

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	5-チオアルドヘキソースを含む糖質アナログの合成とそれらの生化学的性質
Title(English)	
著者(和文)	鶴田修
Author(English)	
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第4045号, 授与年月日:1999年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第4045号, Conferred date:1999/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

博士論文

5-チオアルドヘキソースを含む 糖質アナログの合成と それらの生化学的性質

指導教官 橋本弘信 教授
生命理工学研究科 バイオサイエンス専攻
96D22283
鶴田 修

1998
東京工業大学

目次

序論	1
第1章 5-チオ-L-フコースを含む糖質アナログの合成とそれらの生化学的性質	
1-1 緒言	8
1-2 5-チオ-L-フコピラノシド誘導体の合成	11
1-3 5-チオ-L-フコピラノシド誘導体の α -L-フコシダーゼに対する阻害活性	16
1-4 5-チオ-L-フコースを非還元末端に有する擬似三糖の合成	19
1-5 5-チオ-L-フコース含有擬似三糖の立体配座解析	32
1-6 5-チオ-L-フコース含有擬似三糖のレクチンや抗体に対する阻害活性	38
1-7 GDP-5-チオ-L-フコースの合成	42
1-8 GDP-5-チオ-L-フコースの糖転移酵素による転移反応	49
第2章 2-アミノ-2-デオキシ-5-チオ-D-アルドヘキソピラノースを含む糖質アナログの合成	
2-1 緒言	52
2-2 2-アミノ-2-デオキシ-5-チオ-D-グルコース類のグリコシド化反応	53
2-3 UDP-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-ガラクトースの合成	57
2-4 UDP-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-ガラクトースの糖転移酵素による転移反応	61
第3章 5-チオ-D-マンノースを含む糖質アナログの合成とそれらの生化学的性質	
3-1 緒言	64
3-2 C-アシル-5-チオ-D-マンノシドの立体配座解析	66
3-3 C-グリコシド型 5-チオ-D-マンノース含有擬似マンノトリオースの合成	69
3-4 C-グリコシド型擬似マンノトリオースのコンカナバリンAに対する結合能	74
3-5 GDP-5-チオ-D-マンノースの合成と糖転移酵素に対する挙動	76
総括	81
実験の部	83
参考文献	120
報文目録	122
謝辞	123

序論

ABO式血液型抗原決定基が糖鎖からなることが示すように、糖鎖は生体内において細胞間認識の情報分子として重要な役割を担っていることが分かってきている¹。これに伴い、糖鎖の生体内における機能解明をめざして様々な糖質アナログが合成されてきている。タンパク質や核酸の場合には、アミノ酸同士あるいはヌクレオチド同士のつながり目であるペプチド結合やリン酸結合に含まれる酸素原子を硫黄原子に置換することにより、相当する分解酵素に対して耐性なアナログをデザインする手法が常套的に使われている²。一方、糖鎖においてそのつながり目となるのはグリコシド結合、すなわちアセタール結合である。このアセタール結合の一部の酸素原子を硫黄原子で置換する場合、グリコシド酸素原子を置換したアナログはチオグリコシド、環酸素原子を置換したアナログはチオ糖と総称される。環酸素原子は糖鎖の生合成、生分解において必要不可欠な反応性を与えており、その置換アナログであるチオ糖は環酸素原子そのものの役割を探る上でも重要な道具になると考えられる。近年チオ糖のグリコシドが糖加水分解酵素に対して耐性であり、構造によってはよい阻害剤になることなど興味深い性質をもつことが分かってきた(Fig.0-1)。最近さらに、チオ糖の糖鎖への導入法が有機化学的手法、酵素的手法により確立されようとしている³。

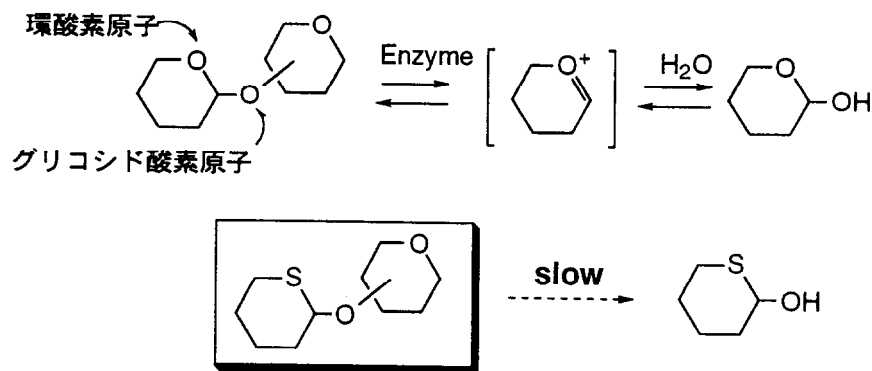


Fig. 0-1 チオ糖と加水分解酵素に対する耐性

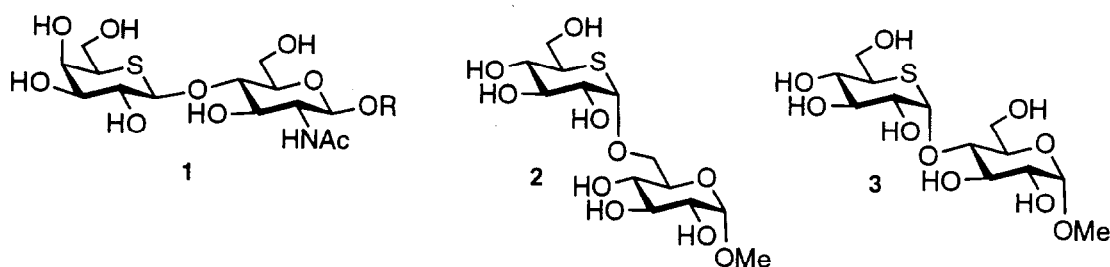
本研究はこれらの手法を基礎として、さまざまなチオ糖を含む糖質アナログを合成し、それらの化学的、生物学的性質を理解し新しい機能性分子としての可能性を探ることを目的とした。以下にこれまでの報告から得られたチオ糖の特徴及び性質と本研究を始めるに至った背景について述べる。

まず、チオ糖の性質として最も重要なことは、Table 0-1に示すように5-チオアルドピラノース(5-チオ糖)を非還元末端に有する擬似二糖が相当する加水分解酵素に対して耐性

であることである。5'-チオラクトサミン**1**のガラクトシダーゼに対する加水分解速度は天然型に比べ0.5%と低いものであった⁴。また、5'-チオイソマルトース**2**と5'-チオマルトース**3**もアミラーゼよりそれぞれ全く加水分解されないか分解されてもその速度は著しく低下することが示された^{5,6}。これらの結果は、5-チオ糖を含む糖鎖が生体内で分解されにくい糖鎖アナログとしての医薬品への可能性を示している。一方、酵素に対する挙動とは対照的に、5-チオ糖のグリコシドはWhistlerら⁷により化学的な酸加水分解条件では環酸素糖より若干不安定であることが示され、酵素の加水分解の機構が単なる酸性溶液条件下とは異なることが考えられ、非常に興味深い。

Table 0-1 5-チオ糖を非還元末端に有する擬似二糖の加水分解酵素に対する安定度

Compound	Glycosidase (origin)	Stability
1	β -galactosidase (<i>Escherichia</i>)	200 times compared to its oxygen counter parts
2	glucoamylase (<i>Rhizopus nives</i>)	not hydrolyzed
3	glucoamylase (<i>Aspergillus niger</i>)	t1/2 = 28 h (1.5 h for its oxygen counter parts)



次に興味深い事実は、湯浅らによりUDP-5-チオガラクトースがガラクトース転移酵素の糖供与体となることが明らかにされ、非還元末端に5-チオ糖をもつ擬似二糖**1**が合成されたことである(Fig. 0-2)⁴。この結果は細胞内に5-チオ糖ヌクレオチドを取り込ませることができれば、生体が自身の体内に5-チオ糖含有糖鎖を構築できる可能性を示している。しかし、ほかの5-チオ糖ヌクレオチドが、相当する糖転移酵素の基質となるかどうかは分かっていない。これが普遍的な事象であることが分かれば、糖転移酵素の高い位置選択性、立体選択性を利用してさまざまな5-チオ糖含有オリゴ糖を生体内で構築する可能性も生じ、その利用価値は高くなる。

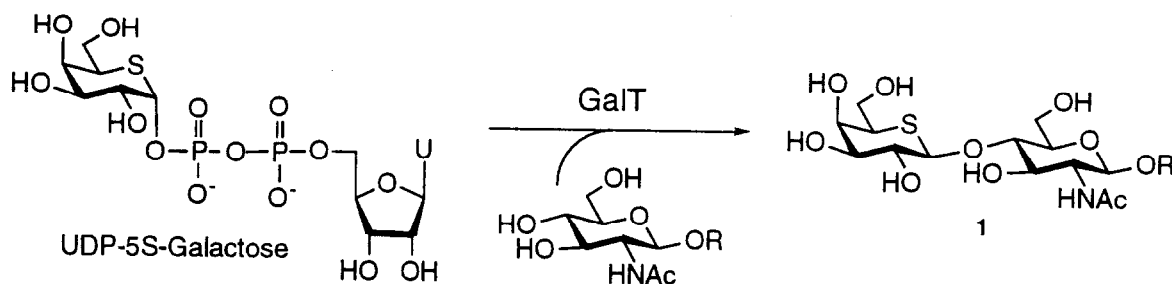


Fig. 0-2 糖転移酵素による5-チオグリコシル化反応

さらに興味深い事実は、5-チオ-L-フコースが顕著に α -L-フコシダーゼに対して阻害作用を示す⁸ことである。この高い阻害活性の原因のひとつは5-チオ-L-フコースがL-フコースよりも水溶液中で α -アノマーが主成分で存在していることに関係していると考えられる。Fig. 0-3に5-チオ-L-フコースとL-フコースの重水中における α - β -アノマー比を示した。

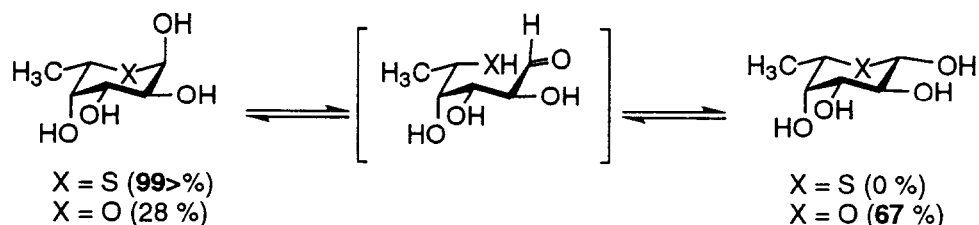


Fig. 0-3 5-チオ-L-フコースとL-フコースの重水中での α / β 比

Lambertら⁹によると、5-チオピラノース環では環硫黄原子の結合角が小さいので、Fig. 0-4のようなNewman投影図で環を表すと、環酸素原子の場合に比べて立った構造をしている。その結果、5-チオ糖における隣接するエクアトリアル置換基同士の二面角は小さくなり、アキシアル-エクアトリアル置換基の二面角は大きくなっている。5-チオ-L-フコースの β アノマー(エクアトリアルグリコシド)では1位と2位の置換基がエクアトリアル同士となり立体障害が大きくなるため α -アノマーが優勢になると推定される。このため α -フコピラノシドを基質として認識する α -L-フコシダーゼは5-チオ-L-フコースと良く結合すると考えられる。また、他の5-チオ糖類が β -グリコシドを認識する酵素に対して低い阻害活性しか示さないのが同様の原因によるものとも考えられ、5-チオ糖の β -グリコシドを自在に調製することができれば、それらの阻害活性の向上が期待される。

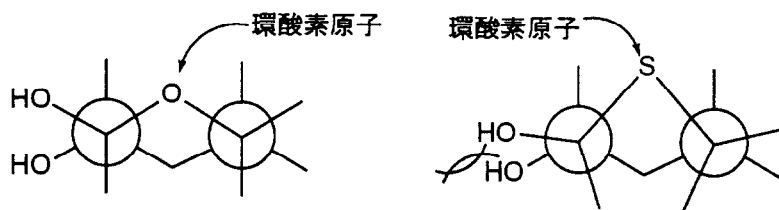


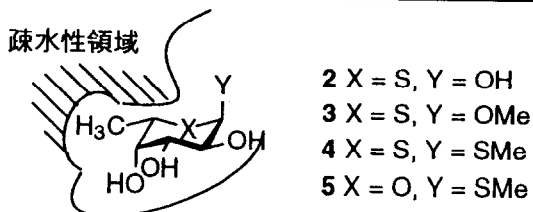
Fig. 0-4 5-チオ糖のゆがみとエクアトリアル置換基同士の立体障害

さらに、5-チオ-L-フコースの阻害活性の原因を探るために、L-フコースの環酸素、グリコシド酸素をそれぞれ硫黄原子で置換した誘導体の阻害活性の系統的な比較が行われた¹⁰。その結果をTable 0-2に示したが、化合物4, 5の阻害活性の比較から環内に硫黄原子が存在すると酵素との親和性が高まることは明らかである。このことは、フコシダーゼのフコース結合部位の環酸素付近が疎水性になっていることを示唆している。これは、ほかの糖認識タンパク質においても認識する糖の環酸素付近に疎水性領域を持つ場合、

5-チオ糖がよりすぐれた基質リガンドとなるを示す可能性を示している。

Table 0-2 α -L-フコシダーゼに対するL-フコース誘導体の阻害物質定数 (M)

fucosidase	2	3	4	5
bovine kidney	8.4×10^{-5}	7.8×10^{-4}	1.7×10^{-3}	17×10^{-2}
bovine epididymis	4.2×10^{-5}	6.9×10^{-5}	2.3×10^{-3}	13×10^{-2}



さて、オリゴ糖に5-チオ糖を組み込んだ場合、5-チオ糖単糖としての性質のほかにオリゴ糖全体としての性質がどう変わるのでしょうか。つまり、オリゴ糖のコンホメーションが環硫黄原子によりどのように影響を受けるのかは非常に興味のもたれるところである。天然のオリゴ糖では糖残基間のコンホメーションを調べるために¹H NMR(NOESY)による詳細な構造解析を行うのが常套手段であるので、まず、5-チオ糖を含むオリゴ糖も同じ手段による解析が必須であると思われる。Pintoらはコジビオース(Glc1→2Glc)の非還元末端の環酸素原子置換アナログである5'-コジビオースを用い、そのNOEスペクトルとMM3計算から天然のコジビオースとの比較を行い、それらのコンホメーションはほぼ同じであることを報告している¹¹。また、最近岸らはオリゴ糖のグリコシド酸素原子をメチレン(-CH₂-)に置換したオリゴ糖アナログが相当する天然型オリゴ糖と同様のコンホメーションをとることを示している(Fig. 0-5)¹²。このアナログはグリコシド部分に水素原子を持つため、そのコンホメーション解析が容易である。

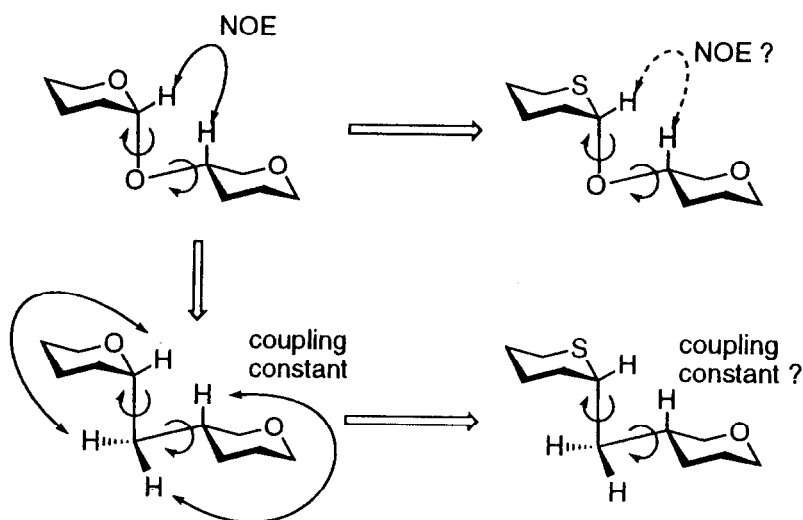


Fig.0-5 オリゴ糖のコンホメーション解析とC-グリコシド型アナログ

そこで、C-グリコシド型アナログを5-チオ糖に適用した場合、その生理活性とコンホメーションの関係が明らかになるのではないかと期待が持たれる。

以上のような興味から、本研究はさまざまな5-チオ糖を含む糖質アナログを合成し、それらの生化学的性質を明らかにすることを目的とした。

第1章では、5-チオ-L-フコースの α -L-フコシダーゼに対する強い阻害活性に注目し、5-チオ-L-フコースを含むアナログを種々合成することにより α -L-フコシダーゼやL-フコースを含む糖鎖を認識するタンパク質に対して、より強い阻害剤やリガンドの創製を目指した。その結果、bovine epididymis由来の α -L-フコシダーゼに対して

-ニトロフェニル-1,5-ジチオ-L-フコピラノシド**6**が最も強い阻害活性を示したことから、酵素のアグリコン認識部位に疎水性領域があることが示唆された(Fig. 0-6)。また擬似二糖**7**がBacillus sp. K40T由来の α (1 \rightarrow 2)Gal結合特異的な α -L-フコシダーゼに対する阻害剤となることが分かった。また、血球凝集阻止実験から、5-チオ-L-フコースを含むH type2型三糖**8**は、天然型三糖と比較するとモノクローナル抗体により強く認識され、ヒドロチャワンタケレクチンにより弱く認識されるという興味深い結果を得た。また、Le^x型三糖**9**は同じ抗体により弱く認識されることが分かった。この擬似三糖**8**の¹H NMRによる立体配座解析を行い天然型三糖との比較を行ったところ、両者に顕著な立体構造の差が見られないことが分かった。

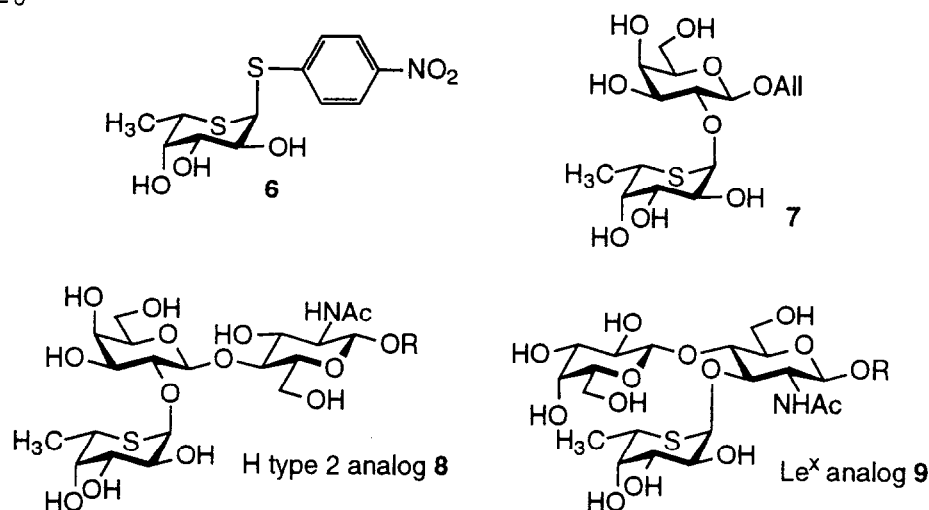


Fig. 0-6 合成した種々の5-チオフコース含有アナログ

さらに、GDP-5-チオ-L-フコース**10**がフコース転移酵素の糖供与体となり、5-チオ-L-フコースを酵素的に糖鎖に導入できることが分かった(Fig. 0-7)。

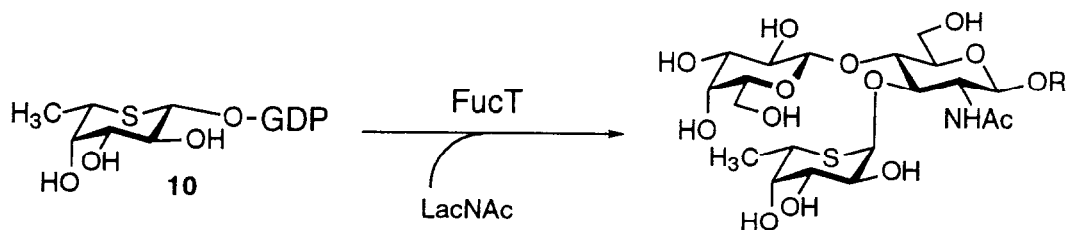


Fig. 0-7 酵素による5-チオフコースの糖鎖への導入

第2章では、2-アミノ-2-デオキシ-5-チオアルドピラノースを含むオリゴ糖への展開を意図して、天然型で多く見られる β -グリコシドの構築法の確立を目指した。2位に種々の置換基をもつ誘導体を用い検討した結果、2-フタルイミド誘導体**11**を糖供与体にすることにより、5-チオアルドース類として初めて1,2-トランス β -グリコシドをもつ擬似二糖の立体選択的な化学合成に成功した(Fig. 0-8)。また、5-チオフコースと同様にUDP-5-チオガラクトサミン**12**もラクトース合成酵素の糖供与体となり、酵素的にも擬似二糖が合成できることが分かった。

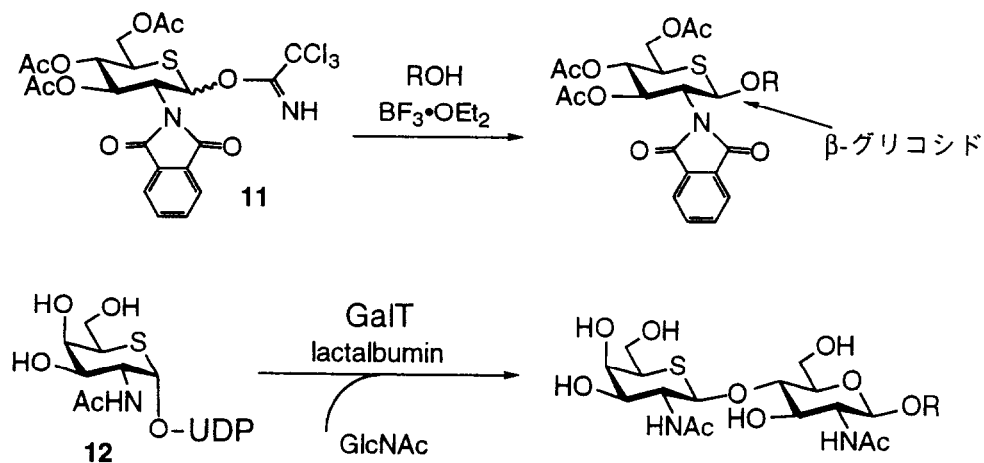


Fig. 0-8 2-アミノ-5-チオ糖による化学的及び酵素的なグリコシル化反応

第3章では、5-チオマンノースを含む糖質アナログを合成しそれらの生化学的性質を調べた。まず、新しい5-チオ糖アナログとして5-チオマンノースを含むC-グリコシド型アナログの合成を行った。その結果、 $^1\text{H NMR}$ による構造解析からC-アリルグリコシド**13,14**のピラノース環の立体配座に違いが見いだされ、その脱保護体である**15,16**のグリコシド結合回りの立体配座はほぼ両者同じであることが分かった(Fig. 0-9)。また、グリコシルブロミド**17,18**とエノン誘導体**19**とのラジカル反応により簡便にC-グリコシド型擬似オリゴマンノースへ**20,21**へと誘導することができた。これらを用いた阻害実験から、5-チオマンノース誘導体**21**のほうが**20**より強くコンカナバリンAに対し結合するという興味深い結果を得た。また1章、2章の結果を踏まえマンノース転移酵素に対する挙動を調べるために、GDP-5-チオマンノース**22**を合成した。

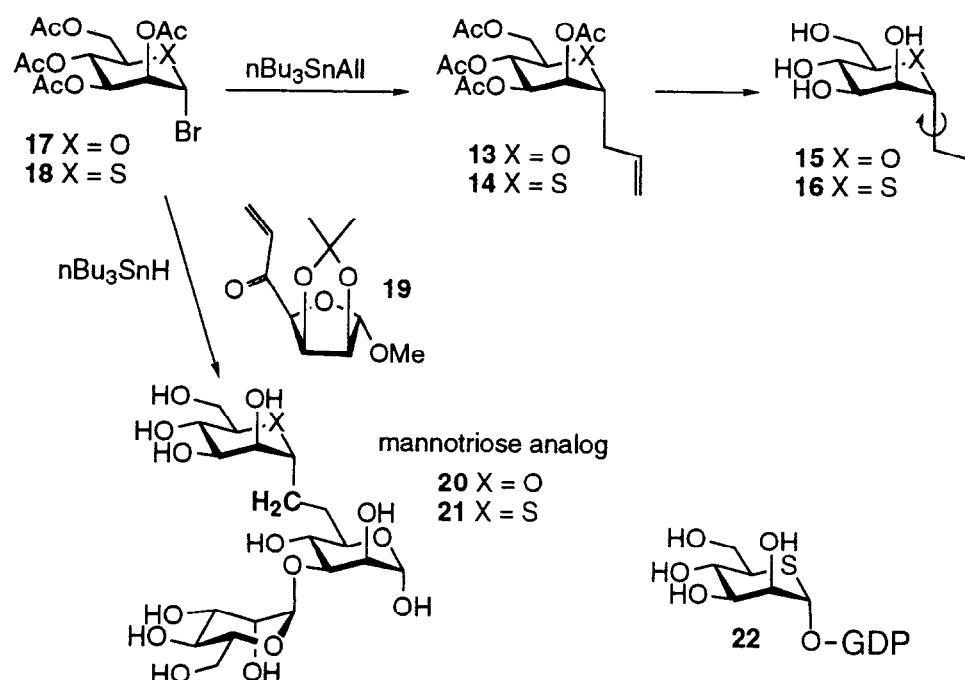
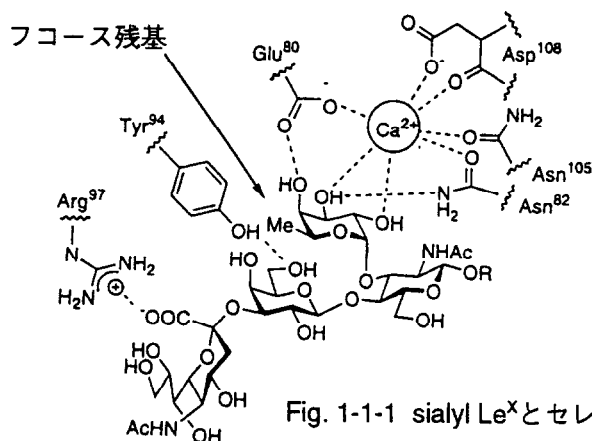


Fig. 0-9 合成した種々の5-チオマンノース含有アナログ

第一章 5-チオ-L-フコースを含む糖質アナログの合成と それらの生化学的性質

1-1 緒言

本章では、さまざまな5-チオ-L-フコースを含む糖質アナログを合成し、それらの生化学的性質を調べることにより、それらアナログの有用性を探った。L-フコースは情報分子として働く糖鎖の非還元末端に位置することが多く、重要な修飾的役割を担っていると考えられ、その生化学的意義に興味を持たれる。例えば、炎症反応カスケードの初期段階では白血球細胞表面上のシアリルルイスX(sialyl Le^x)糖鎖と血管内皮細胞表面上のセレクトインの結合が起こるが、この結合においてはsialyl Le^xに含まれるL-フコース部位が最も必要不可欠な構造であることが明らかとなっている(Fig. 1-1-1)¹³。従って、sialyl Le^x-セレクトイン結合の阻害剤として開発されたほとんどのオリゴ糖ミミックはフコースを基本骨格として構築されている。本章では、さらに機能性オリゴ糖鎖の分子認識におけるL-フコース残基の役割に関する普遍的な知見を得ることを目的として行った。



はじめに、5-チオ-L-フコースを基盤として、アグリコン部位にさまざまな糖残基や置換基を持つアナログを合成し、 α -L-フコシダーゼに対する阻害活性を測定することにより、それらの有用性を探った。

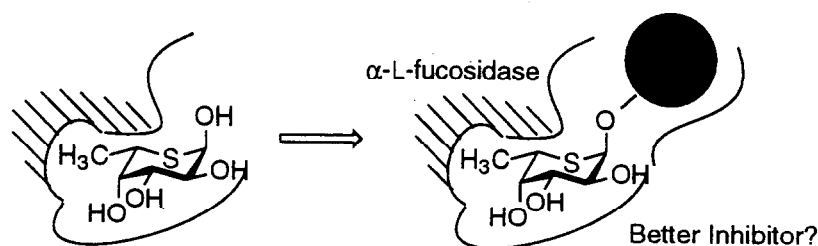


Fig. 1-1-2 5-チオ-L-フコースを基盤とした阻害剤の合成

序論で述べたように α -L-フコシダーゼの強い阻害剤となる5-チオ-L-フコースはL-フコースを認識する他のタンパク質とも親和性を持つのではないかと考えられる。そこで、つぎに、5-チオ-L-フコースを含む擬似オリゴ糖を合成し、それらのL-フコースを含む糖鎖を認識するタンパク質であるレクチンや抗体に対する挙動を調べた。

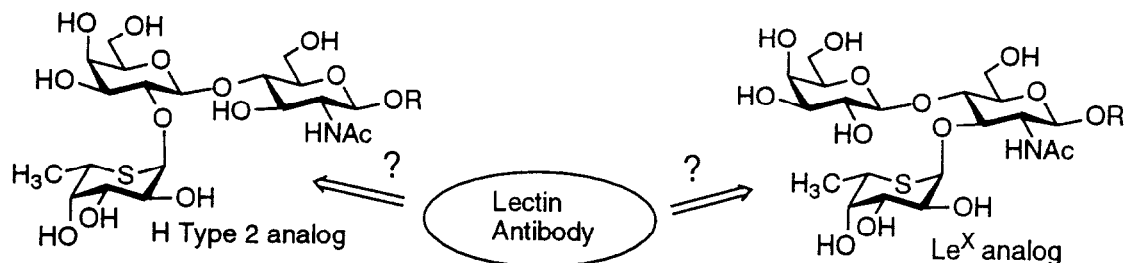


Fig. 1-1-3 5-チオ-L-コース含有擬似糖のレクチンや抗体との結合

さらに、糖転移酵素により5-チオ-L-フコースの糖鎖への導入が可能であるかを調べるために、その糖供与体となると考えられるGDP-5-チオ-L-フコースの合成を行った。

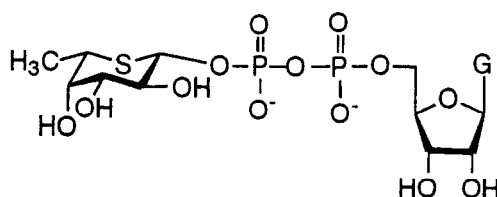
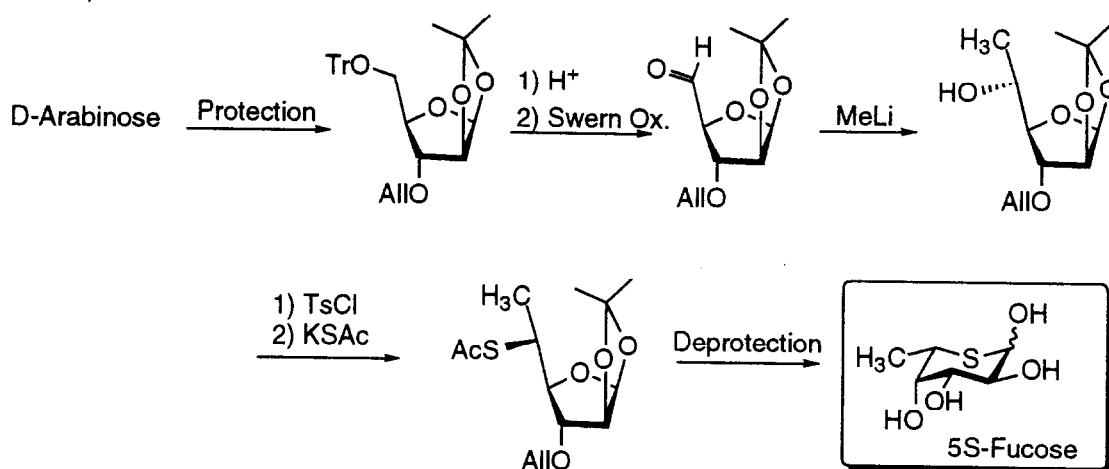


Fig. 1-1-4 GDP-5-チオ-L-フコース

5-チオ-L-フコースの合成法としては、著者の研究室において行われた3つの方法^{8, 14, 15}の他に、葛原ら¹⁶によっても報告されているが、その中で和泉らにより報告された方法が最も工程数が短く大量合成に適している。



Scheme 1-1-1 5-チオ-L-フコースの合成

すなわち、D-アラビノースを出発原料として用い、5位の増炭および硫黄原子の導入を経る全12工程で5-チオ-L-フコーステトラアセタートを収率良く合成できる。本章で述べる実験に用いた5-チオ-L-フコースはすべてこの手法に従い合成した。

1-2 5-チオ-L-フコピラノシド誘導体の合成

α -L-フコシダーゼの強力な阻害剤として環酸素原子を窒素原子で置換したデオキシフコジリマイシンが知られているが(Fig. 1-2-1)¹⁷、この場合そのN,O-アセタールが不安定であることからアグリコン部位に糖残基などを導入できない。しかし、 α -L-フコシダーゼがアグリコン部位を認識する場合、アグリコンを含むアナログはより強い阻害活性を示すと考えられる。その点、5-チオ糖はグリコシド結合が安定なのでアグリコンを含む種々のアナログを検討することが可能である。そこで、5-チオ-L-フコースのアグリコン部位にさまざまな糖残基や置換基を導入した誘導体を合成した(Fig. 1-2-1)。

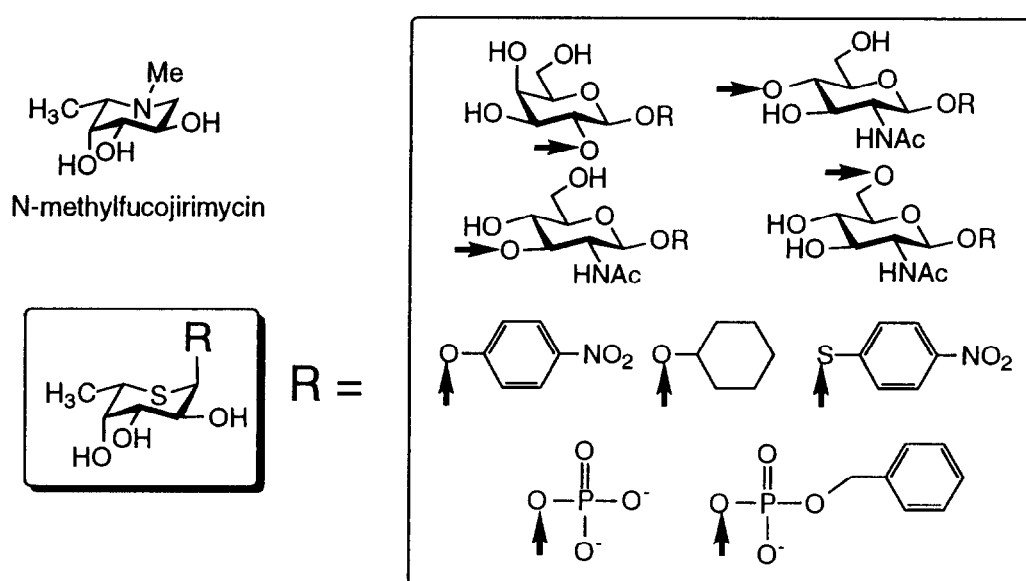
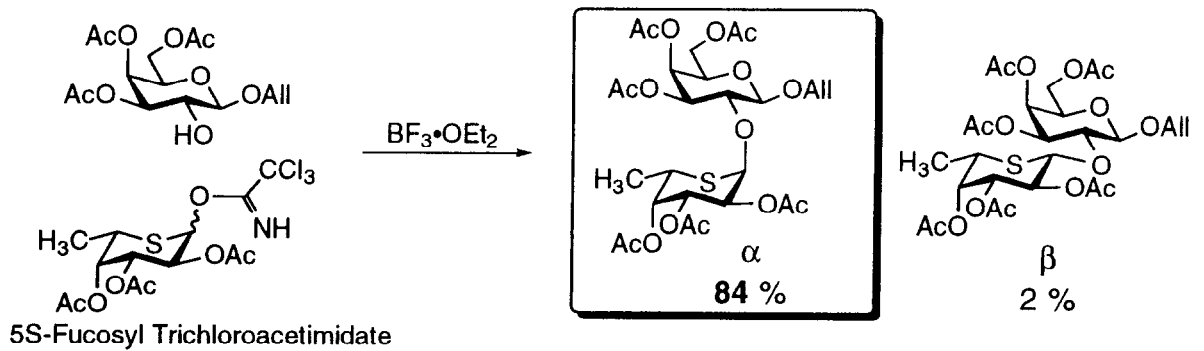


Fig. 1-2-1 合成した種々の5-チオ-L-フコース含有アナログ

二糖アナログについては、フコシル残基がガラクトースの2位とN-アセチルグルコサミンの3、4、6位結合したものが高等生物の細胞表層の糖鎖において頻繁に見られるので、相当する擬似二糖を合成することにした。置換基については脂溶性であるフェニル基やシクロヘキシル基、極性基であるリン酸基などを導入した。以下にそれぞれの合成について述べる。

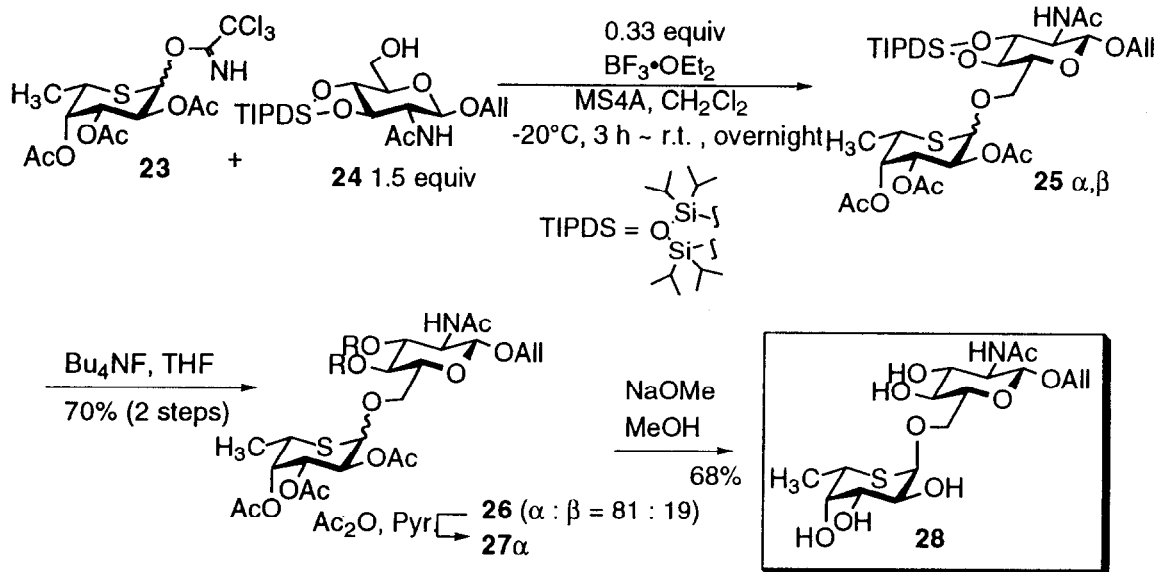
これらの合成に際して、 α 選択的グリコシド化反応が必須となる。天然型フコースのグリコシド化では、一般に、2位の保護基としてアシル基を用いると隣接基関与により β -グリコシドが生成する。しかし、和泉らは5-チオ-L-フコースのグリコシド化においては2位の保護基がアセチル基である場合でも望む α 体が優勢に得られることを見出した¹⁸。ゆえに後で述べる5-チオ-L-フコースのグリコシド化反応でもすべてこの2-O-アセチルグリコシル供与体によるグリコシド化を用いた。



Scheme 1-2-1 α -5-チオ-L-フコシル化反応

1-2-1. 6-O-(5-チオ- α -L-フコシル)-N-アセチル- β -D-グルコサミニドの合成

当初、グリコシル受容体にアリル 2-アセトアミド-2-デオキシ-3,4-ジ-O-アセチル- β -D-グルコピラノシドを用いてグリコシル化反応を行ったところ、アセチル基の6位への転移が観測され目的物の単離が困難であった。そこで、アリル 2-アセトアミド-2-デオキシ-3,4-O-(1,1,3,3-テトライソプロピルジシロキサン-1,3-ジイル)- β -D-グルコピラノシド**24**¹⁹を受容体として-20°Cで反応を行ったところ、2,3,4-トリ-O-アセチル-5-チオ-L-フコシルトリクロロアセトイミダート**23**はすぐにほぼ消失したが、その時点で後処理を行って得られた生成物のNMRスペクトルには、目的物のほかにオルトエステルと考えられる副生成物のシグナルが観測された。そのため反応液を徐々に室温まで上昇させ、しばらく放置した後に処理を行ったところ、この副生成物の夾雑をほぼ抑えることができた。しかし、目的物である二糖**25**と受容体との分離が非常に困難であったため、フッ化テトラアンモニウム(Bu_4NF)で1,1,3,3-テトライソプロピルジシロキサン-1,3-ジイル(TIPDS)基を脱保護した後²⁰、二糖のアノマー混合物**26**を2工程の収率70%で単離した。

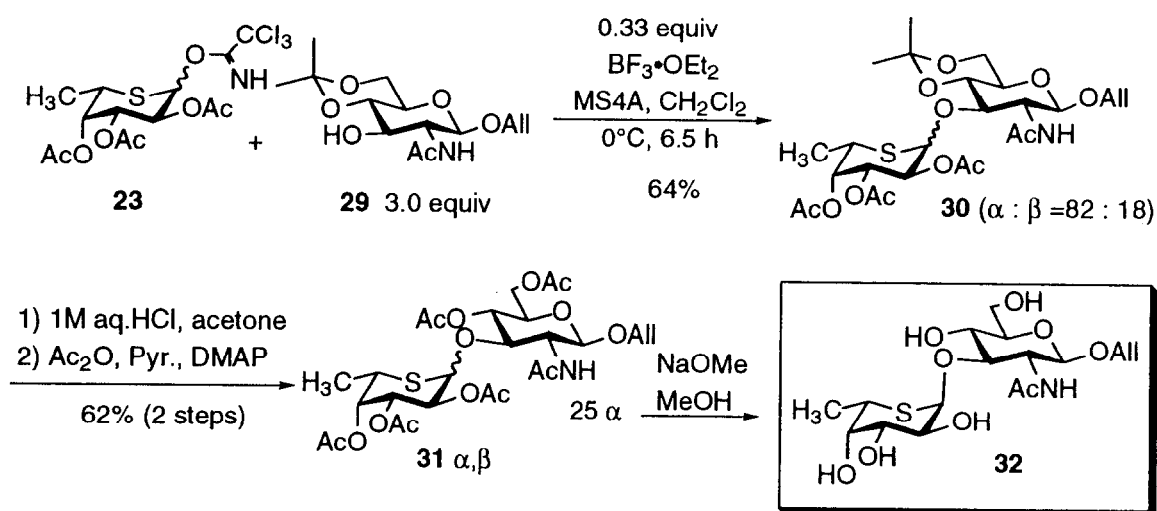


Scheme 1-2-2 5SFuca1→6GlcNAcの合成

3, 4位をアセチル化した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより目的とする α -結合した二糖を分離し、脱アセチル化して二糖**28**を得た。

1-2-2. 3-O-(5-チオ- α -L-フコシル)-N-アセチル- β -D-グルコサミニドの合成

アリル 2-アセトアミド-2-デオキシ-4,6-O-イソプロピリデン- β -D-グルコピラノシド**29**を受容体として、グリコシル化反応を行った。まず、 -20°C における反応をでは、**23**の消失はほとんど観察されず、 0°C まで温度をあげたところ、1hほどで**23**は消失し二糖**30**を与えることが分かった。しかし立体選択性があまり良くなかったので低温のまま活性化剤の量を増やすなど種々検討を行ったが、選択性、収率ともに大きく向上させるような条件は見い出せなかった。最も収率の良い条件は活性化剤0.33当量、 0°C 、6.5 hという条件であり、その結果二糖**30**を収率64% ($\alpha : \beta = 82 : 18$)で得た。



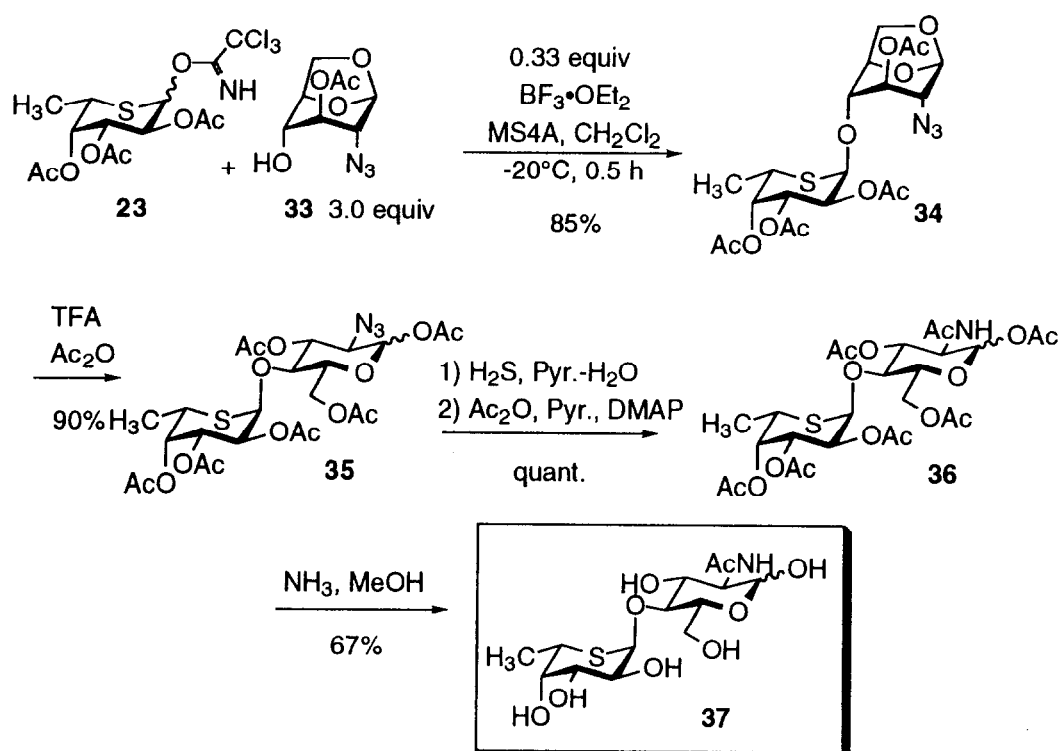
Scheme 1-2-3 5SFuc α 1 \rightarrow 3GlcNAcの合成

その後は**30**のイソプロピリデン基を含水アセトン中HClを触媒として加水分解し、ついでアセチル化して二糖をペンタアセタート**31**として得た。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより目的とする α -結合した二糖を分離し、脱アセチル化して二糖**32**を得た。

1-2-3. 4-O-(5-チオ- α -L-フコシル)-N-アセチル-D-グルコサミンの合成

N-アセチルグルコサミンの4位水酸基は反応性が低いことが知られているので、より反応性の高いことが知られている3-O-アセチル-1,6-アンヒドロ-2-アジド-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース**33**²¹をグリコシル受容体に用いた。そのグリコシル化反応は -20°C ですみやかに進行し、目的とする α 体の二糖**34**のみを収率85%で得た。この二糖

34の1,6-アンヒドロ環をアセトリシス(TFA-Ac₂O)²²により開環し、次いでアジド基を硫化水素で還元、アセチル化してアセトアミド基へと定量的に変換した。最後の脱保護はこれまでと同じ条件(NaOMe-MeOH)では目的物を得ることはできず複雑な混合物を与えた。混合物の¹H NMRにおいて、低磁場(5-6 ppm付近)にシグナルが観測されることから、一部β-脱離反応などが起きオレフィンが生成したものと考えられた。2-アセトアミド-1,3,4,6-テトラ-O-アセチル2-デオキシ-D-グルコースの脱保護の際に塩基によりMorgan-Elson反応として知られる呈色反応の初期段階などでも見られる脱水反応が起こることが報告されており、これは還元末端が遊離であるためと考えられる²³。



Scheme 1-2-4 5SFucα1→4GlcNAcの合成

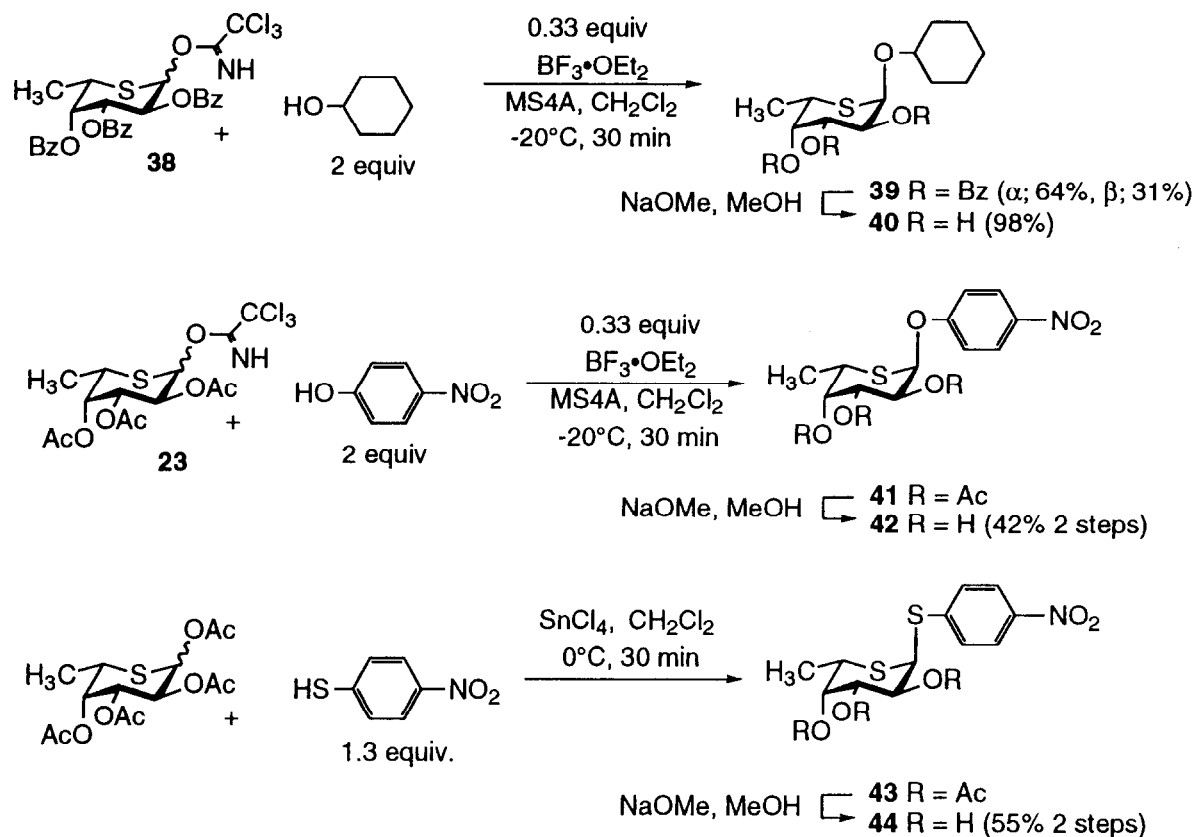
結局脱保護条件を種々検討したところ、アルゴン気流下MeOH中アンモニアガスを吹き込む条件がもっとも副生成物を抑えることができ、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、純粋な二糖**37**を得ることができた。

また、2-O-(5-チオ-α-L-フコシル)-D-ガラクトシドによる阻害活性の測定には、Scheme 1-2-1に示すようなルートで和泉らにより合成されたものを用いた。

1-2-4 擬似二糖以外の5-チオフコピラノシドの合成

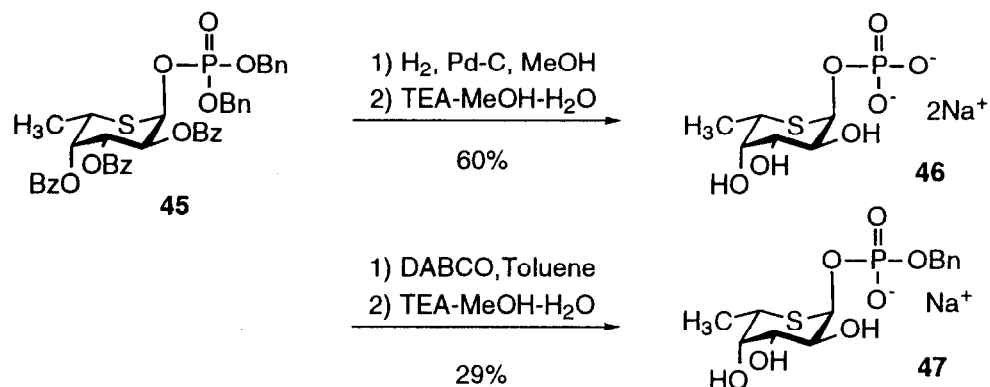
シクロヘキサノールのグリコシル化では、二糖合成に比べ選択性が低かったが(α:β=2:1)、目的とするα体**39**を収率64%で優勢に得た。シリカゲルカラムにより両アノマーを分離し、それぞれ脱アシル化して目的とする**40**を得た。p-ニトロフェノールとのグリ

コシド化もこれまでと同様に α 選択的に進行し、脱アセチル化を経て目的物**42**へと誘導した。また、湯浅らの報告に従い²⁴、5-チオフコースパーアセタートにp-ニトロチオフェノールと四塩化すず(SnCl_4)を作用させることにより、収率良く α -グリコシド**43**が得られ、そのまま脱保護して1,5-ジチオ誘導体**44**へと誘導した。



Scheme 1-2-5 脂溶性アグリコンを持つ5SFucアナログの合成

5-チオ-L-フコースのリン酸化については1-7で詳細に述べる。その1-ジベンジルリン酸体**45**をそれぞれ接触水素化、または1,4-ジアザビシクロ[2,2,2]オクタン(DABCO)によりモノベンジル体とした後²⁵、塩基で脱保護を行い陽イオン交換カラムに通してナトリウム塩として目的とする**46,47**へとそれぞれ誘導した。



Scheme 1-2-6 リン酸基を持つ5SFucアナログの合成

1-3 5-チオ-L-フコピラノシド誘導体の α -L-フコシダーゼに対する阻害活性

1-3-1. Bacillus sp. K40T由来 α -L-フコシダーゼに対する阻害活性

生化学工業から市販されている α -L-フコシダーゼ(Bacillus sp. K40T)に対する阻害活性を調べた。本酵素は基質特異性が高く、Fuc α 1 \rightarrow 2Gal結合のみを加水分解し、その他のFuc α 1 \rightarrow 3GlcNAc結合や

-ニトロフェニル- α -L-フコピラノシドは加水分解しないことが知られている。また、Fuc α 1 \rightarrow 2Gal結合でもA型抗原それは加水分解しない。そこで、2'-フコシルラクトースを基質として用い、遊離するフコースをフコースデヒドロゲナーゼとNADPにより酸化する際に生じるNADPHの量を、340nmの吸光度の増加から測定した²⁶。2'-フコシルラクトースのKm値は0.39mMであった。

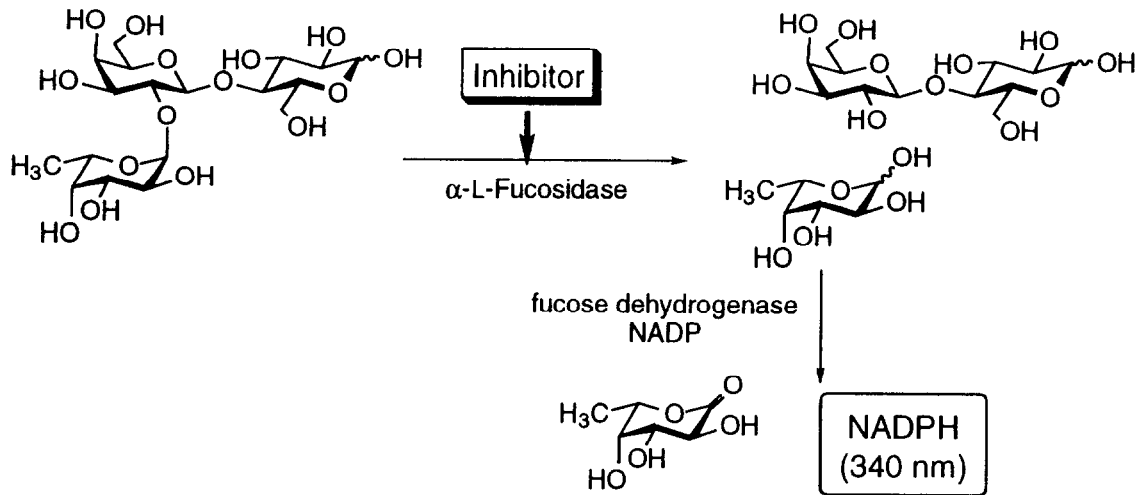


Fig. 1-3-1 α -L-fucosidase(Bacillus sp.)の阻害実験

Table1-3-1の結果から明らかなように、 α 1 \rightarrow 2Galの結合様式を持つ**48**のみが阻害活性を示した。その阻害様式はLineweaver-Burkプロットから拮抗型であること分かり、Ki値は0.21mMであった。この結果から擬似二糖が2'-フコシルラクトースと同じように酵素に認識されることが分った。なお、単糖(5-チオ-L-フコース)はフコースデヒドロゲナーゼの基質となることが判明し、この α -L-フコシダーゼに対する阻害活性は測定できなかった。

Ki (mM)	0.21	>5	>5	>5

Table 1-3-1 α -L-fucosidase(Bacillus sp.)に対する阻害活性

1-3-2. bovine epididymis由来 α -L-フコシダーゼに対する阻害活性

Sigma Chemical Co.から市販されている α -L-フコシダーゼ(bovine epididymis)に対する阻害活性を調べた。*p*-ニトロフェニル- α -L-フコピラノシド(pNP-Fuc)を基質として用い、遊離した*p*-ニトロフェノール量を400nmの吸光度より求めた。

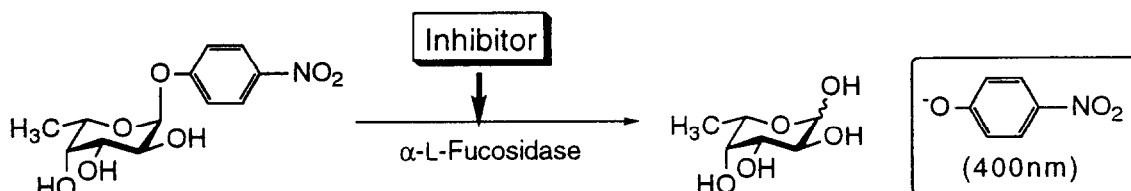


Fig. 1-3-2 α -L-fucosidase(bovine ep.)の阻害実験

Lineweaver-Burkプロットからすべてのアナログは拮抗型の阻害を示した。その K_i 値をTable 1-3-2に示す。どの擬似二糖アナログも、よい阻害活性を示したが、その K_i 値は単糖(5-チオ-L-フコース)**49**とほぼ同じであった。このことから、結合位置の違いによる特異性は見られず、従来の知見どおり本来この酵素には基質特異性がないと示唆された。しかし、メチルグリコシド誘導体**50**に比べて擬似二糖類は顕著に強い阻害活性を示したことから、酵素がアグリコンの糖残基の厳密な立体構造ではなく、漠然と糖のピラノース環を認識していることが示唆された。アグリコン部位に糖残基以外の疎水性基、特に芳香族基をもつものも、メチルグリコシド誘導体**50**に比べて、よい阻害剤となった。**50,51**の K_i 値から、グリコシド酸素原子は重要であると考えられるので、ジチオ誘導体**44**よりも**42**のほうが強い阻害剤となると考えられた。しかし、興味深いことに**44**は**42**よりも35倍、単糖**49**よりも10倍強い阻害活性を示すことが分かった。

R =				
K_i (μ M)	30	31	91	44
49	50	51	39	42
44	46	47		
42^a	690^b	2300^b	198	118
				3.3
				406
				33

^aDatum from ref 8. ^bData from ref 10.

