

β -巯基氨基酸的合成与应用

上官豪若^a 黄平^b 戴振亚^{*,a} 王平^{*,b}^(a) 中国药科大学药学院 江苏南京 211100^(b) 上海交通大学化学化工学院 上海市手性药物分子工程重点实验室 上海 200240

摘要 自然化学连接(Native chemical ligation, NCL)是蛋白质化学合成中里程碑式的重要反应。在温和的中性水相缓冲液中,通过自然化学连接可以将N端为半胱氨酸的多肽与C端为硫酯的多肽连接合成带有修饰的蛋白质。天然蛋白质的半胱氨酸丰度仅为1.7%,导致难以找到合适的半胱氨酸反应位点,阻碍了NCL的广泛应用。“自然化学连接-脱硫”的策略首次将连接位点拓展到丙氨酸,启发了化学家们通过不同类型的 β -巯基氨基酸来介导NCL反应,随后通过脱硫反应可以得到天然多肽序列,为蛋白质的合成提供更多选择。近年来,多个课题组完成了 β -巯基苯丙氨酸、亮氨酸、精氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺、赖氨酸、甲硫氨酸、色氨酸、谷氨酸和谷氨酰胺的合成,并应用NCL-脱硫策略合成蛋白质。将对上述 β -巯基氨基酸合成与应用予以综述。

关键词 自然化学连接; β -巯基氨基酸; 脱硫

Synthesis and Application of β -Thiolated Amino Acids

Shangguan, Haoruo^a Huang, Ping^b Dai, Zhenya^{*,a} Wang, Ping^{*,b}^(a) School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu 211100^(b) Shanghai Key Laboratory for Molecular Engineering of Chiral Drugs, School of Chemistry and Chemical Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240

Abstract Native chemical ligation (NCL) is a milestone reaction in protein chemical synthesis. The NCL involves a reaction between an unprotected peptide with C-terminal thioester and a second unprotected peptide with N-terminal cysteine, which could give a new peptide in a neutral aqueous buffer solution. The cysteine abundance of natural proteins is only 1.7%, which makes it difficult to find suitable cysteine reaction sites and hinders the widespread application of NCL. The “NCL-desulfurization” strategy extended the ligation site to alanine, inspiring chemists to mediate NCL reactions through different types of β -thiolated amino acids. After the NCL is completed, native peptide can be obtained through desulfurization reactions. The “NCL-desulfurization” provides more options for protein synthesis. In recent years, several research groups have completed the synthesis of β -thiolated phenylalanine, leucine, arginine, aspartic acid, asparagine, lysine, methionine, tryptophan, glutamic acid and glutamine, and applied NCL-desulfurization strategy to synthesize proteins. In this article, the synthesis and application of the above β -thiolated amino acids are reviewed.

Keyword native chemical ligation (NCL); β -thiolated amino acids; desulfurization

在过去几十年里,研究人员发展了多种蛋白质的合成方法。由Kent课题组^[1]在1994年提出的自然化学连接是化学合成蛋白质的主要方法,通过自然化学连接(Native chemical ligation, NCL)可以将两条未保护的多肽在缓冲溶液中高效连接起来。具体反应过程为C端为硫酯的多肽与另一条N端为半胱氨酸的多肽发生硫酯交换形成五元环中间体,随后经过不可逆的分子内S到N的酰基迁移形成天然肽键,从而实现两个多肽的连

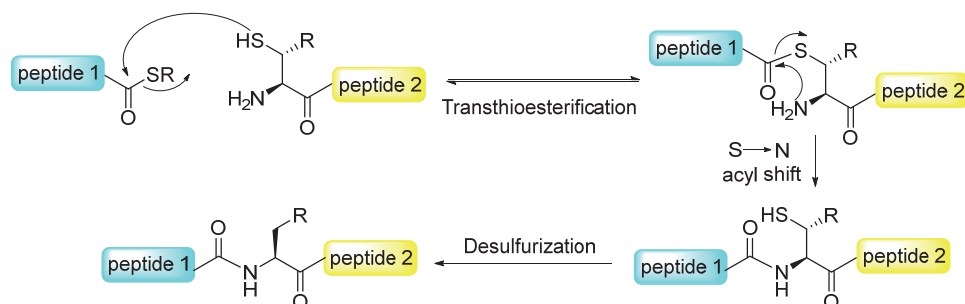
接。NCL的反应机理决定其N端须为半胱氨酸,而天然的半胱氨酸在自然界中的丰度仅有1.7%^[2],限制了NCL方法的应用。2001年,Dawson课题组^[3]提出了连接后脱硫策略,在NCL完成后,通过催化氢解脱去巯基得到丙氨酸。通过此策略,可以将NCL连接位点拓展到丙氨酸。2007年,Danishefsky课题组^[4]发现了自由基反应条件下选择性脱硫的方法,NCL-脱硫策略因而受到广泛关注。研究者们尝试合成多种不同类型的巯基氨基酸

* Corresponding authors. E-mail: daizhenya@hotmail.com; wangp1@sjtu.edu.cn

Received March 16, 2023; revised April 23, 2023; published online May 11, 2023.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 22077080).

国家自然科学基金(No. 22077080)资助项目。



图式 1 自然化学连接-脱硫反应
Scheme 1 Reaction of NCL-desulfurization

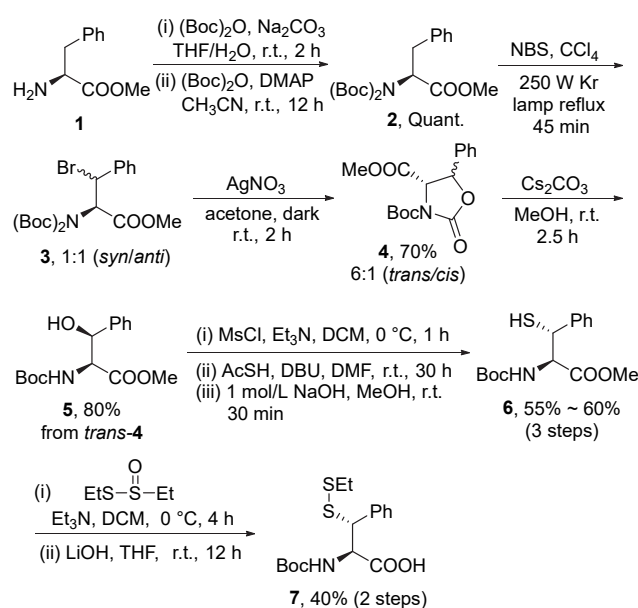
来介导 NCL, 目前已经合成了 16 种巯基氨基酸^[5-9]. 在 NCL 反应过程中, 多肽 N 端氨基酸 β 位的巯基经历五元环过渡态, 相较于巯基在氨基酸的其他位置 (γ , δ 等), NCL 更加快速^[6,10]. 本文依据氨基酸的种类对相应 β -巯基氨基酸的合成方法进行总结, 并阐述其在多肽和蛋白质合成中的应用.

