

环状氨基酸的合成及其应用

刘霞^{1,2}, 周宁², 欧阳贵平¹, 刘克良^{2*}

(1. 贵州大学精细化工研究开发中心, 贵州 贵阳市 550025; 2. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 环状氨基酸是一种构型限制型氨基酸, 因为它们的构象限制性特点有利于肽的生物活性构象的形成和稳定, 在修饰多肽时引起的构象效应和生物学效应有着重要的理论和应用价值, 常用于修饰生物活性肽, 以改善其药学性质。研究表明, 环状氨基酸的引入是一种改善多肽性质的有效方法之一。本文就环状氨基酸的结构特点、合成, 尤其是多肽修饰方面进行了综述。

关键词: 环状氨基酸; 构象限制; 合成; 生物活性肽

中图分类号: R914.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-0440(2007)05-0361-04

Synthesis and applications of cyclic amino acids

LIU Xia^{1,2}, ZHOU Ning², OUYANG Gui-ping¹, LIU Ke-liang

(1. Center for Research and Development of Fine Chemicals, Guizhou University, Guiyang 550025, China;

2. Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: Cyclic amino acids were often applied to the modification of bioactive peptides, because their conformational-restriction properties were helpful for forming and stabilizing the bioactive conformations of peptides. They were often used in modifying peptides to produce conformational and biological effects, which played a very important role in theoretical and applied research. Thus, they were used to modify bioactive peptides to improve their pharmaceutical properties, and the introduction of cyclic amino acids to peptides was one of the effective approaches to improve the properties of peptides. Here a brief review about their structural properties, synthesis, and especially their applications in peptide modification is presented.

Key words: cyclic amino acids; conformational restriction; synthesis; bioactive peptide

构型限制型氨基酸一直是有机合成和药物化学研究的热点, 尤其是在新型多肽的合成设计中^[1]。在新药设计研发中, 当碳链中需要介入构型限制同时又保持线性链烃的疏水性时, 结构刚性的环状氨基酸起着非常重要的作用。它们的引入可以增加结构的刚性, 引起构象的限制而产生不同的结构或生物效应。环状氨基酸也被应用到多肽类似物中考察其结构和生物效应, 以期寻找结构优化的受体限制性的配体的构象。多肽和拟肽也经常引入构型限制性因素来产生重要的结构效应。

1 环状氨基酸的结构特点

环状氨基酸(cyclic amino acids)简称 Accⁿ, 其中 n 表示环的碳原子个数。其侧链碳-碳键被环取代, 不能自由旋转, 当中心碳原子所处环境对称时, 则对应的环状氨基酸没有手性^[2]。

Acc³环碳原子的 C-C 键键角接近 60°, 亚甲基碳夹角比其他骨架碳链夹角略大, 约为 $\pm 62^\circ$, 晶体结构衍射在肽链中更倾向于形成 β -折叠构象^[3]。

晶体结构衍射显示 Acc⁵呈半椅式稳定构象, 键角约为 $\pm 109^\circ$, 它的残基能够稳定生物活性肽中的 β -折叠构象^[4]。

Acc⁶在结构上与 Val, Leu, Ile 具有相似性, 其残基环扭转角 $\pm 54.6^\circ$, 与 Acc⁶更易于呈椅式构象一致, 游离氨基酸 H-Acc⁶-OH 羧基基团处于轴向位置, 而 H-Acc⁶-OH · HCl 氨基基团处于轴向位置, 含

收稿日期: 2007-03-12

作者简介: 刘霞, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 生物有机化学, Tel: 010-66931644, E-mail: liuxia02@126.com

* 通讯作者: 刘克良, 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 生物有机化学, Tel: 010-66931601, E-mail: keliangliu@yahoo.com.cn

