

(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
2020 年 8 月 6 日 (06.08.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/155519 A1

(51) 国际专利分类号:

C07H 15/203 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
C07H 15/18 (2006.01) A61K 39/106 (2006.01)
C07H 1/00 (2006.01) A61K 39/385 (2006.01)
C08B 37/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/091200

(22) 国际申请日: 2019 年 6 月 14 日 (14.06.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

201910077944.1 2019 年 1 月 28 日 (28.01.2019) CN

(71) 申请人: 江南大学(JIANGNAN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。

(72) 发明人: 尹健(YIN, Jian); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。
胡静(HU, Jing); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。

道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 刘中华(LIU, Zhonghua); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。 秦春君(QIN, Chunjun); 中国江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号张勇, Jiangsu 214122 (CN)。

(74) 代理人: 哈尔滨市阳光惠远知识产权代理有限公司(HARBIN SHINEIP INTELLECTUAL PROPERTY AGENCY CO., LTD.); 中国黑龙江省哈尔滨市松北区科技一街 99 号 18 栋 E501 张勇, Heilongjiang 150028 (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, 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,

(54) Title: SYNTHESIS OF HELICOBACTER PYLORI O2 SEROTYPE O-ANTIGEN OLIGOSACCHARIDE COMPOUND

(54) 发明名称: 一种幽门螺旋杆菌O2血清型O抗原寡糖类化合物的合成

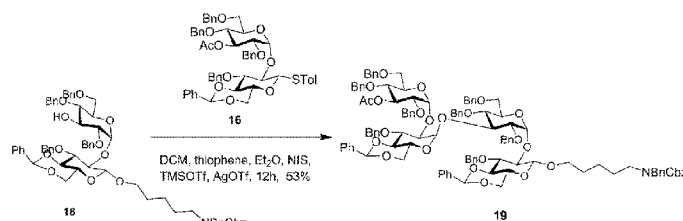


图 5

(57) Abstract: Disclosed is a synthesis of a Helicobacter pylori O2 serotype O-antigen oligosaccharide compound, which belongs to the field of organic synthesis. The invention obtains, through chemical synthesis, Helicobacter pylori O2 serotype O-antigen compounds with disaccharide fragment units, in which the disaccharide fragment units can range from one to twelve. In the present invention, a chemical synthesis method highly effective for the generation of a glucose α glycosidic bond is developed by utilizing a protecting agent strategy, a temperature effect, a solvent effect and an additive effect. The method is used for synthesizing a Helicobacter pylori O2 serotype O-antigen oligosaccharide compound assembled with an amino linking arm. The synthesized Helicobacter pylori O2 serotype O-antigen oligosaccharide compound assembled with an amino linking arm can be coupled to a carrier protein to produce a glycoconjugate for use in immunological research, which is important for the prevention and treatment of Helicobacter pylori.

(57) 摘要: 本发明公开了一种幽门螺旋杆菌O2血清型O抗原寡糖类化合物的合成, 属于有机合成领域。本发明通过化学合成得到幽门螺旋杆菌O2血清型O-抗原二糖至二十四糖。本发明利用保护剂策略、温度效应、溶剂效应和添加剂效应, 开发了一种非常有利于葡萄糖 α 糖苷键生成的化学合成方法。将此方法用于合成组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌O2血清型O-抗原寡糖类化合物; 合成得到的组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌O2血清型O-抗原寡糖类化合物可以与载体蛋白制成糖缀合物, 用于免疫学研究, 对发展预防和治疗幽门螺旋杆菌具有重要作用。

SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, 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))。

一种幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物的合成

技术领域

本发明涉及一种幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物的合成，属于有机合成领域。

背景技术

幽门螺旋杆菌是一种微需氧型的革兰氏阴性菌，全球约有一半人口感染了这种致病菌，因为较低的社会经济地位和较差的医疗卫生条件，在发展中国家中这一比例更是高达 80%，据报道在我国城市和农村分别有 47%和 66%的人口感染了幽门螺旋杆菌。口-口传播和粪-口传播是该致病菌最主要的传播方式，母婴传播也是该致病菌的传播方式之一。

大部分的幽门螺旋菌的感染发生儿童时期，一旦感染，治病菌可能在胃粘膜上存在一生。尽管 70%的被感染者在临床上是无症状的，但是这种致病菌已经被证实与一系列胃肠道疾病有关，15%-20%的长期感染者将会引发胃炎，胃和十二指肠溃疡等一系列胃肠道疾病，另外还有 1%-2%的长期感染者将发展成胃癌。胃癌已成为全球发病率第五高（~952000 例，占癌症病人的 6.2%，2012 年 WHO 数据）和死亡率第三高的癌症（~723000 例，占癌症病人的 8.8%，2012 年 WHO 数据）1994 年 WHO 下属的国际癌症研究机构（IACR）将幽门螺旋杆菌分类为 I 类致癌物。

目前针对幽门螺旋杆菌感染相关的胃肠道疾病的主要治疗方法是一种利用两种抗生素（甲硝咪唑和克拉霉素）和一种质子泵抑制剂的联合治疗方法，称之为三联疗法。这种方法在治疗幽门螺旋杆菌上取得了一定的效果，但是仍有不少不足之处，主要限制表现在：1）抗生素在胃肠道中的代谢时间比较短，2）抗生素在胃这种特殊 pH 低环境下相对不稳定，3）幽门螺杆菌一般寄居在胃黏膜处，而抗生素浓度在黏膜浓度很低，4）更重要的是随着耐药性细菌的出现抗生素的治疗效果有逐渐减弱的趋势。基于以上缺陷，有报道使用三联疗法治疗后的幽门螺旋杆菌的一年复发率已达 15%-30%。

因此，为了克服这一缺陷，研究针对这一致病菌的疫苗相关研究越来越受到重视。近年来，针对幽门螺旋杆菌疫苗的研究表现在的毒力因素抗原上，如尿素酶 B，细胞毒素相关毒素（CagA），空泡毒素（VacA），鞭毛，热休克蛋白，黏附素，中性粒细胞活性蛋白等。另外，针对灭活全菌细胞和菌溶产物的研究也是疫苗的热点之一。

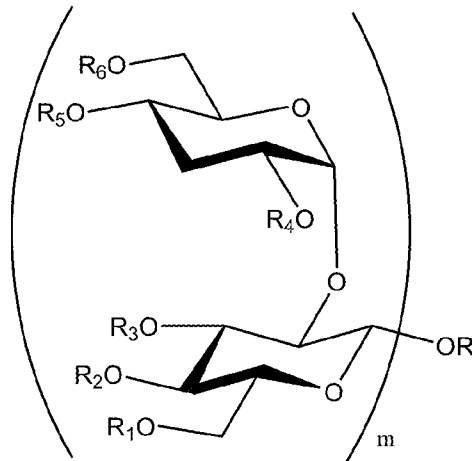
与其他革兰氏阴性菌一样，幽门螺旋杆菌的细胞表面主要是有脂多糖组成，脂多糖对该细菌的生物膜结构和功能的完整性具有相当重要的作用，也存在于细菌的分泌物中，是该细菌的致病因素和毒力因素之一。

Monteiro 系统地研究了各类幽门螺旋杆菌的脂多糖结构发现其结构与典型的革兰氏阴性菌一致，包含三个不同的结构单元，分别是多聚糖 O 糖链，核心寡糖链和富含脂肪酸的脂质 A。在幽门螺旋杆菌中，核心寡糖链结构相对保守而多聚糖 O 糖链表现出特异性的表型。根据多聚糖 O 糖链中具体单糖种类和连接方式的不同可以将幽门螺旋杆菌分类 6 种不同的血清型（O1-O6）。2015 年 Monteiro 报道了幽门螺旋杆菌的 O2 血清型 O 聚糖链的具体结构，该血清型的 O-抗原是由葡萄糖残基依次通过 α -(1 $\rightarrow$ 2)-和 α -(1 $\rightarrow$ 3)-糖苷键依次连接而成的重复单元结构，最长可达 12 个重复单元的 24 糖链。

目前针对幽门螺旋杆菌脂多糖的研究主要是通过从灭活细菌中提取，这一方法的不足在于一次提取得到的产物极少，另外受细菌基因表达和修饰的特性，提取得到的脂多糖也存在结构不够专一，并且容易附带结构类似杂质的特点，实验重复性差，对研究存在一定的干扰。我们利用化学合成方法，以幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖为目标化合物，通过糖基砌块的设计和构建以及糖基化反应的选择和优化得到 O 抗原二糖，四糖和六糖，并且所合成的二糖，四糖和六糖还原端均组装有氨基连接臂，可以与载体蛋白连接成糖缀合物，开展进一步的免疫学研究。

发明内容

本发明所要解决的技术问题是通过化学方法合成幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖片段。 α -1,2 顺式糖苷键的构建是合成目标结构的关键步骤。本发明利用二丙酮葡萄糖为唯一起始原料通过糖基砌块的构建和糖基化反应条件的优化最终得到保护的全 α 连接的保护二, 四, 六糖, 最终脱去保护得到最后的目标化合物组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原二糖, 四糖和六糖。同时, 用该方法合成得到的二糖, 四糖和六糖还原端均组装有氨基连接臂, 可以和载体蛋白结合用于免疫学研究。



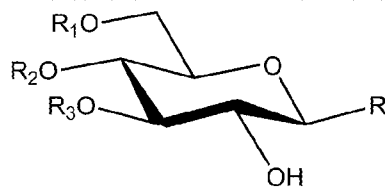
式I

其中 m 为二糖片段的重复单元数, 可以为 2~12;

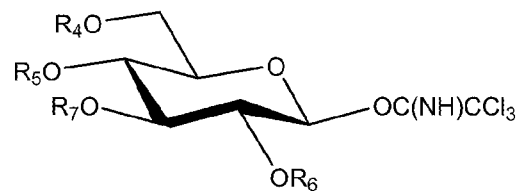
R 为 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2$ 或者 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2(\text{linker})$, $n=1\sim10$, N 为氮 Y_1 为氢 (H) 或者烷氧基如苄基 (Bn), Y_2 为氢 (H) 或者烷氧羰基如苄甲氧羰基 (Cbz), $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ 为氢或者醚类基团如苄基 (Bn)。

本发明的第一个目的是提供一种幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物的制备方法, 所述方法利用糖砌块 A、B、C 构建幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物, 包括构建糖砌块之间的 1,2- α -顺式-糖苷键和 1,3- α -顺式-糖苷键;

其中糖砌块 A、B、C 分别为结构式 II、III 所示的化合物:

A ($R = LG$)B ($R = \text{linker}$)

式II

C
式III

其中, LG 为糖基化反应离去基团, 包括三氯乙酰亚胺基、对甲基苯硫基; linker 包括 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2$ 或者 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2(\text{linker})$, Y_1 为氢 (H) 或者烷氧基如苄基 (Bn), Y_2 为氢 (H) 或者烷氧羰基如苄甲氧羰基 (Cbz);

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ 为氢或者醚类基团; R_7 为氢或者醚类基团。

在本发明的一种实施方式中, 所述方法中 1,3- α -顺式-糖苷键的构建是在二氯甲烷和乙醚的混合溶剂中进行的。

在本发明的一种实施方式中, 所述混合溶剂中二氯甲烷与乙醚的体积比为 1: (2.5-5)。

在本发明的一种实施方式中, 所述方法中 1,3- α -顺式-糖苷键的构建还需要引入添加剂。

在本发明的一种实施方式中, 所述添加剂包括噻吩。

在本发明的一种实施方式中,所述添加剂与糖切块的摩尔比为(80-120):1。

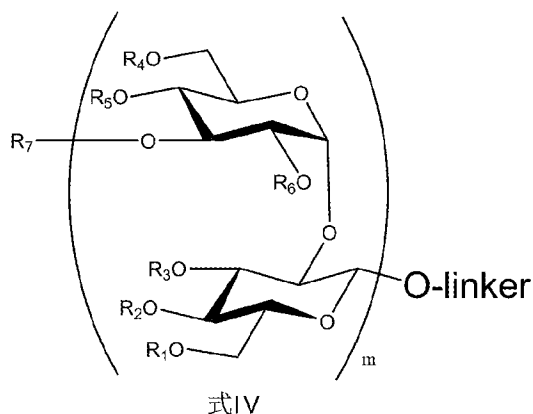
在本发明的一种实施方式中,所述方法中 1,2- α -顺式-糖苷键的构建是在二氯甲烷溶剂中进行的。

在本发明的一种实施方式中,1,3-葡萄糖 α 糖苷键的构建方法优选:糖基供体和糖基受体在甲苯中共沸,加入二氯甲烷和乙醚,反应底物的浓度为 0.01~0.1M,以分子筛作为干燥剂,加入相当于糖基供体当量 100 倍的噻吩,在室温下搅拌 30min 后冷却至 0℃,反应时间为 12h,用吡啶终止反应。

在本发明的一种实施方式中,所述方法包括以下步骤:

- (1) 合成葡萄糖单糖砌块 A、B、C;
- (2) 合成二糖化合物:构建糖砌块之间的 1,2- α -顺式-糖苷键;
- (3) 合成四糖化合物:构建步骤(2)所得二糖化合物之间的 1,3- α -顺式-糖苷键。

在本发明的一种实施方式中,所述方法还包括:参照步骤(3),构建多糖化合物与多糖化合物之间的 1,3- α -顺式-糖苷键,制备得到幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物;所述多糖化合物为式 IV 所示的化合物;



其中, m 为二糖片段的重复单元数,为 2~12;

linker 包括 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2$ 或者 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2(\text{linker})$, Y_1 为氢(H)或者烷氧基如苄基(Bn), Y_2 为氢(H)或者烷氧羰基如苄甲氧羰基(Cbz);

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ 为氢或者醚类基团; R_7 为氢或者酰基类基团。

在本发明的一种实施方式中,所述步骤(1)中单糖砌块 A 的合成方法包括:以二丙酮葡萄糖为起始原料,在氢化钠(NaH)和溴化苄(BnBr)的条件下生成 3-苄基-二丙酮葡萄糖,随后用酸水解掉两个丙叉环;得到的 3-苄基化合物用乙酰基保护裸露的 4 个羟基,接着在对甲基苯硫酚和路易斯酸($BF_3 \cdot Et_2O$)的作用下给端基位用苯硫基保护;下一步在碱性环境下水解掉剩余的 2,4,6 号位上的乙酰基,随后用苄叉基同时保护住 4,6 号位羟基,空出 2-OH 得到糖砌块 A。

在本发明的一种实施方式中,所述步骤(1)中单糖砌块 A 的合成方法具体包括:以市售的二丙酮葡萄糖为起始原料,在氢化钠(NaH)和烯丙基溴(AllylBr)的作用下在 3 号位用烯丙基保护住,随后用烯丙醇(AllylOH)和盐酸将 3-烯丙基化合物的两个丙叉基脱去,同时在一号位也用烯丙基保护。烯丙基葡萄糖随用在氢化钠(NaH)和溴化苄(BnBr)作用下将葡萄糖剩余的三个羟基用苄基保护。下一步用氯化钯($PdCl_2$)和甲醇作用下将葡萄糖 1,3 号位的两个烯丙基脱除,接着在吡啶和醋酸酐的条件下用乙酰基保护住 1,3 号位。最后用醋酸酐选择性的脱除葡萄糖 1 号位的乙酰基,得到的 1-OH 化合物用三氯乙腈和 DBU 做成糖基供体,即为糖砌块 A。

在本发明的一种实施方式中,单糖砌块 A 的合成是在有机溶剂中进行的;所述有机溶剂包括二氯甲烷、乙酸乙酯、甲醇, N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃,吡啶、氯仿中的一种或者几种。

