

无保护糖基化反应研究进展

李格非^{a,b} 荆杰^a 罗振扬^a 默娟^b 熊德彩^b 叶新山^{*b}^(a) 南京林业大学理学院 南京 210037)^(b) 北京大学药学院 天然药物及仿生药物国家重点实验室 北京 100191)

摘要 糖类在很多生命活动中发挥着重要的作用,例如细胞壁组成、能量储存以及生物识别等。发展高区域选择性和立体选择性的糖基化反应是目前糖化学研究的中心问题。传统的化学糖基化方法往往需要依靠正交的保护基化学来调控糖基化反应的选择性。近年来一些无保护糖基化的策略被开发出来,可以在更简单、更温和的条件下实现寡糖及其缀合物的选择性合成。对近期发展的无保护糖基化策略进行了综述,并对无保护糖基化反应的未来发展前景进行展望。

关键词 化学糖基化反应; 无保护; 直接端基活化; 糖化学

Recent Advances in Protection-Free Glycosylations

Li, Gefei^{a,b} Jing, Jie^a Luo, Zhenyang^a Mo, Juan^b Xiong, Decai^b Ye, Xinshan^{*b}^(a) School of Science, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037)^(b) State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191)

Abstract Carbohydrates play a key role in many life activities, such as cell wall composition, energy storage and biological recognition. Development of highly regio- and stereo-selective glycosylation reactions is a central topic of current carbohydrate chemistry. The traditional glycosylation protocol usually requires the orthogonal protecting chemistry to obtain the selectivity of glycosylation reactions. Recent progress in protecting-group free strategies can provide a simple and mild approach to the chemo-selective construction of glycosidic bonds in oligosaccharides or glycoconjugates in aqueous conditions. The latest advances in protection-free chemical glycosylations are summarized, including the direct anomeric activation strategy developed by our group.

Keywords chemical glycosylation; protection-free; direct anomeric activation; carbohydrate chemistry

糖作为三大生物分子之一,在许多生命活动中都发挥着重要的作用。例如,细胞表面的糖类可作为免疫识别抗原,直接影响免疫细胞的特异性识别和病毒的侵染过程^[1];蛋白/多肽结构中所连接的寡糖则可以调控肽链的空间构象,进而影响蛋白和多肽类药物的半衰期、溶解性和药物活性^[2]。要深入研究不同类型的糖基化修饰对生物活性的影响规律,就必须获得足量的、结构均一的糖分子和糖复合物。而天然分子中较低的含量和复杂的化学结构,使得通过分离纯化的方式获得糖苷产物异常困难。因此,新型糖基化反应的发展对于糖分子的合成和糖基化修饰起着至关重要的作用^[3]。但是,糖分子特殊的化学结构使得糖苷类化合物的人工合成充满挑战,其中最关键的问题就是糖基化反应中的位点选择

性和立体选择性控制^[4]。一般而言,只有通过正交的保护基化学才能促使糖基化反应朝着设定的方向进行(Scheme 1A)^[5]。然而,复杂的保护-脱保护操作也伴随着诸多问题,例如多步反应带来的较低的原子经济性,苛刻的反应条件同活性蛋白底物的不兼容性等。面对这些问题,糖化学家们开始关注无保护糖基化反应的发展(Scheme 1B),并建立了许多代表性的糖基化新方法^[6]。本文将对近年来发表的无保护糖基化方法进行综述,并对未来的发展进行展望。

1 钙离子诱导的糖基化反应

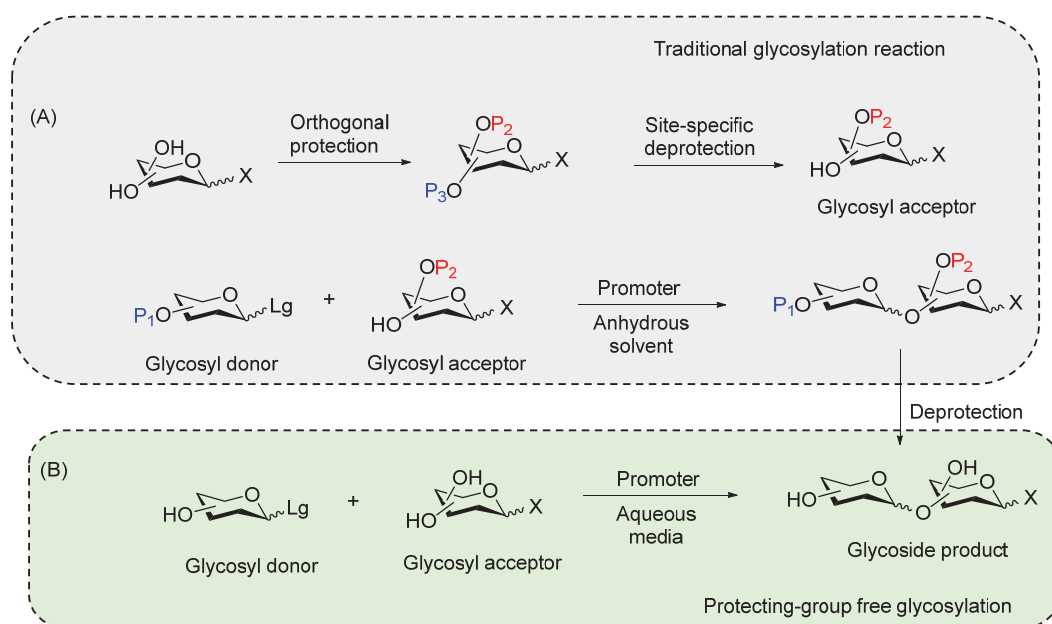
在生物体内,糖苷键的组装是在糖基转移酶和糖基水解酶的共同参与下进行的^[7],能够实现水溶液中选择

* Corresponding author. E-mail: xinshan@bjmu.edu.cn

Received November 22, 2022; revised December 26, 2022; published online January 11, 2023.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21907004, 81821004), and the State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs (No. K202216).

国家自然科学基金(Nos. 21907004, 81821004)、天然药物及仿生药物国家重点实验室开放基金(No. K202216)资助项目。



图式 1 保护/无保护糖基化反应的一般过程

Scheme 1 General glycosylation process with or without protecting chemistry

性的糖苷键构筑, 关键在于酶的活性中心为糖基底物提供了一个特殊的反应环境, 得益于氨基酸残基与糖基底物间特异性的氢键相互作用, 使得糖基化反应只能按照生物设定的方向进行, 而其它羟基反应位点和成键方向则可以被这种特殊的超分子作用暂时封闭, 进而确保酶促糖基化反应具有很高的区域选择性与立体选择性(图 1A). 在模仿酶催化的反应过程中, 糖化学家们开发出来一系列金属离子诱导的糖基化反应, 基于设计的金属离子与糖底物羟基间的配位作用, 就可以实现无保护条件下的选择性糖苷键构建(图 1B).

金属离子诱导的水相糖基化反应起源于氟代糖的研究. 相较于其他类型的卤代糖基受体, 氟代糖因其较高的稳定性, 在糖化学研究的早期并没有应用到糖基化反应中. 1981 年, Mukaiyama 小组^[8]利用亲氟性较高的二

价锡, 实现了高效的糖基化反应. 此后, 氟代糖作为糖基供体才开始进入化学家的视野. 因其较高的立体选择性, Nicolaou 小组^[9-10]利用该方法合成了一系列生物活性的糖复合物. 到了 1991 年, Kobayashi 课题组^[11]发现氟代纤维二糖可以被纤维素水解酶识别, 并利用酶促糖基化反应, 人工合成了纤维素多糖. 同一时期, Jencks 小组^[12-13]发现 α -氟代葡萄糖可以在水溶液中与叠氮化钠和醋酸盐发生 S_N2 反应, 生成相应的 β -糖苷产物. 这些发现都在提示糖化学家, 氟代糖作为一种很好的糖基供体, 有可能实现水相无保护的糖基化反应. 然而, 受限于羟基较弱的亲核性, 利用氟代糖实现水相糖分子组装的方法在此后很长时间内都没有出现. 直到 2016 年, Miller 小组^[14]受到氟代糖在酶促糖基化反应中过渡态研究的启发, 提出了基于金属离子和有机胺的路易斯酸/

