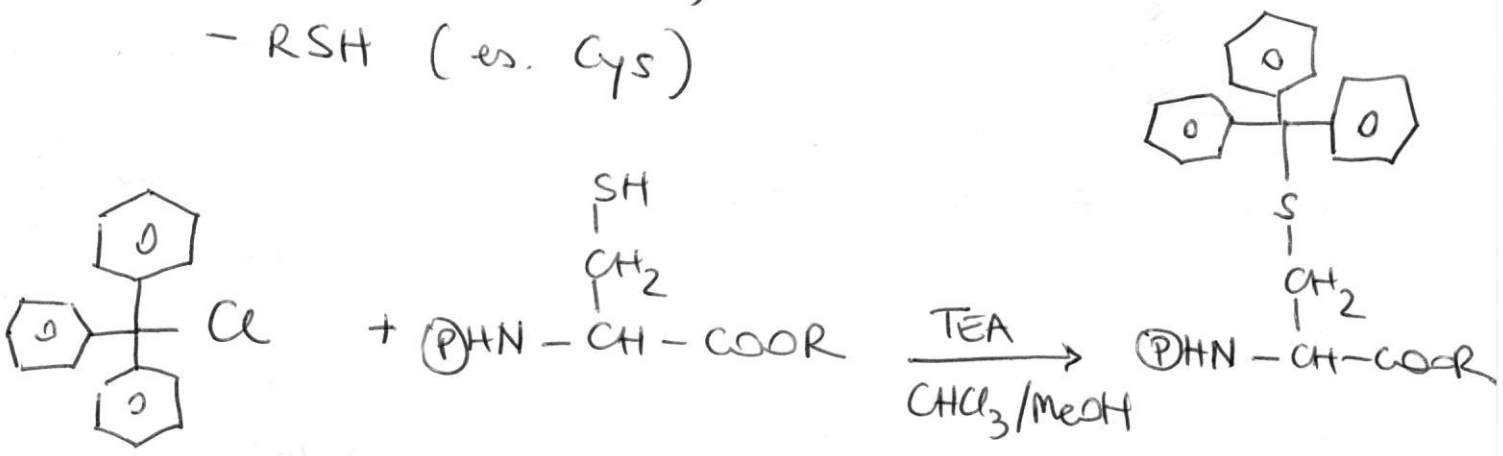
GRUPPI PROTETTIVI PER ALTRI GRUPPI FUNZIONALI SULLE CATENE LATERALI DEGLI AMMINOACIDI (aa):

