T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	βグルカン受容体デクチン１結合性オリゴ糖誘導体の合成とその生物機能評価
Title(English)	
著者(和文)	河合徹也
Author(English)	Tetsuya Kawai
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第8472号, 授与年月日:2011年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:高橋 孝志
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第8472号, Conferred date:2011/6/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

学位論文

β グルカン受容体デクチン１結合性オリゴ糖誘導体の合成とその生物機能評価

東京工業大学大学院

理工学研究科応用化学専攻

高橋・田中研究室　河合　徹也

目次

Abbreviations

第１章「序論」 1

１－１　はじめに 3
１－２　糖鎖と免疫 3
１－３　糖鎖の化学合成の発展 6
　１－３－１　SPG とのデクチン１に対する競合阻害活性試験の方法 6
　１－３－２　オリゴ糖鎖の測定 7
　１－３－３　βグルカンの過去の合成例 9
　１－３－４　保護糖鎖の脱保護 15
　１－３－５　糖鎖のクラスター化 18
１－４　本論文の概要 19
References 23

第２章「デクチン１の低分子リガンド探索を目的とする糖鎖合成」 27

２－１　はじめに 29
２－２　低分子リガンド探索 29
　２－２－１　SPG とのデクチン１に対する競合阻害活性試験の方法 31
　２－２－２　オリゴ糖鎖の測定 32
２－３　合成計画 34
　２－３－１　標的分子 34
　２－３－２　合成上の問題点 34
２－４　メチルグリコシド体および TTK9 とその還元体の合成 35
　２－４－１　メチルグリコシド体の合成 35
　２－４－２　TTK9 と還元体の合成 37
　２－４－３　競合結合阻害試験 41
２－５　従来法による TTK9 合成とその競合阻害活性試験 43
　２－５－１　従来法による TTK9 合成 43

２－５－２　競合結合阻害試験　46
２－６　まとめ　47
２－７　基質の合成　47
References　49
Experimental Section　51

第３章「β（１，３）グルカン糖鎖の合成法の開発」　65

３－１　はじめに　67
３－２　標的分子の設定　67
３－３　βグルカン直鎖１６糖の合成　68
３－４　β（１，３）グルカン直鎖オリゴ糖の直線的合成法の開発　68
３－４－１　直線的合成戦略に基づく合成計画　68
３－４－２　β（１，３）グルカン直鎖オリゴ糖の直線的合成　68
３－４－３　まとめ　75
３－５　β（１，３）グルカン直鎖オリゴ糖の収束的合成法の開発　76
３－５－１　収束直的合成戦略に基づく合成計画　76
３－５－２　糖受容体の検討　79
３－５－２－１　３，４位ジオール型糖受容体の位置選択的グリコシル化　79
３－５－２－２　２，３位ジオール型糖受容体の位置選択的グリコシル化　80
３－５－３　β（１，３）グルカン直鎖オリゴ糖の収束的合成　81
３－５－３－１　２，３位ジオール型糖受容体の位置選択的グリコシル化　84
３－５－３－２　８糖糖供与体の合成　85
３－５－３－３　８糖糖受容体の合成　86
３－５－３－４　１６糖の合成　89
３－５－４　まとめ　90
３－６　脱保護の検討　90
３－７　競合阻害活性試験　96
３－８　まとめ　97
３－９　基質の合成　98
References　102
Experimental Section　103

第４章「βグルカン関連オリゴ糖鎖の合成法の開発」 185

４－１　はじめに 187
４－２　標的化合物の設計 187
４－３　合成戦略 188
４－４　多様性指向型合成戦略に基づく合成 189
４－５　結合試験および免疫活性化試験 217
　４－５－１　競合阻害活性試験 217
　４－５－２　NMR を用いる結合様式の検討 218
　４－５－３　免疫活性化試験 221
４－６　まとめ 223
４－７　基質の合成 224
References 225
Experimental Section 227

第５章「βグルカン糖鎖固定化微粒子の開発」 293

５－１　はじめに 295
５－２　合成計画 295
５－３　糖鎖固定化微粒子の合成法の確立と機能評価 297
　５－３－１　微粒子に対する糖鎖担持の検討 297
　５－３－２　BioAct gel を用いた糖鎖固定化微粒子の機能評価 299
　５－３－３　まとめ 301
５－４　糖鎖固定化蛍光微粒子の合成法の確立と機能評価 302
　５－４－１　微粒子に対する糖鎖担持の検討 302
　５－４－２　糖鎖固定化蛍光微粒子の形状の評価 304
　５－４－３　糖鎖固定化蛍光微粒子の機能評価 305
　５－４－４　まとめ 305
５－５　まとめ 306
References 307
Experimental Section 309

第６章「結論」 315

謝辞

Abbreviations

Ac	acetyl
ADDP	1,1'-(azodicarbonyl)dipiperidine
Ala	alanine
AOC	allyl oxycarbonyl
aq.	aqueous
AZMB	2-(azidomethyl)benzoyl
Bn	benzyl
br	broad
BSM	benzenesulfinyl morpholine
BSP	1-benzenesulfinyl piperidine
Bu	butyl
Bz	benzoyl
CAc	chloroacetyl
COSY	correlation spectroscopy
DAST	(diethylamino)sulfur trifluoride
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
˚C	degrees Celsius
δ	chemical shift in parts per million down field from tetramethylsilane
DIEA	*N,N*-diisopropylethylamine
DMAP	4-(dimethylamino)pyridine
DMF	*N,N*-dimethylformamide
DMT-MM	4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride
DTBMP	2,6-di-*tertiary*-butyl-4-methylpyridine
EDCI	1-[3-(dimethylamino)propyl]-3-ethyl-carbodiimide
Et	ethyl
eq.	equivalent
g	gram(s)
gem	geminal
Glu	glutamine
GPC	gel permeation chromatography
h	hour(s)
HPLC	high performance liquid chromatography
HRMS	high resolution mass spectra
Hz	hertz
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration
IR	infrared
J	coupling constant
L	liter(s)
Lev	levulinoyl
liq.	liquid
LPS	lipopolysaccharide
Lys	Lysine
M	moles per liter
m	milli
m-	*meta*
μ	micro
Me	methyl
MHz	megahertz
min	minute(s)
mol	mole(s)
n	*normal*
Nap	2-naphthylmethyl
NBS	*N*-bromosuccinimide
NIS	*N*-iodosuccinimide
NMR	nuclear magnetic resonance
o-	*ortho*
P	protecting group
p-	*para*
PGN	peptidoglycan
Ph	phenyl
PMB	*p*-methoxybenzyl
ppm	parts per million
Py.	pyridine
r.t.	room temperature
t-	*tertiary*
TBAF	tetra-*n*-butylammonium fluoride
TBS	*tert*-butyldimethylsilyl
Tf	trifluoromethanesulfonyl
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
THP	tetrahydropyranyl

TLC	thin layer chromatography
TMB	3,3',5,5'-tetramethylbenzidine
TMEDA	N,N,N',N'-tetramethyl ethylenediamine
TMS	trimethylsilyl
Ts	*p*-toluenesulfonyl
TTBP	2,4,6-tri-*tert*-butylpyridine
UV	ultra violet
X, Y	halide, leaving group

第１章

序論

1−1　はじめに

糖鎖は、核酸やタンパク質に次ぐ第３の生体高分子である。1811 年 Kirchhoff は、デンプンに酸を作用させ、それから甘味ある結晶性の物質を分離した[1)]。間もなく、それがブドウや蜂蜜から得られていた物質と同じものであることが分かった。後に、Dumas（1833）はこの物質をグルコースと名付けた。このようにして、単糖およびその誘導体がグリコシド結合で多数重合した物質としての多糖が認識された。単糖類は一般に非常に水溶性は高いが、重合度の高い多糖は、水に不溶性になるか、または溶解してもコロイド溶液を作る不思議な性質を有すること明らかにされた。一方、Helferich は、単糖の重合度が低く、水に可溶なものをオリゴ糖と名付けた。多糖は、重合度およそ９以上とする説もあるが、明確な線引きはなされていない。それは、オリゴ糖と多糖の区別は、それらのもつ性質で決められることが多いためである。このような多糖類は、植物の乾燥量の 3/4 を占めると言われている。現在においても、植物由来の多糖類であるデンプンは食品として、セルロースは、紙、人絹、セルロイドその他多くの工業的応用をもち、人間生活に欠くことができない。さらに、1930 年頃になって初めて、糖化学の進歩に伴い、糖鎖の構造を深く研究することが可能になった。その結果、全ての生物の細胞は多くの複雑な糖鎖で覆われていることが明らかになった。しかしながら、その真の機能はあまり理解されていなかった。1960 年代になり、ウイルスによる細胞の悪性化において細胞表層の複合糖質糖鎖の構造が変化する現象が示されると、これら糖鎖が細胞標識の担い手であると考えられるようになった。さらに、その後の研究から、糖鎖は免疫や感染、がん、発生、再生その他多くのかかわりが報告されるようになった。その後の研究が現在の糖鎖研究に繋がっている。

1−2　糖鎖と免疫

細胞表層の糖鎖は、糖鎖細胞の一番外側に存在するため、細胞の性質や役割を示す物質として利用される場合が多い。例えば、細胞の分化誘導、接着などの現象の多くに糖鎖と生体高分子の認識が関わっていることが報告されている。特に、ウイルスは宿主細胞の表面上に存在する糖鎖を特異的に認識し、感染を行う。また、免疫システムにおける自己と非自己の認識においても糖鎖が利用される場合が多い。例えば、自然免疫は、ほとんどの生物に広く分布している重要なシステムであり、宿主に無条件に害を与える物質を排除するシステムである。ヒトは人類古来からの病原体である細菌を排除するために、細菌表面の糖鎖誘導体を指標としている。リポ多糖（LPS）はグラム陰性細菌の細胞外膜の主要構成成分であり、宿主に対して強力な自然免疫誘導活性を持つことが知られている[2)]。細菌種・菌株に特異的なオリゴ糖による繰り返し構造(多糖)とリピドＡと総称される糖脂質から構成される（Figure 1-1)。リピドＡは、リン酸化されたグルコサミン２糖に複数の脂肪酸エステルが結合した構造をもっており、LPS の免疫誘導活性の本体として認識されている。これまでに多くの種類のリピドＡおよびその類縁体が合成され、それらの構造活性相関が検討された[3)]。その結果リピドＡの活性は、脂肪鎖長、結合位置、およびリン酸基の数など違いによって大き

く異なることが示された。

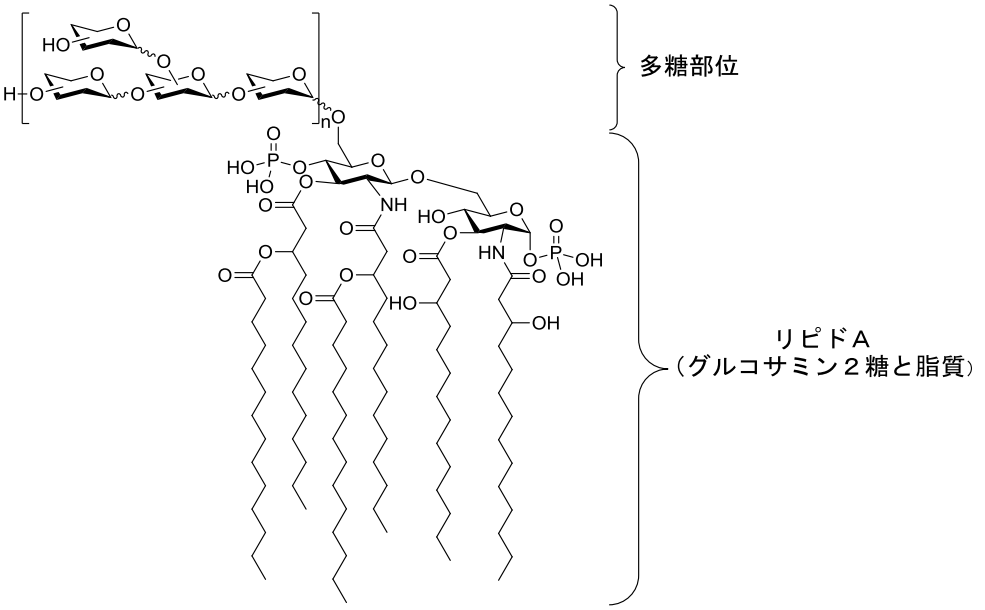


Figure 1-1　LPS の構造

β-D-グルカンはキノコや酵母などの細胞壁を構成する多糖類である。グルコースが β（１，３）結合でつながるものを主鎖とし β（１，６）結合を側鎖とする糖鎖である（Figure 1-2)。半世紀近く前から、β-D-グルカンが免疫刺激に関係していることが知られており、現在においても精力的に研究が続けられている[4]。特に、レンチナン（Lentinan、LNT）やソニフィラン（Schizophyllan、Sonifilan、SPG）と呼ばれるβ-D-グルカンは抗がん剤として利用されている。他の化学療法との併用投与による腫瘍増殖抑制作用及び延命効果が認められる[5]ことから、低下した免疫力を補う効果があると考えられる。

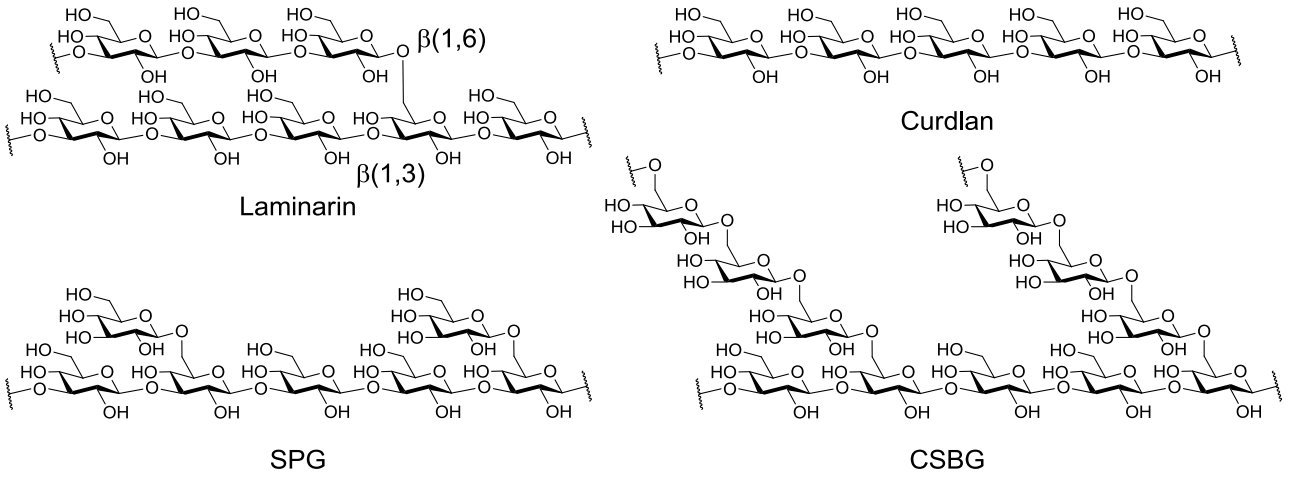


Figure 1-2

近年、白血球であるマクロファージ・樹状細胞に特異的に発現するβグルカンの受容体として、デクチン１が明らかにされた[6]。デクチン１によるβグルカンの認識は、マクロファージ・樹状細胞の活性化し、真菌性病原菌への食作用や防御的炎症反応の引き起こしに関わっていることが知られてきている。しかし、真菌に対する免疫機構が関連する疾患においてデクチン１がどのような役割を演じているかは明確ではない。この役割を解明することは、感染防御や炎症性疾患の発症と対策を考慮するために重要であり、病気の予防・治療に貢献するなど、幅広い応用が期待できる。

大野尚仁教授、安達禎之准教授らは、天然から得られる様々な分岐鎖を持つβグルカンおよびαグルカンの、ソニフィラン(以下 SPG)のデクチン１への結合に対する競合阻害試験を報告している[7]。その結果、短いβ（１，６）側鎖を持つβ（１，３）グルカンである Laminarin、SPG、SPG-OH、GRN、SSG が、デクチン１と強く結合することを明らかにしている。

Table 1-1 にグルカンの構造、Figure 1-3 に測定結果を示した。Figure 1-3 の横軸の値が低いものほどデクチン１に対する結合力が高いことを表している。

Glucan	Source	Primary structure
Curdlan	*Alcaligenes faecalis*	Linear 1,3-β-glucan
Laminarin	*Laminaria digitata*	Linear 1,3- and 1,6-β-glucan
SPG	*Schizophyllum commune*	1,6-Monoglucosyl-branched 1,3-β-glucan
SPG-OH	*Schizophyllum commune*	1,6-Monoglucosyl-branched 1,3-β-glucan[b]
GRN	*Grifola frondosa*	1,6-Monoglucosyl-branched 1,3-β-glucan[b]
SSG	*Sclerotinia sclerotiorum*	1,6-Monoglucosyl-branched 1,3-β-glucan[b]
CSBG	*Candida albicans*	1,3-β-glucan with 1,6 long glucosyl side chain
Pullulan	*Pullularia pullulans*	1,4- and 1,6-α-glucan
Dextran	*Leuconostoc dextranium*	1,3-branched 1,6-α-glucan

[b] Branching ratio (1,6-glucan/1,3-glucan) of 2/6 for SPG-OH and GRN and 3/6 for SSG.

Table 1-1

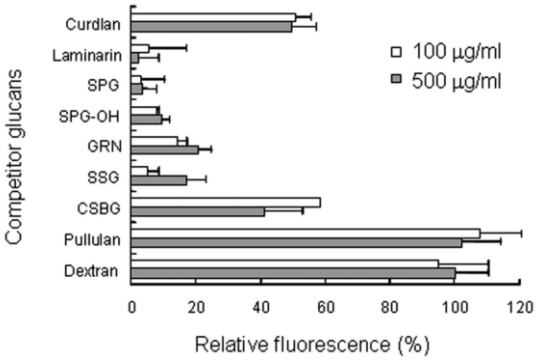


Figure 1-3

Figure 1-4

2006 年、Brown らは、βグルカン多糖類の加水分解物を利用して、デクチン１と結合するβグルカン糖鎖の長さを求めている[8]。その結果、９糖までのβ（１，３）グルコース糖鎖は全く結合せず、１０糖はほんの少し結合し、１１糖以上では強く結合するという結果が得られている(Figure 1-4)。

しかし、これらのβグルカンは天然由来であり、用いた材料の菌株や培養条件、個体差、抽出方法の違い、分析方法を考慮したとき、純度の問題を考えなければならない。さらに、βグルカンの市販品の中には、純度の低いものがあり、測定された生物活性が夾雑物に由来することもしばしばである。低分子有機化合物と比較して、単一性や均一性の評価が困難であるがゆえに、このような危険性は他の物質よりも高いことにな

Fraction	Assignment	Oligosaccharides[a] Obsd MNa+	Oligosaccharides[a] Theor mass[b]	Binding[c]
		Da	Da	
F7	Hex7	1175.6 (100)	1175.4	-
	Hex8	1337.6 (95)	1337.4	-
F8	Hex8	1337.7 (100)	1337.4	NT
	Hex9	1499.8 (50)	1499.5	NT
	Hex7	1175.6 (43)	1175.4	NT
F9	Hex9	1499.4 (100)	1499.5	-
	Hex8	1337.3 (92)	1337.4	-
	Hex10	1661.3 (46)	1661.5	-
F10	Hex10	1661.6 (100)	1661.5	-/+
	Hex9	1499.6 (56)	1499.5	-/+
	Hex11	1823.7 (23)	1823.6	-/+
F11	Hex11	1823.6 (100)	1823.6	++
	Hex10	1661.4 (60)	1661.5	++
	Hex12	1985.6 (17)	1985.6	++
F12	Hex12	1985.6 (100)	1958.6	++
	Hex11	1823.6(92)	1823.6	++
	Hex13	2147.9 (38)	1823.6	++
	Hex10	1661.6 (10)	2147.7	++
F13	Hex12	1985.8 (100)	1985.6	+++
	Hex13	2147.9 (88)	2147.7	+++
	Hex14	2310.0 (17)	2309.7	+++
	Hex11	1823.7 (11)	1823.6	+++

[a] Oligosaccharides were analyzed in the positive ion mode, and sodiated ions were observed (Obsd) and compared with the theoretical (Theor) masses. Relative abundances are shown in parentheses.
[b] Monoisotopic mass was used for calculation.
[c] Semiquantitative visual scores of the range of binding signals in repeated experiments: +++, strong; ++, moderate; +, weak; -/+, very weak; -, not detected; NT, not tested.

る。したがって、より正確な構造活性相関の解明のためには、構造の明らかでかつ純粋な糖鎖を用いて研究を行なう必要がある。

１－３　糖鎖の化学合成の発展

βグルカンは平均分子量数十万もの多糖である。βグルカンの機能を有する糖鎖を合成するためには、非常に大きな糖鎖（１０糖以上）の合成を視野に入れなくてはならない。そこで、合成法の検討を試みる。一般的な有機合成における骨格構築の手法として直線的合成法と収束的合成法が挙げられる。二つの合成法の利点と難点を挙げて、βグルカンの合成法を検討していく。

１－３－１　直線的合成法と収束的合成法

・直線的合成法

直線的合成法は、ビルディングブロックを順次カップリングすることにより骨格構築していく手法である(Figure 1-5)。

利点：反応性が高く合成容易なビルディングブロックを用いることができるため、反応性が低下している比較的大きなブロックに対する結合反応においても十分な転嫁率にて行うことができると考えられる。

難点：合成の総合成工程が長くなることや、合成の後半においては、反応物と生成物との物性の変化が少なくなるために、それぞれの分離精製が困難になることが予想される(Figure 1-6)。

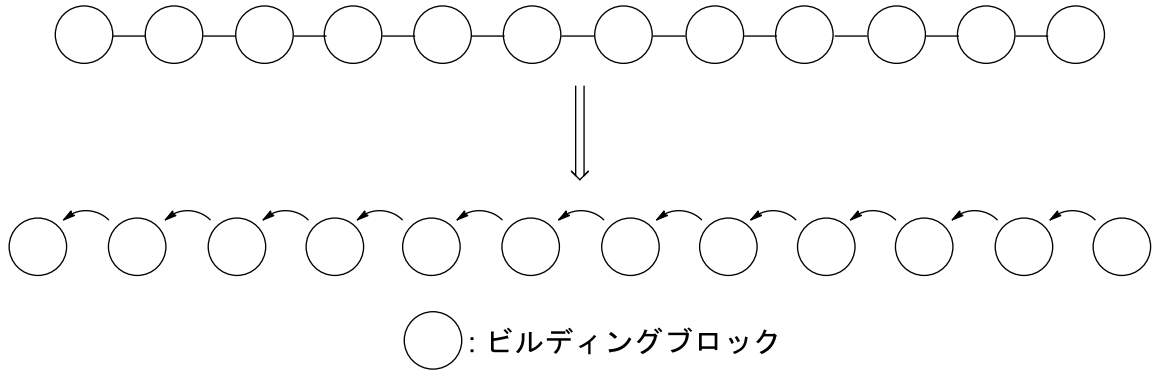


Figure 1-5

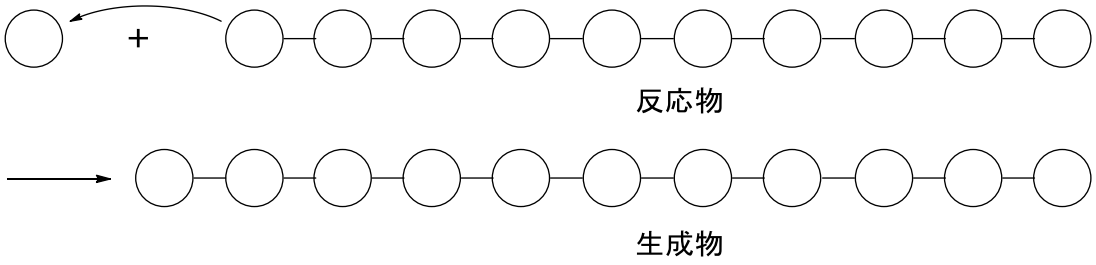


Figure 1-6

・収束的合成法

収束的合成法は、目的とする骨格をいくつかのブロックに分けて合成し、それぞれをカップリングする方法である(Figure 1-7)。

利点:合成の総工程数を低減することができ、大きなブロック同士をカップリングすることにより、一挙に大きな骨格を合成できる。また、大きなブロック同士のカップリングでは、反応物と生成物との物性が大きく異なることが予想されるため、反応が完結しなくても容易に分離可能であることが予想できる。

難点:一般的にブロックが大きくなった場合には、それぞれのカップリング反応に対する反応性が低下することが知られている。そのため、十分な転嫁率で目的物へと導くためには、適切な分子設計が必要である。

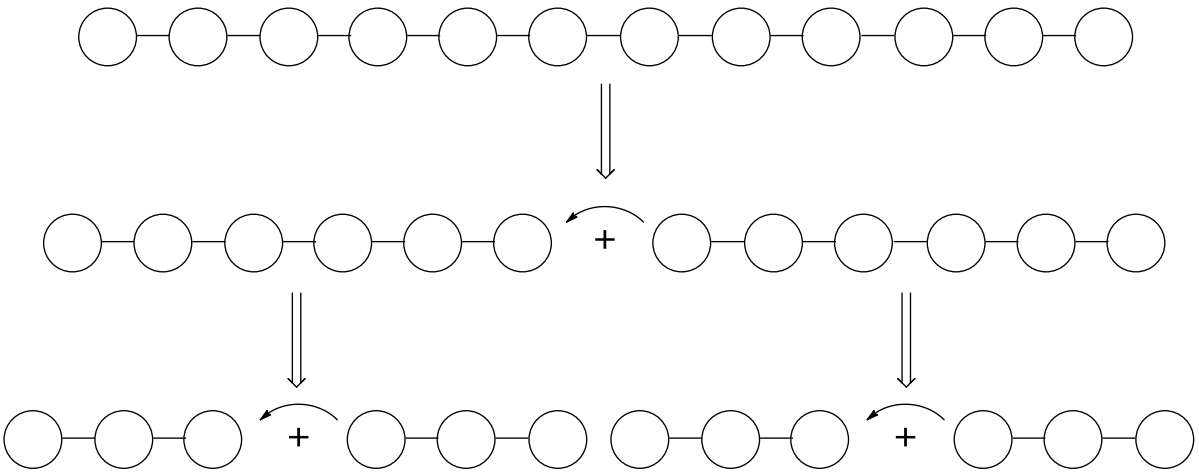


Figure 1-7

以上の合成法は、標的糖鎖の構造、大きさそして種類などの様々な条件に応じて使い分ける必要がある。しかしながら、βグルカン研究に必要とされる比較的大きなオリゴ糖を合成するためには、様々な問題を解決して行く必要がある。次項においてβグルカンの特徴とこれまでに報告された合成法について検討する。

１－３－２　βグルカンの合成法

βグルカンの合成はβ（１，３）結合およびβ（１，６）結合グルコースの構築が主となる。合成上の問題点として考えられるものを以下に挙げる。

<u>β（１，３）結合構築の問題点</u>

グルコースの水酸基は全てエカトリアルに張り出しているため、２，４位の保護基による３位の立体障害が大きい(Figure 1-8 糖受容体)。そのため、糖受容体であるグルコースの３位二級水酸基

は反応性が低く、保護基の選択がグリコシル化反応において重要となる(Figure 1-8)。一般的に、１，２位トランス選択的にグリコシル化反応を行うために、糖供与体２位の保護基としてアシル基が用いられる（隣接基効果)。これは、反応中間体として糖供与体からアシロキソニウムカチオンが生成し、アンチ（β）側から求電子反応が進行するためである（Figure 1-8 左下)。さらなる糖鎖伸長を行う場合（直線的合成)、先ほどの糖供与体側の３位の保護基を選択的に外し、続くグリコシル化反応を行う。この際、２位に存在するアシル基は、その求電子性から３位水酸基のグリコシル化の反応性をさらに下げてしまう。βグルカン多糖の機能を有する類縁体を合成するためには、長鎖の糖供与体および糖受容体を用いるため、３位水酸基の反応性を下げない工夫が必要とされる。

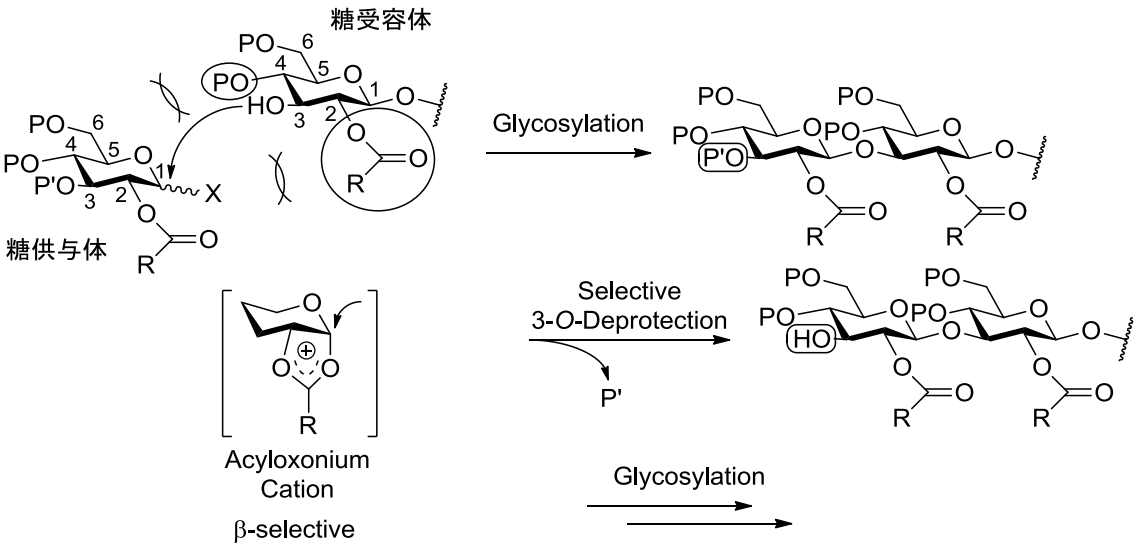


Figure 1-8

β（１，６）結合導入における問題点

グルコースの６位水酸基は一級水酸基であり、他の水酸基と比較して反応性は高い。しかしながら、βグルカンの合成において、糖鎖の導入のタイミングを誤るといくつかの弊害が考えられる。以下に例を挙げる。

・β（１，６）分岐鎖を有する糖鎖ブロックを糖供与体、および、糖受容体として用いる場合（収束的合成法)

β（１，６）分岐鎖を有する糖鎖を用いてカップリングする際、β（１，６）側鎖が立体障害となり、β（１，３）結合のグリコシル化反応の進行を阻害してしまう可能性がある(Figure 1-9)。

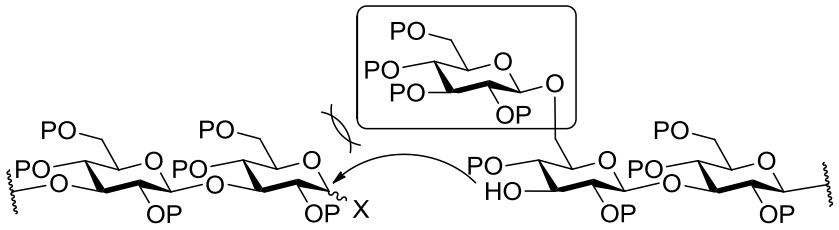


Figure 1-9

・先にβ（１，３）主鎖を合成し、６位水酸基に対してβ（１，６）分岐鎖を導入する場合（直線的合成法)

長鎖のβ（１，３）主鎖に対して複数のβ（１，６）分岐鎖を導入する場合、目的とする生成物と未反応生成物との物性の差が小さく、分離精製が困難であると考えられる(Figure 1-10)。

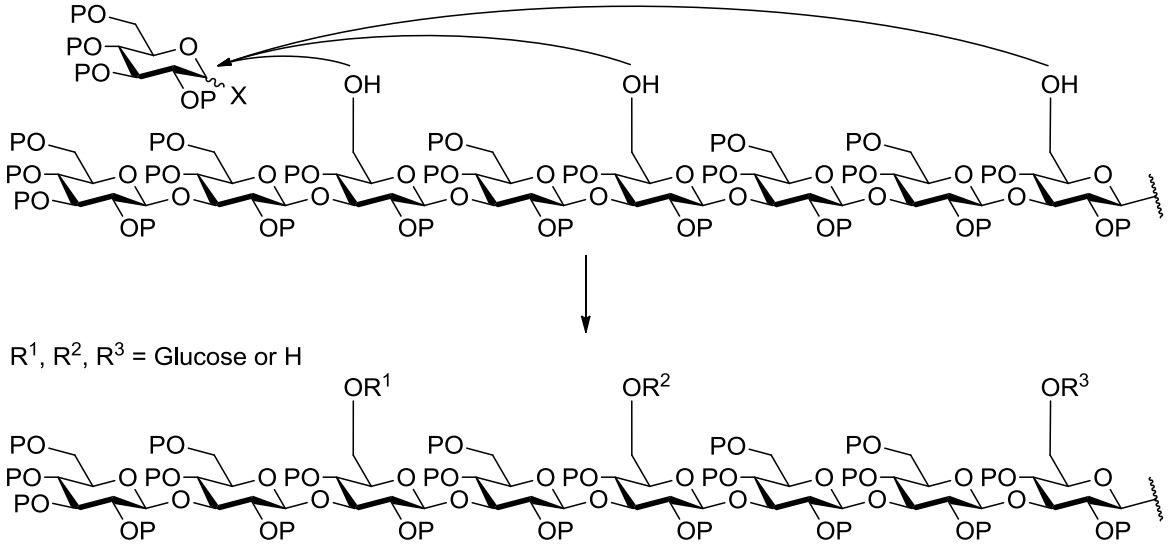


Figure 1-10

以上、β（１，６）分岐鎖を有するβグルカンを合成する際は、β（１，６）分岐鎖の導入タイミングを十分検討しなくてはならないと考えられる。

次項において、βグルカン関連糖鎖についての過去の合成例を挙げる。

１－３－３　βグルカンの過去の合成

βグルカン関連糖鎖の過去の合成は大きく二種類が挙げられる。

1) β（１，３）直鎖のオリゴ糖合成
2) β（１，３）主鎖に対しβ（１，６）側鎖を有するオリゴ糖合成

それぞれに分けて説明する。

1) β（1，3）直鎖のオリゴ糖合成

筆者が知る限りで最初のβグルカン関連オリゴ糖鎖の合成は 1952 年に Percival らに報告されたβ（1，3）2糖の合成である(Figure 1-11) [9]。アセチル保護されたグルコースのブロモ糖に対し、炭酸銀、ヨウ素を用いて活性化させ、ジアセトングルコースとグリコシル化反応を行っている。その後脱保護し、2糖を得ている。また、天然のβグルカンである Laminarin を加水分解して得られたβ（1，3）2糖を用いて、構造の一致を報告している。ジアセトングルコースは非常に入手容易であり、現在においても使用される良い糖受容体である。

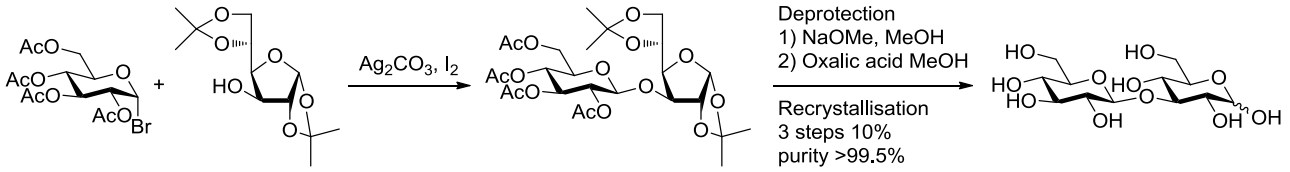


Figure 1-11

Kong らは、2位アシル保護されたイミデート糖供与体およびアシル保護された糖受容体を用いてβ（1，3）オリゴ糖の合成を検討している [10]。この際、驚くべきことにα体の生成物が確認された(Figure 1-12)。先にも述べたが、2位アシル保護されたグルコース糖供与体は、隣接基効果で非常に高いβ選択性を発現するはずである。この報告によると、水酸基がアシル保護されているもの、糖供与体および糖受容体が大きいものほどα体の選択性が大きい。α体生成の反応機構は、グリコシル化反応において、オルソエステル体を経由し、α側から求核攻撃しているものと推測している(Figure 1-13)。彼らは、中間体であるオルソエステル体を単離し、TMSOTf を作用させることでα体が得られることを突き止めた [10a]。この結果から、β（1，3）グルカン関連糖鎖を合成する際、保護基の選択について十分注意しなければならないことが伺える。

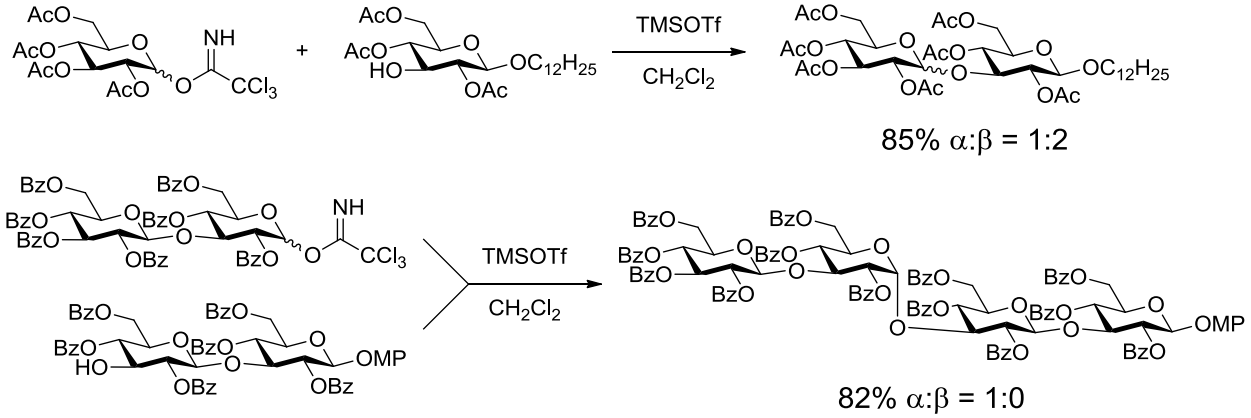


Figure 1-12

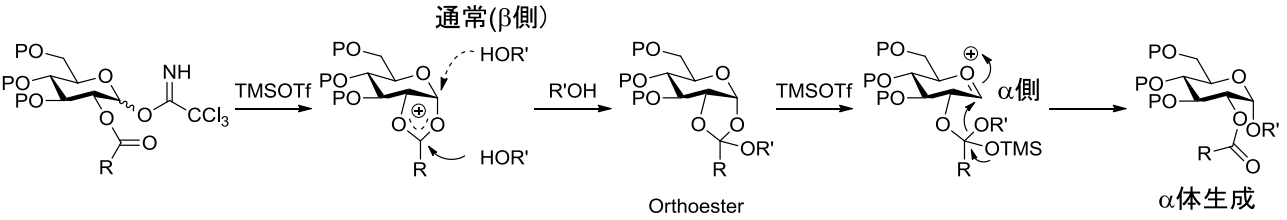


Figure 1-13

Takeo らは、β（1，3）2糖の糖受容体に対し、β（1，3）2糖のクロロ糖を活性化させ、グリコシル化反応を行っている[11)]。グリコシル化反応後、3位のクロロアセチル基を選択的に脱保護し、さらなるグリコシル化反応を行うことで糖鎖の伸長を行なっている(Figure 1-14)。この手法を用いて、彼らは最大8糖の直鎖糖の合成に成功した。この際、4、6位の保護基であるベンジリデンは、β（1，3）結合構築に有用であることを報告している[11,12)]。4、6位のベンジリデン基は、3位遊離水酸基周辺の立体障害が比較的小さい保護基であり、高い反応性を有する3位水酸基を持つ糖受容体の設計において重要である。

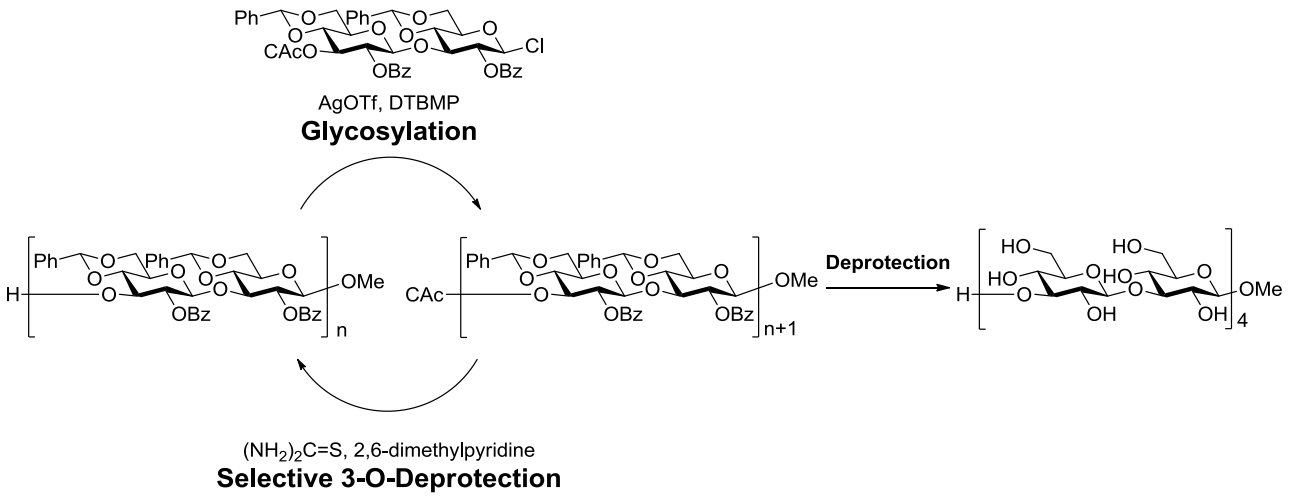


Figure 1-14

2）分岐鎖を有するオリゴ糖合成

Takeo らは、βグルカンであるシゾフィランの構成単位である4糖の合成を報告している[13)]。彼らはブロモ糖を糖供与体として用い、4、6位遊離水酸基を有するβ（1，3）3糖糖受容体との位置選択的グリコシル化反応により、4糖骨格を得ている。この際、反応性の高い一級水酸基である6位のみにグリコシル化反応が進行している。その後、アリルアルコールとのグリコシル化、脱保護を経て4糖を得ている(Figure 1-15)。

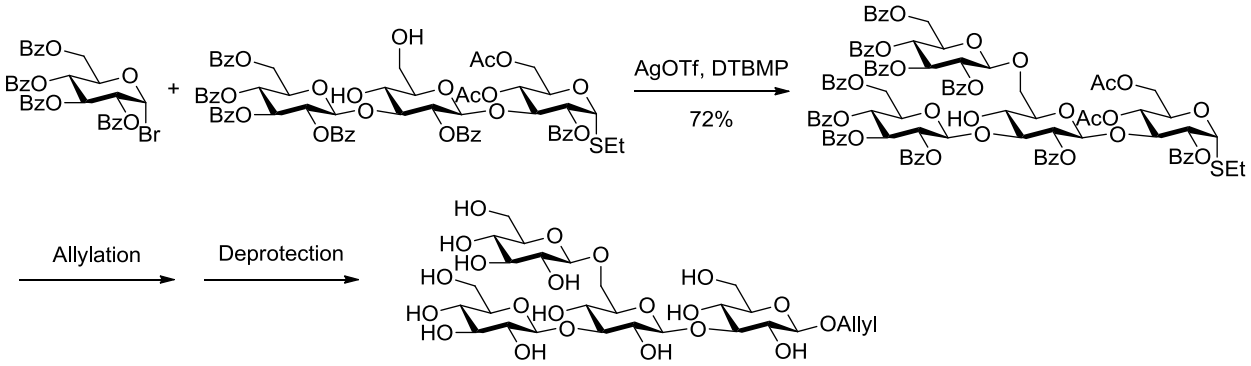


Figure 1-15

Kong らは、ワンポットグリコシル化反応[14]を用いて分岐鎖を２ヶ所含む６糖の合成に成功している[15]。イミデート糖とフェニルチオ糖を用いて独立に活性化させて反応を行っている(Figure 1-16)。ワンポットでグリコシル化反応を行うことで、グリコシル化反応の煩雑な後処理と精製を短縮することができる。この際、糖受容体にはβ（１，６）分岐鎖を有する３糖を用いているが、β（１，６）分岐鎖は反応点である非還元末端糖ではなく、離れている還元末端糖に有しているために、反応に大きな影響はなかったものと考えられる。

