
采用固载化酰基转移分子反应器迭代创新设计实现空间大位阻肽的高效固相合成

作者：writer 来源：科学网

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/34813.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

采用固载化酰基转移分子反应器迭代创新设计实现空间大位阻肽的高效固相合成。近日，南京大学姚祝军教授/刘发博士研究团队模拟核糖体翻译功能，原创性地提出了固载化酰基转移分子反应器（Ribosome-Mimicking Molecular Reactor，简称RMMR）原理，并成功研发为新一代多肽固相合成技术（简称RMMR SPPS）。RMMR SPPS不仅完全覆盖传统多肽固相合成技术可成功实施的多肽序列范围，还可高效固相合成以往无法实现的、含N-甲基和，-双取代氨基酸的高空间位阻多肽序列，同时兼容现有商品化自动化多肽固相合成仪器，为多肽序列中引入大位阻氨基酸提供了高效、便捷的通用获取途径。

2025年8月6日，相关研究成果以Immobilized acyl-transfer molecular reactors enable the solid-phase synthesis of sterically hindered peptides为题发表Nature Chemistry期刊。

近年来，多肽药物发展非常迅速，但其治疗潜力却受到代谢稳定性和透膜性差的严重限制。在肽骨架中引入N-或-烷基化氨基酸可通过改善稳定性和膜通透性来增强成药性。尽管绝大多数的普遍多肽可通过Bruce Merrifield于1963年首创发明的多肽固相合成法（solid-phase peptide synthesis，简称SPPS）制备，且可实现工业规模的自动化机器合成。然而，Merrifield SPPS方法由于两相间传质效率低下导致酰基转移动力学性质较差，无法实现上述大位阻多肽序列的合成。

南京大学姚祝军/刘发团队通过模拟蛋白质翻译过程中核糖体作为巨大的分子机器使肽酰和氨酰tRNA靠近并发生分子内酰基转移以促进肽键形成的功能，研究、验证并开发了首例固载化的模拟核糖体的分子反应器（英文缩写RMMR）。该分子反应器包含两个关键部分：一个多肽合成把手区（模拟肽酰tRNA）和多个酰基活化区（模拟氨酰tRNA），将其固载至商用树脂后即成为可循环迭代的反应平台。RMMR SPPS通过在固载化RMMR上发生活化酯与多肽链N端氨基的伪均相酰基转移反应，从根源上解决了传统SPPS两相间酰基转移的问题。这种采用可循环工作的分子机器实施目标肽键形成的SPPS方案，颠覆了传统Merrifield SPPS合成的工作原理（图1）；同时，新的迭代RMMR方法也承接了传统SPPS在氨基酸活化酯方面的部分成就，并在新方案中赋予其控制反应的开/关操控（图2）：商用的N-Fmoc氨基酸与温和廉价缩合剂DIC所形成的活性中间体将RMMR树脂上的活化功能区turnon，随后根据空间邻近效应介导发生分子反应器内/间快速酰基转移完成目标酰胺键的形成；而那些未被反应掉的活化功能区则在随后的哌啶脱除多肽段末端N-Fmoc保护基过程中同时被turnoff，准备好迎接下一轮氨基酸的缩合循环。该过程高度可重复运作且操控简单，因此适配于自动化多肽合成平台。

