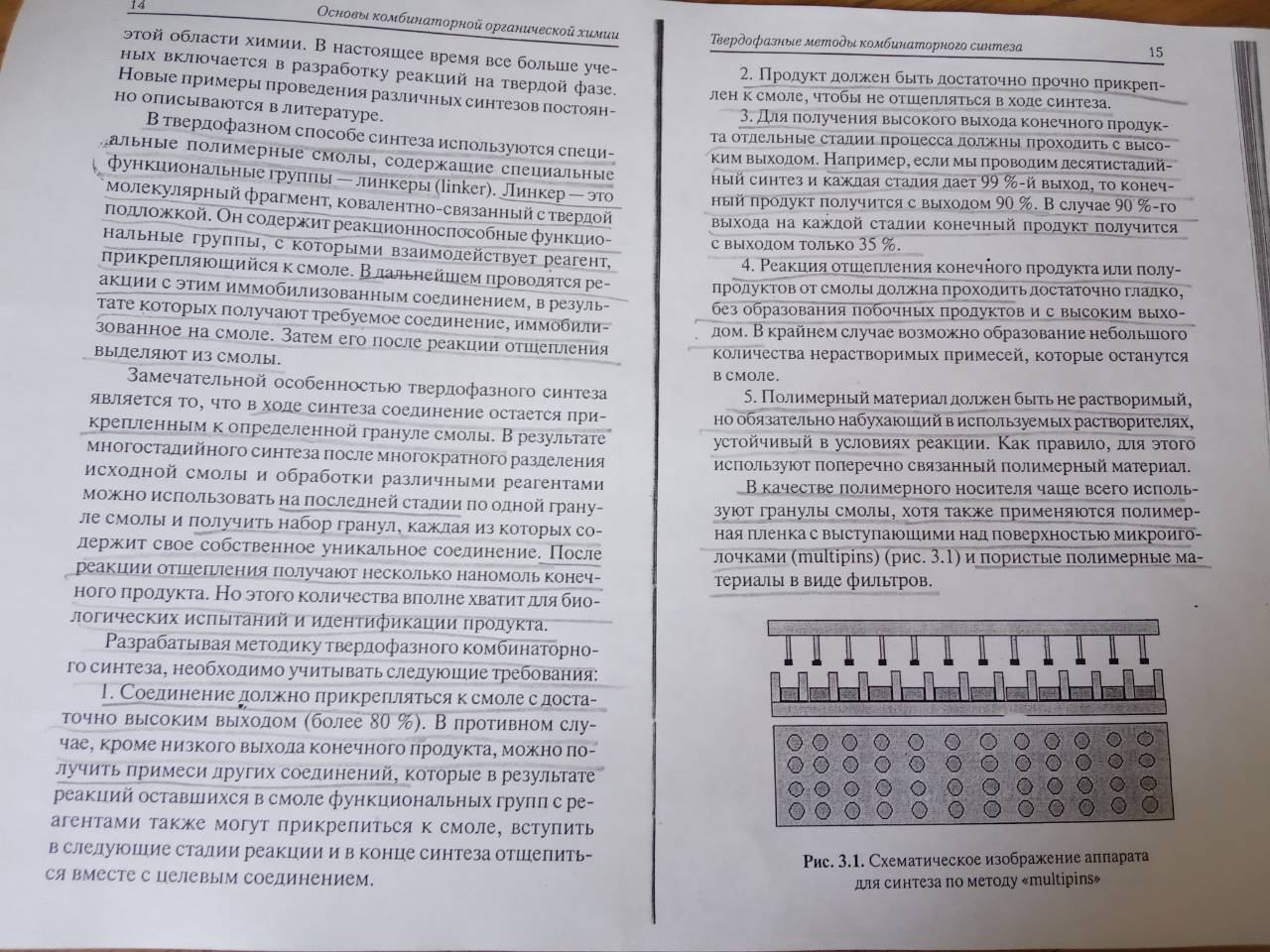
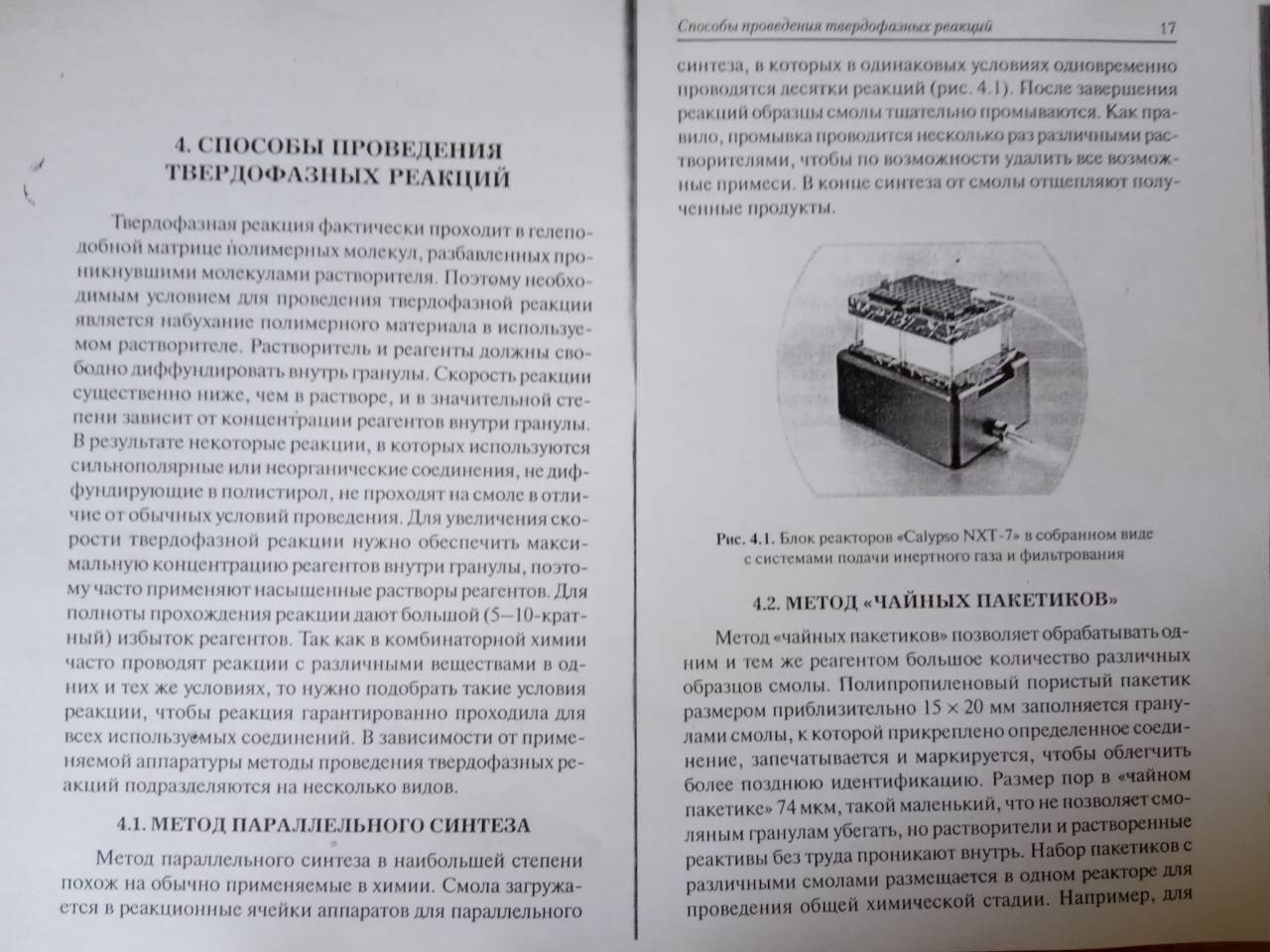
**Тема: Твердофазні методи комбінаторного синтезу.**

