

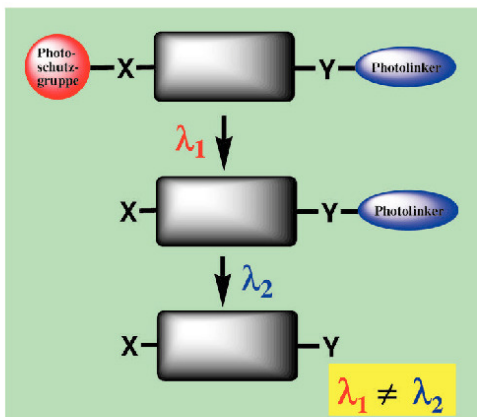


Martin Kessler (Autor)

## Photochemisch orthogonale Festphasensynthesen

Martin Keßler

### Photochemisch orthogonale Festphasensynthesen



 Cuvillier Verlag Göttingen

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/1414>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

# 1 Kombinatorik und Festphasensynthese

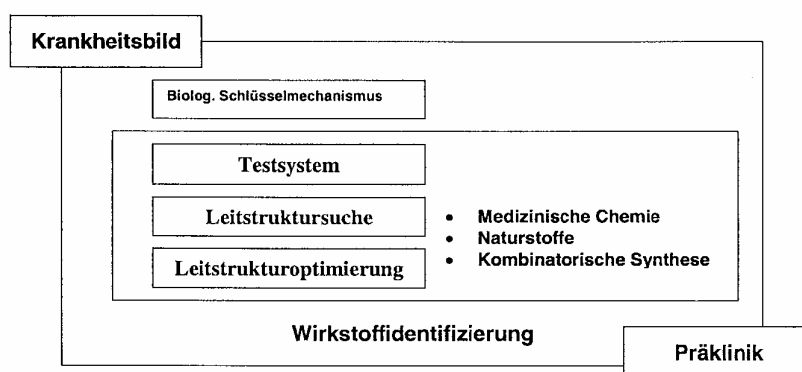
## 1.1 Einleitung

Die kombinatorische Chemie hat sich über gut zwei Jahrzehnte von einem zunächst weniger beachteten Randgebiet der Synthesechemie zu einem leistungsfähigen Synthesekonzept entwickelt, das in kurzer Zeit die gleichzeitige Herstellung unterschiedlicher Substrate ermöglicht. Das Vorbild findet sich in der Natur, wo durch die Kombination einfacher Bausteine, wie etwa der Aminosäuren, eine unermeßliche Vielfalt an Lebensformen entstanden ist. Gerade die chemisch-pharmazeutische Branche setzt diese Methode mit Erfolg ein, wenn es gilt, eine Vielzahl von Substanzen für die Wirkstoffsuche bereitzustellen. Innerhalb kurzer Zeit können mit verhältnismäßig geringem wirtschaftlichem Aufwand zahlreiche Verbindungen hergestellt werden, die schließlich in sogenannten Substanzbibliotheken zur Verfügung stehen. Wirkstoffe haben bei geringer Konzentration eine ausgeprägte physiologische Wirkung. Diese können sowohl Arzneistoffe, als auch Pestizide für die Landwirtschaft sein.<sup>1</sup>

Zu Beginn jeder Wirkstoffentwicklung stehen die Leitstruktursuche und die Leitstrukturoptimierung.<sup>2,3,4</sup> Dies setzt voraus, daß es mit molekularbiologischen Methoden gelingt, Proteine (Enzyme, Rezeptoren, Ionenkanäle) zu finden, die mit den Krankheiten ursächlich in Verbindung stehen. Ihre Strukturaufklärung macht es möglich, die Ursache von Krankheiten auf molekularer Ebene zu verstehen und öffnet die Tür zum rationalen Wirkstoffdesign.<sup>2,4</sup>

Bei der Leitstruktursuche werden viele verschiedenartige Substanzen durch *In-vitro*-Tests, die mit dem therapeutischen Schlüsselmechanismus gut übereinstimmen sollten, auf ihre Wirksamkeit überprüft. Pro Tag können mit ausgereiften Testsystemen Tausende neuer Verbindungen geprüft werden. Dank neuer dreidimensionaler Rechenmodelle können die üblicherweise relativ niedrigen Trefferquoten von weniger als 1 % weiter erhöht werden, da Wechselwirkungen zwischen dem Therapeutikum und dem biologischen Zielmolekül im Vorfeld simuliert werden können.<sup>2</sup> Die Abschätzungen der Computermodelle können aber die biologischen Primärtests wegen der Komplexität der Interaktionen nicht ersetzen. Die erfolgreichen Treffer werden anschließend auf ihre Eignung als Leitstruktur überprüft. Viele Verbindungen scheiden weiterhin aus, wenn ihre Wirkung zu schwach, zu unspezifisch oder die Verfügbarkeit schlecht ist.