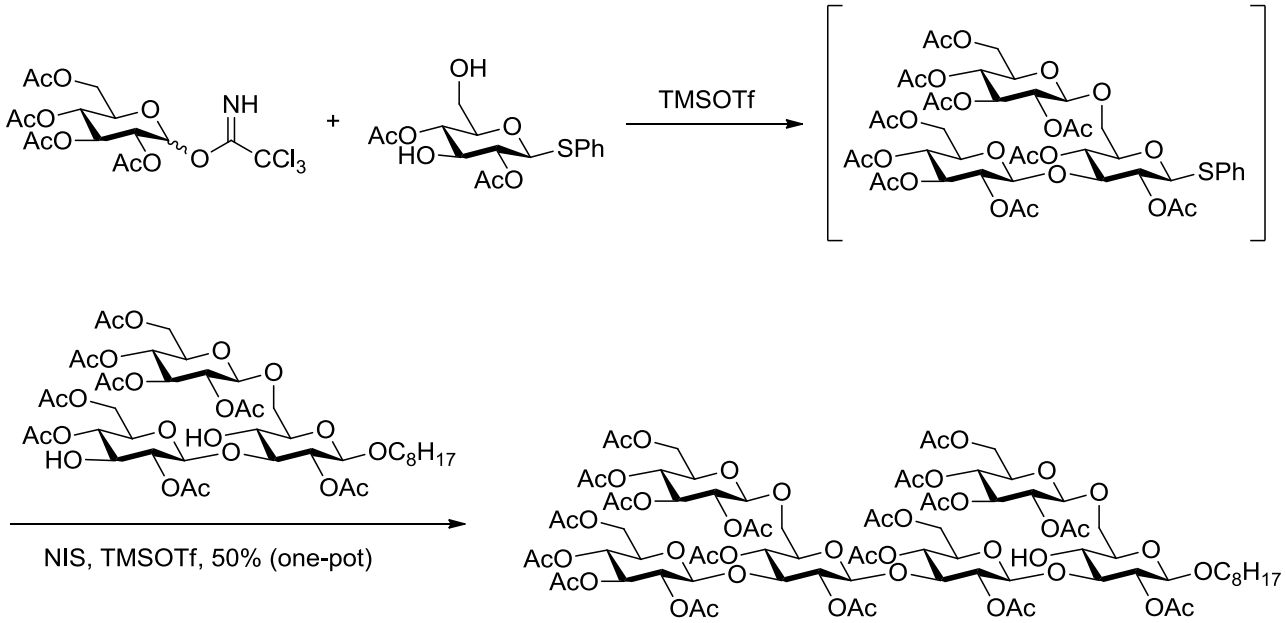
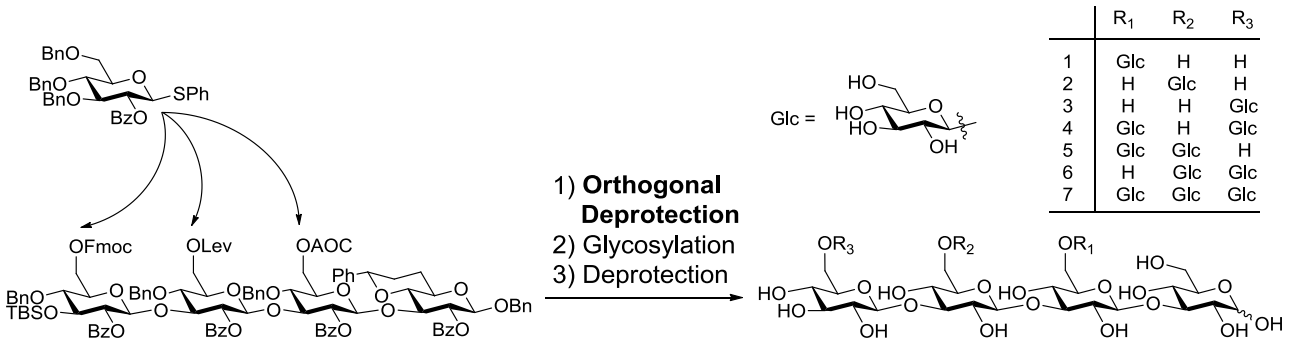


Figure 1-16

当研究室の雨夜らは、独立に脱保護できる Fmoc 基、Lev 基、AOC 基を用いて選択的に脱保護し(Orthogonal Deprotection)、その後グリコシル化を行うことで、一つの共通中間体β（１，３）４糖から７種類のイネのファイトアレキシンエリシター誘導体を合成することに成功している(Figure 1-17)[16]。この報告から、主鎖４糖程度のものであれば、６位水酸基に対して一度にβ（１，

６）分岐鎖を導入する方法が有用であると考えられる。



	R_1	R_2	R_3
1	Glc	H	H
2	H	Glc	H
3	H	H	Glc
4	Glc	H	Glc
5	Glc	Glc	H
6	H	Glc	Glc
7	Glc	Glc	Glc

Figure 1-17

Du らは糖受容体として２位と３位に遊離水酸基を有する２糖を用いて３糖イミデート供与体とのグリコシル化反応を行った(Figure 1-18)[17]。この際、非常に興味深いことに反応は３位選択的に進行し、高収率で５糖が得られたと報告している。２糖受容体の２位は１位（アノマー位）の糖によって遮蔽されているため、３位選択的に反応が進行したものと考えられる。２，３ジオールのグルコース糖受容体を用いた３位選択的グリコシル化反応は 1987 年に Pilotti らによって初めて報告されている(Figure 1-19)[18]。これらの報告をもって様々な検討の報告が Du や共同研究者の Kong などによってなされているものの [19]、２，３ジオール糖受容体の選択性の規則については明確になっていない [20]。

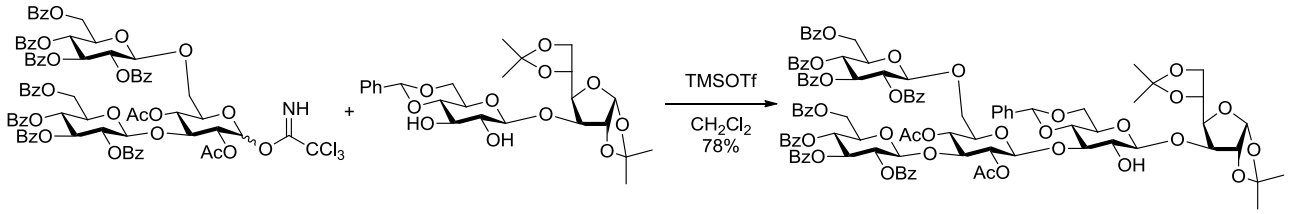


Figure 1-18

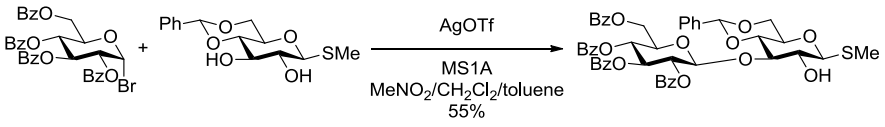


Figure 1-19

我々のグループが合成研究を行っている途中で、Williams らから合成βグルカンの、リン酸化グルカンのデクチン１への結合に対する競合阻害試験が報告された（Figure 1-20, 1-21）[21]。この報告によると、直鎖の８糖はデクチン１との結合は見られず、直鎖の９、１０糖、分岐の１０糖（非還元末端から３糖目にβ（１，６）分岐鎖を有する）が競合阻害作用を有することを見出した。さ

らに、直鎖の１０糖では直鎖の９糖と比較して結合力が４倍ほどであるが、分岐の１０糖では直鎖の９糖に対して１００倍もの結合力の上昇が見られた。共同研究者である Ensley らは、β（１，３）２糖およびβ（１，６）２糖を用いてグリコシル化反応、３位の脱保護を繰り返すことにより、直鎖糖および分岐糖を合成している[22]。この際、糖供与体の２位には ADMB 基（4-Acetoxy-2,2-dimethylbutanoate）を用いることでオルソエステル体の生成を抑えている。すなわち、中間体であるアシロキソニウムカチオンに対し、２位のエステルα位のジメチル基による立体障害、末端のアセチル基のカルボニルから得られるカチオンの安定化から、直接的な求核攻撃を妨げている（Figure 1-20 右下）。

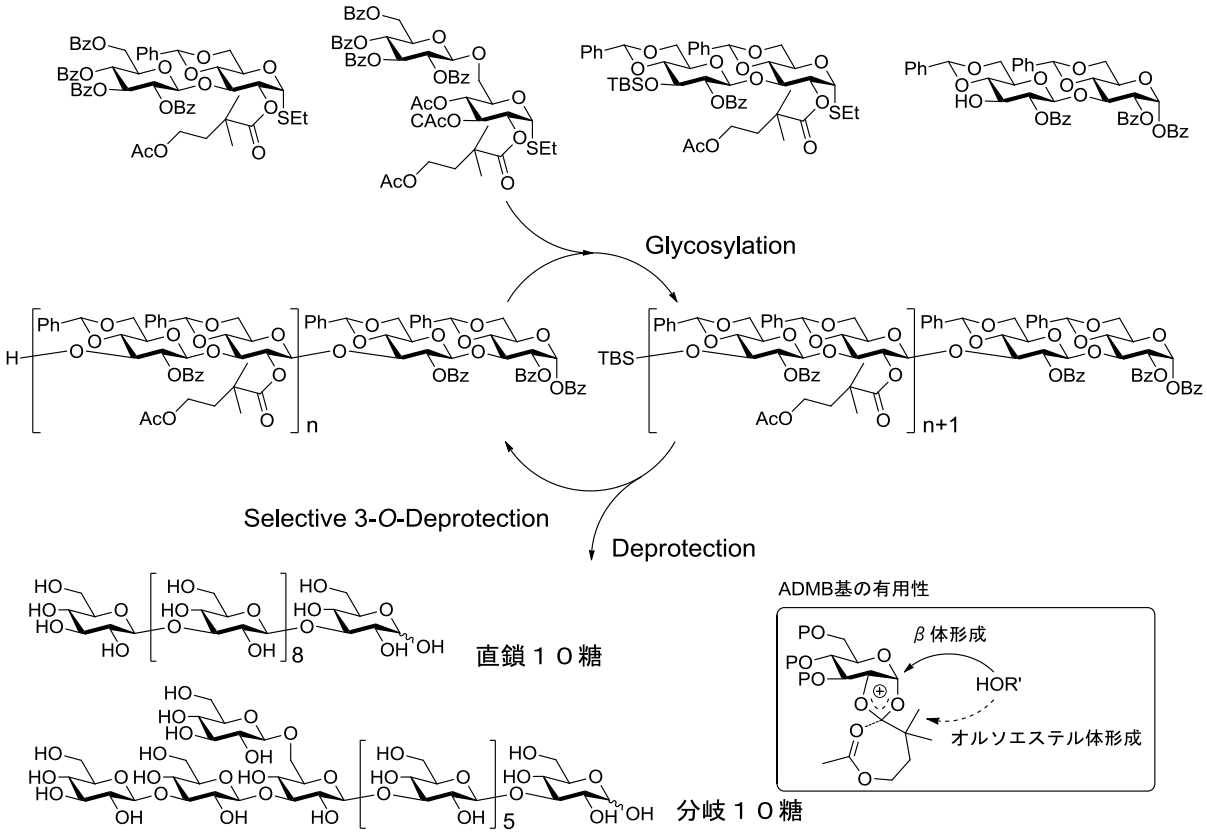


Figure 1-20

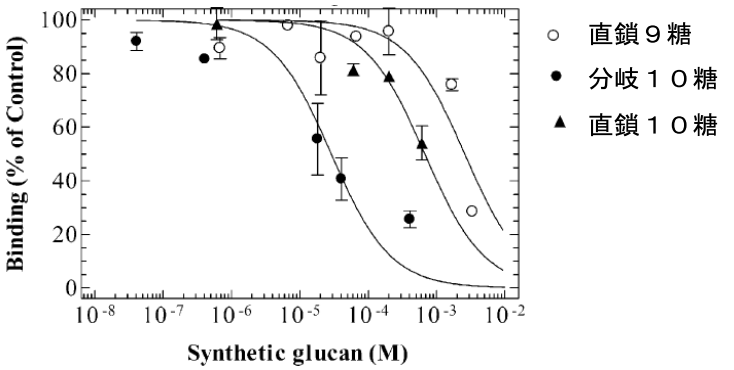


Figure 1-21

以上、βグルカンの合成例の報告から、βグルカン関連糖鎖を合成する際、保護基の選択について十分注意しなければならないことがわかる。大きな糖鎖のカップリングを行うためにはジオールの糖受容体が有用であると考えた。４，６位遊離水酸基を有する糖受容体は、一級水酸基と二級水酸基の違いによって選択的に６位に得ることが可能であった。また、２，３位遊離水酸基を有する糖受容体は、慎重に基質の設計を行うことで３位選択的に反応可能である。ジオールとすることで３位周辺の立体障害を減らすことができ、大きな糖鎖を合成する際にも反応性を維持できる可能性があると考えた。

１－３－３　保護糖鎖の脱保護

通常の糖鎖合成では様々な保護基が用いられ、最終工程でそれぞれの保護基に応じた脱保護反応が用いられる。糖鎖は一般的に水溶性であり、脱保護反応における取り扱いには注意を要する。すなわち、脱保護によって脂溶性の保護糖鎖の極性が親水性へと大きく変化するため、脱保護反応の組み合わせによっては糖鎖の凝集化を招き、中間体が難溶性となる可能性がある。特に、多糖であるβグルカンの機能を有する糖鎖の合成を目指す上で、最終的な脱保護体の溶解性の問題は無視できない大きな問題である。すなわち、先に述べた通り多糖は水に難溶性であったり、不溶性であったりするため、合成するβグルカンの溶解性には注意が必要である。

当研究室山内らは、固相合成によってエピガロカテキン-3-ガレート（EGCG）保護体ライブラリーを合成し、水素添加装置 H--Cube™ (Figure 1-23)を活用した迅速な脱保護を行った結果、全 64 種脱保護体ライブラリーの構築を達成した(Figure 1-22)[23]。EGCG 脱保護体は不安定であり、バッチ系では最終反応である脱保護反応において生成物の損壊が問題としてあげられる。そこで山内らは、フロー系の水素添加装置 H-Cube™に着目した。H-Cube™は、フロー系の反応装置であるため反応時間が極めて短く、不安定な化合物を迅速に扱うことができる。また、流通経路内で電気分解により発生させた水素が作られるため安全であり、また、温度や圧力（～100 bar）も自由に設定できる。フロー系なので操作が非常に簡便で、反応を追いやすいなどの利点が挙げられる。流通経路にパラジウムをはじめとする様々な触媒を担持したカートリッジを取り付けて使用可能である。

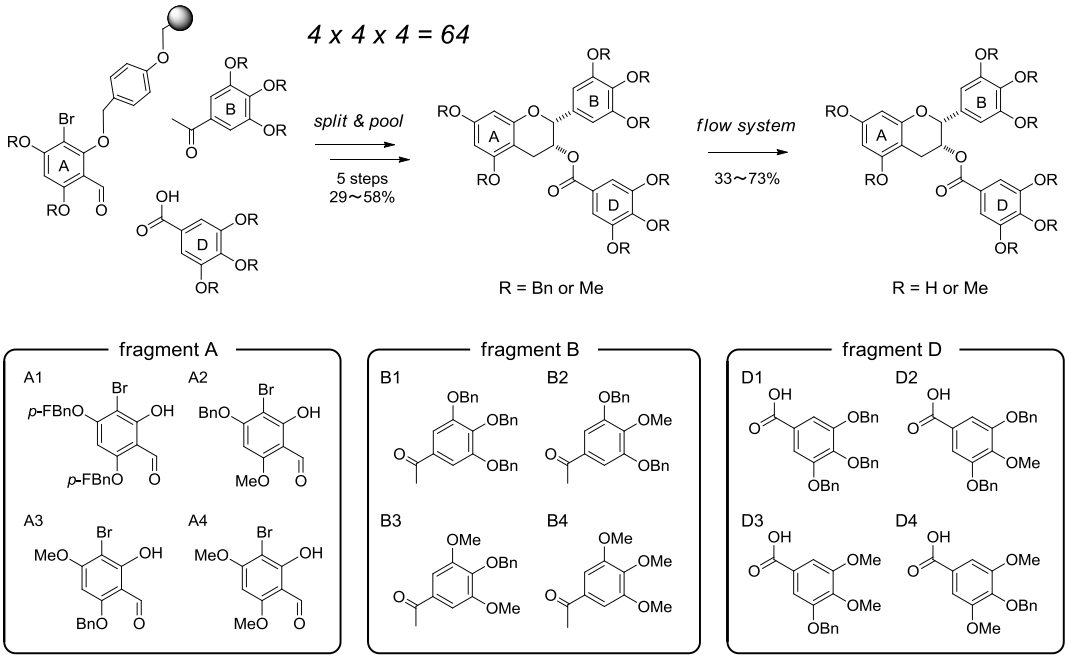


Figure 1-22

H-Cube™

Figure 1-23

H-Cube™ は糖鎖の脱保護にも有利だと考えられる。高温高圧の非常に強い条件を短い反応時間で行うことができるため、一瞬で脱保護を行うことができれば、部分的に脱保護が進行した際に起こりえる糖鎖の凝集化を防げるはずである。

当研究室石田らはトリメリックルイス X 保護体を、開発したテトラヒドロピラニルリンカー (THP リンカー) を用いて固相に担持して、簡便に脱保護することに成功している (Figure 1-24)[24]。この固相脱保護法は、不溶性ポリマーである Argo Pore 上に糖鎖を担持して脱保護反応を行うため、1) 高極性化合物の取り扱いが容易になる、2) 基質の凝集を防ぐことができるという利点を有している。また、特にベンジルエーテル基の脱保護を強力に行えるバーチ還元を簡便にできる利点は大きい。糖鎖合成において、ベンジルエーテル基は非常に安定な電子供与性保護基であり広く用いられ

る保護基であるが、その安定性のために、込み入った糖鎖のベンジルエーテル基の脱保護はしばしば大きな障害となることがある。バーチ還元は小さな一電子ラジカルが活性種であると考えられており、込み入った糖鎖の脱ベンジル反応として期待できる。一般的に固相合成法は反応性が低いものの、バーチ還元を用いることで脱保護に成功している。

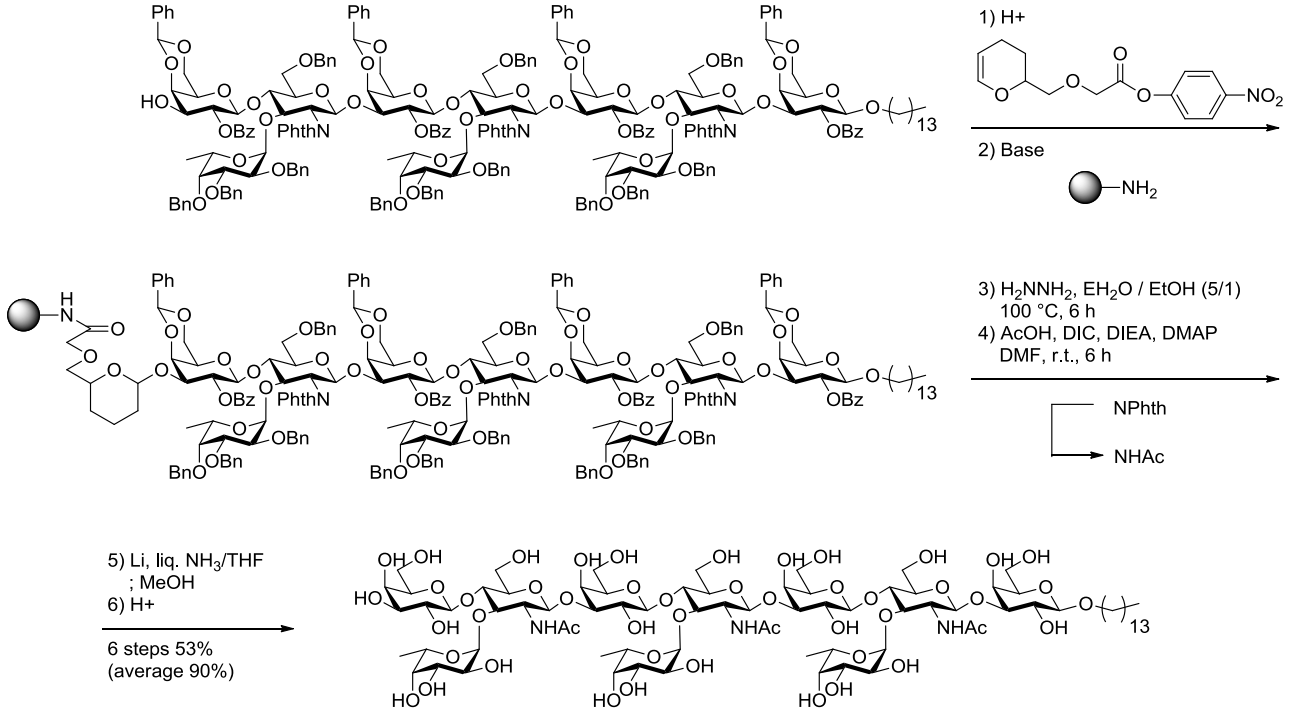


Figure 1-24

また、当研究室舘野らは、石田らの開発した THP リンカーを改良し、トリシアル酸の脱保護に成功している(Figure 1-25)[25]。舘野らは環状カーバネート基の脱保護条件である塩基水溶液の加熱条件で、固相から基質の切り出しが行われてしまうことを報告している。アミド結合の加水分解のされやすさの理由として、β位に電子を求引するエーテル酸素があるからと突き止め、β位にエーテル酸素の無い THP リンカーの開発を行った。結果、固相から基質の脱落なしに脱保護を行うことに成功している。

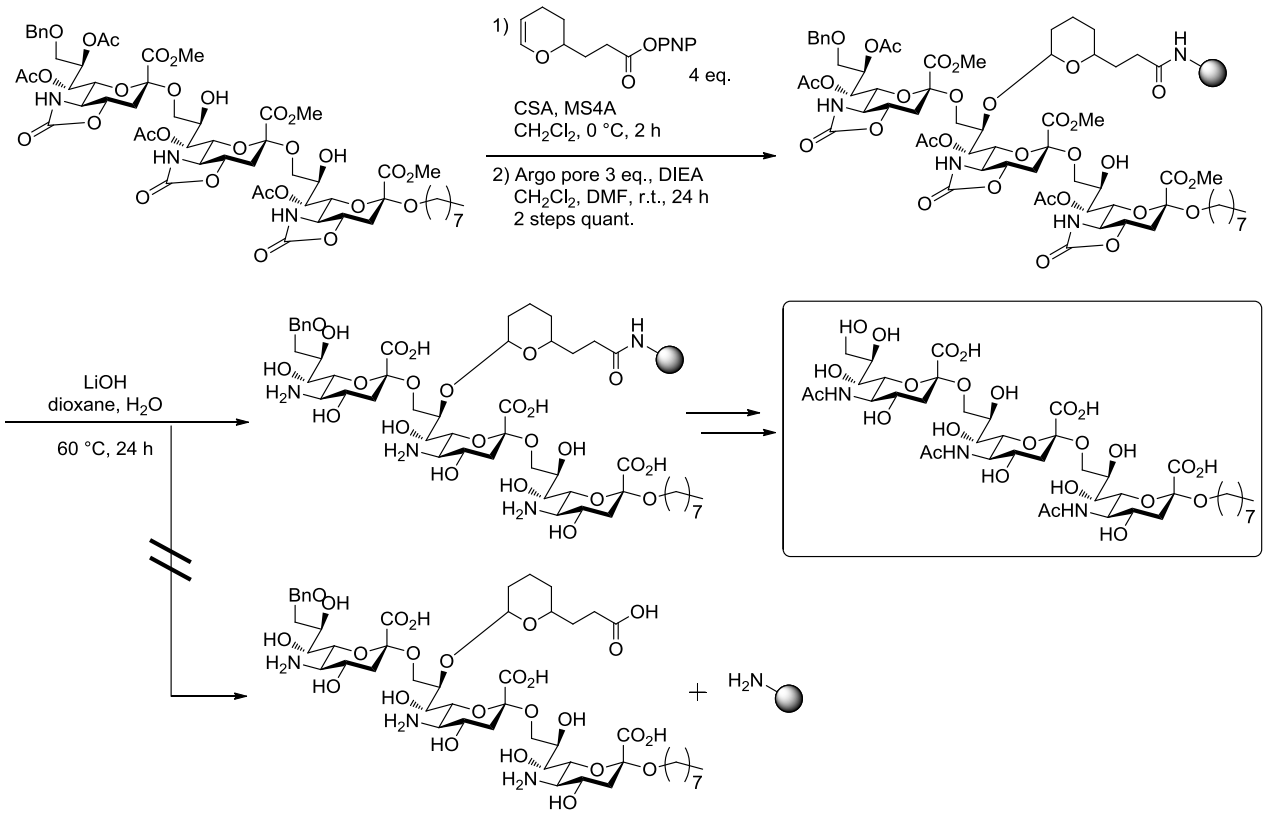


Figure 1-25

溶解性に問題があると考えられるβグルカンの脱保護は、液相条件で反応を行うと、反応が完全に進行する前に凝集化する可能性が高いと考えられる。そこで、固相上で完全に脱保護反応を行うことができれば、例え得られる糖鎖は難溶性であっても、完全に脱保護されたものが得られるので有用な方法である。しかしながら、糖鎖の微粒子への担持と切り出しのステップが増えるため、操作が煩雑になる。状況に応じて脱保護反応を使い分けることが必要である。

１－３－４　糖鎖のクラスター化

糖鎖は他の糖鎖やタンパク質､脂質と相互作用し､多種多様な機能を発現する｡その結合様式は、糖鎖を認識するタンパク質、すなわち、「レクチン」と総称されるものに注目すると、水酸基を介した水素結合や金属イオンとのキレート結合[26]、糖の疎水面による疎水結合[27]、イオン結合[28]（酸性糖鎖と塩基性アミノ酸など）を基本として複合的に働いている。しかしながら、これらの相互作用は通常では非常に弱く、糖鎖とレクチンでは、結合解離定数K_d値でｍＭレベルであることが多い。一般的に、薬として使用される有機化合物とその認識タンパク質では、K_d値でｎＭレベル以下であることが多く、実に１００万倍以上もの結合力の差がある。このことからわかるように、非常に弱い一対の糖鎖―レクチン相互作用の高次構造解析やその機能について確認して評価することは困難である。では、どのようにして働いているのだろうか。自然界において機能しているレク

チンについて調べると、糖鎖―レクチン会合体が一組だけ存在しているというよりは、複数の会合体がクラスターを形成していることが多い。一つの糖から発生する相互作用は弱いが、これが２個、３個…１０個、２０個と積み重なると次第に強くなる。このように糖鎖が集積されることで強い相互作用を発揮することを多価効果、糖鎖クラスター効果などと呼ぶ[29]。

当研究室雨夜らはこの多価効果に着目し、糖鎖樹状分子（デンドリマー）の合成を報告している(Figure 1-26)[30]。固相上でデンドリマー分子を合成し、オルソゴナルに結合（プロパルギルエーテル、エステル、ニトロベンジル）を開裂させ、ガラクトース Dimer、Tetramer、Octamer 体の合成に成功している。

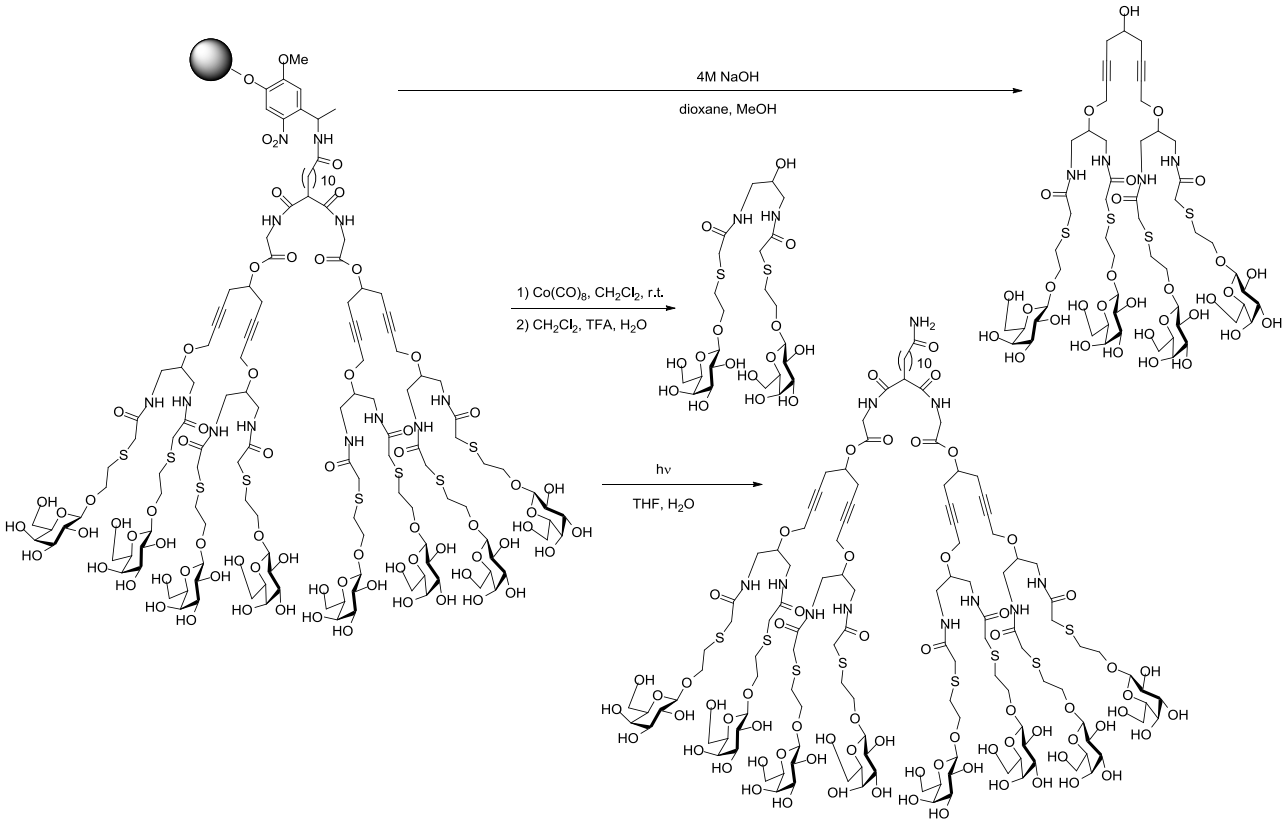


Figure 1-26

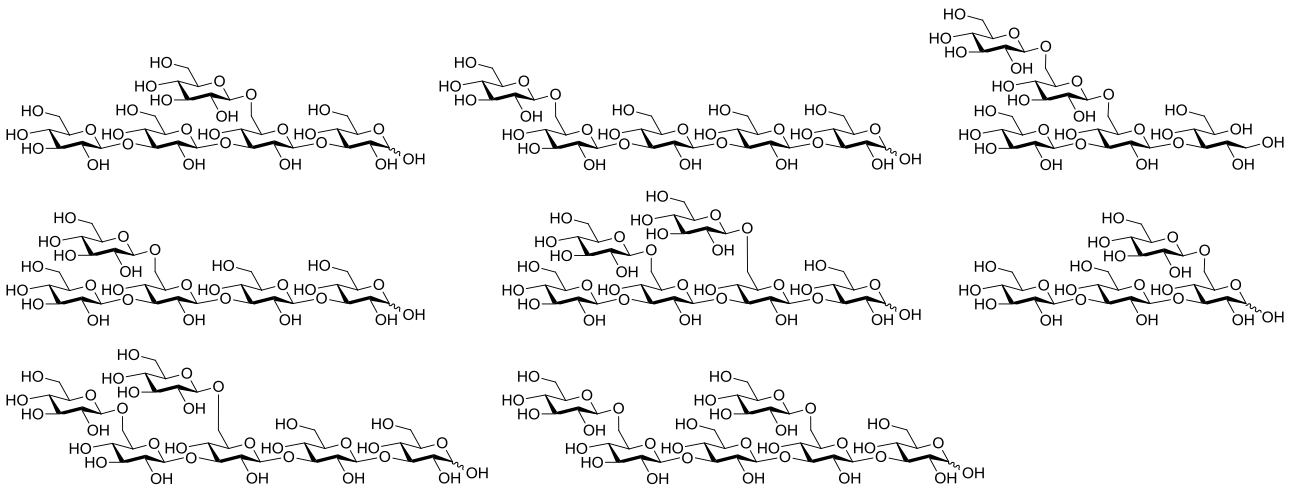
以上のように、βグルカン糖鎖の構造と機能の解明のためには、相互作用の増強を目的とする多価効果を利用した分子設計が強力なツールになると考えられる。しかしながら、大きな糖鎖を多く束ねる手法は、立体障害から難しいと考えられ、合成手法の開発が必要である。

1−4　本論文の概要

本論文は「β グルカン受容体デクチン１結合性オリゴ糖誘導体の合成とその生物機能評価」と題し、免疫調整分子の創製を目的とした、βグルカン認識タンパク質であるデクチン１を介する自然免疫活性化作用を有する分子の合成戦略の開発、続く免疫細胞との相互作用研究への応用について述べたものであり、以下全６章で構成されている。

第１章「序論」では多糖類の機能解明の意義および、化学合成による糖鎖供給の重要性について述べ、研究の目的を明らかにした。

第２章「デクチン１の低分子リガンド探索を目的とする糖鎖合成」では、デクチン１に対する低分子リガンドの発見を期待し、高度に分岐したβグルカン関連オリゴ糖鎖ライブラリーの機能評価を行う。当研究室保有のβグルカン関連オリゴ糖鎖ライブラリーを用いてデクチン１に対するリガンド探索を行い、さらなる高結合糖鎖の開発について述べる。まず初めに、研究室保有の合成βグルカン関連オリゴ糖鎖と天然βグルカンとのデクチン１に対する競合結合阻害作用を検討する(Figure 1-27)。続いて、さらなる高結合糖鎖の開発を目指し、得られたリード化合物を基盤として誘導体の合成を行う。



研究室保有の合成βグルカン関連オリゴ糖鎖

Figure 1-27

第３章「β（１，３）グルカン糖鎖の合成法の開発」では、効率的な直鎖βグルカン関連糖鎖の合成法の開発について述べる。分子量数十万もの多糖を認識するデクチン１には、大きな糖鎖認識部位が存在すると考えられる。そこで、デクチン１と結合するためには、それ自体の大きさと同程度以上のβ（１，３）グルカン糖鎖長のものが必要であると考えた。最初に、分子力場計算により算出したβ（１，３）グルカンとX線構造解析によるデクチン１との大きさの比較を行い、目的とする糖鎖長を決定する。本研究では、β（１，３）グルカンの直線的および収束的合成法の開発を行い、デクチン１との結合試験を行うこととした（Figure 1-28)。

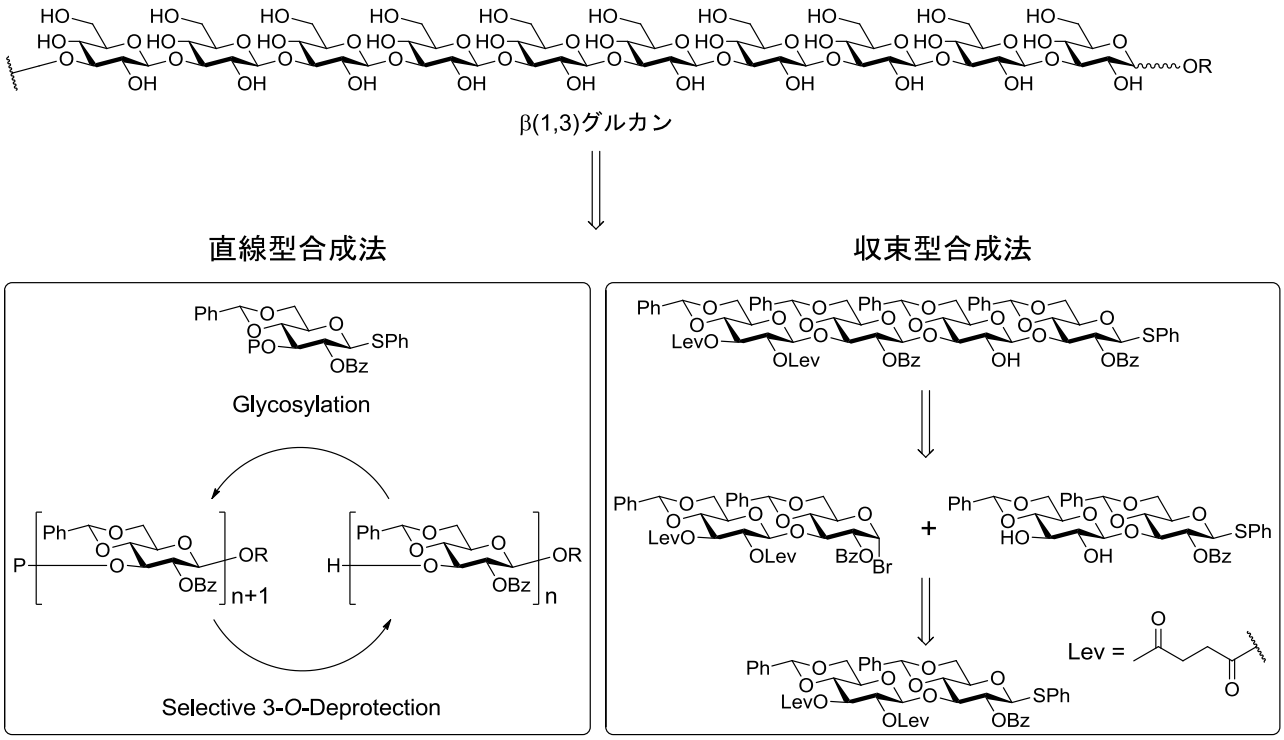


Figure 1-28

第４章「βグルカン関連オリゴ糖鎖の合成法の開発」では、多価効果を期待する糖鎖固定化微粒子の開発を行う。この際、直鎖の糖のみならず、β（１，６）分岐鎖を有する糖鎖の合成が行える合成法の開発について述べる。先に述べたとおり、９糖を主鎖とする合成βグルカンにおいて、分岐鎖を有する糖鎖は直鎖の糖鎖よりもデクチン１に対して約１００倍の結合力を有することが報告されている。そこで、直鎖のみならず、分岐鎖を有する糖鎖の合成を目指した。この際、還元末端にアミノアルキル基を有する糖鎖を設計することで、末端アミノ基を足掛かりとした分子プローブへの応用を志向した。

これらの糖鎖は、β（１，３）直鎖４糖供与体およびβ（１，６）分岐糖部を導入した５糖供与体を利用するブロック合成法により合成する（Figure 1-29）。さらに、得られた糖鎖を用いてデクチン１との結合試験及び、免疫活性化試験を行う。

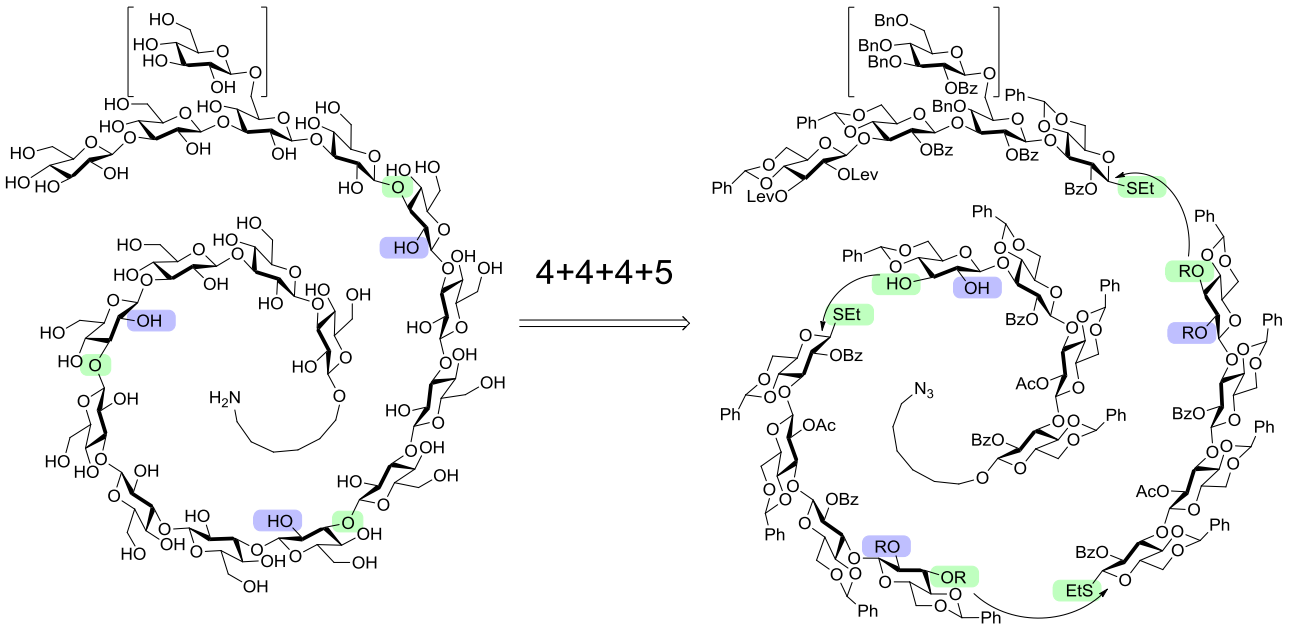


Figure 1-29

第５章「β グルカン糖鎖固定化微粒子の開発」では、デクチン１を介した免疫活性化の向上のため、β グルカン糖鎖を微粒子上に束ねた糖鎖固定化微粒子の開発について述べる。本研究では、様々な大きさの微粒子を用いてリガンド糖鎖の固定化を行い、デクチン１との相互作用試験を行う。この際、糖鎖の多価効果により、デクチン１に対する高い相互作用効果が期待できる(Figure 1-30)。

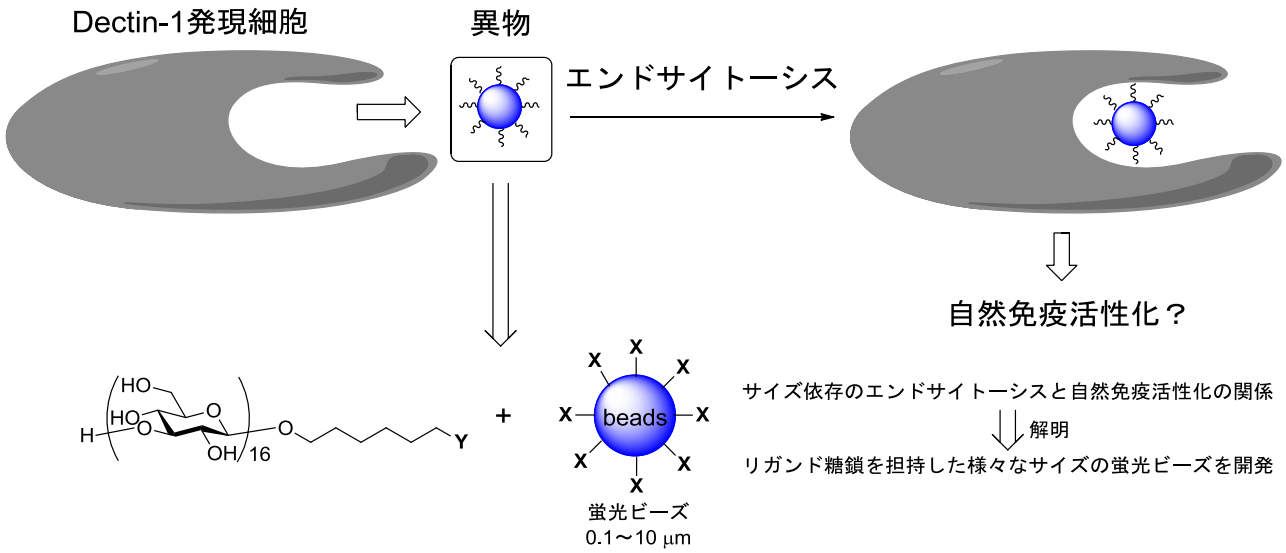


Figure 1-30

第６章「結論」では、本論文を総括した。

References

1) a) 江上不二夫編、多糖類化学、共立出版、1955.
b) 谷口直之、川嵜敏之、古川鋼一、木全弘二、鈴木明身編、糖鎖機能、共立出版、2003.
c) 永井克孝監、川嵜敏祐編、未来を拓く糖鎖科学、金芳堂、2005.

2) a) Ulmer, A. J.; Rietschel, E. T.; Zahringer, U.; Hein, H. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* 2002, *14*, 53-68.
b) Alexander, C.; Zahringer, U. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* 2002, *14*, 69-86.
c) Takada, H.; Kotani, S. *Crit. Rev. Microbiol.* 1989, *16*, 477-523.

3) a) Maiti, K. K.; DeCastro, M.; Abdel-Aal El-Sayed, A.-B. M.; Foote, M. I.; Wolfert, M. A.; Boons, G.-J. *Eur. J. Org. Chem.* 2010, *1*, 80-91.
b) Fujimoto, Y.; Kimura, E.; Murata, S.; Kusumoto, S.; Fukase, K. *Tetrahedron Lett.* 2006, *47*, 539-543.
c) Fujimoto, Y.; Adachi, Y.; Akamatsu, M.; Fukase, Y.; Kataoka, M.; Suda, Y.; Fukase, K.; Kusumoto, S. *J. Endotoxin Res.* 2005, *11*, 341-347.
d) Seydel, U.; Schromm, A. B.; Brade, L.; Gronow, S.; Andra, J.; Muller, M.; Koch, M. H. J.; Fukase, K.; Kataoka, M.; Hashimoto, M.; Kusumoto, S.; Brandenburg, K. *FEBS J.* 2005, *272*, 327-340.

4) a) 大野尚仁監修、βグルカンの基礎と応用、シーエムシー出版、2010.
b) 安達禎之、大野尚仁、真菌多糖の免疫系による認識とその活性化作用、日本医真菌学会誌、2006, *47*, 185-194.
c) 大野尚仁、βグルカンの生体防御系修飾作用、日本細菌学雑誌、2000, *55*, 527-537.
d) Manners, D. J.; Mason A. J.; Patterson J. C.; *Biochem. J.* 1973, *135*, 19-30.
e) DI Luzio, N. R. *New York, Plenum Press* 1976, 412-421.
f) Wooles, W. R.; DI Luzio, N. R. *J. Reticuloendothelial Sec.* 1964, *1*, 160.

