



连接与功能——2022年度诺贝尔化学奖解读

高兵

湖南大学化学化工学院, 化学生物传感与计量学国家重点实验室, 长沙 410082

E-mail: gaobing@hnu.edu.cn

2022年度诺贝尔化学奖于10月5日被授予三位科学家, 分别是美国斯坦福大学的Carolyn Ruth Bertozzi教授、丹麦哥本哈根大学的Morten Meldal教授以及美国斯克里普斯研究所的Karl Barry Sharpless教授。获奖理由是对发展点击化学(click chemistry)和生物正交化学(biorthogonal chemistry)的突出贡献。此次颁奖并没有让学界同仁感到意外, 因为早在几年前Clarivate公司就基于论文和引用数据预测该领域有望获奖。值得一提的是, 这是Sharpless教授二度折桂, 成为历史上第5位两次获得诺贝尔奖的学者。他曾凭借不对称氧化领域的开创性工作与另外两位化学家分享2001年的诺贝尔化学奖。本文将对此次诺贝尔化学奖的研究领域进行解读。

原子通过化学键有序连接形成分子, 分子则通常是产生功能的基本单元。人类借助燃烧过程获取能量和发展工业, 利用药物与材料治疗疾病和改善生活, 无不是以分子功能为基础。自化学科学诞生之日起, 以功能为导向的分子合成便是一个永恒主题。然而操控化学键断裂与形成并非易事, 化学家要面临官能团之间相互干扰、立体化学难调控、副反应多、纯化困难等系列挑战。虽然持续发现和发展的新方法能解决部分问题, 但合成效率和分子多样性远不能满足快速增长的需求。例如, 现代药物研发常基于海量分子库筛选, 高通量筛选平台每天可完成数千个分子测试, 但一位有经验的合成人员每天能合成的分子通常不超过5个。20世纪90年代, 组合化学技术曾让学界欢欣鼓舞^[1]。基于特定反应在一个容器中让不同砌块自由组合构建系列混合物, 随后直接进行高通量筛选。该方法有助于提升获取分子库的时间效率, 但是并没有在分子连接科学层面创新, 也很难应用到复杂体系。

基于上述背景, 合成化学急需打破传统范式, 发展新的策略和方法。2001年, Sharpless教授撰文提出点击化学的概念^[2]。他认为分子合成应该是模块化的(modular), 借助标准“接口”统一组装。反应过程必须简单高效, 具备化学和立体专一性, 条件温和且无副产物, 形象地将其比喻为安全带扣和插槽特异性地“click”在一起。显然, 符合以上严苛甄选条件的反应少之又少, 不过仅依靠少数几个近乎完美的反应足以产生巨大变革。生命体内的蛋白和核酸等大分子正是借助一种稳定可靠的杂原子键(酰胺或磷脂)将数量有限的模块有序拼接, 创造了复杂化学结构和丰富的功能。



高兵 湖南大学化学化工学院教授, 化学生物传感与计量学国家重点实验室成员。2015~2019年在Sharpless教授课题组从事博士后研究。研究方向为疏手性的合成与转化。

诺贝尔化学奖委员会特别指出引领性“概念”的重要价值, 点击化学是典型的概念先于发现、概念驱动发现的例子。Sharpless教授2001年的文章强调具有高动力学能垒和巨大热力学驱动力的环加成反应是理想的点击化学工具, 其中包括叠氮与炔的[3+2]环化反应, 但是该反应在当时并非如此完美^[2]。早在1960年, Rolf Huisgen教授就系统研究过该类反应, 非张力体系的环加成需要较高温度才能进行, 产物是顺反异构体(图1(a))^[3,4]。2002年, Sharpless课题组^[5]报道了该反应的升级版, 铜催化的叠氮-炔环加成反应(copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition, CuAAC, 图1(c)), 在温和条件下实现快速连接且定量得到单一构型产物。无独有偶, Meldal教授几乎在同时间段发现了铜离子对该环化反应的催化效果^[6]。细心查阅原始文献的读者会发现一些细节差别: Sharpless教授的体系融汇了点击化学思想, 尽量将反应做到简单实用(水做溶剂、抗坏血酸钠做还原剂), Meldal教授的体系则更多体现多肽合成的研究思路。

