聚糖的合成及其在糖疫苗研究中的应用

王咏诗, 叶新山*

北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191

*通讯作者, E-mail: xinshan@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2018-10-09; 接受日期: 2018-10-30; 网络版发表日期: 2018-11-05

国家科技重大专项课题(编号: 2017ZX09309025)和国家自然科学基金(编号: 21738001)资助项目

摘要 糖类在各种生命活动过程中发挥着重要的作用, 但聚糖的获得性问题和其相对较弱的免疫原性一直限制了糖化学生物学尤其是糖疫苗研究的发展. 近年来, 聚糖和糖复合物化学合成技术的进步很大程度上促进了糖疫苗(包括抗菌疫苗、抗肿瘤疫苗、抗HIV疫苗等)研究的兴盛. 其中, 寡糖一釜合成策略和固相合成策略大大提高了聚糖合成的效率; 聚糖与载体蛋白偶联的复合物也成功提高了糖抗原的免疫原性. 本文将结合本课题组的相关研究工作, 简述糖类化合物化学合成的方法和策略方面的研究进展及其在糖疫苗研究中的应用, 希望对更好地理解糖化学生物学特别是糖疫苗有所帮助.

关键词 聚糖, 糖基化, 一釜合成, 糖疫苗

1 引言

糖类是自然界三类生物大分子之一, 除作为生物体的能源物质和结构物质以外^[1], 还发挥着重要的生物学功能, 如维持蛋白结构、免疫应答、精卵识别、肿瘤转移^[2]. 糖类还可用作药物或药物分子的重要组成部分, 如氨基糖苷类抗生素、抗凝血药物肝素、糖结合疫苗^[3].

糖类化合物研究的难点之一在于其获得性问题. 糖类的生物合成不像核酸和蛋白质那样是由固定的模板驱动合成的, 而是通过细胞内各种糖链加工酶来控制合成的^[4]; 我们无法通过类似PCR或者基因表达的手段来获取聚糖类化合物. 而天然来源的糖类往往存在微观不均一性, 且多数种类含量低, 所以使用分离提取的手段也很难得到足量的结构均一的糖链. 化学

合成是解决糖类化合物获得性的主要途径, 然而糖链结构的多分支化以及糖单元之间连接的立体化学构型进一步加大了聚糖合成的难度. 如何实现高效的聚糖组装是糖化学生物学面临的巨大挑战.

另一方面, 糖类化合物在疫苗研究方面的应用, 其较弱的免疫原性一直制约着其发展. 糖抗原本身是非T细胞依赖性抗原, 不能引起强烈的免疫应答, 只能与B细胞作用产生短暂的无免疫记忆的IgM抗体, 无法产生高亲和力的IgG抗体^[5]. 此外, 糖抗原与抗体的内在低亲和力也抑制了糖类疫苗的免疫应答效应^[6].

几十年来, 经过糖化学家们不断的努力, 新的糖基化方法和糖链组装策略不断涌现, 糖类药物研发的技术瓶颈正逐渐得以克服. 本课题组致力于糖基化反应的方法和策略的发展以及在糖疫苗研究中的应用. 本文将结合本课题组的相关研究工作, 对此方面的研究

引用格式: Wang Y, Ye XS. Chemical synthesis of glycans and applications in carbohydrate-based vaccines. *Sci Sin Chim*, 2018, 48: 1307–1320, doi: 10.1360/N032018-00220

进展进行综述.

2 糖类化学合成概述

由于通过分离提取手段常常得到不均一的糖链, 而酶法合成又有底物受限、价格昂贵等缺陷, 因此目前化学合成仍然是合成聚糖类化合物的主要手段.

2.1 糖基化反应概念

糖基化反应通常是指一个端基带有离去基团(leaving group, LG)的全保护的糖基供体(donor), 在活化剂作用下生成氧鎓离子中间体后, 同一个适当保护的具有单独游离羟基的糖基受体(acceptor)相互偶联形成糖苷键的反应(图1). 糖基化反应本质上是糖基供体和受体间发生的亲核取代反应.

2.2 常用的糖基化方法

2.2.1 糖基供体和离去基的发展

自1879年Michael等报道了利用氯/溴代糖为糖基供体的第一个糖基化反应后, 经过化学家们的不断探索, 一系列不同的糖基供体和相对应的活化剂不断被发展并应用到糖基化反应中^[7](图2和表1). 糖基供体离去基的选择对供体的性质和糖基化反应有重要的影响. 理想的端基离去基, 应该在不进行糖基化反应时能够稳定存在, 在进行糖基化反应时又容易被活化. 在众多糖基供体中, 最常用的是卤代糖供体^[8]、三氯乙酰亚胺酯供体^[13]和硫苷供体^[27].

2.2.2 糖基化反应立体选择性的控制

糖基化反应立体选择性的控制是糖基化反应的基本要求. 其中, 1,2-*trans*糖苷键可通过强有效的邻基参与作用构建(图3). 有效的邻基参与基团有乙酰基、苯甲酰基等. 因此糖苷键立体选择性控制的难点主要在于1,2-*cis*糖苷键的高效构建.

到目前为止, 还没有构建单一1,2-*cis*糖苷键的普适性方法, 大多数情况下都要结合具体的反应选择合适的方法. 影响糖基化反应1,2-*cis*立体选择性的因素很多(图4), 主要包括5方面. (1) 端基效应: 当供体2-位没有邻基参与基团时, 端基效应^[28]会使糖基化反应倾向于生成 α 构型(大部分糖 α 构型为1,2-*cis*构型, 甘露糖等情况除外)为主的产物. (2) 保护基调控: 例如, 利用

图1 糖基化反应

Figure 1 Glycosylation reaction.

图2 典型的糖基供体

Figure 2 Some classic glycosyl donors.

表1 糖基供体活化剂

Table 1 Promoters of some glycosyl donors

Entry	Donor	Promoter	Refs.
1	氯/溴代糖	Ag ₂ CO ₃ /Ag ₂ O	[8]
2		I ₂ /K ₂ CO ₃	[9]
3		Urea/K ₂ CO ₃	[10]
4	氟代糖	SnCl ₂ /AgClO ₄	[11]
5		[Cp ₂ HfCl ₂]/AgClO ₄ (Cp=cyclopentadiene)	[12]
6	三氯乙酰亚胺酯供体	TMSOTf	[13b]
7		BF ₃ ·Et ₂ O	[14]
8	硫苷糖供体	NIS/TfOH	[15]
9		BSP/Tf ₂ O	[16]
10		Ph ₂ SO/Tf ₂ O	[17]
11		BSM/Tf ₂ O	[18]
12		PhSCI/AgOTf	[19]
13		<i>p</i> -TolSCI/AgOTf	[20]
14		Umemoto/UV or visible light	[21]
15	亚砷供体	Tf ₂ O/DTBMP	[22]
16		[Cp ₂ ZrCl ₂]/AgClO ₄	[23]
17	酯基供体	TMSI/Ph ₃ P=O	[24]
18	半缩醛供体	Ph ₂ SO/Tf ₂ O	[25]
19		CBr ₄ /PPh ₃	[26]

图3 邻基参与效应

Figure 3 Neighboring group participation effect.