5) 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 HP(http://www.info.pmda.go.jp/)

6) a) Kerrigan, A. M.; Brown, G. D. *Mamm. Genome* 2011, *22*, 55-65.
b) Brown, G. D.; Herre, J.; Williams, D. L.; Willment, J. A.; Marshall, A. S.; Gordon, S. *J. Exp. Med.* 2003, *197*, 1119.
c) Brown, G. D.; Taylor, P. R.; Reid, D. M.; Willment, J. A. *J. Exp. Med.* 2002, *196,* 407-412.
d) Taylor, P. R.; Brown, G. D.; Reid, D. M.; Willment, J. A. *J. Immunol.* 2002, *169*, 3876-3882.
e) Brown, G. D.; Gordon, S. *Nature* 2001, *413*, 36-37.
f) Ariizumi, K.; Shen, G. L.; Shikano, S.; Xu, S.; Ritter, R. 3rd; Kumamoto, T.; Edelbaum, D.; Morita, A.; Bergstresser, P. R.; Takashima, A. *J. Biol. Chem.* 2000, *275*, 20157-20167.

7) Adachi, Y.; Ishii, T.; Ikeda, Y.; Hoshino, A.; Tamura, H.; Aketagawa, J.; Tanaka, S.; Ohno, N. *Infection and Immunity* **2004**, *72*, 4159-4171.
8) Palma, S. A.; Feizi, T.; Zhang, Y.; Stoll, S. M.; Lawson, M. A.; Diaz-Rodriguez, E.; Campanero-Rhodes, A. M.; Costa, J.; Gordon, S.; Brown, D. G.; Chai, W. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 5771-5779.
9) Bächli, P.; Percival, E. G. V. *J. Chem. Soc.*, **1952**, 1243-1246.
10) a) Zeng, Y.; Ning, J.; Kong, F. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3729-3733.
b) Wu, Z.; Ning, J.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 2203-2212.
11) Takeo, K.; Maki, K.; Wada, Y.; Kitamura, S. *Carbohydr. Res.* **1993**, *245*, 81-96.
12) a) Fügedi, P.; Birberg, W.; Garegg P. J.; Pilotti, A. *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 297-312.
b) Yang, G.; Kong, F. *Synlett* **2000**, 1423-1426.
c) Zeng, Y.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 2359-2366.
d) Jamois, F.; Ferrières, V.; Guégan, J.-P.; Yvin, J.-C.; Plusquellec, D.; Vetvicka1, V. *Glycobiology* **2005**, *15*, 393-407.
13) Takeo, K.; Kawaguchi, M.; Kitamura, S. *J. Carbohydr.Chem.* **1993**, *12*, 1043-1056.
14) For one-pot glycosylation see
a) Tanaka, H.; Adachi, M.; Tsukamoto, H.; Ikeda, T; Yamada, H; Takahashi, T. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4213-4216.
b) Yamada, H; Harada, T.; Takahashi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7919-7920.
c) Yamada, H.; Kato, T.; Takahashi, T. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4581-4584.
d) Takahashi, T.; Adachi, M.; Matsuda, A.; Doi, T. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2599-2603.
e) Yamada, H.; Harada, T.; Miyazaki, H.; Takahashi, T. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3979-3982.
f) Ley, S. V.; Priepke, H. W. M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2292-2294.
g) Zhang, Z.; Ollmann, I. R.; Ye, X. S.; Wischnat, R.; Baasov, T.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 734-753.
h) Yu, B.; Yu, H.; Hui, Y.; Han, X. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 8591-8594.
i) Yu, B.; Xie, J.; Deng, S.; Hui, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 12196-12197.
j) Cheung, M.-K.; Douglas, N. L.; Henzen, B.; Ley, S. V.; Pannecoucke, X. *Synlett.* **1997**, *3*, 257-260.
k) Green, L.; Hinzen, B.; Ince, S. J.; Langer, P.; Ley, S. V.; Warriner, S. L. *Synlett.* **1998**, *4*, 440-442.
15) Du, Y.; Zhang, M.; Kong, F. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3797-3800.
16) Tanaka, H.; Amaya, T.; Takahashi, T. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 3053-3057.
17) He, H.; Yang, F.; Du, Y. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1673-1678.
18) Fugedi, P., Birberg, W., Garegg, P. J., Pilotti, A. *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 297-312.

19) a) Zeng, Y.; Kong, F. *J. Carbohydr. Chem.* **2003**, *22*, 881-890.
b) Zeng, Y.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 2359-2366.
c) Ning, J.; Zhang, W.; Yi, Y.; Yang, G.; Wu, Z.; Yi, J.; Kong, F. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2193-2203.
d) Zeng, Y.; Zhang, W.; Ning, J.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2003**, *337*, 2383-2391.
e) Li, A.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 2499-2506.
f) Jones, N. A.; Nepogodiev, S. A.; Field, R. A. *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3*, 3201-3206.
20) Zeng, Y.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 843-849.
21) Jones, N. A.; Nepogodiev, S. A.; Field, R. A. *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3*, 3201-3206. Adams, E. L.; Rice, P. J.; Graves, B.; Ensley, H. E.; Yu, H.; Brown, G. D.; Gordon, S.; Monteiro, M. A.; Papp-Szabo, E.; Lowman, D. W.; Power, T. D.; Wempe, M. F.; Williams, D. L. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, *325*, 115-123.
22) a) Williams, D. L.; Ensley, H. E.; Yu, H. *PCT Int. Appl.* **2006**, WO 2006042200.
b) Yu, H.; Williams, D. L.; Ensley, H. E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3417-3421.
23) Tanaka, H.; Yamanouchi, M.; Miyoshi, H.; Hirotsu, K.; Tachibana, H.; Takahashi, T. *Chem. Asian J.* **2010**, *5*, 2231-2248.
24) Tanaka, H.; Ishida, T.; Matoba, N.; Tsukamoto, H.; Yamada, H.; Takahashi, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6349-6352.
25) Tanaka, H.; Tateno, Y.; Nishiura, Y.; Takahashi, T. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5597-5600.
26) Feinberg, H.; Park-Snyder, S.; Kolatkar, A. R.; Heise, C. T.; Taylor, M. E.; Weis, W. I. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 21539-21548.
27) a) Feinberg, H.; Torgersen, D.; Drickamer, K.; Weis, W. I. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 35176-35184.
b) Liao, D.-I.; Kapadia, G.; Ahmed, H.; Vasta, G. R.; Herzberg, O. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1994**, *91*, 1428-1432.
28) a) May, A. P.; Robinson, R. C.; Vinson, M.; Crocker, P. R.; Jones, E. Y. *Mol. Cell* **1998**, *1*, 719-728.
b) Roberts, D. L.; Weix, D. J.; Dahms, N. M.; Kim, J. J. *Cell* **1998**, *93*, 639-648.
c) Somers, W. S.; Tang J.; Shaw, G. D.; Camphausen, R. T. *Cell* **2000**, *103*, 467-479.
29) a) Mammen, M.; Choi, S.-K.; Whitesides, G. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754-2794.
b) Lee, Y. C.; Lee, R. T. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 321-327.
30) Amaya, T.; Tanaka, H.; Takahashi, T. *Synlett.* **2004**, 497.

第２章

デクチン１の低分子リガンド探索を目的とする糖鎖合成

２－１　はじめに

序論において、自然免疫活性化分子の開発の意義について述べた。デクチン１を介する自然免疫活性化分子の開発には、まず、デクチン１に結合し得る構造の明確な低分子リガンドの探索が必要であると考えた。本章では、低分子のβグルカンオリゴ糖を合成し、低分子リガンドの探索を行うこととした。

２－２　低分子リガンド探索

天然のβグルカンには、様々なβ（１，６）分岐鎖を有するβグルカンが存在する。序論で述べたとおり、天然から得られる様々なβ（１，６）分岐鎖を持つβグルカンでは、短いβ（１，６）分岐鎖を持つβ（１，３）グルカンが、デクチン１と強く結合することを示唆する結果が報告されている。また、合成したβグルカン糖鎖においても、β（１，６）分岐単糖を有する糖鎖が、直鎖のβ（１，３）グルカンオリゴ糖よりも強くデクチン１と結合することが報告されている。以上のことから、β（１，６）分岐鎖の存在がデクチン１との結合性に寄与する可能性がある。一方、天然由来のβ（１，３）グルカンの加水分解物を用いた研究では、デクチン１への結合には１０糖以上のグルコースユニットが必要であるといわれている。しかしながら、これらの加水分解物を用いた結果では、その中に含まれている糖鎖の構造はβ（１，３）グルカンオリゴ糖である。筆者は、より小さな、β（１，６）分岐鎖を有するβグルカンオリゴ糖がリガンドとなる可能性があると考えた（Figure 2-1）。

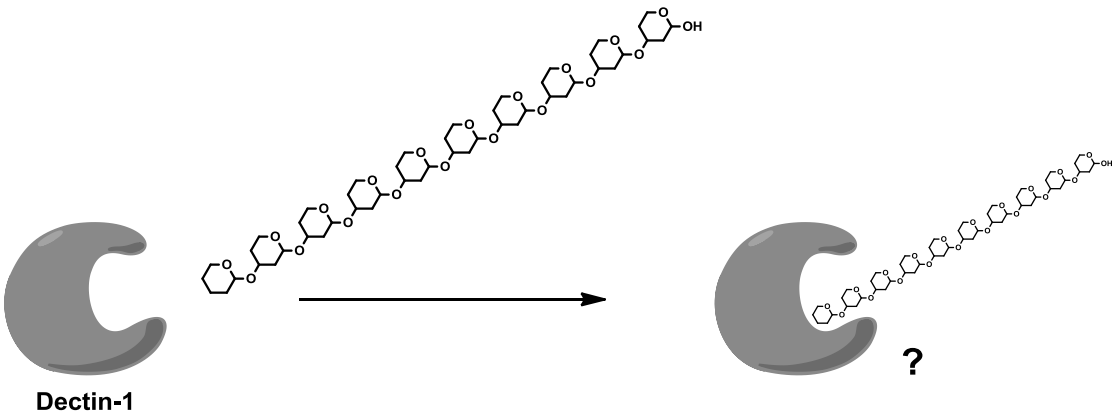


Figure 2-1

本章では、β（１，６）分岐鎖を含むβグルカンオリゴ糖において、デクチン１リガンドとなり得ると考え、合成および、デクチン１と結合評価することとした（Figure 2-2）。

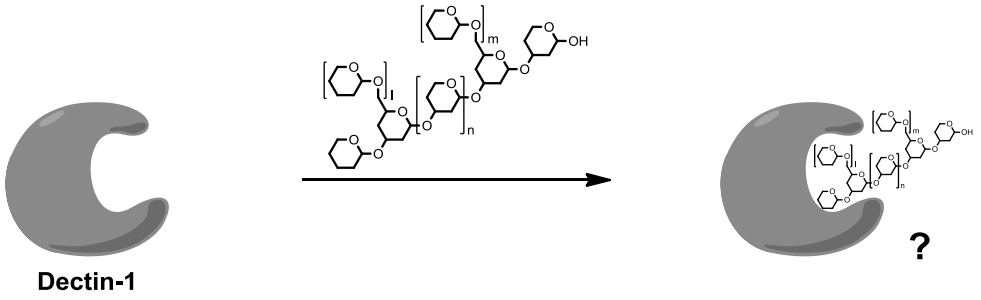


Figure 2-2

当研究室では以前、イネのファイトアレキシンエリシターの研究を行い、高度に分岐したβグルカン関連オリゴ糖鎖の合成を行っている（Figure 2-3）[1)]。本化合物は、植物の免疫に関係しており、自然免疫に関連するタンパク質デクチン１に対する低分子リガンドとなる可能性が期待できる。まず始めに、当研究室で以前合成した４糖から６糖の分岐βグルカン関連オリゴ糖ライブラリーの中から、デクチン１結合性のオリゴ糖の探索を検討することとした。

当研究室保有のβグルカン関連オリゴ糖鎖の、固定化 SPG（スエヒロタケ由来の天然βグルカン。別名：ソニフィラン）とデクチン１との結合に対する競合結合阻害試験を行った。用いた糖鎖は、β（１，３）結合３糖を主鎖とするオリゴ糖（TTK8-01, TTK9-01）とβ（１，３）結合４糖を主鎖とするオリゴ糖(TTK10-01, TTK11-01, TTK13-01, TTK14-01, TTK15-01, TTK16-01)である。SPG は、３糖のβ（１，３）結合より構成する主鎖に対し、単糖のβ（１，６）グルコシド側鎖を有する繰り返し構造をとることがその組成から言われている(Figure 2-3)。本実験は、東京薬科大学薬学部免疫学教室大野尚仁教授、安達禎之准教授の協力のもと行なった。

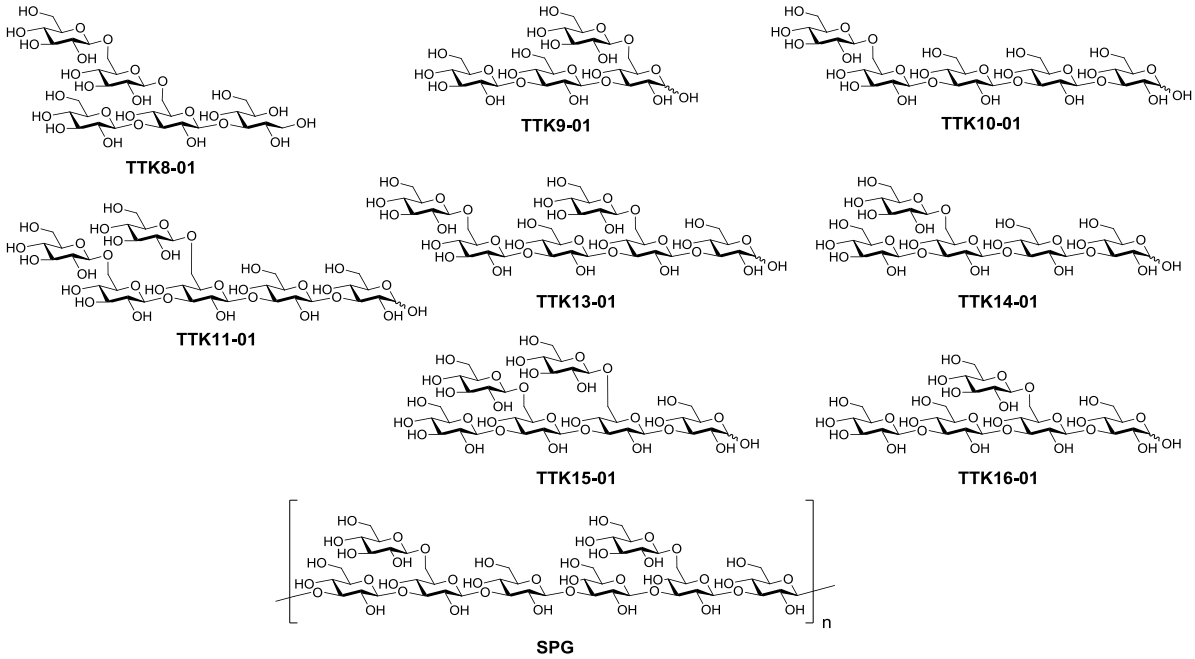


Figure 2-3

２－２－１　SPG とのデクチン１に対する競合阻害結合試験の方法

競合阻害結合試験の手順[2)]を以下に示す(Figure 2-4)。

- ELISA プレートに対し、βグルカン（SPG、20 μg/mL）を 4 ℃で一晩インキュベーションすることによりプレートに吸着させた後、本プレートを洗浄する。
- 別途、ビオチン標識可溶化デクチン１（100 ng/mL)に対し、評価を行う合成βグルカンオリゴ糖(0-500 μg/mL)で一時間前処理を行う。
- さきほどの ELISA プレートに対し、前処理を行ったデクチン１と合成βグルカンオリゴ糖の溶液を加え、室温で一時間インキュベーションする。
- ELISA プレートを洗い、余分なデクチン１や合成βグルカンオリゴ糖を取り除く。
- ELISA プレートに対し、検出抗体を作用させてプレート上のデクチン１に結合させる。
- 検出抗体を着色することで､ELISA プレート上のβグルカンに結合したデクチン１を測定する。

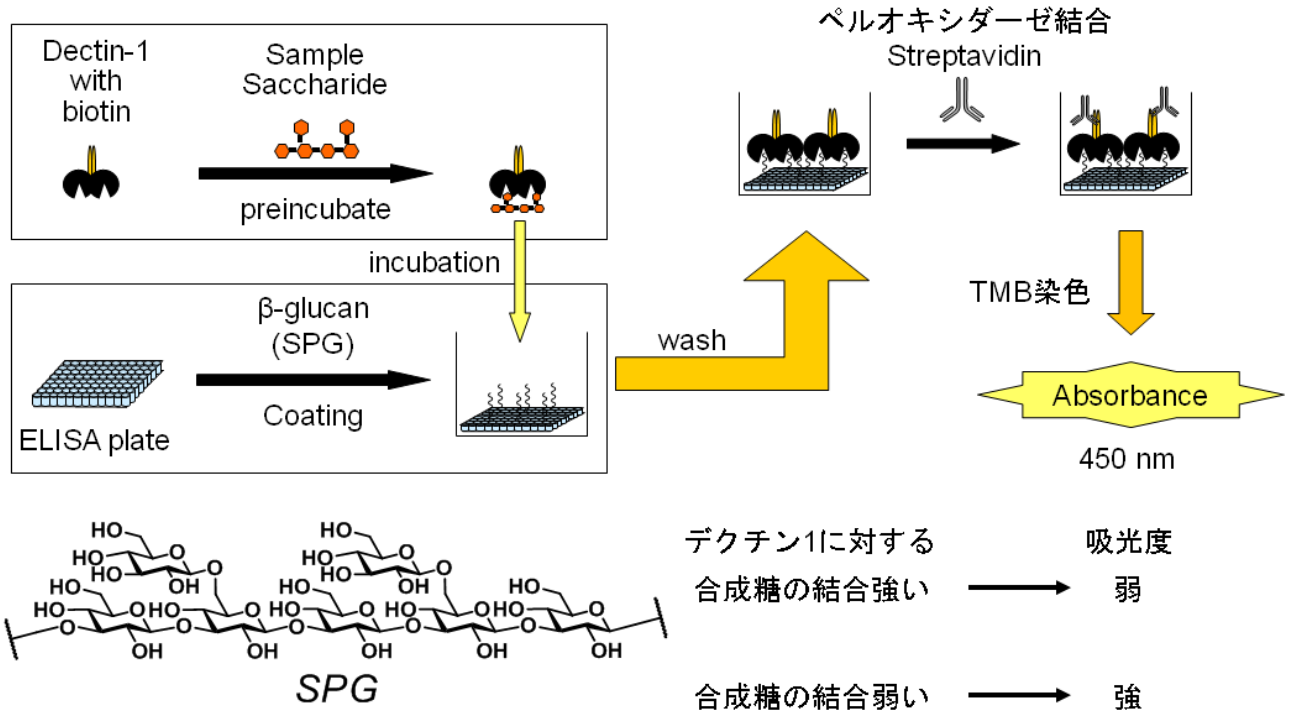


Figure 2-4

２－２－２　競合阻害作用測定

Figure 2-5 は、合成βグルカンオリゴ糖の濃度に対する ELISA プレートの吸光度を示している。横軸は合成βグルカンオリゴ糖の濃度であり、縦軸は吸光度である。糖鎖がデクチン１に結合した場合、観測される吸光度は低い。この試験において、より低濃度で結合阻害できるオリゴ糖が目的とするリガンド糖鎖である。測定結果より、TTK9-01 が、デクチン１の固相化 SPG に対する結合を強力に阻害できることが明らかとなった。また、オリゴ糖 TTK16-01、TTK14-01 が、その順で弱いながら競合阻害作用を示した(Figure 2-6)。

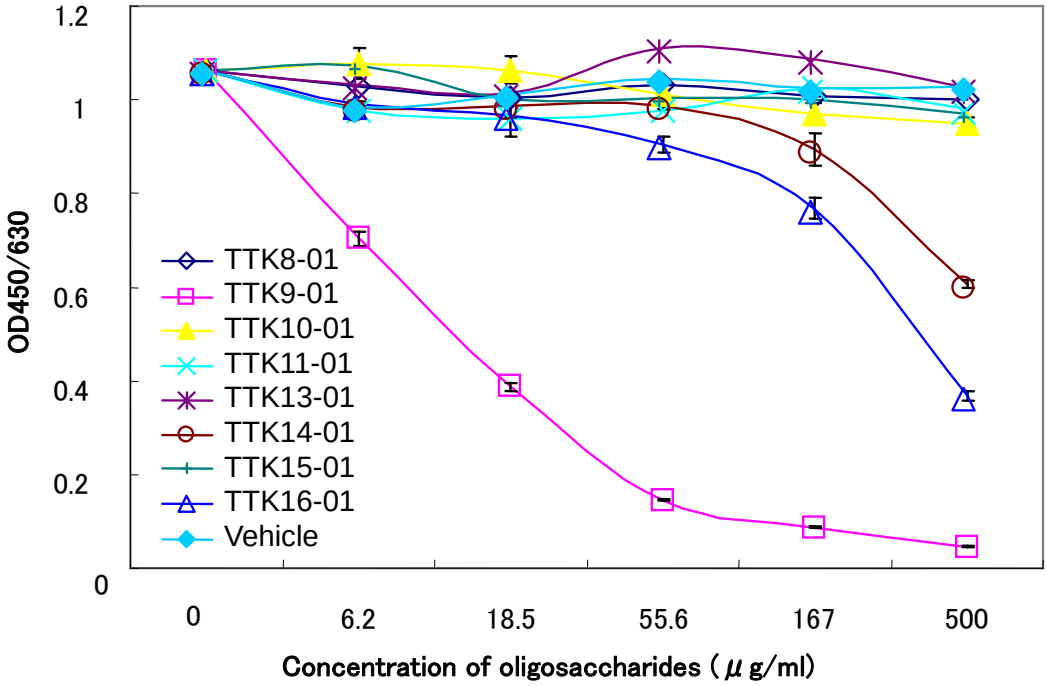


Figure 2-5

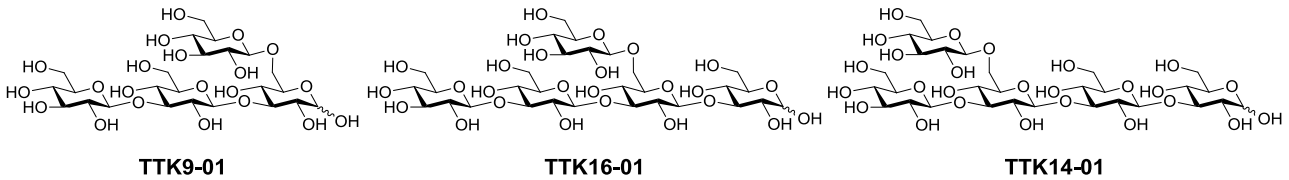
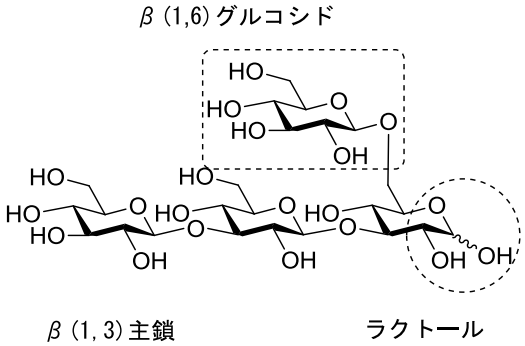


Figure 2-6

以上の結果を考察する。阻害作用が確認された三種類のオリゴ糖は、すべてβ（１，３）主鎖にβ（１，６）グルコースを一つ有するラクトール誘導体であった。それより、デクチン１への糖鎖の結合に分岐の形や還元末端構造が重要であることが示唆された。しかしながら、天然の多糖分子

には還元末端の割合は低い。また、本評価に用いたサンプルは、合成後時間がたっており、化合物の分解化合物が作用を示した可能性も有する。特に、ラクトール誘導体は、アルデヒドを有するためにいろいろな化学反応を起こしやすいと考えられる。そこで、これらの化合物を再合成しその阻害作用を確認することとした(Figure 2-7)。



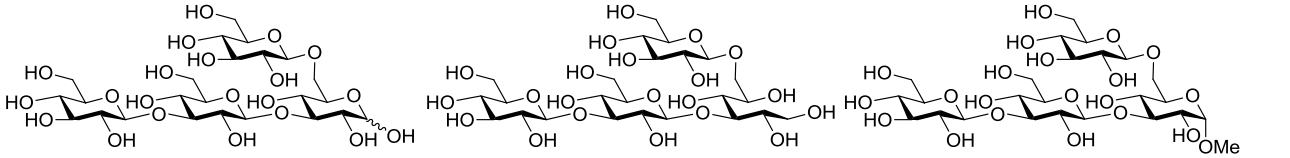
TTK9-01

Figure 2-7

２－３　合成計画

２－３－１　標的分子

TTK9 構造である、還元末端にβ（１，６）グルコシド結合をもつβ（１，３）主鎖の構造は変えず、アノマー位を還元したもの、および、メチル基を導入した誘導体の合成を検討した(Figure 2-8)。



再合成TTK9(**TTK9-02**) **2-1**　　TTK9還元体(**TTK19-01**) **2-2**　　メチルグリコシドTTK9誘導体(**TTK18-01**) **2-3**

Figure 2-8

２－３－２　合成計画

合成計画を述べる（Figure 2-9)。目的とする４糖 TTK9 は、β（１，３）結合２糖の還元末端側の６位遊離水酸基および非還元末端側の３位遊離水酸基に対し、共通糖供与体であるチオ糖を用いて同時にグリコシル化反応することで合成する。その際、３位水酸基の反応性の低下を抑えるため非還元末端のグルコースの４、６位の保護基はベンジリデンアセタールとした[3)]。２糖は、６位をクロロアセチル基およびレブリノイル基で保護した３位遊離水酸基を有する単糖受容体に対して３位にシリル基を有するチオ糖とグリコシル化することによって合成する。得られた２糖は、シリル基およびクロロアセチル基（またはレブリノイル基）を選択的に脱保護することにより糖受容体に変換する。その際、還元末端は、脱保護可能なベンジルグリコシド体と、メチルグリコシド体を用いる。

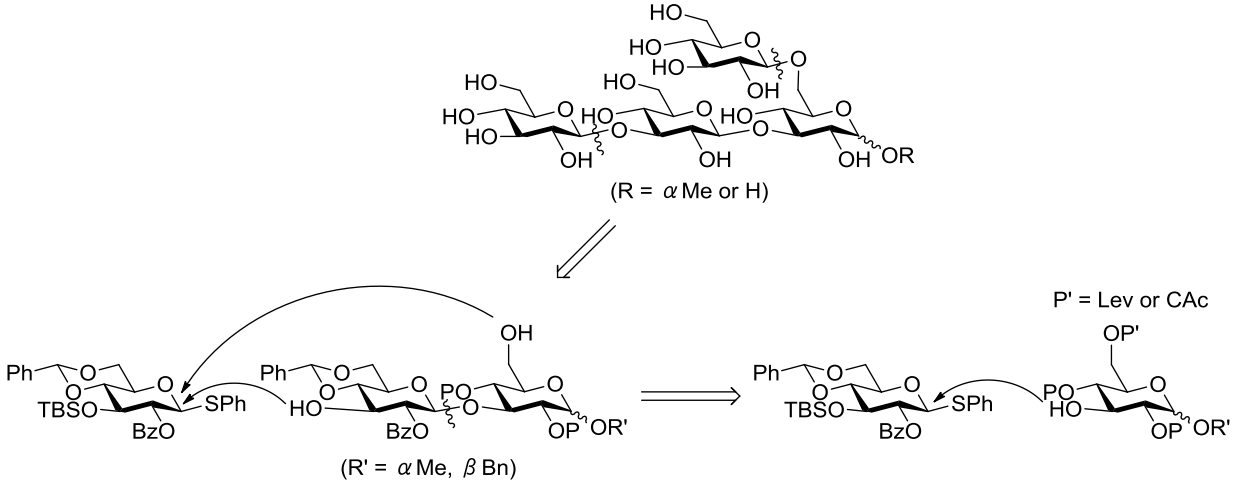


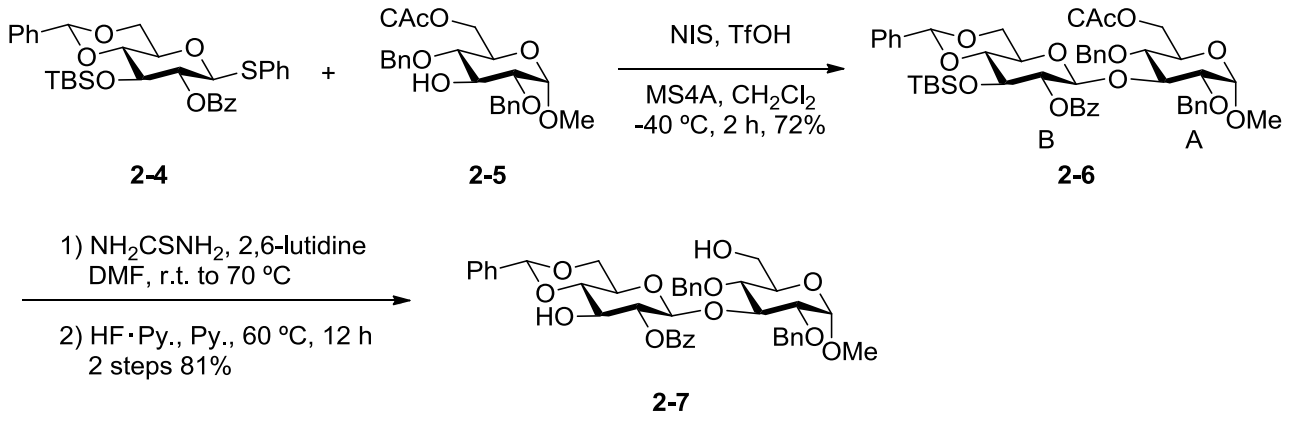
Figure 2-9

２－４　メチルグリコシド体および TTK9 とその還元体の合成

まず始めに、アノマー位の立体が固定されたメチルグリコシド体の合成を検討した。

２－４－１　メチルグリコシド体の合成

２糖 **2-7** の合成について述べる(Scheme 2-1)。糖供与体である３位水酸基に TBS 基を有するチオ糖 **2-4**[5](2.0 当量)と６位水酸基にクロロアセチル基を有する糖受容体 **2-5**(1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃で、*N*-ヨードコハク酸イミド（以下 NIS、2.4 当量)、トリフルオロメタンスルホン酸（以下 TfOH、0.1 当量）によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、２糖 **2-6** を収率 72%で得た。このとき、アノマー位の水素の結合定数により、生成物がβグリコシドであることを確認した[5](Table 2-1：還元末端糖を A、非還元末端糖を B とおく)。続いて、２糖 **2-6** を DMF 溶媒中、チオウレアを加え 70 ℃に加熱することでクロロアセチル基を選択的に脱保護した。さらに、ピリジン溶媒中フッ化水素酸／ピリジンを加え 60 ℃に加熱することで TBS 基を選択的に脱保護し、２糖 **2-7** を 2 段階収率 81%で得た。



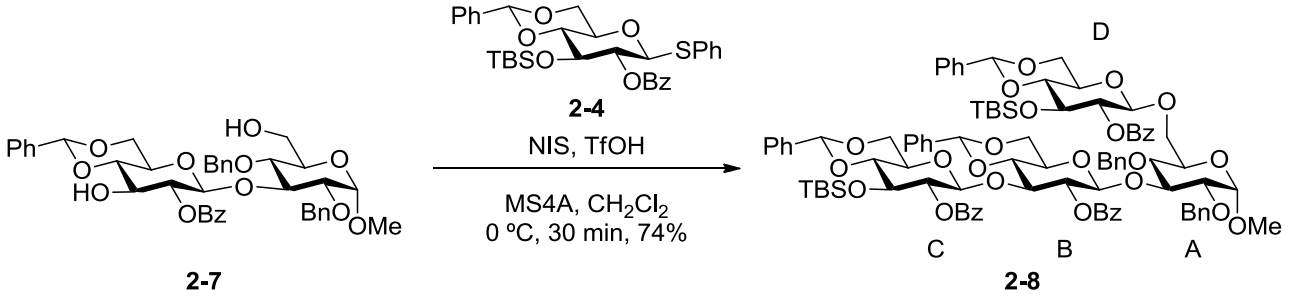
2-4　　**2-5**　　**2-6**　　**2-7**

Scheme 2-1

	δ (ppm) (*J*, Hz)	
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)
2-6	4.25 (3.4)	5.27 (8.2)

Table 2-1

４糖 **2-8** の合成を検討した(Scheme 2-2)。先に合成した二つの水酸基を有する２糖受容体 **2-7**(1.0 当量)とチオ糖 **2-4**(3.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、NIS(3.6 当量)、TfOH(0.1 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。-40 ℃にて反応を開始し、反応を完結させるため 0 ℃まで昇温した。その結果、４糖 **2-8** を収率 74%で得た。生成物の構造決定を ^{1}H-NMR を用いて行なった結果、アノマー位の結合定数が、7.7～8.2 Hz(β)、3.4 Hz(α)であったことにより、目的とする４糖が得られていることを確認した(Table 2-2：還元末端糖を A とし、他の糖を B、C、D とおいた。B、C、D は順不同)。

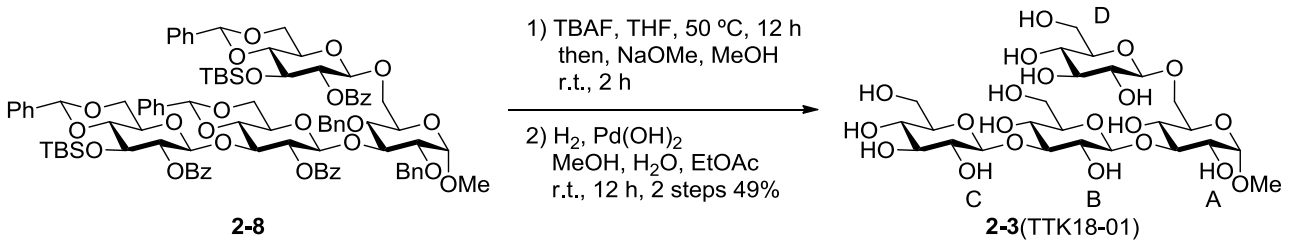


Scheme 2-2

	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)
2-8	4.04 (3.4)	4.58 (8.2)	4.88 (7.7)	5.11 (7.7)

Table 2-2

次に、保護糖 **2-8** の脱保護を行った(Scheme 2-3)。TBS 基、ベンゾイル基の脱保護を THF 溶媒下、テトラブチルアンモニウムフルオライド(TBAF)を加えて 50 ℃に加熱して処理した後に、そのまま系中に過剰量のナトリウムメトキサイド、メタノールを加えエステル基を除去し、３つのベンジリデン基と２つのベンジル基を有する４糖を得た。さらに、水酸化パラジウム（20wt%炭素担持体）を用いた水素添加によりベンジル基およびベンジリデン基の脱保護を行い、望むαメチルグリコシド体 **2-3**(TTK18-01)を 2 段階収率 49%で得た。^{1}H-NMR(Table 2-3：還元末端糖を A とし、他の糖を B、C、D とおいた。B、C、D は順不同)、COSY、^{13}C-NMR(Table 2-4：還元末端糖を A とし、他の糖を B、C、D とおいた。B、C、D は順不同)、MASS、IR、比旋光度にて構造を確認した。



Scheme 2-3

	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)
2-3	4.79 (3.4)	4.47 (7.7)	4.71 (7.7)	4.72 (7.7)

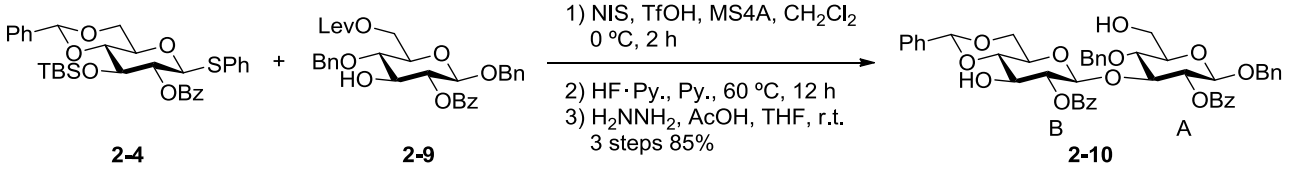
Table 2-3

	δ (ppm)			
compound	C-A1	C-B1	C-C1	C-D1
2-3	100.1	103.4	103.6	103.6

Table 2-4

２－４－２　TTK9 と還元体の合成

４糖還元体の合成を検討した。２糖 **2-10** の合成について述べる(Scheme 2-4)。６位水酸基にレブリノイル基を有する糖受容体 **2-9**(1.0 当量)とチオ糖 **2-4**(2.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、NIS(2.4 当量)、TfOH(0.7 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。-40 ℃にて反応を開始し、反応を完結させるため 0 ℃まで昇温した。後処理後、ピリジン溶媒中フッ化水素酸／ピリジンを加え 60 ℃に加熱することで TBS 基を選択的に脱保護した。続いて、THF 溶媒中ヒドラジン／酢酸を加えることでレブリノイル基を選択的に脱保護し、２糖 **2-10** を３段階収率 85％で β 選択的に得た。生成物の立体化学は、アノマー位の結合定数より決定した(Table 2-5: 還元末端糖を A、非還元末端糖を B とおく)。

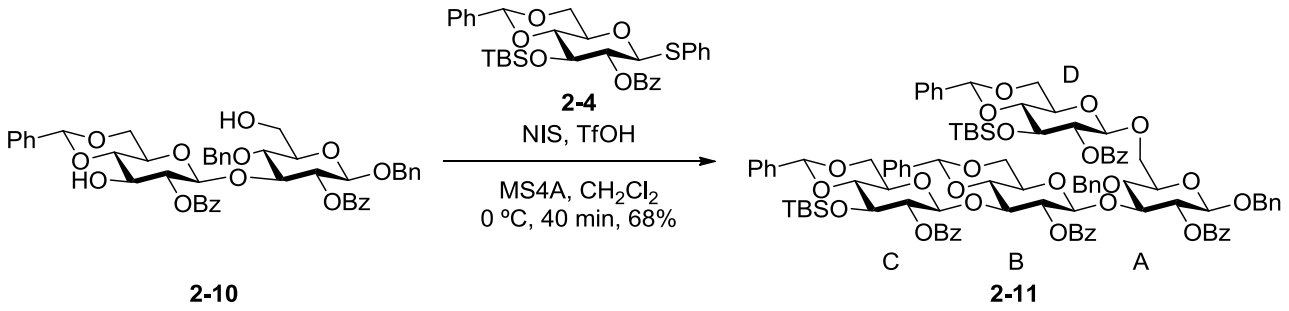


Scheme 2-4

	δ (ppm) (*J*, Hz)	
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)
2-10	4.50 (7.7)	4.93 (7.7)

Table 2-5

4糖**2-11**の合成を検討した(Scheme 2-5)。先に合成した二つの水酸基を持つ2糖受容体**2-10**(1.0当量)とチオ糖**2-4**(2.4当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、NIS(2.88 当量)、TfOH(0.5 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。-40 ℃にて反応を開始し、反応を完結させるため-20 ℃まで昇温した。後処理、精製を行い、TTK9保護体**2-11**を収率68%でβ選択的に得た。生成物の立体化学は、アノマー位の結合定数をもとに決定した(Table 2-6：還元末端糖をAとし、他の糖をB、C、Dとおいた。B、C、Dは順不同)。



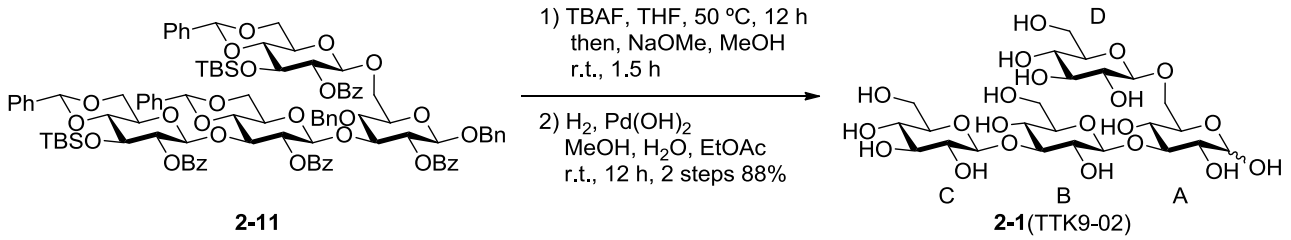
Scheme 2-5

	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)
2-11	4.67 (8.2)	ND (7.2)	ND (7.7)	ND (8.2)

ND: not determined

Table 2-6

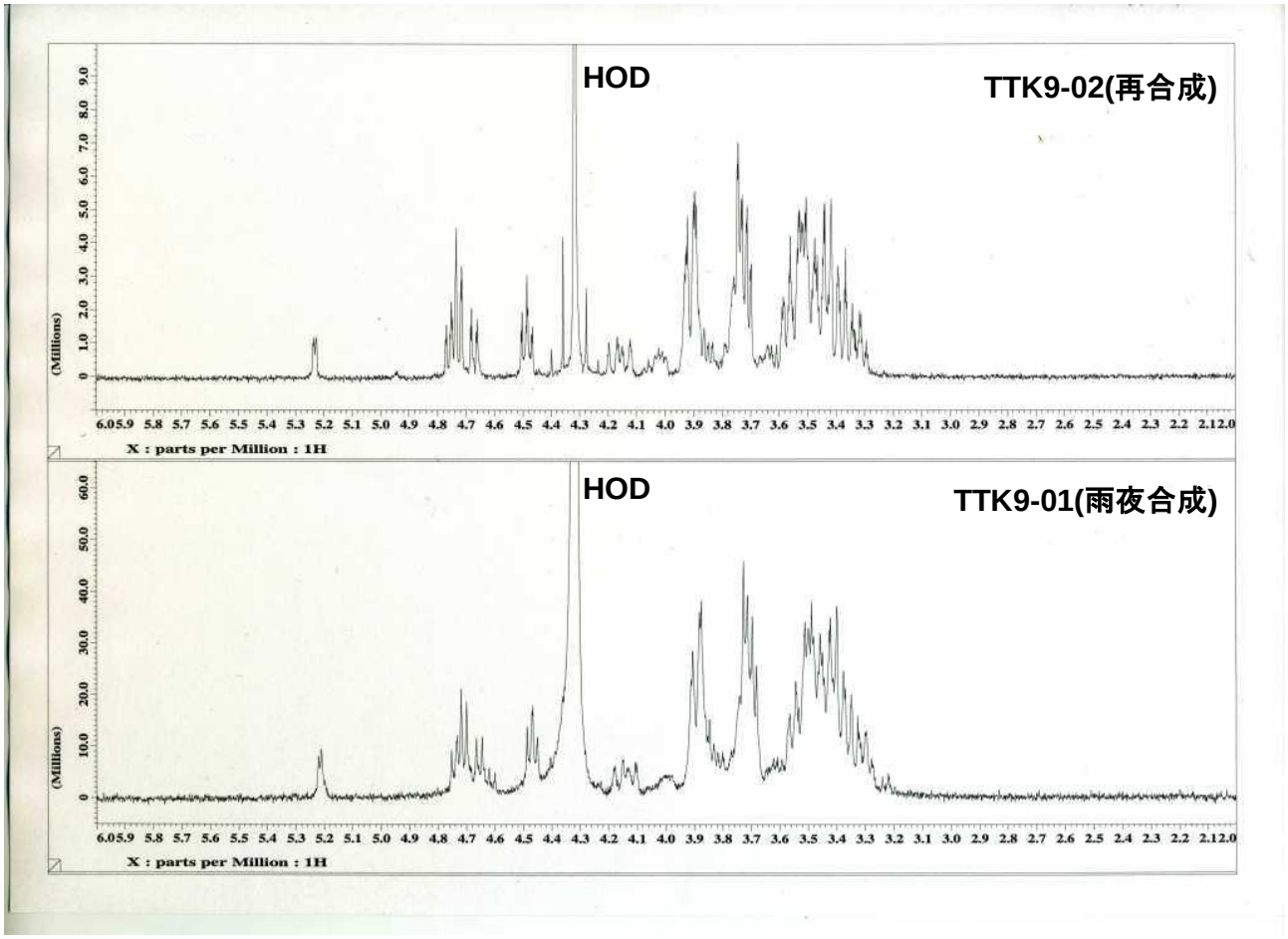
次に、保護糖 **2-11** の脱保護を行った(Scheme 2-6)。TBS 基、ベンゾイル基の脱保護を THF 溶媒下、TBAF を加えて 50 ℃に加熱して処理した後に、そのまま系中に過剰量のナトリウムメトキサイド、メタノールを加えて行った。さらに、水素添加によりベンジル基およびベンジリデン基の脱保護を行い、望む TTK9 の再合成体 **2-1**(TTK9-02)を 2 段階収率 88%で得た。^{1}H-NMR、MASS、IR、比旋光度にて構造を確認した(Table 2-7：還元末端糖を A とし、他の糖を B、C、D とおいた。B、C、D は順不同)。さらに、雨夜の合成した TTK9-01 と ^{1}H-NMR が一致した(Figure 2-10)。



Scheme 2-6

	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)
2-1α	5.23 (3.9)	4.73 (7.7)	4.75 (8.2)	4.76 (7.7)
2-1β	4.67 (7.7)	4.73 (7.7)	4.75 (8.2)	4.76 (7.7)