在CuAAC反应中, 叠氮和炔就是点击化学的标准“接口”, 它们与几乎全部常见特征官能团都兼容且互不反应; 只有铜催化剂出现时, 会精准找到彼此快速结合形成化学惰性的三氮唑骨架。科学的底层逻辑和思想常有相通之处。以CuAAC为代表的点击化学其实本身就蕴含另一个概念——正交反应性。两个接口只特异性识别彼此并形成连接, 与体系内部和环境中的其他基团或者化学过程兼容且互不干扰。若将连接场景从玻璃瓶搬到细胞、组织、甚至生物活体, 实则就是

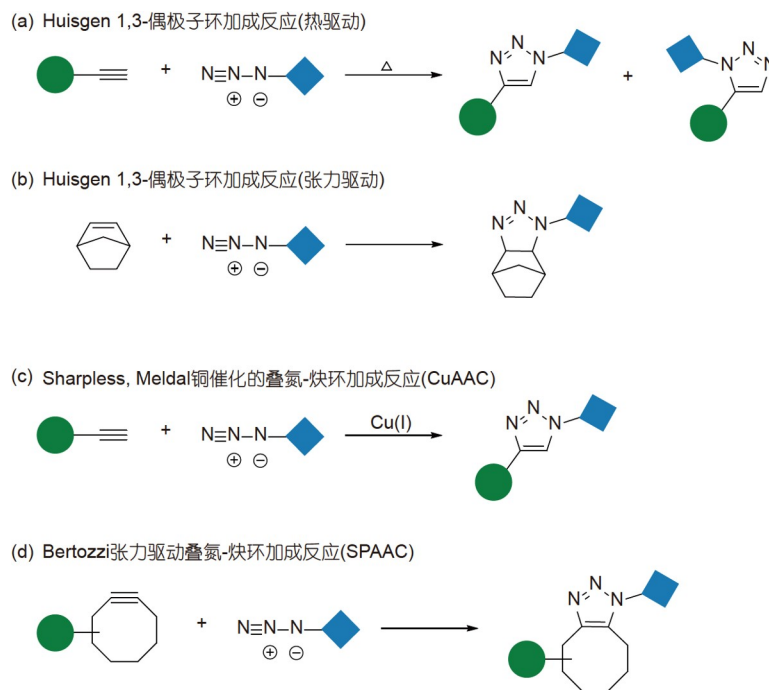


图1 (网络版彩色)叠氮-炔环加成反应的发展脉络

Figure 1 (Color online) Development of azide alkyne cycloaddition reaction

“生物正交化学”概念，只不过后者的发展平行于点击化学时间线，由Bertozzi教授独立提出。

在20世纪90年代中期，用化学理论和工具阐释、干预、调控生命过程的化学生物学研究兴起，是化学与生物两个学科的深度融合。Bertozzi教授致力于研究糖的生物学分布和功能并加以利用。为了实现糖的可视化示踪，他需要借助分子接口标记糖分子。早期研究发现一些非天然糖依然可以被细胞吸收并在细胞膜表面表达^[7]，这意味着某些化学接口可以被提前植入。基于此他们首次借助酮与肼的缩合反应实现生物正交化学过程^[8]，但是该连接需要在弱酸性条件进行，与生理环境不一致。为解决这一问题，他们随后借助膦介导叠氮的Staudinger偶联反应在生理条件下将荧光标签连接到糖上^[9]。不过该连接化学依然有缺陷，主要问题是反应速率较慢。

时间跨过2002年，点击化学和CuAAC反应被学术界广泛接受和使用。如前所述，类通的正交属性必然导致点击化学与生物正交化学融合。考虑到铜离子的细胞毒性不适合直接用于细胞标记，需对CuAAC反应进行调整。在这里要再次提到为1,3-偶极环加成反应做出重要贡献的Huisgen教授。他在前人工作的基础上系统研究了叠氮化合物与张力烯烃的成环反应，提出张力驱动的协同成环机理(图1(b))^[4]。毫无疑问，Bertozzi教授受到该工作的启发，发展了无需铜催化的环张力驱动的叠氮-炔环加成反应(strain promoted alkyne-azide cycloaddition, SPAAC, 图1(d))^[10]，并用于活体斑马鱼聚糖示踪