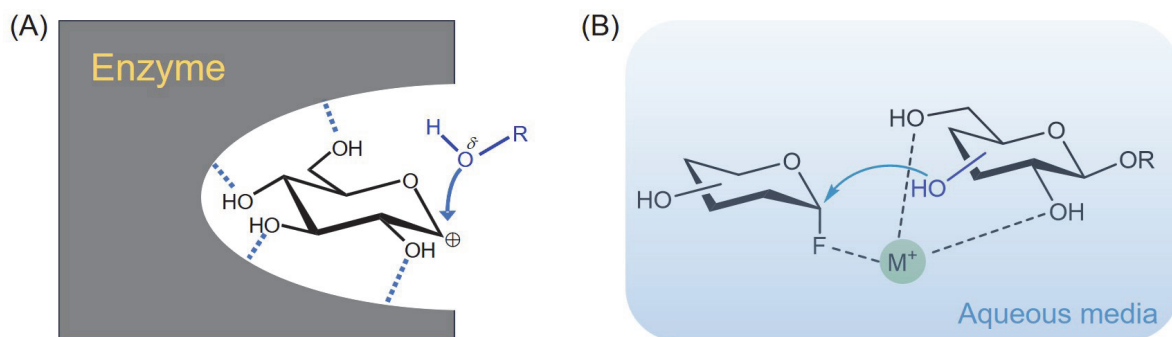


图 1 糖基化反应过程: (A) 基于氢键作用的酶促糖基化; (B) 基于金属离子键合的化学糖基化

Figure 1 Glycosylation mechanism: (A) enzymatic process based on H-bonding interaction; (B) chemical process relied on metal ion binding

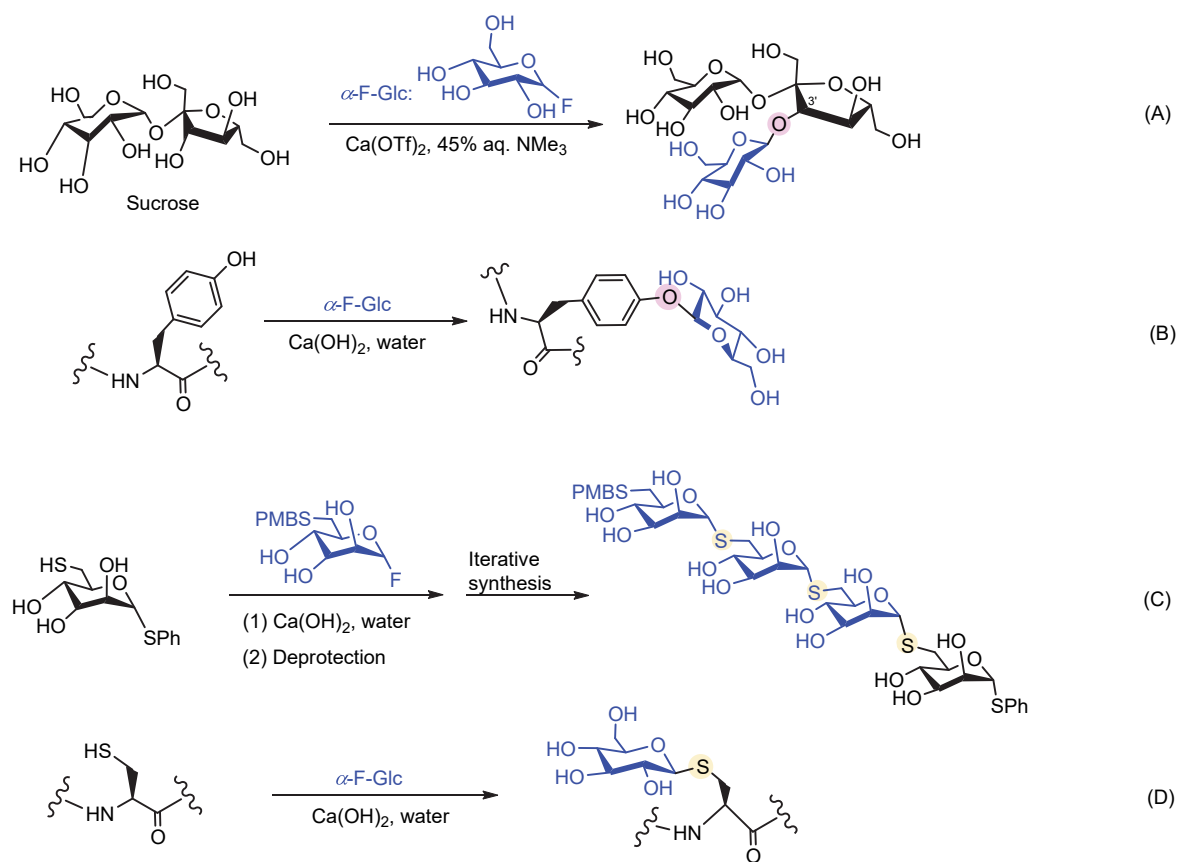
碱协同活化策略,并最终发现 α -氟代葡萄糖可以在钙离子和三甲胺的诱导下,实现水溶液中蔗糖分子3'位选择性的 β -糖基化修饰(Scheme 2A).虽然该方法对糖基化底物的要求很高,目前只适用于含有蔗糖片段的糖基受体,但无疑证明了通过仿酶活化条件的设计实现水相糖基化修饰的可能性.2018年Miller及其合作者^[15]又将钙离子诱导的水相糖基化策略拓展到酚羟基上,进而实现了多肽结构中酪氨酸位点选择性的O-糖基化修饰(Scheme 2B).除了合成氧苷,基于氟代糖的钙离子诱导水相糖基化反应也被用于硫苷的制备.Tang课题组^[16]利用迭代组装策略合成了硫链接的甘露四糖(Scheme 2C).Li小组^[17]则利用该策略实现了水溶液中肽链上半胱氨酸位点的选择性S-糖基化修饰(Scheme 2D).

2 硼酸介导的糖基化反应

硼酸作为一种常见的羟基临时保护基在糖化学中的应用由来已久,因此硼酸介导的糖基化反应并不能视为绝对的无保护,也很难在水相中进行糖苷键的构筑.然而,从使用最少保护基或者只使用一种保护基就可以实现位点选择性与立体选择性的糖基化反应的角度来

