(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2022 年 1 月 27 日 (27.01.2022)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2022/016755 A1

(51) 国际专利分类号:
C07H 15/26 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07H 1/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2020/130230

(22) 国际申请日: 2020 年 11 月 19 日 (19.11.2020)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202010698972.8 2020年7月20日 (20.07.2020) CN

(71) 申请人: 广州中医药大学（广州中医药研究院） (GUANGZHOU UNIVERSITY OF CHINESE MEDICINE (GUANGZHOU INSTITUTE OF TRADITIONAL CHINESE MEDICINE)) [CN/CN]; 中国广东省广州市白云区机场路12号大院, Guangdong 510410 (CN)。

(72) 发明人: 廖国超 (LIAO, Guochao); 中国广东省广州市白云区机场路12号大院, Guangdong 510410 (CN)。 刘中秋 (LIU, Zhongqiu); 中国广东省广州市白云区机场路12号大院, Guangdong 510410 (CN)。 李文伟 (LI, Wenwei); 中国广东省广州市白云区机场路12号大院, Guangdong 510410 (CN)。 练庆海 (LIAN, Qinghai); 中国广东省广州市白云区机场路12号大院, Guangdong 510410 (CN)。 杨德盈 (YANG, Deying); 中国广东省广州市白云区机场路12号大院, Guangdong 510410 (CN)。 吴鹏 (WU, Peng); 中国广东省广州市白云区机场路12号大院, Guangdong 510410 (CN)。 卢琳琳 (LU, Linlin); 中国广东省广州市白云区机场路12号大院, Guangdong 510410 (CN)。

(74) 代理人: 广州粤高专利商标代理有限公司 (YOGO PATENT AND TRADEMARK AGENCY LIMITED COMPANY); 中国广东省广州市天

(54) **Title:** TREHALOSE DERIVATIVE AND CARBOHYDRATE ANTIGEN CONJUGATE, AND PREPARATION METHOD THEREFOR AND APPLICATION THEREOF

(54) **发明名称**: 一种海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物及其制备方法与应用

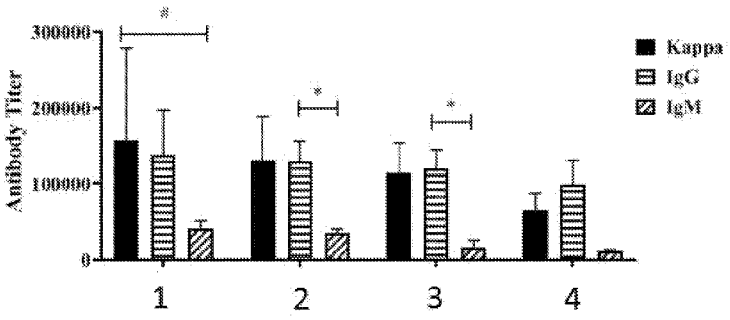


图 1

(57) **Abstract:** The present invention relates to the technical field of chemistry and medicines. Disclosed are a trehalose derivative and carbohydrate antigen conjugate, and a preparation method therefor and an application thereof. According to the present invention, the conjugate is obtained by taking trehalose as an embedded adjuvant and coupling the trehalose with a tumor-associated carbohydrate antigen (STn or Tn) abnormally expressed on the surface of a tumor cell. The conjugate has the advantages of being clear in structure, simple and convenient in synthesis method, stable and controllable in product quality, and the like, and particularly, a vaccine can overcome the defect of weak immunogenicity of the carbohydrate antigen and can induce generation of a high-affinity specific IgG antibody, so that the anti-tumor effect of killing tumor cells in a targeted manner is achieved.

(57) **摘要**: 本发明涉及化学与医药技术领域，公开了一种海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物及其制备方法与应用。本发明所述缀合物以海藻糖作为内嵌佐剂，与肿瘤细胞表面异常表达的肿瘤相关糖抗原（STn或Tn）偶合得到；具有结构明确、合成方法简便、产物质量稳定可控等优点，特别是该疫苗的能克服糖抗原免疫原性弱的缺点，诱导产生高亲和力的特异性IgG抗体，从而达到靶向杀死肿瘤细胞的抗肿瘤效果。

WO 2022/016755 A1

[见续页]

河区体育西路中石化大厦B塔4416室, Guangdong 510620 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护)：AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护)：ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布：

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

一种海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物及其制备方法与应用

技术领域

本发明涉及化学与医药技术领域，尤其涉及一种海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物及其制备方法与应用。

背景技术

如今癌症已成为人类的第一杀手并成为全球最大的公共卫生问题，恶性肿瘤死亡率呈明显增长趋势，严重的威胁人类的生活。现治疗癌症的方法有手术、化疗、放疗、免疫疗法，其中肿瘤免疫疗法是研究肿瘤治疗的热门之一。在肿瘤细胞表明异常过量表达的肿瘤相关糖抗原（TACAs），具有重要的生物学功能，是糖抗原肿瘤疫苗设计的优秀靶点。

但是肿瘤相关糖抗原（TACAs）是 T 细胞非依赖性抗原，免疫原性较弱，需要在免疫原性载体分子的协助下才能刺激 T 细胞并诱导持久的抗体反应。如何提高糖抗原的免疫原性，使其更高效地诱导产生高滴度、高亲和力的 IgG 抗体并特异性地杀死肿瘤细胞，是肿瘤疫苗的研究热点之一。经典的策略是将糖抗原与载体蛋白缀合来增强其免疫原性，但糖蛋白疫苗有偶联位点不确定、偶联率不稳定、组成成分复杂等缺点。因此，肿瘤相关糖抗原疫苗的全合成策略成了新的研究热点之一；全合成糖抗原疫苗具有明确的结构，质量稳定可控等优点，便于各种免疫学和临床研究。近年来，科研工作者发现多种病原菌表面的糖分子可作为全合成糖抗原肿瘤疫苗的内嵌佐剂，其既能克服糖抗原免疫原性弱的缺点，又可以避免蛋白质引起的“表位抑制”效应。

海藻糖-6,6-二霉菌酸酯（TDM，索状因子）是结核分枝杆菌细胞壁中重要的糖脂成分，由海藻糖及 2 条霉菌酸酯链构成；该糖脂能引起炎症反应，并且对肿瘤细胞有一定的细胞毒性。研究表明，海藻糖-6,6-二霉菌酸酯的衍生物 Vizantin 和 TDE 免疫活性高且毒性低，可作为有效佐剂用于疫苗研究。

发明内容

本发明的目的在于提供一种海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物。本发明以强效免疫刺激剂海藻糖衍生物 Vizantin 和 TDE 作为内嵌佐剂分别缀合糖抗原（STn、Tn）得到所述缀合物，其中海藻糖衍生物能提高糖抗原的免疫原性，所述缀合物能够诱导 T 细

胞介导体液免疫，产生高浓度的高亲和力的 IgG 抗体，达到特异性杀死肿瘤细胞的目的。

本发明的另一目的在于提供所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物的制备方法。

本发明的再一目的在于提供所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物在制备肿瘤疫苗中的应用。

本发明的还一目的在于提供所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

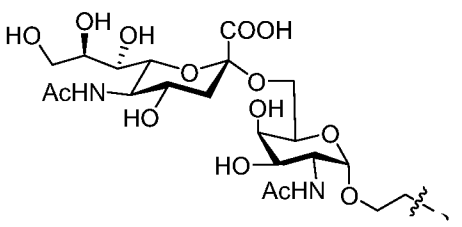
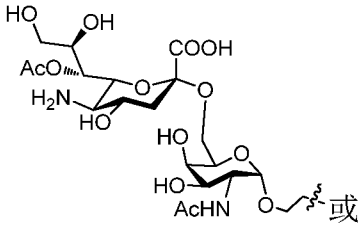
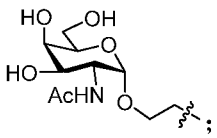
本发明的上述目的是通过以下方案予以实现的：

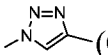
一种海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物，所述缀合物结构通式如下式 I 所示：

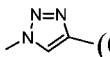
[X—L—Y]

式（I）

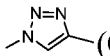
其中，X 表示糖抗原，选自下式中的任意一种糖抗原，或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：


、

或

；

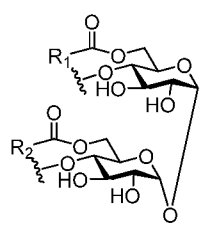
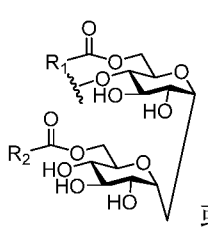
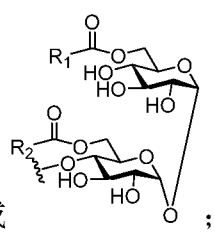
L 表示连接体，选自以下$(CH_2CH_2O)_a$-CH_2CH_2-C(O)NH-、

$(CH_2CH_2O)_a$-、-$(OCH_2CH_2)_a$、-NHC(O)-$(CH_2CH_2O)_a$-CH_2CH_2-C(O)NH-、

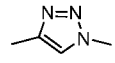
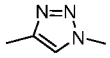
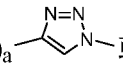
-NHC(O)-$(CH_2CH_2O)_a$-CH_2CH_2、-$(OCH_2CH_2)_a$-CH_2CH_2-C(O)NH-、

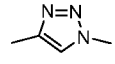
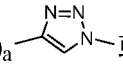
$(CH2)_a$-C(O)NH-、-NHC(O)-$(CH_2)_a$-C(O)NH-、-NHC(O)-$(CH_2)_a$或中的任意一种，a 是 0 到 20 中的任意一个整数；

Y 表示海藻糖衍生物，选自下式中的任意一种，或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：

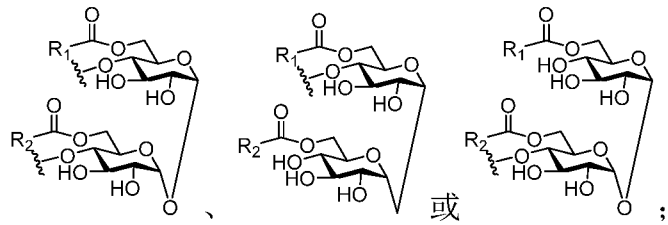

、

或

；

其中，R_1 和 R_2 各自独立地选自氢、$-CH_2-CH(OR^3)-(CH_2)_m-CH_3$，$-(CH_2)_mCH_3$ 或 $-(CH_2)_mCHR^3{}_2$，R^3 为 $-(CH_2)_m-CH_3$ 或 $-C(O)-(CH_2)_m-CH_3$，m 是选自 8-26 的整数。

优选地，所述 L 选自  $(CH_2CH_2O)_a-$、$-(OCH_2CH_2)_a$ 、$-NHC(O)-(CH_2CH_2O)_a-CH_2CH_2$ 、 $(CH2)_a-C(O)NH-$、$-NHC(O)-(CH_2)_a$ 或 中的任意一种，a 是 0 到 20 中的任意一个整数。

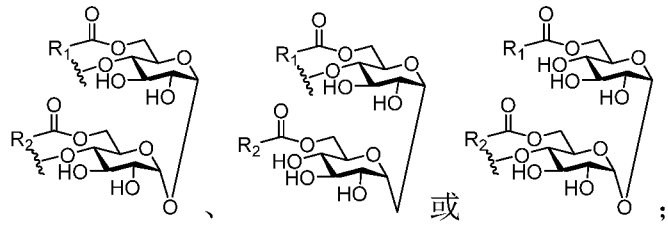
优选地，所述 L 选自  $(CH_2CH_2O)_a-$、$-(OCH_2CH_2)_a$ 、$-NHC(O)-(CH_2)_a$ 或 中的任意一种，a 是 0 到 20 中的任意一个整数。

优选地，所述 Y 选自下式中的任意一种，或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：



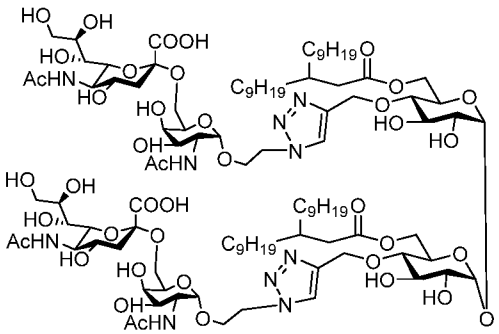
其中，R_1 和 R_2 各自独立地选自氢、$-(CH_2)_mCH_3$ 或 $-(CH_2)_mCHR^3{}_2$，R^3 为 $-(CH_2)_m-CH_3$ 或 $-C(O)-(CH_2)_m-CH_3$，m 是选自 8-26 的整数。