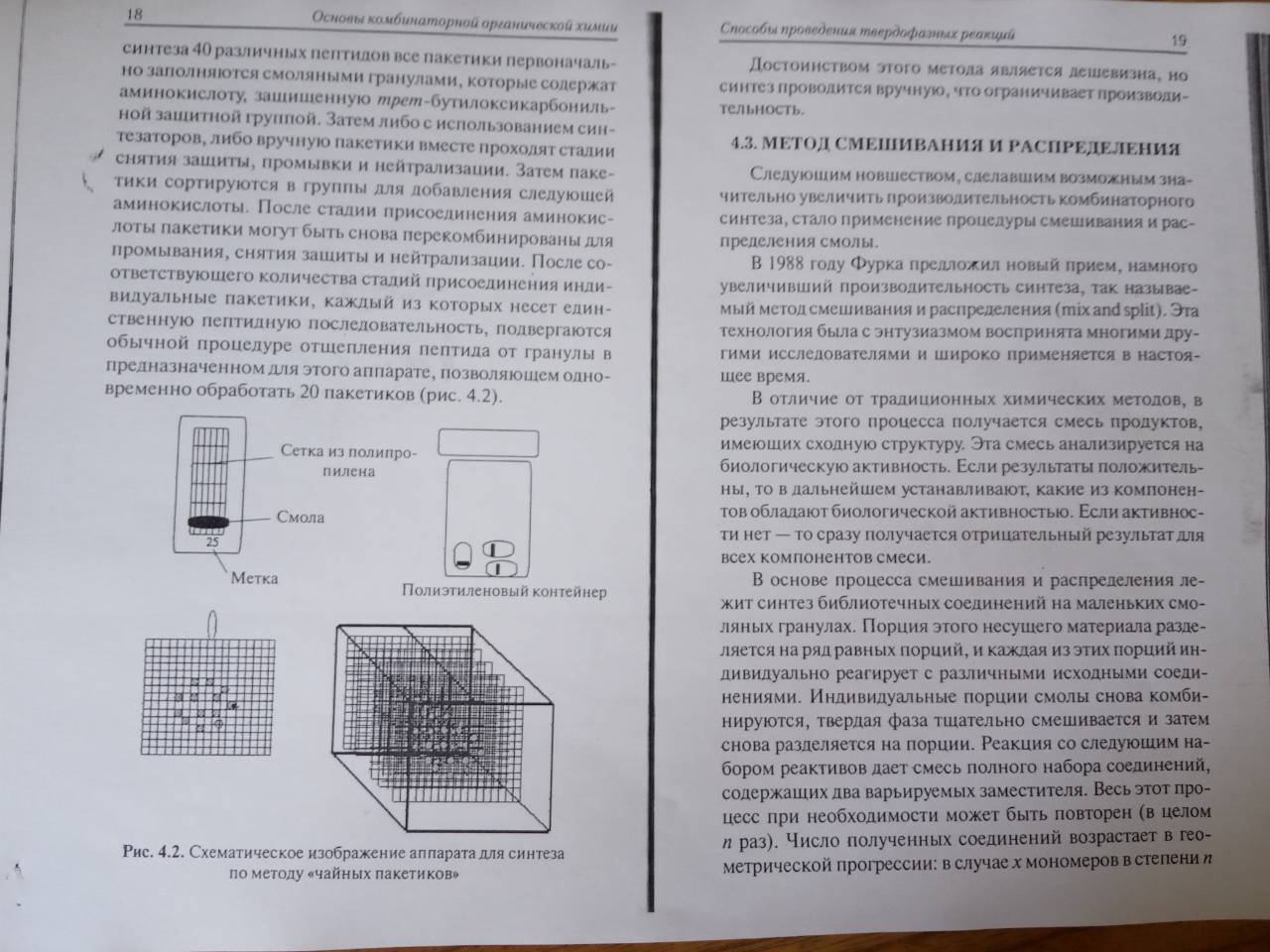
План

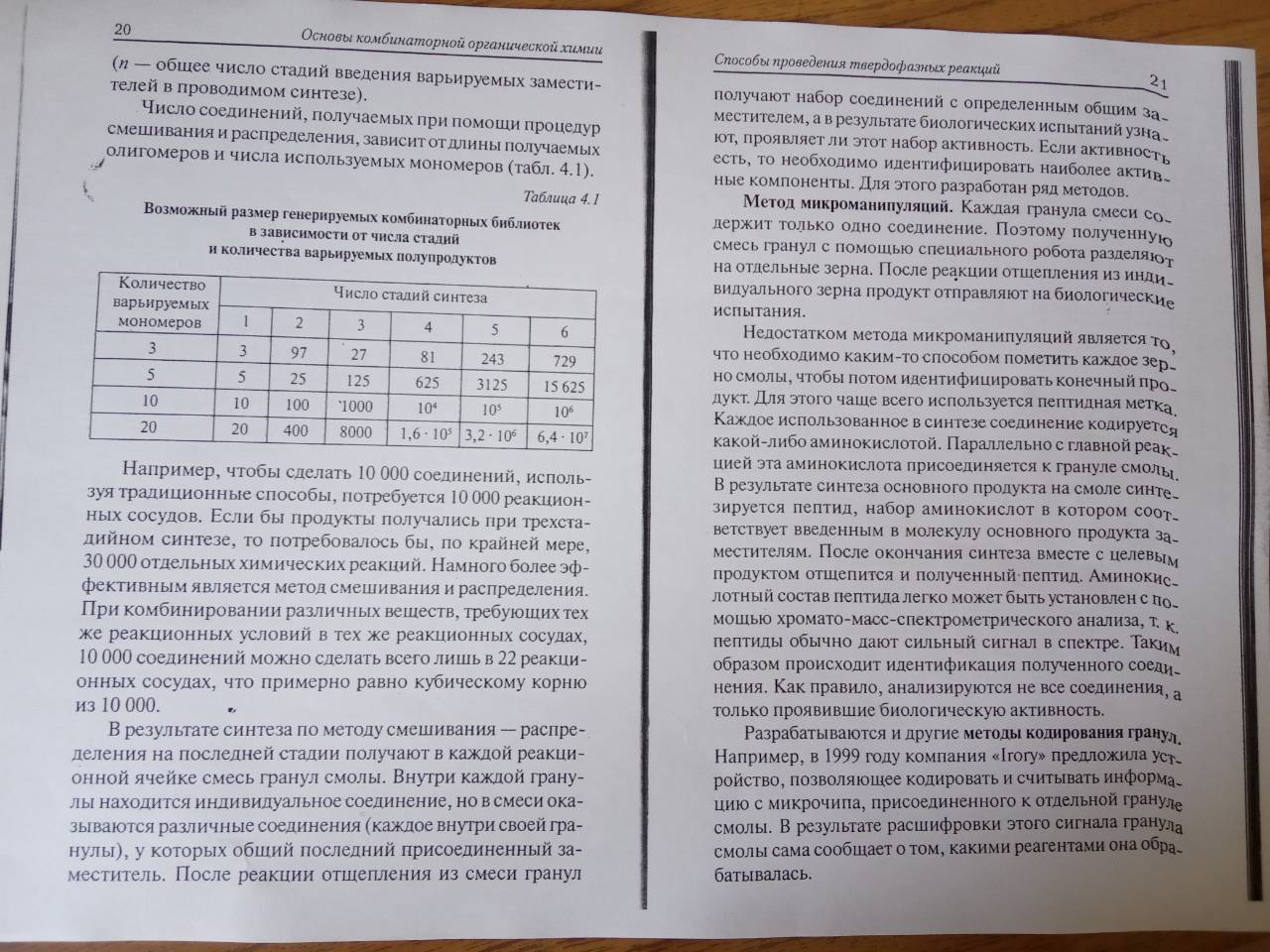
1. Твердофазний синтез. Вимоги.
2. Способи проведення твердофазних реакцій.
3. Лінкери. Класифікація.