(图2)^[11]。后来，CuAAC反应的细胞毒性问题借助配体调控得到解决，也可被用于活细胞标记^[12]。

在以上研究过程中，Bertozzi教授提出生物正交化学概念，作为面向细胞与活体的化学连接工具开发指南^[13]。生物正交化学独特的应用场景也对连接反应提出新的要求，比如必须在生理条件下以极低浓度进行(pH 7.4，水相，微摩尔级浓度，大多数有机反应会在这种条件下失效)。SPAAC和CuAAC在活细胞上的成功应用展示了这类连接方法的可靠性。

经过20年发展，点击化学因其强大的连接能力和可预测的反应特点，使用范围迅速外延至材料、医药、生物、能源等领域，并发挥不可替代的作用。已上市用于治疗三阴性乳腺癌的药物戈沙妥珠单抗(Sacituzumab Govitecan)的关键分子连接单元正是基于CuAAC点击化学的三氮唑骨架。另外，科学家还在不断发现或发展新的反应类型以充实点击化学工具箱，而点击化学概念的边界也逐渐被拓展。2014年，Sharpless教授报道了六价硫氟交换反应(SuFEx)^[14]，称其为第二代点击化学。SuFEx的连接效率和正交反应属性不及CuAAC，但其基于自然界最广泛存在基团(胺、醇、酚类)的可控连接在创造分子多样性上有无可比拟的优势，类似于插槽确定但卡扣不止一种；因此是一种更具探索意义的广义点击化学理念，与化学生物学等多学科的交叉融合尤其值得期待。

另一方面，生物正交化学并不局限于糖化学研究，而是

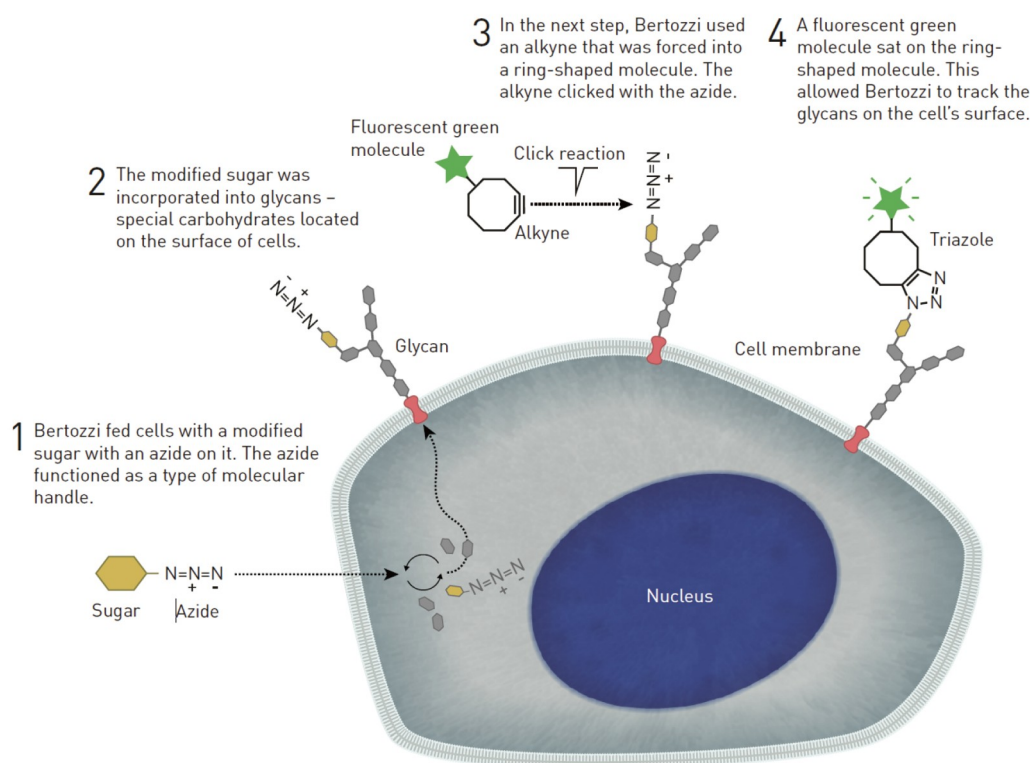


图 2 (网络版彩色) SPAAC 反应生物正交化学细胞应用示例(<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2022/press-release/>)