图4 影响1,2-*cis*糖苷键的因素Figure 4 Influence factors of 1,2-*cis* glycosylation.

2-位手性辅助基^[29]、酰基的远程参与效应^[30]和大位阻基团效应^[31]均能阻碍糖受体从 β 面进攻,从而生成 α 构型产物。(3) 溶剂效应:一些参与性溶剂通过和糖基供体活化后的中间体形成复合物,影响糖苷键的立体选择性,如乙酰^[32]等溶剂。(4) 添加剂效应:硫醚^[33]、路易斯酸^[34]等添加剂能调控反应的立体选择性。(5) 反应活化方式:使用“预活化”糖基化方式,可影响反应产物的立体选择性^[35]。此外,糖基化反应的立体选择性还受离去基、温度和压力、供体受体活性适配性以及糖基供体与受体本身的性质所影响^[28]。

2.3 聚糖合成策略

除了糖基化方法,聚糖的组装也是制约糖类化合物合成效率的关键因素。很多糖类化合物的活性功能是分子尺寸依赖的,如何高效地合成大分子聚糖一直是糖化学家们也是本课题组一直希望解决的问题。

目前的寡糖合成策略大致可分为以下4种:传统线

性合成策略;砌块汇聚式合成策略;一釜合成策略;固相合成策略。本文主要介绍一釜合成策略和固相合成策略。

2.3.1 一釜合成策略

一釜合成策略属于液相合成,是一种从非还原端到还原端合成寡糖的策略:将糖基模块按照一定顺序加入到反应容器中,待前一步偶联反应结束后再加入新的糖基模块,与前一步偶联的产物进行下一步反应;重复上述步骤,可以在同一反应容器中进行多步糖基化反应。一釜合成策略相对于传统合成策略来说,省去了繁复的保护-去保护操作,也省去了对中间体的分离纯化,缩短了操作步骤和反应时间,极大地提高了反应效率。

一釜合成策略又可分为化学选择性的一釜合成、正交选择性的一釜合成和基于预活化的一釜合成3种类型。其中,Wong课题组^[36]发展的化学选择性的一釜合成依赖于糖基模块的反应活性差异,需要精细复杂的保护基操作。Takahashi课题组^[37]1994年提出的正交选择性的一釜合成需要精心调控离去基与活化条件,让寡糖合成仍然显得繁琐。因此,综合这两种策略的优势(即一套相同的活化条件和不依赖于糖基模块反应活性的糖基化反应)是一釜合成策略的重点研究方向。基于此,本课题组发展了基于预活化的一釜合成策略。

要了解基于预活化的一釜合成,首先需要明确预活化的概念。1998年,Crich课题组^[38]在利用亚砷甘露糖供体构建 β -糖苷键时发现加料顺序的改变(将受体加入到供体和活化剂的混合物中)会导致糖苷键立体选择性的改变,这种经验意义上的实验操作可以被看作是预活化策略的雏形。

2004年,本课题组和黄雪飞课题组^[20]明确提出并阐述了“预活化”的概念和实验操作,并将其作为一种新的糖基化策略应用到一釜合成中。实验发现,以

-TolSCI/AgOTf为活化体系时,在预活化操作下,具有相同离去基(对甲苯硫基)的糖基供体和受体可以进行不依赖于糖基模块反应活性的糖基化偶联反应。

基于预活化的一釜合成概念是:糖基供体(通常为硫苷)预先与活化剂作用生成活性中间体,之后再加入带有相同离去基的糖基受体进行反应,即可生成新的寡糖;这个新的寡糖具有同样的离去基可以被继续预活化然后再和糖基受体进行偶联反应,生成糖链延长

图5 基于预活化的一釜合成

Figure 5 Pre-activation based one-pot glycosylation protocol.

的寡糖; 重复以上步骤就可以连续不断地连接新的糖基模块, 合成聚糖分子(图5)。

本课题组和黄雪飞课题组最先将其应用到寡糖合成中。黄雪飞课题组利用该策略, 成功合成了壳聚糖^[39]、透明质酸六糖及十二糖^[40]、肿瘤相关糖抗原 Globo H (图6)^[41]、Le^x及其二聚体^[42], 以及复杂双天线氮苷十二糖^[43]。

2017年, 本课题组^[44]成功利用硫苷糖基供体预活化策略, 高效完成了分支杆菌细胞壁上由92个单糖组成的阿拉伯半乳聚糖的全合成(图7); 该分子是现今人工合成的最大最复杂的结构均一的多糖分子, 充分显示了预活化策略在复杂聚糖合成中的卓越优势。

该策略仍然存在一些有待改进之处。例如: (1) 在没有邻基参与基团时反应不能较好地控制立体选择性; (2) 与亲核性较弱的糖基受体偶联时效率往往较低。但是相比较于其他一釜合成策略, 基于预活化的

一釜合成既不需要考虑糖基模块反应活性的差别, 也不需要精心设计不同的离去基和活化条件, 而只需使用简单的糖基模块和同一个活化剂, 从而大大提高了聚糖的合成效率, 是糖合成领域取得的突破性进展。

2.3.2 自动化固相合成策略

Seeberger课题组^[45]在2001年提出了自动化固相合成策略。该策略是将糖基受体通过一个连接臂连接在树脂上, 加入糖基供体在树脂上完成一步糖基化反应后, 脱除临时保护基, 再重复前一步反应, 即可使糖链不断延长。中间体的纯化只经过简单的过滤即可, 最后将目标糖链从树脂上切下来。其每次糖基化都可以使用大大过量的糖基供体以确保负载在树脂上的受体反应完全, 因而整体效率较高。Seeberger课题组已经成功运用该策略合成了多种聚糖, 包括植物抗毒素诱导剂十二糖^[45]、肿瘤相关糖抗原 Globo H^[46], N-glycan的核心五糖^[47]和线性甘露50糖^[48]等。

随着糖类化合物的合成取得了长足的进步, 其药理学用途如糖疫苗的研究引起了越来越多的关注。

3 糖疫苗研究进展

癌症和病原微生物一直威胁着人类的健康和生命。许多病原微生物及肿瘤细胞的表面通常表达大量的特异性糖链, 这些糖链不仅可以作为重要的分子标志, 也可以被宿主的免疫系统识别为异源物而引起免疫反应。因此, 基于这些糖抗原的疫苗研究将会给多种传染性疾病及恶性肿瘤的防治带来希望。

糖疫苗的研究难点有两点: (1) 糖抗原的获得性问题, 尤其是一些糖抗原结构复杂、分子量大, 有关聚糖合成方面的进展已在上文描述; (2) 如何提高糖抗原的免疫原性。

图6 预活化一釜策略合成Globo H

Figure 6 Synthesis of Globo H by pre-activation based one-pot glycosylation protocol.