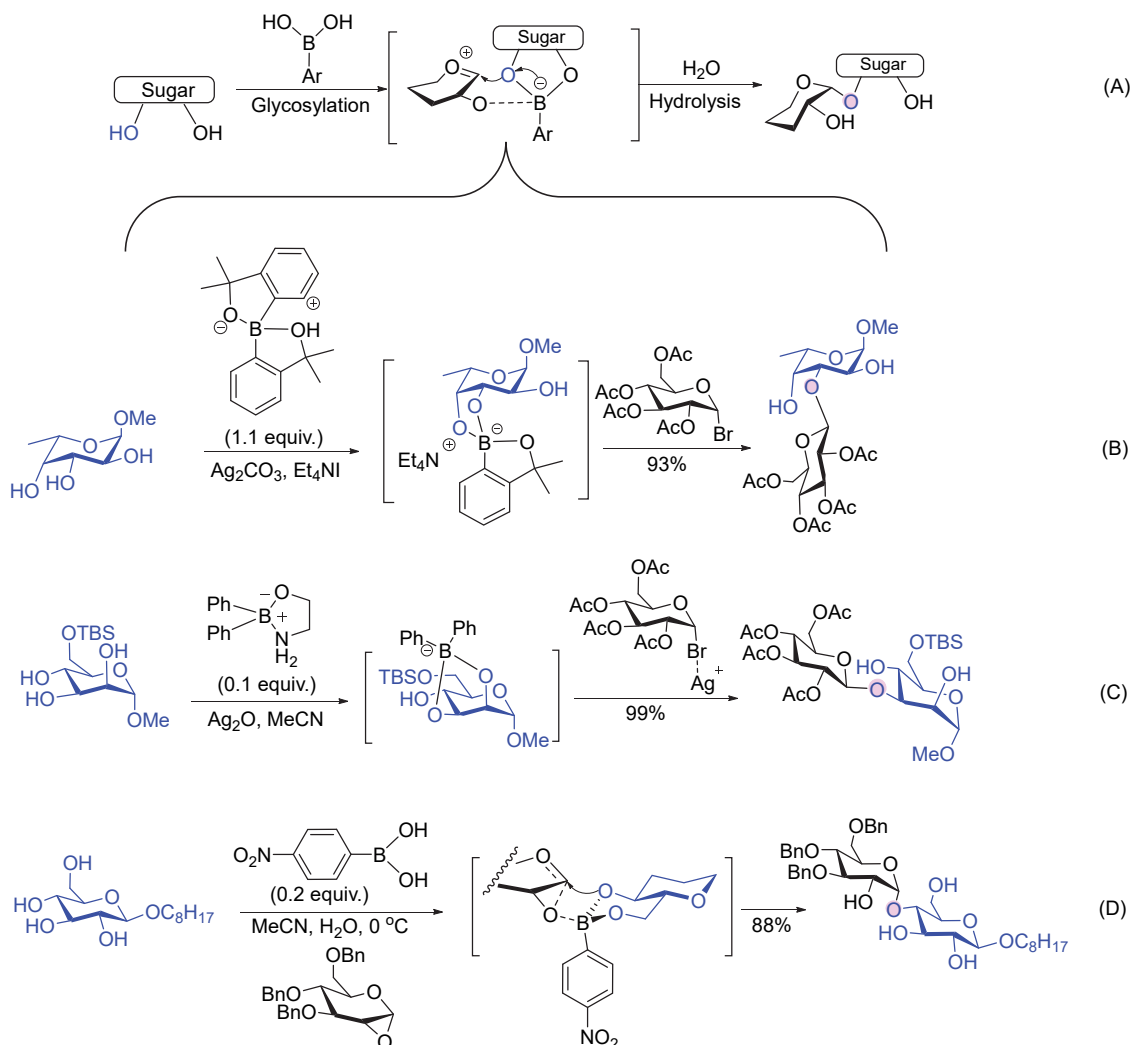
看,近期发表的一系列新的硼酸介导糖基化方法又给发展无保护化学糖基化策略带来许多启示.其中最重要的观点就是硼酸不仅仅可以充当临时保护基,还可以通过形成四配位的硼酸酯中间体,选择性增强与之键合的特定氧原子的亲核性,进而促使糖基化反应朝着有序的方向进行(Scheme 3A)^[18].

1997年,Aoyama小组^[19]报道了羟基与苯硼酸形成的四配位硼酸酯结构可以提高硼氧键中氧原子的亲核性,并基于该策略开发了位点选择性的无保护糖基化反应^[20].在以溴代葡萄糖为糖基供体的Koenigs-Knorr糖基化反应中,利用等物质的量的2-(2-羟基-2-丙基)-苯硼酸衍生物对无保护的L-岩藻糖甲苷进行活化,最终实现了岩藻糖3位羟基的选择性修饰(Scheme 3B).2011年,Taylor等^[21]对该方法做了改进,实现了催化量硼酸介导的糖基化反应.在部分保护的甘露糖受体中,通过二苯基硼酸选择性的活化cis-1,2-二醇结构中的平伏键羟基,进而得到了3位羟基高选择性糖基化产物(Scheme 3C).除了传统的卤代糖供体外,自2015年开始,Toshima课题组^[22]利用1,2-缩水糖作为糖基供体,开启了硼酸介导糖基化反应新的历程.研究发现,水分子的出现并不会



图式2 钙离子诱导的基于氟代糖供体的无保护水相糖基化反应

Scheme 2 Calcium ion mediated aqueous protecting-group free glycosylation using fluoroglycoside donors



图式3 硼酸介导的选择性糖基化反应

Scheme 3 Regio- and stereo-selective glycosylation using a boronic acid catalyst

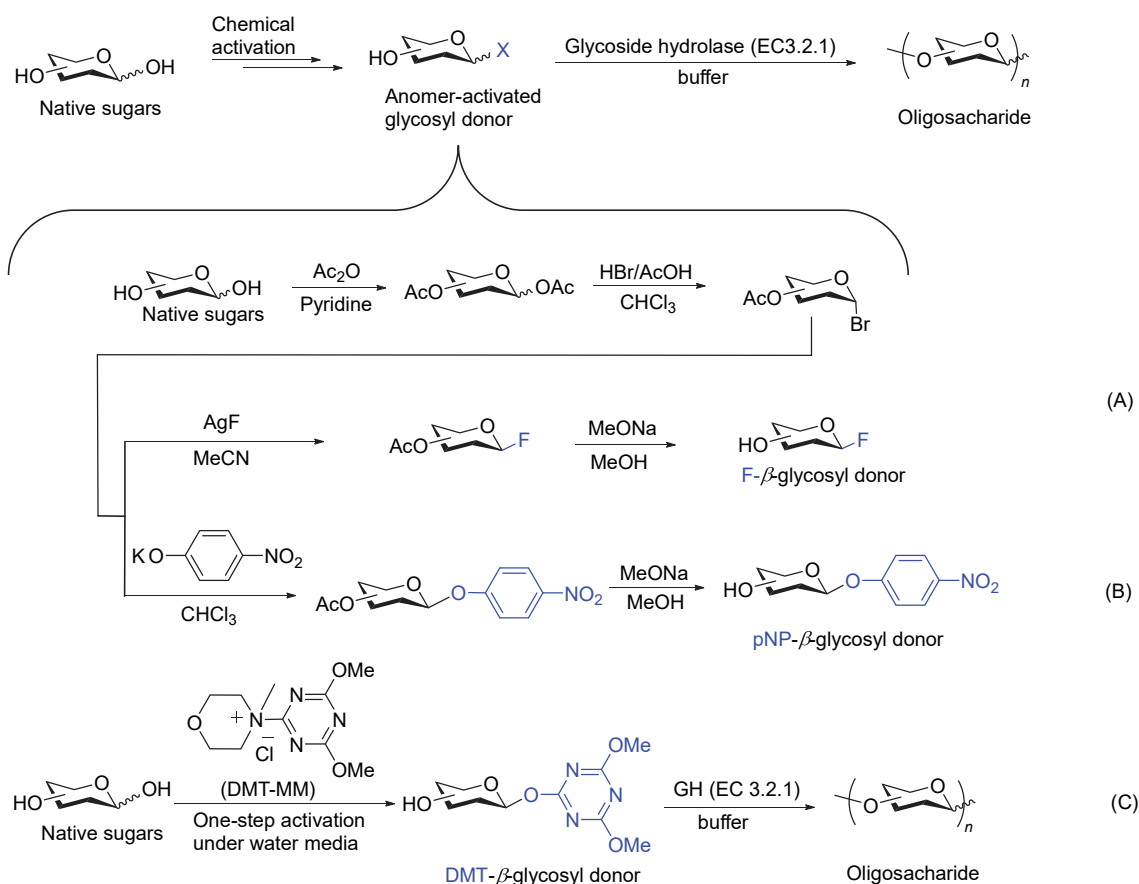
带来明显的水解副反应,说明经过硼酸活化后的羟基位点具有比水分子更高的反应活性,这一发现为进一步开发水相糖基化反应提供了可能性(Scheme 3D)^[23].在该反应过程中,糖基供体-对硝基硼酸-糖基受体共同形成了一个四配位硼酸酯中间体,进而诱导 B—O 键中位阻小的氧原子从 1,2-缩水糖的同一平面进攻异头碳,最终实现水溶液中高区域选择性与高立体选择性的 α -(1,4)-糖苷键的构建.后续的动力学同位素效应(KIE)实验和密度泛函理论(DFT)计算显示:新的糖苷键生成要先于 1,2-缩水糖中异头碳与环氧氧原子间 C—O 键的断裂.这一现象证实了该反应过程遵循分子内亲核取代(S_Ni)机理.需要指出的是,该策略对于构筑具有一定合成难度的 β -甘露糖苷键同样有效^[24].

3 基于三嗪离去基的糖基化反应

在无保护糖分子的还原末端引入三嗪离去基团,并

以此作为糖基供体开发糖基化反应的研究,首先起源于酶促糖基化反应中面临的糖基供体制备问题.虽然糖苷水解酶可以利用氟代糖(Scheme 4A)或者对硝基苯基糖苷(*p*NP 糖, Scheme 4B)作为糖基供体,通过酶促转糖苷反应(*transglycosylation*)生成天然的或者化学修饰的寡糖结构^[25],但是要制备这些无保护的糖基供体依然要经由全乙酰化的溴代糖中间体,并通过复杂的保护-脱保护糖基化反应实现.有鉴于此,人们开始考虑能否简化糖基供体制备的过程化学(*Glyco-process-chemistry*),进而实现水溶液中无保护糖还原末端直接活化(*Direct anomeric activation*) (Scheme 4C)^[26].

