

特约评述

DOI: 10.12211/2096-8280.2024-008

与核酸兼容的化学反应开发进展

刘子健^{1,2}, 穆柏杨³, 段志强¹, 王璇¹, 陆晓杰^{1,2}

(¹ 中国科学院上海药物研究所, 原创新药研究全国重点实验室, 上海 201203; ² 中国科学院大学, 北京 100049;
³ 山东第二医科大学, 山东 潍坊 261053)

摘要: DNA 编码化合物库 (DNA-Encoded Library, DEL) 技术作为一种新兴的小分子药物筛选手段已经成为新药研发中不可或缺的重要技术平台。与核酸兼容 (on-DNA) 的化学反应对于构建具有丰富化学空间和结构多样性的 DEL 具有重要意义。近年来, on-DNA 化学反应的数量不断增加, 极大地拓宽了可用于 DEL 构建的化学反应范畴。同时, 一系列创新性的反应方法, 诸如光催化、固相合成以及生物合成等, 亦在 on-DNA 化学反应领域不断涌现, 进一步推动了该领域的发展。本文系统综述了近年来金属催化的 on-DNA 化学反应, 包括: C(sp²)-C(sp²) 键生成反应、C(sp³)-C(sp³) 键生成反应、C(sp²)-C(sp³) 键生成反应以及 C(sp²)-X 键生成反应; 采用目标导向合成策略和多样性导向合成策略合成具有单环、稠环、螺环等 on-DNA 优势骨架; 光催化和酶催化 on-DNA 化学反应等的研究进展。然而, 目前开发的 on-DNA 化学反应仍然存在诸如与核酸的兼容性、底物适用性等问题, 开发更高效、更稳定且能在温和条件下进行的 on-DNA 化学反应, 发展新型的 on-DNA 化学反应类型, 以及结合高通量筛选和计算机辅助的 on-DNA 反应开发仍然具有重要意义。

关键词: DNA 编码化合物库; on-DNA 化学反应; 合成策略; 生物合成

中图分类号: R914.2; Q81 **文献标志码:** A

Advances in the development of DNA-compatible chemistries

LIU Zijian^{1,2}, MU Baiyang³, DUAN Zhiqiang¹, WANG Xuan¹, LU Xiaojie^{1,2}

(¹ State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China; ² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³ Shandong Second Medical University, Weifang 261053, Shandong, China)

Abstract: DNA-Encoded Library (DEL) technology, as an emerging means of small molecule drug screening, has become an important and indispensable technology platform for new drug discovery and development. The technology incorporates many advantages from combinatorial chemistry, molecular biology, and chemical bioinformatics, which greatly improve the efficiency of compound library synthesis and screening. Meanwhile, driven by the development of nucleic acid-compatible chemical reactions and high-throughput sequencing technology, DEL technology has made

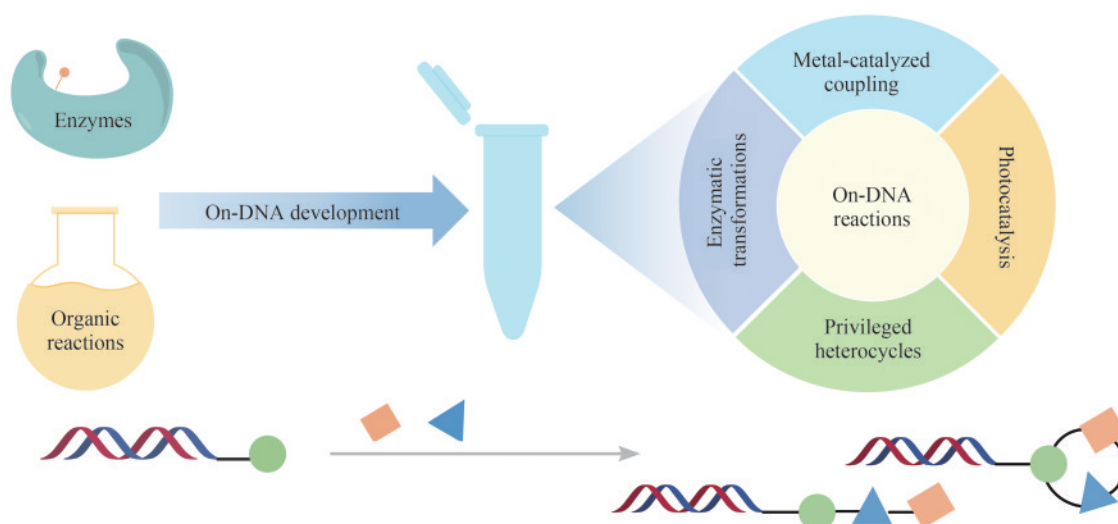
收稿日期: 2024-01-17 修回日期: 2024-05-30

基金项目: 国家自然科学基金 (22377139); 国家重点研发计划 (91953203)

引用本文: 刘子健, 穆柏杨, 段志强, 王璇, 陆晓杰. 与核酸兼容的化学反应开发进展[J]. 合成生物学, 2024, 5(5): 1102-1124

Citation: LIU Zijian, MU Baiyang, DUAN Zhiqiang, WANG Xuan, LU Xiaojie. Advances in the development of DNA-compatible chemistries [J]. Synthetic Biology Journal, 2024, 5(5): 1102-1124

remarkable progress and gradually become a fast, economical, and efficient high-throughput screening platform, and has been more and more widely used in seedling compounds screening by universities, research institutes, and large pharmaceutical companies. The success of a DEL screening relies heavily on the chemical space and structural diversity of the compound libraries, both of which are directly affected by the number of chemical reactions compatible with nucleic acids. Therefore, developing the on-DNA chemical reactions to continuously enrich the chemical toolbox for DEL synthesis and thus enhance the structural diversity and drug potential of the molecules in the libraries has been the focus in this field. In recent years, the number of on-DNA chemical reactions has increased significantly, greatly broadening the scope of chemical reactions available for DEL construction. Meanwhile, a series of novel reaction methods, such as photocatalysis, electrocatalysis, and biosynthesis, have also emerged in the application of on-DNA chemical reactions and further expanded the field that on-DNA chemical reactions can reach. In this paper, we systematically review the metal-catalyzed on-DNA chemical reactions in recent years, including $C(sp^2)-C(sp^2)$ bond-formation reactions, $C(sp^3)-C(sp^3)$ bond-formation reactions, $C(sp^2)-C(sp^3)$ bond-formation reactions, and $C(sp^2)-X$ bond-formation reactions; the synthesis of on-DNA privileged heterocycles with single-ring, fused-ring, and spirocyclic rings by using target-oriented synthetic and diversity-oriented synthetic strategies; the research progress of photocatalytic and enzyme-catalyzed on-DNA chemical reactions. However, the current developments in on-DNA reactions also have limitations, such as compatibility with nucleic acids and substrate suitability. In the future, it is important to exploit more robust on-DNA reactions that can proceed under mild conditions, new types of on-DNA reactions, and the combination of high-throughput screening and computer-assisted on-DNA reactions.



Keywords: DNA-Encoded Library; on-DNA chemical reactions; synthetic strategies; biosynthesis

苗头化合物 (Hit) 的发现, 作为小分子药物研发流程的起始点, 其高效且迅速的识别一直被视为关键步骤。当前, 尽管高通量筛选技术在 Hit 的发掘中占据主导地位, 但其固有的局限性, 如高昂的化合物库维护成本、冗长的筛选周期以及开发 Assay 所需的高额试剂费用, 都极大地制约了其广泛应用^[1]。随着计算化学的发展, 基于结构

的计算机辅助药物设计的虚拟筛选技术逐渐崭露头角, 成为发掘 Hit 的重要手段。然而, 该技术在一定程度上受限于对成熟靶点研究数据的依赖, 从而在新靶点发现中的应用受到了一定限制^[2]。基于片段的药物发现技术作为新兴方法, 已展现出巨大潜力, 并有药物成功进入市场。但该技术仍受限于分子碎片筛选过程的资源消耗和时间成

本, 现有筛选技术如 X-ray、NMR 虽成功率高, 但筛选速度慢, 制约了靶点筛选的数量和项目推进速度^[3]。因此, 开发更为经济、快速的技术手段, 以加速新靶点的筛选和创新药物的研发, 仍是当前 Hit 发现领域亟待解决的关键问题。

DNA 编码化合物库 (DNA-Encoded Library, DEL) 技术, 由 Scripps 研究所的 Sydney Brenner 和 Richard Lerner 教授于 20 世纪 90 年代初提出, 该技术利用 DNA 序列的多样性和可读性, 将 DNA 与小分子实体共价连接, 通过 DNA 序列记录化合物的结构信息。当小分子与靶点蛋白结合后, 解析 DNA 序列即可确定与靶点蛋白结合的小分子结构^[4]。相较于传统的高通量筛选 (high-throughput screening, HTS), DEL 合成采用组合化学的 “split-pool” 策略, 结合多种兼容核酸 (on-DNA) 化学反应、数量庞大的试剂库 (building block, BB) 及特殊的化合物编码方式, 短时间内可合成百万级至百亿级带有 DNA 序列的化合物库, 可以满足筛选所需的结构多样性和数量要求。DEL 筛选主要基于亲和力进行, 通过将目标靶蛋白与整个化合物库进行筛选, 而非传统逐一筛选单个化合物, 因此能够大幅提高筛选效率, 缩短药物研发周期, 降低研发成本^[5]。此外, 从筛选数据中可分析构效关系 (structure-activity relationship, SAR), 为药物分子的合理设计提供指导, 从而加速 “Hit to Lead” 的转化过程。鉴于 DEL 合成和筛

选的诸多优势, 该技术不仅受到大型制药公司的青睐, 同时也被学校和科研院所广泛应用于新药研发中的 Hit 发现与优化, 并有多多个候选药物成功进入临床研究阶段 (图 1)^[6-7]。

DEL 筛选的成功与否在很大程度上依赖于化合物库的化学空间和结构多样性, 而这种多样性又受限于 on-DNA 化学反应的种类和数量。然而, 鉴于核酸链的独特性质, on-DNA 化学反应需满足一系列严格条件。首先, 这些反应必须在温和且高稀释度的水相环境中进行, 并避免使用强酸、强碱、强氧化剂等刺激性试剂^[8], 且反应温度不能过高^[9]。其次, 由于核酸结构富含多种反应位点 (如氨基、羟基等), on-DNA 化学反应必须展现出高度的化学选择性, 确保反应发生在小分子而非核酸结构上^[10]。除反应条件限制外, DEL 的合成方法也与传统的小分子库合成方式迥异。在 DEL 中, 化合物通常是以 “pool” 的形式进行合成的, 这意味着在同一反应容器内, 成百上千的底物需同时进行相同的化学反应。因此, 反应必须具备较高的转化率, 以减小不同底物间的反应不均衡性, 并避免副产物的过度积累。最后, 用于构建化合物库的化学反应应具有广泛的底物普适性, 以便将更多的 BB 纳入 DEL 中, 从而进一步增加结构多样性。

尽管受到上述反应条件的限制, 经过三十多年的深入研究与持续努力, 适用于 DEL 的 on-DNA

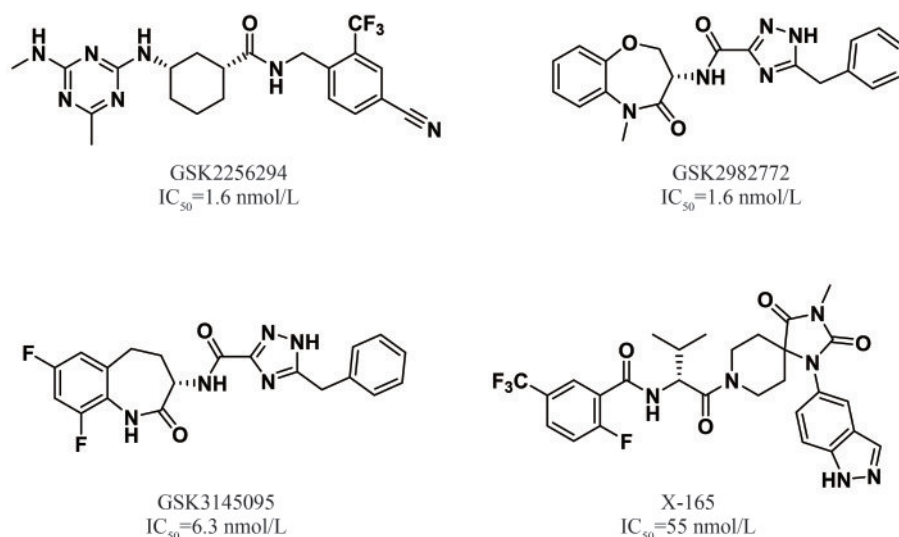


图 1 利用 DEL 技术发现的候选药物

Fig. 1 Candidate drugs discovered through DEL technology

化学反应开发已取得了显著进展。这些化学反应涵盖了取代反应、加成反应、缩合反应、氧化还原反应、点击反应、成环反应、偶联反应以及C—H活化反应等广泛的有机化学反应类型^[11-15]。此外，多种适用于 on-DNA 化学反应的新颖方法也不断涌现，如光催化反应^[16]、电催化反应^[8]、胶束参与的反应^[17]以及酶催化反应^[18-19]等。这些反应和反应方法的开发不仅为扩大 DEL 的化学空间奠定了坚实基础，同时也极大地丰富了可用于筛选的化合物库的化学空间和结构多样性，为新药发现领域注入了新的活力。

