

SCM1 – Kombinatorische Chemie

Einleitung

- Ziel: Synthese von vielen Molekülen in kurzer Zeit

Gründe

- Moleküle für Screening
- vor allem für Pharmaforschung, Pflanzenschutz, bedingt für Materialwissenschaft

Literatur

- Kombinatorische Chemie, N.K. Terrett (Autor), D. Brendel (Übersetzer), 264 Seiten, Springer-Verlag; 1. Auflage (2000), ISBN 978-3540668251

Hinweis

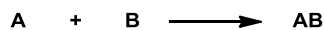
- die Wünsche haben sich nicht ganz erfüllt
- geblieben sind Automatisierung und Datenverarbeitung

Wintersemester 2015/2016

Prinzip der kombinatorischen Chemie

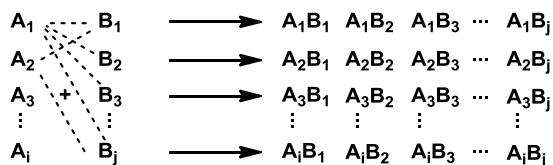
Klassische Synthese

- Darstellung einer einzelnen, wohldefinierten Struktur zu einer Zeit
- dem geht die sorgfältige Auswahl der zu synthetisierenden Verbindung voraus



Kombinatorische Synthese

- Sets von Bausteinen (building blocks) (A_i , B_j) werden kombinatorisch miteinander umgesetzt
- es entstehen sogenannte Verbindungsbibliotheken oder -Kollektionen
- Synthesen können in Lösung oder an fester Phase (an einem Harz) durchgeführt werden



Prinzipielle Verfahren

Parallelsynthesen

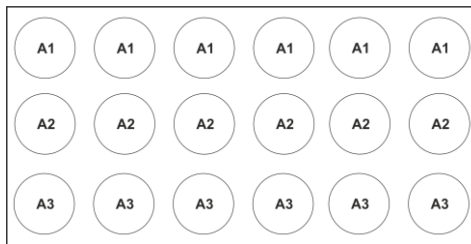
- pro Verbindung ein Gefäß, Spritze, Pin, T-Bag oder Reaktor
- für kleinere Kollektionen sinnvoller
- sowohl in Lösung als auch am Harz möglich
- es können beliebige Mengen pro Stoff produziert werden
- häufig: 96-, 384-er Platten ($8 \times 12 = 96$) ($16 \times 24 = 384$)

Bausteine:

A1, A2, A3
B1, B2
C1, C2, C3

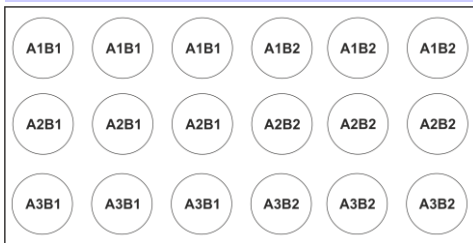
} $3 \times 2 \times 3 = 18$ Verbindungen (18 Reaktoren)

Runde 1: Aufteilung von A (jedes A in $18 / 3 = 6$ Reaktoren)

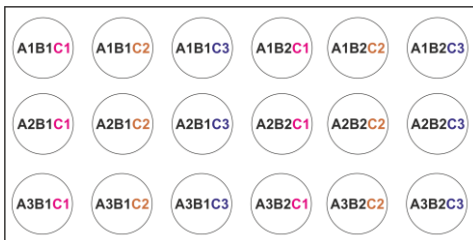


Parallelsynthese

Runde 2: Aufteilung von B (jedes B in $18 / 2 = 9$ Reaktoren)



Runde 3: Aufteilung von C (jedes C in $18 / 3 = 6$ Reaktoren)



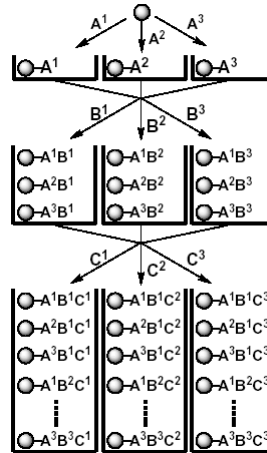
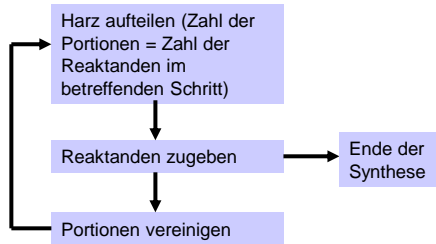
Split and Mix Solid Phase Synthesis