1 β -巯基苯丙氨酸的合成

在 β -巯基氨基酸的合成历史中, 研究者们首先通过 β -羟基氨基酸的取代反应来合成相应的 β -巯基氨基酸, 但光学纯 β -羟基氨基酸原料价格昂贵, 难以实现大量合成. 针对这些问题, 多个课题组采用不同的解决方案来实现 β -巯基氨基酸的合成.

Easton 课题组^[11]于 1990 年报道了将氨基酸经溴代中间体水解反应, 立体选择性转化为 β -羟基取代的缬氨酸和亮氨酸衍生物. 2006 年, Crich 课题组^[12]参考此方法合成了 β -羟基取代的酪氨酸、组氨酸、色氨酸和苯丙氨酸. 2007 年, Crich 课题组^[13]首次通过 5 步反应将 β -羟基苯丙氨酸转化为 β -巯基苯丙氨酸 (Scheme 2). 首先, 叔丁氧羰基 (Boc) 保护的化合物 **2** 与 *N*-溴代丁二酰亚胺 (NBS) 进行苯基溴化反应生成 β -位溴代的非对映异构体 **3**. 随后, 在 AgNO_3 作用下溴被羟基取代, 进而与叔丁氧羰基经酯交换后生成化合物 **4** (顺/反异构体比例为 1:6). 通过柱层析色谱分离纯化得到的反式异构体经水解后得到 β -羟基苯丙氨酸 (**5**). 化合物 **5** 依次与甲磺酰氯 (MsCl)、硫代乙酸以及乙亚磺酸乙硫醇酯反应生成化合物 **7**. 该方法通过噁唑烷酮中间体不仅控制了 β -羟基氨基酸的手性, 同时避免了消除反应的发生. 然而在后续的取代和水解反应中, 由于碱的存在使产物发生消旋导致反应产率降低.

随后, Crich 课题组^[14]通过固相多肽合成 (SPPS) 将 β -巯基苯丙氨酸引入到多肽中, 进而用于 NCL 和脱硫反应. 首先, 通过 SPPS 合成 C 端为甲硫氨酸和甘氨酸的多肽硫酯, 分别将其与 N 端为 β -巯基苯丙氨酸的多肽进行 NCL, 得到了两段目标多肽. 由于甲硫氨酸侧链位阻

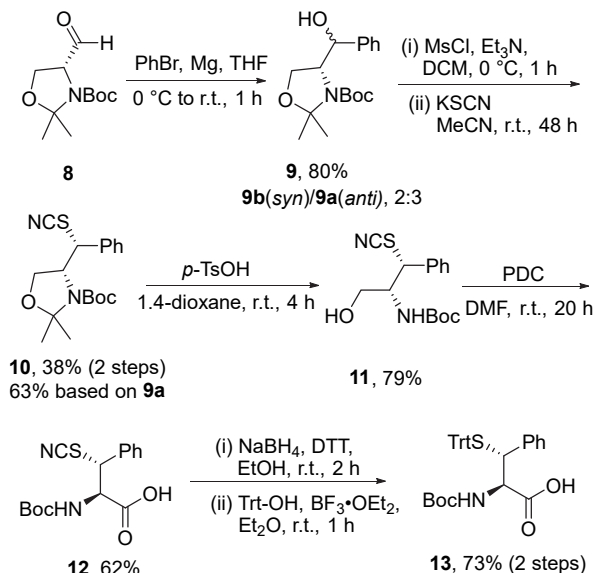


图式 2 β -巯基苯丙氨酸 **7** 的合成
Scheme 2 Synthesis of β -thiolated phenylalanine **7**

较大, 导致 NCL 产率低. 随后作者在硼氢化钠和六水合氯化镍的参与下脱除 β -巯基苯丙氨酸的巯基^[15]. 通过 β -巯基苯丙氨酸介导的 NCL, Crich 课题组成功合成了侧链中含有较大位阻基团的多肽 LYRMGFRANK 和 LYRAMF-RANK.

2013 年, Payne 课题组^[16]以 Garner 醛为原料, 经过 7 步反应完成了 β -巯基苯丙氨酸 **13** 的合成 (Scheme 3). 首先, 苯基溴化镁格氏试剂与 Garner 醛 (**8**) 经加成反应生成非对映异构体 **9** (*syn*:*anti*=2:3). 非对映异构体 **9** 依次与 MsCl 和硫氰酸钾反应生成化合物 **10**, 仅有反式构型底物 **9a** 参与反应, 顺构型底物 **9b** 经过 Swern 氧化和 DIBAL-H 还原可以转变为反式构型的化合物 **9a**, 从而提高产率. 化合物 **10** 在对甲苯磺酸 (*p*-TsOH) 的作用下脱去缩酮保护, 随后被重铬酸吡啶 (PDC) 氧化成羧酸得到化合物 **12**, 接着在硼氢化钠的作用下硫氰基团被还原为巯基, 进而对其进行三苯基甲基 (Trt) 保护, 最终得到目标化合物 **13**. 该研究利用 Garner 醛实现了 β -

巯基苯丙氨酸的合成,拓展了 β -巯基氨基酸的合成思路. 通过使用硫氰酸钾,避免了化合物消旋;通过动力学转化,将由金属镁离子螯合作用产生的顺式异构体 **9b** 转化为反式异构体 **9a**^[17],解决了产率下降问题,简化了合成步骤,提高了合成效率.



图式 3 β -巯基苯丙氨酸 **13** 的合成

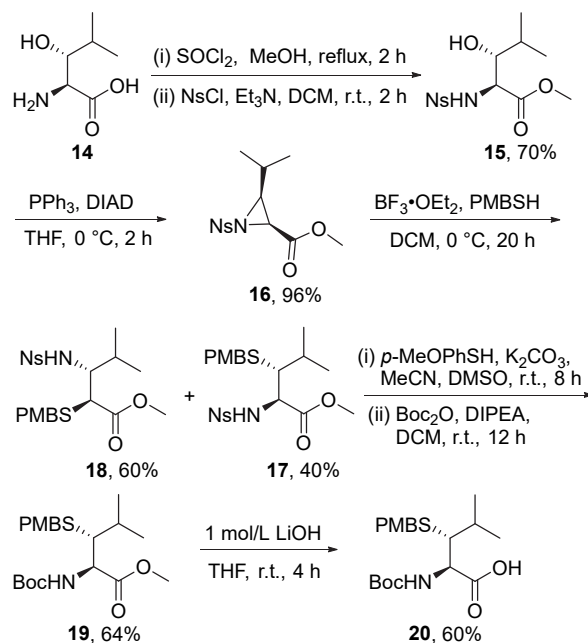
Scheme 3 Synthesis of β -thiolated phenylalanine **13**

完成 β -巯基苯丙氨酸的合成后,作者通过 SPPS 将其引入到多肽片段中,随即进行 NCL 以及脱硫反应. 首先,他们通过 SPPS 合成了 C 端为甘氨酸、丙氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸和缬氨酸的多肽硫酯,分别与 N 端为 β -巯基苯丙氨酸的多肽进行 NCL,进一步通过无金属脱硫反应脱去 β -巯基苯丙氨酸的巯基. 此外,该课题组通过 β -巯基苯丙氨酸介导的 NCL 和脱硫-锅法反应^[18]完成了 Hormone augurin **9** 的合成^[19].