Table 1-3-2 α -L-fucosidase(bovine ep.)に対する阻害活性

リン酸のようなかさ高い極性基をもつものでさえ、そのベンジル誘導体**47**は単糖**49**とほぼ同じ阻害活性を示した。これらのことから、酵素のアグリコン認識部位にピラノース環や疎水性基が入るような分子認識の仕方のゆるい疎水性領域があることが示唆された。

1-4 5-チオ-L-フコースを非還元末端に有する擬似三糖の合成

L-フコースを含む糖リガンドで比較的詳細に分子認識機構が研究されているものに、血液型抗原決定基(H Type II)および癌関連抗原であるLe^x糖鎖がある。H type IIについてはLemieuxらにより精力的に研究が行われており、その際H type IIの各水酸基を系統的にデオキシ化する方法が用いられている²⁷。その結果、フコースの3,4位とガラクトースの3位の水酸基がリガンド認識に必須であることが分かっている。1-1で述べたように sialyl Le^xとE-セレクトインの結合でも同様の研究が行われ、フコースの水酸基は必須であることが明らかにされた。つまり、フコース残基がこれらタンパク質の認識作用においてかなり重要な役割を果たしているのは明らかであり、5-チオ-L-フコース含有擬似糖がそのような生化学的挙動を示すか興味深い。

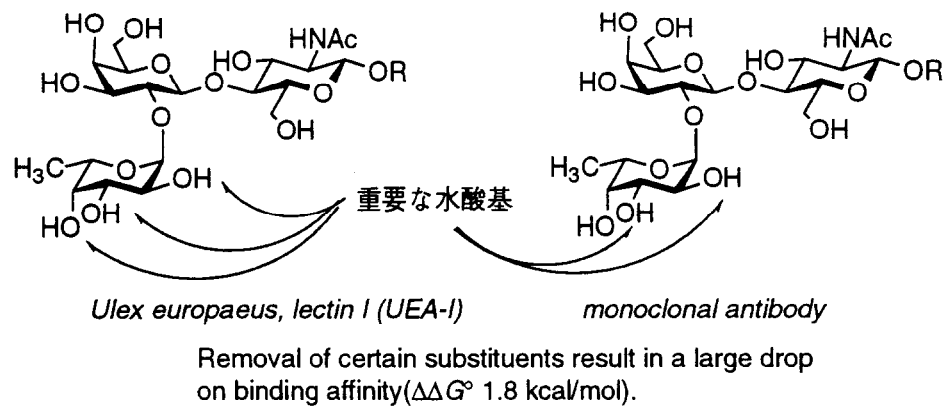


Fig. 1-4-1 H type IIとレクチンあるいは抗体との結合における重要な水酸基

合成ターゲットである2種の三糖はN-アセチルラクトサミン(Gal β 1 \rightarrow 4GlcNAc)を共通構造として持っており、違いはH type IIについてはフコースが2'位に、Le^xについては3位に結合しているということだけである。このことから2種の5-チオ-L-フコース含有擬似三糖を合成するには、相当する位置が遊離な水酸基を持つラクトサミン誘導体とのグリコシル化を行えばそれぞれ得られると考えられる。

ラクトサミンの合成法は大きく分けて、次の2種類がある。

(1) ガラクトースとグルコサミンのグリコシド化反応

(2) ラクトースから誘導されるラクタールのアジドナイトレーション反応

前者の方法の利点は、単糖類の選択的保護法の研究が詳細に行われていることであるが、グルコサミン4位へのグリコシル化の反応性が低いことが欠点である。後者の方法は二糖を出発原料としているのでグリコシル化反応が必要ないのが利点であるが、二糖の選択的保護は単糖に比べて困難であること、およびアジドナイトレーションの収率があまりよくないことが欠点である。そこでラクトサミンの合成に上記の2種の方法を適用し、より効率的な擬似オリゴ糖の合成法を確立することを目指した。

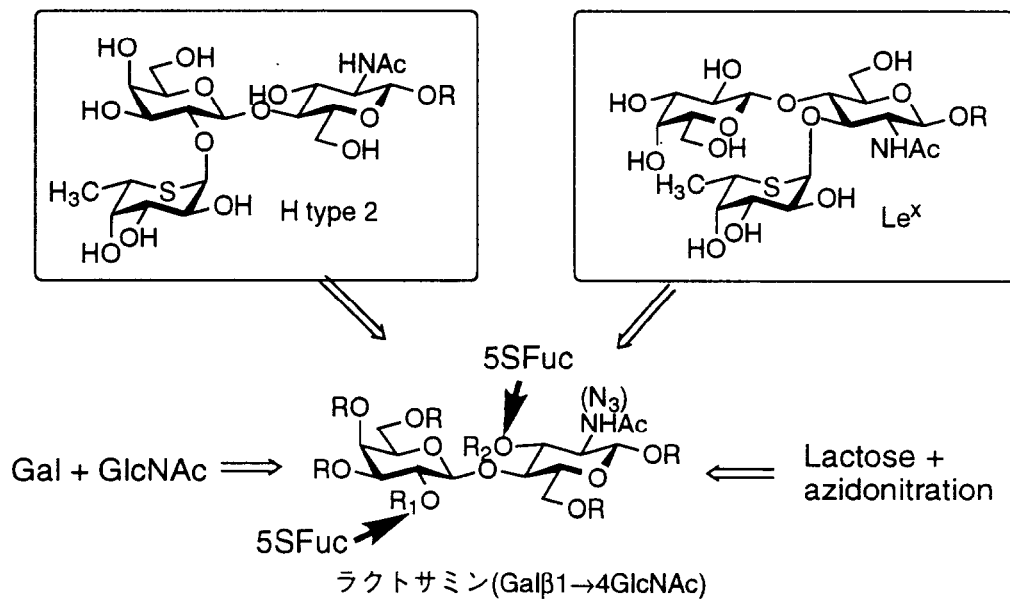
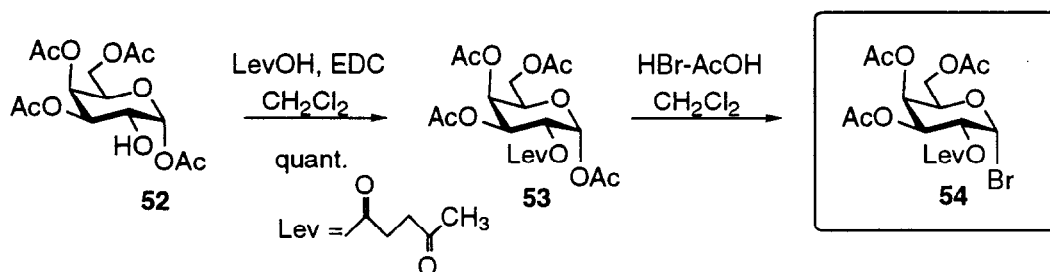


Fig. 1-4-2 5-チオフコースを含む擬似三糖の合成計画

1-4-1. 単糖同士のグリコシル化を経由する擬似三糖の合成

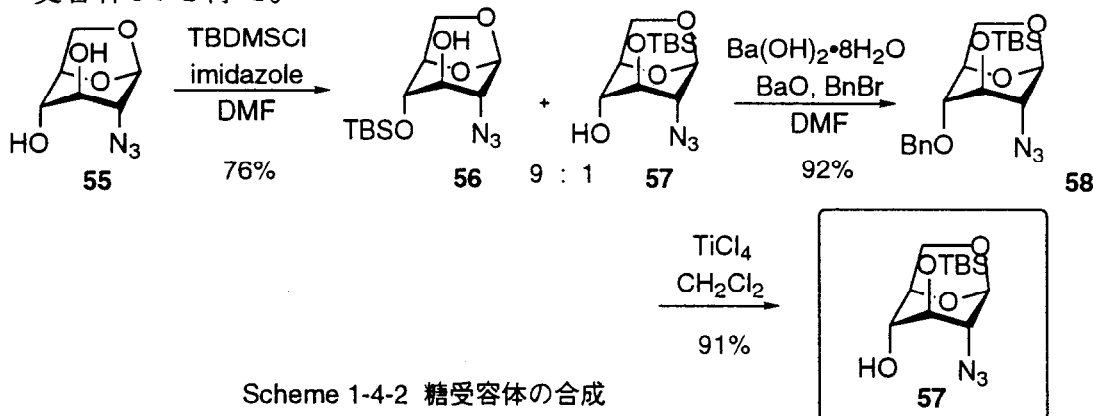
合成中間体として3位及び2'位にそれぞれ選択的に除去可能な保護基を有するラクトサミン誘導体を、相当する保護基を有する単糖のグリコシル化により合成することにした。その保護基は2'位に隣接基関与能を示すレブリノイル(Lev)基を、3位にはtert-ブチルジメチルシリル(TBDMS)基を選択した。

すなわちガラクトースより1工程で得られる2位のみ遊離な水酸基を有する**52**をレブリノール(LevOH)と1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDC)と4,4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)により定量的にレブリノイル化し、ジクロロメタン中HBr-AcOHで処理して得られるグリコシルブロミド**54**を糖供与体とした。



Scheme 1-4-1 糖供与体の合成

グリコシル受容体には反応性の高さと3位への保護基導入の容易さを考慮して1-2でも用いた1,6-アンヒドロ-2-アジドグルコース誘導体を用いることとした。グルカールから2工程で得た1,6-アンヒドロ-2-アジド-β-D-グルコース**55**²⁸を1.2当量のTBDMSClと反応させたところ、収率89%で4-O-TBDMS体**56**と3-O-TBDMS体**57**が9:1の比で得られた。これらの異性体はシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離が可能であるが、そのまま水酸化バリウム、酸化バリウムを用いてベンジル化を行ったところ**56**ではTBDMS基の転移が起こり²⁹4-ベンジルエーテル**58**のみが収率92%で得られた。そこで、この4位ベンジル基を四塩化チタン(TiCl₄)により脱保護し³⁰、4位に遊離な水酸基を有するグリコシル受容体**57**を得た。

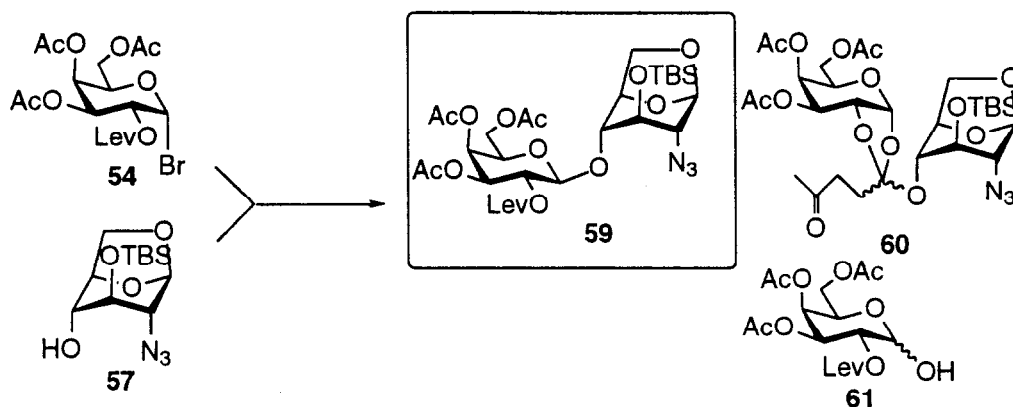


Scheme 1-4-2 糖受容体の合成

グリコシル化反応をアセトニトリルを溶媒とし水銀塩[$\text{Hg}(\text{CN})_2, \text{HgBr}_2$]を活性化剤に用いて行ったところ、供与体の加水分解生成物のみが得られた(Entry 1)。同じ条件でアリルアルコールを受容体としてグリコシル化を行うと収率良く相当するアリルグリコシドが得られることから、受容体**57**の反応性が低いことが原因と考えられる。そこでより強い活性化剤であるトリフルオロメタンスルホン酸銀(AgOTf)を用いたが目的物は得られずこの場合にも、供与体の加水分解生成物のみが得られるだけであった(Entry 3)。一方、ジクロロメタン中炭酸銀(Ag_2CO_3)を1.1当量用いたところ反応は遅く加水分解物が主生成物であったが10%程度ながら目的とする二糖**59**が得られた(Entry 5)。そこで、1当量の炭酸銀とプロモーターとしての働きが強い過塩素酸銀0.1当量を添加するとともに、受容体**57**を3.3当量としたところ反応はすぐに完結し加水分解物の生成も抑えられた。消費された受容体**57**に対する二糖**59**の収率は47%で、副生成物としてオルトエステル体**60**が27%得られた(Entry 6)。これをもとに種々検討したところ、次のような条件がもっとも良い結果を与えた。基質の当量比については供与体**54**を過剰量用いても受容体**57**が完全に消費されないのに対し、受容体**57**を3当量用いた場合には供与体**54**は完全に消費され、かつ受容体**57**の回収は容易であった。この時、消費された受容体**57**に対する二糖**59**の収率は60%で、副生成物としてオルトエステル体**60**が33%得られた(Entry 7)。

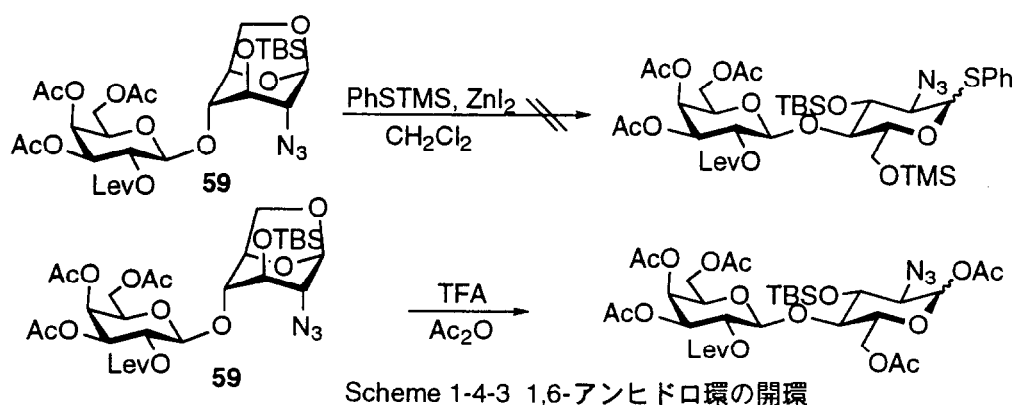
Table 1-4-1 共通中間体二糖の合成

Entry	54 / 57	Promoter (equiv.)	Solv.	Temp.	Puroduct
1	1 / 0.75	$\text{Hg}(\text{CN})_2 / \text{HgBr}_2$ (1 / 1)	MeCN	r.t.	61
2	1 / 0.5	HgBr_2 (1)	MeCN	r.t.	61
3	1 / 0.67	AgOTf (2)	CH_2Cl_2 -Tol	-45°C	59 (trace), 61 (major)
4	1 / 0.5	$\text{AgOTf} / \text{TMU}$ (1 / 3)	CH_2Cl_2	-60°C	61
5	1 / 1.0	Ag_2CO_3 (1)	CH_2Cl_2	r.t.	59 (11%), 60 (trace), 61 (60>%)
6	1 / 3.3	$\text{Ag}_2\text{CO}_3 / \text{AgClO}_4$ (1 / 0.1)	CH_2Cl_2	r.t.	59 (42%), 60 (27%)
7	1 / 3.0	$\text{Ag}_2\text{CO}_3 / \text{AgClO}_4$ (1 / 1)	CH_2Cl_2	r.t.	59 (60%), 60 (33%)

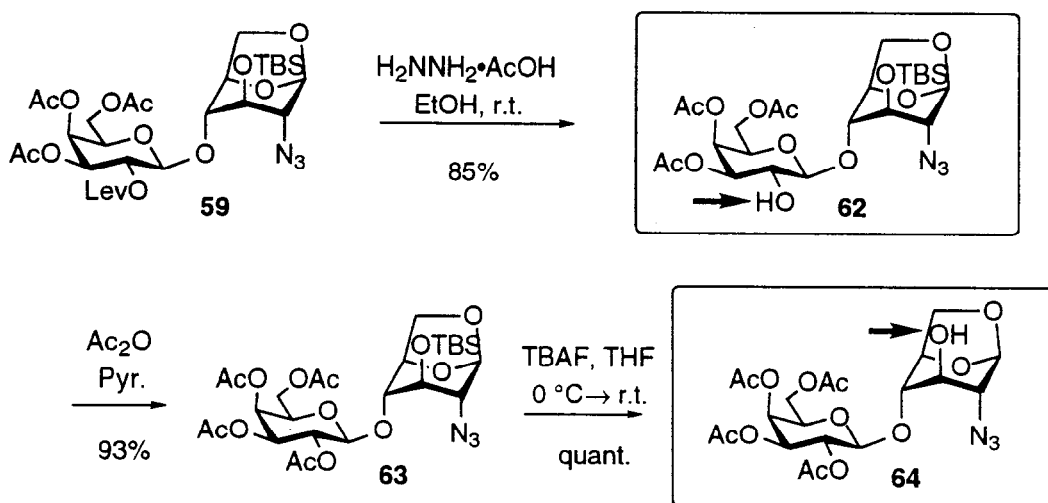


得られた二糖**59**のチオグリコシドへの変換はフェニルチオトリメチルシラン

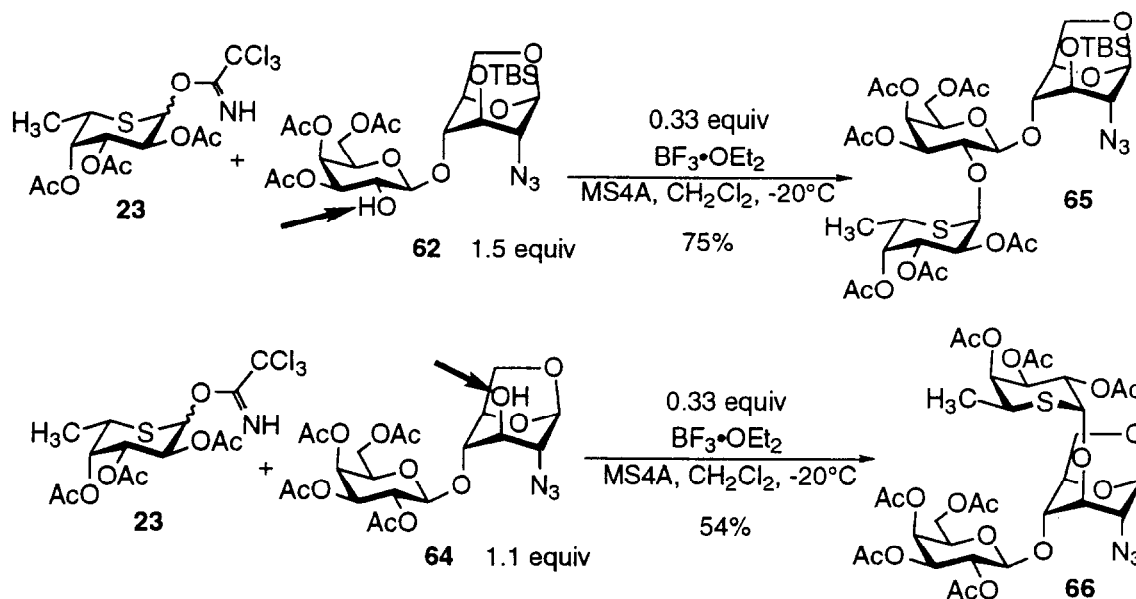
(PhSTMS)とヨウ化亜鉛(ZnI_2)を用いて1,6-アンヒドロ環を開環と同時にグリコシドを導入するWangら³¹の方法を試みたが、未反応物が多く低収率であった。また、 ZnI_2 の量を増やしても収率良く目的物を得ることはできなかった。一方、1-2で用いたアセトリシスによる開環は二糖の場合でも定量的に反応が進行した。この結果、1,6-アンヒドロ環の開環は5-チオ-L-フコース残基の導入の後でも可能であろうと考え、まずは、1,6-アンヒドロ環のまま5-チオ-L-フコシル化反応が進行するのかどうかを明らかにするため、脱レブリノイル化および脱TBDMS化を行い、2'位および3位に遊離な水酸基を有するグリコシル受容体を合成することにした。



脱レブリノイル化は、まず常法であるピリジン：酢酸3：2の溶液中ヒドラジン1水和物($H_2NNH_2 \cdot H_2O$)により行ったが部分的にアセチル基が脱離した生成物が見られ、目的物はほとんど得られなかった。そこで小川らの変法³²であるエタノール中酢酸ヒドラジン($H_2NNH_2 \cdot AcOH$)を用いたところ、反応はすみやかに進行し目的とする2'位に遊離な水酸基を有する二糖**62**を収率88%で得た。また、3位に遊離な水酸基を有する**64**は**62**をアセチル化した**63**のTBDMS基を脱保護することにより収率良く得られた。

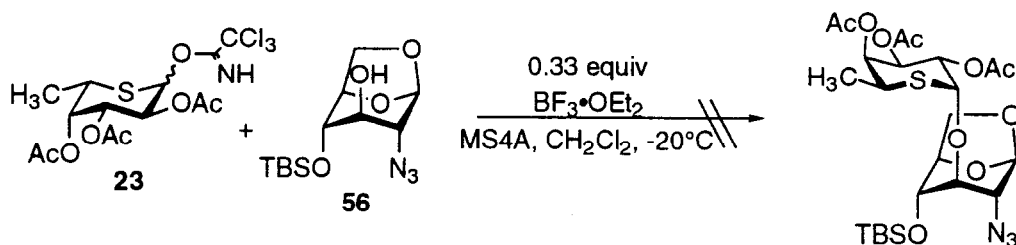


受容体**62**および**64**の5-チオ-L-フコシル化反応は-20°Cですみやかに進行し、目的とする三糖のα体**65**および**66**を収率75%、54%でそれぞれ得ることができた。



Scheme 1-4-5 二糖受容体に対する5-チオフコシル化反応

当初1,6-アンヒドロ-2-アジド-4-O-*tert*-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ-β-D-グルコピラノース**56**の5-チオ-L-フコシル化反応は進行しないことが分かっていたので、同様に**64**の3位水酸基へのグリコシル化は6位の炭素原子と酸素原子の立体障害のため進行しにくいと予想していた(Scheme 1-4-6)。



Scheme 1-4-6 4-O-TBDMS誘導体に対する5-チオフコシル化反応

しかし、予想に反し**64**の5-チオ-L-フコシル化反応は-20°Cですみやかに進行した。このことは受容体**64**のコンフォメーションが**56**と異なるためと推定されたが、事実¹H NMRにおける1,6-アンヒドロ環の環プロトンの結合定数に相違が見いだされた(Table 1-4-2, ϕ は改良Karplus式を用いて算出した各二面角の角度)。

Table 1-4-2 1,6-アンヒドロ環部分の結合定数と二面角

angle	56		64		63	66
	J (Hz)	ϕ	J (Hz)	ϕ	J (Hz)	J (Hz)
1,2	< 0.5	87 ± 5	< 0.5	87 ± 5	< 0.5	< 0.5
2,3	< 0.5	94 ± 5	6.3	140	< 0.5	< 0.5
3,4	< 0.5	91 ± 5	5.6	149	< 0.5	< 0.5
4,5	< 0.5	92 ± 5	< 0.5	92 ± 5	< 0.5	< 0.5

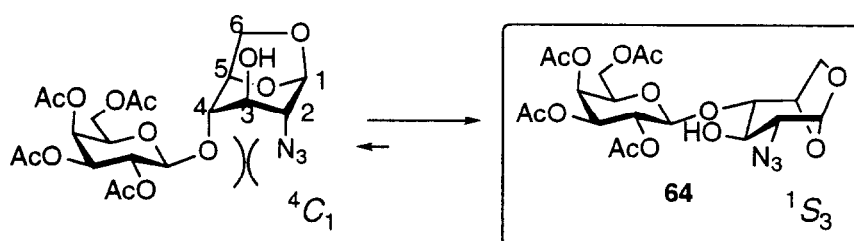
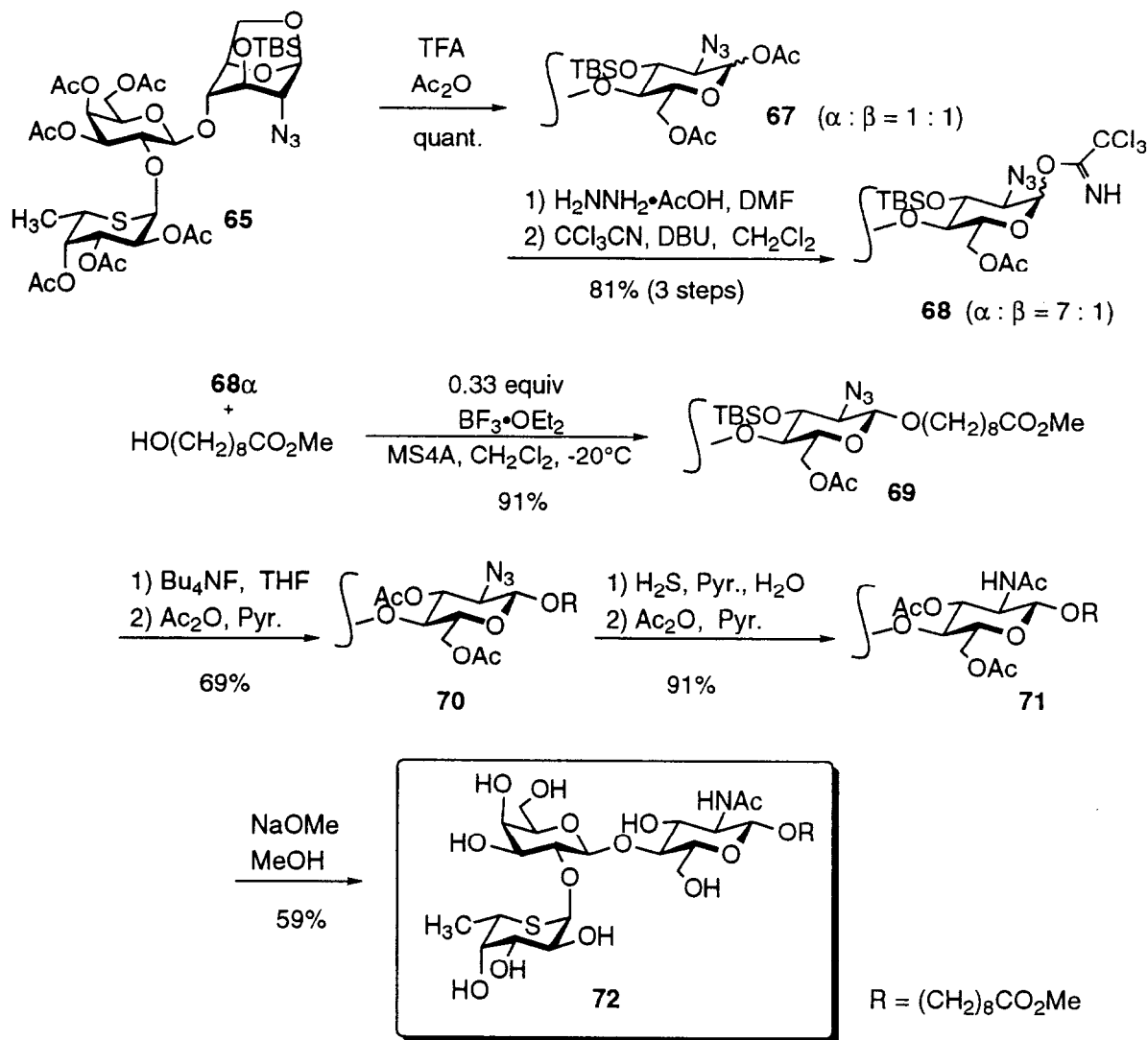


Fig. 1-4-3 **64**の1,6-アンヒドロ糖部分の主なコンホメーション

すなわち、Table 1-4-2に示した結合定数(J 値)より**56**はいす型(¹C₄)の寄与が大きいのに対し、受容体**64**はねじれボート型(¹S₃)の寄与が大きいのではないかと考えられる。**64**がいす型コンフォメーションではないことから、TBDMS基よりもテトラアセチルガラクトピラノース残基の方が嵩高いと推定される。このコンフォメーション変化により**64**の水酸基はエクソトリアル配向となり立体障害がより小さくなり反応性が向上したため、5-チオ-L-フコシル化がスムーズに進行したのではないかと思われる。また、**64**の3位に嵩高い置換基の導入された前駆体**63**及び5-チオ-L-フコシル化された**66**がともに**56**と同じコンフォメーションであることはTable 1-4-2に示すとおりであるが、これは**63**と**66**では4位のテトラアセチルガラクトシル基と2位のアジド基の1,3-diaxial相互作用よりも、ガラクトシル基とTBDMS基の1,2-diequatorial相互作用の方が大きいためと考えられる。

ここで得られた三糖**65**, **67**に相当する天然の糖鎖の還元末端はβ結合である。Schmidtらにより2-アジドグルコピラノースの選択的なβ-グリコシド形成反応は2種の方法が報告されているが、それぞれの方法については2章で詳しく述べる。三糖**65**を1-O-トリクロロイミダート**64**に誘導して双方の方法を検討した結果、α-イミダート**64α**をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離した後、グリコシル化を行う方法で91%という高収率で目的とするβ-グリコシド**69**を得ることができた。

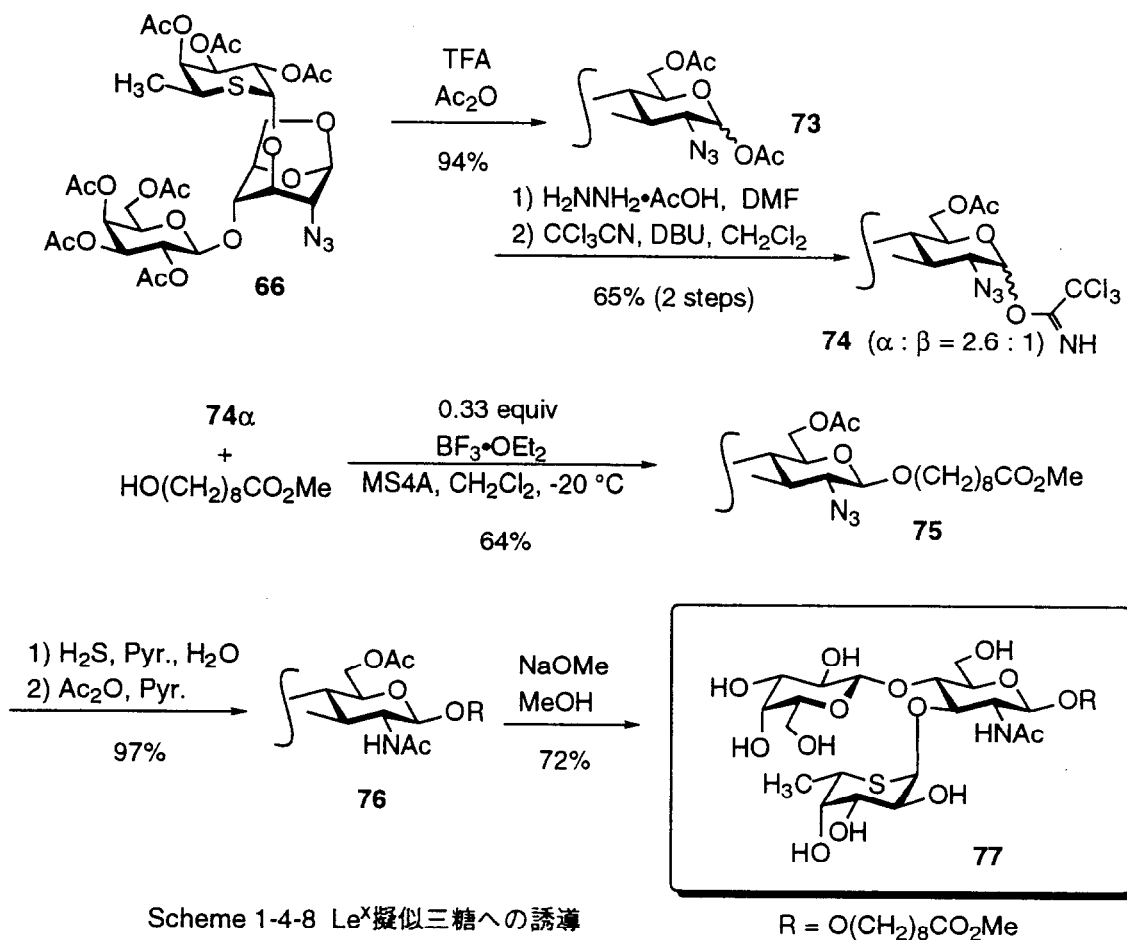


Scheme 1-4-7 H Type II擬似三糖への誘導

イミダート**69**の合成は以下のようにして行った。三糖**65**をアセトリシスして1,6-アンヒドロ環の開環生成物**68**を得た。ついで、DMF中酢酸ヒドラジンにより還元末端のアセチル基のみ脱保護した。SchmidtらはNaHを塩基に用いて2-アジドグルコピラノースとトリクロロアセトニトリルからα-トリクロロアセトイミダートのみを得ているが、この基質ではその条件でα-イミダートは優勢に生成するがα:β=3:1とβ-イミダートも混ざることが分かった。塩基として1,8-ジアザビシクロ[5,4,0]ウンデセン(DBU)を用いた場

合に $\alpha : \beta = 7 : 1$ と選択性良くまた収率も良く α -イミダートを得ることができた。

三糖**69**は常法により3位のTBDMS基を脱保護し、アジド基を還元、アセチル化してアセトアミド基へと変換し**71**へと誘導した。最後にアセチル基の脱保護を行い5-チオ-L-フコースを有するH type II擬似三糖**72**を得ることができた。三糖**66**の還元末端の β -グリコシド化もH type IIの合成と同様に行い、収率64%で**75**を得た。アジド基を還元、アセチル化してアセトアミド基へと変換し**76**へと誘導した。最後に脱保護を行い5-チオ-L-フコースを有するLewis X擬似三糖**77**を得ることができた。

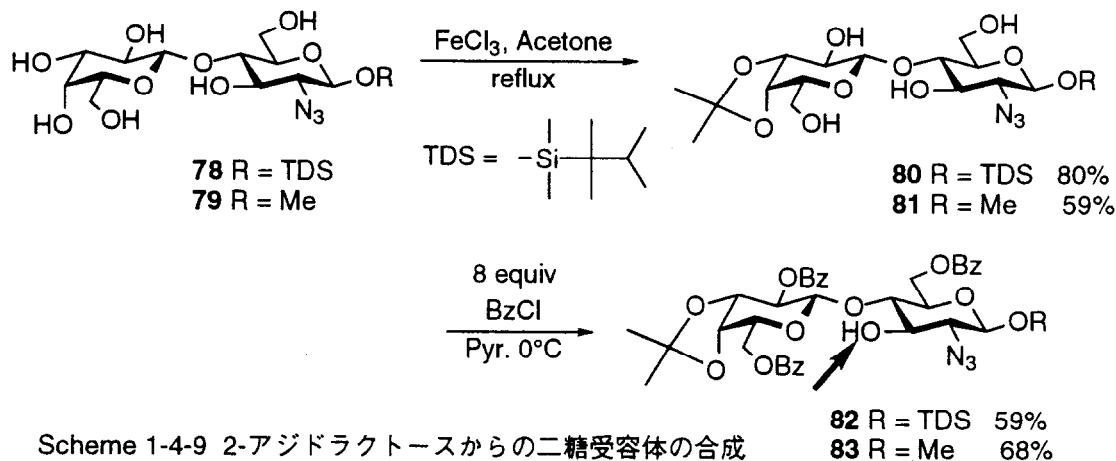


1-4-2. 二糖を出発原料とする擬似三糖の合成

ラクトサミンは安価なラクトースからアジドナイトレーションにより得ることができるが、その収率は異性体が副生するためあまりよくない。しかし、1-4-1で述べたように単糖同士のグリコシル化によるラクトサミンの合成は再現性があまりなく、労力を要した。グリコシル化の必要のない二糖を出発原料とした場合、その選択的な保護が問題となるが最近、Schmidtらは2-アジド-2-デオキシラクトースの選択的保護について数多くの検討をし、それを利用した効率の良いオリゴ糖合成を報告している³³。そこで、Schmidtらの方法を参考に2-アジド-2-デオキシラクトースを出発原料とする擬似三糖の合成を試みることにした。

合成ターゲットとして、これまでのH type II、Le^x擬似三糖とともに、その類縁体の合成が非常に多く行われており、その生理活性も期待される sialyl Le^x型の擬似三糖も考慮に入れて合成を行うことにした。すなわち、Schmidtらが sialyl Le^xを含め、さまざまなネオラクト系オリゴ糖鎖の合成に利用した3位に遊離な水酸基を持つ2-アジド-2-デオキシラクトース誘導体**82**、**83**に対する5-チオ-L-フコシル化をまず行うことにした。**82**の還元末端のシリルエーテルは、その後のオリゴ糖伸長のために用いることができると考えられる。

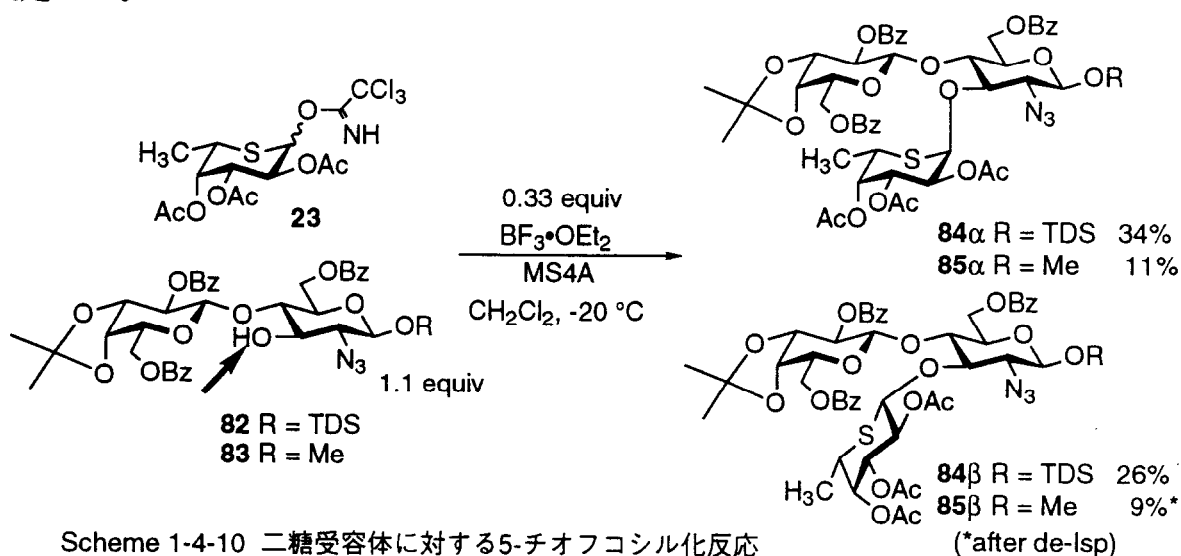
Schmidtらの方法に従い**78**に対してFeCl₃触媒下アセトン中でイソプロピリデン化を行い、3',4'-O-イソプロピリデン体**80**を収率80%で得た。この際、副生する4',6'-O-イソプロピリデン体はシリカゲルカラムによって容易に除去できる。**80**の選択的ベンゾイル化については-40°CでBzCNを注意深く加えると、トリベンゾイル体**82**が収率73%で得られることが報告されている。そこでベンゾイル化の常法であるピリジン中BzClを用いる方法で、もっと簡便にできないか検討した。



Scheme 1-4-9 2-アジドラクトースからの二糖受容体の合成

0°Cで反応をTLCで追跡しながらBzClを加えた。まずもっとも反応性が高い6,6'位にベンゾイル基が導入され、さらにBzClを加えていくとより反応性の高い2'位の水酸基がベンゾイル化されることが観察された。BzClを約8等量加えたところで目的物が主生成物となったので反応を停止した。その結果、テトラベンゾイル体が副生するものの目的物である**82**を59%と比較的良好な収率で得ることができた。メチルグリコシド誘導体**79**に対しても同様な収率で反応は進行し、3位に遊離な水酸基を持つ**83**を収率良く合成した。

82, 83に対する5-チオ-L-フコシル化反応はこれまでと同様に-20°Cですみやかに進行した。その際に、5-チオ-L-フコース由来の副産物が生成しており、収率の低下が見られたが擬似三糖**84**が収率60%で、**85**が収率20%で得られることが分かった。しかしながらその立体選択性はこれまでのように α 選択的ではなく、 α : β = 1:1であった。その構造は¹H NMRにおいて**84 α** 、**85 α** の $J_{1,2}$ = 2.8 Hz、**84 β** 、**85 β** の $J_{1,2}$ = 9.8 Hzであることから決定した。



Scheme 1-4-10 二糖受容体に対する5-チオフコシル化反応

2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-5-チオ-グルコシルイミダートを供与体とする同様なグリコシル化で、 α 選択的に反応が進行しない例がPintoらにより2例報告されている(Table 1-4-3)^{6,10}。一つはグルコースの反応性の高い6位水酸基とのグリコシル化において $\alpha : \beta = 1.5 : 1$ となり、もう一つはグルコースの4位との反応において $\alpha : \beta = 1 : 1$ と α 選択性が失われている。ここで、反応性の低いトリベンゾイル体の4位の水酸基との反応では α 選択的に進行している。このことから受容体**82**, **83**の水酸基の反応性が選択性の低下に影響していることが示唆される。また、**82**, **83**は二糖誘導體であることから、グリコシド化の立体選択性に影響を与えることが知られているmached / mismatched pairのような供与体と受容体の立体的な関係も、その選択性の低下の要因となっていると考えられる。

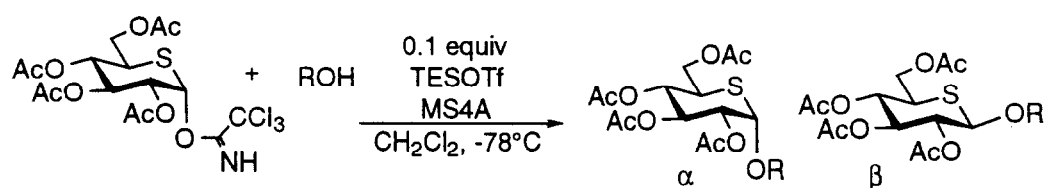
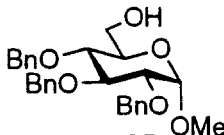
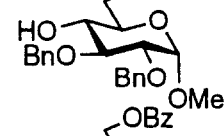
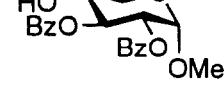
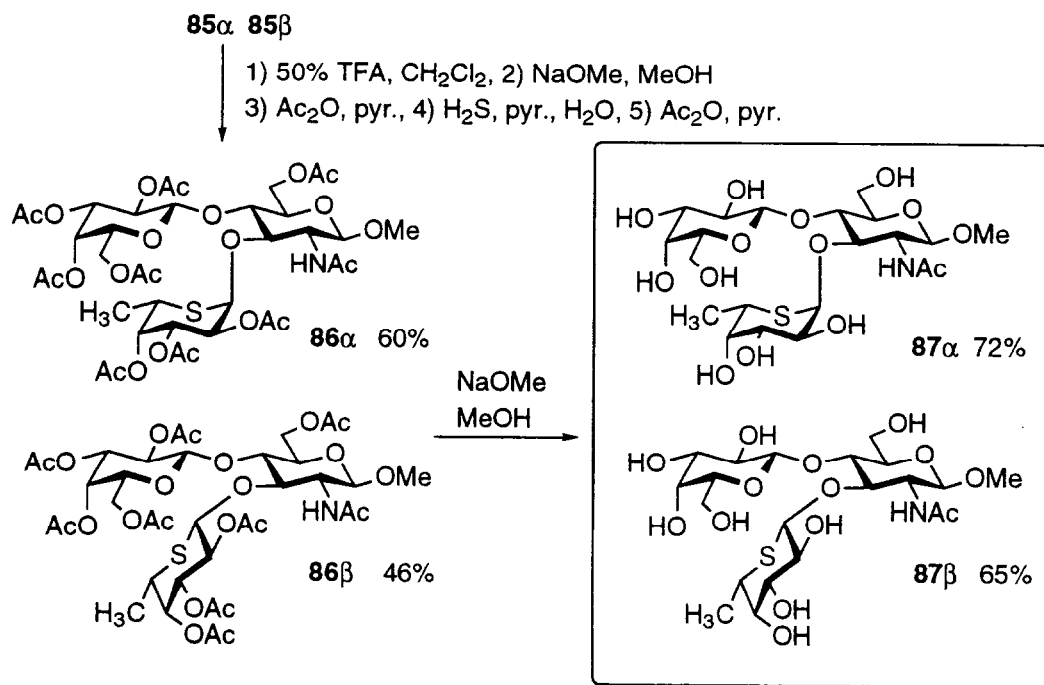


Table 1-4-3 5-チオグルコース誘導體のグリコシル化反応

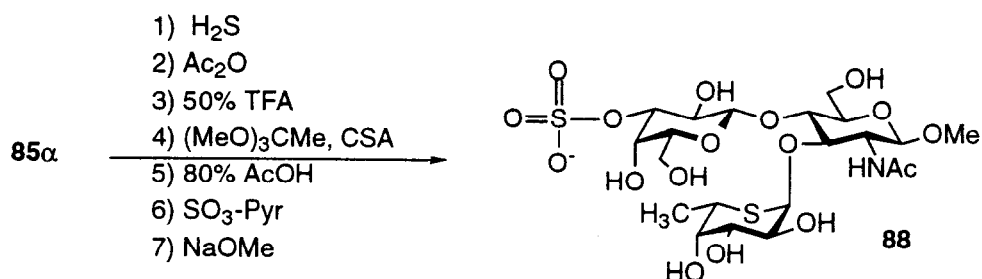
ROH	yield	α	β
	80%	1.5	1
	90%	1	1
	85%	α only	

得られた擬似三糖**85α**, **85β**はTFAによる脱イソプロピデン化、アジド基のアセトアミド基への変換を経て収率良く脱保護体**87α**, **87β**へとそれぞれ誘導した。β-5-チオフコシル誘導体である**87β**はその阻害活性に期待はできないが、結合様式の違いの与える影響を調べるための道具となると考えられる。



Scheme 1-4-11 Le^x擬似三糖への誘導

また**85α**は常法により³⁴3'位に硫酸基を導入した擬似三糖**88**にも誘導することができた。3'-sulfo-Le^x三糖はE-セレクチンと結合するsialyl Le^xのミミックとして同様な結合能を示すことが知られている。現在、生体内のフコシダーゼによるsialyl Le^xの分解がセレクチン阻害剤開発における大きな問題となっているので、フコシダーゼに対して耐性なこのような擬似三糖**88**のセレクチン阻害剤としての可能性に非常に興味を持たれる。



Scheme 1-4-12 3'-sulfo-Le^x擬似三糖の合成

1-5 5-チオ-L-フコース含有擬似三糖の立体配座解析

生体高分子において、それらの生理活性発現に分子全体の立体配座が重要であることは言うまでもない。糖鎖においては、その構成糖の環酸素原子がエキソアノマー効果として直接、糖鎖のコンフォメーションに関与する因子となることが知られている。序論で述べたように、環酸素原子が硫黄原子に変換されることにより、糖鎖のコンフォメーションがどのように影響を受けるのかは興味深い。そこで1-4で合成した5-チオ-L-フコース含有H type II擬似三糖の水溶液中でのコンフォメーション解析をNMRを用いて行い、グリコシド結合回りの二面角に関する情報を得ることとした。

天然型のH type II三糖のコンフォメーション解析はBarkerらにより糖転移酵素により合成した相当する炭素原子を ^{13}C で置換した誘導体を用いて行われている³⁵。グリコシド酸素原子を含む $^3J_{\text{C-H}}$ を測定し、二面角を決定することにより三糖のコンフォメーションを推定している。この構造は、Fig. 1-5-1に示すようにLemieuxらのHSEA(Hard-Sphere Exo Anomeric effect)計算により求められたエキソアノマー効果を発現していると考えられる構造とも良い一致を示す³⁶。

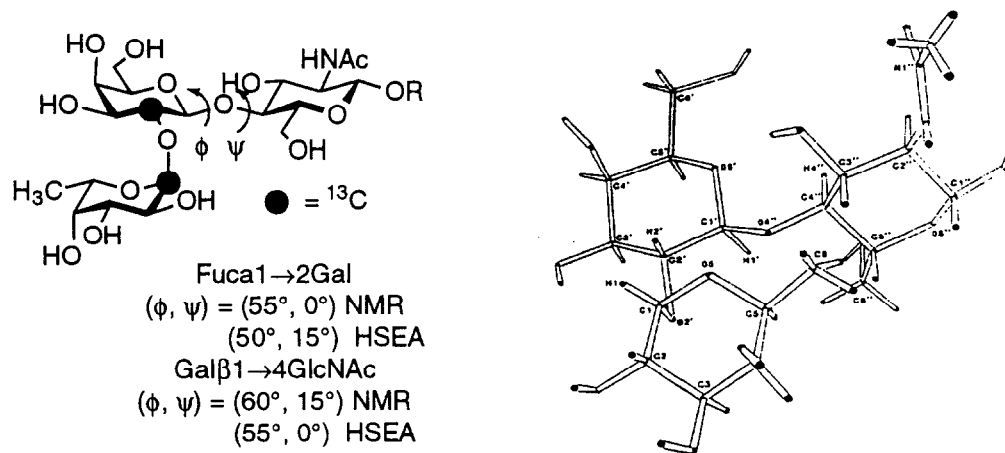


Fig. 1-5-1 ^{13}C 導入による構造解析

合成した5-チオ-L-フコース含有H type II擬似三糖コンフォメーション解析に、この方法を用いることはできないので、糖残基間の距離情報を得るためにNOESY測定を行うこととした。また、天然型のH type II三糖のコンフォメーション解析は述べたように行われているが、NOESYによる解析の有効性を確かめるために、天然型三糖³⁷の測定も同時に行った。

2D-HOHAHA, HSQC測定により決定した各糖残基の環プロトンの位置とミキシングタイムを700msにして2D-NOESY測定を行った結果をFig. 1-5-2, Fig. 1-5-3に示す。その結果、

糖残基間に観測されたNOEを矢印で示した。天然型については、特に、Fucの5,6位プロトンとGlcNAc5,6位プロトン間に相当するNOEが観測され、さきに述べたFig. 1-5-1のモデルと同様なコンフォメーションをしていることが支持された。つぎに擬似糖についてであるが、ラクトサミン(Gal β 1 \rightarrow 4GlcNAc)骨格では天然型と同程度に、Galの1位プロトンからGlcNAcの4,6位プロトンにNOEが観測されたことからほぼその二面角に大きな違いはないことが示唆された。ラクトサミン骨格はそのX線結晶解析からGalの環酸素原子とGlcNAcの3位水酸基プロトンと水素結合を形成し安定化することが知られているので³⁸、擬似糖の場合でも同様な安定化が作用しているのではないかと思われる。天然型で観測されたFucの5,6位プロトンとGlcNAc5,6位プロトン間のNOEはまったく観測されなかった。5SFuc-GlcNAc間のNOEは5SFucの1位プロトンからGalの環プロトンにおいてのみ観測されたが、Fig. 1-5-3を見てわかるようにGalの2, 3,4位のプロトンはほとんど同じ位置にあるので5SFucの1位プロトンからGalの何位の環プロトンとの間にNOEが観測されているのかは確定できなかった。また、強度が弱いために観測できなかったNOEがあると考え、2D-ROESY測定も行ったが、同様な結果しか得られなかった。以上のことから、天然型と擬似糖ではFuc α 1 \rightarrow 2Galの二面角が異なることが示唆されたが、それを確証する情報はNOE測定からは得られなかった。

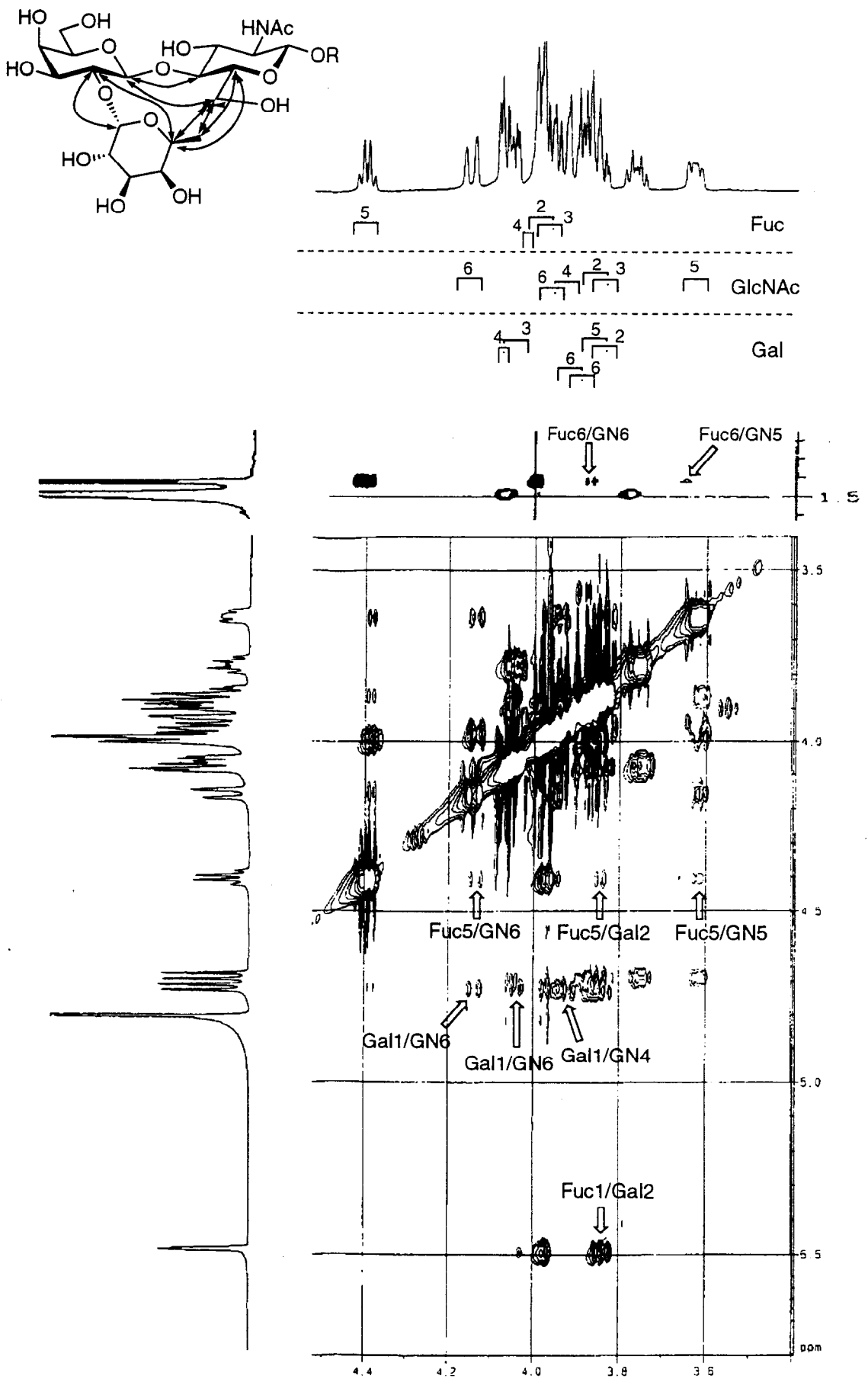


Fig. 1-5-2 天然型三糖のNOESYスペクトル

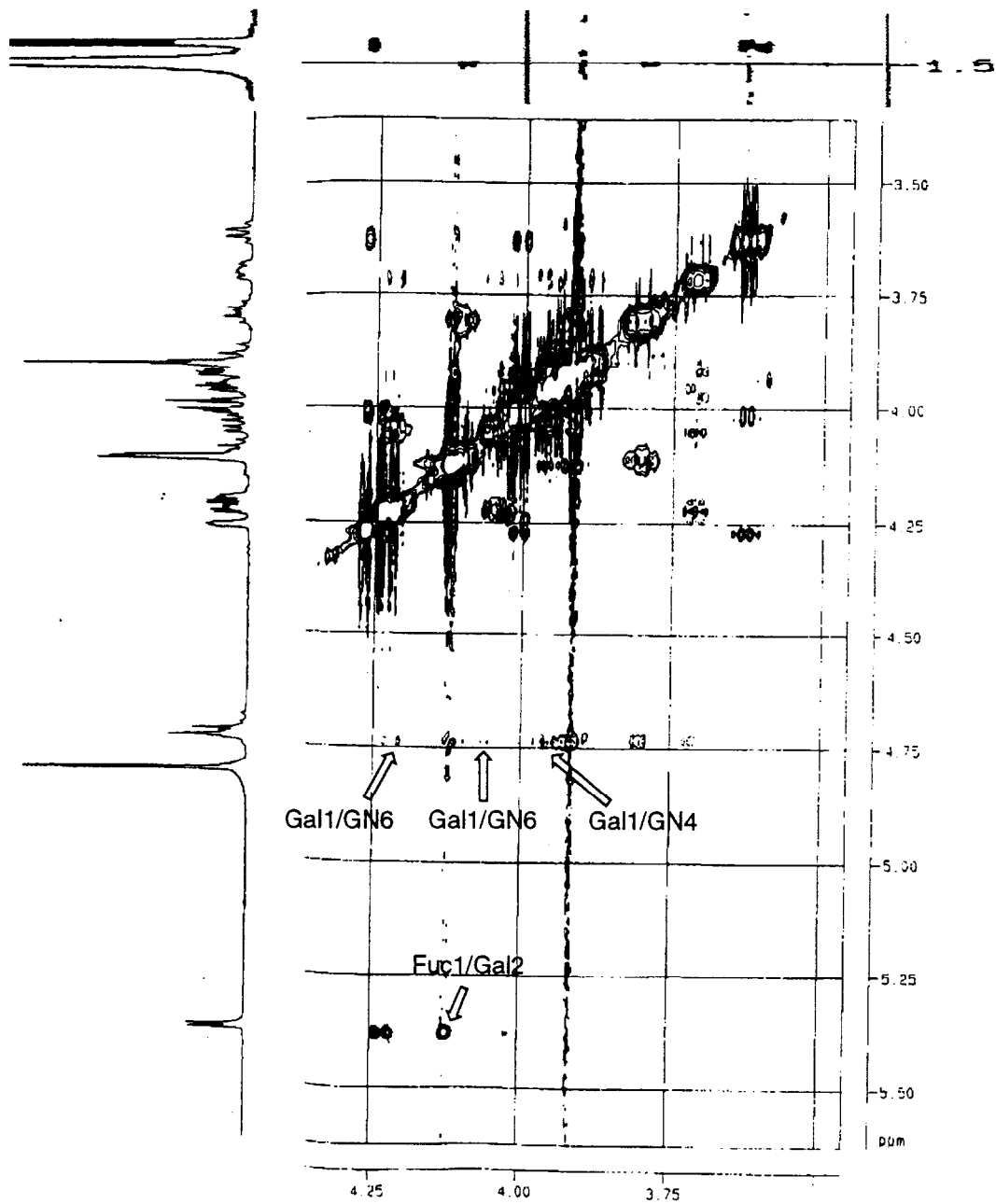
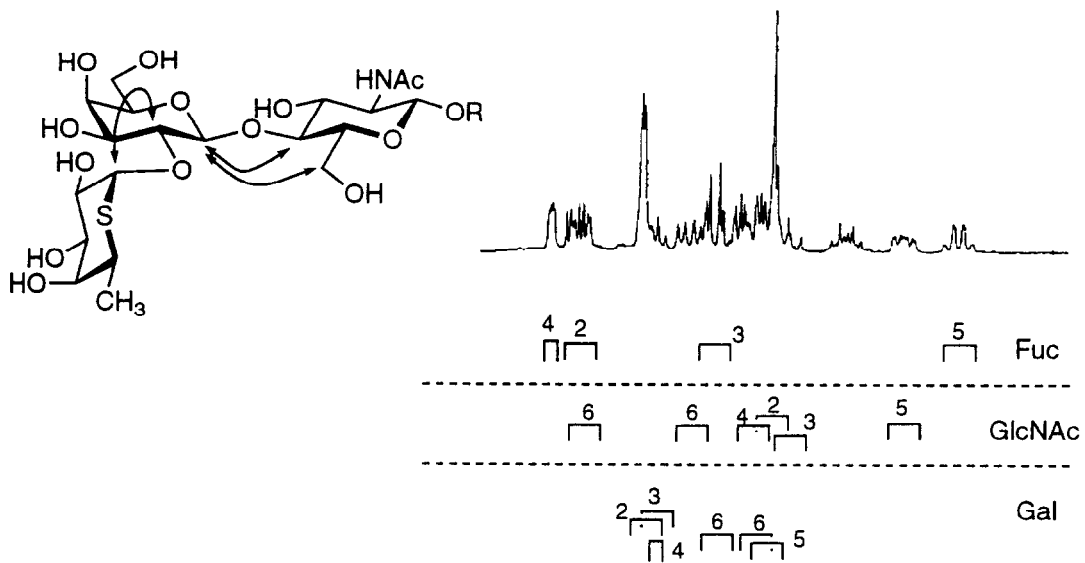


Fig. 1-5-3 擬似三糖のNOESYスペクトル

計算による天然型と擬似糖の構造解析も行った。15000ステップによるモンテカルロ法により発生させた構造から最安定配座を選んだ。そして、両基質の最安定配座を用いて、それぞれ10nsのシュミレーション時間で分子動力学(SDMD = Stochastic Molecular Dynamics)計算を行った。Fig. 1-5-4にシュミレーション中に200個サンプリングした三糖間の二面角(Gal β 1 \rightarrow 4GlcNAcとFuc α 1 \rightarrow 2Gal)の ϕ, ψ を横軸に、縦軸にその角度を有する構造数を示した。その結果、天然型の(ϕ, ψ)値はさきのHSEAの結果を支持するものとなった。Fuc α 1 \rightarrow 2Galの二面角では多少、擬似糖のほうがフレキシブルであるように見えるが、両二面角とも大きな差はないことが示唆された。

序論で述べたように、Pintoらは5'-チオコジビオース(5SGlc α 1 \rightarrow 2Glc)のNOE測定と分子力学計算から天然のコジビオースとの比較を行い、それらのコンホメーションの間に顕著な差を見いだしていない¹¹。また、ごく最近和泉らも5-チオグルコース1 \rightarrow 3デオキシマンノジリマイシン(5SGlc α 1 \rightarrow 3DMNJ)のモンテカルロ法による計算からその二面角は天然型二糖とあまり変わらないことを報告している³⁹。このことから、合成した擬似糖のコンホメーションも天然型とほぼ同じであり、その情報をNOEのシグナルとして観測できなかつた可能性が考えられる。