图 7 预活化一釜合成阿拉伯半乳聚糖(网络版彩图)

Figure 7 Synthesis of arabinogalactan by pre-activation based one-pot glycosylation protocol (color online).

提高糖抗原免疫原性的首要方法是加入T细胞依赖性抗原如载体蛋白担任T细胞表位, 使糖抗原由非T细胞依赖性抗原转变为T细胞依赖性抗原, 从而产生高亲和力的IgG抗体(图8)^[49]。目前, 有效的载体蛋白包括牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、钥孔血蓝蛋白(keyhole limpet hemocyanin, KLH)、白喉毒素

突变体(diphtheria toxin mutant, CRM197)、破伤风类毒素(tetanus toxoid, TT)、卵清蛋白(ovalbumin, OVA)、人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)、脑膜炎球菌外膜蛋白复合物(meningococcal outer membrane protein complex, OMPC)。近年来, 也有用短肽、金纳米粒子来代替载体蛋白的做法。第二种方

图8 糖结合疫苗产生强T细胞免疫反应的作用机理(网络版彩图)

Figure 8 Mechanism of robust T-cell-dependent immune response caused by conjugated carbohydrate vaccines (color online).

式是添加佐剂。一种是外源性物理混合佐剂, 如从 *Quillaja saponaria* (QS) 树中提取的皂苷QS-21^[50], 可以同时引发体液免疫和细胞免疫^[51]; 另一种是内源性共价结合的TLR的配体, 如Schmidt课题组^[52]发现的Pam3Cys、Wiesmüller课题组^[53]发现的效果更强的Pam3CysSK4。此外, 还可以从糖抗原本身入手, 对糖抗原进行结构修饰, 增加其异源性。

下文将按照糖疫苗的分类, 并结合本课题组的相关工作, 阐述上述寡糖合成策略在糖疫苗研究中的应用。

3.1 抗菌糖疫苗

20世纪初, Avery和Heidelberger^[54]发现肺炎链球菌的荚膜多糖具有免疫活性。1929年, Avery^[55]将肺炎链球菌荚膜多糖与蛋白共价偶联提高了其免疫原性, 之后这种策略便被广泛应用于糖疫苗研发。目前, 已有4种病原菌(*Haemophilus influenzae* type b、*Neisseria meningitidis*、*Salmonella enterica* Serovar Typhi、*Streptococcus pneumoniae*)的糖疫苗批准上市并被广泛应用于临床^[56]。由于细菌细胞壁上的多糖常常是结构复杂的大分子多聚糖, 目前天然提取的方法存在质量控制问题, 因此通过化学合成手段获取聚糖成为这些疫苗研究的新方向。

3.1.1 伤寒Vi抗原糖疫苗

伤寒是由沙门氏伤寒杆菌引起的急性消化道传染病, 每年大概有2000万的发病病例和20万死亡病例^[57]。

Vi抗原是位于伤寒杆菌细胞壁外的荚膜多糖抗原, 是由 α -(1 $\rightarrow$ 4)-2-脱氧-2-N-乙酰氨基半乳糖醛酸重复单元组成的线性均聚大分子, 分子量达 10^6 Da^[58]。目前, 人们已经开发出多种Vi结合疫苗, 包括Vi-TT、Vi-铜绿假单胞菌重组外毒素A蛋白和Vi-CRM197等^[59]; 其中, Vi-TT已经于2008年在印度获批上市。Vi多糖主要从伤寒杆菌的发酵液获得, 经常有结构和质量不稳定、含有内毒素等问题, 所以通过化学手段得到结构确定均一的Vi抗原聚糖片段对于Vi结合疫苗的发展具有重要意义。

1999年, Sinaý课题组^[60]报道了Vi抗原寡糖片段二、三、四、六糖醛酸的化学合成。他们采用2-位叠氮、3,4-位丙叉保护的黄原酸酯离去基糖基供体, 在DMTST的活化条件下, 从还原端向非还原端延伸糖链依次合成目标分子; 但该寡糖合成过程需要多步保护基操作, 且立体选择性差(α : β =2.4:1)。ELISA实验表明, 六糖的抑制活性最好, 但是这些合成的寡糖片段活性与天然Vi抗原和Vi抗原水解片段相比, 仍然存在较大差距。

2011年, 本课题组^[61]报道了Vi抗原二、三、四糖醛酸寡聚体的合成工作。我们使用2,3-N,O-噻唑烷酮保护的硫苷供体, 在预活化操作下, 用 $\text{Ph}_2\text{SO}/\text{Ti}_2\text{O}$ 作为活化剂, 可高 α 立体选择性地依次得到目标二、三、四糖。ELISA实验表明, 随着寡糖链的延长, 抑制率增高, 带有乙酰氧基四糖的抑制率与Sinaý课题组合成的六糖类类似。2015年, 本课题组^[62]用四亚甲基连接两个四糖醛酸得到假八糖醛酸, 活性测试表明, 假八糖醛酸的半抑制浓度 IC_{50} 与天然四糖醛酸相当。

本课题组^[63]又设计合成了1,2,3-三氮唑环连接的假八糖醛酸, 期望通过在分子骨架中插入这样的刚性环代替之前的柔性四亚甲基链可以更好地模拟天然Vi寡糖片段的结构, 从而提高其与抗体的亲和力。将该寡糖模拟物和天然Vi多糖竞争性地与抗Vi多糖的抗体结合, 发现三氮唑环连接的假八糖醛酸与四亚甲基链连接的假八糖醛酸的 IC_{50} 近似, 即在与抗体结合过程中只是作为两个四糖单元被识别(图9)。

由于四糖片段与抗Vi抗原的抗体的亲和力较弱, 可能更长的寡糖链才可以更好地模拟天然多聚大分子Vi抗原的性质。此外, 很多研究工作表明, 病原体聚糖链存在一个引起有效抗体的最小糖链长度。基于此, 本课题组^[64]继续延伸Vi抗原糖链, 于2018年, 同样利用

图9 寡糖模拟物的ELISA实验的抑制率曲线(网络版彩图)
Figure 9 Competitive ELISA assay of oligosaccharide mimics (color online).

2,3-*N,O*-噁唑烷酮环保护的硫苷供体, 在 p -TolSCl/AgOTf的活化条件下, 依次合成了Vi抗原五、六、七、八糖寡聚体. ELISA分析显示, 六糖醛酸可能是能达到最高抑制率的最小的寡糖片段(图10). 我们初步确定了伤寒Vi抗原的最小活性单元, 接下来准备将寡糖偶联载体蛋白, 进一步在动物实验水平上探讨开发Vi寡糖结合疫苗的潜力.