在本发明的一种实施方式中，单糖砌块 A 的合成反应中，底物浓度为 0.02~0.5M。

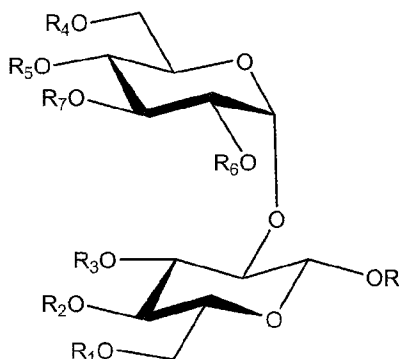
在本发明的一种实施方式中，酸为盐酸，乙酸或者对甲苯磺酸。

在本发明的一种实施方式中，反应温度为-78℃~溶剂回流温度，反应时间为 1-48h。

糖砌块 A 的结构式如式 II 所示，其端基位为苯硫基，是一种离去基团。

在本发明的一种实施方式中，所述步骤（1）中单糖砌块 B 的合成方法包括：将上述的单糖砌块 A 的 2-OH 用乙酰基保护，得到的 2-OAc 化合物与连接臂反应，得到端基位有连接臂的葡萄糖化合物，最后在甲醇和甲醇钠中脱去 2-OAc 得到葡萄糖砌块 B。

在本发明的一种实施方式中，所述步骤（2）中的二糖化合物包括如式 V 所示的二糖供体 D 和二糖受体 E：



D (R = STol, R₇ = OAc)

E (R = linker, R₇ = OH)

式V

其中，linker 包括-(CH₂)_n-N-Y₁Y₂ 或者 -(CH₂)_n-N-Y₁Y₂(linker)，Y₁ 为氢（H）或者烷氧基如苄基（Bn），Y₂ 为氢（H）或者烷氧羰基如苄甲氧羰基（Cbz）；

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ 为氢或者醚类基团；R₇ 为氢或者酰基类基团。

在本发明的一种实施方式中，所述步骤（2）包括：以糖砌块 A 和 C 作为原料，以二氯甲烷为溶剂，加入干燥剂，在-78℃下进行，制备得到二糖供体 D；

利用糖砌块 B 和 C 合成二糖受体 E，糖苷化反应方法和合成二糖供体 D 一致，糖苷化反应完成，产物纯化后用甲醇钠溶液脱去 3'-OAc 得到二糖受体 E。

所述的干燥剂为 3Å 分子筛，4Å 分子筛，5Å 分子筛，无水硫酸钠，无水硫酸镁，无水硫酸钙中的一种或者几种。

所述的干燥剂与反应物的质量比为 1.0~4.0。

在本发明的一种实施方式中，所述步骤（2）中反应用 TLC 板监测反应进程反应结束后用吡啶终止反应，产物用硅胶柱纯化。

在本发明的一种实施方式中，所述步骤（3）包括：以二糖供体 D 和二糖受体 E 合成四糖化合物。

在本发明的一种实施方式中，所述四糖化合物包括如式 VI 所示的四糖供体 F 和四糖受体 G，



在本发明的一种实施方式中, 利用二糖和四糖构建 1,3- α -顺式-糖苷键合成六糖化合物; 所述六糖化合物包括式 VII 所示的化合物;



在本发明的一种实施方式中，四糖的组装方法：以二糖化合物 I 为供体，二糖化合物 II 为受体组装四糖，反应条件为以二糖化合物 I 和 II 为底物，反应溶剂为二氯甲烷和乙醚的混

合溶剂，同时添加噻吩。使用干燥剂，反应温度为室温。反应在路易斯酸的催化下进行。反应过程都为惰性气体保护，反应原料消失后，过滤，洗涤，萃取，干燥，产物用硅胶柱纯化分别得到四糖。

在本发明的一种实施方式中，六糖组装的条件：四糖化合物在碱性条件下脱去非还原酯基，然后和二糖化合物 I 作为底物组装六糖化合物。反应条件与组装四糖化合物时相同。

在本发明的一种实施方式中，所述方法还包括脱保护。

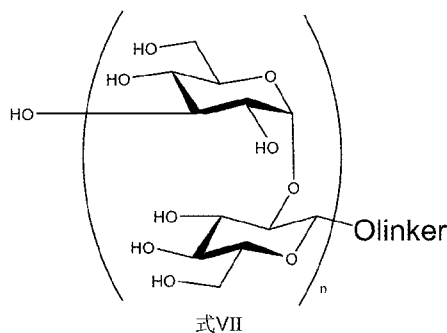
在本发明的一种实施方式中，所述脱保护是利用 Pd/C，在氢气下反应 24h，脱除所有的芳香基团，经 C18 反相柱纯化得到幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物。

在本发明的一种实施方式中，所述脱保护具体包括：1)

1) 在碱性条件下将酰基脱除，所用溶剂为甲醇，四氢呋喃，乙酸乙酯中的一种或者几种组成的混合溶剂；反应结束用 H⁺树脂中和，反应温度为室温~40℃，反应时间为 2h~2d 得到半脱保护的糖类化合物；

2) 利用钯/碳、氢气对半脱保护产物进行全脱保护，反应溶剂为四氢呋喃，二氯甲烷，乙酸乙酯，叔丁醇，水，甲醇，醋酸中的一种或者多种，所用钯碳为 10% 的钯碳，钯碳与反应物的质量比为 0.1:1~0.5:1，脱苄基和苄叉基所用的氢气压力为 1~100atm，所述的反应温度为常温，反应时间为 2~48h。

本发明的第二个目的是提供一种组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物，其结构式如式 VII 所示，所述化合物是利用上述方法制备得到的：



在本发明的一种实施方式中，一种组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌 O2 血清型的 O-抗原寡糖的结构为：

$\alpha\text{-D-Glc-(1-2)-}\alpha\text{-D-Glc-(1-3)-}\alpha\text{-D-Glc-(1-2)-}\alpha\text{-D-Glc-(1-3)-}\alpha\text{-D-Glc-(1-2)-}\alpha\text{-D-Glc-linker}$ 。

本发明的第三个目的是提供一种糖-蛋白缀合物的制备方法，所述方法是利用上述的组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物。

本发明的第四个目的是将上述的组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物应用于在开发或制备疗幽门螺旋杆菌疫苗或者疗幽门螺旋杆菌感染导致的疾病的药物中的应用。

本发明有益效果：

本发明是通过化学合成得到幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O-抗原二糖，四糖和六糖。本发明通过保护剂策略，温度效应，溶剂效应和添加剂效应，发现了一种非常有利于葡萄糖 α 糖苷键生成的方法，并且将此方法应用在幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O-抗原二糖，四糖和六糖的合成之中。合成得到的幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O-抗原二糖，四糖和六糖的还原端均组装有氨基连接臂，可以与载体蛋白制成糖缀合物，用于免疫学研究，对发展预防和治疗幽门螺旋杆菌具有重要作用。

附图说明

图 1：单糖砌块 5 的合成；

图 2：单糖砌块 8 的合成；

- 图 3: 单糖砌块 **15** 的合成;
图 4: 二糖化合物 **16** 和 **18** 的合成;
图 5: 四糖化合物 **19** 的合成;
图 6: 六糖化合物 **21** 的合成;
图 7: 二糖、四糖和六糖的脱保护;
图 8: 化合物 **24** 的氢谱;
图 9: 化合物 **24** 的碳谱;
图 10: 化合物 **24** 的氢-氢相关谱;
图 11: 化合物 **24** 的碳-氢相关谱。

具体实施方式

下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述,但是本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

实施例 1

糖砌块 **5** 的合成如图 1:

如图 1 所示,以市售双丙酮葡萄糖 **1** 为起始原料,在氰化钠和作用下与溴化苄反应生成 3-OBn 葡萄糖化合物 **2**。丙叉基在 80%醋酸溶液中脱除后,在吡啶和醋酸酐的作用下用乙酰基保护 4 个新生成的羟基得到化合物 **3**。随后化合物 **3** 在三氟化硼·乙醚 (BF₃·Et₂O) 的作用下与苯硫酚反应,生成 1-硫苷化合物 **4**。用甲醇甲醇钠溶液脱去化合物 **4** 的三个乙酰基,接着在苯甲醛二甲缩醛和对甲基苯环酸的作用下用苄叉基保护 4,6 号位羟基,留出 2 号位裸露羟基得到糖砌块 **5**。

具体试验操作和步骤。

化合物 2: 将二丙酮葡萄糖 (50 g, 192 mmol) 溶于 DMF (480 ml) 中,在 0℃ 下搅拌 20 min,缓缓加入氰化钠 (15.4 g, 284 mmol),继续在 0℃ 下搅拌 30 min,接着向反应液中加入溴化苄 (34.2 ml, 288 mmol),反应恢复到室温,继续搅拌 3 h。用 TLC 检测反应液待原料反应完全后,用冰水淬灭反应,用二氯甲烷和饱和食盐水萃取,分离有机相,经无水硫酸钠干燥后浓缩,用硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 15:1) 得到化合物 **2** (67 g, 183 mmol, 95%)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.55 – 7.04 (m, 5H, Ar-H), 5.90 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H-1), 4.68 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, Bn-H), 4.63 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, Bn-H), 4.58 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H-2), 4.37 (dt, *J* = 7.7, 6.1 Hz, 1H, H-5), 4.15 (dd, *J* = 7.8, 3.2 Hz, 1H, H-6a), 4.11 (dd, *J* = 9.1, 6.7 Hz, 1H, H-6b), 4.01 – 3.99 (m, 2H, H-3, H-4), 1.49 (s, 3H, Me-H), 1.43 (s, 3H, Me-H), 1.37 (s, 3H, Me-H), 1.31 (s, 3H, Me-H)。¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 137.65, 128.40 (2C), 127.84, 127.65 (2C), 111.79, 108.98, 105.30, 82.67, 81.72, 81.33, 72.54, 72.39, 67.40, 26.85, 26.79, 26.26, 25.45。

化合物 3: 将化合物 **2** (67 g, 183 mmol) 溶解在 1 M 盐酸溶液 (480 ml) 中,80℃ 下搅拌 2 h,用 TLC 检测反应,待原料反应完全后,用饱和碳酸氢钠溶液调节反应液至中性后,用旋蒸旋干溶剂,得到的产物用甲苯共沸三次,在油泵上抽真空过夜。

将上一步得到的新化合物溶于醋酸酐 (360 ml),同时加入无水乙酸钠 (18.9 g),反应液在 80℃ 下搅拌 4 h,用 TLC 检测原料反应完全之后,将反应液倒入冰水中,接着用乙酸乙酯和饱和碳酸氢钠萃取,分离有机相,用无水硫酸钠干燥之后浓缩。浓缩液用硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 4:1) 得到化合物 **3** (69 g, 157 mmol, 86%)。-构型: ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.36 – 7.19 (m, 5H, Ar-H), 6.31 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, 1-H), 5.16 (t, *J* = 9.8 Hz, 1H, 4-H), 5.05 (dd, *J* = 10.0, 3.7 Hz, 1H, 2-H), 4.71 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, Bn-H), 4.63 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H, Bn-H), 4.24 – 4.16 (m, 1H, 6a-H), 4.09 – 3.92 (m, 3H, 3-H, 5-H, 6b-H), 2.16 (s, 3H, Me-H),

2.07 (s, 3H, Me-H), 1.99 (s, 3H, Me-H), 1.97 (s, 3H, Me-H)。¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 170.58 (d, $J = 2.1$ Hz), 169.56, 169.25, 168.73, 137.94, 128.39 (2C), 127.78, 127.48 (2C), 89.41, 76.97, 74.81, 71.54, 70.24, 69.14, 61.82, 20.79 (2C), 20.63, 20.50。-构型 ¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.33 – 7.13 (m, 5H, Ar-H), 5.63 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, 1-H), 5.12 (td, $J = 9.2, 4.2$ Hz, 2H, 2-H, 4-H), 4.59 (s, 2H, 2Bn-H), 4.19 (dd, $J = 12.5, 5.0$ Hz, 1H, 6a-H), 4.05 (dd, $J = 12.4, 2.3$ Hz, 1H, 6b-H), 3.76 – 3.66 (m, 2H, 3-H, 5-H), 2.05 (s, 3H, Me), 2.02 (s, 3H, Me), 1.94 (s, 6H, 2Me)。¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 170.55, 169.26, 169.08, 169.02, 137.59, 128.43, 127.89, 127.76, 91.92, 79.90, 74.19, 72.89, 71.54, 69.09, 61.78, 20.75, 20.62。

化合物 4: 将化合物 3 (42g, 96 mmol) 溶于无水 DCM (240 ml) 中, 加入对甲基苯磺酚 (17.9 g, 144 mmol) 和适量新鲜活化的分子筛, 室温下搅拌 30min, 随后降温至 0℃。继续搅拌 20min 后缓缓加入三氟化硼乙醚 (60 ml)。反应液在室温下搅拌 24h, 用 TLC 监测反应进程, 待原料完全反应之后, 用二氯甲烷和饱和碳酸氢钠溶液萃取反应液。分离有机相, 经无水硫酸钠干燥后浓缩, 浓缩液使用硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 4:1) 得到化合物 4。

(40.5 g, 81 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.45 – 6.91 (m, 9H, Ar-H), 5.05 (t, $J = 9.7$ Hz, 1H, 4-H), 5.02 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H, 2-H), 4.64 – 4.51 (m, 3H, 1-H, 2Bn-H), 4.16 (t, $J = 3.4$ Hz, 2H, 6ab-H), 3.71 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H, 3-H), 3.60 (ddd, $J = 9.9, 5.0, 3.1$ Hz, 1H, 5-H), 2.33 (s, 1H, Me-H), 2.07 (s, 3H, Me-H), 2.04 (s, 3H, Me-H), 1.95 (s, 3H, Me-H)。¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 170.59, 169.32, 169.17, 138.38, 137.73, 133.26, 129.60, 128.44, 127.85, 127.76, 86.41, 81.59, 77.46, 77.14, 76.82, 76.06, 74.26, 71.40 (d, $J = 3.1$ Hz), 69.71, 62.56, 21.14, 20.96, 20.75, 20.72。

化合物 5: 化合物 4 (27 g, 54 mmol) 溶于甲醇 (150 ml), 室温下加入 5M 甲醇钠 (22 ml), 反应液在室温下继续搅拌 2h。用 TLC 监测反应, 待原料彻底反应完全之后用 Amberlite IR120 H⁺ 树脂中和反应液至中性。滤去树脂, 旋干滤液得到新化合物 (~20 g), 油泵上抽真空过夜。

将新化合物 (~20 g, 53 mmol) 溶于无水 DMF, 依次加入苯甲醛二甲缩醛 (8.3 ml) 和对甲基苯磺酸 (1.0 g)。反应液在 70℃ 下搅拌 6h, 用 TLC 监测反应, 待原料反应完全之后用三乙胺中和反应液。反应液浓缩后用二氯甲烷和饱和食盐水萃取, 分离有机相, 用无水硫酸钠干燥后浓缩, 浓缩液经硅胶柱纯化得到化合物 5 (19.1 g, 41 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.68 – 7.21 (m, 13H, Ar-H), 7.13 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, Ar-H), 5.56 (s, 1H, PhCH-H), 4.94 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H, Bn-H), 4.78 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H, Bn-H), 4.56 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, 1-H), 4.38 (dd, $J = 10.5, 4.9$ Hz, 1H, 6a-H), 3.78 (t, $J = 10.3$ Hz, 1H, 6b-H), 3.72 – 3.65 (m, 1H, 3-H), 3.63 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, 4-H), 3.47 (td, $J = 9.3, 9.0, 5.8$ Hz, 2H, 2-H, 5-H), 2.56 – 2.49 (m, 1H, 2OH-H), 2.34 (s, 3H, Me)。¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 138.75, 138.20, 137.20, 133.83, 129.81, 129.00, 128.45, 128.25, 128.11, 127.86, 127.20, 125.99, 101.24, 88.58, 81.61, 81.13, 74.81, 72.13, 70.73, 68.64, 21.17。