Prinzip

- Möglichst viele Moleküle mit wenig Aufwand
- erfordert Synthese am Harz
- Harzkugel quasi als Mini-Reaktionsgefäß

Vorgehensweise

- Mix, Split, React



$$N = n_1 \times n_2 \times n_3 \times n_i$$

n_i = Zahl der Reaktanden pro Cyclus

Welches Molekül ist auf einer Harzkugel? Tagging (Markierungen, die mittels GC eine Zuordnung der eingesetzten Reaktanden erlauben)

Acc. Chem. Res. 1996, 29, 155

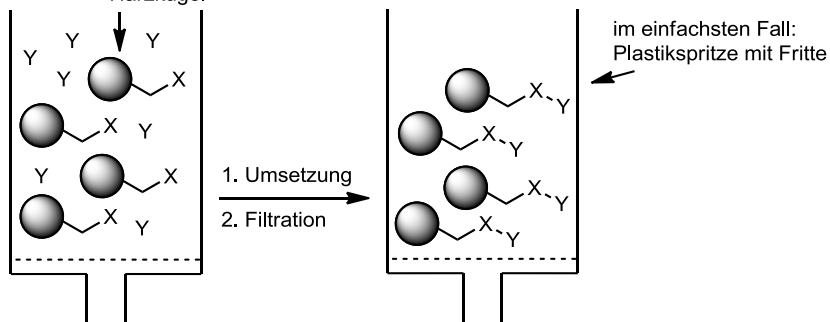
Grundlagen – Festphasensynthese

Prinzip

- Ausgangsstoffe werden an einem quellbaren, unlöslichen Polymer über einen Linker gebunden und dann umgesetzt
- Erfinder: Bruce Merrifield (1921-2006), Nobelpreis 1984
- Anwendung ursprünglich in Peptid- und Oligonucleotid-Synthese

Vorteile

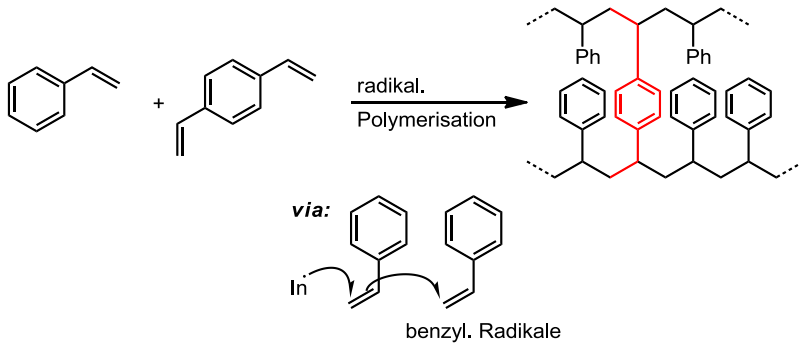
- Reinigung (Abtrennung von Salzen, Überschuss an Reagenzien etc.) durch simple Filtration
- Überschuss an Reagenzien kann die Kupplungsschritte praktisch quantitativ gestalten, wichtig bei Mehrstufensynthesen
- leichter automatisierbar (Technologie wurde bereits bei Peptid- und Oligonucleotid-Synthesen genutzt)



Polymere Träger

Polystyrol (Polystyrene) Harze

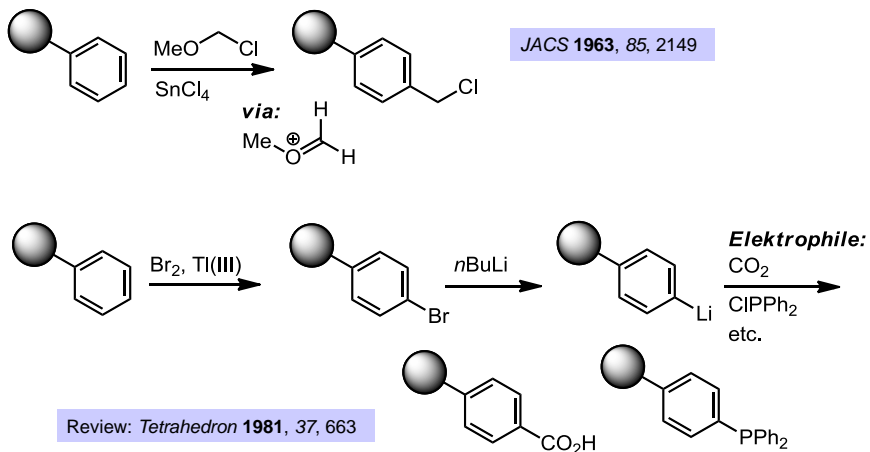
- Polystyrol/DVB copolymer (0.5-5% cross-linking, typisch 1 od. 2% cross-linking)
- DVB = Divinylbenzol
- günstig, thermisch belastbar bis 130 °C
- Funktionelle Gruppen können recht gut am Harz eingeführt werden