在糖分子的化学结构中存在三种类型的羟基,分别是半缩醛羟基、伯羟基和仲羟基.其中半缩醛羟基的 pK_a 值是 12.2,具有最高的反应性,且低于水分子的 15.7.因此,实现水溶液中无保护糖还原末端直接活化的关键就是选择合适的亲电试剂.2008 年 Shoda 课题



图式 4 水溶液中糖分子还原末端直接活化策略用于制备酶促糖基化反应的糖供体

Scheme 4 Direct anomeric activation strategy for the synthesis of glycosyl donors used in the chemo-enzymatic glycosylation

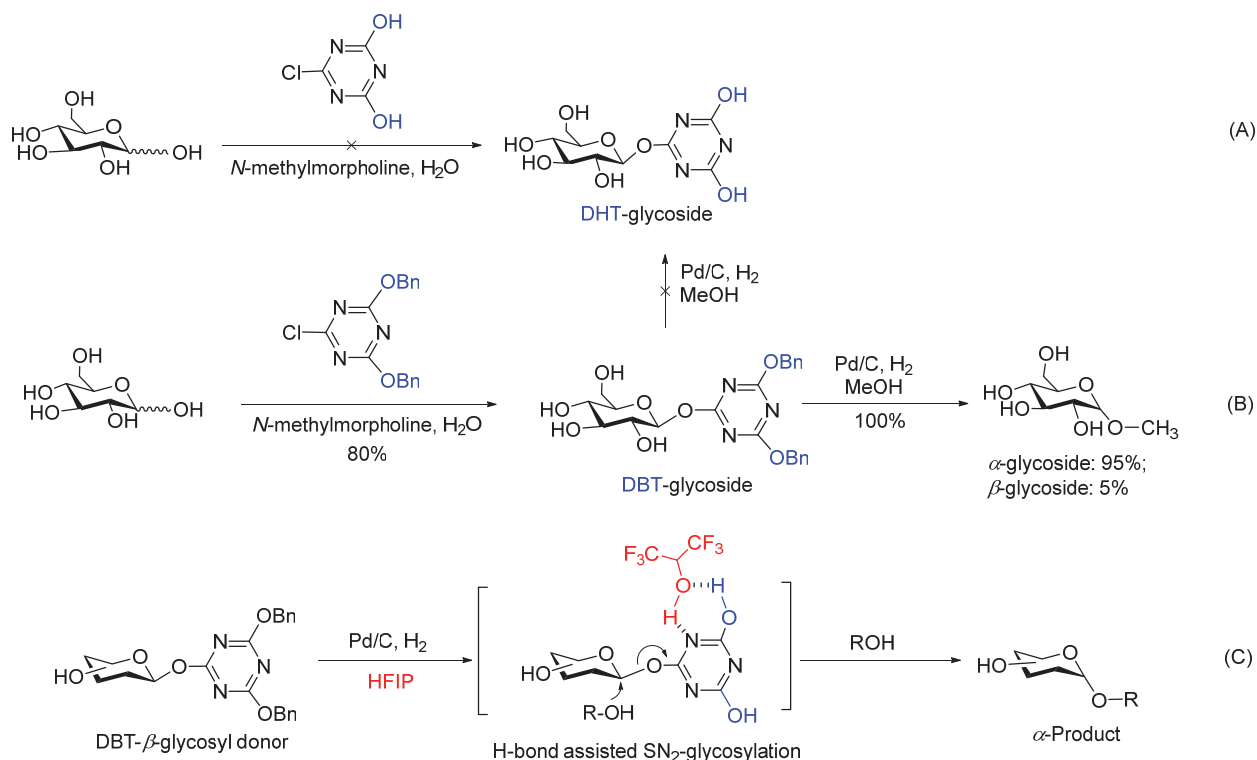
组^[27]报道了一种二甲氧基取代的三嗪(DMT)离去基团,可以替代常用的氟原子或对硝基苯基对糖分子进行活化,并能够被糖苷酶识别,进而有效地进行糖分子组装。更为重要的是,这种带有三嗪离去基团的糖苷可以在水溶液中由糖还原末端直接活化制备,并具有很好的立体选择性(Scheme 4C),因此已经被广泛用于基于化学-酶法的寡糖合成中^[28-31]。2013年 DMT-糖苷开始被用于 Lewis 酸介导的糖基化反应^[32],并在一价铜催化的醇解反应中实现了立体选择性烷基糖苷的无保护制备^[33]。在进一步研究中,为了探索三嗪离去基上 4,6 位取代基的变化对糖基化反应的影响,该课题组尝试在甲醇溶液中通过钯催化的氢解反应脱去 4,6 位的苄基,进而得到二羟基三嗪糖基供体(DHT-glycoside donor, Scheme 5A),但出乎意料地得到了 100%转化的葡萄糖甲苷(Scheme 5B)。在这一发现的基础上,Shoda 小组^[34]开发了新一代钯催化氢解条件下,基于二甲氧基三嗪糖基供体(DBT-glycoside donor)的无保护糖基化策略,并且通过外加氢键给体试剂,进一步发展了氢键介导的高 α -选择性糖基化反应。得益于氢键对 DHT 糖中间体的活化作用,使得一些低亲核性的糖基受体也可以获得较高的糖基化产

率和立体选择性(Scheme 5C)^[35]。

4 基于 DMC 的端基活化反应

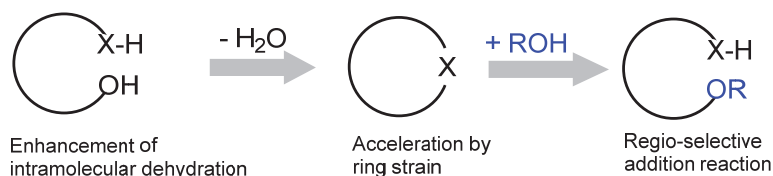
糖苷键的形成可以看作是一个通过分子间脱水由半缩醛变为缩醛的过程。按照一般的化学规律,要在水溶液中实现分子间脱水相当困难,因为化学平衡会自发地向水解方向进行。为此,化学家们尝试通过选择合适的脱水缩合剂,将困难的分子间脱水反应分解为分子内脱水和分子间加成两步来完成(Scheme 6)。较低的能垒使得第一步分子内脱水更容易实现,同时形成的环状结构为第二步的加成反应提供了活性中间体,当遇到合适的亲核试剂就可以继续发生分子间加成,进而生成稳定的反应产物,促使反应正向进行。

基于以上思路,Shoda 课题组^[36-37]开发了基于咪唑盐类脱水缩合剂(DMC 或 CDMBI)的无保护水相糖基化策略:第一步先形成环状的 1,2-缩水糖(1,2-Anhydro sugar)或糖噁唑啉(Sugar oxazoline)中间体,再通过第二步的分子间加成得到一系列的糖类衍生物(Scheme 7)。目前该方法已被广泛应用于水溶液中无保护糖还原末端的直接活化,而这种基于 DMC 的糖类脱水缩合剂也



图式 5 用于无保护糖基化的 DBT-糖基供体

Scheme 5 Development of DBT-glycosyl donors used for protecting-group free glycosylation

