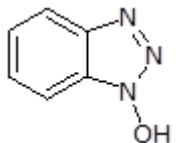
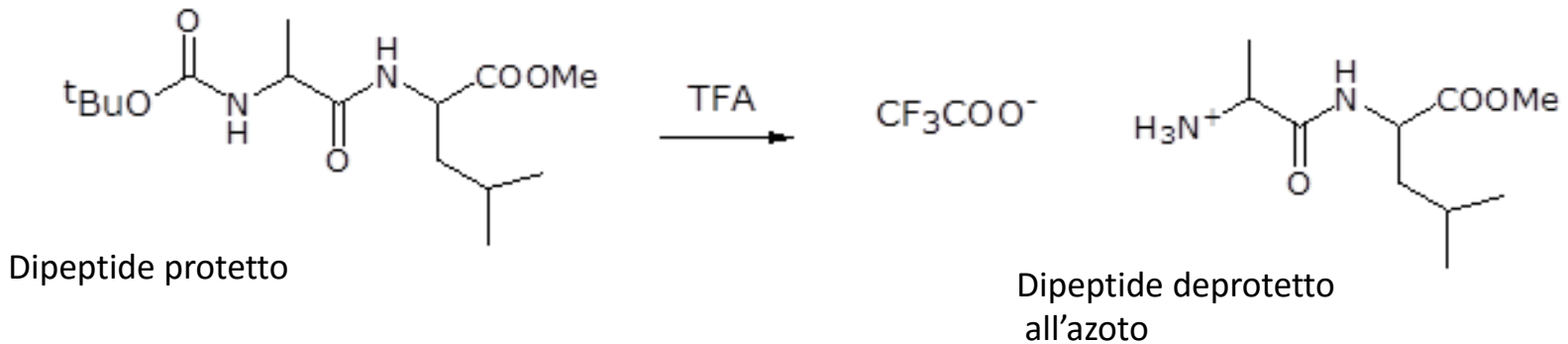
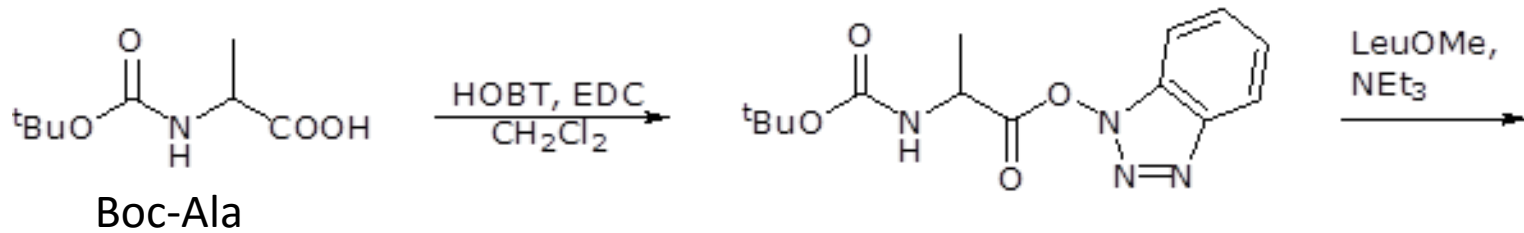
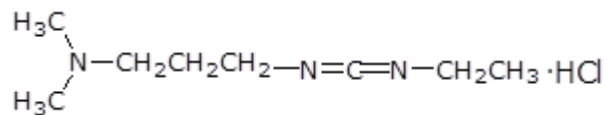


Sintesi del dipeptide Ala-Leu-OMe

Schema generale

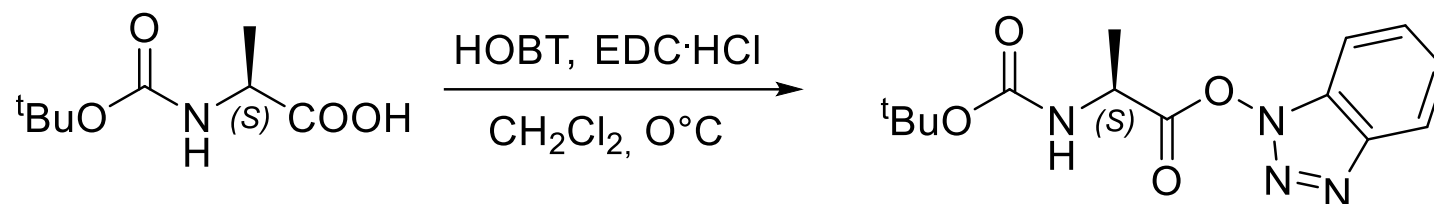


Idrossibenzotriazolo (HOBT)