2 β -巯基亮氨酸的合成

2005 年, VanNieuwenhze 课题组^[20]以苏氨酸为起始底物,通过 Mitsunobu 反应生成三元氮杂环中间体,立体选择性地合成了 β -甲基半胱氨酸. 2010 年, Brik 课题组^[21]参考此方法,通过 7 步反应合成了 β -巯基亮氨酸 (Scheme 4). β -巯基亮氨酸中的氨基经 4-硝基苯磺酰氯 (NsCl) 保护后(化合物 **15**)与羟基发生分子内 Mitsunobu 反应生成三元氮杂环 **16**. 在三氟化硼乙醚的参与下, 4-甲氧基苄硫醇与三元氮杂环发生亲核取代反应生成异构体 **17** 和 **18**. 通过柱层析分离得到的化合物 **17** 在 4-甲氧基苄硫醇的作用下脱去 4-硝基苯磺酰基,并用 Boc 对氨基进行保护,随后在碱性条件下脱去甲酯生成 β -巯基亮氨酸 **20**.

完成了 β -巯基亮氨酸的合成后,作者通过 SPPS 将



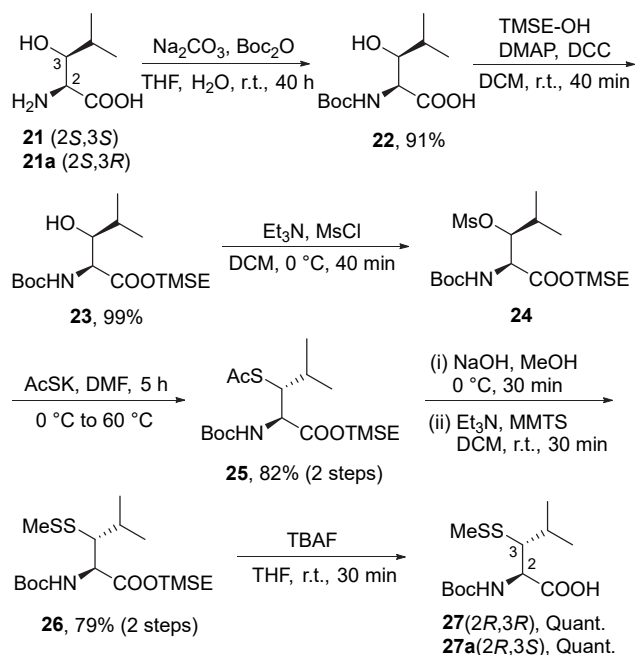
图式 4 β -巯基亮氨酸 **20** 的合成

Scheme 4 Synthesis of β -thiolated leucine **20**

其引入到多肽中,随即进行 NCL 和脱硫反应. 首先,作者借助 SPPS 得到 C 端为甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸和亮氨酸的多肽硫酯,然后将其分别与 N 端为 β -巯基亮氨酸的多肽进行 NCL,进一步通过无金属脱硫反应脱去 β -巯基亮氨酸的巯基. 通过 β -巯基亮氨酸介导的 NCL,作者首次实现了含有 86 个氨基酸的人类免疫缺陷病毒 I 型-反式转录激活因子(HIV-I Tat)蛋白的化学合成^[22].

2010 年, Danishefsky 课题组^[23]报道了一种合成 β -巯基亮氨酸的新方法. 作者采用化合物 **21** (2*S*,3*S*)通过 7 步反应,最终以 58% 的分离产率完成了 β -巯基亮氨酸 **27** (2*R*,3*R*)的高效合成 (Scheme 5). 全保护的化合物 **23** 依次与 MsCl 和硫代乙酸钾发生取代反应生成化合物 **25**. 硫代乙酸钾的使用有效避免了碱性条件下硫代乙酸或者 4-甲氧基苄硫醇亲核取代反应时,消除反应的发生以及消旋产物的生成. 全保护的化合物 **25** 在碱性条件下脱去乙酰基保护,接着被甲基硫代磺酸甲酯(MMTS)氧化. 最后在四丁基氟化铵(TBAF)作用下脱去羧基保护基生成 β -巯基亮氨酸(**27**). 随后作者通过相同的合成路线,由化合物 **21a** (2*S*,3*R*)合成了化合物 **27a** (2*R*,3*S*).

完成 β -巯基亮氨酸的合成后,作者通过 SPPS 将其用于多肽的合成,以及 NCL 和脱硫反应. 首先,通过 SPPS 合成了 C 端为不同氨基酸的多肽硫酯,其中包括甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸和脯氨酸等. 进而分别与 N 端为 β -巯基亮氨酸的多肽进行 NCL 反应. 作者通过对比不同构型的 **27** 和 **27a** 参与的 NCL 反应速率,发现与 **27** 相比, **27a** 参与的 NCL 的反应速率和反应产率