在本文中，我们着重介绍了金属催化的 on-DNA 偶联反应、光催化的 on-DNA 化学反应、on-DNA 的优势骨架合成以及酶催化的 on-DNA 化学反应等领域的代表性成果与最新研究进展。最后，我们结合当前 on-DNA 化学反应开发领域仍然存在的问题与挑战，对该领域的未来发展进行了探讨。

1 金属催化的 on-DNA 偶联反应

1.1 C(sp²)—C(sp²)键生成反应

Suzuki-Miyaura 偶联反应，作为一种经典的 C(sp²)—C(sp²) 偶联方法，以其温和高效、广泛的底物兼容性等反应特性，已在 on-DNA 化学反应开发中得到了广泛应用^[20]。关于该反应在 DNA 兼容性方面的开发，最早可追溯到 2011 年。当时，Manderville 小组^[21]率先尝试将常用于构建 C8 位芳基化嘌呤单核苷的 Suzuki-Miyaura 偶联反应拓展至寡核苷酸的修饰领域。他们成功合成了 C8 位芳基修饰的寡核苷酸，从而首次证实了该反应与短链 DNA 的兼容性。这一突破性的研究为 Suzuki-Miyaura 偶联反应在 on-DNA 化学反应的应用奠定了坚实基础。

2015 年，Clark 小组^[22]报道了 on-DNA 的 Suzuki-Miyaura 偶联反应（如表 1，1）。随后，针对反应中活性较弱的芳基氯底物，作者又利用 POPd/sSPhos 催化体系成功实现了 DNA 缀合的苯基氯化物和嘧啶基氯化物与各类硼酸/酯的偶联^[23]（如表 1，2）。这一创新方法使得成本更为低廉的（杂）芳基氯化物也能作为偶联底物，参与 on-

DNA 化学反应。

2018 年，Huang 小组^[24]报道了水溶性 sSPhos-Pd-G2 催化体系在 on-DNA 的 Suzuki-Miyaura 偶联反应中的应用（如表 1，3）。经过优化反应条件，研究团队发现，尽管具有显著立体位阻效应的硼酸底物活性较低，但富电子和缺电子的芳基硼酸（酯）底物均能与低活性的芳香氯底物实现高效的偶联反应。这一创新性的研究为 on-DNA 的 Suzuki-Miyaura 偶联反应的开发提供了新的策略和思路。

2019 年，Lerner 及其同事^[25]突破了传统的卤素-硼试剂偶联组合，开发出基于芳基磺酸氟的 Suzuki-Miyaura 偶联反应体系（如表 1，4）。该反应在室温条件下进行，具有广泛的底物普适性，能够高效地将各种富电子、缺电子以及具有一定立体位阻的硼试剂转化为目标产物。然而，由于商业化的磺酸氟底物种类有限，其多样性尚显不足，因此在某些情况下需要额外合成所需的构建单元。尽管如此，这一创新性的反应体系仍为 on-DNA 的 Suzuki-Miyaura 偶联反应的开发开辟了新的途径。

在上述反应体系中，大多数反应方法对于烷基硼酸底物的适用性有限。针对这一挑战，Peng 课题组^[26]巧妙地利用 Boc 保护的氨甲基三氟硼酸钾，高效地合成了 on-DNA 的氨甲基芳烃，从而显著拓宽了硼酸构建块在 Suzuki-Miyaura 偶联反应中的应用范围（如表 1，5）。随后的研究进一步证实，这些氨甲基芳烃能够与多种羧酸、醛、醇和胺等 BB 进行反应，从而充分展示了其在 on-DNA 化学反应中的应用价值。

此后，多个研究团队对 on-DNA 的 Suzuki-Miyaura 偶联反应的催化体系进行了深入探索。例如，Neri 小组^[27]采用 Pd(OAc)₂/TPPTS 催化体系进一步扩大了硼酸底物的适用范围（如表 1，6）；Flajolet 课题组^[28]则开发出更为温和的 Na₂PdCl₄/sSPhos 反应体系，使得偶联反应可以在 37 °C 条件下进行，同时含硫、含氮等杂环硼试剂也实现了较高的转化率（如表 1，7）。这些研究大大丰富了 on-DNA 的 Suzuki-Miyaura 偶联反应的应用范围。

除了 Suzuki-Miyaura 偶联反应外，采用其他反应方法构建 C(sp²)—C(sp²) 键的 on-DNA 化学反应

也取得了显著进展。例如, Lu 小组^[29]于2018年成功将邻近羧基导向的芳香C—H活化反应引入到 on-DNA 化学反应的开发中,这一创新使得原本仅作为胺封端试剂的简单芳香酸能够转化为“双功能构建块”,从而可以丰富 DEL 的构建策略(如表1, 8)。在最优化条件下,羧基对位具有氯和碘取代的苯甲酸表现出了良好的转化率;然而,相应的邻位和间位取代物的转化率则相对较低。在官能团兼容性方面,该反应对羟基和氨基展现出较好的兼容性;但含醛基的底物在反应过程中易产生较多的氧化产物,而乙烯基则无法与该反应方案兼容。这些研究结果不仅为 on-DNA 化学反应提供了新的方法,也为我们深入理解 C—H 活化反应在复杂分子合成中的应用提供了启示。

次年, Lu 小组^[30]又报道了一种高效的 on-DNA 的 Heck 反应(如表1, 9)。该反应能够兼容

多种芳香碘化物和溴化物,取得了较好的反应转化率;然而,芳香氯化物则表现出了较差的反应活性。随后,作者又探究了 DNA 共轭芳基碘化物与苯乙烯构建单元的反应情况,并发现绝大部分烯烃底物转化率均超过70%。此外,该方法还适用于单链 on-DNA 的化学反应。

1.2 C(sp³)—C(sp³)键生成反应

C(sp³)—C(sp³)键生成反应是 on-DNA 化学反应报道较少的一类反应,因为这些反应通常需要有机金属试剂的参与或者经过自由基反应途径^[31],这与 DEL 合成时必需的水相环境和极低的反应浓度似乎难以兼容,因而受到了极大限制。

2020年, Lu 小组^[32]成功开发出四氢异喹啉(THIQ)的 on-DNA 交叉脱氢偶联反应,实现了 THIQ 的 C1 位功能化(如表2, 1)。

表1 金属催化的 C(sp²)—C(sp²)键生成反应

Table 1 Metal-catalyzed C(sp²)—C(sp²) bond formation reactions

条目	反应式	反应条件	参考文献
1		Pd(PPh ₃) ₄ , Na ₂ CO ₃ , H ₂ O/DMA/CH ₃ CN, 80 °C	[22]
2		POPd/sPhos, KOH, H ₂ O/DMA, 80 °C	[23]
3		Pd(OAc) ₂ , Et ₃ N H ₂ O/DMA, rt, 2 h	[24]
4		Pd(OAc) ₂ , Et ₃ N H ₂ O/DMA, rt, 2 h	[25]
5		Pd(OAc) ₂ , (rac)-BIDIME, K ₂ CO ₃ , DMA/H ₂ O, 95 °C, 2 h	[26]
6		Pd(OAc) ₂ /TPPTS, K ₂ CO ₃ , H ₂ O/DMA, 70 °C, 2 h	[27]
7		Na ₂ PdCl ₄ /sPhos, K ₂ CO ₃ , H ₂ O/ACN, 37 °C, 28 h	[28]
8		[Ru], KOAc, DMF/H ₂ O, 60 °C, 10 h	[29]
9		1: PdCl ₂ (dppf)DCM, K ₂ CO ₃ , DMSO/H ₂ O, 80 °C 2: PdCl ₂ (COD), NaOAc, DMA/H ₂ O, 80 °C	[30]

表2 金属催化的C(sp²)-C(sp³)和C(sp²)-C(sp)键生成反应Table 2 Metal-catalyzed C(sp²)-C(sp³) and C(sp²)-C(sp) bond formation reactions

条目	DNA 兼容反应	反应条件	参考文献
1		CuOTf, TBHP ACN/H ₂ O, 50/70 °C, 10 h	[32]
2		a: Pd(OAc) ₂ , AgOAc, Li ₂ CO ₃ , H ₂ O/DMA, 80°C, 20 h b: Pd(OAc) ₂ /ligand AgTFA, NaOAc H ₂ O/DMA, 80°C, 20 h	[33]

在成功开发以硝基甲烷为亲核试剂的衍生化方案后，为了进一步丰富 THIQ 衍生物的结构多样性，研究团队利用铜催化剂和叔丁基过氧化氢介导的交叉脱氢偶联反应，在 THIQ 的 C1 位成功引入了端基炔、取代炔基以及氰基等多种结构。这一策略不仅拓展了 THIQ 的功能化途径，也为后续进一步的功能化反应提供了重要的反应性官能团，为 DNA 化学修饰和药物发现提供了新的工具和思路。

1.3 C(sp²)-C(sp³)键生成反应

2020年，Yu 课题组^[33]开发了 C-H 活化策略应用于 on-DNA 化学反应的方法（如表 2，2）。在这项研究中，作者巧妙地利用 DNA 编码的芳基碘化物，成功实现了脂肪族羧酸、酰胺和酮类化合物的 C(sp³)-H 芳基化反应，从而将这些原本仅具有单一功能的 BB 转化为具有双重功能的 BB。这一策略不仅丰富化合物的手性中心，还引入了环丙烷、环丁烷和杂环等多种骨架结构，显著增强了化合物的结构多样性。更值得一提的是，该方案还可对 on-DNA 上的芳基化产物进行第二次的 C(sp³)-H 芳基化反应，这种串联活化策略为进一步拓展化合物的结构复杂性和功能性提供了独特的途径。

1.4 C(sp²)-X(C-N, C-S, C-O, C-Se)键生成反应

胺类化合物作为一类常见的 BB，在 on-DNA 化学反应开发中扮演着重要的角色。相较于硼酸盐和炔烃，胺类 BB 更易获取^[34]，因此，开发 on-

DNA 的 C-N 交叉偶联反应对于拓宽化学空间具有重要意义。

Buchwald-Hartwig 偶联反应作为实现 C-N 偶联的常用反应，以其高效的转化率和广泛的底物适用性受到了广泛关注。随着新型催化剂的不断涌现，该反应得以在更为温和的条件下进行^[35]，近年来也逐渐应用于 on-DNA 化学反应中。

2017年，Davie 及其同事^[34]首次利用 *t*-BuXPhos-Pd-G1 预催化剂，成功实现了 DNA 共轭芳基碘化物与芳香胺底物之间的 C-N 偶联反应。在此条件下，大部分参与反应的芳香伯胺均展现出良好的转化效果；然而，脂肪胺因反应活性较低，并不适合作为该反应的底物（如表 3，1）。

2019年，Lerner 小组^[25]开发了涉及芳香磺酰氯的 on-DNA Buchwald-Hartwig 偶联反应（如表 3，2）。该反应能够在 60 °C 的温和条件下进行，且具有较好的底物适用性，除对硝基苯胺转化率较低外，富电子和缺电子的芳基胺底物均能以优良的转化率生成偶联产物。值得一提的是，即使是具有较大位阻的邻位取代芳胺也能获得较好的结果。同年，Torrado 课题组^[36]利用催化效率更高的 Buchwald 第三代预催化剂体系（*t*-BuXPhos-Pd-G3）实现了 DNA 共轭的芳基溴化物与（杂）芳香伯胺之间的 C-N 交叉偶联反应（如表 3，3）。与前述体系相比，该方案的反应条件更加温和。同时，该方法不仅能够兼容短链 DNA 标签，全长 DNA 标签也具有良好的兼容性。

