Universiteit Leiden
The Netherlands

# Chemical synthesis of fragments of galactosaminogalactan and pel polysaccharides

Zhang, Y.

**Citation**
Zhang, Y. (2021, November 9). *Chemical synthesis of fragments of galactosaminogalactan and pel polysaccharides*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/3239151

| | |
|---|---|
| Version: | Publisher's Version |
| License: | Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden |
| Downloaded from: | https://hdl.handle.net/1887/3239151 |

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

# Chinese Summary

# 中文小结

## Chemical Synthesis of Fragments of Galactosaminogalactan and Pel Polysaccharides

## 半乳糖胺半乳聚糖和 Pel 多糖片段的化学合成研究

本论文描述了烟曲霉细胞壁中的半乳糖胺半乳聚糖 (Galactosaminogalactan, GAG) 和铜绿假单胞菌中的 Pel 多糖片段的合成设计。两种多糖均包含α-1,4 连接的半乳糖胺 (GalN) 和乙酰半乳糖胺 (GalNAc)单糖片段，其中 GAG 多糖中还有半乳糖 (Gal)片段，而 Pel 多糖的具体结构仍有待确认，该糖链的组成中可能包含了葡萄糖胺 (GlcN) 和乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc)单糖片段。通过 4,6-位连接的二叔丁基亚甲硅烷基 (DTBS) 介导的糖苷化反应，所需的不同的α-糖苷键都可以立体选择性的构建。另外，合成的多糖分子的还原端都引入了一个连接位点，用来进行蛋白质或其它活性分子的结合修饰，为相关微生物糖疫苗的开发奠定了基础。

**第一章**先简要介绍了糖在生物体内的生物活性以及近年来糖化学领域发展的 1,2-顺式糖苷键的合成研究，然后对 GAG 和 Pel 多糖在微生物细胞内的生物合成途径及其多糖片段的化学合成方法进行了重点介绍。由于两种多糖均由α-连接的半乳糖胺或葡萄糖胺片段组成，本章列举了不同的立体选择性构建α-GalN 和α-GlcN 糖苷键的研究方法，以及这些方法在不同的糖缀合物合成中的应用。

**第二章**描述了三类 GAG 寡糖均聚体的合成，其糖链组成分别为 Gal、GalN 和 GalNAc，且糖链最长可达十二糖（图 1）。α-糖苷键可通过DTBS-介导的糖苷化反应构建，糖链的延长以三步为一个循环。第一步为糖苷化反应，给体 **1** 和 **2** 分别用来构建α-Gal、α-GalN 或α-GalNAc 糖苷键。第二步将 DTBS 保护基脱除，然后在第三步中选择性的将裸露的 6-位羟基用 Bz 保护起来。6-位选择性苯甲酰化反应可以用温和的酰化试剂 BzOBt 实现。在脱除保护基后发现由 Gal 组成的八糖和九糖在水中的溶解性较差，而 GalN 和 GalNAc 组成的九糖及十二糖均没有溶解性问题。结合寡糖的 NMR 谱图及计算化学研究， Jesús Jiménez-Barber 课题组发现 GAG 寡糖为细长的且几乎直线型的结构，该结构由分子间的氢键稳定，其中一个是残基 H5（i+1）和残基 O3（i）之间的非常规C-H…O 氢键。在这样的结构中，C-2 上的基团被放置在结构的外部，从而可以很容易地与其它的生物活性分子（如生物合成酶和抗体）相互作用。