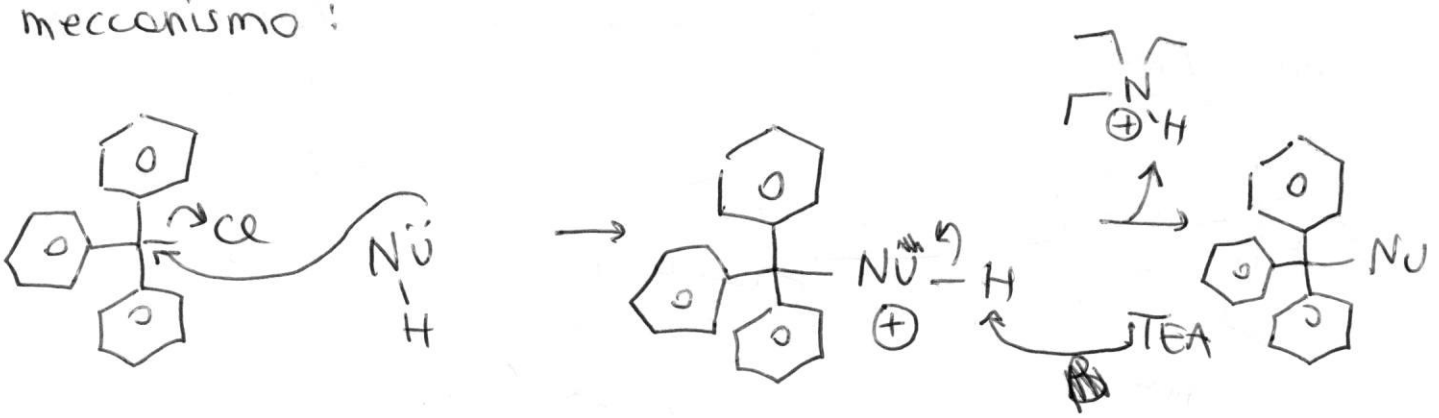
* TRITILE (Trt) = 

NOTA BENE: LA TRITILAZIONE NON FUNZIONA BENE SUGLI AA CON COOH LIBERO, PER CUI LA SI FA SUGLI AA CON COOH PROTETTO CON ESTERE (COOR); IL Trt SI PUO' METTERE SU:

- NHR_2 (es. His)
- RSH (es. Cys)



meccanismo:

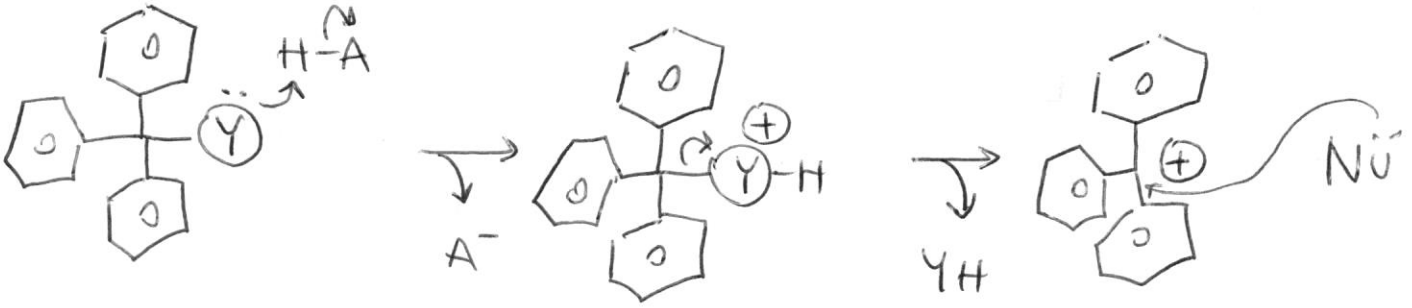


NU = RNH_2
R_2NH
RSH

il gruppo Trt è STABILE CON BASI

SI RIMUOVE COME IL BOC CON:

- TFA
- SCAVENGERS.



Y = NHR, NR_2, RS

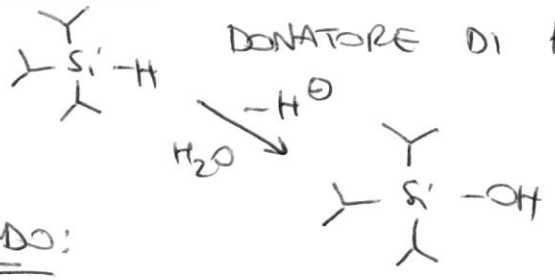
H-A = F_3C-C(=O)-OH TFA

PER EVITARE REAZ. SECONDARIE DI TRITILAZIONE SU GRUPPI NUCLEOFILI (ad es. AMMINE, TIOLI)

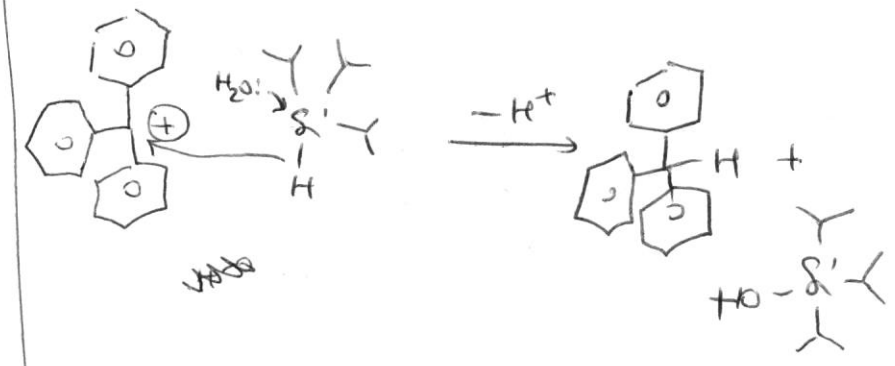
SI METTONO SCAVENGERS che NEUTRALIZZANO IL CARBOCATIONE, ad es:

- ANISOLO
- TIPS

TIPS:



SEMPLIFICANDO:

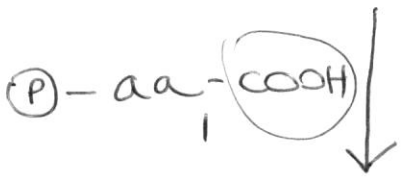


SINTESI PEPTIDICA IN FASE SOLIDA: SPPS

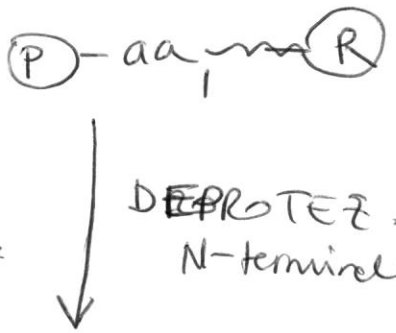
WORKFLOW:

GRANI DI RESINA (BEADS) SOLIDI

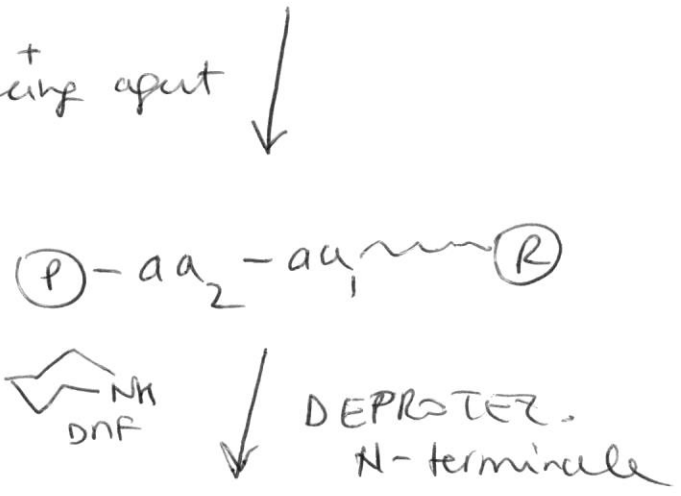
1° aa C-terminale



P = gruppo protettivo N-terminale (anche su catene laterali se gruppi funzionali)



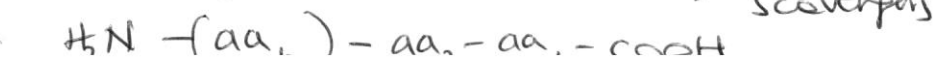
2° aa + coupling agent



RIPETO PER TUTTI GLI aa

CLEAVAGE (IDROLISI) TFA + Scavengers

LIQUIDO. FILTRO VIA RESINA SOLIDA

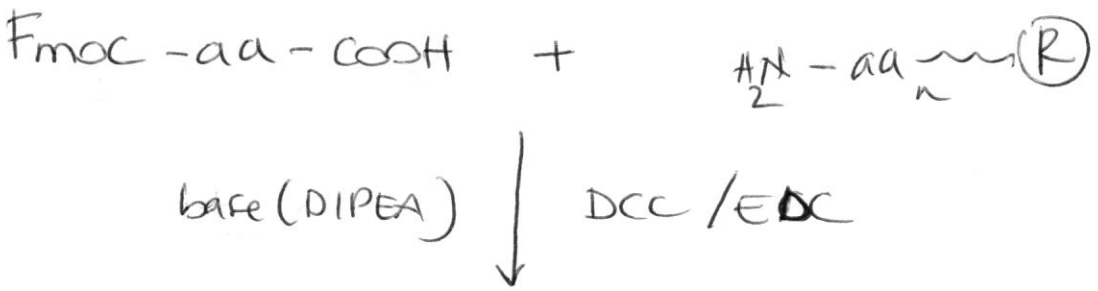


Per questo motivo:

Ⓟ GRUPPI PROTETTIVI: * αNH_2 → sempre Fmoc (base labile)

* Catene laterali aa: Ⓟ stabili alle basi (es. Boc, Trt, ...)