2020年，Simmons 及其同事^[37]开发了一种新型 DNA 兼容性 Buchwald-Hartwig 偶联反应（如表 3，4）。该方法对部分低活性的 DNA 共轭（杂）芳基卤化物也具有极佳的转化率，从而大大拓展

了芳基卤化物构建单元的适用范围。但该方案同样对脂肪胺底物转化效果较差,仅有部分环状脂肪胺得到了较好的结果。

2022年,Shi小组^[38]成功开发了适用于脂肪胺底物的DNA兼容性Buchwald-Hartwig反应(如表3,5)。优化后的方案对脂肪伯胺、环状仲胺具有优良的转化率,并且能兼容芳基氯化物、杂芳基胺等多种类型的底物。但进一步的研究发现该方案并不适合长链DNA标签底物参与的反应。在更换助溶剂和碱并将反应温度提高至95 °C后,该

问题得到了较好的解决。新的反应体系能够实现对各种长度的DNA缀合底物的转化,并且没有观察到明显的DNA损伤。

同年,Lu小组^[39]利用*t*-BuXPhos-Pd-G1催化体系将C—N偶联反应中的氮源进一步拓展至芳香共轭体系中的氮原子,从而实现了*N*-杂芳基试剂由“单功能构建模块”向“双功能构建模块”的转化(如表3,6)。该反应体系对吡啶、喹啉及其衍生物的偶联效果较好,并能够兼容羧基、醛基和Boc-保护胺等官能团。

表3 金属催化的C(sp²)-X偶联反应

Table 3 Metal-catalyzed C—X coupling reactions

条目	DNA兼容反应	反应条件	参考文献
1		<i>t</i> -BuXPhos Pd G1, CsOH, H ₂ O/DMA, 100 °C, 3 h	[34]
2		<i>t</i> -Brettphos Pd G3, Et ₃ N, H ₂ O/DMA, 60 °C, 2 h	[25]
3		<i>t</i> -BuXPhos-Pd-G3, NaOH, H ₂ O/DMA, 60 °C, 2 h	[36]
4		Pd-PEPPSI- <i>i</i> Pent ^{Cl} -pyr, Na ascorbate, CsOH, DMA/H ₂ O, 95 °C, 15 min	[37]
5		Pd(OAc) ₂ /BippyPhos, Na ascorbate, K ₃ PO ₄ , DMA/H ₂ O, 95 °C, 15 min	[38]
6		<i>t</i> -BuXPhos-Pd-G1, NaOH, H ₂ O/DMA, 80 °C, 3 h	[39]
7		1: CuSO ₄ ·5H ₂ O, Na ascorbate, H ₂ O/DMA, 100 °C, 2 h 2: CuSO ₄ ·5H ₂ O, Proline, KOH, Na ascorbate, H ₂ O/DMA, 100 °C, 2 h	[34]
8		Cu(OAc) ₂ /ligand, Na ascorbate, K ₃ PO ₄ , DMSO/H ₂ O, 40 °C, 3 h	[41]
9		a: K ₂ CO ₃ or KOH, DMA/H ₂ O, rt, or 60 °C, 10 h b: K ₂ CO ₃ , DMA/H ₂ O, rt, or 80 °C, 10 h	[42]
10		[Rh], PBS (pH 4.2)-DMA (7:1), 80 °C, 6 h	[43]
11		a: I ₂ , BSA, MeOH/H ₂ O, 40 °C, 150 min b: (1) BME, RT, 10 min (2) I ₂ , BSA, MeOH/H ₂ O, 40 °C, 150 min	[44]

Ullmann型偶联反应是另一类可用于实现 on-DNA 的 C—N 偶联的反应^[40]。2017年, Davie 小组^[34]报道了 on-DNA 的 Ullmann 型偶联反应, 针对反应中转化效果不佳的脂肪胺, 通过对 Ullmann 反应中的铜催化剂进行改进以增加其在水中的溶解度, 同时用氨基酸作为 Cu(I) 配体促进 C—N 偶联反应, 进而实现了 DNA 偶联的芳基碘化物与氨基酸之间的 C—N 偶联 (如表 3, 7)。此外, 氨基酸还抑制了铜与 DNA 的相互作用, 降低了由此导致的反应过程中 DNA 的损伤和降解。

2018年, Berst 小组^[41]报道了一种在温和、开放条件下进行的单链 DNA 共轭芳基碘化物与脂肪胺之间的 C—N 交叉偶联反应 (如表 3, 8)。在该研究中, 作者优化了反应的配体, 使用 Cu(OAc)₂ 为催化剂增强了体系对氧的耐受性。在底物适用性方面, 该反应对芳基碘化物的空间位阻效应十分敏感, 包括环状仲胺在内的大多数胺与无空间位阻的芳基碘化物都表现出了极高的偶联效率; 而邻位具有烷基或烷氧基取代的芳基碘化物则几乎不与任何胺反应。

除了 C—N 偶联反应外, 研究者们还对 C—S、C—O 和 C—Se 等其他类型的偶联反应进行了深入的探索 and 开发。其中, Zhang 小组和 Lu 小组^[42]在 2019 年共同报道了一种以芳基铵盐为底物构建各种 C—X 键的温和而高效的方法, 并在随后证明了该方案在构建含有不同 C—O 和 C—S 键的 DEL 方面的应用潜力 (如表 3, 9)

2020年, Lerner 小组^[43]以苯并硒唑酮为新型双功能试剂开发了 on-DNA 的 C—H 硒化反应, 从而生成了一系列邻位具有甲酰胺基的硒化产物

(表 3, 10)。缺电子和富电子的苯并硒唑酮都能与 DNA 共轭底物有效地形成 C(sp²)—Se 键, 部分底物具有极佳的转化率。值得注意的是, 在该反应中生成的裸露氨基理论上可以作为后续功能化的反应位点, 但其甲酰胺的形式可能导致反应活性降低, 作者并未对其进行进一步的探究。此外, 该方案需要添加的硒化试剂的浓度较高, 且反应时间较长, 因此仍存在进一步优化的空间。

2022年, Li 小组^[44]报道了一种 on-DNA 富电子烯烃硫化和硒化方案 (如表 3, 11)。该方案不含过渡金属催化剂, 且无需对底物进行预官能化, 同时反应条件也相对温和。与之前的方案相比, 该反应的底物兼容性更广, 能够实现对多种富电子芳烃的转化。此外, 作者还探究了多种硫化和硒化试剂的反应情况, 进一步证明了该方案在快速构建含硫/硒 DNA 编码化学文库方面的巨大应用潜力。

2 光催化的 on-DNA 化学反应

相较于经典的有机化学反应方法, 可见光催化因反应条件温和, 反应时间短, 具有较高的反应选择性和转化率, 以及其独特的反应机理可以构建传统方法下难以实现的成键反应^[45]。另外, 可见光催化可以较好地保持 DNA 的完整性^[46]。正因可见光催化的这些特点, 使其已成为开发 on-DNA 化学反应的强大方法之一。目前, 已经有多种反应类型的可见光催化 on-DNA 化学反应的报道^[16], 这些反应的开发大大增加了 on-DNA 化学反应的数量和新颖性 (图 2)。

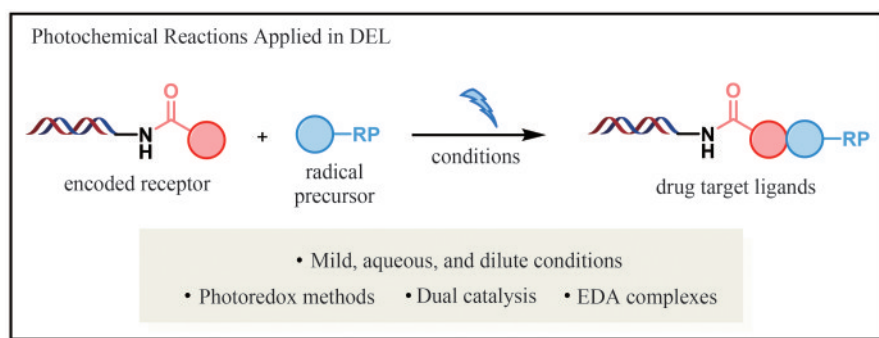


图2 光化学反应在 on-DNA 反应中的应用

Fig. 2 Photochemical reactions applied in on-DNA reaction

2.1 C(sp³)-C(sp³) 键生成反应

2018年, Flanagan小组^[47]报道了一种可见光介导的 on-DNA 的迈克尔受体与氨基酸之间的 Giese 型自由基加成反应(如表 4, 1), 证明了光氧化还原催化方法能够作为一种稳定且高效的 on-DNA 反应平台。在优化的反应条件下, 具有不同脂肪族侧链的多种 *N*-Boc 保护 α -氨基酸以优良的产率得到了相应的偶联产物; *N*-Cbz 保护以及无保护基的 α -氨基酸也能顺利地进行反应; Fmoc-保护基团则与该反应不兼容。此外, 作者还探究了烯基受体的适用范围, 发现苯乙烯衍生物是良好的底物; α -取代的丙烯酰胺也具有优异的转化率; β -取代的丙烯酰胺则只生成了痕量产物。该方法还存在诸如自由基前体仅限于 α -氨基酸、氧气会对 DNA 造成较为严重的损伤需要在惰性气体保护下进行等问题。

随后, 在 2020 年, Song 小组^[48]通过苯乙烯与肉桂酸酯衍生物之间的自由基加成反应成功构建了 on-DNA 的具有复杂结构的环丁烷支架(如表 4, 2)。该反应对芳香环上的各种取代基都有良好的耐受性, 并且通过使用相应的杂环肉桂酸酯衍生物还可以方便地引入多样的杂环结构。该方案还能兼容双键上具有额外取代基的苯乙烯底物, 从而可以制备出高度取代的环丁烷骨架, 但在环化过程中会形成两种对映异构体。

2021 年, Liu 课题组^[49]创新性地利用光催化的 C-H 活化策略对 DNA 共轭烯烃进行功能化(如表 4, 3)。该研究引入了 *N*-芳基叔胺作为新的自由基前体, 并且多数参与反应的环状和非环状 *N*-芳基叔胺都实现了优异的转化。但该方案对非对称叔胺底物的反应选择性较差、产物组成较为复杂, 因此通常只能使用对称结构的叔胺底物进行反应。

同年, Lu 课题组^[50]报道了另一种可见光诱导的 DNA 共轭烯烃功能化策略(如表 4, 4)。在该方案中, 作者引入了奎宁环介导的氢原子转移(HAT)途径, 从而成功将底物拓展到了各种 *N*-Boc 保护杂环。其中, *N*-Boc 吡咯烷衍生物实现了优异的转化; *N*-杂环庚烷底物也具有较好的转化率; 哌啶衍生物的转化率则相对较低, 作者推测

可能是由于奎尼丁自由基和杂环自由基之间竞争反应的结果。最后, 作者利用长 DNA 序列(41 bp)进一步验证了该方案的 DNA 相容性。

2022 年, Hu 小组^[51]巧妙地利用钌(Ru)催化剂, 成功将自由基底物范围拓展至烷基重氮化合物(如表 4, 5)。优化后的反应方案对 α -重氮酰胺、 α -重氮酯等各种烷基重氮化合物具有较好的耐受性。随后, 作者还通过改变反应条件, 以较高的转化率引入了环丙烷结构(如表 4, 6)。

在上述报道的烯炔功能化研究中, 大多数作者采用了 DNA 共轭不饱和烯炔的策略, 并通过扩大自由基前体的适用范围来不断丰富加成产物的结构多样性^[52](表 4, 7)。与此相比, Hili 小组^[52]创新性地采用 DNA 共轭自由基前体的策略, 不仅拓宽了烯炔底物的适用范围, 还通过奎宁环介导的 HAT 显著提升了反应的转化率, 但不足的是该反应需要在惰性气体保护下进行, 以减少 *N*-脱烷基化副产物的生成。

有机氟化物在药物设计中占据重要地位, 氟原子的引入能够显著改变化合物的活性、生物利用度以及代谢稳定性^[53]。然而在天然产物中几乎看不到有机氟化物的身影^[54], 这使得开发引入氟原子或含氟基团的 on-DNA 化学反应具有重要意义。