有 Acc^6 的肽链中氨基也处于轴向的位置^[5]。

研究表明,当侧链中有体积较大的 Acc^n ($n \geq 5$) 基团时,更易与受体的疏水性口袋结合,还可以稳定肽链的折叠构象、螺旋结构和肽链的延展。

2 环状氨基酸的合成

环丙烷体系氨基酸 (Acc^3) 可以通过很多种方法合成(图 1):(1) 甘氨酸、丙二酸二乙酯或其类似物与 1,2-二溴乙烷反应^[6~8]; (2) β -取代丙烯酸及其衍生物与重氮甲烷的环加成反应^[9]; (3) 酶、金属催化剂^[10]、微波^[11] 或酸碱作用下引起的蛋氨酸^[12]、谷氨酸^[13]、丝氨酸^[14] 或其衍生物^[15] 的环化; (4) α -亚胺环丙烷衍生物氰化水解^[16]。

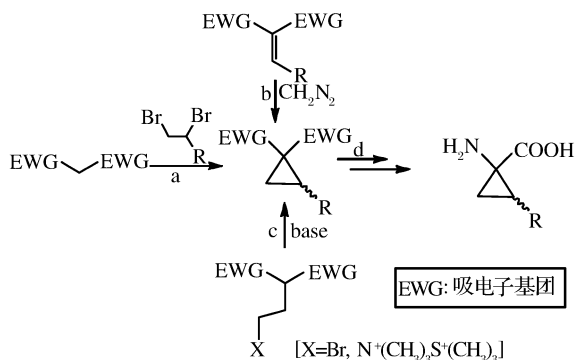


图 1 Acc^3 合成路线

Acc^5 和 Acc^6 可以由相应的环酮与 KCN、铵盐通过 Strecker 反应得到含有氰基的环状化合物,再通过氰基的酸性或碱性水解就可得到相应的环状氨基酸;也可以通过 Bucherer-Bergs 方法合成^[17] (图 2)。

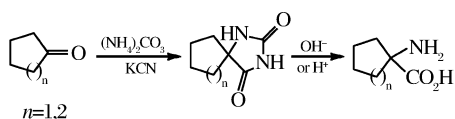


图 2 Bucherer-Bergs 合成路线

Strecker 反应与 Bucherer-Bergs 方法都是在碱的作用下环酮与 KCN 的反应,但通过 Strecker 反应可以生成顺式 (*cis*-) 型产物,而 Bucherer-Bergs 方法可以生成反式 (*trans*-) 产物。

3 环状氨基酸的应用

3.1 植物生长激素调节剂

Acc^3 广泛存在于植物的果实中,是一种新型植物生长调节剂,可以在酶的作用下转化为乙烯,对水果、蔬菜、番茄等有明显的催熟作用,在农业上有重

大的经济意义。抑制 Acc^3 生物合成的试剂也可以做防腐剂,如具有乙烯调节器功能的 strobilurines 杀菌剂能够抑制 S-腺苷-L-蛋氨酸向 Acc^3 的转化、阻碍 Acc^3 向乙烯的转化或抑制乙烯参加的反应,从而减少对植物的损伤^[17]。

3.2 抗炎活性

三肽 Formyl-Met-Leu-Phe-OH 可以引起中性粒细胞的趋药性和溶酶体的释放,使肽链与受体在中性粒细胞表面结合而具有抗炎活性,以 Acc^6 取代的 Formyl-Met- Acc^6 -Phe-OH 有更强的生物活性。该类似物活性比母体肽强 78 倍,NMR 和建模研究表明该类似物在溶液中 Met- Acc^6 更倾向于形成 β -转角,而更易被中性粒细胞受体识别^[18]。

3.3 抗利尿活性

精氨酸抗利尿激素激动剂 (agonists of arginine vasopressin, AVP) 2 位或 3 位被 Acc^6 取代可以收缩血管,促进血压升高,产生好的抗利尿活性。引入构型限制型氨基酸 Acc 能够减少肽链的灵活性,限制构象的自由度,迫使肽链骨架和残基适应特定的位置^[19],还能抗蛋白酶水解。

3.4 抗肿瘤活性

很早报道 Acc^5 具有抑制肿瘤生长的活性^[20]。抑癌基因 p53 编码一个多功能蛋白,它可以通过介入抑制细胞生长或引起细胞凋亡,从而造成 DNA 损害或压力应激来调节细胞增殖。hdm2 (human double minute 2) 可以调节 p53 的蛋白表达,肽链 Ac-Phe-Met-Asp-Tyr-Trp-Glu-Gly-Leu-NH₂ 在 hdm2-结合位点与 hdm2 结合力较弱,将 7 位的甘氨酸替换为 Acc^3 时,更易与 hdm2 受体疏水性口袋结合而加强与 hdm2 受体的结合力,其结合力可以达到母体肽的 1 700 倍^[21]。