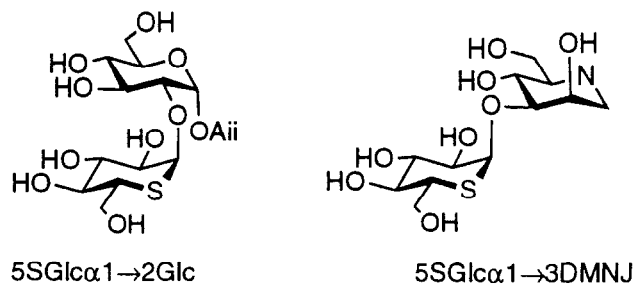
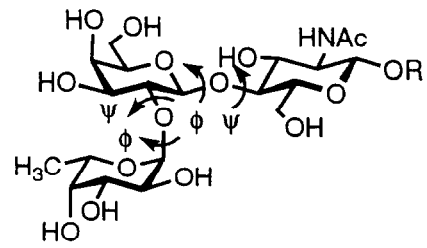
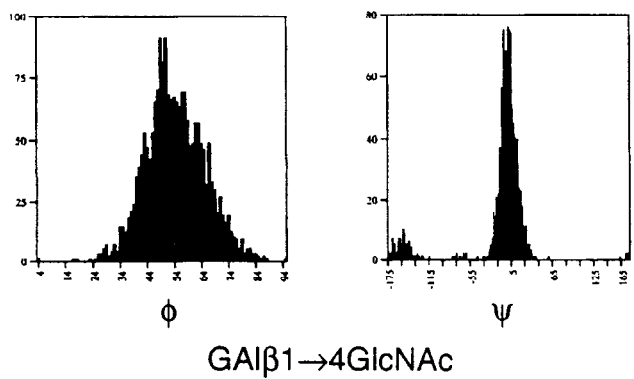
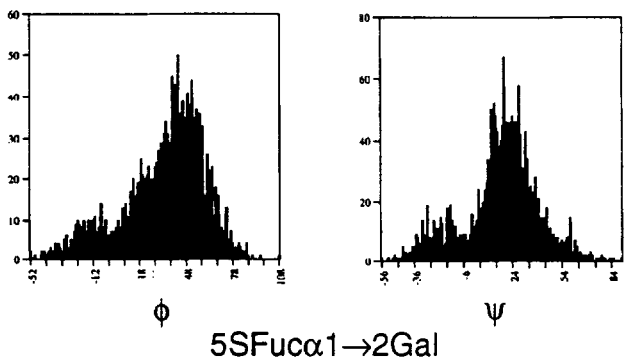
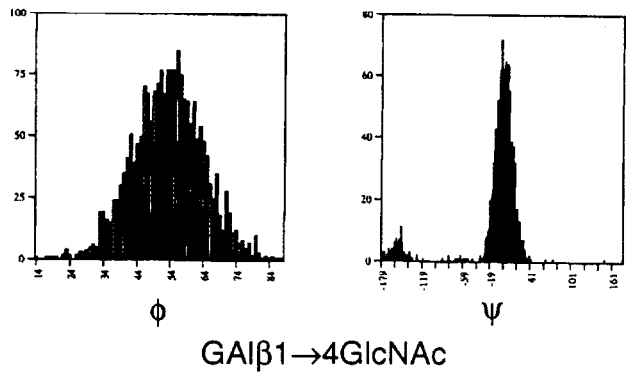
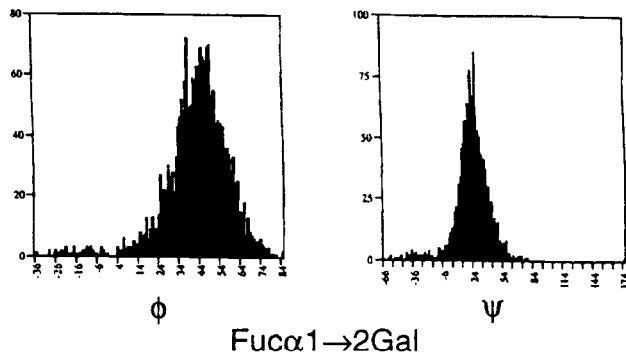


Fig. 1-5-5 5-チオグルコース糖を含む擬似二糖類



横軸：糖残基間の二面角の ϕ , ψ (degree)
縦軸：その角度を有する構造数

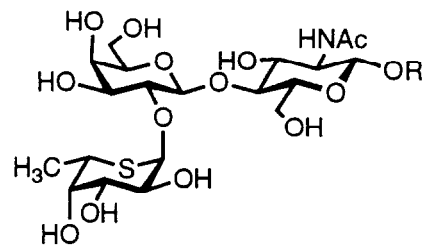


Fig. 1-5-4 MD計算

1-6 5-チオ-L-フコース含有擬似三糖のレクチンや抗体に対する阻害活性

1-6-1. H Type II擬似三糖の血球凝集阻止実験

タンパク質であるレクチンや抗体と糖リガンドである血液型抗原の相互作用を評価する最も簡便なものは血球凝集阻止試験である。この試験では、厳密な解離定数の測定は不可能だが、血球凝集を引き起こす多くのレクチンおよび抗体が知られているので、5-チオ-L-フコースを有するオリゴ糖の比較的広範囲のタンパク質に対する親和性を調べることができる。特に、H type IIはヒトO型抗原物質であり、レクチンや抗体の入手も容易なので、その血球阻止活性を測定することにした。

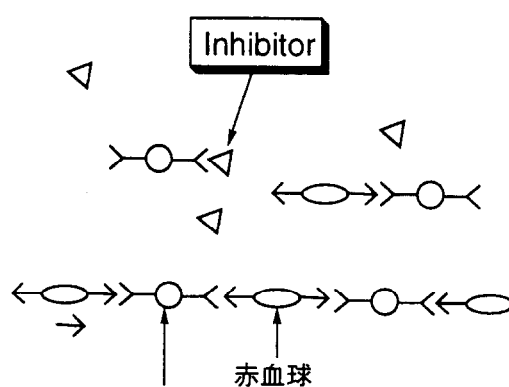


Fig. 1-6-1 血球凝集阻止実験 凝集素(レクチンや抗体)

血球凝集素は力価4倍に希釈したものを、阻害剤は10 mMから2倍希釈したものを用いた。はじめに凝集素と阻害剤をインキュベートし、そこにヒトO型赤血球を加えて凝集が阻止される最小濃度を求めた。用いた血球凝集素(レクチンと抗体)、阻害剤およびその比較サンプル、それぞれの凝集阻止に必要な阻害剤の最小濃度を以下に示した。

AAL : ヒイロチャワンタケ

AAA : ウナギ血清抗レクチン

UEA I : ハリエニシダ凝集素 I

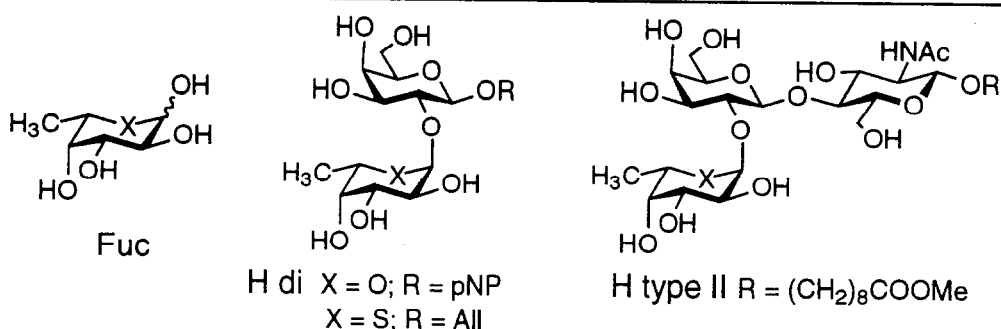
anti-H di MoAb : H二糖特異的モノクローナル抗体

anti-H type 2 MoAb : H type 2三糖特異的モノクローナル抗体

anti H chicken : 抗O型血球ニワトリ血清

Table 1-6-1 5-チオ-L-フコースを含むオリゴ糖の血球凝集阻止活性

	凝集阻止に必要な最小濃度 (mM)					
	Fuc		H di		H-type II	
	O	S	O	S	O	S
AAL	2.5	>10		>10	1.25	>10
AAA	1.25	5.0		5.0	0.313	>10
UEA I	>10	>10		0.625	0.313	1.25
anti-H-di	>10	>10	2.5	5.0	5.0	0.625
anti-H-type II	>10	>10	5.0	>10	1.25	0.154
anti-H chickin	>10	>10			1.25	



まず、凝集素ごとに見ていくとヒイロチャワンタケレクチン(AAL)はフコース(Fuc)では阻害されるが5-チオ-L-フコース(5SFuc)で全く阻害されない。ウナギ血清レクチン(AAA)も同様の傾向で、単糖(5SFuc)と二糖(5'-S-H di)で弱い阻害が見られるのみである。これらのレクチンは環酸素を強く認識していると考えられる。ハリエニシダレクチン(UEA I)はフコース(Fuc)単糖は認識せず、H type II三糖を認識するが、5-チオ-L-フコースは認識せず、5-チオ-L-フコースを含む三糖を認識するという同様の傾向が見られる。しかし、興味あることに阻止活性は二糖(5'-S-H di)の方が強く三糖(5''-S-H type II)は天然型に比べて弱い。

モノクロナール抗体では天然型の阻害剤では二糖特異的であるものは二糖を、三糖特異的であるものは三糖をよく認識している。5-チオ-L-フコース誘導体では三糖のみが非常に強い阻害活性を示している。このことから、5-チオ-L-フコースを含むオリゴ糖が抗体に強く認識されている可能性が高い。

1-6-2. Lewis X擬似三糖の抗Le^xマウスモノクローナル抗体(ALX)に対する阻止活性

血球凝集阻止実験からH type II擬似三糖が抗体に対しては強く認識されていることがわかったので、つぎに、Le^x擬似三糖も同様に抗体に対して強く認識されるかどうか調べることとした。

Le^x抗原に特異的な抗Le^xマウスモノクローナル抗体⁴⁰に対するLe^x擬似三糖の阻害活性の測定をEIA(enzyme immunoassay)法に従って行った。すなわち、マイクロタイタープレートに結合したLe^x抗原に対する抗体の結合が、擬似三糖によってどれだけ阻害されるのかを測定した。擬似三糖は1-5で合成した5-チオ-L-フコースのグリコシド結合様式の異なる**87α**、**87β**の両方を用いた。また、その比較サンプルとして天然型のLex三糖**89α**とそのL-フコースのグリコシド結合様式の異なる三糖**89β**を合成し、それらによる阻害活性も測定した。結合した抗体はペルオキシダーゼ活性を持つHRP標識抗マウスIgM抗体とOPD(o-phenylene diamine)を加えることにより生じる発色物質の吸光度(OD490/690)を測定することにより定量した。詳細については実験の部に記述した。

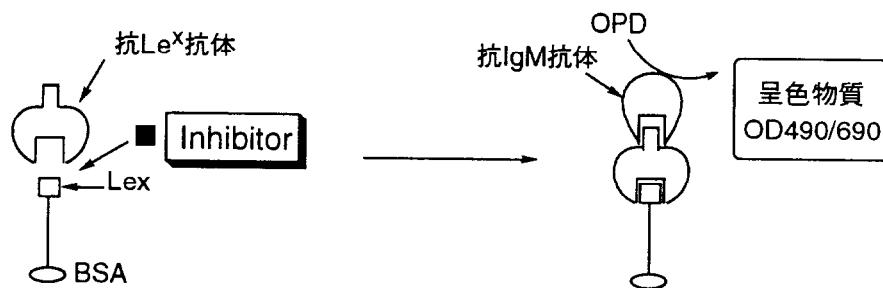
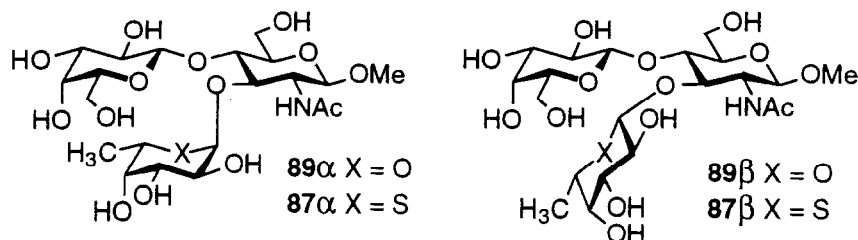


Fig. 1-6-2 EIAアッセイ

その結果Table 1-6-2に示すように5mMで天然型のLex三糖**89α**が59%の阻止率を示したのに対して、相当する5-チオ-L-フコースアナログ**87α**では21%とほぼ3分の1程度の阻止率しか示さなかった。

Table 1-6-2 阻害剤5mM添加下での阻止率

89α	Galβ1→4(Fucα1→3)GlcNAcβOMe	59.1 %
89β	Galβ1→4(Fucβ1→3)GlcNAcβOMe	5.4 %
87α	Galβ1→4(5S Fucα1→3)GlcNAcβOMe	21.1 %
87β	Galβ1→4(5S Fucβ1→3)GlcNAcβOMe	9.8 %



また、フコースの結合のグリコシド結合様式の異なる**87 β** , **89 β** はともに5%,9%とほとんど阻止活性を示さなかった。これにより、この抗Lex抗体に対して5-チオ-L-フコースを含む擬似三糖はあまり強く認識されないことが分かった。また、フコースのグリコシド結合様式はその認識に関して非常に重要であることが分かった。血球凝集阻止実験の結果と合わせた解釈は難しいが、抗体のフコース残基の環酸素周辺に対する認識の仕方が、それぞれの抗体で異なっていると考えられる。しかし、これは擬似糖類が、抗体に対する特異的な阻害剤になりうることを示唆している。

第一章のここまでの結果を踏まえると、フコース残基を認識する際に環酸素から6位メチル基付近の疎水性が重要である場合には、5-チオ-L-フコース含有擬似オリゴ糖は強く認識される可能性がある。一方、フコース残基の環酸素原子が水素結合などを介して認識されている場合は、5-チオ-L-フコース残基では、その認識は弱くなるのではないかと予想される。今後、いろいろなレクチンや抗体に対してその結合能を調べることにより、個々の分子認識の様式が明らかとなれば、L-フコース残基に対する分子認識に関する普遍的な知見が得られるのではないかと期待される。

1-7 GDP-5-チオ-L-フコースの合成

ここまでは糖加水分解酵素(α -L-フコシダーゼ)、レクチンや抗体の糖鎖認識機構の解明の化学的道具として5-チオ-L-フコース含有糖鎖の利用を考え、それら糖鎖の合成を化学的に行った。その結果どのような糖鎖にも5-チオ-L-フコースの導入が可能であろうという見通しが立った。しかし、このように化学的に5-チオ-L-フコースを導入しようとすると保護基の導入や脱保護といった複雑な操作が必要不可欠なばかりでなく、グリコシル化の立体選択性の制御においても100%の選択性は期待できない。

一方、生体内において糖鎖は糖転移酵素(グリコシルトランスフェラーゼ, GTase)を介して、糖供与体である糖ヌクレオチドから糖受容体へ単糖が転移することにより合成されている。1968年にHagopianらにより"one enzyme - one linkage"という概念が提唱されたように、GTaseは厳密な基質特異性を持って糖転移を行う。これを利用したオリゴ糖合成も行われており⁴¹、その利用価値が高いことは言うまでもない。

序論で述べたように湯浅らによりUDP-5-チオ-D-ガラクトースと $\beta(1\rightarrow4)$ ガラクトース転移酵素により、5-チオ-D-ガラクトースが転移することが知られている。そこで、同様にフコース転移酵素(FucT)の糖供与体になると考えられるGDP-5-チオ-L-フコースを合成し、FucTaseによる転移を検討することにした。

一般的に糖ヌクレオチドの合成は糖-1-リン酸の合成とそれの5'-モノリン酸ヌクレオチドとの縮合反応によるピロリン酸結合の構築から成る。GDP-フコースが他の糖ヌクレオチド(UDP-グルコース、UDP-ガラクトースなど)と大きく違う点はフコースの1位のリン酸結合がエカトリアル配向(β 結合)であることである。アキシアル配向(α 結合)のグリコシルリン酸は熱力学的に安定であるのに対して、エカトリアル配向のグリコシルリン酸は酸などに非常に不安定である。

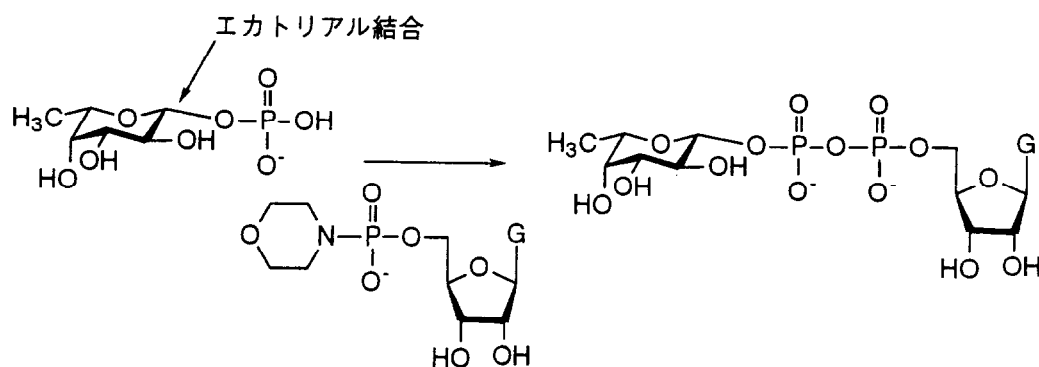


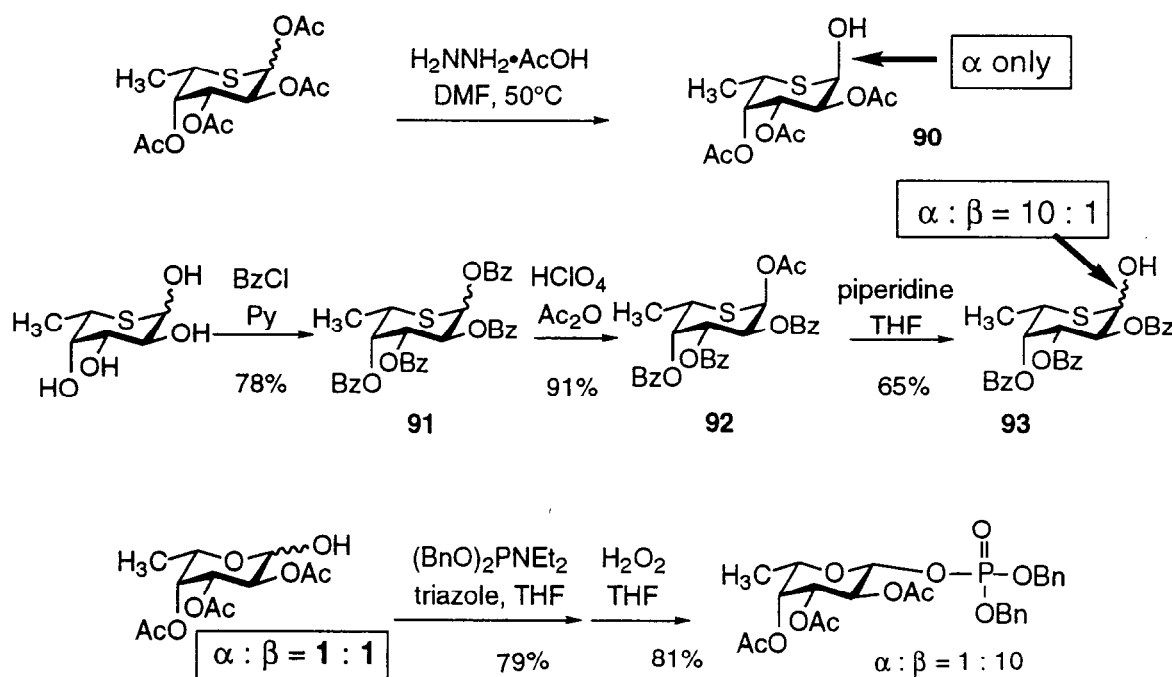
Fig. 1-7-1 GDP-Fucの合成

このことからGDP-5-チオ-L-フコースの合成に関してまず問題となるのはβ結合を持ったフコース-1-リン酸の構築である。一方、立体選択的な1位へのリン酸残基の導入には大きく分けて以下の2つのルートが報告されている。

(1) 1位の遊離な水酸基に対してのリン酸化反応

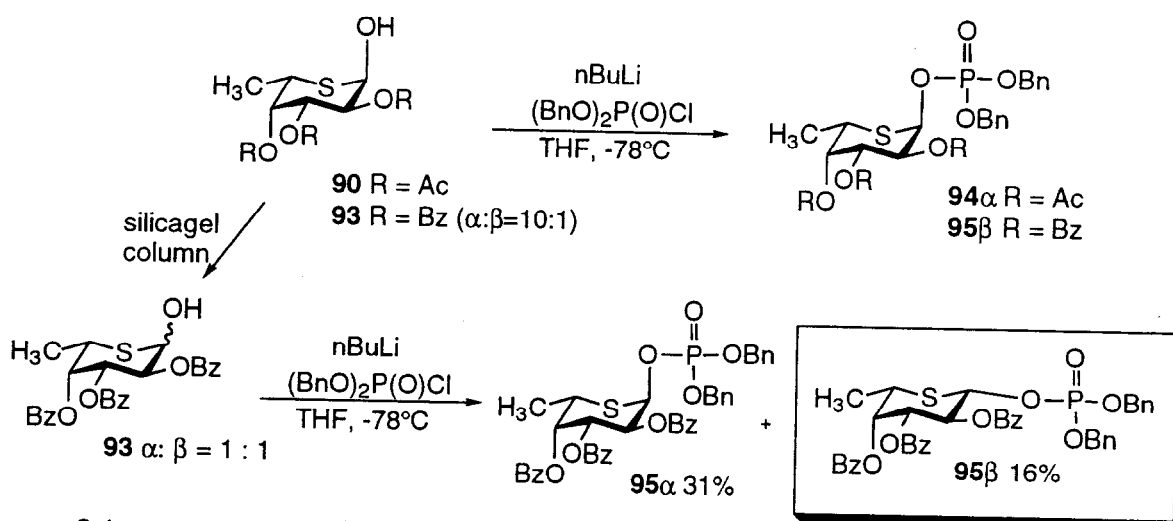
(2) 1位の脱離基に対するリン酸による置換反応、すなわち、リン酸のグリコシル化

まず、1位の遊離な水酸基に対するリン酸化を試みることにした。現在のリン酸化の主流である三価のリン試薬を用いる1位のリン酸化法はWongら⁴²により報告されているが(Scheme 1-7-1)、五価のリンに変換する際の酸化反応でターゲット化合物の硫黄も酸化されてしまう可能性があるためこの方法は5-チオ-L-フコースのリン酸化には適していない。そこで、多くの方法が開発されている五価のリン試薬によるリン酸化を用いることにした。この方法で前駆体となるトリアセチル5-チオ-L-フコース**90**は、トリクロロアセトイミダート**23**を得る際に中間体として得ている。この化合物の¹H NMRスペクトルではα体しか観測されず、環酸素原子アナログではα:β=1:1である(Scheme 1-7-1)のに対して対照的である。2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-5-チオ-D-グルコピラノースにおいても同じ傾向が報告されており²⁴、これは5-チオ糖に特徴的であると考えられ、序論で述べたように六員環の歪みによる1,2-gauche効果の増大からα体が安定化したためと考えられる。



また、保護基をアセチル基からベンゾイル基に変換した2,3,4-トリ-O-ベンゾイル-5-チオ-L-フコピラノース**93**をあとで述べるリン酸のグリコシル化で用いる中間体として得ていたためこれに対するリン酸化も試みることにした。**93**はつぎのようにして得た。

すなわち、5-チオ-L-フコースをベンゾイル化した後、続いて過塩素酸と無水酢酸により1位のみアセチル基へと変換し**92**を得た⁴³。この1位アセチル基の選択的な除去を種々の塩基(酢酸ヒドラジン、ピペリジン、 Bu_3SnOMe)を用いて行ったがどの場合もベンゾイル基の転移が起こり、**93**の収率はスケールをあげると40%程度と低くなってしまふことが判明した。**93**の $^1\text{H NMR}$ スペクトルでは $\alpha : \beta = 10 : 1$ とわずかではあるが β 体が存在しており、トリアセチル体**90**では α 体しか存在しなかったことを考えると、なぜ保護基をベンゾイル基に換えるとその平衡に変化が生じるのか興味を持たれる。この**90,93**に対して BuLi 、ジベンジルホスホロリダートによりリン酸化をおこなったが⁴⁴、 β -1-リン酸はほとんど得ることはできなかった。主成分として得られた α -1-リン酸の構造は $^1\text{H NMR}$ において $J_{1,2} = 3 \text{ Hz}$, $J_{1,p} = 7.9 \text{ Hz}$ であることから決定した。しかし、原料である**93**はシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる α 体を除去することにより $\alpha : \beta = 1 : 1$ にまですることが可能である。この混合物に対して同様なリン酸化を行ったところ α -1-リン酸**95 α** が31%、 β -1-リン酸**95 β** が16%得られ、満足のいく低収率ではないが β -1-リン酸を得ることができた。**95 β** の構造は $^1\text{H NMR}$ において $J_{1,2} = 8.9 \text{ Hz}$, $J_{1,p} = 8.6 \text{ Hz}$ であることから決定した。



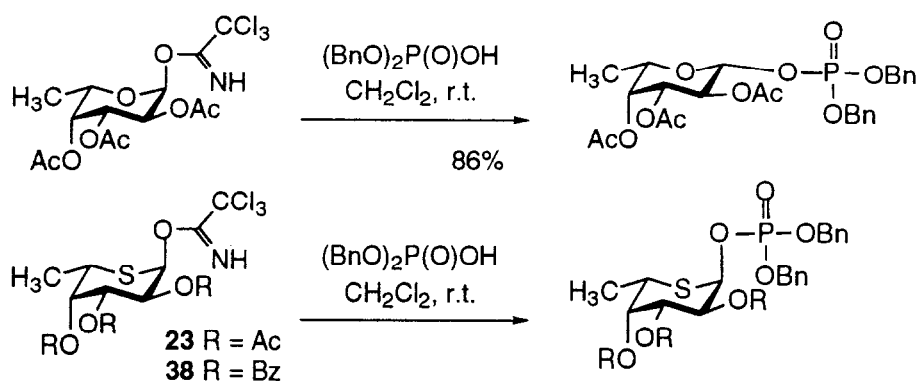
Scheme 1-7-2 1-OH誘導体に対するリン酸化反応

このように目的とする β -1-リン酸を得ることはできたが、その収率はかなり低く実用面を考えると、もっと効率の良い β -1-リン酸を得る方法の確立が必要である。

そこでつぎに、1位の脱離基に対するリン酸による置換反応、すなわち、リン酸のグリコシル化による β -1-リン酸の構築を試みることにした。

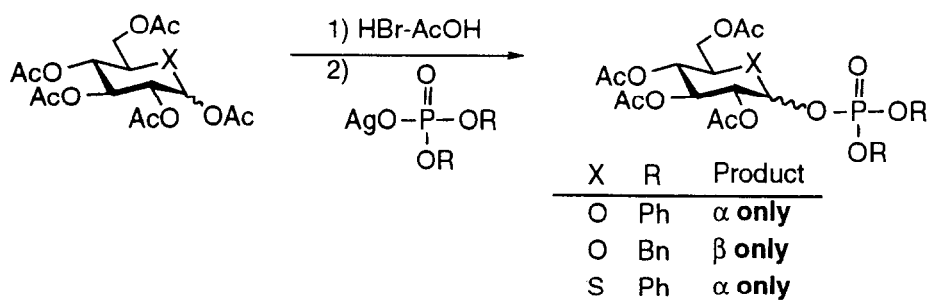
まずこれまで用いてきたトリクロロアセトイミダート**23**の利用が考えられるのでSchmidtらの方法⁴⁵を参考にジベンジルリン酸のグリコシル化を行ったが α -1-リン酸しか得られず、 β -1-リン酸は全く得られなかった。また、1-2でも使用したベンゾイル基で保

護した5-チオ-L-フコシルトリクロロイミダート**38**に対しグリコシル化を行ったところ、トリアセチル体**23**とは異なり、リン酸自身の持つ酸性度では反応が進行せず、触媒量の $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ の添加が必要である上、 α -1-リン酸しか得られなかった。これらの結果は1-2, 1-3に述べた**23**による糖の水酸基のグリコシル化において α 選択的に反応が進行したことと同様である。また、酸性条件下では例え β 体が形成していてもリン酸残基が酸の存在下容易に安定な α 体に異性化する可能性も考えられる。



Scheme 1-7-3 Schmidtらのジベンジルリン酸のグリコシル化反応の適用

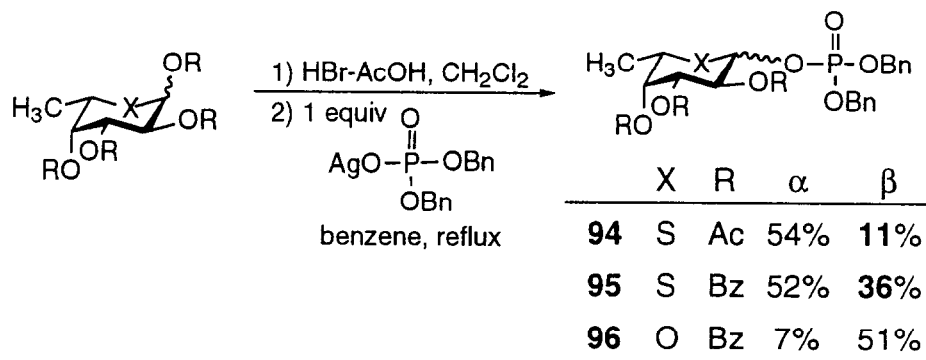
つぎに、5-チオ-L-フコシルブロミドによるリン酸のグリコシル化を試みることにした⁴⁶。この方法はかなり古典的な方法であるがリン酸の銀塩を作用させるだけで容易にグリコシルリン酸が得られる。また、リン酸の保護基がことなるだけで、すなわちジフェニル基の場合では α -1-リン酸が、ジベンジルリン酸の場合には β -1-リン酸が立体選択的に得られており非常に興味深い反応であると言える。5-チオ糖の場合でもWhistlerらが5-チオグルコシルブロミドに対してジフェニルリン酸の銀塩を作用させて α -1-リン酸が得られることを報告している⁴⁷。



Scheme 1-7-4 リン酸の銀塩を用いるグリコシル化反応

そこでこのジベンジルリン酸の銀塩を作用させれば β -1-リン酸が得られるのではないかと考えた。その結果トリアセチルブロミドに対してジベンジルリン酸の銀塩を作用させたところ、 α -1-リン酸**94 α** が54%で β -1-リン酸**94 β** が11%で得られることが分かった。またトリベンゾイルブロミドを糖供与体として用いた場合、 α -1-リン酸**95 α** が52%で

β -1-リン酸**95 β** が36%で得られ、さきの1位遊離な水酸基に対するリン酸化で得られる収率が数%であったことを考えると大幅に収率を向上させることができた。また、天然のL-フコースに対してこの方法を適用している報告はないので同様にトリベンゾイルプロミドを用いて同様の反応を行った。その結果、 α -1-リン酸**96 α** は7%で β -1-リン酸**96 β** が51%とやはり他の例と同様に β -1-リン酸が優勢に得られることが分かった。そしてこの反応においても5-チオ糖のほうが α 体が優勢に得られることがわかり、トリクロロイミダート法での α 選択性と同様な反応機構を経ていることが示唆された。

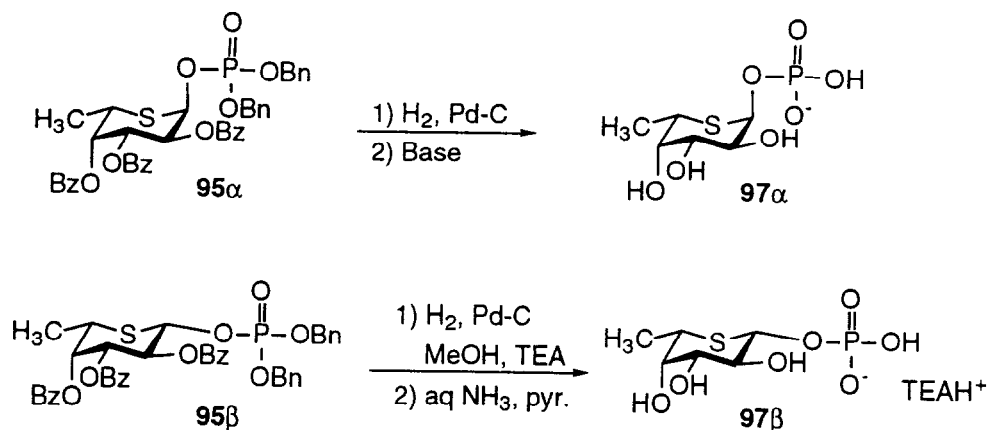


Scheme 1-7-5 5-チオフコースへの適用

このようにリン酸のグリコシル化により目的とする β -1-リン酸を得ることができたがその収率はまだ低く実用面を考えると、さらに効率良く β -1-リン酸を得る方法の確立が必要である。

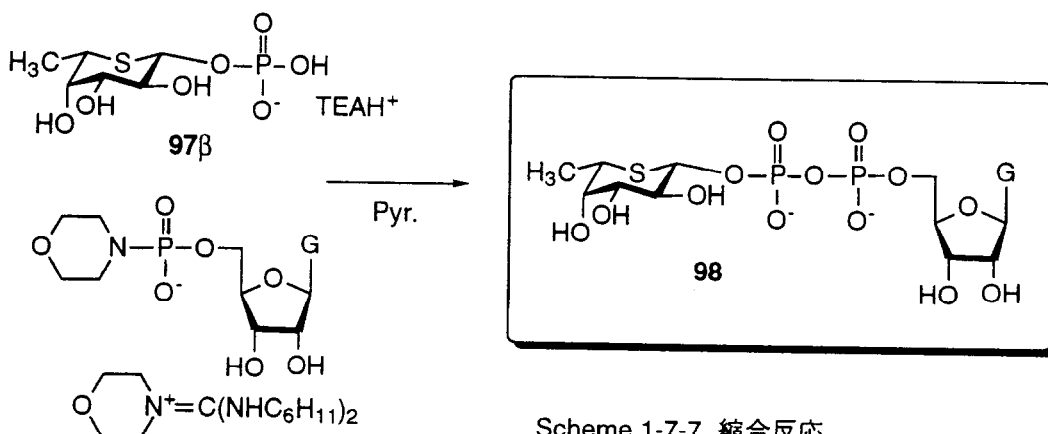
つぎに、得られた2,3,4-トリ-O-ベンゾイル-5-チオ- β -L-フコピラノシルジベンジルリン酸**95**から最終目的物であるGDP-5-チオ-L-フコースまでの誘導を行うことにした。GDP-5-チオ-L-フコースは、Fig. 1-7-1のGDP-L-フコースと同様に、5-チオ- β -L-フコシルリン酸とGMPとの縮合反応により得られると考えられる。そのために合成した**95 β** の脱保護を行うことにした。まず、**95 β** の収量が少なく貴重なことから、リン酸化の際の副生成物である**95 α** を用い脱保護の予備実験を行った。まず、Wongらの方法に従い⁴²、**95 α** をエタノール中に重曹水とPd/Cを加え接触還元を行ったところ反応はすみやかに進行し、相当する脱ベンジル体を得られた。これを単離せずに脱ベンゾイル化を水酸化ナトリウム水溶液により行ったが、得られた化合物は¹H NMRと³¹P NMRから3成分の混合物であることが分かった。そこで、脱ベンゾイル化をトリエチルアミン-メタノール-水というより穏和な条件で行ったところ、室温のままでは1週間ぐらい必要とするが、50°Cの熱をかけることにより1日でほぼ完全に反応が進行した。しかし、¹H NMRと³¹P NMRから生成物の純度があまり高くないことが分かった。そこで最終的には、ピリジン中アンモニア水の混合溶液で脱ベンゾイル化を行うことにより**97 α** を最も純度良く得た。この

ような予備実験により確立した脱保護方法を**95β**に適用したところ、イオン交換カラムによる精製の後、目的物である5-チオ-β-L-フコシルリン酸**97β**をトリエチルアミン塩として得ることができた。この**97β**は凍結乾燥してパウダー状とし、次の縮合反応に用いた。



Scheme 1-7-6 脱保護

GMPとの縮合反応は一般的にフコシルリン酸のトリエチルアンモニウム塩とピリジン溶液中で市販のGMP-モルホリデート N,N'-ジシクロヘキシル-4-モルホリンカルボキシアミニジウム塩を用いて行われるが⁴⁸、反応時間は約1週間を要し、その収率は低く20%から30%である。またその縮合物の精製にイオン交換カラムやHPLCなどを必要とし、そのこともGDP-フコースの合成を困難にしている。最近、門倉らは同様な縮合反応に重金属塩を添加することによりヌクレオチド類の溶解性を上げることに成功し、良好な収率で縮合体を得ている。これを参考にした縮合反応の検討については3章で述べる。ここでは、まず従来の方法による**97β**の縮合反応を検討した。



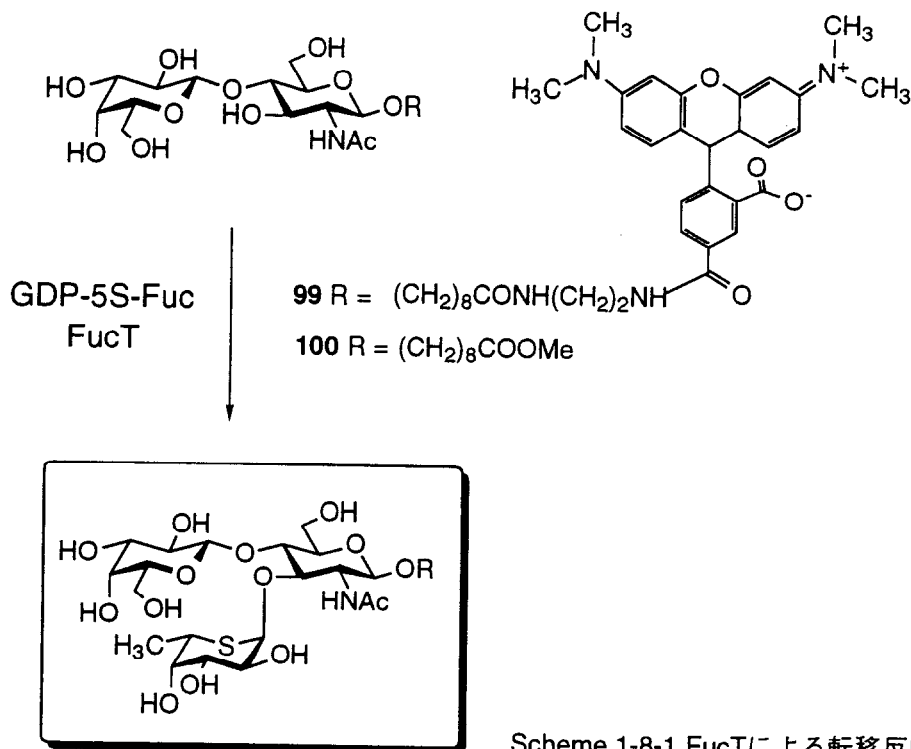
Scheme 1-7-7 縮合反応

GMP-モルホリデートの自己縮合により生じる対称ピロリン酸のGMPダイマーの生成をなるべく抑えるため、GMP-モルホリデートは1当量とした。また、GMP-モルホリデートはピリジンに対して溶解性が低い、溶けることが確認できる最小の溶媒量で反応を

行った。1週間後この反応溶液をそのまま濃縮し、 ^{31}P NMRを測定したところ10ppm付近に非対称ピロリン酸と考えられるABカルテットを観測した。生成物の精製をペーパークロマトグラフィーで行ったが目的物に相当するものは得られず、その展開溶媒であるイソプロパノール-アンモニア水-水によりピロリン酸結合が分解したと考えられる生成物のみが得られた。しかし従来法に従い、陰イオン交換カラム、ゲルろ過による精製で純粋な**98**を**95 β** から収率7%で得ることができた。**98**の構造は ^{31}P NMRで非対称ピロリン酸由来のABカルテットが観測され、また ^1H NMRでリボースの1位と5-チオ-L-フコースの1位のシグナルが確認され、その積分比が1:1であることより決定した。さらにFAB質量分析でその分子イオンピーク($m/z = 604$)を確認した。

1-8 GDP-5-チオ-L-フコースの糖転移酵素による転移反応

合成したGDP-5-チオ-L-フコースが $\alpha(1\rightarrow3)$ フコース転移酵素の基質になるかどうかの検討を行った。糖受容体には蛍光物質であるテトラメチルローダミン(TMR)がリンカーを介してLacNAc(Gal $\beta 1\rightarrow 4$ GlcNAc)に結合したTMR-LacNAc**99**を用いた⁴⁹。TMRは546nmに蛍光最大波長を持つ蛍光物質で($\epsilon = 65,000 \text{ l mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)、TLC分析においても呈色試薬を用いなくても化合物自体がピンク色を持つので簡便に高感度の反応追跡が可能である。



まず天然のGDP-L-フコースとTMR-LacNAcを用いて完全にTLC(iso-プロパノール-アンモニア水-水 7:2:1)で反応が進行していることが確認できる酵素条件で、GDP-5-チオ-L-フコースの転移反応を行った。その結果、さきの酵素転移反応で生成したと考えられる天然型三糖とほぼ同じ位置にスポットが確認できた。しかし反応は完全に進行しておらず天然のGDP-L-フコースより転移速度が遅いことが示唆された。そこで、つぎにこの反応をキャピラリー電気泳動で追跡することによりその転移反応の相対速度を求めた⁴⁹。その結果Fig. 1-8-2に示すように、天然基質を用いるときの50倍量の酵素量を用いたところ、天然のL-フコース転移量と同程度の量の5-チオ-L-フコースの転移が確認された。これらの面積比と酵素比からGDP-5-チオ-L-フコースの $\alpha(1\rightarrow3)$ フコース転移酵素による5-チオ-L-フコースの相対転移速度は2.3%であることが分かった。

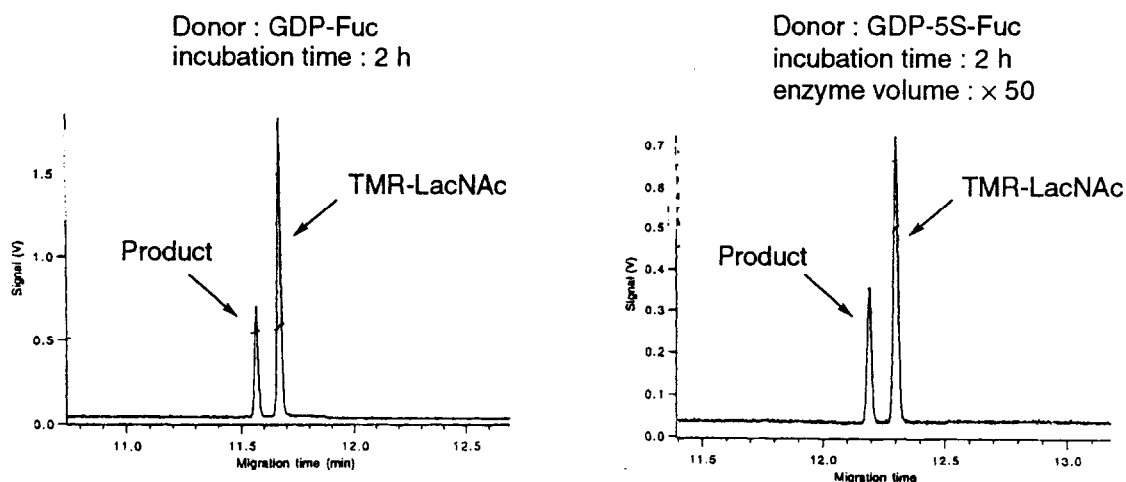


Fig. 1-8-2 キャピラリー電気泳動による酵素反応の追跡

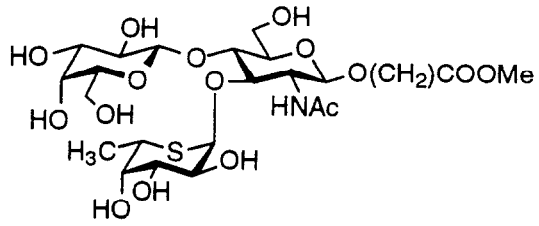
つぎにこの転移反応による生成物の構造を確認するためTMR-LacNAcのローダミン部分のない**100**を糖受容体としてTable 1-8-1に示す酵素条件で転移反応を行った。GDP-5-チオ-L-フコースは8, 24, 48時間後にそれぞれ糖受容体に対して1当量ずつ加え、37°Cで1週間インキュベートした。

Table 1-8-1 転移生成物単離のために行った酵素反応の条件

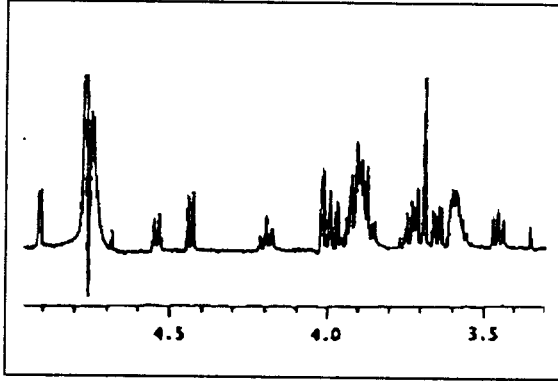
0.5 mg	LacNAc-SP100	0.9 μ mol
0.6 mg	GDP-5S-Fuc	0.9 μ mol
450 μ L	FucT	33.75 mU
50 μ L	Buffer	200 mM HEPES ,200 mM MnCl ₂ , 2% BSA

incubated in 37°C
added 0.6 mg GDP-5S-Fuc after 8h, 24h, 48h

生成物の単離は**100**のリンカーの脂溶性を利用してSep-Pakカラムに通すことで容易に行うことができる。TLC(CHCl₃-MeOH-H₂O 65-35-6)及び¹H NMRでその反応の進行を見てみると、75%程度反応は進行していることが分かったが、残りの25%の**100**は未反応であることが判明した。反応中、酵素活性の低下がほとんどないことは随時確認しているので、この転移反応率の低さは生成物阻害によるものとも考えられるが、いまのところ確かな原因は分かっていない。生成物を逆相のHPLCで精製したのち、¹H NMRの測定をした結果、確かに相当する擬似三糖が生成していることが判明した。またその結合位置は1-4で合成した擬似三糖**72**と¹H NMRが完全に一致したことから、5-チオ-L-フコースはグルコサミンの3位に α 結合していることを確認した(Fig. 1-8-3)。



Enzymatic Synthesis



Chemical Synthesis

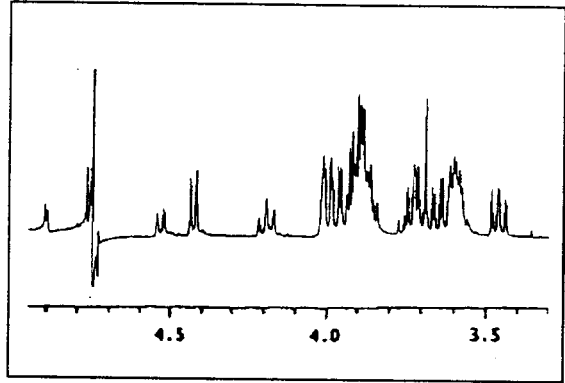


Fig. 1-8-3 三糖72の¹H NMRスペクトル

第2章 2-アミノ-2-デオキシ-5-チオ-D-アルドヘキソピラノース
を含む糖質アナログの合成

2-1 緒言

糖鎖を構成する重要な構成単糖のひとつに2位にアミノ基を有するN-アセチルグルコサミンやN-アセチルガラクトサミンなどの塩基性糖が挙げられる。さて、序論や1章で述べたように、5-チオアルドヘキソピラノース類を含むアナログは種々合成され、その生理活性も調べられているが、2-アミノ-5-チオ糖類については、その単糖の合成が報告されているだけであり、それらのグリコシル化反応やそれを含む糖鎖アナログの合成などは全く行われていない。そこで、本章では2-アミノ-2-デオキシ-5-チオアルドヘキソピラノースを含む糖質アナログの合成を行うことにした。1章で述べたように5-チオ糖類のグリコシル化反応では2位にアシル基を有する場合でも、アキシアルグリコシドが優勢に得られた。このことから2位の置換基がアミノ基に変わることにより、グリコシル化反応にどのように影響を与えるかは非常に興味もたれる。そこでまずは2位に種々の置換基を有するグリコシル供与体の合成を行い、それらを用いるグリコシル化反応を検討した。

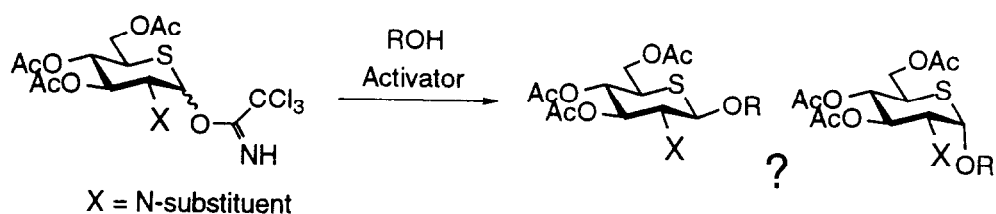


Fig. 2-1-1 2位に種々のN-置換基を有する5-チオ糖供与体のグリコシル化反応

さらに1章の結果も踏まえ、糖転移酵素による転移反応が進行するかを明らかにするため、UDP-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオガラクトースの合成も行った。

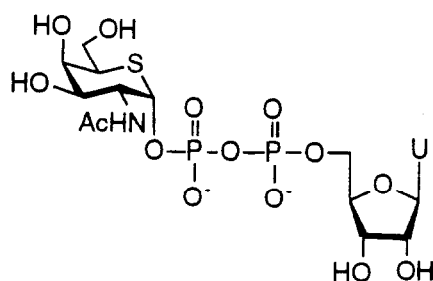


Fig. 2-1-2 UDP-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオガラクトース

2-2 2-アミノ-2-デオキシ-5-チオ-D-グルコース類のグリコシル化反応

序論で述べたように5-チオ糖のβ-グリコシドを調製することができれば、β-グリコシダーゼなどその結合の配向を厳密に認識するタンパク質に対する阻害剤としての利用が期待できる。そこで、2-アミノ-5-チオ糖のβ-選択的グリコシル化法の確立を目指すことにした。まず、合成の比較的容易な2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-グルコース(5S-GlcNAc)を選択し、そのグリコシド形成に、トリクロロアセトイミダート法の適用を検討した。イミダート法を用いる天然の2-アミノ糖のβ-グリコシド化反応はSchmidtらによりほぼ確立されており、次にあげる2つの方法が知られている(Fig. 2-2-1)⁵⁰。まず、第一の方法は2-アジド誘導体を用いるもので、触媒量のトリメチルシリルトリフルオロメタン sulfonate (TMSOTf) 存在下イミダートα/β体混合物からアセトニトリルの溶媒効果を利用してβ-グリコシドを選択的に得る方法とα-イミダートを用い非極性溶媒中S_N2反応によりβ-グリコシドのみを得る方法とがある。このとき、β-イミダートからは同様な非極性溶媒中で反応を行うとα-グリコシドが選択的に得られるので、この方法はα/βグリコシドの立体選択的な合成法として広く利用されている。第二の方法は2-フタルイミド誘導体を用い、その立体的なかさ高さを利用してβ-グリコシドのみを得る方法である。そこで5S-GlcNAcに対しても双方を適用し、β-グリコシドの構築を目指すことにした。

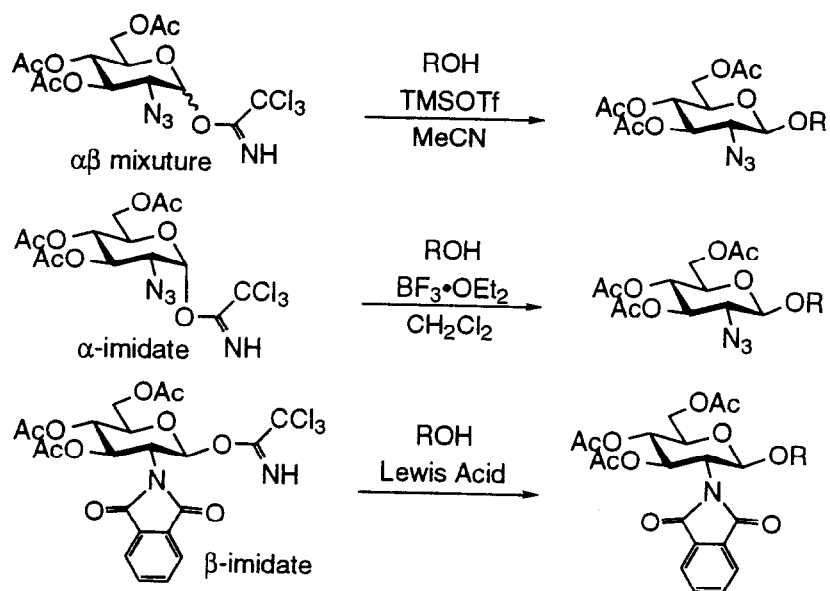
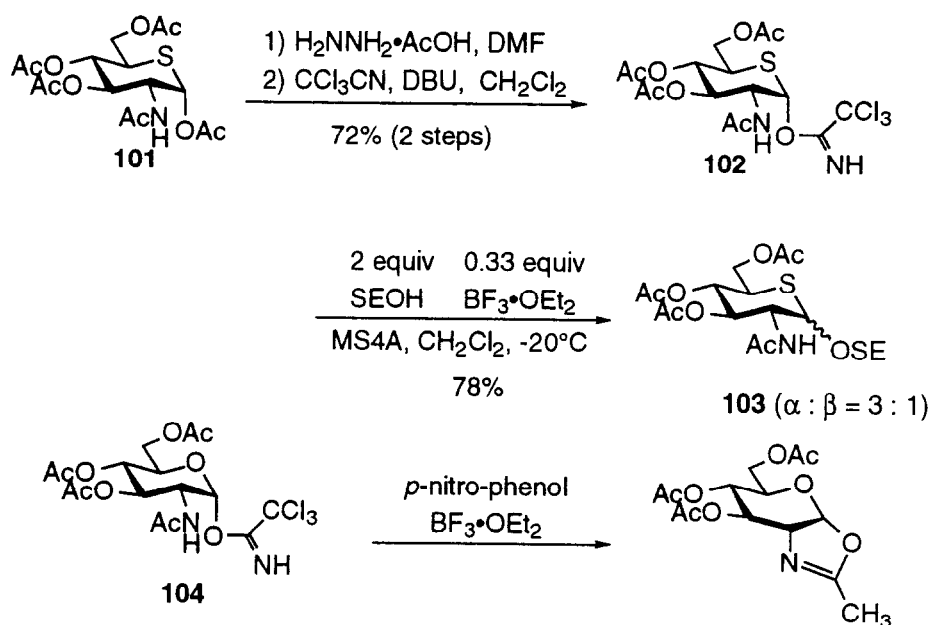


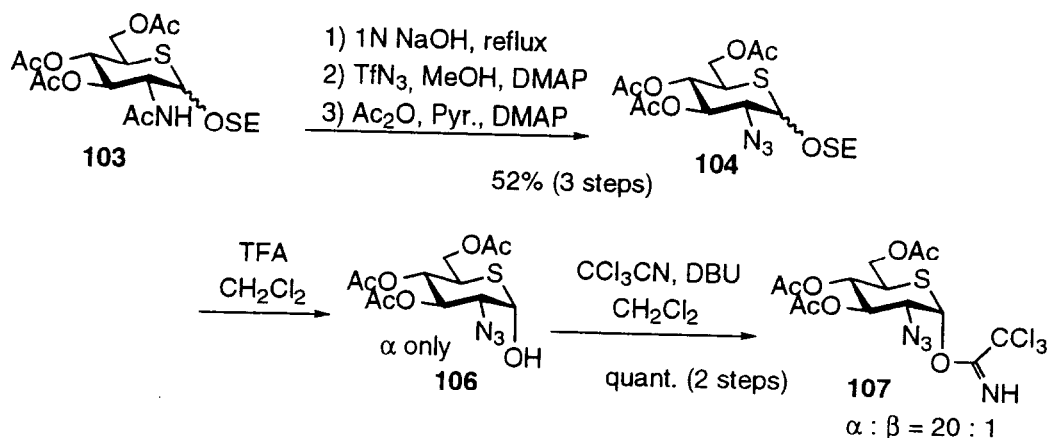
Fig. 2-2-1 イミダート法による2-アミノ-β-グリコシド形成反応

5S-GlcNAcは長谷川らの報告に従い⁵¹、グルコサミン塩酸塩から10工程でパーアセタート体**101**を調製した。この化合物のアセトアミド基をアジド基あるいはフタルイミド基に変換するためには強塩基条件下で脱N-アセチル化する必要がある。この条件下では、

遊離のヘミアセタールは分解してしまうので、まずはアルキルグリコシドを導入することにした。アグリコンとしてはその後の脱保護の容易さも考慮してトリメチルシリルエチル基(SE)を選択した。SEグリコシド調製のために合成したイミダート体**102**は α 体のみが得られ、その中間体である1-OH体もこれまでと同様に α 体としてのみ存在していた。グリコシド化では、1章と同じ条件である $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 触媒下 -20°C ですみやかに反応は進行し、SEグリコシド**103**が収率78%で得られた。このとき、そのアノマー生成比は $\alpha : \beta = 3 : 1$ であり、やはり α -グリコシドが優勢に生成した。一方、Schmidtらは**102**の環酸素誘導体に相当する**104**とp-ニトロフェノールとのグリコシル化ではオキサゾリン誘導体のみが生成することを報告している⁵²。しかし、**102**のグリコシル化ではほとんどオキサゾリンの生成は見られず、**102**は糖供与体としてオキサゾリンが生成しにくいという特徴があると考えられる。

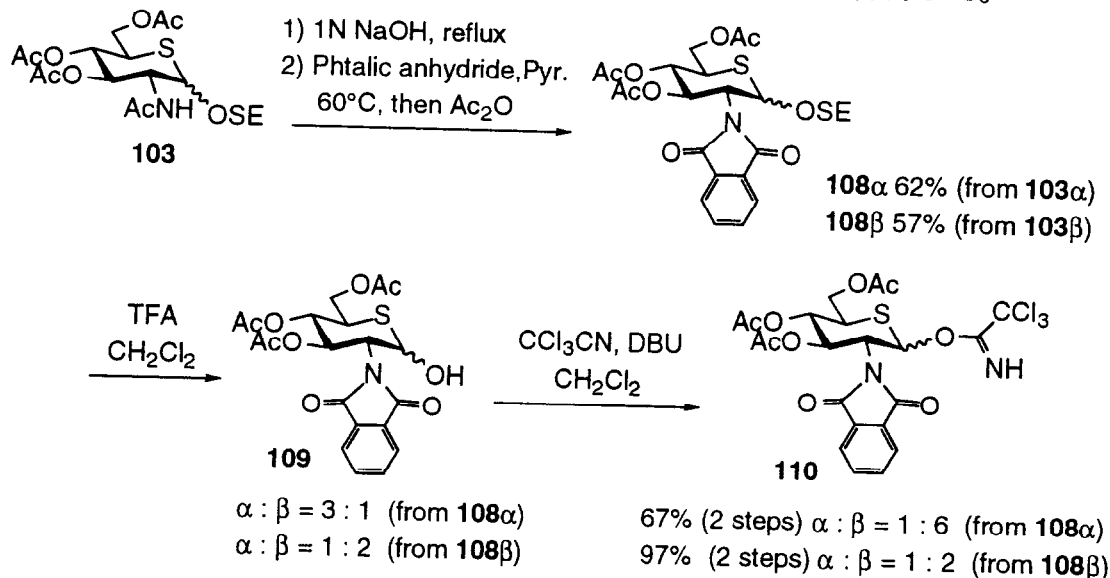


103は1N NaOH水溶液中で加熱環流することで容易に2-アミノ誘導体へと変換でき、トリフルオロメタンスルホニルアジド(TiN_3)を作用させることにより⁵³、アジド体**105**へと誘導した。**105**($\alpha : \beta = 3 : 1$)のSE基をTFAにより脱保護したところ⁵⁴、 $^1\text{H NMR}$ スペクトルでは**106**も α 体のみ存在が確認され、そのままイミダート化するとイミダート**108**が $\alpha : \beta = 20 : 1$ で得られた。



Scheme 2-2-2 アジド基を有する糖供与体の合成

同様に**103**を2-アミノ体としたのち無水フタル酸を作用させることにより⁵⁵フタルイミド体**108**へと変換した。**108**のSE基の脱保護はαβ体それぞれで行ったところ、**108**αからは**109**がα:β=3:1で、**108**βからは**109**がα:β=1:2で存在しており、**109**の変旋光が非常に遅いことが示唆された。これらはそれぞれイミダート化するとα:β=1:6, α:β=1:2とβ-イミダート**110**が優勢に得られた。これまで述べたように5-チオ糖の1-OH体ではα体が優勢に生成していたが、2位にフタルイミド基のような立体的にかさ高い置換基が存在すると、5-チオ糖においてもβ体が優位に存在し、そのイミダート体も相当する環酸素誘導体と同様にβ-イミダートが優勢に得られることが判明した。



Scheme 2-2-3 フタルイミド基を有する糖供与体の合成

このようにして得られた3種類の糖供与体を用いて1章1-4に述べた糖受容体1,6アンヒドロ誘導体**57**のグリコシル化反応を行った結果をTable 2-2-1に示す。