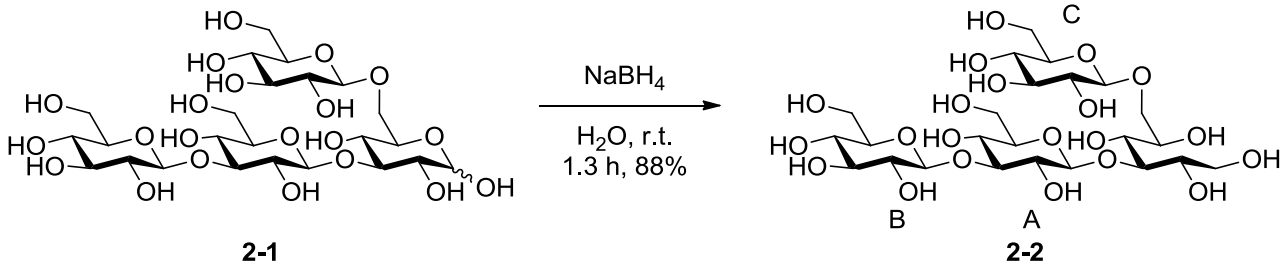
Table 2-7



^{1}H-NMR (D$_2$O 70 ℃)

Figure 2-10

４糖の還元末端の還元を検討した。４糖 **2-1**(TTK9-02)に対し、水溶媒中、$NaBH_4$を室温下作用させた。その結果、トリグルコシルグルシトール **2-2**(TTK19-01)を収率 88%で得た(Scheme 2-7)。^{1}H-NMR(Table 2-8：糖 A、B、C は順不同)、^{13}C-NMR、MASS、IR、比旋光度にて構造を確認した。



Scheme 2-7

	δ (ppm) (*J*, Hz)		
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)
2-2	4.49 (8.2)	4.67 (8.2)	4.72 (7.7)

Table 2-8

２－４－３　競合結合阻害試験

得られたαメチルグリコシド体 **2-3**(TTK18-01)と TTK9 の再合成体 **2-1**(TTK9-02)、その還元体 **2-2**(TTK19-01) の、固定化 SPG とデクチン１との結合に対する競合結合阻害試験を行った。測定結果を Figure 2-11 に示す。

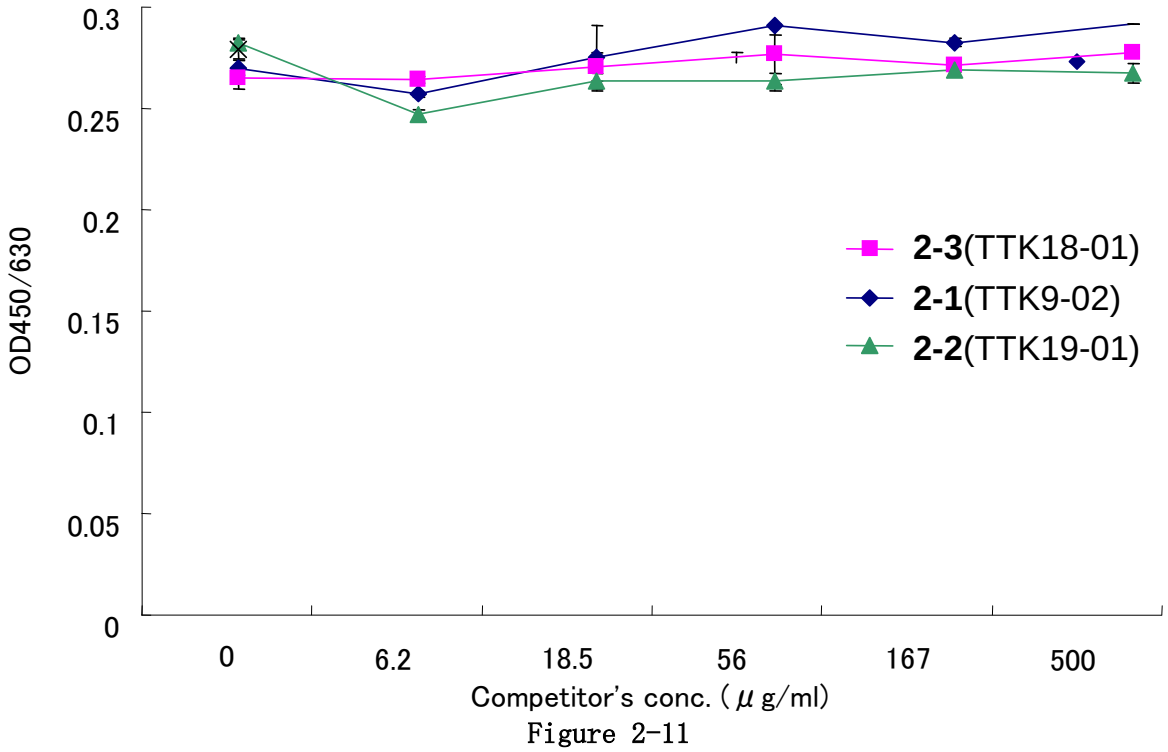


Figure 2-11

測定結果より、αメチルグリコシド体 **2-3**(TTK18-01)と還元体 **2-2**(TTK19-01)、および、TTK9 の再合成体 **2-1**(TTK9-02)のすべてのサンプルにおいて、結合阻害作用が観測されなかった。再合成体が活性を示さなかった可能性について考察した。その結果、以下の可能性が考えられた。

1)今回合成した **2-1**(TTK9-02)の合成方法に問題があり、副生成物が活性本体となっている可能性。

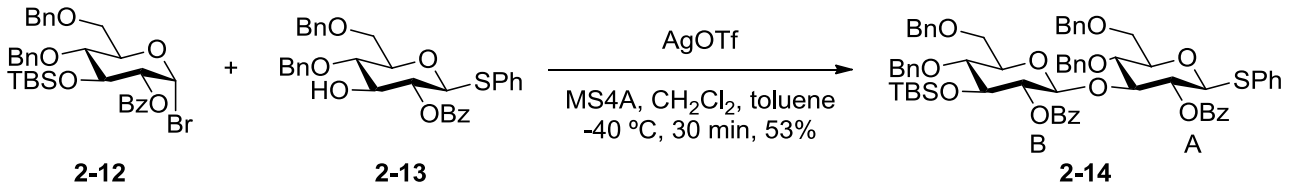
2)TTK9-01 の合成方法に問題があり、副生成物が活性本体となっている可能性。
3)TTK9-01 の経年変化により混入した夾雑物、ならびに分解された物質が活性本体となっている可能性。

1)の可能性は、**2-1**(TTK9-02)ならびにその還元体 **2-2**(TTK19-01)の構造決定もしており、可能性としてはあまり高くないと考えられる。そこで、2)、3)の可能性を考え、以前当研究室で合成された方法で TTK9 の合成を検討することとした。

２－５　従来法による TTK9 合成とその競合結合阻害試験

２－５－１　従来法による TTK9 合成

当研究室雨夜による TTK9 の合成方法[1)]により、TTK9 の再合成を行った。当量および操作は全てこれに準じて行った。まず、２糖チオ糖供与体 **2-14** の合成を行った(Scheme 2-8)。３位に遊離水酸基を持つチオ単糖 **2-13**(1.0 当量)とブロモ単糖 **2-12**(1.3 当量)をジクロロメタン、トルエン混合溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃で、銀トリフラート(2.6 当量)を用いてブロモ基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、２糖チオ糖供与体 **2-14** が収率 53%で得られた。生成物の立体化学は、アノマー位の結合定数にて決定した(Table 2-9:還元末端糖を A、非還元末端糖を B とおく)。



Scheme 2-8

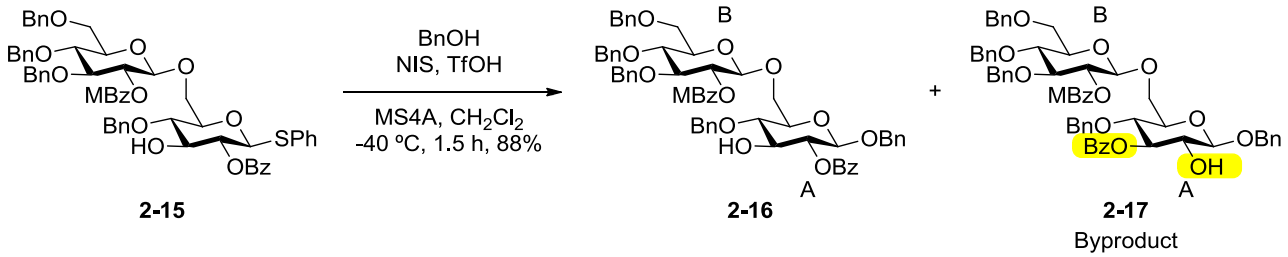
	δ (ppm) (*J*, Hz)	
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)
2-14	4.70 (8.2)	4.80 (7.7)

Table 2-9

β（１，６）結合２糖受容体 **2-16** の合成を行った(Scheme 2-9)。２糖チオ糖 **2-15**(1.0 当量)とベンジルアルコール(10 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、NIS(1.5 当量)、TfOH(0.6 当量)によりフェニルチオ基を活性化させ、ベンジルアルコールの導入を行い、収率 88%で糖受容体 **2-16** を得た。このグリコシル化反応の際、還元末端糖の２位のベンゾイル基が３位水酸基へ転位した副生成物 **2-17** の生成が見られた。この際の **2-16**、**2-17** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行なった(Table 2-10：還元末端糖を A、非還元末端糖を B とおく)。還元末端糖の２，３位の化学シフトに注目すると、**2-15** に対し **2-16** はほとんど化学シフトに変化が無いが、**2-17** は２位の化学シフトが 1.38 ppm 高磁場シフトし、３位の化学シフトが 1.42 ppm 低磁場シフトした。また、^{1}H-^{1}H COSY より、**2-16** は水酸基のプ

ロトンと３位のプロトンの相関が見られ、**2-17** は水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が見られた。これらより、副生成物 **2-17** は２位のベンゾイル基が３位水酸基へ転位が起こった化合物であると考えられる

。一般的に、トランス体の転位は非常に起こりにくく、この結果は驚くべきものである。一方、生成物の立体化学は、アノマー位の結合定数にて決定した(Table 2-10)。この副生成物 **2-17** 由来による化合物に結合阻害活性があった可能性があるため、混合物のまま続く反応を行った。



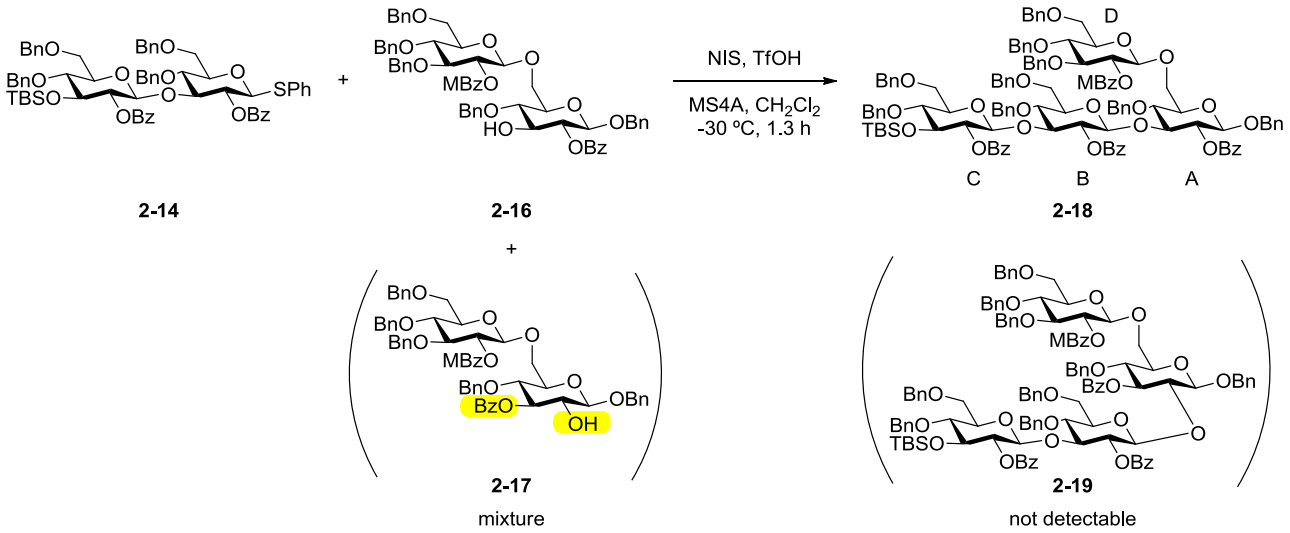
Scheme 2-9

	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-A2	H-A3	H-B1 ($J_{1,2}$)
2-15	ND	4.99	3.90	ND
2-16	4.44 (7.7)	4.99	3.78	4.61 (8.2)
2-17	4.37 (7.7)	3.61	5.32	4.63 (8.2)

ND: not determined

Table 2-10

続いて、TTK9 の骨格構築を行った(Scheme 2-10)。先に合成した２糖受容体 **2-16**、**2-17** 混合物と２糖供与体 **2-14** をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃にて NIS(7.0 当量)、TfOH(0.9 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。-30 ℃に昇温し、1.3 時間後に糖供与体の消失を確認した。反応の後処理精製を行なった結果、TTK9 保護体 **2-18** が得られた。生成物はほぼ単一であり、副生成物 **2-17** と２糖供与体 **2-14** とのカップリング体 **2-19** の生成は見られなかった。生成物の構造決定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行った。生成物の立体化学は、アノマー位の結合定数にて決定した(Table 2-11:還元末端糖を A とし、他の糖を B、C、D とおいた。B、C、D は順不同)。また、生成物の２位は **2-17** の２位と比較して低磁場に存在し(Table 2-11)、**2-17** が反応したカップリング体 **2-19** ではないと判断した。

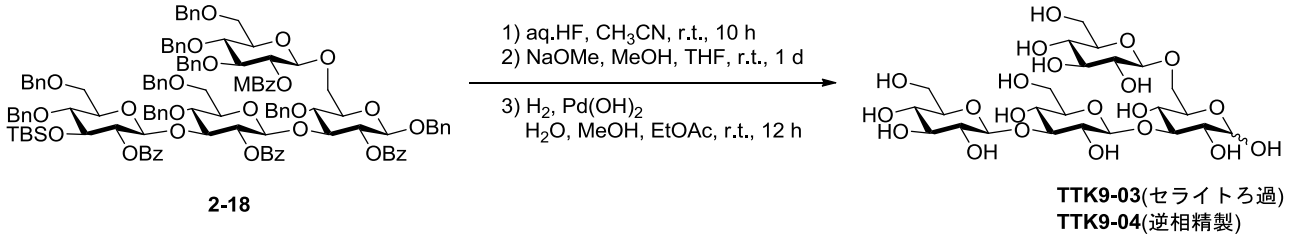


Scheme 2-10

	δ (ppm) (*J*, Hz)							
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-A2	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-B2	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-C2	H-D1 ($J_{1,2}$)	H-D2
2-18	4.13 (8.2)	4.90	4.58 (7.7)	5.09	4.63 (8.2)	5.29	4.65 (7.7)	4.96

Table 2-11

最後に、得られた TTK9 保護体 **2-18** の脱保護を行った(Scheme 2-11)。まず、アセトニトリル溶媒中フッ化水素酸を加えて TBS 基を選択的に脱保護し、メタノール溶媒中ナトリウムメトキサイドを加えてベンゾイル基とトリル基の脱保護を行った。簡易カラム精製後、水酸化パラジウム(20wt%炭素担持体)を用いた水素添加によりベンジル基の脱保護を行った。雨夜の合成では、最後の水素添加反応の後、残った水酸化パラジウム(20wt%炭素担持体)をセライトにてろ過している。今回セライトにてろ過を行ったサンプルを TTK9-03 とし、さらに逆相カラム(Bond Elut-C18)にて精製を行ったものを TTK9-04 として競合結合阻害試験を行った。



Scheme 2-11

２－５－２　競合阻害活性試験

得られた TTK9-03（セライトろ過のみ）と TTK9-04（逆相精製体）の、固定化 SPG とデクチン１との結合に対する競合結合阻害試験を行った。測定結果を Figure 2-12 に示す。測定結果より、TTK9-03（セライトろ過のみ）は TTK9-01 よりも結合力は弱いものの結合阻害活性を示し、TTK9-04（逆相精製体）は全く活性を示さなかった。この結果より、TTK9 が水素添加反応後におけるパラジウム炭素やセライトなどを介してデクチン１との結合を介している可能性や、逆相カラムにて得られない非水溶性の化合物（糖以外）が活性体である可能性などが考えられる。

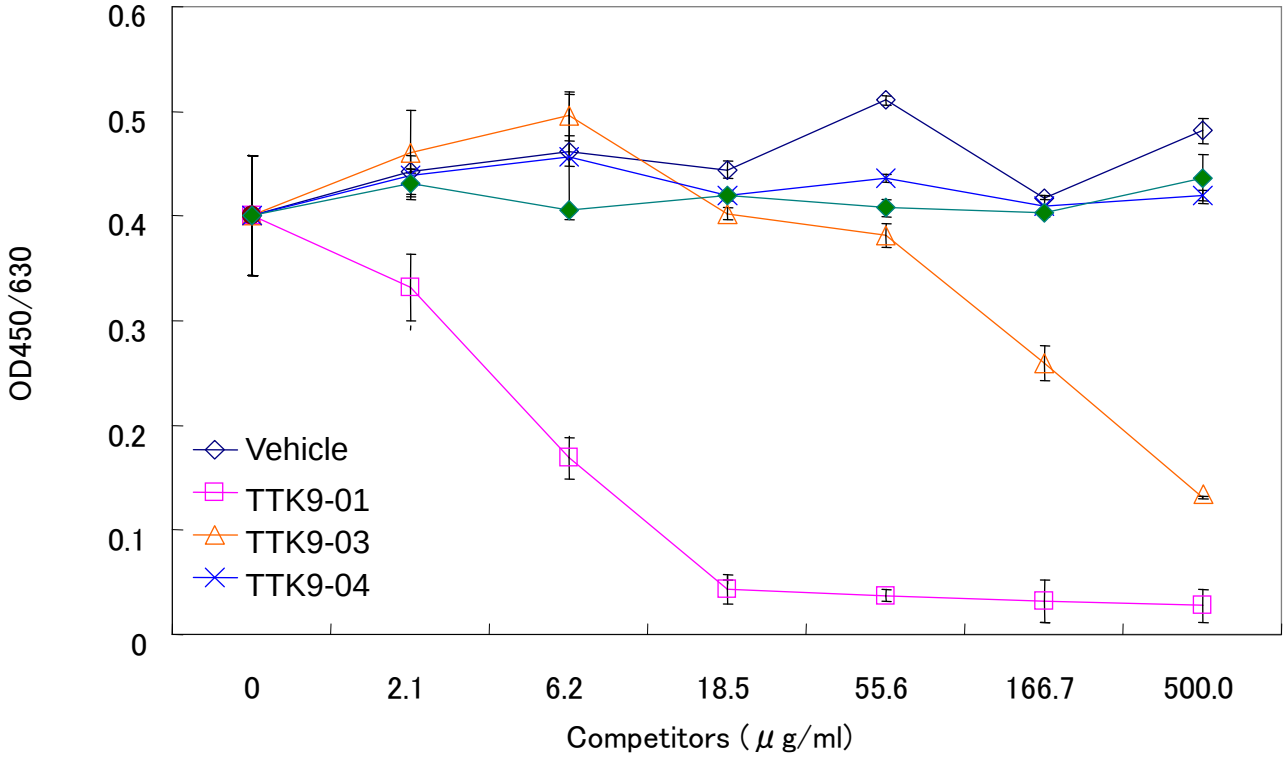


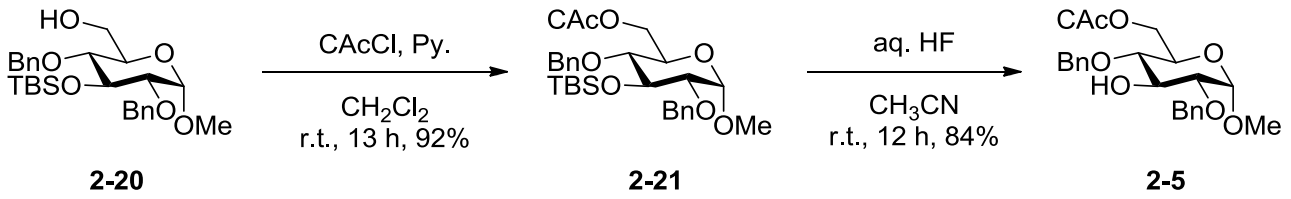
Figure 2-12

２－６　まとめ

本章では、マクロファージなどの細胞表層上に存在し、βグルカンを特異的に認識するレセプターであるデクチン１の低分子リガンド探索を行った。まず始めに、以前当研究室で合成したβグルカン関連オリゴ糖鎖を用いるSPGのデクチン１への結合に対する競合結合阻害試験を行い、オリゴ糖鎖TTK9が強い結合阻害活性を示すことを発見した。この結果を受けて、TTK9を含む類縁体の合成を行った。しかしながら、再合成体は結合阻害活性を全く示さなかった。再び以前の合成方法でTTK9を合成し、競合結合阻害試験を行ったところ、最終段階の反応後ろ過のみのサンプルは活性を示したが、逆相精製体は活性を示さなかった。このことから、TTK9は活性体ではなく、ごく微量に含まれているパラジウムなどの無機物や糖以外の非水溶性化合物が活性に影響を与えているものだと結論付けた。

２－７　基質の合成

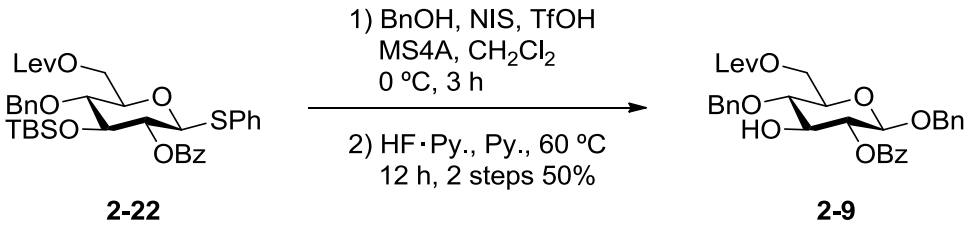
糖受容体**2-5**の合成について述べる(Scheme 2-12)。６位に水酸基を持つメチルグリコシド**2-20**[6]に対し、ジクロロメタン溶媒中、クロロアセチルクロライドとピリジンを加えてクロロアセチル基の導入を行い、クロロアセチル体**2-21**を収率92%で得た。続いて、アセトニトリル溶媒中フッ化水素酸を加えてTBS基を選択的に脱保護し、３位に水酸基を持つ糖受容体**2-5**を収率84%で得た。



2-20　　**2-21**　　**2-5**

Scheme 2-12

糖受容体**2-9**の合成について述べる(Scheme 2-13)。チオ糖**2-22**[1](1.0当量)とベンジルアルコール(10当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス4A(1.5 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、NIS(2.0当量)、TfOH(0.7当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化した後、ピリジン溶媒中フッ化水素酸・ピリジンを加え60 ℃に加熱することでTBS基を選択的に脱保護し、2段階収率50%で３位に水酸基を持つ糖受容体**2-9**を得た。



2-22 **2-9**

Scheme 2-13

References

1) a) 雨夜徹、博士論文、東京工業大学、2002.
b) Amaya, T.; Tanaka, H.; Yamaguchi, T.; Shibuya, N.; Takahashi, T. *Tetrahedron Lett.* 2001, *42*, 9191-9194.
c) Takahashi, T.; Okano, A.; Amaya, T.;Tanaka, H.; Doi, T. *Synlett* 2002, 911-914.
d) Tanaka, H.; Amaya, T.; Takahashi, T. *Tetrahedron Lett.* 2003, *44*, 3053-3057.
2) Procedure for Dectin-1 binding assay see
Tada, R.; Adachi, Y.; Ishibashi, K.; Tsubaki, K.; Ohno, N. *J. Agric. Food Chem.* 2008, *56*, 1442-1450.
3) a) Takeo, K.; Maki, K.; Wada, Y.; Kitamura, S. *Carbohydr. Res.* 1993, *245*, 81-96.
b) Fügedi, P.; Birberg, W.; Garegg P. J.; Pilotti, A. *Carbohydr. Res.* 1987, *164*, 297-312.
c) Yang, G.; Kong, F. *Synlett* 2000, 1423-1426.
d) Zeng, Y.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* 2003, *338*, 2359-2366.
e) Jamois, F.; Ferrières, V.; Guégan, J.-P.; Yvin, J.-C.; Plusquellec, D.; Vetvicka1, V. *Glycobiology* 2005, *15*, 393-407.
4) Nicolaou, K.C.; Winssinger, N.; Pastor, J.; DeRoose, F. *J. Am. Chem.Soc.* 1997, *119*, 449-450.
5) Manfred, H.; Herbert, M.; Bernd, Z.; 野村正勝　監修、馬場章夫、三浦雅博他　訳、有機化学のためのスペクトル解析法、化学同人、2002.
6) 井上仁史、博士論文、東京工業大学、2002.

General Techniques

NMR spectra were recorded on a JEOL Model EX-270 (270 MHz for ^{1}H, 67.8 MHz for ^{13}C) or a JEOL Model ECP-400 (400 MHz for ^{1}H, 100 MHz for ^{13}C) in the indicated solvent. Chemical shifts were reported in part per million (ppm) relative to the signal (0.00 ppm) for internal tetramethylsilane solutions in $CDCl_3$. ^{1}H NMR spectral data are reported as follows: $CDCl_3$ (7.26 ppm), CD_3OD (3.30 ppm) or D_2O (HOD (4.7015 ppm at 303 K, 4.5977 ppm at 313 K, 4.5541 ppm at 318 K, 4.5025 ppm at 323 K, 4.3168 ppm at 343 K)). ^{13}C NMR spectral data are reported as follows: $CDCl_3$ (77.1 ppm), CD_3OD (49.8 ppm) or D_2O (acetone-d_6 (30.3 ppm) as internal standard). NMR multiplicities are reported using the following abbreviations.
(s: singlet, d: doublet, t: triplet, q: quartet, m: multiplet, br: broad, *J*: coupling constants in Hertz.)

Infrared spectra (IR) were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum 1. Only the strongest and/or structurally important absorbances are reported as the IR data given in cm^{-1}.

Optical rotations were measured on a JASCO model P-1020 polarimeter.

The reactions were monitored by thin layer chromatography carried out on Merck precoated TLC plates (60F-254) using UV light and *p*-anisaldehyde H_2SO_4 ethanol solution or 10% ethanolic phosphomolybdic acid.

Column chromatography separations were performed using silica gel (Merck, silica gel). Flash column chromatography separations were performed using silica gel (KANTO, silica gel 60 N, spherical, neutral, 40-100 um).

High performance liquid chromatography (HPLC) for qualitative and quantitative anlysis were performed on a Gilson 506C system using a SHODEX ODS column (4.6 × 250 mm).

Gel permeation chromatography (GPC) for qualitative analysis were performed on Japan Analytical Industry Model LC908 (recycling preparative HPLC) using a polystylene gel column (JAIGEL-1H, 20 mm × 600 mm). Detection of products was made by UV detector (Japan Analytical Industry Model 310) and refractive index detector (Japan Analytical Industry Model RI-5).

ESI-TOF Mass spectra were measured with AppliedBioSystems Mariner TK-3500 Biospectrometry Workstation mass spectrometers and Waters LCT Premier^{TM} XE. HRMS(ESI-TOF) were calibrated with angiotensin I (SIGMA), bradykinin (SIGMA), and neurotensin (SIGMA) as an internal standard.

Dry THF, dry hexane, dry toluene and dry Et_2O were distilled from sodium wire contained with a catalytic amount of benzophenone. Dry dichloromethane was distilled from P_2O_5. Dry DMF, dry triethylamine and dry EDA were distilled from CaH_2. Dry methanol and dry ethanol were distilled from magnesium contained with a catalytic amount of iodine. *N*-iodosuccinimide was recrystallized from CCl_4-1,4 dioxane. Pulverized MS4A was activated by heating at 350 ˚C for 8 h.

H-Cube™ (THALES Nanotechnology) for hydrogenation was performed using a CatCart® holder (THALES Nanotechnology, 10% Pd/C, THS01111).

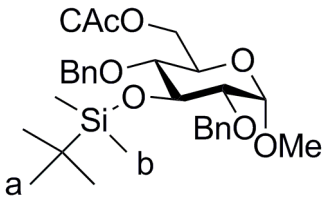
Scanning electron microscopy (SEM) was performed on a SHIMAZU SS-550.

Experimental Section

Methyl 2,4-di-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*O*-chloroacetyl-α-D-glucopyranoside (2-21)

To a stirred solution of methyl 2,4-di-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-α-D-glucopyranoside (**2-20**) (115 mg, 0.235 mmol, 1.00 eq.) in dry CH_2Cl_2 (2.30 mL) was added chloroacetyl chloride (22.5 μL, 0.282 mmol, 1.20 eq.) and pyridine (28.6 μL, 0.353 mmol, 1.50 eq.) at 0 ˚C. After being stirred at room temperature for 13 h, the reaction mixture was poured into water. The aqueous layer was extracted with two portions of Et_2O. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane : ethyl acetate 90 : 10 to give methyl 2,4-di-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*O*-chloroacetyl-α-D-glucopyranoside (**2-21**) (123 mg, 0.217 mmol, 92%).

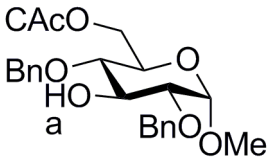
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.30-7.39 (m, 10H, aromatic), 4.91 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.6 Hz), 4.78 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.53 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.6 Hz), 4.51 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.42 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 2.4 Hz, J_{gem} = 11.6 Hz), 4.18 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 11.6 Hz), 4.06 (dd, 1H, H-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 4.00 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 15.0 Hz), 3.95 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 15.0 Hz), 3.78 (ddd, 1H, H-5, $J_{4,5}$ = 10.1 Hz, $J_{5,6a}$ = 2.4 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz), 3.32 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz, $J_{4,5}$ = 10.1 Hz), 3.31 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 3.28 (s, 3H, OMe), 0.98 (s, 9H, a), 0.16 (s, 3H, b), 0.11 (s, 3H, b').



Methyl 2,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-chloroacetyl-α-D-glucopyranoside (2-5)

To a stirred solution of methyl 2,4-di-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*O*-chloroacetyl-α-D-glucopyranoside (**2-21**) (35.8 mg, 63.3 μmol, 1.00 eq.) in acetonitrile (0.600 mL) was added 40% aq. hydrogen fluoride (10.0 μL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane : ethyl acetate 80 : 20 to give methyl 2,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-chloroacetyl-α-D-glucopyranoside (**2-5**) (24.1 mg, 53.4 μmol, 84%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.29-7.37 (m, 10H, aromatic), 4.91 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.70 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.67 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.66 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.59 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz), 4.36 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 2.4 Hz, J_{gem} = 11.6 Hz), 4.32 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 11.6 Hz), 4.10 (dd, 1H, H-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 4.00 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 15.0 Hz), 3.93 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 15.0 Hz), 3.80 (ddd, 1H, H-5, $J_{4,5}$ = 10.1 Hz, $J_{5,6a}$ = 2.4 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz), 3.40 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz, $J_{4,5}$ = 10.1 Hz), 3.35 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 3.32 (s, 3H, OMe), 2.56 (br-s, 1H, a).

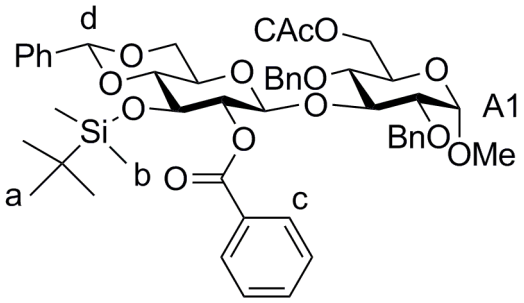


Methyl 2,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-chloroacetyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethyl silyl-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (2-6)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (**2-4**) (69.6 mg, 0.120 mmol, 2.00 eq.), methyl 2,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-chloroacetyl-α-D-gluco pyranoside (**2-5**) (27.0 mg, 60.1 μmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (120 mg) in dry CH_2Cl_2 (1.00 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (32.5 mg, 0.144 mmol, 2.40 eq.) and TfOH (0.500 μL, 6.00 μmol, 0.100 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane : ethyl acetate 80 : 20 to give methyl 2,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-chloroacetyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyl dimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**2-6**) (40.0 mg, 43.5 μmol, 72%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.08 (d, 2H, c, J = 7.2 Hz), 7.11-7.57 (m, 18H, aromatic), 5.52 (s, 1H, d), 5.34 (dd, 1H, H-B2, $J_{B1,B2}$ = 8.2 Hz, $J_{B2,B3}$ = 8.7 Hz), 5.27 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 8.2 Hz), 5.03 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.63 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.60 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-B6b, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.33 (dd, 1H, H-A3, $J_{A2,A3}$ = 9.2 Hz, $J_{A3,A4}$ = 8.7 Hz), 4.25 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 3.4 Hz), 4.22-4.30 (m, 2H, H-A6a, H-A6b), 4.18 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.06 (dd, 1H, H-B3, $J_{B2,B3}$ = 8.7 Hz, $J_{B3,B4}$ = 9.2 Hz), 3.95 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 15.0 Hz), 3.88 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 15.0 Hz), 3.73 (ddd, 1H, H-A5, $J_{A4,A5}$ = 10.1 Hz, $J_{A5,A6a}$ = 2.4 Hz, $J_{A5,A6b}$ = 4.3 Hz), 3.67 (dd, 1H, H-B6a, $J_{B5,B6a}$ = 10.1

Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.62 (dd, 1H, H-B4, $J_{B3,B4}$ = 9.2 Hz, $J_{B4,B5}$ = 9.7 Hz), 3.48 (ddd, 1H, H-B5, $J_{B4,B5}$ = 9.7 Hz, $J_{B5,B6a}$ = 10.1 Hz, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz), 3.35 (dd, 1H, H-A4, $J_{A3,A4}$ = 8.7 Hz, $J_{A4,A5}$ = 10.1 Hz), 3.24 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 3.4 Hz, $J_{A2,A3}$ = 9.2 Hz), 3.23 (s, 3H, OMe), 0.69 (s, 9H, a), -0.02 (s, 3H, b), -0.11 (s, 3H, b).



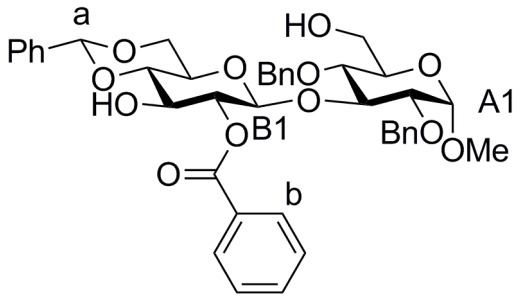
Methyl 2,4-di-*O*-benzyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (2-7)

To a stirred solution of methyl 2,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-chloroacetyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**2-6**) (40.0 mg, 43.5 μmol, 1.00 eq.) in dry DMF (1.00 mL) was added thiourea (16.6 mg, 0.218 mmol, 5.00 eq.) and 2,6-lutidine (25.0 μL, 0.218 mmol, 5.00 eq.) at room temperature. After being stirred at 70 ˚C for 28 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with water, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in pyridine (0.440 mL) was added HF･pyridine (43.5 μL) at room temperature. After being stirred at 60 ˚C for 12 h, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$ at 0 ˚C. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane : ethyl acetate 50 : 50 to give methyl 2,4-di-*O*-benzyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**2-7**) (25.7 mg, 35.3 μmol, 2 steps 81%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.09 (d, 2H, b, J = 7.2 Hz), 7.11-7.58 (m, 18H, aromatic), 5.54 (s, 1H, a), 5.28-5.33 (m, 2H, H-B1, H-B2), 5.04 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.65 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.62 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-A3, $J_{A2,A3}$ = 9.2 Hz, $J_{A3,A4}$ = 8.7 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-B6b, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.28 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 3.4 Hz), 4.23 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.09 (dd, 1H, H-B3, $J_{B2,B3}$ = 8.7 Hz, $J_{B3,B4}$ = 9.2 Hz), 3.62-3.73 (m, 4H, H-B4, H-A6a, H-A6b, H-B6a), 3.58 (ddd, 1H, H-A5, $J_{A4,A5}$ = 9.7 Hz, $J_{A5,A6a}$ = 2.9 Hz, $J_{A5,A6b}$ = 3.4 Hz), 3.50 (ddd, 1H, H-B5, $J_{B4,B5}$ = 9.7 Hz, $J_{B5,B6a}$ = 9.7

Hz, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz), 3.44 (dd, 1H, H-A4, $J_{A3,A4}$ = 8.7 Hz, $J_{A4,A5}$ = 9.7 Hz), 3.28 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 3.4 Hz, $J_{A2,A3}$ = 9.2 Hz), 3.24 (s, 3H, OMe).

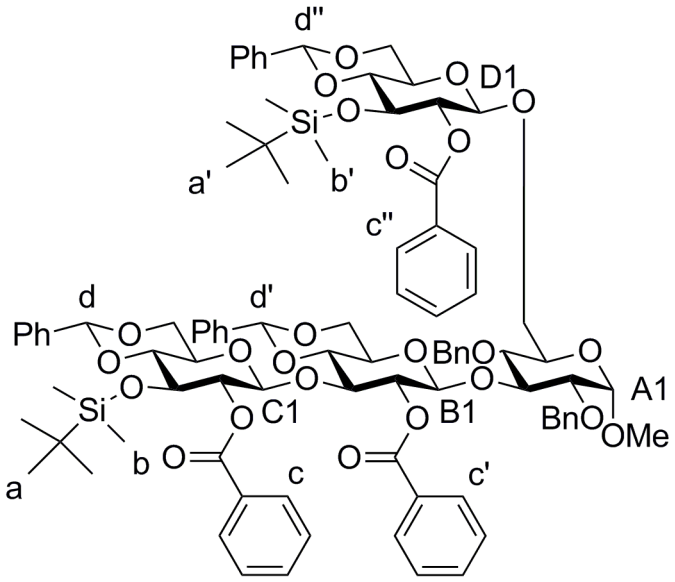


Methyl 2,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (2-8)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (**2-4**) (59.1 mg, 0.102 mmol, 3.00 eq.), methyl 2,4-di-*O*-benzyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**2-7**) (24.8 mg, 34.0 μmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (68.0 mg) in dry CH_2Cl_2 (1.00 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (27.6 mg, 0.123 mmol, 3.60 eq.) and TfOH (0.300 μL, 3.40 μmol, 0.100 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at 0 ˚C for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane : ethyl acetate 75 : 25 and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give methyl 2,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyl dimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylid ene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**2-8**) (39.7 mg, 23.8 μmol, 74%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.00 (d, 2H, c or c' or c'', J = 7.2 Hz), 7.85 (d, 2H, c or c' or c'', J = 7.2 Hz), 7.71 (d, 2H, c or c' or c'', J = 7.2 Hz), 6.94-7.56 (m, 34H, aromatic), 5.51 (s, 1H, d or d' or d''), 5.42 (s, 1H, d or d' or d''), 5.31 (s, 1H, d or d' or d''), 5.23 (dd, 1H, H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 5.20 (dd, 1H, H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.2 Hz), 5.18 (dd, 1H, H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.2 Hz), 5.11 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.88 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or

H-D1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.58 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.55 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.31 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.6 Hz), 4.31 (dd, 1H, H-B6b or H-C6b or H-D6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.25 (dd, 1H, H-B6b or H-C6b or H-D6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.17 (dd, 1H, H-B6b or H-C6b or H-D6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.13 (dd, 1H, H-B3 or H-C3 or H-D3, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 4.08 (dd, 1H, H-A3, $J_{A2,A3}$ = 9.7 Hz, $J_{A3,A4}$ = 9.2 Hz), 4.04 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 3.4 Hz), 4.03 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 11.1 Hz), 3.97-4.03 (m, 2H, H-B3 or H-C3 or H-D3, H-A6b), 3.90 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.6 Hz), 3.86 (dd, 1H, H-B3 or H-C3 or H-D3, $J_{2,3}$ = 8.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 3.78 (dd, 1H, H-B6a or H-C6a or H-D6a, $J_{5,6a}$ = 10.1 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.73 (dd, 1H, H-B6a or H-C6a or H-D6a, $J_{5,6a}$ = 9.7 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.69 (dd, 1H, H-B4 or H-C4 or H-D4, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.60 (dd, 1H, H-B4 or H-C4 or H-D4, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.59 (dd, 1H, H-B4 or H-C4 or H-D4, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.52-3.56 (m, 2H, H-A5, H-A6a), 3.34-3.47 (m, 4H, H-B5, H-C5, H-D5, H-B6a or H-C6a or H-D6a), 3.08 (dd, 1H, H-A4, $J_{A3.A4}$ = 9.2 Hz, $J_{A4.A5}$ = 9.7 Hz), 3.01 (s, 3H, OMe), 2.96 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 3.4 Hz, $J_{A2,A3}$ = 9.7 Hz), 0.69 (s, 9H, a or a'), 0.60 (s, 9H, a or a'), -0.05 (s, 3H, b or b'), -0.12 (s, 3H, b or b'), -0.15 (s, 3H, b or b'), -0.29 (s, 3H, b or b').



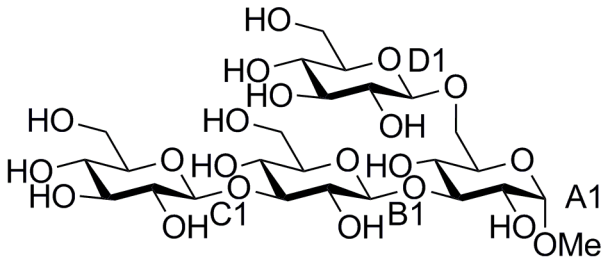
Methyl 6-*O*-β-D-glucopyranosyl-3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (2-3)

To a stirred solution of methyl 2,4-di-*O*-benzyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**2-8**) (26.9 mg, 16.1 μmol, 1.00 eq.) in THF (0.800 mL) was added 1 M THF solution of

tetrabutylammonium fluoride (0.100 mL) at room temperature. After being stirred at 50 ˚C for 12 h, the reaction mixture was cooled to room temperature. Then, methanol (0.800 mL) and sodium methoxide (10.0 mg) were added to the reaction mixture. After being stirred at room temperature for 2 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X at room temperature. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with chloroform : methanol 97 : 3. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in methanol (1.20 mL), water (0.200 mL) and ethyl acetate (0.600 mL) was added $Pd(OH)_2$ (35.0 mg). The reaction mixture was hydrogenolyzed for 12 h under H_2 gas atmosphere at room temperature. The reaction mixture was filtered, and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with methanol : water 10 : 90 to give methyl 6-*O*-β-D-glucopyranosyl-3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**2-3**) (5.40 mg, 7.93 μmol, 2 steps 49%).

$[\alpha]_D^{28}$ +25.3 ˚ (*c* 0.260, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O, 40 ˚C): δ 4.79 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 3.4 Hz), 4.72 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.71 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.47 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.14 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 1.9 Hz, J_{gem} = 11.6 Hz), 3.88-3.91 (m, 4H, H-A6a, H-B6b, H-C6b, H-D6b), 3.87 (dd, 1H, H-A3, $J_{A2,A3}$ = 9.7 Hz, $J_{A3,A4}$ = 9.2 Hz), 3.67-3.83 (m, 6H, H-A2, H-B3 or H-C3 or H-D3, H-A5, H-B6a, H-C6a, H-D6a), 3.59 (dd, 1H, H-A4, $J_{A3,A4}$ = 9.2 Hz, $J_{A4,A5}$ = 8.7 Hz), 3.36-3.55 (m, 11H, H-B2 or H-C2 or H-D2, H-B3 or H-C3 or H-D3, H-B4, H-C4, H-D4, H-B5, H-C5, H-D5, OMe), 3.33 (dd, 1H, H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz), 3.29 (dd, 1H, H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O, 30 ˚C): δ (103.6x2, 103.4, 100.1 (anomeric)), 85.2, 83.0, 76.8, 76.7, 76.5, 76.4x2, 74.3, 74.0, 73.9, 71.6, 71.3, 70.5, 70.4, 69.3, 68.9, 68.6, 61.6, 61.5x2, 56.1; IR (solid): 3722, 2877, 1577, 1461, 1040, 914, 762, 581 cm^{-1}; LRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{25}H_{44}O_{21}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 681.25, found: 681.28.



Benzyl 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (2-10)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-6-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (**2-22**) (236 mg, 0.347 mmol, 1.00 eq.), benzylalcohol (0.360 mL, 3.47 mmol, 10.0 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (521 mg) in dry CH_2Cl_2 (3.50 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (156 mg, 0.694 mmol, 2.00 eq.) and TfOH (21.5 μL, 0.243 mmol, 0.700 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at 0 ˚C for 3 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with toluene : ethyl acetate 93 : 7. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of part of the residue (0.272 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (1.00 mL) was added HF･pyridine (0.100 mL) at room temperature. After being stirred at 60 ˚C for 12 h, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane : ethyl acetate 60 : 40 to give benzyl 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-6-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (**2-9**) (76.2 mg, 0.135 mmol, 2 steps 50%).

