

EINFLUSS DER HARZ-STRUKTUR AUF DEN PEPTID-BINDUNGS-
SCHRITT DER MERRIFIELD-SYNTHESE

A. Losse

Sektion Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-
Wittenberg, DDR

(Received in Germany 15 November 1971; received in UK for publication 30 November 1971)

In der Merrifield-Peptidsynthese werden als Trägermaterial gelpo-
röse 1-2% mit Divinylbenzol quervernetzte Polystyrol-Harze eingesetzt,
welche in organischen Solventien gut quellen und ein rasches Eindiffundieren
von Kupplungskomponenten, Reagentien sowie Lösungsmitteln ermöglichen.
Wir haben die in Tabelle 1 aufgeführten variierten Harztypen¹⁾(B-E) auf
ihre Eignung als Trägermaterial zur Peptidsynthese im Vergleich zur Merri-
field-Matrix (A) quantitativ untersucht. Als Bewertungskriterium dienten
unter Standardbedingungen die Diffusionsgeschwindigkeit von Boc-Gly in die
Matrix sowie die matrixnahen Kupplungsausbeuten von Boc-Gly mit Gly-(P)
(Typ A-E) und mit Val-(P) (Typ A-E).

Tabelle 2 zeigt die durch Ermittlung der Konzentrationsabnahme in
der Lösung erhaltenen Diffusionswerte.

Tabelle 2 Diffusion von Boc-Gly in Gly-Harze des Typs A-D
(Prozentwerte bezogen auf Aminosäurebeladung, Molverhältnis
Boc-Gly/Gly-(P) = 3:1 in 0,06 mol CH₂Cl₂)

Zeit (Min)	A	B	C	D	Typ mmol Gly/ g Harz
2	94	70	0	50	
20	145	128	32	75	
30	145	128	57	83	
240	145	128	88	110	

Tabelle 1 Charakterisierung der eingesetzten Styrol-Divinyl-benzol-Copolymerisate

Typ	Harze	Divinyl- benzol %	Korngröße mm	Rüttvolumen ml/g	Gesamtporen- volumen ml/g	mittl. Poren- radius \bar{r}	spez. Ober- fläche \bar{a}	Quellung in CH_2Cl_2 ml/g
A	Merrifield- Harz (Gelporös)	2	0,02-0,08	1,63	-	-	-	5,28
B	Makroporöses Harz I	8	0,1 - 0,3	5,05	1,282	1630	20,45	7,45
C	Makroporöses Harz II	10	0,1 - 0,3	2,90	0,324	260	51,30	5,28
D	Makroporöses Harz III	12	0,1 - 0,3	2,86	0,758	280	63,5	4,95
E	Schalenharz ⁺	2	0,06-0,1	0,91	-	-	-	1,10

+ Geringe Beladung mit Polystyrol-2,0 Divinylbenzol auf Glaskugeln (0,06-0,09 mm), entsprechend einer mittleren Schichtdicke von 4,5 μm .

Man erkennt, daß die Sättigung der makroporösen Harze langsamer erreicht wird und tiefer liegt als bei der Merrifield-Matrix, wobei Abstufung von Diffusionsgeschwindigkeit und Sättigungswert durch Porenvolumen bzw. -radius festgelegt werden.

In Tabelle 3 und 4 sind die mit Pyridin-Hydrobromid^{2,3)} gefundenen Kupplungsraten für die Gly-Gly- und Gly-Val-Bindung an den verschiedenen Trägern angeführt.