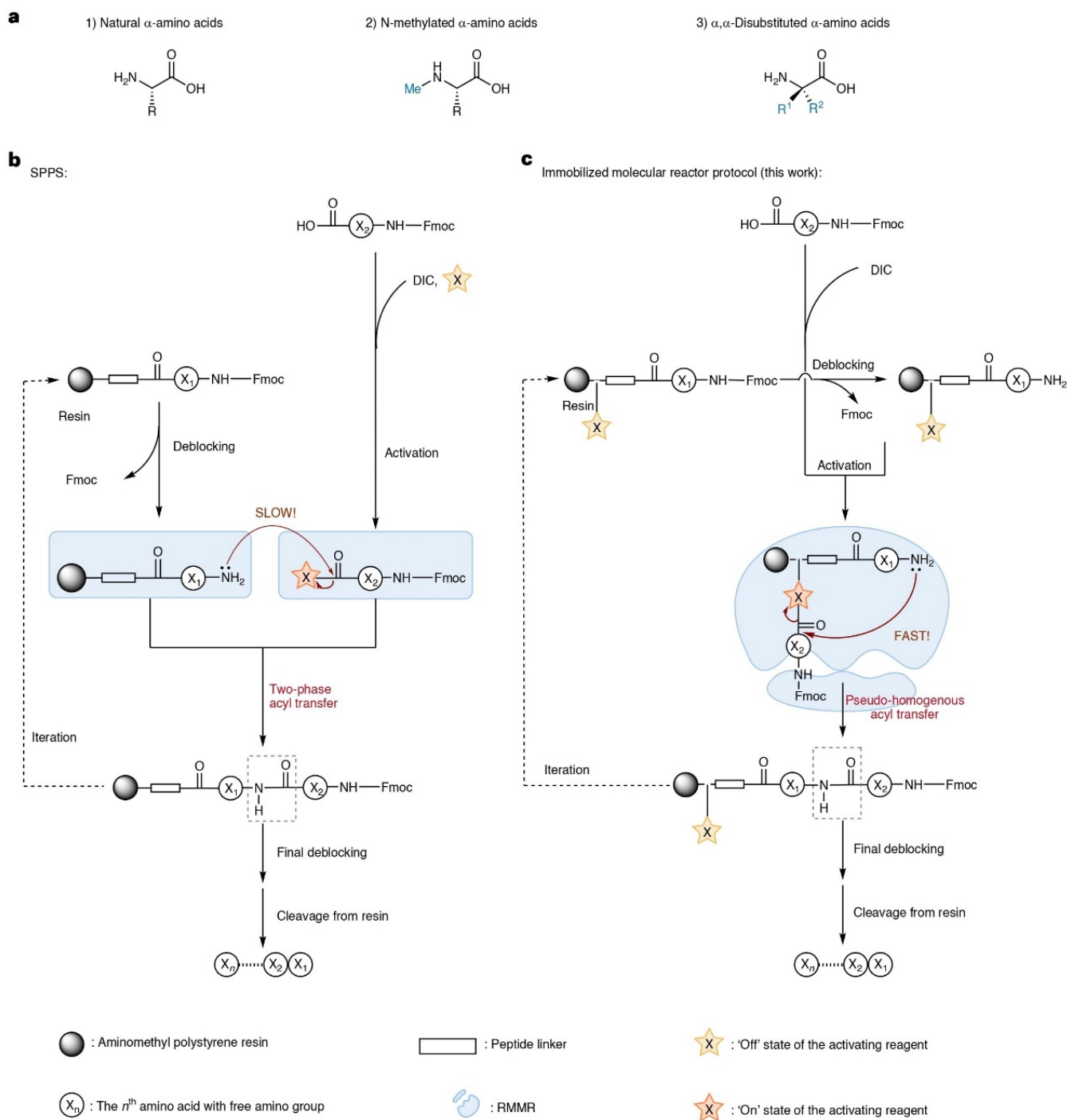


图1：(a)天然氨基酸和两种代表性大位阻 α -氨基酸。(b)经典SPPS流程示意图。(c)基于RMMR方案的多肽合成流程示意图。

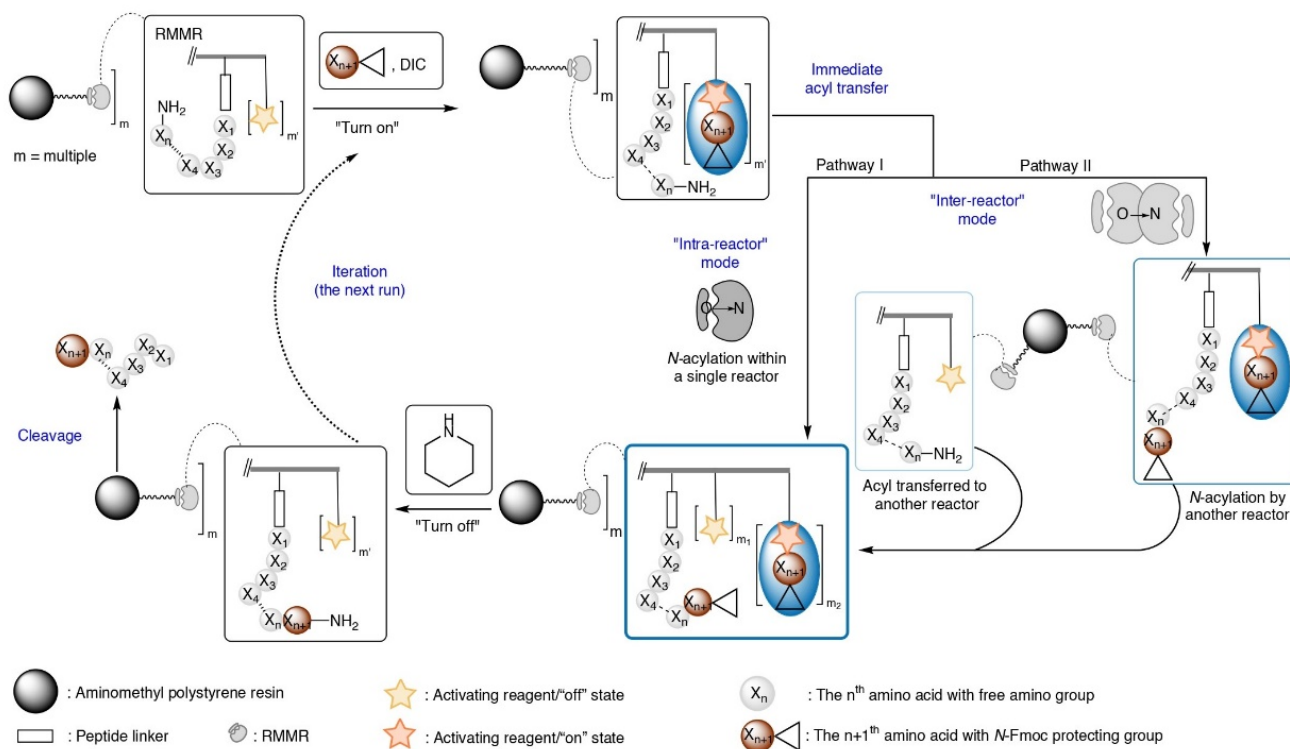


图2：基于RMMR方案的潜在酰基转移路径。路径一：分子机器内酰基转移；路径二：分子机器间酰基转移。

RMMR合成能力验证：首先，经优化的承载了含四个活化剂拷贝的RMMR的合成树脂被用于检验合成两条普通短肽，其粗产品纯度与传统SPPS方法所获得的结果相当，从而验证了RMMR树脂合成多肽序列的能力（图3）。同时，RMMR SPPS对一例由三个氨基酸组成的较长肽的高效合成，也证明了RMMR原理可自适应调节分子内/间反应完成酰胺键形成。该肽也被证实可通过自动化合成机器进行合成，效率与人工操作合成相当。