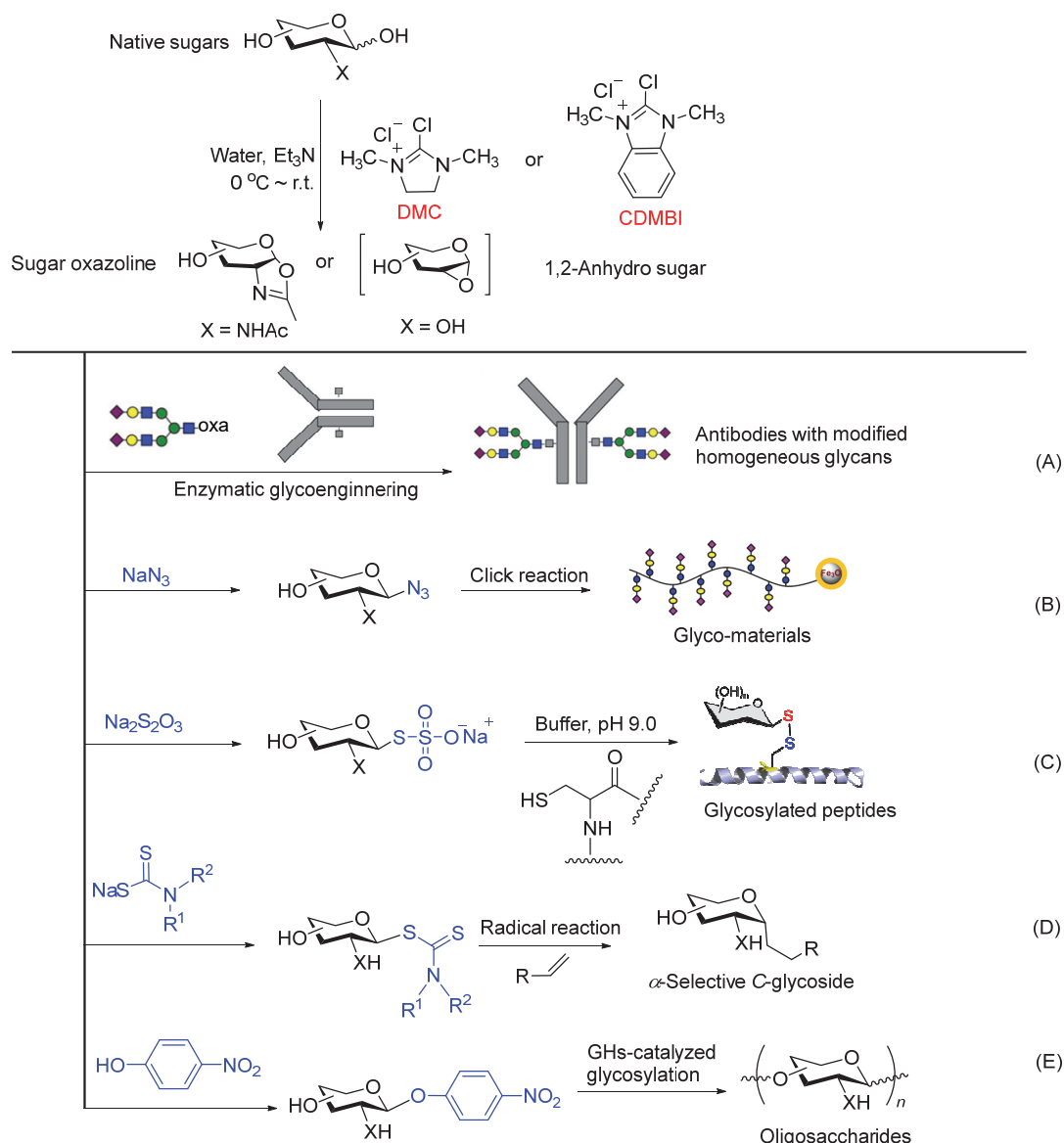


图式 6 水溶液中的两步缩合过程

Scheme 6 Concept of dehydrative process in water

被命名为正田试剂(Shoda's reagent)^[38]。需要指出的是,该方法对结构复杂的分支寡糖同样具有很好的反应效果,可与水相酶促糖基化反应和其他化学反应配合使用,在蛋白、多肽等生物大分子的位点选择性糖基化修饰方面具有很高的应用价值^[39]。2012年, Wang 课题组^[40]通过定点突变技术制备了两种可以高效催化糖噁唑啉底物的糖合成酶(EndoS-D233A 和 D233Q),成功地实现了治疗性单克隆抗体利妥昔单抗 Fc 段的均一性糖基化修饰(Scheme 7A),该方法为深入研究翻译后修饰,尤其是糖基化修饰,对抗体活性的影响提供了标准物质。通过在 DMC 活化反应中加入叠氮化钠,可以在糖的还原末端直接引入叠氮基团^[41],结合后续点击反应,我们课题组^[42]制备了一种用于流感病毒高效捕捉、分离的糖基微珠材料(Scheme 7B)。2018年, Shoda 小组^[43]通过加入

硫代硫酸钠制备了一种新的糖类衍生物糖基 Bunte 盐,该化合物在水溶液中与硫化钠反应可以得到高反应性的糖基硫负中间体(Sugar-S⁻),进而通过“Thiol-ene”偶联反应得到一系列的硫苷化合物^[44]。基于糖基 Bunte 盐,我们课题组^[45]发展了一种多肽结构中半胱氨酸位点选择性糖基化修饰的策略,通过在 pH 9.0 的缓冲溶液中简单混合,就可以高效获得以二硫键偶联的糖肽产物(Scheme 7C)。N-取代的二硫代氨基甲酸酯是一种高分子活性聚合中常用的链转移剂。通过 DMC 介导的端基活化反应, Shoda 小组^[46]制备了一系列糖基二硫代甲酸酯衍生物;随后通过偶氮类引发剂催化的自由基反应,可以获得异头碳自由基中间体,进而经由自由基偶联机理,可以在无保护条件下制备出 α -选择性的碳苷衍生物(Scheme 7D)^[47-48]。由于对硝基苯酚(pNP)具有特征紫外



图式 7 正田试剂在糖链还原末端直接活化方面的应用

Scheme 7 Applications of Shoda's reagent in direct anomeric activation

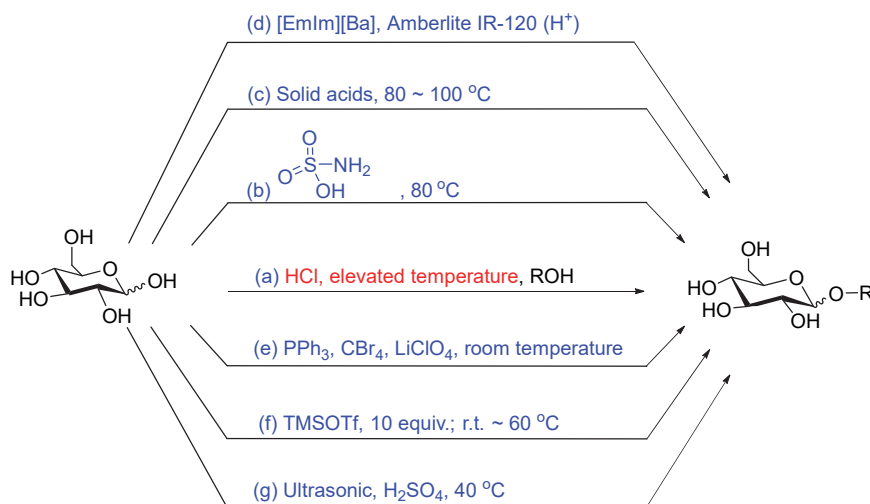
吸收, *p*NP-糖在水解酶促糖基化反应和酶反应动力学研究中发挥着重要的作用^[49]. 利用 DMC 反应, Fairbanks 小组^[50]成功地实现了水溶液中无保护条件下 *p*NP-糖的直接合成, 大大简化了该糖基化底物制备的过程化学 (Scheme 7E).

5 基于 Fischer 方法的无保护糖基化反应

Emil Fischer 作为糖化学的鼻祖, 早在 1893 年就发现糖的半缩醛结构可以在盐酸和高温的条件下与甲醇反应变成缩醛结构, 这种酸催化的无离去基参与的糖基化反应也被称为 Fischer 糖基化 (Scheme 8a). 虽然从当下的视角来看, Fischer 糖基化存在很多问题, 例如强酸和高温反应条件会带来很多副反应, 得到的糖苷产物没

有立体选择性等, 但是, 作为最简单的糖基化方法, Fischer 法在制备简单的烷基糖苷方面依然被广泛使用. 最近, 化学家们通过引入新的反应条件和使用新的催化体系, 大幅改善了 Fischer 糖基化的反应条件, 同时扩大底物适用范围.

