

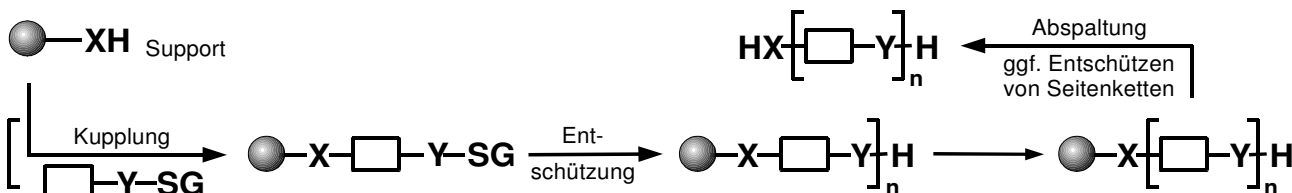
Handout zum Vortrag

Träger für die Festphasensynthese

im Rahmen des Seminars zum OC-F-Praktikums

1. Konzepte der Festphasensynthese

- Edukt ist kovalent an einen im Lösungsmittel meist unlöslichen Träger („resin“ oder „support“), der oft in Form von Kugeln („beads“) vorliegt, gebunden
- Bindung kann direkt erfolgen oder über spezielle Linker
- Reaktion erfolgt nach Zugabe der Reagenzien in Lösung
- Reinigung durch Abfiltrieren des Lösungsmittels mit Reagenzien und Spülen
- Zum Schluss Abspaltung („cleavage“) des Produkts
- Meist Aufquellen („swelling“) des Harzes im Lösungsmittel, wodurch eine Gelphase entsteht, die auch Diffusion in den Träger und Reaktion(en) in dessen Innerem erlaubt

Schema einer Festphasenreaktion:

Zuerst wird das erste Monomer an den Träger gebunden und die Schutzgruppe entfernt. Daran kann sich eine mehrstufige Synthesekette anschließen, wobei zuletzt das Produkt vom Träger gelöst und eventuell verbliebene Schutzgruppen entfernt werden

Synthese in Lösung <ul style="list-style-type: none"> • Aufarbeitung • Abtrennung der Reagenzien • Isolierung und Reinigung • Charakterisierung leichter • Mehrstufen: Wiederholung aller Schritte (va. Reinigung) • Zeitaufwendig 	„Festphasensynthese“ <ul style="list-style-type: none"> • Produkt bleibt an Träger gebunden • Reaktion in „Filterfritte“ • Reinigung durch Waschen • Charakterisierung schwieriger • Wiederholung leicht möglich
Vorteile der Festphasensynthese <ul style="list-style-type: none"> • Produkt einfach zu isolieren • Geringe Verluste • Überschuss verwendbar • Dadurch höhere Ausbeute • Keine aufwendige Reinigung • Weniger intermolekulare Reaktionen • Mehrstufige Synthesen einfach durchzuführen • automatisierbar 	Nachteile der Festphasensynthese <ul style="list-style-type: none"> • Geringe abs. Mengen an Produkt • Hoher Chemikalienverbrauch • Spezielle inerte Träger nötig • Hohe Kosten • Sehr hohe Ausbeuten bei jedem Schritt nötig • Optimierung notwendig • Reaktionskinetik • Charakterisierung schwierig • Nicht alle Reaktionen aus Lösung direkt übertragbar • Evtl. zusätzliche Reaktionsschritte durch Spaltung

2. Träger

Polystyrol-Harz nach Merrifield

R.B. Merrifield (1921-2006): Entwickler der Festphasen-peptidsynthese, hierfür 1984 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet

- Copolymer aus Styrol und 1-2% Divinylbenzol, zunächst chlormethyliert, später mit verschiedenen anderen Linkern
- Gute Quellfähigkeit in Dichlormethan, DMF, THF, Pyridin, nicht quellbar in Diethylether, Methanol, Wasser
- Hydrophob, dadurch Faltung bei längeren Peptidketten und schlechte Weiterreaktion