实施例 2

糖砌块 8 的合成

糖砌块 8 的合成如图 2

如图 2 所示, 化合物 8 是化合物 5 还原端组装有氨基连接臂的类似物。从化合物 5 出发, 先用乙酰基保护 2-OH 得到化合物 6, 接着以对甲基苯磺基作为离去基团, 在促进剂 NIS 和 TMSOTf 下与五碳氨基连接臂反应得到化合物 7。最后, 用甲醇和甲醇钠脱去化合物 7 的 2-OAc 得到糖砌块 8。

具体试验操作和步骤:

化合物 6: 将化合物 5 (9.7 g, 21 mmol) 溶于干燥吡啶 (60 ml) 中, 冰浴下缓缓加入乙酸酐 (40 ml)。反应液在室温下搅拌 6h, 用 TLC 检测原料反应完全之后, 用二氯甲烷稀释反应液, 用 1M 盐酸溶液洗涤, 饱和碳酸氢钠溶液和二氯甲烷萃取, 分离有机相, 用无水硫酸

钠干燥后浓缩。浓缩液经硅胶柱(石油醚/乙酸乙酯, 7:1)纯化得到化合物 6 (7.3 g, 14.4 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.54 – 7.19 (m, 12H, Ar-H), 7.11 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, Ar-H), 5.56 (s, 1H, PhCH-H), 4.99 (dd, *J* = 10.0, 8.6 Hz, 1H, 2-H), 4.85 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H, Bn-H), 4.68 – 4.60 (m, 2H, 1-H, Bn-H), 4.37 (dd, *J* = 10.5, 5.0 Hz, 1H, 6a-H), 3.79 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H, 6b-H), 3.75 – 3.69 (m, 2H, 3-H, 4-H), 3.47 (dq, *J* = 7.9, 5.0 Hz, 1H, 5-H), 2.33 (s, 3H, Me), 2.03 (s, 3H, Me)。¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 169.22, 138.26, 137.12, 133.39 (2C), 129.65 (2C), 128.99, 128.29 (2C), 128.24 (2C), 128.21, 127.87 (2C), 127.66, 125.96 (2C), 101.19, 86.96, 81.30, 79.77, 74.31, 71.35, 70.46, 68.53, 21.13, 20.95。

化合物 7: 将化合物 6 (7.3 g, 14.4 mmol) 和氮-苄基-氮-甲酸苄酯-戊醇 (8.62 g, 28.8 mmol) 溶于无水 DCM (100 ml) 中, 加入适量新鲜活化的分子筛, 室温下搅拌 30min, 随后转移至冰浴。30min 之后往反应液中一次加入 NIS (5.6 g, 17.3 mmol) 和 TMSOTf (0.3 ml, 1.7 mmol)。继续冰浴下反应 10h, 用 TLC 监测反应进程, 待原料反应完全之后, 依次用 10% 的硫代硫酸钠, 饱和碳酸氢钠溶液和二氯甲烷萃取反应液, 分离有机相, 用无水硫酸钠干燥之后浓缩。浓缩液经硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 3:1) 得到化合物 7 (7.5 g, 11.1 mmol)。

化合物 8: 将化合物 7 (7.0 g, 10.3 mmol) 溶于甲醇 (50 ml) 中, 室温下加入甲醇钠 (110 mg), 反应液在室温下搅拌 8h, 用 TLC 监测反应, 待原料全部反应完毕, 用 Amberlite IR120 H⁺ 树脂中和反应液至中性。滤去树脂, 浓缩后经硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 3:1) 得到化合物 8 (4.6 g, 8.45 mmol)。

实施例 3

糖砌块 15 的合成

如图 3 所示, 其二丙酮葡萄糖 1 为起始原料, 在 NaH 的作用下与烯丙基溴反应得到 3-烯丙基化合物 9。化合物 9 在加有盐酸的烯丙醇中进行开环反应, 得到 1,3-二烯丙基化合物 10。接下来用苄基保护葡萄糖剩下的三个裸露羟基得到化合物 11。化合物 11 在干燥甲醇中利用氯化钾专属性地脱去 1,3 号位的烯丙基得到 1-OH 化合物 12。用乙酰基保护前一步反应生成的两个羟基得到化合物 13。在醋酸酐的作用下选择性脱除 1-OAc 基, 得到 1-OH 化合物 14。最后用三氯乙腈和 DBU 与化合物 14 反应得到三氯乙酰亚胺酯糖基砌块 15。

具体试验操作和步骤:

化合物 9: 将市售的二丙酮葡萄糖 1 (50 g, 191 mmol) 溶于无水 DMF (380 ml), 冰浴下搅拌 30min, 随后分批加入氢化钠 (23 g) 和烯丙基溴 (34 ml)。反应在冰浴下搅拌 2h, 用 TLC 监测反应, 待原料反应完全之后用冰水淬灭反应, 用二氯甲烷和饱和食盐水萃取反应液, 用无水硫酸钠干燥后浓缩, 浓缩液经硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 20:1) 得到化合物 2 (57.1 g, 190 mmol)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 5.95 – 5.77 (m, 2H, 1-H, Allyl-H), 5.31 (dd, *J* = 17.2, 1.7 Hz, 1H, Allyl-H), 5.20 (dt, *J* = 10.4, 1.5 Hz, 1H, Allyl-H), 4.54 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, 2-H), 4.31 (dt, *J* = 7.7, 6.0 Hz, 1H, 5-H), 4.34-4.07 (m, 4H, 4-H, 6a-H, 2Allyl-H), 4.00 (dd, *J* = 8.6, 5.8 Hz, 1H, 6b-H), 3.94 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H, 3-H), 1.50 (s, 3H, Me), 1.43 (s, 3H, Me), 1.35 (s, 3H, Me), 1.31 (s, 3H, Me)。¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 134.28, 117.41, 111.88, 109.07, 105.36, 82.91, 81.53, 81.30, 72.62, 71.47, 67.41, 26.96, 26.93, 26.37, 25.54。

化合物 10: 将化合物 9 (52.8 g, 176mmol) 溶于烯丙醇 (350 ml) 中, 加入浓盐酸 (10.5 ml)。反应液在 80℃ 下搅拌 2h, 用 TLC 监测反应, 待原料反应完全之后, 用饱和碳酸氢钠溶液中和反应液至中性。浓缩反应液, 经硅胶柱纯化 (二氯甲烷/甲醇, 25:1) 得到化合物 10 (40.3 g, 155 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 6.01 – 5.74 (m, 2H, 2Allyl-H), 5.24 (dt, *J* = 17.3, 1.7 Hz, 2H, 2Allyl-H), 5.15 (ddt, *J* = 13.5, 10.4, 1.4 Hz, 2H, 2Allyl-H), 4.83 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H, H-1), 4.38 (ddt, *J* = 12.7, 5.7, 1.5 Hz, 1H, Allyl-H), 4.22 (ddt, *J* = 12.7, 6.0, 1.4 Hz, 1H, Allyl-H), 4.15 (ddt, *J* = 12.8, 5.3, 1.5 Hz, 1H, Allyl-H), 3.97 (ddt, *J* = 12.8, 6.3, 1.4 Hz, 1H, Allyl-H), 3.75 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H, H-6ab), 3.59 (dt, *J* = 9.2, 3.6 Hz, 1H, H-5), 3.53 (dd, *J* = 9.1, 3.8

Hz, 1H, H-2), 3.51 – 3.42 (m, 2H, H-3, H-4)。¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 135.13, 133.49, 118.12, 117.33, 97.73, 82.36, 73.93, 72.52, 71.38, 69.84, 68.60, 62.04。

化合物 **11**: 将化合物 **10** (38 g, 146 mmol) 溶于无水 DMF (365 ml) 中, 冰浴下搅拌 30min, 分批缓缓加入氢化钠 (35 g), 继续冰浴下搅拌 30 min, 加入溴化苄 (61 ml)。反应液在冰浴下继续搅拌 5h, 用 TLC 监测反应。待原料全部反应后, 用冰水淬灭反应, 用饱和食盐水和二氯甲烷萃取, 分离有机相, 用无水硫酸钠干燥后浓缩, 浓缩液经硅胶柱纯化得到化合物 **11** (67.8 g, 127.7 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.37 (ddt, J = 21.5, 14.3, 6.6 Hz, 13H, Ar-H), 7.24 (d, J = 7.1 Hz, 2H, Ar-H), 6.01 (dddt, J = 34.9, 17.4, 11.7, 5.6 Hz, 1H, Ally-H), 5.35 (dt, J = 16.1, 7.7 Hz, 1H, Ally-H), 5.23 (t, J = 10.2 Hz, 1H, Ally-H), 4.87 (td, J = 14.4, 12.4, 6.9 Hz, 2H, 1-H, Bn-H), 4.79 (d, J = 6.0 Hz, 1H, Bn-H), 4.73 – 4.56 (m, 2H, 2Bn-H), 4.50 (t, J = 11.7 Hz, 3H, Ally-H, 2Bn-H), 4.35 (td, J = 15.1, 13.9, 5.8 Hz, 0H) 4.19 (dd, J = 13.2, 5.6 Hz, Ally-H), 4.05 (dd, J = 12.9, 6.8 Hz, Ally-H), 3.91 (q, J = 7.8, 6.1 Hz, 1H, 3-H), 3.85 – 3.71 (m, 2H, 5-H, 6a-H), 3.65 (dt, J = 14.7, 7.7 Hz, 2H, 4-H, 6b-H), 3.60 – 3.51 (m, 1H, 2-H)。¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 138.54, 138.35, 138.24, 137.99, 135.40, 135.21, 134.12, 133.81, 128.43, 128.39, 128.37, 128.25, 128.09, 128.05, 128.03, 127.95, 127.93, 127.83, 127.80, 127.72, 127.62, 118.15, 117.20, 116.74, 116.54, 102.69, 95.82, 84.40, 82.19, 81.81, 79.65, 77.83, 77.68, 77.42, 77.33, 77.09, 77.01, 76.78, 76.70, 75.12, 75.05, 74.93, 74.85, 74.52, 74.42, 73.50, 73.22, 70.32, 70.20, 69.01, 68.48, 68.19。

化合物 **12**: 将化合物 **11** (10.2 g, 19.3 mmol) 溶于无水甲醇 (644 ml) 中, 加入氯化钾 (684.5 mg), 反应液在 40℃ 下搅拌 20 min, 用 TLC 监测反应, 待原料完全反应之后, 用饱和碳酸氢钠和二氯甲烷萃取反应液, 分离有机相, 用无水硫酸钠干燥之后浓缩, 浓缩液经硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 3:1) 得到化合物 **12** (6.5 g, 14.4 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.31 – 7.15 (m, 15H, Ar-H), 5.18 (d, J = 3.5 Hz, 1H, 1-H), 4.92 (d, J = 11.5 Hz, 1H, Bn-H), 4.77 (d, J = 11.3 Hz, 1H, Bn-H), 4.65 (d, J = 11.8 Hz, 1H, Bn-H), 4.59 (d, J = 11.8 Hz, 1H, Bn-H), 4.54 (d, J = 12.2 Hz, 1H, Bn-H), 4.43 (d, J = 12.2 Hz, 1H, Bn-H), 4.04 (t, J = 9.2 Hz, 1H, 3-H), 3.96 (ddd, J = 10.1, 3.9, 2.5 Hz, 1H, 5-H), 3.66 – 3.58 (m, 2H, 6ab-H), 3.46 (dd, J = 10.0, 8.9 Hz, 1H, 4-H), 3.36 (dd, J = 9.5, 3.5 Hz, 1H, 2-H) 2.91 (s, 2H, OH-H)。¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 138.36, 137.80, 137.74, 128.62, 128.58, 128.44, 128.42, 128.20, 128.13, 128.10, 128.05, 128.00, 127.95, 127.91, 127.81, 127.78, 127.76, 97.11, 90.71, 82.19, 79.54, 77.65, 77.45, 77.41, 77.29, 77.09, 76.77, 76.56, 74.60, 74.52, 74.29, 73.50, 73.27, 72.83, 69.78, 68.72。

化合物 **13**: 将化合物 **12** (6.1 g, 14 mmol) 溶于吡啶 (40 ml), 冰浴下搅拌 30min, 缓缓加入乙酸酐 (30 ml)。反应液在冰浴下搅拌过夜。用 TLC 监测反应进程, 待原料全部反应完全后, 用 1M 盐酸溶液淬灭反应。用饱和碳酸氢钠溶液和乙酸乙酯萃取反应液, 分离有机相, 用无水硫酸钠干燥后浓缩, 浓缩液经硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 6:1) 得到化合物 **13**。(6.77 g, 12.66 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.52 – 7.15 (m, 13H, Ar-H), 7.12 (dd, J = 7.6, 1.9 Hz, 2H, Ar-H), 5.63 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H-1), 5.26 (t, J = 9.4 Hz, 1H, H-3), 4.69 (d, J = 12.0 Hz, 1H, Bn-H), 4.65 (d, J = 12.0 Hz, 1H, Bn-H), 4.58 (d, J = 12.0 Hz, 1H, Bn-H), 4.47 (t, J = 6.0 Hz, 3H, Bn-H), 3.80 – 3.67 (m, 3H, H-4, H-6a, H-6b), 3.60 (dt, J = 9.9, 2.5 Hz, 1H, H-5), 3.51 (dd, J = 9.5, 8.1 Hz, 1H, H-2), 2.07 (s, 3H, Me), 1.84 (s, 3H, Me)。¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 169.80, 168.98, 137.88, 137.79, 128.43, 128.11, 127.88, 127.85, 127.83, 94.07, 78.45, 75.61, 75.53, 75.34, 74.38, 74.31, 73.64, 67.85, 21.07, 20.96。

化合物 **14**: 将化合物 **13** (1.6 g, 3.0 mmol) 溶于无水 DMF (30 ml), 加入乙酸肼 (305 mg)。反应液在 40℃ 下搅拌 2h, 用 TLC 监测反应, 待原料反应完毕以后将反应液浓缩。用饱和食盐水和 DCM 萃取, 分离有机相, 经无水硫酸钠干燥后浓缩, 浓缩液用硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 2:1) 得到化合物 **14** (1.36 g, 2.76 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.37 – 7.21 (m, 13H, Ar-H), 7.13 (d, J = 7.2 Hz, 2H, Ar-H), 5.50 (t, J = 9.6 Hz, 1H, 3-H), 5.27 (d, J = 3.6

Hz, 1H, 1-H), 4.67 – 4.37 (m, 6H, Bn-H), 4.07 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H, 6a-H), 3.78 (s, 1H, 1-OH), 3.73 – 3.58 (m, 3H, 4-H, 5-H, 6b-H), 3.48 (dd, $J = 9.8, 3.4$ Hz, 1H, 2-H), 1.91 (s, 3H, Me)。 ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 170.14, 137.96, 137.77, 137.64, 128.53, 128.46, 128.43, 128.34, 128.13, 128.12, 128.03, 128.00, 127.95, 127.90, 127.86, 127.78, 90.86, 77.58, 77.50, 77.18, 76.86, 76.10, 74.36, 74.28, 73.90, 73.58, 73.55, 73.45, 72.56, 69.91, 68.37, 21.12。

