

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

SÍNTESE DE POLIPEPTÍDIOS: GRUPOS DE PROTEÇÃO

Estratégia de Síntese da Ligação Peptídica: N-Proteção e C-Ativação

Grupo 13

Integrantes:

Carla G. Piola

Larissa A. Takiya

Saori K. de Paula

Seunghag Lee

n°USP:

9014756

8971892

9014822

8922570

São Paulo
2016

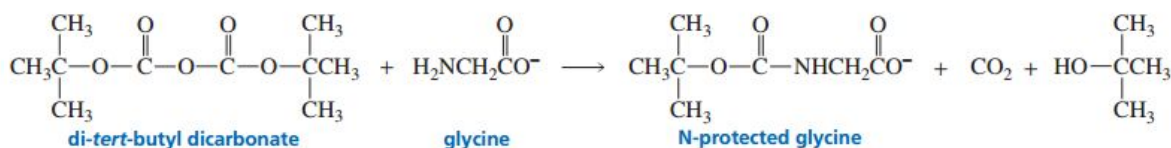
Síntese de Polipeptídios: Grupos de Proteção

Estratégia de Síntese da Ligação Peptídica: N-Proteção e C-Ativação

A junção de dois peptídeos pode formar 4 tipos diferentes de dipeptídeos, pois aminoácidos tem dois grupos funcionais. Por isso é necessário proteger a extremidade N-terminal (para não formar uma ligação peptídica) e ativar o grupo carboxila antes de adicionar o segundo peptídeo. Assim, o grupo amina do peptídeo adicionado irá, preferencialmente, reagir com o grupo carboxila ativado do que com um não ativado.

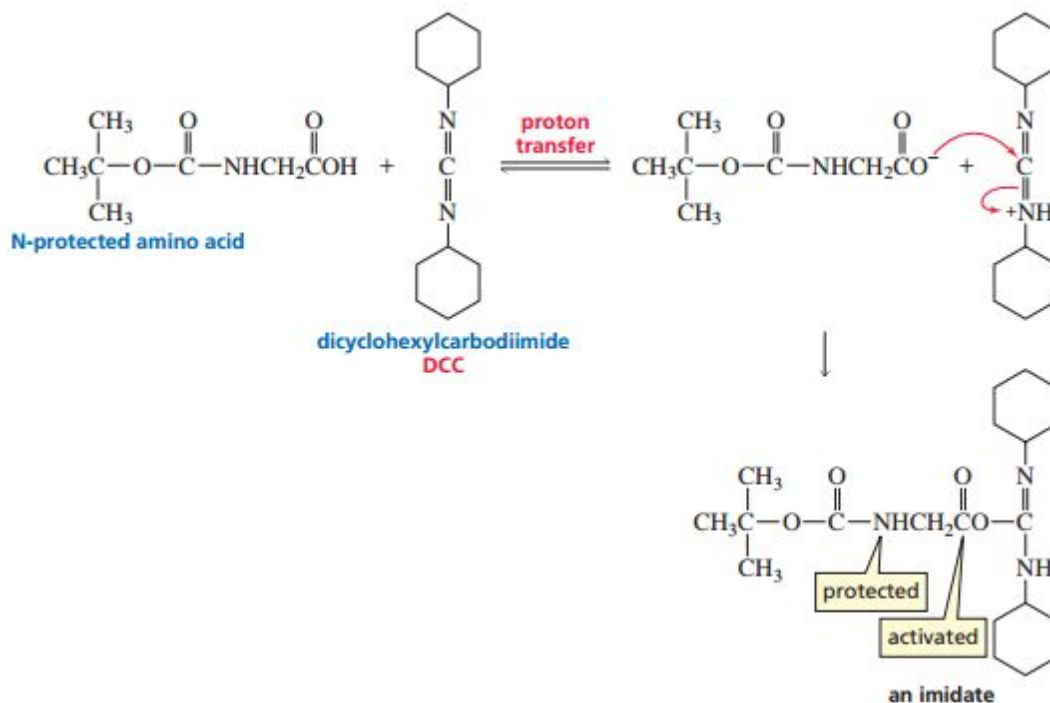
Proteção do grupo amino:

O reagente mais usado é o Dicarbonato de di-terc-butila (t-BOC).