Misra 等^[51]采用更加温和的氨基磺酸代替盐酸在醇溶液中直接制备烷基糖苷 (Scheme 8b), 相较于其他常见的有机酸催化剂 (例如三氟化硼乙醚、酸性树脂、三氟甲磺酸等), 氨基磺酸催化的 Fischer 糖基化可以获得更高的产率和一定的 α -选择性. Liu 课题组^[52]采用磺酸化处理的生物质碳材料作为固体酸催化 Fischer 糖基化, 在 10 equiv. 丙烯醇受体存在的条件下, 产生了 80% 的丙烯基葡萄糖氧苷; 同时该固体催化剂可重复使用, 在循



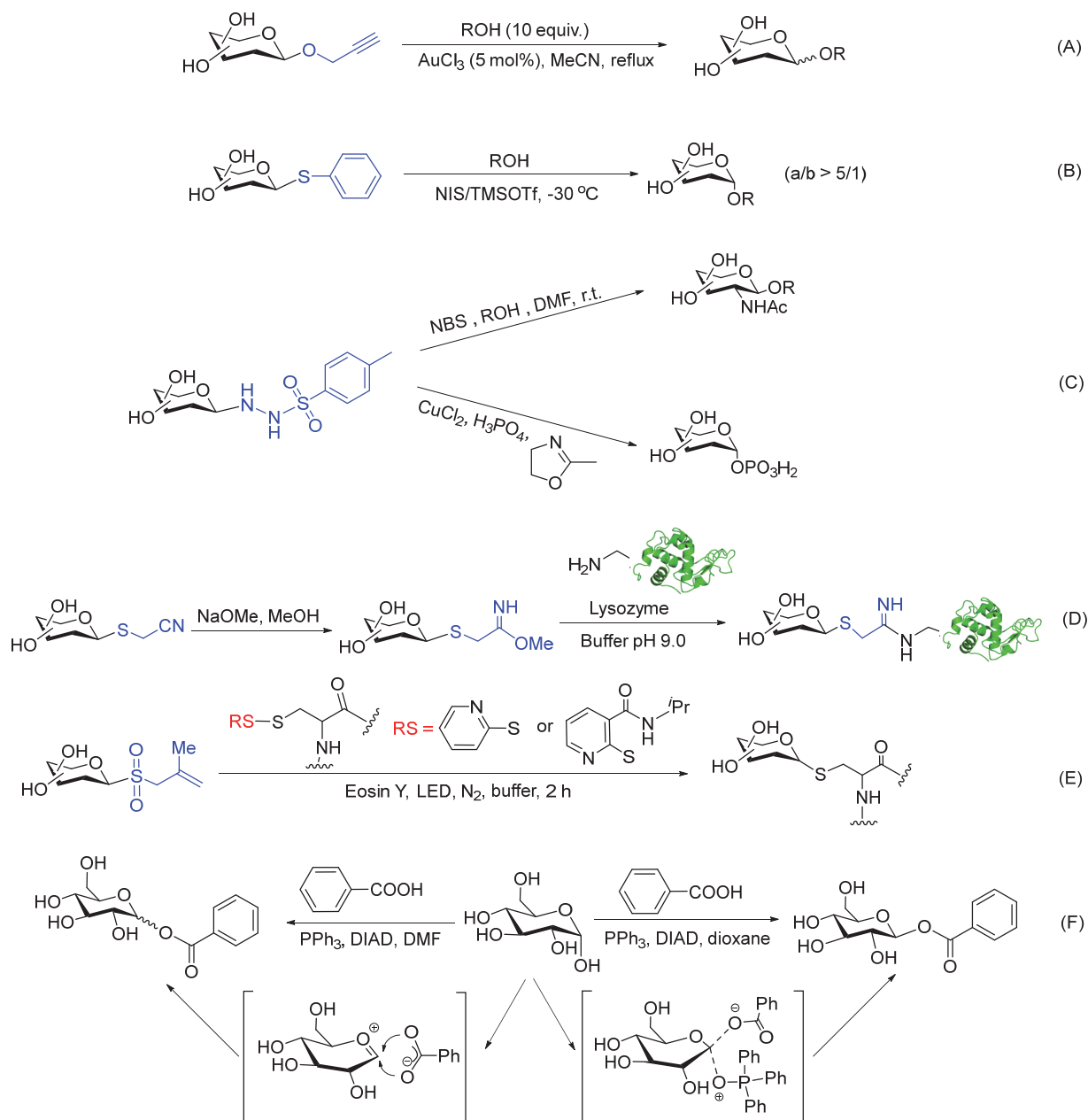
图式 8 Fischer 糖基化反应的研究进展
Scheme 8 Current progress in Fischer glycosylation

环催化 7 次以后, 催化效能依然可以保持在 90% 左右. 虽然该方法得到的糖苷没有立体选择性, 但对于简单烷基糖苷的大量制备依然具有很高的经济性和环境友好性(Scheme 8c). Linhardt 小组^[53]采用离子液体代替传统溶剂用于酸性树脂催化下的 Fischer 糖基化, 实现了室温条件下的烷基糖苷制备(Scheme 8d). 类似的室温糖基化反应也可以在三苯基膦-四溴化碳-高氯酸锂的活化条件下获得(Scheme 8e)^[54]. 三甲基氯硅烷也可以同时作为酸性催化剂和脱水缩合剂, 为 Fischer 糖基化提供温和的条件(Scheme 8f)^[55]. 除了改变催化体系之外, Nicotra 小组^[56]发现在二氧化硅负载硫酸催化的醇解反应中, 增加超声辅助操作可以大幅降低反应温度, 同时保持较高的转化率(Scheme 8g). 虽然这些改进的 Fischer 反应都无法有效控制糖苷键的立体选择性, 但也为简单烷基糖苷的实验室合成及工业制备提供了可选择的途径.

6 其他类型的无保护糖基化反应

除了上述介绍的无保护糖基化反应之外, 近些年一些特殊离去基团也被开发出来, 并成功应用于无保护糖基化反应. Finn 课题组^[57]利用三价金催化炔丙基活化的糖基供体, 可以在乙腈回流的条件下得到各种类型的糖苷化合物(Scheme 9A). Baker 小组^[58]使用苯硫苷作为糖基供体, 在 *N*-碘代丁二酰亚胺/三氟甲磺酸三甲基硅酯(NIS/TMSOTf)的活化条件下开展无保护的糖基化反应, 得到了一系列的烷基糖苷化合物, 且具有较高的 α -选择性(Scheme 9B). Nitz 及其合作者利用对甲苯磺酰肼作为离去基团, 在温和的 *N*-溴代丁二酰亚胺(NBS)活化下制备了一系列 β -选择性的烷基糖苷, 其中在反应过程中加

入四丁基氯化铵可以生成氯代糖中间体, 一定程度上提高了 β -选择性. 其后, 该课题组利用同一糖基供体, 在氯化铜/2-甲基-2-噁唑啉的活化条件下, 以 90% 的收率得到了 α -选择性的糖基磷酸酯产物(Scheme 9C)^[59-61]. 需要指出的是, 该糖基化方法中所使用的 β -对甲苯磺酰肼糖基供体可以在无保护水相条件下直接制备, 且对于多种糖型都有超过 80% 的分离收率. 2016 年, Fairbanks 小组^[62]利用胍甲基硫苷供体, 在甲醇钠的作用下生成 2-亚氨基-2-甲氧基乙硫苷衍生物, 它可以直接与蛋清溶菌酶表面的赖氨酸残基反应, 进而实现了无保护水相条件下氨基酸位点选择性的糖基化修饰(Scheme 9D). 在多肽的化学糖基化反应研究中, 2021 年 Niu 课题组^[63]也发展了一种新的烯丙基糖基砜供体, 可以在温和的光照条件下与肽链上的半胱氨酸位点进行选择性偶联, 进而得到 α -糖基化修饰的糖肽产物(Scheme 9E). 机理研究表明该反应的中间体是糖自由基而非通常的氧鎓离子中间体, 因此可以在温和的水相无保护条件下进行. 需要指出的是该方法要对肽链上的巯基进行预活化处理, 生成吡啶二硫键才能与糖基砜反应. 2020 年, Kawabata 课题组^[64]采用三苯基膦、偶氮二甲酸二异丙酯(DIAD)诱导的 Mitsunobu 反应实现了无保护葡萄糖与苯甲酸的缩合, 并通过溶剂的选择对糖基化的立体选择性进行控制. 当以二氧六环作为溶剂时, 可以得到 β -选择性的产物; 而以 *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)作溶剂时, 生成了 α/β -混合物(Scheme 9F). 由于糖分子结构的多样性, 目前还没有一种通用的糖基化策略, 因此这些新的离去基团和活化条件无疑拓展了无保护糖基化反应的适用范围.