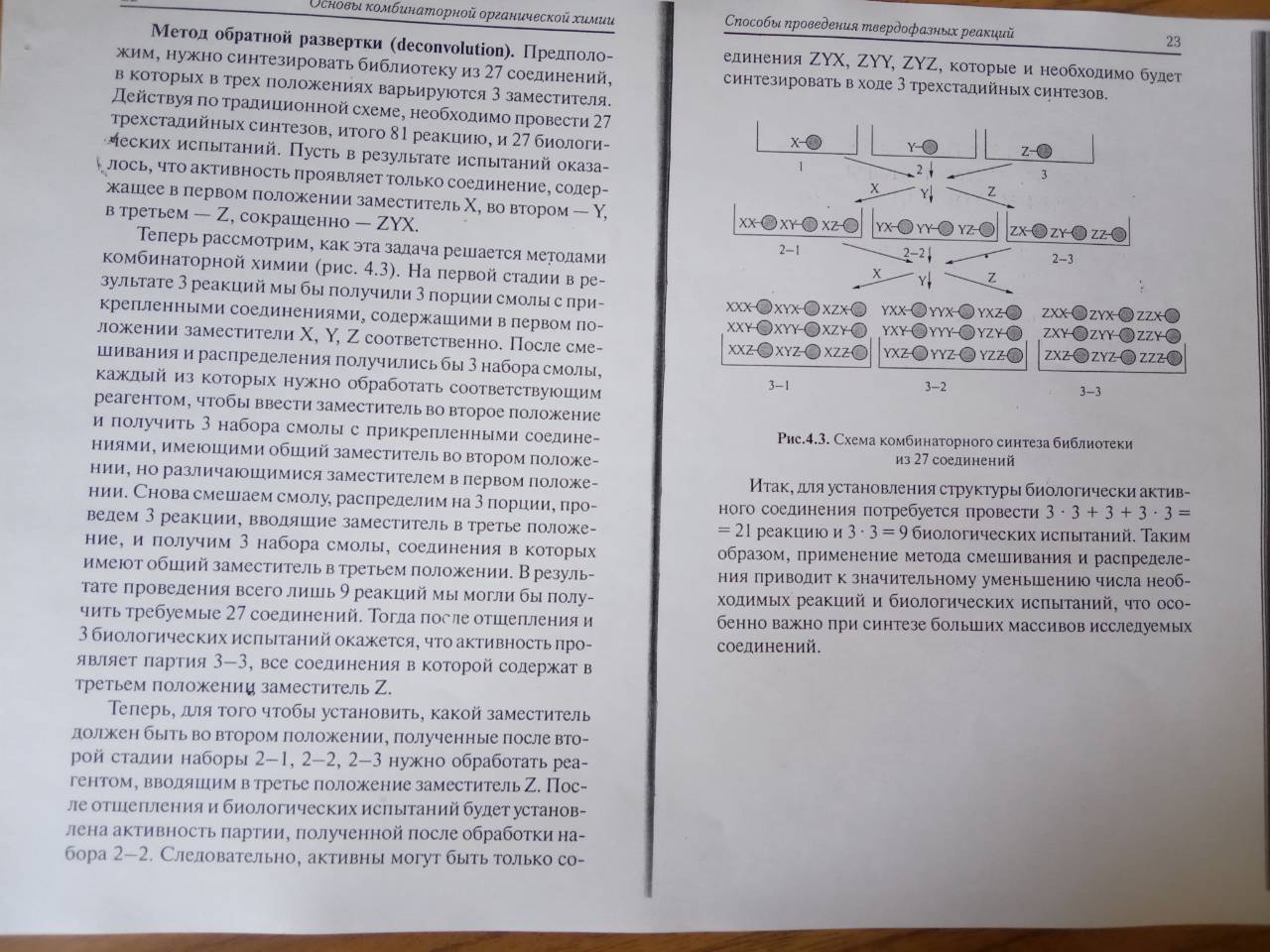








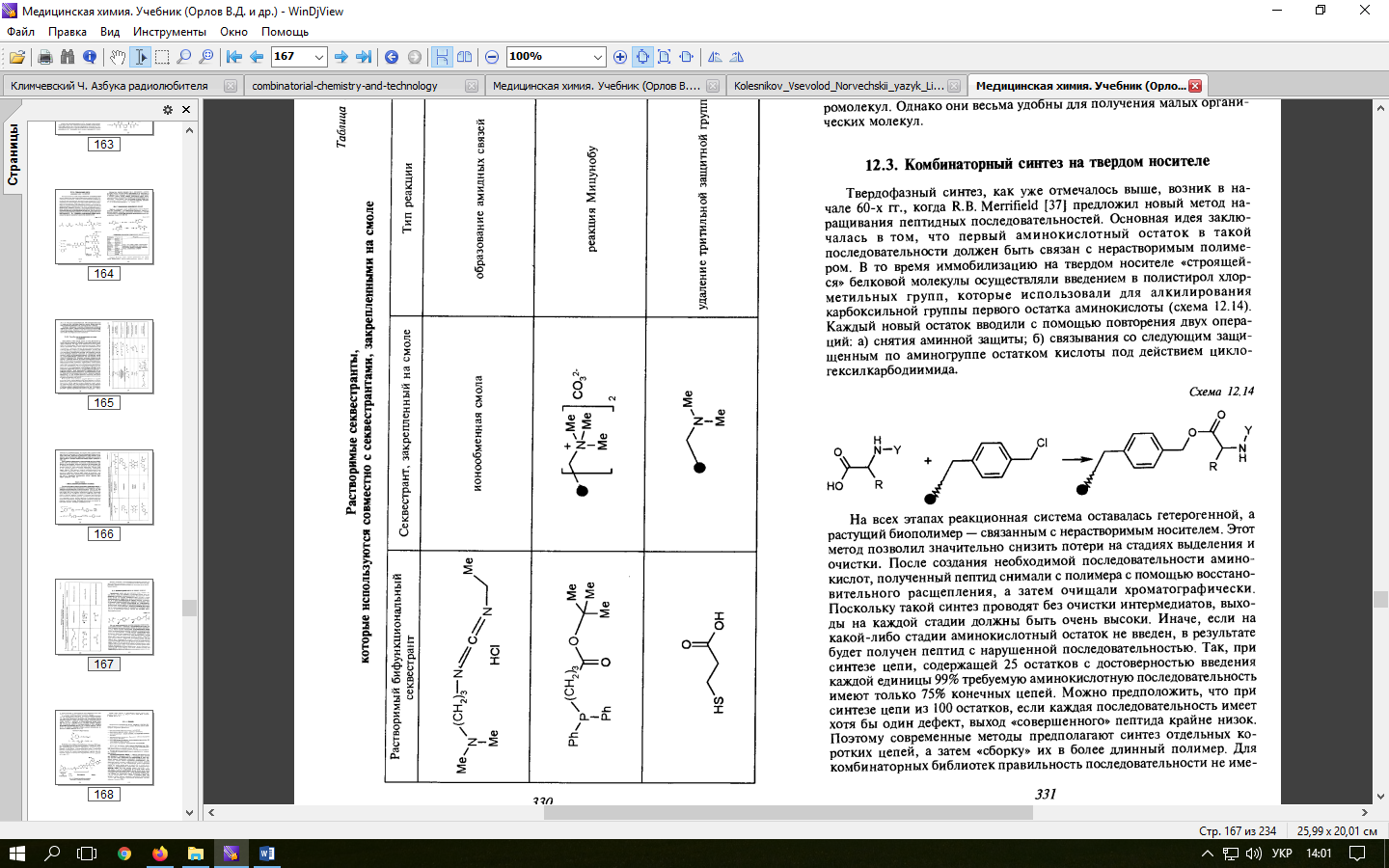




Твердофазный синтез, как уже отмечалось выше, возник в начале 60-х гг., когда R.B. Merrifield предложил новый метод наращивания пептидных последовательностей. Основная идея заключалась в том, что первый аминокислотный остаток в такой последовательности должен быть связан с нерастворимым полимером В то время иммобилизацию на твердом носителе «строящейся» белковой молекулы осуществляли введением в полистирол хлор-

метильных групп, которые использовали для алкилирования карбоксильной группы первого остатка аминокислоты (схема 1). Каждый новый остаток вводили с помощью повторения двух операций: а) снятия аминной защиты; б) связывания со следующим защищенным по аминогруппе остатком кислоты под действием циклогексилкарбодиимида.

Схема 1



На всех этапах реакционная система оставалась гетерогенной, а растущий биополимер - связанным с нерастворимым носителем. Этот метод позволил значительно снизить потери на стадиях выделения и очистки. После создания необходимой последовательности аминокислот, полученный пептид снимали с полимера с помощью восстановительного расщепления, а затем очищали хроматографически. Поскольку такой синтез проводят без очистки интермедиатов,

выходы на каждой стадии должны быть очень высоки. Иначе, если на какой-либо стадии аминокислотный остаток не введен, в результате будет получен пептид с нарушенной последовательностью. Так, при синтезе цепи, содержащей 25 остатков с достоверностью введения каждой единицы 99% требуемую аминокислотную последовательность имеют только 75% конечных цепей. Можно предположить, что при синтезе цепи из 100 остатков, если каждая последовательность имеет хотя бы один дефект, выход «совершенного» пептида крайне низок. Поэтому современные методы предполагают синтез отдельных коротких цепей, а затем «сборку» их в более длинный полимер. Для комбинаторных библиотек правильность последовательности не имеет такого значения, т.к. распознавание часто проводится после На всех этапах реакционная система оставалась гетерогенной, а растущий биополимер - связанным с нерастворимым носителем. Этот метод позволил значительно снизить потери на стадиях выделения и очистки. После создания необходимой последовательности аминокислот, полученный пептид снимали с полимера с помощью восстановительного расщепления, а затем очищали хроматографически. Поскольку такой синтез проводят без очистки интермедиатов,