Die Leitstrukturoptimierung ist die systematische Modifikation der gefundenen Leitstruktur zur Verbesserung der Wirksamkeit. Durch die gewonnenen experimentellen Daten und mit der Unterstützung von computergestützten Rechenmodellen können Struktur-Wirkungs-Beziehungen gefunden werden, die zum optimierten Zielmolekül führen. Hat diese Zielverbindung die toxikologischen und klinischen Prüfungen bestanden, so steht sie nach einem langen und kostspieligen Prozeß als zulassungsfähiges Medikament zur Verfügung.



**Abbildung 1:** Der Weg zu einem neuen Wirkstoff.

### 1.1.1 Kombinatorische Festphasensynthese

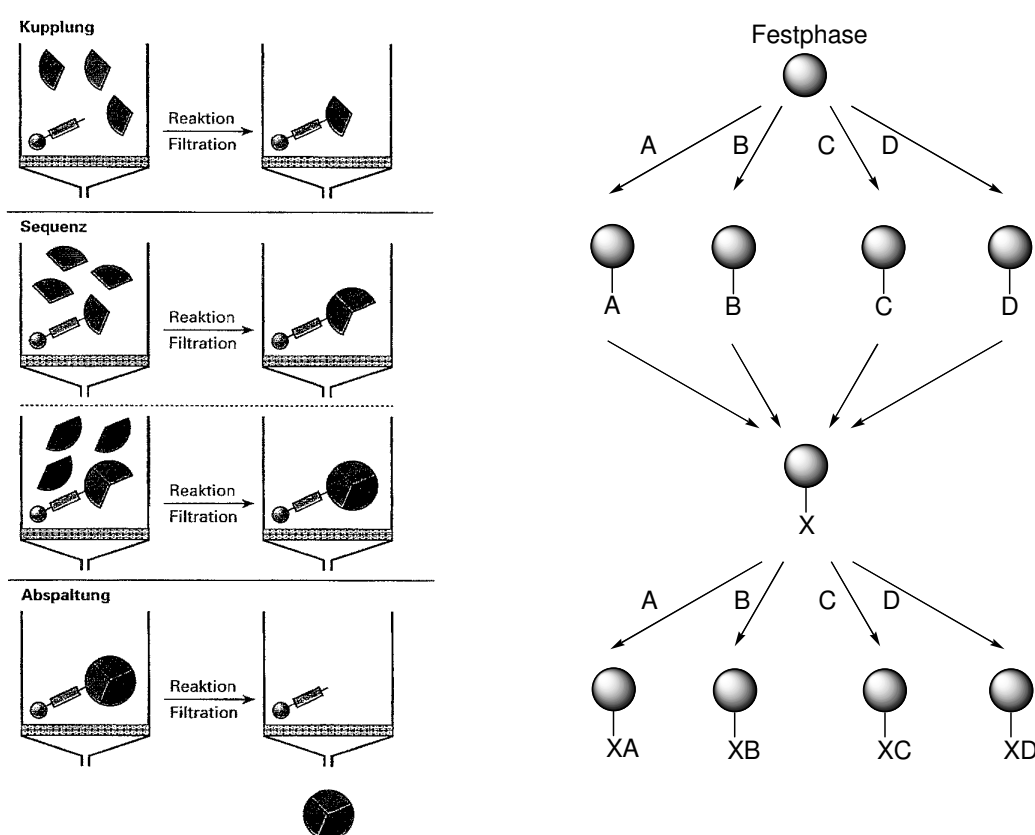
Kombinatorische Verfahren sollen gleichzeitig unterschiedliche Produkte mit definierter Struktur liefern,<sup>5</sup> die in Substanzbibliotheken zusammengefaßt werden. Chemische Kombinatorik ist in flüssiger und an fester Phase möglich.<sup>4,6</sup>

Die Vorteile der Festphasensynthese liegen in der einfachen Automatisierbarkeit der einzelnen Reaktionsschritte, wobei Reagenzienüberschüsse durch Filtration und Ausspülen leicht entfernt werden können. Unter den verschiedenen Strategien zur Erzeugung molekularer Vielfalt ist die Synthese von *one-bead-one-compound*-Bibliotheken mit Hilfe der *split-and-mix*-Synthese eine der effektivsten und elegantesten.<sup>4</sup>