A ogni passaggio di COUPLING:



Fmoc-aa-aa$_n$~~(R)

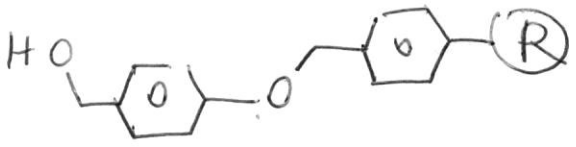
A ogni passaggio di DEPROTEZIONE αNH_2:

Alla fine tolgo tutti i gruppi protettivi laterali (ACIDO-LABILI, come Boc, Trt) e IDROLIZZO PEPTIDE DA RESINA.

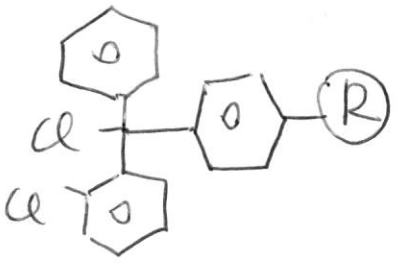
RESINE:

Le più comuni AD OGGI:

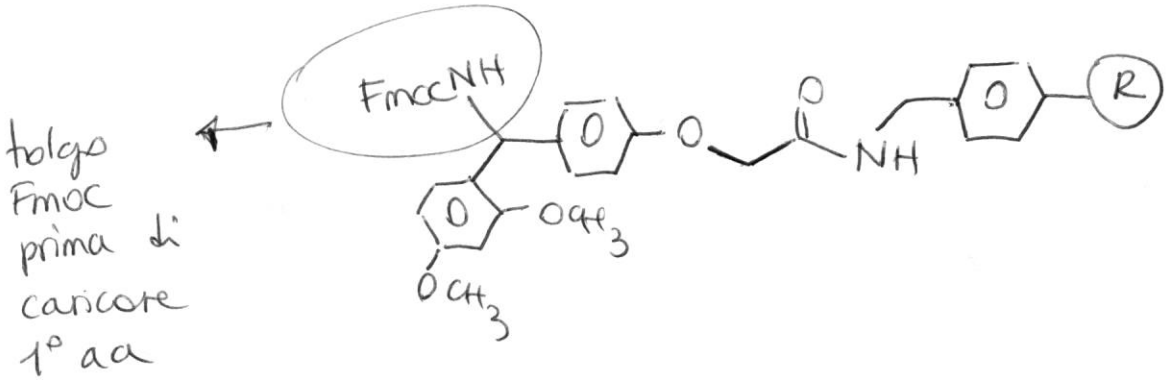
① WANG



② CTC (2-Cl-tritilcloruro):



③ RINK AMIDE PER OTTENERE PEPTIDI CON C-TERMINALE AMMIDATO (cioè $-CONH_2$ anziché COOH):