3.5 治疗心血管疾病

含有环状氨基酸的肽序列(图 3) 可以用作血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂和中性肽链内切酶抑制剂 (neutral endopeptidase, NEP), 对治疗与 ACE 或 NEP 抑制剂有关的疾病很有效果,尤其是心血管紊

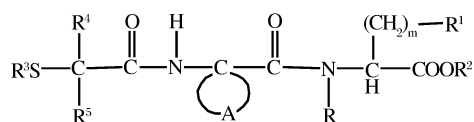


图 3 含有环状氨基酸肽序列的化合物结构示意图

R, R¹, R⁴ = 氢, 低级烷基, 环状烷基或含杂环的低级烷基, 芳烷基或环状低级烷基; R³, R⁵ = 氢, 低级烷基; A = 5 ~ 7 元碳环

乱,如高血压、肾功能衰竭(包括浮肿和排盐量减少)、肺水肿和充血性心力衰竭等疾病^[22]。

3.6 癌细胞探测

以¹¹C 标记的 Acc⁵可以用于癌症的诊断,注射后 1h,在癌细胞中的积累明显高于在肝脏中的积累,在癌细胞和肝脏的分布比例可以达到 3.0^[23,24]。以放射性 Acc⁵作癌细胞探测发现,Acc⁵与癌细胞有很强的结合力,给带有 VX-2 肿瘤细胞的小鼠注射放射性 Acc⁵,结果显示注射后放射性 Acc⁵在肿瘤细胞和肝脏中的浓度明显升高,并且放射性 Acc⁵随时间的推移而增加^[25]。Acc⁵能够穿过血脑屏障,在 X 射线衍射下,能够很好地成像,在早期脑部肿瘤的诊断中有很好的前景。

3.7 其他

Lys-Ala-Ala-Lys-Lys-Ala-Ala-Lys-Ala-Ala-Lys-Lys-Ala-Ala-NH₂是一个具有抗菌活性的十四肽。以 Acc⁶代替肽链中的 Ala,可将肽链缩至 Lys-Lys-Acc⁶-Acc⁶-Lys-Acc⁶-Acc⁶-Lys-Lys-Acc⁶-NH₂的十肽,其抗菌活性可达到母体肽的 8~10 倍^[26]。环状氨基酸还可用于杀菌剂^[27],甜味剂^[28]等。