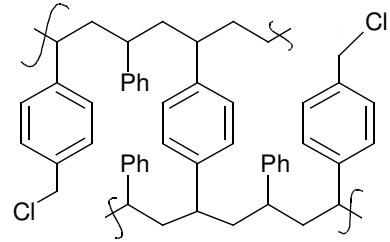
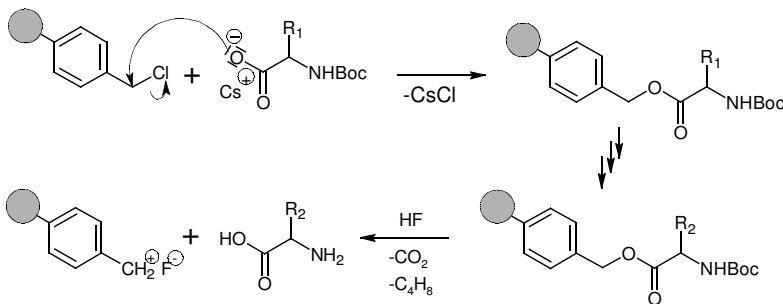


Abbildung 1: Struktur des Merrifield-Harzes



- Verknüpfung Monomer-Harz: Veresterung mit dem Cs-Salz der Aminosäure oder mit speziellen Kupplungsreagenzien
- Abspaltung des Produkts vom Harz mit mittelstarken Säuren (z.B. wasserfreie HF)

Abbildung 2: Beladung und Abspaltung des Merrifield-Harzes

Polyacrylamidharze

- Gute Quellfähigkeit in polaren Lösungsmitteln, schlechte in unpolaren
- hydrophiler als Merrifield-Harz
- Aufgrund Polarität besser für Peptidsynthese geeignet

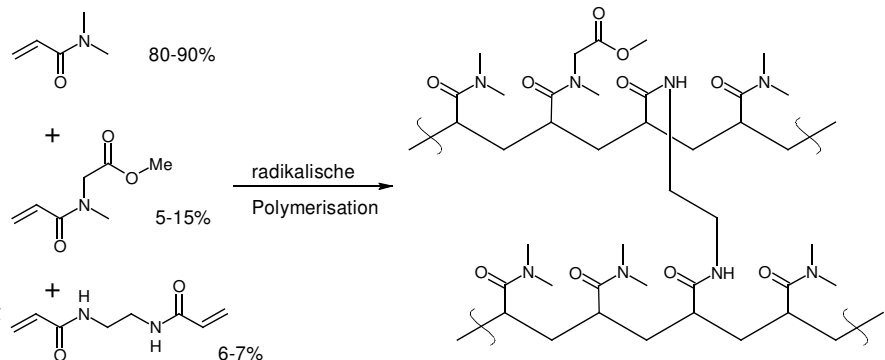


Abbildung 3: Struktur eines Polyacrylamidharzes

TentaGel

- Beispiel für ein Pfropfpolymer: Polyethylenglycol an Polystyrol verankert
- Quellbar in protischen LM, ähnelt THF/Ether als Lösungsmittel
- Hohe Flexibilität durch PEG-„Tentakel“
- Direkte Reaktionskontrolle: NMR in Gelphase
- Geringe Beladbarkeit, teuer

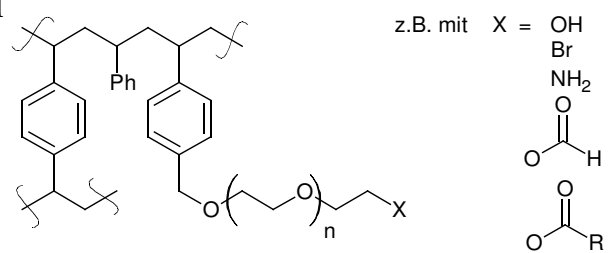


Abbildung 4: Struktur von TentaGel

Wang-Harz

- Meist quervernetztes Polystyrol wie beim Merrifield-Harz als Grundgerüst (dann als Wang-Harz bezeichnet)
- Auch als HMP-Harz bekannt [HMP: (4-Hydroxymethylphenoxy)methyl]
- auch andere Polymergrundgerüste, z.B. Polyacrylamid oder TentaGel mit Wang-Linker
- Bei Peptidsynthese Schutz von Seitenketten per Fmoc