まず、2-アセトアミド誘導体**102**を用いてさきのSEOHとのグリコシル化と同じ条件で反応を行った。その結果、二糖**111**がα選択的に収率45%、オキサゾリン誘導体**112**が

39%で得られた(Entry 1)。そこで、**102**を用いてβ-グリコシドを得るための条件を検討した。TMSOTfをルイス酸に、アセトニトリルを溶媒に用いた場合にはいずれもオキサゾリンが優勢に得られ、二糖は得られたが低収率でありα体のみが選択的に得られた(Entry 2-4)。次に、2-アジド誘導体**107**を用いて、ジクロロメタン中BF₃•OEt₂触媒下で反応を行ったところ、二糖**112**がα:β = 6:1で得られ、相当する環酸素誘導体での反応のようにβ-グリコシドを選択的に得ることはできず、その反応機構の違いが示唆された(Entry 5)。さらにTMSOTf, アセトニトリルの組み合わせでも反応は行ったが、予期に反し二糖は全く生成せず、N-グリコシルアセトアミド**114**が得られた(Entry 6)。これは溶媒であるアセトニトリルが付加したものと考えられる。最後に、2-フタルイミド誘導体**110**のグリコシル化も同様の条件で行ったところ、反応はすみやかに進行し目的とするβ体である**115**のみが収率62%で得られることが分かった(Entry 7)。これにより5-チオアルドース類として初めてβ-グリコシドの立体選択的な化学合成に成功した。以上の結果から、2-アミノ-5-チオ糖のグリコシド化反応にはこれまでと同様にトリクロロアセトイミダート法が有効であることが分かり、2-フタルイミド誘導体を用いることによりβ-グリコシドを選択的に得られることが判明した。

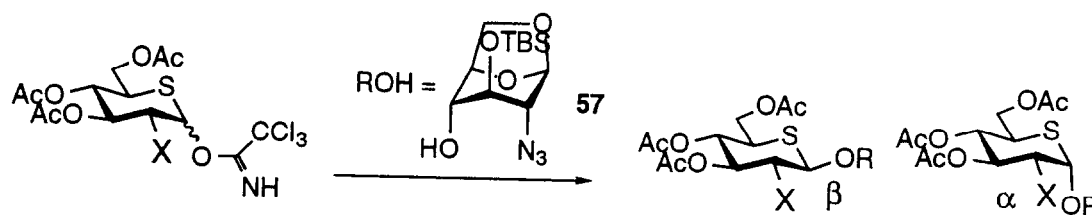
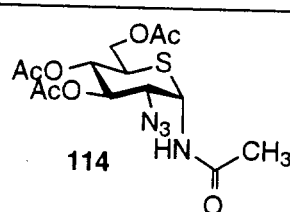
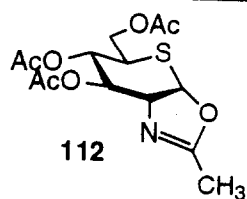


Table 2-2-1 2-アミノ-5-チオ誘導体のグリコシル化反応

111, 113, 115

Entry	X (α/β)	ROH(eq.)	Lewis acid (eq.)	Solvent	Temp.	Product (yield)
1	102 NHAc (1/0)	1.5	BF ₃ •OEt ₂ (0.3)	CH ₂ Cl ₂	-20 °C	111 α (45%), 112 (39%)
2		2.0	TMSOTf (0.2)	CH ₃ CN	-40 °C	112 (31%)
3		1.5	BF ₃ •OEt ₂ (0.3)	CH ₃ CN	-20 °C	111 α (25%), 112 (56%)
4		1.5	TMSOTf (0.2)	CH ₂ Cl ₂	-40 °C	111 α (27%), 112 (57%)
5	107 N ₃ (1/0)	1.5	BF ₃ •OEt ₂ (0.3)	CH ₂ Cl ₂	-20 °C	113 α/β = 6/1 (74%)
6		2.0	TMSOTf (0.2)	CH ₃ CN	-40 °C	114 N-glycoside (25%)
7	110 NPht (1/5)	1.5	BF ₃ •OEt ₂ (0.3)	CH ₂ Cl ₂	-20 °C	115 β (62%)



2-3 UDP-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-ガラクトースの合成

2-2の結果から、化学的手法により2-アミノ-5-チオアルドピラノース類の立体選択的なグリコシル化が可能であろうという見通しを立てることができた。つぎに、2-アミノ-5-チオアルドピラノース類の糖転移酵素による糖鎖合成を試みることにした。

$\beta(1\rightarrow4)$ ガラクトース転移酵素(GalT: EC 2.4.1.38)は α -ラクトアルブミン(α -LA)が存在するとラクトース合成酵素(EC 2.4.1.22)として機能し、ガラクトースをUDP-Galからグルコースに転移し、ラクトースを産生することが知られている⁵⁶。ところが、最近、このラクトース合成酵素がN-アセチルガラクトサミン転移酵素(GalNAcT)としても機能することがCummingsらにより明らかとされた⁵⁷。すなわち、GalTに α -LAを加えると、N-アセチルガラクトサミンがUDP-GalNAcからN-アセチルグルコサミンに容易に転移しGalNAc $\beta(1\rightarrow4)$ GlcNAcが生成することが分かった。

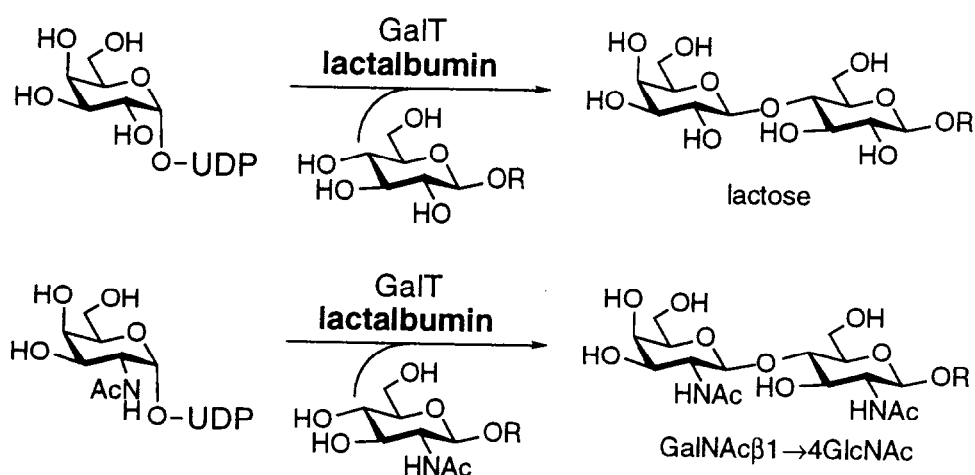
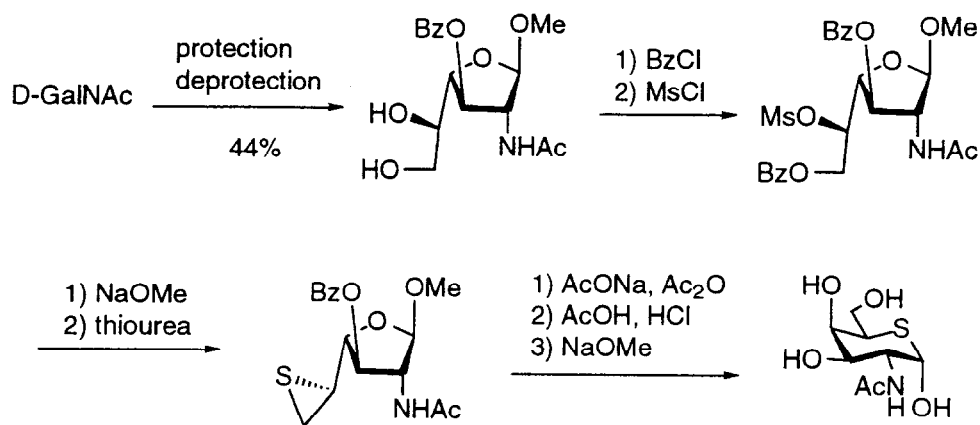


Fig. 2-3-1 ラクトース合成酵素による転移反応

そこで、このラクトース合成酵素の糖供与体となると考えられるUDP-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-ガラクトース(UDP-5SGalNAc)を合成することにした。

5SGalNAcの合成は、多くの5-チオアルドヘキソピラノースの合成に用いられているフラノースの5,6-エピスルフィド誘導体を経由するルートで長谷川らにより報告されている(Scheme 2-3-1)⁵⁸。しかし、原料であるGalNAcは高価であること、1工程目のイソプロピリデン化の収率が悪いなどから改良の余地が残されている。



Scheme 2-3-1 長谷川らによる5SGAINAcの合成

最近、当研究室で新しい5-チオ糖合成法が開発された¹⁴。この手法はピラノース環の開環反応を行い1位に硫黄原子を導入しておき、後で1位硫黄原子と5-位炭素原子間で分子内求核置換反応により再環化を行う方法である。ゆえに、この開環-再開環法を用いて5SGalNAcを効率的に合成することを目指した。

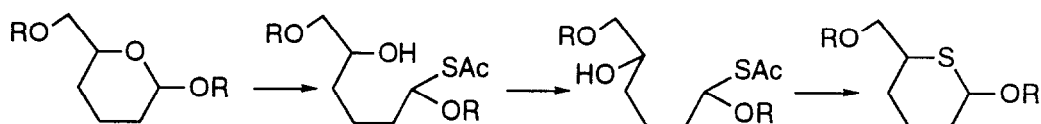
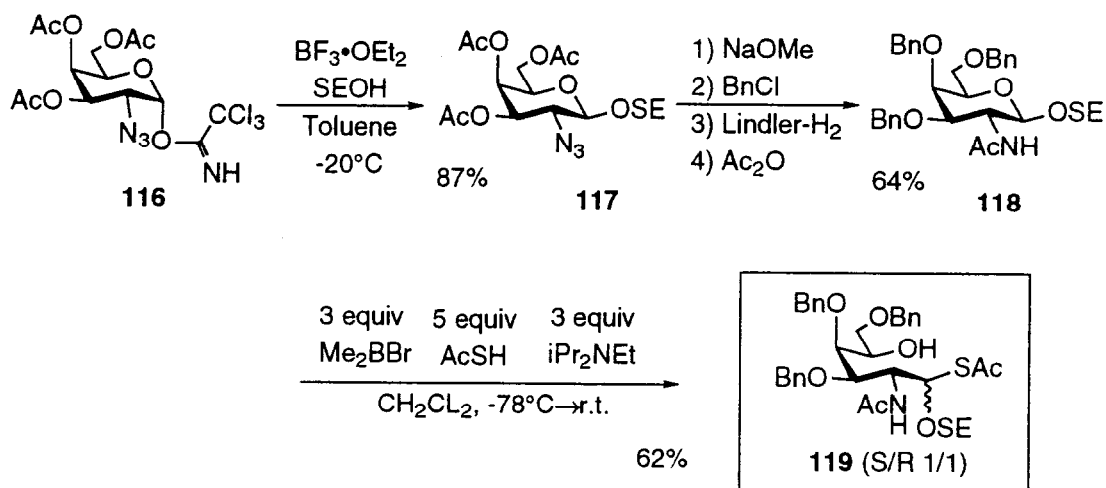


Fig. 2-3-2 開環-再開環法による5-チオ糖の合成

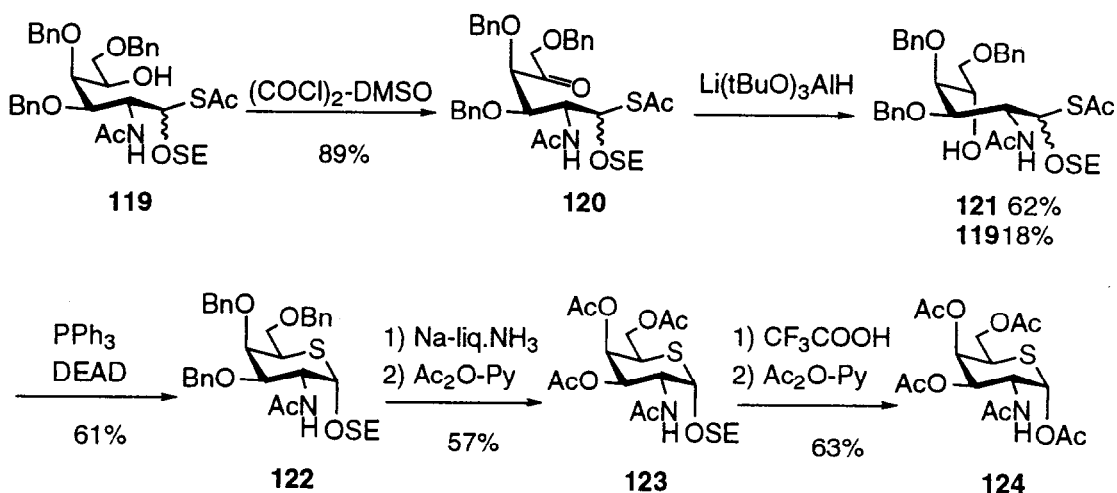
ガラクトースを出発原料とし、アジドナイトレーションを経て常法により収率良くイミデート**116**⁵⁹を得ることができる。その後の脱保護の容易さを考えてトリメチルシリルエタノール(SEOH)によるグリコシド化反応を行い**117**を得た。アセチル基をベンジル基に変換し、アジド基をLindler触媒で還元した後アセチル化して**118**へと誘導した。

118に対するジメチルボロンブロミドとチオ酢酸による開環反応は-45°Cですみやかに進行し開環生成物**119**が収率62%で得られた。これは2-OBnや2-N₃であるガラクトース誘導体に対してはほとんど開環生成物が得られないことと比べて対照的であり、2-アセトアミド基がこの開環反応に有利に作用することが示唆された。



Scheme 2-3-2 GalNAc誘導体の合成と開環反応

この後の5SGalNAcまでの誘導は当研究室で開発された手法に従った⁵。すなわち、**119**の遊離な水酸基をSwern酸化しウロース**120**とした後、 $\text{Li}(\text{tBuO})_3\text{AlH}$ により還元を行い、L-アルトロ誘導体**121**を得た。このとき立体異性体**119**も生成し、ジアステレオマー過剰率(d.e.)は55%であった。5-チオグルコース合成におけるd.e.は92%と高い選択性を示しており、河西はこれをFelkin-Anhモデルで説明している(Fig. 2-3-3)。



Scheme 2-3-3 5SGalNAcへの誘導

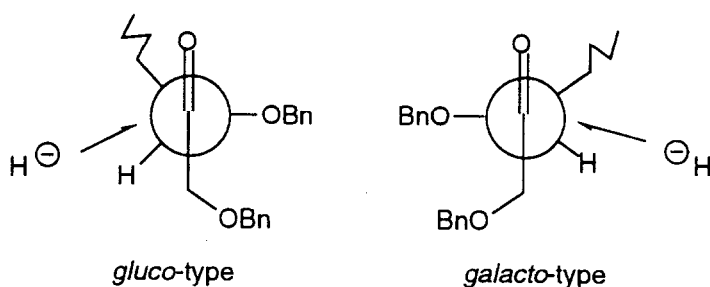
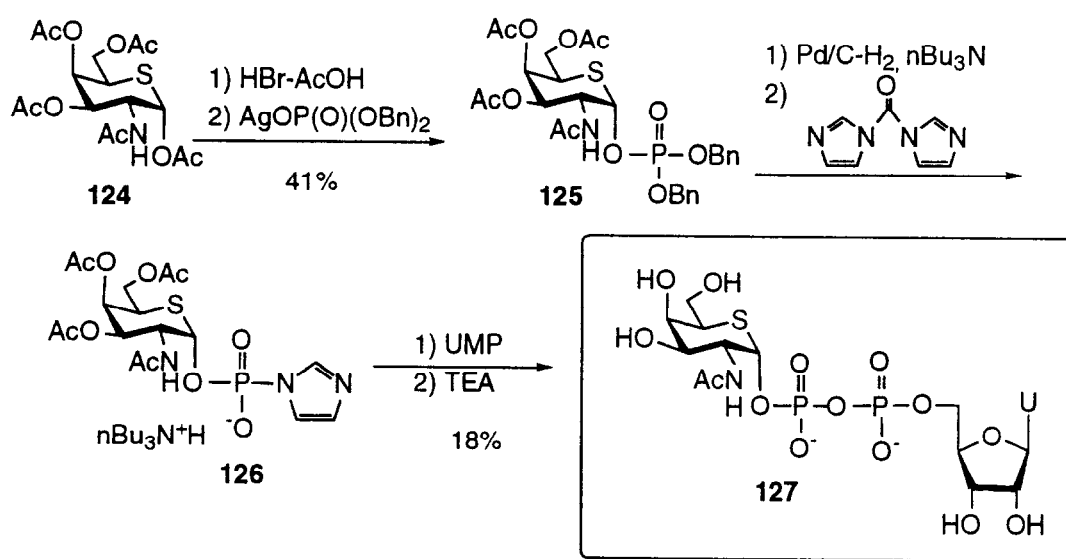


Fig. 2-3-3 5-ウロースの還元立体選択性に対する Felkin-Anhモデルによる予測

このモデルに従うと、ガラクト型ウロース**120**の還元ではグルコ型ウロースのものとはほぼ完全に逆の立体選択性を与える結果にならない。しかし、実際は少し劣るものの同様の選択性を示しており、この選択性を決定する要因が4位以外の立体配置にあることを表している。**121**に対してトリフェニルホスフィンを作用させて環化反応を行い、5SGalNAcのベンジル誘導体**122**とした。**122**のベンジル基をBirch還元で除去し、アセチル化することにより**123**とし、SE基をTFAで除去した後にアセチル化してパーアセチル誘導体**124**を得ることができた。

124に対するリン酸化反応は1章のジベンジルリン酸の銀塩による方法を用いた。その結果、予想通り目的とする α -1-リン酸体**125**のみが収率41%で得られた。この際 β -1-リン酸体の生成は観察されなかった。この後のUDP-5SGalNAcまでの誘導も常法に従った。すなわち、**125**のリン酸のベンジル基を接触水素化により除去した後、カルボニルイミダゾールにより活性リン酸エステルであるイミダゾリデート**126**へと導いた。これをUMPと縮合させた後、塩基で脱アセチル化し、陽イオン交換カラム、ゲルろ過カラムをへて目的とするUDP-5SGalNAc**127**へと誘導できた。



2-4 UDP-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-ガラクトースの糖転移酵素による転移反応

合成したUDP-5S-GalNAcがラクトース合成酵素(GalT+ α -LA)の基質になるかどうかの検討を行った。まず、糖受容体として1章1-8で用いたTMR-LacNAcのガラクトース残基を除去したTMR-GlcNAc**128**を用い、TLCで反応の追跡を行うことにした。

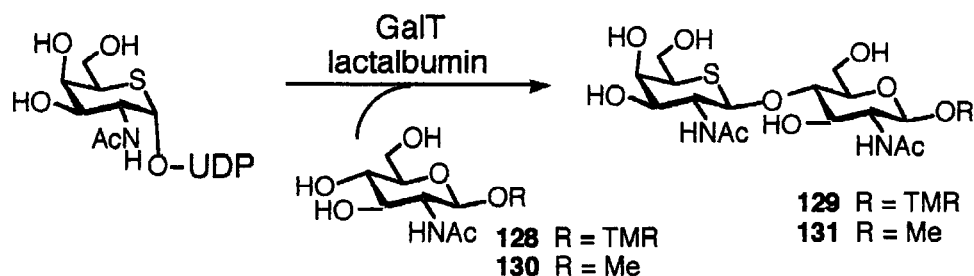


Fig. 2-4-1 ラクトース合成酵素による転移反応

その結果、Fig. 2-4-2に示すように天然のUDP-GalNAcを用いた場合、0、0.67、4時間と時間を追うごとに原料であるTMR-GlcNAcのスポット(Rf 0.49)が減少していき二糖のスポット(Rf 0.33)が増加していく様子が窺える。一方、UDP-5S-GalNAcを用いた場合、これと同じ酵素反応条件では反応が非常に遅く、4時間後でも辛うじて二糖**129**に相当するスポット(Rf 0.35)が観察できる程度であった。そこで酵素量を10倍にしたところ、ほぼ1日放置することにより約30%は二糖に変換されていることが観察された。

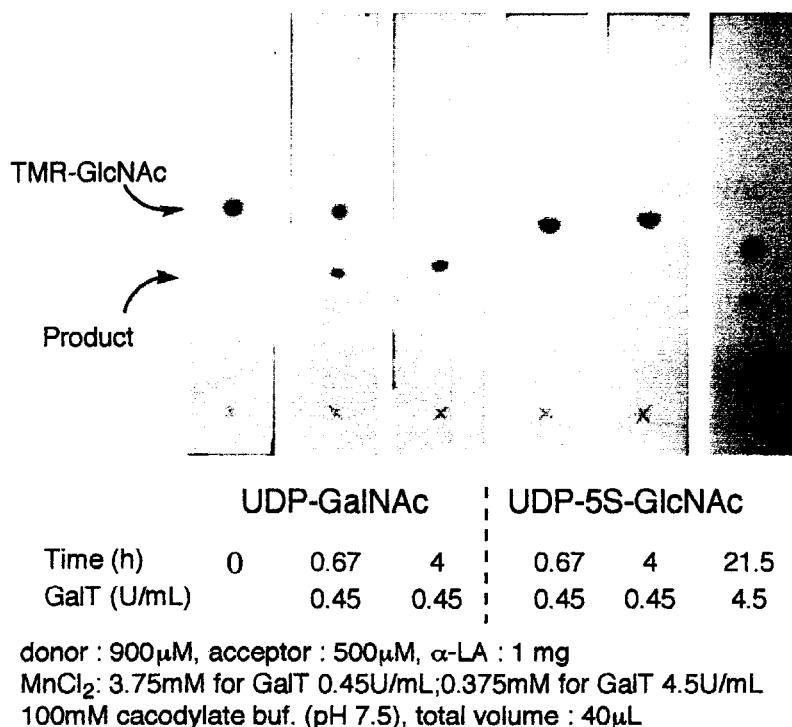


Fig. 2-4-2 TLCによる反応の追跡

そこでつぎに相対反応速度を求めるためにHPLCにより反応を追跡することにした。UDP-5S-GalNAcを用いる反応ではUDP-GalNAcを用いる反応よりも30倍の酵素量を用いた。Fig. 2-4-3に示すように転移生成物である擬似二糖と考えられるピークが確認され、その受容体**128**に対する生成比から求めた転移率を経時的にプロットした(Fig. 2-4-4)。

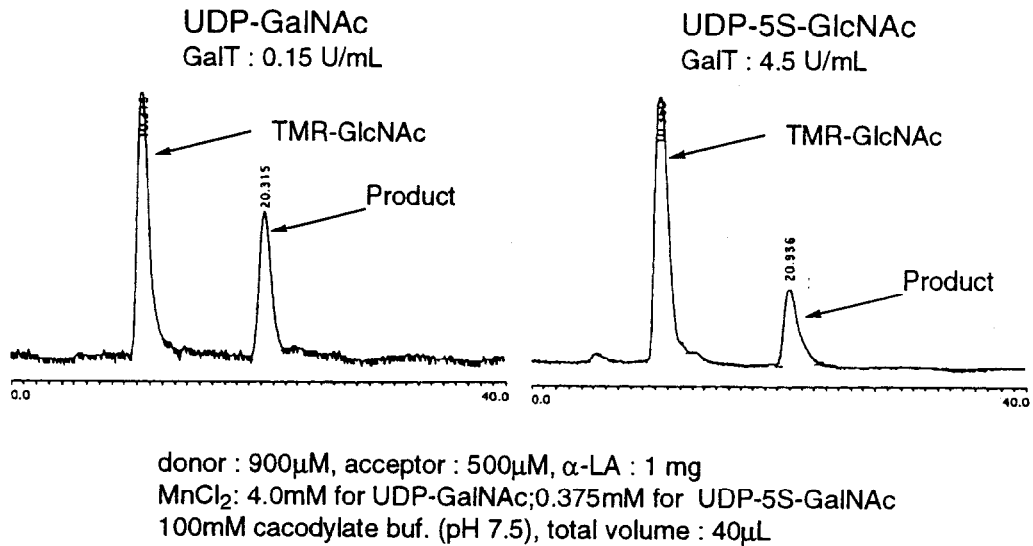


Fig. 2-4-3 HPLCによる反応の追跡

その結果、反応の初期段階ではほぼ直線的に生成物が増加していることが分かり、また、UDP-5S-GalNAcでは反応の減速が大きく、酵素の失活やUDP-5S-GalNAcの分解が起きていることが示唆された。この結果をもとに酵素濃度比の違いを考慮に入れて初速度を計算するとUDP-5S-GalNAcのUDP-GalNAcに対する相対反応速度は0.23%であることが分かった。

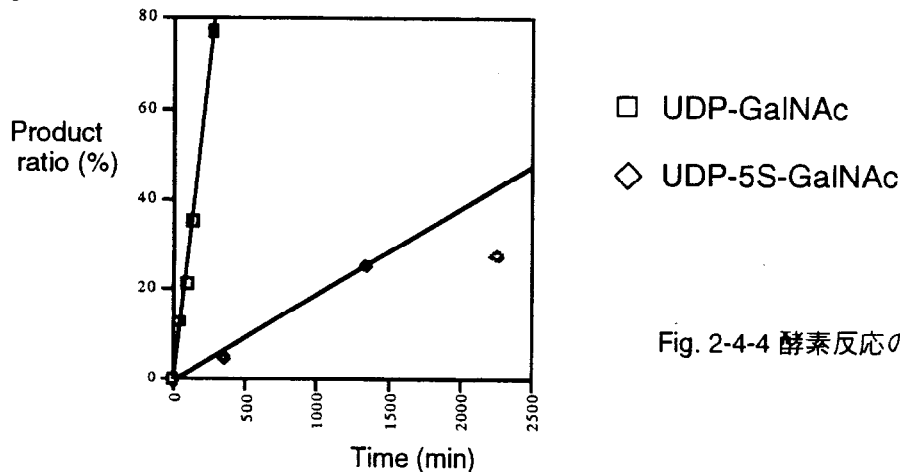


Fig. 2-4-4 酵素反応の速度比

つぎに、この転移反応の生成物を単離し、その構造を¹H NMRにより確認することにした。これまでの反応条件(GalT 4.5 U/mL)で反応時間を長くして種々(Bn, Me, オクチルなど)のグリコシドを有するGlcNAcを糖受容体として酵素反応を行ったが、時間とともにUDP-5S-GalNAcの分解が多く観察され、生成物を単離することはできなかった。TLC,

HPLCを用いたの追跡結果から分かるように、UDP-5S-GalNAcからの5S-GalNAcの転移速度は非常に遅い。そこで糖受容体として**130**を用い、Table 2-4-1に示した非常に高濃度の条件下で反応を行うことにした。

table 2-4-1 転移生成物単離のために行った酵素反応条件

UDP-5S-GalNAc	217 mM	4.8 mg + 1.0 mg
Me β -GlcNAc 130	145 mM	1.0 mg
GalT		2.5 U + 2.5 U
α -lactalbumin		1.0 mg
alkaline phosphatase		50 U
100 mM Na cacodylate buf (pH 7.5)		50 μ L

incubated at 37°C

TLC(CHCl_3 -MeOH- H_2O , 65:35:1)で反応を追跡したところ22時間後に生成物が観察されたが、やはりUDP-5S-GalNAcの分解も観察された。そこで、さらにUDP-5S-GalNAcとGalTを加え、そのまま1週間インキュベートした。TLCでは反応の進行は5,6割程度であったが、反応混合物をそのまま凍結乾燥し、残さをシリカゲルカラムで精製した。その ^1H NMRとFAB Mass質量分析の測定により、擬似二糖**131**の生成を確認した後、精製し単離収率47%で**131**を得た。 ^1H NMRの結合定数から擬似二糖**131**の5S-GalNAcのグリコシド結合は β 結合であり、差NOEスペクトルからその結合位置はGlcNAcの4位であることも確認した(Fig. 2-4-5)。

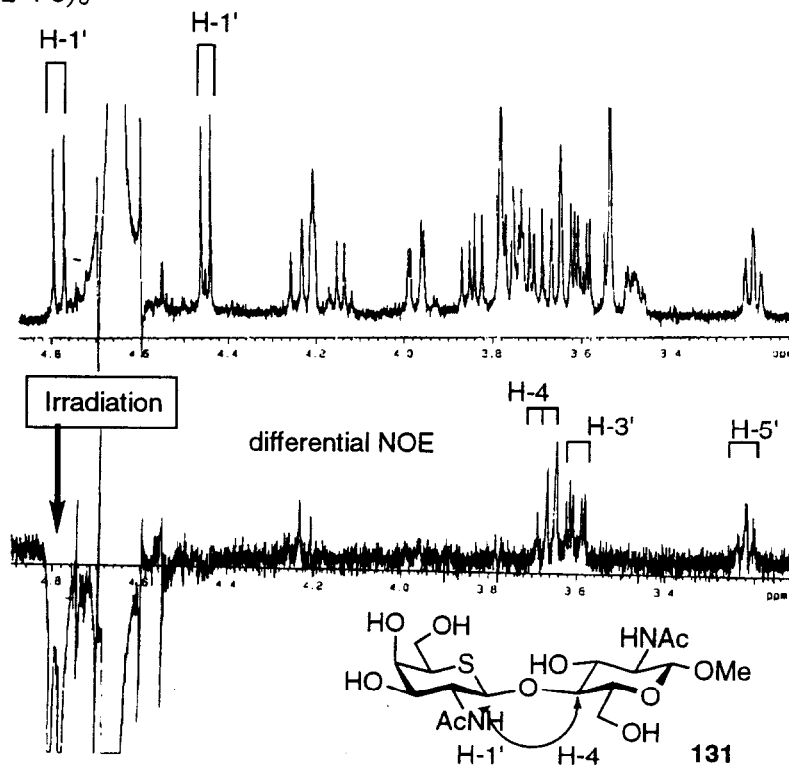


Fig. 2-4-5 擬似二糖**131**の ^1H NMRスペクトル

第3章 5-チオ-D-マンノースを含む糖質アナログの合成と それらの生化学的性質

3-1 緒言

グリコシド酸素原子を炭素原子(メチレン)で置換した、いわゆるC-グリコシドと総称される糖誘導体は、加水分解酵素により分解されないアナログとしてはもちろんのこと、ポリエーテルなどの天然物にも含まれており、数多くのC-グリコシド誘導体が合成されている。また、序論で述べたように、最近岸らによりC-グリコシド型のH Type II三糖が合成され、これが相当する天然型オリゴ糖と同様なコンフォメーションをとることが示された(Fig. 3-1-1)¹²。メチレン型のC-グリコシドは、¹H NMRにおけるメチレン水素原子の結合定数から、コンホメーションを容易に解析できるという特徴を持つ。

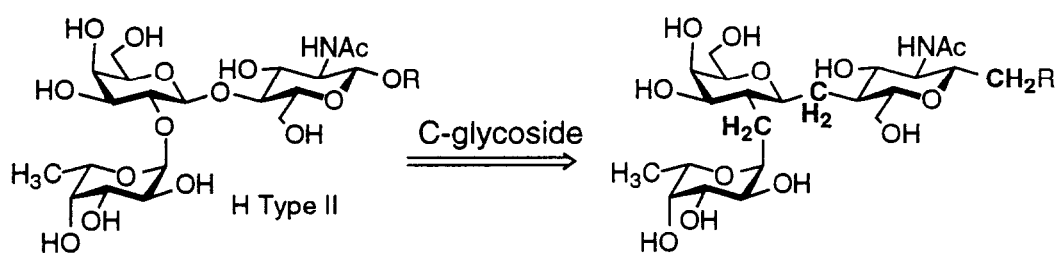


Fig. 3-1-1 C-グリコシド型H Type IIアナログ

そこで、本章では新しい5-チオ糖アナログとしてC-グリコシド型アナログを考え、それらの生理活性とコンホメーションの関係を明らかにすることを目指して、C-グリコシド型擬似オリゴ糖の合成を行うことにした。1章の結果から5-チオフコースのC-グリコシド型の擬似オリゴ糖が合成できれば、すでに求められているグリコシド酸素アナログの生理活性や立体配座解析との比較ができると考えられるが、5-チオフコースの合成は工程数が多く原料供給が問題となると考えられた。

そこで、最近、本研究室で5-チオ-D-マンノースを含む種々の擬似オリゴ糖が合成され、それらの生理活性が調べられたことにも着目し⁶⁰、5-チオ糖として比較的合成が容易な5-チオ-D-マンノースを選択し、合成の検討を行うことにした。

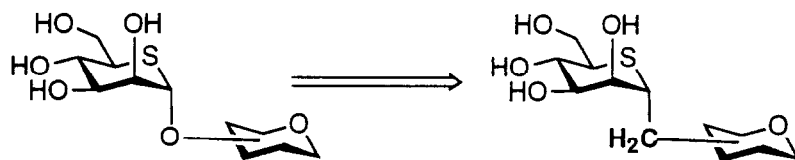


Fig. 3-1-2 C-グリコシド型5-チオ-D-マンノース含有アナログの合成

また、1章、2章の結果から、5-チオ-D-マンノースの糖転移酵素による転移反応にも興味を持たれる。そこで同様にGDP-5-チオ-D-マンノースを合成し、マンノース転移酵素に対する挙動も調べた。

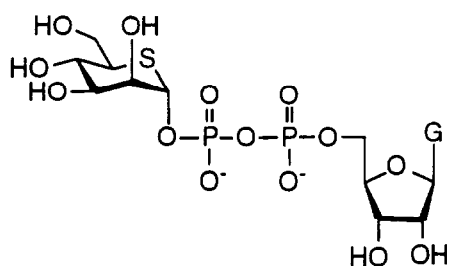


Fig. 3-1-3 GDP-5-チオ-D-マンノース

3-2 C-アリル-5-チオ-D-マンノシドの立体配座解析

糖のグリコシド結合回りのコンホメーションはFig. 3-2-1の3種について考えてみると、立体的因子(I-A > I-B > I-C)とエキソアノマー効果と言われる立体電子的因子(I-A = I-C > I-B)から、I-Aの配座がもっともとりやすいと考えられている。さて、グリコシド酸素原子をメチレン(-CH₂-)に変換したC-グリコシド誘導体は、その立体電子的な安定化はなくなり、グリコシド結合回りの立体配座は立体的因子によってのみ規定されると考えられる。そして、岸らはC-グルコシド誘導体を用いて¹H NMR測定を行ったところ、ピラノース環のコンホメーションはグリコシド酸素誘導体と同じいす型であることが分かり、グリコシド結合回りのコンホメーションも、さきのI-Aと同様なII-Aの配座が優勢であることが示された⁶¹。そこでまず、構造解析の容易であるC-アリル-D-マンノシドとC-アリル-5-チオ-D-マンノシドを用いて、それらのピラノース環とグリコシド結合回りの立体配座を求め、比較することにした。

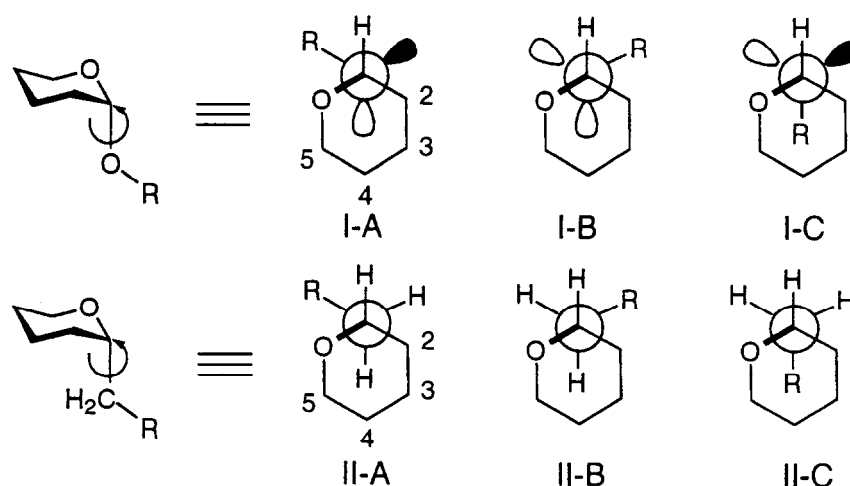
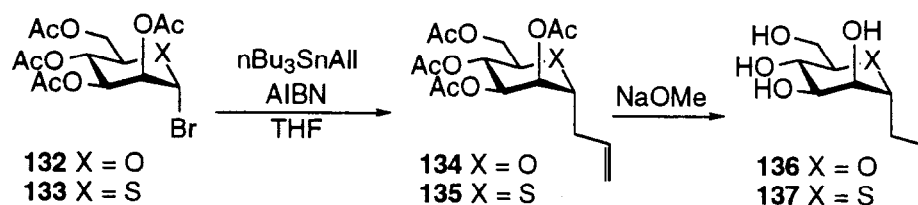


Fig. 3-2-1 グリコシド結合軸回りの二面角

必要となるC-アリルマンノシド誘導体は相当するアセタート体に対してアリルトリブチルスズを作用させることにより得た⁶²。



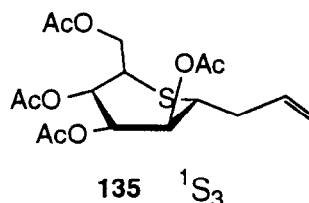
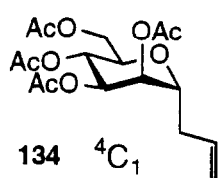
Scheme 3-2-1 C-アリルグリコシドの合成

まず、Table 3-2-1にそれらの環プロトンの結合定数とそれから改良Karplus式⁶³を用いて求めた各二面角の角度を示す。この値からピラノース環の立体配座を求めると、**134**では⁴C₁いす型立体配座が主成分であることが支持された。一方、興味深いことに**134**の硫黄原子類似体である**135**は**134**と顕著に異なる二面角を持ち、¹S₃ねじれボート型であることが支持された。さらに、**134**と**135**の脱保護体である**136**と**137**は共に⁴C₁いす型構造を主成分とすることが支持された。¹S₃型立体配座では2位のアセトキシ基と6位のアセトキシメチル基がイソクリナル方向、1位のC-グリコシドと3,4位のアセトキシ基が擬似エカトリアル方向を向いているため1,3-ジアキシャル相互作用は⁴C₁型に比べて弱められているものと考えられる。**135**は⁴C₁をとると2位のアセトキシ基を環硫黄原子の間に大きな1,3-ジアキシャル反発があるため¹S₃をとることでこれを逃れていると考えられる。この1,3-ジアキシャル反発はアセチル基を除くと緩和されるため**137**は⁴C₁をとれるものと考えられる。

Table 3-2-1 ピラノース環の結合定数と二面角

angle	134 ^a		135 ^a		136 ^b		137 ^b	
	J (Hz)	φ	J (Hz)	φ	J (Hz)	φ	J (Hz)	φ
1,2	3.1	53	7.8	151	2.0	64	4.3	54
2,3	3.2	53	2.7	57	3.5	50	2.9	55
3,4	8.9	169	6.6	154	9.2	174	9.2	178
4,5	8.2	155	6.9	145	9.3	167	9.2	160

^a CDCl₃. ^b D₂O.



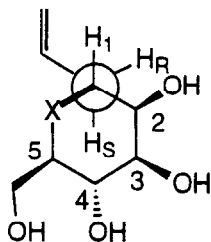
つぎに、Table 3-2-2にグリコシド結合回りのプロトンの結合定数を示す。その結果、グルコース誘導体**138**ではII-Aの構造を示唆する結合定数(J = 3.1, 11.2 Hz)であると報告されている⁶¹のに対して、4種のC-アリルマンノシド誘導体ともJ = 6.0, 9.0 Hz付近であり、これらがII-Aに相当する配座だけではないことが示唆された。これは2-デオキシグルコシド誘導体**139**のそれと近い値であり、これは2位の置換基を除去したことによりII-Bで考えられる2位とグリコシドとの立体反発が軽減したことにより、II-Aに加えてII-Bの寄与が大きくなったためと報告されている。C-アリルマンノシド誘導体においても1,2位がトランスジアキシャルであるためIIBでの立体反発は考えられないので、同様な結合定数を示したものと考えられる。また、Table 3-2-2に示すようなNOEが観測されたことか

らもこのII-AとII-Bの平衡であることが示唆された。いずれにせよ、C-アリル-D-マンノシドとC-アリル-5-チオ-D-マンノシドのグリコシド結合回りの立体配座に顕著な差がないことが分かった。

Table 3-2-2 グリコシド結合軸回りの結合定数と差NOEデータ

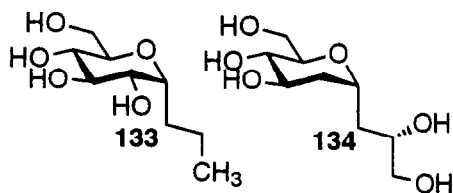
	$J_{1,HR}$ or $J_{1,HS}$ (Hz)	
134^a	9.2	6.1
135^a	8.1	5.6
136^b	9.5	6.0
137^b	9.2	6.0
138^b	11.4	3.1
139^b	8.7	5.7

^a CDCl₃. ^b D₂O.



136			137		
	lrr	NOE	lrr	NOE	
		H1 m		H1	s
H _R		H2 m	H _R	H2	s
		H3 m		H3	s
		H5 w		H5	m
H _S		H3 s	H _S	H3	s
		H5 m		H5	s
				H1	m

s; strong, m; medium, w; weak
in D₂O, 25°C



3-3 C-グリコシド型5-チオ-D-マンノース含有擬似マンノトリオースの合成

つぎに、5-チオマンノースを含むC-グリコシド型擬似オリゴ糖の合成を行うことにした。3-1で述べたように、最近、湯浅らによりマンノトリオースを認識するコンカナバリンAの認識機構を探る道具として、5-チオ-D-マンノース含む擬似オリゴ糖が合成されている⁶⁰。そこで、ターゲットとして、それらの生理活性や構造との比較ができるものと考え、Fig. 3-3-1に示すようなC-グリコシド型擬似マンノトリオースの環酸素原子アナログと環硫黄原子アナログの2種を合成することにした。

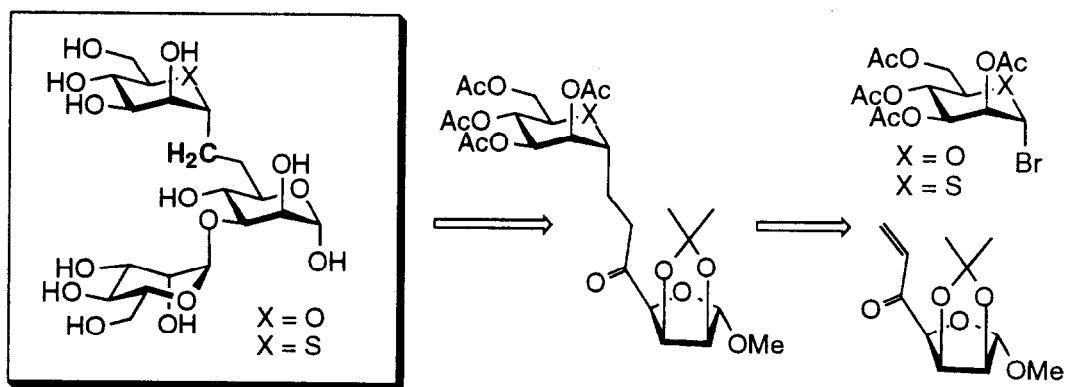
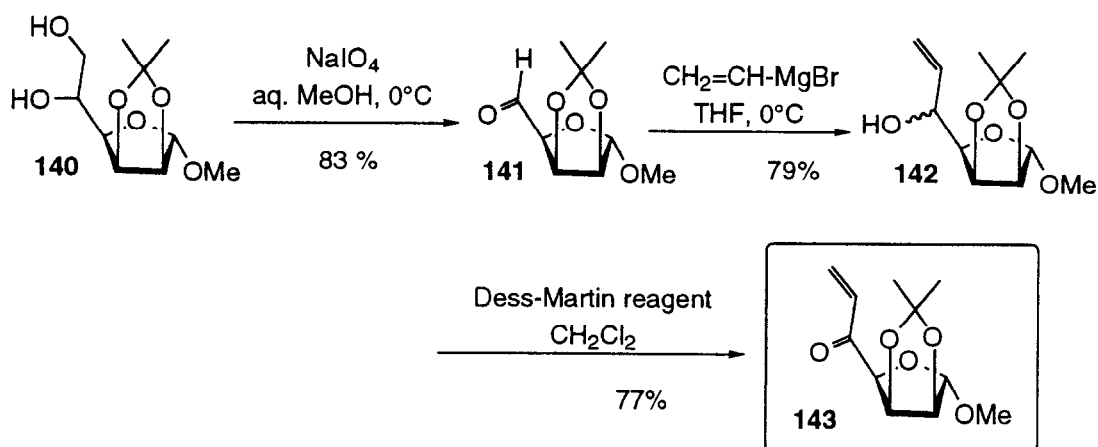


Fig. 3-3-1 C-グリコシド型オリゴマンノトリオースの合成

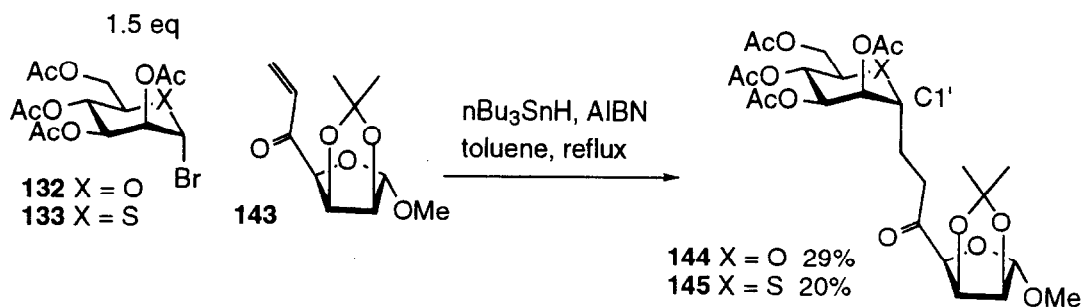
このデザインでは、メチレンで置換する部位がマンノトリオースの分岐部分となるマンノースの6位の酸素原子であるので、合成が比較的簡便であると考えた。この2種類のアナログを効率よく合成するにあたってFig. 3-3-1に示すような合成経路を考えた。すなわち、C-グリコシド化反応には3-2と同じ簡便に調製可能なテトラアセチルマンノシルブロミドとのラジカル反応を用いることとし、そのラジカルトラップ基質としては、同様なC-グリコシド型擬似二糖の合成で使用例のある⁶⁴反応性の高いエノン誘導体を共通中間体として用いることにした。そして、このエノン誘導体は既知のマンノース誘導体から簡単に合成できると考えた。

文献既知であるイソプロピリデン誘導体**140**⁶⁵のジオールを過ヨウ素酸でアルデヒド体**141**⁶⁶とし、Grignard反応によりビニル基を導入し**142**を収率よく得た。**142**に対する酸化はAc₂O-DMSOによる方法では遊離の水酸基がアセチル化されたものや目的物である**143**に酢酸が付加したものなどが副産物が生成した。またSwern酸化による方法でも**143**にジメチルスルフィドが付加したものが生成し、収率が低下した。そこで、より穏和な酸化条件であるDess-Martin酸化を用いたところ収率良く**143**のみを得ることができた。



Scheme 3-3-1 エノン誘導体の合成

テトラアセチルマンノシルブロミド**132**とエノン**143**のラジカル付加反応は副産物として1-デオキシ体や2-デオキシ体、**143**が自己重合したものなどが生成した。基質の当量や試薬と基質の滴下の順序など種々の検討を行ったが、これらの生成は避けられず、収率を大きく向上させることはできなかった。結局、目的とする**144**の収率は29%であった。テトラアセチル5-チオマンノシルブロミド**133**⁶⁵とエノン**143**のラジカル付加反応も同様に副産物としてデオキシ体や**143**の自己重合体などの生成は避けられなかった。さきのグリコシルブロミド**132**での反応条件と同じ方法、すなわち、グリコシルブロミド**133**とエノン**143**が1:1で共存しているところにAIBNを加え、ラジカル反応を開始させたが、目的物**145**はほとんど得られなかった。そこで、ブロム体**143**とAIBN共存下でエノン**143**とnBu₃SnHの混合物を滴下したところ、目的物**145**が収率20%で得られた。他の条件検討も種々行ったが、やはり収率の大きな向上には至らなかった。これらC-グリコシド体**144**、**145**の構造は¹H NMRにおいて1'プロトンが δ 3.90 (X=O), 3.05 (X=S)ppmにそれぞれ観測され、2.70 (2H, CH₂C(O)), 1.90 (2H, CH₂-C1')ppm付近にメチレンに相当するプロトンがそれぞれ観測されたことから確認した。また、¹³C NMRにおいても構造の特徴を示すシグナル(C1'-CH₂-CH₂-C(O))を観測した。



Scheme 3-3-2 C-グリコシド化反応

つぎに**144**, **145**のカルボニル基の還元を行った。このカルボニル炭素はマンノースの5位に相当するのでD-マンノ型になるように立体選択的に還元を行うことが望まれる。その結果、Table 3-3-1に示すようにNaBH₄やLiB(OtBu)₃Hによる還元では目的とは逆の立体配置であるL-ギュロ型**147**, **149**が優勢に生成した。しかし、Zn(BH₄)₂による還元では目的とするD-マンノ型である**146**, **148**が優勢に得られた。

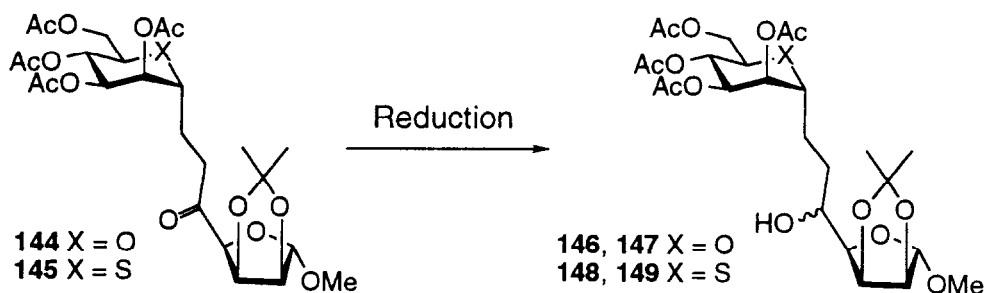


Table 3-3-1 カルボニルの還元

X	Reagent	D-manno : L-gulo		yield (%)
		146 : 147, 148 : 149		
O	NaBH ₄	1 : 4		59
S	NaBH ₄	1 : 4		85
O	LiB(OtBu) ₃ H	1 : 4		37
S	LiB(OtBu) ₃ H	1 : 4		-
O	Zn(BH ₄) ₂	5 : 1		59
S	Zn(BH ₄) ₂	5 : 1		82

これはFig. 3-3-2に示すように、NaBH₄やLiB(OtBu)₃Hによる方法ではFelkin-Anhnモデルで、Zn(BH₄)₂による方法では2価の亜鉛のキレート-Cramモデルにより説明できると考えられる。

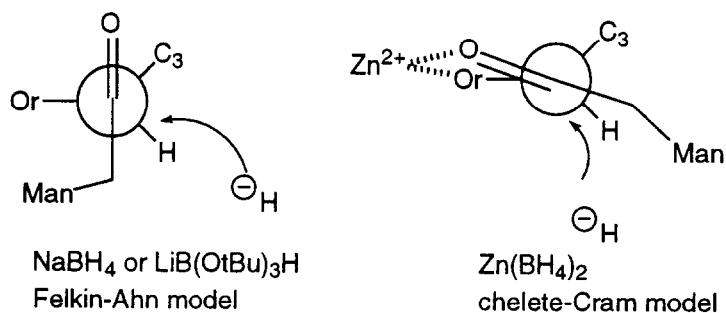
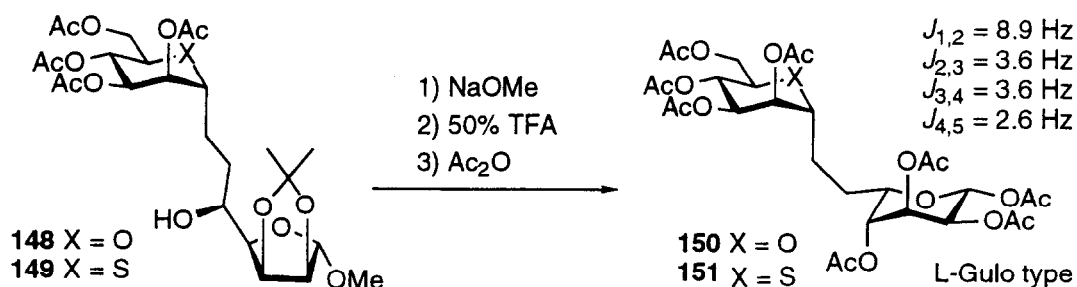


Fig. 3-3-2 還元立体選択性の発現

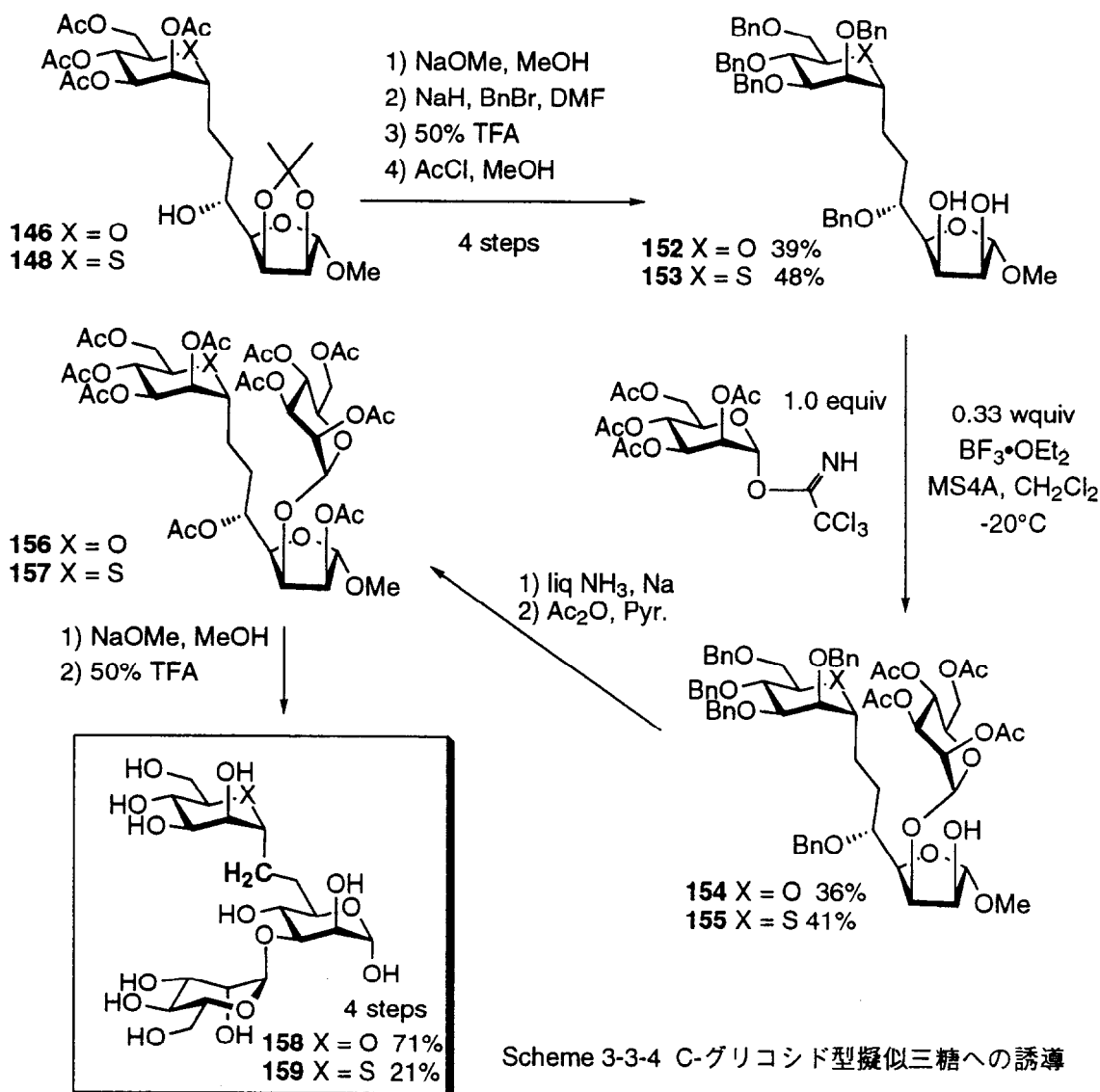
この結果から、目的物であるD-マンノ型とともにL-ギュロ型もほぼ選択的に得られることが分かった。また、L-ギュロ体**147**, **149**を用いて遊離の水酸基に脱離基(Ms, Ts, Tf)を導入し、アセトシ基(NaOAc, CsOAc)による求核置換反応を試みたが脱離基がβ-脱離したアルケン誘導体が主生成物であった。このL-ギュロ体**147**, **149**の立体配置はScheme 3-3-3に示すようにパーアセチルピラノース誘導体**150**, **151**へと誘導して決定し

た。



Scheme 3-3-3 構造確認

擬似三糖までの誘導はScheme 3-3-4に示すように行った。すなわち、**146**、**148**をそれぞれベンジル誘導体へと変換し、イソプロピリデン基の除去をへて2,3位に遊離な水酸基をもつ**152**、**153**を得た。このジオールの選択的な保護基の導入は行わず、そのまま α -マンノシル化を行った。その結果、反応性のより高い3位が α -マンノシル化された目的とする**154**、**155**を相当する2-O-マンノシル体に対して約2:1の比率で得ることができた。



Scheme 3-3-4 C-グリコシド型擬似三糖への誘導

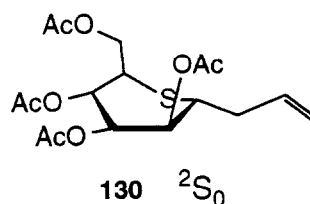
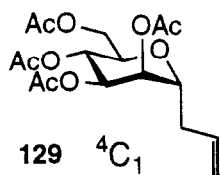
その結合はバーチ還元によるベンジル基の除去後、アセチル化して得た**156**, **157**の¹H NMRから確認した。最後に脱アセチル化をしてC-グリコシド型擬似マンノトリオース**158**, **159**へと誘導することができた。

ここで、擬似オリゴ糖**159**の合成中間体である7種の5-チオマンノース誘導体の5-チオマンノース骨格部分の環プロトンの結合定数をTable 3-3-2に示す。これをみるとすべての誘導体においてピラノース環のコンホメーションが⁴C₁ではなく、3-2で述べたようなねじれボート型になっていると考えられる。また、アセチル基より嵩高いベンジル基で保護された誘導体**153**, **155**においてはJ_{3,4}やJ_{4,5}の値がさらに小さくなっていることから、ボート型(B_{3,0})により近いコンホメーションをしていると考えられる。

Table 3-3-2 5-チオマンノース骨格部分の環プロトンの結合定数(Hz)

angle	134	135	144	147	149	151	153	155	157
1,2	3.1	7.8	n	n	n	n	n	n	n
2,3	3.2	2.7	3.0	2.6	2.6	n	n	2.3	n
3,4	8.9	6.6	7.6	6.9	6.9	7.3	5.3	5.5	6.6
4,5	8.2	6.9	7.6	6.9	6.9	7.3	5.3	5.5	6.6

n; not determined



また、最終物の**158**, **159**の還元末端のアノマーが $\alpha\beta$ 体の平衡混合物であるため¹H NMRのシグナルが複雑となり、メチレン水素原子の結合定数を決定することはできず、¹H NMRによるコンホメーション解析はできなかった。

3-4 C-グリコシド型擬似マンノトリオースのコンカナバリンAに対する結合

タチナタマメ(*Canavalia ensiformis*)レクチン(以後 ConA)はSummerとHowellによりマンノース特異的レクチンとして1936年に発見され⁶⁷、1985年にBrewerらによりAsn型糖鎖のマンノースコア三糖(Man1 α →3(Man1 α →6)Man)が最小エピトープであることが見いだされた⁶⁸。さらに1996年 James H. Naismithらにより三糖リガンドを含んだ複合体のX線結晶解析がなされ、実際に糖の水酸基と糖認識部位のアミノ酸がどのように水素結合されているのかが明らかにされた⁶⁹。これによると三糖のうち α 1→6結合側非還元末端のマンノース残基の環酸素原子はLeu 99との間に水素結合を持つ。

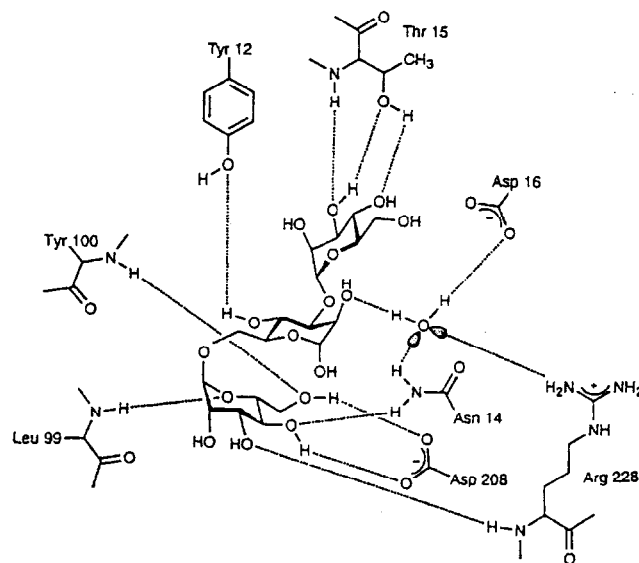


Fig. 3-4-1 ConA-マンノトリオース複合体のX線解析

疑似オリゴ糖とConAの結合の解離定数 K_d は蛍光偏光法を利用し、リガンドとしてFig. 3-4-2のような蛍光基を含むマンノース誘導体を用い、その阻害実験により求めた⁶⁰。遊離のリガンドは回転ブラウン運動が速いので小さい偏光度を示し、ConAと結合したリガンドは回転ブラウン運動が遅いため大きい偏光度を示す。詳細は実験の部に記述した。

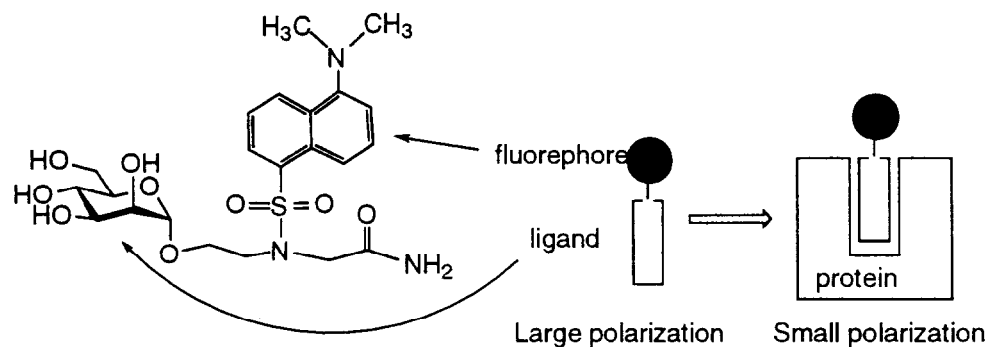


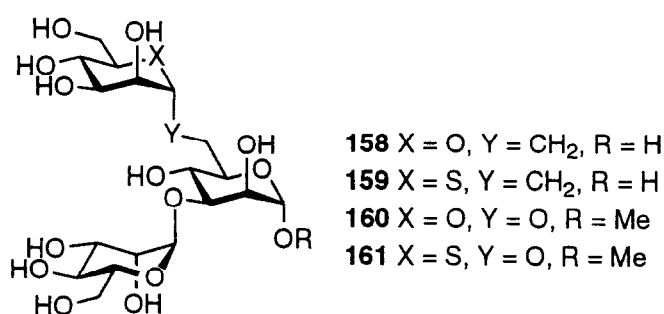
Fig. 3-4-2 蛍光偏光法による解離定数の測定

Table 3-4-1に擬似オリゴ糖類のConAの結合の解離定数とこれにより誘導される結合自由エネルギーを示す。まず、5-チオマンノースが $\alpha 1 \rightarrow 6$ 結合したグリコシド酸素型の擬似オリゴ糖**161**とConAの結合の解離定数はすでに求められており、天然型のトリマンノース**160**よりも1kcal/mol結合が弱くなる。すなわち、環酸素原子が水素結合で認識に参与しているため、硫黄原子は酸素原子に比べて水素結合受容能が低いいため、ConAに対する結合が弱くなるものと考えられる。

Table 3-4-1 擬似オリゴ糖とConAの結合の熱力学パラメーター

Entry	Compound	K_d (μM)	ΔG (kcal/mol)	$\Delta\Delta G$ (kcal/mol)
1	158	198	-5.0	2.5 ^a
2	159	31	-6.1	0.4 ^b
3	160	3	-7.5	-
4	161	18	-6.5	-

^aCompared with**160**. ^bCompared with**161**.

