

• 研究论文 •

## 四氢噻唑-2-硫酮用于赖氨酸侧链选择性保护反应

高兴明 叶蕴华\*

(北京大学化学与分子工程学院 教育部生物有机化学与分子工程重点实验室 北京 100871)

**摘要** 用四氢噻唑-2-硫酮(TTT)分解赖氨酸-铜配合物,合成侧链氨基被选择性保护的赖氨酸衍生物  $N^{\alpha}$ -Boc- $N^{\epsilon}$ -Fmoc-L-Lys-OH. 研究结果表明四氢噻唑-2-硫酮分解氨基酸铜配合物比传统试剂( $H_2S$ , EDTA, HCl)速度快,反应彻底,且副产物易除去.

**关键词** 四氢噻唑-2-硫酮(TTT); 赖氨酸衍生物; 氨基酸-铜配合物

## Application of Tetrahydrothiazole-2-thione (TTT) in the Reaction of Selective Side Chain Protection of Lysine

GAO, Xing-Ming YE, Yun-Hua\*

(The Key Laboratory of Bioorganic Chemistry and Molecular Engineering, Ministry of Education, College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871)

**Abstract** A lysine derivative with selectively protected side chain  $N^{\alpha}$ -Boc- $N^{\epsilon}$ -Fmoc-L-Lys-OH was synthesized through decomposition of lysine cupric complex with tetrahydrothiazole-2-thione (TTT). The results indicate that the decomposition is faster and more complete, the by-product was easier to be removed than that with traditional reagents ( $H_2S$ , EDTA, HCl).

**Keywords** tetrahydrothiazole-2-thione (TTT); lysine derivative; amino acid-cupric complex

在含有多功能团的氨基酸如赖氨酸(lysine)、酪氨酸(tyrosine)、精氨酸(arginine)等的多肽合成或与它们有关的其它反应中,根据不同的保护基策略,这些氨基酸的侧链需要进行选择性的保护.通常的方法是首先使其 $\alpha$ -氨基和羧基与二价铜离子形成一个稳定的铜配合物<sup>[1]</sup>,这样氨基酸的侧链基团就可以选择不同的试剂与之反应,从而将其侧链加以保护.然后再将此铜配合物加以分解,可得到侧链保护而 $\alpha$ -氨基游离的氨基酸衍生物.再用其它试剂与 $\alpha$ -氨基反应,即可得到用不同保护基保护的氨基酸衍生物.

有多种方法可分解氨基酸的铜配合物,如  $H_2S$ <sup>[2]</sup>,  $HCl$ <sup>[3,4]</sup>, EDTA<sup>[5]</sup>等.  $H_2S$  法的缺点是  $H_2S$  有毒且气味难闻,分解后的副产物硫化铜易呈胶体状态难以过滤除去.盐酸法分解操作复杂,报道的产率很不一致. EDTA 法分解速度很慢,且分解不够彻底.有文献报道

通过氨基酸的铜配合物法对赖氨酸侧链进行 Fmoc 选择性保护<sup>[6]</sup>,该文献使用  $Na_2S$  分解赖氨酸的铜配合物得到 Lys(Fmoc)-OH.

我们曾成功地用四氢噻唑-2-硫酮(TTT)与  $N$ -保护的氨基酸生成  $N$ -保护氨基酸的活泼酰胺(P-NHCHRCOO-TTT, P 为保护基)用于多肽合成<sup>[7,8]</sup>.在肽键形成过程中,生成的 TTT 副产物用乙酸铜与之形成黄色配合物沉淀过滤除去.因此启发我们可用 TTT 分解氨基酸-铜的配合物,首先用四氢噻唑-2-硫酮(TTT)分解氨基酸铜配合物法合成了 H-Lys(Z)-OH, H-Tyr(Bzl)-OH, 其优点是操作简便,产物纯度高,产率在 80%以上<sup>[9]</sup>.