Molander 课题组^[55]在光催化生成含氟化合物领域取得了多项突破性研究。例如, 他们以 4CzIPN 为光催化剂, 利用三氟甲基烯烃和多种自由基前体在 DNA 上引入了偕二氟烯烃结构(如表 4, 8)。烷基硅酸盐和二氢吡啶类化合物在 4CzIPN 的催化作用下实现了良好的转化, 仅观察到少量的三氟甲基烷烃副产物。氨基酸也能作为该反应的底物, 但需要由铈光催化剂介导。各种 *N*-Boc 保护氨基酸在优化的条件下提供了良好的转化率。采用碱敏感的 *N*-Fmoc 保护氨基酸底物时仅需将反应中的 2,6-二甲基吡啶改为 pH=9 的 Tris 缓冲液即可。之后, 他们又开发了以 α -硅胺为自由基来源的脱氟烷基化反应, 从而进一步拓展了 DNA 上偕二氟烯烃结构的多样性^[56](如表 4, 9)。

2021 年, Molander 课题组^[57]通过电子供体-受体(EDA)复合物介导的脱羧烷基化反应在 DNA 上引入了三氟甲基结构(如表 4, 10)。在羧

表4 光催化的C(sp³)-C(sp³)键生成反应
Table 4 Photocatalytic C(sp³)-C(sp³) bond formation reactions

条目	DNA 兼容反应	反应条件	参考文献
1		[Ir], blue light, K ₂ HPO ₄ , DMSO/H ₂ O, N ₂ , rt, 6 h	[47]
2		[Ir], blue light, DMSO/H ₂ O, glycerol, rt, 2 h	[48]
3		[Ir], blue light, K ₂ HPO ₄ , DMSO/H ₂ O, N ₂ , rt, 2 h	[49]
4		[Ir], blue light, quinuclidine, DMSO/H ₂ O, N ₂ , rt, 45 min	[50]
5		[Ru], blue light, Hantzsch ester, 4-methylbenzenethiol DMA/H ₂ O, rt, 3 h	[51]
6		[Ru], blue light, I ₂ , DMA/H ₂ O, rt, 3 h	[51]
7		[Ir], blue light, quinuclidine, DMF/H ₂ O, N ₂ , rt, 1.5 h	[52]
8		[Ir], blue light, 2,6-lutidine, DMSO/H ₂ O, rt, 10 min	[55]
9		[Ir], Kessil lamp, DMSO/H ₂ O, rt, 5 min	[56]
10		Hantzsch ester, blue Kessil, DMSO/H ₂ O, rt, 5 min	[57]

酸底物的适用性方面，之前报道的DNA上光诱导的脱羧烷基化方案主要适用于具有稳定基团的自由基前体，而该方案对多种无稳定基的脂肪族羧酸衍生物都表现出了极佳的转化率。同时，该方案还具有广泛的官能团兼容性，各种芳基卤代物、端基炔、取代烯烃以及N-保护胺都是该反应良好的底物。

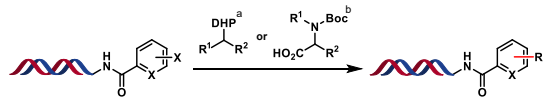
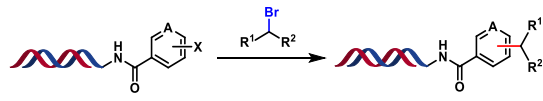
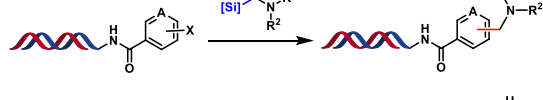
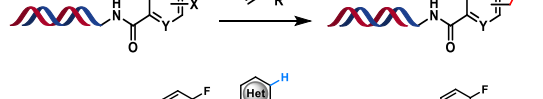
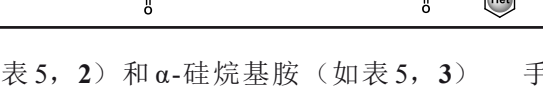
2.2 C(sp²)-C键生成反应

可见光催化策略除可以构建C(sp³)-C(sp³)键外，还能够高效地实现C(sp²)-C(sp³)、C(sp²)-C(sp²)以及C(sp²)-C(sp)等多种偶联形式。

Molander 小组^[55]于2019年报道了利用4CzIPN/Ni双催化体系实现了对DNA偶联芳基的快速烷基化(如表5, 1)。在该研究中,作者采用了光催化反应中应用较为广泛的二氢吡啶类化合物(DHP)作为自由基来源,该类化合物本身具有芳香稳定作用,因此在光氧化条件下很容易生成烷基自由基^[58]。在优化的条件下,缺电子溴苯化合物高效地实现了烷基化;电中性的溴苯化合物则难以反应,换用相应的碘代物后得到了较好的改善。此外,氨基酸也能作为该反应的自由基前体,但转化效果不如常规的过渡金属光催化剂体系。

2020年, Molander 小组^[56]又开发了以脂肪族

表5 光催化的C(sp²)-C键生成反应Table 5 Photocatalytic C(sp²)-C bond formation reactions

条目	DNA 兼容反应	反应条件	参考文献
1		a: 4CzIPN, Ni(TMHD) ₂ , blue LED, DMSO/H ₂ O, 45 min b: [Ir], Ni(TMHD) ₂ , blue LED, TMG, MOPS pH 8 buffer, DMSO/H ₂ O, 10 min	[55]
2		[Ir], [Ni], blue Kessil, MgCl ₂ , Et ₃ N, DMSO/H ₂ O, rt, 45 min	[56]
3		[Ir], [Ni], blue Kessil, DMSO/H ₂ O, rt, 15 min	[56]
4		[Ir], Hantzsch ester, blue Kessil, DMSO/H ₂ O, rt, 5 min	[57]
5		[Ir], DIPEA, blue Kessil, DMSO/H ₂ O, rt, 5 min	[60]

溴化物 (如表 5, 2) 和 α -硅烷基胺 (如表 5, 3) 为自由基前体的芳基功能化反应, 从而进一步拓展了烷基自由基底物的范围。在该研究中, 多种在之前报告的方案中^[55] 活性较差的电中性和富电子芳基溴化物也实现了较好的转化; *N*-Boc 保护胺、未活化烯烃、烷基氯以及腈等官能团也能够良好地兼容。在另一种烷基化方案中, 反应所需的各种 α -硅烷基胺底物可以通过胺和三甲基氯硅烷之间的一步反应方便地制备。

2021 年, Molander 小组^[57] 又通过功能化烯烃的加氢芳基化反应开发了新型 DNA 偶联芳烃的烷基化方案 (如表 5, 4)。避免芳基自由基对 DNA 的诱导损伤^[59] 是该反应开发过程中的难点之一, 作者通过对反应条件的精确调控成功克服了这一困难。在优化的反应条件下, 具有吸电子基团取代的碘苯化合物是该反应的良好底物; 部分吡啶基化合物也实现了较好的转化。

2022 年, Molander 小组^[60] 成功利用可见光介导的 Minisci 型 C-H 芳基化反应, 在室温、开放环境下将各种杂环结构引入到 on-DNA 反应中 (如表 5, 5)。该研究发现, 大部分喹啉、异喹啉、吡咯和吲哚衍生物等杂环底物均实现了良好的转化效率, 同时氨基和氰基等官能团也能在反应中保持稳定。这一创新性的研究不仅丰富了 on-DNA 化学反应的

手段, 也为新药发现和生物化学研究提供了新的可能性。

3 on-DNA 优势杂环 (骨架) 生成反应

优势杂环结构广泛存在于生物活性化学实体当中, 并在药物研发中扮演着至关重要的角色^[61]。在候选药物中引入优势杂环 (骨架) 通常被认为是改善化合物效价、药代动力学、药效学和安全性的有效方法^[62]。同样, 优势杂环 (骨架) 在 DEL 结构设计和后续的命中化合物结构修饰中也发挥着不可替代的作用^[63]。在下面的部分中, 我们归纳并分析了具有代表性的各类 on-DNA 化学反应生成优势杂环 (骨架) 的方法, 重点讨论了反应的合成策略和底物的兼容性, 希望能够对后续杂环 DEL 的设计与合成提供参考。

3.1 目标导向合成策略

3.1.1 单环合成反应

2022 年, Li 小组^[64] 通过 Darzens 缩合反应在温和的条件下实现了取代 α, β -环氧酮的 on-DNA 合成方案 (如表 6, 1)。在优化的条件下, 苯基、苄基和联苯基连接的醛获得了较好的转化率。具有

吸电子基团取代的苯甲醛反应效果更佳。与氨基酸或噻吩、咪喃和吡啶等杂环相连的醛底物也实现了良好的转化，但与吡啶基相连的醛底物则几乎不反应。

2023年，Mantell及其同事^[65]实现了on-DNA的醛、氨基酸和异脲之间的Ugi反应构建了取代内酰胺结构（如表6，2）。DNA标记醛的方案能够成功实现多种具有烷基或芳基取代的 β -氨基酸的转化，含有杂环的氨基酸也能得到37%~89%的产率。但该体系无法扩展到 γ -氨基酸。随后，作者又开发了以DNA共轭异脲为底物的反应体系。优化后的反应不仅具有更高的转化效率，同时也广泛适用于各种 β -氨基酸和 γ -氨基酸，位阻较大的 β -氨基酸也实现了优异的转化。

2021年，Lu课题组^[66]报道了on-DNA的Clauson-Kaas反应生成吡咯结构的工作（如表6，3）。在优化的条件下，含有不同取代基团的 α -氨基酸、 β -氨基酸均实现了优异的转化。DNA偶联芳胺的反应性主要依赖于芳环部分的电子特性——富电子的芳胺具有中等至良好的转化率，而缺电子的芳胺以及杂芳胺则未能实现转化。后续通过*N*-碘代丁二酰亚胺对吡咯进行碘代以及Suzuki偶联反应能够生成结构多样的取代吡咯结构。

同年，Li小组^[67]发表了一种多取代吡啶杂环的on-DNA连续合成策略（如表6，4）。该策略融合了结构多样的醛、芳基胺和烯烃BB，构建了高度功能化的吡啶核心库。在优化的方案下，参与反应的26个醛中除吡啶基团连接的DNA缀合醛转化率较低外，其余底物的转化率均大于50%。同时，该方案还能够兼容 α,β -不饱和羰基化合物、苯乙烯类化合物以及马来酰亚胺衍生物等多种烯类化合物。

2017年，Davie小组^[68]报告了一种铅盐催化的on-DNA环氧化物开环反应，并利用该反应生成的 β -氨基醇结构作为中间体，通过其与氯甲酸酯的环化反应成功在DNA上构建了噻唑烷-2-酮骨架（如表6，5）。该环化反应与胺的立体位阻效应关系密切，氮 α -位无取代的 β -氨基醇能够实现高效环合，而 α -位有较大位阻的 β -氨基醇则未能实现转化。

2019年，Matzuk小组^[69]报告了一种通过多步

反应在DNA合成3,5-二取代1,2,4-噁二唑的方法（如表6，6）。在该研究中，作者采用了经典的三步合成路线，即先用羟胺将DNA偶联脲转化为偕胺肟，再将其与羧酸偶联形成*O*-酰基偕胺肟，最后通过环化脱水作用生成1,2,4-噁二唑。在底物适用性方面，烷基和（杂）芳基羧酸均能高效地参与*O*-酰基化步骤。而在环合反应中，除缺电子的吡啶基底物转化率较低且水解作用明显外，其他芳基化合物均以较高的转化率生成了多种电子和立体取代的噁二唑，并且具有良好的DNA的兼容性。

2021年，Lerner小组^[70]通过DNA共轭苯甲酰肼与不同环化试剂之间的缩合环化反应着重开发了构建1,3,4-噁二唑衍生物的反应方案（如表6，7）。在底物适用性方面，对位卤素取代的苯甲醛衍生物以优异的产率生成了相应的产物；酯基、氰基和羧基等反应性官能团在该方案中也具有良好的耐受性。此外，含氧、氮和硫的杂芳醛衍生物也以67%~97%的产率完成了反应。

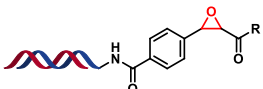
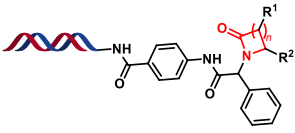

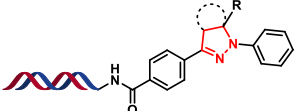
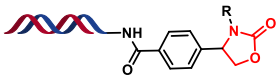
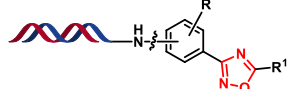
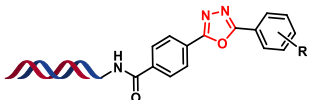
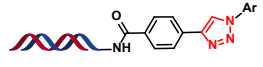