3.1.2 结核分支杆菌疫苗

结核病是由结核分枝杆菌引起的一种具有强烈传染性的慢性疾病, 严重危害人类健康. 目前唯一预防结核病的疫苗是卡介苗, 但是其只对婴幼儿有效, 对成人效果不佳^[65]. 开发新的结核疫苗和抗结核药物势在必行.

相关合成疫苗尝试工作聚焦于结核分枝杆菌细胞壁上的独特多聚糖结构. 这些多聚糖维持结核杆菌的完整性和致病性, 包括脂阿拉伯甘露聚糖、阿拉伯半乳聚糖等. 其中阿拉伯半乳聚糖较为引人注意. 该多糖全部由呋喃型糖组成, 含有多个1,2-*cis*呋喃阿拉伯糖苷键. 临床上广泛应用的一线抗结核药物就是通过抑制阿拉伯半乳聚糖生物合成过程中的糖基转移酶

图10 Vi抗原五至八糖的合成及其抑制率曲线(网络版彩图)
Figure 10 Synthesis and competitive ELISA assay of penta- to octasaccharide Vi antigens (color online).

Embc而发挥药效的^[66]. 此外, 哺乳动物体内也不含有相同糖型的呋喃型糖. 而糖的生物活性通常是分子尺寸依赖的, 所以合成大分子的阿拉伯半乳聚糖不仅有助于进一步研究其生物合成过程, 也有助于开发结核疫苗. Lowary课题组^[67]、Ito课题组^[68]和Hotha^[69]课题组先后完成了阿拉伯半乳聚糖20糖左右聚糖片段的合成; 本课题组^[44]实现了完整92糖的全合成(前文所述), 正在进行相关的免疫学实验. 此外, 我们还完成了结核菌细胞壁上磷脂酰肌醇甘露糖苷PIM₅的合成^[70].

3.2 肿瘤糖疫苗

恶性肿瘤表面通常会过量表达一些异常的糖链, 被称作肿瘤相关糖抗原(tumor-associated carbohydrate antigens, TACAs), 可分为黏蛋白相关型(Tn、TF、STn)、神经节苷脂类糖脂型(含有唾液酸结构的鞘糖脂, 如GM2、GM3、GD2、GD3)和中性糖脂型(Globo H、Le^y)等.

近年来, 糖化学家在合成TACAs相关的复杂寡糖领域取得了重要进展. 例如, Huang课题组^[41]采用预活化一釜合成策略合成Globo H; Seeberger课题组^[71]采用固相合成方法合成腺癌肿瘤相关糖抗原Le^y-Le^x(KH-1); Guo课题组^[72]用硫苷预活化一釜合成策略合成KH-1.

肿瘤相关糖抗原是自身抗原, 免疫原性弱, 容易引起免疫耐受. 因此如何打破其免疫耐受, 提高其免疫原性是抗肿瘤糖疫苗研究需要解决的关键问题.

3.2.1 基于天然糖抗原的肿瘤疫苗

最早应用的策略是将天然糖抗原和载体蛋白偶联的半合成疫苗. 根据载体蛋白上连接的糖抗原的种类和数量, 可分为如下3种. (1) 单价疫苗. 其组分简单, 发展较早. 例如, Biomira公司研发的Theratope®, 为STn-KLH的共价疫苗, 与佐剂QS-21合用时免疫效果最好, 但是在III期临床实验中没能成功提高乳腺癌患者的生存率^[73]. (2) 簇状单价疫苗. 能更好地模拟肿瘤细胞表面簇状形式的肿瘤相关糖抗原. 研究者们现在已经合成了一些小分子抗原如Tn^[74]、TF^[75]、STn^[76]同载体蛋白偶联的簇状疫苗, 正在进行临床实验. (3) 多价疫苗. 普通的单价疫苗的物理混合可刺激小鼠产生高滴度抗体, 但是组分不稳定. 同时含有多种不同的TACAs更加接近肿瘤细胞表面抗原的实际状态. Danishefsky课题组^[77]合成了同一个分子中同时含有Tn、STn、TF、Le^x、GM2、Globo H抗原的六价糖抗原(图11). 但是目前相关六价疫苗的临床试验II期实验效果没有单独的单价疫苗好^[78]. 一些进入临床实验研究的肿瘤糖疫苗总结于表2中.

但由于半合成疫苗的一些缺陷, 如抗原和蛋白偶联的位点和成功率均有不确定性, 且载体蛋白引起的免疫反应可能会沉默机体对肿瘤相关抗原本身的免疫反应, 研究者们开始尝试全合成疫苗.

全合成疫苗是指将肿瘤相关抗原与T细胞表位短肽或者佐剂相连接, 代替载体蛋白活化T细胞. 最具代表性的工作是Boons课题组^[84]合成的三组分疫苗. 它由内源性佐剂Pam3Cys、人类辅助T细胞表位YAF和Tn抗原共价连接而成(图12). 小鼠免疫实验结果显示, 该疫苗无论是否与外源性佐剂QS21合用, 都能诱导小鼠产生中等滴度的IgG抗体^[85]. Boons课题组^[86]后来又对上述三组分疫苗的每一个组分都进行了优化, 合成了新的三组分疫苗, 包括内源性佐剂Pam3CysSK4、小鼠T细胞表位PV103-115和Tn抗原, 可以刺激小鼠产生高滴度的IgG抗体. Li课题组^[87]在糖肽疫苗方面也做出了很好的工作.

3.2.2 基于结构修饰糖抗原的肿瘤疫苗

尽管有蛋白载体和佐剂辅助增强抗原的提呈, 但是基于天然糖抗原的肿瘤疫苗的免疫原性仍然较弱, 其大多还是被机体的免疫系统识别为自身抗原. 于是从糖抗原本身着手, 对天然的TACAs进行结构修饰使其转化为非天然糖抗原, 是较有发展前景的策略. 在这种思路下, Guo课题组^[88]将肿瘤糖抗原结构修饰与细胞表面糖代谢工程相结合, 发展了一种疫苗和小分子药物联用的治疗策略. 该策略一边用结构修饰的肿瘤糖疫苗激发免疫反应; 同时给予相对应结构修饰的甘露糖胺(唾液酸生物合成前体), 使得对应结构修饰的唾液酸表达在肿瘤细胞表面, 从而导致肿瘤细胞可被免疫反应所产生的抗体识别. 结果发现, 结构修饰的GM3及STn糖抗原都可以产生比天然糖抗原更强的

图 11 单分子六价糖抗原(网络版彩图)

Figure 11 Structure of unimolecular hexavalent carbohydrate antigen (color online).