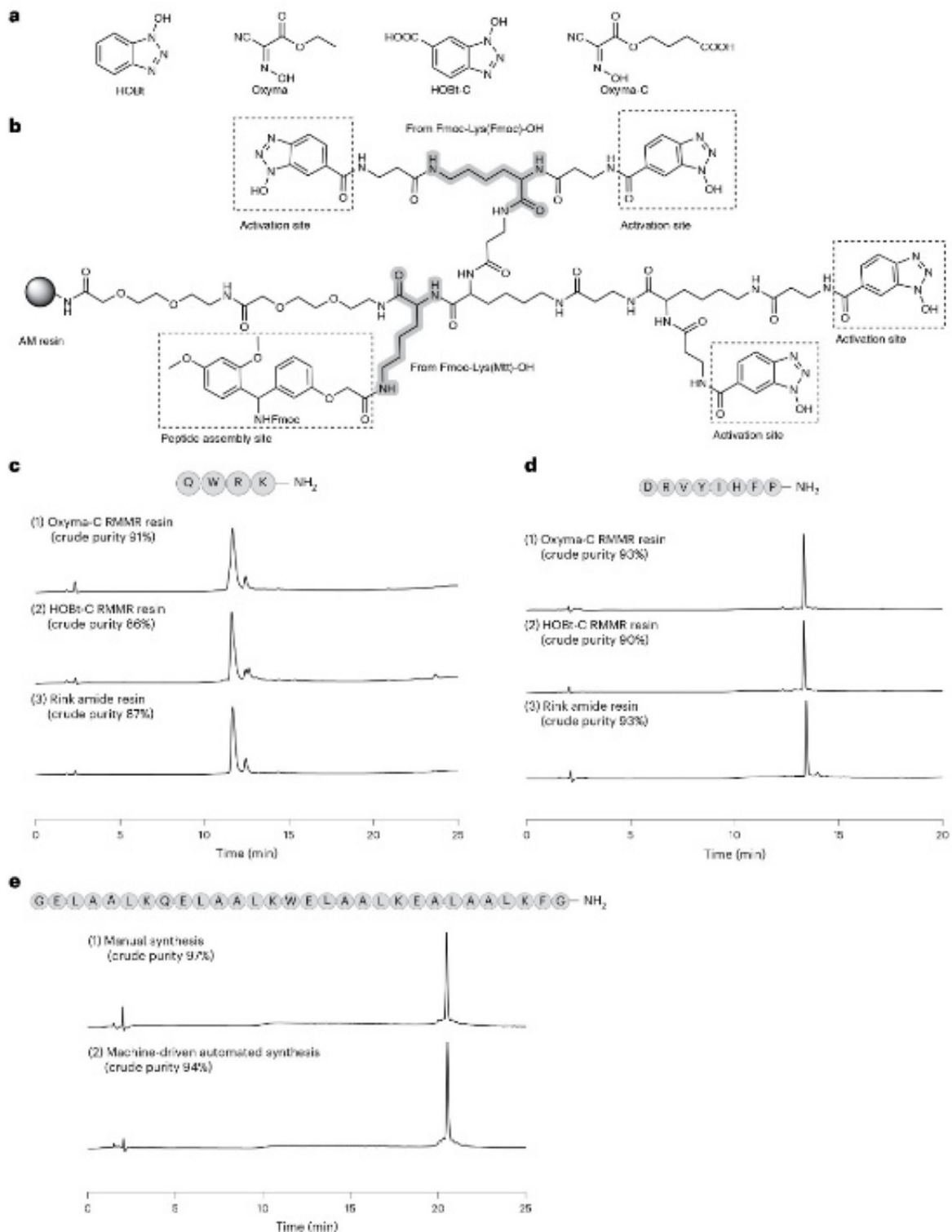
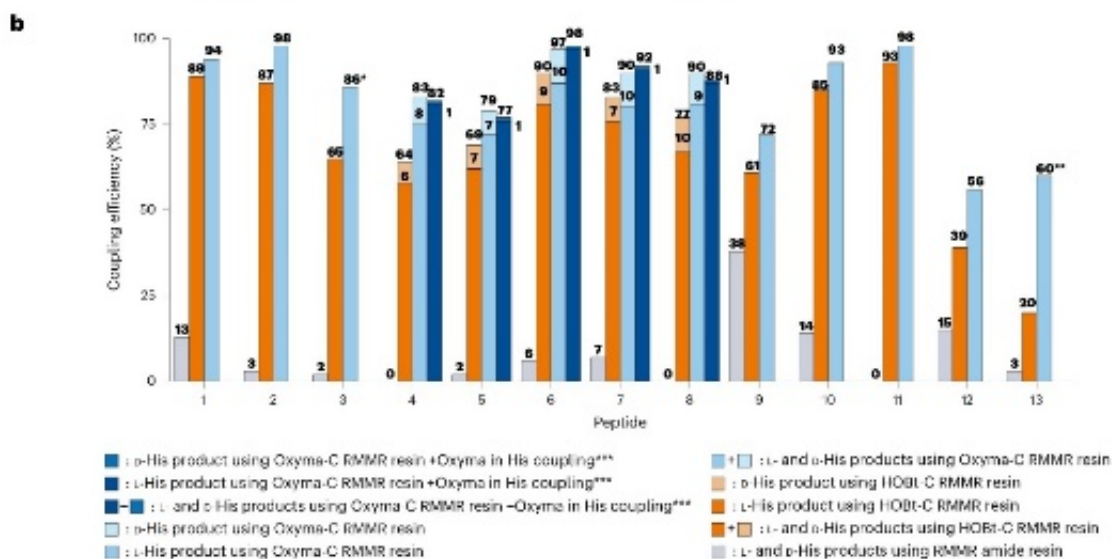