выходы на каждой стадии должны быть очень высоки. Иначе, если на какой-либо стадии аминокислотный остаток не введен, в результате будет получен пептид с нарушенной последовательностью. Так, при синтезе цепи, содержащей 25 остатков с достоверностью введения каждой единицы 99% требуемую аминокислотную последовательность имеют только 75% конечных цепей. Можно предположить, что при синтезе цепи из 100 остатков, если каждая последовательность имеет хотя бы один дефект, выход «совершенного» пептида крайне низок. Поэтому современные методы предполагают синтез отдельных коротких цепей, а затем «сборку» их в более длинный полимер. Для комбинаторных библиотек правильность последовательности не имеет такого значения, т.к. распознавание часто проводится после скрининга, когда уже отобраны наиболее активные образцы.

В настоящее время существуют достаточно широкие возможности для твердофазного синтеза малых молекул. Главное достижение в развитии полимерных материалов для твердофазного синтеза связано с именами Е. Bayer и W. Rapp, которые создали TentaGel™ (Rapp Polymer) — привитой на полистирольную основу полимер ПЭГ (12.10). В середине 80-х гг. он нашел широкое применение в пептидном синтезе. В настоящее время из этого материала изготовляют мельчайшие гранулы (до 136 мкм в диаметре, 106 гранул/г), на которых и проводят «сборку» молекул органических веществ из соответствующих ВВ.



Полистирольная матрица является базовым полимером. ПЭГ-фрагмент выполняет роль линкера между матрицей и следующим линкером, удерживающим на носителе «строящуюся» целевую молекулу. Прогресс в этой области в значительной мере связан с появлением большого разнообразия линкеров, пригодных для синтеза как пептидных молекул, так и малых лекарствоподобных структур. Вид конструкции, полученной в результате твердофазного синтеза,

представлен на рис. 1.



Кроме Rapp Polymer, в твердофазном синтезе нашли применение такие смолы, как Affymax, Dowex 50W, Rink полимер и многие др.

Направление в твердофазном синтезе, связанное с поиском линкеров, возникло из химии защитных групп. Линкеры должны удовлетворять следующим требованиям:

— быть доступными (простота синтеза и дешевизна);

— обеспечивать надежную связь с привитым полимером;

— легко расщепляться в мягких условиях, не затрагивая основную

молекулу;

— при расщеплении не допускать образования побочных продуктов

(«бесследные линкеры»);

— быть пригодными для синтеза с использованием самых разных ВВ

и для широкого набора реакций;

— обеспечивать возможность многократного использования.

Кроме того, желательно, чтобы линкеры имели структуру, существенным образом не влияющую на спектральный мониторинг реакций, происходящих на твердом носителе. Линкеры принято классифицировать по способу расщепления связи, с помощью которой целевой продукт закрепляется на полимерном носителе.

Кислотно-расщепляемые линкеры — наиболее распространенный вид линкеров в пептидном синтезе. В настоящее время данный вид линкеров нашел применение для закрепления на смоле различных классов органических соединений: бенздиазепинов, аминотиазолов, спиртов, амидов, производных гидроксамовой и карбаминовой кислот, мочевин, сульфонилмочевин, аминов, амидинов и сульфамидов. При планировании синтеза необходимо учесть, что сильно кислая среда на какой-либо из стадий может привести к преждевременному отщеплению еще «недостроенного» вещества. Кроме того, если целевой продукт неустойчив в кислой среде, то для его закрепления на носителе также нельзя

использовать кислотно-расщепляемый линкер. Долгое время самым популярным был предложенный G.T. Wang и-оксибензиловый линкер. J. Ellman для закрепления спиртов использовал тетрагидропирановый линкер (схема 12.15), который в настоящее время применяют в синтезе пуринов, тетразолов, производных гидроксамовой кислоты. Расщепление осуществляют воздействием трифторуксусной кислоты (ТФУ).