Funktionalisierung

Elektrophile aromatische Substitution

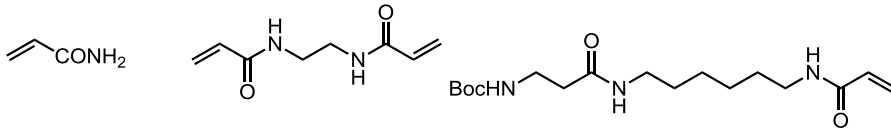
- Friedel-Crafts-Alkylierung
- Bromierung, dann Halogen-Metallaustausch od. auch Kreuzkupplungen



Weitere Harze

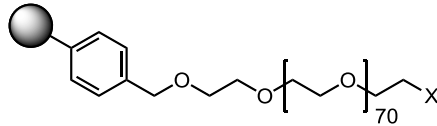
Polyamid-Harz: Pepsyn = Copolymer aus Acrylamid, einem Cross-linker und einem funktionalisierten Acrylamid

- sehr polares Harz, quillt gut in H_2O , DMF, schlecht dagegen in CH_2Cl_2



Polyethylenglykol-haltige Harze

- Polyethylenglykol wird auf Polystyrol/DVB-Harz aufgepfropft (z.B. aus Ethylenoxid + $BF_3 \cdot OEt_2$)
- geringere mechanische Stabilität
- Harze quellen in praktisch allen LM sehr gut (außer Hexan und ähnl. LM)
- Rapp-Polymere, Tübingen (Tentagele)



weitere Träger

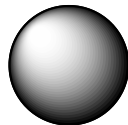
- Cellulose (Synthese auf Papier), Glas (CPG, controlled pore glass), Keramik

Parameter

- Art der Anknüpfung (sollte die Synthese überleben und zum Schluss spaltbar sein)
- Beladung
- Größe der Harz-Kugeln (große Kugeln, Diffusion der Reagenzien in die Hohlräume weniger effizient)



200 μm (PS)
1.05 $mmol g^{-1}$
4 $nmol$ pro bead
ca. 2 μg pro bead



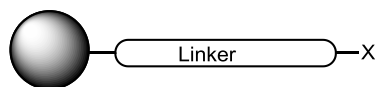
500 μm (PS)
1.05 $mmol g^{-1}$
60 $nmol$ pro bead
ca. 30 μg pro bead

Bsp.: Wang-Harz
Polystyrol crosslinked mit 1 % DVB
Beladung: 0,5–1,3 $mmol g^{-1}$
Partikelgröße: 100–200 mesh (150–75 μm)

Linker

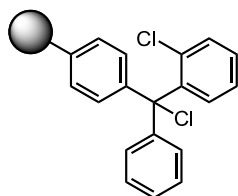
Kette od. Molekülteil zwischen Harz und funktioneller Gruppe am Ende um Anknüpfung von Substraten zu ermöglichen

- gewährleisten ferner einen gewissen Abstand zum Harz

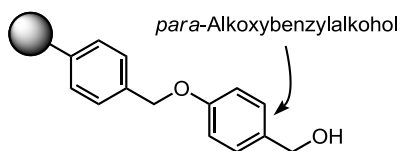


Säurelabile Linker

- enthalten oft elektronenreiche Aromaten mit benzyllischen Gruppen (mit Säuren bilden sich leicht Benzylkationen)



Chlortriptyl-Linker

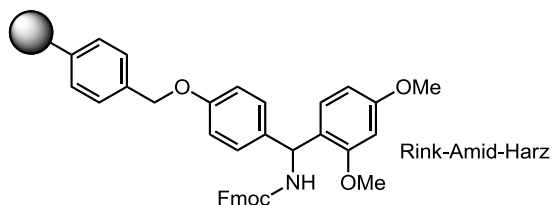


Wang-Harz bzw. Linker

Amino-Harze

Anbindung von Säuren, Ketonen

- Abspaltung in der Regel ebenfalls im Säuren (benzyllische Aminofunktion)