图式 5 β -巯基亮氨酸 **27** 的合成
Scheme 5 Synthesis of β -thiolated leucine **27**

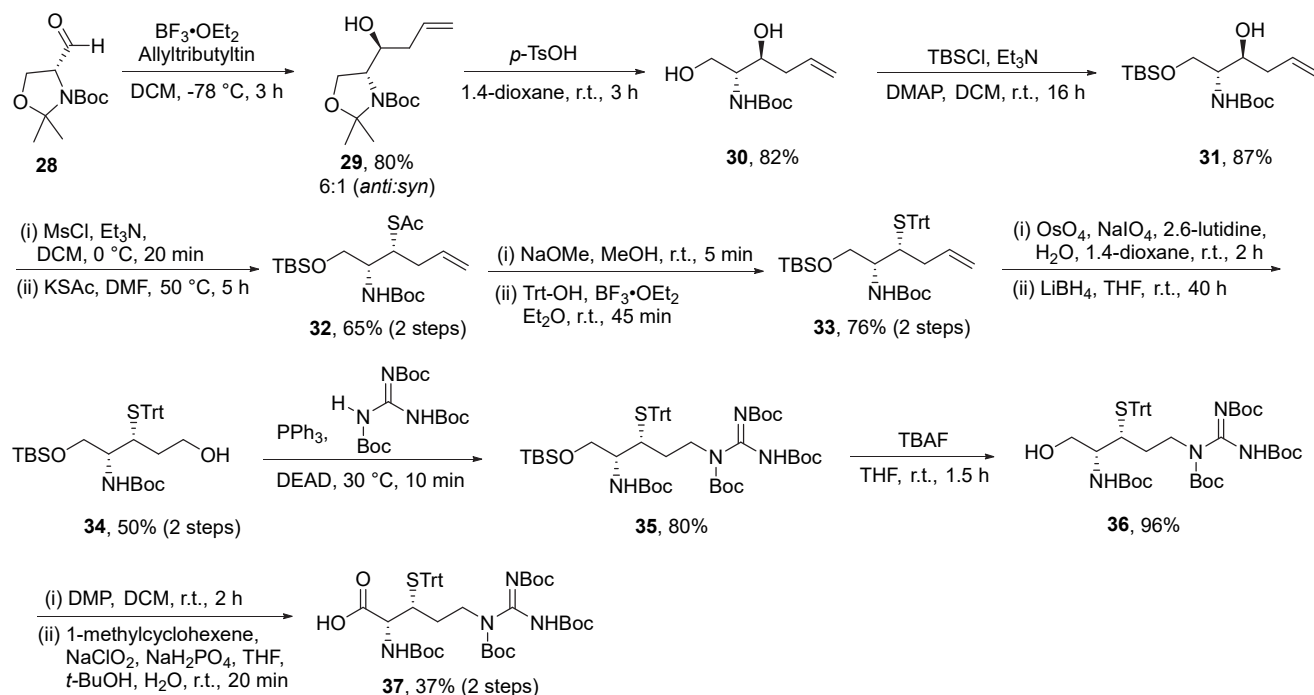
均有所降低. 造成这一结果的主要原因是 NCL 反应过程中 S 到 N 的酰基迁移所形成五元环中间体的构型影响了反应速率以及产率. **27a** 中的异丙基与肽链的顺式构型不利于酰基的迁移, 从而导致反应速率的降低. 同时也增加了体系中的硫酯在该过程中的水解, 导致 NCL 产率降低. 此外, 作者通过竞争实验分别对 **27** 和半胱氨酸参与的 NCL 反应速率进行了研究. 实验结果表明, 半

胱氨酸参与的 NCL 反应速率高于 β -巯基亮氨酸. 最后, 基于两者 NCL 反应速率的区别, 该课题组通过 β -巯基亮氨酸和半胱氨酸介导的 NCL, 以及脱硫反应, 一锅法完成了促红细胞生成素(EPO)(95-120)片段的合成.

3 β -巯基精氨酸的合成

2013 年, Payne 课题组^[24]以 Garner 醛为原料, 通过 13 步反应合成了 β -巯基精氨酸(Scheme 6). 首先, Garner 醛(**28**)与烯丙基三丁基锡反应^[25], 根据 Felkin-Anh 规则, 亲核试剂优先从位阻较小的一侧进攻, 主要生成反式产物, 得到顺/反比例为 1:6 的化合物 **29**^[26]. 在对甲苯磺酸的作用下, 化合物 **29** 脱去缩酮保护基, 伯羟基被叔丁基二甲基硅基(TBS)保护后, 依次与 MsCl 和硫代乙酸钾发生反应生成构型翻转的化合物 **32**. 为了避免硼氢化锂对乙酰基的还原, 首先将巯基被乙酰基保护的化合物 **32** 转换为 Trt 保护的化合物 **33**. 然后在四氧化锇和高碘酸钠的氧化作用下双键裂解为醛基, 接着在硼氢化锂的还原作用下转化成羟基. 经过柱层析色谱分离得到的单一构型底物 **34** 与 Boc 保护的胍基发生 Mitsunobu 反应生成化合物 **35**. 在 TBAF 的作用下脱去羟基的保护基后, 依次经过 Dess-Martin 和 Pinnick 氧化, 最终合成得到 β -巯基精氨酸 **37**.

完成了 β -巯基精氨酸的合成后, 作者通过 SPSS 将其引入到多肽中, 并用于多肽片段的连接. 首先, 他们通过 SPSS 合成了 C 端为甘氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸和缬氨酸的多肽硫酯, 分别与 N 端为 β -巯基精氨酸

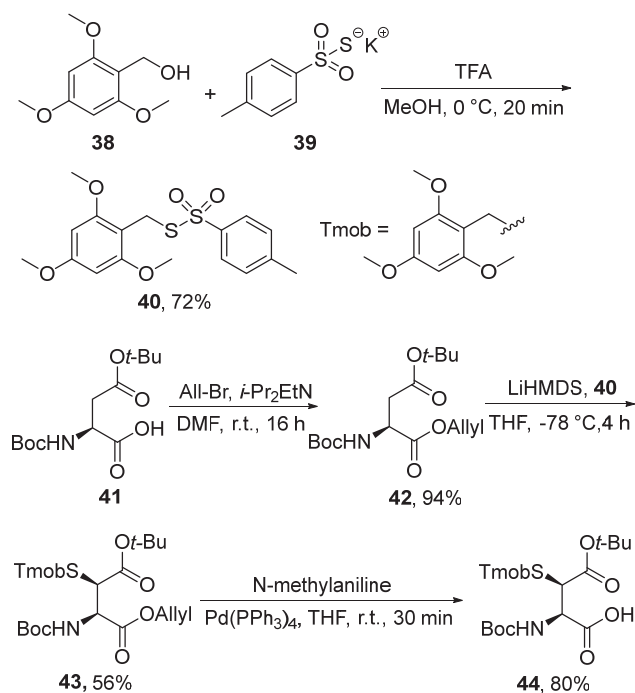


图式 6 β -巯基精氨酸 **37** 的合成
Scheme 6 Synthesis of β -thiolated arginine **37**

酸的多肽进行 NCL-脱硫反应. 随后, 作者对比研究了 β -巯基精氨酸与半胱氨酸介导的 NCL 反应速率与脱硫产率. 实验结果表明, 两者 NCL 反应速率非常接近, 但在脱硫反应中 β -巯基精氨酸侧链胍基会对反应产生影响^[27], 导致脱硫反应的产率和速率较低. β -巯基精氨酸的合成拓展了自然化学连接位点的选择.

4 β -巯基天冬氨酸的合成

2013 年, Payne 课题组^[28]通过 3 步反应合成了 β -巯基天冬氨酸(Scheme 7). 在酸性条件下, 2,4,6-三甲基苄醇(**38**)和对甲苯硫代磷酸钾(**39**)反应生成了硫化试剂(**40**). 化合物**42**在强碱二(三甲基硅基)氨基锂(LiHMDS)的作用下失去 α 氢, 随后与**40**发生亲核取代反应生成了 *dr* 值为 9:1 的化合物**43**. 在反应过程中化合物**42**与锂离子络合形成六元环中间体, 促使底物优先从位阻较小的一侧进攻^[29]. 经柱层析色谱分离得到的单一构型化合物**43**脱除烯丙基(Allyl)保护基后即生成 β -巯基天冬氨酸**44**.