本文报道用四氢噻唑-2-硫酮(TTT)分解赖氨酸-铜配合物合成了赖氨酸的 $\alpha$ -与 $\epsilon$ -氨基分别被 Boc 和 Fmoc 保护的赖氨酸衍生物即 Boc-Lys(Fmoc)-OH, 合成路线见图 1.

\* E-mail: yhye@pku.edu.cn

Received March 28, 2007; revised June 20, 2007; accepted July 19, 2007.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

FAB-质谱仪: VG-ZAB-HS 或 Bruker APEX™II. 旋光仪: Perkin Elmer MC-241, 元素分析仪: Carlo Erba 1106, Hezaeus CHN-Rapid or ST-02; 熔点仪: Yanaco 显微熔点仪, 温度计未经校正. 四氢噻唑-2-硫酮(TTT)根据文献报道制备<sup>[10]</sup>, 其它试剂为分析纯, 购自北京化工厂, 未经纯化直接使用.

缩写符号: 氨基酸均采用国际纯粹与应用化学协会(IUPAC)和国际生化协会(IUB)所属学术委员会制定的缩写符号(*Eur. J. Biochem.* **1984**, 138, 9~37), 文中未注明的构型均为 *L*-构型. Z: 苄氧羰基, Boc: 叔丁氧羰基, Fmoc: 芴甲氧羰基, OSu: *N*-羟基琥珀酰亚胺酯.

### 1.2 合成部分

#### 1.2.1 $\text{Cu}[\text{Lys}(\text{Fmoc})]_2$ 的合成

H-Lys-OH (0.29 g, 2.0 mmol)溶于 8 mL 0.5 mol/L HCl, 加入  $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$  (0.50 g, 2.2 mmol), 反应液在 95 °C 回流 30 min, 滤出固体. 滤液用 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  调节滤液的 pH 值至 8~9. 加入 10 mL 1,4-二氧六环和 10 mL DMF, 并冷至 0 °C. 随后加入 Fmoc-OSu (0.67 g, 2.0 mmol), 0 °C 下搅拌 30 min, 自然升温至室温搅拌 10 h, 滤出沉淀, 用乙醚和水充分洗涤沉淀, 经真空干燥得蓝色粉末状产物  $\text{Cu}[\text{Lys}(\text{Fmoc})]_2$  0.90 g, 产率 90%, m.p. 210~213 °C.

#### 1.2.2 $\text{Cu}[\text{Lys}(\text{Fmoc})]_2$ 的分解

$\text{Cu}[\text{Lys}(\text{Fmoc})]_2$  (0.4 g, 0.50 mmol)溶于 30 mL 甲醇, 向其中滴加 2 mL 含 0.3 g (2.5 mmol) TTT 的甲醇溶液, 搅拌 5 min 后, 滤出黄色沉淀( $\text{Cu}^{2+}$ -TTT 配合物), 滤液减压蒸干, 残余物用甲醇-水重结晶得白色固体(H-

Lys(Fmoc)-OH) 147 mg, 产率 80%, m.p. 191~194 °C.

#### 1.2.3 Boc-Lys(Fmoc)-OH 的合成

H-Lys(Fmoc)-OH (0.37 g, 1.0 mmol)悬浮在 10 mL DMF 和 20 mL 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  中, 冷至 0 °C, 加入  $(\text{Boc})_2\text{O}$  (0.44 g, 2.0 mmol), 室温搅拌 10 h 后, 加入 100 mL 水, 并用 1 mol/L HCl 调 pH 至 2~3, EtOAc 萃取反应液, 有机相经水和 NaCl 水溶液充分洗涤后, 无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥. 蒸除溶剂, 剩余物用乙酸乙酯-石油醚重结晶得白色结晶(Boc-Lys(Fmoc)-OH) 0.32 g, 产率 74%, m.p. 75~78 °C,  $[\alpha]_D^{20} = -1.4$  (c 1, MeOH), FAB-MS  $m/z$ : 469 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ), 元素分析计算值  $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6$  (%): C 66.65, H 6.88, N 5.98; 实测值(%): C 66.87, H 7.14, N 6.08 [文献值<sup>[11]</sup> m.p. 88~91 °C,  $[\alpha]_D^{20} = -1.4$  (c 1, MeOH)].