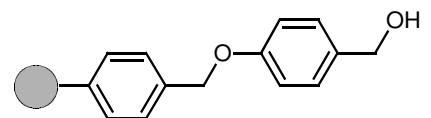


Abbildung 5: Struktur des Wang-Linkers

- Kupplung als Ester
- Abspaltung mit mittelstarken Säuren (z. B. 50% TFA in Dichlormethan):

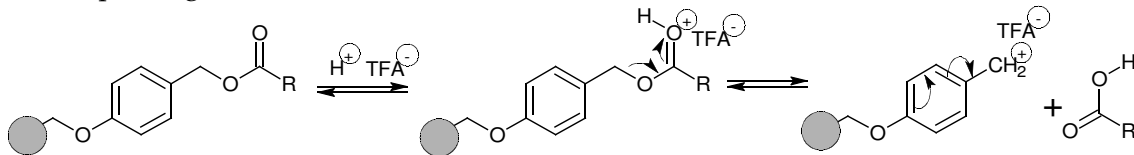


Abbildung 6: Mechanismus der Abspaltung vom Wang-Harz

Variante des Wang-Harzes: Sasrin (Super acid sensitive resin, Methoxy-Gruppe ortho zur OH-Gruppe), wesentlich säurelabiler als der Wang-Linker (Spaltung mit 1% TFA in Dichlormethan)

3. Linker

Linker werden verwendet, um das Substrat stabil an den Träger zu binden und gezielt wieder abspalten zu können. Oft wurde bei der Entwicklung der Linker eine entsprechende Schutzgruppe zum Vorbild genommen.

Rink-Amid-Linker

- Säurelabiler Carbonsäureamid-Linker
- Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mit Piperidin
- Abspaltung des Peptids vom Support mit mittelstarken Säuren (50% TFA in Dichlormethan)
- auch als Säurelinker (mit OR statt NHR-Gruppe) erhältlich

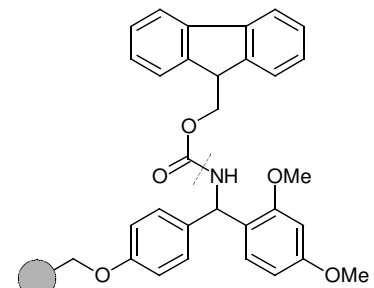


Abbildung 7: Struktur des Rink-Amid-Linkers (Fmoc-geschützt)

Sieber-Linker

- Sterisch weniger gehindert als der Rink-Amid-Linker
- Als säurelabiler Linker für Verwendung von Fmoc-basierter Peptidsynthese entwickelt
- Spaltung mit verd. Säure (1% TFA in Dichlormethan)
- Hinterlässt terminales Amid im Substrat

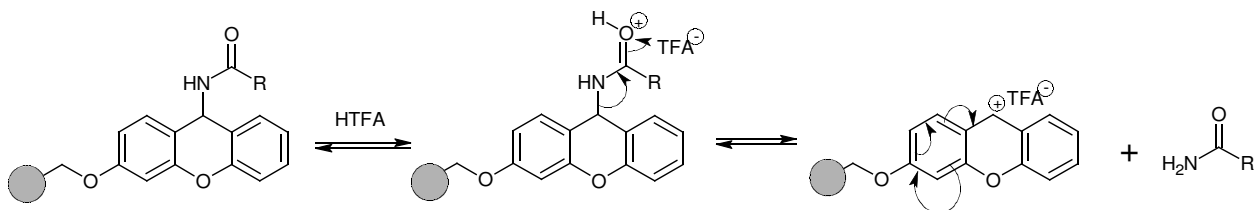


Abbildung 8: Mechanismus der Abspaltung des Produkts vom Sieber-Linker

4. Spezielle Träger

Controlled Pore Glasses CPG

- Poröses Glas mit definierter Porengröße, funktionalisiert mit langkettigen Alkylaminen
- Wichtigster Träger für DNA- und RNA-Synthese