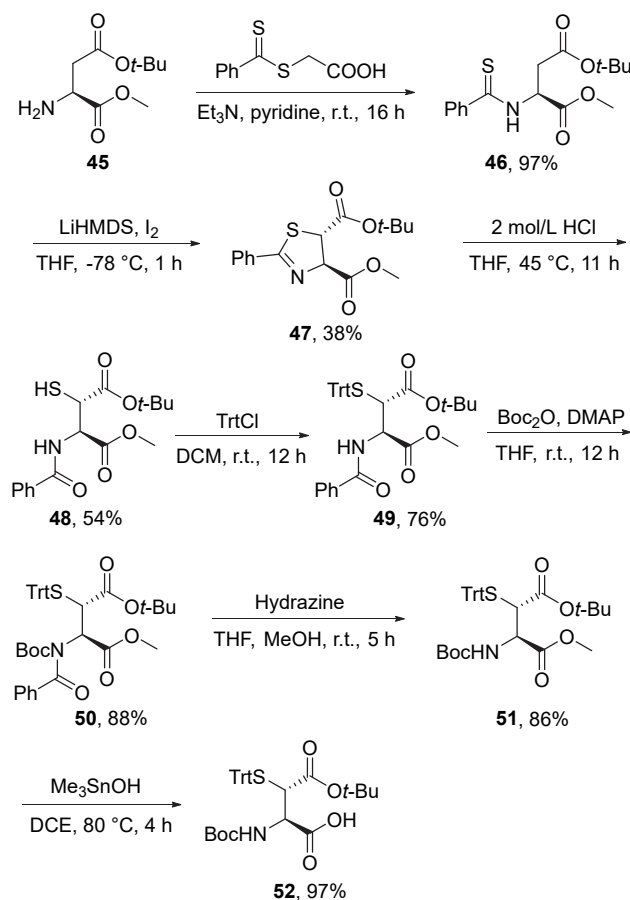
图式 7 β -巯基天冬氨酸**44**的合成

Scheme 7 Synthesis of β -thiolated aspartic acid **44**

完成 β -巯基天冬氨酸的合成后, 作者通过 SPPS 将其用于多肽合成, 随后进行 NCL 和脱硫反应. 首先, 他们通过 SPPS 合成了 C 端为不同氨基酸的多肽硫酯, 分别将其与 N 端为 β -巯基天冬氨酸的多肽进行 NCL 及脱硫反应. 从氨基酸的结构分析, β -巯基天冬氨酸中的巯基与羧基相邻, 吸电子效应影响 C—S 键的强度. 作者通过计算得出侧链为羧基的天冬氨酸的 C—S 键能为

298.3 kJ/mol, 而半胱氨酸的 C—S 键能为 308.5 kJ/mol. 因此, 作者尝试利用 C—S 键强度的不同, 选择性地脱去 β -巯基天冬氨酸中的巯基. 经过反应条件的筛选, 作者发现在 pH=3、65 °C 条件下反应 20 h, 可以选择性脱除 β -巯基天冬氨酸的巯基. 基于此方法他们通过 β -巯基天冬氨酸介导的 NCL, 在半胱氨酸同时存在的条件下, 选择性地脱去 β -巯基天冬氨酸的巯基, 合成了侧链含有磷酸化修饰和糖基化修饰的多肽 CXCR4 (38 个氨基酸). Payne 课题组通过 3 步反应高效地合成了 β -巯基天冬氨酸, 并利用 β -巯基天冬氨酸和半胱氨酸 C—S 键能的不同, 选择性地脱去了 β -巯基天冬氨酸的巯基.

同年, 受 Berl 课题组^[30]工作的启发, 谭忠平课题组^[31]通过构建反式噻唑啉环, 经 7 步反应立体选择性地完成了 β -巯基天冬氨酸的合成(Scheme 8). 作者首先将硫代苯甲酰巯基乙酸与化合物**45**在碱性条件下反应生成化合物**46**. 随后在 LiHMDS 作用下形成烯醇负离子, 然后与碘单质反应生成反式噻唑啉化合物**47**. 噻唑啉水解开环后生成的**48**依次用 Trt 和 Boc 进行保护生成化合物**50**. 最后, 借助水合肼和三甲基氢氧化锡依次脱除苯甲酰基和甲酯生成 β -巯基天冬氨酸**52**. 进而作者将



图式 8 β -巯基天冬氨酸**52**的合成

Scheme 8 Synthesis of β -thiolated aspartic acid **52**

其应用于神经肽的合成, 通过 β -巯基天冬氨酸介导的 NCL-脱硫反应, 实现了人甘丙素样肽的化学合成(60 个氨基酸)^[32].

5 β -巯基天冬酰胺的合成

天冬酰胺与天冬氨酸的结构相类似, 难以通过常规的亲核硫化试剂引入巯基. 2013 年, Payne 课题组^[33]采用亲电硫化试剂通过 6 步反应对 β -巯基天冬酰胺进行了化学合成(Scheme 9). 全保护化合物 **54** 在 LiHMDS 的作用下与亲电硫化试剂 **40** 发生亲核取代反应生成化合物 **55** (*dr* 9:2). 在四(三苯基膦)钯的作用下脱去 Allyl 保护基, 裸露的羧基在 Boc_2O 、碳酸氢铵和吡啶的作用下发生胺化反应生成化合物 **57** 和 **58**. 在无水条件下, **57** 和 **58** 中的 Tmob 保护基在 2,3-二氯-5,6-二氰基苯醌(DDQ)的作用下生成苄基碳正离子, 随后与氨基酸中的 N 原子发生亲电取代反应生成噻唑环. 随后脱除羧基的保护基生成 β -巯基天冬酰胺(**59** 和 **60**).

分别完成两种不同构型的底物的合成后, 他们对两种构型氨基酸的缩合效率进行了对比. 与化合物 **59** 相比, 化合物 **60** 在缩合过程中形成了琥珀酰亚胺从而导致缩合效率较低. 于是, 他们将化合物 **59** 用于多肽合成, 随后将 N 端为 β -巯基天冬酰胺的多肽分别与 C 端为不同氨基酸的多肽硫酯进行一锅法 NCL-脱硫反应^[18]. 此外, 作者基于 β -巯基天冬酰胺介导的 NCL 反应, 实现了 HIV 病毒融合抑制剂恩福韦肽的合成.