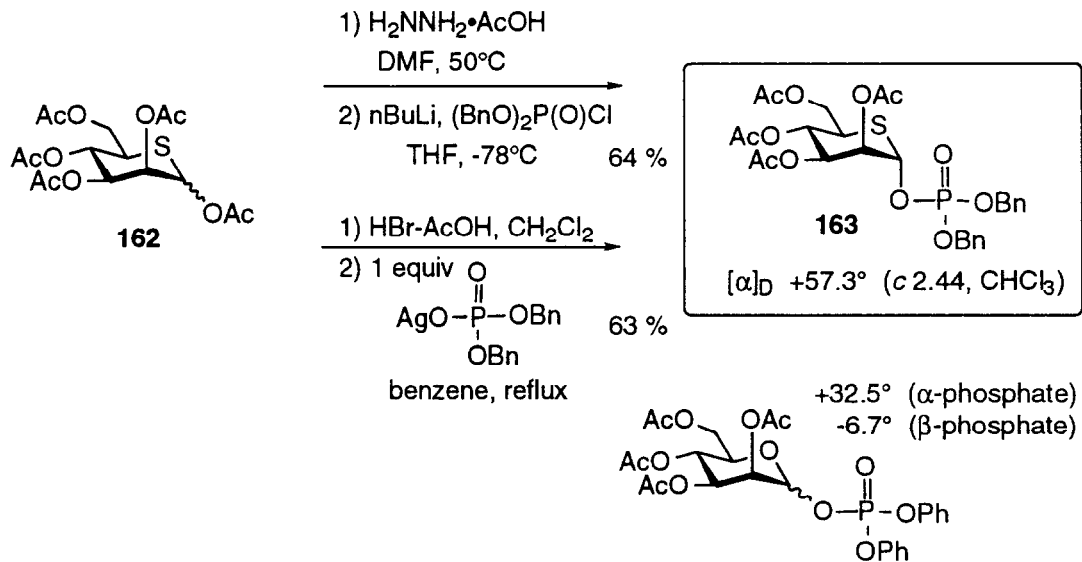


天然型三糖**160**のC-グリコシド型アナログ**158**のConAに対する結合力は**160**よりも2.5kcal/mol程大きく低下することが分かった。一方、5-チオマンノースのC-グリコシド型アナログ**159**は相当するO-グリコシドアナログ**161**よりもその結合力の低下は0.4kcal/molであった。**158**, **159**ともにC-グリコシド型では結合力が低下したことからこのグリコシド酸素原子の重要性が示唆されたが、メチレンに変換したことによるアナログの結合への影響は**158**, **159**において同様でないことが示唆された。この違いを説明しうる原因のひとつとして、3-2, 3-3での実験事実から5-チオマンノースアナログ**159**のC-グリコシドをつくるピラノース環のコンフォメーションが天然型**158**よりもフレキシブルであるため、これが結合に有利に働いたのではないかと考えられる。

3-5 GDP-5-チオ-D-マンノースの合成と糖転移酵素に対する挙動

1章、2章の結果から、GDP-5-チオ-L-フコースとUDP-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-ガラクトースが相当する糖転移酵素の糖供与体となり、酵素的に5-チオ糖を糖鎖に導入できることが分かった。そこで同様にGDP-5-チオ-D-マンノースを合成し、マンノース転移酵素に対する挙動を調べることにした。

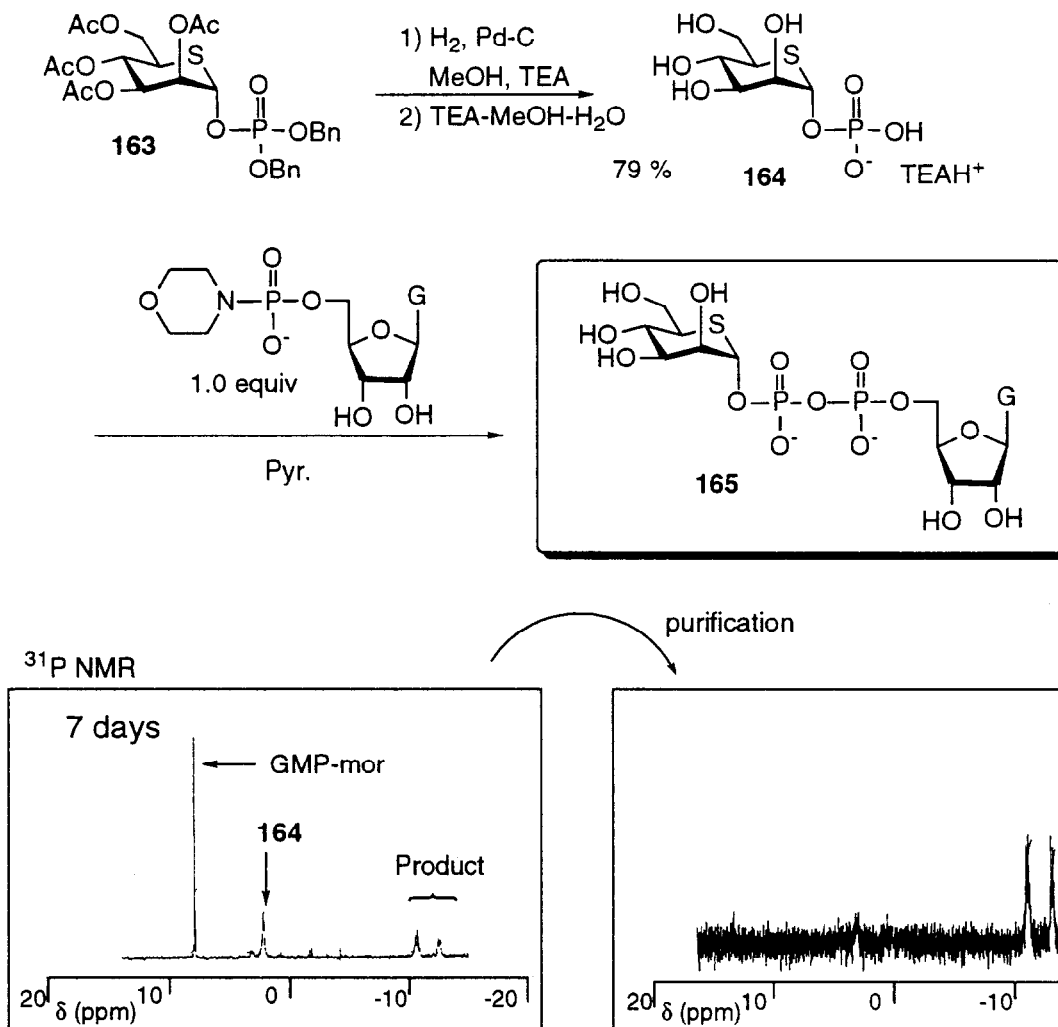
天然のGDP-D-マンノースのマンノースの1位のリン酸結合はアキシアル(α)結合であるので、5-チオ-D-マンノースの α -1-リン酸体が必要となるが、これまでの結果からその構築は容易であると考えられる。その結果、5-チオ-D-マンノースパーアセタート**162**からこれまでと同様の方法、すなわち1位の遊離な水酸基に対してのリン酸化、ブロム体へのリン酸のグリコシル化の双方の方法により同一で単一の化合物として5-チオ-D-マンノース-1-リン酸体**163**が得られた。



Scheme 3-5-1 5-チオマンノース α -1-リン酸の合成

マンノース2位の水酸基はアキシアル配向であるので、1位と2位のプロトン間は α 体でも β 体でもゴーシュの関係になる。したがって、 $J_{1,2}$ からアノマー位の立体配置を決めることは決定することはできない。しかしながら、上記と同じ方法で天然のD-マンノースは立体選択的に α -1-リン酸体が構築されていること⁴⁶、1章、2章の結果から5-チオ糖では α -1-リン酸体が非常に安定に生成すること、また、その旋光度が相当するD-マンノースの α -1-リン酸体の値⁷⁰に近いことから、そのリン酸結合はアキシアル(α)結合であることが支持された。その後の脱保護反応は問題なく進行しトリエチルアミン塩として**164**へと変換した。GMPとの縮合反応は1章のGDP-5-チオ-L-フコースの合成と同様に行い、イオン交換カラム、ゲルろ過カラムへて目的とするGDP-5-チオ-D-マンノース**165**へと

誘導できた。

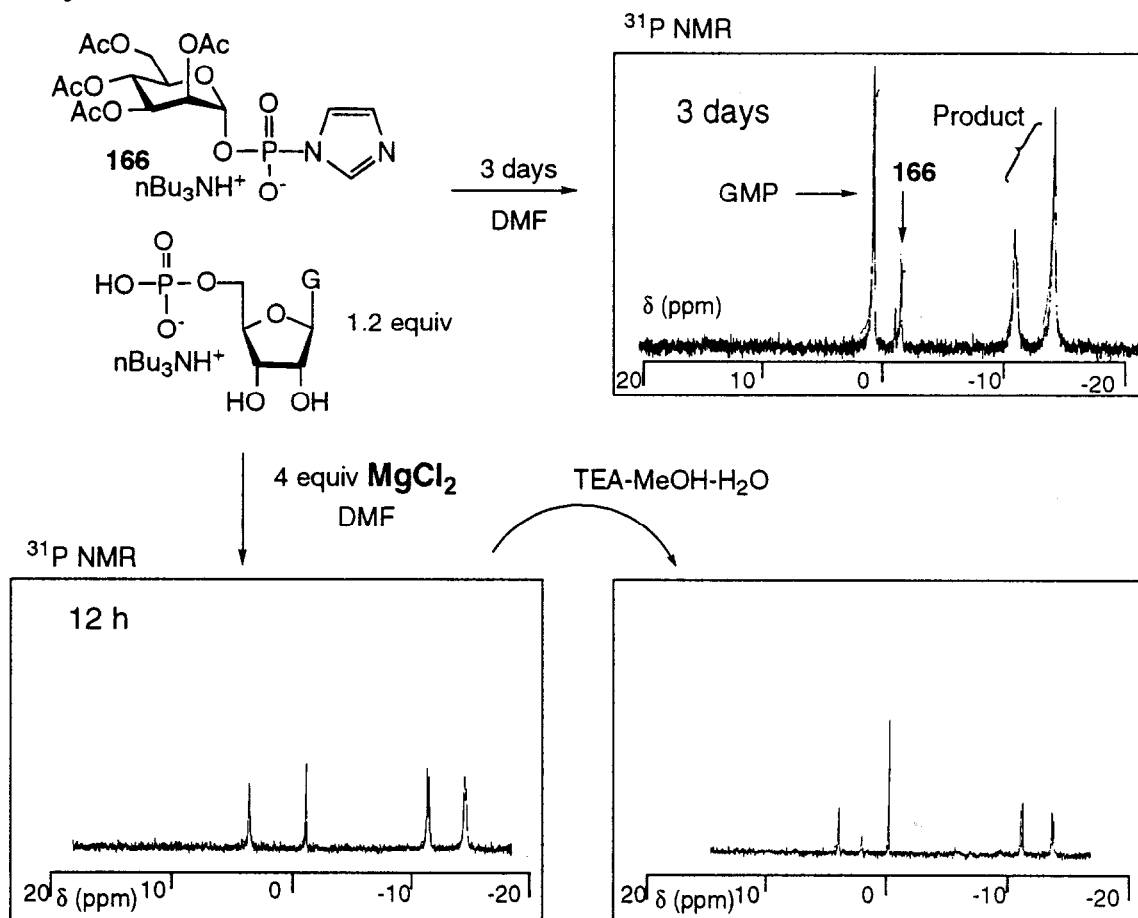


Scheme 3-5-2 脱保護と縮合反応

以上のように目的物を合成することはできたが、縮合反応の収率が非常に低いため実用的ではない。現在のところ、糖ヌクレオチドアナログのGDPの構築反応は、このGMPモルホリダートを用いる方法しか知られていない。そこで収率向上のために別途合成した α -マンノシルホスフェートを用いてGMPとの縮合反応を検討することにした。反応の追跡にはTLCと³¹P NMR (D₂O)を用いた。

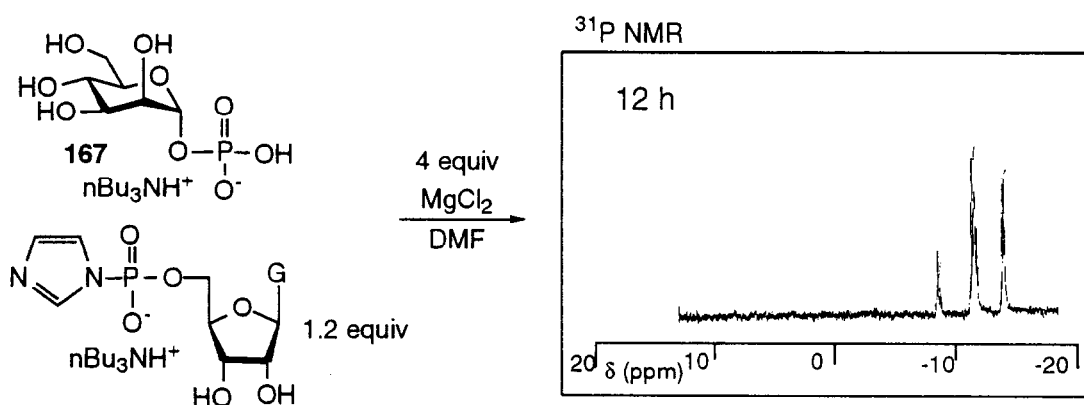
まずは糖ヌクレオチドのUDPアナログの合成において常法とされている方法で縮合反応を行うこととした。すなわち、リン酸の活性エステルとしてモルホリダートよりも活性の高いイミダゾリダート体**166**を用いた。しかし、GMPの溶解性が非常に悪いのでトリブチルアミン塩として縮合を行ったが、2日後においても原料は消失せず、反応の進行は50%程度であった。最近、門倉らは金属イオンを存在させることによりGDPの溶解性を向上させトリリン酸結合の効率的な構築に成功している⁷¹。そこでこれを参考にし塩化マグネシウム存在下反応を行った。するとGMPの溶解度がやや向上し、反応はす

みやかに進行し、12時間後にはほぼ原料が消失し70%程度の縮合反応の進行を確認した。しかし、その後塩基による脱アセチル化を試みたが、30%程度が分解してしまうことがわかった。



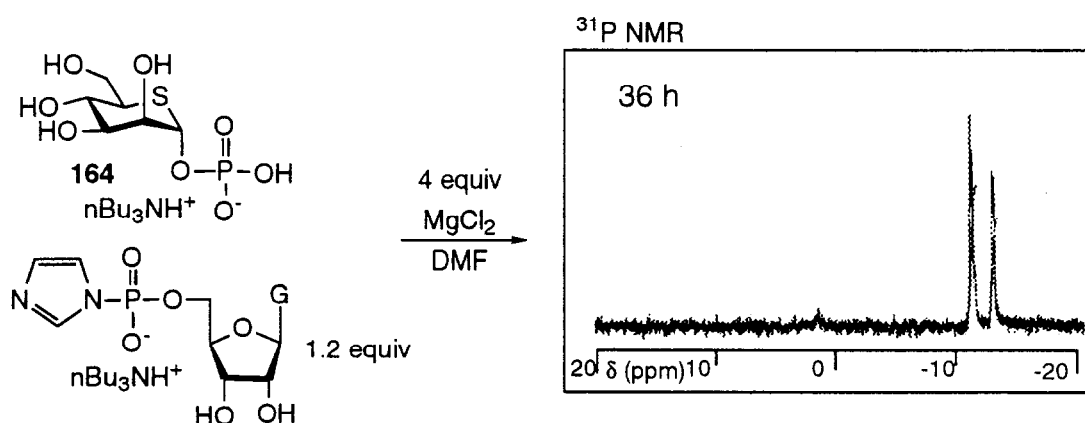
Scheme 3-5-3 縮合反応の検討1

つぎに、上の条件であらかじめ脱アセチル化したマンノシルホスフェート**167**と縮合することにした。すると、12時間後ほぼ原料が消失し、縮合反応はほぼ定量的に進行していることがわかった。



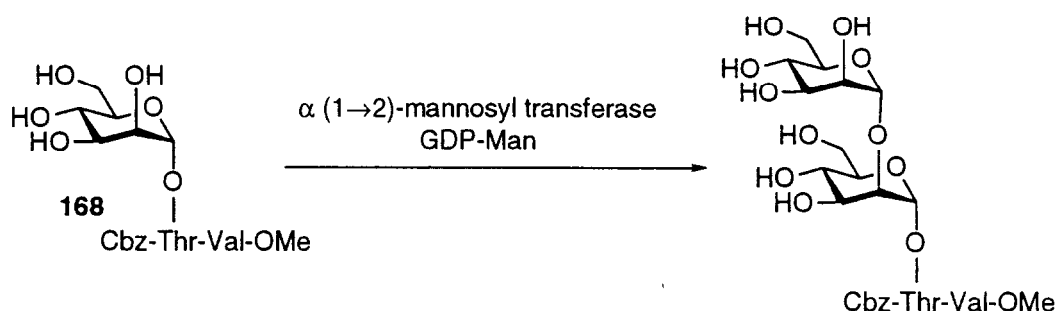
Scheme 3-5-4 縮合反応の検討2

そこで、先に合成した5-チオ- α -マンノシルホスフェート**164**を用いてこの条件で縮合をおこなった結果、ほぼ定量的に反応が進行することが分かった。しかしながら、その後の陰イオン交換カラム、ゲルろ過カラムの精製操作の段階で多少分解してしまい、単離収率は22%であった。今後は精製操作の工夫が必要であると思われる。また、ごく最近WongらによりGMPホルホリダートにテトラゾールを添加する方法で同様なGDP誘導体合成の反応時間の短縮と収率の向上が報告されているが⁷²、筆者が追試実験をした限りでは、その縮合反応の進行はこのGMPイミダゾリダートにMgCl₂を添加する方法のほうが優れていると思われる。



Scheme 3-5-5 MgCl₂添加によるGDP-5-チオマンノースの合成

合成したGDP-5-チオ-D-マンノース**165**の $\alpha(1\rightarrow2)$ マンノース転移酵素⁷³に対する挙動を調べることにした。この酵素は*Saccharomyces cerevisiae*菌由来の膜タンパク質であり、Scheme 3-5-6のようにマンノースの2位にマンノースを転移させる酵素である。



Scheme 3-5-6 $\alpha(1\rightarrow2)$ マンノース転移酵素による転移反応

まず、Wongらの条件に従い、天然のGDP-D-マンノースを用いた転移反応をTLCを用いて追跡した。糖受容体としてメチルマンノシド(1.0 μ mol)、GDP-D-マンノースを1.5当量、 $\alpha(1\rightarrow2)$ マンノース転移酵素を0.8mU用いたところ、室温で48h後にはほぼ原料が消失しており二糖に相当するスポットを確認した、この際、GDP-D-マンノースの分解はほとんど観察されなかった。全く同じ条件をGDP-5-チオ-D-マンノースに適用したところ、

室温で1週間後においても、二糖と思われるスポットは全く観察されず、GDP-5-チオ-D-マンノースの加水分解物と考えられるスポットのみ確認された。メチルマンノシドよりも K_m で7倍ほど良い基質であるマンノシルペプチド**168**を用いて同様な転移実験も試みたが、転移生成物と思われるスポットは確認されず、やはりGDP-5-チオ-D-マンノースの加水分解物と考えられるスポットのみが確認された。以上のことから、GDP-5-チオ-D-マンノースのこの酵素に対する親和性が非常に低いか、転移反応速度が非常に遅いことが示唆された。今後、5-チオ-D-マンノースの転移反応を行うには、1章、2章の結果を踏まえると、さらに高濃度で多量の酵素を用いる条件が必要であると考えられる。

総括

本研究は、糖の最も重要な構造的特徴である環酸素原子を硫黄原子に置換した5-チオ糖の興味深い化学的、生化学的性質に着目し、さまざまな5-チオ糖を含む糖質アナログを合成し、さらに新しい機能性分子としての可能性を探ることを目的として行ったものである。

第1章では、当研究室において見いだされた5-チオ-L-フコースの α -L-フコシダーゼに対する強い阻害活性とその α -5-チオ-L-フコシル化反応に注目し、種々の5-チオ-L-フコースを非還元末端に有する擬似二糖や擬似三糖などを効率的に合成し、 α -L-フコシダーゼやL-フコースを含む糖鎖を認識するタンパク質に対するより強い阻害剤やリガンドの創製を目指した。その結果、それらアナログは2種の α -L-フコシダーゼに対する拮抗型阻害剤となり、 α -L-フコシダーゼの基質特異性を探るための化学的道具となることが分かった。擬似三糖類のレクチンや抗体に対する阻害活性は天然型に比べて強い場合や弱いこともあり、認識するタンパク質によって異なることが分かった。また、H type II型擬似三糖の立体配座解析から天然型三糖と顕著な相違は見られず、硫黄原子そのものの性質が認識に影響していることが示唆された。これらから、タンパク質のフコース残基の環酸素周辺の認識に関して、 α -L-フコシダーゼのような疎水性領域の存在は普遍的なものではなく、それぞれのタンパク質で異なっていることが示唆された。さらに、GDP-5-チオ-L-フコースの合成法を確立し、これがフコース転移酵素の糖供与体となり、酵素的に5-チオ-L-フコースを糖鎖に導入できることが分かった。

第2章では、5-チオアミノ糖を非還元末端に有するオリゴ糖への展開を意図して、天然型で多く見られる β -グリコシドの構築法の確立を目指した。2位に種々の置換基をもつ2-アミノ-5-チオ-グルコース誘導体を用い検討した結果、2-フタルイミド誘導体を糖供与体にすることにより、5-チオアルドース類として初めて β -グリコシドをもつ擬似二糖の立体選択的な化学合成に成功した。これにより、ヘキソサミニダーゼなどの β -グリコシドを厳密に認識するタンパク質に対する基質リガンドの創製が可能になると考えられる。また、UDP-5-チオガラクトサミンもラクトース合成酵素の糖供与体となり、酵素的にも擬似二糖が合成できることが分かった。これにより、1章のGDP-5-チオ-L-フコースの結果と合わせて、5-チオ糖ヌクレオチドが相当する糖転移酵素の基質となることが普遍的な事象であることが示された。

第3章では、新しい5-チオ糖アナログとして5-チオマンノースを含むC-グリコシド型アナログの合成を行った。まず、C-アリル5-チオマンノシドにおいて、グリコシド結合

結合回りの立体配座は相当する環酸素誘導体とほぼ同じであり、ピラノース環の立体配座の性質が環酸素誘導体とは異なることが示唆された。また、グリコシルブロミドとエノン誘導体とのラジカル反応により簡便に得られるC-グリコシドから擬似オリゴマンノースへと誘導する方法を確立した。さらに、これら擬似オリゴマンノースのうち、5-チオマンノース誘導体のほうが相当する環酸素誘導体より強くコンカナバリンAに対して結合するという興味深い結果を得た。今後は他の5-チオ糖のC-グリコシド型アナログの生理活性とそれらのコンフォメーションの関係を調べることで、C-グリコシド型アナログのさらなる有用性が開かれると期待される。

以上のように、本研究でさまざまな5-チオ糖を含む糖質アナログの合成法を確立し、それらの興味深い生化学的性質が得られたことから、それらが糖鎖の生体内における機能解明のための化学的道具となる可能性を見いだすことができたと考えている。

実験の部

- 溶媒は必要に応じて蒸留、乾燥した。
- グリコシド化には、五酸化二りんから2回蒸留した CH_2Cl_2 および $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$ を使用した。
- 反応の後処理での有機溶媒の乾燥は無水硫酸マグネシウムを使用した。
- シリカゲルカラムクロマトグラフィーには、有機溶媒系の溶出溶媒(Hex; n-ヘキサン, EA; 酢酸エチルなど)を用いる場合はE.Merck社製Kieselgel 60 (Art 7734)、あるいはWako社製C-300を使用した。水溶液系の溶出溶媒を用いる場合は関東化学社製Silica Gel 60N(spherical, neutral, Cat.No. 37560-79)を使用した。
- 反応検査用(TLC)としては、E.Merck社製のKieselgel 60 F₂₅₄ (Art 5715)を使用し、5% H_2SO_4 -MeOHまたは1% $\text{Ce}(\text{SO}_4)$ -1.5% $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ -10% H_2SO_4 につけて加熱し発色させた。
- ^1H NMRスペクトルはJEOL EX270、Varian Unity -400、Bruker AM-500型核磁器共鳴装置で、特に示さない限り重クロロホルム中、テトラメチルシランを内部標準として測定した。 ^{13}C NMRスペクトルは67.80 MHz(JEOL270)で重クロロホルム中、テトラメチルシランを内部標準として測定した。 ^{31}P NMRスペクトルは、109.25 MHz (JEOL270)で、85%正リン酸を外部標準として測定した。化学シフトは、 δ (ppm)で、結合定数は、 J (Hz)で示した。
- 融点は、柳本微量融点測定器を用いて測定し未補正である。
- 旋光度は、0.5 dmのセルを使い日本分光DIP-4旋光計を用いて測定した。
- 吸光度は、日立200-20型ダブルビーム分光光度計を用いて測定した。

第1章

アリル *O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 6)-2-アセトアミド-3,4-ジ-*O*-アセチル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド (**27 α**)

ドナー**23**(74.9mg, 0.166mmol)、アクセプター**24**(126mg, 0.250mmol)のCH₂Cl₂(5.6mL)に溶解に砕いたMS4A(370mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃•OEt₂(6.7 μ L, 54 μ mol)のCH₂Cl₂(1.4mL)溶液を滴下。そのまま室温まで放置し、一晚攪拌。Et₃N(30 μ L, 0.215mmol)を加えて中和。CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、**25**をアノマー混合物で得た。残渣のTHF(49.5mL)溶液に、Bu₄NFの1M THF(0.5mL)溶液を滴下。室温で45分間攪拌し、濃縮。残渣をCHCl₃で希釈し、飽和食塩水で2回洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム(8:1 CHCl₃:MeOH)で精製して、**26**を(64.1mg, 70%, α : β = 81:19, 2steps)シラップとして得た。**26**をAc₂O-pyridineでアセチル化し、シリカゲルカラム(50:1 CHCl₃:MeOH)で精製して、**27 α** を得た。; mp 181-182°C (from ether-petroleum ether); [α]_D¹⁷ -148.4° (α : β =94:6) (c 0.63, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.94-5.80 (m, 1H, All), 5.50 (bs, 1H, H-4'), 5.46 (d, 1H, *J*_{2,NH} 8.6 Hz, NH), 5.41-5.33 (m, 2H, H-2',3'), 5.26 (dd, 1H, *J*_{2,3} 7.6, *J*_{3,4} 9.9 Hz, H-3), 5.29-5.19 (m, 1H, All), 5.00 (t, 1H, *J*_{4,5} 9.9 Hz, H-4), 4.80 (d, 1H, *J*_{1',2'} 2.0 Hz, H-1'), 4.69 (d, 1H, *J*_{1,2} 8.3 Hz, H-1), 4.34-4.27, 4.12-4.04 (each m, 1H \times 2, All), 3.89 (dd, 1H, *J*_{5,6a} 2.3, *J*_{6a,6b} 10.9 Hz, H-6a), 3.83 (ddd, 1H, H-2), 3.65 (ddd, 1H, H-5), 3.52 (dd, 1H, *J*_{5,6b} 5.6 Hz, H-6b), 3.48 (dq, 1H, H-5'), 2.18, 2.08, 2.04, 2.03, 1.98, 1.96 (each s, 3 H \times 6, Ac \times 6), 1.14 (d, 1H, *J*_{5',6'} 6.9 Hz, H-6'); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.9, 170.8, 170.8, 170.2, 169.9, 169.5 (C=O), 133.5, 117.8 (All), 99.5 (C-1), 80.9 (C-1'), 73.4, 72.6, 72.4, 71.1, 69.6, 69.4, 69.0 (C-3,4,5,2',3',4',All), 62.1 (C-6), 54.7 (C-2), 34.3 (C-5'), 20.9, 20.8, 20.7 (Ac), 15.8 (C-6'); Anal. Calcd for C₂₇H₃₉NO₁₄S : C, 51.18; H, 6.20; N, 2.21. Found; C, 50.98; H, 6.16; N, 2.14.

アリル *O*-(5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 6)-2-アセトアミド-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド (**28**)

27 α (15.5mg, 24.5mmol)のMeOH(1mL)溶液に0.5M NaOMe(0.15mL)を加え、室温で一晩攪拌し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W-X8(H⁺フォーム)で中和。セライトろ過後、ろ液を濃縮。ゲルろ過 (Sepadex G-25)で精製し凍結乾燥して、**28**を7mg (68%)アモルファスな個体として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 5.98-5.84 (m, 1H, All), 5.34-5.25 (m, 2H, All), 4.71 (d, 1H, *J*_{1',2'} 3.0 Hz, H-1'), 4.58 (d, 1H, *J*_{1,2} 8.2 Hz, H-1), 4.36-4.29 (m, 1H, All), 4.20-4.13 (m, 2H, H-6a, All), 4.03 (bs, 1H, H-4'), 4.00 (dd, 1H, dd, *J*_{2,3'} 10.2 Hz, H-2'), 3.88 (dd, 1H, *J*_{3,4'} 3.0 Hz, H-3'), 3.77-3.71 (m, 2H, H-2,6b), 3.66 (ddd, 1H, H-5), 3.58-3.51 (m, 2H, H-3,4), 3.42 (dq, 1H, H-5'), 2.04 (s, 3H, Ac), 1.21 (d, 1H, *J*_{6,5'} 7.3 Hz, H-6').

アリル *O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-2-アセトアミド-2-デオキシ-4,6-*O*-イソプロピリデン- β -D-グルコピラノシド (**30**)

ドナー**23**(101mg, 0.225mmol)、アクセプター**29**(204mg, 0.677mmol)のCH₂Cl₂(7mL)に溶解に、砕いたMS4A(495mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。0°Cに冷却し、BF₃•OEt₂(9 μ L, 73.2mmol)のCH₂Cl₂(1.85mL)溶液を滴下。6.5時間後、Et₃N(30 μ L, 0.22mmol)を加えて中和。CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム(1:1 Hex:EA)で精製して、**30**(84mg, α : β = 82:18, 64%)を結晶として得た。; mp 125-127 °C(from ether-petroleum ether); [α]_D¹⁷ -158.6° (α : β = 86:14) (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.85-5.79 (m, 2H, All), 5.65 (d, 1H, *J*_{2,NH} 8.6 Hz, NH), 5.48 (bs, 1H, H-4), 5.40 (dd, 1H, *J*_{2,3'} 10.6, *J*

$J_{3,4}$ 3.0 Hz, H-3'), 5.27 (dd, 1H, H-2'), 5.23–5.17 (m, 1H, All), 5.07 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.6 Hz, H-1'), 4.78 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.2 Hz, H-1), 4.34–4.01 (m, 2H, All), 4.31 (bt, 1H, H-3), 3.93 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ 5.3, $J_{6a,6b}$ 10.9 Hz, H-6a), 3.83–3.61 (m, 4H, H-2,4,6b,5'), 3.35 (dt, 1H, $J_{4,5}$ 9.9 Hz, H-5), 2.17, 2.12, 1.98, 1.95 (each s, 3H×4, Ac×4), 1.52, 1.37 (each s, 3H×2, -CMe₂), 1.10 (d, 1H, $J_{5,6}$ 6.9 Hz, H-6'); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.2, 170.10, 170.09, 170.0 (C=O), 133.7, 117.7 (All), 99.9 (CMe₂), 99.5 (C-1), 86.1 (C-1'), 75.2, 73.3, 72.9, 71.7, 69.9, 68.8, 67.1 (C-3,4,5,2',3',4',All), 62.2 (C-6), 57.1 (C-2), 34.2 (C-5'), 29.1, 23.4 (CMe₂), 21.1, 20.8, 20.7, 19.1 (Ac), 15.8 (C-6'); Anal. Calcd for C₂₆H₃₉N₃O₁₂S : C, 51.96; H, 6.67; N, 2.38; S, 5.73. Found; C, 52.50; H, 6.81; N, 2.37; S, 5.23.

アリル *O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1→3)-2-アセトアミド-4,6-ジ-*O*-アセチル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド (**3 1**)

3 0 (38.9mg, 66.0 μ mol)のacetone (4.3mL)溶液に、1M HCl (0.29mL)を加え、加熱還流条件下2時間攪拌。酸化バリウムを加えて中和、ろ過後、濃縮し、アリル *O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1→3)-2-アセトアミド-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシドをシラップで得た。これをAc₂O-pyridineでアセチル化し、シリカゲルカラム(2:3 Hex:EA)で精製して、**3 1** (25.8mg, α : β = 85:15, 62%)をシラップとして得た。この際、 α 体の単離も行った。; $[\alpha]_D^{17}$ -152.6° (c 0.63, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.88–5.82 (m, 1H, All), 5.66 (d, 1H, $J_{2,NH}$ 7.6 Hz, NH), 5.46 (bs, 1H, H-4'), 5.39 (m, 2H, H-2',3'), 5.24–5.19 (m, 2H, All), 5.04 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5}$ 8.9 Hz, H-4), 5.03 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.3 Hz, H-1'), 4.99 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.9 Hz, H-1), 4.49 (t, 1H, $J_{3,2}$ 8.9 Hz, H-3), 4.36–4.29 (m, 1H, All), 4.23 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ 5.3, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6a), 4.12 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.0 Hz, H-6b), 4.10–4.03 (m, 1H, All), 3.70 (ddd, 1H, H-5), 3.43–3.32 (m, 2H, 2, H-5'), 2.16, 2.11, 2.10, 1.97, 1.95 (each s, 3 H × 2, 6H, 3 H × 6, Ac × 6), 1.12 (d, 1H, $J_{5,6}$ 7.3 Hz, H-6').

O-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1→4)-3-*O*-アセチル-1,6-アンヒドロ-2-アジド-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース (**3 4**)

ドナー-**2 3** (113.7mg, 0.252 mmol)、アクセプター-**3 3** (179.1mg, 0.781mmol)のCH₂Cl₂ (7.8mL)に溶解に、砕いたMS4A(554mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃•OEt₂ (10.1 μ L, 81 μ mol)のCH₂Cl₂ (2mL)溶液を滴下。30分後、中和及び未反応のアクセプターの分離のため、pyridine、Ac₂Oを加えた。CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製して、**3 4** (110.4mg, 85%)をシラップとして得た。; $[\alpha]_D^{17}$ = -121.9° (c 0.85, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.55 (bs, 1H, H-4'), 5.53 (s, 1H, H-1), 5.45 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 3.0, $J_{2,3}$ 10.6 Hz, H-2'), 5.30 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 3.3 Hz, H-3'), 5.09 (d, 1 H, H-1') 5.02 (s, 1H, H-3), 4.53 (bd, 1H, $J_{5,6b}$ 5.6 Hz, H-5), 3.97 (bd, 1H, $J_{6a,6b}$ 7.3 Hz, H-6a), 3.82 (dd, 1H, H-6b), 3.71 (s, 1H, H-4), 3.67 (dq, 1H, H-5'), 3.09 (s, 1H, H-2), 2.18, 2.12, 2.08, 1.99 (each s, 3H×4, Ac×4), 1.17 (d, 1H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6'); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.0, 170.1, 169.7, 169.4 (C=O), 100.6 (C-1), 78.1 (C-1'), 73.0, 72.5, 71.7, 71.2, 71.1, 69.1, (C-3,4,5,2',3',4'), 64.9 (C-6), 58.4 (C-2), 34.9 (C-5'), 21.0, 20.9, 20.7, 20.7 (Ac), 15.9 (C-6'); Anal. Calcd for C₃₆H₅₅N₃O₁₈SSi : C, 46.42; H, 5.26; N, 8.12. Found; C, 46.14; H, 5.52; N, 7.32.

O-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1→4)-1,3,6-トリ-*O*-アセチル-2-アジド-2-デオキシ- α / β -D-グルコピラノース (**3 5**)

3 4 (42.3mg, 81.7 μ mol)のAc₂O (0.5mL)溶液を0°Cに冷却し、1:5 (v/v) TFA-Ac₂O (0.6mL)溶液を滴下。室温

にもどして一晚攪拌し、そのまま濃縮。残渣をシリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製して、**35** (45.4mg, $\alpha:\beta = 3:1$, 90%)をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR } \delta$ (CDCl_3) 6.26 (d, 0.75H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1 α), 5.56 (d, 0.25H, $J_{1,2}$ 8.6 Hz, H-1 β), 5.54–5.46 (m, 2.75H, H-3 α , 2', 3'), 5.30 (dd, 0.75H, $J_{3,2}$ 11.2 Hz, $J_{3,4}$ 3.0 Hz, H-3' α), 5.23 (dd, 0.25H, $J_{3,2}$ 11.2 Hz, $J_{3,4}$ 3.0 Hz, H-3' β), 5.15 (dd, 0.25H, $J_{3,2}$ 9.9 Hz, $J_{3,4}$ 8.6 Hz, H-3 β), 4.71 (d, 0.75H, $J_{1,2}$ 2.6 Hz, H-1' α), 4.68 (d, 0.25H, $J_{1,2}$ 2.6 Hz, H-1' β), 4.51–4.42 (m, 1H, H-6 α , 6 β), 4.35–4.25 (m, 1.25H, H-5 β , 6 α , 6 β), 4.07–4.02 (m, 0.75H, H-5 α), 3.81–3.74 (m, 1H, H-4 α , 4 β), 3.55 (dd, 0.25H, $J_{2,3}$ 9.9 Hz, H-2 β), 3.54 (m, 1H, H-5' α , 5' β), 3.81–3.43 (m, 1H, H-4 α , 4 β), 3.42 (dd, 0.75H, $J_{2,3}$ 10.2 Hz, H-2 α), 2.24, 2.20, 2.19, 2.18, 2.17, 2.16, 2.08, 2.07, 2.06, 1.96, 1.95 (each s, $\text{Ac} \times 6$), 1.14 (d, 0.75H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6' α), 1.12 (d, 0.25H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6' β); Anal. Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_{14}\text{S}$: C, 46.52; H, 5.37; N, 6.78; S, 5.17. Found; C, 46.38; H, 5.43; N, 6.35; S, 4.79.

O-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-2-アセトアミド-1,3,6-トリ-*O*-アセチル-2-デオキシ- α/β -D-グルコピラノース (**36**)

35 (21.6mg, 34.9 μmol)の1:1 (v/v) pyridine-water (1mL)溶液に、 H_2S を5分間吹き込んだ。室温で一晚攪拌し、そのまま濃縮。残渣を Ac_2O -pyridineでアセチル化し、シリカゲルカラム (1:4 Hex:EA)で精製して、**36** (21.2 mg, 100%)をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR } \delta$ 6.09 (d, 0.75H, $J_{1,2}$ 3.3 Hz, H-1 α), 5.68-5.65 (m, 0.5H, H-1 β , NH β), 5.58 (d, 0.75H, $J_{\text{NH},2}$ 8.9 Hz, NH α), 5.51–5.44 (m, 2H, H-2', 4'), 5.31–5.24 (m, 1.75H, H-3 α , 3'), 5.12 (dd, 0.25H, $J_{3,2}$ 9.9, $J_{3,4}$ 7.6 Hz, H-3 β), 4.79 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.6 Hz, H-1'), 4.55 (bd, 0.25H, H-6 $\alpha\beta$), 4.51 (bd, 0.75H, H-6 α), 4.38 (ddd, 0.75H, $J_{2,3}$ 10.2 Hz, H-2 α), 4.29–4.19 (m, 1.25H, H-2 β , 6 α , 6 β), 3.99–3.96 (m, 0.75H, H-5 α), 3.89–3.80 (m, 1.25H, H-4 α , 4 β , 5 β), 3.50–3.45 (m, 1H, H-5'), 2.23, 2.17, 2.13, 2.12, 2.10, 2.09, 2.08, 1.97, 1.94 (each s, $\text{Ac} \times 7$), 1.13 (d, 1H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6); Anal. Calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{NO}_{15}\text{S}$: C, 49.13; H, 5.87; N, 2.20. Found; C, 48.91; H, 6.15; N, 1.99.

O-(5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-2-アセトアミド-2-デオキシ-D-グルコピラノース (**37**)

36 (32mg, 52.3 μmol)のMeOH (2mL)溶液にアンモニアガスを10分間吹き込んだ。室温で一晚攪拌し、そのまま濃縮。シリカゲルカラム(EA:MeOH:H $_2$ O = 6:2:1)とゲルろ過(Sepadex G-15)で精製し、凍結乾燥して、**37** (13.5mg, 67%)をアモルファスな固体として得た。; $^1\text{H NMR } \delta$ (D_2O , 60 $^\circ\text{C}$) ($\alpha:\beta = 3:2$) 5.20 (d, 0.6H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.79 (d, 0.6H, $J_{1,2}$ 3.3 Hz, H-1'), 4.78 (d, 0.4H, $J_{1,2}$ 3.3 Hz, H-1'), 4.71 (d, 0.4H, $J_{1,2}$ 7.6 Hz, H-1), 4.03–3.56 (m, 9H, H-2, 3, 4, 5, 6 α , 6 β , 2', 3', 4'), 2.04 (s, 3H, Ac), 1.17 (d, 3H, $J_{6,5}$ 7.3 Hz, H-6').

シクロヘキサシル5-チオ-L-フコピラノシド(**40**)

ドナー**38** (22mg, 35 μmol)、シクロヘキサノール (11mg, 106 μmol)の CH_2Cl_2 (1.0mL)溶液に、砕いたMS 4A (200mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20 $^\circ\text{C}$ に冷却し、 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (1.4 μL , 11 μmol)の CH_2Cl_2 溶液 (0.4mL)を滴下。1時間攪拌後、 Et_3N を加えて中和。 CHCl_3 で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム(10:1 Hex:EA)で精製して、**39 α** (13mg, 64%), **39 β** (6.2mg, 31%)をシラップとして得た。**39 α** (13mg)のMeOH (1.0mL)溶液に0.5 M MeONa溶液 (20 μL)を滴下。室温で一晚攪拌した後、Dowexで中和、ろ過、濃縮。ゲルろ過カラム(Sepadex G-25)で精製し、凍結乾燥して**40** (5.8mg, 98%)をアモルファスな固体として得た。; $^1\text{H NMR } (\text{D}_2\text{O}) \delta$ 4.78 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.3, H-1), 4.01 (bs, 1H, H-4), 3.95 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 10.6 Hz, H-2), 3.82 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 3.0 Hz, H-3), 3.69–3.68 (m, 1H, cyclohex), 3.41 (bq, 1H, H-5), 1.94–3.68 (m, 1H, cyclohex), 1.20

(d, 3H, $J_{6,5}$ 7.2 Hz, H-6); FAB (m/z) 285.0 (M+Na).

p-ニトロフェニル5-チオ-L-フコピラノシド(**4 2**)

ドナー**23**(28mg, 61 μ mol)、*p*-ニトロフェノール(17mg, 122 μ mol)のCH₂Cl₂(1.5mL)溶液に、砕いたMS4A(300mg)を懸濁し、アルゴン気流下で30分間攪拌。0°Cに冷却し、BF₃•OEt₂(2.5 μ L, 20 μ mol)のCH₂Cl₂溶液(0.5mL)を滴下。1時間攪拌後、Et₃Nを加えて中和。CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム(3:1 Hex:EA)で精製して、**41**をシラップとして得た。このMeOH(1.0mL)溶液に0.5 M MeONa溶液(20 μ L)を滴下した。室温で一晩攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮。ゲルろ過カラム(Bio Gel P-2)で精製し、凍結乾燥して**42**(7.7 mg, 42%)をアモルファスな固体として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 8.35, 7.30 (each d, 2H \times 2, J 9.3 Hz, Ph), 5.72 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.1, H-1), 4.25 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 10.5 Hz, H-2), 4.18-4.16(m, 2H, H-3,4), 3.53 (bq, 1H, H-5), 1.22 (d, 3H, $J_{6,5}$ 7.0 Hz, H-6); FAB (m/z) 324.0 (M+Na).

p-ニトロフェニル1,5-ジチオ-L-フコピラノシド(**4 4**)

1,2,3,4-テトラ-O-アセチル-5-チオ-L-フコピラノース(60mg, 0.172mmol)のCH₂Cl₂(2.0mL)溶液に、*p*-ニトロフェニルチオール(35mg, 0.226mmol)を加え0°CでSnCl₄(38 μ L, 0.207mmol)を滴下。30分後CHCl₃で抽出し飽和重曹水で3回洗浄し、乾燥、濃縮。残さをシリカゲルカラム(3:1 Hex:EA)で精製し、**43**(80mg, 63%)をシラップとして得た。このMeOH(5.0mL)溶液に0.5 M MeONa溶液(100 μ L)を滴下した。室温で一晩攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮。シリカゲルカラム(8:1 CHCl₃:MeOH)で精製して、凍結乾燥して**44**(30mg, 55%)をアモルファスな固体として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 8.28, 7.72 (each d, 2H \times 2, J 9.0 Hz, Ph), 4.97 (d, 1H, $J_{1,2}$ 1.4, H-1), 4.42 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 10.0 Hz, H-2), 4.13 (bs, 1H, H-4), 3.87 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 3.1 Hz, H-3), 3.67 (bq, 1H, H-5), 1.26 (d, 3H, $J_{6,5}$ 7.0 Hz, H-6); FAB (m/z) 318.0 (M+H).

5-チオ-L-フコピラノシルホスフェート(**4 6**)

45(127mg, 168 μ mol)のMeOH(5.0mL)溶液にEt₃N(56 μ L, 254 μ mol)とPd/C(10%, 150 mg)を加え、水素ガスを通して接触水素添加を行った。2時間後TLCで生成物がひとつにまとまったのを確認し、セライトろ過し、濃縮した。これにMeOH(2.0 mL)、水(2.0mL)、Et₃N(0.7mL)を加え50°Cで一晩攪拌した。そのまま濃縮後、残渣を水で希釈し、CHCl₃で3回洗浄した。水層を濃縮し、陽イオン交換カラム(Dowex 50W-X8 pyridinium form, Na⁺ form)に通してナトリウム塩とした。ゲルろ過(Bio Gel P-2)で精製し凍結乾燥して、**46**を27mg(60%, 2steps)アモルファスな個体として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 5.17 (bd, 1H, $J_{1,P}$ 7.9 Hz, H-1), 4.01 (bs, 1H, H-4), 3.89 (m, 2H, H-2,3), 3.60 (bq, 1H, H-5), 1.22 (d, 3H, $J_{6,5}$ 7.3 Hz, H-6); ³¹P NMR (D₂O) δ 1.16; FAB (m/z) 259.0 (M-2Na+H).

5-チオ-L-フコピラノシルベンジルホスフェート(**4 7**)

45(110mg, 0.146mmol)のトルエン(1.5mL)溶液にDABCO(16mg, 0.146mmol)を加え加熱環流。1時間後そのまま濃縮し、MeOH(1.5 mL)、水(1.5 mL)、Et₃N(0.5 mL)を加え50°Cで一晩攪拌。そのまま濃縮後、残渣を水で希釈し、Et₂Oで3回洗浄した。水層を濃縮し、陽イオン交換カラム(Dowex 50W-X8 pyridinium form, Na⁺ form)に通してナトリウム塩とした。ゲルろ過(Bio Gel P-2)で精製し凍結乾燥して、**47**を17mg(29%)アモルファスな個体として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 7.51-7.40 (m, 5H, Ph), 5.19 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.3, $J_{1,P}$ 7.9 Hz, H-1), 5.01 (d, 2H, J 7.6 Hz, CH₂), 3.955-3.73 (m, 3 H, H-2, 3, 4), 3.24 (bq, 1H, H-5), 1.12 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9

Hz, H-6); ^{31}P NMR (D_2O) δ -0.24; FAB (m/z) 348.9 [M-Na].

α -L-フコシダーゼ(bovine epididymis)のアッセイ

pNP-Fuc(0.77-0.33mM)と阻害剤を入れて、20mMクエン酸緩衝液(pH 5.8, 300 μL)中で25°Cで30-40反応させる。50mMグリシン緩衝液(pH 10.0 500 μL)を加えることにより反応を停止。遊離したp-ニトロフェノール量を400nmの吸光度より求め、1分間あたりの分解量を反応初速度とした。阻害剤**44**の400nmでのモル吸光係数は2.04(L \cdot nmol $^{-1}$ \cdot cm $^{-1}$)であった。

1,3,4,6-テトラ-O-アセチル-2-O-レブリンノイル- α -D-ガラクトピラノース (**53**)

1,3,4,6-テトラ-O-アセチル- α -D-ガラクトピラノース**52** (1.0g, 2.83mmol)の CH_2Cl_2 (18.5mL)溶液に、LevOH (0.411mL, 0.401mmol)とDMAP (50mg, 0.409mmol)を加え、攪拌。0°Cに氷冷し、EDC(0.77 g, 4.02 mmol)を加え、90分間攪拌。 CHCl_3 で希釈し、飽和重曹水、食塩水で順次洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム(1:1 Hex:EA)で精製して、**53** (1.31g, 100%)をシラップとして得た。; $[\alpha]_{\text{D}}^{17}$ +72.4°(c 1.1, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3) δ 6.36 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.0 Hz, H-1), 5.50 (bd, 1H, H-4), 5.36 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 10.9 Hz, H-2), 5.33 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 2.6 Hz, H-3), 4.34 (t, 1H, $J_{5,6}$ 6.6 Hz, H-5), 4.13–4.08 (m, 2H, H-6a, 6b), 2.78–2.40 (m, 4H, C(=O) $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=O)$), 2.17, 2.16, 2.04 (each s, 6H, 3H, 6H, Ac \times 4, $\text{CH}_3\text{C}(=O)\text{CH}_2$ -); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 205.9, 171.6, 170.3, 170.2, 170.0, 168.9 (C=O), 89.5 (C-1), 68.6, 67.4, 67.1, 66.6 (C-2,3,4,5), 61.2 (C-6), 37.6, 27.6 (Lev), 27.5, 29.6, 20.8, 20.5 (Ac, Lev); Anal. Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_{12}$: C, 51.12; H, 5.87. Found; C, 50.87; H, 5.76.

1,6-アンヒドロ-2-アジド-4-O-ベンジル-2-デオキシ-3-O-tert-ブチルジメチルシリル- β -D-グルコピラノース (**58**)

1,6-アンヒドロ-2-アジド- β -D-グルコピラノース**55** (570mg, 3.04 mmol)のDMF(3.7mL)溶液に、イミダゾール (470 mg, 6.90mmol)と $\text{tBuMe}_2\text{SiCl}$ (600mg, 3.98mmol)を加え、室温で一晩攪拌した後、濃縮。 CHCl_3 に溶解し、1M HCl、水で順次洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hex:EA)で精製して、4-O-TBDMS体**56** : 3-O-TBDMS体**57** = 9:1 (812.7mg, 89%)をシラップとして得た。このDMF (8.2mL)溶液に $\text{Ba}(\text{OH})_2\cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (593 mg, 1.63 mmol)、BaO(2.47g, 16.1mmol)を加え、室温で攪拌。1時間40分後、 BnBr (0.48mL, 4.04mmol)を加え、室温で6時間攪拌し、そのまま濃縮。 CHCl_3 に溶解し、セライトろ過によりろ過後、ろ液を食塩水で2回洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム(10:1 Hex:EA)で精製して、**58** (970mg, 92%)をシラップとして得た。; $[\alpha]_{\text{D}}^{17}$ +24.6°(c 1.6, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.39–7.34 (m, 5 H, Ph), 5.50 (s, 1H, H-1), 4.68 (s, 2H, PhCH_2), 4.62 (bd, 1H, H-5), 4.07 (d, 1H, $J_{6a,6b}$ 7.2 Hz, H-6a), 3.92 (bs, 1H, H-3), 3.71 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 6.3 Hz, H-6b), 3.24 (s, 1H, H-4), 3.10 (s, 1H, H-2), 0.87 (s, 9H, tBu), 0.08, 0.02 (each s, 3H \times 2, SiMe_2); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 137.4, 128.5, 127.9, 127.8 (Ph), 100.5 (C-1), 77.4, 73.9, 70.1 (C-3, 4, 5), 71.4 (PhCH_2), 64.9 (C-6), 62.2 (C-2), 25.6, 25.5 (- CMe_3), 17.7 (- CMe_3), -5.1, -5.2 (- SiMe_2); Anal. Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_4\text{Si}$: C, 58.28; H, 7.47; N, 10.73. Found; C, 58.16; H, 7.45; N, 10.61.

1,6-アンヒドロ-2-アジド-3-O-tert-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース (**57**)

58 (970mg, 2.48mmol)の CH_2Cl_2 (46.8mL)溶液に TiCl_4 (0.3mL, 2.74mmol)を滴下し、アルゴン気流下、室温で2時間攪拌。氷水にあげ、飽和重曹水、水で順次洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hex:EA)で精製して、**57** (680mg, 100%)を結晶として得た。; $[\alpha]_{\text{D}}^{17}$ -11.8°(c 1.9, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3) δ

5.44 (s, 1H, H-1), 4.53 (bd, 1H, H-5), 4.28 (d, 1H, $J_{6a,6b}$ 6.9 Hz, H-6a), 3.86 (bs, 1H, H-3), 3.77 (t, 1H, $J_{6b,5}$ 6.3 Hz, H-6b), 3.50 (s, 1H, H-4), 3.37 (s, 1H, H-2), 0.91 (s, 9H, tBu), 0.13, 0.11 (each s, 3H \times 2, SiMe₂); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 100.1 (C-1), 76.1, 71.9, 71.0 (C-3, 4, 5), 64.8 (C-6), 62.3 (C-2), 25.5 (-CMe₃), 17.8 (-CMe₃), -5.1, -5.2 (-SiMe₂); Anal. Calcd for C₁₂H₂₃N₃O₄Si : C, 47.82; H, 7.69; N, 13.94. Found; C, 48.06; H, 7.63; N, 13.59.

O-(3,4,6-トリ-*O*-アセチル-2-*O*-レプリノイル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-1,6-アンヒドロ-2-アジド-3-*O*-*tert*-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース (**59**)

53 (650mg, 1.46mmol)のCH₂Cl₂ (13mL)溶液を0°Cに冷却し、30%HBr-AcOH (3.6mL)溶液を滴下。0°Cで30分攪拌後、CH₂Cl₂で希釈し、氷水、飽和重曹水、水で順次洗浄。乾燥、濃縮して3,4,6-トリ-*O*-アセチル-2-*O*-レプリノイル- α -D-ガラクトシルプロミド**54**をシラップとして得た。これのCH₂Cl₂ (8mL)溶液に、アクセプター**57** (1.3g, 4.31mmol)MS4A (2.5g)を加え、アルゴン気流下、室温で1時間攪拌。AgClO₄ (402mg, 1.40mmol)、AgCO₃ (154mg, 0.743mmol)を加え、一晚攪拌。セライトろ過後、CHCl₃で希釈し、飽和重曹水、水で順次洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (3:2 Hex:EA)で精製して、**59** (286mg, 60%)とオルトエステル体**60** (154mg, 33%)をシラップとして得た。また、未反応のアクセプター**57**を1.09g回収した。; [α]_D¹⁷ +3.4°(c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.46 (s, 1H, H-1), 5.40 (bd, 1H, $J_{4,3}$ 3.6 Hz, H-4'), 5.26 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 7.9, $J_{2,3}$ 10.2 Hz, H-2'), 5.07 (dd, 1H, H-3'), 4.66 (d, 1H, H-1'), 4.59 (bd, 1H, $J_{5,6b}$ 6.2 Hz, H-5), 4.16–4.13 (m, 3H, H-6a,6'a,6'b), 3.99 (bs, 1H, H-3), 3.93 (dt, 1H, $J_{5,6}$ 6.9 Hz, H-5'), 3.77 (t, 1H, $J_{6b,5} = J_{6b,6a}$ 6.6 Hz, H-6b), 3.60 (s, 1H, H-4), 3.04 (s, 1H, H-2), 2.83–2.50 (m, 4H, C(=O)CH₂CH₂C(=O)), 2.16, 2.16, 2.04, 2.03 (each s, 3 H \times 4, Ac \times 3, CH₂C(=O)CH₂-), 0.90 (s, 9H, tBu), 0.11 (s, 6H, SiMe₂ \times 2); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 206.4, 171.1, 170.4, 170.4, 170.2 (C=O), 100.7, 99.7 (C-1, 1'), 77.2, 73.3, 71.1, 70.9, 70.7, 68.8, 67.1 (C-3,4,5,2',3',4',5'), 64.8, 61.4 (C-6, 6'), 61.7 (C-2), 37.8, 27.8 (Lev), 29.8 (Lev), 25.6 (-CMe₃), 20.7, 20.6 (Ac), 17.8 (-CMe₃), -5.0, -5.3 (-SiCH₃); Anal. Calcd for C₂₉H₄₃N₃O₁₄Si : C, 50.64; H, 6.59; N, 6.11. Found; C, 50.81; H, 6.66; N, 5.56.

O-(3,4,6-トリ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-1,6-アンヒドロ-2-アジド-3-*O*-*tert*-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース (**62**)

59 (590mg, 0.858mmol)のEtOH (50mL)溶液に、H₂NNH₂•AcOH (237mg, 2.57mmol)を加え、室温で1時間半攪拌後、CHCl₃で希釈し、飽和重曹水、飽和食塩水で順次洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (3:2 Hex:EA)で精製して、**62** (479mg, 88%)をシラップとして得た。; [α]_D¹⁷ -8.1°(c 2.2, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.54 (s, 1H, H-1), 5.40 (bd, 1H, $J_{4,3}$ 3.3 Hz, H-4'), 4.96 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 10.9 Hz, H-3'), 4.69 (bd, 1H, $J_{5,6b}$ 5.9 Hz, H-5), 4.49 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.6 Hz, H-1'), 4.22 (dd, 1H, $J_{6a,6b}$ 6.9 Hz, H-6a), 4.14–4.12 (m, 2H, H-6'a, 6'b), 4.09 (bs, 1H, H-3), 3.92 (bt, 1H, $J_{5,6}$ 7.3 Hz, H-5'), 3.89 (dd, 1H, H-2'), 3.79 (t, 1H, $J_{6b,5} = J_{6b,6a}$ 6.6 Hz, H-6b), 3.66 (s, 1H, H-4), 2.99 (s, 1H, H-2), 2.15, 2.05, 2.04 (each s, 3H \times 3, Ac \times 3), 0.90 (s, 9H, tBu), 0.11 (s, 6H, SiMe₂); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.4, 170.2 (C=O), 101.9, 100.9 (C-1, 1'), 77.3, 73.2, 72.0, 71.2, 71.0, 68.7, 67.1 (C-3,4,5,2',3',4',5'), 64.5, 61.5 (C-6, 6'), 61.5 (C-2), 25.6 (-CMe₃), 20.8, 20.7, 20.7 (Ac), 17.8 (-CMe₃), -5.05, -5.03 (-SiMe₂); Anal. Calcd for C₂₄H₃₉N₃O₁₂Si : C, 48.89; H, 6.67; N, 7.13. Found; C, 48.70; H, 6.97; N, 6.70.