N-etil-N'(3-dimetilamminopropil)carbodiimide cloridrata (EDC.HCl)

1° giorno



- 0.5 g (2.64 mmol) di Boc-L-Ala-OH (PM 189.21 g/mol) vengono sciolti in 10 ml di CH₂Cl₂.
- Si aggiunge quindi 1.0 eq (2.64 mmol, 0.35 g) di HOBT (hydroxybenzotriazole, PM 135.12 g/mol) e si raffredda la soluzione a 0°C.
- Si aggiungono quindi 1.2 eq (3.17 mmol, 0.6 g) di EDC·HCl (N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, PM 191.70) e si mantiene la soluzione sotto agitazione a 0°C per 1 h.

Peptide and Protein Drug Delivery

a cura di Vincent Lee

can lead to β -alanine-related impurities [34]. In 1970 it was observed that if 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) was added to a DCC-mediated peptide synthesis (Fig. 9), the optical and chemical purity of the resultant peptide product was markedly improved [35]. Later it was shown that HOBt could suppress or eliminate the extensive racemization that occurred during DCC-mediated couplings of Boc-His(Bzl) in SPPS [36].

A general trend has developed to include HOBt in the DCC coupling protocol as a racemization suppression agent. The product is usually of higher purity and in those cases where racemization is possible (e.g., segment condensation at a residue other than Gly or Pro) the product will be generally of higher optical integrity. Nonetheless, there have been numerous documented instances of DCC-HOBt-mediated coupling reactions where the resultant peptide is partially racemized [37]. Although additives besides HOBt have been proposed and utilized [32], HOBt is still the most widely used additive for the carbodiimide-mediated synthesis of peptides.

The rationale for the racemization suppression properties of HOBt and related compounds has been debated; however, no definitive explanation has been proposed which satisfactorily accounts for all of the experience with this additive. HOBt apparently forms an active ester intermediate which then reacts with amine nucleophiles to form the amide bond with concomitant regeneration of HOBt (Fig. 9). Although this mechanism implies that HOBt is functioning as a catalyst, it is generally added in equimolar amounts, and in some cases has been added at two or three times the molar level of the acid and amine components of the reaction. The benzotriazole ester that is formed between the acid and HOBt is relatively stable and can be isolated and purified before reaction with the

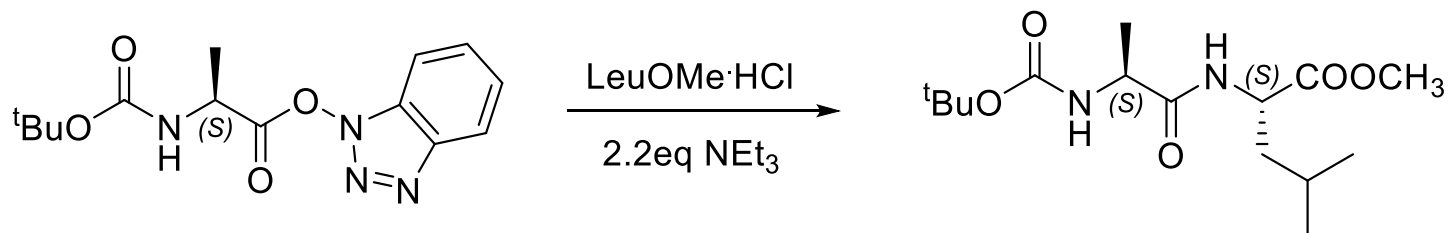
1° video dipeptide (21 minuti)



Domande sul 1° video dipeptide (21 minuti)

- quanti grammi di Boc-Ala sono stati pesati?
- quanti grammi di HOBT sono da aggiungere? (controlla i calcoli)
- è vero che il diclorometano è sospetto cancerogeno?
- quale è il punto di ebollizione del diclorometano?
- è vero che l'HOBT anidro è un solido esplosivo?
- quanto HOBT è stato pesato?
- è veramente importante pesare una quantità di HOBT perfettamente uguale a quella calcolata?
- calcola i grammi di EDC cloridrata da aggiungere
- quanti grammi di EDC cloridrata sono stati aggiunti?
- quale è la temperatura di stoccaggio consigliata per l'EDC cloridrata?