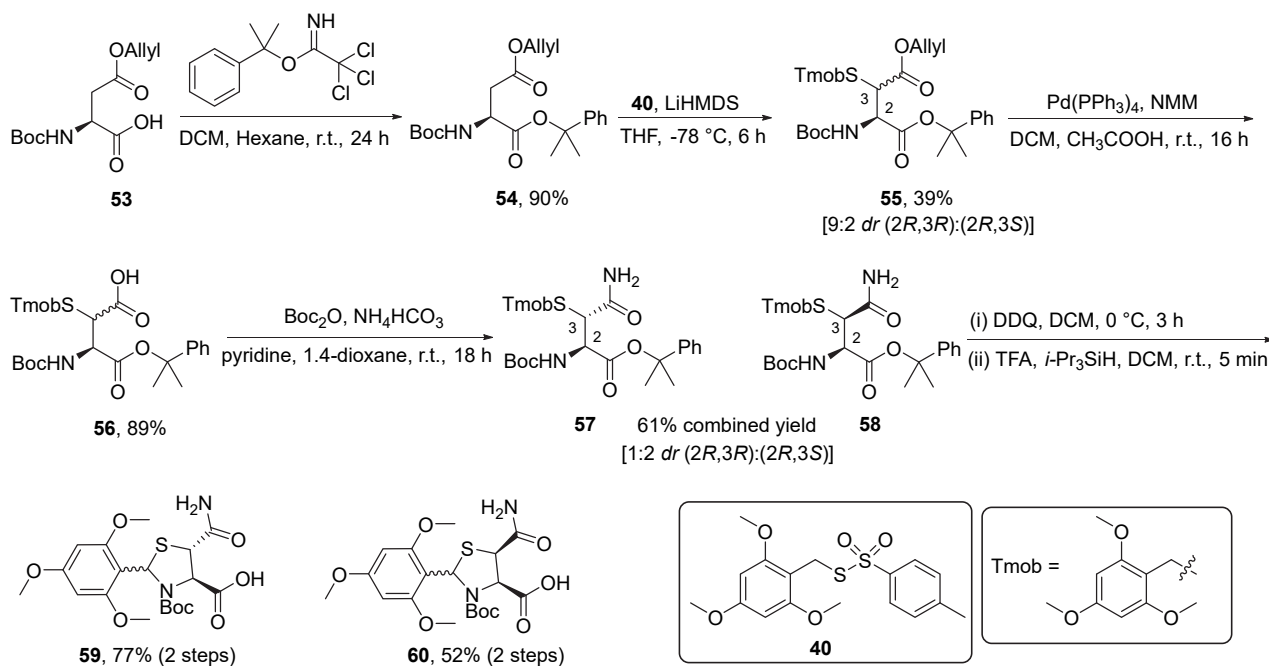
6 β -巯基赖氨酸的合成

2019 年, 董甦伟课题组^[34]通过 8 步反应合成了 β -巯基赖氨酸(Scheme 10). 作者以赖氨酸作为原料, 利用 Renata 课题组^[35]2018 年发展的生物氧化方法, 在赖氨酸的 β 位立体选择性引入羟基从而合成化合物 **62**. 用 Boc 和 Allyl 保护基分别对氨基和羧基进行保护, 全保护的化合物 **63** 依次与 MsCl 、硫氰酸根离子反应生成化合物 **64**. 半胱氨酸在碱性条件下将 **64** 中的硫氰酸基还原为巯基, 经硫代磺酸酯保护后, 碱性水解脱去 Allyl 保护基生成终产物 **67** 或 **68**.

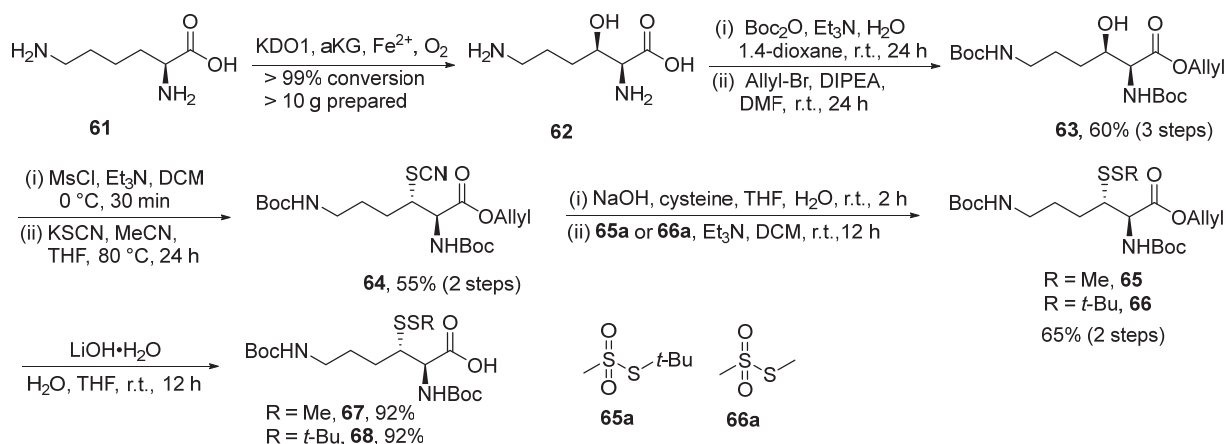
随即作者以 β -巯基赖氨酸作为 NCL 中半胱氨酸的替代物, 将 SPPS 合成的 N 端为 β -巯基赖氨酸的多肽与不同的多肽硫酯进行 NCL-脱硫反应. β -巯基赖氨酸对大部分天然氨基酸硫酯参与的 NCL 反应均能平稳进行, 而对大位阻氨基酸硫酯, 如亮氨酸和缬氨酸, 反应活性同样较低. 最后, 作者借助 β -巯基赖氨酸介导的 NCL-脱硫反应实现了含有 138 个氨基酸的干扰素 γ 的化学合成^[36].

7 β -巯基氨基酸的分散性合成

巯基氨基酸的合成通常需要 7~16 步, 且无法发散性合成多个巯基氨基酸, 严重限制了 NCL-脱硫策略的应用. 同时, Danishefsky 课题组^[23]发现, 巯基氨基酸的手性对于 NCL 反应的速率至关重要, 他们通过实验证明 β 位为 *R* 构型的巯基亮氨酸的 NCL 速率比 β 位为 *S*



图式 9 β -巯基天冬酰胺 **59** 和 **60** 的合成
Scheme 9 Synthesis of β -thiolated asparagine **59** and **60**