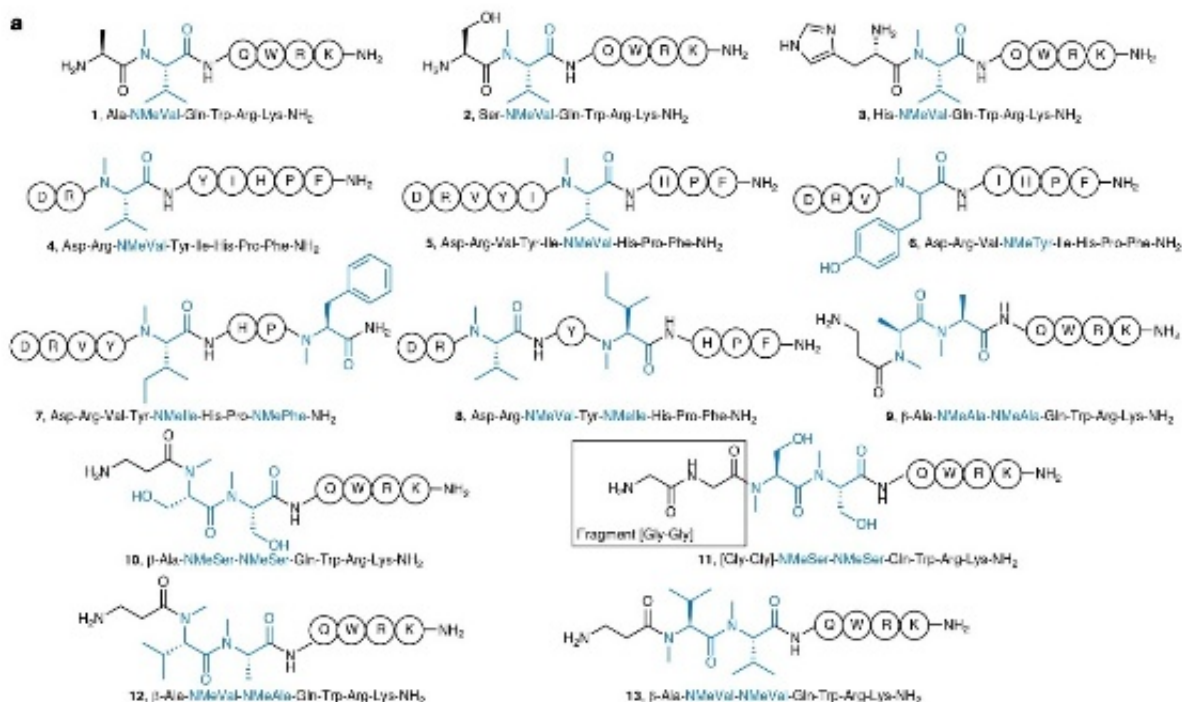