表 2 部分肿瘤糖疫苗临床研究进展

Table 2 Current status of some anti-cancer carbohydrate vaccines

Cancer	Vaccine	Carrier	Adjuvant	Clinical Phase (status)	Type	Refs.
Breast	STn (Theratope®)	KLH	QS-21	Phase III (completed)	单价	[73]
	STn	KLH	/	Phase I (completed)	簇状单价	[76]
	Tn	KLH or PAM	QS-21	Phase I (completed)	簇状单价	[74]
Prostate	TF	KLH	QS-21	Phase II (completed)	簇状单价	[75]
	Globo H-GM2-LewisY-MUC1-TF-Tn	KLH	QS-21	Phase II (completed)	六价	[78]
	Le ^y	KLH	QS-21	Phase I (completed)	单价	[79]
Ovarian	Globo H (OPT822/821)	KLH	QS-21	Phase II/III (ongoing)	单价	[80]
	Globo H-GM2-STn-TF-Tn	KLH	QS-21	Phase I (completed)	五价	[81]
Melanoma	GM2	KLH	QS-21	Phase III (completed)	单价	[82]
	GM3/VSSP	OMP	/	Phase I (completed)	单价	[83]

图 12 Pam3Cys-YAF-Tn三组分疫苗(网络版彩图)

Figure 12 Three component vaccine candidate Pam3Cys-YAF-Tn (color online).

免疫反应^[88a,88g]. 这一策略虽然有潜力,但是也存在一些缺陷.例如,结构修饰的甘露糖胺会无差别地表达在正常细胞;要使肿瘤细胞表面有足够的结构修饰的TACAs需要过于频繁给药;而且不是所有结构修饰的甘露糖胺都能顺利被代谢到细胞表面.

另一种策略是基于交叉识别的天然糖抗原修饰策略.当对肿瘤相关糖抗原的结构修饰足够小时,机体产生的抗体有可能与肿瘤细胞表面的天然糖抗原交叉反应.这种策略早在B型脑膜炎奈瑟球菌的糖疫苗的研究中就曾有所应用^[89]. Hoffmann-Röder等^[90]发现,TF抗原两个糖环上6-位羟基被氟取代后的结构与TT共价连接后,可引起小鼠体内较强的免疫应答,得到的抗体可以对天然的TF有免疫交叉反应,但是仍然没有天然的TF-TT疫苗的抗体滴度高.

本课题组^[91]对STn抗原的结构修饰做了系统而深入的研究工作,共合成了40个STn衍生物,包括N-乙酰基的氟代修饰、N-乙酰基替换为其他脂肪酰基、糖苷键构型的改变以及羧基的替换等.其中,3个N-乙酰基氟代修饰衍生物(图13)与KLH偶联后表达出了高滴度

的免疫反应,是天然STn-KLH的3~5倍.我们又将这几个N-乙酰基氟代修饰的STn衍生物定点修饰到MUC1糖肽上,再与KLH偶联,免疫学实验显示,结构修饰的糖抗原能提高MUC1糖肽免疫原性的潜能^[92].继续对其他TACAs如Tn^[93]、TF^[94]、GM3^[95]进行氟代修饰,并将其与蛋白载体偶联制成疫苗,也均表现出了较强的免疫交叉反应.

人体内的酸性水解和酶降解使TACAs的糖苷键不够稳定,所以将天然的氧糖苷键替换为其他类型的连接键也是另一种结构修饰的策略. Bundle课题组^[96]合成了一系列硫连接的肿瘤相关抗原的类似物,与TT连接后可产生免疫交叉反应,但是产生的抗体滴度与天然的氧苷抗原相比没有明显的提高.本课题组^[97]也合成了一些硫连接STn的共价结合疫苗,可刺激免疫交叉的IgG抗体的产生.

综上所述,肿瘤糖疫苗受限于免疫原性弱,最有希望的抗肿瘤糖疫苗也只进展到临床III期阶段,目前尚没有成功上市的案例,仍然需要研究者的不懈努力.相信起步较晚的全合成疫苗和基于结构修饰糖抗原的

图 13 含氟代修饰STn结构的疫苗

Figure 13 Fluorine modified STn-based vaccines.

疫苗会有较好的发展前景。

3.3 抗HIV疫苗

当今人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者已经超过了3000万人, 研发有效的疫苗来防止HIV的蔓延非常重要^[98]。

HIV表面高度糖基化的壳膜蛋白gp120被认为是自然界中糖基化程度最高的蛋白之一^[99]。它不仅保护其内部的多肽表位逃脱免疫系统的监视, 而且对于介导HIV入侵和感染宿主细胞起着重要作用^[100]。研究表明, gp120表面的高甘露糖簇是广谱中和抗体(bnAbs) 2G12的抗原表位^[101], 因此人们设想通过合成这种表位类似物以期产生类似于2G12的中和抗体^[102]。多数工作是将糖抗原制成簇状结构以增强其免疫原性以及2G12的亲和力。例如, Danishefsky课题组^[102b]将寡聚甘露糖 $\text{Man}_9(\text{GlcNAc})_2$ 通过环肽骨架连接到OMPC上, 得到的糖复合物可与2G12抗体发生强烈反应^[103], 但是这种复合物在豚鼠和恒河猴体内不能诱导出相应的bnAbs^[104]。

有研究发现, 接种相同表位的不同免疫原的混合物能够提高抗体与抗原表位的亲和力。基于此, 本课题组^[105]设计了基于2G12中和抗体表位的HIV糖疫苗。我们用同样抗原表位的糖偶联物BSA-(Man_4)_n与重组gp120蛋白共同免疫小鼠, 希望可以提高抗体与gp120的亲和力。结果发现, 共免疫的糖偶联物不能增强针对整个gp120蛋白的抗体反应。但实验也证实, 糖偶联物可以特异性地增加识别gp120的抗体中与 Man_4 相关

结构结合的抗体的比例, 说明同表位多抗原策略有潜力应用于糖依赖的广泛中和抗体的研发当中。使用这种策略有望解决抗原性无法转变成免疫原性的问题, 为HIV疫苗的研发提供了重要的经验。

4 总结与展望

聚糖合成方法和策略经过数十年的发展取得了巨大的进步, 现在合成均一的结构明确的寡糖链已经不是非常困难的事, 关键在于如何高效获得寡糖链。本课题在寡糖合成方法和策略方面进行了许多努力, 所发展的预活化一釜糖基化策略被证明是合成复杂寡糖的有效策略之一, 并被成功应用于复杂大分子的多糖的合成。聚糖作为生物大分子之一, 糖疫苗是其在药学领域的重要应用。在糖疫苗研究方面, 糖抗原与载体蛋白偶联的糖复合物被证实可以有效提高糖抗原的免疫原性。在细菌疫苗研究中, 用合成来源的结构均一的聚糖替代天然分离来源的聚糖是发展趋势; 然而, 一些糖抗原复杂的化学结构导致其合成困难或效率不高仍然是此类糖疫苗研究的难点。在肿瘤疫苗研究中, 偶联的糖复合物在临床研究中的效果仍然有待进一步验证。关于HIV疫苗的研究, 目前的研究更多侧重于比较前期的学术研究, 需要继续探索新的思路。我们相信, 随着聚糖合成技术的不断进步, 随着人们对于疾病发病机制和相关免疫学机制的深入理解, 糖疫苗研究的未来会大有可为。