## 2 结果与讨论

赖氨酸  $\alpha$ -与  $\epsilon$ -两个氨基如果不经保护直接用于化学反应, 二者没有任何选择性. 但是当赖氨酸与过渡金属形成配合物时,  $\alpha$ -与  $\epsilon$ -两个氨基表现出完全不同的性质, 羧基与  $\alpha$ -氨基可与金属形成稳定的配合物,  $\epsilon$ -氨基却不易参与配位<sup>[1]</sup>. 因此赖氨酸与过渡金属形成配合物后, 只有  $\epsilon$ -氨基参与化学反应. 为了选择性地保护赖氨酸的两个不同的氨基, 赖氨酸首先与碱式碳酸铜在回流条件下反应生成赖氨酸铜配合物, 然后调节反应 pH 至碱性, 使该赖氨酸与 Fmoc-OSu 反应可得  $\epsilon$ -氨基被 Fmoc 保护的赖氨酸铜-配合物,  $\text{Cu}[\text{Lys}(\text{Fmoc})]_2$  (图 2).

侧链经 Fmoc 保护的赖氨酸-铜配合物得到后, 需将配合物解离使其  $\alpha$ -氨基游离出来以便用于  $\alpha$ -氨基与  $\text{Boc}_2\text{O}$  的反应. 本文重点研究用 TTT 法分解氨基酸铜配合物(图 2). 在此反应中四氢噻唑-2-硫酮(TTT)与铜形成比  $\text{Cu}[\text{Lys}(\text{Fmoc})]_2$  更稳定的配合物并以沉淀形式析出

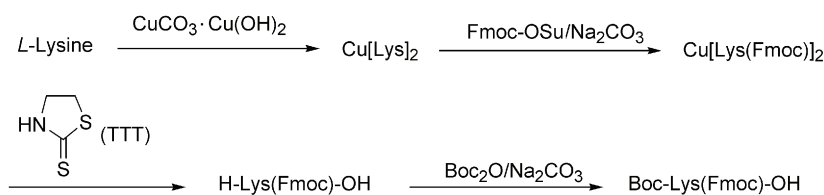


图 1 Boc-Lys(Fmoc)-OH 的合成路线

Figure 1 The synthetic scheme of Boc-Lys(Fmoc)-OH

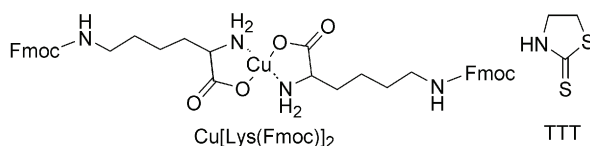


图 2 赖氨酸-铜配合物及四氢噻唑-2-硫酮(TTT)的结构

Figure 2 The structure of lysine-cupric complex and tetrahydrothiazole-2-thione (TTT)

导致赖氨酸-铜配合物的分解. 我们曾研究过 TTT 与铜配合物的单晶衍射, 结果表明该配合物是由铜原子和三个四氢噻唑-2-硫酮分子中的硫原子, 一个氯原子形成的四配位体, 接近四面体构型<sup>[12]</sup>.

同时还用传统的 H<sub>2</sub>S, EDTA, HCl 法分解相同的铜配合物, 进行了对比. 表 1 列出用不同试剂分解赖氨酸-铜配合物结果. 赖氨酸铜-配合物在甲醇溶液中几分钟内即可被 TTT 分解, 所得的侧链经 Fmoc 保护的氨基酸产物溶于甲醇溶液, TTT 与 Cu 形成的配合物以土黄色沉淀的形式析出, 过滤除去. H<sub>2</sub>S 分解法产率高于 TTT 法, 但操作复杂过滤较困难.