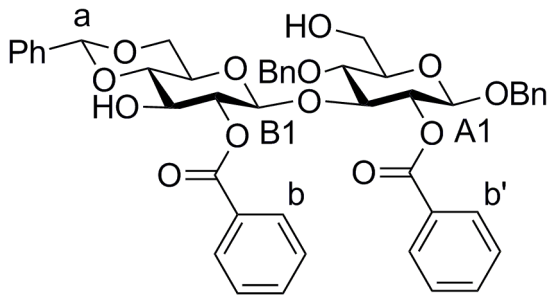
A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (**2-4**) (156 mg, 0.270 mmol, 2.00 eq.), benzyl 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-6-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (**2-9**) (76.2 mg, 0.135 mmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (270 mg) in dry CH_2Cl_2 (2.70 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (72.9 mg, 0.324 mmol, 2.40 eq.) and TfOH (8.36 μL, 94.5 μmol, 0.700 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at 0 ˚C for 2 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in pyridine (1.00 mL) was added HF･pyridine (0.100 mL) at room temperature. After being stirred at 60 ˚C for 12 h, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in*

vacuo. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in dry THF (2.00 mL) was added hydrazine monohydrate (0.200 mL) and acetic acid (0.500 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 15 min, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane : ethyl acetate 60 : 40 and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give benzyl 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**2-10**) (94.4 mg, 0.115 mmol, 3 steps 85%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.93 (d, 2H, b or b', J = 6.8 Hz), 7.87 (d, 2H, b or b', J = 7.2 Hz), 7.04-7.68 (m, 21H, aromatic), 5.50 (s, 1H, a), 5.22 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz, $J_{A2,A3}$ = 9.2 Hz), 5.14 (dd, 1H, H-B2, $J_{B1,B2}$ = 7.7 Hz, $J_{B2,B3}$ = 9.2 Hz), 5.01 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.93 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 7.7 Hz), 4.73 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.6 Hz), 4.63 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.52 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 12.6 Hz), 4.50 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz), 4.33 (dd, 1H, H-B6b, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.27 (dd, 1H, H-A3, $J_{A2,A3}$ = 9.2 Hz, $J_{A3,A4}$ = 8.7 Hz), 3.86 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 2.9 Hz, J_{gem} = 12.1 Hz), 3.81 (dd, 1H, H-B3, $J_{B2,B3}$ = $J_{B3,B4}$ = 9.2 Hz), 3.70 (dd, 1H, H-A6a, $J_{A5,A6a}$ = 4.3 Hz, J_{gem} = 12.1 Hz), 3.66 (dd, 1H, H-A4, $J_{A3,A4}$ = 8.7 Hz, $J_{A4,A5}$ = 9.7 Hz), 3.61 (dd, 1H, H-B6a, $J_{B5,B6a}$ = 10.6 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.58 (dd, 1H, H-B4, $J_{B3,B4}$ = 9.2 Hz, $J_{B4,B5}$ = 9.7 Hz), 3.42 (ddd, 1H, H-A5, $J_{A4,A5}$ = 9.7 Hz, $J_{A5,A6a}$ = 2.9 Hz, $J_{A5,A6b}$ = 4.3 Hz), 3.37 (ddd, 1H, H-B5, $J_{B4,B5}$ = 9.7 Hz, $J_{B5,B6a}$ = 10.6 Hz, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz).

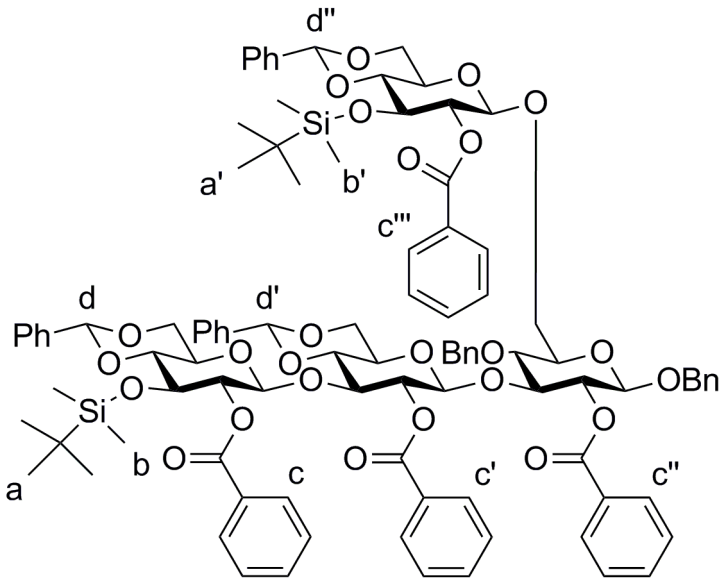


Benzyl 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (2-11)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (**2-4**) (160 mg, 0.276 mmol, 2.40 eq.), benzyl 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**2-10**) (94.4 mg, 0.115 mmol, 1.00 eq.)

(azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (230 mg) in dry CH_2Cl_2 (2.30 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (74.5 mg, 0.331 mmol, 2.88 eq.) and TfOH (5.00 μL, 57.5 μmol, 0.500 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at -30 ˚C for 40 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with toluene : ethyl acetate 95 : 5 and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give benzyl 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**2-11**) (133 mg, 75.5 μmol, 68%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.99 (d, 2H, c or c' or c'' or c''', J = 7.2 Hz), 7.77 (d, 2H, c or c' or c'' or c''', J = 7.2 Hz), 7.71 (d, 2H, c or c' or c'' or c''', J = 7.2 Hz), 7.64 (d, 2H, c or c' or c'' or c''', J = 7.2 Hz), 6.90-7.57 (m, 37H, aromatic), 5.53 (s, 1H, d or d' or d''), 5.39 (s, 1H, d or d' or d''), 5.25 (dd, 1H, H-A2 or H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 5.16 (dd, 1H, H-A2 or H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.2 Hz), 5.11 (s, 1H, d or d' or d''), 5.07 (dd, 1H, H-A2 or H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 7.2 Hz, $J_{2,3}$ = 6.8 Hz), 4.84 (dd, 1H, H-A2 or H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.2 Hz), 4.76-4.80 (m, 3H, H-A1 or H-B1 or H-C1 or H-D1x3), 4.67 (d, 1H, H-A1 or H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.33-4.37 (m, 2H, H-A6b or H-B6b or H-C6b or H-D6b, Bn), 4.30 (d, 1H, Bn, J_{gem} = 13.0 Hz), 4.11-4.22 (m, 5H, H-A6b or H-B6b or H-C6b or H-D6b, Bn), 3.93-4.07 (m, 4H, H-A3, H-B3, H-C3, H-D3), 3.28-3.83 (m, 12H, H-A4, H-B4, H-C4, H-D4, H-A5, H-B5, H-C5, H-D5, H-A6a, H-B6a, H-C6a, H-D6a), 0.69 (s, 9H, a or a'), 0.59 (s, 9H, a or a'), -0.06 (s, 3H, b or b'), -0.15 (s, 3H, b or b'), -0.17 (s, 3H, b or b'), -0.30 (s, 3H, b or b'); LRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{99}H_{110}O_{25}Si_2$ $[M+NH_4]^+$ m/z = 1773.73, found: 1773.64.

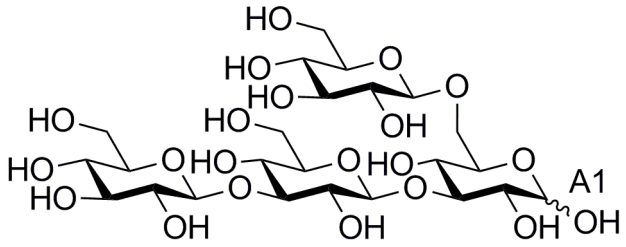

d''
Ph
O
O
O
O
Si
O
O
a'
b'
O
c'''
d
d'
Ph
Ph
O
O
O
O
O
O
BnO
O
OBn
Si
O
O
O
a
b
O
c
O
c'
O
c''

6-*O*-β-D-Glucopyranosyl-3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-α- and -β-D-glucopyranose (2-1)

To a stirred solution of benzyl 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**2-11**) (43.7 mg, 24.9 μmol, 1.00 eq.) in THF (2.00 mL) was added 1 M THF solution of tetrabutylammonium fluoride (0.200 mL) at room temperature. After being stirred at 50 ˚C for 12 h, the reaction mixture was cooled to room temperature. Then, methanol (2.00 mL) and sodium methoxide (20.0 mg) were added to the reaction mixture. After being stirred at room temperature for 1.5 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X at room temperature. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with chloroform : methanol 98 : 2. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in methanol (3.00 mL), water (0.500 mL) and ethyl acetate (1.50 mL) was added $Pd(OH)_2$ (32.8 mg). The reaction mixture was hydrogenolyzed for 12 h under H_2 gas atmosphere. The reaction mixture was filtered, and the filtrate was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with water to give 6-*O*-β-D-glucopyranosyl-3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-α- and -β-D-glucopyranose (**2-1**) (14.5 mg, 21.8 μmol, 2 steps 88%).

$[\alpha]_D^{28}$ +3.60 ˚ (*c* 0.295, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O, 70 ˚C): δ 5.23 (d, 1H, H-A1α, $J_{A1,A2}$ = 3.9 Hz), 4.76 (d, 1H, H-A1β or H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.75 (d, 1H, H-A1β or H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.73 (d, 1H, H-A1β or H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.67 (d, 1H, H-A1β or H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 3.29-4.52 (m); IR (solid): 3434, 3612, 2878, 1596, 1459, 1040, 897, 773, 620 cm^{-1}; LRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{24}H_{42}O_{21}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 667.23, found: 667.26.

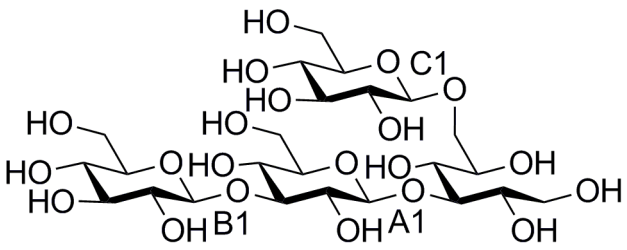


6-*O*-β-D-glucopyranosyl-3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-D-glucitol (2-2)

To a stirred solution of 6-*O*-β-D-glucopyranosyl-3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-

glucopyranosyl-α- and -β-D-glucopyranose (**2-1**) (6.60 mg, 9.90 μmol, 1.00 eq.) in water (1.00 mL) was added a solution of sodiumborohydride (10.0 mg) in water (1.00 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1.5 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X at room temperature. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with water to give 6-*O*-β-D-glucopyranosyl-3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-D-glucitol (**2-2**) (5.80 mg, 8.67 μmol, 88%).

$[\alpha]_D^{28}$ -16.5 ˚ (*c* 0.205, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O, 70 ˚C): δ 4.72 (d, 1H, H-A1 or H-B1 or H-C1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.67 (d, 1H, H-A1 or H-B1 or H-C1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.49 (d, 1H, H-A1 or H-B1 or H-C1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 3.30-4.16 (m, 26H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O, 24.3 ˚C): δ (102.9x2, 102.8 (anomeric)), 84.2, 78.4, 76.0, 75.9, 75.6x2, 75.3, 73.5, 73.2x2, 72.7, 71.1, 69.7x2, 69.6x2, 68.3, 62.0, 60.8x3; IR (solid): 3590, 2889, 2084, 1667, 1596, 1444, 1026, 901, 701, 545 cm^{-1}; LRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{24}H_{44}O_{21}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 669.25, found: 669.28.



第３章

β（１，３）グルカン糖鎖の合成法の開発

３－１　はじめに

２章では、本研究室保有の４から６糖からなる分岐βグルカン関連オリゴ糖鎖中より、デクチン１結合リガンドの探索を行った。しかしながら、目的とするリガンドの発見には至らなかった。序論において述べたように、天然のβ（１，３）グルカンの加水分解物の結果では、β（１，３）１０糖の糖鎖長以上がデクチン１との結合に必要であることが示唆されている。これらの結果を受けて、デクチン１との結合のためには前章よりも長い糖鎖長の糖鎖が必要であると考え、標的分子の検討を行うこととした。

３－２　標的分子の設定

天然βグルカン多糖がリガンドとしてデクチン１に結合するならば、結合に必要な糖鎖の大きさはデクチン１よりも小さいはずである。そこで、合成標的糖鎖を設計するにあたり、デクチン１の糖結合ユニットの分子サイズとβ（１，３）オリゴ糖の分子サイズを比較することとした。膜タンパク質であるデクチン１の構造は、X 線構造解析（Protein Data Bank: 2CL8）の結果をもとにした。また、β（１、３）グルカンオリゴ糖の構造は、分子力場計算（MacroModel Ver. 9.8 力場 OPLS-2005）用いて算出した安定立体配座をもとにした。デクチン１の最大幅は、約 5.9 nm であった（Figure 3-1）。一方、βグルカンは、約６グルコースユニットで一巻きの緩やかならせん構造を示した。この結果は、天然β（１，３）グルカンを用いた X 線構造解析による報告と良い一致を表している[1)]。長さの単純比較では、約１６グルコースユニット結合した直鎖βグルカンが、デクチン１と同等以上の長さを有することが明らかになった。そこで、本研究は、まず１６糖以下のβ（１，３）グルカンを合成標的分子とした。

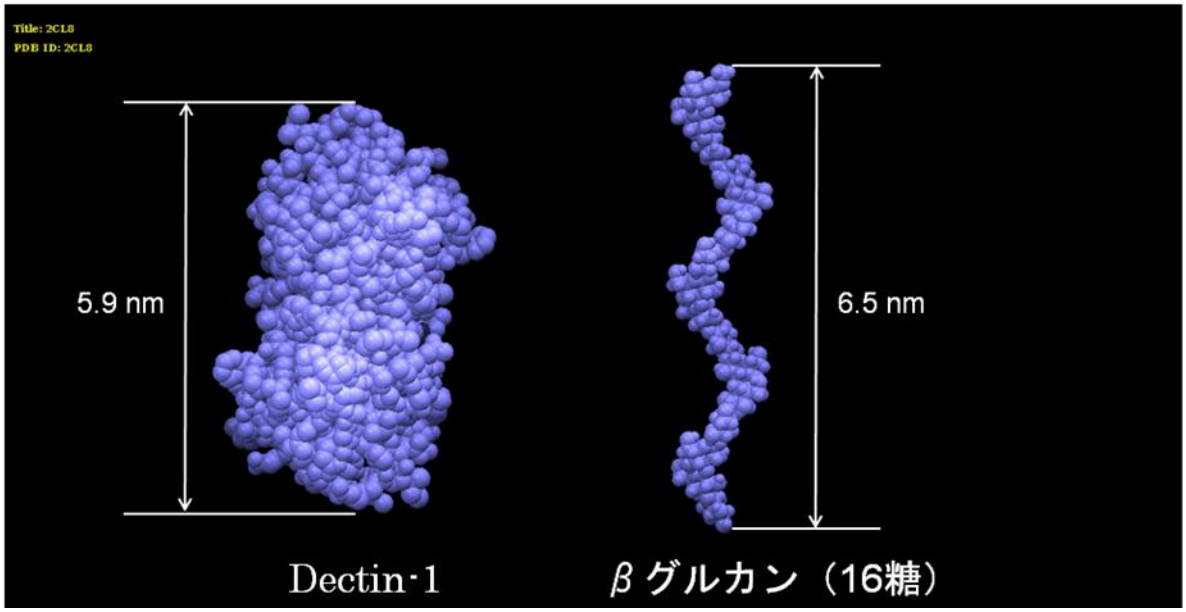


Figure 3-1

３－３　βグルカン直鎖１６糖の合成

このような大きな糖鎖の合成戦略としては、直線的および収束的合成法が考えられる。序論で述べたようにどちらの手法においても問題点を含んでいる。そこで、本研究では、それぞれの合成戦略に基づく合成法を検討することにした。

３－４　β（１，３）グルカン直鎖オリゴ糖の直線的合成法の開発

３－４－１　直線的合成戦略に基づく合成計画

標的糖鎖は、Vetvicka1 ら [2]の報告を参考にして、３位に化学選択的に脱保護可能な保護基を有する単糖糖供与体を用いて、グリコシル化－脱保護を繰り返すことによるβ（１，３）グルカン直鎖オリゴ糖を合成する（Figure 3-2)。４、６位の保護基であるベンジリデンは、３位遊離水酸基周辺の立体障害が比較的小さい保護基であるため、３位水酸基の糖受容体としての反応性の低下を抑えるために有効である。また、２位のベンゾイル保護基は、隣接基効果を利用したβ選択的グリコシル化に適している。本手法がどこまで大きな糖鎖を合成可能であるかを検証した。

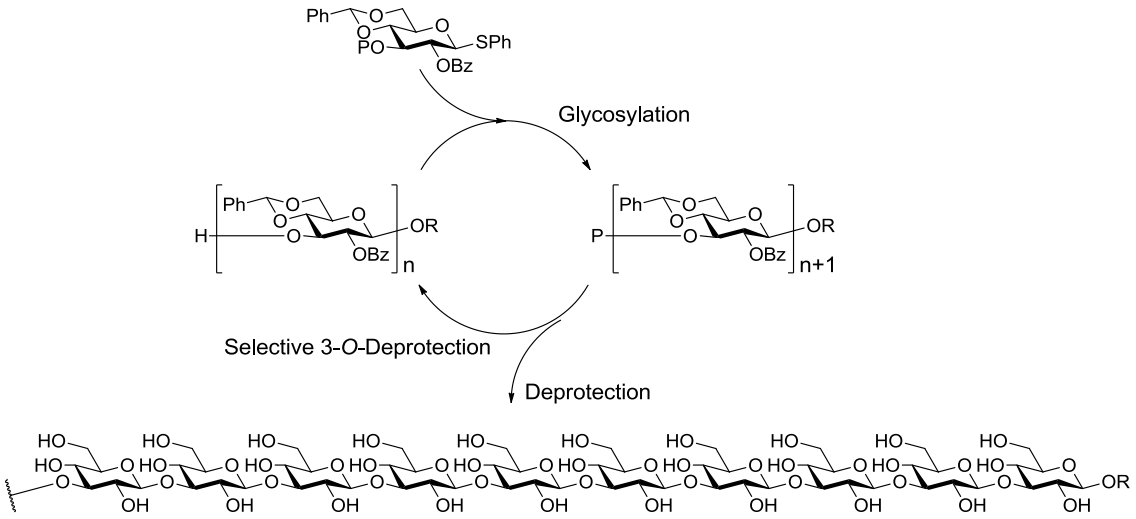
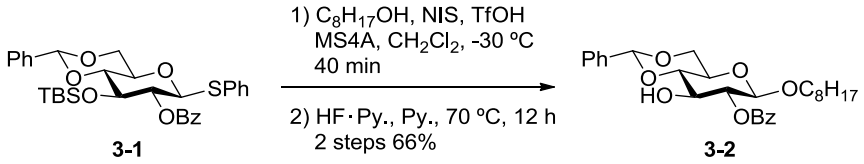


Figure 3-2

３－４－２　β（１，３）グルカン直鎖オリゴ糖の直線的合成

単糖糖受容体 **3-2** の合成を行った(Scheme 3-1)。３位水酸基に TBS 基を有するチオ糖 **3-1**[3](1.0 当量)とオクタノール(2.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(1.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃にて *N*-ヨードコハク酸イミド(以下 NIS、1.2 当量)、

トリフルオロメタンスルホン酸（以下 TfOH、0.30 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。-30 ℃において反応は速やかに進行し、後処理を行った。続いて、ピリジン溶媒中フッ化水素酸／ピリジンを加え 70 ℃に加熱することで TBS 基を選択的に脱保護し、後処理、精製を行い、望む３位に水酸基を持つ単糖 **3-2** を２段階収率 66%で得た。生成物のアノマー位の立体化学は、アノマー位の水素の結合定数が 7.7 Hz であったことより、β体であると決定した[4]。



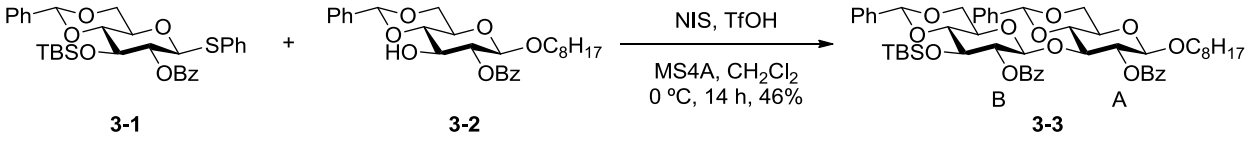
3-1 **3-2**

Scheme 3-1

	δ (ppm) (*J*, Hz)
compound	H-1 ($J_{1,2}$)
3-2	4.67 (7.7)

Table 3-1

２糖 **3-3** の合成を検討した(Scheme 3-2)。糖受容体 **3-2**(1.0 当量)と３位水酸基に TBS 基を有するチオ糖 **3-1**(1.2 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、NIS(1.44 当量)、TfOH(0.30 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。-40 ℃にて反応を開始し、反応を完結させるため 0 ℃まで昇温した。しかし、原料が消失する前に反応がほぼ停止したため、さらに TfOH(0.40 当量)を加えた。少しずつ反応は進行し、開始 14 時間後、TLC 上で糖供与体 **3-1** の消失を確認した。後処理、精製を行い、収率 46%で望むβグリコシド２糖 **3-3** を得た。β選択性は二つのアノマー位の水素の結合定数が 7.2 Hz であることより決定した(Table 3-2：還元末端糖を A、非還元末端糖を B とおく)。



3-1 **3-2** **3-3**

Scheme 3-2

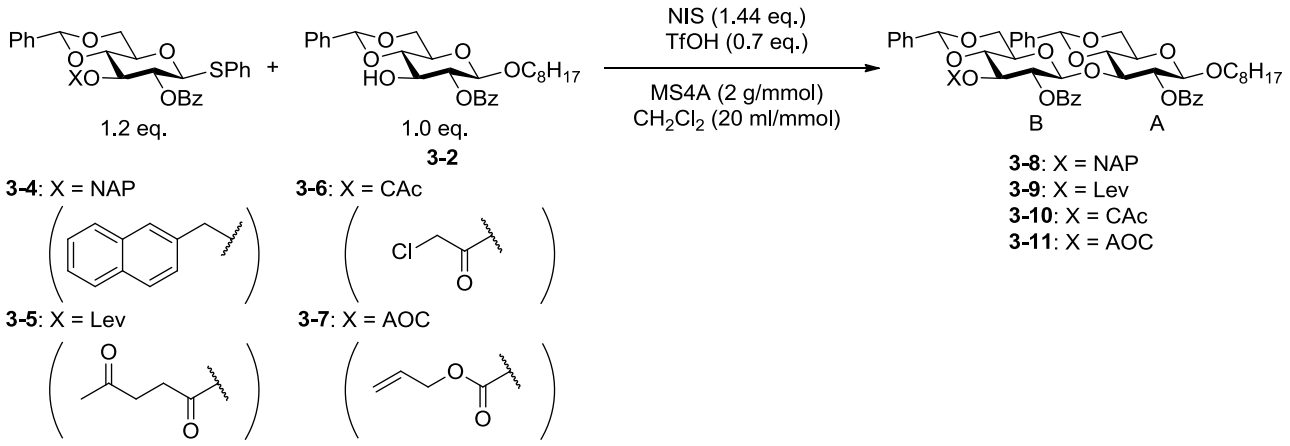
	δ (ppm) (*J*, Hz)	
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)
3-3	4.54 (7.2)	4.88 (7.2)

Table 3-2

３位に対するグリコシル化反応では、一級アルコールに対するグリコシル化反応よりも収率が低下した。そこで、次に、糖供与体の３位の保護基を変えてグルコシドの３位に対するグリコシル化反応の検討を行った。

糖供与体の３位の保護基として、化学選択的に脱保護できる 2-ナフチルメチル基（以下 NAP）と

レブリノイル基（以下 Lev）、クロロアセチル基（以下 CAc）、アリルオキシカルボニル基（以下 AOC）を用いてグリコシル化反応を行った（Scheme 3-3）。反応条件は温度、反応時間以外は先の２糖合成と同じ条件にて行った。糖受容体**3-2**（1.0 当量）とチオ糖を（**3-4**（X=NAP）、**3-5**（X=Lev）、**3-6**（X=CAc）、**3-7**（X=AOC））（1.2 当量）をジクロロメタン溶媒中（20 ml/mmol）、モレキュラーシーブス 4A（2.0 g/mmol）存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃にて NIS（1.44 当量）、TfOH（0.70 当量）によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。昇温して反応後、いずれも糖供与体の消失を確認した。後処理、精製を行い、２糖（**3-8**（X=NAP）、**3-9**（X=Lev）、**3-10**（X=CAc）、**3-11**（X=AOC））を β 選択的に得た（Table 3-3：括弧内は X=TBS 体 **3-1**）。生成物の立体化学は、アノマー位の水素の結合定数より確認した（Table 3-4）。結果を以下に示す。AOC 体は反応性ならびに収率も低く、高極性の分解物が主に生成した。この収率の低下は、反応に NIS を用いているため、AOC 基がヨウ素化されて分解した可能性が考えた。NAP 基を持つ糖供与体の活性化に対する反応性は、残りのエステル型糖供与体と比較して高かった。これは、NAP 基の電子供与性の影響であると考えた。しかしながら、収率そのものは、他の保護体と比較して変わらなかった。



Scheme 3-3

donor	temp. (ºC)	time (h)	yield (%)
3-4	0	5	41
3-5	0	14	47
3-6	0	14	43
3-7	-10	21	10
(3-1)	(0)	(14)	(46)

Table 3-3

	δ (ppm) (*J*, Hz)	
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)
3-8	4.53 (7.2)	4.88 (6.8)
3-9	4.53 (7.7)	4.93 (7.2)
3-10	4.54 (7.7)	4.95 (6.8)
3-11	4.54 (7.7)	4.95 (7.7)

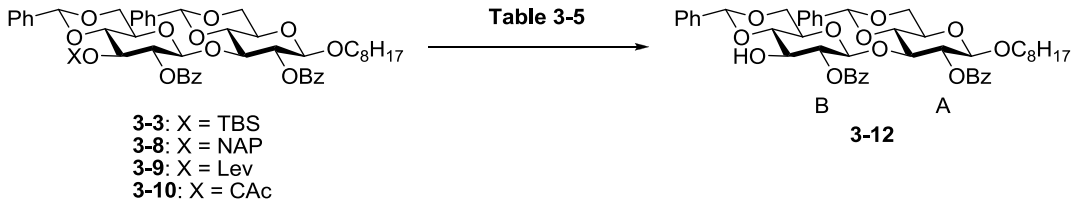
Table 3-4

次に、収率の低かった AOC 体 **3-11** を除く、２糖の３位の脱保護を検討した（Scheme 3-4, Table 3-5）。

・ TBS 基の脱保護はピリジン溶媒中、フッ化水素酸／ピリジンを加え 70 ℃に加熱することで行っ

た。その結果、脱保護体 **3-12** が、収率 67%で得られた。その際、わずかに、フッ化水素酸によりベンジリデンが外れたものと思われる化合物の生成が見られた。

- NAP 基の脱保護は 0 ℃でジクロロメタン溶媒中、DDQ と MeOH を加え、反応温度を室温まで昇温することによって行った。その結果、脱保護体 **3-12** の収率は、9%であった。TLC を用いる分析では、目的物よりも高極性化合物の生成が確認された。これは、反応後に DDQ が還元されて得られたヒドロキノンが酸触媒と働いたベンジリデンの加水分解反応や DDQ そのものによるベンジリデン基の酸化反応によるものと考えている。
- Lev 基の脱保護は THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて行った。脱保護反応は室温で速やかに進行し、脱保護体 **3-12** を 90%で得た。
- CAc 基の脱保護は DMF 溶媒中、チオウレア、ルチジンを加え 70 ℃で 2 時間加熱することで行った。その結果、脱保護体 **3-12** を 89%で得た。この結果より、比較的穏やかな条件かつ、速やかに脱保護の行える Lev 基を３位の保護基として採用することにした。



Scheme 3-4

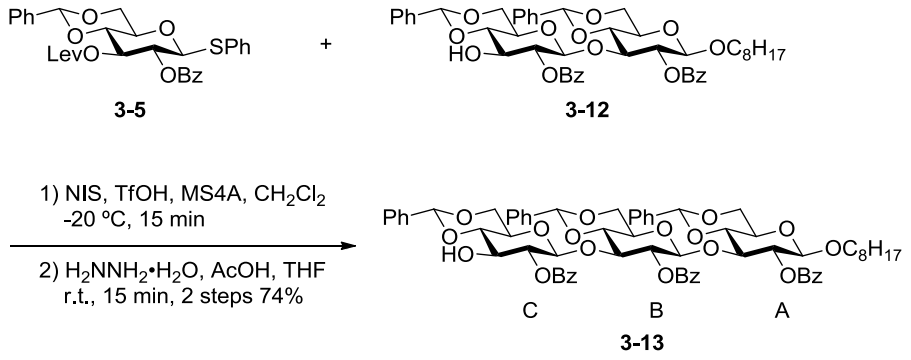
compound	reagent	temp. (ºC)	time	yield (%)
3-3(TBS)	HF·Py.	70	2 h	67
3-8(Nap)	DDQ, MeOH	r.t.	1 day	9
3-9(Lev)	H_2NNH_2, AcOH	r.t.	15 min	90
3-10(CAc)	H_2NCSNH_2, 2,6-lutidine	70	2 h	89

Table 3-5

直鎖３糖の合成を検討した(Scheme 3-5)。２糖受容体 **3-12**(1.0 当量)と３位に Lev 基を有するチオ糖 **3-5**(1.5 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃にて NIS(1.8 当量)、TfOH(0.30 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。-20 ℃に昇温したところ、２糖合成の時とは異なり、非常に速やかに反応が進行した。反応開始 15 分後、TLC 上で糖受容体 **3-12** の消失を確認した。後処理後、シリカゲル精製を用いて高極性成分を除いた。一般的に、長鎖のアルキル基を有する糖受容体は、その反応性が低いことが経験的に知られている。また、単純な脂肪鎖の一級アルコールに対するグリコリル化反応は低収率に留まることが多い。その理由は現在のところ明らかされていないが、筆者は、分子間での(糖)受容体同士の脂肪鎖による相互作用が原因であると考えている。続いて、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。その結果、目的物とする３糖 **3-13**

が、２段階収率 74%で得られた。

生成したアノマー位の立体化学を決定する目的で、３糖の NMR 解析を行った結果(Table 3-6：還元末端糖から A、B、C とおく)、新しく結合した C の糖の１位と２位の水素の結合定数は一般的なβ結合の値(7～12 Hz)であるが、間の糖である B の１位と２位のプロトンの結合定数が比較的小さくなっていることが明らかとなった(4.3 Hz)。また、B の糖のピラン部の水素の結合定数を調べた結果、２位と３位の結合定数も 3.9 Hz と小さい値であった (Table 3-7)。これは、１から３位に立体的嵩高い糖および、ベンゾイル基が結合したため、ピラン環がねじれ舟形配置をとるために、１位と２位のプロトンの結合定数が低下したためと考えている(Figure 3-3)*。ここでは、結合定数によるアノマー位の構造決定は暫定的なものとし、最終的には脱保護後に決定することとした。



Scheme 3-5

compound	δ (ppm) (*J*, Hz)		
	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)
3-13	4.45 (7.7)	4.94 (4.3)	5.11 (7.2)

Table 3-6

compound	*J* (Hz)			
	B1,B2	B2,B3	B3,B4	B4,B5
3-13	4.3	3.9	8.2	9.2

Table 3-7

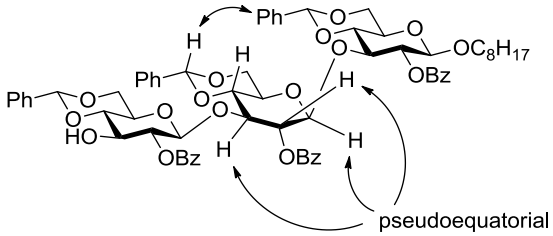
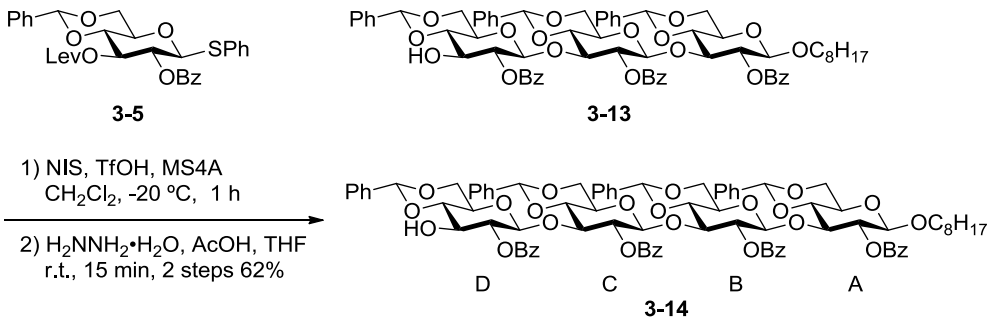


Figure 3-3

*) Vetvicka1 らは、４、６位にベンジリデン保護されたβ（１，３）結合糖鎖において、糖に挟まれた内部の糖の１位と２位のプロトンの結合定数が、末端糖と比べて低下することを報告している[1)]。また、Ensley らは、４、６位にベンジリデン保護されたβ（１，３）結合６糖の X 線構造解析に成功し、いくつかの内部糖ユニットがねじれ舟形配置をとることを確認している[5)]。彼らはベンジリデン保護基のプロトン（アセタールのプロトン）と隣接する糖のベンジリデン保護基の芳香環が非常に接近していることを報告している（Figure 3-3、約３Å)。

直鎖４糖の合成を検討した(Scheme 3-6)。３糖受容体 **3-13**(1.0 当量)と３位に Lev 基を有するチオ糖 **3-5**(2.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃にて NIS(2.4 当量)、TfOH(0.30 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。反応を完結させるため-20 ℃まで昇温した。1 時間後、TLC 上で糖受容体 **3-13** の消失を確認し、後処理を行った。粗生成物の TLC 分析によると、糖受容体 **3-13** 由来と思われる副生成物の生成が確認できたので、シリカゲルを用いて除去した。非常に微量であるため、単離構造決定までは至らなかった。２章でβ（１，６）２糖とベンジルアルコールとのグリコシル化反応において、２位のベンゾイル基が３位に転位した化合物が見られていたため、今回の反応においても転位が起こった化合物が得られた可能性がある。続いて、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。脱保護反応は、室温下速やかに進行し、４糖 **3-14** を２段階収率 62%で得た。アノマー位の水素の結合定数により構造決定を試みたが、スペクトルの分離が十分でないため、3 つのアノマー位しか結合定数を明らかにすることが出来なかった(Table 3-8：還元末端糖から A、B、C、D とおく。B と C（内部の糖）は順不同)。また、その際、内部と思われる糖のアノマー位の結合定数は、３糖と同様に小さくなっていることが明らかとなった。アノマー位の構造決定は、脱保護後行うこととした。



Scheme 3-6

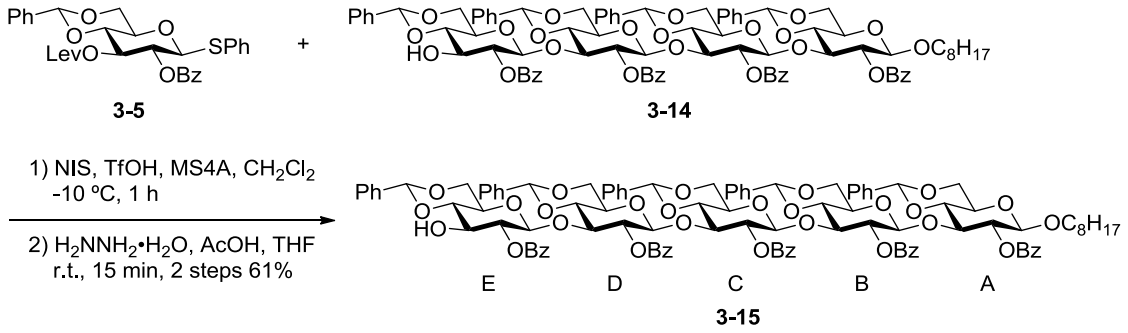
	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)
3-14	4.46 (8.2)	ND	4.97 (4.8)	5.06 (7.2)

ND: not determined

Table 3-8

次に、５糖の合成を行った(Scheme 3-7)。４糖受容体 **3-14**(1.0 当量)と３位に Lev 基を有するチオ糖 **3-5**(2.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃にて NIS(2.4 当量)、TfOH(0.30 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。反応を完結させるため-10 ℃まで昇温した。1 時間後、TLC

上で糖受容体 **3-14** の消失を確認し、後処理を行った。このとき、糖受容体 **3-14** の２位のベンゾイル基が３位に転位したと思われる化合物が微量見られ、シリカゲル精製にて分離した。続いて、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。脱保護反応は、室温下速やかに進行し、５糖 **3-15** を２段階収率 61％で得た。アノマー位の水素の結合定数により構造決定を試みたが、スペクトルの分離が十分でないため、３つのアノマー位しか結合定数を明らかにすることが出来なかった。また、その際、内部と思われる糖のアノマー位の結合定数は、３糖と同様に小さくなっていることが明らかとなった(Table 3-9：還元末端糖から A、B、C、D、E とおく。B と C、D（内部の糖）は順不同)。アノマー位の構造決定は、脱保護後行うこととした。



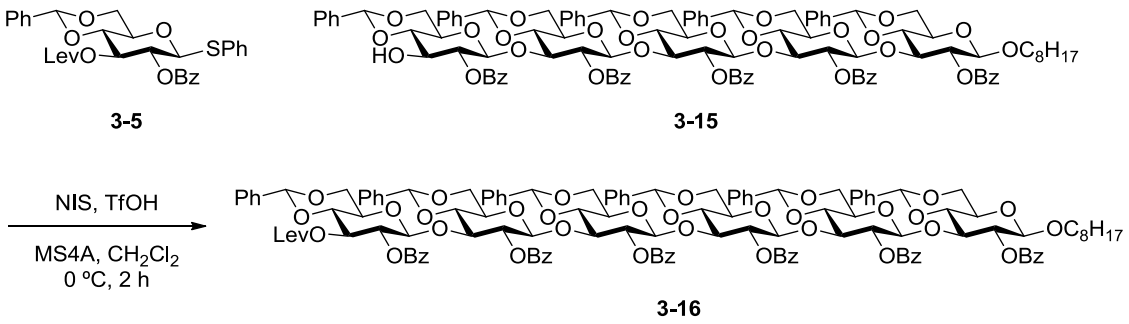
Scheme 3-7

compound	δ (ppm) (*J*, Hz)				
	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)	H-E1 ($J_{1,2}$)
3-15	4.44 (7.7)	ND	ND	4.98 (4.8)	5.11 (7.2)

ND: not determined

Table 3-9

次に、６糖の合成を検討した(Scheme 3-8)。５糖受容体 **3-15**(1.0 当量)と３位に Lev 基を有するチオ糖 **3-5**(2.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃にて NIS(2.4 当量)、TfOH(0.30 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。反応を完結させるため 0 ℃まで昇温した。2 時間後、TLC 上で糖受容体 **3-15** の消失を確認し、後処理を行った。このとき、糖受容体 **3-15** の２位のベンゾイル基が３位に転位したと思われる副生成物が見られ、シリカゲル精製にて分離を試みたが、主生成物と極性が非常に近く分離困難だった。脱保護後に生成を試みることとした。



Scheme 3-8

３－４－３　まとめ

単糖糖供与体を用いるβ（１，３）グルカン糖鎖の合成を検討した。糖受容体の大きさが大きくなるほど収率は低下するものの、適切な保護基を有する単糖糖供与体を用いた結果、十分な転嫁率でグリコシル化反応が進行することを明らかにした。しかしながら、６糖合成では、５糖糖受容体由来の副生成物と６糖生成物との分離精製が困難となってしまった。これらの結果より、直線的合成戦略に基づく糖鎖合成は断念し、収束的合成法の開発を検討することとした。

３－５　β（１，３）グルカン直鎖オリゴ糖の収束的合成法の開発

３－５－１　収束的合成戦略に基づく合成計画

１６糖メチルグリコシド体 3-17 を標的とし、８糖糖供与体 3-18、および、３位に遊離水酸基を有する８糖糖受容体 3-19 のグリコシル化反応、続く脱保護反応を行うことで合成する（Figure 3-4)。８糖 3-18、3-19 は４糖供与体 3-20 と３位に遊離水酸基を有する４糖受容体 3-21 とのグリコシル化反応、続く官能基変換で合成できると考えた。同様に、４糖 3-20、3-21 は２糖供与体 3-22 と２糖受容体 3-23 から、２糖 3-22、3-23 は単糖供与体 3-24 と単糖受容体 3-25 からそれぞれ得られると考えた。比較的大きなユニットの結合による糖鎖合成では、ゲルろ過カラムを用いることにより比較的容易に生成物と原料との分離が可能であると考えた。しかしながら、大きな糖鎖ブロックを二級水酸基に対するグリコシル化によって伸長していく本手法には、糖受容体および糖供与体の反応性の低下による問題が予想される。そこで、より３位水酸基の反応性の高い糖受容体の設計を行なうこととした。

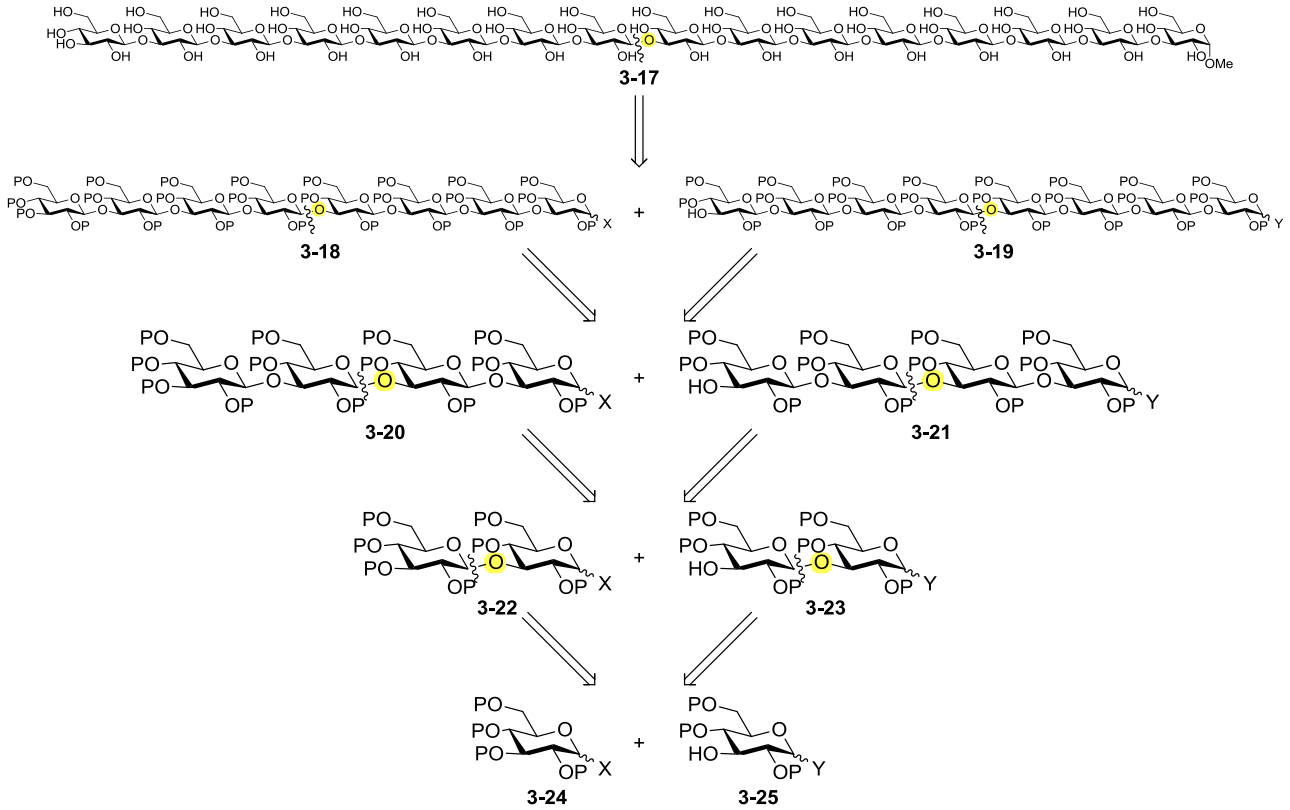


Figure 3-4

位置選択的グリコシル化反応を利用するβグルカン合成用糖鎖受容体の設計

複数の水酸基を有する基質 3-26 において、目的の水酸基にのみ糖鎖を有する生成物 3-27 を導入することは、糖鎖合成における重要なプロセスである(Figure 3-5)。特に、６位の一級水酸基を除く３つの２級水酸基の区別することは重要なことである。そのため、目的としない水酸基を閉塞するために保護基を導入した基質 3-30 が用いられる。しかしながら、保護基の導入は、立体的および電子的の効果により周りの遊離水酸基の反応性にも大きく影響し、多くの場合は、目的とする水酸基自身の反応性も低下させてしまう。一方、化学結合により水酸基を閉塞するのではなく、水酸基の周りの立体的および電子的環境により水酸基の反応性を低下させた基質 3-29 を設計することができれば、保護基の導入を最低限に抑えることにより、目的とする水酸基の反応性の低下を最低限に抑えることができる。すなわち、位置選択的グリコシル化反応により β（１、３）結合を形成する糖受容体を設計することにより、効率的に β グルカンオリゴ糖が合成できると考えた。