参考文献

- 1 Krasnova L, Wong CH. *Annu Rev Biochem*, 2016, 85: 599–630
- 2 Dwek RA. *Chem Rev*, 1996, 96: 683–720
- 3 Seeberger PH, Werz DB. *Nature*, 2007, 446: 1046–1051
- 4 Bertozzi CR, Kiessling LL. *Science*, 2001, 291: 2357–2364
- 5 (a) Mazmanian SK, Kasper DL. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6: 849–858; (b) Schumann B, Anish C, Pereira CL, Seeberger PH. *Biotherapeutics: Recent Developments Using Chemical and Molecular Biology*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2013. 68–104
- 6 Peri F. *Chem Soc Rev*, 2013, 42: 4543–4556
- 7 Yang Y, Zhang X, Yu B. *Nat Prod Rep*, 2015, 32: 1331–1355
- 8 Koenigs W, Knorr E. *Ber Dtsch Chem Ges*, 1901, 34: 957–981
- 9 Ravindranathan Kartha KP, Ballell L, Bilke J, McNeil M, Field RA. *J Chem Soc Perkin Trans 1*, 2001, 8: 770–772
- 10 Sun L, Wu X, Xiong DC, Ye XS. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55: 8041–8044
- 11 Mukaiyama T, Murai Y, Shoda S. *Chem Lett*, 1981, 10: 431–432
- 12 Suzuki K, Maeta H, Matsumoto T. *Tetrahedron Lett*, 1989, 30: 4853–4856

- 13 (a) Schmidt RR, Michel J. *Angew Chem Int Ed*, 1980, 19: 731–732; (b) Schmidt RR. *Angew Chem Int Ed*, 1986, 25: 212–235
- 14 Li M, Han X, Yu B. *J Org Chem*, 2003, 68: 6842–6845
- 15 Veeneman GH, van Leeuwen SH, van Boom JH. *Tetrahedron Lett*, 1990, 31: 1331–1334
- 16 Crich D, Smith M. *J Am Chem Soc*, 2001, 123: 9015–9020
- 17 Codée JDC, Litjens REJN, den Heeten R, Overkleeft HS, van Boom JH, van der Marel GA. *Org Lett*, 2003, 5: 1519–1522
- 18 Wang C, Wang H, Huang X, Zhang LH, Ye XS. *Synlett*, 2006, 2006(17): 2846–2850
- 19 Martichonok V, Whitesides GM. *J Org Chem*, 1996, 61: 1702–1706
- 20 Huang X, Huang L, Wang H, Ye XS. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 43: 5221–5224
- 21 Mao RZ, Xiong DC, Guo F, Li Q, Duan J, Ye XS. *Org Chem Front*, 2016, 3: 737–743
- 22 Gildersleeve J, Smith A, Sakurai K, Raghavan S, Kahne D. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 6176–6182
- 23 Wipf P, Reeves JT. *J Org Chem*, 2001, 66: 7910–7914
- 24 Kobashi Y, Mukaiyama T. *Chem Lett*, 2004, 33: 874–875
- 25 Garcia BA, Gin DY. *J Am Chem Soc*, 2000, 122: 4269–4279
- 26 (a) Nishida Y, Shingu Y, Dohi H, Kobayashi K. *Org Lett*, 2003, 5: 2377–2380; (b) Shingu Y, Nishida Y, Dohi H, Kobayashi K. *Org Biomol Chem*, 2003, 1: 2518–2521
- 27 (a) Ferrier RJ, Hay RW, Vethaviasar N. *Carbohydr Res*, 1973, 27: 55–61; (b) Codée JDC, Litjens REJN, van den Bos LJ, Overkleeft HS, van der Marel GA. *Chem Soc Rev*, 2005, 34: 769–782
- 28 Demchenko A. *Curr Org Chem*, 2003, 7: 35–79
- 29 (a) Kim JH, Yang H, Boons GJ. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 947–949; (b) Kim JH, Yang H, Park J, Boons GJ. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 12090–12097; (c) Fang T, Gu Y, Huang W, Boons GJ. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 3002–3011
- 30 Ustyuzhanina N, Krylov V, Grachev A, Gerbst A, Nifantiev N. *Synthesis-Stuttgart*, 2006: 4017–4031
- 31 Imamura A, Matsuzawa N, Sakai S, Udagawa T, Nakashima S, Ando H, Ishida H, Kiso M. *J Org Chem*, 2016, 81: 9086–9104
- 32 Eby R, Schuerch C. *Carbohydr Res*, 1974, 34: 79–90
- 33 Park J, Kawatkar S, Kim JH, Boons GJ. *Org Lett*, 2007, 9: 1959–1962
- 34 Geng Y, Qin Q, Ye XS. *J Org Chem*, 2012, 77: 5255–5270
- 35 (a) Geng Y, Ye XS. *Synlett*, 2010, 2010(16): 2506–2512; (b) Lu SR, Lai YH, Chen JH, Liu CY, Mong KKT. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 7315–7320; (c) Ingle AB, Chao CS, Hung WC, Mong KKT. *Org Lett*, 2013, 15: 5290–5293
- 36 Zhang Z, Ollmann IR, Ye XS, Wischnat R, Baasov T, Wong CH. *J Am Chem Soc*, 1999, 121: 734–753
- 37 Yamada H, Harada T, Miyazaki H, Takahashi T. *Tetrahedron Lett*, 1994, 35: 3979–3982
- 38 Crich D, Sun S. *Tetrahedron*, 1998, 54: 8321–8348
- 39 Huang L, Wang Z, Li X, Ye X, Huang X. *Carbohydr Res*, 2006, 341: 1669–1679
- 40 (a) Huang L, Teumelsan N, Huang X. *Chem Eur J*, 2006, 12: 5246–5252; (b) Lu X, Kamat MN, Huang L, Huang X. *J Org Chem*, 2009, 74: 7608–7617
- 41 Wang Z, Zhou L, El-Boubbou K, Ye X, Huang X. *J Org Chem*, 2007, 72: 6409–6420
- 42 Miermont A, Zeng Y, Jing Y, Ye X, Huang X. *J Org Chem*, 2007, 72: 8958–8961
- 43 Sun B, Srinivasan B, Huang X. *Chem Eur J*, 2008, 14: 7072–7081
- 44 Wu Y, Xiong DC, Chen SC, Wang YS, Ye XS. *Nat Commun*, 2017, 8: 14851
- 45 Plante OJ, Palmacci ER, Seeberger PH. *Science*, 2001, 291: 1523–1527
- 46 Werz DB, Castagner B, Seeberger PH. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 2770–2771
- 47 Ratner DM, Swanson ER, Seeberger PH. *Org Lett*, 2003, 5: 4717–4720
- 48 Naresh K, Schumacher F, Hahm HS, Seeberger PH. *Chem Commun*, 2017, 53: 9085–9088
- 49 Costantino P, Rappuoli R, Berti F. *Expert Opin Drug Discovery*, 2011, 6: 1045–1066
- 50 Soltysik S, Bedore DA, Kensil CR. *Ann NY Acad Sci*, 1993, 690: 392–395
- 51 Ragupathi G, Gardner JR, Livingston PO, Gin DY. *Expert Rev Vaccines*, 2011, 10: 463–470
- 52 Metzger J, Jung G, Bessler WG, Hoffmann P, Strecker M, Lieberknecht A, Schmidt U. *J Med Chem*, 1991, 34: 1969–1974
- 53 Spohn R, Buwitt-Beckmann U, Brock R, Jung G, Ulmer AJ, Wiesmüller KH. *Vaccine*, 2004, 22: 2494–2499