图3：RMMR的组装及其多肽合成能力验证。(a)两种通用活化剂及其可连接的衍生物结。(b) RMMR树脂的组装结构。(c) Oxyma-C RMMR/ HOBt-C RMMR/ Rink resin三种树脂合成四肽Q-W-R-K-NH₂的结果。(d) Oxyma-C RMMR/ HOBt-C RMMR/ Rink resin三种树脂合成八肽血管紧张素II的结果。(e) Oxyma-C RMMR树脂手动/自动合成30肽结果。

RMMR机理的验证：代表性空间位阻肽的合成研究结果显示，RMMR上负载4个活化剂时的合成效率优于2/8配置时的效率；RMMRSPPS合成效率显著高于传统SPPS合成空间位阻肽的条件（

DIC/Oxyma, HATU/DIPEA, 室温/加热) 或者使用Tentagel树脂合成的效率; 通过不具活化性的Oxyma RMMR树脂和当反应过程中外加活化剂的两组实验效率大幅下降, 验证RMMR发生了伪均相酰基转移; 通过梯度取代度的3种树脂(0.07/0.12/0.27 mmol/g) 验证了分子反应器内/间酰基转移的发生及其贡献比例。

两类大位阻氨基酸底物拓展: 底物普适性实验结果表明, RMMR SPPS方法能以高至98%的效率合成含N-甲基和 β -双取代两类大位阻氨基酸的多肽序列(图4)。在多种常见的N-甲基氨基酸/ β -双取代氨基酸位置前后均可高效缩合不同性质的氨基酸, 前/后相对位置不影响缩合效率, 普适性表现优秀。同时, 序列中可连续或非连续地高效缩合多个大位阻氨基酸。进一步, 该方法首次实现了同时存在两种类型大位阻氨基酸的多肽序列的高效缩合, 并以90%效率完成了难度极大的Aib-NMeVal型酰胺键的形成。