优选地，所述 Y 选自下式中的任意一种，或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：

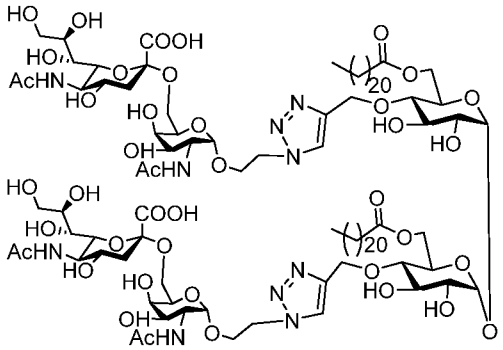


其中，R_1 和 R_2 各自独立地选自氢或 $-(CH_2)_mCH_3$， m 是选自 8-26 的整数。

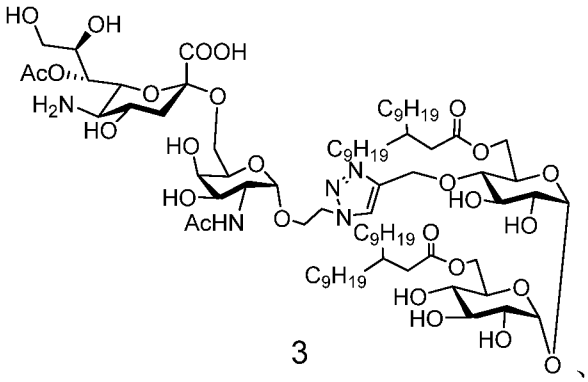
优选地，所述缀合物选自如下任一结构或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：



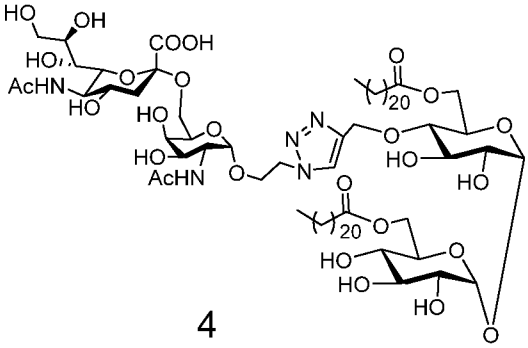
1、



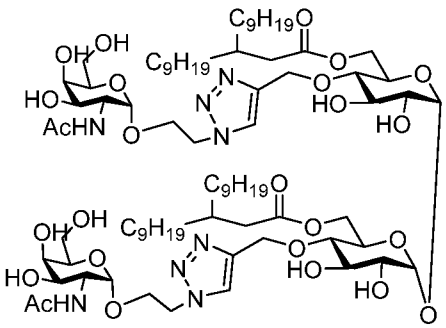
2、



3、



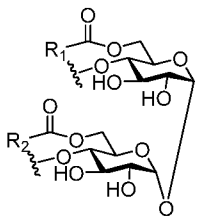
4、



L2-3

或 。

本发明同时所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物的制备方法，当 Y 为



时，制备过程包括：

S1. 化合物 7 在氢化钠、四丁基溴化铵催化作用下与溴丙炔反应得到化合物 8;

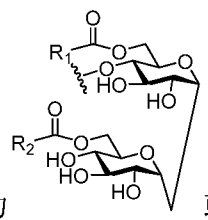
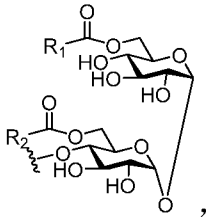
S2. 化合物 8 在三氟乙酸的条件下，脱去 PMB 基团得到化合物 9；

S3. 化合物 9 与相应的脂肪酸链进行酯化缩合得到对应的化合物 10 或 11；

S4. 化合物 10 与化合物 Tn 或 STn、化合物 11 与化合物 STn 分别在催化剂的作用

下反应得到化合物 19 或 20、化合物 21；

S5. 化合物 19、20 和 21 分别经脱苄基保护反应，即可得到目标产物；

当 Y 为  或 ，制备过程包括；

S11. 化合物 7 在 2,6-二甲基吡啶的催化下与叔丁基二甲基三氟甲磺酸酯反应得到化合物 12；

S21. 化合物 12 在氢化钠、四丁基溴化铵催化作用下与溴丙炔反应得到化合物化合物 13；

S31. 化合物 13 在三氟乙酸的条件下，脱去 PMB 基团得到化合物 14；

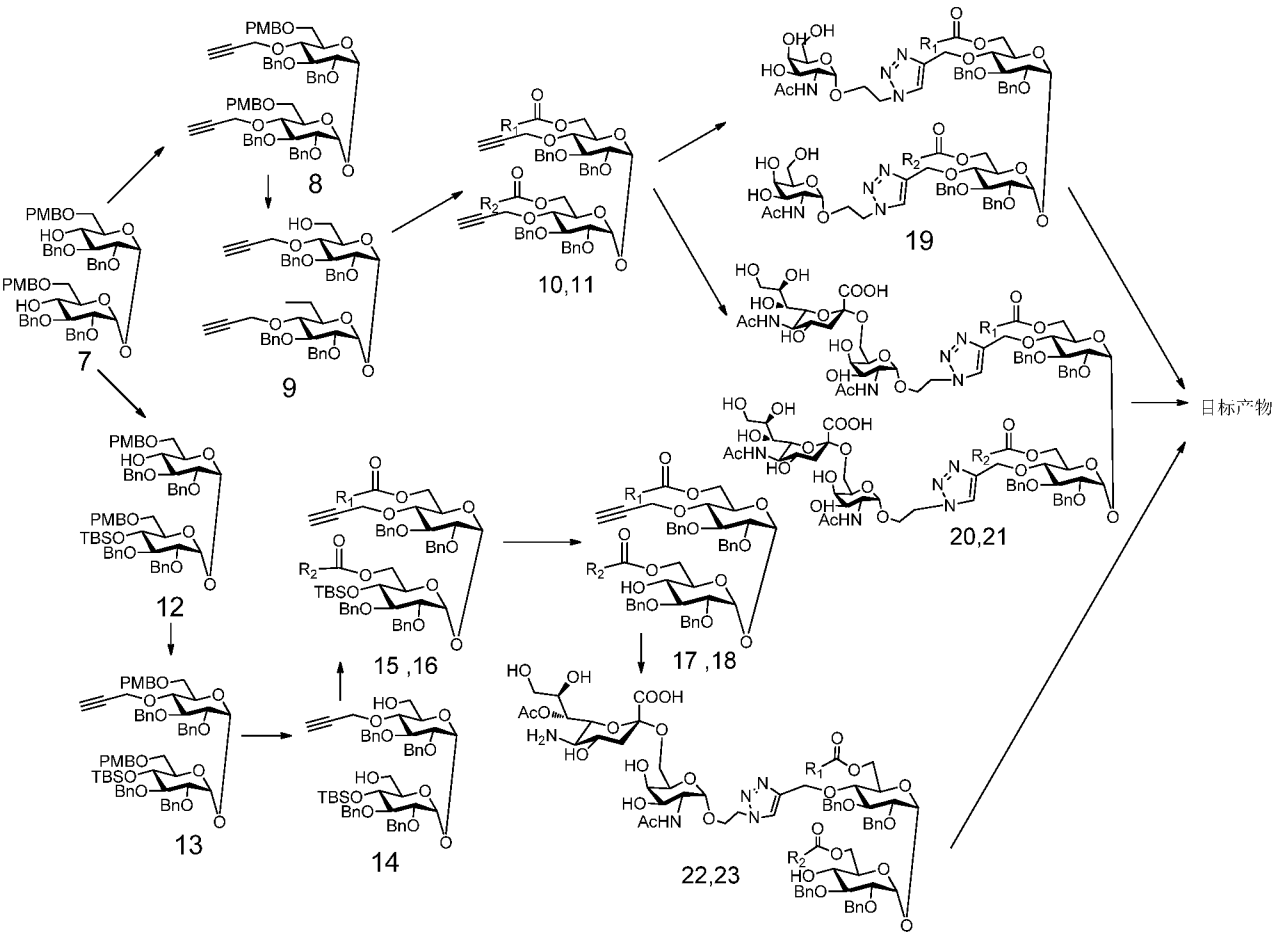
S41. 化合物 14 分别与相应的脂肪酸链进行酯化缩合得到对应的化合物 15 或 16；

S51. 化合物 15 或 16 分别脱去保护基团三甲基硅烷得到相应的化合物 17 或 18；

S61. 化合物 17 或 18 与三氟化硼乙醚反应得到相应的化合物 22 或 23；

S71. 化合物 22 或 23 分别经脱苄基保护反应，即可得到目标产物；

其中，化合物 7 至 23 的结构如下所示：



。

优选地，步骤 S5 和步骤 S71 中，脱苄基保护反应的催化剂为氢气/钯碳/氢氧化钯、氢气/钯碳或氢气/氢氧化钯等，优选氢气/钯碳；反应采用的溶剂为二氯甲烷/甲醇/水、二氯甲烷、甲醇或二氯甲烷/甲醇等；优选二氯甲烷/甲醇/水。

优选地，步骤 S4 和步骤 S61 中，反应的催化剂为碘化亚铜/N,N-二异丙基乙胺或碘化亚铜/N,N-二异丙基乙胺/冰乙酸等；优选碘化亚铜/N,N-二异丙基乙胺；反应的溶剂为二氯甲烷、二氯甲烷/甲醇或四氢呋喃/甲醇等；优选四氢呋喃/甲醇。

优选地，步骤 S51 中，反应的催化剂为三氟化硼乙醚或三氟乙酸的水溶液等，优选三氟化硼乙醚；反应的溶剂为乙腈、二氯甲烷或四氢呋喃等，优选为乙腈。

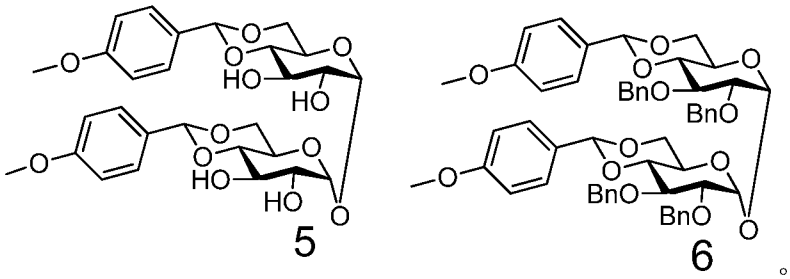
优选地，步骤 S3 和步骤 S41 中，反应过程中的缩合试剂可以选择 4-二甲氨基吡啶（DMAP）/1-(3-二甲基氨丙基)-3-乙基碳二亚胺甲碘盐（EDC·MEI），N,N’-二环己基碳二亚胺（DCC）/4-二甲氨基吡啶（DMAP）或 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐（EDC·HCl）/4-二甲氨基吡啶（DMAP）等，优选 DMAP/ EDC·HCl。

优选地，化合物 7 的制备过程如下：

S31. 以海藻糖为起始原料，在对甲苯磺酸的作用下，4-甲氧基苯甲醛二甲缩醛对原料进行 4,6 位羟基选择性保护，得到化合物 **5**，用溴化卞对裸露的羟基进行全苄基化得化合物 **6**；

S32. 化合物 **6** 选择性还原 4,4’位糖羟基得到化合物 **7**；

其中化合物 5 和 6 的结构如下：



。

优选地，步骤 S32 中，反应的催化剂为三乙基硅烷/三氟甲磺酸或氰基硼氢化钠/盐酸乙醚；反应在溶剂为二氯甲烷、甲醇或四氢呋喃中进行。

更优选地，步骤 S32 中，反应的催化剂为氰基硼氢化钠/盐酸乙醚；反应在溶剂二氯甲烷中进行。

本发明上述制备路线简短、反应条件温和、产率高、操作方便，能够用于工业化制备。

所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物在制备肿瘤疫苗中的应用也在本发明的保护范围之内。

所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物在制备抗肿瘤药物中的应用也在本发明的保护范围之内。

优选地，所述肿瘤疫苗或抗肿瘤药物为乳腺癌、子宫癌、卵巢癌、肺癌、肝癌、前列腺癌、黑素瘤、胰腺癌、肠癌、肾细胞癌、细胞性淋巴癌、甲腺癌、脑癌、胃癌或白血病的疫苗或药物。

与现有技术相比，本发明具有以下有益效果：

本发明以强效免疫刺激剂海藻糖衍生物 Vizantin 和 TDE 作为内嵌佐剂分别缀合糖抗原（STn、Tn）得到所述缀合物，其中海藻糖衍生物能提高糖抗原的免疫原性，使得所述缀合物能够诱导 T 细胞介导体液免疫，产生高浓度的高亲和力的 IgG 抗体，达到特异性杀死肿瘤细胞的目的，可制备成为肿瘤疫苗或抗肿瘤药物进行应用。

附图说明

图 1 为缀合物 **1**，**2**，**3** 与 **4** 制备的疫苗诱导小鼠产生的抗体免疫活性评价图。

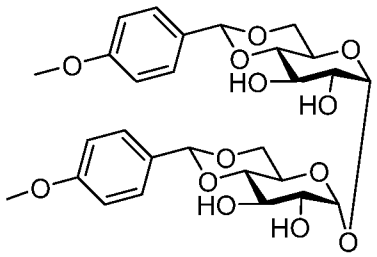
图 2 为缀合物 **1**，**2**，**3** 与 **4** 制备的疫苗诱导小鼠产生的抗体血清特异性杀死肿瘤细胞 MCF-7 的补体依赖性细胞毒性评价图。