- 54 (a) Heidelberger M. *J Exp Med*, 1924, 40: 301–317; (b) Heidelberger M. *J Exp Med*, 1923, 38: 73–79
- 55 Avery OT. *J Exp Med*, 1929, 50: 533–550
- 56 Jones C. *An Acad Bras Ciênc*, 2005, 77: 293–324
- 57 Rondini S, Micoli F, Lanzilao L, Pisoni I, Di Cioccio V, Saul AJ, Martin LB. *J Infect Dev Ctries*, 2012, 6: 763–773
- 58 Daniels EM, Schneerson R, Egan WM, Szu SC, Robbins JB. *Infect Immun*, 1989, 57: 3159–3164
- 59 Principi N, Esposito S. *Expert Rev Vaccines*, 2016, 15: 897–905
- 60 Kiow Shi-Shun L, Mallet JM, Moreau M, Sinaÿ P. *Tetrahedron*, 1999, 55: 14043–14068
- 61 Yang L, Zhu J, Zheng XJ, Tai G, Ye XS. *Chem Eur J*, 2011, 17: 14518–14526
- 62 Yang L. Synthesis and modification of oligosaccharide fragments of the Vi antigen from *Salmonella typhi*. *Dissertation for the Doctoral Degree*. Beijing: Peking University Health Science Center, 2013
- 63 Zhang GL, Yang L, Zhu JJ, Wei MM, Yan WJ, Xiong DC, Ye XS. *Chem Eur J*, 2017, 23: 10670–10677
- 64 Zhang GL, Wei MM, Song CC, Ma YF, Zheng XJ, Xiong DC, Ye XS. *Org Chem Front*, 2018, 5: 2179–2188
- 65 Mangtani P, Abubakar I, Ariti C, Beynon R, Pimpin L, Fine PEM, Rodrigues LC, Smith PG, Lipman M, Whiting PF, Sterne JA. *Clin Infect Diseases*, 2014, 58: 470–480
- 66 Goude R, Amin AG, Chatterjee D, Parish T. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53: 4138–4146
- 67 Joe M, Bai Y, Nacario RC, Lowary TL. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 9885–9901
- 68 Ishiwata A, Ito Y. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 2275–2291
- 69 (a) Pasari S, Manmode S, Walke G, Hotha S. *Chem Eur J*, 2018, 24: 1128–1139; (b) Thadke SA, Mishra B, Islam M, Pasari S, Manmode S, Rao BV, Neralkar M, Shinde GP, Walke G, Hotha S. *Nat Commun*, 2017, 8: 14019
- 70 Wang D, Xiong DC, Ye XS. *Chin Chem Lett*, 2018, 29: 1340–1342
- 71 Love KR, Seeberger PH. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 43: 602–605
- 72 Li Q, Guo Z. *Org Lett*, 2017, 19: 6558–6561
- 73 Miles D, Roché H, Martin M, Perren TJ, Cameron DA, Glaspy J, Dodwell D, Parker J, Mayordomo J, Tres A, Murray JL, Ibrahim NK, Ibrahim NK. *Oncologist*, 2011, 16: 1092–1100
- 74 Slovin SF, Ragupathi G, Musselli C, Olkiewicz K, Verbel D, Kuduk SD, Schwarz JB, Sames D, Danishefsky S, Livingston PO, Scher HI. *J Clin Oncol*, 2003, 21: 4292–4298
- 75 Slovin SF, Ragupathi G, Musselli C, Fernandez C, Diani M, Verbel D, Danishefsky S, Livingston P, Scher HI. *Cancer Immunol Immuno*, 2005, 54: 694–702
- 76 Gilewski TA, Ragupathi G, Dickler M, Powell S, Bhuta S, Panageas K, Koganty RR, Chin-Eng J, Hudis C, Norton L, Houghton AN, Livingston PO. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 2977–2985
- 77 Ragupathi G, Koide F, Livingston PO, Cho YS, Endo A, Wan Q, Spassova MK, Keding SJ, Allen J, Ouerfelli O, Wilson RM, Danishefsky SJ. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 2715–2725
- 78 Slovin SF, Ragupathi G, Fernandez C, Diani M, Jefferson MP, Wilton A, Kelly WK, Morris M, Solit D, Clausen H, Livingston P, Scher HI. *Cancer Immunol Immuno*, 2007, 56: 1921–1930
- 79 Sabbatini PJ, Kudryashov V, Ragupathi G, Danishefsky SJ, Livingston PO, Bornmann W, Spassova M, Zatorski A, Spriggs D, Aghajanian C, Soignet S, Peyton M, O'Flaherty C, Curtin J, Lloyd KO. *Int J Cancer*, 2000, 87: 79–85
- 80 Danishefsky SJ, Shue YK, Chang MN, Wong CH. *Acc Chem Res*, 2015, 48: 643–652
- 81 O'Cearbhaill RE, Ragupathi G, Zhu J, Wan Q, Mironov S, Yang G, Spassova MK, Iasonos A, Kravetz S, Ouerfelli O, Spriggs DR, Danishefsky SJ, Sabbatini PJ. *Cancers*, 2016, 8: 46
- 82 Eggermont AMM, Suci S, Rutkowski P, Marsden J, Santinami M, Corrie P, Aamdal S, Ascierto PA, Patel PM, Kruit WH, Bastholt L, Borgognoni L, Bernengo MG, Davidson N, Polders L, Praet M, Spatz A. *J Clin Oncol*, 2013, 31: 3831–3837
- 83 Guthmann MD, Bitton RJ, Carnero AJL, Gabri MR, Cinat G, Koliren L, Lewi D, Fernandez LE, Alonso DF, Gómez DE, Fainboim L. *J Immunother*, 2004, 27: 442–451
- 84 Buskas T, Ingale S, Boons GJ. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 5985–5988
- 85 Ingale S, Wolfert MA, Gaekwad J, Buskas T, Boons GJ. *Nat Chem Biol*, 2007, 3: 663–667
- 86 (a) Ingale S, Buskas T, Boons GJ. *Org Lett*, 2006, 8: 5785–5788; (b) Lakshminarayanan V, Thompson P, Wolfert MA, Buskas T, Bradley JM,