Die Nachteile liegen zum einen in den beschränkten analytischen Verfahren, zum anderen in den eingeschränkten synthetischen Methoden, bedingt durch die Inkompatibilität des Trägermaterials oder des Linkers. Die Umsetzungen müssen stets vollständig sein, weil eine Reinigung von Zwischenstufen nicht möglich ist. Dies setzt aber große Reagenzienüberschüsse voraus, die ihrerseits wieder zu unerwünschten Nebenreaktionen führen können. Quell- und Diffusionsprobleme des Kunstharzträgers wegen

Aggregationserscheinungen, beispielsweise bei Peptidsynthesen, können ebenfalls Schwierigkeiten bereiten.

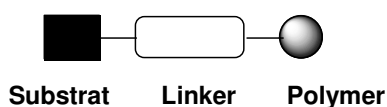
Die Synthese in flüssiger Phase hat den Vorteil, daß alle Reaktionen ohne Anpassung der Bedingungen möglich sind und auch alle gängigen analytischen Methoden (NMR, MS, Chromatographie, optische Verfahren) zur Reaktionskontrolle verfügbar sind. Es bestehen grundsätzlich auch keine Beschränkung in der Größe der Reaktionsansätze. Die Nachteile liegen in der aufwendigeren Reinigung der Produkte und der erschwerten Automatisierbarkeit der Syntheseschritte.



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung einer Festphasensynthese (links) und der *split-and-mix*-Methode (rechts). **X:** A, B, C, oder D.

Nach den Pionierarbeiten von Merrifield<sup>7</sup> im Gebiet der Festphasenpeptidsynthese 1963 baute Letsinger<sup>8</sup> kurze Zeit später erstmals Oligonucleotide mit dem neuen Verfahren auf. Der entscheidende Durchbruch der Methode erfolgte allerdings erst mit der Einführung von Hochdurchsatzverfahren während der vergangenen zwanzig Jahre. Hält man sich vor Augen, daß für ein gut funktionierendes Syntheselabor ein Arbeitstag pro neue Substanz veranschlagt

wird,<sup>4</sup> so erkennt man schnell die Vorzüge der kombinatorischen Chemie, wenn Hunderte neuer Substanzen geprüft werden sollen. Mittlerweile kommt die Festphasensynthese in fast allen Gebieten der organischen Chemie zum Einsatz. Der zunehmende Erfahrungsschatz bezüglich der Handhabung erlaubt eine schnellere Anpassung von Reaktionsbedingungen, als dies vor einigen Jahren noch der Fall war. Unter industriellen Gesichtspunkten überwiegen daher die Vorteile der Festphasentechnik gerade hinsichtlich der einfacheren Automatisierbarkeit.

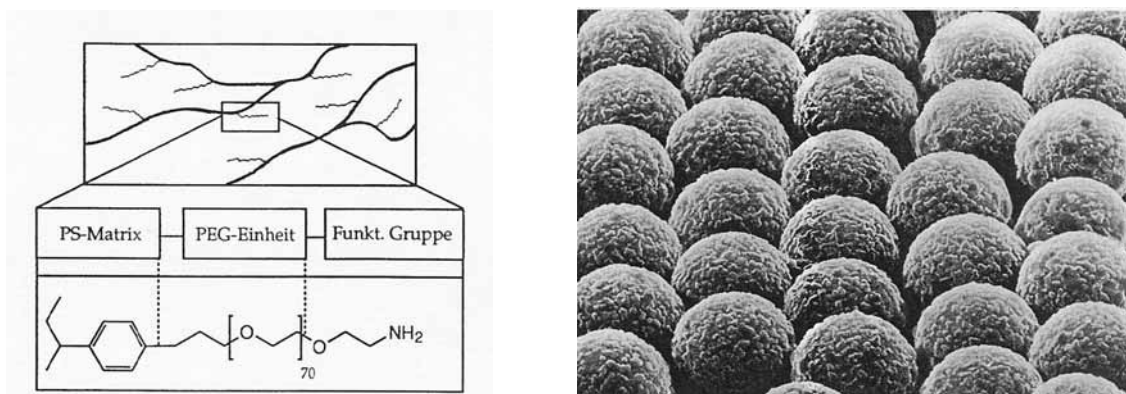


**Abbildung 3:** Festphasensystem.

### 1.1.2 Trägermaterialien

Das am häufigsten eingesetzte Trägermaterial ist Polystyrol, das mit 1-2 % Divinylbenzol quervernetzt ist, was entscheidenden Einfluß auf die Quellfähigkeit, die Porengröße und die mechanische Stabilität hat.<sup>9</sup> Üblicherweise werden Polystyrolharze in der Form kleiner Kügelchen (Durchmesser 38-75 µm), sogenannter *Beads*, eingesetzt.<sup>7</sup> Es sind jedoch auch andere Geometrien wie Laternen, Kronen und Pins erhältlich. Kieselgur und Glas finden ebenfalls Verwendung als Trägermaterialien.