具体实施方式

下面结合具体实施例对本发明做出进一步地详细阐述，所述实施例只用于解释本发明，并非用于限定本发明的范围。下述实施例中所使用的试验方法如无特殊说明，均为常规方法；所使用的材料、试剂等，如无特殊说明，为可从商业途径得到的试剂和材料。

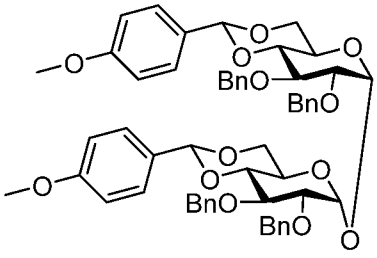
实施例 1 海藻糖衍生物与糖抗原缀合物 1、2、3、4 与 L2-3 的制备

1）化合物 **5** 的合成



将海藻糖（10.00 g, 0.03 mol）和对甲苯磺酸一水化合物（1.10 g, 5.84 mol）溶于二甲基甲酰胺中，在氮气保护下滴加茴香醛二甲缩醛（20 mL, 0.117 mol），室温搅拌反应，反应24小时后，乙酸乙酯稀释，饱和碳酸氢钠溶液，静置，有白色固体析出，抽滤，得化合物**5**（11.90 g, 70%）。^{1}H NMR (400 MHz，CD_3OD) δ7.41 –7.39 (d, J = 8.8 Hz, 4H), 6.88–6.68 (d, J = 8.8 Hz, 4H), 5.51 (s, 2H, PhCH), 5.11 (d, J =3.6 Hz, 2H, H-1& H-1′), 4.19 (dt, J = 10.0, 4.8 Hz, 2H, H5& H5′), 4.12-4.06 (m, 2H, H3& H3′), 4.03–3.98(t, J = 9.6, 2H, H4& H4′), 3.77 (s，6H), 3.72-3.67(t, J = 10.4 Hz, 2H), 3.61 (dd, J_1 = 9.2 Hz, J_2 = 4.0 Hz, 2H), 3.45 (t, J = 9.6, 2H), 3.31-3.29 (m, 2H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{28}H_{34}O_{13}[M + H]^+$579.2072 found, 579.2067.

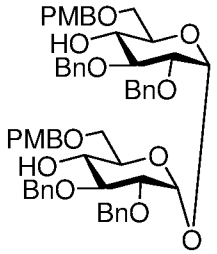
2）化合物 **6** 的制备



化合物 **5** (2.98 g，5.75 mmol)溶于 N-N-二甲基甲酰胺中，在氮气的保护下，加入

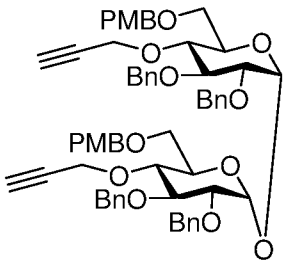
氢化钠(60% in oil; 2.30 g，57.5 mmol)，反应液降温到 0℃，依次加入溴化卞(5.5 mL，45.98 mmol)、四丁基碘化铵 (425.01 mg，1.15 mmol)。室温反应 18 h，反应液降温至 0℃，滴少量甲醇溶液进行反应的淬灭，乙酸乙酯稀释，饱和食盐水冲洗混合液，收集有机层，浓缩得粗品，硅胶柱色谱纯化得白色固体化合物 **6** (14.90 g, 78.4%)。^{1}H NMR (400 MHz， $CDCl_3$) δ7.34–7.24 (m, 24H), 6.92-6.90 （d, J = 8.8 Hz，4H）5.51 (s, 2H, PhCH)，5.11 (d, J = 3.8 Hz，2H, H-1& H-1′), 4.96 (d, J =10.8 Hz, 2H, $PhCH_2O$), 4.85-4.81 (dd, J = 10.8 Hz, 4H), 4.72 (d, J = 10.8 Hz, 2H, $PhCH_2O$), 4.27 (dt, J =10.0, 4.8 Hz, 2H, H5& H5′), 4.14 (t, J = 9.4 Hz, 2H, H3& H3′), 4.12–4.10 (m, 2H, H4& H4′), 3.83 (S, 6H), 3.69–3.59 (m, 6H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{54}H_{58}O_{11}$[M + H]$^+$939.395 found，939.3933.

3）化合物 **7** 的制备



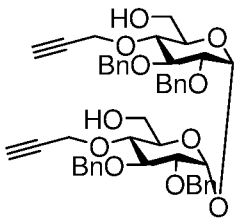
将 **6**(2.00 g，2.11 mol)溶于四氢呋喃中，依次加入氰基硼氢化钠、甲基橙指示剂，冰浴下，缓慢滴加盐酸乙醚溶液，滴加至反应液的颜色由橙黄色渐变为粉红色，且半分钟内不变化，然后，缓慢升至室温，继续反应 8 小时，加乙酸乙酯溶液稀释，饱和食盐水洗 3 次，有机层减压浓缩，得黄色油状液体粗品。硅胶柱色谱纯化得呈白色油状液体化合物 **7**（1.31 g, 68.2%）。^{1}H NMR (400 MHz，$CDCl_3$) δ7.37–7.23 (m, 20H), 7.19–7.16 (d, J = 6.4 Hz , 4H), 6.83–6.80 (d, J = 6.4 Hz ,4H), 5.20 (d, J = 3.6 Hz, 2H), 5.00 (d, J =11.2 Hz, 2H), 4.80 (d, J = 11.2 Hz, 2H), 4.70-4.60 (q, J = 12.0 Hz, 4H), 4.40 (q, J =12.0 Hz, 4H), 4.73–4.63 (m, 6H), 4.12–4.08 (dt, J_1 = 13.6 Hz, J_2 = 7.6 Hz, 2H), 3.89–3.87 (t, J = 9.2 Hz, 2H), 3.77 (s, 6H), 3.67–3.65 (t, J = 9.2 Hz, 2H)，3.53 (dd, J = 9.6, 3.6 Hz, 2H), 3.51–3.43 (qd, J = 10.4, 4.0 Hz, 4H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{56}H_{62}O_{13}$[M + COOH]$^-$ 987.4172 found, 987.4177

4）化合物 **8** 的合成



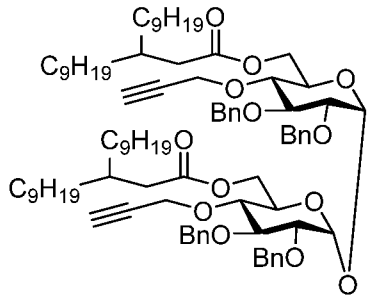
N-N'-二甲基甲酰胺溶解化合物 **7**(1.01 g, 1.06 mmol)，加入氢化钠 (60% in oil; 2.31 g, 57.5 mmol)，反应液降温至 0℃，依次加入溴丙炔(5.5 mL，45.98 mmol)、四丁基溴化铵(425.10 mg, 1.15 mmol)。室温搅拌反应 4 h，反应液的颜色由乳白变为浊黄色，滴少量甲醇溶液进行反应的淬灭，乙酸乙酯稀释反应液，饱和食盐水冲洗混合液，有机层浓缩的粗品，硅胶柱色谱纯化得白色油状化合物 **8** (0.45 g, 42.3%)。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ7.40–7.27 (m, 20H), 7.21–7.18 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H), 6.84–6.81 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H), 5.15-5.14 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H), 4.98-4.83 (q, *J* = 10.4 Hz, 4H), 4.64 (s, 4H), 4.48–4.45 (d, *J* = 11.6 Hz, 4H), 4.39–4.33 (m, 4H), 4.16–4.11 (m, 2H), 3.98–3.96 (t, *J* = 9.2 Hz, 2H), 3.79 (s, 6H)，3.53-3.48 (m, 6H), 3.40–3.37 (m, 4H), 2.41 (t, *J* = 2.4 Hz, 2H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{62}H_{66}O_{13}$[M + Na]$^+$1041.4396 found, 1041.4395.

5）化合物 **9** 的合成



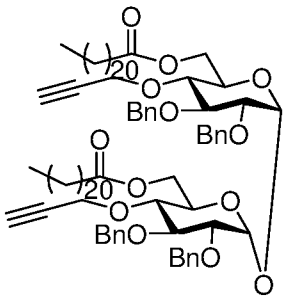
二氯甲烷溶解化合物 **8**（50.20 mg, 0.0491 mmol），缓慢滴加 5% TFA（0.15 mL），反应 2 h，二氯甲烷稀释，饱和碳酸氢钠冲洗，有机相减压浓缩得粗品，柱层析分离纯化得透明无色油状化合物 **9**（33.20 mg, 85.7% ）。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.39–7.28 (m, 20H), 5.12-5.11 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H), 5.01-4.98 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H), 4.86-4.83 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H), 4.72-4.65 (m, 4H), 4.46–4.37 (m, 4H), 4.04–4.00 (m, 4H), 3.72–3.60 (m, 4H), 3.54-3.49 (m, 4H), 2.49-2.48 (t, *J* = 2.0 Hz, 2H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{46}H_{50}O_{11}$ [M +COOH]$^-$ 823.3335 found, 823.3311.

6）化合物 **10** 的合成



二氯甲烷溶解化合物 **9**（21.03 mg），自制脂肪酸链（22.00 mg），EDC/HCl（4 eq）和 DMAP（1 eq），加热至 53℃，回流反应 12 h，二氯甲烷稀释，饱和碳酸氢钠溶液冲洗，收集有机相，减压浓缩得粗品，柱层析分离纯化得透明淡黄色油状化合物 **10**（20.36 mg, 54%）。^{1}H NMR (400 MHz in $CDCl_3$) δ7.40−7.27 (20H, m), 5.15-5.14 (2H, d, J = 3.2 Hz), 5.00-4.98 (2H, d, J = 10.8 Hz), 4.86-4.84 (2H, d, J = 10.8 Hz), 4.72-4.66 (2H, q, J = 12.4 Hz), 4.46-4.42 (2H, dd, J = 12.4 Hz), 4.32-4.28 (2H, dd, J_1 = 15.2 Hz, J_2 = 2.4 Hz), 4.19 (2H, m), 4.14 (4H, m), 4.01 (2H, t, J = 9.2 Hz), 3.52 (2H, dd, J_1 = 9.6 Hz, J_2 = 3.2 Hz), 3.45 (2H, t, J = 9.2 Hz), 2.44 (2H, s), 2.19(4H, d, J = 6.8 Hz), 1.80 (2H, m), 1.24 (64H, m), 0.87 (12H, t, J = 6.4 Hz). ^{13}C NMR (100 MHz in $CDCl_3$) δ 14.15, 22.71, 26.56, 26.51, 29.37, 29.64, 29.67, 29.95, 31.93, 33.71, 33.78, 34.86, 39.08, 60.14, 62.59, 68.89, 72.95, 74.62, 75.75, 77.25, 79.26, 79.70, 81.33, 94.02, 127.44, 127.58, 127.77, 127.92, 128.11, 128.48, 128.55, 137.78, 137.71, 138.45, 173.24. HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{88}H_{130}O_{13}$ [M + Na]$^{+}$ 1417.9404 found, 1417.9404.

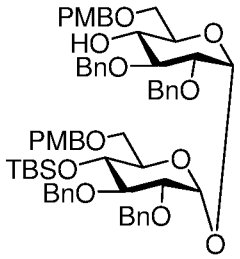
7）化合物**11**的制备



二氯甲烷溶解化合物**9**（40.20 mg），Behenic Acid（52.53 mg），EDC/HCl和DMAP，加热至53℃，回流反应12 h，二氯甲烷稀释，饱和碳酸氢钠溶液冲洗，收集有机相，减压浓缩得粗品，柱层析分离纯化得透明淡黄色油状化合物**11**（46.80 mg, 63%）。^{1}H NMR (400 MHz in $CDCl_3$) δ7.37−7.25 (20H, m), 5.15-5.14 (2H, d, J = 3.6 Hz), 5.00-4.98 (2H, d, J = 10.8 Hz), 4.86-4.84 (2H, d, J = 10.8 Hz), 4.69 (4H, m), 4.37-4.33 (2H, dd, J_1 = 15.6 Hz, J_2 = 2.4 Hz), 4.32-4.28 (2H, dd, J_1 = 15.6 Hz, J_2 = 2.4 Hz), 4.15-4.03 (6H, m), 3.96

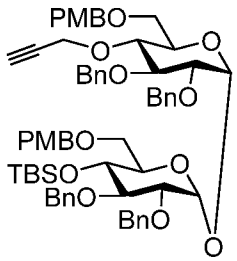
(2H, t, J = 9.2 Hz), 3.49-3.44 (2H, dd, J_1 = 10.0 Hz, J_2 = 3.6 Hz), 3.41-3.39 (4H, t, J = 9.2 Hz, 2H), 2.37 (2H, t, J = 2.4 Hz), 2.25 (2H, t, J = 7.6 Hz), 1.48 (4H, m), 1.20 (76H, m), 0.82 (6H, t, J = 6.8 Hz). ^{13}C NMR (100 MHz in $CDCl_3$) δ 14.17, 22.73, 24.88, 29.19, 29.30, 29.40, 29.52, 29.65, 29.70, 29.74, 31.96, 34.16, 60.11, 62.73, 68.90, 72.95, 74.63, 75.76, 77.27, 79.18, 79.72, 81.36, 94.04, 127.44, 127.59, 127.81, 127.95, 128.13, 128.51, 128.57, 137.78, 137.71, 138.41, 173.51. HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{90}H_{134}O_{13}$, $[M + Na]^+$ 1445.9710 found, 1445.9730.