4 结论

Accⁿ因其结构的刚性可以引起重要的构象效应,而在生物活性肽的设计合成中扮演着重要的角色。Accⁿ经常被应用到多肽序列中,寻找经济、高效、抗酶降解的生物活性肽,也被应用于 DNA 或肽核酸(PNA)^[29]中,稳定它们的螺旋结构,在生物学检验,杀菌剂等方面有着很好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Chai CLL, Johnson RC, Koh J. The reactivities of dehydroalanine derivatives towards 1,3-dienyl cobaloxime complex: new routes to functionalised carbocyclic amino acids[J]. *Tetrahedron*, 2002, 58(5):975-982.
- [2] Kaul R, Balaram P. Stereochemical control of peptide folding [J]. *Bioorg Med Chem*, 1999, 7(1):105-117.
- [3] Royo S, DeBorggraeve WM, Peggion C, et al. Turn and helical peptide handedness governed exclusively by side-chain chiral centers[J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(7):2036-2037.
- [4] Bardi R, Piazzesi AM, Toniolo C, et al. Stereochemistry of peptides containing 1-aminocyclopentanecarboxylic acid (Acc⁵): solution and solid-state conformations of Boc-Acc⁵-Acc⁵-NHMe [J]. *Biopolymers*, 1986, 25(9):1635-1644.
- [5] Paul PKC, Sukumar M, Bardi R, et al. Stereochemically constrained peptides. Theoretical and experimental studies on the conformations of peptides containing 1-aminocyclohexanecarboxylic acid[J]. *J Am Chem Soc*, 1986, 108:6363-6370.
- [6] Singh RK, Danishefsky S. Preparation of activated cyclopropanes by phase transfer alkylation[J]. *J Org Chem*, 1975, 40(20):2969-2970.
- [7] Lin SS, Liu JY, Wang JM. The synthesis of cyclic amino acids [J]. *Chin Chem Lett*, 2003, 14(9):883-884.
- [8] Douglas K, Kondareddi R, Ronald W. A facile procedure for the preparation of alicyclic α -amino acids[J]. *Synth Commun*, 1985, 15(4):267-272.
- [9] Hiyama T, Kai M. Synthesis of 1-azidocyclopropanecarboxylates from 2-azido-2-alkenoates[J]. *Tetrahedron Lett*, 1982, 23(20):2103-2104.
- [10] Estieu K, Ollivier J, Salaün J. Thermally induced and transition metal catalyzed aza-claisen rearrangement of 2-cyclopropylideneethyl imidates; a new entry to 1-aminocyclopropanecarboxylic acids[J]. *Tetrahedron Lett*, 1995, 36(17):2975-2978.
- [11] Santagada V, Fiorino F, Perissutti E, et al. Microwave-enhanced solution coupling of the α, α -dialkyl amino acid, Aib[J]. *Tetrahedron Lett*, 2001, 42(31):5171-5173.
- [12] Rich DH, Tam JP. A convenient synthesis of the amino acid, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid [J]. *Synthesis*, 1978, 1978:46.
- [13] Strazewski P, Tamm C. Eine einfache. Synthese von 1-amino-cyclopropan-1-carbonsäure[J]. *Synthesis*, 1987, 1987:298-299.
- [14] Angus PM, Golding BT, Sargeson AM. A simple synthesis of the ripening agent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid [J]. *J Chem Soc, Chem Commun*, 1993, 11:979-980.
- [15] Logusch EW. Facile synthesis of D, L-phosphinothricin from methyl 4-bromo-2-phthalimidobutyrate [J]. *Tetrahedron Lett*, 1986, 27(49):5935-5938.
- [16] Fadel A. A new and convenient synthesis of 1-aminocyclopropanecarboxylic acid from cyclopropanone acetal [J]. *Tetrahedron*, 1991, 47(32):6265-6274.
- [17] Harden JS, Begliomini E, Bardinelli TR, et al. Mixtures comprising strobilurines and ethylene modulators[P]. World(PTC) Patent: WO-2005044002, 2005-05-19.
- [18] Sukumar M, Raj PA, Balaram P, et al. A highly active chemotactic peptide analog incorporating the unusual residue 1-aminocyclohexanecarboxylic acid at position 2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1985, 128(1):339-344.
- [19] Kowalczyk W, Prahl A, Derdowska I, et al. Highly potent 1-aminocyclohexane-1-carboxylic acid substituted V₂ agonists of arginine vasopressin[J]. *J Med Chem*, 2004, 47:6020-6024.
- [20] Taillefer P, Berlinguet L. Synthesis of dipeptides containing 1-aminocycloalkylcarboxylic acids [J]. *Can J Chem*, 1962, 40(12):2214-2217.
- [21] Garcia-Echerria C, Chene P, Blommers MJ, et al. Discovery of potent antagonists of the interaction between human double minute 2 and tumor suppressor p53 [J]. *J Med Chem*, 2000, 43

有成员在各组织中的精确定位, Oatp/OATP 家族介导的底物转运的动力, Oatp/OATP 与其他蛋白的相互作用, Oatp/OATP 表达的转录和转录后调控, 以及 Oatp/OATP 特异性抑制剂的开发。综上所述, OATP 家族生理功能的深入了解及 OATP 亚家族新抑制剂的发现, 将对药物在体的转运机制及减少药物相互作用提供重要的理论依据。