Eine Weiterentwicklung der Polystyrolträger sind die PEG-PS-Harze (Polyethylenglycol-Polystyrol-Copolymere), die von Rapp und Bayer eingeführt wurden.<sup>10</sup> Es handelt sich um quervernetzte Polystyrolharze mit Polyethylenglycolketten, die an ihren freien Enden funktionalisiert sind und als *TentaGel*, *ArgoGel* oder *NovaGel* im Handel sind. Sie weisen als Vorzüge einheitliche Größen der Harzkügelchen (90-130 µm) und hohe mechanische Stabilität beim Schütteln und bei Ultraschallbehandlung auf. Die gute Quellfähigkeit der PEG-PS-Harze sowohl in Wasser, als auch in organischen Lösungsmitteln erleichtert die Festphasensynthese enorm (Tabelle 1).



**Abbildung 4:** Chemische Struktur und Mikroskopaufnahme von TentaGel-Harz.

**Tabelle 1:** Vergleich der Quellvolumina von Polystyrol- und TentaGel S-Harz in einigen Lösungsmitteln.

Lösungsmittel	Wasser	Toluol	MeOH	THF	DMF	DCM
Polystyrol-Harz <sup>a</sup>	-	7	2	8	3	7
TentaGel-Harz <sup>b</sup>	4	5	4	6	5	5

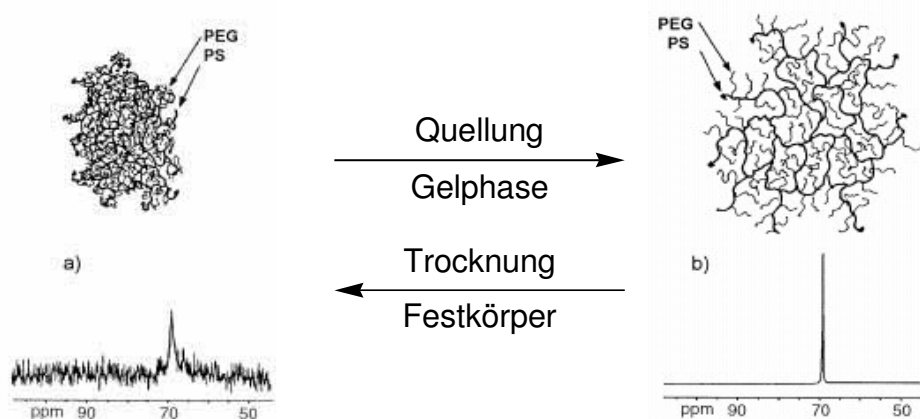
<sup>a</sup>Trockenvolumen Polystyrol-Harz: 1.6 ml/g (0.3 – 2.5 mmol/g)

<sup>b</sup>Trockenvolumen TentaGel-Harz: 1.7 ml/g (0.25 – 0.45 mmol/g)

Aufgrund der guten Solvataion der PEG-PS-Harze lassen sich Reaktionen und <sup>13</sup>C-NMR-Messungen an diesen Festphasen unter "quasi-homogenen" Bedingungen durchführen.

## 1.2 Analytische Methoden an der Festphase

Die zweifellos aussagekräftigste Untersuchungsmethode für niedermolekulare Substrate an Polystyrolharzen ist die Gelphasen-NMR-Spektroskopie. Die Signale sind in der Regel breit wegen der Anisotropie der chemischen Verschiebung. PEG-PS-Harze liefern wegen der guten Beweglichkeit der solvatisierten PEG-Ketten im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum relativ scharfe Signale.<sup>11</sup> Es sind auch  $^{19}\text{F}$ -,  $^{15}\text{N}$ -, und  $^{31}\text{P}$ -Messungen möglich.<sup>12,13,14</sup>



**Abbildung 5:**  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von nicht solvatisiertem (a) und solvatisiertem (b) TentaGel.<sup>15</sup>