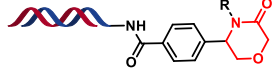
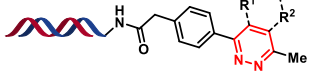
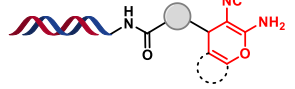
1,2,3-三唑是有机合成和药物化学中的一类重要化合物^[71-72]，可以由铜催化的叠氮和炔化合物之间环加成反应（CuAAC）高效制备^[73-74]，但有机叠氮化物的结构多样性在一定程度上限制了该反应在DEL中的应用。

为了解决这一问题，Donckele小组^[75]在2019年报道了一种DNA相容的重氮基团转移反应。考虑到反应的DNA兼容性，作者采用了咪唑-1-磺酰叠氮盐作为重氮基团供体，且无需额外的添加剂。优化后的反应方案能够将DNA偶联的伯胺转化为相应的叠氮化物，从而将环加成反应中的叠氮化物构建块替换为结构更为丰富多样的炔基构建块。但该方案无法兼容芳基胺底物，因此只能生成烷基取代的叠氮化物和相应的1,2,3-三唑核心。

此前，Yokomatsu团队以Cu(II)- β -环糊精复合物作为纳米催化剂，通过在水相中依次进行芳基硼酸的叠氮化反应和CuAAC反应实现了芳基取代的1,2,3-三唑结构的构建^[76]。随后，Peng小组^[77]对该反应进行了DNA兼容性开发，并成功将种类极其丰富的（杂）芳基硼酸及其酯类化合物引入到三唑核心DEL的构建之中（如表6，8）。在底物兼容性方面，富电子和缺电子苯基硼酸（酯）

表6 单环合成反应

Table 6 Single-ring synthesis reactions

条目	杂环结构	合成策略	参考文献
1		醛和 α -氯代酮缩合环化	[64]
2		醛、氨基酸和异脒之间多组分缩合环化	[65]
3		Claisen-Kaas 反应合成吡咯核心;再通过碘代和交叉偶联实现功能化	[66]
4		醛、苯磺酰肼和重氮盐环化生成二取代四唑;再与末端烯烃进行环加成反应	[67]
5		环氧化物开环生成 β -氨基醇,再与氯甲酸酯环化	[68]
6		羟胺和脒生成偕胺脒,再由羧酸酰化后发生脱水环化	[69]
7		苯甲酰肼与醛缩合环化	[70]
8		芳基硼酸先转化芳基叠氮化物,再与炔进行环加成	[77]
9		脒与叠氮化物之间的环加成反应	[79]
10		环氧化物开环生成 β -氨基醇,再与氯乙酰氯环化	[68]
11		四唑与烯基/羰基化合物进行IEDDA反应(烯基产物需要额外氧化)	[80]
12		烯醇前体与羰基化合物和丙二脒之间的多组分缩合环化反应	[81]

均实现了良好的转化;多种吡啶基硼酸和苯并噻吩基硼酸也以极佳的转化率完成了转化。

四唑基团是一种特殊的含氮杂环,通常作为羧基的生物电子等排体而广泛应用于药物的研发之中^[78]。2020年,Chen小组^[79]开发了DNA缀合脒与叠氮化物之间的1,3-偶极环加成反应,从而在DNA上引入了5-位取代的四氮唑核心(如表6,9)。在该反应中,作者采用了溴化锌催化的环加成方

案。当以酸性MES缓冲液作为反应介质,同时加入1,4-二噁烷作为共溶剂时反应取得了最佳效果。脒上存在吸电子基团取代时环化反应能够顺利进行;富电子的脒底物则转化率相对较低。此外,邻位带有磺酰基取代的脒底物在反应条件下容易水解形成相应的羧酸。

在上述Davie小组开发的DNA兼容性环氧化物开环反应中,作者还利用 β -氨基醇与氯乙酰氯

的环化反应在DNA上构建了取代的吗啉-3-酮结构^[68] (如表6, 10)。该反应同样受到明显的位阻效应的影响。当氨基醇的N- α 位无取代基团时反应能够高效地进行; 有取代基时反应的效率较低; 存在较大位阻取代时则无法反应。

2018年, Dai小组^[80]通过1,2,4,5-四嗪与烯基或羰基化合物之间的IEDDA反应开发了on-DNA的哒嗪骨架构建方案(表6, 11)。在该研究中, 作者首先采用了DNA标记四嗪单元的策略对反应进行了优化, 并通过联合氧化芳香化过程实现了二氢哒嗪中间体向哒嗪骨架的转化。随后, 作者又利用酮或醛与脯氨酸原位生成烯胺作为亲双烯体的策略开发了与氧化芳香化方法互补的反应方案, 从而进一步拓展了底物的适用范围。

2022年, Li课题组^[81]发表了一种4*H*-吡喃环的DNA兼容性合成方法(表6, 12)。该方法以一系列 β -二羰基化合物和 α -萘酚作为烯醇化物来源, 通过其与DNA缀合羰基化合物和丙二腈之间的多组分反应得到了目标结构。在优化的条件下, 各种环状烯醇化物以及含有脂肪环或芳环的线性烯醇化物都能良好地进行反应。

3.1.2 稠环合成反应

2022年, Li课题组^[82]发表了一种on-DNA异吡啶衍生物的构建方案(如表7, 1)。在该研究中, 作者首先利用DNA偶联伯胺与邻苯二甲醌(OPA)开发了异吡啶酮的合成方案。为了进一步增加异吡啶衍生物的结构多样性, 作者又通过在上述反应中引入4-叔丁基苯硫醇的方法获得了相应的2-硫代异吡啶结构(如表7, 2)。在底物兼容性方面, 大多数伯胺实现了优异的转化; 氨基 α -位二取代胺需要更长的反应时间才能良好地转化; 仲胺底物则几乎呈现惰性。此外, 该方案还能兼容多种结构的硫醇底物。

2019年, Brunschweiler小组^[83]通过胶束介导的布朗斯特酸催化体系对通常难以与DNA兼容的Povarov反应进行了开发(如表7, 3)。在该研究中, 作者采用了*N,N*-二甲基丙烯酸酰胺和丙烯酸正丁酯为单元的嵌段共聚物作为反应的表面活性剂。同时, 该共聚体的疏水部分具有磺酸基团取代以作为反应的酸催化剂。改变磺酸基团的取代位置或者换用游离的亲脂性有机酸均不利于反应的进

行。此外, 尽管该反应已经存在表面活性剂, 但不溶于水的底物仍需要添加助溶剂来提高反应的转化率。乙酸乙酯、二氯甲烷、1,2-二氯乙烷和四氢呋喃等都是较好的助溶剂; 甲醇、二甲基亚砷和*N,N*-二甲基甲酰胺则会增加副产物的生成。此外, 作者还利用上述胶束体系成功进行了多种酸催化反应, 从而进一步证明了该反应体系的适用性。

2022年, Lu小组^[84]通过钌催化的[2+2+2]环化反应简洁、高效地实现了茛满和异吡啶啉两类结构的on-DNA合成(如表7, 4)。该方法具有广泛的底物范围, 苯基、杂芳基和烷基炔烃都能顺利地实现转化。同时, 该反应对硝基、腈、醛、芳基和烷基上的卤原子、羧基等不同的官能团都具有良好的耐受性, 这为后续的功能化反应周期奠定了重要基础。

2023年, Li小组^[85]又以DNA偶联醛和5-三氟甲氧基靛红为底物, 通过苯磺酰肼的促进作用成功在DNA上构建了鲜绿青霉素生物碱结构(如表7, 5)。在底物兼容性方面, 含有羧基、卤素取代的靛红化合物实现了良好的转化; 缺电子的苯甲醛底物具有更高的反应活性; 呋喃甲醛和噻吩甲醛等杂芳基醛也能与该反应兼容, 但氮杂芳基甲醛则未能得到目标产物。

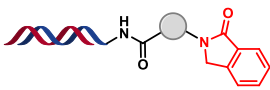
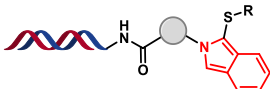

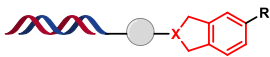
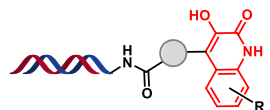
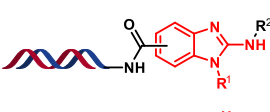

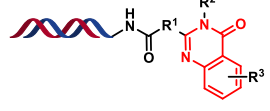
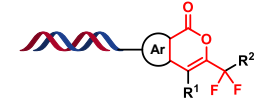
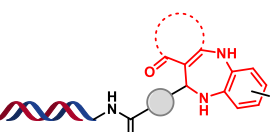
2020年, Liu小组^[86]通过碘促进的脱硫环化反应在DNA上合成了取代的2-氨基苯并咪唑结构(如表7, 6)。在合成路线方面, 作者首先利用*N,N'*-硫羰基二咪唑(TCDI)在伯胺原位生成了异硫氰酸酯; 之后将其与DNA缀合的邻苯二胺反应得到了苯基硫脲结构; 最后再通过碘促进的脱硫环化反应得到了目标产物。由于胺构建模块的种类十分丰富且容易获得, 因此该方案能够作为2-氨基苯并咪唑核心DEL构建的重要工具。

同年, Liu小组^[87]又以 $B_2(OH)_4$ 为还原剂开发了一种温和、高效且无需金属催化剂的2-取代吡啶酮构建方案(如表7, 7), 并成功利用该方案在DNA上构建了吡啶酮结构。在优化的条件下, 各种苯胺均实现了优异的转化, 烷基胺底物的反应活性则普遍低于芳基胺。

2023年, Lu小组^[88]通过氧化策略开发了一种高效构建喹啉啉酮杂环的工具反应(如表7, 8)。

表7 稠环合成反应

Table 7 Fused-ring synthesis reactions

条目	杂环结构	合成策略	参考文献
1		伯胺与邻苯二甲醛缩合环化反应	[82]
2		伯胺、邻苯二甲醛和4-叔丁基苯硫醇之间的多组分缩合环化反应	
3		苯胺与醛缩合生成的亚胺,由布朗斯特酸活化后进行烯炔亲电加成、苯环亲电取代环化和消除反应	[83]
4		苯乙炔和1,6-庚二炔之间的环加成反应	[84]
5		靛红与醛在苯甲酰肼促进下的环加成反应	[85]
6		芳基伯胺与TCDI反应生成异硫氰酸酯,再与邻位仲胺生成硫脲;最后脱硫环化	[86]
7		硝基芳烃经硼酸还原为亚硝基中间体,再与邻位酰胺氮原子亲核加成	[87]
8		醛与邻氨基苯甲酰胺或醛与靛红酸酐和伯胺进行环化反应,再对环化产物进行氧化	[88]
9		苯甲酸C—H活化后与炔发生环加成反应	[89]
10		醛、邻苯二胺和1,3-二羰基化合物之间的多组分缩合环化反应	[90]

为了充分拓展 DEL 能够覆盖的化学空间,作者设计了两条不同的反应路线,但最终均通过 2,3-二氯-5,6-二氧基苯醌 (DDQ) 对环化产物进行氧化得到喹啉酮母核。最后,作者还利用上述方案成功构建了结构高度多样化的喹啉酮核心 DEL。

2021年, Yi 小组^[89]报道了一种金属铈催化的简单苯甲酸与偕二氟亚甲基炔烃的环化反应,以高度的区域选择性生成了二氟取代的异香豆素结构母核(如表 7, 9)。随后他们将 DNA 缀合底物引入到该方案之中,并成功开发了功能化异香豆素骨架的 on-DNA 合成方案。在优化的条件下,除

含有环丙基的炔构建块转化率较低外,其他多种二氟烷基取代的炔底物均以较好的转化率完成了反应。

2023年, Li 小组^[90]利用多种来源的醛、邻苯二胺和二酮化合物在无催化剂条件下的多组分缩合反应成功在 DNA 上合成了苯二氮草支架(如表 7, 10)。当以 DNA 偶联醛为底物时,含有不同取代基的苯甲醛底物都能以优异的转化率得到目标产物;吡啶、吡咯、呋喃和咪唑等杂芳基醛也能够良好地反应。随后作者又以 DNA 共轭二胺为底物探究了醛底物的反应情况。其中,单取代的