图式9 其他类型的无保护糖基化反应
Scheme 9 Other protecting-group free glycosylation reactions

7 总结与展望

糖类多羟基的结构特点既是其发挥众多生物活性的结构基础, 又给糖化学带来了诸多挑战. 从某种意义上讲, 水溶液、无保护的反应条件才是最适合糖分子的反应条件, 也是糖化学追求的终极目标. 大自然是一位很好的老师, 在糖基转移酶与糖苷水解酶的配合下, 生物体用最温和的条件实现了无数复杂寡糖与糖复合物的组装. 模仿酶催化的反应过程, 化学家们开发出了金属离子螯合的糖基化方法, 实现了水溶液中糖苷键的选择性构筑. 虽然目前底物的适用范围十分有限, 但它证

明了仿酶策略的可能性, 也给未来的糖基化方法提供了新的研究思路. 为了提高无保护条件下受体氧原子的亲核性, 化学家们开发出了硼酸诱导的糖基化反应, 利用硼酸酯的四配位中间体结构, 将分子间的亲核取代反应变成分子内的加成反应, 同时利用糖基供体-硼酸-糖基受体复合物的位阻效应, 促使反应朝着设定方向进行. 为了简化化学-酶法的糖单元组装, 从绿色糖过程化学的角度出发, 化学家们利用脱水缩合剂把困难的分子间脱水缩合反应, 拆分为能垒更低的分子内脱水缩合与分子间加成, 最终实现了糖还原末端的直接化学修饰和糖基供体的一步水相合成, 这也使得整个糖工程实现了闭

环,从天然多糖原料的降解,到糖单元的活化,再到糖基供体的组装,整个过程都可以在无保护、水溶液中进行(图2)。基于温和的偶联条件,上述方法也被用于蛋白或多肽的位点选择性糖基化修饰,可以为蛋白质的翻译后修饰研究提供结构均一的标准物质,必将有效促进糖化生物学的发展。

尽管无保护糖基化反应有许多优势,但在具体实验中也存在很多固有的问题有待解决。例如受限于糖的溶解性,无法制备出聚糖结构。由于糖分子间较强的氢键作用,当糖链聚合度增加到一定数值后,就会在水溶液中通过自组装结晶析出,导致糖基化反应终止。目前,通过保护基参与的有机相糖基化反应最大可以合成出聚合度为 1080 的聚糖结构^[65],这种大糖显然不可能通过水相无保护糖基化进行合成。另外,无保护糖苷产物的分离纯化也十分困难。大量羟基的存在使得糖基化产物在硅胶柱中拖尾严重,同时也很难对 α/β -异构体进行有效分离。通常情况下,无保护寡糖及糖复合物的分离纯化都需要借助高效液相色谱和特殊的色谱柱(例如 Amide 系列氨基修饰的正相填料色谱柱)才能实现。

展望未来,我们设想无保护糖化学的发展可以有三

个方向值得期待:一是生物正交的糖化学。无论是基于目前的糖代谢修饰策略还是开发新的细胞、病毒层面的细胞器靶向糖基化修饰方法,都将为糖类物质的功能和作用机制研究提供有效的化学工具。二是非天然糖分子的化学-酶法组装。越来越多的研究表明化学修饰有可以大幅改变天然糖分子的固有性质,例如免疫原性、生物识别等特性,但是糖合成酶往往对底物有很高的特异性,简单的化学修饰都可能大幅降低酶促反应效率,因此底物适用范围更广的水解酶促转糖苷反应和与之匹配的糖基受体直接活化策略,将在非天然型生物寡糖和糖复合物的制备中发挥重要作用。三是糖类药物、疫苗的工业化技术路线开发。受现有糖化学合成成本高、环境污染、原子经济性差的制约,目前糖类产品的商业化制备往往采用生物发酵的方式,但随着糖分子结构复杂程度的增加,生物发酵的成本和难度会大幅度提高,而通过化学途径合成结构均一的复杂大糖会凸显其优势。因此,开发先进的无保护糖基化反应,不仅可以为复杂糖类的规模化制备提供技术储备,也将为绿色化学和糖科学的可持续发展提供更多的选择。

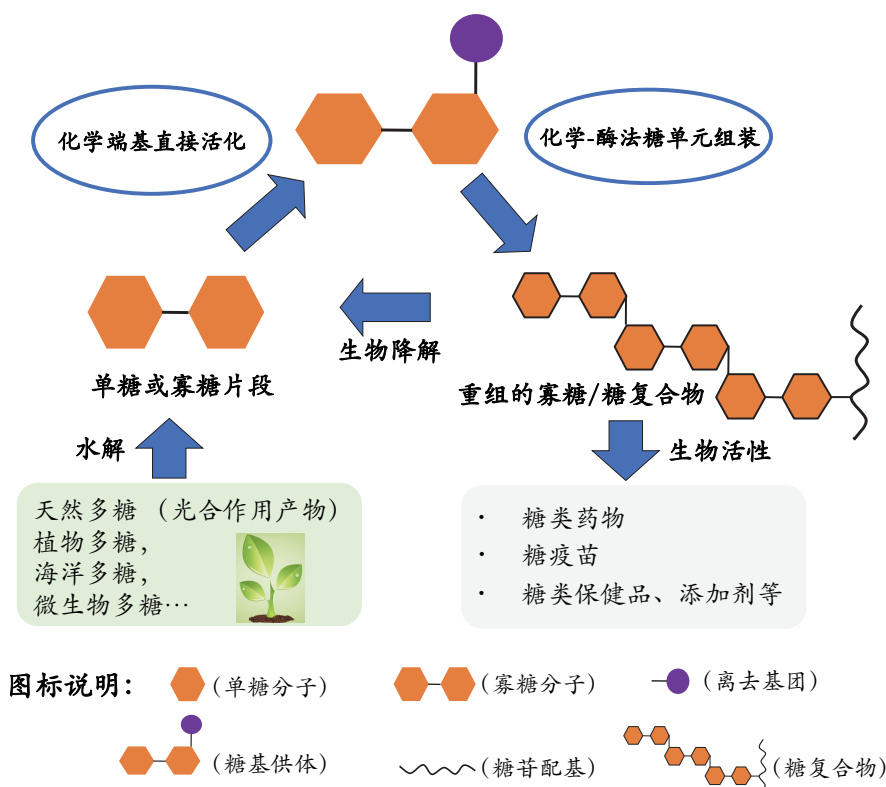


图2 基于无保护-水相糖化学循环理念的生物活性糖分子制备

Figure 2 Production of bioactive carbohydrates based on the concept of "Glyco-chemistry Cycle System"

References

- [1] Clausen, T. M.; Sandoval, D. R.; Spliid, C. B.; Pihl, J.; Perrett, H. R.; Painter, C. D.; Narayanan, A.; Majowicz, S. A.; Kwong, E. M.;

- McVicar, R. N.; Thacker, B. E.; Glass, C. A.; Yang, Z.; Torres, J. L.; Golden, G. J.; Bartels, P. L.; Porell, R. N.; Garretson, A. F.; Laubach, L.; Feldman, J.; Yin, X.; Pu, Y.; Hauser, B. M.; Caradonna, T. M.; Kellman, B. P.; Martino, C.; Gordts, P.; Chanda,