化合物 **15**: 将化合物 **14** (300 mg, 0.61 mmol) 溶于无水 DCM (6 ml) 中, 冰浴下加入三氯乙腈 (0.6 ml) 和 DBU (91 μL)。反应液在冰浴下搅拌 2h, 用 TLC 监测反应, 待原料全部反应完毕, 用饱和食盐水和二氯甲烷萃取反应液, 分离有机相, 经无水硫酸钠干燥后浓缩, 浓缩液用硅胶柱纯化得到化合物 **15** (357 mg, 0.56 mmol)。 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 8.59 (s, 1H, NH-H), 7.28 (dt, $J = 19.8, 5.5$ Hz, 13H, Ar-H), 7.19 – 7.14 (m, 2H, Ar-H), 6.54 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-1), 5.59 (t, $J = 9.7$ Hz, 1H, H-3), 4.65 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H, Bn-H), 4.60 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H, Bn-H), 4.55 – 4.48 (m, 3H, Bn-H), 4.46 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H, Bn-H), 4.04 (dt, $J = 10.1, 2.5$ Hz, 1H, H-6a), 3.84 – 3.73 (m, 2H, H-6b, H-4), 3.67 (dd, $J = 10.0, 3.6$ Hz, 2H, H-2, H-5), 1.91 (s, 3H, Me)。 ^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform- d) δ 169.87, 161.34, 137.82, 137.77, 137.74, 93.96, 91.20, 76.51, 75.48, 74.66, 73.67, 73.19, 72.99, 72.53, 67.90, 21.12。

实施例 4

二糖化合物的 16 和 18 合成

如图 4 所示, 二糖化合物 **16** 由单糖供体 **15** 和单糖受体 **5** 在 TMSOTf 作为促进剂的条件 下合成。以单糖供体 **15** 和单糖受体 **8** 用类似的方法合成二糖化合物 **17**, 随后 **17** 在甲醇甲醇 钠的条件下脱去 3'-OAc 得到二糖化合物 **18**。

化合物 **16**: 将糖基供体 **15** (3.1g, 4.8 mmol) 和糖基受体 (2.8g, 6.1 mmol) 混合, 在 氮气保护下用甲苯共沸 3 次, 在油泵下抽真空过夜。加入二氯甲烷 (100 ml) 和适量分子筛, 室温下搅拌 30min 后冷却至 -78°C , 继续搅拌下 30min, 加入促进剂 TMSOTf (100 μL), 反应 在低温下搅拌 5h。用 TLC 监测反应进程, 待糖基供体全部反应消耗之后, 用三乙胺淬灭反应。 用二氯甲烷和饱和碳酸氢钠溶液萃取反应液, 分离有机相, 用无水硫酸钠干燥后浓缩。浓缩 液用硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 10:1) 得到化合物 **16** (2.9g, 3.2 mmol)。 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 7.52 – 7.45 (m, 2H, Ar-H), 7.41 – 7.23 (m, 21H, Ar-H), 7.14 (td, $J = 7.5, 1.6$ Hz, 3H, Ar-H), 7.07 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, Ar-H), 7.02 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, Ar-H), 5.99 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, 1'-H), 5.60 (s, 1H, PhCH), 5.55 (t, $J = 9.7$ Hz, 1H, 3'-H), 4.99 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, Bn-H), 4.90 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, 1-H), 4.85 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H, Bn-H), 4.64 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, Bn-H), 4.61 – 4.51 (m, 2H, 2Bn-H), 4.47 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, Bn-H), 4.41 – 4.35 (m, 1H, 6A-H), 4.34 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H, Bn-H), 4.26 (dd, $J = 11.1, 5.3$ Hz, 2H, 5'-H, Bn-H), 3.93 – 3.83 (m, 2H, 2-H, 3-H), 3.80 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, 6A-H), 3.74 (dd, $J = 12.3, 3.3$ Hz, 1H, 4-H), 3.71 – 3.66 (m, 1H, 4'-H), 3.56 (dd, $J = 10.3, 3.6$ Hz, 1H, 2'-H), 3.51 (dd, $J = 9.6, 5.0$ Hz, 1H, 5-H), 3.17 – 3.06 (m, 2H, 6'-H), 2.35 (s, 3H, Me), 1.96 (s, 3H, Me)。 ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 192.42, 170.09, 163.32, 138.36, 138.26, 138.17, 138.15, 137.86, 137.83, 137.77, 137.47, 137.19, 136.42, 134.48, 132.49, 132.33, 129.85, 129.81, 129.76, 129.02, 128.56, 128.44, 128.37, 128.34, 128.32, 128.29, 128.25, 128.19, 127.85, 127.82, 127.76, 127.75, 127.68, 127.55, 125.99, 101.28, 95.59, 88.02, 85.23, 81.98, 81.09, 78.88, 76.04, 75.95, 75.58, 74.84, 74.42, 74.39, 74.32, 73.59, 73.47, 72.48, 72.36, 71.33, 70.10, 69.92, 69.78, 68.67, 67.73, 67.41, 62.62, 21.14, 21.12。

化合物 **17**: 将糖基供体 **15** (1.42 g, 2.3 mmol) 和带有氨基连接臂的糖基受体 **8** (1.11 g, 1.6 mmol) 混合, 在氮气保护下用甲苯共沸 3 次, 在油泵下抽真空过夜。之后加入无水 DCM (100 ml) 和适量分子筛, 室温下搅拌 30min 后降温至 -78°C , 继续搅拌 30min 后, 加入促进 剂 TMSOTf (37 μL), 反应液在低温下继续搅拌 6h。用 TLC 监测反应, 待糖基供体完全消 耗之后, 用三乙胺淬灭反应。用二氯甲烷和饱和碳酸氢钠溶液萃取反应液, 分离有机相, 用 无水硫酸钠干燥后浓缩。浓缩液用硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 4:1) 得到化合物 **17** (1.35g,

1.2 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.48 – 6.97 (m, 35H, Ar-H), 5.64 (s, 1H, 1'-H), 5.55 (d, J = 7.7 Hz, 2H, PhCH, 3'-H), 5.16 (d, J = 10.3 Hz, 2H, 2Bn-H), 4.92 (d, J = 10.2 Hz, 1H, Bn-H), 4.65 (t, J = 12.3 Hz, 2H, 2Bn-H), 4.55 (t, J = 10.5 Hz, 2H, 1-H, Bn-H), 4.50 – 4.40 (m, 4H, 2Cbz-H, 2Bn-H), 4.32 (d, J = 10.8 Hz, 1H, 6a-H, Bn-H), 4.23 (t, J = 9.4 Hz, 2H, 5'-H, Bn-H), 3.73 (ddt, J = 37.9, 19.0, 9.3 Hz, 6H, 2-H, 4-H, 5-H, 6b-H, 4'-H, linker-OCH), 3.50 (d, J = 9.7 Hz, 1H, 2'-H), 3.41 (q, J = 8.7 Hz, 2H, 3-H, linker-OCH), 3.18 (q, J = 11.6, 10.7 Hz, 4H, 6'ab-H, linker-NCH₂), 1.91 (s, 3H, Me), 1.70 – 1.34 (m, 4H, linker-CH₂), 1.22 (d, J = 27.7 Hz, 2H, linker-CH₂)。

化合物 **18**: 将化合物 **17** (1.1g, 0.96 mmol) 溶于无水甲醇 (20 ml), 加入甲醇钠 (100 mg)。反应液在 40℃ 下搅拌 24h, 用 TLC 监测反应, 待原料全部反应完全之后用 Amberlite IR120 H⁺ 树脂中和反应液至中性。滤去树脂, 浓缩后经硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 3:1) 得到化合物 **18** (898 mg, 0.82 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.67 – 6.95 (m, 35H, Ar-H), 5.68 (s, 1H, 1'-H), 5.62 (s, 1H, PhCH-H), 5.21 (d, J = 11.2 Hz, 2H, Bn-H), 4.94 (d, J = 10.1 Hz, 1H, Bn-H), 4.83 (d, J = 11.3 Hz, 2H, Bn-H), 4.60 (t, J = 11.1 Hz, 4H, 1-H, 1Bn-H, 2Cbz-H), 4.50 (t, J = 10.5 Hz, 3H, 3Bn-H), 4.39 (d, J = 9.8 Hz, 1H, 6a-H), 4.29 (d, J = 12.1 Hz, 1H, Bn-H), 4.25 – 4.08 (m, 2H, 3'-H, 5'-H), 3.79 (dq, J = 18.3, 9.5 Hz, 5H, 2-H, 3-H, 4-H, 6b-H, linker-OCH), 3.65 (t, J = 9.5 Hz, 1H, 4'-H), 3.57 – 3.37 (m, 3H, 5-H, 2'-H, linker-OCH), 3.34 – 3.14 (m, 4H, 6'ab-H, linker-NCH₂), 2.50 (s, 1H, 3'-OH), 1.52 (ddt, J = 22.4, 15.3, 7.9 Hz, 4H, linker-CH₂), 1.41 – 1.14 (m, 2H, linker-CH₂)。 ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 156.72, 156.22, 138.90, 138.05, 137.93, 137.66, 137.30, 129.03, 128.59, 128.49, 128.32, 128.28, 128.26, 128.14, 127.98, 127.89, 127.73, 127.68, 127.62, 127.54, 127.34, 125.99, 104.00, 101.23, 95.10, 82.28, 79.60, 79.03, 77.63, 77.42, 77.31, 77.10, 76.79, 75.65, 75.57, 74.63, 73.51, 73.40, 71.97, 69.62, 69.49, 68.81, 67.86, 67.21, 65.95, 50.53, 50.24, 47.05, 46.15, 29.74, 29.63, 27.96, 27.54, 23.33。

实施例 5

四糖 **19** 的合成如图 5 所示。

化合物 **19**: 将二糖糖基供体 **15** (287 mg, 0.3 mmol) 和二糖糖基受体 **18** (230 mg, 0.12 mmol) 混合, 在氮气保护下用甲苯共沸 3 次, 在油泵下抽真空过夜。之后加入无水 DCM (2 ml) 乙醚 (4 ml) 和噻吩 (12.6 mmol) 以及适量分子筛, 室温下搅拌 30min 后降温至 0℃, 继续搅拌 30min 后, 加入促进剂 NIS (135 mg) 和 AgOTf (26 mg), 反应液在冰浴下继续搅拌 12h。用 TLC 监测反应, 待糖基供体完全消耗之后, 用 10% 硫代硫酸钠溶液和二氯甲烷萃取反应液, 分离有机相, 用无水硫酸钠干燥后浓缩。浓缩液用硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 4:1) 得到化合物 **19** (121 mg, 0.064 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.81 (s, 1H, a1-H), 5.73 (t, J = 9.7 Hz, 1H, c3-H), 5.63 (s, 1H, b1-H), 5.55 (d, J = 5.6 Hz, 2H, 2PhCH), 5.19 (d, J = 8.9 Hz, 3H, 1c-H, 2Bn-H), 4.90 (d, J = 10.9 Hz, 1H, Bn-H), 4.79 (d, J = 15.8 Hz, 3H, 3Bn-H), 4.54 (ddt, J = 47.2, 27.9, 9.9 Hz, 13H, d1-H, a3-H, 2Cbz-H, 9Bn-H), 4.38 – 4.14 (m, 8H, d3-H, b5-H, c5-H, c6-H₂, 3Bn-H), 4.03 (t, J = 9.3 Hz, 1H, b3-H), 3.74 (td, J = 30.8, 27.3, 8.7 Hz, 9H, a6-H₂, a2-H, b4-H, d2-H, d5-H, c4-H, a5-H, linker-OCH), 3.49 (ddd, J = 42.6, 21.7, 9.6 Hz, 6H, d6-H₂, d4-H, b2-H, a2-H, a4-H), 3.20 (d, J = 34.7 Hz, 5H, b6-H₂, linker-NH₂, linker-OCH), 1.89 (s, 3H, Me)。 ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 169.61, 138.61, 138.32, 138.16, 138.02, 137.96, 137.68, 137.61, 137.34, 136.87, 130.92, 128.96, 128.80, 128.75, 128.69, 128.56, 128.48, 128.38, 128.32, 128.26, 128.21, 128.09, 128.03, 127.95, 127.86, 127.73, 127.66, 127.62, 127.59, 127.56, 127.51, 127.47, 127.25, 126.18, 125.99, 103.93, 101.22, 95.04, 94.72, 94.50, 82.61, 82.21, 79.44, 78.54, 78.31, 77.36, 77.04, 76.72, 76.25, 75.72, 75.49, 75.37, 75.18, 74.15, 73.44, 73.38, 73.16, 72.13, 71.40, 69.92, 69.43, 69.17, 68.91, 68.81, 68.16, 67.93, 67.18, 65.80, 65.58, 62.36, 50.48, 47.05, 46.15, 29.72, 29.55, 27.89, 27.49, 23.20, 21.09, 19.20, 13.74。

实施例 6 1,3- α -顺式糖苷键构建体系的优化:

1) 溶剂对 1, 3- α -顺式糖苷键构建的影响:

参照实施例 5, 经溶剂分别替换为表 1 中所示的溶剂, 测定所得产物中 1, 3- α -顺式糖苷键的含量。结果见表 1。

表 1 不同溶剂和添加剂体系构建 1,3- α -顺式糖苷键

反应条件(c=50 mM)	α/β
DCM, NIS, TMSOTf	1:1.8
DCM, 100 eq 噻吩, NIS, TMSOTf	5:1
DCM:Et ₂ O=1:3, NIS, TMSOTf	4:1
DCM:Et ₂ O=1:3, 100eq thiophene, NIS, TMSOTf	>10:1

2) 促进剂对 1,3- α -顺式糖苷键构建的影响:

参照实施例 5, 将促进剂分别替换为表 2 中所示的添加剂, 测定所得产物中 1, 3- α -顺式糖苷键的含量。结果见表 2。

表 2 不同促进剂条件构建 1,3- α -顺式糖苷键

反应条件 (c=50 mM)	产率	α/β
DCM:Et ₂ O=1:3, 100eq 噻吩, NIS, TMSOTf	44%	>10:1
DCM:Et ₂ O=1:3, 100eq 噻吩, NIS, AgOTf	46%	>10:1
DCM:Et ₂ O=1:3, 100eq 噻吩, NIS, AgOTf, TMSOTf	59%	>10:1

实施例 7

六糖 **21** 的合成如图 6 所示。

四糖化合物 **19** 在甲醇和甲醇钠的条件下反应两天脱去 3'''-OAc 得到四糖化合物 **20**。随后以化合物 **20** 为糖基受体与二糖供体 **16** 在路易斯酸促进剂的催化下反应得到六糖化合物 **21**。