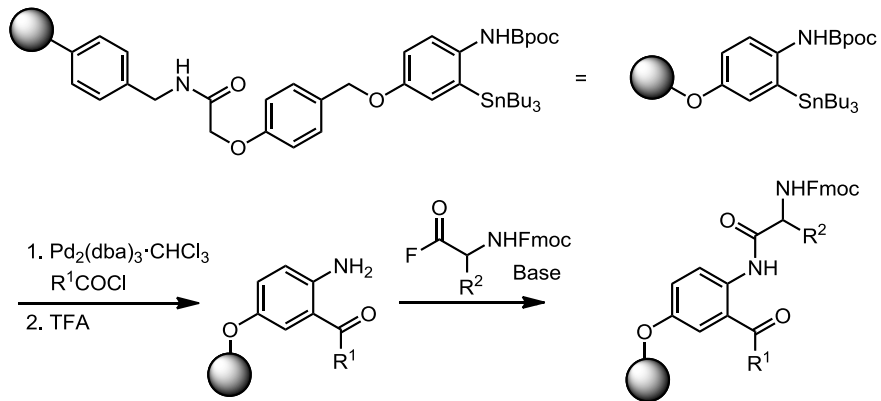
Rink-Amid-Harz

Übersicht: Früchtel, J. S.; Jung, G.: Organic Chemistry on solid Supports. *Angew. Chem.* **1996**, 108, 19-46; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 17-42.

Bsp.: Benzodiazepin-Kollektion

Stille-Kupplung zum α -Aminophenon

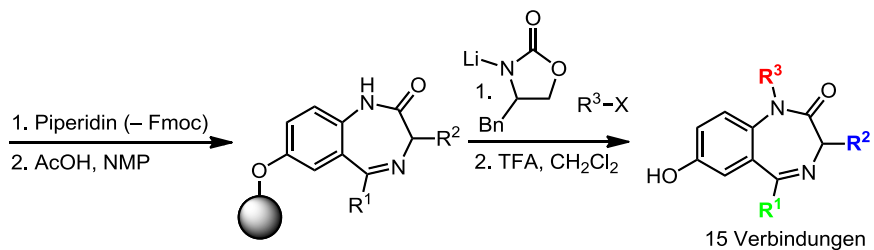
- dann Anknüpfung einer Aminosäure



Bsp.: Benzodiazepin-Kollektion

Ringschluss zum 7-Ring

- dann Alkylierung der N-H-Funktion
- Abspaltung vom Harz mit Trifluoressigsäure



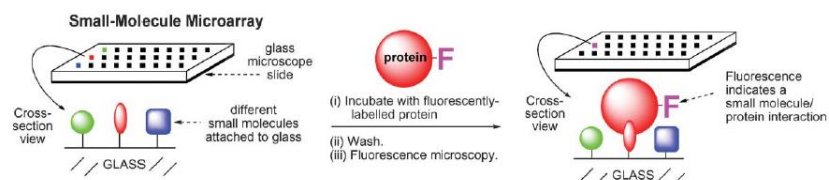
Benzodiazepine

- Einige Benzodiazepine finden in der Medizin Verwendung als angstlösende, zentral muskelrelaxierende, und schlaffördernd wirkende Arzneistoffe, sogenannte Tranquillizer
- Andere Benzodiazepine zeigen auch antikonvulsive Eigenschaften und dienen als Antiepileptika
- Benzodiazepine binden an GABA-Rezeptoren, die wichtigsten inhibitorischen Rezeptoren im zentralen Nervensystem
- **Entdeckung:** Leo Sternbach, Hoffmann-La Roche, 1960, Handelsname *Librium*

Microarrays

Bsp.: Aufbau eines Assays

- Zweck: Screening vieler Moleküle
- Immobilisierung der Moleküle auf einem Träger (Glass od. ähnliches) oder in Mikrotiterplatten



Scheme 2 Small molecule microarrays. Different small molecules can be covalently attached to glass slides and probed with fluorescently labelled proteins requiring a small molecule partner. After the slides are washed, to remove non-specific interactions, they can be scanned for spots of fluorescence, indicating a protein–small molecule interaction.