- S. K.; Schmidt, A. G.; Godula, K.; Leibel, S. L.; Jose, J.; Corbett, K. D.; Ward, A. B.; Carlin, A. F.; Esko, J. D. *Cell* **2020**, *183*, 1043.
- [2] Moradi, S. V.; Hussein, W. M.; Varamini, P.; Simerska, P.; Toth, I. *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 2492.
- [3] Qin, X.; Ye, X.-S. *Chin. J. Chem.* **2021**, *39*, 531.
- [4] Yu, B. *Acc. Chem. Res.* **2018**, *51*, 507.
- [5] Guo, J.; Ye, X.-S. *Molecules* **2010**, *15*, 7235.
- [6] Villadsen, K.; Martos-Maldonado, M. C.; Jensen, K. J.; Thygesen, M. B. *ChemBioChem* **2017**, *18*, 574.
- [7] Bojarova, P.; Rosencrantz, R. R.; Elling, L.; Kren, V. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4774.
- [8] Mukaiyama, T.; Murai, Y.; Shoda, S. *Chem. Lett.* **1981**, *10*, 431.
- [9] Nicolaou, K. C.; Dolle, R. E.; Papahatjis, D. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4189.
- [10] Nicolaou, K. C.; Caulfield, T. J.; Kataoka, H.; Stylianides, N. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3693.
- [11] Kobayashi, S.; Kashiwa, K.; Kawasaki, T.; Shoda, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3079.
- [12] Banait, N. S.; Jencks, W. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7951.
- [13] Banait, N. S.; Jencks, W. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7958.
- [14] Pelletier, G.; Zwicker, A.; Allen, C. L.; Schepartz, A.; Miller, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 3175.
- [15] Wadzinski, T. J.; Steinauer, A.; Hie, L.; Pelletier, G.; Schepartz, A.; Miller, S. J. *Nat. Chem.* **2018**, *10*, 644.
- [16] Wen, P.; Jia, P.; Fan, Q.; McCarty, B. J.; Tang, W. *ChemSusChem* **2022**, *15*, e202102483.
- [17] Zhang, G. L.; Gadi, M. R.; Cui, X.; Liu, D.; Zhang, J.; Saikam, V.; Gibbons, C.; Wang, P. G.; Li, L. *Green Chem.* **2021**, *23*, 2907.
- [18] Takahashi, D.; Tanaka, M.; Toshima, K. *Trends Glycosci. Glyc.* **2018**, *30*, E55.
- [19] Oshima, K.; Kitazono, E.-i.; Aoyama, Y. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5001.
- [20] Oshima, K.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2315.
- [21] Gouliaras, C.; Lee, D.; Chan, L.; Taylor, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13926.
- [22] Nakagawa, A.; Tanaka, M.; Hanamura, S.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, *54*, 10935.
- [23] Tanaka, M.; Nakagawa, A.; Nishi, N.; Iijima, K.; Sawa, R.; Takahashi, D.; Toshima, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 3644.
- [24] Tanaka, M.; Nashida, J.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 2288.
- [25] Shoda, S.; Uyama, H.; Kadokawa, J.; Kimura, S.; Kobayashi, S. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 2307.
- [26] Shoda, S. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* **2017**, *93*, 125.
- [27] Tanaka, T.; Noguchi, M.; Kobayashi, A.; Shoda, S. *Chem. Comm.* **2008**, *17*, 2016.
- [28] Kobayashi, A.; Tanaka, T.; Watanabe, K.; Ishihara, M.; Noguchi, M.; Okada, H.; Morikawa, Y.; Shoda, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3588.
- [29] Tanaka, T.; Noguchi, M.; Watanabe, K.; Misawa, T.; Ishihara, M.; Kobayashi, A.; Shoda, S. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 5126.
- [30] Noguchi, M.; Nakamura, M.; Ohno, A.; Tanaka, T.; Kobayashi, A.; Ishihara, M.; Fujita, M.; Tsuchida, A.; Mizuno, M.; Shoda, S. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5560.
- [31] Tanaka, T.; Matsuura, A.; Aso, Y.; Ohara, H. *J. Appl. Glycosci.* **2020**, *67*, 119.
- [32] Fujimoto, Y.; Mitsunobe, K.; Fujiwara, S.; Mori, M.; Hashimoto, M.; Suda, Y.; Kusumoto, S.; Fukase, K. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 5034.
- [33] Tanaka, T.; Kikuta, N.; Kimura, Y.; Shoda, S. *Chem. Lett.* **2015**, *44*, 846.
- [34] Ishihara, M.; Takagi, Y.; Li, G.; Noguchi, M.; Shoda, S. *Chem. Lett.* **2013**, *42*, 1235.
- [35] Li, G.; Luo, Y.; Mo, J.; Noguchi, M.; Jing, J.; Luo, Z.; Shoda, S.; Ye, X.-S. *Chin. Chem. Lett.* **2023**, *34*, 107754.
- [36] Noguchi, M.; Tanaka, T.; Gyakushi, H.; Kobayashi, A.; Shoda, S. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2210.
- [37] Li, G.; Noguchi, M.; Serizawa, K.; Shoda, S. *Chimia* **2018**, *72*, 874.
- [38] Fairbanks, A. J. *Carbohydr. Res.* **2021**, *499*, 108197.
- [39] Li, C.; Wang, L.-X. *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 8359.
- [40] Huang, W.; Giddens, J.; Fan, S. Q.; Toonstra, C.; Wang, L.-X. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 12308.
- [41] Tanaka, T.; Nagai, H.; Noguchi, M.; Kobayashi, A.; Shoda, S. *Chem. Commun.* **2009**, *45*, 3378.
- [42] Li, G.; Ma, W.; Mo, J.; Cheng, B.; Shoda, S.; Zhou, D.; Ye, X.-S. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2021**, *13*, 46260.
- [43] Meguro, Y.; Noguchi, M.; Li, G.; Shoda, S. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 76.
- [44] Meguro, Y.; Noguchi, M.; Li, G.; Shoda, S. *Tetrahedron Lett.* **2020**, *61*, 152198.
- [45] Li, G.; Dao, Y.; Mo, J.; Dong, S.; Shoda, S.; Ye, X.-S. *CCS Chem.* **2022**, *4*, 1930.
- [46] Li, G.; Noguchi, M.; Kashiwagura, H.; Tanaka, Y.; Serizawa, K.; Shoda, S. *Tetrahedron Lett.* **2016**, *57*, 3529.
- [47] Li, G.; Noguchi, M.; Nakamura, K.; Hayasaka, R.; Tanaka, Y.; Shoda, S. *Tetrahedron Lett.* **2018**, *59*, 3428.
- [48] Li, G.; Noguchi, M.; Arisaka, G.; Tanaka, Y.; Shoda, S. *Org. Biomol. Chem.* **2021**, *19*, 3134.
- [49] Sinnott, M. L. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 1171.
- [50] Qiu, X.; Fairbanks, A. J. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 7355.
- [51] Guchhait, G.; Misra, A. K. *Catal. Comm.* **2011**, *14*, 52.
- [52] Gorityala, B. K.; Ma, J.; Pasunooti, K. K.; Cai, S.; Liu, X. *Green Chem.* **2011**, *13*, 573.
- [53] Javier Muñoz, F.; André, S.; Gabius, H.-J.; Sinisterra, J. V.; Hernáiz, M. J.; Linhardt, R. J. *Green Chem.* **2009**, *11*, 373.
- [54] Schmanlisch, S.; Mahrwald, R. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 5854.
- [55] Izumi, M.; Fukase, K.; Kusumoto, S. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66*, 211.
- [56] Shaikh, N.; Russo, L.; Cipolla, L.; Nicotra, F. *Mol. Diversity* **2011**, *15*, 341.
- [57] Mamidyala, S. K.; Finn, M. G. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8417.
- [58] Meng, B.; Zhu, Z.; Baker, D. C. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 5182.
- [59] Gudmundsdottir, A. V.; Nitz, M. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3461.
- [60] Williams, R. J.; Paul, C. E.; Nitz, M. *Carbohydr. Res.* **2014**, *386*, 73.
- [61] Edgar, L. J. G.; Dasgupta, S.; Nitz, M. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4226.
- [62] Alexander, S. R.; Fairbanks, A. J. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 6679.
- [63] Wan, L.; Zhang, X.; Zou, Y.; Shi, R.; Cao, J.; Xu, S.; Deng, L.; Zhou, L.; Gong, Y.; Shu, X.; Lee, G.-Y.; Ren, H.; Dai, L.; Qi, S.; Houk, K.-N.; Niu, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 11919.
- [64] Takeuchi, H.; Fujimori, Y.; Uedda, Y.; Shibayama, H.; Nagaishi, M.; Yoshimura, T.; Sasamori, T.; Tokitoh, N.; Furuta, T.; Kawabata, T. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 4754.
- [65] Yao, W.; Xiong, D.-C.; Yang, Y.; Geng, C.; Cong, Z.; Li, F.; Li, B.-H.; Qin, X.; Wang, L.-N.; Xue, W.-Y.; Yu, N.; Zhang, H.; Wu, X.; Liu, M.; Ye, X.-S. *Nat. Synth.* **2020**, *854*.

(Lu, Y.)