化合物 **20**: 将化合物 **19** (90 mg, 0.047 mmol) 溶于甲醇 (9 ml) 和乙酸乙酯 (1 ml) 的混合溶剂中, 加入甲醇钠 (30 mg)。反应在 40°C 下搅拌 2d, 用 TLC 监测反应, 待原料全部反应完全之后用 Amberlite IR120 H⁺ 树脂中和反应液至中性。滤去树脂, 浓缩后经硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 3:1) 得到化合物 **21** (68 mg, 0.037 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.79 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, a1-H), 5.68 (d, *J* = 5.3 Hz, 1H, b1-H), 5.55 (d, *J* = 2.7 Hz, 2H, 2PhCH), 5.19 (d, *J* = 9.2 Hz, 2H, 2Bn-H), 5.06 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H, c1-H), 4.97 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H, Bn-H), 4.79 (ddd, *J* = 21.1, 11.9, 7.4 Hz, 4H, 4Bn-H), 4.68 – 4.44 (m, 11H, d1-H, b3-H, a4-H, 6Bn-H, 2Cbz-H), 4.46 – 4.37 (m, 2H, 2Bn-H), 4.36 – 4.23 (m, 6H, d3-H, a5-H, 2Bn-H, 6-H2), 4.17 (t, *J* = 9.3 Hz, 1H, c3-H), 4.12 – 4.01 (m, 2H, c4-H, a3-H), 3.87 – 3.68 (m, 6H, d2-H, b4-H, c5-H, 6-H2, linker-OCH), 3.68 – 3.62 (m, 2H, a2-H, d5-H), 3.60 (d, *J* = 9.4 Hz, 2H, b2-H, b5-H), 3.45 (dd, *J* = 11.1, 3.1 Hz, 1H, 6-H), 3.40 – 3.33 (m, 2H, c2-H, d4-H), 3.30 – 3.11 (m, 6H, linker-NCH₂, linker-OCH, 6-H, 6-H2), 1.56 – 1.34 (m, 4H, 2linker-CH₂), 1.23 – 1.06 (m, 4H, linker-CH₂)。 ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 156.70, 156.18, 138.86, 138.70, 138.24, 138.20, 138.14, 138.07, 138.01, 137.93, 137.78, 137.62, 137.44, 137.31, 136.91, 129.79, 129.23, 129.01, 128.81, 128.71, 128.69, 128.65, 128.59, 128.50, 128.42, 128.32, 128.29, 128.25, 128.22, 128.20, 128.16, 128.15, 128.02, 127.97, 127.88, 127.84, 127.75, 127.66, 127.62, 127.60, 127.56, 127.48, 127.42, 127.35, 126.16, 126.00, 103.92, 102.01, 101.26, 101.21, 95.76, 95.36, 94.59, 82.79, 82.11, 81.12, 79.58, 79.43, 78.86, 78.25, 78.07, 77.40, 77.28, 77.08, 76.76, 75.35, 75.31, 74.79, 74.67, 74.47, 73.85, 73.57, 73.45, 73.39, 73.29, 71.93, 71.75, 69.92, 69.23, 68.77, 68.21, 67.90, 67.20, 65.81, 62.70, 50.50, 50.20, 47.05, 46.13, 29.74, 29.58, 27.91, 27.50, 23.23。

化合物 **21**: 将二糖供体 **15** (60 mg, 0.064 mmol) 和四糖受体 **20** (50 mg, 0.027 mmol) 在氮气保护下用甲苯共沸 3 次, 在油泵下抽真空过夜。之后加入无水 DCM (0.5 ml) 乙醚 (1 ml) 和噻吩 (0.6 ml) 以及适量分子筛, 室温下搅拌 30min 后降温至 0°C, 继续搅拌 30min 后, 加入促进剂 NIS (29 mg) 和 AgOTf (3 mg), 反应液在冰浴下继续搅拌 12h。用 TLC 监测反应, 待糖基供体完全消耗之后, 用 10% 硫代硫酸钠溶液和二氯甲烷萃取反应液, 分离有机相, 用无水硫酸钠干燥后浓缩。浓缩液用硅胶柱纯化 (石油醚/乙酸乙酯, 4:1) 得到化合物

21 (33.4 mg, 0.012 mmol)。¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 5.91 (s, 1H, a1-H), 5.75 (d, *J* = 12.4 Hz, 2H, b1-H, b3-H), 5.58 (s, 2H, c1-H, PhCH-H), 5.52 (s, 1H, PhCH), 5.50 (s, 1H, PhCH), 5.36 (s, 1H, d1-H), 5.22 (s, 3H, e1-H, 2Bn-H), 4.94 – 4.72 (m, 7H, 7Bn-H), 4.53 (ddt, *J* = 44.2, 17.1, 10.5 Hz, 18H, f1-H, c3-H, d3-H, 2Cbz-H, 13Bn-H), 4.34 (dt, *J* = 23.0, 10.9 Hz, 7H, f4-H, 4Bn-H, 6-H2), 4.22 (d, *J* = 11.1 Hz, 2H, f5-H, b5-H), 4.08 (q, *J* = 11.8, 9.3 Hz, 3H, a3-H, e3-H, 6-H), 3.90 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, a2-H, 6-H), 3.88 – 3.64 (m, 10H, f2-H, f3-H, b4-H, d4-H, e4-H, a5-H, c3-H, 6-H2, linker-OCH), 3.53 (dp, *J* = 32.8, 11.4, 10.7 Hz, 10H, a4-H, c2-H, b2-H, e2-H, c5-H, d2-H, d5-H, e5-H, 6-H2), 3.36 – 3.10 (m, 5H, b6-H2, linker-NCH₂, linker-OCH), 1.93 (s, 3H, Me), 1.57 – 1.40 (m, 4H, 2linker-CH₂), 1.23 – 1.11 (m, 2H, linker-CH₂)。 ¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃) δ 206.98, 192.41, 169.83, 169.74, 156.70, 138.41, 137.94, 137.90, 137.71, 137.29, 136.90, 136.44, 134.48, 130.93, 129.77, 129.02, 128.86, 128.84, 128.62, 128.57, 128.50, 128.43, 128.38, 128.34, 128.28, 128.24, 128.05, 128.01, 127.91, 127.87, 127.75, 127.70, 127.65, 127.59, 127.56, 127.53, 127.50, 127.47, 127.45, 127.40, 127.37, 127.33, 127.29, 126.24, 126.21, 126.16, 126.01, 103.95, 101.28, 101.18, 94.82, 94.36, 94.12, 93.96, 82.53, 82.21, 79.40, 78.67, 77.22, 77.04, 76.86, 76.16, 75.78, 75.59, 75.38, 75.20, 74.89, 74.27, 74.18, 73.45, 73.42, 73.39, 73.27, 72.97, 72.13, 71.17, 70.51, 70.07, 69.81, 69.24, 68.98, 68.80, 68.60, 68.15, 67.83, 67.20, 65.83, 62.13, 50.47, 50.16, 47.03, 46.10, 30.96, 29.73, 29.54, 27.88, 27.47, 23.20, 22.72, 21.13, 21.11, 14.15。

依照此方法可以合成八糖，十糖，十二糖等一系列幽门螺旋杆菌 O2-血清型寡糖衍生物。

寡糖链可以以+2 糖的模式由还原端向非还原端延伸，包括两个步骤。1) 还原端带有连接臂的寡糖脱去非还原端的脂类基团；2) 与二糖供体 **16** 的糖基化反应。

脱去寡糖非还原端脂类基团的方法：将化合物 (~50 mg) 溶于甲醇 (10~15 ml) 中，可以适量添加少量乙酸乙酯或者四氢呋喃增加溶解性。加入甲醇钠 (20~30 mg)，反应液在 40℃ 下搅拌 12h~2d。用 TLC 监测反应进程，待原料全部反应完全之后用 Amberlite IR120 H⁺ 树脂中和反应液至中性。滤去树脂，浓缩后经硅胶柱纯化。

以二糖 **16** 为糖基供体进行糖苷化反应的方法：将糖基供体和糖基受体在氮气保护下用甲苯共沸三次，在油泵上抽真空过夜。将反应物溶于二氯甲烷和乙醚 (1:1) 的混合溶剂中，同时加入相对于糖基供体 100 当量的噻吩和适量分子筛。加入 NIS 和 AgOTf, TMSOTf 和 TfOH 中的一种或者几种作为促进剂。反应浓度为 0.02 M (相对于糖基供体)，反应时间为 12~24 h。用 TLC 监测反应进程，待糖基供体反应完全之后用 10% 硫代硫酸钠、二氯甲烷和饱和碳酸氢钠溶液萃取反应液，分离有机相，用无水硫酸钠干燥，浓缩后经硅胶柱纯化得到新的寡糖化合物。

实施例 7：二糖，四糖和六糖的脱保护

如图 7 所示，二糖，四糖和六糖化合物的脱保护分为两个步骤。第一，在碱性条件下脱除非还原端的乙酰基；第二，在钨碳的催化下氢化掉所有的芳香基团，得到还原端组装有五碳氨基连接臂的二糖、四糖和六糖。

脱除非还原端二糖乙酰基的方法：将化合物溶于甲醇和乙酸乙酯 (9:1) 的混合溶剂中，浓度为 0.02M，加入相对于原料 0.5 当量的甲醇钠。反应液在 40℃ 下搅拌 12h~2d。用 TLC 监测反应进程。待原料全部反应完全之后用 Amberlite IR120 H⁺ 树脂中和反应液至中性。滤去树脂，浓缩后经硅胶柱纯化。

氢化反应的方法：将化合物 (6~10 mg) 溶于异丁醇 (3 ml)、甲醇 (1 ml) 和水 (1 ml) 的混合溶液中，加入冰乙酸 (0.1 ml) 和钨碳 (50 mg)。反应液在中压氢气反应釜中进行，反应压力为 0.4 MPa，反应时间为 12 h。待原料反应完全之后用硅藻土过滤反应液，浓缩后经 C18 小柱纯化得到目标化合物。

具体试验和操作步骤：

化合物 **22**：以二糖化合物 **17** 为原料，经过脱乙酰基和氢化两个步骤得到脱保护的二糖化合物 **22**。¹H NMR (400 MHz, Deuterium Oxide) δ 5.37 (d, *J* = 3.8 Hz, 1H, 1'-H), 4.61 (d, *J* = 7.9

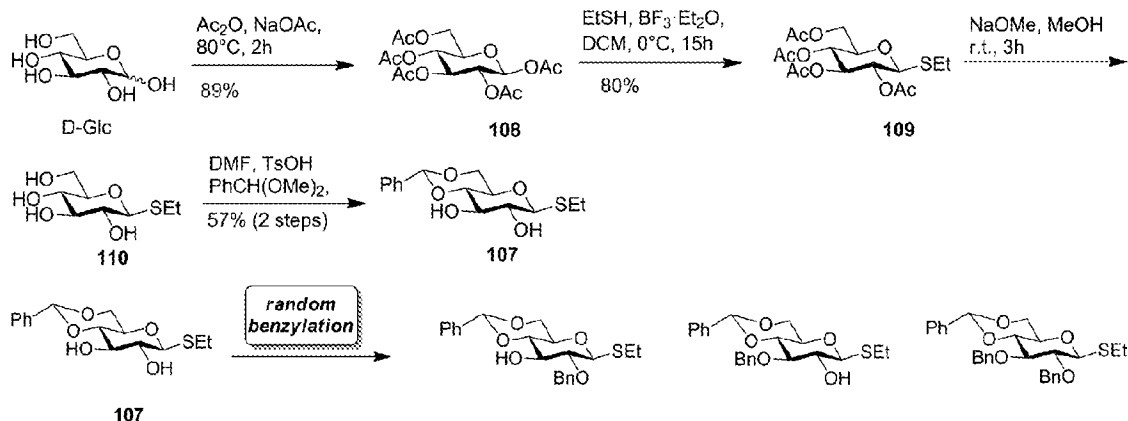
Hz, 1H, 1-H), 4.05 (dt, $J = 10.2, 3.3$ Hz, 1H, 5'-H), 4.00 – 3.89 (m, 2H, 6-H, linker-OCH), 3.81 (d, $J = 3.4$ Hz, 2H, 6'-H2), 3.77 – 3.67 (m, 3H), 3.58 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, 4-H), 3.52 (dd, $J = 9.9, 3.9$ Hz, 1H, 2'-H), 3.49 – 3.36 (m, 4H, 4'-H, 2-H, 3-H, 5-H), 3.02 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, linker-NCH₂), 1.70 (q, $J = 7.2$ Hz, 4H, 2linker-CH₂), 1.57 – 1.39 (m, 2H, linker-CH₂)。 ¹³C NMR (101 MHz, D₂O) δ 102.77, 97.61, 77.02, 75.71, 74.50, 72.91, 71.63, 71.43, 70.18, 69.84, 69.30, 60.81, 60.23, 39.37, 28.28, 26.43, 22.28。

化合物 **23**: 以四糖化合物 19 为起始原料, 经过脱乙酰基和氢化两个步骤得到脱保护的
四糖化合物 **23**。 ¹H NMR (400 MHz, Deuterium Oxide) δ 5.44 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, a1-H), 5.28 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H, b1-H), 5.08 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, c1-H), 4.53 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, d1-H), 3.96 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H, a3-H, c4-H), 3.92 – 3.65 (m, 12H, linker-OCH, b3-H, c3-H, d3-H, b4-H, d5-H, 6*6-H), 3.65 – 3.44 (m, 7H, linker-OCH, a2-H, a5-H, b2-H, c2-H, 2*6-H), 3.43 – 3.22 (m, 5H, a4-H, b5-H, d2-H, d4-H, c5-H), 2.90 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, linker-NCH₂), 1.58 (q, $J = 7.4$ Hz, 4H, linker-CH₂), 1.36 (q, $J = 8.0$ Hz, 2H, linker-CH₂)。 ¹³C NMR (101 MHz, D₂O) δ 102.75, 97.71, 96.49, 95.98, 79.83, 76.87, 75.74, 75.37, 74.50, 72.84, 71.82, 71.54, 71.28, 70.21, 69.88, 69.51, 69.29, 60.84, 60.32, 39.38, 28.30, 26.45, 22.29。

化合物 **24**: 以六糖化合物 21 为起始原料, 经过脱乙酰基和氢化两个步骤得到脱保护的
六糖化合物 **24**。 ¹H NMR (400 MHz, Deuterium Oxide) δ 5.51 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, a1-H), 5.48 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, b1-H), 5.31 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H, c1-H), 5.13 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H, d1-H), 5.11 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, e1-H), 4.55 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, f1-H), 4.09 – 3.25 (m, 38H, 6*2-H, 6*3-H, 6*4-H, 6*5-H, 6*6-H2, linker-OCH₂), 2.93 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H, linker-NCH₂), 1.61 (h, $J = 6.9, 6.2$ Hz, 4H, linker-CH₂), 1.43 – 1.30 (m, 2H, linker-CH₂)。 ¹³C NMR (101 MHz, D₂O) δ 102.77, 96.58, 95.99, 79.76, 79.48, 76.78, 75.76, 75.34, 75.03, 74.51, 72.85, 71.82, 71.63, 71.29, 71.14, 70.22, 70.04, 69.87, 69.72, 69.54, 69.31, 60.84, 60.58, 60.33, 60.05, 39.38, 28.32, 26.46, 22.31。相应核磁图谱如图 8-11 所示。

实施例 8: 单糖砌块制备的优化

为了得到 C-2 和 C-3 分别为羟基的葡萄糖砌块, 我们从市售 D-葡萄糖出发, 先用乙酸酐和乙酸钠在高温下给葡萄糖的羟基上保护住乙酰基, 随后通过结晶得到的全乙酰基葡萄糖 **108** 大都为 β -异头物。随后在路易斯酸的辅助下全乙酰葡萄糖与乙硫醇反应得到硫糖苷葡萄糖 **109**。继续用甲醇钠水解掉剩余四个乙酰基之后得到 **110**, 将硫糖苷葡萄糖 **110** 的 4,6 号位羟基用苄叉基保护, 得到空出 2,3 号位羟基的硫糖苷葡萄糖 **107**。