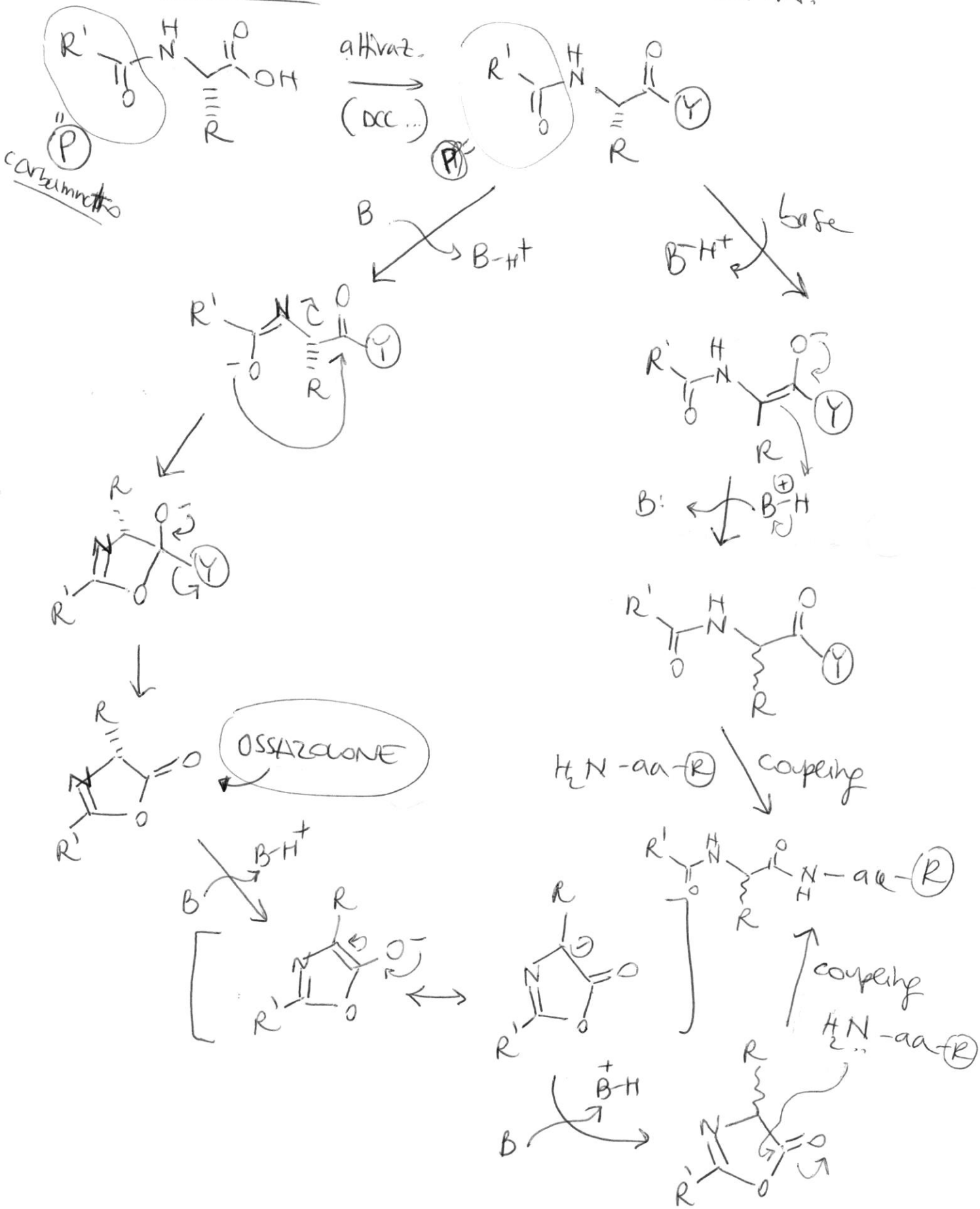


toglo Fmoc prima di caricare 1° aa

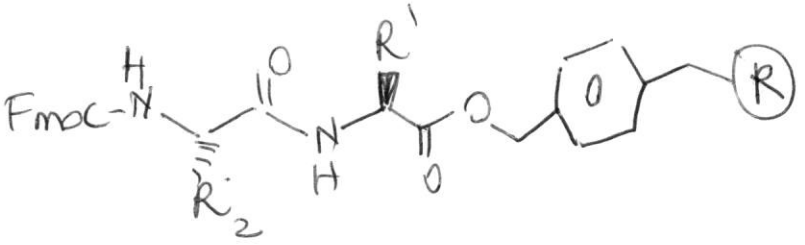
[LA PRIMA DI IMPORTANZA STORICA OGGI NON SI USA MOLTO: MERRIFIELD

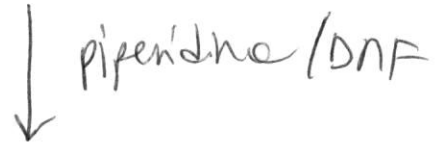
REAZIONI AVVERSE:

① RACEMIZZAZIONE e OSSAZOLONE BASE-CATALIZZATA:

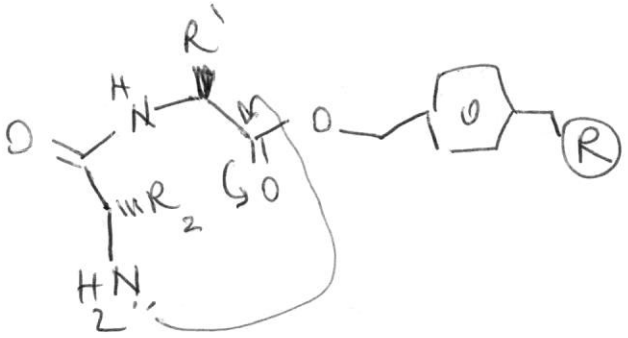


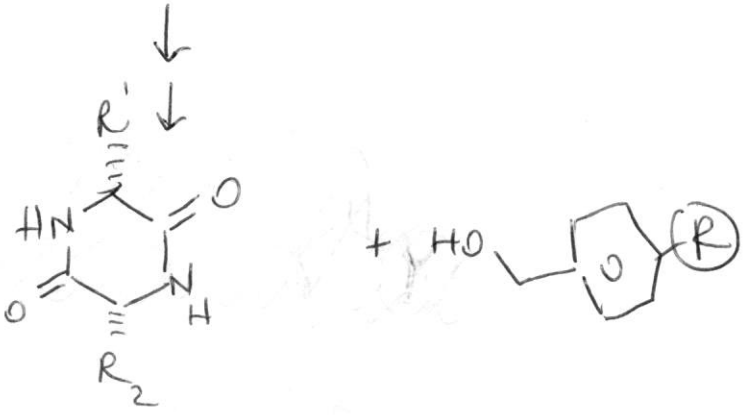
(2) FORMAZIONE DI DICHETOPIPERAZINA (DKP):





avviene a livello del DIPEPTIDE





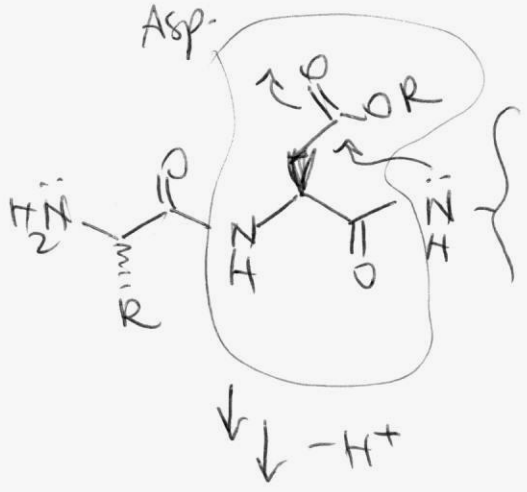
Si eluita con resine ingombrate (CTC)

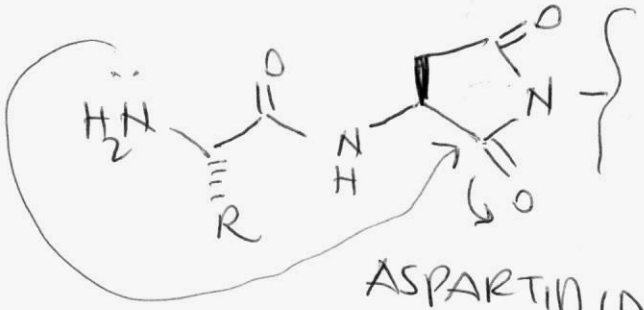
③ CONFORMAZIONE CIS:

- la conformazione cis del legame peptidico
- la presenza di Pro al C-terminale

⇒ FAVORISCONO LA DKP
(reazione avversa n②)

