

Síntese de Peptídeos em Fase Sólida: Otimização da Etapa de Clivagem pelo uso de Microondas

Luiz Henrique R. Ferreira* (IC), Erick Leite Bastos (PQ), Vani Xavier Oliveira Junior (PQ)

* luizhenrique.rf@gmail.com

Laboratório de Processos de Transformações IV, Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Av. dos Estados, 5001, Santo André, SP.

Palavras Chave: Clivagem, Peptídeos, TFMSA, Microondas.

Introdução

Para as sínteses de peptídeos realizadas pela estratégia *t*-Boc¹, a clivagem da ligação éster entre o produto e a resina é realizada em meio ácido. O HF anidro é o ácido mais comum para esta finalidade, apesar do risco em sua manipulação². A utilização de ácidos alternativos (TFMSA/TFA) acarreta em reações mais lentas e com rendimentos insatisfatórios.²

Sabe-se que a eficácia da etapa de clivagem, quando se utiliza a mistura TFMSA/TFA, depende do tipo de resina utilizada e da natureza do primeiro aminoácido acoplado ao copolímero². Portanto, neste trabalho estudamos o efeito da estrutura dos reagentes e das condições de reação sobre o rendimento e tempo de clivagem assistida por microondas (MO) utilizando-se a mistura TFMSA/TFA.

A Tabela 2 apresenta os intervalos de rendimentos da etapa de clivagem, para os diferentes métodos testados. Para o grupo R-Phe[RESINA], a clivagem clássica foi testada em duas temperaturas, sendo que as clivagens realizadas à 0 °C apresentaram melhores rendimentos. Pode-se concluir, portanto, que o aumento da temperatura diminui o rendimento final do peptídeo desejado, devido a uma possível degradação da molécula.

Tabela 2. Rendimentos percentuais da etapa de clivagem, nos diferentes métodos testados.

| Método | R-Gly[Resina] | R-Phe[Resina] |
|-----------------|---------------|---------------|
| Clássica (0°C) | 4,3 a 19,5 | 3,6 a 12,3 |
| Clássica (30°C) | | 4,7 a 8,4 |
| MO-3X | 12,7 a 28,5 | 12,8 a 16,7 |
| MO-6X | 9,7 a 26,9 | 4,8 a 9,6 |

Resultados e Discussão

Tabela 1. Peptídeos sintetizados e testados.

| Lote | Seqüência dos Peptídeos | Resina |
|-------------------|----------------------------------|------------|
| R-Gly[PAM] | NH ₂ -Tyr-Pro-Phe-Gly | PAM |
| R-Gly[Merrifield] | NH ₂ -Tyr-Pro-Phe-Gly | Merrifield |
| R-Gly[BHA] | NH ₂ -Tyr-Pro-Phe-Gly | BHA |
| R-Gly[MBHA] | NH ₂ -Tyr-Pro-Phe-Gly | MBHA |
| R-Phe[PAM] | NH ₂ -Tyr-Pro-Phe-Phe | PAM |
| R-Phe[Merrifield] | NH ₂ -Tyr-Pro-Phe-Phe | Merrifield |
| R-Phe[BHA] | NH ₂ -Tyr-Pro-Phe-Phe | BHA |
| R-Phe[MBHA] | NH ₂ -Tyr-Pro-Phe-Phe | MBHA |

As clivagens por método TFMSA/TFA com MO foram realizados com as peptidil-resinas apresentadas na Tabela 1. As condições experimentais foram: potência 50 W, temperatura 30 °C, em 3 ou 6 ciclos de irradiação (MO-3x e MO-6x, respectivamente). Os resultados foram comparados aos obtidos pelo método de clivagem clássica (sem MO), utilizando-se TFMSA/TFA, em reações de duas horas, sob temperatura de 0 °C e 30 °C.

Os resultados obtidos com as estratégias MO-6x e MO-3x, indicam um aumento no rendimento final da etapa de clivagem, quando comparados ao método clássico, e a uma otimização no tempo de reação, de 60 a 120 minutos para 2 a 5 minutos. Em todos os métodos testados, a resina mais facilmente clivada, ou seja, a menos estável foi a Merrifield. Seguida pela PAM, MBHA e BHA, como já descrito na literatura².

Conclusões

A clivagem de peptídeos assistida por MO em condições pré-otimizadas resultou em um aumento do rendimento de obtenção do peptídeo bruto e uma diminuição considerável do tempo de reação. Dessa forma, desenvolveu-se um novo protocolo de clivagem, que é agora utilizado pelo nosso grupo de pesquisa, eliminando o uso do HF anidro.

Agradecimentos

UFABC, UNIFESP, CNPQ, FAPESP e Capes.

¹Merrifield, R.B. *J. Am Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149.

²Jubilut, G.N., Cilli, E.M., Tominaga, M., et al. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.* **2001**, 49, 1089.