苯甲醛表现出了优良的转化率，部分富含 sp^3 杂化碳的烷基醛也实现了较好的转化。

3.1.3 螺环合成反应

螺环是药物发现中的重要结构单元，在药物分子中引入螺环支架对改善化合物的溶解性或代谢稳定性具有重要意义^[91]。

2021年，Lu小组^[92]报道了DNA编码氧化吡啶库的合成策略，其中包括两种螺吡啶酮骨架的构建方案。在该研究中，作者首先通过DNA偶联的丙烯酰胺、靛红以及脯氨酸之间的三组分环化反应开发了螺吡咯吡啶酮的合成方案（如表8，1）。随后，作者又利用3-重氮吡啶酮和缺电子烯烃之间的反应在DNA上构建螺环丙基吡啶酮骨架（如表8，2）。该反应需要在相对较高的温度下进行（100 °C），降低反应温度会导致转化率显著降低。

在上述Li小组报道的4*H*-吡喃环构建方案中，作者还用DNA缀合靛红生成了含有4*H*-吡喃环的螺环产物^[81]（如表8，3）。所有参与反应的烯醇化物转化率均大于50%；1,3-环己二酮及其衍生物则提供了极佳的转化率。此后，Li小组^[93]又以靛红为底物，利用铈盐促进的环化反应在DNA上构建了含有二氢喹啉酮结构的螺环骨架，进一步丰

富了DEL中螺环支架的结构多样性（如表8，4）。

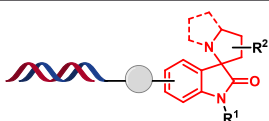
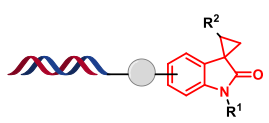
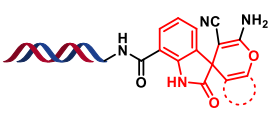
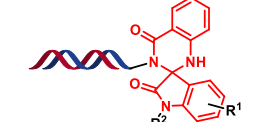
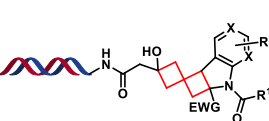
2023年，Molander课题组^[94]通过可见光催化途径，利用亚甲基环丁烷与吡啶、氮杂吡啶、苯并呋喃和香豆素等杂环分子间的[2+2]环加成反应在DNA上构建了结构复杂且新颖的螺[3.3]庚烷结构（如表8，5）。该方案主要适用于*N*-Boc保护且2-位具有吸电子基团取代的吡啶衍生物；卤素、氰基和三氟甲基等基团也得到了良好的保留。此外，氮杂吡啶和吡咯并嘧啶等杂环底物也能与该反应较好地兼容。

3.2 多样性导向合成策略

多样性导向合成（diversity-oriented synthesis, DOS）是一种利用多样性驱动的方法对多种目标化合物同时进行有效合成的策略^[95]。采用DOS策略构建的文库能够同时具有多种骨架核心，因而通常具有更加丰富的整体结构多样性和更为广阔的化学空间覆盖范围^[96]。因此，DOS方法在并行组合合成多核心DEL的设计和开发方面具有重要意义和前景。在下面部分中我们重点归纳并讨论了利用DOS策略构建多核心DEL的一些代表性工作。

表8 螺环合成反应

Table 8 Spiro-ring synthesis reactions

条目	杂环结构	合成策略	参考文献
1		丙烯酰胺、靛红和脯氨酸之间的三组分环化反应	[92]
2		3-重氮吡啶酮和缺电子烯烃之间的环加成反应	[92]
3		靛红、烯醇化物和丙二腈之间的环化反应	[81]
4		靛红和邻氨基苯甲酰胺之间的缩合环化反应	[93]
5		亚甲基环丁烷与不饱和杂环分子间的光环加成反应	[94]

2020年, Schreiber小组^[97]以一种多取代的氮杂烯烃作为多功能反应前体, 利用其与硝酮、*N*-取代吡咯和烯基化合物之间应变促进的环加成反应在DNA上构建了种类丰富的杂环结构(如表9, 1)。在优化的反应条件下, 4种由芳香醛和脂肪醛衍生的硝酮化合物以优异的转化率完成了反应, 部分*N*-取代吡咯也以极佳的转化率生成了桥联三环化合物。同时, 该反应还能够兼容硝基、苯胺、苯酚、醛和酯等多种官能团。

随后在2021年, Lu课题组^[98]以 α 、 β -不饱和羰基化合物介导的多样性导向合成策略成功开发了多种杂环结构的DNA相容性构建方案(如表9, 2)。在该研究中, 作者首先发展了一种DNA兼容的Claisen-Schmidt缩合反应, 利用DNA偶联醛与甲基酮化合物生成了 α 、 β -不饱和前体, 并通过Van Leusen反应以及一种替代策略开发了在DNA上构建吡咯核心的方案。之后, 作者又利用“一锅多步”的方法, 以DNA缀合的查尔酮为多功能前体构建了二取代吡咯烷核心, 并且能够通过还原胺化或酰胺化反应实现进一步的功能化。除此之外, 作者还开发了包括吡唑、吡唑啉、异噁唑啉、吡啶、哌啶和环己烯酮等环状结构在内的多种DNA相容性构建方案, 从而证明了该合成策略在构建多杂环核心DEL方面的巨大应用潜力。

2022年, Li小组^[99]以简单的DNA偶联醛为

多功能前体, 通过可见光催化途径开发了苯并噻唑、苯并咪唑、喹啉和喹啉酮等多种苯并杂环的分散式合成方法, 从而在DNA上构建了具有高度多样性取代基的类药性骨架(如表9, 3)。为了验证该方案在构建多骨架核心DEL方面的可行性, 作者通过96孔板进行了底物范围研究。在上述优化的条件下, 96孔板中有76个孔的转化率大于70%, 而且在一个孔中便获得了上述三种苯并杂环支架。后续的酶连接实验和放大反应也进一步证明了该方法在并行组合合成杂环核心DEL方面的可行性。

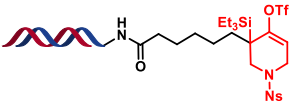

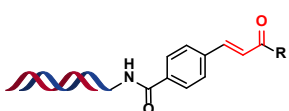
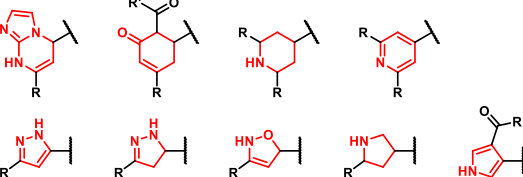

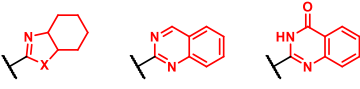
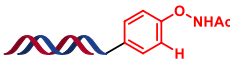
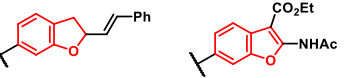
不久前, Yi小组^[100]又报道了一种通过“屏蔽与释放”策略简化的多样性导向合成方案(如表9, 4)。在该研究中, 作者以*N*-苯氧基乙酰胺为多功能前体, 利用邻位导向的C-H活化策略在DNA上合成了具有良好官能团兼容性的苯并咪唑和二氢苯并咪唑两种杂环结构, 从而为进一步丰富杂环核心DEL构建反应工具箱。与此同时, 尽管在该研究中涉及的杂环结构相对较少, 但其新颖的合成策略为后续DNA兼容反应的开发提供了新的思路。

4 酶催化反应

酶是一种独特的蛋白质, 作为化学反应的生

表9 DOS导向的优势骨架合成反应

Table 9 DOS-directed privileged heterocycles synthesis reactions

条目	多功能核心	衍生杂环	参考文献
1			[97]
2			[98]
3			[99]
4			[100]

物催化剂，其介导的生物催化过程有着多种独特的优势^[101]。酶催化反应因其温和的水溶性条件、高转化率以及优异的反应选择性，成为开发 on-DNA 化学反应的极具吸引力的领域。尽管如此，酶催化在 on-DNA 化学反应中的应用仍面临挑战，这主要源于酶对底物的高度特异性要求，而 on-DNA 化学反应往往涉及众多不同结构类型的底物。因此，酶的底物特异性是将酶催化反应应用于 on-DNA 化学反应的一大障碍，这一领域的研究最近才开始逐渐受到关注。

2017年，Flitsch小组^[18]首次报道了生物催化在DNA编码文库中的应用，通过酶促氧化和糖基化反应与传统有机化学相结合的策略设计并合成了具有更高潜在生物相容性的碳水化合物文库。在该研究中，作者首先使用已有的化学合成方法将天然糖单元连接到DNA标签上；之后利用两步酶促转化反应分别对上述糖单元进行糖基化和位点特异性氧化；最后通过还原胺化或脎连接将产生的醛封端（如图3），实现了对糖基片段的衍生化。

在酶促反应周期中，糖基化酶具有较强的特

异性，因此糖基化过程需要使用不同的酶来转移不同的糖，并且每种酶都需要独特的条件。在转移 β -1,4-半乳糖时，作者使用了牛 β -1,4-半乳糖基转移酶；在生成 α -2,6-连接和 α -2,3-连接的半乳糖苷时则使用了两种不同的酶。相比之下，半乳糖氧化酶接受的底物范围相当广泛，可以氧化多种糖共轭物，但其存在的两种变体对一系列醛的活性差异较大，没有明确的反应模式。

2021年，Pollastri小组^[19]也报道了其酶参与DEL开发的研究——利用L-苏氨酸醛缩酶创建了含有 β -羟基- α -氨基酸的DEL。在该研究中，作者同样先通过已有的酰化反应条件将含有醛基的羧酸化合物共价连接到DNA上，从而构建了一系列DNA偶联底物。随后，作者以上述DNA偶联醛作为L-苏氨酸醛缩酶的底物，并以甘氨酸作为供体氨基酸构建了含有 β -羟基- α -氨基酸支架的DEL（如图4）。同时，氨基和羧基可以作为进一步官能团化的反应位点来实现 β -羟基- α -氨基酸支架的后续多样化。

在底物适用性方面，作者优化了4-甲酰基苯甲酸衍生底物的转化条件，并发现3种L-苏氨酸醛

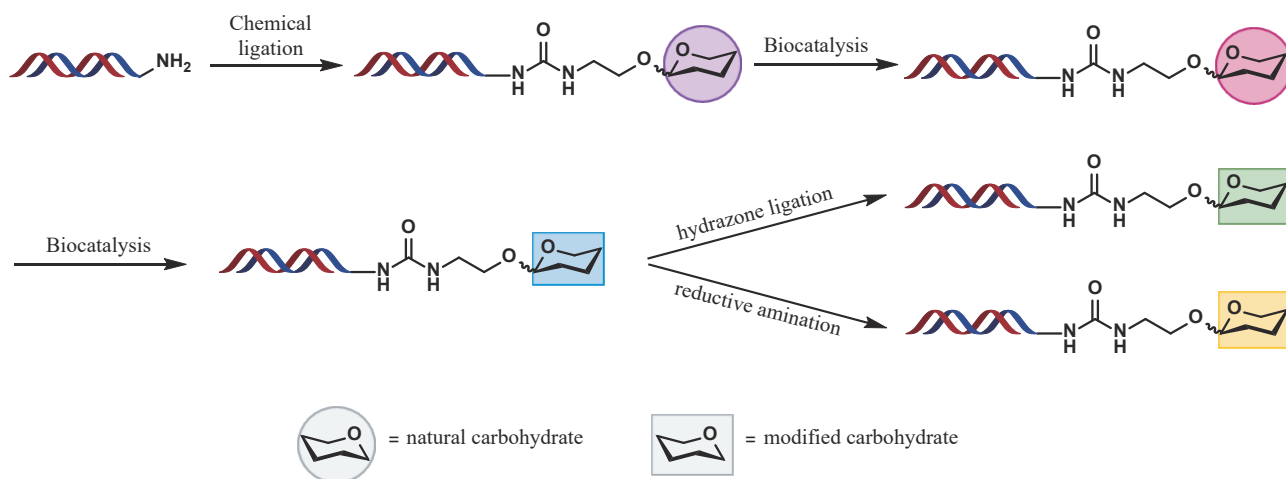


图3 Flitsch课题组的碳水化合物DEL合成

Fig. 3 Carbohydrate DEL synthesis by Flitsch's group

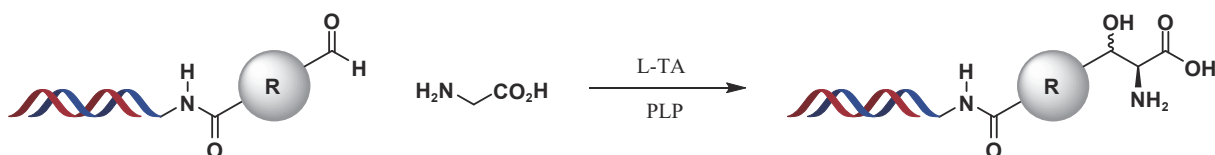


图4 Pollastri小组的 β -羟基- α -氨基酸DEL合成

Fig. 4 β -hydroxy- α -amino acids DEL synthesis by Pollastri's group

缩酶在各种条件下均能实现稳健的转化。在优化条件下, 杂环底物实现了中等至优异的转化; 双环底物的转化率则较低。与此同时, 作者还尝试了丝氨酸和丙氨酸作为氨基酸供体, 但均未取得较好的效果。此外, 作者还发现除部分底物外, 所有醛底物均显示 β -碳选择性, 并且延长DNA和醛之间的连接单元会显著降低这一选择性。