- Pathangey LB, Madsen CS, Cohen PA, Gendler SJ, Boons GJ. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 261–266
- 87 (a) Huang ZH, Shi L, Ma JW, Sun ZY, Cai H, Chen YX, Zhao YF, Li YM. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 8730–8733; (b) Cai H, Sun ZY, Chen MS, Zhao YF, Kunz H, Li YM. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 1699–1703
- 88 (a) Pan Y, Chefalo P, Nagy N, Harding C, Guo Z. *J Med Chem*, 2005, 48: 875–883; (b) Chefalo P, Pan Y, Nagy N, Guo Z, Harding CV. *Biochemistry*, 2006, 45: 3733–3739; (c) Yu S, Wang Q, Zhang J, Wu Q, Guo Z. *MedChemComm*, 2011, 2: 524–530; (d) Qiu L, Gong X, Wang Q, Li J, Hu H, Wu Q, Zhang J, Guo Z. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61: 2045–2054; (e) Wu J, Guo Z. *Bioconjugate Chem*, 2006, 17: 1537–1544; (f) Wang Q, Ekanayaka SA, Wu J, Zhang J, Guo Z. *Bioconjugate Chem*, 2008, 19: 2060–2067; (g) Wang Q, Guo Z. *ACS Med Chem Lett*, 2011, 2: 373–378
- 89 Jennings HJ, Roy R, Gamian A. *J Immunol*, 1986, 137: 1708–1713
- 90 Hoffmann-Röder A, Kaiser A, Wagner S, Gaidzik N, Kowalczyk D, Westerlind U, Gerlitzki B, Schmitt E, Kunz H. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 8498–8503
- 91 (a) Yang F, Zheng XJ, Huo CX, Wang Y, Zhang Y, Ye XS. *ACS Chem Biol*, 2011, 6: 252–259; (b) Song C, Zheng XJ, Liu CC, Zhou Y, Ye XS. *Oncotarget*, 2017, 8: 47330–47343
- 92 Xiao A, Zheng XJ, Song C, Gui Y, Huo CX, Ye XS. *Org Biomol Chem*, 2016, 14: 7226–7237
- 93 Song C, Sun S, Huo CX, Li Q, Zheng XJ, Tai G, Zhou Y, Ye XS. *Bioorg Med Chem*, 2016, 24: 915–920
- 94 Sun S, Zheng XJ, Huo CX, Song C, Li Q, Ye XS. *ChemMedChem*, 2016, 11: 1090–1096
- 95 Zheng XJ, Yang F, Zheng M, Huo CX, Zhang Y, Ye XS. *Org Biomol Chem*, 2015, 13: 6399–6406
- 96 Bundle DR, Rich JR, Jacques S, Yu HN, Nitz M, Ling CC. *Angew Chem Int Ed*, 2005, 44: 7725–7729
- 97 Huo CX, Zheng XJ, Xiao A, Liu CC, Sun S, Lv Z, Ye XS. *Org Biomol Chem*, 2015, 13: 3677–3690
- 98 Safritz JT, Fast PE, Giebler L, Kuipers H, Dean HJ, Koff WC. *Vaccine*, 2016, 34: 2921–2925
- 99 Myers G, MacInnes K, Korber B. *AIDS Res Human Retroviruses*, 1992, 8: 373–386
- 100 McDougal JS, Kennedy MS, Sligh JM, Cort SP, Mawle A, Nicholson JKA. *Science*, 1986, 231: 382–385
- 101 Trkola A, Purtscher M, Muster T, Ballaun C, Buchacher A, Sullivan NJ, Srinivasan K, Sodroski J, Moore JP, Katinger H. *J Virol*, 1996, 70: 1100–1108
- 102 (a) Ni J, Song H, Wang Y, Stamatou NM, Wang LX. *Bioconjugate Chem*, 2006, 17: 493–500; (b) Krauss IJ, Joyce JG, Finnefrock AC, Song HC, Dudkin VY, Geng X, Warren JD, Chastain M, Shiver JW, Danishefsky SJ. *J Am Chem Soc*, 2007, 129: 11042–11044; (c) Astronomo RD, Lee HK, Scanlan CN, Pantophlet R, Huang CY, Wilson IA, Blixt O, Dwek RA, Wong CH, Burton DR. *J Virology*, 2008, 82: 6359–6368; (d) Wang SK, Liang PH, Astronomo RD, Hsu TL, Hsieh SL, Burton DR, Wong CH. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 3690–3695; (e) Wang J, Li H, Zou G, Wang LX. *Org Biomol Chem*, 2007, 5: 1529–1540
- 103 Astronomo RD, Kaltgrad E, Udit AK, Wang SK, Doores KJ, Huang CY, Pantophlet R, Paulson JC, Wong CH, Finn MG, Burton DR. *Chem Biol*, 2010, 17: 357–370
- 104 Joyce JG, Krauss IJ, Song HC, Opalka DW, Grimm KM, Nahas DD, Esser MT, Hrin R, Feng M, Dudkin VY, Chastain M, Shiver JW, Danishefsky SJ. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 15684–15689
- 105 Liu CC, Zhai C, Zheng XJ, Ye XS. *ACS Chem Biol*, 2016, 11: 1702–1709

Chemical synthesis of glycans and applications in carbohydrate-based vaccines

Yongshi Wang, Xin-Shan Ye^{*}

State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, Peking University, Beijing 100191, China

**Corresponding author (email: xinshan@bjmu.edu.cn)*

Abstract: Carbohydrates play important roles in many biological processes. However, the lack of resources of structurally-defined carbohydrates and their weak immunogenicity have always restricted the development of chemical glycobiology especially carbohydrate-based vaccines. The progress in chemical synthesis of carbohydrates and glycoconjugates has greatly promoted the development of carbohydrate-based vaccines including antibacterial vaccines, anti-tumor vaccines and anti-HIV vaccines. The use of one-pot glycosylation strategy and solid-phase glycosylation strategy is able to synthesize oligosaccharides and even polysaccharides more effectively than before. Glycoconjugates produced by combining the carbohydrate antigens and proper protein carriers improve the immunogenicity of carbohydrates. This review covers the general methods and strategies of carbohydrate chemical synthesis, and the recent development of carbohydrate-based vaccines, and also summarizes related work of our group, hoping to offer readers better understanding of chemical glycobiology especially carbohydrate-based vaccines.

Keywords: glycan, glycosylation, one-pot synthesis, carbohydrate-based vaccine

doi: [10.1360/N032018-00220](https://doi.org/10.1360/N032018-00220)