Workflow – Synthese und Assay von Kollektionen

Programm

- Synthese oder Kauf einer Kollektion möglichst diverser Moleküle
- Assay

One Bead - One Compound

- Synthese an **Makrobeads**
- Abspaltung vom Harz ergibt eine Stammlösung
- Verwendung in Screening-Kampagnen

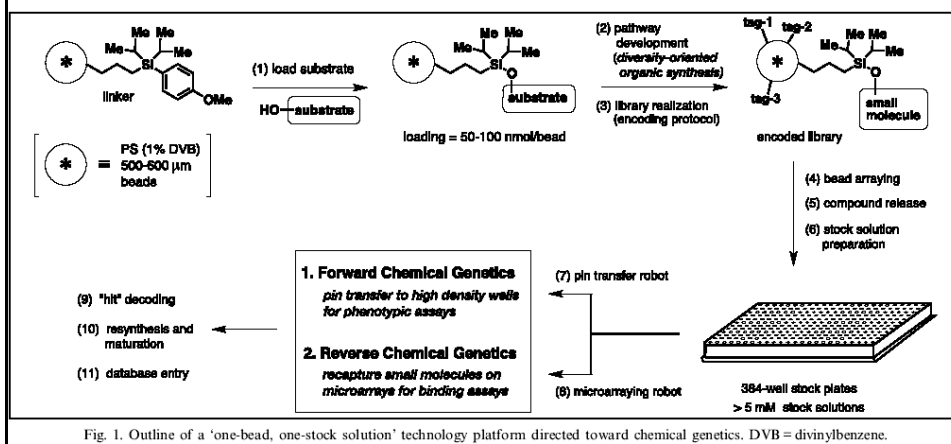


Fig. 1. Outline of a 'one-bead, one-stock solution' technology platform directed toward chemical genetics. DVB = divinylbenzene.

Bsp. für Small Molecule Microarray

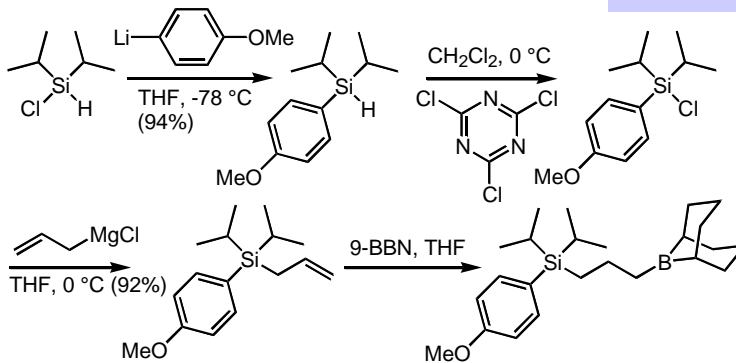
1. Synthese von Molekülen am Harz

- Ziel: Pro Harzkugel eine Substanz in ausreichender Menge (50 nmol)
- Bsp.: MG = 400: 50 nmol = 0.02 mg (20 µg)
- gelöst in 10 µL DMSO: 5 mM Lösung (Stammlösung, stock solution)

Prinzipieller Aufbau eines Harzes



Synthese eines **Linkers** (Brücke zwischen Harz und Molekül)



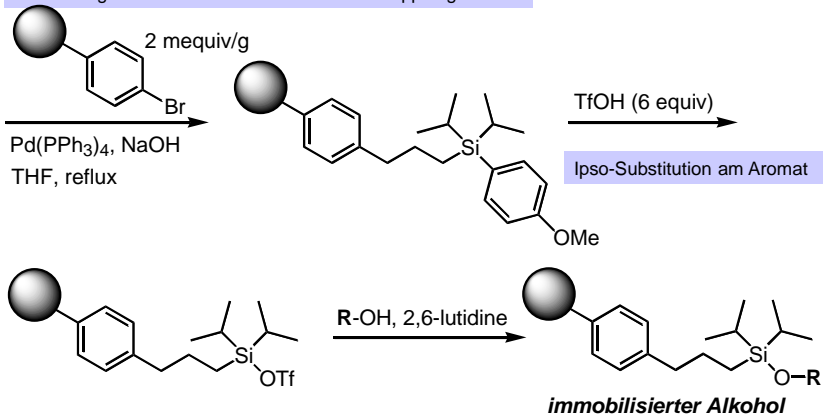
Shair, M. D.; Schreiber, S. L. et al.: An Alkylsilyl-Tethered, High-Capacity Solid Support Amenable to Diversity-Oriented Synthesis for One-Bead, One-Stock Solution Chemical Genetics. *J. Comb. Chem.* **2001**, *3*, 312-318.