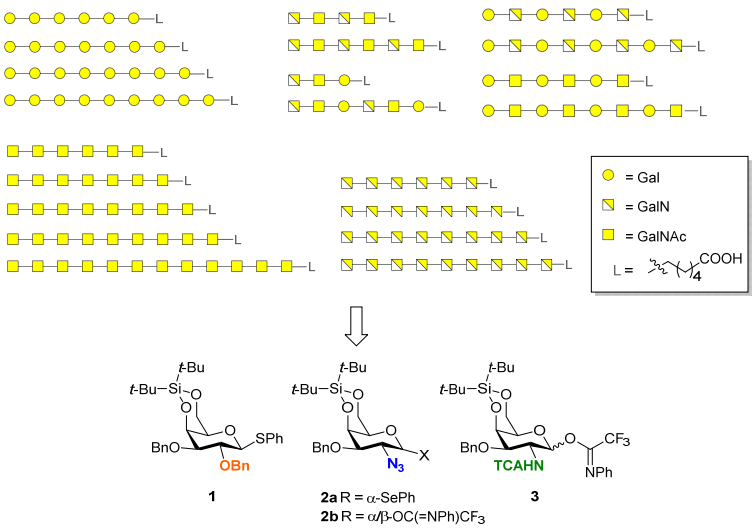


**图 1.** GAG 寡糖的合成及合成中的糖基给体

**第三章**描述了四类 GAG 寡糖非均聚体的合成（图 1），分别由不同的单糖单元组成。与第二章一样，糖苷键也是通过 DTBS-介导的糖苷化反应立体选择性地构建，糖链的延长以三步为一个循环有效延伸。其中给体 **3** 的 2-位胺基由三氯乙酰基（TCA）保护，TCA 是一个在糖苷化反应中具有邻基参与功能的保护基，但在 DTBS 基团的参与下，给体 **3** 的在糖苷化反应中仍可选择性地构建α-糖苷键。合成的所有 GAG 寡糖已被用于其生物合成途径的体外探索研究。

**第四章**描述了非还原末端糖基的 2-位为叠氮基团的 GAG 七糖的合成（图 2）。合成的 $N_3$-GAG 将作为探针用于探测细胞内水平 Sph3 对于 GAG 多糖生物合成的转糖基化活性。为了在脱保护过程中保留叠氮基团，给体的 3 位和受体的 3，6-位保护基均为苯甲酰基。三氟乙酰基（TFA）和叠氮保护的 4，6-DTBS 糖基给体分别用于构建α-GalNAc 和α-$GalN_3$ 糖苷键。由于 Bz 保护的受体和给体活性较低，在合成五糖和六糖时糖苷化产率偏低，在增加了反应液的浓度后，收率有了较大提升。

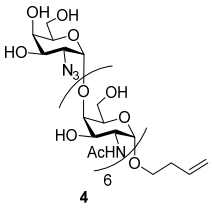

图 2. $N_3$-GAG 的结构

**第五章**描述了一系列 Pel 寡糖片段的合成（图 3）。通过优化和筛选不同的糖苷化反应条件，DTBS-介导的糖苷化反应被成功地用于α-GalN 和α-GlcN 糖苷键的构建。糖链延长的方法与第二章类似，第一步为 DTBS-引导的糖苷化反应，在第二步中脱除该保护基后，裸露的 6-位羟基选择性地用苄基保护起来而成为下一个循环中的受体。随着糖链的延长，糖苷化反应的收率会逐渐降低，而反加法成功地解决了这个问题。在反应中受体和促进剂首先加入，然后缓慢地将糖基给体的溶液滴加入反应液中。最终通过不同的脱保护基策略，一个全保护的七糖可转化为三个不同的 Pel 片段，从而得到了三个系列的终产物。这些合成的寡糖片段将用于 Pel 的生物合成路线和糖疫苗的研究中。

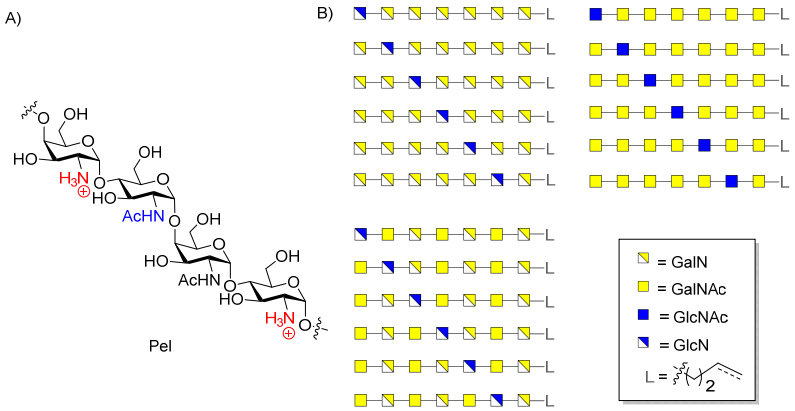


图 3. A）Pel 多糖的结构；B）合成的 Pel 寡糖片段。

**第六章**对本论文进行了总结，并对未来的工作进行展望。介绍了 GAG 寡糖与 BSA 蛋白的共价结合，这些糖蛋白将有利于糖疫苗的开发和发展。