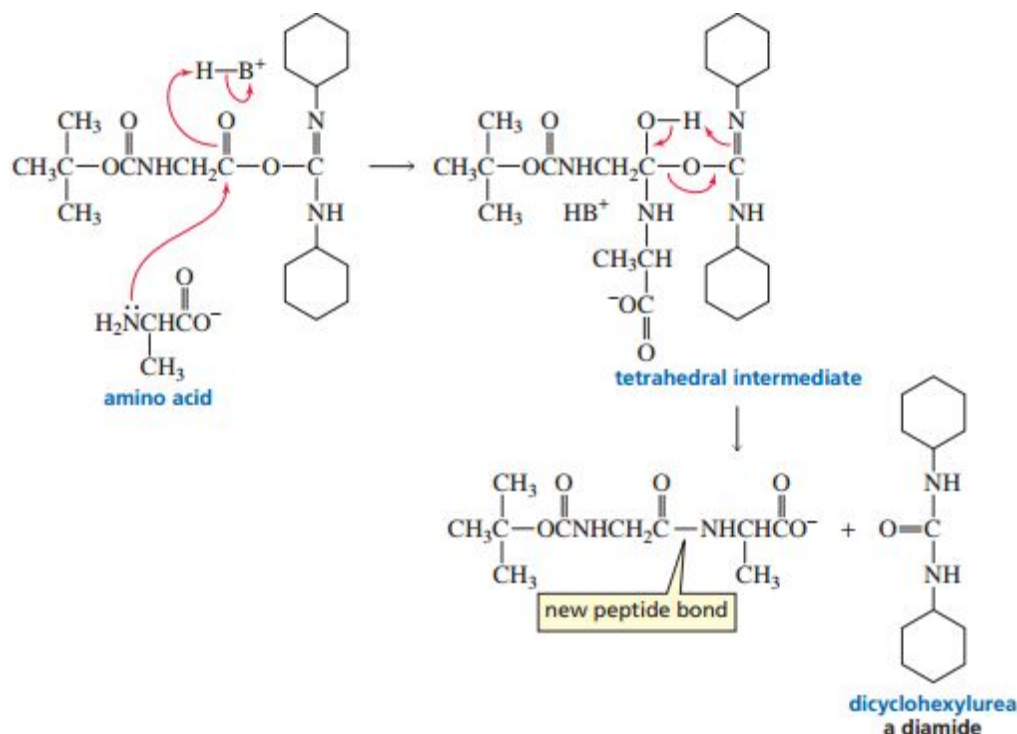
Ativação do grupo carboxila:

O método preferível de ativação de um grupo carboxila de um aminoácido N-protetido é convertendo-o em um imidato usando o diciclohexilcarbodiimida (DCC). Ele ativa o grupo carboxila ao colocar um bom grupo de partida no carbono carbonílico.

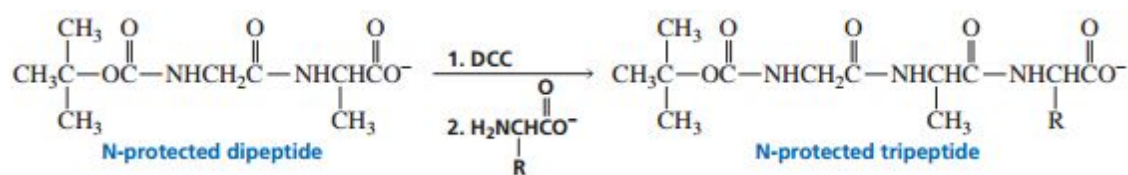


Síntese do polipeptídeo:

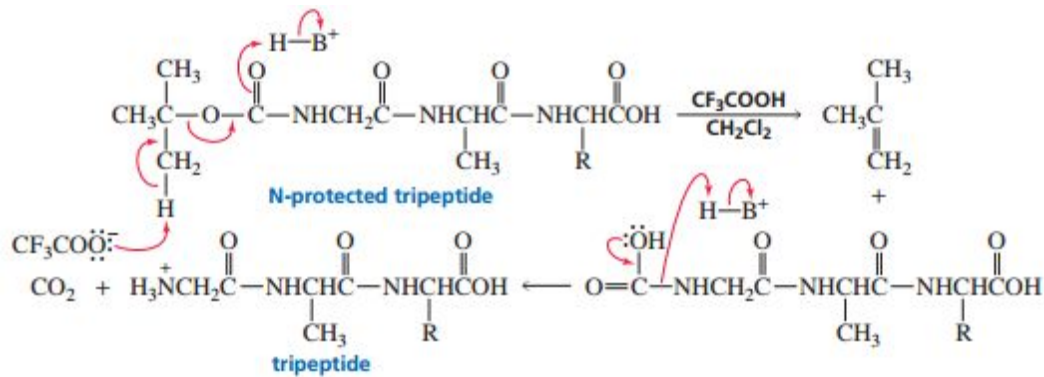
Com o grupo N-terminal protegido e o C-terminal ativado, o segundo aminoácido pode ser adicionado. A ligação C-O do intermediário tetraédrico é facilmente rompida (o grupo ativado é um bom grupo de partida) pois os elétrons da ligação são deslocalizados, formando o dicitcloexilureia, uma diamida estável.



Os aminoácidos podem ser adicionados à extremidade C-terminal repetidamente ao ativar o grupo carboxila da extremidade C-terminal do peptídeo (tratando com DCC) e então adicionar um novo aminoácido.



Quando a quantidade desejada de aminoácidos é adicionada à cadeia, o grupo protetor na extremidade N-terminal é removido. O *t*-BOC pode ser removido com ácido trifluoroacético e diclorometano, reagentes que não quebram nenhuma outra ligação covalente. O grupo de proteção é removido por uma reação de eliminação, formando o isobutileno e dióxido de carbono (ambos são gases que escapam, completando a reação).



Teoricamente, essa técnica deveria ter rendimento de 100%, porém o que se observa é que o rendimento vai decaindo conforme aumenta o número de aminoácidos na cadeia. A cada aminoácido colocado, o peptídeo deve ser purificado para prevenir que subseqüentes reações indesejadas ocorram com os reagentes que sobraram, e a cada purificação, diminui-se o rendimento da reação. Portanto, grandes polipeptídeos não podem ser sintetizados desta maneira.

Number of amino acids	2	3	4	5	6	7	8	9
Overall yield	80%	64%	51%	41%	33%	26%	21%	17%