EDTA 法分解铜配合物反应较慢且不彻底, 还有少量赖氨酸铜配合物未完全分解, 因此所得产物呈浅蓝色, 熔点也高于用其它方法得到的产物熔点(表 1). HCl 法得到的产率较低. 研究结果表明 TTT 分解氨基酸铜配合物速度快, 反应彻底, 且副产物易除去.

表 1 不同试剂分解赖氨酸-铜配合物结果

Table 1 Comparison of decomposition of Cu[Lys(Fmoc)]<sub>2</sub> to form H-Lys(Fmoc)-OH by different reagents

Reagent	Solvent	Time	m.p./°C	Yield/%
TTT	MeOH	5 min	191~194	80
H <sub>2</sub> S	MeOH	8 h	190~193	86
EDTA	H <sub>2</sub> O	48 h	208~211	75
HCl	H <sub>2</sub> O	30 min	192~194	62

经四氢噻唑-2-硫酮(TTT)分解铜配合物所得的侧链 Fmoc 保护产物 H-Lys(Fmoc)-OH 与(Boc)<sub>2</sub>O 在 DMF-10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 水溶液中反应即可得到 Boc-Lys(Fmoc)-OH, 反应产率 74%.

### 3 结论

四氢噻唑-2-硫酮(TTT)分解氨基酸铜配合物速度

快、反应彻底, 且副产物易除去. 该方法成功地用于赖氨酸侧链的选择性 Fmoc 保护. 除我们已研究过的赖氨酸、酪氨酸外<sup>[9]</sup>, 其它多功能团氨基酸如鸟氨酸、丝氨酸、天冬氨酸、谷氨酸等, 也有望用四氢噻唑-2-硫酮(TTT)分解氨基酸铜配合物方法, 得到侧链被选择性保护的预期产物.

谨以此文敬贺张滂先生九十华诞.

### References

- Greestain, J. P.; Winitz, M. In *Chemistry of the Amino Acids*, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., U. S. A. **1961**, pp. 569~591.
- Neuberger, A.; Sanger, F. *Biochem. J.* **1943**, 37, 515.
- Eckstein, H.; Sievers, R. E.; Beyer, E. *Austus Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 1467.
- Ledger, R.; Stewart, F. H. C. *Aust. J. Chem.* **1965**, 18, 933.
- Morley, J. S. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1967**, 2421.
- Nowshuddin, S.; Reddy, A. R. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5159.
- Li, C.-H.; Yieh, Y.-H.; Lin, Y.; Lu, Y.-J.; Chi, A.-H.; Hsing, C.-Y. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 3467.
- Ye, Y.-H.; Lin, Y.; Lu, Y.-J.; Jin, H.-L.; Li, C.-X.; Ji, A.-X.; Xing, Q.-Y. *Acta Sci. Nat., Univ. Pekinensis* **1984**, 4, 63 (in Chinese).  
(叶蕴华, 林尧, 卢永军, 金恒亮, 李崇熙, 季爱雪, 邢其毅, 北京大学学报(自然科学版), **1984**, 4, 63.)
- Ye, Y.-H.; Fu, G.-Q.; Yu, N.; Li, C.-X.; Lin, Y.; Xing, Q.-Y. *Chin. Sci. Bull.* **1986**, 31, 1320.
- Dewey, C. S.; Bafford, R. A. *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 491.
- Albericio, F.; Nicolas, E.; Rizo, J.; Ruiz-Gayo, M.; Pedros, E.; Giralt, E. *Synthesis* **1990**, (2), 119.
- Zhao, B.-G.; Lin, X.-Y.; Ye, Y.-H. *Acta Phys.-Chim. Sin.* **1985**, 1, 289 (in Chinese).  
(赵宝光, 林秀云, 叶蕴华, 物理化学学报, **1985**, 1, 289.)

(A0703284 LU, Y. J.)