8）化合物 **12** 的合成



二氯甲烷溶解化合物 **7**（270.21 mg, 0.29 mmol ）和 2,6-二甲基吡啶（0.15 mL），0℃下缓慢加入叔丁基二甲基三氟甲磺酸酯（0.14 mL），室温下搅拌反应 30 min，加水淬灭，二氯甲烷萃取，有机相减压浓缩，粗品过硅胶柱，得淡黄色油状化合物 **12**（171.14 mg, 56.5 %）。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.56–7.09 (m, 26H), 6.84 –6.82 (d, J = 6.0 Hz, 4H), 5.32-5.26 (d, J = 3.6 Hz, 2H), 5.10-5.01 (dd, J_1 = 28.4 Hz, J_2 = 11.6 Hz, 2H), 4.85 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 4.76-4.75 (m, 2H), 4.63 (d, J = 12.0 Hz, 2H), 4.55–4.52 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 4.45–4.32 (m, 4H), 3.92–3.81 (m, 2H), 3.80 (s, 6H), 3.67-3.58 (m, 4H), 3.51–3.43 (m, 4H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{62}H_{76}O_{13}Si$，$[M + Na]^+$ 1079.4947 found, 1079.4951.

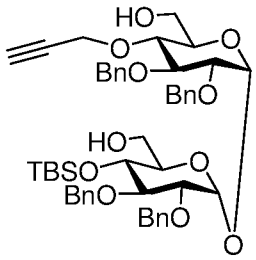
9）化合物 **13** 的合成



-N'-二甲基甲酰胺溶解化合物 **12**（366.1 mg, 1eq），在氮气的保护下，加入氢化钠（60% in oil; 6 eq），0℃条件下依次加入溴丙炔（6 eq）与四丁基溴化铵（6 eq）；室温反应 4 h，反应液降温至 0℃，缓慢滴加少量甲醇淬灭反应，二氯甲烷稀释，依次用

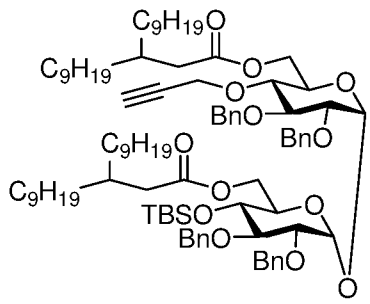
饱和碳酸氢钠溶液、饱和食盐水冲洗，收集有机相，减压浓缩，过硅胶柱分离纯化的化合物 **13**（380.01 mg, 97%）.^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.40–7.27 (m, 20H), 7.21–7.18 (m, 4H), 6.84 –6.81 (m, 4H), 5.26 (dd, J_1 = 22.4 Hz, J_2 = 2.8 Hz, 2H), 5.12 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 4.87-4.84 (d, J = 11.6 Hz, 2H), 4.64 (s, 4H), 4.39–4.33 (m, 4H), 4.16–4.11 (m, 2H), 3.79 (m, 6H), 3.53-3.48 (m, 6H), 3.40–3.37 (m, 4H), 2.41 (m, 2H), 2.43 (s, 1H), 0.85 (s, 9H), 0.01 (dd, J = 3.2 Hz, 6H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{65}H_{78}O_{13}Si$， $[M + Na]^+$ 1117.5104 found,1117.5107.

10）化合物 **14** 的合成



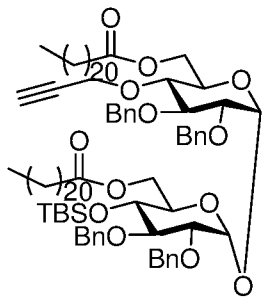
二氯甲烷溶解化合物**13**（50.20 mg, 0.049 mmol），缓慢滴加5% TFA（0.15 mL），反应2 h，二氯甲烷稀释，饱和碳酸氢钠溶液冲洗，收集有机相，减压浓缩，所得粗品经柱层析分离纯化，得透明无色油状化合物**14**（33.10 mg， 87.5%）；^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.32–7.12 (m, 20H), 5.13-5.08 (dd, J_1 = 21.6 Hz, J_2 = 2.8 Hz, 2H), 5.01-4.98 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 5.01-4.98 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 4.94-4.91 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 4.82-4.80 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 4.73-4.70 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 4.66–4.59 (m, 2H), 4.56–4.50 (m, 2H), 4.38–4.30 (m, 2H), 4.03–4.01 (t, J = 9.2 Hz, 2H), 3.93-3.83 (m, 2H), 3.76-3.70 (m, 2H), 3.62-3.52 (m, 4H), 3.49-3.43 (m, 5H), 2.47 (s, 1H), 0.87 (s, 9H), 0.01 (d, J = 24.0 Hz, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 139.09, 138.53, 137.97, 137.86, 128.52, 128.48, 128.46, 128.17, 128.15, 127.79, 127.76, 127.63, 127.43, 127.08, 93.54, 81.16, 81.08, 80.32, 79.96, 79.85, 77.43, 77.32, 76.80, 75.52, 74.91, 74.54, 73.13, 72.93, 72.85, 71.13, 70.38, 61.38, 59.97, 26.08, 18.17, -3.66, -4.88. HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{49}H_{62}O_{11}Si$, $[M + COOH]^-$ 899.4043 found, 899.4034.

10）化合物 **15** 的合成



二氯甲烷溶解化合物**14**（140.01 mg），自制脂肪酸链（213.77 mg），EDC/HCl和DMAP，加热至53℃，回流反应12 h，二氯甲烷稀释，饱和碳酸氢钠溶液冲洗，收集有机相，减压浓缩得粗品，柱层析分离纯化得透明淡黄色油状化合物**15**（169.50 mg, 70.3%）；^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ7.37−7.18 (m, 20H), 5.22-5.18 (dd, J_1 = 16.8 Hz, J_2 = 3.2 Hz, 2H), 5.11-5.08 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 5.00-4.97 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 4.88-4.86 (d, J = 10.4 Hz 1H), 4.77-4.63 (m, 4H), 4.57-4.54 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 4.44-4.27 (dq, J_1 = 15.2 Hz, J_2 = 2.0 Hz, 2H), 4.18-4.04 (m, 6H), 3.89 (dd, J_1 = 12.0 Hz, J_2 = 3.6 Hz, 1H), 3.79 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 3.65-3.63 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 3.57-3.53 (td, J_1 = 9.2 Hz, J_2 = 3.2 Hz, 2H), 3.46 (t, J = 9.2 Hz, 1H), 2.44 (s, 1H), 2.18 (m, 4H), 1.78 (s, 2H), 1.26 (m, 64H), 0.89-0.85 (m, 21H), 0.01-0.00 (d, J = 2.4 Hz, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 14.15, 22.71, 26.56, 26.51, 29.37, 29.64, 29.67, 29.95, 31.93, 33.71, 33.78, 34.86, 39.08, 60.14, 62.59, 68.89, 72.95, 74.62, 75.75, 77.25, 79.26, 79.70, 81.33, 94.02, 127.44, 127.58, 127.77, 127.92, 128.11, 128.48, 128.55, 137.78, 137.71, 138.45, 173.24. HR-ESI-MS (m/z): calcd for $C_{91}H_{142}O_{13}Si$ $[M + Na]^+$ 1494.0112 found, 1494.0111.

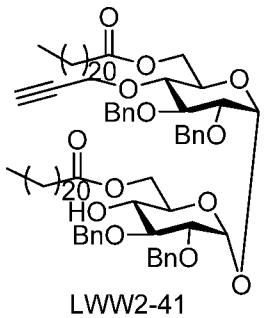
11）化合物**16**的合成



二氯甲烷溶解化合物**14**（250.00 mg），Behenic Acid（398.80 mg），EDC/HCl（223.47 mg）和DMAP（35.75 mg），加热至53℃，回流反应12 h，二氯甲烷稀释，饱和碳酸氢钠溶液冲洗，收集有机相，减压浓缩得粗品，柱层析分离纯化得透明淡黄色油状化合物**16**（334.51 mg, 76.2%）；^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ7.36−7.21 (m, 20H), 5.22-5.18 (dd, J_1 = 16.8 Hz, J_2 = 3.2 Hz, 2H), 5.11-5.08 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 5.00-4.97 (d, J = 11.6 Hz,

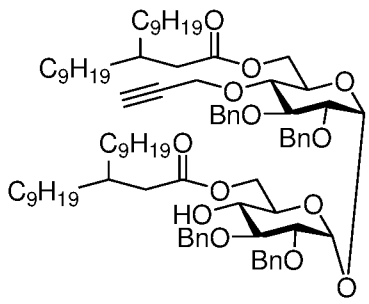
1H), 4.88-4.86 (d, J = 10.4 Hz 1H), 4.75-4.56 (m, 5H), 4.44-4.20 (m, 2H), 4.09 (m, 6H), 3.93-3.76 (m, 2H), 3.66-3.45 (m, 4H), 2.43 (d, J = 4 Hz, 1H), 2.2(m, 4H), 1.62 (s, 2H), 1.25(m, 76H), 0.88-0.85 (m, 15H), 0.01-0.00 (s, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ -5.02, -3.62, 1.03, 14.14, 18.13, 22.71, 24.79, 24.87, 26.01, 29.18, 29.29, 29.38, 29.50, 29.65, 29.72, 31.94, 34.11, 34.15, 60.06, 62.79, 68.82, 70.57, 70.60, 72.74, 73.09, 74.59, 74.80, 75.58, 79.73, 79.89, 80.89, 81.10, 93.38, 127.03, 127.32, 127.58, 127.81, 127.82, 127.87, 128.11, 128.20, 128.47, 128.57, 137.61, 137.75, 138.37, 138.99, 173.47. HR-ESI-MS (*m/z*) calcd for $C_{96}H_{138}O_{13}Na$, $(M+Na)^+$ 1522.0036, found 1522.0020.

12）化合物**17**与**18**的合成



LWW2-41

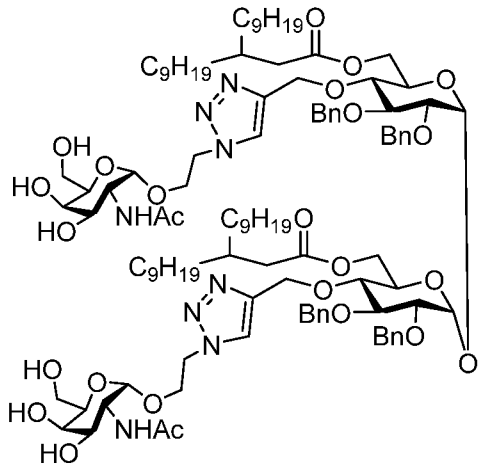
乙腈溶解化合物**16**（220.01 mg），0℃下缓慢滴加三氟化硼乙醚（40μL），反应液逐渐变黄色，反应2小时后，用饱和碳酸氢钠溶液终止中和反应，二氯甲烷溶液稀释萃取，收集有机相，减压浓缩，所得粗品经柱层析分离纯化，得透明淡黄色油状液体化合物**18**（140.00 mg, 68.9%）。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ7.36−7.21 (m, 20H), 5.17-5.13 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 5.01-4.83 (dq, J_1 = 10.8 Hz, J_2 =6.0 Hz, 4H), 4.73-4.66 (m, 4H), 4.44-4.40 (dd, J_1 = 15.2 Hz, J_2 =2.4 Hz, 1H), 4.34-4.28 (m, 2H), 4.23-4.11 (m, 4H), 4.04-4.00 (t, J = 9.6 Hz, 2H), 3.90-3.85 (m, 2H), 3.56-3.40 (m, 4H), 2.43 (t, J = 2.4 Hz, 1H), 2.29-2.24 (m, 4H), 1.56 (m, 4H), 1.25(m, 76H), 0.88-0.85 (t, J = 2.4 Hz, 6H). HR-ESI-MS (*m/z*) calcd for $C_{87}H_{132}O_{13}$, $(M + Na)^+$1407.9578, found 1407.9567.