图式 10 β -巯基赖氨酸 67 和 68 的合成Scheme 10 Synthesis of β -thiolated lysine 67 and 68

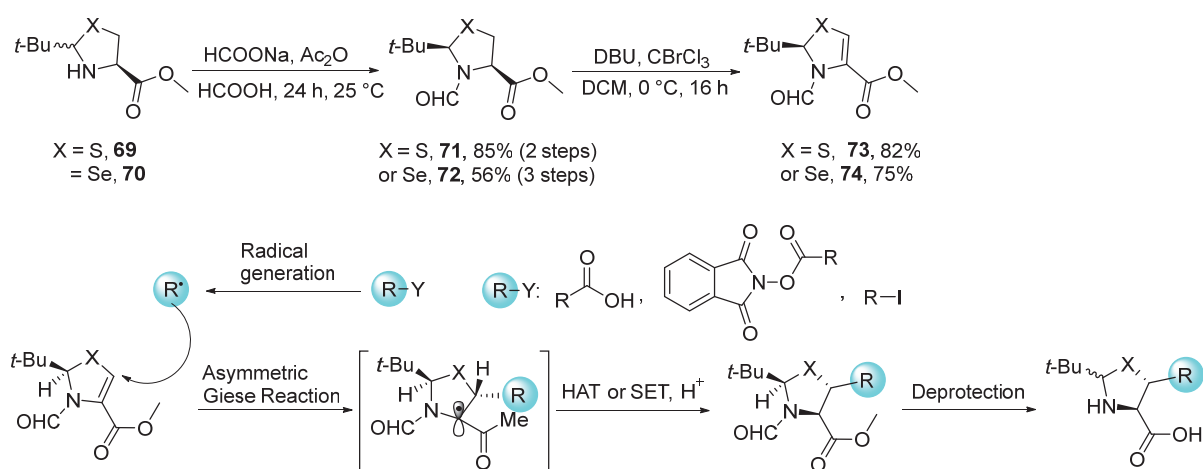
构型的巯基亮氨酸快。因此如何快速简洁地发散性合成合适构型的巯基氨基酸是尚未解决的问题。2020 年,王平课题组^[37]报道了通过光催化不对称的 Giese 反应,由中间体 73 或 74 构建 β -巯基/硒代氨基酸的通用方法 (Scheme 11)。作者首先合成了噻唑啉环类似物 73 和 74^[38], 将其作为合成的通用中间体。在适当的光催化剂、碱、光照和溶剂的存在下,将活性酯、羧酸或者碘化物引发生成自由基,自由基与底物的双键发生自由基加成反应生成自由基中间体,自由基中间体经过氢原子转移或者单电子转移生成不同侧链取代的半胱氨酸衍生物。随后将保护基脱除获得用于固相多肽合成的反应砌块。通过此合成方法,经过五步反应,作者合成了 9 种 β -巯基氨基酸 (Scheme 12, 75~83), 分别是缬氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、色氨酸、甲硫氨酸、精氨酸、赖氨酸、天冬酰胺和天冬氨酸,同时合成了一系列的半胱氨酸衍生物和 β -硒代半胱氨酸衍生物。相比较于其他课题组的先构建所需氨基酸的骨架的合成思路,本文的合成

思路完全相反,首先大量合成了一个含硫或硒的通用中间体,随后发散性合成不同的 β -巯基氨基酸。

反应过程中底物的手性控制符合“手性中心再生”的概念。氨基酸中存在的手性中心和甲酰基保护基可以控制缩酮碳的手性,氧化后产生双键,氨基酸 α 位手性消失。在发生光催化的 Giese 反应时,大位阻基团 *t*-Bu 的手性促使自由基从位阻较小的一侧来参与反应,从而控制了产物的手性。

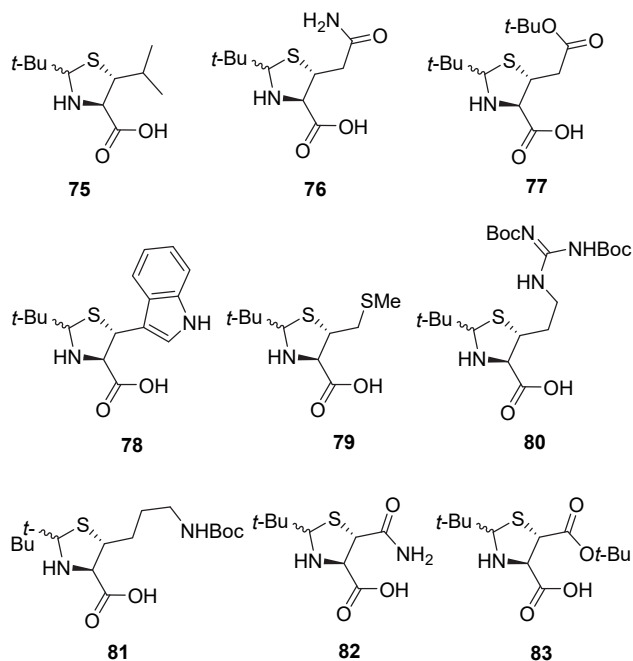
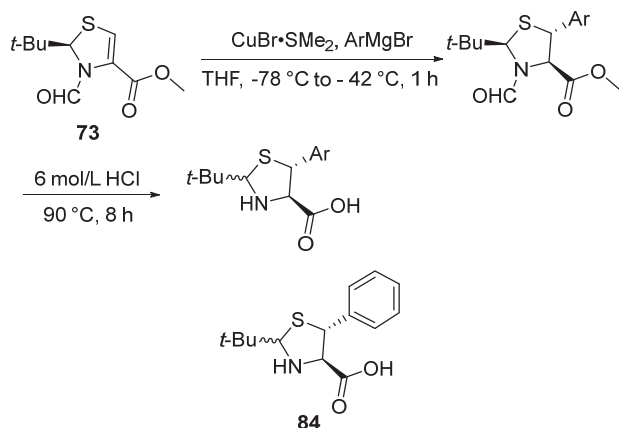
8 β -巯基芳基氨基酸的合成

2022 年,王平课题组^[39]报道了通过有机金属试剂立体选择性地合成 β -巯基芳基氨基酸的方法 (Scheme 13)。作者利用格式试剂与化合物 75 通过迈克尔加成反应,成功构建了一系列的 β -硫代芳基氨基酸,包括天然的 β -巯基苯丙氨酸,与一系列芳基取代的半胱氨酸衍生物。该研究中,作者通过 5 步反应合成了 β -巯基苯丙氨酸,简化了合成步骤,提高了合成效率。同时合成中



图式 11 光催化的 Giese 反应机理

Scheme 11 Mechanism of photocatalytic Giese reaction

图式 12 不同类型的 β -巯基氨基酸Scheme 12 Different types of β -thiolated amino acids图式 13 β -巯基芳基氨基酸的合成Scheme 13 Synthesis of β -thiolated aryl amino acids

间体 **75** 还可以通过光催化不对称的 Giese 反应来合成其他类型的 β -巯基氨基酸, 具有更加广泛的应用前景。

9 总结与展望

综上所述, 目前合成 β -巯基氨基酸的思路主要包括 2 种。第一种是通过亲核或亲电的硫化试剂的取代反应合成 β -巯基氨基酸; 第二种则是基于自由基光催化 Giese 反应合成 β -巯基氨基酸。通过上述两种方法已经完成了大部分天然氨基酸 β -巯基衍生物的化学合成。基于传统亲核或亲电取代反应合成路线较为复杂, 效率低, 且不能发散性合成 β -巯基氨基酸。而通过光催化 Giese 反应已经可以快捷高效且发散性合成目前常见的 β -巯基氨基酸, 降低了 β -巯基氨基酸的合成难度, 实现