O-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-1,6-アンヒドロ-2-アジド-3-*O*-*tert*-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース (**63**)

63 (364mg, 0.617mmol)をAc₂O-pyridineでアセチル化し、シリカゲルカラム (3:2 Hex:EA)で精製して、

63 (364mg, 93%)を結晶として得た。; mp 128-129°C; $[\alpha]_D^{19}$ -8.9°(c 1.1, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.47 (s, 1H, H-1), 5.40 (bd, 1H, H-4'), 5.24 (dd, 1H, $J_{2,1'}$ 7.9, $J_{2,3'}$ 10.6 Hz, H-2'), 5.04 (dd, 1H, $J_{3,4'}$ 3.3 Hz, H-3'), 4.67 (d, 1H, H-1'), 4.56 (bd, 1H, H-5), 4.16-4.13 (m, 3H, H-6a, 6'a, 6'b), 3.97 (bs, 1H, H-3), 3.92 (dt, 1H, H-5'), 3.77 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 6.3 Hz, $J_{6b,6a}$ 6.9 Hz, H-6b), 3.60 (s, 1H, H-4), 3.05 (s, 1H, H-2) 2.17, 2.07, 2.04, 1.99 (each s, 3H×4, Ac×4), 0.90 (s, 9H, tBu), 0.11 (s, 6H, SiMe₂×2); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.4, 170.3, 169.3 (C=O), 100.8, 99.5 (C-1, 1'), 77.1, 73.2, 71.1, 71.0, 68.7, 67.0 (C-3,4,5,2',3',4',5'), 64.8, 61.4 (C-6, 6'), 61.8 (C-2), 25.6 (-CMe₃), 20.7, 20.7, 20.6 (Ac), 17.8 (-CMe₃), -5.0, -5.3 (-SiMe₂); Anal. Calcd for C₂₆H₄₁N₃O₁₃Si: C, 49.44; H, 6.54; N, 6.65. Found; C, 50.04; H, 6.66; N, 5.94.

O-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-1,6-アンヒドロ-2-アジド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノース (**64**)

63 (310mg, 0.491mmol)のTHF (42mL)溶液に、AcOH 1滴入れ、0°Cに冷却し、Bu₄NFの1 M THF (1.7mL)溶液を滴下。30分間攪拌し、そのまま濃縮し、シリカゲルカラム (1:2 Hex:EA)で精製して、**64** (254mg, 100%)をシラップとして得た。; $[\alpha]_D^{19}$ -20.1°(c 0.88, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.40 (bd, 1H, $J_{4,3'}$ 3.3 Hz, H-4'), 5.31 (s, 1H, H-1), 5.28 (dd, 1H, $J_{2,1'}$ 8.2, $J_{2,3'}$ 10.2 Hz, H-2'), 5.03 (dd, 1H, H-3'), 4.62 (d, 1H, H-1'), 4.46 (bd, 1H, $J_{5,6b}$ 5.3 Hz, H-5), 4.23-4.08 (m, 2H, H-6'a,6'b), 4.01-3.96 (m, 1H, H-5'), 3.85-3.81 (m, 2H, H-3,6a), 3.73 (dd, 1H, $J_{6b,6a}$ 7.6 Hz, H-6b), 3.49 (d, 1H, $J_{4,3}$ 5.6 Hz, H-4), 3.28 (d, 1H, $J_{2,3}$ Hz, H-2) 2.18, 2.09, 2.07, 2.00 (each s, 3H×4, Ac×4); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.5, 170.2, 170.1, 169.3 (C=O), 101.8, 101.5 (C-1, 1'), 85.3, 76.2, 72.4, 71.4, 70.7, 68.7, 67.0 (C-3,4,5,2',3',4',5'), 67.3, 62.0 (C-6, 6'); 64.8 (C-2), 20.7, 20.6, 20.5 (Ac).

O-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ-α-L-フコピラノシル)-(1→2)-*O*-(3,4,6-トリ-*O*-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-1,6-アンヒドロ-2-アジド-3-*O*-tert-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ-β-D-グルコピラノース (**65**)

ドナー**23**(113mg, 0.251mmol)、アクセプター**62** (229mg, 0.388mmol)のCH₂Cl₂ (6.5mL)溶液に砕いたMS4A (1.3 g)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃•OEt₂ (10μL, 80μmol)のCH₂Cl₂ (2mL)溶液を滴下。30分後、Et₃N (35μL, 0.25mmol)を加えて中和。CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hex:EA)で精製して、**65** (165mg, 75%)をシラップとして得た。; $[\alpha]_D^{17}$ -105.3°(c 2.1, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.45-5.41 (m, 3H, H-1,3",4"), 5.32 (bd, 1H, $J_{4,3'}$ 3.3 Hz, H-4'), 5.26 (bd, 1H, H-2"), 5.21 (d, 1H, $J_{1,2'}$ 2.6 Hz, H-1"), 5.05 (dd, 1H, $J_{3,2'}$ 9.9 Hz, H-3'), 4.67 (bd, 1H, $J_{5,6b}$ 6.3 Hz, H-5), 4.57 (d, 1H, $J_{1,2'}$ 7.9 Hz, H-1'), 4.29 (dd, 1H, H-2'), 4.16-4.12 (m, 3H, H-6a,6'a,6'b), 4.10-4.00 (m, 2H, H-3,5"), 3.90 (dt, 1H, $J_{5,6'}$ 6.6 Hz, H-5'), 3.81 (t, 1H, $J_{6b,6a}$ 6.9 Hz, H-6b), 3.54 (s, 1H, H-4), 3.18 (s, 1H, H-2), 2.171, 2.166, 2.04, 2.00, 1.99, 1.98 (each s, 3 H×6, Ac×6), 1.14 (d, 3H, $J_{6',5'}$ 6.9 Hz, H-6"), 0.91 (s, 9H, tBu), 0.12 (s, 6H, SiMe₂); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.6, 170.3, 170.2 (C=O), 102.1, 100.6 (C-1, 1'), 79.8 (C-1"), 79.4, 74.4, 73.9, 73.3, 71.8, 71.0, 70.7, 68.3, 67.2 (C-3,4,5,2',3',4',5',2",3",4"), 64.9, 61.1 (C-6,6'), 62.7 (C-2), 34.1 (C-5"), 29.7, 29.6, 25.6 (-CMe₃), 20.9, 20.8 (Ac), 17.7 (-CMe₃), 15.9 (C-6"), -4.7, -5.2 (-SiMe₂); Anal. Calcd for C₃₆H₅₅O₁₈N₃SSi: C, 49.25; H, 6.31; N, 4.79. Found; C, 49.80; H, 6.66; N, 4.40.

O-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-[*O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ-α-L-フコピラノシル)-(1→3)]-1,6-アンヒドロ-2-アジド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノース (**66**)

ドナー **23** (20mg, 44.6 μ mol)、アクセプター **64** (25mg, 48.3 μ mol) の CH_2Cl_2 (1mL) 溶液に、砕いた MS4A (200mg) を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。 -20°C に冷却し、 $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (1.8 μ L, 15 μ mol) の CH_2Cl_2 (0.35mL) 溶液を滴下。30分後、中和及び未反応のアクセプターの分離のため、pyridine、TMSCl を加えた。 CHCl_3 で希釈し、セライトろ過後、ろ液を飽和食塩水で2回洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (1:1 Hex:EA) で精製して、**66** (19mg, 54%) をシラップとして得た。; $[\alpha]_D^{19} = -128.8^\circ$ (c 1.3, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.50 (bs, 1H, H-4''), 5.45 (s, 1H, H-1), 5.41 (bd, 1H, $J_{4,3}$ 3.6 Hz, H-4'), 5.30 (m, 2H, H-2'', 3''), 5.23 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 7.9, $J_{2,3}$ 10.5 Hz, H-2'), 5.05 (dd, 1H, H-3'), 5.01 (bs, 1H, H-1''), 4.72 (d, 1H, H-1'), 4.61 (bd, 1H, $J_{5,6}$ 5.6 Hz, H-5), 4.20–4.16 (m, 3H, H-3, 6'a, 6'b), 4.08, (d, 1H, $J_{6a,6b}$ 6.9 Hz, H-6a), 3.94 (dt, 1H, $J_{5,6}$ 6.6 Hz, H-5'), 3.82 (bs, 1H, H-4), 3.77 (dd, 1H, H-6b), 3.54 (q, 1H, H-5''), 3.05 (s, 1H, H-2), 2.18 (s, 6H, Ac \times 2), 2.07 (s, 9H, Ac \times 3), 2.00 (s, 6H, Ac \times 2), 1.19 (d, 3H, $J_{6',5'}$ 7.3 Hz, H-6''); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 170.7, 170.6, 170.4, 170.3, 170.2, 170.0, 169.2 (C=O), 100.5, 99.8 (C-1, 1'), 78.3 (C-1''), 77.3, 75.5, 74.3, 73.8, 72.5, 71.2, 70.9, 68.9, 68.5, 66.9 (C-3, 4, 5, 2', 3', 4', 5', 2'', 3'', 4''), 65.2, 61.3 (C-6, 6'), 57.6 (C-2), 34.7 (C-5''), 20.8, 20.7, 20.6 (Ac), 15.9 (C-6''); Anal. Calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_{19}\text{S}$: C, 47.00; H, 5.38; N, 5.21. Found; C, 47.14; H, 5.53; N, 4.66.

O-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-トリ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-1,6-ジ-*O*-アセチル-2-アジド-3-*O*-tert-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- α / β -D-グルコピラノース (**67**)

65 (21.8mg, 24.8 μ mol) の Ac_2O (0.25mL) 溶液を 0°C に冷却し、1:5 (v/v) TFA- Ac_2O (0.3mL) 溶液を滴下。室温にもどして一晩攪拌。そのまま濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hex : EA) で精製して、**67** (25mg, α : β = 1:1, 100%) を結晶として得た。; mp 107-109 $^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 6.28 (d, 0.5H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1 α), 5.49–5.47 (m, 1.5H, H-1 β , 4''), 5.30 (bd, 1H, H-4''), 5.22–5.12 (m, 3H, H-1'', 2'', 3''), 5.03–4.99 (m, 1H, H-3'), 4.53–4.49 (m, 1H, H-6a), 4.43 (d, 0.5H, $J_{1,2}$ 7.6 Hz, H-1' α), 4.40 (d, 0.5H, H-1' β), 4.31–3.56 (m, 9H, H-3, 4, 5, 6b, 2', 5', 6'a, 6'b, 5''), 3.48 (dd, 0.5H, $J_{2,3}$ 9.6 Hz, H-2 α), 3.38 (t, 0.5H, $J_{2,1}$ 6.6 Hz, H-2 β), 2.18–1.96 (m, Ac \times 8), 1.17 (d, 1.5H, $J_{6',5'}$ 7.3 Hz, H-6' β), 1.16 (d, 1.5H, H-6' α), 0.95, 0.94 (each s, 4.5H \times 2, tBu), 0.25, 0.22, 0.18, 0.16 (each s, 1.5H \times 4, SiMe₂); ; Anal. Calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{61}\text{N}_3\text{O}_{21}\text{SSi}$: C, 49.02; H, 6.27; N, 4.29. Found; C, 48.80; H, 6.23; N, 4.24.

O-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 2)-(3,4,6-トリ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-6-*O*-アセチル-2-アジド-3-*O*-tert-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- α -D-グルコピラノシル トリクロロアセトイミダート (**68 α**)

67 (143mg, 0.146mmol) の DMF (3mL) 溶液に、 $\text{H}_2\text{NNH}_2\cdot\text{AcOH}$ (27mg, 0.293mmol) を加え、 50°C で1時間攪拌。EtOAc で希釈し、飽和食塩水で3回洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (3:2 Hex:EA) で精製して、1-OH体 (118mg, 86%) を結晶として得た。m.p. 111-113 $^\circ\text{C}$; Anal. Calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{59}\text{N}_3\text{O}_{20}\text{SSi}$: C, 48.66; H, 6.34; N, 4.48. Found; C, 49.03; H, 6.34; N, 4.33. これ (33mg, 30.5 μ mol) の CH_2Cl_2 (0.4mL) 溶液に、 CCl_3CN (50 μ L) を加え、 0°C で DBU を1滴加えた。室温で一晩攪拌し、反応液をシリカゲルカラムに充填し、(3:2 Hex:EA) 精製して、**68** (34mg, α : β = 7:1, 93%) をシラップとして得た。次の反応には α 体のみをシリカゲルカラムにより分離して用いた。; α : $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 8.75 (s, 1H, NH), 6.55 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 5.41 (bs, 1H, H-4''), 5.29 (bd, 1H, $J_{4,3}$ 3.0 Hz, H-4'), 5.22–5.12 (m, 2H, H-2'', 3''), 5.16 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.3 Hz, H-1''), 5.01 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.9 Hz, H-3'), 4.59 (bd, 1H, $J_{6a,6b}$ 10.6 Hz, H-6a), 4.43 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.6 Hz, H-1'),

4.30–4.05 (m, 5H, H-5,6b,2',6'a,6'b), 3.92–3.76 (m, 3H, H-3,4,5'), 3.62 (dq, 1H, H-5"), 3.60 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 8.9 Hz, H-2), 2.17, 2.14, 2.12, 2.05, 2.01, 1.99, 1.94 (each s, 3 H×7, Ac×7), 1.16 (d, 3H, H-6"), 0.96 (s, 9H, tBu), 0.26, 0.15 (SiMe₂).

8-メトキシカルボニルオクタール *O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1→2)-(3,4,6-トリ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-6-*O*-アセチル-2-アジド-3-*O*-*tert*-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド (**69**)

ドナー**68** α (83mg, 76 μ mol)、8-メトキシカルボニルオクタノール (45mg, 239 μ mol)のCH₂Cl₂ (4mL)溶液に、砕いたMS4A (500mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃•OEt₂ (3 μ L, 24 μ mol)のCH₂Cl₂ (2mL)溶液を滴下。1時間後、Et₃N (11 μ L, 76 μ mol)を加えて中和。CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hex:EA) で精製して、**69** (77mg, 91%)をシラップとして得た。; $[\alpha]_D^{19}$ -96.3°(c 1.4, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.49 (bs, 1H, H-4"), 5.28 (bd, 1H, $J_{4,3}$ 3.6 Hz, H-4'), 5.21–5.20 (m, 2H, H-2",3"), 5.12 (bs, 1H, H-1"), 5.01 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.9 Hz, H-3'), 4.54 (bd, 1H, $J_{6a,5}$ 10.2 Hz, H-6a), 4.42 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.6 Hz, H-1'), 4.25–4.04 (m, 5H, H-1,6b,2',6'a,6'b), 3.95–3.87 (m, 1H, -CH₂O-), 3.81–3.76 (m, 3H, H-3,4,5'), 3.66 (s, 3H, -OMe), 3.62–3.51 (m, 2H, H-5", -CH₂O-), 3.43 (ddd, 1H, H-5), 3.22 (dd, 1H, H-2), 2.30 (t, 2H, J 7.3 Hz, -CH₂CO-), 2.18, 2.13, 2.04, 2.01, 1.98, 1.96 (each s, 3H, 6H, 3H×4, Ac×7), 1.61–1.26 (m, 12H, -(CH₂)₆-), 1.14 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6"), 0.88 (s, 9H, tBu), 0.20, 0.14 (each s, 3H×2, SiMe₂); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.8, 170.7, 170.5, 170.3, 170.0, 169.6 (C=O), 102.4, 100.1 (C-1, 1'), 80.3 (C-1"), 74.7, 74.0, 73.7, 73.0, 72.5, 72.0, 71.3, 70.8, 68.4, 67.9, 67.3 (C-3,4,5,2',3',4',5',2",3",4",-OMe), 70.5 (-OCH₂CH₂-), 62.6, 61.1 (C-6, 6'), 51.4 (C-2), 34.3 (C-5"), 34.1, 29.5, 29.2, 29.1, 25.8, 24.9 (-(CH₂)₆-), 26.0, 25.9 (-CMe₃), 20.9, 20.8, 20.7 (Ac, -CH₂C(=O)-), 18.0 (-CMe₃), 15.7 (C-6"), -3.6, -4.7 (-SiMe₂); Anal. Calcd for C₄₈H₇₇N₃O₂₂SSi: C, 52.02; H, 7.00; N, 3.79. Found; C, 51.76; H, 6.99; N, 3.73.

8-メトキシカルボニルオクタール *O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1→2)-(3,4,6-トリ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-3,6-ジ-*O*-アセチル-2-アジド-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド (**70**)

69 (86mg, 77 μ mol)のTHF (10mL)溶液に、AcOH を1滴入れ、0°Cに冷却し、Bu₄NFの1M THF (0.5mL)溶液を滴下。30分間攪拌し、そのまま濃縮。残渣をAc₂O-pyridineでアセチル化し、シリカゲルカラム (3:2 Hex:EA) で精製して、**70** (55mg, 69%)をシラップとして得た。; $[\alpha]_D^{19}$ -108.4°(c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.48 (bs, 1H, H-4"), 5.30 (bd, 1H, $J_{4,3}$ 3.3 Hz, H-4'), 5.23 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 2.3, $J_{2,3}$ 10.6 Hz, H-2"), 5.16 (bd, 1H, H-3"), 5.07 (d, 1H, H-1"), 5.02 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 10.2, $J_{3,4}$ 3.3 Hz, H-3'), 4.85 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4}$ 9.9 Hz, H-3), 4.48 (bd, 1H, H-6a), 4.39 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.9 Hz, H-1'), 4.35 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.9 Hz, H-1), 4.28 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 5.6, $J_{6b,6a}$ 12.2 Hz, H-6b), 4.18 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 6.6, $J_{6a,6b}$ 10.9 Hz, H-6'a), 4.12–4.04 (m, 2H, H-2',6'b), 3.92 (m, 1H, -CH₂O-), 3.84 (t, 1H, H-5'), 3.79 (t, 1H, $J_{4,5}$ 9.2 Hz, H-4), 3.66 (s, 3H, -OMe), 3.60–3.54 (m, 2H, H-5", -CH₂O-), 3.43 (m, 1H, H-5), 3.23 dd, 1H, H-2), 2.30 (t, 2H, J 7.3 Hz, -CH₂CO-), 2.17, 2.14, 2.07, 2.00, 1.97, 1.96 (each s, 3H, 9H, 3H×5, Ac×8), 1.64–1.26 (m, 12H, -(CH₂)₆-), 1.19 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6"); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.9, 170.7, 170.5, 170.3, 170.0, 170.0, 169.8, 169.7 (C=O), 102.2, 100.1 (C-1,1'), 80.3 (C-1"), 73.7, 73.4, 73.0, 72.6, 71.8, 71.7, 71.3, 70.9, 68.5, 67.3, 63.8 (C-3,4,5,2',3',4',5',2",3",4",-OMe), 70.7 (-OCH₂CH₂-), 62.3, 61.0 (C-6, 6'), 51.5 (C-2), 34.2 (C-5"), 34.2, 29.5, 29.1, 29.0, 25.8, 24.9 (-(CH₂)₆-), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (Ac, -CH₂CO-),

15.5 (C-6").

8-メトキシカルボニルオクチル *O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-トリ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-2-アセトアミド-3,6-ジ-*O*-アセチル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド (**71**)

70 (12.2mg, 11.8mmol)の1:1 (v/v) pyridine-water (1mL)溶液に、 H_2S を5分間吹き込んだ。室温で一晩攪拌し、そのまま濃縮。残渣を Ac_2O -pyridineでアセチル化し、シリカゲルカラム (1:2 Hex:EA)で精製して、**71** (11.8mg, 95%)をシラップとして得た。; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 5.69 (d, 1H, J_{NH_2} 8.9 Hz, NH), 5.50 (bs, 1H, H-4"), 5.30 (bd, 1H, $J_{4,3'}$ 2.6 Hz, H-4"), 5.22 (m, 2H, H-2",3"), 5.11 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4}$ 8.6 Hz, H-3), 5.09 (d, 1H, $J_{1,2'}$ 2.3 Hz, H-1"), 5.04 (dd, 1H, $J_{3,2'}$ 10.2 Hz, H-3'), 4.56–4.53 (m, 1H, H-6a), 4.54 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.3 Hz, H-1), 4.44 (d, 1H, $J_{1,2'}$ 7.6 Hz, H-1'), 4.29 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 5.3, $J_{6b,6a}$ 11.5 Hz, H-6b), 4.19–4.03 (m, 3H, H-2',6'a,6'b), 3.99–3.81 (m, 4H, H-2,4,5',- CH_2O -), 3.67–3.61 (m, 5H, -OMe,H-5,5'), 3.47–3.43 (m, 1H, - CH_2O -), 2.30 (t, 2H, J 7.3 Hz, - CH_2CO -), 2.17, 2.13, 2.13, 2.09, 2.06, 2.00, 1.97, 1.96 (each s, 3H \times 6, 6H, 3H, Ac \times 9), 1.60–1.26 (m, 12H, -(CH_2) $_6$ -), 1.18 (d, 3H, $J_{6',5'}$ 6.9 Hz, H-6").

8-メトキシカルボニルオクチル *O*-(5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-2-アセトアミド-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド (**72**)

71 (8mg, 7.6 μ mol)のMeOH (0.6mL)溶液に触媒量のNaOMeを加えた。室温で6時間半攪拌し、陽イオン交換樹脂Dowex 50W-X8 (H^+ form)で中和。セライトろ過後、濃縮し、Sep-Pak C-18カートリッジで精製し凍結乾燥して、**72** (3.4mg, 62%)をアモルファスな固体として得た。; 1H NMR (D_2O) δ 5.21 (d, 1H, $J_{1,2'}$ 3.2 Hz, H-1"), 4.57 (d, 1H, $J_{1,2}$ 6.4 Hz, H-1'), 4.55 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.4 Hz, H-1), 4.10 (bs, 1H, H-4"), 4.06 (m, 1H, H-6a), 4.05 (dd, 1H, $J_{2',3'}$ 10.2 Hz, H-2"), 4.00–3.92 (m, 4H, H-2',3',4',- CH_2O -), 3.87 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 6.3, $J_{6b,6a}$ 12.1 Hz, H-6b), 3.84 (dd, 1H, $J_{3',4'}$ 2.8 Hz, H-3"), 3.90–3.73 (m, 5H, H-2,4,5',6'a,6'b), 3.74, 3.40 (each s, 3H, -OMe), 3.71 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 8.7, $J_{3,4}$ 10.2 Hz, H-3), 3.67–3.60 (m, 1H, - CH_2O -), 3.56–3.53 (m, 1H, H-5), 3.46 (q, 1H, $J_{5',6'}$ 7.2 Hz, H-5"), 2.44, 2.22 (each t, 2H, J 7.3 Hz, - CH_2CO -), 2.09 (s, 3H, Ac), 1.67–1.35, (m, 12 H, -(CH_2) $_6$ -), 1.27, (d, 3H, H-6").

O-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-[*O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ- α -L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 3)]-1,6-ジ-*O*-アセチル-2-アジド-2-デオキシ- α/β -D-グルコピラノース (**73**)

0°Cに冷却した**66** (19mg, 22.3 μ mol)の Ac_2O (0.25mL)溶液に1:5 (v/v) TFA- Ac_2O (0.3mL)溶液を滴下。室温にもどして一晩攪拌し、そのまま濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hex:EA)で精製して、**73** (20mg, $\alpha:\beta = 3:1$, 94%)をシラップとして得た。; 1H NMR ($CDCl_3$) δ 6.29 (d, 0.75H, H-1 α), 5.60 (bs, 1H, H-4"), 5.51–5.46 (m, 1.25H, H-1 β , 2"), 5.43–5.42 (m, 1H, H-4'), 5.30 (dd, 1H, $J_{3',2'}$ 10.6, $J_{3',4'}$ 3.0 Hz, H-3"), 5.23 (d, 1H, $J_{1,2'}$ 2.6 Hz, H-1"), 5.12–4.96 (m, 2H, H-2',3'), 4.60–4.53 (m, 2H, H-6a, 6'a), 4.46 (d, 0.75H, $J_{1,2'}$ 7.9 Hz, H-1' α), 4.44 (d, 0.25H, H-1' β), 4.32–4.25 (m, 1H, H-6b), 4.19–4.08 (m, 3.75H, H-3 α , 6'b,5',5"), 3.94–3.81 (m, H, H-3 β ,4 α ,5), 3.74–3.69 (m, 0.25H, H-4 β), 3.72 (dd, 0.75H, $J_{2,3}$ 9.9 Hz, H-2 α), 3.62 (dd, 0.25H, H-2 β), 2.22–1.97 (m, Ac \times 9), 1.31 (d, 2.75H, $J_{6',5'}$ 7.3 Hz, H-6" α), 1.27 (d, 0.75H, H-6" β); Anal. Calcd for $C_{36}H_{49}N_3O_{22}S$: C, 47.62; H, 5.44; N, 4.63. Found; C, 47.58; H, 5.47; N, 4.38.

O-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-[*O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ-L-フコピラノシル)-(1→3)]-6-*O*-アセチル-2-アジド-2-デオキシ-α-D-グルコピラノシルトリクロロアセトイミダート (74α)

73 (64mg, 71μmol)のDMF(2mL)溶液に、H₂NNH₂•AcOH (7.8mg, 85μmol)を加えた。50°Cで1時間攪拌後、EtOAcで希釈し、飽和食塩水で3回洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (1:1 Hex:EA)で精製して、1-OH体 (51mg, 83%)をシラップとして得た。これ (32mg, 37μmol)のCH₂Cl₂ (0.5mL)溶液に、CCl₃CN (50μL)を加え、0°CでDBUを1滴加えた。室温で一晩攪拌し、反応液をシリカゲルカラムに充填し、(1:1 Hex:EA)精製して、74α(21mg, 55%)、74β(8 mg, 21%)をそれぞれシラップとして得た。; α: ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.78 (s, 1H, NH), 6.50 (d, 1H, *J*_{1,2} 3.6 Hz, H-1), 5.60 (bs, 1H, H-4"), 5.49 (dd, 1H, *J*_{2,1'} 3.0, *J*_{3',2'} 10.6, H-2"), 5.44 (bd, 1H, *J*_{4,3'} 3.0 Hz, H-4'), 5.31 (dd, 1H, *J*_{3',4'} 3.3 Hz, H-3"), 5.26 (d, 1H, H-1"), 5.09 (dd, 1H, *J*_{2,1'} 7.9, *J*_{2,3'} 10.2 Hz, H-2'), 4.98 (dd, 1H, H-3'), 4.59 (bd, 1H, *J*_{6a,5} 5.3, *J*_{6a,6b} 10.9 Hz, H-6a), 4.58 (dd, 1H, *J*_{3,2} 10.2, *J*_{3,4} 11.2 Hz, H-3), 4.47 (d, 1H, H-1'), 4.30 (dd, 1H, H-6b), 4.28 (t, 1H, *J*_{4,5} 9.2 Hz, H-4), 4.13–3.82 (m, 5H, H-5,5',6'a,6'b,5"), 3.83 (dd, 1H, H-2), 2.20, 2.20, 2.12, 2.09, 2.07, 2.04, 1.97, 1.96 (each s, 3H×8, Ac×8), 1.29 (d, 3H, *J*_{6',5'} 7.3 Hz, H-6").

8-メトキシカルボニルオクタール *O*-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-[*O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ-L-フコピラノシル)-(1→3)]-6-*O*-アセチル-2-アジド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド (75)

ドナー74α(20mg, 20μmol)、8-メトキシカルボニルオクタノール (12mg, 64μmol)のCH₂Cl₂ (1mL)溶液に碎いたMS4A (100mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃•OEt₂ (0.8μL, 6.4μmol)のCH₂Cl₂ (0.5 mL)溶液を滴下。1時間後、Et₃N (3μL, 22 μmol)を加えて中和。CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム (1:1 Hex:EA)で精製して、75(13mg, 64%)をシラップとして得た。; [α]_D²⁵ -32.8°(c 0.4, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.60 (bs, 1H, H-4"), 5.46 (d, 1H, *J*_{1',2'} 3.0 Hz, H-1"), 5.43 (bd, 1H, H-4'), 5.41 (dd, 1H, H-2"), 5.29 (dd, 1H, *J*_{3',2'} 10.6, *J*_{3',4'} 3.3 Hz, H-3"), 5.05 (dd, 1H, *J*_{2,1'} 7.9, *J*_{2,3'} 10.2 Hz, H-2'), 4.98 (dd, 1H, *J*_{3',4'} 3.3 Hz, H-3'), 4.62 (bd, 1H, *J*_{6a,6b} 10.6 Hz, H-6a), 4.54 (dd, 1H, *J*_{6a,5'} 5.9, *J*_{6a,6b} 11.6 Hz, H-6'a), 4.45 (d, 1H, H-1'), 4.29 (d, 1H, *J*_{1,2} 7.9 Hz, H-1), 4.28 (dd, 1H, *J*_{6',5'} 7.3 Hz, H-6'b), 4.11–4.05 (m, 2H, H-6b,5"), 3.92–3.87 (m, 2H, -CH₂O-, H-5'), 3.81 (dd, 1H, *J*_{4,3} 7.6, *J*_{4,5} 8.9 Hz, H-4), 3.75 (t, 1H, *J*_{3,2} 9.6 Hz, H-3), 3.67 (s, 3H, -OMe), 3.55–3.47 (m, 2H, -CH₂O-, H-5), 3.42 (t, 1H, H-2), 2.30 (t, 2H, *J* 7.3 Hz, -CH₂CO-), 2.21, 2.19, 2.14, 2.11, 2.07, 2.05, 1.97, 1.96 (each s, 3H×8, Ac×8), 1.61–1.26 (m, 15H, -(CH₂)₆-, H-6").

8-メトキシカルボニルオクタール *O*-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-[*O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ-L-フコピラノシル)-(1→3)]-2-アセトアミド-6-*O*-アセチル-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド (76)

75 (12mg, 11.6μmol)の1:1 (v/v) pyridine-water (1mL)溶液に、H₂Sを5分間吹き込んだ。室温で一晩攪拌し、そのまま濃縮し、残渣をAc₂O-pyridineでアセチル化し、シリカゲルカラム (3:4 Hex:EA)で精製して、76 (11.8mg, 97%)をシラップとして得た。; ¹H NMR δ (CDCl₃) 5.81 (d, 1H, *J*_{NH,2} 8.9 Hz, NH), 5.56 (bs, 1H, H-4"), 5.43 (bd, 1H, *J*_{4,3'} 2.6 Hz, H-4'), 5.33–5.24 (m, 2H, H-2",3"), 5.14 (d, 1H, *J*_{1',2'} 2.0 Hz, H-1"), 5.10 (dd, 1H, *J*_{2,1'} 7.6, *J*_{2,3'} 10.2 Hz, H-2'), 5.02 (dd, 1H, H-3'), 4.60 (dd, 1H, *J*_{6a,5} 3.6, *J*_{6a,6b} 10.6 Hz, H-6a), 4.51 (d, 1H, *J*_{1,2} 5.9 Hz, H-1), 4.47 (d, 1H, H-1'), 4.42 (dd, 1H, *J*_{6a,5} 6.3, *J*_{6a,6b} 11.2 Hz, H-6'a), 4.26 (dd, 1H, H-6'b), 4.25–4.19

(m, 2H, H-3, 6b), 3.92 (bq, 1H, H-2), 3.90–3.71 (m, 4H, H-4,5',5'',-OCH₂O-), 3.67 (s, 3H, -OMe), 3.67–3.63 (m, 1H, H-5), 3.42–3.36 (m, 1H, -OCH₂O-), 2.30 (t, 2H, *J* 7.3 Hz, -CH₂CO-), 2.21, 2.17, 2.13, 2.10, 2.08, 1.99, 1.96 (each s, 3H×4, 6H×2, 3H, Ac×9), 1.78–1.21 (m, 15H, -(CH₂)₆-, H-6''); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 174.4, 171.0, 170.9, 170.5, 170.4, 170.3, 170.0, 169.7, 169.6 (C=O), 100.3, 100.2 (C-1,1'), 79.8 (C-1''), 74.0, 73.5, 72.8, 72.8, 71.3, 71.2, 70.7, 70.7, 69.1, 68.9, 66.8 (C-3,4,5,2',3',4',5',2'',3'',4'',-OMe), 69.4 (-CH₂O-), 62.7, 60.9 (C-6, 6'), 51.5 (C-2), 34.0 (C-5''), 34.1, 29.7, 29.1, 29.0, 25.8, 24.9 (-(CH₂)₆-), 21.1, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (Ac, -CH₂CO-), 15.8 (C-6'').

8-メトキシカルボニルオクチル *O*-(β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-[*O*-(5-チオ-α-L-フコピラノシル)-(1→3)]-2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド (**77**)

76 (11mg, 11μmol)のMeOH (1mL)溶液に触媒量のNaOMeを加えた。室温で一晩攪拌し、陽イオン交換樹脂 Dowex 50W-X8 (H⁺ form)で中和。セライトろ過後、濃縮し、Sep-Pak C-18カートリッジで精製し、凍結乾燥して、**77** (5. mg, 76 %)をアモルファスな個体として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 4.95 (d, 1H, *J*_{1,2'} 2.9 Hz, H-1''), 4.58 (d, 1H, *J*_{1,2} 8.7 Hz, H-1), 4.47 (d, 1H, *J*_{1,2'} 7.9 Hz, H-1'), 4.23 (t, 1H, *J*_{3,2} = *J*_{3,4} 9.5 Hz, H-3), 4.05 (bs, 1H, H-4''), 4.04 (m, 1H, H-6a), 4.02 (dd, 1H, *J*_{3,2'} 10.2, *J*_{3',4'} 2.6 Hz, H-3''), 3.97–3.88 (m, 7H, H-2,4,6b,4',2'',5'',-CH₂O-), 3.79 (dd, 1H, *J*_{6a,5'} 7.6, *J*_{6a,6b} 11.6 Hz, H-6'a), 3.74 (dd, 1H, H-6'b), 3.72 (s, 3H, -OMe), 3.69 (dd, 1H, *J*_{3,2'} 9.8, *J*_{3',4'} 3.5 Hz, H-3''), 3.65–3.59 (m, 3H, H-5,5',-CH₂O-), 3.49 (dd, 1H, H-2'), 2.42, 2.20 (each t, 2H, *J* 7.4 Hz, -CH₂CO-), 2.05 (s, 3H, Ac), 1.64–1.30 (m, 12H, -(CH₂)₆-), 1.19, (d, 3H, *J*_{6',5'} 7.2 Hz, H-6'').

テキシルジメチルシリル *O*-(2,6-ジ-*O*-ベンゾイル-3,4-*O*-イソプロピリデン-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-2-アジド-6-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド (**82**)

78のパーアセチル体(1.98g, 2.60mmol)のMeOH(26mL)溶液に0.5M MeONa溶液(0.5mL)を滴下。室温で一晩攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮し**78**を得た。これのアセトン(420mL)溶液にFeCl₃(126mg)を加え30分間加熱環流。室温に戻し、10%K₂CO₃(50mL)を加え中和し、アセトンを濃縮。EtOAcで5回抽出し、乾燥、濃縮。シリカゲルカラム(10:1 CHCl₃:MeOH)で精製して**80**(1.43g, 80%)をシラップとして得た。これ(1.1g, 2.00mmol)のpyridine(25mL)溶液に0°CでBzCl(1.39mL, 12.0mmol)を滴下。TLCで反応を追跡しながら30分間攪拌後、CHCl₃で希釈し、飽和食塩水で洗浄後、乾燥、濃縮。シリカゲルカラム(3:1 Hex:EA)で精製して、**82**(1.02g, 59%)をシラップとして得た。

メチル*O*-(2,6-ジ-*O*-ベンゾイル-3,4-*O*-イソプロピリデン-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-2-アジド-6-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド (**83**)

79(987mg, 2.59mmol)のアセトン(250mL)溶液にFeCl₃(60mg)を加え1時間加熱環流。室温に戻し、10%K₂CO₃(50mL)を加え中和し、アセトンを濃縮。EtOAcで20回抽出し、乾燥、濃縮し**81**を得た。これ(639mg, 59%)のPyr.-toluene(9.5-12.6mL)溶液に0°CでBzCl(1.41mL, 12.1mmol)を滴下した。TLCで反応を追跡しながら2.5時間攪拌後、MeOHを加え過剰の試薬を分解し、濃縮、トルエン共沸。EtOAcで抽出し、飽和食塩水で洗浄後、乾燥、濃縮。シリカゲルカラム (2:1 Hex:EA)で精製して、**83**(760mg, 68%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.19-7.29 (m, 15H, Ph×3), 5.34 (t, 1H, *J*_{2,1'} = *J*_{2,3'} = 7.6 Hz, H-2'), 4.92 (dd, *J*_{6a,5'} 2.6, *J*_{6a,6b} 12.2 Hz, H-6a), 4.64-4.18 (m, 6H, H-6b,1',3',4',6'a,6'b), 4.14 (d, 1H, *J*_{1,2} 8.3 Hz, H-1), 3.72-3.66 (bt, 1H,

H-3), 3.56-3.50 (m, 3H, H-4,5,5'), 3.47 (s, 3H, OMe), 3.25 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 9.6 Hz, H-2), 1.64, 1.36 (each s, 3H×2, Isp×2)

テキシルジメチルシリル *O*-(2,6-ジ-*O*-ベンゾイル-3,4-*O*-イソプロピリデン-β-*D*-ガラクトピラノシル)-(1→4)-[*O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ-*L*-フコピラノシル)-(1→3)]-2-アジド-6-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-β-*D*-グルコピラノシド(**84**)

ドナー**23**(160mg, 0.355mmol)、アクセプター**82**(343mg, 0.398 mmol)のCH₂Cl₂(10mL)溶液に、砕いたMS 4A(1.5g)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃•OEt₂ (14μL, 0.114mmol)のCH₂Cl₂溶液(3mL)を滴下。1時間攪拌後、Et₃Nを加えて中和し、CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム(3:1 Hex:EA)で精製して、**84α**(137mg, 34%)、**84β**(106mg, 26%)をそれぞれシラップとして得た。;
84α: [α]_D²³ -34.7 (c 2.0, CDCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.15-7.35 (m, 15H, Ph×3), 5.61 (bs, 1H, H-4''), 5.51 (dd, 1H, $J_{2,1'}$ 2.6, $J_{2,3'}$ 10.9 Hz, H-2''), 5.46 (dd, 1H, $J_{3',4'}$ 2.9 Hz, H-3''), 5.46 (d, 1H, H-1''), 5.22 (t, 1H, $J_{2,1'}$ = $J_{2,3'}$ 7.5 Hz, H-2''), 4.92 (dd, 1H, $J_{6a,5'}$ 7.3, $J_{6a,6b}$ 11.6 Hz, H-6'a), 4.77 (dd, 1H, $J_{6b,5'}$ 6.1, H-6'b), 4.59 (bd, 1H, $J_{6a,6b}$ 11.1 Hz, H-6a), 4.51 (d, 1H, $J_{1,2}$ 6.6 Hz, H-1), 4.49 (d, 1H, H-1'), 4.44 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 4.9 Hz, H-6b), 4.26-4.21 (m, 3H, H-3',4',5''), 4.00 (bt, 1H, H-5''), 3.80 (t, 1H, $J_{4,3}$ = $J_{4,5}$ = 9.3 Hz, H-4), 3.74 (t, 1H, $J_{3,2}$ 9.3 Hz, H-3), 3.47-3.44 (m, 1H, H-5), 3.32 (dd, 1H, H-2), 2.20, 2.08, 1.92 (each, s, 3H×3, Ac×3), 1.59, 1.33 (each, s, 3H×2, Isp×2), 1.31 (d, 3H, $J_{6',5'}$ 7.2 HZ, H-6''), 0.82-0.79 (m, 13H, SiC(CMe)₂CHC(CH₃)₂), 0.10, 0.06 (each s, 3H×2, SiMe₂), 170.9, 170.3, 169.4, 166.0, 165.9, 164.8, 133.4, 133.2, 133.0, 130.3, 129.8, 129.43, 129.36, 129.3, 128.6, 128.4, 128.3, 110.8, 100.7 (C-1,1'), 96.9, 80.7 (C-1''), 77.4, 75.1, 74.3, 73.4, 73.3, 73.2, 73.1, 71.8, 71.1, 69.5, 69.3, 62.8, 62.4, 33.8, 33.7, 27.8, 26.0, 24.7, 20.9, 20.8, 20.5, 19.8, 19.7, 18.4, 18.2, 16.3, -2.4, -3.3; FAB (m/z) 1173.33 (M+Na); **84β**: [α]_D²³ +12.1 (c 3.3, CDCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.05-7.36 (m, 15H, Ph×3), 5.58 (t, 1H, $J_{2,1'}$ = $J_{2,3'}$ 9.8 Hz, H-2''), 5.51 (d, 1H, H-1''), 5.49 (dd, 1H, $J_{4',3'}$ 3.1, $J_{4',5'}$ 1.5 Hz, H-4''), 5.36 (t, 1H, $J_{2,1'}$ = $J_{2,3'}$ 7.5 Hz, H-2''), 5.17 (dd, 1H, H-3''), 4.78 (d, 1H, H-1'), 4.63 (dd, 1H, $J_{6a,5'}$ 5.3, $J_{6a,6b}$ 11.7 Hz, H-6'a), 4.59 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 1.8, $J_{6a,6b}$ 12.4 Hz, H-6a), 4.53 (dd, 1H, $J_{6b,5'}$ 7.1 Hz, H-6'b), 4.43 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.8 Hz, H-1), 4.37 (dd, 1H, $J_{3',4'}$ 5.5 Hz, H-3'), 4.30 (dd, 1H, $J_{4,5'}$ 1.8 Hz, H-4'), 4.24 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 6.6 Hz, H-6b), 4.16-3.92 (m, 1H, H-5'), 3.95 (t, 1H, $J_{4,3}$ = $J_{4,5}$ = 9.8 Hz, H-4), 3.60 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.9 Hz, H-3), 3.51-3.47 (m, 2H, H-5',5''), 3.20 (dd, 1H, H-2), 2.19, 2.18, 1.96 (each, s, 3H×3, Ac×3), 1.61, 1.35 (each, s, 3H×2, Isp×2), 1.22 (d, 3H, $J_{6',5'}$ 7.0 Hz, H-6''), 0.84-0.80 (m, 13H, SiC(CMe)₂CHC(CH₃)₂), 0.08, 0.06 (each s, 3H×2, SiMe₂) 171.0, 170.0, 169.7, 166.2, 166.0, 165.3, 133.4, 133.2, 129.8, 129.7, 129.63, 129.58, 129.4, 128.5, 128.4, 111.2, 97.8, 96.5 (C-1,1'), 81.1(C-1''), 78.1, 76.7, 74.8, 73.8, 73.3, 73.1, 72.7, 72.15, 72.09, 71.6, 67.1, 64.3, 63.2, 36.7, 33.9, 27.4, 26.3, 24.7, 21.1, 20.8, 20.5, 19.9, 19.8, 18.4, 18.3, 16.1, -2.3, -3.4.

メチル *O*-(2,6-ジ-*O*-ベンゾイル-3,4-*O*-イソプロピリデン-β-*D*-ガラクトピラノシル)-(1→4)-[*O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ-*L*-フコピラノシル)-(1→3)]-2-アジド-6-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-β-*D*-グルコピラノシド(**85**)

ドナー**23**(135mg, 0.300mmol)、アクセプター**83**(250mg, 0.341mmol)のCH₂Cl₂(7.0mL)溶液に、砕いたMS4A (400mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃•OEt₂ (12μL, 97μmol)のCH₂Cl₂溶液(0.50mL)を滴下。1時間攪拌後、Et₃Nを加えて中和し、CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム (12:5→3:1 Hex: EA) で精製して、**85α**(33 mg, 11%)、**85β**(crude 44mg)をそれぞれシラップ

として得た。それぞれのCH₂Cl₂(5.0mL)溶液に50%TFA(0.5mL)溶液を滴下。室温で一晩攪拌した後、濃縮しトルエンで共沸。シリカゲルカラム (3:2→3:1 Hex:EA)で精製して、**85α**の脱イソピリデン体(28 mg, 91%)、**85β**の脱イソピリデン体(26mg, 9%, 2steps)をそれぞれシラップとして得た。;**85α**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.16-7.37 (m, 15H, Ph×3), 5.60 (dd, 1H, *J*_{4',3'} 2.7, *J*_{4',5'} 1.7 Hz, H-4"), 5.50 (dd, 1H, *J*_{2',1'} 2.9, *J*_{2',3'} 10.7 Hz, H-2"), 5.47-5.44 (m, 2H, H-1",3"), 5.20 (dd, 1H, *J*_{2',1'} 8.9, *J*_{2',3'} 7.2 Hz, H-2'), 4.90 (dd, 1H, *J*_{6a,5'} 7.2, *J*_{6a,6b} 11.2 Hz, H-6'a), 4.74 (dd, 1H, *J*_{6b,5'} 6.0, H-6'b), 4.60 (dd, 1H, *J*_{6a,5'} 2.0, *J*_{6a,6b} 12.5 Hz, H-6a), 4.48 (d, 1H, H-1'), 4.48 (dd, 1H, *J*_{6b,5'} 3.1 Hz, H-6b), 4.25 (bq, 1H, *J*_{5',6'} 7.0 Hz, H-5"), 4.17 (d, 1H, *J*_{1,2} 8.1 Hz, H-1), 4.20-4.14 (m, 2H, H-3',4'), 3.87 (t, 1H, *J*_{3,2} = *J*_{3,4} = 9.6 Hz, H-3), 3.88-3.85 (m, 1H, H-5'), 3.46 (t, 1H, *J*_{4,5} 9.9 Hz, H-4), 3.48 (s, 3H, OMe), 3.43-3.40 (m, 1H, H-5), 3.39 (dd, 1H, H-2), 2.20, 2.07, 1.91 (each, s, 3H×3, Ac×3), 1.58, 1.31 (each, s, 3H×2, Isp×2), 1.31 (d, 3H, H-6");**85β**の脱イソピリデン体: ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.12-7.29 (m, 15H, Ph×3), 5.49 (dd, 1H, *J*_{2',1'} 9.0, *J*_{2',3'} 10.2 Hz, H-2"), 5.41 (d, 1H, H-1"), 5.40 (bs, 1H, H-4"), 5.23 (dd, 1H, *J*_{2',1'} 8.1, *J*_{2',3'} 9.9 Hz, H-2'), 4.84 (dd, 1H, *J*_{3',4'} 2.7 Hz, H-3"), 4.70-4.67 (m, 2H, H-6'a,6'b), 4.51 (d, 1H, H-1'), 4.45 (dd, 1H, *J*_{6a,5'} 1.8, *J*_{6a,6b} 12.1 Hz, H-6a), 4.39 (dd, 1H, *J*_{6b,5'} 4.6 Hz, H-6b), 4.16 (d, 1H, *J*_{1,2} 7.9 Hz, H-1), 3.99-3.95 (m, 1H, H-4'), 3.78 (bt, 1H, *J*_{5',6'a} = *J*_{5',6'b} = 6.9 Hz, H-5'), 3.70 (t, 1H, *J*_{4,3} = *J*_{4,5} = 9.8 Hz, H-4), 3.67-3.64 (m, 1H, H-3'), 3.56 (t, 1H, *J*_{3,2} 9.3 Hz, H-3), 3.48 (s, 3H, OMe), 3.45 (ddd, 1H, H-5), 3.32 (bq, 1H, H-5"), 3.29 (dd, 1H, H-2), 2.25, 2.23, 1.98 (each, s, 3H×3, Ac×3), 1.16 (d, 3H, *J*_{6',5'} 6.9 Hz, H-6").

メチル *O*-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル-β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-[*O*-(2,3,4-トリ-*O*-アセチル-5-チオ-L-フコピラノシル)-(1→3)]-2-アセトアミド-3,6-ジ-*O*-アセチル-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド(**86**)

85α(28mg, 28.5mmol), **85β**(26mg, 26.5mmol)のそれぞれの脱イソピリデン体の MeOH-CH₂Cl₂(2-0.5mL)溶液に0.5M MeONa溶液(100μL)を滴下。室温で二晩攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮し、トルエンで共沸。Ac₂O-Pyr(0.5-1.0mL)でアセチル化し、シリカゲルカラム (3:2→1:1 Hex:EA)で精製して、ノナアセチル体α (25 mg)、ノナアセチル体β (25mg)をそれぞれシラップとして得た。これの pyridine-water (1-1mL) 溶液に、H₂Sを5分間吹き込んだ。室温で一晩攪拌し、そのまま濃縮。Ac₂O-pyridineでアセチル化し、シリカゲルカラム (2:1 toluene:acetone)で精製して、**86α** (17 mg, 60%, 4steps)、**86β** (12mg, 46%, 4steps)をそれぞれシラップとして得た。;**86α**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 6.07 (d, 1H, *J*_{NH,2} 9.6 Hz, NH), 5.53 (bs, 1H, H-4"), 5.44 (d, 1H, *J*_{4',3'} 3.3 Hz, H-4'), 5.33 (dd, 1H, *J*_{2',1'} 2.6, *J*_{2',3'} 11.2 Hz, H-2"), 5.26 (dd, 1H, *J*_{3',4'} 2.6 Hz, H-3"), 5.17-4.99 (m, 3H, H-2',3',1"), 4.60 (dd, 1H, *J*_{6a,5'} 5.0, *J*_{6a,6b} 11.6 Hz, H-6'a), 4.47 (d, 1H, *J*_{1',2'} 7.9 Hz, H-1'), 4.44 (d, 1H, *J*_{1,2} 4.6 Hz, H-1), 4.39-4.20 (m, 4H, H-3,6a,6b,6'b), 4.16-4.04 (m, 1H, H-2), 3.94-3.87 (m, 2H, H-4,5), 3.83-3.76 (m, 1H, H-5'), 3.65 (bq, 1H, H-5"), 3.41 (s, 3H, OMe); 2.20, 2.17, 2.13, 2.09, 2.07, 2.03, 2.00, 1.96 (each s, 3H×3,6H,3H×4, Ac×9), 1.20 (d, 3H, *J*_{6',5'} 7.3 Hz, H-6");**86β**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 6.30 (d, 1H, *J*_{NH,2} 8.6 Hz, NH), 5.44-5.38 (m, 3H, H-4', 2",4"), 5.15 (dd, 1H, *J*_{2',1'} 7.6, *J*_{2',3'} 10.9 Hz, H-2'), 5.06 (dd, 1H, *J*_{3',4'} 3.3 Hz, H-3'), 4.95 (d, 1H, *J*_{1',2'} 8.6 Hz, H-1"), 4.90 (dd, 1H, *J*_{3',2'} 9.6, *J*_{3',4'} 3.0 Hz, H-3"), 4.65 (d, 1H, *J*_{6a,5'} 3.6 Hz, H-6a), 4.49 (d, 1H, *J*_{1',2'} 7.6 Hz, H-1'), 4.43-4.31 (m, 2H, H-6'a,6'b), 4.20-3.77 (m, 7H, H-1,2,3,4,5,6b,5'), 3.44 (s, 3H, OMe), 3.25 (dq, 1H, H-5"), 2.19, 2.12, 2.10, 2.09, 2.07, 2.00, 1.98 (each s, 6H,3×3,6H,3×2, Ac×9), 1.23 (d, 3H, *J*_{6',5'} 7.3 Hz, H-6").

メチル *O*-(β-D-ガラクトピラノシル)-(1→4)-[*O*-(5-チオ-L-フコピラノシル)-(1→3)]-2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド(**87**)

86 α (17mg, 19 μ mol), **86 β** (12mg, 26.5 μ mol)それぞれのMeOH(1.0mL)溶液に0.5M MeONa溶液(20 μ L)を滴下。室温で一晩攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮。シリカゲルカラム(10:10:1 CHCl₃:MeOH:H₂O)で精製、凍結乾燥して**87 α** (7.6mg, 72%)、**87 β** (4.9mg, 65%)をそれぞれアモルファスな固体として得た。; **87 α** : ¹H NMR (D₂O, 25°C, HOD = 4.8ppm) δ 4.94 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.9 Hz, H-1"), 4.53 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.4 Hz, H-1), 4.47 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.9 Hz, H-1'), 4.24 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 4.08-3.89 (m, 9H, H-3,4,6a,6b,4',2",3",4",5"), 3.80-3.74 (m, 2H, H-6'a,6'b), 3.69 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.9, $J_{3,4}$ 3.5 Hz, H-3'), 3.67-3.63 (m, 2H, H-5,5'), 3.55 (s, 3H, OMe), 3.50 (dd, 1H, H-2'), 2.10 (s, 3H, NAc), 1.20 (d, 3H, $J_{6,5}$ 7.2 Hz, H-6"); ESI Mass (m/z) 582.3 (m+Na); **87 β** : ¹H NMR (D₂O, 35°C, OMe = 3.55ppm) δ 4.82 (d, 1H, $J_{1,2}$ 9.0 Hz, H-1"), 4.60 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.54 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.4 Hz, H-1), 4.08 (dd, $J_{6a,5}$ 2.1, $J_{6a,6b}$ 12.5 Hz, H-6a), 4.02-3.92 (m, 5H, H-3,4,6b,4',4"), 3.89 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 7.0, $J_{6a,6b}$ 11.1 Hz, H-6'a), 3.83-3.73 (m, 4H, H-2,5',6'b,2"), 3.73 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.9, $J_{3,4}$ 3.5 Hz, H-3'), 3.68-3.62 (m, 1H, H-5), 3.59 (dd, 1H, H-2'), 3.55 (s, 3H, OMe), 3.53 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.8, $J_{3,4}$ 3.1 Hz, H-3"), 3.26 (dq, 1H, $J_{5,4}$ 1.5, $J_{5,6}$ 7.0 Hz, H-5"), 2.12 (s, 3H, NAc), 1.27 (d, 3H, H-6"); ESI Mass (m/z) 582.3 (M+Na).

メチル *O*-(3-*O*-スルホ- β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-[*O*-(5-チオ-L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 3)]-2-アセトアミド-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド(**88**)

85 α (48mg, 47 μ mol)のpyridine-water (2.0-2.0mL)溶液に、H₂Sを5分間吹き込んだ。室温で一晩攪拌し、そのまま濃縮。Ac₂O-pyridineでアセチル化し、シリカゲルカラム(3:1 toluene:acetone)で精製して、NHAc体(36mg, 74%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.07-7.26 (m, 15H, Ph \times 3), 6.15 (d, 1H, $J_{NH,2}$ 9.2 Hz, NH), 5.42 (bs, 1H, H-4"), 5.33 (bs, 2H, H-2",3"), 5.26 (t, 1H, $J_{2,1'} = J_{2,3'} = 7.9$ Hz, H-2'), 5.16 (bs, 1H, H-1"), 4.68-4.60 (m, 4H, H-6a,6b,6'a,6'b), 4.50 (d, 1H, H-1'), 4.33 (dd, 1H, H-3'), 4.26 (bd, 1H, H-4'), 4.17-4.09 (m, 4H, H-1,2,3,4), 3.96 (bt, 1H, H-5'), 3.85 (m, 1H, H-5), 3.56 (bq, 1H, H-5"), 3.15 (s, 3H, OMe), 2.16, 2.07, 2.04, 1.93 (each s, 3H \times 4, Ac \times 4), 1.60, 1.35 (each s, 3H \times 2, Isp), 1.04 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6"); これ(36mg, 35 μ mol)のCH₂Cl₂(5.0mL)溶液に50%TFA(0.5mL)溶液を滴下。室温で一晩攪拌した後、濃縮しトルエンで共沸。シリカゲルカラム (2:1 toluene:acetone)で精製して、脱イソピリデン体(20mg, 58%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.10-7.16 (m, 15H, Ph \times 3), 5.67 (d, 1H, $J_{NH,2}$ 9.6 Hz, NH), 5.53 (bs, 1H, H-4"), 5.38 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 10.6, $J_{3,4}$ 2.6 Hz, H-3"), 5.31 (dd, 1H, $J_{2,1'}$ 2.6 Hz, H-3"), 5.24 (dd, 1H, $J_{2,1'}$ 8.2, $J_{2,3'}$ 9.2 Hz, H-2'), 5.17 (d, 1H, H-1"), 4.83 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 7.9, $J_{6a,6b}$ 11.6 Hz, H-6'a), 4.66 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 3.3, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.60 (d, 1H, H-1'), 4.57-4.51 (m, 2H, H-6b,6'b), 4.29 (d, 1H, $J_{1,2}$ 6.6 Hz, H-1), 4.20 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 7.6$ Hz, H-3), 4.11 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7.6 Hz, H-4), 4.04 (dt, 1H, H-2), 3.94-3.91 (m, 2H, H-4',5"), 3.73 (m, 2H, H-5, 3'), 3.56 (bt, 1H, H-5'), 3.28 (s, 3H, OMe), 2.16, 2.05, 2.00, 1.95 (each s, 3H \times 4, Ac \times 4), 1.21 (d, 3H, $J_{6,5}$ 7.3 Hz, H-6"); ; これ(20mg, 20 μ mol)のトルエン-CH₂Cl₂(1.0-1.0mL)溶液に(MeO)₃CMe(50 μ L)とカンファースルホン酸(cat)を加え、室温で20分攪拌。そのまま濃縮して80%酢酸(2.0mL)を加え30分攪拌。そのまま濃縮して、シリカゲルカラム (2:1 toluene:acetone)で精製して、4'-OAc体(19mg, 91%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.10-7.29 (m, 15H, Ph \times 3), 5.62-5.59 (m, 2H, H-4",NH), 5.43 (d, 1H, $J_{4,3'}$ 4.0 Hz, H-4'), 5.34-5.32 (m, 2H, H-2",3"), 5.29-5.19 (m, 2H, 2',1"), 4.69-4.53 (m,5H, H-6a,6b,1',6'a,6'b), 4.28 (d, 1H, $J_{1,2}$ 6.6 Hz, H-1), 4.24 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 7.6$ Hz, H-3), 4.09-3.93 (m, 4H, H-2,4,3',5"), 3.73-3.64 (m, 2H, H-5,5'), 3.29 (s, 3H, OMe), 2.28, 2.17, 2.04, 2.01, 1.93 (each s, 3H \times 5, Ac \times 5), 1.25 (d, 3H, H-6"); ; これ(19mg, 18 μ mol)のDMF(0.5mL)溶液にピリジン-硫酸コンプレックス(15mg, 94 μ mol)加えた。1時間後MeOHを加え、過剰の試薬を分解後、濃縮し、シリカゲルカラム (8:1 CHCl₃:MeOH)で精製して、3'-*O*-スルホ体(18mg)を得た。このMeOH(2.0mL)溶液に0.5M MeONa溶液

(50 μ L)を滴下。一晚攪拌した後、室温で濃縮、シリカゲルカラム (6:4:1 CHCl₃:MeOH:H₂O)で精製し、凍結乾燥して**88**(9.9mg, 82%)のアモルファスな固体をナトリウム塩として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 4.95 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.1 Hz, H-1''), 4.60 (d, $J_{1,2}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.53 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.4 Hz, H-1), 4.37 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.8, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.31 (d, 1H, H-4'), 4.25 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 4.09-3.92 (m, 8H, H-2,4,6a,6b,2'',3'',4'',5'') 3.81-3.76 (m, 2H, H-6'a,6'b), 3.72-3.65 (m, 2H, H-5,5'), 3.65 (dd, 1H, H-2'), 3.55 (s, 3H, OMe), 2.06 (s, 3H, NAc), 1.20 (d, 3H, $J_{6',5'}$ 7.2 Hz, H-6'').

メチル *O*-(β -D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-[*O*-(L-フコピラノシル)-(1 \rightarrow 3)]-2-アセトアミド-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド(**89**)

Schmidtらの方法を参考に合成した。; **89** α : ¹H NMR (D₂O, 25°C, HOD = 4.8ppm) δ 5.14 (d, 1H, $J_{1,2}$ 4.0 Hz, H-1''), 4.87 (q, 1H, $J_{5',6'}$ 6.8 Hz, H-5''), 4.52 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.1 Hz, H-1), 4.49 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.9 Hz, H-1'), 4.06 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 2.1, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6a), 3.99-3.88 (m, 6H, H-2,3,4,6b,4',3''), 3.83 (d, 1H, $J_{4',3'}$ 2.6 Hz, H-4''), 3.81-3.71 (m, 3H, H-6'a,6'b,2''), 3.70 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.8, $J_{3,4}$ 3.5 Hz, H-3'), 3.65-3.62 (m, 2H, H-5,5'), 3.56-3.52 (m, 1H, H-2'), 3.55 (s, 3H, OMe), 2.07 (s, 3H, NAc), 1.22 (d, 3H, H-6''); ESI Mass (m/z) 566.3 (M+Na); **89** β : ¹H NMR (D₂O, 18°C, OMe = 3.5ppm) δ 4.53 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.8 Hz, H-1''), 4.48 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.4 Hz, H-1), 4.38 (d, 1H, $J_{1,2}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.03 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 2.1, $J_{6a,6b}$ 12.4 Hz, H-6a), 3.96-3.72 (m, 9H, H-2,3,4,6b,5',6'a,6'b,4'',5''), 3.70 (d, 1H, H-4'), 3.67 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.9, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3''), 3.63 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 9.9, $J_{3,4}$ 3.5 Hz, H-3'), 3.58 (ddd, 1H, $J_{5,6b}$ 4.6, $J_{5,4}$ 9.8 Hz, H-5), 3.55 (dd, 1H, H-2''), 3.50 (s, 3H, OMe), 3.47 (dd, 1H, H-2'), 2.04 (s, 3H, NAc), 1.25 (d, 3H, $J_{6',5'}$ 6.4 Hz, H-6''); ESI Mass (m/z) 566.3 (M+Na).