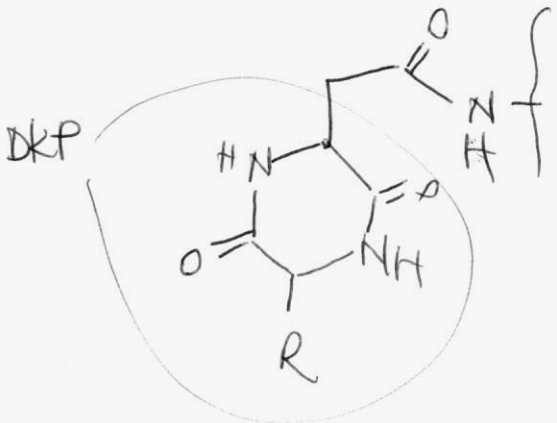
④ FORMAZIONE con Asp ASPARTIMIDE e conseguente RACEMIZZAZIONE (motivo per cui si sintetizzano C→N e non viceversa, altrimenti :))





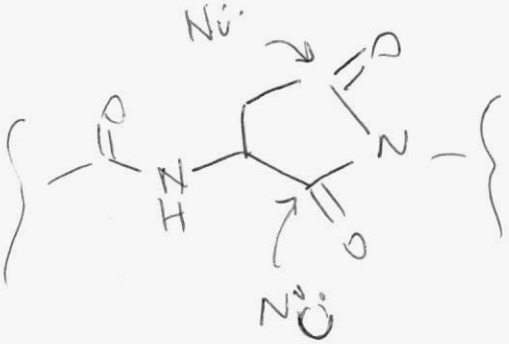
ASPARTINIDE

(a) DKP



(B) Nu:

oppure



Nu: per es. 

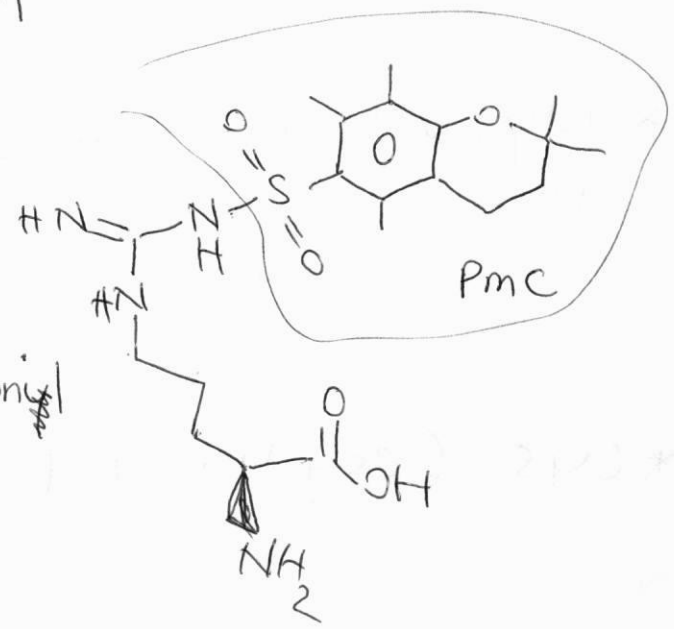
(c) RAC.

aa e CATENE LATERALI: STRATEGIE DI PROTEZIONE PER SPPS.

* Lys (ε-NH_2): Boc, Trt
* Arg. ($R-NHC(=NH)-NH_2$): Pmc, Pbf

→ ACIDO LABILI → TFA + scavengers.

