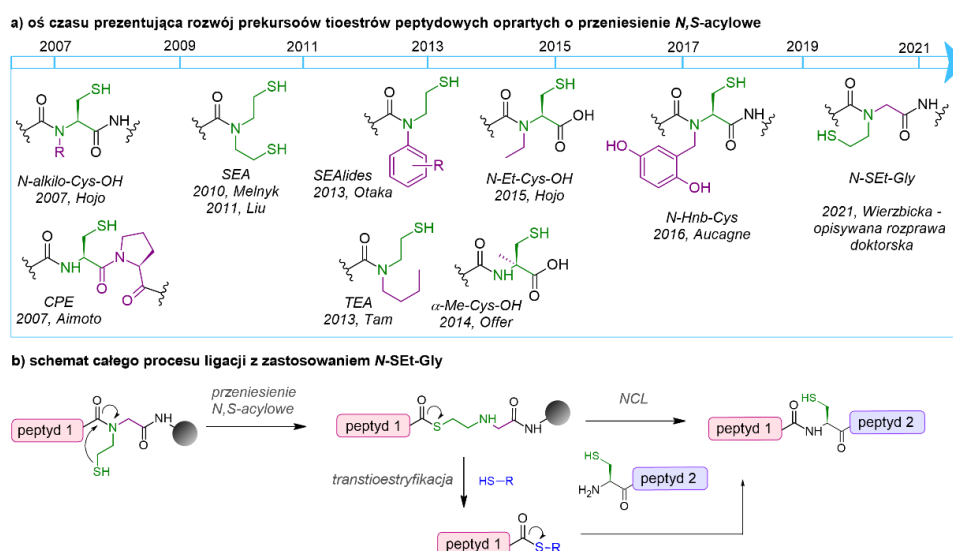


1. Streszczenie

Natywna Ligacja Chemiczna (NCL) umożliwia wydajną syntezę długich polipeptydów oraz białek, której nie można osiągnąć za pomocą standardowej syntezy na nośniku stałym (SPPS). Jednak synteza chemiczna tioestrów peptydowych, będących komponentami NCL, nadal napotyka na trudności związane z ich niską stabilnością oraz wolną kinetyką ligacji. W tym celu opracowałam jednoreaktorową (ang. *one-pot*) metodę otrzymywania tioestrów peptydowych z wykorzystaniem przeniesienia acylu z atomu azotu na atom siarki (*N,S*-acylowego) w *N*-[2-tioetylo]glicynie (*N*-SEt-Gly) i natywnej ligacji chemicznej [i]. Spodziewając się, że cysteamina ulega migracji acylu [ii], wprowadziliśmy ją do peptydylożywicy w wyniku substytucji nukleofilowej z resztą kwasu chlorooctowego. Ryc 1 ukazuje oś czasu opracowanych do tej pory prekursorów tioestrów bazujących na przeniesieniu *N,S*-acylowemu oraz schemat całego jednoreaktorowego procesu tioestryfikacji i ligacji. Po migracji acylu, *N*-SEt-Gly może reagować bezpośrednio z peptydem zawierającym na *N*-końcu resztę cysteiny lub zostać poddana transtioestryfikacji w celu otrzymania odpowiedniego tioestru aktywnego. Zaobserwowałam, że NCL zachodzi w obydwu wypadkach i jest szybsza w obecności zewnętrznego tiolu. Ligacja zachodzi zarówno w kwaśnym (pH 3) jak i neutralnym (pH 7.4) środowisku z dodatkiem odpowiednio: 2-merkaptoetanoosulfonianu sodu (MESNa) oraz didiotreitolu (DTT) lub kwasu 4-merkaptofenylooctowego (MPAA) oraz tris (2-karboksyetylo)fosfiny.



Ryc. 1 a) oś czasu prezentująca rozwój prekursorów tioestrów peptydowych opartych o przeniesienie *N,S*-acylowe; b) schemat procesu ligacji z zastosowaniem *N*-SEt-Gly, HS-R – zewnętrzny tiol.

Opracowana metoda została zastosowana do syntezy modelowych liniowych oraz cyklicznych peptydów, w szczególności trudnych do otrzymania peptydów cyklicznych, takich jak: cyklotetrapeptydy, bicykliczny inhibitor trypsyny z nasion słonecznika SFTI-1 oraz Θ -defensyna RTD-1. Synteza całego prekursora może być zautomatyzowana i przebiega bez epimeryzacji i dimeryzacji. Zbadane zostały także biblioteki peptydowe, takie jak biblioteka Ac-LYRA-Xaa-*N*-SEt-Gly, która została poddana ligacji z peptydem H-CKA-OH w celu zbadania uniwersalności metody wobec wszystkich aminokwasów kanonicznych w pozycji Xaa. Następną biblioteką peptydową: Zaa-LYRAG-*N*-SEt-Gly zawierała na *N*-końcu nienaturalne tiolowane aminokwasy (penicylaminę, homocysteina itp.) oraz selenocysteinę celem zbadania różnic w cyklizacji i poddana desulfuryzacji oraz deselenizacji celem otrzymania odpowiednich naturalnych aminokwasów. Szybkość reakcji została znacznie poprawiona dzięki zastosowaniu reaktora mikrofalowego. Opisana metoda ma również zastosowanie w ortogonalnym uwalnianiu peptydów z nośnika stałego.

ⁱ Wierzbicka M., Waliczek M., Dziadecka A., Stefanowicz P. One-pot cyclization and cleavage of peptides with N-terminal Cysteine via *N,S*-acyl shift of N-2-[thioethyl]glycine residue. *J. Org. Chem.*, **2021**, 86 (17), 12292-12299

ⁱⁱ Waliczek M., Wierzbicka M., Arkuszewski M., Kijewska M., Jaremko Ł., Rajagopal P., Szczepski K., Sroczyńska A., Jaremko M., Stefanowicz P., Attempting to synthesize lasso peptides using high pressure. *PLoS One*, **2020**, 15, e0234901/1-e0234901/21