Ferner können Infrarotspektren in KBr-Preßlingen oder direkt an einzelnen *Beads* aufgenommen werden.<sup>16</sup> Eine direkte massenspektrometrische Untersuchung mittels MALDI-ToF-MS ist allenfalls bei photolabil gebundenen Substraten möglich.<sup>17</sup> Mit Farbreaktionen wie dem qualitativen Kaisertest<sup>18</sup> oder dem quantitativen photometrischen Pikrattest<sup>19</sup> für primäre Amine lassen sich Hinweise auf funktionelle Gruppen und die Harzbeladung gewinnen. In Peptidsynthesen wird häufig die Titration und photometrische Bestimmung der Fmoc-Schutzgruppe eingesetzt.<sup>20</sup> Der Reaktionskontrolle und Beladungsbestimmung dienen bei halogen-, stickstoff- oder schwefelhaltigen Proben auch Elementaranalysen.<sup>21</sup>

### 1.2.1 Der Linker

Der erste essentielle Schritt einer jeden Festphasensynthese ist die Anbindung des Substratmoleküls an das Trägerharz. Die Verbindung zwischen dem polymeren Rückgrat des Trägers und dem Substrat bildet der sogenannte *Linker*. Der Linker stellt eine bifunktionelle Schutzgruppe dar, die so konzipiert ist, daß die stabilere und während der ganzen

Synthesesequenz inerte Bindung zum Trägerharz gerichtet ist, während die am Ende spaltbare Bindung zum Substratmolekül zeigt.

Der ideale Linker zeichnet sich durch einen hohen Umsatz bei der Knüpfung an die Festphase bei möglichst geringem Arbeits- und Zeitaufwand aus. Zudem soll er kostengünstig und leicht herzustellen sein. Er muß die gesamte Synthese unbeschadet überstehen und am Ende eine effiziente Abspaltung des Zielmoleküls erlauben, ohne dieses dabei zu beschädigen. Das gewünschte Produkt sollte leicht aufgearbeitet und Verunreinigungen sollten einfach abgetrennt werden können.<sup>22,23</sup> Gerade der letzte Gesichtspunkt bereitet manchmal Probleme, da teilweise sehr drastische Bedingungen für die Linkerspaltung nötig sind.

Neben den gebräuchlichen, durch Säuren, Basen oder andere Reagenzien<sup>22</sup> spaltbaren Linkern wurden auch *traceless*-Linker<sup>6,24,25</sup> entwickelt, die nach der Spaltung am Zielmolekül keine funktionelle Gruppe, sondern lediglich eine C- oder C-H-Einheit hinterlassen. Zusammenstellungen gebräuchlicher Festphasenlinker und Abspaltungstechniken finden sich in ausführlichen Übersichtsartikeln.<sup>22,26</sup>

Besonderes Interesse kommt Linkern zu, die mit UV-Licht gespalten werden können. Diese sogenannten photolabilen Linker bieten eine Reihe von Vorteilen. Zum einen ist die Spaltung mit Licht eine milde und sehr kostengünstige Methode, die auch unter neutralen Bedingungen stattfinden kann. Diese Orthogonalität zu den sauren und basischen Reaktionsbedingungen erhöht die Flexibilität in der Syntheseplanung. Zum anderen kann die Zielverbindung vom Harz abgespalten werden, nachdem andere Schutzgruppen bereits entfernt worden sind, was beispielsweise nachfolgende Aufarbeitungsschritte in homogener Phase erübrigt und ein sehr reines Produkt liefert. Die Menge an abgespaltenem Produkt läßt sich dabei über die Belichtungsdauer regulieren.<sup>27</sup>

### 1.2.2 Orthogonalität der Linker und Schutzgruppen

Zueinander orthogonale Schutzgruppen lassen sich selektiv in beliebiger Reihenfolge entfernen.<sup>28</sup> Ein orthogonales System liegt beispielsweise vor, wenn säure-, basen- und photolabile Schutzgruppen kombiniert werden. *Photolabile Schutzgruppen* stellen eine interessante Untergruppe dar, da sie ohne Reagenzienzugabe gespalten werden. Dieser Umstand erhöht die Verträglichkeit mit anderen funktionellen Gruppen.

Kombinationen unterschiedlicher, wellenlängenselektiv spaltbarer Photoschutzgruppen waren bis zum Jahr 2000 noch nicht beschrieben worden. Eine photochemische Orthogonalität kann nach einem Vorschlag von Bochet als *chromatische Orthogonalität* bezeichnet werden.<sup>29</sup>