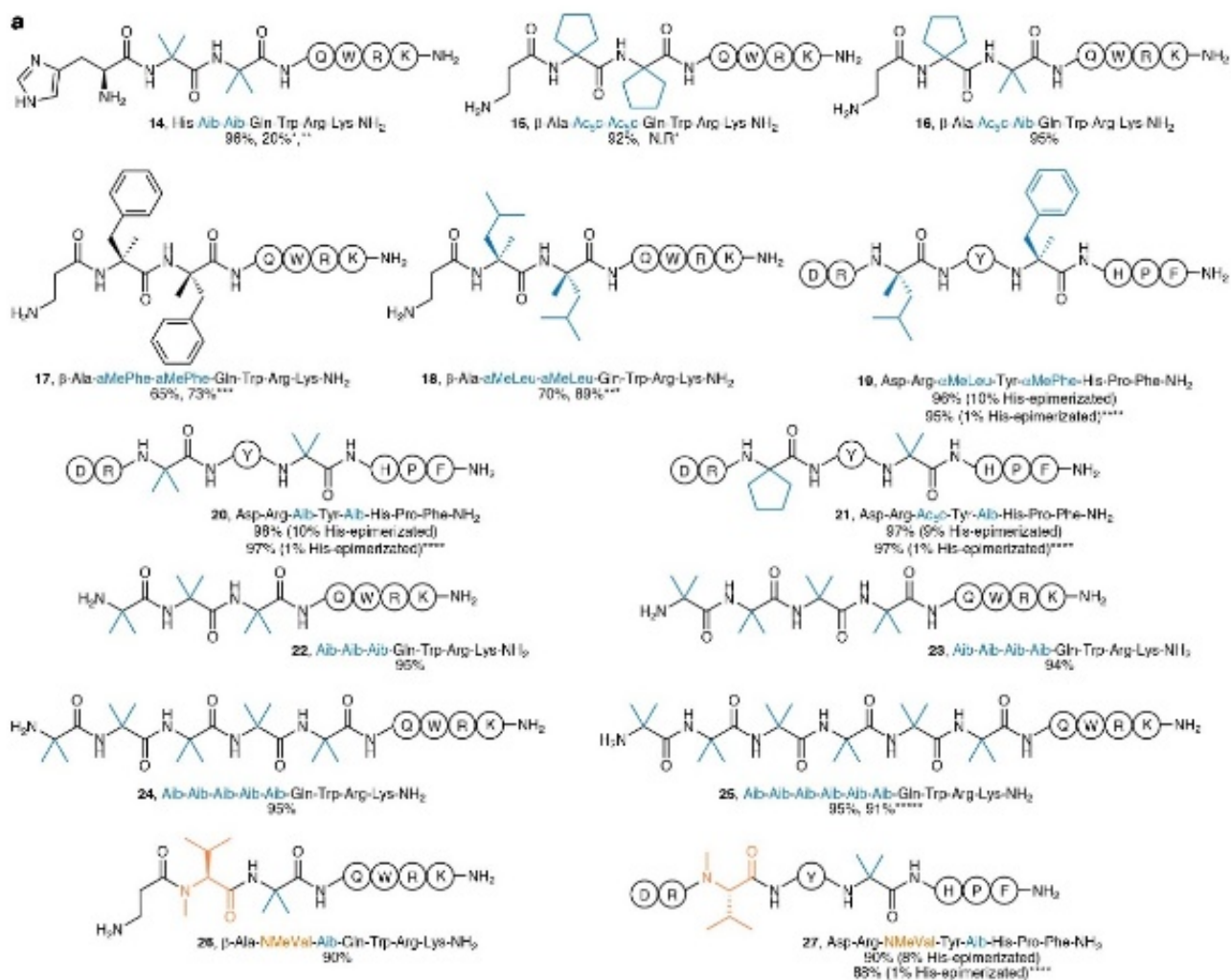


图4：含N-甲基和，-双取代大位阻氨基酸的多肽底物拓展。

新方法在多种具有重要生理活性的大位阻多肽天然产物的固相合成中展现出优势。例如，采用RMMR SPPS的cyclosporin A类似物合成范例（图5）显示，含有7个N-Me氨基酸的链状11肽最终粗产品纯度可达88%；经分离纯化，其产率可达70%，大大超越了现有文献报道的所有结果。范例中还包括了抗菌肽alamethicin F衍生物的RMMR SPPS，该二十肽序列中包含了八个-甲基丙氨酸（Aib）残基，其机器自动化合成的粗产品纯度可达88%，分离纯化后产率为73%，其结果极为惊艳。