参 考 文 献

- [1] Hagenbuch B, Meier PJ. The superfamily of organic anion transporting polypeptides [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1609(1):1-18.
- [2] Nozawa T, Imai K, Nezu J, et al. Functional characterization of pH-sensitive organic anion transporting polypeptide OATP-B in human[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 308(2):438-445.
- [3] Mikkaichi T, Suzuki T, Tanemoto M, et al. The organic anion transporter (OATP) family [J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2004, 19(3):171-179.
- [4] Hagenbuch B, Meier PJ. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties[J]. *Pflugers Arch*, 2004, 447(5):653-665.
- [5] Letschert K, Faulstich H, Keller D, et al. Molecular characterization and inhibition of amanitine uptake into human hepatocytes [J]. *Toxicol Sci*, 2006, 91(1):140-149.
- [6] Grube M, Kock K, Kamber S, et al. Modification of OATP2B1 mediated transport by steroid hormones [J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 70(5):1735-1741.
- [7] Fuchikami H, Satoh H, Tsujimoto M, et al. Effects of herbal extracts on the function of human organic anion-transporting polypeptide OATP-B[J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34(4):577-582.
- [8] Konig J, Seithel A, Gradhand U, et al. Pharmacogenomics of human OATP transporters[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2006, 372(6):432-443.
- [9] Lau YY, Wu CY, Okochi H, et al. Ex situ inhibition of hepatic uptake and efflux significantly changes metabolism: hepatic enzyme-transporter interplay [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 308(3):1040-1045.
- [10] Fischer WJ, Altheimer S, Cattori V, et al. Organic anion transporting polypeptides expressed in liver and brain mediate uptake of microcystin [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 203(3):257-263.
- [11] Sun H, Frassetto L, Benet LZ. Effects of renal failure on drug transport and metabolism [J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 109(1/2):1-11.
- [12] Kusuha H, Sugiyama Y. Active efflux across the blood-brain barrier: role of the solute carrier family [J]. *NeuroRx*, 2005, 2(1):73-85.
- [13] Li L, Meier PJ, Ballatori N. Oatp2 mediates bidirectional organic solute transport: a role for intracellular glutathione [J]. *Mol Pharmacol*, 2000, 58(2):335-340.
- [14] Kusuha H, He Z, Nagata Y, et al. Expression and functional involvement of organic anion transporting polypeptide subtype 3 (Slc21a7) in rat choroid plexus [J]. *Pharm Res*, 2003, 20(5):720-727.
- (上接第 363 页)
- (17):3205-3208.
- [22] Fink CA, Lebanon NJ. Cyclic amino acid derivatives [P]. US Patent:US-5668158, 1997-09-16.
- [23] Fujiwara T, Matsuzawa T, Kawai H, et al. Kinetic evaluation of ¹¹C-1-aminocyclopentane carboxylic acid in rabbits bearing VX-2 tumors using positron emission tomography [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1989, 80(12):1257-1260.
- [24] Washburn LC, Wieland BW, Sun TT. Carbon-11 labeled amino acids as agents for tumor and pancreas visualization [J]. *J Label Compd Radiopharm*, 1977, 13(2):203.
- [25] Hayes RL, Washburn LC, Wieland BW, et al. Carboxyl-labeled ¹¹C-1-aminocyclopentanecarboxylic acid, a potential agent for cancer detection [J]. *J Nucl Med*, 1976, 17(8):748-751.
- [26] Yokum TS, Elzer PH, McLaughlin ML. Antimicrobial α, α -dialkylated amino acid rich peptides with *in vivo* activity against an intracellular pathogen [J]. *J Med Chem*, 1996, 39(19):3603-3605.
- [27] Ackermann P, Fischer H, Vogel R, et al. Microbicidal compositions [P]. US Patent:US-5116872, 1992-05-26.
- [28] Tsang JW, Schmied B, Nyfeler R, et al. Peptide sweeteners 6, structural studies on the C-terminal amino acid of L-aspartyl dipeptide sweeteners [J]. *J Med Chem*, 1984, 27(12):1663-1668.
- [29] Suparpprom C, Srisuwannaket C, Sangvanich P. Synthesis and oligodeoxynucleotide binding properties of pyrrolidiny peptide nucleic acids bearing prolyl-2-aminocyclopentanecarboxylic acid (ACPC) backbones [J]. *Tetrahedron Lett*, 2005, 46(16):2833-2837.