Lex-BSA固相化プレートと抗Le^x抗体を用いたEIA系での擬似オリゴ糖の阻止活性測定

1. Le^x-BSAのマイクロタイタープレートへの固相化

Le^x-BSA(Gal β 1 \rightarrow 4[Fuc α 1 \rightarrow 3]GlcNAc β -O(CH₂)₈CO)₁₅₋₂₀-BSA)をPBSで1 μ g/mlに希釈した後、100 μ L/wellで4°Cで一晩固相化した。PBS-0.05%Tween20で洗浄後、1%BSA+5%sorbitol/PBSを300mL/well添加し、4°Cで一晩ブロッキングした。ブロッキング液を除去後、風乾し、4°Cで保存した。おおよそLe^x抗原1.5pmol/well固相化した。

2. 抗Le^x抗体を用いたEIA

抗Le^x抗体を0.5%BSA+0.05%Tween20を含むPBSで希釈し、100 μ L/well添加し、25°Cで90分振とうした。3回洗浄後、HRP標識抗マウスIgM抗体100 μ L/wellを加え、25°Cで90分振とうした。3回洗浄後、OPDで発色した。これにより標準曲線が得られた。

3. 擬似糖による阻害実験

標準曲線から阻害実験を行う際の抗体の希釈率を300倍と決めた。各wellに抗体と同じ緩衝溶液で希釈した擬似糖を50 μ L/well加え、そこに150倍に希釈した抗体を50 μ L/well加えた。以下は2.と同じ操作を行った。

実測値(OD490/690)

		阻害剤濃度 (mM)					
89 α	Gal β 1 \rightarrow 4(Fuc α 1 \rightarrow 3)GlcNAc β OMe	5	2.5	1.25	0.625	0.3125	0.1563
89 β	Gal β 1 \rightarrow 4(Fuc β 1 \rightarrow 3)GlcNAc β OMe	0.409	0.430	0.506	0.591		0.789
87 α	Gal β 1 \rightarrow 4(5S Fuc α 1 \rightarrow 3)GlcNAc β OMe	0.946	0.957	0.917	0.998	0.959	0.970
87 β	Gal β 1 \rightarrow 4(5S Fuc β 1 \rightarrow 3)GlcNAc β OMe	0.789	0.848	0.867	0.965	0.957	1.0
		0.902	0.896	0.943	0.981	1.017	1.039

1,2,3,4-テトラ-*O*-ベンゾイル-5-チオ- α/β -L-フコピラノース (9 1)

0°Cに冷却した5-チオ-L-フコピラノース (122mg, 0.677mmol)のpyridine (3mL)溶液にBzCl (0.7mL, 4.11mmol)を滴下。室温にもどして一晩攪拌。CHCl₃で希釈し、1 M HCl、水で順次洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hexane:EA)で精製して、**91** (316mg, 78 %)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ α : 8.19–7.21 (m, 20H, Ph \times 4), 6.61 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.0 Hz, H-1), 6.28–5.99 (m, 3H, H-2,3,4), 3.99 (bq, 1H, H-5), 1.31 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6) ; β : 6.46 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.9 Hz, H-1), 1.42 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6); Anal. Calcd for C₃₄H₂₈O₈S : C, 68.44; H, 4.73; S, 5.37. Found; C, 68.24; H, 4.76; S, 4.20.

1-*O*-アセチル-2,3,4-トリ-*O*-ベンゾイル-5-チオ- α -L-フコピラノース (9 2)

91 (66.8mg, 0.112mmol)のAc₂O (2mL)溶液にHClO₄ (70%)を1滴加え、室温で1時間攪拌。CHCl₃で希釈し、水、飽和重曹水で順次洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hex:EA)で精製して、**92** (54.5mg, 91%)を結晶として得た。; mp 148-150 °C (from Et₂O); [α]_D²¹ -366.9 (c 1.01, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.16–7.20 (m, 15H, Ph \times 3), 6.40 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.0 Hz, H-1), 6.04–5.90 (m, 3H, H-2,3,4), 3.89 (bq, 1H, H-5), 2.20 (s, 3H, Ac), 1.29 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6); ¹³C NMR δ 169.1, 165.9, 165.6, 165.5 (C=O), 133.5, 133.3, 133.2, 129.9, 129.6, 129.5, 129.2, 129.0, 128.6, 128.3, 128.2 (Ph), 73.1 (C-1), 72.4, 70.4, 70.7 (C-2,3,4), 36.3 (C-5), 20.9 (Ac), 15.9 (C-6); Anal. Calcd for C₂₉H₂₆O₈S : C, 65.16; H, 4.90; S, 6.00. Found; C, 64.94; H, 4.82; S, 5.25.

2,3,4-テトラ-*O*-ベンゾイル-5-チオ- α/β -L-フコピラノース (9 3)

92 (53mg, 99 μ mol)のTHF (2mL)溶液にpiperidine (0.2mL, 2.02mmol)を加え、室温で一晩攪拌。そのまま濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hex:EA)で精製して、**93** (32mg, $\alpha:\beta$ = 10:1, 68%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ α : 8.22–7.18 (m, 15H, Ph \times 3), 6.05 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 3.0, $J_{2,3}$ 10.6 Hz, H-2), 5.98 (bs, 1H, H-4), 5.91 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 2.6 Hz, H-3), 5.40 (d, 1H, H-1), 4.00 (bq, 1H, H-5), 1.29 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6) ; β : 5.85 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 9.6, $J_{2,3}$ 10.6 Hz, H-2), 5.52 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 3.0 Hz, H-3), 5.19 (d, 1H, H-1), 3.55 (bq, 1H, H-5).

2,3,4-トリ-*O*-ベンゾイル-5-チオ-L-フコピラノシル ジベンジルリン酸(9 5)

1) 1-OH体に対するリン酸化

(BnO)₂P(O)H (279mg, 1.06mmol)のCCl₄ (3mL)溶液にアルゴン気流下、0°CでNCS (165mg, 1.06mmol)を少しずつくわえ、5時間攪拌。白色沈殿をろ過し、ろ液を室温で濃縮して(BnO)₂P(O)Clを調製。**93** (79.4mg, 0.161 mmol, $\alpha:\beta$ = 1:1)のTHF (9 mL)溶液にアルゴン気流下、-78°Cで1.6 M nBuLi (0.17mL, 0.272mmol)を滴下。2分後、先に調製した(BnO)₂P(O)ClのTHF (2.4 mL)溶液をゆっくり滴下。15分後、Et₂Oで希釈し、飽和食塩水で3回洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム (3:1 Hex:EA)で精製して、**95 α** (32mg, 31%)、**95 β** (20mg, 16%)をそれぞれシラップとして得た。

2) プロム体に対するリン酸化

1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl-5-thio-L-fucose(100mg, 290 μ mol)のMeOH(3mL)溶液に0.5M MeONa溶液(50 μ L)を滴下。室温で一晩攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮。これのpyridine(3mL)溶液に0°CでBzCl(0.2mL, 1.72mmol)を滴下。室温で一晩攪拌後、CHCl₃で希釈し、1M HCl水で洗浄後、乾燥、濃縮。シリカゲルカラム(10:1 Hex:EA)で精製して、パーベンゾイル体をシラップとして得た。これのCH₂Cl₂溶液(5mL)に氷冷下、30% HBr-AcOH溶液(1.5mL)を滴下し、二時間攪拌した後、氷水にあげCHCl₃で抽出し飽和重曹水で洗浄し、乾

燥、濃縮してプロム体を得た。このbenzene(11mL)溶液にAgOP(O)(OBn)₂ (150mg, 390 μmol)を加えアルミホイルで巻いて遮光したあと、90°Cで加熱環流。1時間攪拌した後、室温にもどしセライトろ過後、濃縮。シリカゲルカラム(3:1 Hex:EA)で精製し、**95β**(78mg, 36%),**95α**(112 mg, 52%)をそれぞれシラップとして得た。: **95β** : $[\alpha]_D^{25}$ -147.7 (c 1.38, CDCl₃); ¹H NMR (270 MHz, CDCl₃) δ 8.30-6.94 (m, 25H, Ph×5), 6.12 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 9.2, $J_{2,3}$ 9.6 Hz, H-2), 5.92 (dd, 1H, $J_{4,3}$ 2.6, $J_{4,5}$ 1.7 Hz, H-4), 5.86 (dd, 1H, $J_{1,P}$ 8.6 Hz, H-1), 5.43 (dd, 1H, H-3), 5.09, 5.02, 4.79, 4.68 (each dd, 4H, $J_{CH_2,P}$ 7.3, J_{gem} 11.6 Hz, PhCH₂×4), 3.59 (dq, 1H, H-5), 1.35 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6); ¹³C NMR (67.8 MHz, CDCl₃) δ 165.77, 165.46, 165.34, 135.35, 135.24, 133.50, 133.24, 129.99, 129.74, 129.69, 129.22, 128.95, 128.70, 128.60, 128.48, 128.34, 128.30, 128.23, 127.85, 127.46, 76.43, 72.76, 72.13, 72.02, 71.90, 69.76, 69.67, 69.50, 69.44, 38.20, 16.03; ³¹P NMR (109.4 MHz, CDCl₃) δ -1.64; Anal. Calcd for C₄₁H₃₇O₁₀PS: C, 65.42; H, 4.95. Found: C, 65.48; H, 5.31; **95α** : $[\alpha]_D^{25}$ -254.3 (c 1.26, CDCl₃); ¹H NMR (270 MHz, CDCl₃) δ 8.14-7.18 (m, 25H, Ph×5), 5.98 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.0, $J_{1,P}$ 7.9 Hz, H-1), 5.93-5.91 (m, 3H, H-2,3,4), 3.69 (bq, 1H, H-5), 1.20 (d, 3H, $J_{6,5}$ 6.9 Hz, H-6); ¹³C NMR (67.8 MHz, CDCl₃) δ 165.88, 165.73, 165.50, 135.49, 135.29, 133.53, 133.28, 133.15, 129.96, 129.70, 129.63, 129.27, 129.04, 128.95, 128.66, 128.52, 128.32, 128.25, 127.82, 127.75, 78.53, 78.42, 73.17, 71.39, 71.30, 69.54, 69.36, 35.99, 15.80; ³¹P NMR (109.4 MHz, CDCl₃) δ -1.64.

GDP-5-チオ-L-フコース(**98**)

95β(85mg, 112 μmol)のMeOH(3.0mL)溶液にEt₃N(13 μL, 93 μmol)とPd/C(10%, 100 mg)を加え、水素ガスを通して接触水素添加を行った。12時間後TLCで生成物がひとつにまとまったのを確認し、セライトろ過後、濃縮。このアンモニア水-ピリジン(4:1 10mL)溶液を室温で二晩攪拌。そのまま濃縮し逆相のシリカゲルに充填し水で溶出させ、試薬残さを除去。これを陽イオン交換カラム (Dowex 50W X-8, Et₃NH⁺ form)に通し、凍結乾燥して、**97β**(32mg, 78%)をトリエチルアミンとして得た。これと市販のGMP-morpholidate (64mg, 88 μmol)をそれぞれpyridineで3回共沸した後、あわせてpyridine(5.0mL)に懸濁し、アルゴン気流下室温で攪拌。1週間後、反応溶液をそのまま濃縮し、残渣を陰イオン交換カラム (Dowex 1-X2, formate form)に通し、目的物を吸着させた。NH₄HCO₃(50mM-1M)水溶液で溶出し、目的物のフラクションを濃縮。さらにゲルろ過カラム(Bio Gel P-2)で精製し凍結乾燥して、**98**(4mg, 7%)をアンモニウム塩として得た。; ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.17 (s, 1H, H-8), 5.98 (d, 1H, $J_{1,2}$ 6.3 Hz, H-1'), 5.15 (t, 1H, $J_{1',2'} = J_{1',P}$ 8.9 Hz, H-1''), 4.86 (dd, 1H, $J_{2,3'}$ 5.3 Hz, H-2'), 4.60 (dd, 1H, $J_{3',4'}$ 3.3 Hz, H-3'), 4.40 (t, 1H, H-4'), 4.28 (m, 2H, H-5a',5'b'), 3.95 (bs, 1H, H-4''), 3.84 (dd, 1H, $J_{2',3'}$ 9.6 Hz, H-2''), 3.52 (dd, 1H, $J_{3'',4''}$ 3.1 Hz, H-3''), 3.26 (bq, 1H, H-5''), 1.21 (d, 3H, $J_{6',5'}$ 7.0 Hz, H-6''); ³¹P NMR (109.4 MHz, D₂O) δ -10.42, -11.81 ($J_{P,O,P}$ 20.6 Hz); FAB (m/z) 604 (M+H).

第2章

3,4,6-トリ-O-アセチル-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-グルコピラノシル トリクロロアセトイミダー ト(102)

101 (283mg, 0.699mmol)のDMF(10mL)溶液に室温で $\text{H}_2\text{NNH}_2 \cdot \text{AcOH}$ (103mg, 1.12mmol)を加えた。50°Cで30分攪拌した後、EtOAcで抽出。飽和食塩水で4回洗浄後、乾燥し、濃縮。シリカゲルカラム(EA)で精製し、1-OH体(204mg, 80%)をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 6.04 (d, 1H, J_{NH_2} 9.2 Hz, NH), 5.36, 5.28 (each t, 2H, $J_{3,2} = J_{3,4} = J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-3,4), 5.03 (t, 1H, $J_{1,2} = J_{1,\text{OH}}$ 2.6 Hz, H-1), 4.54 (ddd, 1H, H-2), 4.35 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.3, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.09 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.3 Hz, H-6b), 3.66 (ddd, 1H, H-5), 2.08, 2.04, 2.03, 1.96 (each s, 3H \times 4, OAc \times 4)。これ(204mg, 0.562mmol)の CH_2Cl_2 (0.8 mL)溶液に CCl_3CN (0.564 mL)を加え、0°CでDBU(8.4 μL)を滴下。18時間後、反応溶液をシリカゲルカラムに充填し、精製(2:3 Hex:EA)して**102**(257mg, 90%)をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 8.80 (s, 1H, HN=C), 6.14 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.9 Hz, H-1), 5.82 (d, 1H, J_{NH_2} 8.9 Hz, HNAc), 5.44 (dd, 1H, $J_{4,3}$ 9.6, $J_{4,5}$ 10.6 Hz, H-4), 5.27 (t, 1H, $J_{3,2}$ 9.6 Hz, H-3), 4.72 (ddd, 1H, H-2), 4.36 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.0, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.07 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.0 Hz, H-6b), 3.56 (ddd, 1H, H-5), 2.07, 2.06, 1.92 (each s, 3H, 6H, 3H, OAc \times 4)。

トリメチルシリルエチル 3,4,6-トリ-O-アセチル-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-グルコピラノシド (103)

ドナー**102**(257mg, 0.506mmol)、trimethylsilylethanol(181 μL , 1.26mmol)の CH_2Cl_2 (12mL)溶液に、砕いたMS4A(700mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (18 μL , 0.152mmol)の CH_2Cl_2 溶液(0.5mL)を滴下。一晩攪拌後、 Et_3N を加えて中和し、 CHCl_3 で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム (1:1 Hex:EA)で精製して、**103**(α : β = 3:1, 183mg, 78%)をシラップとして得た。; **103 α** : $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.92 (d, 1H, J_{NH_2} 8.9 Hz, NH), 5.35, 5.19 (each t, 2H, $J_{3,2} = J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-3,4), 4.57 (ddd, 1H, $J_{2,1}$ 3.0 Hz, H-2), 4.57 (bs, 1H, H-1), 4.35 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.0, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.07 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.3 Hz, H-6b), 3.93 (dt, 1H, J 5.6, J_{gem} 10.6 Hz, OCH_2), 3.47-3.3.34 (m, 2H, H-5, OCH_2), 2.08, 2.03, 2.01, 1.95 (each s, 3H \times 4, OAc \times 4), 1.01-0.86 (m, 2H, CH_2SiMe_3), 0.06 (s, 9H, SiMe_3); **103 β** : $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.90 (d, 1H, J_{NH_2} 8.6 Hz, NH), 5.31 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 7.6$ Hz, H-4), 4.99 (t, 1H, $J_{3,2}$ 7.3 Hz, H-3), 4.53 (d, 1H, $J_{1,2}$ 5.9 Hz, H-1), 4.40 (ddd, 1H, H-2), 4.35 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.0, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.07 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.3 Hz, H-6b), 4.32 (d, 2H, $J_{6a,5} = J_{6b,5} = 6.3$ Hz, H-6a, 6b), 3.90 (ddd, 1H, J 5.6, J 9.2, J_{gem} 10.6 Hz, OCH_2), 3.50 (ddd, 1H, J 6.3, J 9.6, OCH_2), 3.12 (q, 1H, H-5), 2.06, 2.03, 1.96 (each s, 6H, 3H, 3H, OAc \times 4), 1.02-0.81 (m, 2H, CH_2SiMe_3), 0.01 (s, 9H, SiMe_3)。

トリメチルシリルエチル 3,4,6-トリ-O-アセチル-2-アジド-2-デオキシ-5-チオ-D-グルコピラノシド(105)

103(92mg, 0.198mmol)を1N NaOH(5mL)に溶解し一晩加熱環流。室温に戻した後、塩酸溶液で中和、そのまま濃縮し、トルエンで共沸。このMeOH(5mL)溶液にアルゴン気流下で0.4M TfN_3 の CH_2Cl_2 (1.29mL)溶液を滴下し、DMAP(30mg, 0.244mol)を加えた。室温で一晩攪拌後そのまま濃縮し、Pyr.-Ac $_2$ Oでアセチル化し、室温で一晩攪拌後、シリカゲルカラム(3.5:1 Hex:EA)で精製して、**105**(46 mg, 52%)をシラップとして得た。; **105 α** : $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.49 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4), 5.29 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 10.2 Hz, H-3), 4.76 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.9 Hz, H-1), 4.40 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 4.6, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6a), 4.05 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.0 Hz, H-6b),

3.93 (ddd, 1H, J 6.3, J 9.6, J_{gem} 11.2 Hz, OCH₂), 3.60 (dd, 1H, H-2), 3.55-3.43 (m, 2H, H-5, OCH₂), 2.09, 2.07, 2.04 (each s, 3H×3, OAc×3), 1.11-0.85 (m, 2H, CH₂SiMe₃), 0.06 (s, 9H, SiMe₃) ; **105β**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.20, 4.79 (each t, 2H, $J_{3,2} = J_{3,4} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-3,4), 4.51 (d, 1H, $J_{1,2}$ 9.2 Hz, H-1), 4.29 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.3, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.10 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.6 Hz, H-6b), 3.97-3.87 (m, 1H, OCH₂), 3.82 (t, 1H, H-2), 3.68 (dt, 1H, J 6.9, $J = J_{\text{gem}}$ 10.6 Hz, OCH₂), 3.10-3.04 (m, 1H, H-5), 2.08, 2.07, 2.01 (each s, 3H×3, OAc×3), 1.01-0.84 (m, 2H, CH₂SiMe₃), 0.03 (s, 9H, SiMe₃).

3,4,6-トリ-O-アセチル-2-アジド-2-デオキシ-5-チオ-D-グルコピラノシル トリクロロアセトイミダート
(**107**)

105 (46mg, 0.103mmol)のCH₂Cl₂ (1.0mL)溶液に室温でCF₃COOH(2mL)を滴下。4.5時間後そのまま濃縮し、トルエンで共沸して**106**を得た。これのCH₂Cl₂ (1.0mL)溶液にCCl₃CN(0.103mL)を加え、0°CでDBU(5μL)を滴下。一晩攪拌した後、反応溶液をシリカゲルカラムに充填し、精製(3:1 Hex:EA)して**107** (α:β = 20 : 1, 52mg, quant., 2steps)をシラップとして得た。 ; **106α**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.51 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4), 5.30 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 10.9 Hz, H-3), 5.16 (bs, 1H, H-1), 4.40 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 4.9, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6a), 4.07 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.3 Hz, H-6b), 3.78 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 2.6 Hz, H-2), 3.71 (ddd, 1H, H-5), 2.10, 2.07, 2.05 (each s, 3H×3, OAc×3) ; **107β**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.84 (s, 1H, HN=C), 5.96 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.9 Hz, H-1), 5.32, 4.99 (each t, 2H, $J_{3,2} = J_{4,3} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-3, 4), 4.36 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.3, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.27 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 4.0 Hz, H-6b), 4.12 (t, 1H, H-2), 3.32 (ddd, 1H, H-5), 2.12, 2.08, 2.06 (each s, 3H×3, OAc×3).

トリメチルシリルエチル 3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-5-チオ-2-フタルイミド-D-グルコピラノシド
(**108α**)

103α (40mg, 0.087mmol)を1N NaOH(2.5mL)に溶解し一晩加熱環流。室温に戻した後、塩酸溶液で中和、そのまま濃縮し、トルエンで共沸。これのpyridine(3mL)溶液に無水フタル酸(39mg, 0.261mmol)を加え、90°Cで1時間攪拌後、直接Ac₂O(3mL)を滴下。30分攪拌後、常法により後処理し、シリカゲルカラム(2:1 Hex:EA)で精製して、**108α** (30mg, 62%)をシラップとして得た。 ; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.88-7.70 (m, 4H, Ph), 6.50 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 11.6, $J_{3,4}$ 9.2 Hz, H-3), 5.33 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 10.9 Hz, H-4), 4.90 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 2.6 Hz, H-2), 4.66 (d, 1H, H-1), 4.47 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 4.6, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.09 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.0 Hz, H-6b), 3.82 (dt, 1H, J 6.6, $J = J_{\text{gem}}$ 10.6 Hz, OCH₂), 3.62 (ddd, 1H, H-5), 3.30 (dt, 1H, J 6.9, J 9.9 Hz, OCH₂), 2.08, 2.04, 1.82 (each s, 3H×3, OAc×3), 0.89-0.78 (m, 2H, CH₂SiMe₃), -0.05 (s, 9H, SiMe₃).

トリメチルシリルエチル 3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-5-チオ-2-フタルイミド-D-グルコピラノシド
(**103β**)

103β (17mg, 0.087mmol)を1N NaOH(2.5mL)に溶解し一晩加熱環流。室温に戻した後、塩酸溶液で中和、そのまま濃縮し、トルエンで共沸。これのpyridine(3mL)溶液に無水フタル酸(16mg, 0.108mmol)を加え、90°Cで1時間攪拌後、直接Ac₂O(1.5mL)を滴下。1時間攪拌後、常法により後処理し、シリカゲルカラム(2:1 Hex:EA)で精製して、**108β** (11mg, 57%)をシラップとして得た。 ; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.88-7.56 (m, 4H, Ph), 5.63 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 10.6, $J_{3,4}$ 9.2 Hz, H-3), 5.48 (d, 1H, $J_{1,2}$ 10.2 Hz, H-1), 5.35 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 10.9 Hz, H-4), 4.68 (t, 1H, H-2), 4.38 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 4.9, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.16 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.6 Hz, H-6b), 3.83 (dt, 1H, J 5.9, $J = J_{\text{gem}}$ 9.6 Hz, OCH₂), 3.50 (dt, 1H, J 6.6, J 9.6 Hz, OCH₂), 3.27 (ddd, 1H, H-5), 2.10, 2.02, 1.82 (each s, 3H×3,

OAc \times 3), 0.92-0.67 (m, 2H, CH₂SiMe₃), -0.15 (s, 9H, SiMe₃).

3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-5-チオ-2-フタルイミド-D-グルコピラノシル トリクロロアセトイミダート(110)

108 ($\alpha\beta = 3:1$, 40mg, 0.072mmol)のCH₂Cl₂(1.2 mL)溶液に室温でCF₃COOH(2.4mL)を滴下。1時間後そのまま濃縮し、トルエンで共沸し**109**を得た。このCH₂Cl₂(1.0 mL)溶液にCCl₃CN(80 μ L)を加え、0°CでDBU(1.2 μ L)を滴下。1時間攪拌した後、反応溶液をシリカゲルカラムに充填し、精製(3:2 Hex:EA)して**110**(36mg, 83%, 2steps)をシラップとして得た。; **109** α : ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.94-7.54 (m, 4H, Ph), 6.03 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 11.2, $J_{3,4}$ 9.2 Hz, H-3), 5.45 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 10.9 Hz, H-4), 5.18 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.0 Hz, H-1), 5.00 (dd, 1H, H-2), 4.49 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 4.6, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.10 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.0 Hz, H-6b), 3.96 (ddd, 1H, H-5), 2.10, 2.03, 1.75 (each s, 3H \times 3, OAc \times 3); **109** β : ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.94-7.54 (m, 4H, Ph), 5.75 (d, 1H, $J_{1,2}$ 9.9 Hz, H-1), 5.68 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 10.6, $J_{3,4}$ 9.6 Hz, H-3), 5.35 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 10.9 Hz, H-4), 4.61 (t, 1H, H-2), 4.36 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 3.9, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.15 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.3 Hz, H-6b), 3.39 (ddd, 1H, H-5), 2.10, 2.02, 1.82 (each s, 3H \times 3, OAc \times 3); **110** β : ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.69 (s, 1H, NH), 7.84-7.71 (m, 4H, Ph), 6.83 (d, 1H, $J_{1,2}$ 10.2 Hz, H-1), 5.77 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 10.6, $J_{3,4}$ 9.6 Hz, H-3), 5.44 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 10.2 Hz, H-4), 4.98 (t, 1H, H-2), 4.47 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 4.6, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.19 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.0 Hz, H-6b), 3.52 (ddd, 1H, H-5), 2.12, 2.05, 1.85 (each s, 3H \times 3, OAc \times 3).

O-(3,4,6-トリ-O-アセチル-2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-グルコピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-1,6-アンヒドロ-2-アジド-3-O-tert-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース(111)

ドナー**102**(20mg, 39 μ mol)、アクセプター**57**(17mg, 59 μ mol)のCH₂Cl₂(1.1mL)溶液に、砕いたMS4A(67mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃ \cdot OEt₂(1.5 μ L, 12 μ mol)のCH₂Cl₂溶液(0.33mL)を滴下。1時間攪拌後、Et₃Nを加えて中和し、CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム(3:1 \rightarrow 1:6 Hex:EA)で精製して、**111**(12 mg, 45%)、**112**(5.3mg, 39%)をそれぞれシラップとして得た。; **111** α : ¹H NMR (CDCl₃) δ 6.43 (d, 1H, $J_{NH,Z}$ 8.9 Hz, NH), 5.60 (s, 1H, H-1), 5.39, 5.28 (each t, 2H, $J_{3',2'} = J_{3',4'} = J_{4',5'} = 9.6$ Hz, H-3',4'), 4.72 (d 1H, $J_{1,2}$ 2.9 Hz, H-1'), 4.64-4.56 (m, 2H, H-5, 2'), 4.38 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 4.6, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6'a), 4.24 (bd, 1H, $J_{6a,6b}$ 7.3 Hz, H-6a), 4.07 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.3 Hz, H-6'b), 3.80 (t, 1H, $J_{6b,5}$ 6.6 Hz, H-6b), 3.66, 3.60 (each s, 2H, H-3, 4), 3.48 (ddd, 1H, H-5), 3.19 (s, 1H, H-2), 2.08, 2.04, 2.02, 1.98 (each s, 3H \times 4, OAc \times 4), 0.89 (s, 9H, tBu), 0.09, 0.07 (each s, 3H \times 2, SiMe₂); **112**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.66 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.9 Hz, H-1), 5.20 (t, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = 5.3$ Hz, H-3), 5.12 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 9.9 Hz, H-4), 4.40 (dd, 1H, H-2), 4.26 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.3, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 4.15 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 4.0 Hz, H-6b), 3.31 (ddd, 1H, H-5), 2.11, 2.09, 2.08, 2.07 (each s, 3H \times 4, OAc \times 4).

O-(2-アジド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-5-チオ-D-グルコピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-1,6-アンヒドロ-2-アジド-3-O-tert-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース(113)

ドナー**107**(22mg, 46 μ mol)、アクセプター**57**(21mg, 70 μ mol)のCH₂Cl₂(1.2mL)溶液に、砕いたMS4A(60mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃ \cdot OEt₂(1.7 μ L, 14 μ mol)のCH₂Cl₂溶液(0.2mL)を滴下。1時間攪拌後、Et₃Nを加えて中和し、CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム(3:1 \rightarrow 2:1 Hex:EA)で精製して、**113**($\alpha\beta = 6:1$, 22 mg, 74%)をシラップとして得た。; **113** α : ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.70 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 10.6, $J_{3,4}$ 9.6 Hz, H-3'), 5.56 (s, 1H, H-1), 5.32 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 10.9

Hz, H-4'), 4.89 (bd, 1H, $J_{5,6b}$ 5.3 Hz, H-5), 4.81 (d 1H, $J_{1,2'}$ 3.0 Hz, H-1'), 4.42 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 3.6, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6'a), 4.21 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 1.0, $J_{6a,6b}$ 7.3 Hz, H-6a), 4.08 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.0 Hz, H-6'b), 3.83 (dd, 1H, H-2'), 3.78 (t, 1H, H-6b), 4.01, 3.53 (each s, 2H, H-3, 4), 3.68 (ddd, 1H, H-5), 3.03 (s, 1H, H-2), 2.09, 2.07, 2.05 (each s, 3H×3, OAc×3), 0.90 (s, 9H, tBu), 0.12, 0.12 (each s, 3H×2, SiMe2); **113**β: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.51 (s, 1H, H-1), 5.22, 4.84 (each t, 2H, $J_{3,2'} = J_{3,4'} = J_{4',5'} = 9.9$ Hz, H-3',4'), 4.71 (bd, 1H, H-5), 4.53 (d 1H, $J_{1,2'}$ 9.6 Hz, H-1'), 4.25 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.9, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6'a), 4.19-4.00 (m, 3H, H-4, 6a, 6'b), 3.94 (t, 1H, H-2'), 3.80-3.75 (m, 1H, H-6b), 3.52 (s, 1H, H-3), 3.17-3.13 (ddd, 1H, H-5), 3.05 (s, 1H, H-2), 2.11, 2.07, 2.03 (each s, 3H×3, OAc×3), 0.91 (s, 9H, tBu), 0.15, 0.14 (each s, 3H×2, SiMe2).

N-グリコシド**114**

ドナー**107** (10mg, 22 μmol)、アクセプター**57** (13mg, 43 μmol) の MeCN (0.8mL) 溶液に、 -20°C に冷却下、TMSOTf (0.8 μL , 4 μmol) の MeCN 溶液 (0.1mL) を滴下。1時間攪拌後、 Et_3N を加えて中和後、濃縮し、シリカゲルカラム (3:1→2:3 Hex:EA) で精製して、**114** (2mg, 25%) をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 6.22 (d, 1H, $J_{\text{NH},1}$ 7.6 Hz, NH), 5.39 (dd, 1H, $J_{1,2}$ 4.6 Hz, H-1), 5.24, 5.16 (each t, 2H, $J_{3,2} = J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-3,4), 4.38 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.3, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6a), 4.13 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.3 Hz, H-6b), 3.37 (ddd, 1H, H-5), 2.13, 2.10, 2.07, 2.05 (each s, 3H×4, OAc×4).

O-(3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-5-チオ-2-フタルイミド-D-グルコピラノシル)-(1→4)-1,6-アンヒドロ-2-アジド-3-O-tert-ブチルジメチルシリル-2-デオキシ- β -D-グルコピラノース(**115**)

ドナー**110** (34mg, 56 μmol)、アクセプター**57** (25mg, 84 μmol) の CH_2Cl_2 (1.5 mL) 溶液に、砕いた MS4A (70mg) を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。 -20°C に冷却し、 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (2 μL , 16 μmol) の CH_2Cl_2 溶液 (0.3mL) を滴下。1時間攪拌後、 Et_3N を加えて中和。 CHCl_3 で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム (4:3 Hex:EA) で精製して、**115** (26 mg, 62%) をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.84-7.69 (m, 4H, Ph), 5.70 (d 1H, $J_{1,2'}$ 9.9 Hz, H-1'), 5.65, 5.37 (each t, 2H, $J_{3,2'} = J_{3,4'} = J_{4',5'} = 9.9$ Hz, H-3',4'), 5.07 (s, 1H, H-1), 4.79 (t, 1H, H-2'), 4.53 (bd, 1H, $J_{5,6b}$ 5.6 Hz, H-5), 4.37 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.6, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6'a), 4.17 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.3 Hz, H-6'b), 4.08 (d, 1H, $J_{6a,6b}$ 7.3 Hz, H-6a), 3.71, 3.56 (each s, 2H, H-3, 4), 3.68 (t, 1H, H-6b), 3.30 (ddd, 1H, H-5), 2.89 (s, 1H, H-2), 2.11, 2.03, 1.83 (each s, 3H×3, OAc×3), 0.87 (s, 9H, tBu), 0.11, 0.07 (each s, 3H×2, SiMe2).

トリメチルシリルエチル 3,4,6-トリ-O-アセチル-2-アジド-2-デオキシ-D-ガラクトピラノシド(**117**)

O-(2-アジド-2,3,5-トリ-O-アセチル-2-デオキシ- α -D-ガラクトピラシル)トリクロロアセトイミデート**116** (4.02g, 8.45mmol)、トリメチルシリルエタノール (2.44mL, 17.0mmol) のトルエン (80mL) 溶液に砕いた MS4A (4g) を懸濁し、アルゴン気流下で攪拌。 -20°C で $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (1.2mL, 9.76mmol) の $(\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (6.0mL) 溶液を滴下。 -20°C で3時間攪拌した後、N,N'-ジイソプロピルエチルアミン (1.5mL, 8.58mmol) を滴下し中和。セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム (4:1 Hex:EA) で精製して、**117** (アノマー比 $\alpha:\beta = 1:9$, 3.17g, 87%) をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.40 (dd, 0.1H, $J_{3,4}$ 3.3, $J_{4,5}$ 1.0 Hz, H-4 α), 5.32 (dd, 0.1H, $J_{2,3}$ 11.2 Hz, H-3 α), 5.28 (dd, 0.9H, $J_{3,4}$ 3.3z, $J_{4,5}$ 1.0 Hz, H-4 β), 4.98 (d, 0.1H, $J_{1,2}$ 3.3 Hz, H-1 α), 4.74 (dd, 0.9H, $J_{2,3}$ 10.9, $J_{3,4}$ 3.6 Hz, H-3 β), 4.34 (d, 0.9H, $J_{1,2}$ 7.9 Hz, H-1 β), 4.14 (dd, 0.9H, $J_{5,6a}$ 6.6, $J_{6a,6b}$ 11.2 Hz, H-6a β), 4.06 (dd, 0.9H, $J_{5,6b}$ 6.9 Hz, H-6b β), 4.2-3.9 (m), 3.82 (ddd, 0.9H, H-5 β), 3.7-3.5 (m), 3.61 (dd, 0.9H, H-2), 2.10, 2.00,

1.99 (each s, each 3H, OAc), 1.04 (m, 2H, SiCH₂), 0.02 (s, 9H, SiMe₃); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.2, 169.9, 169.6 (OC=O, NC=O), 101.5, 97.3 (C-1), 71.0, 70.4, 68.2, 68.0, 67.6, 66.5, 66.2, 66.1, 61.8, 61.1, 60.7, 59.8, 57.3 (C-2,3,4,5,6, SiCH₂CH₂), 21.9, 20.4 (OAc), 18.0, 17.9 (SiCH₂), -1.6 (SiMe₃).

トリメチルシリルエチル 2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-ベンジル-2-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシド(**118**)
117(アノマー比 α:β = 1:9, 3.52g, 8.157mmol)のMeOH(40mL)溶液に0.1MNaOMe(40mL)を加え、室温で20分間攪拌。陽イオン交換樹脂 Dowex 50(H⁺)で中和し、ろ過後、濃縮。これをDMF(3mL)に溶かし、55%NaH(2.35g, 53.9mmol)を加えて室温で45分間攪拌した後、BnBr(8.5mL, 71.5mmol)を加え、室温で4時間攪拌。氷水を加えて過剰のNaHを分解して、Et₂Oで希釈し、飽和食塩水で洗浄。乾燥、濃縮した後、シリカゲルカラム(20:1→10:1→8:1 Hex:EA)で精製して、ベンジル体(3.72g, 79%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.39-7.18 (m, 15H, PhH), 4.88, 4.57 (ABq, 2H, J 11.6 Hz, PhCH₂), 4.69, 4.64 (ABq, 2H, J 11.6 Hz, PhCH₂), 4.45, 4.40 (ABq, 2H, J 11.9 Hz, PhCH₂), 4.19 (d, 1H, J_{1,2} 7.9Hz, H-1), 3.98 (ddd, 1H, J 5.9, 9.6, 11.2 Hz, SiCH₂CH₂), 3.87 (d, 1H, J_{3,4} 2.6 Hz, H-4), 3.80 (dd, 1H, J_{2,3} 10.2 Hz, H-2), 3.6-3.45 (m, 4H, H-5,6a,6b, SiCH₂CH₂), 3.30 (dd, 1H, H-3), 1.01 (m, 2H, SiCH₂), 0.01 (s, 9H, SiMe₃); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 138.3, 137.7, 137.6, 128.4, 128.2, 128.1, 127.9, 127.7, 127.6 (Ph), 101.5 (C-1), 80.7, 77.2, 74.4, 73.5, 72.3, 71.9, 68.5, 67.4, 63.2 (C-2,3,4,5,6, PhCH₂, SiCH₂CH₂), 18.1 (SiCH₂), -1.5 (SiMe₃).これ(2.06g, 3.578mmol)のMeOH(40mL)溶液にリンドラー触媒を触媒量加え、室温で水素添加を24時間行った。セライトろ過後、濃縮。得られた残渣をPyr.-Ac₂Oに溶かし室温で一晩攪拌。常法により後処理後、シリカゲルカラム(2:1 Hex:EA)で精製して、**118**(1.71g, 81%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.39-7.27 (m, 15H, PhH), 5.68 (d, 1H, J_{2,NH} 6.9 Hz, NH), 5.1-4.35 (m, 8H, H-1,2, PhCH₂), 4.05-3.9 (m, 2H, H-4, SiCH₂CH₂), 3.75-3.4 (m, 5H, H-3,5,6, SiCH₂CH₂), 1.93 (s, 3H, NAc), 0.94 (m, 2H, SiCH₂), 0.01 (s, 9H, SiMe₃).

(1S)-,および(1R)-2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-ベンジル-2-デオキシ-D-ガラクト-S-アセチル-O-トリメチルシリルメチル-モノチオアセタール(**119**)

118(1.02g, 1.72mmol)のCH₂Cl₂(20mL)溶液にアルゴン気流下-78°Cで2.1Mジメチルホウ素ブロミド-CH₂Cl₂(1.70mL, 3.57mmol)溶液を滴下。-78°Cで1時間攪拌した後、N,N'-ジイソプロピルエチルアミン(0.78mL, 4.478mmol)とチオ酢酸(0.38mL, 5.317mmol)を-78°Cで順次滴下。徐々に室温に戻しながら80分間攪拌した後、氷水を加えCHCl₃で抽出し、飽和重曹水、5%HCl水溶液、飽和食塩水で順次洗浄後、無水硫酸乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム(3:1→2:1 Hex:EA)で精製して、**119**(ジアステレオマー比 3:2, 714mg, 62%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.45-7.28 (m, 15H, PhH), 6.09 (d, 0.4H, J_{2,NH} 9.6 Hz, NH), 6.02 (d, 0.6H, J_{2,NH} 10.2 Hz, NH), 5.65 (d, 0.4H, J_{1,2} 4.6 Hz, H-1), 5.46 (d, 0.6H, J_{1,2} 9.2 Hz, H-1), 4.9-4.35 (m, 7H, H-2, PhCH₂), 4.2-4.0 (m, 2H, H-4,5), 3.8-3.3 (m, 5H, H-3,6a,6b, SiCH₂CH₂), 2.41 (s, 0.4H, SAc), 2.40 (s, 0.6H, SAc), 1.96 (s, 0.6H, NAc), 1.95 (s, 0.4H, NAc), 0.93 (m, 2H, SiCH₂), 0.01 (s, 9H, SiMe₃); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 196.9, 195.5 (SC=O), 169.8, 169.8 (NC=O), 137.9, 137.8, 137.7, 128.5, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.7, 127.6 (Ph), 85.7, 84.9 (C-1), 78.1, 77.6, 77.2, 76.7, 76.1, 74.9, 74.6, 74.4, 73.6, 73.3, 71.1, 69.0 (C-3,4,5,6, PhCH₂), 66.8, 66.7 (SiCH₂CH₂), 52.5, 51.8 (C-2), 31.2 (SAc), 23.3 (NAc), 17.9, 17.8 (SiCH₂), -1.5 (SiMe₃).

(1S)-,および(1R)-2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-ベンジル-2-デオキシ-L-アラビノ-5-ウロース-S-アセチル-O-

リメチルシリルメチル-モノチオアセタール(120)

アルゴン気流下で-78°Cに冷却した塩化オキサリル(202 μ L, 2.316mmol)のCH₂Cl₂(20mL)溶液に、DMSO(164 μ L, 2.909mmol)のCH₂Cl₂(10mL)溶液を滴下。-78°Cで15分間攪拌後、119(ジアステレオマー比 2:1, 1.00g, 1.497mmol)のCH₂Cl₂(10mL)溶液を滴下。-78°Cで2時間攪拌した後TEA(0.42mL, 3.013mmol)を滴下。徐々に室温に戻しながら1時間攪拌し、水を加えてクロロホルムで抽出し、水、5%HCl水溶液、飽和食塩水で順次洗浄後、乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム(3:1→2:1 Hex:EA)で精製して、119(ジアステレオマー比 120A:120B = 2:1, 889mg, 89%)をシラップとして得た。この混合物のうち、一部分離精製できたものについてNMRデータを記載する。初期分画のものを120A、後期分画のものを120Bとした。; 120A: ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.5-7.2 (m, 15H, PhH), 6.02 (d, 1H, $J_{2,NH}$ 9.9 Hz, NH), 5.66 (d, 1H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.76 (ddd, 1H, $J_{2,3}$ 2.6 Hz, H-2), 4.61, 4.37 (ABq, 2H, J 10.6 Hz, PhCH₂), 4.54, 4.45 (ABq, 2H, J 10.9 Hz, PhCH₂), 4.46 (s, 2H, PhCH₂), 4.21 (d, 1H, $J_{6a,6b}$ 17.8 Hz, H-6a), 4.14 (d, 1H, $J_{3,4}$ 7.6 Hz, H-4), 4.07 (d, 1H, H-6b), 4.04 (dd, 1H, H-3), 3.68 (ddd, 1H, J 6.6, 9.9, 10.2 Hz, SiCH₂CH₂), 3.53 (ddd, 1H, J 5.6, 9.6, 10.5 Hz, SiCH₂CH₂), 2.37 (s, 3H, SAc), 1.86 (s, 3H, NAc), 0.93 (m, 2H, SiCH₂), 0.00 (s, 9H, SiMe₃); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 207.2 (C-5), 195.4 (SC=O), 169.7 (NC=O), 137.2, 137.0, 136.8, 128.4, 128.3, 128.1, 127.9, 127.8 (aromatic), 84.0 (C-1), 81.0, 78.3 (C-3,4), 74.4, 73.6, 73.2 (C-6,PhCH₂), 66.7 (SiCH₂CH₂), 52.7 (C-2), 31.1 (SAc), 23.1 (NAc), 17.8 (SiCH₂), -1.5 (SiMe₃); 120B: ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.5-7.2 (m, 15H, PhH), 5.92 (d, 1H, $J_{2,NH}$ 10.2 Hz, NH), 5.41 (d, 1H, $J_{1,2}$ 9.2 Hz, H-1), 4.59 (dd, 1H, H-2), 4.65-4.40 (m, 6H, PhCH₂), 4.21 (d, 1H, $J_{6a,6b}$ 18.2 Hz, H-6a), 4.20 (d, 1H, $J_{3,4}$ 7.9 Hz, H-4), 4.08 (d, 1H, H-6b), 3.97 (d, 1H, H-3), 3.70 (ddd, 1H, J 6.9, 9.6, 9.9 Hz, SiCH₂CH₂), 3.34 (ddd, 1H, J 6.6, 9.6, 9.9 Hz, SiCH₂CH₂), 2.38 (s, 3H, SAc), 1.89 (s, 3H, NAc), 0.89 (m, 2H, SiCH₂), 0.00 (s, 9H, SiMe₃); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 207.6 (C-5), 196.5 (SC=O), 169.9 (NC=O), 137.2, 136.9, 136.8, 128.6, 128.4, 128.2, 128.1, 127.9 (aromatic), 85.0 (C-1), 80.6, 78.1 (C-3,4), 74.5, 74.3, 73.7, 73.2 (C-6,PhCH₂), 66.8 (SiCH₂CH₂), 52.7 (C-2), 31.2 (SAc), 23.2 (NAc), 17.9 (SiCH₂), -1.5 (SiMe₃).

(1S)-,および(1R)-2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-ベンジル-2-デオキシ-L-アルトロ-S-アセチル-O-トリメチルシリル-モノチオアセタール(121)

120(ジアステレオマー比 2:1, 1.12g, 1.68mmol)のEt₂O(40mL)溶液にLi(tBuO)₃AlH(1.10g, 4.326mmol)を加え、室温で24時間攪拌。1N HCl水溶液を加えて過剰の試薬を分解し、Et₂Oで抽出し、飽和食塩水で洗浄後、乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム(3:1→2:1 Hex:EA)で精製して、121(NMRから見積もったジアステレオマー比 5:1, 697mg, 62%)をシラップとして、120(推定ジアステレオマー比 1:1, 203mg, 18%)をシラップとして得た。この混合物のうち、一部分離精製できたものについてNMRデータを記載する。主生成物を121A、副生成物を121Bとした。; 121A: ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.42-7.29 (m, 15H, PhH), 6.14 (d, 1H, $J_{2,NH}$ 9.2 Hz, NH), 5.65 (d, 1H, $J_{1,2}$ 4.0 Hz, H-1), 4.82 (ddd, 1H, $J_{2,3}$ 2.6 Hz, H-2), 4.8-4.4 (m, 6H, PhCH₂), 4.09 (m, 1H, H-5), 3.99 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 5.0 Hz, H-3), 3.85-3.5 (m, 5H, H-4,6a,6b, SiCH₂CH₂), 2.39 (s, 3H, SAc), 1.79 (s, 3H, NAc), 0.96 (m, 2H, SiCH₂), 0.02 (s, 9H, SiMe₃); 121B: ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.43-7.25 (m, 15H, PhH), 6.02 (d, 1H, $J_{2,NH}$ 9.9 Hz, NH), 5.44 (d, 1H, $J_{1,2}$ 9.2 Hz, H-1), 4.8-4.5 (m, 7H, H-2, PhCH₂), 4.15-4.05 (m, 2H, H-3,5), 3.75-3.6 (m, 4H, H-4,6a,6b, SiCH₂CH₂), 3.35 (ddd, 1H, J 2.6, 9.2, 9.6 Hz, SiCH₂CH₂), 2.72 (d, 1H, J 3.6 Hz, OH), 2.38(s, 3H, SAc), 1.79 (s, 3H, NAc), 0.90 (m, 2H, SiCH₂), 0.00 (s, 9H, SiMe₃); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 196.7 (SC=O), 169.9 (NC=O), 138.3, 137.9, 128.6, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.6 (aromatic), 97.3 (C-1), 79.0, 77.2, 74.3, 73.7, 73.4, 71.0, 70.8 (C-3,4,5,6, PhCH₂), 66.7 (SiCH₂CH₂), 52.1 (C-2), 31.2 (SAc),

23.3 (NAc), 17.9 (SiCH₂), -1.4 (SiMe₃).

トリメチルシリルエチル 2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-ベンジル-2-デオキシ-5-チオ- α -D-ガラクトピラノシド(**122**)

121(ジアステレオマー比 5:1, 697mg, 1.044mmol)、PPh₃(0.561g, 2.140mmol)のベンゼン(30mL)溶液に0°CでDEAD(338 μ L, 2.146mmol)を滴下。室温で15時間攪拌した後、濃縮し、シリカゲルカラム(3:1 Hex:EA)で精製して、**122**(388mg, 61%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.38-7.22 (m, 15H, PhH), 5.46 (d, 1H, $J_{2,NH}$ 8.3 Hz, NH), 5.04-4.21 (m, 9H, H-2,3,4, PhCH₂), 3.91 (dt, 1H, $J_{4,5}$ 3.3, $J_{5,6a}$ 6.3, $J_{5,6b}$ 9.6 Hz, H-5), 3.64-3.29 (m, 4H, H-6, SiCH₂CH₂), 1.89 (s, 3H, NAc), 0.89 (m, 2H, SiCH₂), 0.01 (s, 9H, SiMe₃); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 169.6 (NC=O), 138.5, 137.9, 137.5, 128.4, 128.2, 128.0, 127.8, 127.7, 127.6, 127.2 (Ph), 78.0 (C-1), 73.0, 72.6, 71.5, 68.1, 66.0, 62.2, 61.9 (C-3,4,6, PhCH₂, SiCH₂CH₂), 52.1 (C-2), 41.5 (C-5), 23.3 (NAc), 17.3 (SiCH₂), -1.4 (SiMe₃).

トリメチルシリルエチル 2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-5-チオ- α -D-ガラクトピラノシド(**123**)

アルゴン気流下-78°Cに冷却した**122**(301mg, 0.496mmol)のTHF(10mL)溶液に液化したアンモニア(約50mL)を加えた。攪拌しながら、細かく切ったナトリウム片を少しずつ加えた。15分攪拌し濃青色が消失していないことを確認して、NH₄Clを注意深く加え反応を止めた。30分攪拌した後、徐々に室温に戻し、アンモニアを留去。残渣をメタノールに溶かし濾過により過剰なNH₄Clを除去。濾液を濃縮し、残渣をPyr.-Ac₂Oに溶かして室温で一晩攪拌。常法による後処理後、シリカゲルカラム(1:1 Hex:EA)で精製して、**123**(131mg, 57%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.77 (d, 1H, $J_{2,NH}$ 9.6 Hz, NH), 5.60 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 3.0, $J_{4,5}$ 1.7 Hz, H-4), 5.19 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 11.2 Hz, H-3), 4.76 (ddd, 1H, $J_{1,2}$ 2.6 Hz, H-2), 4.61 (d, 1H, H-1), 4.10 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ 9.2, $J_{6a,6b}$ 11.2 Hz, H-6a), 3.99 (dd, 1H, $J_{5,6b}$ 5.9 Hz, H-6b), 3.93 (m, 1H, SiCH₂CH₂), 3.59 (ddd, 1H, H-5), 3.42 (ddd, 2H, J 5.9, 9.9, 10.2 Hz, SiCH₂CH₂), 2.18, 2.06, 2.01 (s, 3H, OAc), 1.96 (s, 3H, NAc), 0.93 (m, 2H, SiCH₂), 0.06(s, 9H, SiMe₃); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.1, 170.5, 170.4, 169.6 (OC=O, NC=O), 80.7 (C-1), 77.2, 69.6, 67.6, 66.6, 61.3 (C-3,4,6, SiCH₂CH₂), 52.1 (C-2), 38.8 (C-5), 23.4 (NAc), 20.8, 20.8, 20.6 (OAc), 17.6 (SiCH₂), -1.3 (SiMe₃).

2-アセトアミド-1,3,4,6,-テトラ-O-アセチル-2-デオキシ-5-チオ- α -D-ガラクトピラノース(**124**)

123(95mg, 0.204mmol)のCH₂Cl₂(2.0mL)溶液にTFA(4.0mL)を滴下し、室温で6時間攪拌。トルエン、酢酸エチルを加えて希釈し、減圧下溶媒を留去。トルエンを加えて減圧下留去する作業を2回繰り返し、残渣をPyr.-Ac₂Oに溶かして室温で一晩攪拌。常法による後処理後、シリカゲルカラム(1:3 Hex:EA)で精製して、**124**(49mg, 58%)をシラップとして得た。

2-アセタミド-3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-5-チオ- α -D-ガラクトピラノシル ジベンジルリン酸(**125**)

124(58mg, 0.143mmol)のCH₂Cl₂(2.0mL)溶液に30%HBr-酢酸溶液(1.0mL)を0°Cで滴下。室温で2時間攪拌後、反応混液を氷水中にかけ、CHCl₃で抽出し、水、飽和重曹水、飽和食塩水で洗浄後、乾燥、濃縮し、プロモアセテート中間体を得た。これをベンゼン(2.5mL)に溶かし込み、AgOP(O)(OBn)₂(53mg, 0.138mmol)

を加え、90°Cで10分間攪拌。セライト濾過後、濃縮し、シリカゲルカラム(3:1 toluene:acetone)で精製して、**120**(36mg, 40%)をシラップとして得た。; プロモアセテート中間体: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.84 (d, 1H, $J_{2,\text{NH}}$ 7.9 Hz, NH), 5.64 (m, 2H, H-1,4), 5.26 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 11.2, $J_{3,4}$ 3.0 Hz, H-3), 4.56 (m, 1H, H-2), 4.22 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ 8.6, $J_{6a,6b}$ 11.2 Hz, H-6a), 4.03 (dd, 1H, $J_{5,6b}$ 6.3 Hz, H-6b), 3.87 (bt, 1H, H-5), 2.17, 2.07, 2.03, 2.00 (each s, 3H \times 4, Ac \times 4); **125**: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.37-7.27 (m, 10H, Ph), 5.80 (d, 1H, $J_{2,\text{NH}}$ 9.2 Hz, NH), 5.58 (brs, 1H, H-4), 5.51 (dd, 1H, $J_{1,\text{P}}$ 7.6 Hz, $J_{1,2}$ 2.6 Hz, H-1), 5.17-5.03 (m, 5H, H-3, PhCH₂), 4.72 (m, 1H, H-2), 4.06 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ 8.9, $J_{6a,6b}$ 11.2 Hz, H-6a), 3.87 (dd, 1H, $J_{5,6b}$ 5.9 Hz, H-6b), 3.62 (bt, 1H, H-5), 2.15, 2.02, 1.99 (s, 3H \times 3, Ac \times 3), 1.69 (s, 3H, NAc); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 170.6, 170.2, 170.1, 170.1 (OC=O, NC=O), 128.8, 128.7, 128.7, 128.0, 128.0 (Ph), 79.6 ($J_{1,\text{P}}$ 8.5 Hz, C-1), 69.8, 69.8 (PhCH₂), 68.6, 67.2 (C-3,4), 61.1 (C-6), 50.7 ($J_{2,\text{P}}$ 6.1 Hz, C-2), 39.4 (C-5), 23.4 (NAc), 22.7, 20.7, 20.6, 20.5(Ac); $^{31}\text{P NMR}$ (CDCl_3) δ -1.30(s).

ウリジン 5'-二リン酸-2-アセタミド-2-デオキシ-5-チオ- α -D-ガラクトピラノース(**127**)

125(41mg, 65.7 μ mol)のMeOH(3.0mL)溶液に、10%Pd/C(50mg)、トリ-n-ブチルアミン(15.4mg, 0.08309mmol)を加えて、水素ガスを通し接触還元を行った。室温で2時間攪拌後、活性炭濾過して濃縮した。これをピリジンで2回、DMFで2回共沸し、DMFに溶かして、N,N'-カルボニルジイミダゾール(7mg, 43.2 μ mol)を加え、室温で24時間攪拌。MeOHを加え30分間攪拌して試薬を分解後、ピリジンで2回、DMFで2回共沸して**126**を得た。ピリジンで2回、DMFで2回共沸したUMPトリブチルアンモニウム塩(39mg, 76.5 μ mol)と**126**をDMFに溶かし、室温で3日間攪拌。そのまま濃縮し、TEA(0.15mL, 107.8mmol)、MeOH(1.0mL)、水(0.46mL)を加え、24時間攪拌し、脱アセチル化。そのまま濃縮後、陽イオン交換樹脂(Dowex 50W-X8 Na form)に通して塩交換した後、ゲル濾過カラム(Sephadex G-15)にかけて精製し、**127**(7.8mg, 18%)を得た。; 脱ベンジル体: $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 5.71 (bs, 1H, H-4), 5.35 (dd, 1H, $J_{1,\text{P}}$ 7.0, $J_{1,2}$ 2.6 Hz, H-1), 5.22 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 11.2, $J_{3,4}$ 2.6 Hz, H-3), 4.61 (m, 1H, H-2), 4.26 (dd, 1H, $J_{5,6a}$ 8.3, $J_{6a,6b}$ 11.2 Hz, H-6a), 4.15 (dd, 1H, $J_{5,6b}$ 5.6 Hz, H-6b), 2.25, 2.10, 2.03, 2.02 (each s, 3H \times 4, Ac \times 4); $^{31}\text{P NMR}$ (D_2O) δ -0.70.; **127**: $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 8.01 (d, 1H, $J_{5,6}$ 8.2 Hz, H-6), 6.03-6.01 (m, 2H, H-5, H-1'), 5.37 (dd, 1H, $J_{1',2'}$ 2.7, $J_{1',\text{P}}$ 7.8 Hz, H-1"), 4.44-4.23 (m, 7H, H-2',3',4',5',2",4"), 3.94 (dd, 1H, $J_{2',3'}$ 10.7 Hz, $J_{3',4'}$ 2.7 Hz, H-3"), 3.88-3.67 (m, 3H, H-5",6"), 2.12 (s, 3H, NAc); $^{31}\text{P NMR}$ (D_2O) δ -10.41,-12.11 ($J_{\text{P,O,P}}$ 21.36 Hz).

ラクトース転移酵素による転移実験

$\beta(1\rightarrow4)$ GalT, α -LA, UDP-GalNAcはSigmaから、AlkalinephosphataseはBoehringer Mannheimから購入した。

転移反応追跡のためのHPLCの条件

column : Shodex sahipak NH₂P-50 4E, guard cokumn : Shodex sahipak NH₂P-50 4E,
pump : Hitachi L-7100, solvent : CH₃CN-H₂O 76:24, flow rate : 1 mL/min, temperature :
room temp., detection : Waters 470 scanning fluorensence detector; excitation 550nm;
emission 620nm

	UDP-GalNAc				UDP-5S-GalNAc		
time (min)	50	95	135	275	345	1345	2245
TMR-GlcNAc ^{a)}	64339	51132	34079	17469	148208	107612	95517
disaccharide ^{a)}	9393	13826	18447	58625	8359	37049	37033
product ratio ^{b)}	0.127	0.213	0.351	0.770	0.053	0.256	0.279

a) demonstrated as peak area. b) [disaccharide]/{[disaccharide]+[TMR-GlcNAc]}

メチル *O*-(2-アセトアミド-2-デオキシ-5-チオ-D-ガラクトピラノシル)-(1 \rightarrow 4)-2-アセトアミド-2-デオキシ- β -D-グルコピラノシド(131)

本文中の酵素反応条件で反応を行い1週間後、そのまま凍結乾燥して、シリカゲルカラム (CHCl₃-MeOH-H₂O 65-35-1)で生成し、二糖(0.9mg, 47%)を得た。; ¹H NMR (400M Hz, D₂O, 39°C) δ 4.78 (d, 1H, $J_{1,2}$ 9.6 Hz, H-1'), 4.45 (d, 1H, $J_{1,2}$ 8.4 Hz, H-1), 4.23 (t, 1H, $J_{2,3}$ 9.9 Hz, H-2'), 4.21 (bs, 1H, H-4'), 3.97 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 2.2, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6a), 3.85 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 6.9, $J_{6a,6b}$ 11.3 Hz, H-6'a), 3.76 (dd, 1H, H-6b), 3.75 (t, 1H, H-2), 3.71 (dd, 1H, $J_{6,5}$ 7.0 Hz, H-6'b), 3.67 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 8.5$ Hz, H-4), 3.62 (t, 1H, H-3), 3.60 (dd, $J_{3,4}$ 2.9 Hz, H-3'), 3.53 (s, 3H, OMe), 3.49-3.46 (m, 1H, H-5), 3.21(dt, 1H, $J_{3,4}$ 1.5 Hz, H-5'), 2.10, 2.07 (each s, 3H \times 2, Ac \times 2).; FAB (m/z) 454.9 (M+H), 477 (M+Na).

第3章

3-(2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-5-チオ- α -D-マンノピラノシル)-1-プロペン(135)

1,2,3,4,6-ペンタ-O-アセチル-5-チオ- α -D-マンノピラノース(94mg, 0.23mmol)の CH_2Cl_2 溶液(1mL)に氷冷下、30% HBr-AcOH溶液(0.5mL)を滴下し、二時間攪拌した後、氷水にあけ CHCl_3 で抽出し飽和重曹水で洗浄し、乾燥、濃縮してブロム体**133**を得た。これと Bu_3SnAlI (0.3mL, 0.97mmol)のTHF溶液(1mL)に65°CでAIBN(2mg)を加えた。18h攪拌した後室温にもどし濃縮。シリカゲルカラム(3:1 Hex:EA)で精製し、**135**(39mg, 43%)をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.85-5.74 (m, 1H, $-\underline{\text{CH}}=\text{CH}_2$), 5.33 (t, 1H, H-4), 5.31 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 7.8, $J_{2,3}$ 2.7 Hz, H-2), 5.20 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 6.6 Hz, H-3), 5.17-5.12 (m, 2H, $-\text{CH}=\underline{\text{CH}}_2$), 4.37 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 6.9, $J_{6a,6b}$ 11.4 Hz, H-6a), 4.29 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 7.2 Hz, H-6b), 3.20 (q, 1H, $J_{4,5}$ 6.9 Hz, H-5), 3.17 (dt, J 8.1, 5.6 Hz, H-1), 2.57-2.50 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), 2.37-2.29 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), 2.11, 2.09, 2.08, 2.07 (each s, 3H \times 4, Ac \times 4).