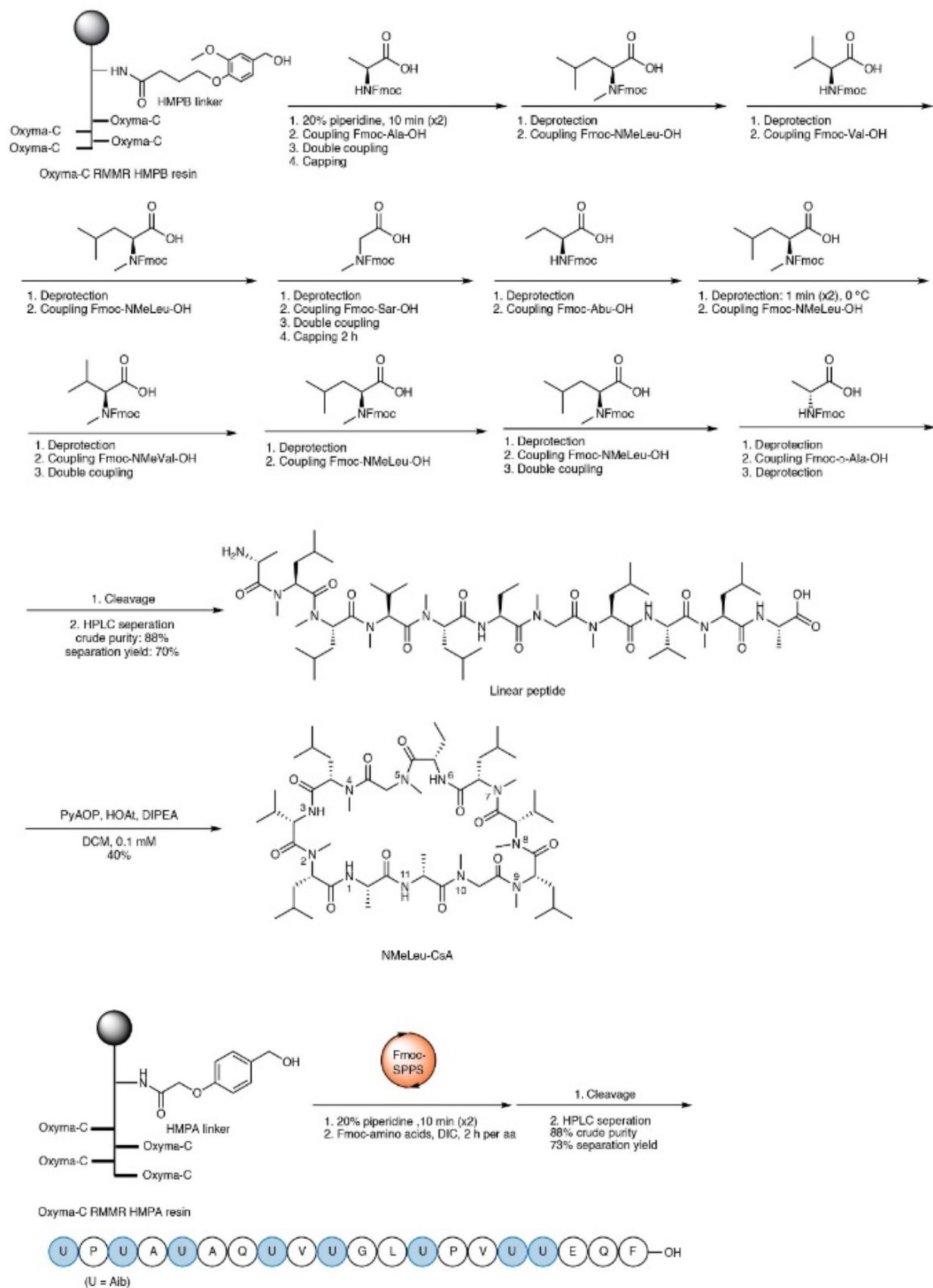


图5：天然产物cyclosporin A和alamethicin F类似物的快捷合成。

综上，该项由南京大学完成的研究工作创造性地研发了一种基于固载化酰基转移分子反应器的新型迭代原理固相多肽合成技术（RMMR SPPS），通过模拟核糖体机制显著提升了含有多个密集N-甲基化和，-二取代氨基酸的空间位阻肽的合成效率。RMMR SPPS技术突破了60多年来传统固相多肽合成法无法克服的原理性限制，实现了温和条件下难合成肽链（如环孢素A类似物）的高效组装，是一项在多肽固相合成和自动化合成领域具有里程碑意义的重大突破。RMMR SPPS技术可望极大加速含有N-甲基化和，-双取代氨基酸的多肽药物探索，为未来口服及作用于细胞内靶点的肽类药物候选分子的发现和生物相容性材料的研究开发带来重大突破机遇。

该工作获得了国家自然科学基金原创探索计划项目（No. 22450003）的资助。南京大学化学化工学院博士研究生魏思媛、张徐纯完成了相关实验工作和数据总结整理，杨晓亮副教授参与了前期工作，姚祝军教授和刘发博士设计并指导了该项课题。（来源：科学网）

相关论文信息：<https://doi.org/10.1038/s41557-025-01896-8>

作者：姚祝军等 来源：《自然-化学》

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发