5 展 望

DEL已经成为药物发现领域中的一项强大工具, 其应用前景广阔且潜力巨大。在构建DEL的过程中, on-DNA化学反应的开发是至关重要的, 它是构建DEL的基础。目前, on-DNA化学反应已经取得了显著的进展, 多种类型的反应得到了开发并成功应用于DEL的构建中。同时, 光催化反应、电催化反应、胶束参与的反应、固相合成以及酶催化反应等新颖方法也不断涌现, 极大地拓宽了on-DNA化学反应的开发范围。然而, on-DNA化学反应仍然面临诸多挑战和问题。传统的有机反应与DNA的兼容性问题仍然存在, 这可能导致DNA的降解, 从而限制其在DEL构建中的应用。此外, 文献中报道的on-DNA化学反应往往忽略了与“split-pool”等合成方法的兼容性以及广泛的底物适用性, 导致开发的反应无法很好地适应DEL的构建。尽管这些挑战存在, 但寻求适用于DEL合成的新的on-DNA化学反应仍具有重要意义。

未来, on-DNA化学反应的发展将依赖于对几个关键问题的有效解决。首先, 需要开发更高效、更稳定且能在温和条件下进行的有机反应, 以满足更大规模的化合物库构建需求。这可能寻找新型催化剂并优化反应条件。其次, 随着有机化学和生物化学的不断发展, 未来可能出现更多新型的on-DNA化学反应类型, 为DEL的构建提供更多选择。同时, 深入研究有机反应与DNA中各种功能基团的兼容性对于推动DEL合成的发展也非常重要。此外, 高通量筛选和计算机辅助的反应开发将在加速on-DNA化学反应的发现和优化过程中发挥关键作用。这些工具可以帮助研究人员高效地探索化学空间, 确定DEL构建的最佳反应

条件。通过克服现有挑战并扩展相容反应的工具箱, 有机化学领域有望充分发挥DEL的潜力, 推动药物发现进程的发展。

综上所述, 尽管面临诸多挑战, 但on-DNA化学反应的开发仍然具有重要意义, 且其未来发展前景仍然充满希望。随着技术的不断革新和研究的深入, 这一领域将持续为我们带来更多创新和突破。这些创新和突破将进一步推动DEL技术的发展, 并使其在药物发现等领域的应用更加广泛, 从而加速药物发现的进程。

参 考 文 献

- [1] FOLMER R H A. Integrating biophysics with HTS-driven drug discovery projects[J]. *Drug Discovery Today*, 2016, 21(3): 491-498.
- [2] STARK J L, POWERS R. Application of NMR and molecular docking in structure-based drug discovery[J]. *Topics in Current Chemistry*, 2012, 326: 1-34.
- [3] ERLANSON D A, FESIK S W, HUBBARD R E, et al. Twenty years on: the impact of fragments on drug discovery[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2016, 15(9): 605-619.
- [4] BRENNER S, LERNER R A. Encoded combinatorial chemistry[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(12): 5381-5383.
- [5] CASTAÑÓN J, ROMÁN J P, JESSOP T C, et al. Design and development of a technology platform for DNA-encoded library production and affinity selection[J]. *SLAS Discovery*, 2018, 23(5): 387-396.
- [6] DECURTINS W, WICHERT M, FRANZINI R M, et al. Automated screening for small organic ligands using DNA-encoded chemical libraries[J]. *Nature Protocols*, 2016, 11(4): 764-780.
- [7] LITOVCHICK A, DUMELIN C E, HABESHIAN S, et al. Encoded library synthesis using chemical ligation and the discovery of sEH inhibitors from a 334-million member library [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10916.
- [8] WANG J, LUNDBERG H, ASAI S, et al. Kinetically guided radical-based synthesis of C(sp³)-C(sp³) linkages on DNA[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(28): E6404-E6410.
- [9] BURROWS C J, MULLER J G. Oxidative nucleobase modifications leading to strand scission[J]. *Chemical Reviews*, 1998, 98(3): 1109-1152.
- [10] MA P X, ZHANG S N, HUANG Q P, et al. Evolution of chemistry and selection technology for DNA-encoded library

- [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2024, 14(2): 492-516.
- [11] KUNIG V, POTOWSKI M, GOHLA A, et al. DNA-encoded libraries—an efficient small molecule discovery technology for the biomedical sciences[J]. *Biological Chemistry*, 2018, 399(7): 691-710.
- [12] SHI Y, WU Y R, YU J Q, et al. DNA-encoded libraries (DELs): a review of on-DNA chemistries and their output[J]. *RSC Advances*, 2021, 11(4): 2359-2376.
- [13] FAIR R J, WALSH R T, HUPP C D. The expanding reaction toolkit for DNA-encoded libraries[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2021, 51: 128339.
- [14] SAHU R, YADAV S, NATH S, et al. DNA-encoded libraries via late-stage functionalization strategies: a review[J]. *Chemical Communications*, 2023, 59(41): 6128-6147.
- [15] FRANZINI R M, RANDOLPH C. Chemical space of DNA-encoded libraries[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 59(14): 6629-6644.
- [16] MATSUO B, GRANADOS A, LEVITRE G, et al. Photochemical methods applied to DNA encoded library (DEL) synthesis[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2023, 56(3): 385-401.
- [17] ADAMIK R, BUCHHOLCZ B, DARVAS F, et al. The potential of micellar media in the synthesis of DNA-encoded libraries[J]. *Chemistry*, 2022, 28(20): e202103967.
- [18] THOMAS B, LU X J, BIRMINGHAM W R, et al. Application of biocatalysis to on-DNA carbohydrate library synthesis[J]. *ChemBioChem*, 2017, 18(9): 858-863.
- [19] CHAI J, LU X J, ARICO-MUENDEL C C, et al. Application of l-threonine aldolase to on-DNA reactions[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2021, 32(9): 1973-1978.
- [20] KADU B S. Suzuki-Miyaura cross coupling reaction: recent advancements in catalysis and organic synthesis[J]. *Catalysis Science & Technology*, 2021, 11(4): 1186-1221.
- [21] OMUMI A, BEACH D G, BAKER M, et al. Postsynthetic guanine arylation of DNA by Suzuki-Miyaura cross-coupling [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(1): 42-50.
- [22] DING Y, CLARK M A. Robust Suzuki-Miyaura cross-coupling on DNA-linked substrates[J]. *ACS Combinatorial Science*, 2015, 17(1): 1-4.
- [23] DING Y, DELOREY J L, CLARK M A. Novel catalyst system for Suzuki-Miyaura coupling of challenging DNA-linked aryl chlorides[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2016, 27(11): 2597-2600.
- [24] LI J Y, HUANG H B. Development of DNA-compatible Suzuki-Miyaura reaction in aqueous media[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2018, 29(11): 3841-3846.
- [25] XU H T, MA F, WANG N, et al. DNA-encoded libraries: aryl fluorosulfonates as versatile electrophiles enabling facile on-DNA Suzuki, Sonogashira, and Buchwald reactions[J]. *Advanced Science*, 2019, 6(23): 1901551.
- [26] QU Y, LIU S X, WEN H N, et al. Palladium-mediated Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction of potassium Boc-protected aminomethyltrifluoroborate with DNA-conjugated aryl bromides for DNA-encoded chemical library synthesis[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 533(2): 209-214.
- [27] FAVALLI N, BASSI G, BIANCHI D, et al. Large screening of DNA-compatible reaction conditions for Suzuki and Sonogashira cross-coupling reactions and for reverse amide bond formation[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2021, 41: 116206.
- [28] SIRIPURAM V K, SUNKARI Y K, NGUYEN T L, et al. DNA-compatible Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction of aryl iodides with (hetero)aryl boronic acids for DNA-encoded libraries[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10: 894603.
- [29] WANG X, SUN H, LIU J X, et al. Ruthenium-promoted C—H activation reactions between DNA-conjugated acrylamide and aromatic acids[J]. *Organic Letters*, 2018, 20(16): 4764-4768.
- [30] WANG X, SUN H, LIU J X, et al. Palladium-promoted DNA-compatible Heck reaction[J]. *Organic Letters*, 2019, 21(3): 719-723.
- [31] KRANTHIKUMAR R. Recent advances in C(sp³)—C(sp³) cross-coupling chemistry: a dominant performance of nickel catalysts[J]. *Organometallics*, 2022, 41(6): 667-679.
- [32] WEN X, DUAN Z Q, LIU J X, et al. On-DNA cross-dehydrogenative coupling reaction toward the synthesis of focused DNA-encoded tetrahydroisoquinoline libraries[J]. *Organic Letters*, 2020, 22(15): 5721-5725.
- [33] FAN Z L, ZHAO S, LIU T, et al. Merging C(sp³)—H activation with DNA-encoding[J]. *Chemical Science*, 2020, 11(45): 12282-12288.
- [34] LU X J, ROBERTS S E, FRANKLIN G J, et al. On-DNA Pd and Cu promoted C—N cross-coupling reactions[J]. *MedChemComm*, 2017, 8(8): 1614-1617.
- [35] FORERO-CORTÉS P A, HAYDL A M. The 25th anniversary of the Buchwald-Hartwig amination: development, applications, and outlook[J]. *Organic Process Research & Development*, 2019, 23(8): 1478-1483.
- [36] DE PEDRO BEATO E, PRIEGO J, GIRONDA-MARTÍNEZ A, et al. Mild and efficient palladium-mediated C—N cross-coupling reaction between DNA-conjugated aryl bromides and aromatic amines[J]. *ACS Combinatorial Science*, 2019, 21(2): 69-74.
- [37] CHEN Y C, FAVER J C, KU A F, et al. C—N coupling of DNA-conjugated (hetero)aryl bromides and chlorides for DNA-encoded chemical library synthesis[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2020, 31(3): 770-780.