3-(5-チオ- α -D-マンノピラノシル)-1-プロペン(137)

135(23mg, 0.59mmol)のMeOH溶液(1mL)に0.5M MeONa溶液(20 μL)を滴下した。二時間攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮し、シリカゲルカラム(5:1 CHCl_3 :MeOH)で精製し、**137**(9mg, 69%)を得た。; $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 5.99-5.88 (m, 1H, $-\underline{\text{CH}}=\text{CH}_2$), 5.27-5.18 (m, 2H, $-\text{CH}=\underline{\text{CH}}_2$), 4.15 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 4.3, $J_{2,3}$ 2.9 Hz, H-2), 3.98 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 3.7, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 3.87 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9.2$ Hz, H-4), 3.84 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 7.0 Hz, H-6b), 3.72 (dd, 1H, H-3), 3.10 (ddd, 1H, H-5), 3.00 (ddd, J 9.2, 6.0 Hz, H-1), 2.65-2.58 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), 2.56-2.48 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$)

3-(2,3,4,6-テトラ-O-アセチル- α -D-マンノピラノシル)-1-プロペン(134)

3-(α -D-マンノピラノシル)-1-プロペン(136)

135, **137**と同様に合成した。**134**; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.83-5.73 (m, 1H, $-\underline{\text{CH}}=\text{CH}_2$), 5.27 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 3.3, $J_{3,4}$ 8.7 Hz, H-3), 5.21 (dd, 1H, H-2), 5.19 (t, 1H, H-4), 5.16-5.13 (m, 2H, $-\text{CH}=\underline{\text{CH}}_2$), 4.33 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 6.3, $J_{6a,6b}$ 12.1 Hz, H-6a), 4.11 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 2.9 Hz, H-6b), 4.04 (ddd, $J_{1,2}$ 3.1, J 9.2, 6.1 Hz, H-1), 3.90 (ddd, 1H, $J_{4,5}$ 8.2 Hz, H-5), 2.57-2.49 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), 2.45-2.38 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), 2.13, 2.09, 2.07, 2.03 (each s, 3H \times 4, Ac \times 4); **136**: $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 5.95-5.84 (m, 1H, $-\underline{\text{CH}}=\text{CH}_2$), 5.27-5.18 (m, 2H, $-\text{CH}=\underline{\text{CH}}_2$), 4.05 (ddd, 1H, $J_{1,2}$ 2.0, J 6.0, 9.5 Hz, H-1), 3.97 (dd, 1H, $J_{2,3}$ 3.5 Hz, H-2), 3.90 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 9.2 Hz, H-3), 3.88 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 2.3, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6a), 3.77 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 5.8 Hz, H-6b), 3.71 (t, 1H, $J_{4,5}$ 9.3 Hz, H-4), 3.63 (ddd, 1H, H-5), 2.64-2.56 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$), 2.45-2.38 (m, 1H, $-\text{CH}_2-$).

メチル 2,3-O-イソプロピリデン- α -D-リキソ-ペントジアルド-1,4-フラノシド(141)

140(1.5g, 6.40mmol)の50% MeOH溶液(18mL)に氷冷下、過ヨウ素酸ナトリウム(1.64g, 7.67mmol)の水溶液(25 mL)を滴下。一時間攪拌した後、 CHCl_3 で8回抽出し、飽和食塩水で洗浄した後、乾燥、濃縮し**141**(1.07 g, 83%)をシラップとして得た。

メチル 2,3-O-イソプロピリデン-6-エノ- α -D-マンノ/ β -L-ギュロ-ヘプト-1,4-フラノシド(142)

141(179mg, 0.884mmol)のTHF溶液(4mL)に氷冷、アルゴン気流下、1M CH_2CHMgBr のTHF溶液(1.6 mL)を滴下した。一時間攪拌した後、飽和 NH_4Cl 溶液で過剰の試薬を分解後、EtOAcで抽出し、飽和食塩水で

洗浄後、乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム(1:1 Hex:EA)で精製し、**142**(ジアステレオ比 1:1, 160 mg, 79%)をシラップとして得た。; upper spot: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 6.06 (ddd, 1H, $J_{6,5}$ 5.6, $J_{6,7a}$ 10.6, $J_{6,7b}$ 17.2 Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.44 (d, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.26 (dt, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.96 (s, 1H, H-1), 4.84 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5.9, $J_{3,4}$ 3.6 Hz, H-3), 4.57 (d, 1H, H-2), 4.56 (m, 1H, H-5), 3.84 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 7.26 Hz, H-4), 3.32 (s, 3H, OMe), 2.84 (d, 1H, $J_{\text{OH},5}$ 6.3 Hz, OH), 1.50, 1.33 (each s, 3H \times 2, $-\text{CMe}_2$); lower spot: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 6.00 (ddd, 1H, $J_{6,5}$ 5.0, $J_{6,7a}$ 10.6, $J_{6,7b}$ 17.2 Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.49 (dt, 1H, J 1.7 Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.26 (dt, 1H, J 1.7 Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 4.95 (s, 1H, H-1), 4.70 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5.9, $J_{3,4}$ 3.6 Hz, H-3), 4.58-4.56 (m, 2H, H-2,5), 3.79 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 7.26 Hz, H-4), 3.33 (s, 3H, OMe), 2.77 (bs, 1H, OH), 1.48, 1.31 (each s, 3H \times 2, $-\text{CMe}_2$).

メチル 2,3-*O*-イソプロピリデン-6-エノ- α -D-リキソ-ヘプト-1,4-フラノシド-5-ウロース (**143**)

142(1.32g, 5.73mmol)の CH_2Cl_2 溶液(60mL)に氷冷下、デスマーチン試薬(3.65g, 8.60mmol)を加え、一晚攪拌。 CHCl_3 で希釈し水酸化ナトリウム溶液、飽和食塩水で順次洗浄。乾燥、濃縮後、シリカゲルカラム(3:1 Hex:EA)で精製し、**143**(1.01g, 77%)をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 6.74 (dd, 1H, $J_{6,7a}$ 10.6, $J_{6,7b}$ 17.5 Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 6.39 (dd, 1H, J 1.7 Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.81 (dd, 1H, J 1.3 Hz, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.09 (s, 1H, H-1), 5.06 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5.6, $J_{3,4}$ 4.3 Hz, H-3), 4.66 (d, 1H, H-4), 4.61 (d, 1H, H-2), 3.37 (s, 3H, OMe), 1.38, 1.27 (each s, 3H \times 2, $-\text{CMe}_2$).

メチル 9,10,11,13-テトラ-*O*-アセチル-8,12-アンヒドロ-6,7-ジデオキシ-2,3-*O*-イソプロピリデン-D-グリセロ-D-ガラクト- α -D-リキソ-トリデコ-1,4-フラノシド-5-ウロース(**144**)

1,2,3,4,6-ペンタ-*O*-アセチル- α -D-マンノピラノース(524mg, 1.34mmol)の CH_2Cl_2 溶液(10mL)に氷冷下、30% HBr-AcOH溶液(5mL)を滴下し、二時間攪拌した後、氷水にあげ CHCl_3 で抽出し飽和重曹水で洗浄し、乾燥、濃縮してブロム体**132**を得た。これと**143**(186 mg, 0.815 mmol)のトルエン溶液(10mL)に Bu_3SnH (361 mL, 1.34 mmol)を加え120°Cで加熱環流し、そこにAIBN(20mg)を加えた。30分攪拌した後室温にもどし濃縮。シリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製し、**144**(134mg, 29%)をシラップとして得た。 $[\alpha]_D^{27} +0.34^\circ$ (c 2.0, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5.32-5.16 (m, 3H, H-2',3',4'), 5.03 (s, 1H, H-1), 4.99 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5.6, $J_{3,4}$ 4.3 Hz, H-3), 4.56 (d, 1H, H-2), 4.45 (d, 1H, H-4), 4.35 (dd, 1H, $J_{6'a,5}$ 6.3, $J_{6'a,6'b}$ 11.9 Hz, H-6'a), 4.08 (dd, 1H, $J_{6'b,5}$ 3.0 Hz, H-6'b), 3.98-3.86 (m, 2H, H-1',5'), 3.34 (s, 3H, OMe), 2.80 (ddd, 1H, $J_{6a,7a}$ 5.6, $J_{6,7b}$ 8.9, $J_{6a,6b}$ 18.5 Hz, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$), 2.65 (ddd, 1H, $J_{6b,7a}$ 6.9, $J_{6b,7b}$ 8.2 Hz, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-$), 2.12, 2.11, 2.06, 2.03 (each s, 3H \times 4, OAc), 1.98-1.91 (m, 2H, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.42, 1.27 (each s, 3H \times 2, $-\text{CMe}_2$); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 205.4, 170.5, 170.1, 169.8, 169.6, 112.9 (Isp), 107.4 (C-1), 84.5, 84.0, 80.8, 73.9, 70.4, 70.3, 68.7, 66.8, 62.2, 54.8, 35.7 (CH_2), 25.7, 24.3, 21.8 (CH_2), 20.8, 20.6, 20.5; Anal. Calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_{14}$: C, 53.57; H, 6.47. Found; C, 53.49; H, 6.28.

メチル 9,10,11,13-テトラ-*O*-アセチル-6,7-ジデオキシ-8,12-エピチオ-2,3-*O*-イソプロピリデン-D-グリセロ-D-ガラクト- α -D-リキソ-トリデコ-1,4-フラノシド-5-ウロース(**145**)

1,2,3,4,6-ペンタ-*O*-アセチル-5-チオ- α -D-マンノピラノース(512 mg, 1.26 mmol)の CH_2Cl_2 溶液(10mL)に氷冷下、30% HBr-AcOH溶液(5mL)を滴下し、二時間攪拌した後、氷水にあげ CHCl_3 で抽出し飽和重曹水で洗浄し、乾燥、濃縮してブロム体**133**を得た。このトルエン溶液(5 mL)に Bu_3SnH (361 mL, 1.34 mmol)を加え120°Cで加熱環流し、そこにAIBN(20 mg)を加えた。3分攪拌した後、**143**(262 mg, 1.15 mmol)のトルエン溶液(5 mL)を滴下した。一時間後、室温にもどし濃縮。シリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製し、

145(144mg, 20%)をシラップとして得た。[α]_D²⁵ +5.77°(c 1.1, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.36 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5}$ 7.6 Hz, H-4'), 5.33 (m, 1H, H-2'), 5.17 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 3.0 Hz, H-3'), 5.05 (s, 1H, H-1), 4.99 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5.9, $J_{3,4}$ 3.6 Hz, H-3), 4.56 (d, 1H, H-2), 4.46 (d, 1H, H-4), 4.33 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.9, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6'a), 4.20 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 5.9 Hz, H-6'b), 3.36 (s, 3H, OMe), 3.23 (q, 1H, H-5'), 3.08-3.01 (m, 1H, H-1'), 2.87 (ddd, 1H, $J_{6a,7a}$ 5.9, $J_{6,7b}$ 7.6 Hz, -C(O)-CH₂-), 2.65 (ddd, 1H, $J_{6b,7a}$ 6.6, $J_{6b,7b}$ 7.9, $J_{6a,6b}$ 18.8 Hz, -C(O)-CH₂-), 2.12, 2.09, 2.04 (each s, 3H, 6H, 3H, OAc), 2.00-1.93 (m, 2H, -C(O)-CH₂-CH₂-), 1.44, 1.28 (each s, 3H \times 2, -CMe₂); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 205.5, 170.4, 170.0, 169.52, 169.45, 112.9 (C-1), 107.5 (IP), 84.6, 84.1, 80.9, 72.0, 69.7, 69.1, 62.8 (C-6'), 54.9 (OMe), 40.3, 39.9 (C-S), 37.0 (CH₂), 25.8, 24.4 (IP), 23.7 (CH₂), 20.9, 20.7, 20.63, 20.57; Anal. Calcd for C₂₅H₃₆O₁₃S : C, 52.08; H, 6.29. Found; C, 51.91; H, 5.79.

メチル 9,10,11,13-テトラ-O-アセチル-8,12-アンヒドロ-6,7-ジデオキシ-2,3-O-イソプロピリデン-D-グリセロ-D-ガラクト- α -D-マンノ-トリデコ-1,4-フラノシド(**146**)

144(598mg, 1.07mmol)のEt₂O溶液(16mL)に氷冷下、0.14M Zn(BH₄)のEt₂O溶液(32mL)を滴下した。30分攪拌した後、酢酸溶液を加え過剰の試薬を分解しEt₂Oで抽出した。飽和重曹水で洗浄、乾燥、濃縮後、シリカゲルカラム(1:1 Hex:EA)で精製し、**146**(238mg, 40%)、**146**, **147**(ジアステレオ比 5:1, 53 mg, 9%)、**146**, **147**(ジアステレオ比 1:5, 65 mg, 11%)をそれぞれシラップとして得た。[α]_D²⁷ +28.6°(c 1.8, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.31-5.18 (m, 3H, H-2',3',4'), 4.91 (s, 1H, H-1), 4.82 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5.9, $J_{3,4}$ 4.0 Hz, H-3), 4.57 (d, 1H, H-2), 4.34 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 6.3, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6'a), 4.11 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 2.3 Hz, H-6'b), 4.03-3.92 (m, 3H, H-5,1',5'), 3.75 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 7.6 Hz, H-4), 3.31 (s, 3H, OMe), 2.63 (d, 1H, $J_{OH,5}$ 2.6 Hz, OH), 2.14, 2.10, 2.06, 2.03 (each s, 3H \times 4, OAc), 1.75-1.69 (m, 4H, -CH₂-CH₂-), 1.48, 1.33 (each s, 3H \times 2, -CMe₂); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.6,170.2,169.9,169.6, 112.6 (IP), 106.9 (C-1), 84.7, 81.9, 79.9, 74.8, 70.8, 70.1, 69.6, 69.0, 66.9, 62.4 (C-6'), 54.5 (OMe), 30.0 (CH₂), 25.9 (IP), 24.6 (CH₂), 24.5 (IP), 20.9, 20.7, 20.6; Anal. Calcd for C₂₅H₃₈O₁₄ : C, 53.38; H, 6.81. Found; C, 53.47; H, 7.03.

メチル 9,10,11,13-テトラ-O-アセチル-6,7-ジデオキシ-8,12-エピチオ-2,3-O-イソプロピリデン-D-グリセロ-D-ガラクト- α -D-マンノ-トリデコ-1,4-フラノシド(**148**)

145(143mg, 0.248mmol)のEt₂O溶液(6mL)に氷冷下、0.14M Zn(BH₄)のEt₂O溶液(15mL)を滴下した。30分攪拌した後、酢酸溶液を加え過剰の試薬を分解しEt₂Oで抽出した。飽和重曹水で洗浄、乾燥、濃縮後、シリカゲルカラム(1:1 Hex:EA)で精製し、**148**(71mg, 50%)、**148**, **149**(ジアステレオ比 5:1, 31mg, 21%)、**148**, **149**(ジアステレオ比 1:1, 15mg, 10%)をそれぞれシラップとして得た。[α]_D²⁵ +30.7°(c 1.1, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.36 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 6.9$ Hz, H-4'), 5.33 (m, 1H, H-2'), 5.19 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 2.6 Hz, H-3'), 4.92 (s, 1H, H-1), 4.82 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5.9, $J_{3,4}$ 4.0 Hz, H-3), 4.57 (d, 1H, H-2), 4.36 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 6.6, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6'a), 4.24 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 6.3 Hz, H-6'b), 3.89 (m, 1H, H-5), 3.77 (dd, 1H, $J_{4,5}$ 7.3 Hz, H-4), 3.33 (s, 3H, OMe), 3.24 (q, 1H, H-5'), 3.07 (m, 1H, H-1'), 2.52 (bs, 1H, OH), 2.11, 2.09, 2.05 (each s, 3H, 6H, 3H, OAc), 1.88-1.69 (m, 4H, -CH₂-CH₂-), 1.48, 1.33 (each s, 3H \times 2, -CMe₂); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.5, 170.1, 169.5, 112.7 (IP), 107.0 (C-1), 84.7, 81.8, 80.0, 72.3, 69.8, 69.7, 69.1, 63.0 (C-6'), 54.6 (OMe), 40.3, 40.0 (C-S), 31.6, 26.9 (CH₂), 25.9, 24.5 (IP), 20.9, 20.7, 20.6, 20.6; Anal. Calcd for C₂₅H₃₈O₁₃S : C, 51.89; H, 6.62. Found; C, 52.29; H, 6.45.

1,2,3,4,9,10,11,13-オクタ-O-アセチル-8,12-アンヒドロ-6,7-ジデオキシ-D-グリセロ-D-ガラクト- β -L-ギュロ

-トリデコ-1,5-ピラノース(150)

144 (19mg, 33.9mmol)のMeOH溶液(1mL)に室温でNaBH₄(1.3mg, 33.9mmol)を加えた。30分攪拌した後、アセトンを加え過剰の試薬を分解し濃縮。シリカゲルカラム(1:1 Hex:EA)で精製し、**147**を主成分として得た。そのまま50%酢酸溶液(2mL)に溶解し100°Cで攪拌。15時間後そのまま濃縮しトルエンで共沸後、Pyr.-Ac₂Oでアセチル化。2時間攪拌した後濃縮し、シリカゲルカラム(5:1 toluene:acetone)で精製し、**150**をシラップとして得た。; **147**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.31-5.19 (m, 3H, H-2',3',4'), 4.94 (s, 1H, H-1), 4.71 (dd, 1H, J_{3,2} 5.9, J_{3,4} 3.6 Hz, H-3), 4.58 (d, 1H, H-2), 4.33 (dd, 1H, J_{6a,5} 5.9, J_{6a,6b} 11.9 Hz, H-6a), 4.12 (dd, 1H, J_{6b,5} 2.6 Hz, H-6b), 4.03-3.92 (m, 3H, H-5,1',5'), 3.76 (dd, 1H, J_{4,5} 5.6 Hz, H-4), 3.33 (s, 3H, OMe), 2.14, 2.10, 2.06, 2.02 (each s, 3H×4, OAc), 1.90-1.68 (m, 4H, -CH₂-CH₂-), 1.47, 1.30 (each s, 3H×2, -CMe₂); **150**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.93 (d, 1H, J_{1,2} 8.9 Hz, H-1), 5.38 (t, 1H, J_{3,2} = J_{3,4} = 3.6 Hz, H-3), 5.27-5.08 (m, 4H, H-2,2',3',4'), 4.90 (t, 1H, J_{4,5} 1.32 Hz, H-4), 4.38 (dd, 1H, J_{6a,5} 6.3, J_{6a,6b} 12.5 Hz, H-6'a), 4.13-4.05 (m, 2H, H-5',6'b), 3.96-3.86 (m, 2H, H-5,1'), 2.17, 2.16, 2.13, 2.12, 2.11, 2.07, 2.03, 2.01 (each s, 3H×8, OAc), 1.79-1.60 (m, 4H, -CH₂-CH₂-).

1,2,3,4,9,10,11,13-オクタ-O-アセチル-6,7-ジデオキシ-8,12-エピチオ-D-グリセロ-D-ガラクト-β-L-ギユロ-トリデコ-1,5-ピラノース(151)

145 (15mg, 33.9mmol)のMeOH溶液(1mL)にLiAl(OtBu)₃Hを氷冷下加えた。30分攪拌した後、酢酸を加え過剰の試薬を分解し、濃縮。シリカゲルカラム(1:1 Hex:EA)で精製し、**149**を主成分として得た。これのMeOH溶液(1mL)に0.5M MeONa溶液(20μL)を滴下。二時間攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮し、そのまま50%TFA溶液(1mL)に溶解し、室温で攪拌。3日後そのまま濃縮し、トルエンで共沸後、Pyr.-Ac₂Oでアセチル化。一晚攪拌した後、濃縮し、シリカゲルカラム(5:1 toluene:acetone)で精製し、**151**をシラップとして得た。; **149**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.36 (t, 1H, J_{4,3} = J_{4,5} 6.9 Hz, H-4'), 5.32 (m, 1H, H-2'), 5.18 (dd, 1H, J_{3,2} 2.6 Hz, H-3'), 4.94 (s, 1H, H-1), 4.73 (dd, 1H, J_{3,2} 5.9, J_{3,4} 3.6 Hz, H-3), 4.58 (d, 1H, H-2), 4.35 (dd, 1H, J_{6a,5} 6.6 Hz, H-6'a), 4.24 (dd, 1H, J_{6b,5} 6.3, J_{6a,6b} 11.6 Hz, H-6'b), 4.02 (m, 1H, H-5), 3.78 (dd, 1H, J_{4,5} 5.0 Hz, H-4), 3.34 (s, 3H, OMe), 3.23 (q, 1H, H-5'), 3.07 (m, 1H, H-1'), 2.10, 2.09, 2.09, 2.05 (each s, 3H×4, OAc), 1.86-1.60 (m, 4H, -CH₂-CH₂-), 1.47, 1.30 (each s, 3H×2, -CMe₂); **151**: ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.93 (d, 1H, J_{1,2} 8.6 Hz, H-1), 5.41 (t, 1H, J_{3,2} = J_{3,4} = 3.6 Hz, H-3), 5.34 (t, 1H, J_{4,3} = J_{4,5} 7.3 Hz, H-4'), 5.30-5.08 (m, 3H, H-2,2',3'), 4.94 (bd, 1H, H-4), 4.39 (dd, 1H, J_{6a,5} 6.3, J_{6a,6b} 11.9 Hz, H-6'a), 4.18 (dd, 1H, J_{6b,5} 7.3 Hz, H-6'b), 4.11-4.05 (m, 1H, H-5), 3.20 (q, 1H, H-5'), 3.00-2.97 (m, 1H, H-1'), 2.20, 2.17, 2.13, 2.10, 2.09, 2.09, 2.05, 2.01 (each s, 3H×8, OAc), 1.75-1.60 (m, 4H, -CH₂-CH₂-).

メチル 8,12-アンヒドロ-5,9,10,11,13-ペンタ-O-ベンジル-6,7-ジデオキシ-D-グリセロ-D-ガラクト-α-D-マンノ-トリデコ-1,4フラノシド(152)

146 (ジアステレオ比 5:1, 53mg, 0.0942mmol)のMeOH溶液(2mL)に0.5M MeONa溶液(50 μL)を滴下した。一時間攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮し、トルエンで共沸。これのDMF溶液(1mL)にNaH(41mg, 0.940mmol)を加えた。室温で二時間攪拌後、BnBr(112 μL, 0.942mmol)を滴下。室温で一晩攪拌した後、MeOHを加え過剰の試薬を分解し、濃縮。EtOAcに溶解し、飽和食塩水で洗浄後、乾燥、濃縮しシリカゲルカラム(5:1 Hex:EA)で精製し、ベンジル体(45mg, 57%, 2steps)、そのジアステレオマー(22mg, 27%)をそれぞれシラップとして得た。これ(45mg, 53.3μmol)の50%TFA-THF溶液(2-1mL)に溶解し50°Cで攪拌。6時間後そのまま濃縮し、1% HCl-MeOH溶液(1 mL)を加えた。室温で一晩攪拌した後、重曹を加え中和し、ろ過、

濃縮。シリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製し、**152**(29mg, 68%, 2steps)をシラップとして得た。; ベンジル体: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.38-7.16 (m, 25H, Ph \times 5), 4.81 (s, 1H, H-1), 4.79-4.49 (m, 12H, H-2,3,PhCH \times 10), 4.02-3.74 (m, 7H, H-4,5,3',4',5',6'a,6'b), 3.60 (bd, 1H, H-2'), 3.21 (s, 3H, OMe), 1.77-1.60 (m, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.45, 1.33 (each s, 3H \times 2, $-\text{CMe}_2$); **152**: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.30-7.18 (m, 25H, Ph \times 5), 4.81 (d, 1H, $J_{1,2}$ 1.7 Hz, H-1), 4.75-4.48 (m, 10H, PhCH \times 10), 4.39-4.25 (m, 2H, H-3, 3-OH), 3.96-3.67 (m, 8H, H-2,4,5,3',4',5',6'a,6'b), 3.53 (dd, 1H, $J_{2,1'}$ 2.6, $J_{2,3'}$ 5.0 Hz, H-2'), 3.36 (s, 3H, OMe), 1.95-1.59 (m, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$).

メチル 5,9,10,11,13-ペンタ-O-ベンジル-6,7-ジデオキシ-8,12-エピチオ-D-グリセロ-D-ガラクト- α -D-マンノ-トリデコ-1,4-フラノシド(**153**)

148(72mg, 0.123mmol)のMeOH溶液(2mL)に0.5M MeONa溶液(40 μ L)を滴下した。一時間攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮し、トルエンで共沸。これのDMF溶液(2mL)にNaH(91mg, 2.09mmol)を加えた。室温で二時間攪拌後、BnBr(233 μ L, 1.96mmol)を滴下。室温で一晩攪拌した後、MeOHを加え過剰の試薬を分解し濃縮。EtOAcに溶解し、飽和食塩水で洗浄後、乾燥、濃縮しシリカゲルカラム(5:1 Hex:EA)で精製し、ベンジル体(75mg, 70%, 2steps)をシラップとして得た。これ(75mg, 87.4 μ mol)の50%TFA-THF溶液(4-2 mL)に溶解し60 $^\circ\text{C}$ で攪拌。5時間後そのまま濃縮し、1% HCl-MeOH溶液(2 mL)を加えた。室温で一晩攪拌した後、重曹を加え中和し、ろ過、濃縮。シリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製し、**153**(37mg, 52%, 2steps)をシラップとして得た。; ベンジル体: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.32-7.22 (m, 25H, Ph \times 5), 4.83 (s, 1H, H-1), 4.78-4.44 (m, 12H, H-2,3,PhCH \times 10), 4.14 (t, 1H, $J_{4,3'} = J_{4,5'} = 5.3$ Hz, H-4'), 3.92-3.63 (m, 6H, H-4,5,2',3',6'a,6'b), 3.25 (s, 3H, OMe), 3.23-3.15 (m, 1H, H-1'), 3.03 (bq, 1H, H-5'), 1.83-1.63 (m, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 1.45, 1.33 (each s, 3H \times 2, $-\text{CMe}_2$); $^{13}\text{C NMR}$ δ 138.9, 138.33, 138.28, 128.34, 128.27, 127.9, 127.8, 127.75, 127.66, 127.51, 127.46, 112.1 (IP), 107.1 (C-1), 84.9, 80.5, 79.8, 79.4, 77.0, 75.9, 75.6, 72.9, 72.8, 72.3, 72.1, 71.9, 71.0, 54.5 (OMe), 42.3, 39.2 (C-S), 29.0 (CH_2), 26.2 (IP), 25.9 (CH_2), 25.1 (IP); **153**: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.36-7.18 (m, 25H, Ph \times 5), 4.84 (d, 1H, $J_{1,2}$ 2.0 Hz, H-1), 4.73, 4.59 (each d, 2H, J 10.9 Hz, PhCH \times 2), 4.53-4.44 (m, 8H, PhCH \times 8), 4.38 (q, 1H, $J_{3,2} = J_{3,4} = J_{3,\text{OH}}$ 5.0 Hz, H-3), 4.22 (d, 1H, 3-OH), 4.15 (t, 1H, $J_{4,3'} = J_{4,5'} = 4.6$ Hz, H-4'), 3.98-3.86 (m, 4H, H-4,5,6'a,6'b), 3.77 (dd, 1H, $J_{2,1'}$ 8.9, $J_{2,3'}$ 2.3 Hz, H-2'), 3.70-3.64 (m, 2H, H-2,3'), 3.37 (s, 3H, OMe), 3.23-3.17 (m, 1H, H-1'), 3.03 (bq, 1H, H-5'), 2.04-1.61 (m, 4H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 138.2, 138.1, 137.4, 128.5, 128.41, 128.36, 128.30, 128.27, 128.16, 128.05, 128.01, 127.94, 127.87, 127.76, 127.69, 127.62, 127.5, 108.8 (C-1), 79.9, 79.4, 76.9, 76.2, 75.1, 74.1, 73.0, 72.8, 72.7, 71.9, 71.8, 71.2, 55.4 (OMe), 42.4, 37.9 (C-S), 28.1, 26.9 (CH_2).

メチル 8,12-アンヒドロ-5,9,10,11,13-ペンタ-O-ベンジル-6,7-ジデオキシ-O-(2,3,4,6-テトラ-O-アセチル- α -D-マンノピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-D-グリセロ-D-ガラクト- α -D-マンノ-トリデコ-1,4-フラノシド(**154**)

2,3,4,6-テトラ-O- α -D-マンノピラノシルトリクロロアセトイミダート(21mg, 42.6 μ mol)、アクセプター**152**(29mg, 36.0mmol)の(CH_2Cl_2)(2 mL)溶液に、砕いたMS4A (200mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20 $^\circ\text{C}$ に冷却し、 $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (1.8 μ L, 14.5 μ mol)の(CH_2Cl_2)溶液(0.5 mL)を滴下。1時間後、 Et_3N を加えて中和した。 CHCl_3 で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製して、**154**(15mg, 36%)をシラップとして得た。; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.39-7.16 (m, 25H, Ph \times 5), 5.34-5.21 (m, 3H, H-2'',3'',4''), 4.88 (d, 1H, $J_{1,2}$ 1.3 Hz, H-1), 4.77 (s, 1H, H-1''), 4.74-4.43 (m, 11H, H-5'',PhCH \times 10), 4.41-3.75 (m, 11H, H-2,3,4,5,3',4',5',6'a,6'b,6''a,6''b), 3.58 (t, 1H, $J_{2,1''} = J_{2,3''} = 3.6$ Hz, H-2''), 3.31 (s, 3H, OMe), 2.08, 2.06,

2.05, 1.95 (each s, 3H×4, OAc), 1.82-1.52 (m, 4H, -CH₂-CH₂-).

メチル 5,9,10,11,13-ペンタ-*O*-ベンジル-6,7-ジデオキシ-8,12-エピチオ-*O*-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル- α -D-マンノピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-D-グリセロ-D-ガラクト- α -D-マンノ-トリデオ-1,4-フラノシド(**155**)

2,3,4,6-テトラ-*O*- α -D-マンノピラノシルトリクロロアセトイミダート(28mg, 56.8 μ mol)、アクセプター**153**(37mg, 45.1 μ mol)の(CH₂Cl)₂(1mL)溶液に、砕いたMS4A(100mg)を懸濁し、アルゴン気流下で1時間攪拌。-20°Cに冷却し、BF₃•OEt₂(3.0 μ L, 24.1 μ mol)の(CH₂Cl)₂溶液(0.2mL)を滴下。1時間後、Et₃Nを加えて中和し、CHCl₃で希釈し、セライトろ過後、濃縮し、シリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製して、**155**(21mg, 41%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.34-7.21 (m, 25H, Ph×5), 5.33 (dd, 1H, $J_{5',2'}$ 3.2, $J_{3',4'}$ 9.9 Hz, H-3"), 5.29 (dd, 1H, $J_{2',1'}$ 1.7 Hz, H-2"), 5.25 (t, 1H, $J_{4',5'}$ 9.9 Hz, H-4"), 4.90 (d, 1H, H-1"), 4.78 (d, 1H, $J_{1,2}$ 1.5 Hz, H-1), 4.71-4.42 (m, 11H, H-3, PhCH×10), 4.37 (ddd, 1H, $J_{5',6'a}$ 2.1, $J_{5',6'b}$ 5.5 Hz, H-5"), 4.21 (dd, 1H, $J_{6'a,6'b}$ 12.4 Hz, H-6"a), 4.15 (t, 1H, $J_{4',3'}$ = $J_{4',5'}$ = 5.5 Hz, H-4'), 4.12 (t, 1H, $J_{4,3}$ = $J_{4,5}$ = 6.0 Hz, H-4), 4.03 (dd, 1H, H-6"b), 3.97 (m, 1H, H-2), 3.91 (dd, 1H, $J_{6'a,5'}$ 8.0, $J_{6'a,6'b}$ 9.3 Hz, H-6'a), 3.79-3.73 (m, 2H, H-2',5), 3.68 (dd, 1H, $J_{6'b,5'}$ 6.5 Hz, H-6"b), 3.63 (dd, 1H, $J_{3',2'}$ 2.3 Hz, H-3'), 3.32 (s, 3H, OMe), 3.22-3.18 (m, 1H, H-1'), 3.04 (bq, 1H, H-5'), 2.08, 2.05, 1.94 (each s, 3H, 6H, 3H, OAc), 1.88-1.47 (m, 4H, -CH₂-CH₂-).

メチル 3,5,9,10,11,13-ヘキサ-*O*-アセチル-8,12-アンヒドロ-6,7-ジデオキシ-*O*-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル- α -D-マンノピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-D-グリセロ-D-ガラクト- α -D-マンノ-トリデオ-1,4-フラノシド(**156**)

アルゴン気流下-78°Cに冷却した**154**(15mg, 13 μ mol)のTHF(0.3mL)溶液に液化したアンモニア(約3mL)を加えた。攪拌しながら、細かく切ったナトリウム片を少しずつ加えた。15分攪拌し濃青色が消失していないことを確認して、MeOHを注意深く加え反応を止めた。30分攪拌した後、徐々に室温に戻し、アンモニアを留去。濃縮後、Pyr.-Ac₂Oに溶かして室温で一晩攪拌。常法による後処理後、シリカゲルカラム(5:1 toluene:acetone)で精製して、**156**(12mg, 95%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.28-5.19 (m, 5H, H-3',4',2",3",4"), 5.17 (dd, 1H, $J_{2',1'}$ 1.8, $J_{2',3'}$ 2.7 Hz, H-2'), 5.15-5.09 (m, 1H, H-5), 5.08 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 1.5, $J_{2,3}$ 5.0 Hz, H-2), 4.91 (s, 1H, H-1), 4.86 (s, 1H, H-1"), 4.68 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 6.3 Hz, H-3), 4.29-4.22 (m, 3H, H-4,6'a,6"b), 4.15 (dd, 1H, $J_{6'b,5'}$ 2.7, $J_{6'b,6'a}$ 12.1 Hz, H-6"b), 4.11-4.06 (m, 2H, H-5',6'b), 3.97-3.95 (m, 1H, H-1'), 3.90 (ddd, 1H, $J_{5',4'}$ 8.7, $J_{5',6'a}$ 6.1 Hz, H-5"), 3.36 (s, 3H, OMe), 2.18, 2.14, 2.13, 2.10, 2.07, 2.05, 2.04, 2.00, 1.97 (each s, 3H, 3H, 3H, 6H, 3H, 3H, 3H, 3H, 3H, OAc), 1.97-1.86 (m, 2H, -CH₂-CH₂-), 1.70-1.60 (m, 2H, -CH₂-CH₂-).

メチル 3,5,9,10,11,13-ヘキサ-*O*-アセチル-6,7-ジデオキシ-8,12-エピチオ-*O*-(2,3,4,6-テトラ-*O*-アセチル- α -D-マンノピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-D-グリセロ-D-ガラクト- α -D-マンノ-トリデオ-1,4-フラノシド(**157**)

アルゴン気流下-78°Cに冷却した**155**(15mg, 13 μ mol)のTHF(0.5mL)溶液に液化したアンモニア(約3mL)を加えた。攪拌しながら、細かく切ったナトリウム片を少しずつ加えた。15分攪拌し濃青色が消失していないことを確認して、MeOHを注意深く加え反応を止めた。30分攪拌した後、徐々に室温に戻し、アンモニアを留去。濃縮後、Pyr.-Ac₂Oに溶かして室温で一晩攪拌。常法による後処理後、シリカゲルカラム(5:1 toluene:acetone)で精製して、**157**(13mg, 87%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.37-5.04 (m, 8H, H-2,5,2',3',4',2",3",4"), 4.94, 4.87 (each s, 2H, H-1,1"), 4.68 (t, 1H, $J_{3,2}$ = $J_{3,4}$ = 5.6 Hz, H-3), 4.38-4.08 (m, 6H, H-4,5',6'a,6'b,6"a,6"b), 3.38 (s, 3H, OMe), 3.23 (q, 1H, $J_{5',4'}$ = $J_{5',6'a}$ = $J_{5',6'b}$ = 6.6 Hz, H-5'), 3.11-3.03 (m, 1H, H-1'), 2.20, 2.14, 2.10, 2.09, 2.08, 2.06, 2.05, 1.97 (each s, 3H, 3H, 3H, 9H, 3H, 3H, 3H, 3H, OAc), 1.95-1.60 (m, 4H,

-CH₂-CH₂-).

8,12-アンヒドロ-6,7-ジデオキシ-*O*-(α -D-マンノピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-D-グリセロ-D-ガラクト-D-マンノ-トリデオコース(158)

156 (13mg, 87%)のMeOH-CH₂Cl₂溶液(0.5-0.5mL)に0.5M MeONa溶液(20 μ L)を滴下。一晚攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮し、そのまま50%TFA溶液(1mL)に溶解し、室温で一晩攪拌。そのまま濃縮し、シリカゲルカラム(4:2:1 EA:MeOH:H₂O)で精製して、凍結乾燥して158(4.6mg, 75%)をアモルファスな固体として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 5.18 (s, 1H, H-1'), 5.15 (d, 0.6H, *J*_{1,2} 1.8 Hz, H-1), 4.92 (s, 0.4H, H-1), 4.16-3.39 (m), 2.06-1.65 (m, 4H, -CH₂CH₂-); FAB (m/z) 525.1 (M+Na).

6,7-ジデオキシ-8,12-エピチオ-*O*-(α -D-マンノピラノシル)-(1 \rightarrow 3)-D-グリセロ-D-ガラクト-D-マンノ-トリデオコース(159)

157 (13mg, 87%)のMeOH溶液(2mL)に0.5M MeONa溶液(40mL)を滴下。一晚攪拌した後Dowexで中和、ろ過、濃縮し、そのまま50%TFA溶液(2mL)に溶解し、室温で一晩攪拌。そのまま濃縮し、シリカゲルカラム(7:1:2.5 iPrOH:NH₄OH:H₂O)で精製して、凍結乾燥して159(2mg, 24%)をアモルファスな固体として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 5.14 (s, 1H, H-1'), 5.11 (d, 0.8H, H-1), 4.08-3.35 (m), 3.35, 3.07 (each m, H-1",5"), 2.00-1.83 (m, 4H, -CH₂CH₂-); FAB (m/z) 541.3 (M+Na) .

コンカナバリンAの結合実験

ConA : Sigma, Type-IV (high purified, salt free; C2010)

HEPES : nacalai, good buffer, Code 175-14

リガンドの全濃度をL、解離定数をK_d、阻害剤の濃度をI、解離定数をK_i、アニソトロピーをr、最大値をr_B、最小値をr_F、ConAの全濃度をPとすると次式が成り立つ。

$$I = K_i / K_d \{ P(r_B - r) / (r - r_F) - L(r_B - r) / (r_B - r_F) \} - K_i \quad (2)$$

Iに対してrをプロットして得られる曲線を(2)式により非直線回帰させることでK_iを得た。

HEPES 緩衝液 : 0.1 M, pH 7.2 (NaCl 0.9 M, CaCl₂ 1 mM, MnCl₂ 1mM), 温度 : 25°C

被滴下溶液(セル中の最初の溶液) : ligand 7.5 μ M ConA 70 mM / HEPES 500 mL

滴下溶液 : ConA 70 μ M, ligand 7.5 μ L, inhibitor ca. 50 mM / HEPES 200 μ Lを5-30 μ Lの間隔で滴下。各滴下30分後に偏光度を測定した。

ConA (Mw, 26500) 約8.2 mg / HEPES 210 μ Lを保存溶液とする。

保存溶液20 μ L / HEPES 1980 μ L: A^{1%,1cm} 13.7 より正確な濃度を定量。

ConA保存溶液とリガンド保存溶液から滴下溶液を調整。

測定条件 : アニソトロピー: $r = (V_v - V_H H_v / H_H) / (V_v + 2V_H H_v / H_H)$ を測定する。

	V _v	V _H	H _v	H _H	バンド	セル長	波長
蛍光	0°	90°	0°	90°	20 nm	10 nm	546 nm
励起	0°	0°	90°	90°	20 nm	3 nm	340 nm

2,3,4,6-テトラ-O-アセチル-5-チオ- α -D-マンノピラノシル ジベンジルリン酸(**163**)

1) ブロム体を経由する方法

1,2,3,4,6-ペンタ-O-アセチル-5-チオ- α -D-マンノピラノース(49mg, 0.121mmol)の(CH₂Cl)₂溶液(1.0mL)に氷冷下、30%HBr-AcOH溶液(0.5mL)を滴下し、二時間攪拌した後、氷水にあげCHCl₃で抽出し飽和重曹水で洗浄し、乾燥、濃縮してブロム体を得た。これとAgOP(O)(OBn)₂(47mg, 0.122mmol)のベンゼン溶液(2.0mL)をアルミホイルで巻いて遮光したあと、90°Cで加熱環流。1時間攪拌した後室温にもどしセライトろ過し、濃縮。シリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製し、**163**(49mg, 63%)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.44 (dd, 1H, $J_{2,1}$ 4.3, $J_{2,3}$ 3.3 Hz, H-2), 5.43 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 10.2$ Hz, H-4), 5.41 (dd, 1H, $J_{1,P}$ 6.9 Hz, H-1), 5.25 (dd, 1H, H-3), 5.27-5.22 (m, 2H, CH₂), 4.25 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.6, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6a), 3.93 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 3.3 Hz, H-6b), 3.40 (ddd, 1H, H-5), 2.17, 2.04, 2.02, 2.00 (each s, 3H \times 4, OAc); ³¹P NMR δ -2.23; ¹³C NMR (CDCl₃) δ 170.4, 169.6, 169.5, 128.7, 128.6, 128.1, 127.9, 78.0 ($J_{C-1,P}$ 6.1 Hz), 70.3 ($J_{C-2,P}$ 9.8 Hz), 69.9 ($J_{CH,P}$ 4.9 Hz), 69.7 ($J_{CH,P}$ 4.9 Hz), 69.5, 68.4, 61.3 (C-6), 39.9 (C-5), 20.8, 20.5 (Ac).

2) 1-OH体を経由する方法

1,2,3,4,6-ペンタ-O-アセチル-5-チオ- α -D-マンノピラノース(96mg, 0.236mmol)のDMF (2.25mL)溶液に、H₂NNH₂•AcOH(27mg, 0.293mmol)を加え、40°Cで1時間攪拌。EtOAcで希釈し、飽和食塩水で3回洗浄。乾燥、濃縮し、シリカゲルカラム(2:1 Hex:EA)で精製して、1-OH体(73mg)をシラップとして得た。; ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.47 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9.9$ Hz, H-4), 5.44-5.38 (m, 2H, H-2, 3), 5.00 (d, 1H, H-1), 4.33 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 5.6, $J_{6a,6b}$ 12.2 Hz, H-6a), 4.12 (dd, 1H, $J_{6b,5}$ 4.0 Hz, H-6b), 3.68 (ddd, 1H, H-5), 3.07 (bs, 1H, OH), 2.19, 2.10, 2.06, 2.01 (each s, 3H \times 4, OAc). (BnO)₂P(O)H(210mg, 0.800mmol)のCCl₄(1.2mL)溶液にアルゴン気流下、0°CでNCS(107 mg, 0.801mmol)を少しずつくわえ、5時間攪拌。白色沈殿をろ過し、ろ液を室温で濃縮して(BnO)₂P(O)Clを調製。1-OH体のTHF(5mL)溶液にアルゴン気流下、-78°Cで1.6 M nBuLi (128 μ L)を滴下。2分後、先に調製した(BnO)₂P(O)ClのTHF(1.2mL)溶液をゆっくり滴下。15分後Et₂Oで希釈し、飽和食塩水で3回洗浄、乾燥、濃縮した後、シリカゲルカラム(3:2 Hex:EA)で精製して、**163**(94mg, 64%)をシラップとして得た。

5-チオ- α -D-マンノピラノシル リン酸 トリエチルアンモニウム塩(**164**)

163(49mg, 76 μ mol)のMeOH(3.0mL)溶液にEt₃N(13 μ L, 93 μ mol)とPd/C(10%, 100 mg)を加え、水素ガスを通して接触水素添加を行った。24時間後TLCで生成物がひとつにまとまったのを確認し、セライトろ過し、濃縮。これのMeOH(1.0mL)、水(0.45mL)、Et₃N (0.15mL)溶液を室温で一晩攪拌。そのまま濃縮し凍結乾燥して、**164**(23mg, 79 %)をアモルファスな個体として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 5.10 (dd, 1H, $J_{1,2}$ 4.0, $J_{1,P}$ 9.2 Hz, H-1), 4.22 (bs, 1H, H-2), 3.93 (dd, 1H, $J_{6a,5}$ 3.0, $J_{6a,6b}$ 11.9 Hz, H-6a), 3.85-3.78 (m, 2H, H-3,6b), 3.75 (t, 1H, $J_{4,3} = J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 3.27-3.22 (m, 1H, H-5), 3.18 (q, 6H, J 7.3 Hz, TEA), 1.26 (t, 9H, TEA) ³¹P NMR (D₂O) δ -4.81.

GDP-5-チオ- α -D-マンノース(**165**)

1) GMP-morpholidateを用いる方法

164(23mg, 61 μ mol)と市販のGMP-morpholidate (43mg, 59 μ mol)をそれぞれpyridineで3回共沸した後、あわせてpyridine(4.0mL)に懸濁し、アルゴン気流下室温で攪拌。1週間後、反応溶液をそのまま濃縮し、残渣を陰イオン交換カラム (Dowex 1-X2, formate form)に通し、目的物を吸着。NH₄HCO₃(50mM-1M)水溶液で

溶出し、目的物のフラクションを濃縮。さらにゲルろ過カラム(Bio Gel P-2)で精製し凍結乾燥して、**165**をアンモニウム塩として得た。

2) GMP-imidazolideとMgCl₂を用いる方法

163(76mg, 0.122mmol)のMeOH(2.0mL)溶液にnBu₃N(30mg, 1.62mmol)とPd/C(10%, 100 mg)を加え、水素ガスを通して接触水素添加を行った。24時間後TLCで生成物がひとつにまとまったのを確認し、セライトろ過し、濃縮。これのMeOH(2.0mL)、水(0.9mL)、Et₃N(0.3mL)溶液を室温で一晩攪拌した。そのまま濃縮し**164**をトリブチルアミン塩として得た。pyridineで3回共沸したGMP(53mg, 0.146mmol)のnBu₃N塩をDMF(1.5mL)に溶かし、N-N'-カルボニルイミダゾール(26mg, 0.160mmol)を加え、アルゴン気流下室温で攪拌。1時間後MeOを加え30分攪拌し過剰の試薬を分解し、濃縮してGMPイミダゾリドを得た。得られた1-リン酸体とGMPイミダゾリドをそれぞれpyridineで2回、DMFで2回共沸した後、あわせてDMF(2.0mL)に溶かし、MgCl₂(46mg, 0.483mmol)を加え、室温で攪拌。36時間後濃縮し、この後の精製は先と同様に行った。その結果、**165**(18mg, 22%)をアンモニウム塩として得た。; ¹H NMR (D₂O) δ 8.16 (s, 1H, H-8), 5.98 (d, 1H, J_{1,2} 6.4 Hz, H-1), 5.33 (dd, J_{1,2'} 4.0, J_{1,P} 9.2 Hz, H-1'), 4.83 (dd, 1H, H-2), 4.57 (dd, 1H, J_{3,2} 5.2, J_{3,4} 3.0 Hz, H-3), 4.40 (m, 1H, H-4), 4.37 (dd, 1H, J_{2,3'} 2.3 Hz, H-2'), 4.28-4.25 (m, 2H, H-5a,5b), 3.94-3.78 (m, 4H, H-3',4',6'a,6'b), 3.32 (m, 1H, H-5'); ³¹P NMR (D₂O) δ -10.72, -12.63 (J_{POP} 20.6 Hz).

マンノース転移酵素による転移実験

α(1→2)ManTはCALIBIOCHEMから、GDP-ManはSigmaから購入した。

参考文献

- 1) 別冊日経サイエンス 糖鎖と細胞
- 2) F. Eckstein, *Angew. Chem, Int. Ed, Engl.* **22**, 423 (1983).
- 3) 湯浅 英哉、*化学と工業*、51, 187 (1998).
- 4) H. Yuasa, O. Hindsgaul, M. M. Palcic, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 5891 (1992).
- 5) H. Hashimoto, M. Kawanishi, H. Yuasa, *Chem. Eur. J.* **2**, 556 (1996).
- 6) S. Mehta, J. S. Andrews, B. D. Johnston, B. Svensson, B. M. Pinto, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 9783 (1995).
- 7) R. L. Whistler, T. V. Es, *J. Org. Chem.*, **28**, 2303 (1963).
- 8) H. Hashimoto, T. Fujimori, H. Yuasa, *J. Carbohydr. Chem.*, **9**, 683 (1990).
- 9) J. B. Lambert, S. M. Wharry, *Carbohydr. Res.*, **115**, 33 (1983).
- 10) H. Yuasa, Y. Nakano, H. Hashimoto, *Carbohydr. Lett.*, **2**, 23 (1996).
- 11) S. Mehta, K. L. Jordan, T. Weimar, U. C. Kreis, R. J. Batchelor, F. W. B. Einstein, B. M. Pinto, *Tetrahedron Asymmetry*, **5**, 2367 (1994).
- 12) A. Wei, K. M. Boy, Y. Kishi, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 9432 (1995).
- 13) E. E. Sigmanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **98**, 833 (1998).
- 14) H. Hashimoto, M. Kawanishi, H. Yuasa, *Tetrahedron Lett.* **32**, 7087 (1991).
- 15) M. Izumi, O. Tsuruta, H. Hashimoto, *Carbohydr. Res.*, **280**, 287 (1995).
- 16) S. Takahashi, H. Kuzuhara, *Chem. Lett.*, 21 (1994).
- 17) G. W. J. Fleet, A. Karpas, R. A. Dwek, L. E. Fellows, A. S. Tynms, S. Petursson, S. K. Namgoong, N. G. Ramsden, P. W. Smith, J. C. Son, F. X. Wilson, D. R. Witty, G. S. Jacob, T. W. Ramsden, *FEBS Lett.*, **237**, 128 (1998).
- 18) H. Hashimoto, M. Izumi, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 4949 (1993).
- 19) P. Kosma, R. Bahnmüller, G. Schulz, H. Brade, *Carbohydr. Res.*, **208**, 37 (1990).
- 20) E. J. Corey, A. Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 6190 (1972).
- 21) M. Petitou, P. Duchaussoy, I. Lederman, J. Choay, P. Sinaÿ, J.-C. Jacquinet, G. Torri, *Carbohydr. Res.*, **147**, 221 (1986).
- 22) D. Lafont, P. Boullanger, J. Banoub, G. Descotes, *Can. J. Chem.*, **67**, 828 (1989).
- 23) R. W. Jeanloz, E. A. Balazs, THE AMINO SUGARS, ACADEMIC PRESS, (1969).
- 24) 湯浅 英哉、平成2年度、本学博士論文
- 25) M. Saady, L. Lebeau, C. Mioskowski, *J. Org. Chem.*, **60**, 2946 (1995).
- 26) G. C. Tsay, G. Daeson, *Anal. Biochem.* **78**, 423 (1977).
- 27) O. Hindsgul, D. P. Khare, M. Bach, R. U. Lemieux, *Can. J. Chem.*, **63**, 2653 (1985). U. Spohr, E. Paszkiewicz-Hnatiw, N. Morishima, R. U. Lemieux, *Can. J. Chem.*, **70**, 254 (1992). R. Cromer, U. Spohr, D. P. Khare, J. LePendu, R. U. Lemieux, *Can. J. Chem.*, **70**, 1511 (1992). R. U. Lemieux, M.-H. Du, U. Spohr, *Can. J. Chem.*, **72**, 158 (1994).
- 28) D. Tailler, J.-C. Jacquinet, A.-M. Noirot, J.-M. Beau, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1*, 3164 (1992).
- 29) C. A. A. van Boeckel, S. F. van Aelst, T. Beetz, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **102**, 415 (1983).

- 30) H. Hori, Y. Nishida, H. Ohru, H. Meguro, *J. Org. Chem.*, **54**, 1346 (1989).
- 31) L.-X. Wang, N. Sakairi, H. Kuzuhara, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1*, 1677 (1990).
- 32) T. Nakano, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.*, **243**, 43 (1993).
- 33) R. Windmuller, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.*, **35**, 7927 (1994).
- 34) K.L. Matta, C.F. Piskorz, G.V. Reddy, E.V. Chandrasekaran, R.K. Jain, ACS Symposium Series 560, 120 (1994).
- 35) P. R. Rosevear, H. A. Nunez, R. Barker, *Biochemistry*, **21**, 1421 (1982).
- 36) H. Thogersen, R. U. Lemieux, K. Bock, B. Meyer, *Can. J. Chem.* **60**, 44 (1982).
- 37) 和泉 雅之、平成7年度、本学博士論文
- 38) P. F. Longchambon, J. Ohanessian, H. Giller-Pandraud, D. Duchet, J. C. Jancquinet, P. Sinay, *Acta Cryst. B* **37**, 601 (1981).
- 39) M. Izumi, Y. Suhara, Y. Ichikawa, *J. Org. Chem.*, **63**, 4811 (1998).
- 40) S. Akamatsu, S. Yazawa, K. Zenita, H. Matsumoto, T. Tachikawa, R. Kannagi, *Glycoconjugate J.*, **13**, 1021 (1996).
- 41) C.-H. Wong, S. L. Haynie, G.M. Whitesides, *J. Org. Chem.*, **47**, 5418 (1989).
- 42) Y. Ichikawa, M. M. Sim, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.*, **57**, 2943 (1992).
- 43) H. Paulsen, V. Rutz, I. Brockhausen, *Liebigs Ann. Chem.* **747** (1992).
- 44) M. Inage, H. Chaki, S. Kusumoto, T. Shiba, *Chem. Lett.*, 1281 (1982).
- 45) R. R. Schmidt, B. Wegmann, K.-H. Jung, *Liebigs Ann. Chem.* **121** (1991).
- 46) E. W. Putman, *Methods Carbohydr. Chem.*, **2**, 261 (1963).
- 47) R. L. Whistler, J. H. Stark, *Carbohydr. Res.*, **13**, 15 (1970).
- 48) N. K. Kochetkov, V. N. Shibaev, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **28**, 307 (1973).
- 49) a) J. Y. Zhao, N. J. Dovichi, O. Hindsgaul, S. Gosselin, M. M. Palcic, *Glycobiology*, **4**, 239 (1994). b) Y. Zhao, N. J. Dovichi, C. A. Compston, M. M. Palcic, P. Diedrich, O. Hindsgaul, *Anal. Biochem.*, **227**, 368 (1995).
- 50) R. R. Schmidt, Willy Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **50**, 21 (1994).
- 51) E. Tanahashi, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.*, **117**, 304 (1983).
- 52) G. Grundler, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1826** (1984).
- 53) A. Basella, C. Witizig, J. L. Chiara, M. M. Lomas, *Helvetica Chem. Acta*, **74**, 2073 (1991).
- 54) K. Jansson, S. Ahlfors, T. Frejd, J. Kihlberg, G. Magnusson, *J. Org. Chem.*, **53**, 5629 (1988).
- 55) A. Wei, A. Haudrechy, C. Audin, H. S. Jun, N. H. Bretel, Y. Kishi, *J. Org. Chem.*, **60**, 2160 (1995).
- 56) a) U. Brodbeck, W. L. Denton, N. Tanahashi, K.E. Ebner, *J. Biol. Chem.*, **242**, 1391 (1967). b) R.L. Hill, K. Brew, *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **43**, 411 (1975). c) J.H. Shaper, N.L. Shaper, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2**, 701 (1992).
- 57) K.-Y. Do, S.-I. Do, R.D. Comings, *J. Biol. Chem.* **270**, 18447 (1995).
- 58) E. Tanahashi, M. Kiso and A. Hasegawa, *J. Carbohydr. Chem.*, **2**, 129 (1983).
- 59) G. Grundler, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1826** (1984).
- 60) H. Yuasa, S. Matsuuura, H. Hashimoto, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **8**, 2139 (1998).
- 61) P. G. Goekjian, T.-C. Wu, Y. Kishi, *J. Org. Chem.*, **56**, 6412 (1991).

- 62) H. Yuasa, H. Hashimoto, *Tetrahedron*, **49**, 8977 (1993).
- 63) a) C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. de Leeuw, C. Altona, *Tetrahedron*, **36**, 2783 (1980). b) C. A. G. Haasnoot, F. A. A. M. de Leeuw, C. Altona, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **89**, 125 (1980).
- 64) a) B. Giese, M. Hoch, C. Lamberth, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.*, **29**, 1375 (1988). b) R. M. Binwala, P. Vogel, *J. Org. Chem.*, **57**, 2076 (1992).
- 65) H. Yuasa, Y. Izukawa, H. Hashimoto, *J. Carbohydr. Chem.*, **8**, 753 (1989).
- 66) J.M.J. Tronchet, B. Gentile, A.P. Bonenfast, O.R. Martin, *Helv. Chem. Acta* **62**, 696 (1979).
- 67) J. B. Summer, S. F. Howell, *J. Bacterol.* **32**, 262 (1936).
- 68) C. F. Brewer, L. Bhattacharyya, R. D. Brown, S. H. Koenig, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **127**, 1066 (1985).
- 69) J. H. Naismith, R. A. Field, *J. Biol. Chem.* **271**, 972 (1996).
- 70) S. Sabesan, S. Neira, *Carbohydr. Res.*, **223**, 169 (1992).
- 71) M. Kadokura, T. Wada, C. Urashima, M. Sekine, *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8359 (1997).
- 72) V. Wittmann, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.*, **62**, 2144 (1997).
- 73) P. Wang, G.-J. Shen, Y.-F. Wang, Y. Ichikawa, C.-W. Wong, *J. Org. Chem.*, **58**, 3985 (1993).

報文目録

- 1) Osamu Tsuruta, Go Shinohara, Hideya Yuasa, and Hironobu Hashimoto, "UDP-*N*-Acetyl-5-thio-galactosamine is a Substrate of Lactose Synthase", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2523.
- 2) Osamu Tsuruta, Hideya Yuasa, and Hironobu Hashimoto, "*p*-Nitrophenyl 1,5-Dithio- α -L-fucopyranoside : a Novel Sulfur Based Fucosidase Inhibitor", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 1989.
- 2) Masayuki Izumi, Osamu Tsuruta, Satoru Harayama, and Hironobu Hashimoto, "Synthesis of 5-Thio-L-fucose-containing Disaccharides, as Sequence-Specific Inhibitor, and 2'-Fucosyllactose, as a Substrate of α -L-fucosidases", *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 992.
- 4) Masayuki Izumi, Osamu Tsuruta, Hironobu Hashimoto, and Shin Yazawa, "Synthesis of 5-Thio-L-fucose-containing Blood Group Antigens H-type 2 and Lewis X (Le^x)", *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1809.
- 5) Masayuki Izumi, Osamu Tsuruta, and Hironobu Hashimoto "A Facile Synthesis of 5-Thio-L-fucose and 5-Thio-D-arabinose from D-Arabinose", *Carbohydr. Res.* **1996**, 280, 287.

謝辞

本研究を行うにあたり、六年間の長きにわたり終始御懇切な御指導、御鞭撻を賜りました指導教官 橋本弘信先生に深く感謝いたします。

博士課程の三年間では特に、終始熱心な御指導、御助言、御注意をして頂きました本学助手 湯浅英哉博士に深く感謝いたします。

終始有益な御指導を賜りました本学助教授 関根光雄先生に深く感謝いたします。

公私にわたり、終始有益な御指導を賜りました東京理科大学助教授 堀戸重臣先生に深く感謝いたします。

血球凝集阻止試験やEIAアッセイを行って頂きました日本抗体研究所 矢澤伸先生に深く感謝いたします。

フコース転移酵素による転移実験を行って頂くとともに、ガラクトース転移酵素を譲って下さいましたAlberta UniversityのProfessor Monica M. PalcicおよびTMR-GlcNAcをご提供下さいましたAlberta UniversityのProfessor Ole Hindsgaulに深く感謝いたします。

NMRの測定や計算を行って頂くとともに、終始熱心な御指導、御助言をして頂きました横浜市立大学助手 梶原康宏博士に深く感謝いたします。

FAB Massの測定を行って頂きました理化学研究所国際フロンティアシステムの黒野定博士に深く感謝いたします。

元素分析を測定して頂きました資源化学研究所元素分析室の方々に深く感謝いたします。

学部から修士課程の三年間では特に、直接ご指導して頂き、研究の進め方から楽しさ、厳しさを教えて頂きました和泉雅之博士に深く感謝いたします。

共同研究者として貴重な御助力頂きました篠原剛氏、今村のりこ氏、高原照直氏に深く感謝いたします。

日頃の研究生生活において、終始親切な御指導、御助言、御討論をして頂きました蛭間和美博士、鈴木克彦博士、柿沼弘之博士、今村雅一博士、遠藤剛氏、尾関直樹氏、増野弘幸氏をはじめとする橋本研究室の皆様に深く感謝いたします。

公私にわたり、終始熱心な御指導、御助言を頂きました本学助手 和田猛博士、鶴岡弘幸博士、森口朋尚博士、門倉慶知博士、庄田耕一郎氏、永山貴祉氏をはじめとする関根研究室の皆様に深く感謝いたします。

博士課程在学中の三年間学資を援助して頂きました日本育英会に深く感謝いたします。

最後に、博士課程に進学することを許して頂き、つねに生活面、精神面で支えて頂きました両親 鶴田治樹、節子夫妻に深く感謝いたします。

平成10年12月30日