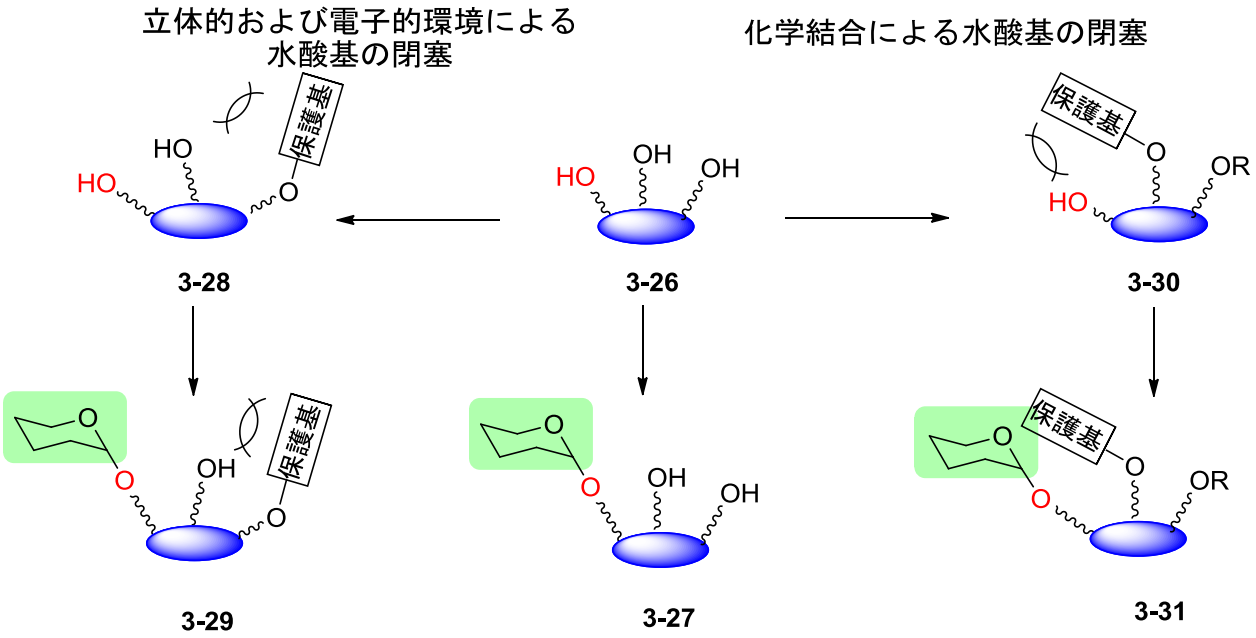


Figure 3-5

糖受容体の設計

β（１、３）グルカン合成用の複数の水酸基を有する糖受容体の設計を行った（Figure 3-6)。グルコースそのものの水酸基の反応性は、その立体的に混み具合から、６位>２位また３位>４位であると考えられる。そこで、一番反応性の高い一級水酸基である６位水酸基は、保護（ベンジル保護およびベンジリデン保護）することが適当であると考えた。２位水酸基については、２糖以上の糖受容体（3-19、3-21、3-23）では、２位水酸基の隣にあたる１位（アノマー位）のグリコシド結

合を介して大きな糖鎖ユニットが結合しているため、その影響を受け糖受容体としての２位水酸基の反応性が低下していると考えられる。そのことを考慮し、糖受容体の候補として、２，３，４位トリオール、２、３ジオールと３、４ジオールの３種を挙げた。

２，３，４位トリオール型糖受容体

２，３，４位トリオール体では、３位水酸基への位置選択的なグリコシル化が可能であると考えられる。しかしながら、トリオールは非常に高極性あるために、低温反応（-78～0 ℃）における化合物の溶解性に問題が生じる可能性が高い。また、分子の取り扱いや乾燥作業に問題が生じる可能性がある。

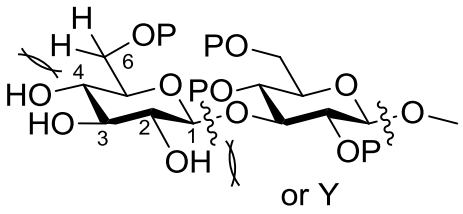


Figure 3-6

３，４位ジオール型糖受容体

３，４位ジオール型糖受容体では、２位の保護基の選択が重要である。２位水酸基はのちに糖供与体に変換することを考え、β選択的グリコシル化反応が可能なベンゾイル基とした。また、６位水酸基をベンジル基とした(Figure 3-7 右)。２位のアシル基による、３位遊離水酸基の反応性の低下（電子的要因）や、先に見られた３位への転位の問題が考えられるが、３，４ジオール糖受容体は嵩高いグリコシド結合を有する１位(アノマー位)から反応点が離れており（４位が空いている)、大きな糖鎖のグリコシル化においても反応性低下の抑制が期待できる。

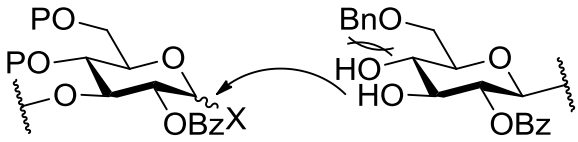


Figure 3-7

２，３位ジオール型糖受容体

２，３位ジオール型糖受容体では、４位の水酸基の保護基が重要となる。ここでは、４位の水酸

基の保護基は、６位の保護基組み合わせた４、６ベンジリデンアセタールを用いることとした。(Figure 3-8 右)。この糖受容体は、３位の両隣に電子求引性かつ転位する可能性があるアシル基を持たないため、反応性の向上かつ副生成物の低減が期待できる。１位（アノマー位）のグリコシド結合による立体障害を利用して２位の反応性を下げるため、２糖以上で反応の検討を行う必要がある。

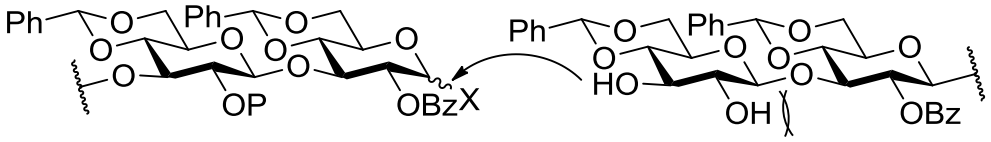


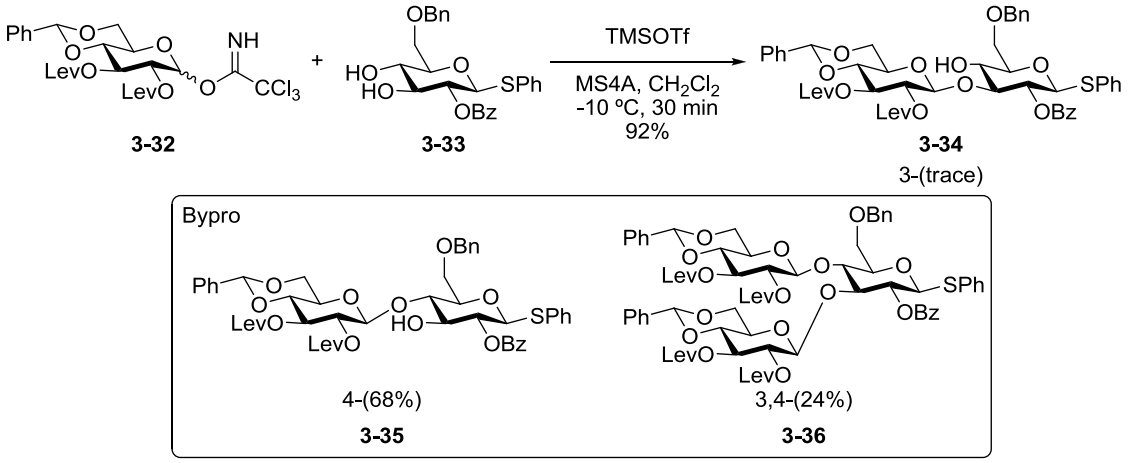
Figure 3-8

３，４位水酸基遊離な糖受容体、および、２，３位水酸基遊離な糖受容体それぞれについて、グリコシル化反応における位置選択性の検討を行う。

３－５－２　糖受容体の検討

３－５－２－１　３，４位ジオール型糖受容体の位置選択的グリコシル化

単糖供与体 **3-32**、および３，４ジオール単糖受容体 **3-33** を用いて位置選択的グリコシル化反応の検討を行った(Scheme 3-9)。フェニルチオ糖３，４ジオール体 **3-33**(1.0 当量)と２，３位水酸基に Lev 基を有するイミデート糖 **3-32**(1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-10 ℃で、トリメチルシリルトリフラート(TMSOTf、0.1 当量)を用いてイミデート基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、TLC 上で **3-32** の消失を確認すると同時に三種類の生成物が見られた。後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、４位結合２糖 **3-35** が 68%、３，４位結合３糖 **3-36** が 24%で得られ、目的とする３位結合２糖 **3-34** は痕跡量しか得られなかった。この結果から、反応性は非常に良かったものの、４位選択的に反応が進行し、さらに残りの３位遊離水酸基にも反応が進行したものと考えられる。４位選択性が発現した理由としては、４位水酸基は立体的に込み合っているが、糖受容体 **3-33** の２位のベンゾイル基が３位遊離水酸基の反応性の低下（電子的要因）の効果がそれよりも大きかったためと考えている。この際の **3-35** の同定はアセチル化を行い ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY で位置選択性の決定（アセチル化前後で３位のプロトンが 3.86 ppm から 5.34 ppm へと大幅に低磁場シフトした。β 体（$J_{1,2}$ = 7.7 Hz））を、**3-36** の同定は ^{1}H-NMR を用いて行った(β 体（$J_{1,2}$ = 7.7 Hz x 2））。



Scheme 3-9

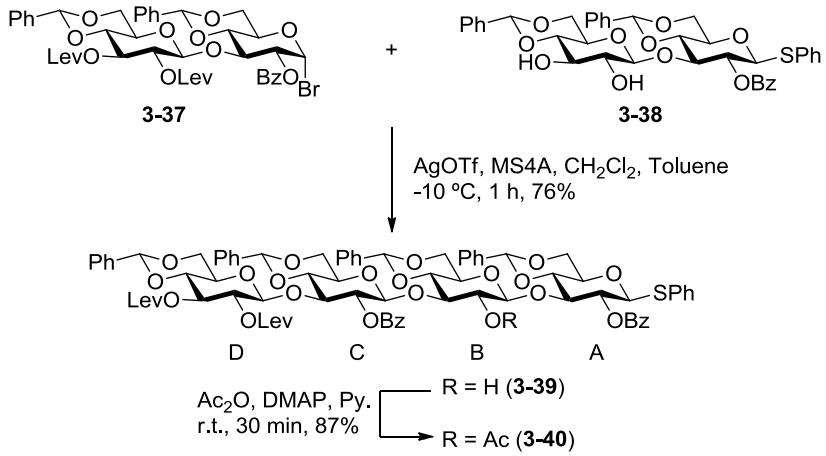
この結果より、用いた３，４位水酸基遊離な糖受容体では３位選択的グリコシル化反応を行うことが困難であることが分かった。２位の保護基を電子供与性の保護基にして３位水酸基の反応性を上げることや、６位の保護基をさらに嵩高くして４位へのグリコシル化反応を阻害するなどの検討が必要である。

続いて、２，３位水酸基遊離な糖受容体を用いて検討を行った。

３－５－２－２　２，３位ジオール型糖受容体の位置選択的グリコシル化反応

２，３位水酸基遊離な糖受容体の３位選択的グリコシル化反応では、１位（アノマー位）のグリコシド結合による立体障害を利用して２位の反応性を下げて３位選択性を上げることを目的としているため、２糖糖受容体を用いて検討を行った。この際、非還元末端の２，３位に遊離水酸基を有する２糖チオ糖 **3-38** と２，３位に Lev 基を有する２糖ブロモ糖 **3-37** を用いた(Scheme 3-10)。ブロモ糖は反応性が高く、銀塩を用いることで高い基質選択性を持って活性化できること、チオ糖から１段階で容易に調製することができることから用いることとした。２，３位の保護基は、他のエステル基と選択的に脱保護可能な、Lev 基を用いることとした。２，３ジオール糖受容体 **3-38**(1.0 当量)とブロモ糖糖供与体 **3-37**(1.2 当量)をジクロロメタン、トルエン混合溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-10 ℃で、銀トリフラート(以下 AgOTf、1.44 当量)を用いてブロモ基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、目的とする３位結合４糖 **3-39** が収率 76%、単一異性体で得られた。２位結合４糖や２，３結合６糖の生成は認められなかった。続いて、４糖 **3-39** をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることで２位にアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、４糖 **3-40** を収率 87%で得た。この際の **3-39** と **3-40** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行った(Table 3-10：還元末端糖から A、B、C、D とおく。**3-40** の糖ユニット B と C（内部の糖）は順不同)。**3-39** の糖ユニット B の２位の化学シフト

に注目すると、化学シフトが 3.39 ppm であるのに対し、アセチル化後の **3-40** は全ての２位の化学シフトが低磁場に存在することが確認できた(4.81～5.21 ppm)。また、^{1}H-^{1}H COSY より、**3-39** は遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が見られた。これらより、グリコシル化反応は３位選択的に進行したものと決定した。一方、新たに結合が生成する **3-39** の糖ユニット C のアノマー位の結合定数は、小さくなっていることが明らかとなった（$J_{1,2}$ = 4.8 Hz)。アノマー位の正確な構造決定は、脱保護後行うこととした。



Scheme 3-10

	δ (ppm) (*J*, Hz)							
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-A2	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-B2	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-C2	H-D1 ($J_{1,2}$)	H-D2
3-39	4.87 (7.7)	5.21	4.37 (7.7)	3.39	5.01 (4.8)	5.10	4.87 (7.7)	5.06
3-40	4.75 (9.7)	4.89	4.91 (6.8)	5.21	4.64 (4.8)	4.81	4.70 (7.7)	4.99

Table 3-10

この結果より、２，３位水酸基遊離な糖受容体を用いた場合、３位選択的にグリコシル化反応が進行し、満足のいく収率で目的の糖鎖を与えることが分かった。

これらより、β（１，３）１６糖合成において、２，３位水酸基遊離な糖受容体を用いた収束的合成法の開発を行うこととした。

３－５－３　β（１，３）グルカン直鎖オリゴ糖の収束的合成

合成戦略

２、３ジオール型糖受容体を利用する合成戦略を以下に示す(Figure 3-9)。標的化合物にαメチ

ルグリコシドを有する１６糖 **3-17** を設定した。１６糖は、８糖糖供与体 **3-41** と８糖糖受容体 **3-42** の位置選択的グリコシル化反応によって合成する。まず、８糖糖供与体 **3-41** は４糖ブロモ糖 **3-43** と４糖チオ糖 **3-40** との位置及び化学選択的グリコシル化によって合成する。４糖のブロモ糖 **3-43** および４糖チオ糖 **3-40** は、２糖ブロモ糖 **3-37** と２糖チオ糖 **3-46** との位置及び化学選択的グリコシル化反応によって導いた４糖チオ糖を用いて合成する。２糖ブロモ糖 **3-37** と２糖チオ糖 **3-46** は、ブロモ糖とチオ糖の位置及び化学選択的グリコシル化によって合成する。アノマー位のスルフィニル基は、２位の水酸基の反応性を低下することが知られている[8a)]。一方、８糖糖受容体は、４糖供与体と４糖メチルグリコシドの位置および立体選択的グリコシル化によってそれぞれ合成する。４糖メチルグリコシドは、２糖糖供与体と２糖メチルグリコシドとの位置及び化学選択的グリコシル化によって合成する。２糖メチルグリコシドは、３位遊離のメチルグリコシドを糖受容体とするグリコシル化によって合成する。

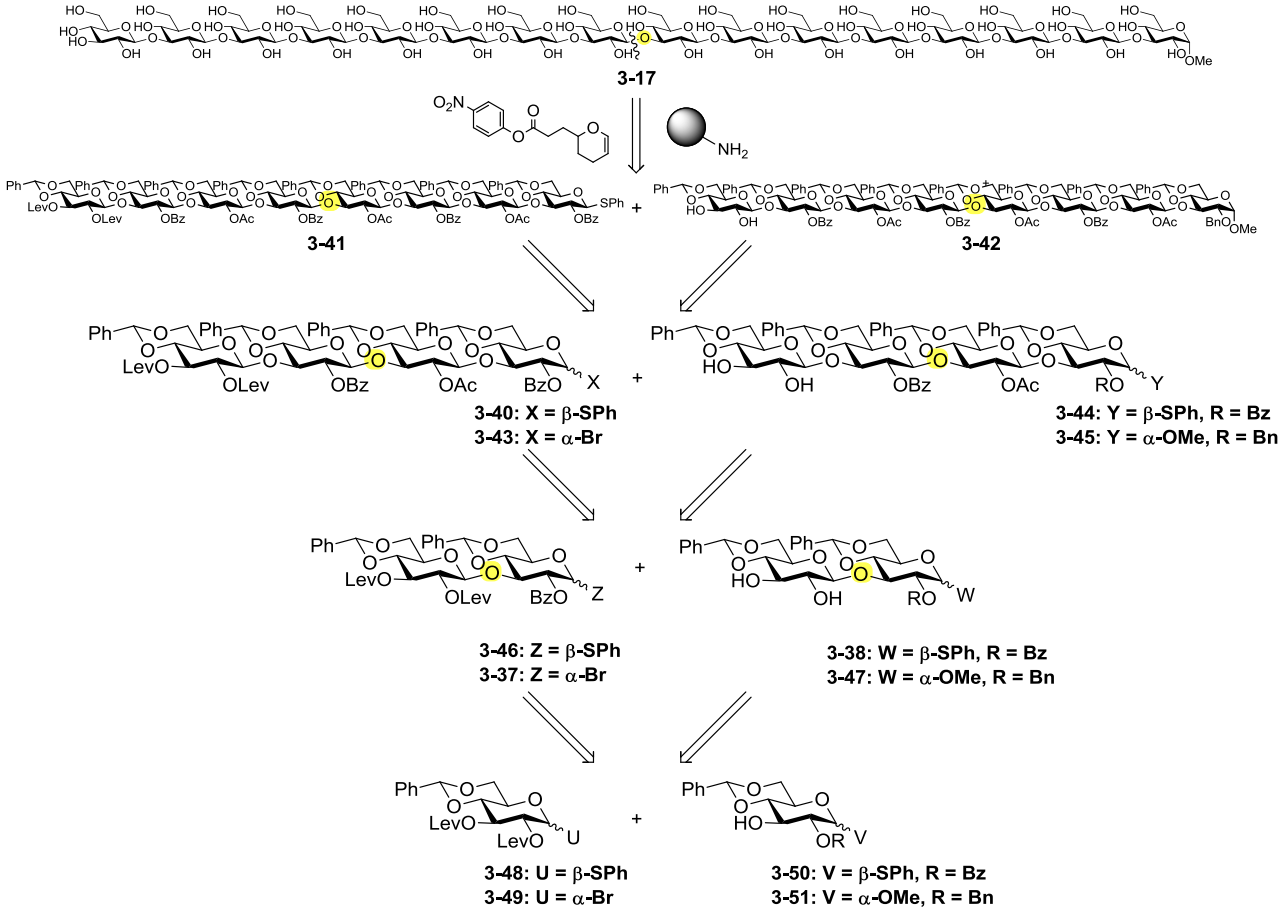
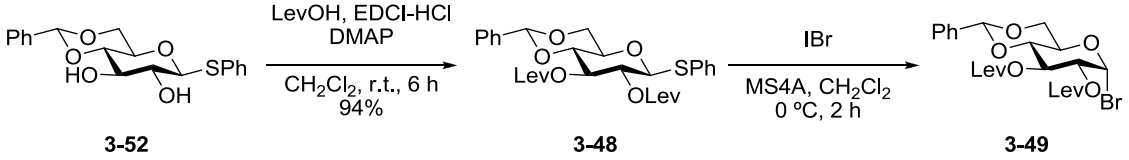


Figure 3-9

合成

２糖ブロモ糖 **3-37** と２，３ジオール２糖 **3-38** の合成について述べる。

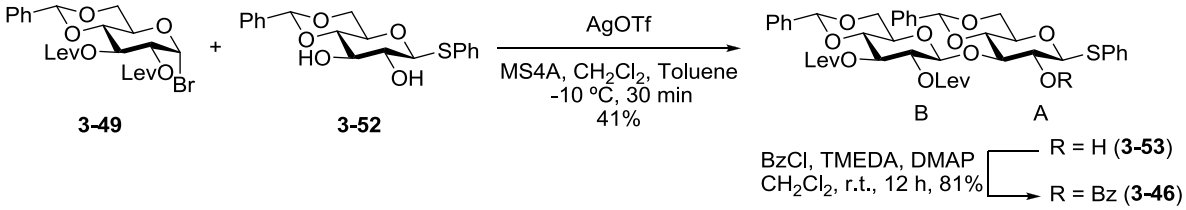
まず、共通中間体である２，３位にLev基を有するチオ糖**3-48**を単糖ブロモ糖**3-49**と２，３ジオール単糖チオ糖**3-52**をグリコシル化することで合成する。単糖ブロモ糖**3-49**の合成について述べる(Scheme 3-11)。２，３位に遊離水酸基を有するチオ糖 **3-52**[9]をジクロロメタン溶媒中レブリン酸(2.4当量)と縮合剤EDCI(2.4当量)、触媒量のDMAPを加えて、２，３位にLev基の導入を行い、収率94％でLev体**3-48**を得た。続いて、チオ糖**3-48**をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス4A(0.50 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、0 ℃で、一臭化ヨウ素（1.0 M CH_2Cl_2溶液）を加えることで、ブロモ基の導入を行った。得られたブロモ糖**3-49**は不安定であったため、後処理後、簡易的に精製を行い、直ちにこのブロモ糖をグリコシル化反応に用いることとした。



3-52 **3-48** **3-49**

Scheme 3-11

共通中間体である２糖**3-46**の合成を行った。２糖チオ糖**3-46**は、３位選択的グリコシル化が報告されている２，３位遊離な単糖チオ糖糖受容体を用いて合成する[7]。**3-46**の合成を示す(Scheme 3-12)。２，３位に遊離水酸基を持つチオ糖**3-52**[8](1.05当量)と２，３位水酸基にLev基を有するブロモ糖 **3-49**(1.0 当量)をジクロロメタン、トルエン混合溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(1.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-10 ℃で、AgOTf (1.2当量)を用いてブロモ基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２糖**3-53**が収率41%、単一異性体で得られた。収率が中程度となった理由として、糖受容体**3-52**による非常に高い結晶性のために反応温度を低く設定できず、生成した当量のTfOHによってベンジリデンアセタールが外れたためであると考えられる。続いて、２糖**3-53**(1.0当量)をジクロロメタン溶媒中、ベンゾイルクロライド（3.0当量）とN,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン（6.0当量)、触媒量のDMAP（0.1当量）を加えることで２位にベンゾイル基の導入を行った。少しずつ反応は進行し、開始12時間後、TLC上で**3-53**の消失を確認した。後処理、精製を行い、収率81％で２糖**3-46**を得た。この際の**3-53**と**3-46**の同定は^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSYを用いて行った(Table 3-11：還元末端糖をA、非還元末端糖をBとおく)。還元末端糖の２，３位の化学シフトに注目すると、ベンゾイル化前後において３位の化学シフトにはあまり変化が見られないが、２位の化学シフトが1.71 ppm低磁場シフトした。また、^{1}H-^{1}H COSYより、**3-53**は遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が見られた。これらより、グリコシル化反応は３位選択的に進行したものと決定した。一方、生成物のアノマー位の立体化学は、アノマー位のプロトンの結合定数にて、β体であると決定した。

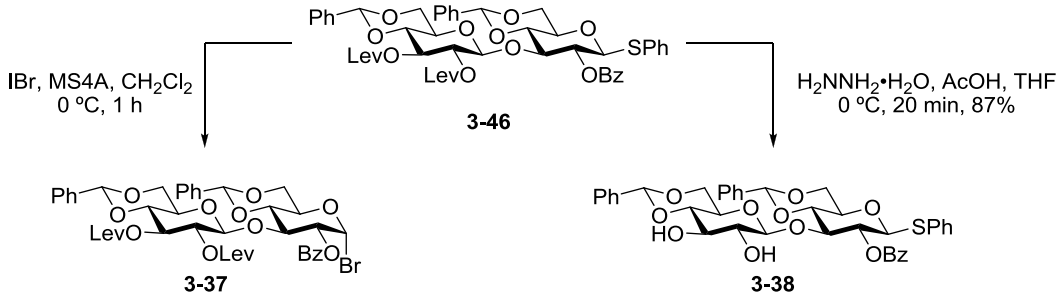


Scheme 3-12

	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-A2	H-A3	H-B1 ($J_{1,2}$)
3-53	4.67 (9.7)	3.59	3.79	4.84 (7.7)
3-46	4.85 (10.1)	5.30	4.18	4.70 (7.7)

Table 3-11

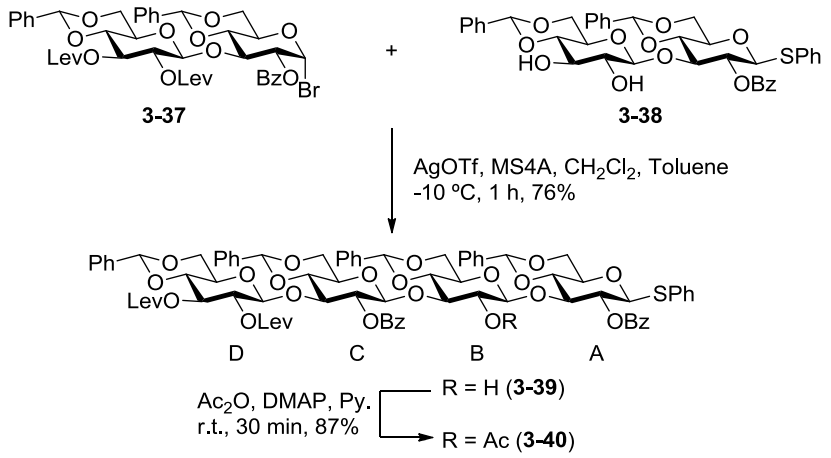
続いて、２，３位にLev基を有するチオ糖**3-46**から２糖ブロモ糖**3-37**と２，３ジオール２糖**3-38**への変換を行った（Scheme 3-13)。チオ糖**3-46**をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス4A存在下混在させ脱水を行った。その後、0 ℃で、一臭化ヨウ素（1.0 M CH_2Cl_2溶液）を加えることで、ブロモ基の導入を行った。得られたブロモ糖**3-37**は不安定であり、通常のカラムクロマトグラフィー精製により一部分解が見られた。そこで、後処理後、簡易的に精製を行い、直ちにこのブロモ糖をグリコシル化反応に用いることとした。一方、非還元末端の２，３位にLev基を有する**3-46**に対し、THF溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えてLev基の脱保護を行った。反応は速やかに進行し、後処理、再結晶を行うことで、目的とするジオール**3-38**が収率87%で得られた。



Scheme 3-13

３－５－３－１　２，３位ジオール型糖受容体の位置選択的グリコシル化反応

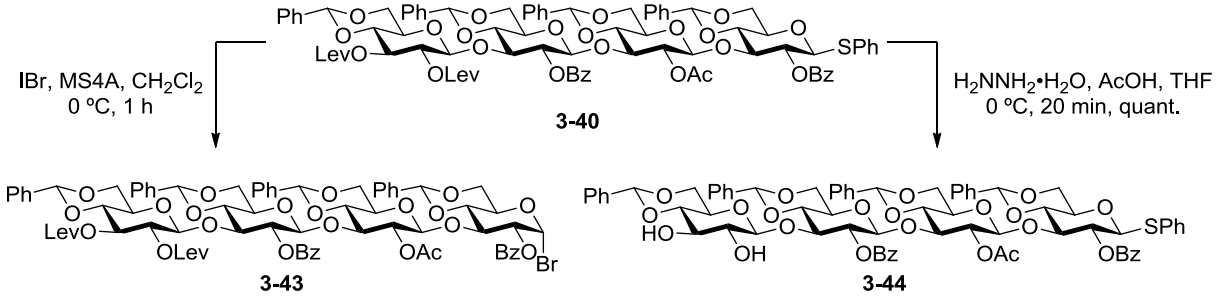
４糖チオ糖の合成は先に述べた方法によって行った(Scheme 3-14)。



Scheme 3-14

３－５－３－２　８糖糖供与体の合成

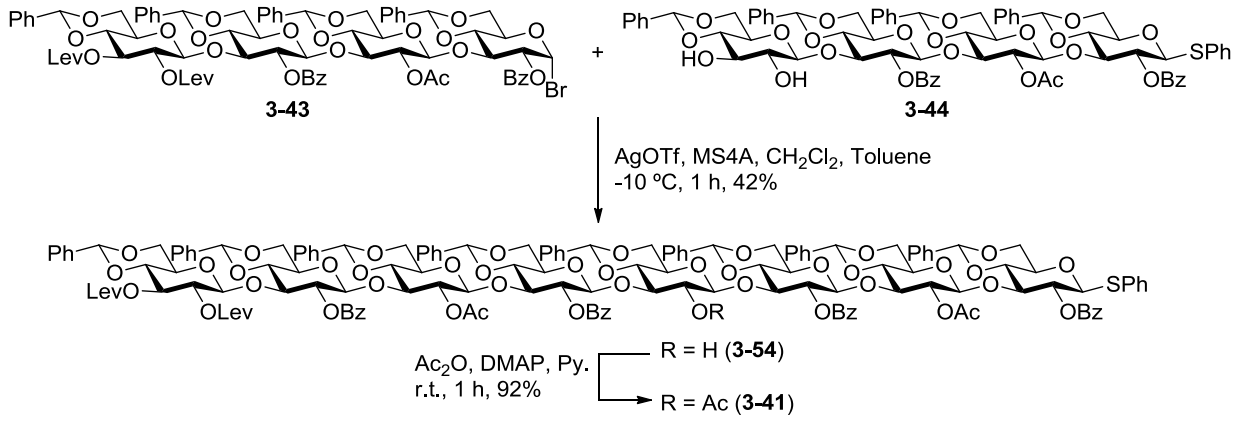
先の検討から得られた２，３位に Lev 基を有する４糖チオ糖 **3-40** から４糖ブロモ糖 **3-43** と２，３ジオール４糖 **3-44** への変換を行った（Scheme 3-15)。チオ糖 **3-40** をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A 存在下混在させ脱水を行った。その後、0 ℃で、一臭化ヨウ素（1.0 M CH_2Cl_2 溶液）を加えることで、ブロモ基の導入を行った。得られたブロモ糖 **3-43** は不安定であったため、後処理後、簡易的に精製を行い、直ちにこのブロモ糖をグリコシル化反応に用いることとした。一方、非還元末端の２，３位に Lev 基を有する **3-40** に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。反応は速やかに進行し、後処理、カラム精製を行うことで、目的とするジオール **3-44** が定量的に得られた。



Scheme 3-15

８糖糖供与体 **3-41** の合成を行った（Scheme 3-16)。非還元末端の２，３位に遊離水酸基を持つ４糖チオ糖 **3-44**(1.0 当量)と２，３位に Lev 基を有する４糖ブロモ糖 **3-43** (1.17 当量)をジクロロメタン、トルエン混合溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-10 ℃で、 AgOTf (1.44 当量)を用いてブロモ基を活性化させ、グリコシル化反応を行っ

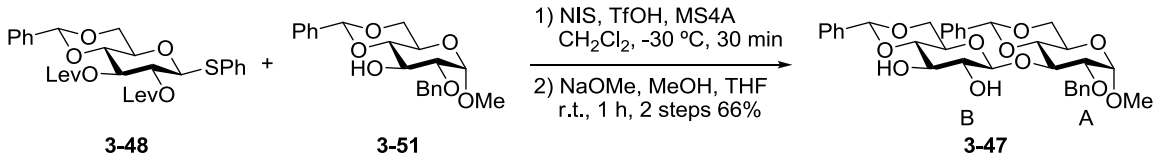
た。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、８糖 **3-54** が収率 42%、単一異性体で得られた。収率が中程度となった理由として、不安定な４糖ブロモ糖の取り扱いが難しいためであると考えられる。TLC 上において、ブロモ糖が損壊したとみられる生成物が高極性側に見られたが、複雑化していたため同定には至らなかった。続いて、８糖 **3-54** をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることで２位にアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、８糖 **3-41** を収率 92%で得た。この際の **3-54** と **3-41** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行った。**3-54** と **3-41** の全ての２位の化学シフトを同定することにより構造決定を試みたが、スペクトルの分離が十分でないため、一部の化学シフトは明らかにすることが出来なかった。しかし、^{1}H-^{1}H COSY より、**3-54** は遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が見られたため、グリコシル化反応は３位選択的に進行したものと考えられる。



Scheme 3-16

３－５－３－３　８糖糖受容体の合成

２糖メチルグリコシド体 **3-47** の合成を示す(Scheme 3-17)。３位に遊離水酸基を持つ単糖メチルグリコシド体 **3-51**[9](1.0 当量)と２，３位水酸基に Lev 基を有するチオ糖 **3-48**(1.1 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(0.5 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-30 ℃にて NIS(1.32 当量)、TfOH(0.10 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、反応は速やかに進行し、後処理を行った。続いて、THF/MeOH 混合溶媒中、触媒量のナトリウムメトキサイドを加えて Lev 基の脱保護を行った。1 時間後、TLC 上で反応の収束を確認し、後処理、精製を行い、２糖 **3-47** を２段階収率 66%で得た。この際の生成物のアノマー位の立体化学は、アノマー位のプロトンの結合定数にて決定した(Table 3-12：還元末端糖を A、非還元末端糖を B とおく。A はα (3.9 Hz)、B はβ (7.7 Hz))。



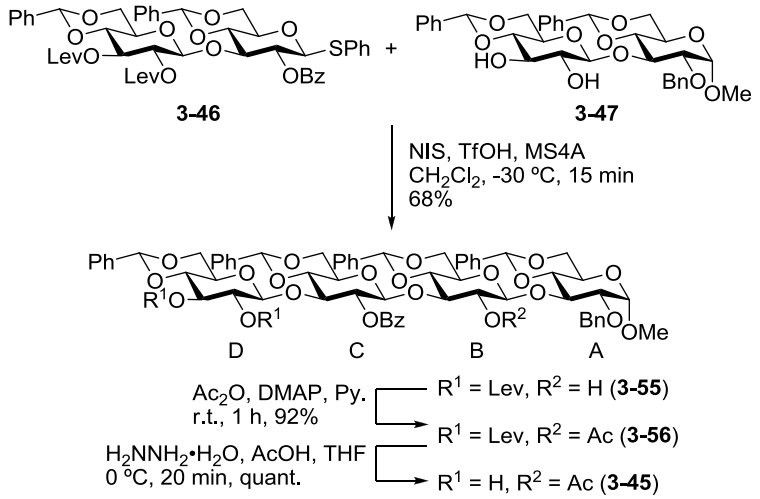
3-48 **3-51** **3-47**

Scheme 3-17

	δ (ppm) (*J*, Hz)	
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)
3-47	4.64 (3.9)	4.60 (7.7)

Table 3-12

４糖メチルグリコシド糖受容体 **3-45** の合成を行った(Scheme 3-18)。非還元末端の２，３位に遊離水酸基を持つ２糖メチルグリコシド体 **3-47**(1.2 当量)と２，３位に Lev 基を有する２糖チオ糖 **3-46**(1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-30 ℃にて NIS(1.2 当量)、TfOH(0.3 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、４糖 **3-55** が収率 68%、単一異性体で得られた。続いて、４糖 **3-55** をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることで２位にアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、４糖 **3-56** を収率 92%で得た。この際の **3-55** と **3-56** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行った(Table 3-13：還元末端糖から A、B、C、D とおく。**3-56** の糖ユニット B と C（内部の糖）は順不同)。**3-55** の糖ユニット B の２位の化学シフトに注目すると、化学シフトが 3.47 ppm であるのに対し、アセチル化後の **3-56** は A を除く全ての２位の化学シフトが低磁場に存在することが確認できた(4.88～5.29 ppm)。また、^{1}H-^{1}H COSY より、**3-55** は遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が見られた。これらより、グリコシル化反応は３位選択的に進行したものと決定した。一方、**3-55** の糖ユニット C のアノマー位の結合定数が 6.3 Hz であったことにより、グリコシル化反応はβ選択的に進行したものと決定した。続いて、４糖 **3-56** に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。反応は速やかに進行し、後処理、カラム精製を行うことで、目的とするジオール **3-45** が定量的に得られた。



Scheme 3-18

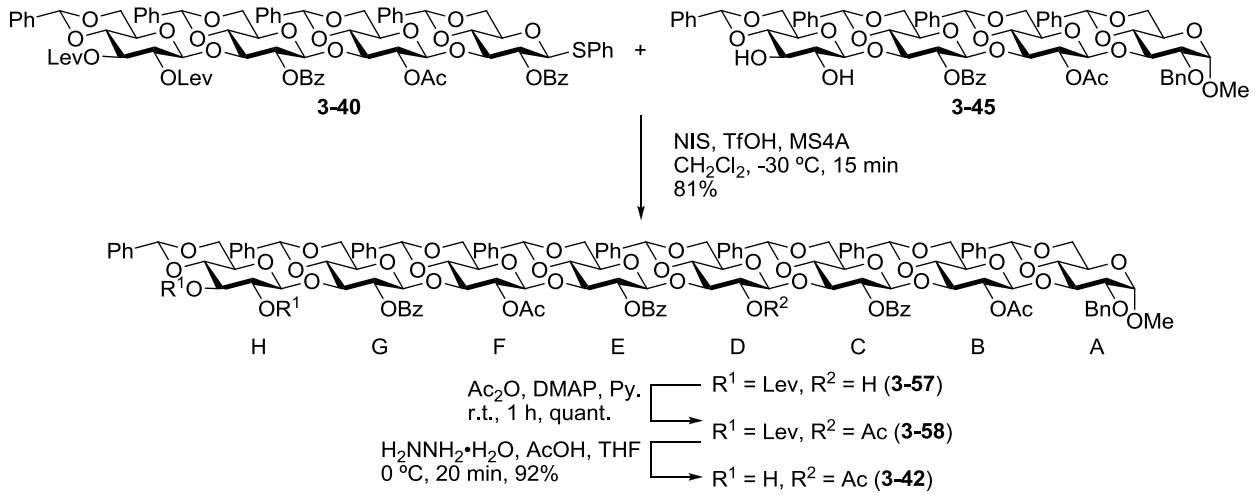
	δ (ppm) (*J*, Hz)							
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-A2	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-B2	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-C2	H-D1 ($J_{1,2}$)	H-D2
3-55	4.38 (ND)	3.45	4.52 (7.7)	3.47	5.07 (6.3)	5.28	4.78 (7.7)	5.03
3-56	4.39 (3.9)	2.93	5.00 (7.2)	5.29	4.96 (4.8)	4.88	4.70 (7.7)	5.00

ND: not determined

Table 3-13

８糖糖受容体 **3-42** の合成を行った（Scheme 3-19)。非還元末端の２，３位に遊離水酸基を持つ４糖メチルグリコシド体 **3-45**(1.0 当量)と２，３位に Lev 基を有する４糖チオ糖 **3-40**(1.1 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-30 ℃にて NIS(1.21 当量)、TfOH(0.5 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、８糖 **3-57** が収率 81%、単一異性体で得られた。続いて、８糖 **3-57** をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることで２位にアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、８糖 **3-58** を定量的に得た。この際の **3-57** と **3-58** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行った(Table 3-14：還元末端糖から A、B、C…H とおく。**3-57** の糖ユニット B と C、E、F、G は順不同、**3-58** の糖ユニット B と C、D、E、F、G は順不同)。**3-58** の糖ユニット D の２位の化学シフトに注目すると、化学シフトが 3.35 ppm であるのに対し、アセチル化後の **3-58** は A を除く全ての２位の化学シフトが低磁場に存在することが確認できた(4.82～5.21 ppm)。また、^{1}H-^{1}H COSY より、**3-57** は遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が見られた。これらより、グリコシル化反応は３位選択的に進行したものと決定した。一方、アノマー位の水素の結合定数により構造決定を試みたが、スペクトルの分離が十分でないため、一部のアノマー位しか結合定数を明らかにすることが出来なかった。アノマー位の構造決定は、脱保護後行うこととした。続いて、８糖 **3-58** に対し、THF 溶媒

中、ヒドラジン／酢酸を加えてLev基の脱保護を行った。反応は速やかに進行し、後処理、カラム精製を行うことで、目的とする８糖糖受容体 **3-42** が収率92%で得られた。



Scheme 3-19

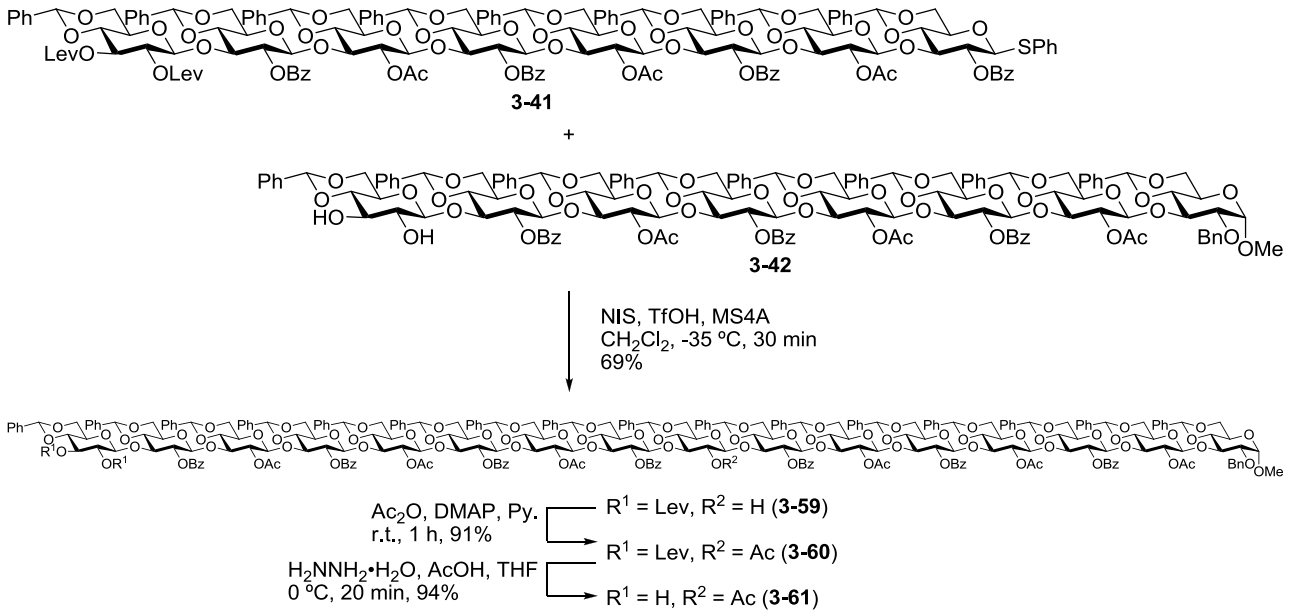
	δ (ppm)							
compound	H-A2	H-B2	H-C2	H-D2	H-E2	H-F2	H-G2	H-H2
3-57	3.07	5.23	5.20	3.35	4.93	4.89	4.83	4.99
3-58	2.91	5.21	4.89	4.89	4.87	4.83	4.82	5.00

Table 3-14

３－５－３－４　１６糖の合成

１６糖メチルグリコシド体 **3-61** の合成を行った（Scheme 3-20)。非還元末端の２，３位に遊離水酸基を持つ８糖メチルグリコシド体 **3-42**(1.0 当量)と２，３位に Lev 基を有する８糖チオ糖 **3-41**(1.2当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(4.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-35 ℃にて NIS(1.44 当量)、TfOH(0.5 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、１６糖 **3-59** が収率69%、単一異性体で得ることに成功した。非常に大きな８糖同士のカップリング反応においても、２，３ジオールの糖受容体を用いる手法で効率的に合成することが可能であった。続いて、１６糖 **3-59** をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることで２位にアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、１６糖 **3-60** を収率91%で得た。この際の **3-59** と **3-60** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて検討した。**3-59** と **3-60** の全ての２位の化学シフト、および、アノマー位の結合定数を同定することにより構造決定を試みたが、スペクトルの分離が十分でないため、一部の化学シフト、および、結合定数は明らかにすることが出来なかった。しかし、^{1}H-^{1}H COSY より、**3-59** は遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が

見られたため、グリコシル化反応は３位選択的に進行したものと考えている。一方、アノマー位の構造決定は、脱保護後行うこととした。続いて、１６糖 **3-60** に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。反応は速やかに進行し、後処理、カラム精製を行うことで、目的とする１６糖糖受容体 **3-61** が収率 94%で得られた。



Scheme 3-20

３－５－４　まとめ

２，３位遊離な糖受容体に対する位置選択的なグリコシル化反応による収束的な糖鎖伸長を検討した。ブロモ糖の不安定性やジオールを有する糖受容体の低溶解性によって収率は安定しないものの、非常に大きな８糖同士のグリコシル化反応においても十分な反応性が得られた。また、糖受容体や糖供与体と生成物との物性が大きく異なり、容易に分離可能であった。これらの結果より、２，３位遊離な糖受容体を用いた収束的合成法は１６糖合成に有用であった。

３－６　脱保護の検討

糖鎖の脱保護を検討した。本章で合成した糖鎖の脱保護は、水素添加反応や Birch 還元を用いる脱ベンジリデン（脱ベンジル）と塩基を用いるエステルの加水分解の２工程で行うことができる。脱保護の順番は、２通りある。1)脱ベンジリデン（脱ベンジル）―エステル加水分解また、2)エステル加水分解―脱ベンジリデン（脱ベンジル）である。一般的に、後処理が不溶性の金属触媒のろ過のみですむ水素添加反応は、最終工程として選択される場合が多い。しかし、本合成において、エステル基を先に除去した化合物は、複数のベンジリデン基で保護されているため、結晶性が高く、

溶媒への溶解性が低いことが予想された。そこで、今回の脱保護では、先に水素添加反応や Birch 還元による脱ベンジリデン（脱ベンジル）を行った後に、エステルの加水分解を行うこととした。