Tabelle 3 Kupplung von Boc-Gly mit Gly-Harzen (Typ A-E)
(Kupplungsausbeuten in % bezogen auf Aminosäurebeladung, Mol-
verhältnis Boc-Gly : DCCI : Gly-(P) = 3:3:1 in 0,06 mol CH₂Cl₂,
A: Zusatz von Boc-Gly und DCCI bei t = 0, b: Zusatz von DCCI
(t=0) nach 4-stündigem Bindiffundieren von Boc-Gly)

Zeit	A		B		C		D		E	Typ mmol Gly/ g Harz
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	
10 Min	85,0	85,0	72,3	72,0	56,0	61,4	57,1	80,5	86,0	
30 Min	88,0	88,0	81,1	81,2	58,5	67,0	71,6	85,3	87,0	
2 Std.	89,0		86,2		76,0		85,4		93,0	
4 Std.	90,6		89,4		77,0		88,8		95,4	
16 Std.	93,6		92,0		83,0		89,0		96,5	

Tabelle 4 Kupplung von Boc-Gly mit Val-Harzen (Typ A-E)
Kupplungsausbeuten in % bezogen auf Aminosäurebeladung, Mol-
verhältnis Boc-Gly : DCCI : Val-(P) = 3:3:1 in 0,06 mol CH₂Cl₂

Zeit	A		B		C		D		E	Typ mmol Val/ g Harz
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	
30 Min	96,8		91,4		61,5		69,2		96,0	
2 Std.	97,7		95,0		77,6		81,5		98,0	
16 Std.	98,0		96,0		85,2		86,6		98,9	

Daraus ergeben sich folgende Aussagen:

1. Die Umsatzgeschwindigkeiten und -raten folgen ebenfalls den Poren-

volumina bzw. Durchmesser, wobei Typ B bei besserer mechanischer Stabilität und Filtrierbarkeit dem Merrifield-Harz kaum nachsteht.

2. Harz A und B zeigen im Vergleich zur Reaktionsgeschwindigkeit eine hohe Diffusionsgeschwindigkeit (Tabelle 2), wodurch die Sättigung der Matrix in wenigen Minuten erreicht wird und nicht geschwindigkeitsbestimmend ist. Eine der Reaktion vorgeschaltete 4-stündige Sättigung durch die Boc-Aminosäure bringt deshalb hier (Tabelle 3, Reihe a und b) keine Steigerung der Anfangsraten, während sich bei Typ C und D mit Diffusionsgeschwindigkeiten der Größenordnung 4 Stunden die vorausgegangene Sättigungsperiode deutlich bemerkbar macht.

3. Bestimmend für die Konzentration der Boc-Aminosäuren in der Matrix sind Verteilungs- und Adsorptionsgleichgewichte, nicht aber eine stöchiometrischen Verhältnissen folgende Salzbildung⁴⁾. Wegen der schnellen Einstellung des Konzentrationsgleichgewichtes in der Merrifield-Matrix sollte hier eine längere Diffusionsperiode vor der Kupplungsreaktion entbehrlich sein. Da die Diffusionsgeschwindigkeit bei den gelporösen Harzen nicht geschwindigkeitsbestimmend ist, liefert das Schalenharz E mit dem Merrifield-Harz vergleichbare Werte⁵⁾.

4. Die Boc-Aminosäure zeigt unter den Standardbedingungen mit Val-Harzen größere Umsatzraten als mit Gly-Harzen gleicher Struktur. Das bestätigt die Vorstellung, daß C-terminales Gly besser als sterisch gehinderte Aminosäuren auch an abgeschirmten Stellen der Matrix gebunden wird und daher der Kupplung mit weiteren Aminosäuren nicht voll zugänglich ist. Eine Ausnahme hiervon bildet der Harztyp D mit relativ hoher innerer Oberfläche, die eine mehr exponierte Bindung des Gly ermöglicht.

Über die Anwendung makroporöser Harze des Typs B zur Synthese von Peptiden wird später berichtet.

Herrn Prof. Dr. Dr. F. Wolf danke ich für die Unterstützung.

Literatur

1. A. Losse, Z. Chem. 11, (1971) im Druck
2. L. Dorman, Tetrahedron Letters, 2319 (1971)
3. G. Losse und R. Ulbrich, Z. Chem. 11, 346 (1971)
4. K. Esko und S. Karlson, Acta Chem. Scand. 24, 1122 (1970)
5. E. Bayer, H. Eckstein, K. Hägele, W. König, W. Brüning, H. Hagenmaier und W. Parr, J. Amer. Chem. Soc. 92, 1735 (1970)