Vorteile:

- Starr, schwillt nicht
- Chemisch stabil von pH1 bis 14, thermisch stabil
- Große unregelmäßig geformte Oberfläche (geringe Verstopfungsgefahr)

Nachteile:

- Geringe Dichte an funktionellen Gruppen
- Polare Oberfläche
- Labil gegenüber Fluorid
- Hohe Kosten

Soluble Supports

- Einsatz löslicher Polymerträger -> „liquid phase synthesis“
 - Soll Vorteile der Synthese in Lösung und der Festphasensynthese verbinden
 - Abtrennung meist durch Ausfällen mit einem Lösungsmittel, in dem der Support unlöslich ist
- Wichtigste Vertreter von soluble supports: unvernetztes Polystyrol (PS), Polyvinylalkohol (PVA) und Polyethylenglycol (PEG)

Probleme:

- Ausfällung nicht immer quantitativ
- Einschluss von Lösungsmittel, dadurch zähflüssige Masse, die die Filter verstopft
- schlecht automatisierbar

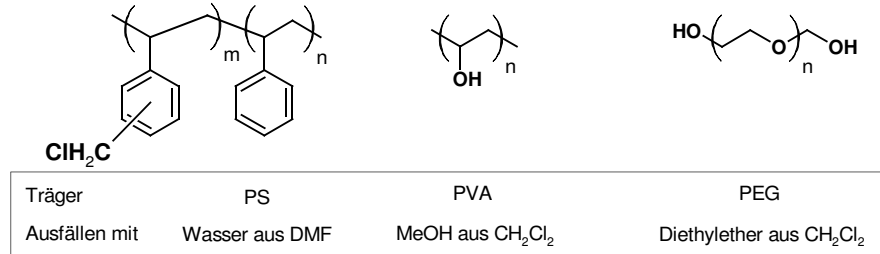


Abbildung 9: Struktur und ausgewählte Fällungsmöglichkeiten einiger löslicher Träger

5. Spezielle Linker

Safety catch linker

- Linkergruppe gegenüber breitem Spektrum an Reaktionsbedingungen inert
- Nach Aktivierungsreaktion ist Produkt unter milden Bedingungen abspaltbar

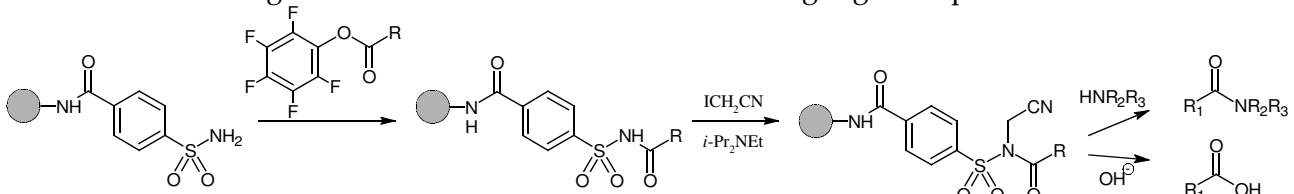


Abbildung 10: Beladung und Abspaltung des Safety-catch-linkers nach Kenner

Traceless linker

Normalerweise hinterlassen Linker (erwünschte) funktionelle Gruppen im Molekül.

Traceless linker wurden entwickelt, um die Synthese von Zielmolekülen, die keine entsprechende funktionelle Gruppe aufweisen sollen oder bei denen die Anbindung über diese Gruppe nicht durchführbar ist, zu ermöglichen.