1° giorno



- Al termine si aggiunge una quantità equimolare (2.64 mmol, 0.48 g) di leucina metil estere·HCl (PM 181.66) e 2.2 eq (5.8 mmol, 0.587 g, 0,8 ml) di trietilammina (PM 101,19 g/mol, d = 0,728 g/mL). Si controlla che il pH della soluzione sia 8-8.5 con la cartina tornasole preventivamente bagnata di acqua. Si prosegue l'agitazione per ulteriori 12h.

2° video dipeptide (7 minuti)

amente bagnata
ione si svapora il
lava quindi con una

2 eq (propyl)carbonyl
propyl)carbonyl
la soluzione sotto agitazione
quantità equimolare (2.64 mmol,
PM 181.66) e 2.2 eq (5.8
HCl (PM 101.19) 8-8.5
ammina (PM 101, 19 g/mol, con
pH della soluzione sia 8-8.5
mente bagnata di acqua.
ri 12h.

17 109.21
2.70 mmol HOBT PM
365.6 mg 135.12

3.24 mmol EDC·HCl
PM 181.70

621 mg

630 mg EDC·HCl
peso

ou 10.15

ou 11.15

+ 2.70 mmol leucine ester PM 181.66

$$2.70 \times 181.66 = \boxed{490 \text{ mg}}$$

$$+ 2.70 \times 2.2 \text{ eq} = 5.94 \text{ mmol}$$

Tuete ammine
PM = 101.19

$$\frac{0.601 \text{ g}}{0.728 \text{ g/ml}} = \boxed{0.82 \text{ ml}}$$

Domande sul 2° video dipeptide (7 minuti)

- riporta chiaramente i calcoli per determinare le quantità di leucina metil estere cloridrata e trietilammina da aggiungere
- quanta leucina metil estere cloridrata è stata pesata?
- quali sono i reagenti cloridrati utilizzati?
- perché il gruppo amminico della leucina metil estere non deve essere protonato?
- come si accorge l'operatrice che la trietilammina si è degradata?
- perché era prevedibile che la trietilammina fosse degradata?
- cosa pensa di fare l'operatrice per risolvere il problema?

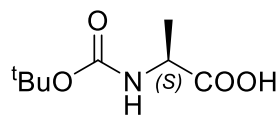
3° video dipeptide (4 minuti)



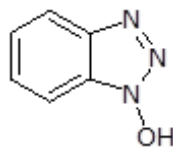
Domande sul 3° video dipeptide (4 minuti)

- l'operatrice, come ha risolto il problema della trietilammina degradata?
- perché l'operatrice è certa che la nuova trietilammina non sia degradata?
- Alla fine di tutte le aggiunte, la soluzione è limpida?
- Tutti i reagenti sono solubili in diclorometano?

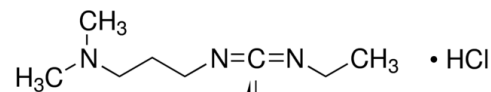
Reattivi: tutti solubili in diclorometano?



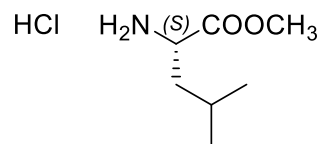
1 eq



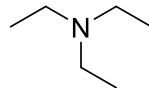
1 eq



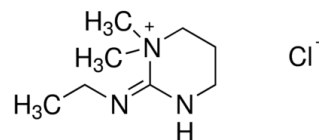
1.2 eq



1 eq

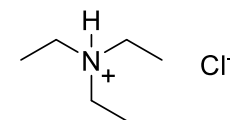
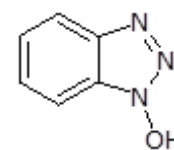
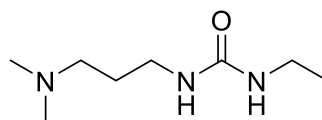
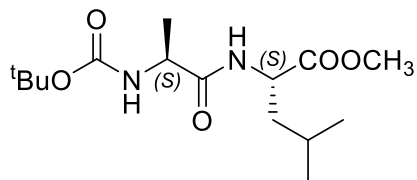


2.2eq

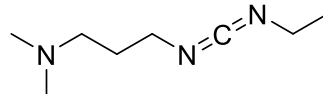
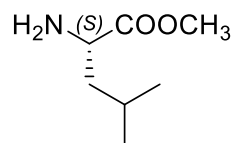


Cl⁻

Prodotti e non reattivi: tutti solubili in diclorometano?



Cl⁻



non reagita