同方法制得白色固体化合物**17**（41.76 mg，60.4%）。^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ7.36−7.30 (m, 20H), 5.18 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 5.01-4.83 (dq, J_1 = 10.8 Hz, J_2 =6.0 Hz, 4H),

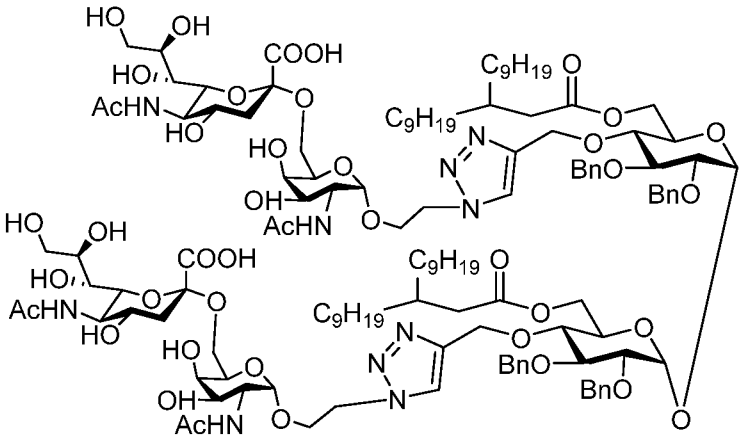
4.75-4.56 (m, 4H), 4.45-4.41 (dd, J_1 = 15.2 Hz, J_2 =2.4 Hz, 1H), 4.32-4.28 (m, 2H), 4.23-4.11 (m, 4H), 4.04-3.99 (t, J = 9.6 Hz, 2H), 3.89-3.85 (m, 2H), 3.54-3.40 (m, 4H), 2.45 (s, 1H), 2.21-2.18 (m, 4H), 1.80 (m, 2H), 1.25 (s, 64H), 0.88-0.85 (t, J = 6.4 Hz, 12H), ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ14.15, 22.71, 26.52, 26.57, 29.38, 29.65, 29.67, 29.94, 31.93, 33.71, 33.75, 33.77, 33.79, 34.88, 34.94, 39.04, 39.10, 60.14, 62.55, 68.93, 69.92, 70.16, 72.87, 73.05, 74.66, 75.53, 75.76, 78.91, 79.40, 79.68, 80.61, 81.40, 94.04, 94.37, 127.45, 127.80, 127.83, 127.93, 128.05, 128.10, 128.50, 128.55, 137.73, 137.75, 138.39, 138.66, 173.27, 174.23. HR-ESI-MS (*m/z*) calcd for $C_{85}H_{128}O_{13}Na$, (M + Na) $^+$1379.9247, found 1379.9206.

13）化合物**19**的合成



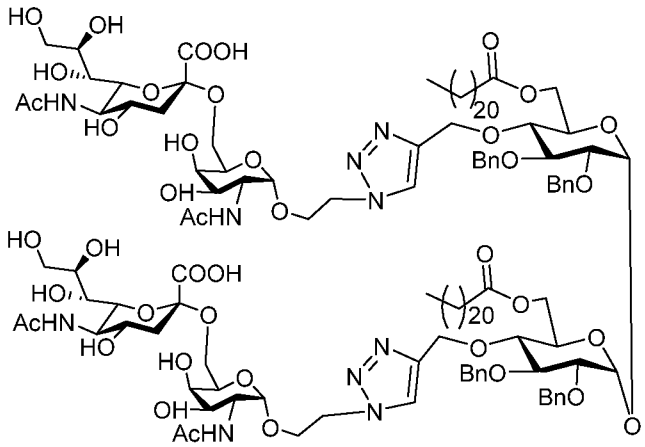
四氢呋喃与甲醇（1：1）溶解化合物**10**(40.00 mg, 0.028 mmol)、Tn（20.00 mg, 0.068 mmol）、碘化亚铜（106.41 mg，0.56 mmol），加入N,N-二异丙基乙胺（90 μL），室温下搅拌反应24小时；硅藻土过滤掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂得粗品；硅胶柱分离纯化得到化合物**19** (24.35 mg, 43%)。^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD /$CDCl_3$) δ7.83 (s, 2H), 7.21-7.16 (m, 20H), 5.11 (s, 2H), 4.86 (m, 4H), 4.62 (m, 20H), 4.03 (m, 14H), 3.70 (s, 4H), 3.49 (m, 13H), 2.1 (s, 4H), 1.83 (s, 6H), 1.68 (s, 64H), 0.78(m, 12H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{108}H_{166}N_8O_{25}$, $[M + H]^+$ 1976.2037 found,1976.2007

14）化合物**20**的合成



四氢呋喃与甲醇（1：1）溶解化合物 **10** (40.01 mg，0.028 mmol)、**STn**（20 mg，0.068 mmol）、碘化亚铜（106.41 mg，0.56 mmol），加入 N,N-二异丙基乙胺（90 μL），室温下搅拌反应 24 小时；硅藻土过滤掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂得粗品；硅胶柱分离纯化得到化合物 **20** (38 mg, 51.9%)。^{1}H NMR (400 MHz, $CD_3OD/CDCl_3$) δ7.63 (s, 1H), 7.38-7.24 (m, 20H), 5.19 (s, 2H), 5.00-4.96 (d, J = 12.8 Hz, 4H), 4.86-4.82 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 4.76-4.69 (m, 8H), 3.56 (m, 5H), 4.51 (s, 4H), 4.13 (m, 4H), 3.97-3.89 (m, 5H), 3.90-3.63 (m, 24H), 3.58-3.47 (m, 10H), 2.75-2.69 (dd, J_1 = 13.2 Hz, J_2 = 3.6 Hz, 4H), 2.24-2.21 (d, J = 6.8 Hz, 5H), 2.03-20.1 (d, J = 9.2 Hz, 12H), 1.84 (m, 4H), 1.26 (s, 64H), 0.88 (t, J = 6.4 Hz, 12H) ; HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{130}H_{200}N_{10}O_{41}$, $[M + 2H]^{+2}$ 1279.7009 found, 1279.7037.

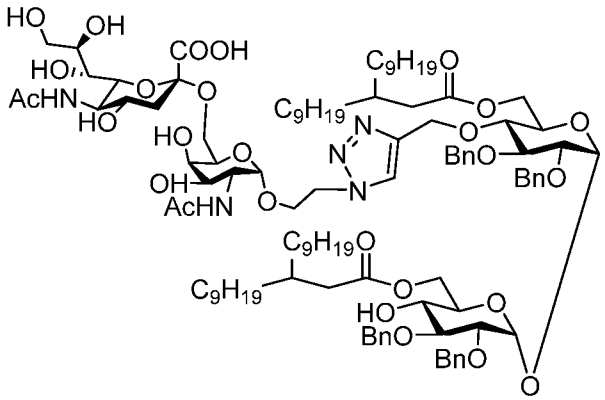
15）化合物**21**的合成



四氢呋喃与甲醇（1：1）溶解化合物 **11** (30.01 mg, 0.021 mmol)、**STn**（29.01 mg，0.050 mmol）、碘化亚铜（79.80 mg, 0.42mmol），加入 N,N-二异丙基乙胺（90 μL），室温下搅拌反应 24 小时；硅藻土过滤掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂得粗品；硅胶

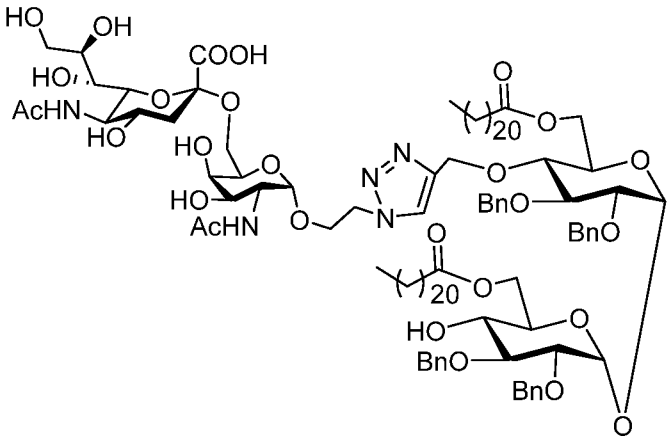
柱分离纯化得到化合物 **21** (22.31 mg, 43%)。^{1}H NMR (400 MHz, $CD_3OD/CDCl_3$) δ7.74-7.67 (d, *J* = 26.4 Hz, 1H), 7.36-7.07 (m, 20H), 5.19 (d, *J* = 5.2 Hz, 2H), 5.07-4.93 (d, 1H), 4.90-4.82 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 4.76-4.63 (m, 4H), 4.60-4.54 (m, 2H), 4.41-4.09 (m, 20H), 3.92-3.65 (m, 14H), 3.58-3.48 (m, 8H), 3.26-3.25 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H), 2.56-2.52 (m, 2H), 2.34-2.27 (m, 4H), 2.08-1.98 (m, 12H), 1.80-1.62 (m, 2H), 1.60-1.50 (m, 4H), 1.26 (s, 76H), 0.88 (m, 6H). HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{132}H_{204}N_{10}O_{41,}$ $[M + 2H]^{+2}$ 1293.7165 found, 1293.7167

16）化合物**22**的合成



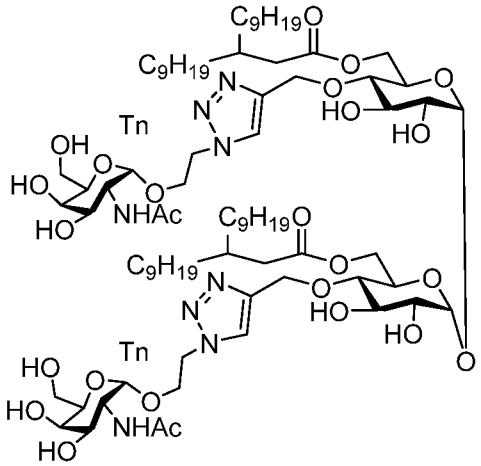
四氢呋喃与甲醇（1：1）溶解化合物 **17** (35.01 mg，0.026 mmol)、**STn**（20 mg，0.068 mmol）、碘化亚铜（106.41 mg，0.56 mmol），加入 N,N-二异丙基乙胺（90 μL），室温下搅拌反应 24 小时；硅藻土过滤掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂得粗品；硅胶柱分离纯化得到化合物 **22** (14.5 mg，31.1%)。^{1}H NMR (400 MHz, $CD_3OD/CDCl_3$) δ7.77-7.71 (s, 1H), 7.40-7.24(m, 20H), 5.21-5.20 (dd, J_1 = 6.8Hz, J_2 = 3.2 Hz, 2H), 5.01-4.87 (m, 5H), 4.78-4.75 (d, *J* = 11.6 Hz, 2H), 4.71-4.47 (m, 8H), 4.23-4.16 (m, 5H), 4.16-4.01 (m, 7H), 4.13 (m, 4H), 3.97-3.44 (m, 21H), 2.75-2.71 (m, 1H), 2.24-2.20 (m, 4H), 2.05 (s, 6H), 1.84-1.77 (m, 4H), 1.62 (m, 1H), 1.46 (m, 4H), 1.26 (s, 64H), 0.88 (t, *J* = 5.6 Hz, 12H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{106}H_{163}N_5O_{27,}$ $[M + H]^+$ 1939.1608 found, 1939.1629

17）化合物**23**的合成



四氢呋喃与甲醇（1：1）溶解化合物 **18** (36.01 mg, 0.026 mmol)、**STn**（20 mg，0.068 mmol）、碘化亚铜（106.41 mg，0.56 mmol），加入 N,N-二异丙基乙胺（90 μL），室温下搅拌反应 24 小时；硅藻土过滤掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂得粗品；硅胶柱分离纯化得到化合物 **23** (22.80 mg, 44.5%)。^{1}H NMR (400 MHz, $CD_3OD/CDCl_3$) δ7.65 (s, 1H), 7.38-7.28(m, 20H), 5.22-5.20 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 5.01-4.90 (m, 5H), 4.78-4.71 (m, 6H), 4.51-4.48 (m, 3H), 4.27-3.99 (m, 11H), 3.60-3.43 (m, 7H), 2.74-2.70 (m, 1H), 2.27 (s, 4H), 2.04-2.00 (d, *J* = 12.0 Hz, 6H), 1.80-1.75 (m, 1H), 1.57 s, 5H), 1.26 (s, 64H), 0.88 (t, *J* = 5.6 Hz, 12H); HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{108}H_{167}N_5O_{27,}$ $[M + H]^+$ 1967.1921 found, 1967.1908