Figure 2 (Color online) Examples of application on SPAAC reaction bioorthogonal chemical cells (<https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2022/press-release/>)

全面引领化学生物学学科发展的重要方向。针对研究蛋白、核酸、脂质等生物分子的正交化学工具开发和使用如火如荼,代表性化学有逆电子需求的Diels-Alder反应和光诱导生物正交化学^[15,16]。包括Bertozzi教授自己创办的药物公司在内,众多生物技术公司正在积极将生物正交化学应用于药物研发。例如,近期基于醛与羟胺偶联的SMARTag技术平台在开发抗肿瘤药物方面展现出巨大潜力^[17]。与此同时还激发了一些新概念,如生物正交剪切化学反其道而行,通过生物正交反应打破化学键进而释放药物或者激活蛋白^[18]。其他生物正交化学应用包括但不限于蛋白组学、活体成像、药物递送等。

诺贝尔化学奖官方公告特别强调Sharpless教授和Meldal

教授的研究“将化学带入功能主义时代”,而Bertozzi教授的研究“将点击化学推向新维度并应用于细胞”。点击化学和生物正交化学是在化学学科发展面临新挑战(合成的效率问题)和新机遇(化学生物学的兴起)的时代背景下的一次自我革新和进化。寻找简单有效的化学连接工具服务于复杂系统被赋予特殊意义和价值,完美注释“合成的目的是创造功能,而非合成本身”。点击化学和生物正交化学工具的发展过程也具有启发性,提醒化学家创新并非一味求新,或许改变角度审视和挖掘旧反应的新内涵也能推陈出新。最后,任何一类化学都不是万能的,我们依然需要多元的概念和丰富的化学解决不同问题;随着新技术和新需求的不断涌现,化学家唯有继续保持开放的心态积极融合与调整,方能更好服务人类、探索未知。

推荐阅读文献

- 1 Fassina G, Miertus S. Combinatorial Chemistry and Technologies: Methods and Applications. 2nd Ed. New York: CRC Press, 2005
- 2 Kolb H C, Finn M G, Sharpless K B. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angew Chem Int Ed*, 2001, 40: 2004–2021
- 3 Huisgen R. 1,3-Dipolar cycloadditions. Past and future. *Angew Chem Int Ed*, 1963, 2: 565–598
- 4 Huisgen R. 1,3-Dipolar cycloadditions. *Proc Chem Soc*, 1961, 6: 357–396
- 5 Rostovtsev V V, Green L G, Fokin V V, et al. A stepwise huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and

- terminal alkynes. *Angew Chem Int Ed*, 2002, 41: 2596–2599
- 6 Tornøe C W, Christensen C, Meldal M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-Triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *J Org Chem*, 2002, 67: 3057–3064
 - 7 Kayser H, Zeitler R, Kannicht C, et al. Biosynthesis of a nonphysiological sialic acid in different rat organs, using *n*-propanoyl-*d*-hexosamines as precursors. *J Biol Chem*, 1992, 267: 16934–16938
 - 8 Mahal L K, Yarema K J, Bertozzi C R. Engineering chemical reactivity on cell surfaces through oligosaccharide biosynthesis. *Science*, 1997, 276: 1125–1128
 - 9 Saxon E, Bertozzi C R. Cell surface engineering by a modified Staudinger reaction. *Science*, 2000, 287: 2007–2010
 - 10 Agard N J, Prescher J A, Bertozzi C R. A strain-promoted [3 + 2] azide-alkyne cycloaddition for covalent modification of biomolecules in living systems. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 15046–15047
 - 11 Baskin J M, Prescher J A, Laughlin S T, et al. Copper-free click chemistry for dynamic *in vivo* imaging. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 16793–16797
 - 12 Soriano D A D, Wang W, Jiang H, et al. Biocompatible copper(I) catalysts for *in vivo* imaging of glycans. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 16893–16899
 - 13 Sletten E M, Bertozzi C R. Bioorthogonal chemistry: Fishing for selectivity in a sea of functionality. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 6974–6998
 - 14 Dong J, Krasnova L, Finn MG, et al. Sulfur(VI) fluoride exchange (SuFEx): Another good reaction for click chemistry. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 9430–9448
 - 15 Blackman M L, Royzen M, Fox J M. Tetrazine ligation: Fast bioconjugation based on inverse-electron-demand diels-alder reactivity. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 13518–13519
 - 16 Song W, Wang Y, Qu J, et al. A photoinducible 1,3-dipolar cycloaddition reaction for rapid, selective modification of tetrazole-containing proteins. *Angew Chem Int Ed*, 2008, 47: 2832–2835
 - 17 Carrico I S, Carlson B L, Bertozzi C R. Introducing genetically encoded aldehydes into proteins. *Nat Chem Bio*, 2007, 3: 321–322
 - 18 Li J, Yu J, Zhao J, et al. Palladium-triggered deprotection chemistry for protein activation in living cells. *Nat Chem*, 2014, 6: 352–361