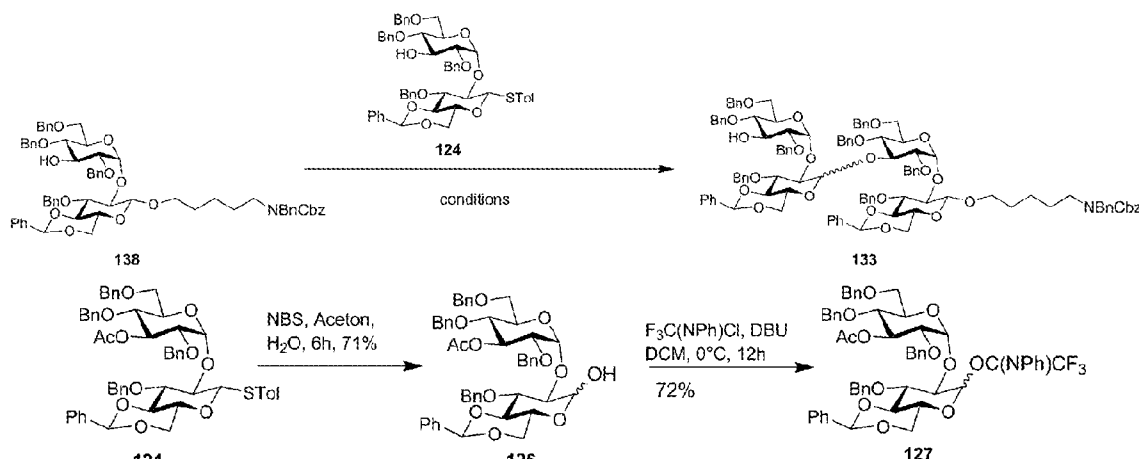
由于葡萄糖 C2 和 C3 号位性质接近, 无法用化合物 107 通过随机上苄基得到, 这样也让我们需要重新设计糖砌块路线, 而且需要从一开始就将 C-2 和 C-3 的结构区别开。为此, 我们选择市售的二丙酮葡萄糖为起始原料重新设计反应路线, 与前期设计路线是所选取的 D-葡萄糖相比, 二丙酮葡萄糖最大的利处在于 C-3 自留一个羟基, 这就从一开始区别了 C-2 和 C-3 羟基的性质。因此我们重新设计糖砌块, 优选市售二丙酮葡萄糖为起始原料, 重新合成两个

葡萄糖砌块用于组装幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O-抗原寡糖（分别对应实施例 1 和实施例 2）。

实施例 9：糖基化反应的优化

在有二糖 **124** 和 **138** 的基础上，进一步探寻了连接四糖的条件。我们首先在纯二氯甲烷中尝试了糖苷化反应，以最常用的碘带丁二酰亚胺和一种路易斯酸三甲基硅三氟甲磺酸酯反应得到四糖 **133**。但遗憾的是这个反应的选择性不够， α/β 的选择性仅有 1:1.8。为了尽可能多的得到更多的目标化合物所需要的 α 构型的四糖 **133**，我们尝试了各种不同的溶剂，发现向反应溶剂中添加适量乙醚可以适量地提高 α 构型，例如将反应溶剂换做二氯甲烷与乙醚（1:3）的 31% 混合溶剂之后，四糖 α 构型的选择性提高了 8 倍，达到了 α/β ，4:1 的结果，但是产率下降了。通过向二氯甲烷与乙醚混合溶剂中添加相对于糖基供体 100 倍当量噻吩发现得到的四糖中 α 构型的比例进一步提高，达到的 $\alpha/\beta > 10:1$ ，在选择性上满足实验需求，不过反应产率较低，仅有 44%。为了尝试提高这个糖基化反应的产率，我们尝试不同糖基化反应的促进剂，包括碘带丁二酰亚胺与路易斯酸三甲基硅三氟甲磺酸酯，三氟甲磺酸或者三氟甲磺酸银等，以及多种促进剂的叠加使用，最终发现在应用硫糖苷 **124** 为糖基供体，辅以碘带丁二酰亚胺、三氟甲磺酸银和三甲基硅三氟甲磺酸酯共同使用作为促进剂，并且在 DCM 与乙醚的混合溶剂（1/3）且添加噻吩的溶剂中反应，能够以 59% 的产率得到 α/β ，10:1 的四糖化合物 **133**。

表 3 合成四糖化合物 **133** 的条件优化

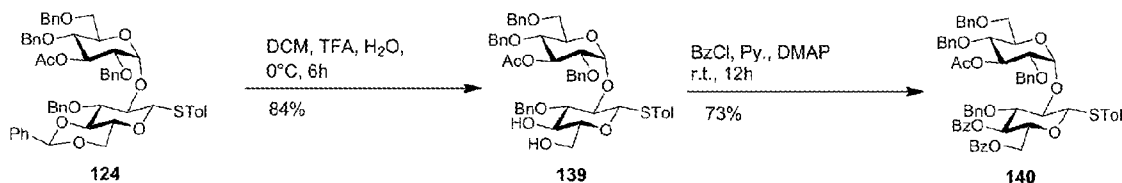


编号	条件	产率	α/β
1	124 , DCM, NIS, TMSOTf	66%	1:1.8
2	124 , DCM:Et ₂ O=1:3, NIS, TMSOTf	46%	4:1
3	124 , DCM:Et ₂ O=1:3, 100eq thiophene, NIS, TMSOTf	44%	>10:1
4	124 , DCM:Et ₂ O=1:3, 100eq thiophene, NIS, AgOTf	46%	>10:1
5	124 , DCM:Et ₂ O=1:3, 100eq thiophene, NIS, AgOTf, TMSOTf	59%	>10:1
6	127 , DCM:Et ₂ O=1:3, 100eq thiophene, TMSOTf	62%	>10:1

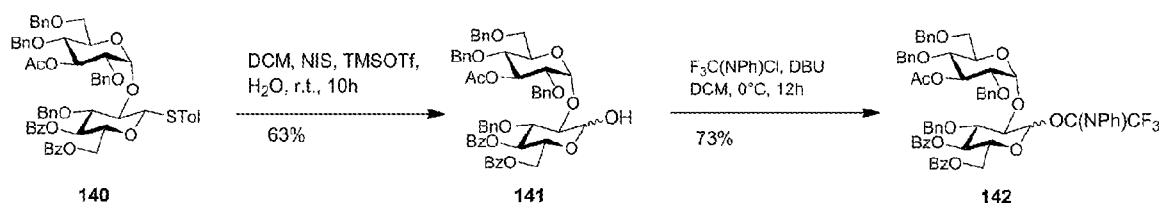
为了进一步提高反应的产率和 α -立体选择性，我们对四糖的反应做了一些优化，两条主要的优化路线如下：1) 尽管二糖化合物 **124** 上的硫苷能够用于被碘带丁二酰亚胺和路易斯酸活化用于糖基化反应，但是活化效率较低。尽管逐步加大了促进剂的当量，但是依然从糖基化反应后能回收得到未活化的受体。为此，将硫苷换作一种反应活性更好的离去基团不失为一种提高四糖合成产率的方法；2) 此外，发明人经过实验发现在供体上引入强吸电子的酯类基团对糖基化反应的 α -立体选择性，因此可以考虑在二糖供体上引入酯类基团来提高四糖反应的 α -立体选择性。

不过，按照表 3（编号 6）的方法，以 **127** 为供体得到的四糖产率也仅为 62%， α -立体选择性也可以达到 $\alpha/\beta > 10:1$ 。尽管在产率上，二糖 TFAI 供体 **137** 比起二糖硫糖苷供体 **124** 在产率上高出一点点，但是在 α -立体选择性并没有明显的提升，仅仅高出 2%。而且，从 **124** 到 **127** 需要经过两步反应，产率仅为 49%。比起所损失的糖的比例，四糖化合物 **133** 所提升的产率显得微不足道，从总体合成的角度来考虑，显得并不值得这么做。

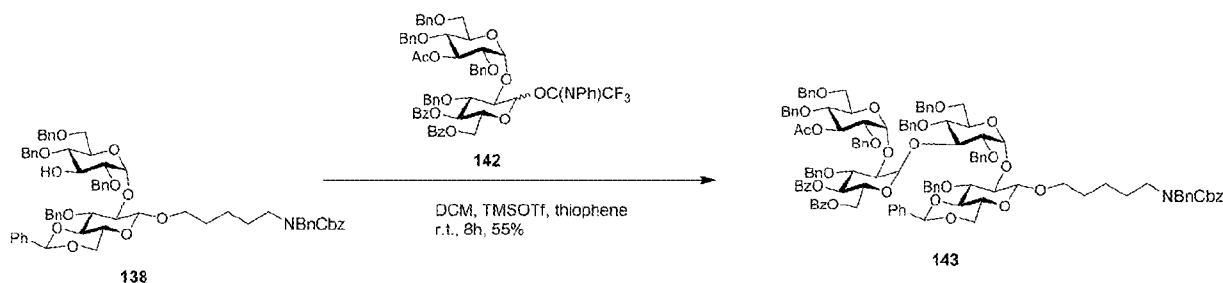
为了在二糖供体上引入脂类基团, 最容易想到的方式就是先将二糖 **124** 还原端葡萄糖残基上的苄叉环打开, 从而空出 C-4 和 C-6 位羟基用来保护酯基。由于 **124** 上的疏水基团较多, 不溶于水相, 因而采用在二氯甲烷中以三氟乙酸方式水解掉苄叉基得到 2 羟基化合物 **139**, 随后将空出的羟基用苯甲酰基保护得到化合物 **140**。两步反应总产率为 61%。



接下来利用新合成的二糖供体 **140** 与二糖受体 **138** 糖基化反应, 结果发现供体 **140** 并不能被促进剂活化, 不管是提高反应温度至 40°C 还是提高促进剂的用量都不能够活化 **140**。反应的过程中 **140** 既没有被水解, 也没有与受体反应, 反应后也能从反应液中回收足量的 **140**。**140** 之所以难活化的原因发明人推测有以下两点: 1) 本身硫苷就较为稳定, 这个在 **124** 用作供体的时候就活化不完全可以得出; 2) 苯甲酰基具有极强的吸电子能力, 从而降低了端基位的电子云密度, 使糖基供体钝化。因此, 为了提高 **140** 的反应活性, 必须将硫苷换成反应性更好的离去基团。类似从 **124** 到 **127** 的过程, **140** 也经历相同的两步反应得到糖基 TFAI 供体 **142**。



随后应用供体 **142** 与糖基受体 **138** 糖基化反应生成四糖, 应用三甲基硅三氟甲磺酸酯为促进剂, 得到纯 α -立体选择的四糖化合物 **143**, 这也是得益于苯甲酰基的远程作用。



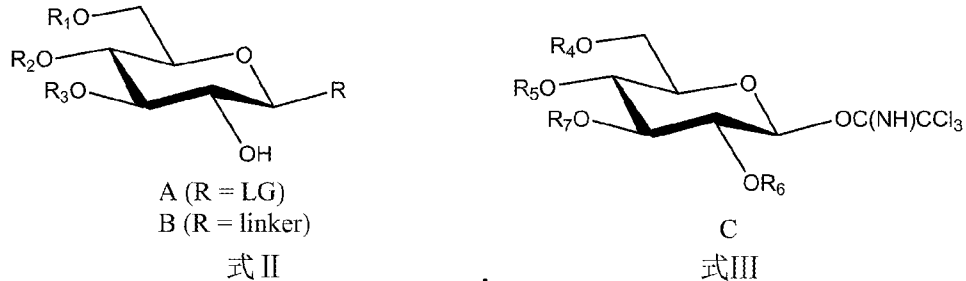
不过, 尽管在立体选择性上看, 苯甲酰基二糖供体在 **142** 糖苷化反应中表现出优异的选择性, 但是从合成路线的效率上来看, 这一改进的意义并不大。我们默认二糖受体在糖基化反应中是不损失的, 除了参与反应的部分都可以回收回来, 那么讨论糖基化反应的效率就取决于二糖的供体, 我们考虑从二糖 **124** 开始到四糖 **133** 或者四糖 **143** 的利用率, 以硫苷二糖 **124** 直接糖基化反应的得到 **133** 的总产率为 53%, ($59\% \times 90\%$), 经由糖基 TFAI 供体 **127** 与受体 **138** 糖基化反应得到 **133** 的总产率为 28.5%, ($71\% \times 72\% \times 62\% \times 90\%$), 而第三种途径经由苄氧糖基供体 **142** 糖基化反应得到 **143** 的总产率仅为 15.5%, ($84\% \times 73\% \times 63\% \times 73\% \times 55\% \times 100\%$)。因此, 基于糖基化反应的效率来说, 我们依然选用尽管在糖基化反应中产率不是最高, 但 α -立体选择性较好, 且总路线最短, 总产率遥遥领先另外两个路径的方法。因此我们采用这一方法完成四糖 **133** 的合成。

虽然本发明以较佳实例公开如上, 但其并非用以限定本发明, 任何熟悉此技术的人在不脱离本发明的精神和范围内都可作各种改动与修饰, 因此本发明的保护内容应该以权利要求书所限定的为准。

权 利 要 求 书

1、一种幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物的合成方法，其特征在于，所述方法是利用糖砌块 A、B、C 构建幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物，包括构建糖砌块之间的 1,2- α -顺式-糖苷键和 1,3- α -顺式-糖苷键；

其中糖砌块 A、B、C 分别为结构式 II、III 所示的化合物：



其中，LG 为糖基化反应离去基团，包括三氯乙酰亚胺基、对甲基苯硫基；linker 包括 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2$ 或者 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2(\text{linker})$ ， Y_1 为氢或者烷氧基， Y_2 为氢或者烷氧羰基；

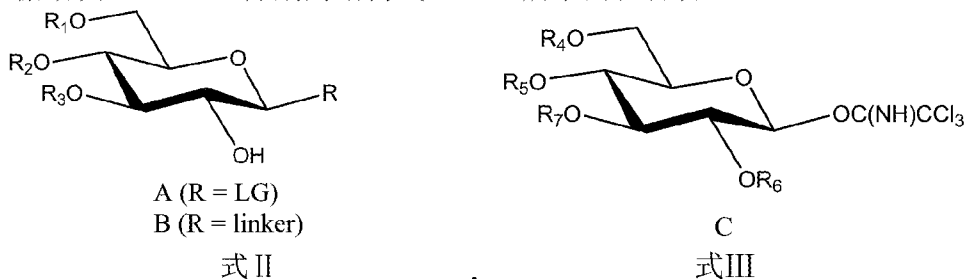
$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ 为氢或者醚类基团； R_7 为氢或者酰基类基团；

所述方法中 1,3- α -顺式-糖苷键的构建是在二氯甲烷和乙醚的混合溶剂中进行的；所述方法中 1,3- α -顺式-糖苷键的构建还需要引入添加剂噻吩，添加剂与糖砌块的摩尔比为 (80-120):1。

2、根据权利要求 1 所述的方法，其特征在于，所述混合溶剂中二氯甲烷与乙醚的体积比为 1: (2.5-5)。

3、一种幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物的合成方法，其特征在于，所述方法是利用糖砌块 A、B、C 构建幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物，包括构建糖砌块之间的 1,2- α -顺式-糖苷键和 1,3- α -顺式-糖苷键；

其中糖砌块 A、B、C 分别为结构式 II、III 所示的化合物：



其中，LG 为糖基化反应离去基团，包括三氯乙酰亚胺基、对甲基苯硫基；linker 包括 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2$ 或者 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2(\text{linker})$ ， Y_1 为氢或者烷氧基， Y_2 为氢或者烷氧羰基；

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ 为氢或者醚类基团； R_7 为氢或者酰基类基团。

4、根据权利要求 3 所述的方法，其特征在于，所述方法中 1,3- α -顺式-糖苷键的构建是在二氯甲烷和乙醚的混合溶剂中进行的。

5、根据权利要求 4 所述的方法，其特征在于，所述混合溶剂中二氯甲烷与乙醚的体积比为 1: (2.5-5)。

6、根据权利要求 3 所述的方法，其特征在于，所述方法中 1,3- α -顺式-糖苷键的构建还需要引入添加剂。

7、根据权利要求 4 所述的方法，其特征在于，所述方法中 1,3- α -顺式-糖苷键的构建还需要引入添加剂。

8、根据权利要求 5 所述的方法，其特征在于，所述方法中 1,3- α -顺式-糖苷键的构建还需要引入添加剂。

9、根据权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述添加剂与糖砌块的摩尔比为 (80-120):1。