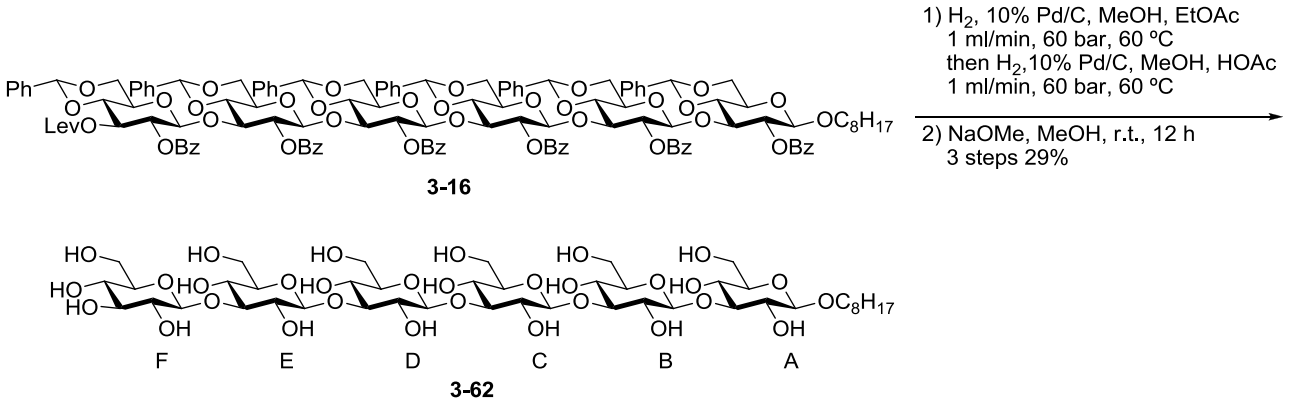
最初に、水素添加反応によるベンジリデン基の除去を検討した。水素添加反応の装置として、H-Cube™(Figure 3-10)を用いた。H-Cube™は、流通系の反応装置であり、流通経路内に電気分解により発生させた水素が作られるため安全であり、また、温度や圧力（～100bar）も自由に設定できる。フロー系なので操作が非常に簡便で、反応を追いやすいなどの利点が挙げられる。流通経路にパラジウムをはじめとする様々な触媒を担持したカートリッジを取り付けて使用可能である。

H-Cube™

Figure 3-10

まず、直線的合成法で得られた糖鎖の脱保護を行った。６糖 **3-16** の脱保護を検討した。Pd 触媒は、10% Pd/C のカートリッジを用いた。酢酸エチル/メタノール混合溶媒(1/1)に化合物を希釈した溶液を調整した。その溶液を用いて、流速 1 ml/min、60 ℃、60 bar で反応を行った。得られた溶液の溶媒を減圧下除去した後、1%酢酸を含むメタノール溶液とした。その溶液を用いて、流速 1 ml/min、60 ℃、60 bar で反応を行った。TLC にて反応の収束を確認後、溶媒を飛ばし、トルエン共沸を行って酢酸を除いた(Scheme 3-21)。

続いて、エステル加水分解を行った。メタノール溶媒中、ナトリウムメトキサイドを用いてアシル基の脱保護を行い、得られた化合物に対し逆相シリカゲルクロマトグラフィーを行うことにより、６糖の脱保護体が３段階収率 29% (Scheme 3-8 のグリコシル化反応から）で得られた。グリコシド結合の立体化学をアノマー位の水素の結合定数を用いて行った(Table 3-15：還元末端糖から A、B、C、D、E、F とおく。B と C、D、E、F は順不同)。その結果、脱保護体では、１位と２位の水素の結合定数は 7.2～8.2 Hz であり、６糖 **3-62** は全てβ結合していることが明らかとなった。

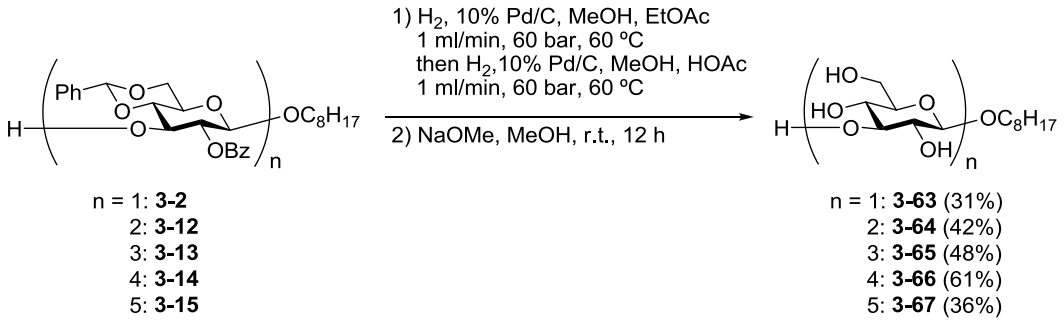


Scheme 3-21

	δ (ppm) (*J*, Hz)					
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)	H-E1 ($J_{1,2}$)	H-F1 ($J_{1,2}$)
3-62	4.45 (8.2)	4.66 (7.7)	4.68 (8.2)	4.70 (7.7)	4.75 (7.2)	4.77 (7.7)

Table 3-15

さらに、これまでに得られた単糖から５糖までの直鎖糖の脱保護を行った(Scheme 3-22)。同様の操作にて、水素添加反応、ベンゾイル基の脱保護を行った。単糖から５糖までそれぞれ２段階収率 31%、42%、48%、61%、36%で脱保護体が得られた。Table 3-16 に単糖から５糖のそれぞれの１位と２位のプロトンのビシナルカップリング定数を載せた。全てβ結合していることを確認した(7.7～8.2 Hz)。



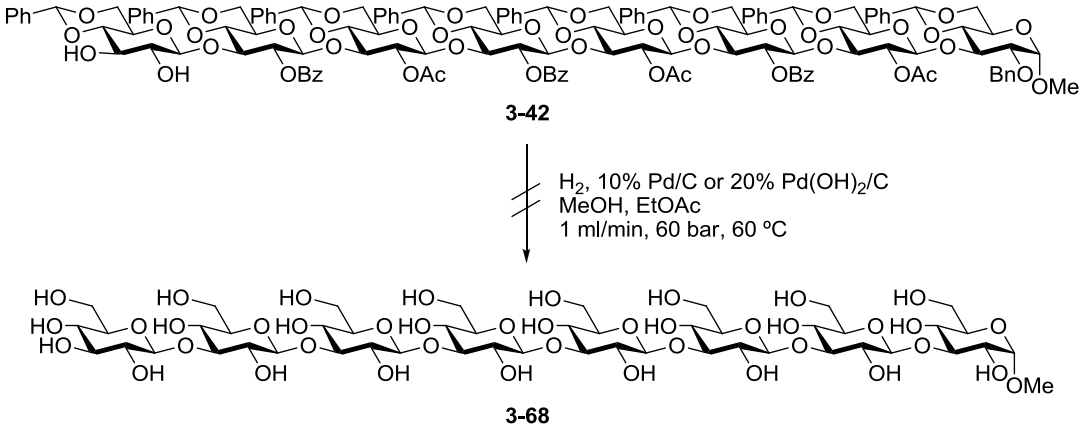
Scheme 3-22

	δ (ppm) (*J*, Hz)				
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)	H-E1 ($J_{1,2}$)
3-63	4.23 (7.7)				
3-64	4.44 (7.7)	4.70 (8.2)			
3-65	4.45 (8.2)	4.72 (8.2)	4.75 (8.2)		
3-66	4.45 (7.7)	4.72 (7.7)	4.74 (8.2)	4.77 (8.2)	
3-67	4.44 (7.7)	4.71 (7.7)	4.72 (8.2)	4.74 (8.2)	4.76 (7.7)

Table 3-16

このようにして直線的合成法にて得られた単糖から６糖までの脱保護をH-Cube™で行うことに成功した。続いて、同様に、収束的合成法で得られた糖鎖の脱保護も行うことにした。

まず、８糖メチルグリコシド体 **3-42** の脱保護を H-Cube™ で検討した(Scheme 3-23)。しかしながら、先と同様の操作で行ったものの、脱保護が進行しないどころか、原料の回収さえ出来なかった。さらに、20% $Pd(OH)_2/C$ を担持したカートリッジを用いるも、同様に得られなかった。これは、糖の脱保護反応中に糖鎖が凝集あるいは結晶化し、カートリッジ内に吸着されてしまったものと考えられる。先の単糖から６糖までの糖鎖（**3-62～67**）はアノマー位に８炭素の脂肪鎖があるが、８糖 **3-42** はアノマー位に１炭素の脂肪鎖があり、脱保護反応中における物性の違いがあるものと考えられる。



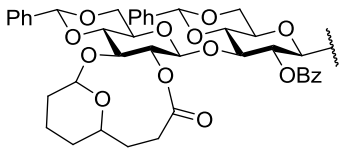
Scheme 3-23

続いて、８糖および１６糖の脱保護には、当研究室で開発された固相脱保護法を用いることとした[7]。本手法は、ポリマー上に保護糖を固定化したまま脱保護する手法である。固相単体を精製用タグとしても用いて脱保護するため、各種反応中間体や最終物の取り扱いが難しい場合にも、固相の性質を利用して目的物を容易に取り出すことが可能である。

１６糖メチルグリコシル体 **3-61** と８糖メチルグリコシド体 **3-42** の脱保護について述べる(Scheme 3-24)。

各糖鎖 **3-61**、**3-42**（1.0 当量）と THP プレリンカー（6.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレ

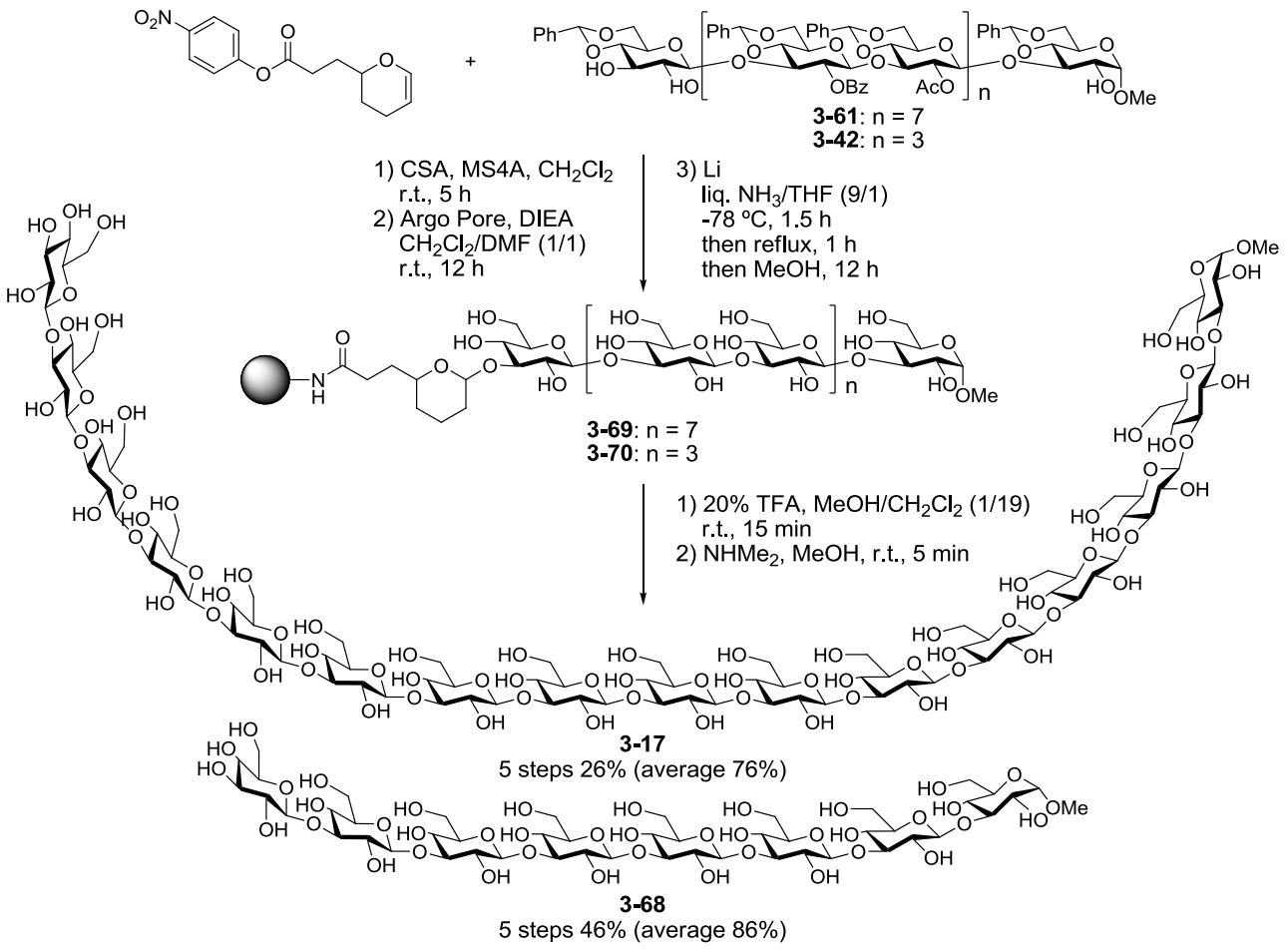
キュラーシーブス 4A (8.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、0 ℃にて 10-カンファースルホン酸(4.0 当量)を加えた。一時間後、TLC で各糖鎖の消失を確認した。ろ過、濃縮を行い、シリカゲル精製を行って未反応の THP プレリンカーを除いた。続いて、得られた活性化エステルを CH_2Cl_2/DMF(1/1)混合溶媒中、ジイソプロピルエチルアミン (DIEA) を添加し、アミノ基を有する固相担体 Argo Pore (0.75 mmol/g)へと固定化した。反応停止後、反応溶液をろ別し、固相担体の洗浄および、乾燥することにより、各糖鎖を担持した Argo Pore (**3-69**、**3-70**)を得た。この際、固相上に担持されない化合物が残った。^{1}H-NMR によりこの化合物の解析を試みたが、非常に複雑で困難であった。塩基性条件(DIEA)に安定であったため、THP プレリンカーのニトロフェニルエステルは脱離していると考えられる。このことから、ジオール糖鎖に対して分子内で巻き込んでいる可能性がある (Figure 3-11)。



Byproduct ?

Figure 3-11

続いて、Birch 還元を行うことでベンジルエーテルとベンジリデンアセタール、エステルの脱保護を同時に行った。まず、糖鎖を担持した Argo Pore (**3-69**、**3-70**)を膨潤させるため、室温下 THF 中で 15 分間撹拌した。その後、反応容器を-78 ℃へと冷却し、液体アンモニアの導入を行った。混合溶媒は液体アンモニア/THF = 9/1 の反応容器とし、-78 ℃条件下リチウム(50 mg)を加えた。溶液が濃青色を呈しラジカルの発生を確認後、-78 ℃のままで 1.5 時間、アンモニア還流条件下 1 時間反応を行った。反応溶液を濾別し、洗浄、および、乾燥することにより脱保護体担持 Argo Pore をそれぞれ得た。得られた Argo Pore を 5%メタノール-20%TFA-CH_2Cl_2溶液に 15 分間作用させ切り出しを行った。このとき、得られた化合物の水酸基に対して TFA とのエステルが副生したため、メタノール溶媒下､ジメチルアミンを加えてTFAエステルの脱保護を行った｡速やかに反応は進行し、減圧下溶媒を飛ばし、逆相カラムクロマトグラフィーにて精製を行うことで無保護の１６糖 **3-17**、および、８糖 **3-68** をそれぞれ５段階収率 26% (平均収率 76%)、46% (平均収率 86%) で得ることに成功した。この際、非常に興味深いことに、脱保護体は逆相カラムのマトリックスである、１８炭素のアルキル鎖を有するシリカゲルに保持された (Bond Elut-C18、溶媒：蒸留水)。構造から非常に高極性であると推測できるが、TLC から８糖よりも１６糖の方が若干低極性であった。これは糖鎖が長くなるほど、多糖としての性質 (疎水性、不溶性) を持ち始めていると考えられる。生成物のアノマー位の立体化学は、^{1}H-NMR によるアノマー位のプロトンの結合定数にて決定した(１６糖 **3-17** の還元末端はα (4.79 ppm、3.9 Hz)、その他β (4.70～4.76 ppm、7.2～8.2 Hz)。８糖 **3-68** の還元末端はα (4.79 ppm、3.9 Hz)、その他β (4.70～4.77 ppm、6.8～8.2 Hz))。



Scheme 3-24

以上により、１６糖の全合成を達成したので、デクチン１との結合試験を東京薬科大学薬学部免疫学教室大野尚仁教授、安達禎之准教授の協力のもと行った。

３－７　競合阻害活性試験

得られた単糖から６糖（3-63、3-64、3-65、3-66、3-67、3-62）と８糖 3-68、１６糖 3-17 の、SPG とデクチン１との結合に対する競合阻害試験を行った。また、比較として１２糖メチルグリコシド体 3-72 を合成し、併せて阻害試験を行った。測定結果を Figure 3-12、Figure 3-13 に示す。測定結果より、化学合成で得られた単糖から６糖において SPG とデクチン１の結合に対する阻害作用が見られないのみならず、８糖や１２糖、１６糖においても特異的な結合作用は見られなかった。このことより、本測定条件におけるデクチン１に対する結合作用は、単分子の糖鎖では検出出来るほど大きくないと考えられる。

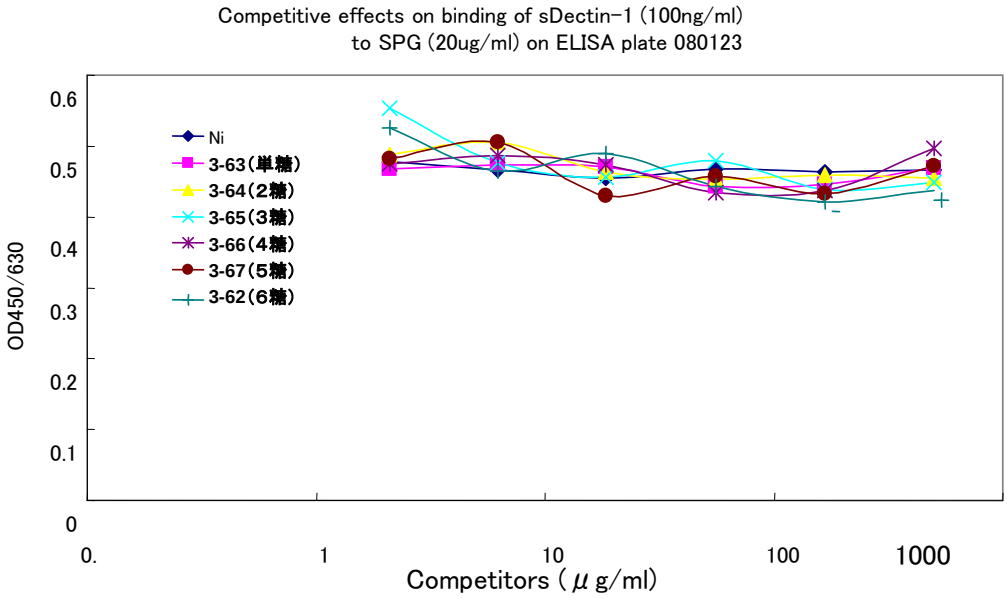


Figure 3-12

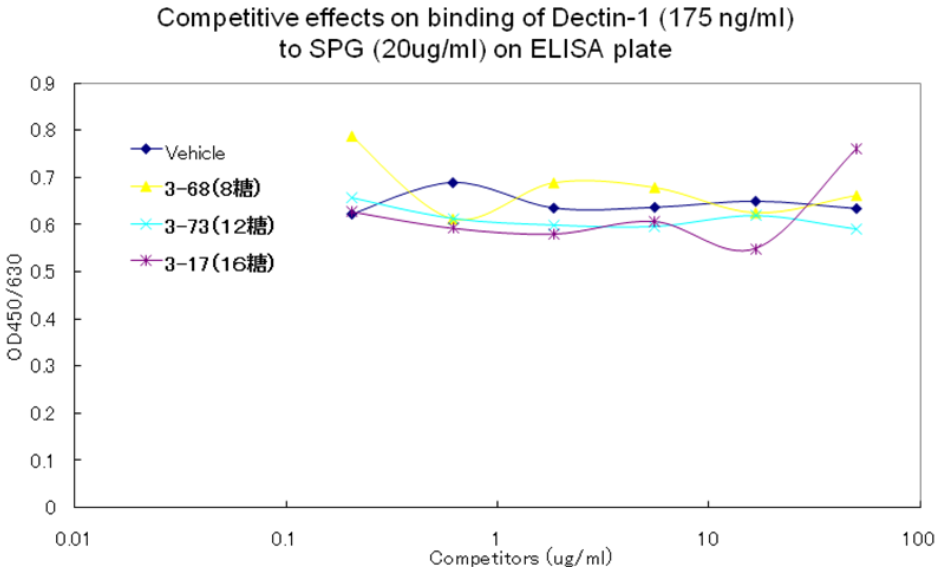


Figure 3-13

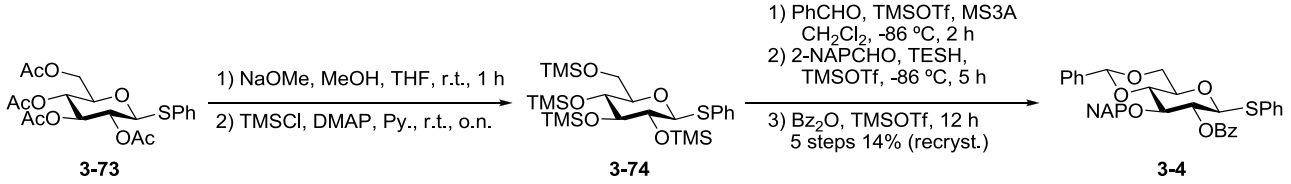
３－８　まとめ

デクチン1との結合に必要な最小の糖鎖の大きさはデクチン１タンパク質自体よりも小さいと仮定し、分子力場計算によってβ（１，３）直鎖１６糖であると決定した。β（１，３）直鎖１６糖を合成する際、直線的および収束的合成法の検討を行った。直線的合成法では、還元末端糖から一糖ずつ伸ばす方法にて合成を行ったが、６糖保護体合成にて分離困難な副生成物が現れた。この結果より、直線的合成戦略に基づく糖鎖合成は断念し、収束的合成法の開発を検討した。収束的合成法では、１６糖を８糖のブロックに分けてカップリングする方法にて合成を行った。同様に８糖は４糖、４糖は２糖、２糖は１糖から構築した。糖受容体や糖供与体が大きくなった場合には、それぞれのグリコシル化反応に対する反応性が低下することが知られているが、反応性の向上を期待した２，３位遊離な糖受容体を設計し、位置選択的なグリコシル化反応を行うことで１６糖の構築に成功した。また、脱保護を行い、単糖から６糖、および、８糖、１２糖、１６糖の SPG のデクチン１への結合に対する競合阻害試験を行った。結果より、いずれの糖鎖も、SPG とデクチン１の結合を阻害する結果が得られなかった。本結果から、単分子の糖鎖では結合力が弱く、SPG を用いる競合阻害試験において結合を検出出来るほど大きくないと考えられる。そこで、より強い結合のためには糖鎖微粒子などの多価効果を期待する複合糖鎖の開発が課題である。

３－９　基質の合成

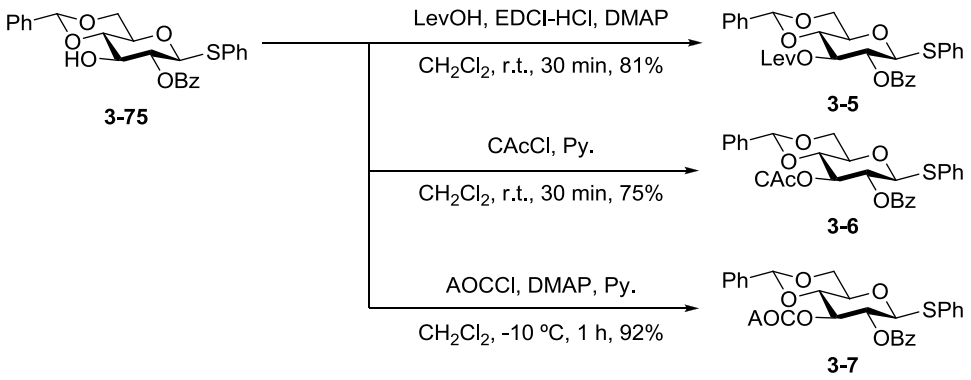
１）直線的合成法

単糖供与体 **3-4** の合成について述べる(Scheme 3-25)。Wang らにより報告された、糖のワンポットプロテクション [10]の方法を用いて合成を行った。まず始めに、テトラアセチルチオ糖 **3-73**(1.0 当量)をメタノール、THF 混合溶媒中、ナトリウムメトキサイドを用いてアセチル基の脱保護を行った。後処理後、ピリジン溶媒中、トリメチルシリルクロライド(4.8 当量)と触媒量の DMAP を加えてテトラトリメチルシリルチオ糖 **3-74** を得た。続いて、**3-74** とベンズアルデヒド(1.05 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 3A(0.725 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-86 ℃にてトリメチルシリルトリフラート(0.15 当量)を加えて、４、６位のベンジリデン保護を行った。TLC にて **3-74** の消失を確認後、2-ナフトアルデヒド(1.2 当量)、トリエチルシラン(1.1 当量)、トリメチルシリルトリフラート(0.075 当量)を加えて３位選択的に還元的ナフチルメチル化を行った。5 時間後、無水安息香酸(3.0 当量)、トリメチルシリルトリフラート(0.40 当量)を加えて、２位水酸基に対し酸性ベンゾイル化を行った。反応を完結させるため 0 ℃まで昇温し、12 時間後、後処理を行った。酢酸エチル―ヘキサンにて再結晶を行い、5 段階収率 14％で単糖供与体 **3-4** を得た。NAP 基の３位選択性は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY にて確認した。



Scheme 3-25

続いて、単糖供与体 **3-5**、**3-6**、**3-7** の合成について述べる(Scheme 3-26)。共通中間体である３位に遊離水酸基を有する **3-75**[9]をジクロロメタン溶媒中レブリン酸(1.5 当量)と縮合剤 EDCI(1.5 当量)、触媒量の DMAP を加えて、３位に Lev 基の導入を行い、収率 81％で Lev 体 **3-5** を得た。また、中間体 **3-75** をジクロロメタン溶媒中、クロロアセチルクロライドとピリジンを加えることで３位に CAc 基の導入を行い、収率 75％で CAc 体 **3-6** を得た。一方、中間体 **3-75** をジクロロメタン溶媒中、アリルオキシカルボニルクロライドとピリジン、触媒量の DMAP を加えることで３位に AOC 基の導入を行い、収率 92％で AOC 体 **3-7** を得た。

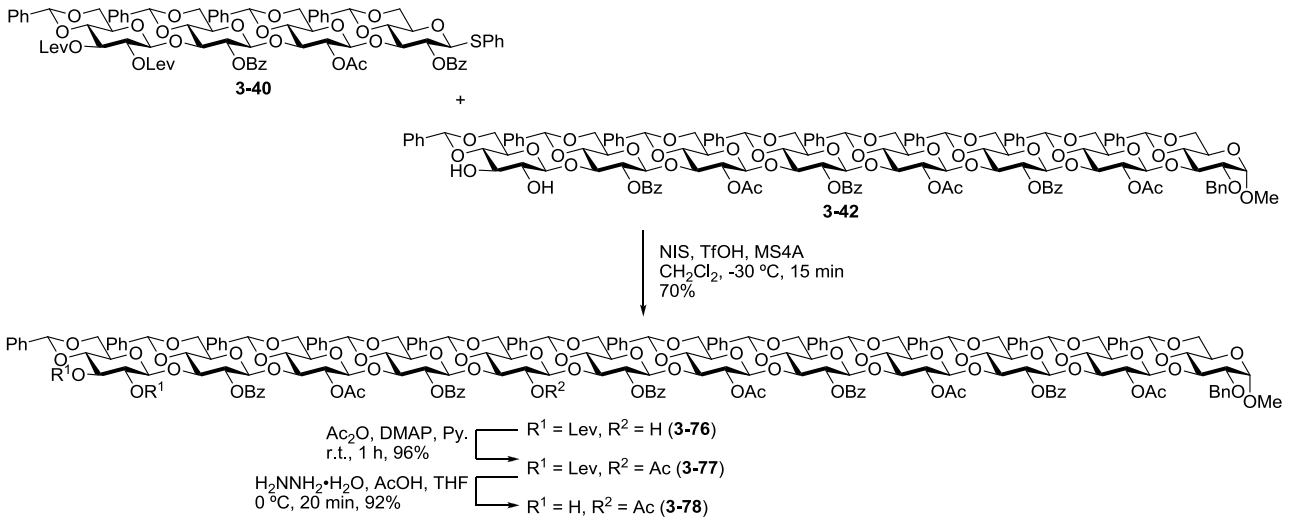


Scheme 3-26

２）１２糖の合成

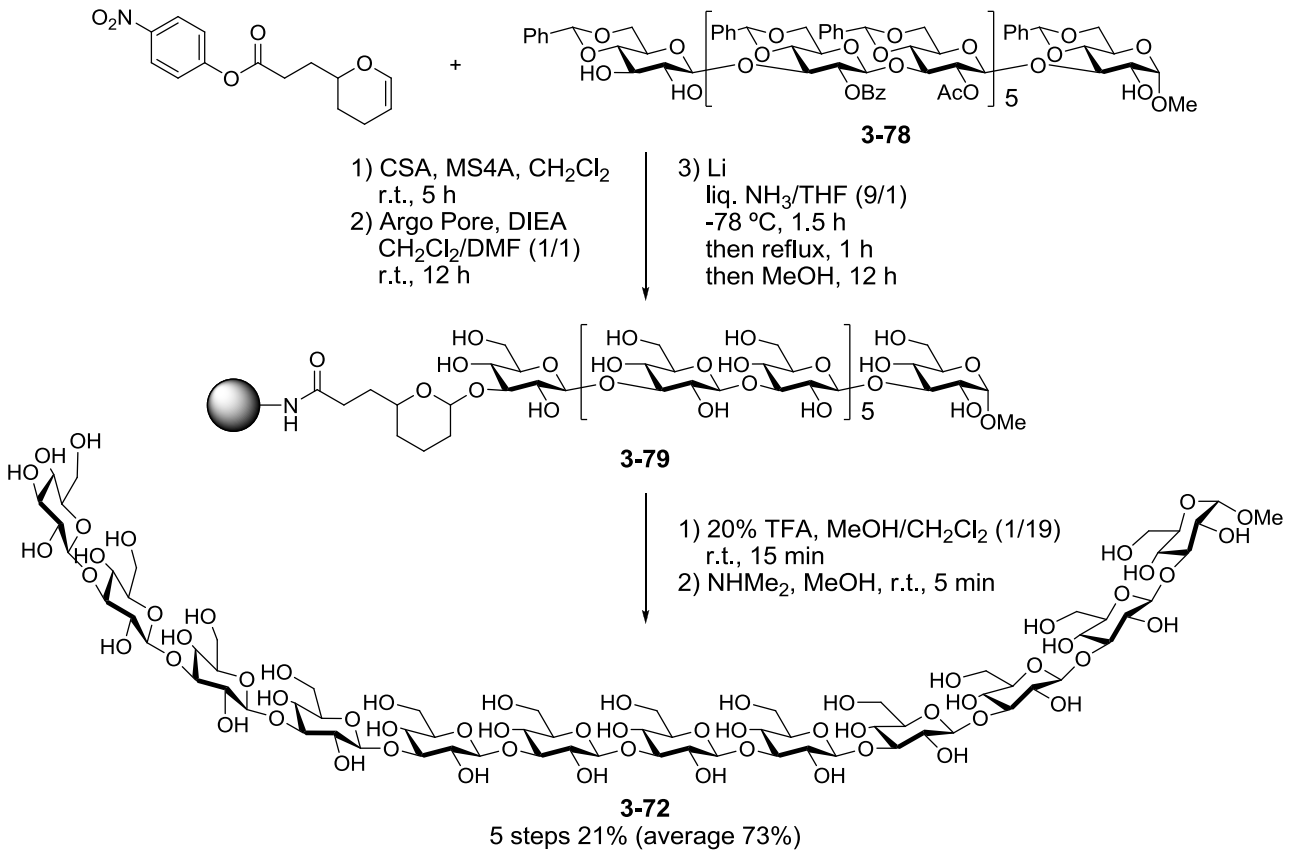
１２糖メチルグリコシド体 **3-72** の合成について述べる。

１２糖メチルグリコシド保護体 **3-78** の合成を行った（Scheme 3-27)。非還元末端の２，３位に遊離水酸基を持つ８糖メチルグリコシド体 **3-42**(1.0 当量)と２，３位に Lev 基を有する４糖チオ糖 **3-40**(1.2 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(4.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-35 ℃にて NIS(1.44 当量)、TfOH(0.5 当量)によりフェニルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、１２糖 **3-76** が収率 70%、単一異性体で得られた。続いて、１２糖 **3-76** をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることで２位にアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、１２糖 **3-77** を収率 96%で得た。この際の **3-76** と **3-77** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて検討した。**3-76** と **3-77** の全ての２位の化学シフト、および、アノマー位の結合定数を同定することにより構造決定を試みたが、スペクトルの分離が十分でないため、一部の化学シフト、および、結合定数は明らかにすることが出来なかった。しかし、^{1}H-^{1}H COSY より、**3-76** は遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が見られたため、グリコシル化反応は３位選択的に進行したものと考えている。一方、アノマー位の構造決定は、脱保護後行うこととした。続いて、１２糖 **3-77** に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。反応は速やかに進行し、後処理、カラム精製を行うことで、目的とする１２糖 **3-78** が収率 92%で得られた。



Scheme 3-27

１２糖メチルグリコシル体 **3-78** の脱保護を行った（Scheme 3-28)。保護糖鎖 **3-78**（1.0 当量）と THP プレリンカー（6.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A（8.0 g/mmol）存在下混在させ脱水を行った。その後、0 ℃にて 10-カンファースルホン酸(4.0 当量)を加えた。一時間後、ろ過、濃縮を行い、シリカゲル精製を行って未反応の THP プレリンカーを除いた。続いて、得られた活性化エステルを CH_2Cl_2/DMF(1/1)混合溶媒中、ジイソプロピルエチルアミン（DIEA）を添加し、アミノ基を有する固相担体 Argo Pore（0.75 mmol/g)へと固定化した。反応停止後、反応溶液をろ別し、固相担体の洗浄および、乾燥することにより、１２糖を担持した Argo Pore を得た。この際にも、８糖と１６糖に見られた、固相に担持されない化合物が見られた。続いて、Birch 還元を行うことでベンジルエーテルとベンジリデンアセタール、エステルの脱保護を同時に行った。まず、糖鎖を担持した Argo Pore を膨潤させるため、室温下 THF 中で 15 分間撹拌した。その後、反応容器を-78 ℃へと冷却し、液体アンモニアの導入を行った。混合溶媒は液体アンモニア/THF = 9/1 の反応容器とし、-78 ℃条件下リチウム(50 mg)を加えた。溶液が濃青色を呈しラジカルの発生を確認後、-78 ℃のままで 1.5 時間、アンモニア還流条件下 1 時間反応を行った。反応溶液を濾別し、洗浄、および、乾燥することにより脱保護体担持 Argo Pore**3-79** を得た。得られた Argo Pore を 5%メタノール-20%TFA-CH_2Cl_2 溶液に 15 分間作用させ切り出しを行った。このとき、得られた化合物の水酸基に対して TFA とのエステルが副生したため、メタノール溶媒下、ジメチルアミンを加えて TFA エステルの脱保護を行った。速やかに反応は進行し、減圧下溶媒を飛ばし、逆相カラムクロマトグラフィーにて精製を行うことで無保護の１２糖 **3-72** を５段階収率 21%（平均収率 73%）で得ることに成功した。生成物のアノマー位の立体化学は、^{1}H-NMR によるアノマー位のプロトンの結合定数にて決定した(還元末端はα（4.79 ppm、2.9 Hz)、その他β（4.70～4.76 ppm、7.7 Hz））。



3-78

3-79

3-72

5 steps 21% (average 73%)

Scheme 3-28

References

1) a) Deslandes, Y.; Marchessault, R. H.; Sarko, A. *Macromolecules* **1980**, *13*, 1466-1471.
b) Chuah, C. T.; Sarko, A.; Deslandes, Y.; Marchessault, R. H. *Macromolecules* **1983**, *16*, 1375-1382.

2) Jamois, F.; Ferrières, V.; Guégan, J.-P.; Yvin, J.-C.; Plusquellec, D.; Vetvicka1, V. *Glycobiology* **2005**, *15*, 393-407.

3) Nicolaou, K. C.; Winssinger, N.; Pastor, J.; DeRoose, F. *J. Am. Chem.Soc.* **1997**, *119*, 449-450.

4) Manfred, H.; Herbert, M.; Bernd, Z.; 野村正勝　監修、馬場章夫、三浦雅博他　訳、有機化学のためのスペクトル解析法、化学同人、**2002**.

5) a) Mootoo, D.R.; Konradsoon, P.; Udodong, U.; Fraser-Reid, B. *J. Am. Chem.Soc.* **1988**, *110*, 5583-5584.
b) Fraser-Reid, B.; Udodong, U.; Wu, Z.; Ottosson, H.; Merritt, J. R.; Rao, C. S.; Roberts, C.; Madsen, R. *Synlett* **1992**, 927-942.

6) Mo, K.-F.; Li, H.; Mague, J. T.; Ensley, H. E. *Carbohydr. Res.* **2009**, *344*, 439-447.

7) a) Tanaka, H.; Ishida, T.; Matoba, N.; Tsukamoto, H.; Yamada, H.; Takahashi, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6349-6352.
b) Tanaka, H.; Tateno, Y.; Nishiura, Y.; Takahashi, T. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5597-5600.

8) a) Fugedi, P., Birberg, W., Garegg, P. J., Pilotti, A. *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 297-312.
b) He, H.; Yang, F.; Du, Y. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1673-1678.
c) Zeng, Y.; Kong, F. *J. Carbohydr. Chem.* **2003**, *22*, 881-890.
d) Zeng, Y.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 843-849.
e) Zeng, Y.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 2359-2366.
f) Ning, J.; Zhang, W.; Yi, Y.; Yang, G.; Wu, Z.; Yi, J.; Kong, F. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2193-2203.
g) Zeng, Y.; Zhang, W.; Ning, J.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2003**, *337*, 2383-2391.
h) Li, A.; Kong, F. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 2499-2506.
i) Jones, N. A.; Nepogodiev, S. A.; Field, R. A. *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3*, 3201-3206.

9) 雨夜徹、博士論文、東京工業大学、**2002**.

10) Gangadharmath, U. B.; Demchenko, A. V. *Synlett* **2004**, 2191-2193.

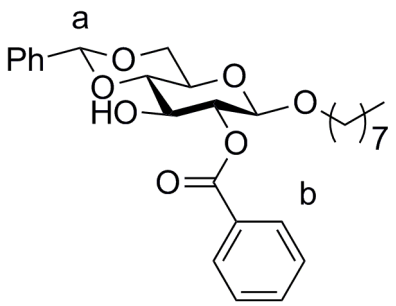
11) Wang, C.-C.; Lee1, J.-C.; Luo1, S.-Y.; Suvarn S.; Huang, Y.-W., K.; Lee, C.-C.; Chang, K.-L.; Hung, S.-C. *Nature* **2007**, *446*, 896-899.

Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (3-2)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (**3-1**) (432 mg, 0.746 mmol, 1.00 eq.), octanol (0.235 mL, 1.49 mmol, 2.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (746 mg) in dry CH_2Cl_2 (7.50 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (201 mg, 0.895 mmol, 1.20 eq.) and TfOH (20.0 μL, 0.224 mmol, 0.300 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at -30 ˚C for 40 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in pyridine (7.50 mL) was added HF･pyridine (0.750 mL) at room temperature. After being stirred at 70 ˚C for 12 h, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with toluene:ethyl acetate 95:5 to give octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-2**) (230 mg, 0.489 mmol, 2 steps 66%).

$[\alpha]_D^{25}$ -40.9 ˚ (*c* 0.995, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.07 (d, 2H, b, J = 7.2 Hz), 7.36-7.60 (m, 8H, aromatic), 5.57 (s, 1H, a), 5.17 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 4.67 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.39 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.04 (dd, 1H, H-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 3.86 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 9.7 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.81-3.90 (br-m, 1H, OCH_2), 3.68 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz), 3.46-3.55 (m, 2H, H-5, OCH_2), 1.48 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.01-1.21 (m, 10H, aliphatic), 0.83 (t, 3H, CH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 166.0, 137.0, 133.3, 130.0, 129.8, 129.4, 128.5, 128.4, 126.4, (102.0, 101.6(anomeric, benzylidene)), 81.1, 75.0, 72.6, 70.5, 68.8, 66.3, 31.8, 29.5, 29.3, 29.2, 25.9, 22.7, 14.1; IR (solid): 3539, 3036, 2000, 1376, 1048, 908, 639, 517 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{28}H_{37}O_7$ $[M+H]^+$ m/z = 485.2539, found: 485.2540.

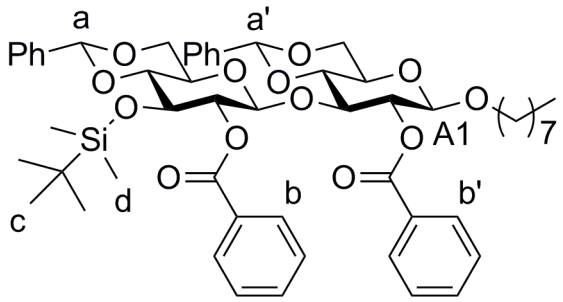


Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-3)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (**3-1**) (29.4 mg, 50.7 μmol, 1.20 eq.), Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-2**) (19.9 mg, 42.3 μmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (84.6 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.85 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (13.7 mg, 60.9 μmol, 1.44 eq.) and TfOH (2.62 μL, 29.6 μmol, 0.700 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at 0 ˚C for 14 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with toluene:ethyl acetate 97:3 and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-3**) (18.5 mg, 19.4 μmol, 46%).

$[\alpha]_D^{22}$ -9.80 ˚ (*c* 0.925, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.83 (d, 2H, b or b', J = 8.2 Hz), 7.68 (d, 2H, b or b', J = 8.2 Hz), 7.24-7.53 (m, 16H, aromatic), 5.56 (s, 1H, a or a'), 5.39 (s, 1H, a or a'), 5.16-5.24 (m, 2H, H-A2, H-B2), 4.88 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 7.2 Hz), 4.54 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.2 Hz), 4.37 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 5.3 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.15-4.23 (m, 2H, H-B6b, H-A3), 3.51-3.89 (m, 7H, H-A4, H-A6a, H-B3, H-B4, H-B5, H-B6a, OCH_2), 3.30-3.36 (m, 2H, H-A5, OCH_2), 1.33 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 0.91-1.27 (m, 10H, aliphatic), 0.83 (t, 3H, CH_2CH_3, J = 7.2 Hz), 0.61 (s, 9H, c), -0.14 (s, 3H, d), -0.27 (s, 3H, d'); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 164.7, 164.5, 137.3, 137.2, 132.9, 132.6, 130.0, 129.8x2, 129.2, 129.1, 128.3, 128.2, 128.1, 126.3, 126.1, (101.8, 101.6, 101.4, 100.6(anomeric, benzylidene)), 81.4, 79.6, 78.0, 75.4, 73.6, 73.1, 70.2, 68.9x2, 66.5, 66.2, 31.8, 29.8, 29.4, 29.2, 29.1, 25.8, 25.5, 22.7, 17.9, 14.1, -4.2, -5.0; IR (solid): 3062, 2932, 2856, 1917, 1727, 1603, 1451, 1378, 1268, 1084, 1007, 836, 748, 705, 496 cm^{-1}; HRMS

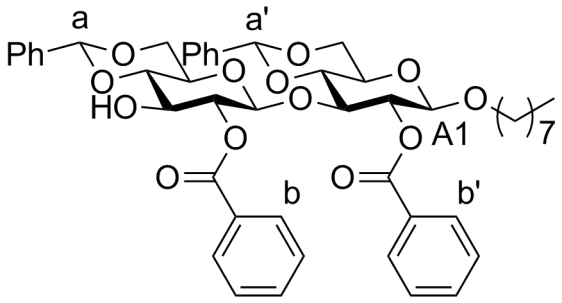
(ESI-TOF) calcd for $C_{54}H_{69}O_{13}Si$ $[M+H]^+$ *m/z* = 953.4507, found: 953.4507.



Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-12)

To a stirred solution of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-3**) (18.0 mg, 18.9 μmol, 1.00 eq.) in pyridine (1.00 mL) was added HF･pyridine (37.8 μL) at room temperature. After being stirred at 70 ˚C for 2 h, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 75:25 to give octyl 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-(2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-12**) (10.7 mg, 12.8 μmol, 67%).