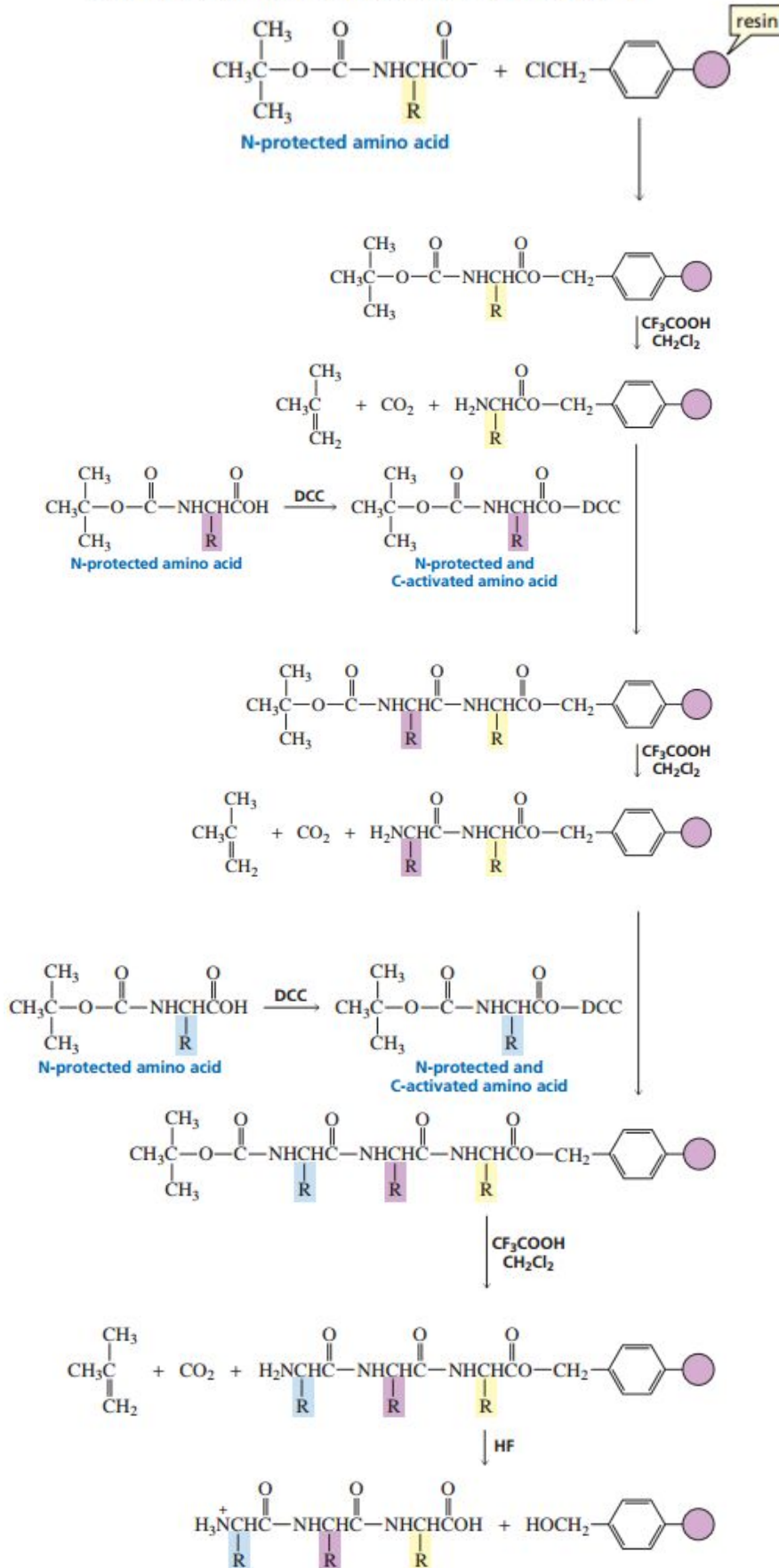
Síntese automatizada de peptídeos:

Em 1969, Bruce Merrifield descreveu um método que revolucionou a síntese de peptídeos, porque forneceu uma maneira muito mais rápida de produzir peptídeos com muito maior rendimento. Neste método, o aminoácido C-terminal é adicionado a um suporte sólido contido numa coluna. Cada aminoácido N-terminal bloqueado é adicionado um de cada vez, junto com os reagentes necessários, para que a proteína seja sintetizada da extremidade C-terminal para a N-terminal.

O suporte sólido em que o aminoácido C-terminal é ligado é uma resina de poliestireno, cujos anéis benzênicos tem substituintes de clorometil. Antes do aminoácido C-terminal ser ligado à resina, o seu grupo amino é protegido com o t-BOC para prevenir que o grupo amino reaja com a resina. O aminoácido C-terminal é ligado à resina por uma reação: o seu grupo carboxila ataca um carbono benzílico da resina, substituindo o íon cloreto.

Após o aminoácido C-terminal ser ligado à resina, o grupo protetor t-BOC é removido. O próximo aminoácido com o seu grupo amino protegido com o t-BOC e o seu grupo carboxila ativado com DCC, é adicionado à coluna.

Merrifield automated solid-phase synthesis of a tripeptide



A grande vantagem do método de Merrifield é que o peptídeo crescente pode ser purificado ao lavar a coluna com um solvente apropriado após cada etapa do procedimento. As impurezas são lavadas da coluna pois não estão ligadas ao suporte sólido. Uma vez que o peptídeo é covalentemente ligado à resina, nada dele é perdido na etapa de purificação, levando à altos rendimentos do produto purificado.

Após os aminoácidos necessários serem adicionados um por um, o peptídeo pode ser removido da resina por tratamento com HF sob condições brandas que não quebram as ligações peptídicas.

Referências:

Bruice, P.Y. "Organic Chemistry" 5th Edition, 2007