10、根据权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述添加剂包括噻吩。

11、根据权利要求 7 所述的方法，其特征在于，所述添加剂包括噻吩。

12、根据权利要求 8 所述的方法，其特征在于，所述添加剂包括噻吩。

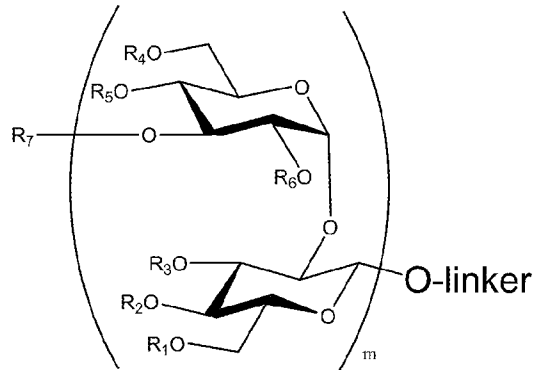
13、根据权利要求 9 所述的方法，其特征在于，所述添加剂包括噻吩。

14、根据权利要求 1-13 任一所述的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：

(1) 合成葡萄糖单糖砌块 A、B、C；

(2) 合成二糖化合物：构建糖砌块之间的 1,2- α -顺式-糖苷键；

(3) 构建多糖化合物与多糖化合物之间的 1,3- α -顺式-糖苷键，制备得到幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物；所述多糖化合物为式 IV 所示的化合物；



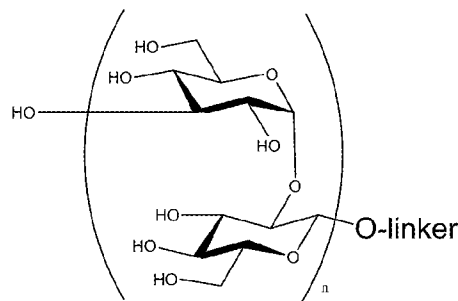
式IV

其中，m 为二糖片段的重复单元数，为 2~12；

linker 包括 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2$ 或者 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2(\text{linker})$ ， Y_1 为氢 (H) 或者烷氧基， Y_2 为氢或者烷氧羰基；

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6$ 为氢或者醚类基团； R_7 为氢或者酰基类基团。

15、一种组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物，其特征在于，其结构式如式 VII 所示，所述化合物是利用权利要求 1-13 任一所述的方法制备得到的；



式VII

其中，linker 包括 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2$ 或者 $-(CH_2)_n-N-Y_1Y_2(\text{linker})$ ， Y_1 为氢或者烷氧基， Y_2 为氢或者烷氧羰基。

16、一种糖-蛋白缀合物的制备方法，其特征在于，所述方法是利用权利要求 15 所述的组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物。

17、权利要求 15 所述的组装有氨基连接臂的幽门螺旋杆菌 O2 血清型 O 抗原寡糖类化合物在开发或制备疗幽门螺旋杆菌疫苗或者疗幽门螺旋杆菌感染导致的疾病的药物中的应用。