Immobilisierung am Harz

Moleküle (Grundbausteine) werden als Silylether am Harz gebunden

- Voraussetzung: Es muss eine Alkoholfunktion vorliegen

Verbindung mit dem Harz über Suzuki-Kreuzkupplung



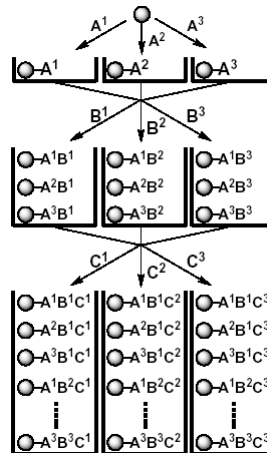
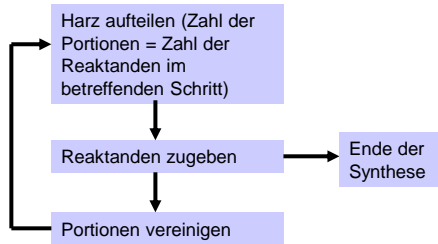
Split and Mix Solid Phase Synthesis

Prinzip

- Möglichst viele Moleküle mit wenig Aufwand
- Harzkugel quasi als Mini-Reaktionsgefäß

Vorgehensweise

- Mix, Split, React



$$N = n_1 \times n_2 \times n_3 \times n_i$$

n_i = Zahl der Reaktanden pro Cyclus

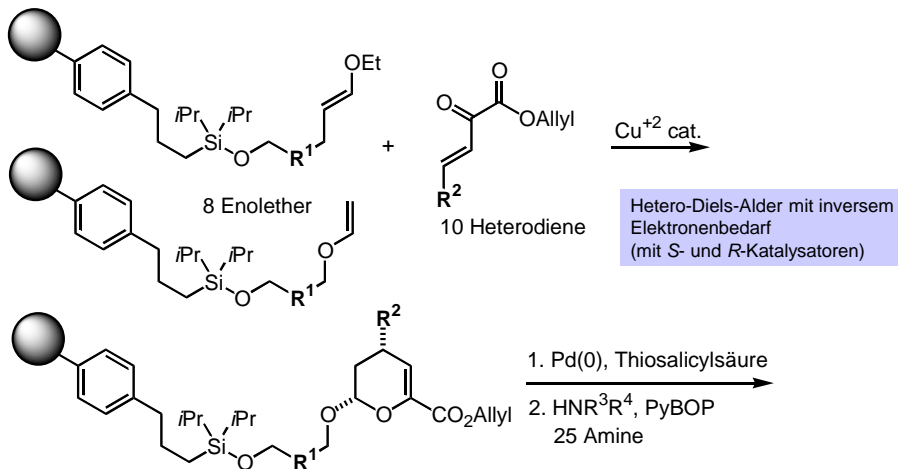
Welches Molekül ist auf einer Harzkugel? Tagging (Markierungen, die mittels GC eine Zuordnung der eingesetzten Reaktanden erlauben)

Acc. Chem. Res. 1996, 29, 155

Konkretes Beispiel

Schlüsselreaktion

- Hetero-Diels-Alder-Reaktion von Enolethern mit α,β -ungesättigten Carbonylverbindungen
- Carboxylgruppe am Heterocyclus wird mit Aminen derivatisiert



Zusammenfassung / Lernziele

- **Ziel:** möglichst viele Moleküle in kurzer Zeit herzustellen
- zwei Prinzipien
 - Parallelsynthese
 - Split-Mix-Synthese
- Synthesen am Harz haben gewisse Vorteile
 - Überschuss an Reaktanden und Reagenzien ist gut möglich
 - Abtrennung durch simple Filtration
 - für Automation geeignet (klassische Bsp.: Peptid- und Oligonucleotid-Synthese)
- wichtiges Harz
 - Polystyrol, quervernetzt mit DVB
 - Modifikation: Tentagel, aufgepropftes Polyethylenglykol (gut für polare LM)
- Funktionalisierung von Polystyrol
 - Bsp.: Friedel-Crafts-Alkylierung, Bromierung, dann Metallierung
- Linker: Säurelabil, photochemisch labil, Safety-Catch-Linker
 - (Wang, Rink-Linker)
- Benzodiazepin-Kollektion durch Parallelsynthese
- Microarrays
- Dihydropyran-Kollektion durch Split-Mix-Synthese (one bead, one compound)
 - Linker für Immobilisierung von Alkoholen (R/Pr_2Si-X Rest am Polystyrol)