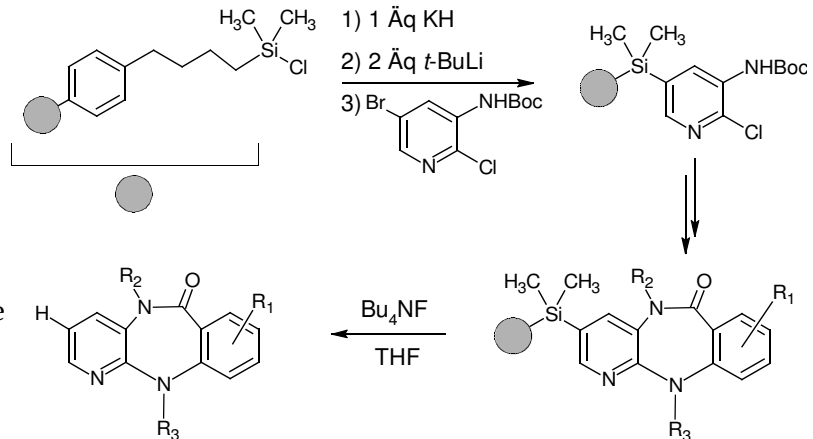


Abbildung 11: Synthese tricyclischer Pyridinderivaten mittels Traceless Linker nach Ellman

Photolabile Linker

- Abspaltung des Linkers durch Bestrahlung mit Licht best. Wellenlänge
- Abspaltung einfach steuerbar
- Orthogonal zu vielen Schutzgruppen

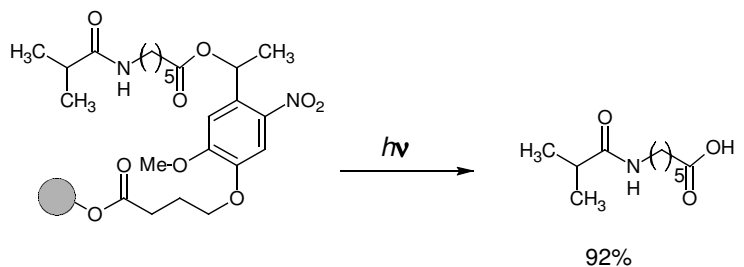


Abbildung 12: Struktur und Spaltung eines photolabilen Linkers

Wichtige Zielmoleküle der Festphasensynthese:

- Peptide
- DNA/RNA (Oligonucleotide)
- Oligosaccharide

Die Synthesestrategie des jeweiligen Zielmoleküls und das verwendete Trägermaterial müssen sorgfältig aufeinander abgestimmt werden, um das gewünschte Produkt mit guter Reinheit und hoher Ausbeute zu erhalten.

Die Festphasensynthese bildet aufgrund der Automatisierbarkeit die Grundlage der kombinatorischen Chemie.

6. Literatur

- (1) D. J. Hudson, *J. Comb. Chem.* **1999**, *1*, 333.
- (2) D. J. Hudson, *J. Comb. Chem.* **1999**, *1*, 403.
- (3) D. J. Gravert, K. D. Janda, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 489.
- (4) F. X. Woolard, J. Paetsch, J. A. Ellman, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6102.
- (5) D. L. Whitehouse, S. N. Savinov, D. J. Austin, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7851.
- (6) N. K. Terret, *Kombinatorische Chemie*, Springer, Schwabach, **1998**.
- (7) G. Barany, M. Kempe in *A Practical Guide to Combinatorial Chemistry* (Hrsg: A. W. Czarnik, S. H. DeWitt), American Chemical Society, Washington D.C., **1997**, 51.
- (8) W. Bannwarth in *Combinatorial Chemistry* (Hrsg: W. Bannwarth, B. Hinzen), Wiley-VCH, Weinheim, **2006**, 33.
- (9) novabiochem Catalog, Merck, Darmstadt, **2002**.