了克级规模制备 β -巯基氨基酸, 突破了 β -巯基氨基酸合成中的瓶颈问题, 提高了 NCL 连接位点选择的自由度, 为 NCL-脱硫策略的广泛应用奠定了基础。通过 NCL-脱硫策略已经实现了白细胞介素 17A^[40]、白细胞介素 1A^[41]、CST4^[42] 和干扰素 γ ^[34] 等的化学合成。NCL-脱硫策略已经成为了化学合成蛋白质的强有力工具。伴随着化学合成蛋白质方法的不断丰富^[43-45], 研究者们可以构建出蛋白质库^[46], 使得研究者们更加深刻的理解蛋白质结构与功能的关系, 为蛋白质药物研发奠定基础, 推动了蛋白质科学以及合成生物学的发展。

References

- [1] Dawson, P. E.; Muir, T. W.; Clark-Lewis, I.; Kent, S. B. H. *Science* **1994**, 266, 776.
- [2] McCaldon, P.; Argos, P. *Proteins* **1988**, 4, 99.
- [3] Yan, L. Z.; Dawson, P. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 526.
- [4] Wan, Q.; Danishefsky, S. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, 46, 9248.
- [5] Guan, L.; Williams, K.; Liu, J. S. T.; Liu, X.-Y. *Front. Chem.* **2022**, 9, 826764.
- [6] Wong, C. T. T.; Tung, C.-L.; Li, X.-C. *Mol. Biosyst.* **2013**, 9, 826.
- [7] He, Q.-Q.; Fang, G.-M.; Liu, L. *Chin. Chem. Lett.* **2013**, 24, 265.
- [8] Wang, S.-Y.; Thopate, Y. A.; Zhou, Q.-Q.; Wang, P. *Chin. J. Chem.* **2019**, 37, 1181.
- [9] Morishita, Y.; Kaino, T.; Okamoto, R.; Izumi, M.; Kajihara, Y. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 6565.
- [10] Tam, J. P.; Yu, Q.-T. *Biopolymers* **1998**, 46, 319.
- [11] Easton, C. J.; Hutton, C. A.; Tan, E. W.; Tiekink, E. R. T. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 7059.
- [12] Crich, D.; Banerjee, A. J. *Org. Chem.* **2006**, 71, 7106.
- [13] Crich, D.; Banerjee, A. J. *Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 10064.
- [14] Merrifield, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149.
- [15] Back, T. G.; Baron, D. L.; Yang, K.-X. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 2407.
- [16] Malins, L. R.; Giltrap, A. M.; Dowman, L. J.; Payne, R. J. *Org. Lett.* **2015**, 17, 2070.
- [17] Passiniemi, M.; Koskinen, A. M. *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, 9, 2641.
- [18] Thompson, R. E.; Liu, X.-Y.; Alonso-Garcia, N.; Pereira, P. J. B.; Jolliffe, K. A.; Payne, R. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 8161.
- [19] Mirabeau, O.; Perlas, E.; Severini, C.; Audero, E.; Gascuel, O.; Possenti, R.; Birney, E.; Rosenthal, N.; Gross, C. *Genome Res.* **2007**, 17, 320.
- [20] Narayan, R. S.; VanNieuwenhze, M. S. *Org. Lett.* **2005**, 7, 2655.
- [21] Harpaz, Z.; Siman, P.; Kumar, K. S. A.; Brik, A. *ChemBioChem* **2010**, 11, 1232.
- [22] Hetzer, C.; Dormeyer, W.; Schnolzer, M.; Ott, M. *Microbes Infect.* **2005**, 7, 1364.
- [23] Tan, Z.-P.; Shang, S.-Y.; Danishefsky, S. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, 49, 9500.
- [24] Malins, L. R.; Cergol, K. M.; Payne, R. J. *ChemBioChem* **2013**, 14, 559.
- [25] Garner, P.; Park, J. M. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 2361.
- [26] Huang, H.; Greenberg, M. M. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 2695.
- [27] Chen, X.; Tureček, F. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 12520.
- [28] Thompson, R. E.; Chan, B.; Radom, L.; Jolliffe, K. A.; Payne, R. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, 52, 9723.
- [29] Shibata, N.; Baldwin, J. E.; Jacobs, A.; Wood, M. E. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 12839.
- [30] Hauptmann, H.; Berl, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 704.
- [31] Guan, X.-Y.; Drake, M. R.; Tan, Z.-P. *Org. Lett.* **2013**, 15, 6128.
- [32] Nonaka, N.; Farr, S. A.; Kageyama, H.; Shioda, S.; Banks, W. A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, 325, 513.

- [33] Sayers, J.; Thompson, R. E.; Perry, K. J.; Malins, L. R.; Payne, R. J. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4902.
- [34] Dao, Y.-K.; Han, L.; Wang, H.-X.; Dong, S.-W. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 3265.
- [35] Zhang, X.; King-Smith, E.; Renata, H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2018**, *57*, 5037.
- [36] Pan, Y. C.; Stern, A. S.; Familletti, P. C.; Khan, F. R.; Chizzonite, R. *Eur. J. Biochem.* **1987**, *166*, 145.
- [37] Yin, H.-L.; Zheng, M.-J.; Chen, H.; Wang, S.-Y.; Zhou, Q.-Q.; Zhang, Q.; Wang, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 14201.
- [38] Jeanguenat, A.; Seebach, D. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 2291.
- [39] Zheng, M.-J.; Yin, H.-L.; Wang, S.-Y.; Wang, P. *Synthesis* **2022**, *54*, 4592.
- [40] Li, H.-X.; Zhang, J.; An, C.; Dong, S.-W. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 2846.
- [41] Zhao, J.; Liu, J.-Z.; Liu, X.-L.; Ye, F.-R.; Wang, S.-Y.; Wang, P. *Tetrahedron Lett.* **2022**, *104*, 154024.
- [42] Wang, S.-Y.; Zhou, Q.-Q.; Li, Y.-X.; Wei, B.-C.; Liu, X.-L.; Zhao, J.; Ye, F.-R.; Zhou, Z. N.; Ding, B.; Wang, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 1232.
- [43] Sun, Z.-Q.; Li, X.-C. *Chin. J. Chem.* **2021**, *39*, 2795.
- [44] Li, Y.-X.; Liu, J.-Z.; Zhou, Q.-Q.; Zhao, J.; Wang, P. *Chin. J. Chem.* **2021**, *39*, 1861.
- [45] Dao, Y.-K.; Wang, B.; Dong, W.-D.; Zhang, J.; Zhong, C.; Zhang, Z.-L.; Dong, S.-W. *Chin. J. Chem.* **2021**, *39*, 2509.
- [46] Chen, Y.; Qin, W.; Wang, C. *Chin. J. Chem.* **2022**, *40*, 628.

(Cheng, F.)