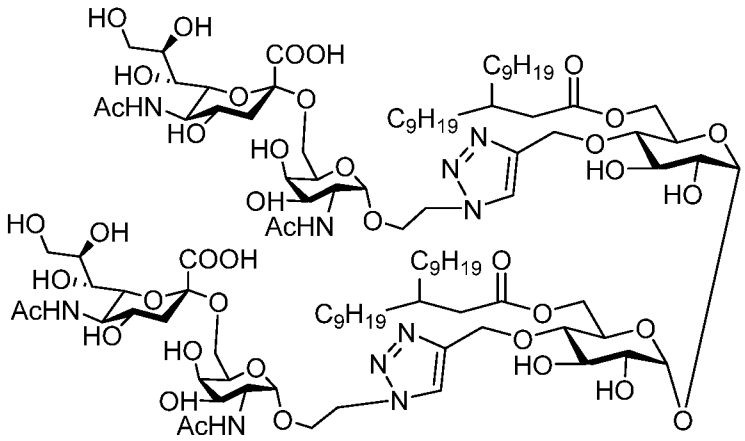
18）化合物 **L2-3** 的合成



二氯甲烷/甲醇/水（3：3：1，10.0 mL）溶解化合物 **19**（10.05 mg），加入钯碳（15.64 mg），通入氢气，密封搅拌 40 个小时，硅藻土滤过掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂，得到白色固体化合物 **L2-3**（4.81 mg，56.7%）。^{1}H NMR (400 MHz , $CD_3OD/CDCl_3$) δ8.01 (s, 2H), 4.92-4.90 (m, 2H), 4.88 (s, 2H), 4.78-4.50 (m, 14H), 4.21 (m, 2H), 4.23-4.17 (m, 4H), 4.01-3.92 (m, 4H), 3.86-3.82 (t, *J* = 9.2 Hz, 2H), 3.72-3.68 (m, 4H), 3.64-3.48 (m,

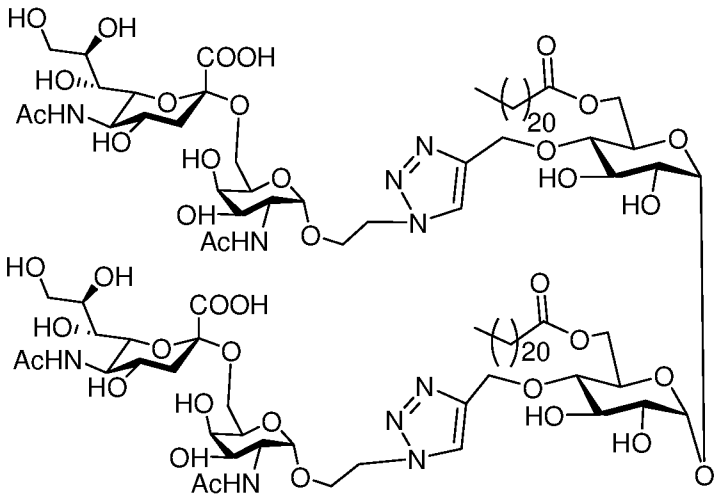
7H), 3.41-3.38 (dd, J_1 = 9.2 Hz, J_2 = 2.8 Hz, 2H), 3.39-3.23 (t, J = 9.6 Hz, 4H), 2.97-2.92 (q, J = 7.6 Hz, 1H), 2.61 (s, 1H), 2.20-2.18 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 1.88 (s, 6H), 1.75 (s, 2H), 1.19(s, 64H), 0.88 (t, J = 5.6 Hz, 12H). HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{80}H_{142}N_8O_{25}$ $[M + H]^+$ 1616.0159 found, 1616.0162.

19）化合物 **1** 的合成



二氯甲烷/甲醇/水（3：3：1，10.0 mL）溶解化合物 **20**（10.05 mg），加入钯碳（15.64 mg），通入氢气，密封搅拌 40 个小时，硅藻土滤过掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂，得到白色固体化合物 **1**（4.72 mg，53.8%）。^{1}H NMR (400 MHz, $CD_3OD/CDCl_3$) δ 8.0 (s, 2H), 4.96(s, 2H), 4.90-4.87 (m, 3H), 4.6-4.53 (m, 5H), 4.22-4.11 (m, 7H), 3.98-3.86 (m, 6H), 3.80-3.69 (m, 10H), 3.65-3.47 (m, 10H), 3.43-3.31 (m, 8H), 2.94-2.91 (dd, J_1 = 11.2 Hz, J_2 = 4.8 Hz, 2H), 2.60 (m, 2H), 2.21-2.19 (d, J = 6.4 Hz, 4H), 1.93-1.75 (m, 12H), 1.69-1.62 (m, 2H), 1.55-1.48 (m, 2H), 1.21 (s, 64H), 0.88 (t, J = 6.0 Hz, 12H). HR-ESI-MS (m/z): calcd for $C_{102}H_{176}N_{10}O_{41}$ $[M + Na]^+$ 2220.1887 found, 2220.1807.

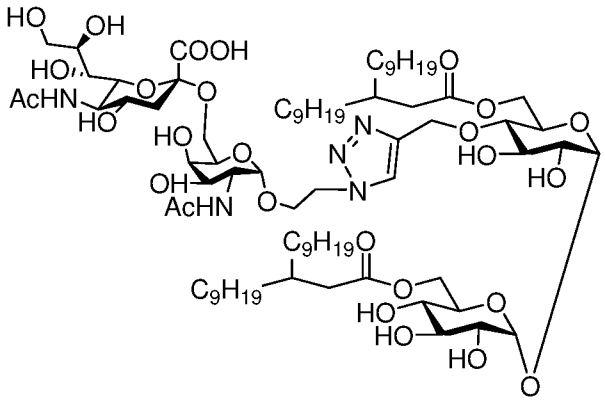
20）化合物 **2** 的合成



二氯甲烷/甲醇/水（3：3：1，10.0 mL）溶解化合物 **21**（10.05 mg），加入钯碳（15.64

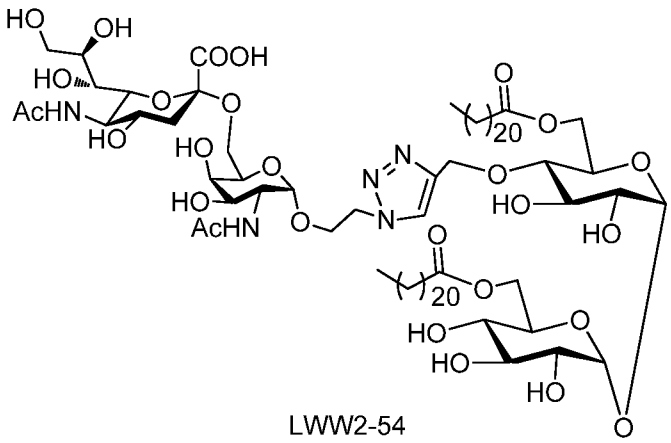
mg），通入氢气，密封搅拌 40 个小时，硅藻土滤过掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂，得到白色固体化合物 **2**（6.10 mg, 54%）。^{1}H NMR (400 MHz, $CD_3OD/CDCl_3$) δ 8.09 (s, 2H), 5.1 (s, 2H), 4.97-4.96 (d, J = 1.2 Hz, 2H), 4.85-4.74 (m, 5H), 4.43-4.13 (m, 10H), 4.10-3.96 (m, 9H), 3.91-3.68 (m, 25H), 3.62-3.41 (m, 11H), 3.05-3.00 (dd, J_1 = 14.4 Hz, J_2 = 7.2 Hz, 2H), 2.75-2.70 (m, 2H), 2.41-2.37 (t, J = 7.2 Hz, 4H), 2.05 (s, 12H), 1.81 (m, 2H), 1.66-1.62 (m, 4H), 1.27 (s, 76H), 0.88 (t, J = 6.0 Hz, 6H). HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{104}H_{180}N_{10}O_{41}$, $[M + 2H]^{+2}$ 1113.6226 found, 1113.6251.

21）化合物 **3** 的合成



二氯甲烷/甲醇/水（3：3：1，10.0 mL）溶解化合物 **22**（10.05 mg），加入钯碳（15.64 mg），通入氢气，密封搅拌 40 个小时，硅藻土滤过掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂，得到白色固体化合物 **3**（6.01 mg, 74.1%）。^{1}H NMR (400 MHz, $CD_3OD/CDCl_3$) δ 8.12 (s, 1H), 5.1 (s, 2H), 5.00-4.96 (m, 2H), 4.66-4.61 (m, 4H), 4.36-4.30 (m, 2H), 4.29-4.16 (m, 4H), 4.09-3.97 (m, 5H), 3.9-3.42 (m, 22H), 3.23-3.1 (m, 2H), 3.05-3.00 (dd, J_1 = 14.8 Hz, J_2 = 7.2 Hz, 2H), 2.78-2.67 (m, 4H), 2.32-2.28 (m, 4H), 2.3 (m, 4H), 2.05 (s, 6H), 1.85 (s, 2H), 1.66-1.62 (m, 1H), 1.28 (s, 64H), 0.88 (t, J = 5.6 Hz, 6H). HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{78}H_{139}N_5O_{27}$, $[M + H]^+$ 1578.9730 found, 1578.9726

22）化合物 **4** 的合成



LWW2-54

二氯甲烷/甲醇/水（3：3：1，10.0 mL）溶解化合物 **23**（10.05 mg），加入钯碳（15.64 mg），通入氢气，密封搅拌 40 个小时，硅藻土滤过掉不溶物，滤液减压蒸馏除去溶剂，得到白色固体化合物 **4**（5.9 mg，66.5%）。^{1}H NMR (400 MHz, $CD_3OD/CDCl_3$) δ 8.12 (s, 1H), 5.11-5.10 (d, J = 5.4 Hz, 2H), 5.00-4.95(m, 2H), 4.38-4.21 (m, 5H), 4.01-4.67 (m, 16H), 3.63-3.45 (m, 6H), 3.1-3.0 (m, 2H), 2.72-2.70 (d, J = 21.6 Hz, 1H), 2.41-2.38 (td, J_1 = 17.2 Hz, J_2 = 7.6 Hz, 4H), 2.07 (s, 6H), 1.81-1.78 (m, 1H), 1.66-1.62 (m, 4H), 1.26 (s, 76H), 0.89 (t, J = 5.6 Hz, 6H). HR-ESI-MS (*m/z*): calcd for $C_{80}H_{143}N_5O_{27}$, $[M + H]^+$ 1607.0043 found, 1607.0044.

实施例 2：ELISA 免疫分析

（1）将制备好的化合物 1 至 4 分别作为疫苗分子 **1**，**2**，**3** 与 **4**，按照疫苗分子：二硬脂酰基磷脂酰胆碱把（DSPC）：胆固醇= 1:6.5:5 溶解于 DCM-MeOH(1:1，v/v，2 mL)混合液中，旋干溶剂，使瓶壁上形成一层薄的脂质膜。加入 2.0 mL 羟乙基哌嗪乙硫磺酸（HEPES）缓冲液（20 Mm, pH = 7.5），超声 10~20 min 得脂质体 **1**，**2**，**3** 与 **4**。

（2）小鼠的免疫：取 6-8 周龄的 C57BL/6 小鼠，分成四组，每组 6 只。通过小鼠皮下注射的方式进行免疫试验，采用一次初始免疫和三次增强免疫的方案，分别在第 1, 14, 21, 28 天注射步骤（1）中制备的脂质体 **1**，**2**，**3** 与 **4**，每只每次注射量 0.1 mL，在第 0, 27, 35, 49 天采血，每只小鼠取血 0.1 mL ~ 0.2 mL， 4℃放置半个小时，离心，5000 转/分钟，分离上层清亮血清。在本实验中，空白对照组 （为免疫前血清）用到的是第一次取血分离出的血清，测定疫苗滴度用到的是第 35 天采血分离出的血清。

（3）ELISA 免疫分析：用 0.1 M 碳酸盐缓冲液（pH 9.6），将 Tn-HSA 或 STn-HSA 配置成 2.0 μg / mL 溶液，以每孔 100 μL 的量加入 96 孔板，放入 4℃孵育过夜；第二

天放入37℃培养箱孵育一小时；用PBST（PBS+0.05%吐温-20）洗板3次，每孔加入300 μL洗液。洗板后，加入blocking buffer (PBST/1% BSA)；每孔加入250 μL；常温孵育一小时，用PBST洗板3次。样品血清稀释，用PBS按照对半数稀释法从1：300倍稀释至1：656100倍；将稀释好的血清以每孔100 μL加入96孔板中，放置在37℃培养箱孵育两个小时，洗板三次。分别在每孔加入100 μL的HRP （辣根过氧化物酶）标记的Kappa, IgG, IgM，室温孵育一个小时；洗板3次。加入TMB（3, 3' ,5 ,5'-四甲基联苯胺）溶液，每孔加入100 μL，室温避光显色20 min。加入0.5 M H_2SO_4溶液，每孔加100 μL。在450 -570 nm双波长处，用酶标仪检测吸光度。