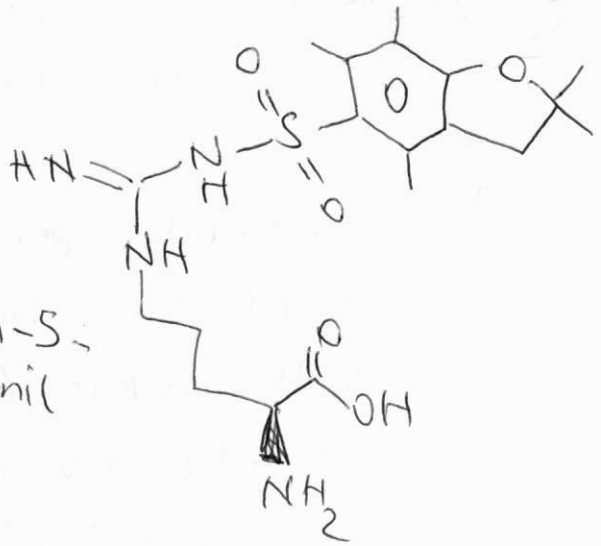
Arg (Pmc)-OH =



↓

2,2,5,7,8-pentametilCROMAN-6-sulfonil

Arg (Pbf)-OH =



↓

2,2,4,6,7-pentametildiidrobenzofuran-5-sulfonil

* Asp
* Glu

} → $-O^tBu$ estere → ACIDO LABILE → TFA + scavengers

* Asn
* Gln

} NON SERVE PROTEGG. $RCONH_2$ CATENA LAT.

* Gly, Val, Leu, Ile, Ala, Phe, Pro → NON C'È NIENTE DA PROTEGGERE IN CATENA LAT.

* Cys (RSH): Trt → ACIDO LABILE → TFA + scavengers

* Met (RSMe): DI SOLITO NON SERVE PROTEGGERE CAT. LAT.

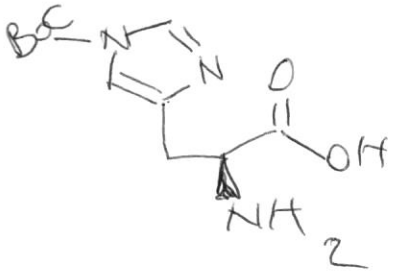
→ entrambi però possono OSSIDARSI A SULFOSSIDO, PER CUI MEGLIO SPPS IN GAS INERTE (N_2 o Ar) E NEL CLEAVAGE METTERE UN AGENTE RIDUCENTE (vedi es.

* TIOANISOLO

* 1,2-etanditiolo (EDT) $HS \sim SH$

} Servono SI ossidano loro e non Cys/Met

* His → Boc → ACIDOLABILE → TFA + scavengers



* Trp DI SOLITO OK NON SERVE PROTEGGERE CAT. LAT.

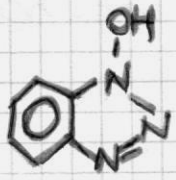
* Ser
* Thr
* Tyr

} ^{t}BU → ACIDOLABILE → TFA + scav.

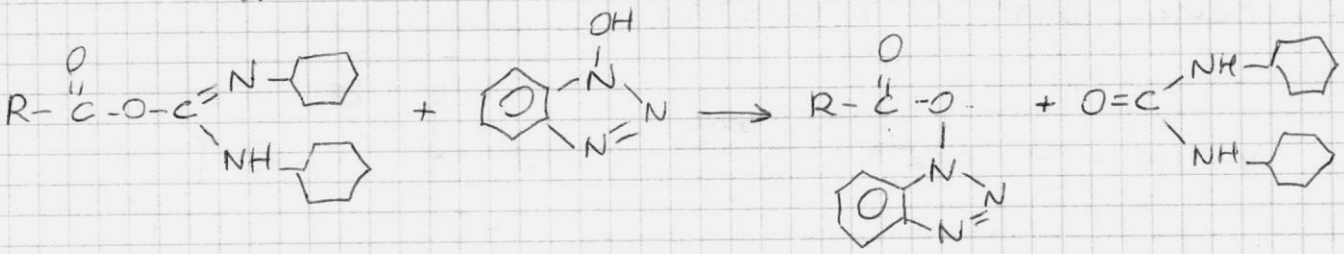
R - O -

~~* Tyr~~

4- Se si usano basi durante il coupling, si devono agg. degli **ac. deboli** x evitare la deprotonaz.
a. del Cα, x catalizzare la reaz. e xchè permettono
b. una minor permanenza del COOH attivato, che può favorire racemizzaz. (l'alogeno ha effetto induttivo esteso anche al Cα).

ES: 

1-idrossibenzotriazolo (HOBt)



O-acil-1-idrossibenzotriazolo
AGENTE ACILANTE