联烯酮介导的无外消旋/差向异构化肽键的形成及其在多肽合成中的应用

赵 华 赵玉芬*

(宁波大学新药技术研究院 浙江宁波 315211)

Allenone-Mediated Racemization/Epimerization-Free Peptide Bond Formation and Its Application in Peptide Synthesis

Zhao, Hua Zhao, Yufen*

(Institute of Drug Discovery Technology, Ningbo University, Ningbo, Zhejiang 315211)

多肽合成在药物研发、疾病诊断、生物医学材料和高性能材料等高科技领域发挥着重要的作用,引起了化学家的广泛关注^[1]。酰胺键形成是多肽合成过程中的根本化学反应,同时其本身也是有机化学的一个重要研究领域^[2]。截止目前,已经有上百种酰胺键构建方法被开发出来^[3],但是真正能够用于多肽合成的酰胺键形成方法非常有限,主要原因是这些方法在构建肽键时所需的光学纯手性原料难以获得。因此,多肽合成主要是通过缩合剂介导的天然 α -氨基酸之间反复缩合来实现的。但传统多肽缩合剂经常会导致氨基酸羰基 α -C位的手性中心发生外消旋化^[4],不但使产物收率降低,而且导致纯化极其困难。另外,固相多肽合成(SPPS)的原子经济性差,给环境的可持续发展带来了很大压力^[5]。现在使用的多肽缩合试剂大多是20世纪50~80年代开发出来的,这些缩合剂在促成肽键形成时会诱发消旋以及其它由于羧酸过度活化造成的副产物。遗憾的是,通过简单地优化现有的多肽合成方法并不能突破以上种种限制,固相多肽合成已经逐渐达到了其技术瓶颈。另一方面,随着多肽药物制剂技术和转运技术不断获得新的突破,多肽药物研发逐步进入了其快速复兴时期,越来越多的多肽药物被开发出来。生物医药研究对大量多肽药物的迫切需求,使得发展新颖、绿色的多肽合成策略成为该领域亟待解决的关键科学问题。

西北工业大学化学与化工学院赵军锋课题组一直致力于解决多肽化学合成与修饰等研究领域的重要问题,他们于2016年成功发现炔酰胺可以用作不消旋的

多肽缩合剂^[6]。通过分析以往缩合试剂(环己基碳二亚胺^[7]、二苯基烯酮亚胺^[8]、炔酰胺)的结构,他们发现这些分子都含有一个亲电性的 sp 杂化中心碳原子。受此启发,他们大胆地提出了基于联烯结构多肽缩合剂的想法,这样新形成的 α -羰基烯基酯中间体由于不存在碱性基团,将有望避免其它缩合试剂中碱性基团引起的 α -碳手性中心外消旋化的风险(图1)。经过系统深入地探索,最终他们发现联烯酮可通过1,4加成及碳-碳双键异构化的串联反应实现对羧酸的活化,关键中间体 α -羰基烯基酯的形成及其后续的氨解反应均以无外消旋和差异异构化的方式自发进行,能够迅速地以几乎定量的收率形成酰胺键^[9],打破了前人曾提出的关于烯基酯不适合于酰胺和多肽合成的观点(图2)。

首先,作者通过一系列羧酸和氨基化合物验证了联烯酮促进的酰胺键形成方法的有效性。结果表明,该策略对于各种底物都有很好的兼容性,以优秀的收率获得相应产物,作者还发现10%的HOBt催化剂可显著提高困难底物的反应速率。接着,作者将该反应体系用于挑战肽键的高效构建,以多种天然或者非天然氨基酸为原料,经过两步法或一锅两步法成功合成了各种二肽化合物。该策略对各种常规氨基保护基和侧链官能团都表现出了广泛的兼容性。为了进一步验证该缩合试剂的通用性,研究人员将其应用于更具挑战性的多肽片段缩合,联烯酮缩合剂克服了以往多肽片段缩合过程中出现的外消旋/异构化现象,以优良的收率合成了目标长链多肽。

* Corresponding author. E-mail: zhaoyufen@nbu.edu.cn. Published online August 23, 2021.

图1 包含有一个亲电性 sp 杂化碳中心的偶联试剂的设计概念
Figure 1 Design concept for coupling reagents containing an electrophilic sp carbon center

图2 联烯酮介导的无外消旋/差向异构化肽键的形成及其在多肽合成中的应用
Figure 2 Allenone-mediated racemization/epimerization-free peptide bond formation and its application in peptide synthesis

为了检验新型联烯酮缩合试剂在多肽药物合成中的应用价值和优势, 研究人员尝试对复杂多肽药物卡非佐米(Carfilzomib)的合成开展研究(图 3)。卡非佐米是一种用于治疗多发性骨髓瘤的抗癌多肽药物, 其环氧药效团对常规多肽缩合条件和氨基脱保护条件都不稳定, 其合成极具挑战性。作者以联烯酮为缩合试剂, 巧妙利用沿 N 端向 C 端的反向肽链延伸策略, 将环氧药效团在合成的后期引入, 避免了其在肽链延伸过程中分解和变质。最终以线性 9 步, 68% 的总收率完成了卡非佐米的合成, 该合成效率明显高于以往的合成策略(26%~38% 总收率)^[10]。众所周知, 固相多肽合成(SPPS)饱受步骤性、原子经济性以及外消旋化导致的产物难以纯化等问题的困扰, 所以发展新的能够用于固相多肽合成的缩合试剂一直是合成化学家面临的巨大挑战。研究人员发现由 20 种氨基酸衍生的 α -羰基烯基酯中间体结构稳定, 能够大量制备和长期储存, 且在氨解过程中不易发生外

图3 以联烯酮为偶联试剂合成卡非佐米和 ACP (65-74)
Figure 3 Synthesis of carfilzomib and ACP (65-74) with allenone as the coupling reagent

消旋化, 是难得的理想固相多肽合成砌块。研究人员在固相载体上以 98% 的纯度成功合成了模型困难肽 ACP (65-74), 表明该方法与固相合成高度相容, 不仅综合了传统活化酯和缩合剂的优点, 同时克服了两种方法的缺

点.

联烯酮缩合剂的成功开发为多肽缩合试剂的设计提供了新思路,开辟了固相多肽合成新途径,特别是其产物纯度高的优点为多肽药物的生产带来更具吸引力的新选择.因此,该工作不但具有重要的学术价值,而且具有广阔的产业化应用前景.

References

- [1] Agouridas, V.; El Mahdi, O.; Diemer, V.; Cargoët, M.; Monbaliu, J.-C. M.; Melnyk, O. *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 7328.
- [2] Lundberg, H.; Tinnis, F.; Selander, N.; Adolfsson, H. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 2714.
- [3] de Figueiredo, R. M.; Suppo, J.-S.; Campagne, J.-M. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 12029.
- [4] El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6557.
- [5] Isidro-Llobet, A.; Kenworthy, M. N.; Mukherjee, S.; Kopach, M. E.; Wegner, K.; Gallou, F.; Smith, A. G.; Roschangar, F. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 4615.
- [6] Hu, L.; Xu, S.; Zhao, Z.; Yang, Y.; Peng, Z.; Yang, M.; Wang, C.; Zhao, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 13135.
- [7] Sheehan, J. C.; Hess, G. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 1067.
- [8] Stevens, C. L.; Munk, M. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 4069.
- [9] Wang, Z.; Wang, X.; Wang, P.; Zhao, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 10374.
- [10] Hughes, D. L. *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *20*, 2028.

(Lu, Y.)