4）将吸光度（OD）值相对于抗血清稀释值作图，并获得最佳拟合线。使用该线的方程式来计算OD值达到0.2时的稀释度值，并且根据稀释值的倒数计算抗体滴度如图6所示。

从图1可看出，本发明实施例1合成的海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物**1**，**2**，**3**与**4**，在无外加佐剂的情况下，均能诱导产生高滴度的抗体，产生的特异性IgG抗体滴度是IgM的2~3倍多，表明共价偶联的糖抗原疫苗能诱导T细胞介导的体液免疫；其中双接STn抗原的缀合物疫苗**1**与**2**引发的IgG抗体滴度均略高于单接抗原的缀合物**3**与**4**，说明抗原的空间越复杂，表位数多，对免疫反应具有一定的促进作用；海藻糖衍生物脂肪酸链为具有支链的$CH(C_9H_{19})_2$的缀合物疫苗**1**与**3**诱导产生的抗体分别略高于脂肪酸链为酯链$(CH_2)_{20}CH_2$的缀合物疫苗**2**与**4**，说明海藻糖衍生物脂肪酸链的个数与长短对活性有一定影响。

实施例3：抗体介导的互补依赖细胞毒性(CDC)

用胰酶消化处于对数生长期的CT-26细胞（小鼠结肠癌细胞），以每孔1×10^4个细胞种于96孔板，在37℃培养过夜，用不含血清的1640培养基洗板两次。取化合物**1**组在38天取血的6只小鼠血清样品，每个样品取7μl，然后将6只小鼠的血清样品混合，用不含血清的1640培养基稀释50倍，得小鼠血清稀释液。化合物**2**组、**3**组、**4**组以及空白对照组的小鼠血清稀释液按上述方法制备。**1**组、**2**组、**3**组、**4**组以及空白对照组（为免疫前血清）均设置样品最大酶活性对照组，样品对照组以及样品处理组，每个组平行做6个复孔，每孔加入100 μl稀释后的小鼠血清溶液，将96孔板置于37℃培养2h。用不含血清的1640培养基洗板两次后，在样品处理组每孔加入100μl兔补体血清溶液，最大酶活性对照组每孔加入100μl的LDH释放液，样品对照组每孔

加入 100μl 不含血清的 MEM 培养基，置于 37℃培养 1h。

在新的 96 孔板每孔加入 100 μl 的 PBS 溶液，小心吸取 40μl 上述 96 孔板的细胞上清液加至此新的 96 孔板中，每孔加入 60μl 的 LDH 检测液，避光孵育 30 min。用酶标仪在 490 nm 处检测。

细胞裂解率（%）=（样品处理组吸光度-样品对照组吸光度）/（最大酶活性对照组吸光度-样品对照组吸光度）×100%。

结果如图 2 所示，本发明实施例 1 合成的 **1**，**2**，**3** 与 **4** 糖疫苗诱导产生的抗血清均能介导 CT-26 细胞裂解，细胞裂解率均显著高于空白对照组（$P<0.001$），说明糖疫苗 **1**、**2**、**3** 与 **4** 所诱导产生的抗体都有杀死肿瘤细胞能力。

最后所应当说明的是，以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非对本发明保护范围的限制，对于本领域的普通技术人员来说，在上述说明及思路的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动，这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等，均应包含在本发明权利要求的保护范围之内。

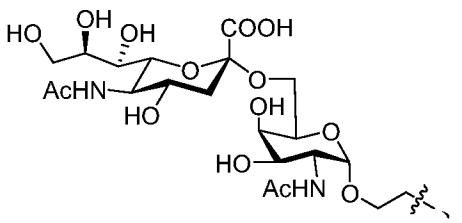
权 利 要 求 书

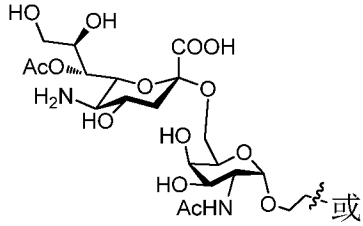
1. 一种海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物，其特征在于，所述缀合物结构通式如下式 I 所示：

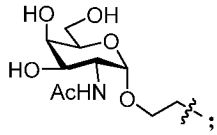
[X—L—Y]

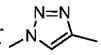
式（I）

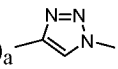
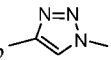
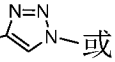
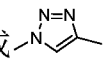
其中，X 表示糖抗原，选自下式中的任意一种糖抗原，或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：


、

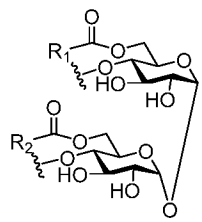

或

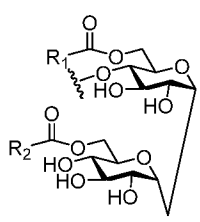

；

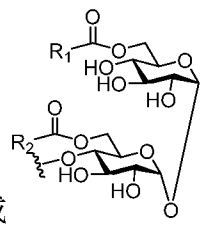
L 表示连接体，选自以下$(CH_2CH_2O)_a$-CH_2CH_2-C(O)NH-、

$(CH_2CH_2O)_a$-、-$(OCH_2CH_2)_a$、-NHC(O)-$(CH_2CH_2O)_a$-CH_2CH_2-C(O)NH-、-NHC(O)-$(CH_2CH_2O)_a$-CH_2CH_2、-$(OCH_2CH_2)_a$-CH_2CH_2-C(O)NH-、(CH2)$_a$-C(O)NH-、-NHC(O)-$(CH_2)_a$-C(O)NH-、-NHC(O)-$(CH_2)_a$或中的任意一种，a 是 0 到 20 中的任意一个整数；

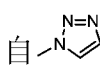
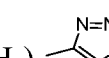
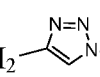
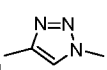
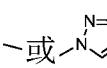
Y 表示海藻糖衍生物，选自下式中的任意一种，或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：


、


或


；

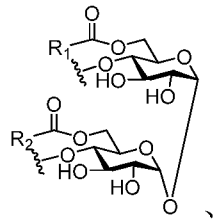
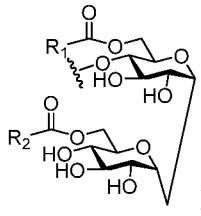
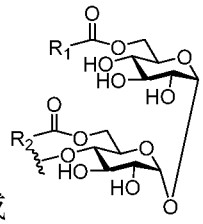
其中，R_1 和 R_2 各自独立地选自氢、-CH_2-$CH(OR^3)$-$(CH_2)_m$-CH_3，-$(CH_2)_mCH_3$ 或-$(CH_2)_mCHR^3{}_2$，R^3 为-$(CH_2)_m$-CH_3 或-C(O)-$(CH_2)_m$-CH_3，m 是选自 8-26 的整数。

2. 根据权利要求 1 所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物，其特征在于，所述 L 选自$(CH_2CH_2O)_a$-、-$(OCH_2CH_2)_a$、-NHC(O)-$(CH_2CH_2O)_a$-CH_2CH_2、(CH2)$_a$-C(O)NH-、-NHC(O)-$(CH_2)_a$或中的任意一种，a 是 0 到 20

中的任意一个整数。

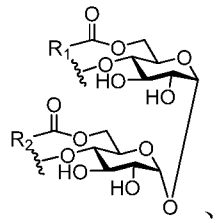
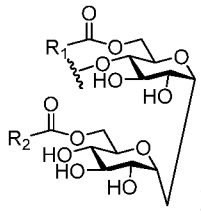
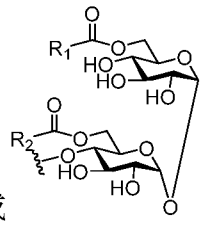
3. 根据权利要求 2 所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物，其特征在于，所述 L 选自-$(CH_2CH_2O)_a$-、-$(OCH_2CH_2)_a$、-NHC(O)-$(CH_2)_a$或中的任意一种，a 是 0 到 20 中的任意一个整数。

4. 根据权利要求 1 所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物，其特征在于，所述 Y 选自下式中的任意一种，或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：

、或；

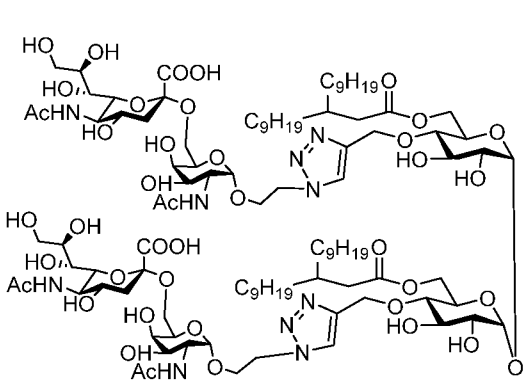
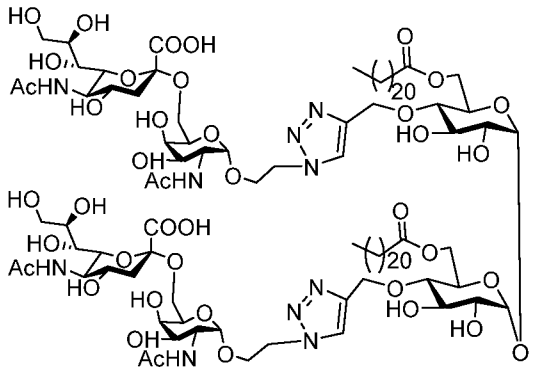
其中，R_1 和 R_2 各自独立地选自氢、-$(CH_2)_mCH_3$ 或-$(CH_2)_mCHR^3{}_2$，R^3 为-$(CH_2)_m$-CH_3 或-C(O)-$(CH_2)_m$-CH_3，m 是选自 8-26 的整数。

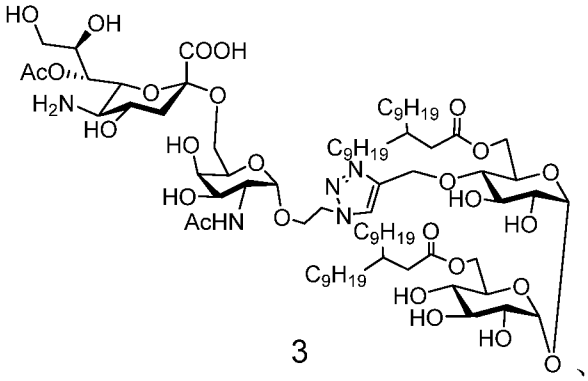
5. 根据权利要求 4 所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物，其特征在于，所述 Y 选自下式中的任意一种，或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：

、或；

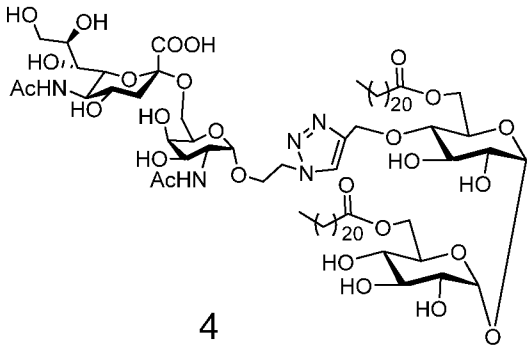
其中，R_1 和 R_2 各自独立地选自氢或-$(CH_2)_mCH_3$， m 是选自 8-26 的整数。

6. 根据权利要求 1 所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物，其特征在于，所述缀合物选自如下任一结构或其可要药用盐、水合物或溶剂化物：

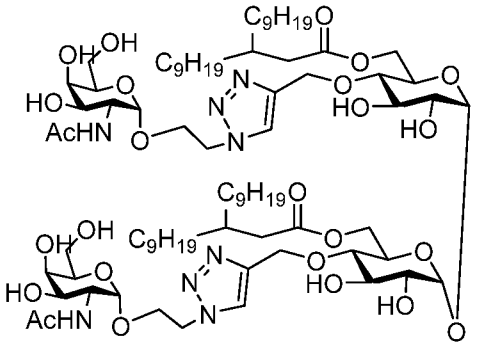

1、

2、



3、

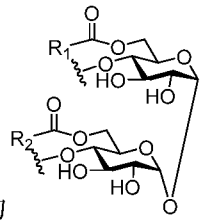


4



L2-3

或 。

7. 权利要求 1 至 6 任一所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物的制备方法，其特征在于，当 Y 为  时，制备过程包括：

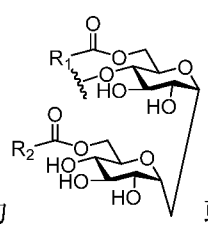
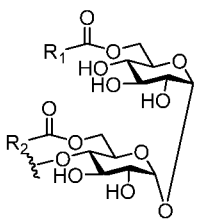
S1. 化合物 7 在氢化钠、四丁基溴化铵催化作用下与溴丙炔反应得到化合物 8;