Summary for “连接与功能——2022年度诺贝尔化学奖解读”

Making functional connections: A summary of the Nobel Prize in Chemistry 2022

Bing Gao

State Key Laboratory of Chemo/Bio-Sensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China

E-mail: gaobing@hnu.edu.cn

The Nobel Prize in Chemistry 2022 was awarded to three scientists for their work in the development of click chemistry and bioorthogonal chemistry: Carolyn R. Bertozzi from Stanford University, Morten Meldal from the University of Copenhagen, and K. Barry Sharpless from Scripps Research. Notably, this is the second time Sharpless was awarded this prize. In 2001, he received his first Nobel Prize for the development of catalytic asymmetric oxidation reactions. This year's prize, however, is in a completely different area, as will be summarized below.

For both click chemistry and bioorthogonal chemistry, their focus is on making easy connections between molecules and snapping them together. Although modern chemistry has experienced substantial development since its birth in the eighteenth century, dealing with complex molecules and systems remains a challenging and laborious process that requires skill and knowledge. Synthesis has become the bottleneck for the discovery of molecular functions. In 2001, Sharpless and co-workers coined the concept of click chemistry, by defining a set of stringent criteria so that few good reactions could be sorted out for making easy and modular connections: Molecules could be linked together simply like buckling up through a “click”. Later in 2002, Sharpless group published the first click-type reaction, namely the copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC). The reaction is silent without catalyst due to the high kinetic barrier, but become as fast as a “click” to generate triazoles in the presence of copper(I) with a strong thermodynamic driving force. Independently, Meldal made a similar discovery during the peptide synthesis. Over the years, CuAAC has proved itself to be a reliable tool for connecting chemical units of various forms together, nearly under any circumstances with high fidelity.

In the late 1990s, in Bertozzi's search for chemical tools for sugar labeling on the surface of living cell, she realized that the key for successful utilization of a chemical handle was the non-interfering nature of the involved reactions with the surrounding biological environments. She termed this kind of non-interfering reactivity as bioorthogonal chemistry. By metabolically incorporating unnatural sialic acids to the cell surface, including the azide derivatives, Bertozzi successfully used Staudinger reaction to attach imaging probes on the cell with amide connections. The iconic breakthrough took place in 2004 when click chemistry was merged with bioorthogonal chemistry for the first time. Bertozzi developed a stain-promoted azide-alkyne cycloaddition (SPAAC), which gave improved connection capability for bioorthogonal cell imaging without the need of a catalyst, nor any compromise on bioorthogonality.

The impact of click chemistry and bioorthogonal chemistry is tremendous and ever-growing. They have inspired the innovation of many connection tools, such as the inverse electron-demand Diels-Alder reaction, photoclick chemistry, and the sulfur(VI)-fluoride exchange (SuFEx) reaction. Apart from serving as tools for tracking and manipulating biomolecules and related events *in vivo*, they have also been used for material sciences and medicinal chemistry. For instance, sacituzumab govitecan is a Trop-2-directed antibody and topoisomerase inhibitor drug conjugate approved by the FDA for the treatment of metastatic triple-negative breast cancer and metastatic urothelial cancer. The key linkage is a CuAAC-derived 1,2,3-triazole. In short, there remain a lot of challenges in chemistry and the related fields to be addressed through diverse strategies and chemical approaches nowadays. The mission of chemistry is to bring the greatest benefit to mankind through continuous innovation and integration.

click chemistry, bioorthogonal chemistry, copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC), stain-promoted azide-alkyne cycloaddition (SPAAC)

doi: [10.1360/TB-2022-1201](https://doi.org/10.1360/TB-2022-1201)