- [38] CHHEDA P R, SIMMONS N, SCHUMAN D P, et al. Palladium-mediated C—N coupling of DNA-conjugated (hetero)aryl halides with aliphatic and (hetero)aromatic amines [J]. *Organic Letters*, 2022, 24(18): 3401-3406.
- [39] YANG J, XIA S D, LIU J X, et al. DNA-encoded focused indazole library synthesis by a palladium-mediated CN(sp²) cross-coupling reaction between DNA-linked (hetero)aryl halides and aromatic nitrogen heterocycles[J]. *Tetrahedron Letters*, 2022, 96: 153732.
- [40] YANG Q, ZHAO Y S, MA D W. Cu-mediated ullmann-type cross-coupling and industrial applications in route design, process development, and scale-up of pharmaceutical and agrochemical processes[J]. *Organic Process Research & Development*, 2022, 26(6): 1690-1750.
- [41] RUFF Y, BERST F. Efficient copper-catalyzed amination of DNA-conjugated aryl iodides under mild aqueous conditions [J]. *MedChemComm*, 2018, 9(7): 1188-1193.
- [42] WANG D Y, WEN X, XIONG C D, et al. Non-transition metal-mediated diverse aryl-heteroatom bond formation of arylammonium salts[J]. *iScience*, 2019, 15: 307-315.
- [43] XU H T, GU Y A, ZHANG S N, et al. A chemistry for incorporation of selenium into DNA-encoded libraries[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2020, 59(32): 13273-13280.
- [44] YANG S L, ZHAO G X, GAO Y T, et al. In-solution direct oxidative coupling for the integration of sulfur/selenium into DNA-encoded chemical libraries[J]. *Chemical Science*, 2022, 13(9): 2604-2613.
- [45] TELLIS J C, PRIMER D N, MOLANDER G A. Dual catalysis. Single-electron transmetalation in organoboron cross-coupling by photoredox/nickel dual catalysis[J]. *Science*, 2014, 345(6195): 433-436.
- [46] PATEL S, BADIR S O, MOLANDER G A. Developments in photoredox-mediated alkylation for DNA-encoded libraries[J]. *Trends in Chemistry*, 2021, 3(3): 161-175.
- [47] KÖLMEL D K, LOACH R P, KNAUBER T, et al. Employing photoredox catalysis for DNA-encoded chemistry: decarboxylative alkylation of α -amino acids[J]. *ChemMedChem*, 2018, 13(20): 2159-2165.
- [48] KÖLMEL D K, RATNAYAKE A S, FLANAGAN M E, et al. Photocatalytic [2 + 2] cycloaddition in DNA-encoded chemistry [J]. *Organic Letters*, 2020, 22(8): 2908-2913.
- [49] WU R F, DU T, SUN W B, et al. Functionalization of DNA-tagged alkenes enabled by visible-light-induced C—H activation of *N*-aryl tertiary amines[J]. *Organic Letters*, 2021, 23(9): 3486-3490.
- [50] SHAN J M, LING X, LIU J X, et al. DNA-encoded CH functionality *via* photoredox-mediated hydrogen atom transformation catalysis[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2021, 42: 116234.
- [51] FU X, TANG J, HUA R Y, et al. Functionalization of DNA-tagged alkenes with diazo compounds *via* photocatalysis[J]. *Organic Letters*, 2022, 24(11): 2208-2213.
- [52] MAHDAVI-AMIRI Y, HU M S J, FRIAS N, et al. Photoredox-catalysed hydroaminoalkylation of on-DNA *N*-arylamines[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2023, 21(7): 1463-1467.
- [53] MÜLLER K, FAEH C, DIEDERICH F. Fluorine in pharmaceuticals: looking beyond intuition[J]. *Science*, 2007, 317(5846): 1881-1886.
- [54] PURSER S, MOORE P R, SWALLOW S, et al. Fluorine in medicinal chemistry[J]. *Chemical Society Reviews*, 2008, 37(2): 320-330.
- [55] PHELAN J P, LANG S B, SIM J H, et al. Open-air alkylation reactions in photoredox-catalyzed DNA-encoded library synthesis[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(8): 3723-3732.
- [56] BADIR S O, SIM J H, BILLINGS K, et al. Multifunctional building blocks compatible with photoredox-mediated alkylation for DNA-encoded library synthesis[J]. *Organic Letters*, 2020, 22(3): 1046-1051.
- [57] BADIR S O, LIPP A, KRUMB M, et al. Photoredox-mediated hydroalkylation and hydroarylation of functionalized olefins for DNA-encoded library synthesis[J]. *Chemical Science*, 2021, 12(36): 12036-12045.
- [58] CHENG J P, LU Y, ZHU X Q, et al. Heterolytic and homolytic N—H bond dissociation energies of 4-substituted Hantzsch 2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridines and the effect of one-electron transfer on the N—H bond activation[J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2000, 65(12): 3853-3857.
- [59] DING H, GREENBERG M M. DNA damage and interstrand cross-link formation upon irradiation of aryl iodide C-nucleotide analogues[J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2010, 75(3): 535-544.
- [60] KRUMB M, KAMMER L M, BADIR S O, et al. Photochemical C—H arylation of heteroarenes for DNA-encoded library synthesis[J]. *Chemical Science*, 2022, 13(4): 1023-1029.
- [61] JAMPILEK J. Heterocycles in medicinal chemistry[J]. *Molecules*, 2019, 24(21): 3839.
- [62] LIPINSKI C A, LOMBARDO F, DOMINY B W, et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, 46(1-3): 3-26.
- [63] WEN X, WU X Y, JIN R, et al. Privileged heterocycles for DNA-encoded library design and hit-to-lead optimization[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 248: 115079.
- [64] GAO Y T, ZHAO G X, HE P Y, et al. DNA-compatible

- synthesis of α, β -epoxyketones for DNA-encoded chemical libraries[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2022, 33(1): 105-110.
- [65] MANTELL M A, MARCAURELLE L, DING Y. One reaction served three ways: the on-DNA ugi 4C-3C reaction for the formation of lactams[J]. *Organic Letters*, 2023, 25(8): 1241-1245.
- [66] QI J J, LIU S X, SEYDIMEMET M, et al. A general set of DNA-compatible reactions for preparing DNA-tagged multisubstituted pyrroles[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2021, 32(11): 2290-2294.
- [67] ZHANG J, LI X F, WEI H M, et al. Sequential DNA-encoded building block fusion for the construction of polysubstituted pyrazoline core libraries[J]. *Organic Letters*, 2021, 23(21): 8429-8433.
- [68] FAN L J, DAVIE C P. Zirconium(IV)-catalyzed ring opening of on-DNA epoxides in water[J]. *ChemBiochem*, 2017, 18(9): 843-847.
- [69] DU H C, BANGS M C, SIMMONS N, et al. Multistep synthesis of 1,2,4-oxadiazoles via DNA-conjugated aryl nitrile substrates[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2019, 30(5): 1304-1308.
- [70] MA F, LI J, ZHANG S N, et al. DNA-encoded libraries: hydrazide as a pluripotent precursor for on-DNA synthesis of various azole derivatives[J]. *Chemistry*, 2021, 27(31): 8214-8220.
- [71] COSTA M S, BOECHAT N, RANGEL E A, et al. Synthesis, tuberculosis inhibitory activity, and SAR study of *N*-substituted-phenyl-1,2,3-triazole derivatives[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2006, 14(24): 8644-8653.
- [72] GIFFIN M J, HEASLET H, BRIK A, et al. A copper(I)-catalyzed 1,2,3-triazole azide-alkyne click compound is a potent inhibitor of a multidrug-resistant HIV-1 protease variant [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2008, 51(20): 6263-6270.
- [73] MELDAL M, TORNØE C W. Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition[J]. *Chemical Reviews*, 2008, 108(8): 2952-3015.
- [74] HEIN J E, TRIPP J C, KRASNOVA L B, et al. Copper(I)-catalyzed cycloaddition of organic azides and 1-iodoalkynes [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, 48(43): 8018-8021.
- [75] GIRONDA-MARTÍNEZ A, NERI D, SAMAIN F, et al. DNA-compatible diazo-transfer reaction in aqueous media suitable for DNA-encoded chemical library synthesis[J]. *Organic Letters*, 2019, 21(23): 9555-9558.
- [76] KABOUDIN B, ABEDI Y, YOKOMATSU T. One-pot synthesis of 1,2,3-triazoles from boronic acids in water using Cu(II)- β -cyclodextrin complex as a nanocatalyst[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2012, 10(23): 4543-4548.
- [77] QU Y, WEN H N, GE R, et al. Copper-mediated DNA-compatible one-pot click reactions of alkynes with aryl borates and TMS-N₃[J]. *Organic Letters*, 2020, 22(11): 4146-4150.
- [78] SINGH H, CHAWLA A S, KAPOOR V K, et al. Medicinal chemistry of tetrazoles[J]. *Progress in Medicinal Chemistry*, 1980, 17: 151-183.
- [79] DU H C, MATZUK M M, CHEN Y C. Synthesis of 5-substituted tetrazoles via DNA-conjugated nitrile[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2020, 18(45): 9221-9226.
- [80] LI H L, SUN Z, WU W T, et al. Inverse-electron-demand Diels-Alder reactions for the synthesis of pyridazines on DNA[J]. *Organic Letters*, 2018, 20(22): 7186-7191.
- [81] GAO Y T, SUN Y, ZHAO G X, et al. On-DNA synthesis of functionalized 4*H*-pyran scaffolds for focused DNA-encoded chemical libraries[J]. *Organic Letters*, 2022, 24(36): 6664-6669.
- [82] NIE Q G, FANG X F, LIU C Y, et al. DNA-compatible *ortho*-phthalaldehyde (OPA)-mediated 2-substituted isoindole core formation and applications[J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2022, 87(5): 2551-2558.
- [83] ŠKOPIĆ M K, GÖTTE K, GRAMSE C, et al. Micellar Brønsted acid mediated synthesis of DNA-tagged heterocycles [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(26): 10546-10555.
- [84] SUO Y R, XU M, SUN M M, et al. Ruthenium-mediated [2+2] cyclization: a route to forge indane and isoindoline core and its application in DNA-encoded library technology[J]. *Organic Letters*, 2022, 24(49): 9092-9096.
- [85] FANG X F, LIAO H L, FAN X H, et al. Incorporation of viridicatin alkaloid-like scaffolds into DNA-encoded chemical libraries[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2023, 21(10): 2162-2166.
- [86] SU L Q, FENG J, PENG T, et al. Synthesis of multifunctional 2-aminobenzimidazoles on DNA via iodine-promoted cyclization[J]. *Organic Letters*, 2020, 22(4): 1290-1294.
- [87] BAO Y P, DENG Z F, FENG J, et al. A B₂(OH)₄-mediated synthesis of 2-substituted indazolone and its application in a DNA-encoded library[J]. *Organic Letters*, 2020, 22(16): 6277-6282.
- [88] WEN X, ZHANG M M, DUAN Z Q, et al. Discovery, SAR study of GST inhibitors from a novel quinazolin-4(1*H*)-one focused DNA-encoded library[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 66(16): 11118-11132.
- [89] GAO H, LIN S, ZHANG S N, et al. Gem-difluoromethylene alkyne-enabled diverse C—H functionalization and application to the on-DNA synthesis of difluorinated isocoumarins[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2021, 60(4): 1959-1966.
- [90] ZHAO G X, WANG H H, LUO J, et al. Multicomponent DNA-compatible synthesis of an annelated benzodiazepine scaffold for focused chemical libraries[J]. *Organic Letters*, 2023, 25(4): 665-670.

- [91] HIESINGER K, DAR'IN D, PROSCHAK E, et al. Spirocyclic scaffolds in medicinal chemistry[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2021, 64(1): 150-183.
- [92] WANG X, LIU J X, YAN Z Q, et al. Diversified strategy for the synthesis of DNA-encoded oxindole libraries[J]. *Chemical Science*, 2021, 12(8): 2841-2847.
- [93] NIE Q G, SUN J, FANG X F, et al. Antimony salt-promoted cyclization facilitating on-DNA syntheses of dihydroquinazolinone derivatives and its applications[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2023, 34(8): 108132.
- [94] LI L B, MATSUO B, LEVITRE G, et al. Dearomative intermolecular [2+2] photocycloaddition for construction of C(sp³)-rich heterospirocycles on-DNA[J]. *Chemical Science*, 2023, 14(10): 2713-2720.
- [95] GALLOWAY W R J D, ISIDRO-LLOBET A, SPRING D R. Diversity-oriented synthesis as a tool for the discovery of novel biologically active small molecules[J]. *Nature Communications*, 2010, 1: 80.
- [96] SPRING D R. Diversity-oriented synthesis; a challenge for synthetic chemists[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2003, 1(22): 3867-3870.
- [97] WESTPHAL M V, HUDSON L, MASON J W, et al. Water-compatible cycloadditions of oligonucleotide-conjugated strained allenes for DNA-encoded library synthesis[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2020, 142(17): 7776-7782.
- [98] LIU S X, QI J J, LU W W, et al. Synthetic studies toward DNA-encoded heterocycles based on the on-DNA formation of α,β -unsaturated ketones[J]. *Organic Letters*, 2021, 23(3): 908-913.
- [99] FANG X F, WANG Y T, HE P Y, et al. Visible light-promoted divergent benzoheterocyclization from aldehydes for DNA-encoded chemical libraries[J]. *Organic Letters*, 2022, 24(17): 3291-3296.
- [100] ZHANG S L, ZHANG H M, LIU X W, et al. Mask and release strategy-enabled diversity-oriented synthesis for DNA-encoded library[J]. *Advanced Science*, 2024, 11(6): e2307049.
- [101] TRUPPO M D. Biocatalysis in the pharmaceutical industry: the need for speed[J]. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2017, 8(5): 476-480.



通讯作者: 陆晓杰(1983—),男,博士,研究员,博士生导师。研究方向为DNA编码化合物库技术的开发和应用。
E-mail: xjlu@simm.ac.cn



第一作者: 刘子健(2000—),男,硕士研究生。研究方向为on-DNA化学反应开发和DNA编码化合物库的构建和筛选。
E-mail: liuzijian@simm.ac.cn



第一作者: 穆柏杨(2000—),男,硕士研究生。研究方向为on-DNA化学反应开发和苗头化合物发现和优化。
E-mail: mubaiyang@simm.ac.cn