S2. 化合物 8 在三氟乙酸的条件下，脱去 PMB 基团得到化合物 9；

S3. 化合物 9 与相应的脂肪酸链进行酯化缩合得到对应的化合物 10 或 11；

S4. 化合物 10 与化合物 Tn 或 STn、化合物 11 与化合物 STn 分别在催化剂的作用下反应得到化合物 19 或 20、化合物 21；

S5. 化合物 19、20 和 21 分别经脱苄基保护反应，即可得到目标产物；

当 Y 为  或  ，制备过程包括；

S11. 化合物 7 在 2,6-二甲基吡啶的催化下与叔丁基二甲基三氟甲磺酸酯反应得到

化合物 12；

S21. 化合物 12 在氢化钠、四丁基溴化铵催化作用下与溴丙炔反应得到化合物化合物 13；

S31. 化合物 13 在三氟乙酸的条件下，脱去 PMB 基团得到化合物 14；

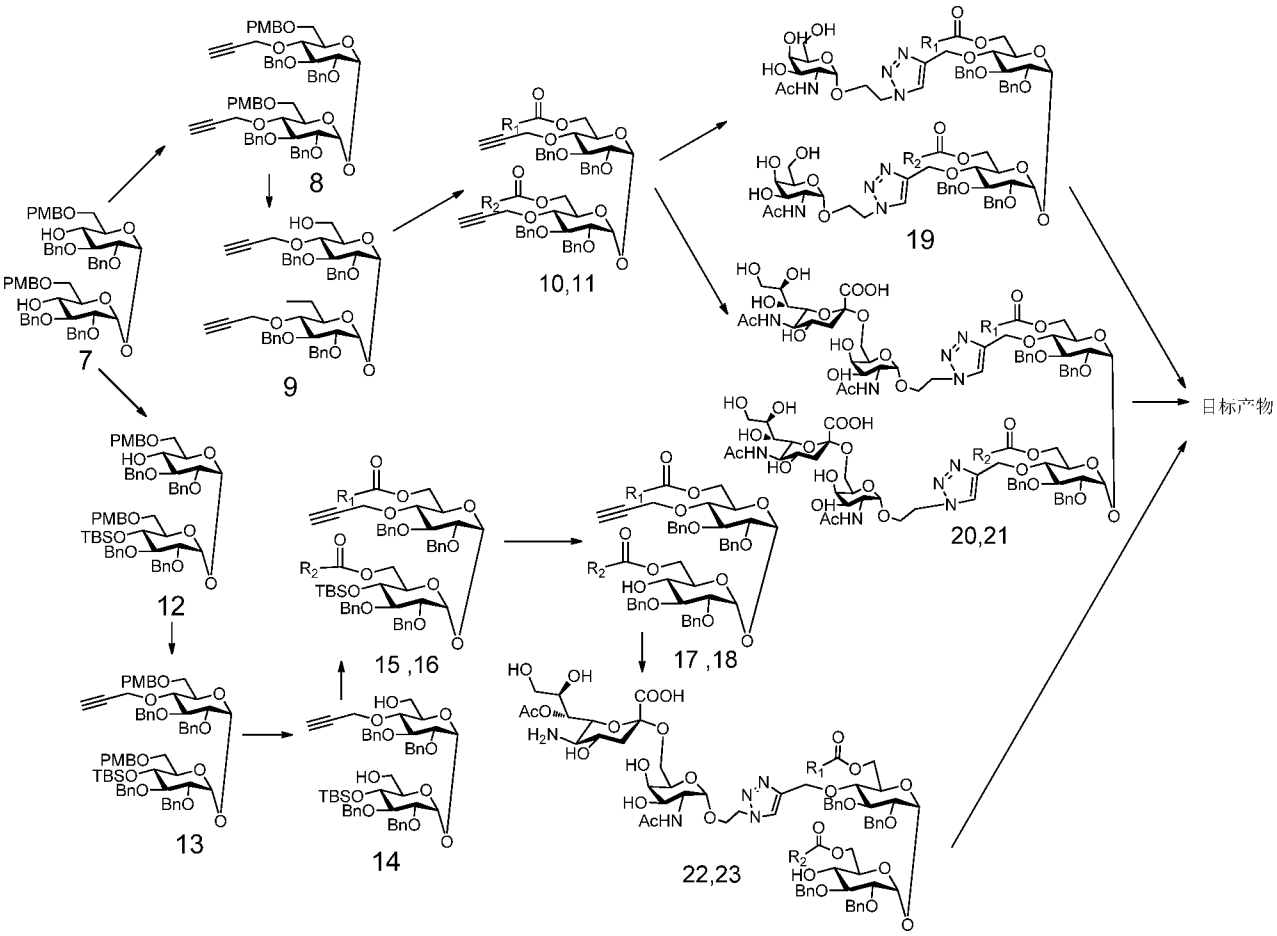
S41. 化合物 14 分别与相应的脂肪酸链进行酯化缩合得到对应的化合物 15 或 16；

S51. 化合物 15 或 16 分别脱去保护基团三甲基硅烷得到相应的化合物 17 或 18；

S61. 化合物 17 或 18 与三氟化硼乙醚反应得到相应的化合物 22 或 23；

S71. 化合物 22 或 23 分别经脱苄基保护反应，即可得到目标产物；

其中，化合物 7 至 23 的结构如下所示：



。

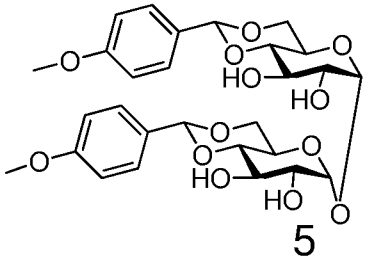
8. 根据权利要求 7 所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物的制备方法，其特征在于，化合物 7 的制备过程如下：

S31. 以海藻糖为起始原料，在对甲苯磺酸的作用下，4-甲氧基苯甲醛二甲缩醛对原料进行 4,6 位羟基选择性保护，得到化合物 **5**，用溴化卞对裸露的羟基进行全苄基

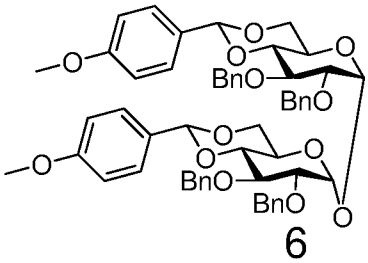
化得化合物 **6**；

S32. 化合物 **6** 选择性还原 4,4’位糖羟基得到化合物 **7**；

其中化合物 5 和 6 的结构如下：



5



6

。

9. 权利要求 1 至 6 任一所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物在制备肿瘤疫苗中的应用。

10. 权利要求 1 至 6 任一所述海藻糖衍生物与糖抗原的缀合物在制备抗肿瘤药物中的应用。

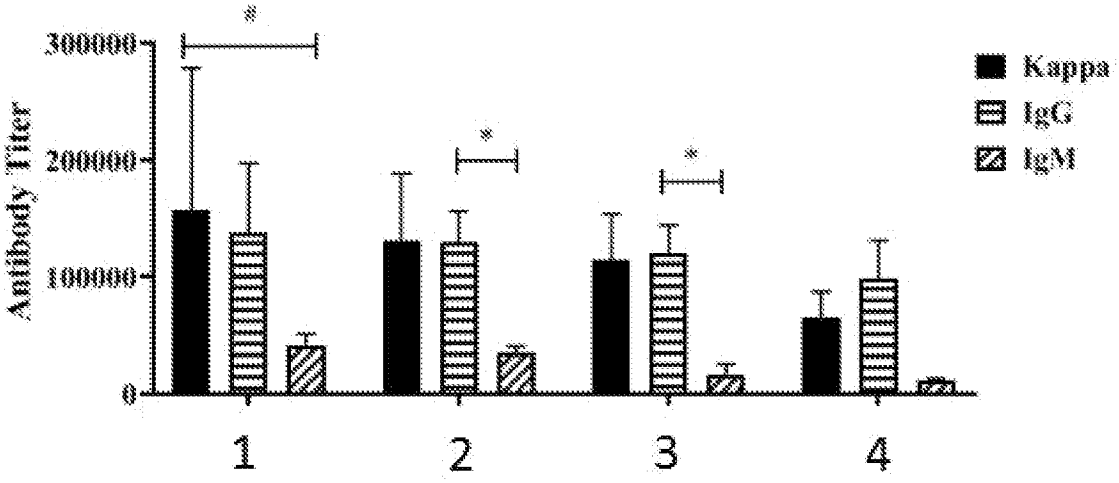

Antibody Titer
300000
200000
100000
0
1
2
3
4
Kappa
IgG
IgM
*
*
*

图 1

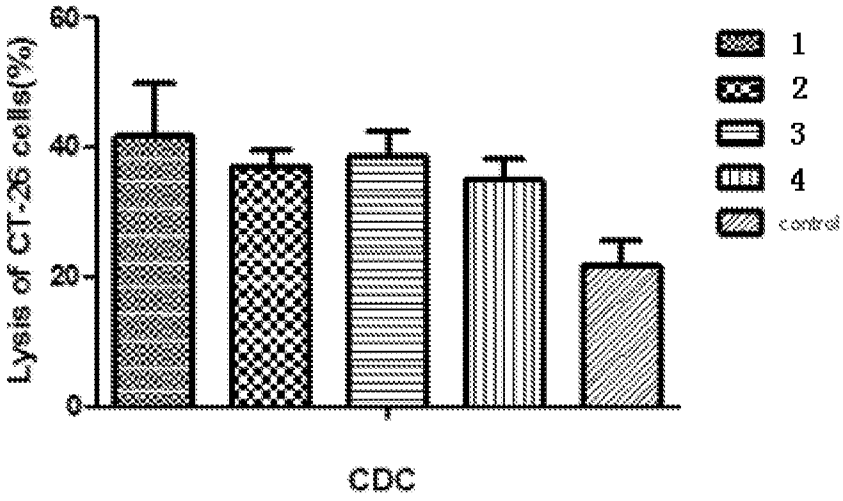

Lysis of CT-26 cells(%)
60
40
20
0
CDC
1
2
3
4
control

图 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2020/130230

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H 15/26(2006.01)i; C07H 1/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07H/-,A61P/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNKI, CNTXT, DWPI, CNABS, REGISTRY, CAPLUS: 疫苗, 糖抗原, 海藻糖, 佐剂, 肿瘤, 广州中医药大学, adjuvant, cancer, tumor, vaccine, trehalose, vizantin, sugar antigen, carbohydrate antigen, sub-structure search according to claim 1

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 111875649 A (GUANGZHOU UNIVERSITY OF CHINESE MEDICINE) 03 November 2020 (2020-11-03) claims	1-10
A	CN 110075291 A (GUANGZHOU UNIVERSITY OF CHINESE MEDICINE) 02 August 2019 (2019-08-02) entire document	1-10
A	WO 2011014771 A1 (UNIV WAYNE STATE et al.) 03 February 2011 (2011-02-03) entire document	1-10
A	Qianli Wang et al. "Carbohydrate-Monophosphoryl Lipid A Conjugates Are Fully Synthetic Self-Adjuvanting Cancer Vaccines Eliciting Robust Immune Responses in the Mouse" 《*ACS Chem. Biol.*》, Vol. 7, 20 October 2011 (2011-10-20), pp. 235-240	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
13 April 2021	**21 April 2021**

Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088** **China**	
Facsimile No. **(86-10)62019451**	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2020/130230

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 111875649 A	03 November 2020	None	
CN 110075291 A	02 August 2019	WO 2020155222 A1	06 August 2020
WO 2011014771 A1	03 February 2011	CN 102596220 A	18 July 2012
		US 2012190633 A1	26 July 2012
		US 8809285 B2	19 August 2014

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2020/130230

A. 主题的分类

C07H 15/26(2006.01)i; C07H 1/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07H/-,A61P/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

CNKI,CNTXT,DWPI,CNABS,REGISTRY,CAPLUS:疫苗，糖抗原，海藻糖，佐剂，肿瘤，广州中医药大学，adjuvant, cancer,tumor，vaccine，trehalose，vizantin，sugar antigen，carbohydrate antigen，根据权利要求1进行的子结构检索

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 111875649 A (广州中医药大学广州中医药研究院) 2020年 11月 3日 (2020-11-03) 权利要求书	1-10
A	CN 110075291 A (广州中医药大学广州中医药研究院) 2019年 8月 2日 (2019-08-02) 全文	1-10
A	WO 2011014771 A1 (UNIV WAYNE STATE等) 2011年 2月 3日 (2011-02-03) 全文	1-10
A	Qianli Wang等. "Carbohydrate-Monophosphoryl Lipid A Conjugates Are Fully Synthetic Self-Adjuvanting Cancer Vaccines Eliciting Robust Immune Responses in the Mouse" 《ACS Chem. Biol.》, 第7卷，2011年 10月 20日 (2011-10-20), 第235-240页	1-10

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2021年 4月 13日	2021年 4月 21日

ISA/CN的名称和邮寄地址	受权官员
中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	王少华
传真号 (86-10)62019451	电话号码 62086353

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2020/130230

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	111875649	A	2020年 11月 3日	无			
CN	110075291	A	2019年 8月 2日	WO	2020155222	A1	2020年 8月 6日
WO	2011014771	A1	2011年 2月 3日	CN	102596220	A	2012年 7月 18日
				US	2012190633	A1	2012年 7月 26日
				US	8809285	B2	2014年 8月 19日