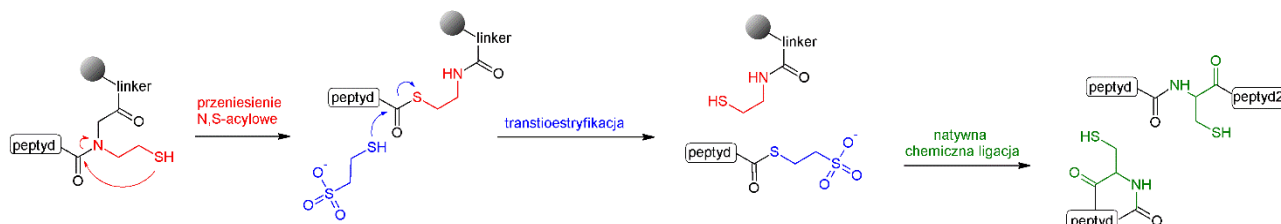


1. Cel projektu

Celem projektu jest badanie zastosowania analogów N-(2-tioetylo)glicyny do ortogonalnego uwalniania peptydów z żywicy zgodnie ze strategią syntezy peptydów na nośniku stałym (SPPS) i optymalizacja procesu. Uwolnienie zachodzi za pośrednictwem przeniesienia reszty acylu z atomu azotu na atom siarki reszty N-(2-tioetylo)glicyny wbudowanej w nośnik stały, a następnie transtioestryfikację z 2-merkcaptoetanosulfonianem sodu (MESNa), co prowadzi do uwolnienia peptydu w formie tioestru (Schemat 1). Powstała biblioteka aktywnych tioestrów peptydowych może być przekształcona w wyniku łagodnej hydrolizy w bibliotekę peptydów lub poddana natywnej chemicznej ligacji (NCL) z modelowymi peptydami zawierającymi na końcu-N resztę cysteiny, celem zbadania zastosowania tej metody do jednoczesnego uwolnienia oraz ligacji, prowadzącej do otrzymania większych peptydów oraz małych natywnych białek. Metoda ta posłuży również do jednoreaktorowej cyklizacji tioestrów peptydowych z N-końcową cysteiną prowadzącej do otrzymania peptydów cyklicznych.



Schemat 1. Uwalnianie peptydów z żywicy za pośrednictwem przeniesienia N,S-acylowego N-(2-tioetylo)glicyny oraz transtioestryfikacji prowadzącej do uzyskania aktywnych tioestrów peptydowych do natywnej chemicznej ligacji oraz wewnątrzcząsteczkowej ligacji.

2. Opis badań, powodów, dla których podjęta została ta tematyka badawcza

Ortogonalne metody uwalniania peptydów z nośnika stałego pełnią ważną rolę w kombinatorycznej chemii peptydów, szczególnie w bibliotekach typu OBOC – jedno ziarno – jeden związek, które umożliwiają szybkie poszukiwanie aktywnych biologicznie związków z użyciem metody “mieszaj i dziel” (ang. mix-and-split) prowadzącej do otrzymania milionów peptydów. Małe biblioteki peptydowe zostaną zsyntezowane przy pomocy strategii SPPS i uwolnione ilościowo z żywicy celem zwiększenia zakresu stosowania oraz optymalizacji opracowywanej przez nas metody.

Powstałe w wyniku ortogonalnego uwolnienia biblioteki tioestrów peptydów zostaną poddane natywnej chemicznej ligacji z zawierającymi na końcu-N resztę cysteiny lub selenocysteiny peptydami w łagodnych warunkach buforów wodnych. NCL jest główną metodą syntezy trudnych do zsyntezowania peptydów i białek, które nie mogą zostać otrzymane tradycyjną metodą SPPS lub ich synteza tą metodą nie cieszy się zadowalającą wydajnością. W związku z powyższym zamierzamy zastosować tą metodę do syntezy aktywnych biologicznie liniowych oraz rozgałęzionych peptydów w połączeniu z ich uwolnieniem z nośnika stałego. Szczególnie zainteresowanie budzi opisana ostatnio w literaturze jednoreaktorowa cyklizacja peptydów połączona z uwolnieniem z nośnika stałego, którą zamierzamy zastosować do otrzymania krótkich cyklicznych peptydów oraz bioaktywnych, stanowiących wyzwanie, struktur cyklicznych.

3. Spodziewane efekty

Oczekujemy że nowa metoda ortogonalnego uwalniania peptydów ułatwi syntezę oraz badania nad bibliotekami peptydowymi w chemii kombinatorycznej i przezwycięży wady stosowanych obecnie metod, które powodują ograniczenia w badanych sekwencjach i wymagają toksycznych odczynników. Ponadto otrzymane aktywne tioestry mogą być wykorzystane do natywnej chemicznej ligacji co doprowadzi do opracowania nowych ścieżek syntezy aktywnie biologicznie peptydów. W szczególności podejście to posłuży opracowaniu jednoreaktorowej cyklizacji peptydów połączonej z uwolnieniem z żywicy i dalsze opracowanie nowych ścieżek syntezy szerokiej gamy peptydów cyklicznych. Ta szczególna grupa peptydów charakteryzująca się usztywnioną strukturą, która odpowiada za wysoką aktywność biologiczną i odporność na działanie enzymów, jest interesująca z farmakologicznego punktu widzenia. Oczekujemy również, że otrzymamy cykliczne tetra- oraz penta-peptydy, które nadal stanowią wyzwanie syntetyczne.