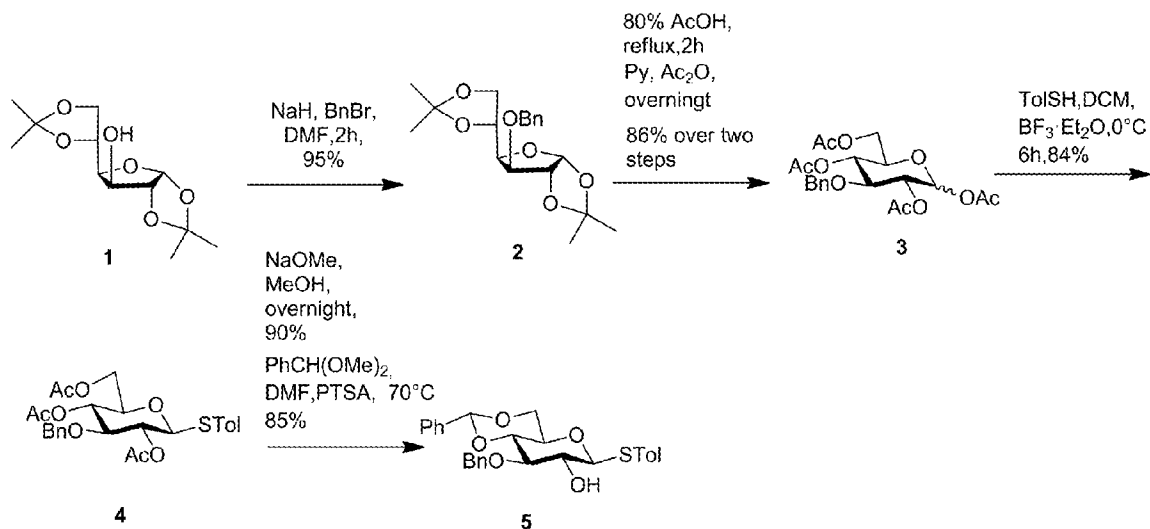


图 1

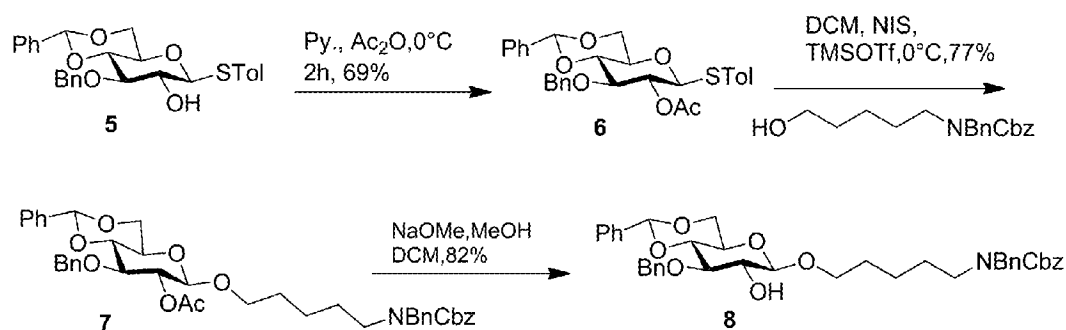


图 2

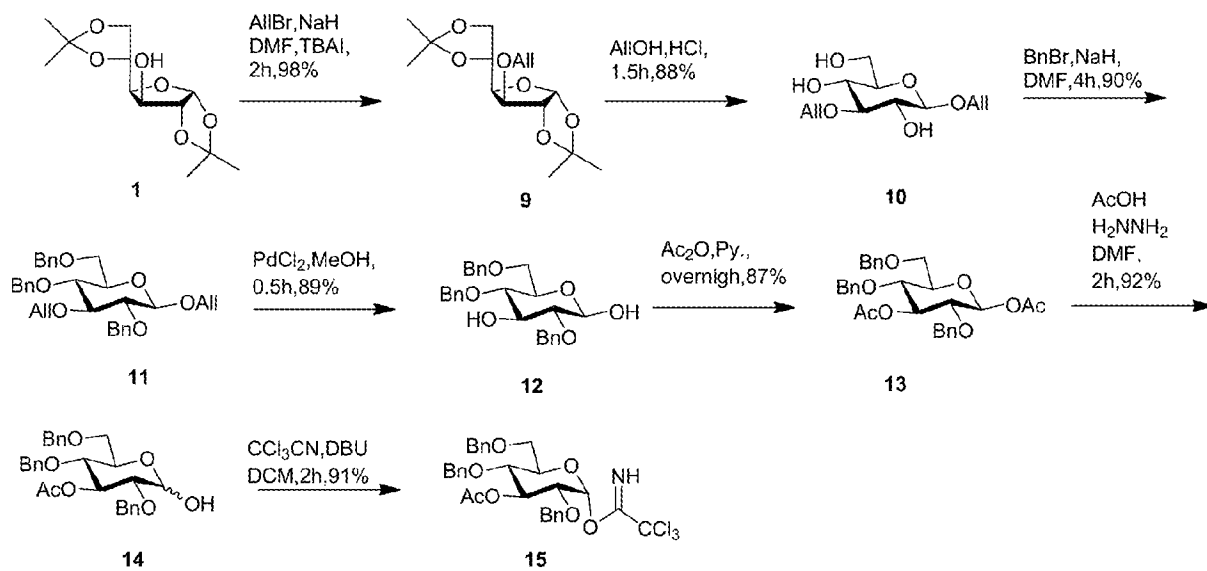


图 3

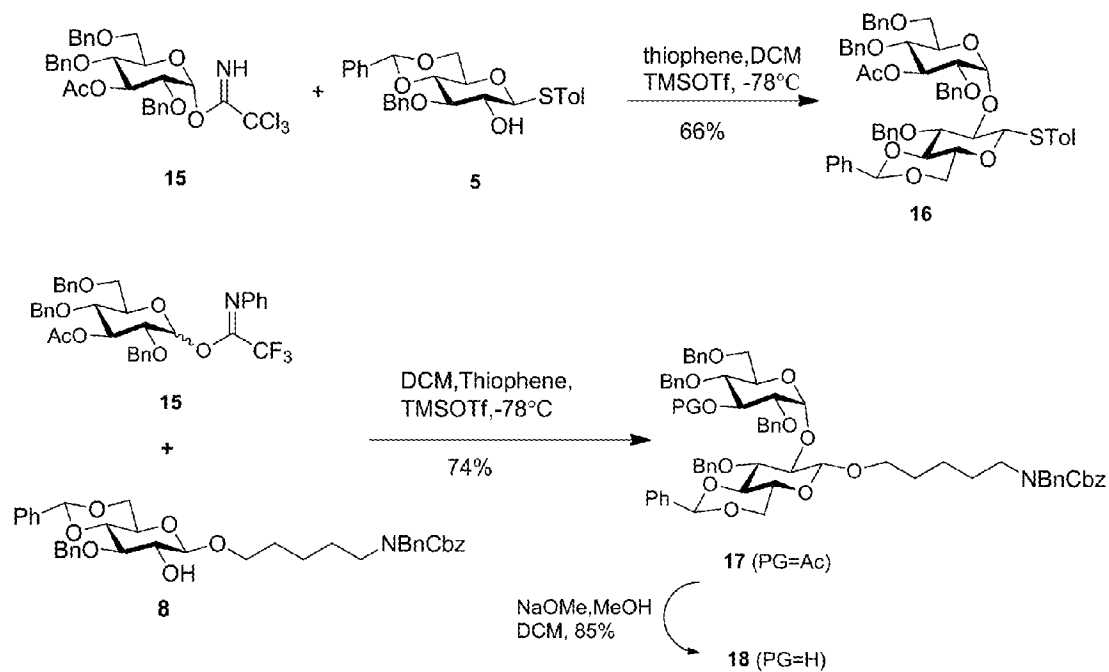


图 4

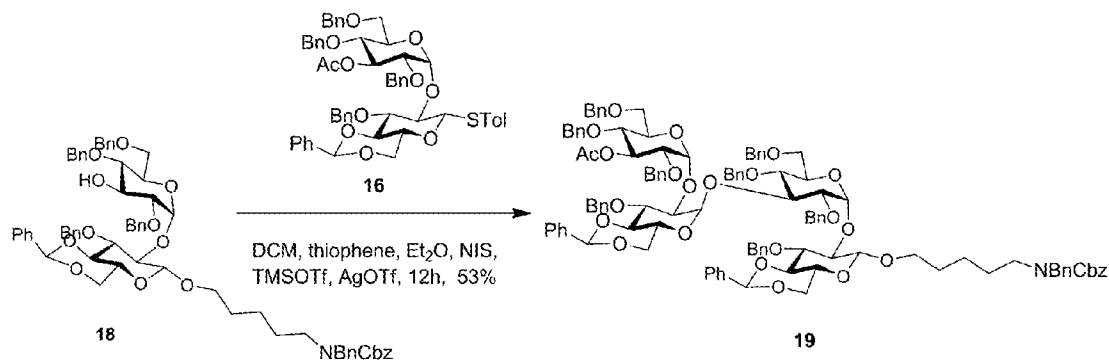


图 5

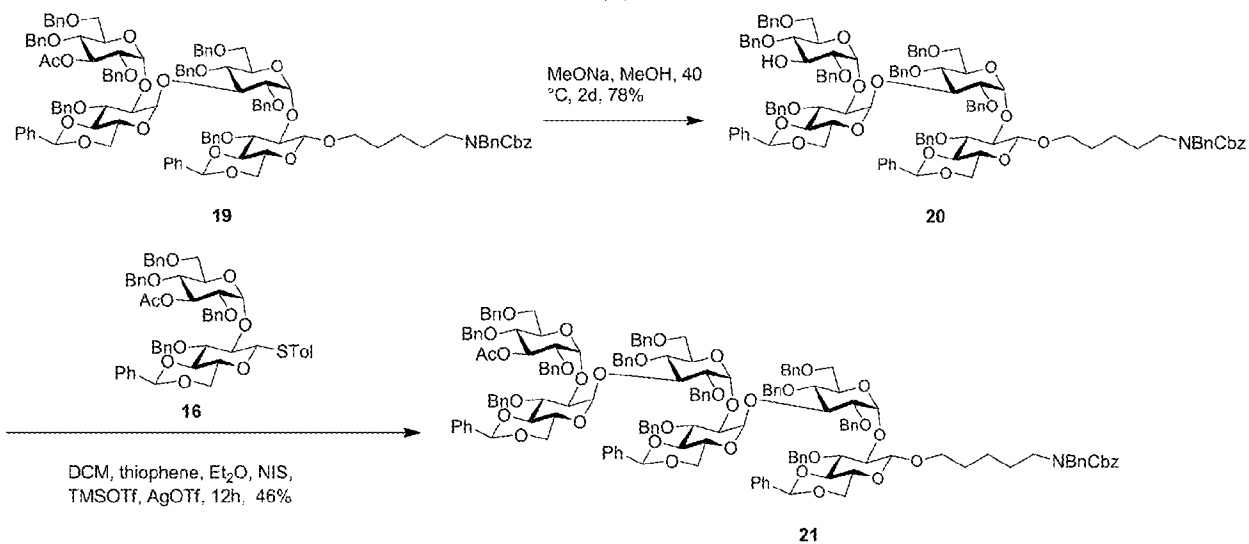


图 6

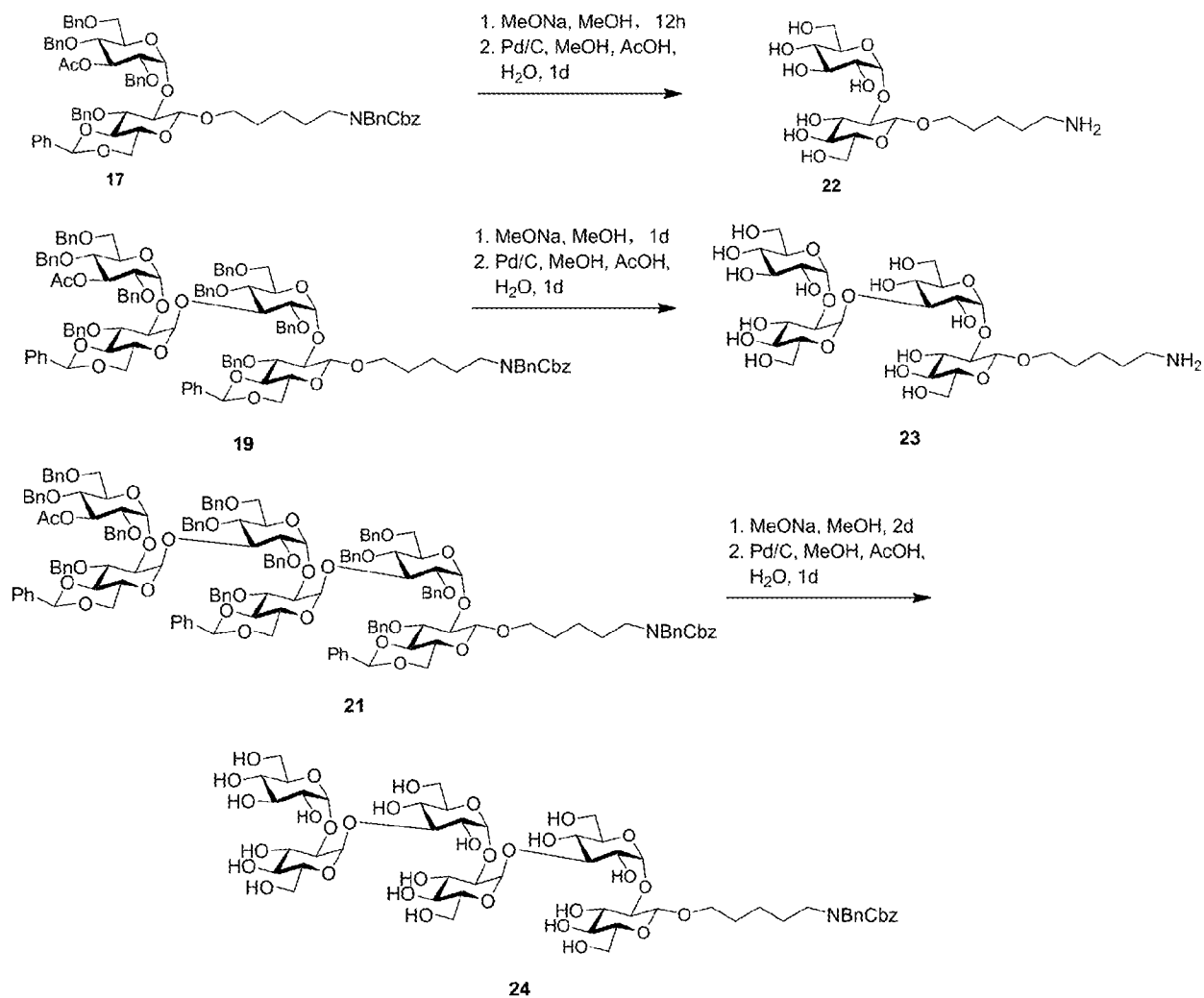


图 7

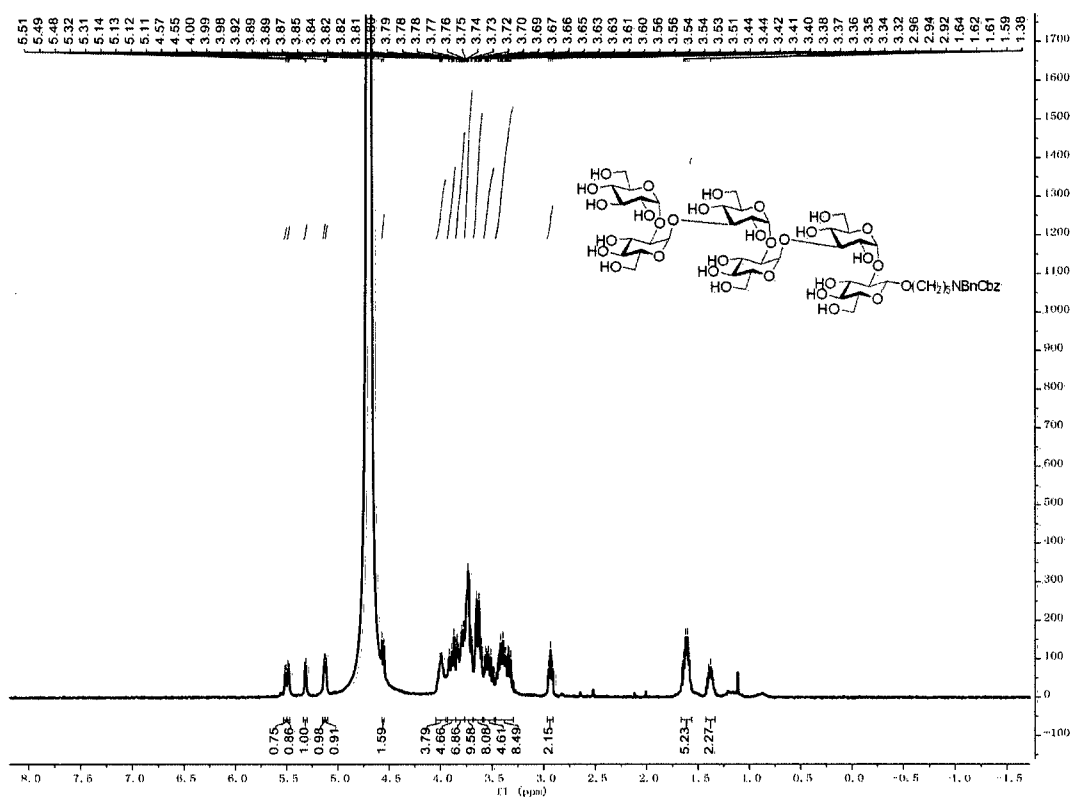


图 8

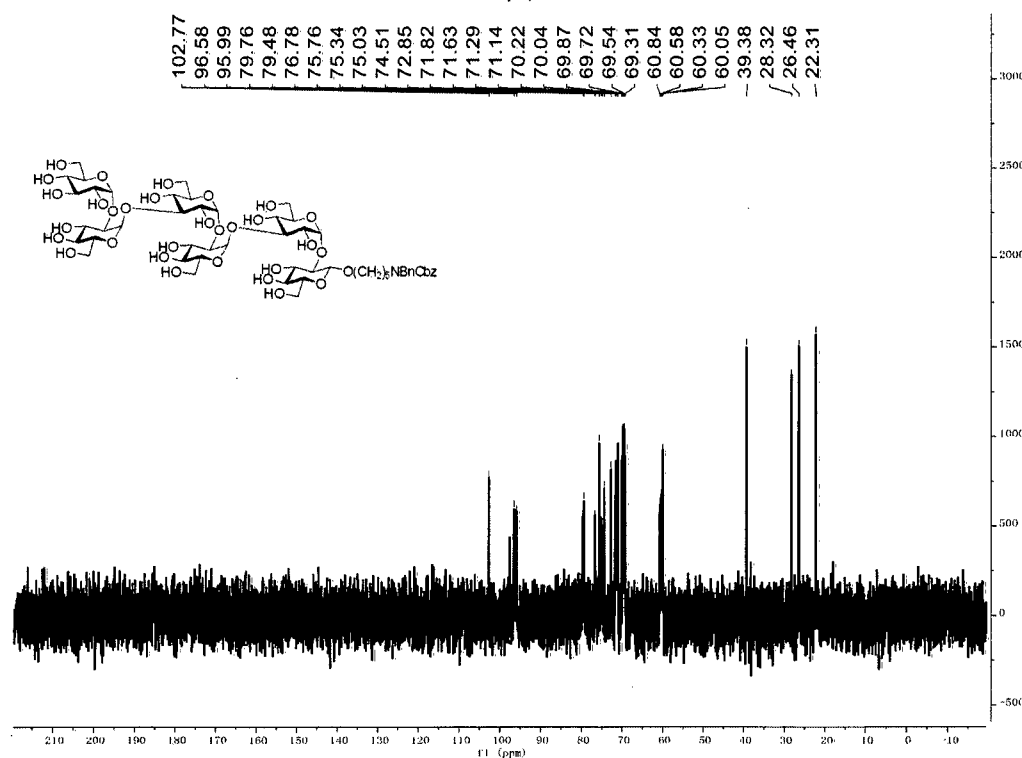


图 9

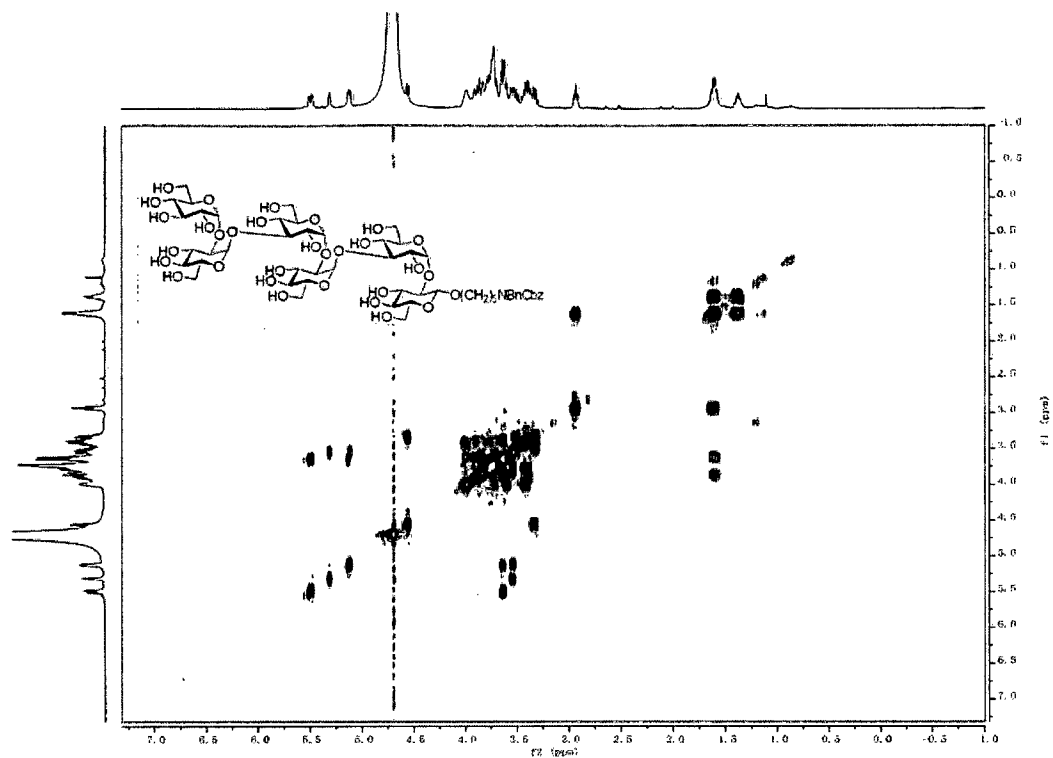


图 10

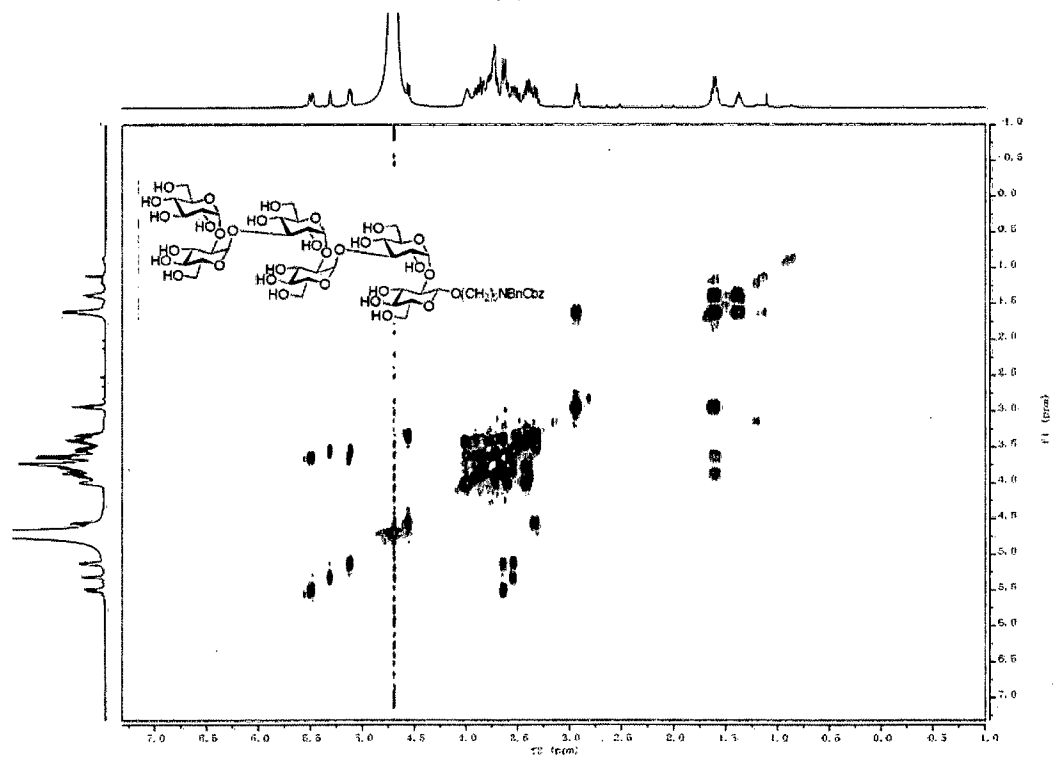


图 11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2019/091200

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07H 15/203(2006.01)i; C07H 15/18(2006.01)i; C07H 1/00(2006.01)i; C08B 37/00(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i; A61K 39/106(2006.01)i; A61K 39/385(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, A61K, 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)

CNABS, CNKI, DWPI, REGISTRY, CASREACT, CAPLUS: 合成, 幽门螺旋杆菌, 抗原, 寡糖, 疫苗, helicobacter, pylori, synthesize, antigen, vaccine, oligosaccharide, search according to the sub-structure and reaction formula of formulas I-VII

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	BRITTON, S. et al. "A Novel Helicobacter Pylori Cell Surface Polysaccharide" <i>Carbohydrate Research</i> , Vol. vol. 340, 31 December 2005 (2005-12-31), pages 1605-1611, in particular table 1 and the discussion part	1-17
Y	CN 108558961 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 21 September 2018 (2018-09-21) claims, and figure 23	1-17
PX	CN 109776634 A (JIANGNAN UNIVERSITY) 21 May 2019 (2019-05-21) claims	1-17



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

11 October 2019

Date of mailing of the international search report

24 October 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
100088
China

Authorized officer

Facsimile No. (86-10)62019451

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2019/091200

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	108558961	A	21 September 2018	WO	2019144508	A1	01 August 2019
CN	109776634	A	21 May 2019	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2019/091200

A. 主题的分类

C07H 15/203(2006.01)i; C07H 15/18(2006.01)i; C07H 1/00(2006.01)i; C08B 37/00(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i; A61K 39/106(2006.01)i; A61K 39/385(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, A61K, 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))

CNABS, CNKI, DWPI, REGISTRY, CASREACT, CAPLUS: 合成, 幽门螺旋杆菌, 抗原, 寡糖, 疫苗, helicobacter, pylori, synthesize, antigen, vaccine, oligosaccharide, 根据式I-式VII进行的子结构和反应式检索

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
Y	Stacey Britton等. "A novel helicobacter pylori cell surface polysaccharide" carbohydrate research, 第340卷, 2005年 12月 31日 (2005 - 12 - 31), 第1605-1611页, 尤其是表1和讨论部分	1-17
Y	CN 108558961 A (江南大学) 2018年 9月 21日 (2018 - 09 - 21) 权利要求书, 说明书附图23	1-17
PX	CN 109776634 A (江南大学) 2019年 5月 21日 (2019 - 05 - 21) 权利要求书	1-17

☐ 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

2019年 10月 11日

国际检索报告邮寄日期

2019年 10月 24日

ISA/CN的名称和邮寄地址

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

传真号 (86-10)62019451

受权官员

王少华

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/CN2019/091200

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	108558961	A	2018年 9月 21日	WO	2019144508	A1	2019年 8月 1日
CN	109776634	A	2019年 5月 21日	无			