$[\alpha]_D^{24}$ -25.5 ˚ (*c* 0.995, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.81 (d, 2H, b or b', J = 7.7 Hz), 7.73 (d, 2H, b or b', J = 7.7 Hz), 7.27-7.54 (m, 16H, aromatic), 5.56 (s, 1H, a or a'), 5.36 (s, 1H, a or a'), 5.25 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 6.8 Hz, $J_{A2,A3}$ = 8.2 Hz), 5.11 (dd, 1H, H-B2, $J_{B1,B2}$ = 7.2 Hz, $J_{B2,B3}$ = 8.2 Hz), 4.95 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 6.8 Hz), 4.56 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.2 Hz), 4.37 (dd, 1H, H-B6b, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.18-4.23 (m, 2H, H-A6b, H-A3), 3.64-3.89 (m, 6H, H-A4, H-A6a, H-B3, H-B4, H-B6a, OCH_2), 3.54 (ddd, 1H, H-B5, $J_{B4,B5}$ = $J_{B5,B6a}$ = 9.7 Hz, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz), 3.31-3.42 (m, 2H, H-A5, OCH_2), 2.54 (br-s, 1H, OH), 1.38 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 0.96-1.20 (m, 10H, aliphatic), 0.82 (t, 3H, CH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 165.7, 164.7, 137.25, 137.03, 133.03, 129.9x2, 129.7x3, 129.4, 129.3x2, 128.4x2, 128.3, 126.3, 126.2, (101.8, 101.6, 101.5, 100.4(anomeric, benzylidene)), 80.6, 79.5, 78.1, 75.4, 73.7, 72.7, 70.2, 68.9, 68.7, 66.5, 66.1, 31.8, 29.4, 29.2, 29.1, 25.8, 22.7, 14.1; IR (solid): 3553, 2933, 2347, 1731, 1457, 1268, 1077, 820, 696 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{48}H_{55}O_{13}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 839.3643, found: 839.3645.



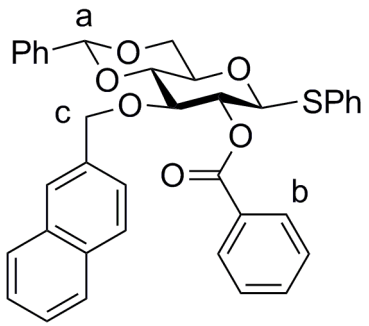
Phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-naphthylmethyl)-β-D-glucopyranoside (3-4)

To a stirred solution of phenylthio 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranoside (**3-73**) (5.09 g, 11.6 mmol, 1.00 eq.) in MeOH (10.0 mL) and THF (10.0 mL) was added a catalytic amount of sodium methoxide at 0 ˚C. After being stirred at room temperature for 1 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in pyridine (60.0 mL) was added trimethylsilyl chloride (7.02 mL, 55.5 mmol, 4.80 eq.) and a catalytic amount of DMAP at 0 ˚C. After being stirred at room temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into water. The aqueous layer was extracted with two portions of Et_2O. The combined extract was washed with 1 M HCl, water, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

A mixture of part of the residue (1.58 mmol, 1.00 eq.), benzaldehyde (0.167 mL, 1.66 mmol, 1.05 eq.) and pulverized activated molecular sieves (3A) (1.14 g) in dry CH_2Cl_2 (11.4 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added TMSOTf (42.9 μL, 0.237 mmol, 0.150 eq.) at -86 ˚C. After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was added triethylsilane (0.277 mL, 1.74 mmol, 1.10 eq.), 2-naphthaldehyde (296 mg, 1.89 mmol, 1.20 eq.) and TMSOTf (21.4 μL, 0.118 mmol, 0.0750 eq.). After being stirred at the same temperature for 5 h, the reaction mixture was added benzoic anhydride (1.19 g, 4.73 mmol, 3.00 eq.) and TMSOTf (72.4 μL, 0.631 mmol, 0.400 eq.). After being stirred at the 0 ˚C for 12 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was recrystalized from ethyl acetate-hexane to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*- (2-naphthylmethyl)-β-D-glucopyranoside (**3-4**) (191 mg, 0.316 mmol, 5 steps 14%) as a white solid.

$[\alpha]_D^{25}$ +53.1 ° (*c* 1.02, $CHCl_3$); ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.95 (d, 2H, b, *J* = 7.2 Hz), 7.20-7.67 (m, 20H, aromatic), 5.63 (s, 1H, a), 5.31 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 4.96 (d, 1H, c, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.83 (d, 1H, c, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.82 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz), 4.42 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.93 (dd, 1H, H-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 3.86 (br-t, 2H, H-4, H-6a), 3.57 (ddd, 1H, H-5, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 10.1 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 165.1, 137.3, 135.2, 133.3, 133.1, 133.0x2, 132.3, 130.0, 129.8, 129.2, 129.0, 128.4x2, 128.3, 128.1, 128.0, 127.7, 127.1, 126.2x2, 126.0, 125.8, 101.5, 87.1(anomeric), 81.6, 79.2, 74.4, 72.0, 70.7, 68.7; IR (solid): 2948, 2307, 1716, 1582, 1385, 1264, 1097, 904, 709 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{37}H_{33}O_6S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 605.1998, found: 605.2003.

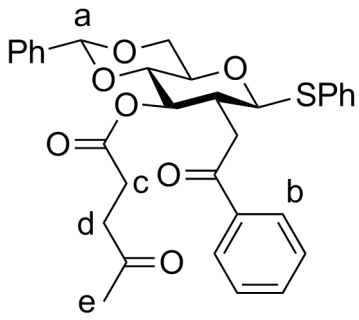


Phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (3-5)

To a stirred solution of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-75**) (97.6 mg, 0.210 mmol, 1.00 eq.) in dry CH_2Cl_2 (2.10 mL) was added levurinic acid (32.0 μL, 0.315 mmol, 1.50 eq.), a catalytic amount of DMAP and EDCI-HCl (60.5 mg, 0.315 mmol, 1.50 eq.) at 0 ˚C. After being stirred at room temperature for 30 min, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 80:20 to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (**3-5**) (95.6 mg, 0.170 mmol, 81%)

$[\alpha]_D^{26}$ -1.50 ° (*c* 1.06, $CHCl_3$); ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.04 (d, 2H, b, *J* = 7.2 Hz), 7.27-7.61 (m, 13H, aromatic), 5.53 (s, 1H, a), 5.52 (dd, 1H, H-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 5.28 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.95 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz), 4.43 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.84 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 10.1 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.76 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.65 (ddd, 1H, H-5, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz, $J_{5,6a}$ = 10.1 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz), 2.41-2.56 (m, 4H, c, d), 1.97 (s, 3H, e); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 205.7, 171.9, 165.3, 136.8, 133.5, 133.1, 131.9, 130.1, 129.4, 129.2, 129.1, 128.6, 128.5, 128.3, 126.2, 101.5, 87.0(anomeric), 78.3, 73.0, 71.2, 70.9, 68.6, 38.0, 29.6, 28.1; IR (solid): 2865, 2346, 1716, 1584, 1355, 1181, 1026, 699, 534 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{31}H_{31}O_8S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 563.1740,

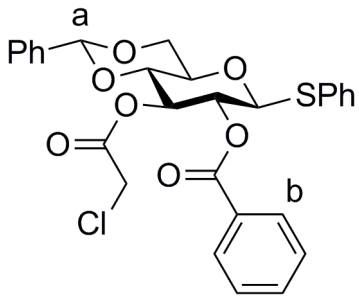
found: 563.1737.



Phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-chloroacetyl-β-D-glucopyranoside (3-6)

To a stirred solution of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-75**) (98.9 mg, 0.213 mmol, 1.00 eq.) in dry CH_2Cl_2 (2.10 mL) was added chloroacetyl chloride (20.4 μL, 0.258 mmol, 1.20 eq.) and pyridine (41.3 μL, 0.511 mmol, 2.40 eq.) at 0 ˚C. After being stirred at room temperature for 30 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 90:10 to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-chloroacetyl-β-D-glucopyranoside (**3-6**) (88.6 mg, 0.163 mmol, 77%)

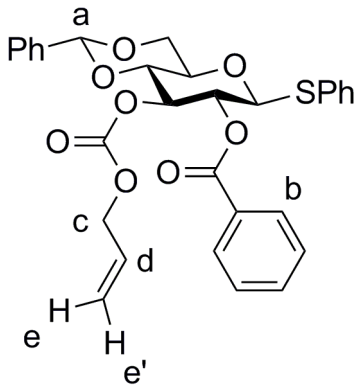
$[\alpha]_D^{26}$ -8.80 ˚ (*c* 1.03, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.03 (d, 2H, b, J = 7.2 Hz), 7.28-7.62 (m, 13H, aromatic), 5.56 (dd, 1H, H-3, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 5.53 (s, 1H, a), 5.29 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = $J_{2,3}$ = 9.7 Hz), 4.96 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.44 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.97 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 14.5 Hz), 3.92 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 14.5 Hz), 3.85 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 10.1 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.79 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 10.1 Hz), 3.67 (ddd, 1H, H-5, $J_{4,5}$ = 10.1 Hz, $J_{5,6a}$ = 10.1 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 166.6, 165.3, 136.6, 133.7, 133.3, 131.6, 130.1, 129.3, 129.1x2, 128.7, 128.6, 128.4, 126.2, 101.7, 87.0(anomeric), 78.1, 74.7, 71.0, 70.9, 68.6, 40.5; IR (solid): 2857, 2296, 1766, 1376, 1097, 931, 672 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{28}H_{26}O_7SCl$ $[M+H]^+$ *m/z* = 541.1088, found: 541.1084.



Phenylthio 3-*O*-allyloxycarbonyl-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (3-7)

To a stirred solution of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-75**) (172 mg, 0.371 mmol, 1.00 eq.) in dry CH_2Cl_2 (3.70 mL) was added allyl chloroformate (58.9 μL, 0.557 mmol, 1.50 eq.) and pyridine (90.0 μL, 1.11 mmol, 3.00 eq.), a catalytic amount of DMAP at -10 ˚C. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 90:10 to give phenylthio 3-*O*-allyloxycarbonyl-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-7**) (186.4 mg, 0.340 mmol, 92%)

$[\alpha]_D^{26}$ +12.1 ˚ (*c* 1.02, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.07 (d, 2H, b, J = 7.2 Hz), 7.29-7.62 (m, 13H, aromatic), 5.67 (br-m, 1H, d), 5.53 (s, 1H, a), 5.29-5.37 (m, 2H, H-2, e), 5.13 (dd, 1H, e', $J_{d,e'}$ = 16.9 Hz, J_{gem} = 0.97 Hz), 4.95-5.01 (m, 2H, H-1, H-3), 4.41-4.45 (m, 3H, H-6b, c), 3.84 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 9.7 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.80 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz), 3.66 (ddd, 1H, H-5, $J_{4,5}$ = $J_{5,6a}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 165.1, 154.3, 136.8, 133.5, 133.2, 131.8, 131.1, 130.1, 129.3, 129.2, 129.1, 128.5, 128.3x2, 126.3, 118.8, 101.7, 87.0(anomeric), 78.2, 77.0, 71.2, 70.8, 68.8, 68.5; IR (solid): 2864, 2340, 1760, 1603, 1268, 1148, 968, 689 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{30}H_{29}O_8S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 549.1583, found: 549.1585.

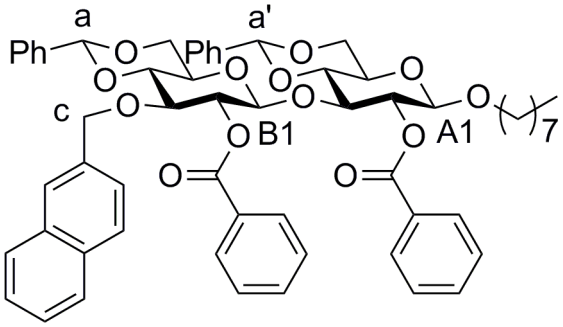


Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-naphthylmethyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-8)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-naphthylmethyl)-β-D-glucopyranoside (**3-4**) (31.8 mg, 52.5 μmol, 1.20 eq.), octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-2**) (20.6 mg, 43.8 μmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (87.6 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.880 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (14.2 mg, 63.1 μmol, 1.44 eq.) and TfOH (2.71 μL, 30.7 μmol, 0.700 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at 0 ˚C for 5 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with toluene:ethyl acetate 95:5 and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene -3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-naphthylmethyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-8**) (17.7 mg, 18.1 μmol, 41%).

$[\alpha]_D^{21}$ +19.3 ˚ (*c* 0.885, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.13-7.79 (m, 27H, aromatic), 5.55 (s, 1H, a or a'), 5.55 (s, 1H, a or a'), 5.27 (dd, 1H, H-B2, $J_{B1,B2}$ = 6.8 Hz, $J_{B2,B3}$ = 7.7 Hz), 5.23 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 7.2 Hz, $J_{A2,A3}$ = 8.2 Hz), 4.88 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 6.8 Hz), 4.84 (d, 1H, c, J_{gem} = 12.6 Hz), 4.75 (d, 1H, c, J_{gem} = 12.6 Hz), 4.53 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.2 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-B6b, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.18 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.15 (dd, 1H, H-A3, $J_{A2,A3}$ = 8.2 Hz, $J_{A3,A4}$ = 9.2 Hz), 3.91 (dd, 1H, H-B3, $J_{B2,B3}$ = 7.7 Hz, $J_{B3,B4}$ = 9.2 Hz), 3.64-3.84 (m, 5H, H-A4, H-B4, H-A6a, H-B6a, OCH_2), 3.52 (ddd, 1H, H-B5, $J_{B4,B5}$ = $J_{B5,B6a}$ = 9.7 Hz, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz), 3.39 (ddd, 1H, H-A5, $J_{A4,A5}$ = $J_{A5,A6a}$ = 9.7 Hz, $J_{A5,A6b}$ = 4.8 Hz), 3.32 (br, 1H, OCH_2), 1.34 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.01-1.22 (m, 10H, aliphatic), 0.81 (t, 3H,

CH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 164.8, 164.6, 137.4, 137.3, 135.4, 133.1, 132.9, 132.7, 129.8, 129.7x2, 129.6, 129.3, 129.0, 128.3x5, 128.1, 127.9, 127.6, 126.7, 126.2x2, 126.1, 125.8, 125.7, (101.6x2, 101.2, 100.6(anomeric, benzylidene)), 81.0, 79.5, 78.3, 78,1, 73,8, 73.7, 73.6, 70.2, 68.9, 68.8, 66.6, 66.1, 31.8, 29.4, 29.2, 29.1, 25.8, 22.7, 14.1; IR (solid): 2926, 1721, 1377, 1268, 1073, 1008, 688, 653 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{59}H_{63}O_{13}$ $[M+H]^+$ m/z = 979.4269, found: 979.4274.



Deprotection of C3 position of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-naphthylmethyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-8)

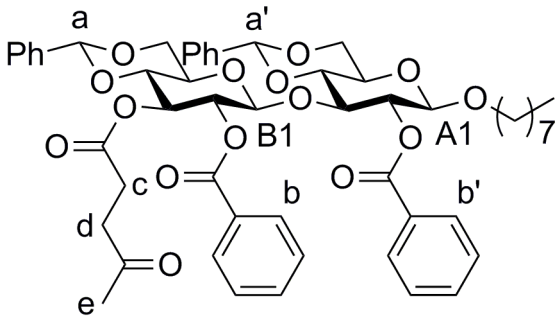
To a stirred solution of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-2-naphthylmethyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-8**) (17.7 mg, 18.1 μmol, 1.00 eq.) in CH_2Cl_2 (0.800 mL) and MeOH (0.200 mL) was added DDQ (20.5 mg, 90.5μmol, 5.00 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 75:25 to give octyl 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-(2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-12**) (1.30 mg, 1.55 μmol, 9%).

Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-9)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (**3-5**) (30.0 mg, 53.3 μmol, 1.20 eq.), octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-2**) (20.9 mg, 44.4 μmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (88.8 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.890 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (14.4 mg, 63.9 μmol, 1.44 eq.) and TfOH (2.75 μL, 31.1 μmol, 0.700 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at 0 ˚C for 14 h, the

reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 50:50 and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-9**) (18.1 mg, 19.3 μmol, 47%).

$[\alpha]_D^{22}$ -5.00 ° (*c* 0.905, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.73 (d, 2H, b or b', J = 7.7 Hz), 7.61 (d, 2H, b or b', J = 7.7 Hz), 7.24-7.53 (m, 16H, aromatic), 5.58 (s, 1H, a or a'), 5.34 (s, 1H, a or a'), 5.31 (dd, 1H, H-B3, $J_{B2,B3}$ = 8.2 Hz, $J_{B3,B4}$ = 9.2 Hz), 5.23 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz, $J_{A2,A3}$ = 8.2 Hz), 5.22 (dd, 1H, H-B2, $J_{B1,B2}$ = 7.2 Hz, $J_{B2,B3}$ = 8.2 Hz), 4.93 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 7.2 Hz), 4.53 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz), 4.37 (dd, 1H, H-B6b, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.20 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 5.3 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.16 (dd, 1H, H-A3, $J_{A2,A3}$ = 8.2 Hz, $J_{A3,A4}$ = 9.7 Hz), 3.74-3.86 (m, 4H, H-A6a, H-B4, H-B6a, OCH_2), 3.70 (dd, 1H, H-A4, $J_{A3,A4}$ = 9.7 Hz, $J_{A4,A5}$ = 10.6 Hz), 3.52 (ddd, 1H, H-B5, $J_{B4,B5}$ = $J_{B5,B6a}$ = 9.7 Hz, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz), 3.46 (ddd, 1H, H-A5, $J_{A4,A5}$ = 10.6, $J_{A5,A6a}$ = 9.7 Hz, $J_{A5,A6b}$ = 4.8 Hz), 3.33 (br-m, 1H, OCH_2), 2.30-2.47 (m, 4H, c, d), 1.93 (s, 3H, e), 1.34 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 0.86-1.21 (m, 10H, aliphatic), 0.81 (t, 3H, CH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 205.8, 171.8, 164.9, 164.6, 137.2, 136.9, 133.0, 132.9, 129.9, 129.7, 129.6, 129.3x2, 129.2, 129.1, 128.4, 128.3, 128.2, 126.2, 126.1, (101.7, 101.5, 101.4, 100.8(anomeric, benzylidene)), 79.4, 78.7, 78.1, 73.5, 72.9, 72.1, 70.3, 68.8, 68.7, 66.6, 66.3, 37.9, 31.8, 29.6, 29.4, 29.2, 29.1, 28.1, 25.8, 22.7, 14.1; IR (solid): 2929, 2363, 1728, 1452, 1268, 1027, 847, 652, 496 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{53}H_{61}O_{15}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 937.4010, found: 937.4014.



Deprotection of C3 position of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-9)

To a stirred solution of the octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-9**) (18.1 mg, 19.3 μmol,

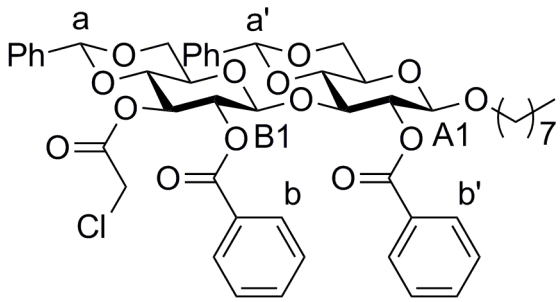
1.00 eq.) in dry THF (1.00 mL) was added hydrazine monohydrate (0.0500 mL) and acetic acid (0.100 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 15 min, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 75:25 to give octyl 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-(2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-12**) (14.5 mg, 17.3 μmol, 90%).

Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-chloroacetyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-10)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-chloroacetyl-β-D-glucopyranoside (**3-6**) (27.0 mg, 49.9 μmol, 1.20 eq.), octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-2**) (19.6 mg, 41.6 μmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (83.2 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.830 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (13.5 mg, 59.9 μmol, 1.44 eq.) and TfOH (2.60 μL, 29.1 μmol, 0.700 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at 0 ˚C for 14 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 70:30 and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-chloroacetyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-10**) (14.2 mg, 15.5 μmol, 43%).

$[\alpha]_D^{22}$ -6.80 ˚ (*c* 0.710, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.74 (d, 2H, b or b', J = 7.7 Hz), 7.61 (d, 2H, b or b', J = 7.7 Hz), 7.24-7.54 (m, 16H, aromatic), 5.58 (s, 1H, a or a'), 5.37 (dd, 1H, H-B3, $J_{B2,B3}$ = $J_{B3,B4}$ = 8.7 Hz), 5.34 (s, 1H, a or a'), 5.24 (br-t, 2H, H-A2, H-B2), 4.95 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 6.8 Hz), 4.54 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz), 4.37 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.20 (dd, 1H, H-B6b, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.16 (dd, 1H, H-A3, $J_{A2,A3}$ = 8.7 Hz, $J_{A3,A4}$ = 9.2 Hz), 3.90 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 14.5 Hz), 3.83 (d, 1H, CH_2Cl, J_{gem} = 14.5 Hz), 3.68-3.86 (m, 4H, H-A6a, H-B4, H-B6a, OCH_2), 3.71 (dd, 1H, H-A4, $J_{A3,A4}$ = 9.2 Hz, $J_{A4,A5}$ = 10.1 Hz), 3.44-3.56 (m, 2H, H-A5, H-B5), 3.34 (br-m, 1H, OCH_2), 1.34 (br-t, 2H, OCH$_2$CH_2), 0.88-1.20 (m, 10H, aliphatic), 0.81 (t, 3H, CH$_2$CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 166.6, 164.9, 164.6, 137.2, 136.8, 133.1, 133.0, 129.9, 129.7, 129.5, 129.4, 129.2, 129.0, 128.4x2, 128.3x2, 126.2, 126.1, (101.7, 101.5x2, 100.7(anomeric, benzylidene)), 79.5, 78.8, 77.8, 73.8, 73.4, 72.7, 70.3, 68.9, 68.7, 66.5, 66.2, 40.5, 31.8, 29.4, 29.2, 29.1, 25.8, 22.7, 14.1; IR (solid): 2932, 1768, 1721, 1275,

1084, 920, 769, 652, 515 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{50}H_{56}O_{14}Cl$ $[M+H]^+$ *m/z* = 915.3359, found: 915.3352.



Deprotection of C3 position of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-chloroacetyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-10)

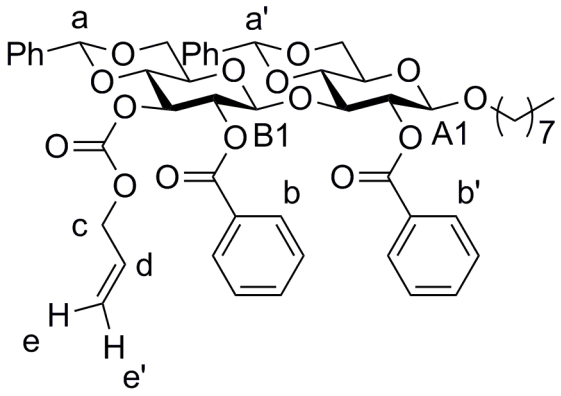
To a stirred solution of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-chloroacetyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-10**) (14.0 mg, 15.3 μmol, 1.00 eq.) in dry DMF (1.00 mL) was added thiourea (58.2 mg, 0.765 mmol, 5.00 eq.) and 2,6-lutidine (89.1 μL, 0.765 mmol, 5.00 eq.) at room temperature. After being stirred at 70 ˚C for 2 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with water, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 75:25 to give octyl 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-(2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-12**) (11.4 mg, 13.6 μmol, 89%).

Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-allyloxycarbonyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-11)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-allyloxycarbonyl-β-D-glucopyranoside (**3-7**) (27.7 mg, 50.5 μmol, 1.20 eq.), octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-2**) (19.8 mg, 42.1 μmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (84.2 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.840 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (13.6 mg, 60.6 μmol, 1.44 eq.) and TfOH (2.60 μL, 29.5 μmol, 0.700 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at -10 ˚C for 21 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions

of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 70:30 and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl -4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-allyloxycarbonyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-11**) (3.70 mg, 4.01 μmol, 10%).

$[\alpha]_D^{22}$ +4.20 ° (*c* 0.185, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.75 (d, 2H, b or b', J = 8.2 Hz), 7.64 (d, 2H, b or b', J = 8.2 Hz), 7.24-7.53 (m, 16H, aromatic), 5.62 (br-m, 1H, d), 5.58 (s, 1H, a or a'), 5.26 (s, 1H, a or a'), 5.22-5.27 (m, 2H, H-B2, e), 5.11 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz, $J_{A2,A3}$ = 10.1 Hz), 5.09 (dd, 1H, e', $J_{d,e'}$ = 17.4 Hz, J_{gem} = 1.4 Hz), 4.96 (dd, 1H, H-B3, $J_{B2,B3}$ = 7.7 Hz, $J_{B3,B4}$ = 11.6 Hz), 4.95 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 7.7 Hz), 4.54 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz), 4.35-4.40 (m, 3H, H-B6b, c), 4.19 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 5.3 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.17 (dd, 1H, H-A3, $J_{A2,A3}$ = 10.1 Hz, $J_{A3,A4}$ = 9.7 Hz), 3.76-3.89 (m, 4H, H-A6a, H-B4, H-B6a, OCH_2), 3.69 (dd, 1H, H-A4, $J_{A3,A4}$ = 9.7 Hz, $J_{A4,A5}$ = 10.6 Hz), 3.46-3.56 (m, 2H, H-A5, H-B5), 3.34 (br, 1H, OCH_2), 1.35 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 0.86-1.21 (m, 10H, aliphatic), 0.81 (t, 3H, CH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 164.7, 164.6, 154.3, 137.2, 136.9, 133.0, 132.9, 131.1, 130.0, 129.8, 129.6, 129.4, 129.2, 129.1, 128.4, 128.3, 128.2x2, 136.3, 126.2, 118.9, (101.7, 101.6, 101.4, 100.6(anomeric, benzylidene)), 79.4, 78.4, 77.8, 76.1, 73.6, 72.9, 70.3, 68.9, 68.7x2, 66.6, 66.1, 31.8, 29.4, 29.2, 29.1, 25.8, 22.7, 14.1; IR (solid): 2930, 1730, 1377, 1247, 1087, 698, 652, 497 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{52}H_{59}O_{15}$ $[M+H]^+$ m/z = 923.3854, found: 923.3821.



Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-13)

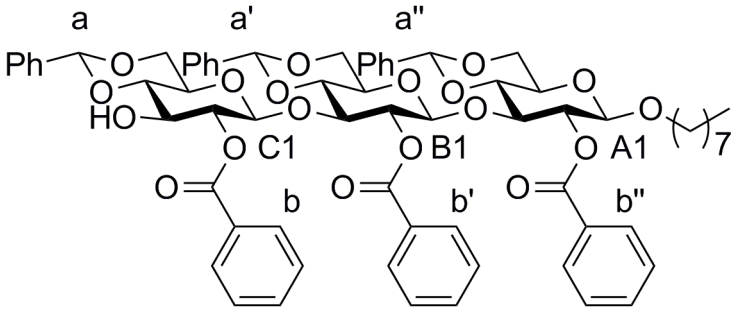
A mixture of phenylthio 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (**3-5**) (235 mg, 0.417 mmol, 1.50 eq.), octyl 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-(2-O-benzoyl-4,6-O-

benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-12**) (233 mg, 0.278 mmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (556 mg) in dry CH_2Cl_2 (5.60 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (113 mg, 0.500 mmol, 1.80 eq.) and TfOH (7.4 μL, 83.4 μmol, 0.300 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at -20 ˚C for 15 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 70:30. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in dry THF (3.00 mL) was added hydrazine monohydrate (0.150 mL) and acetic acid (0.300 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 15 min, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 70:30 and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene -β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-13**) (235 mg, 0.197 mmol, 2 steps 74%).

$[\alpha]_D^{24}$ -10.6 ˚ (*c* 0.965, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.00 (d, 2H, b or b' or b'', J = 7.2 Hz), 7.87 (d, 2H, b or b' or b'', J = 7.7 Hz), 7.68 (d, 2H, b or b' or b'', J = 7.7 Hz), 7.16-7.60 (m, 24H, aromatic), 5.46 (s, 1H, a or a' or a''), 5.43 (s, 1H, a or a' or a''), 5.19 (dd, 1H, H-C2, $J_{C1,C2}$ = 7.2 Hz, $J_{C2,C3}$ = 7.7 Hz), 5.15 (dd, 1H, H-B2, $J_{B1,B2}$ = 4.3 Hz, $J_{B2,B3}$ = 3.9 Hz), 5.11 (d, 1H, H-C1, $J_{C1,C2}$ = 7.2 Hz), 4.94 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 4.3 Hz), 4.90 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz, $J_{A2,A3}$ = 8.7 Hz), 4.69 (s, 1H, a or a' or a''), 4.45 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz), 4.29 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.21 (dd, 1H, H-C6b, $J_{C5,C6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.11-4.15 (m, 2H, H-A3, H-B6b), 4.07 (dd, 1H, H-4B, $J_{B3,B4}$ = 8.2 Hz, $J_{B4,B5}$ = 9.2 Hz), 4.03 (dd, 1H, H-3B, $J_{B2,B3}$ = 3.9 Hz, $J_{B3,B4}$ = 8.2 Hz), 3.97 (dd, 1H, H-3C, $J_{C2,C3}$ = 7.7 Hz, $J_{C3,C4}$ = 8.7 Hz), 3.47-3.78 (m, 7H, H-C4, H-B5, H-C5, H-A6a, H-B6a, H-C6a, OCH_2), 3.40 (ddd, 1H, H-A5, $J_{A4,A5}$ = $J_{A5,A6a}$ = 9.2 Hz, $J_{B5,B6b}$ = 4.8 Hz), 3.33 (br, 1H, OCH_2), 3.22 (dd, 1H, H-4A, $J_{A3,A4}$ = $J_{A4,A5}$ = 9.2 Hz), 2.57 (br-s, 1H, OH), 1.37 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.03-1.22 (m, 10H, aliphatic), 0.83 (t, 3H, CH_2CH_3, J = 7.7 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 165.9, 164.7, 164.6, 137.4, 137.3, 137.0, 133.6, 133.2, 133.1, 130.1, 129.8x2, 129.6x2, 129.4, 129.3, 129.2, 128.9, 128.8, 128.4x3, 128.3, 128.0, 126.5, 126.4, 126.2, (102.0, 101.9, 101.5, 100.7, 98.3, 98.2(anomeric, benzylidene)), 80.9, 78.9, 77.8, 76.5, 74.9, 74.7, 74.5, 72.8, 72.7, 70.1, 68.9x2, 68.8, 66.5, 66.1, 65.5, 31.8, 29.5, 29.3, 29.1, 25.8, 22.7, 14.1; IR (solid): 3480, 2923, 2855, 2367, 1733, 1554, 1377, 1173, 1022, 912, 773, 677 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{68}H_{73}O_{19}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1193.4746,

found: 1193.4749.

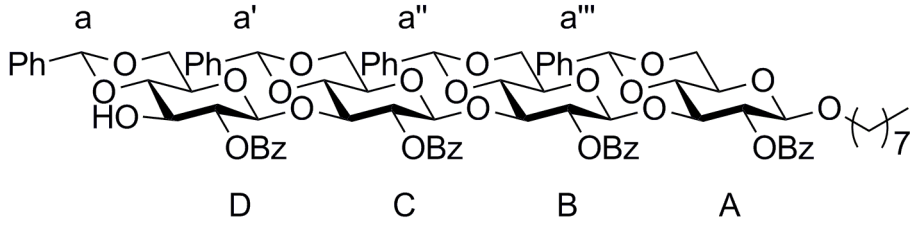


Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-14)

A mixture of phenylthio 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (**3-5**) (200 mg, 0.355 mmol, 2.00 eq.), octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-13**) (212 mg, 0.178 mmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (356 mg) in dry CH_2Cl_2 (3.60 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (96.1 mg, 0.427 mmol, 2.40 eq.) and TfOH (4.70 μL, 53.4 μmol, 0.300 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at -20 ˚C for 1 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 70:30. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in dry THF (3.00 mL) was added hydrazine monohydrate (0.150 mL) and acetic acid (0.300 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 15 min, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with toluene:ethyl acetate 90:10 to give octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-14**) (171 mg, 0.110 mmol, 2 steps 62%).

$[\alpha]_D^{25}$ +3.60 ° (*c* 1.55, $CHCl_3$); ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.16-7.94 (m, 30H, aromatic), 5.53 (s, 1H, a or a' or a'' or a'''), 5.42 (s, 1H, a or a' or a'' or a'''), 5.18 (dd, 1H, H-D2, $J_{D1,D2}$ = 7.2 Hz, $J_{D2,D3}$ = 8.2 Hz), 5.14 (dd, 1H, H-B2 or H-C2, $J_{1,2}$ = 4.3 Hz, $J_{2,3}$ = 3.9 Hz), 5.06 (d, 1H, H-D1, $J_{D1,D2}$ = 7.2 Hz), 4.97 (d, 1H, H-B1 or H-C1, $J_{1,2}$ = 4.8 Hz), 4.93 (dd, 1H, H-A2, $J_{A1,A2}$ = 8.2 Hz, $J_{A2,A3}$ = 8.7 Hz), 4.79-4.84 (m, 2H, H-B1 or H-C1, H-B2 or H-C2), 4.82 (s, 1H, a or a' or a'' or a'''), 4.80 (s, 1H, a or a' or a'' or a'''), 4.46 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 8.2 Hz), 4.33 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.20 (dd, 1H, H-D6b, $J_{D5,D6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.04-4.14 (m, 4H, H-A3, H-B3 or H-C3, H-B6b, H-C6b), 3.91-4.00 (m, 3H, H-B3 or H-C3, H-D3, H-B4 or H-C4), 3.30-3.79 (m, 13H, H-A4, H-B4 or H-C4, H-D4, H-A5, H-B5, H-C5, H-D5, H-A6a, H-B6a, H-C6a, H-D6a, OCH_2), 2.57 (br-s, 1H, OH), 1.36 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.02-1.22 (m, 10H, aliphatic), 0.83 (t, 3H, CH_2CH_3, *J* = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 165.9, 164.7x3, 137.4, 137.3x2, 137.1, 133.7, 133.4, 133.1x2, 130.0x2, 129.8x2, 129.7x3, 129.4, 129.3, 129.3, 129.2, 129.1, 129.0, 128.7, 128.6, 128.4x5, 128.3, 128.1x2, 126.4x3, 126.2, (101.9x2, 101.6, 101.3, 100.8, 98.8, 98.6, 97.1(anomeric, benzylidene)), 80.9, 79.1, 78.3, 77.6, 75.5, 75.0, 74.4, 74.2, 73.7, 72.7, 72.6, 70.2, 68.8, 68.7, 66.5, 66.1, 65.7, 65.6, 31.8, 29.5, 29.2, 29.1, 25.8, 22.7, 14.1; IR (solid): 3474, 2932, 2870, 1731, 1377, 1262, 1176, 1026, 696, 526 cm^{-1}.



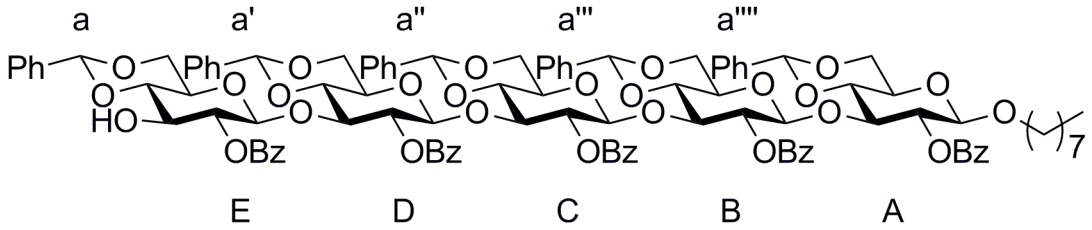
Octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-15)

A mixture of phenylthio 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (**3-5**) (101 mg, 0.179 mmol, 2.00 eq.), octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-14**) (139 mg, 89.7 μmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (179 mg) in dry CH_2Cl_2 (1.80 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (48.4 mg, 0.215 mmol, 2.40 eq.) and TfOH (4.80 μL, 53.8 μmol, 0.600 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at -10 ˚C for 1 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture

of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 70:30. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in dry THF (2.00 mL) was added hydrazine monohydrate (0.100 mL) and acetic acid (0.200 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 15 min, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 70:30 to give octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-15**) (105 mg, 54.9 μmol, 2 steps 61%).

$[\alpha]_D^{25}$ +20.3 ° (*c* 1.03, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.15-7.97 (m, 50H, aromatic), 5.51 (s, 1H, a or a' or a'' or a''' or a''''), 5.44 (s, 1H, a or a' or a'' or a''' or a''''), 5.20 (dd, 1H, H-E2, $J_{E1,E2}$ = 7.2 Hz, $J_{E2,E3}$ = 8.2 Hz), 5.18 (dd, 1H, H-B2 or H-C2 or H-D2, $J_{1,2}$ = 4.8 Hz, $J_{2,3}$ = 5.3 Hz), 5.11 (d, 1H, H-E1, $J_{E1,E2}$ = 7.2 Hz), 4.98 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 4.8 Hz), 4.82-4.90 (m, 5H, H-B1 or H-C1 or H-D1x2, H-A2, H-B2 or H-C2 or H-D2x2), 4.82 (s, 1H, a or a' or a'' or a''' or a''''), 4.76 (s, 1H, a or a' or a'' or a''' or a''''), 4.74 (s, 1H, a or a' or a'' or a''' or a''''), 4.44 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz), 4.31 (dd, 1H, H-A6b, $J_{A5,A6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.22 (dd, 1H, H-E6b, $J_{E5,E6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.97-4.16 (m, 8H, H-A3, H-B3 or H-C3 or H-D3x2, H-E3, H-B4 or H-C4 or H-D4, H-B6b, H-C6b, H-D6b), 3.89 (dd, 1H, H-B3 or H-C3 or H-D3, $J_{2,3}$ = 3.9 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 3.20-3.78 (m, 16H, H-A4, H-B4 or H-C4 or H-D4x2, H-E4, H-A5, H-B5, H-C5, H-D5, H-E5, H-A6a, H-B6a, H-C6a, H-D6a, H-E6a, O*CH*$_2$), 2.57 (br-s, 1H, OH), 1.36 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.02-1.22 (m, 10H, aliphatic), 0.83 (t, 3H, CH_2CH_3, *J* = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 165.9, 164.9, 164.7x2, 164.6, 137.4, 137.3, 133.9, 133.6, 133.2, 133.1x2, 130.0, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.5, 129.4x2, 129.3, 129.2x3, 129.1x2, 129.0, 128.9x3, 128.7, 128.6, 128.5x2, 128.4x2, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 126.5, 126.4x2, 126.2, (102.1, 101.9, 101.5, 101.4, 101.1, 100.8, 98.5, 98.3, 97.3, 97.0(anomeric, benzylidene)), 80.9, 79.0, 78.2, 78.0, 77.6, 74.9, 74.7, 74.4, 74.3, 73.6, 73.1x2, 72.7, 72.5, 72.1, 70.1, 68.8, 68.7, 68.6, 66.5, 66.1, 65.7, 65.6, 65.5, 31.8, 29.5, 29.2x2, 29.1, 25.8, 22.7x2, 14.3, 14.1; IR (solid): 3507, 2923, 2854, 1742, 1377, 1052, 921, 772, 697, 526 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{108}H_{109}O_{31}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1901.6953, found: 1901.6912.



Octyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (3-62)

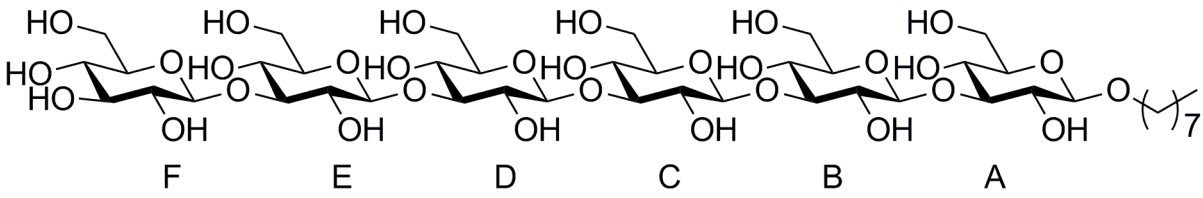
A mixture of phenylthio 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-levurinoyl-β-D-glucopyranoside (**3-5**) (14.0 mg, 24.8 μmol, 2.00 eq.), octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-15**) (23.5 mg, 12.4 μmol, 1.00 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene), and pulverized activated molecular sieves (4A) (24.8 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.250 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. To the reaction mixture was added NIS (6.70 mg, 29.8 μmol, 2.40 eq.) and TfOH (0.300 μL, 3.72 μmol, 0.300 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at 0 ˚C for 2 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with hexane:ethyl acetate 70:30. The residue was used for the next reaction without further purification.

A solution of the residue in MeOH (5.00 mL) and ethyl acetate (5.00 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with flow rate 1 mL/min at 60 ˚C under 60 bar. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the residue in MeOH (10.0 mL) and acetic acid (0.100 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with the same condition. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo* and azeotroped with toluene. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in MeOH (1.00 mL) was added a catalytic amount of sodium methoxide at room temperature. After being stirred at the same temperature for 4 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X at room temperature. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with MeOH:water 40:60 to give octyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-β-D-

glucopyranoside (**3-62**) (1.80 mg, 1.63 μmol, 3 steps 29%).

$[\alpha]_D^{25}$ -23.9 ° (*c* 0.0500, H_2O); ^1H NMR (400 MHz, D_2O, 30 °C): δ 4.77 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1 or H-E1 or H-F1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.75 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1 or H-E1 or H-F1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.70 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1 or H-E1 or H-F1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.68 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1 or H-E1 or H-F1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.66 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1 or H-E1 or H-F1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.45 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 8.2 Hz), 3.88-3.91 (m, 7H, H-A3, H-A6b, H-B6b, H-C6b, H-D6b, H-E6b, H-F6b), 3.62-3.78 (m, 12H, H-A4, H-B4, H-C4, H-D4, H-E4, H-F4, H-A6a, H-B6a, H-C6a, H-D6a, H-E6a, H-F6a), 3.31-3.55 (m, 19H, H-A2, H-B2, H-C2, H-D2, H-E2, H-F2, H-B3, H-C3, H-D3, H-E3, H-F3, H-A5, H-B5, H-C5, H-D5, H-E5, H-F5, OCH_2), 1.61 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.25-1.34 (m, 10H, aliphatic), 0.84 (t, 3H, CH_2CH_3, *J* = 6.8 Hz); IR (solid): 3275, 2923, 2164, 1624, 1433, 1203, 1035, 665, 536 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{44}H_{79}O_{31}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1103.4651, found: 1103.4602.

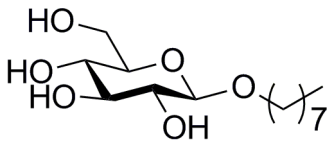


Octyl β-D-glucopyranoside (3-63)

A solution of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-2**) (18.2 mg, 38.6 μmol, 1.00 eq.) in MeOH (5.00 mL) and ethyl acetate (5.00 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with flow rate 1 mL/min at 60 °C under 60 bar. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the residue in MeOH (10.0 mL) and acetic acid (0.100 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with the same condition. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo* and azeotroped with toluene. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in MeOH (1.00 mL) was added a catalytic amount of sodium methoxide at room temperature. After being stirred at the same temperature for 4 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X at room temperature. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with MeOH:water 40:60 to give octyl β-D-glucopyranoside (**3-63**) (3.50 mg, 12.0 μmol, 2 steps 31%).

$[\alpha]_D^{25}$ -33.0 ° (*c* 0.105, acetone); ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 4.23 (d, 1H, H-A1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 3.84-3.92 (m, 2H, H-3, H-6b), 3.65 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 5.3 Hz, J_{gem} = 11.6), 3.52 (br, 1H, OCH_2), 3.22-3.36 (m, 3H, H-4, H-5, OCH_2), 3.16 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 1.61 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.30-1.39 (m, 10H, aliphatic), 0.89 (t, 3H, CH_2CH_3, *J* = 6.8 Hz); IR (solid): 3381, 2925, 2855, 1720, 1666, 1457, 1377, 1028, 672, 520 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{14}H_{29}O_6$ $[M+H]^+$ *m/z* = 293.1964, found: 293.1965.

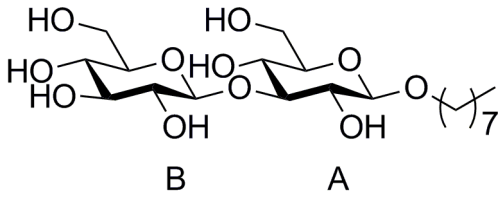


Octyl 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (3-64)

A solution of octyl 2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-3-O-(2-O-benzoyl-4,6-O-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-12**) (11.5 mg, 13.7 μmol, 1.00 eq.) in MeOH (5.00 mL) and ethyl acetate (5.00 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with flow rate 1 mL/min at 60 ˚C under 60 bar. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the residue in MeOH (10.0 mL) and acetic acid (0.100 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with the same condition. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo* and azeotroped with toluene. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in MeOH (1.00 mL) was added a catalytic amount of sodium methoxide at room temperature. After being stirred at the same temperature for 4 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X at room temperature. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with MeOH:water 40:60 to give octyl 3-*O*-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (**3-64**) (2.60 mg, 5.72 μmol, 2 steps 42%).

$[\alpha]_D^{25}$ -40.3 ° (*c* 0.0400, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O, 40 ˚C): δ 4.70 (d, 1H, H-B1, $J_{B1,B2}$ = 8.2 Hz), 4.44 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz), 3.87-3.90 (m, 3H, H-A3, H-A6b, H-B6b), 3.64-3.72 (m, 4H, H-A4, H-B4, H-A6a, H-B6a), 3.32-3.52 (m, 7H, H-A2, H-B2, H-B3, H-A5, H-B5, OCH_2), 1.59 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.25-1.29 (m, 10H, aliphatic), 0.84 (t, 3H, CH_2CH_3, *J* = 7.2 Hz); IR (solid): 3295, 2922, 2134, 1661, 1375, 1158, 1018, 891, 668, 520 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{20}H_{39}O_{11}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 455.2492, found: 455.2495.

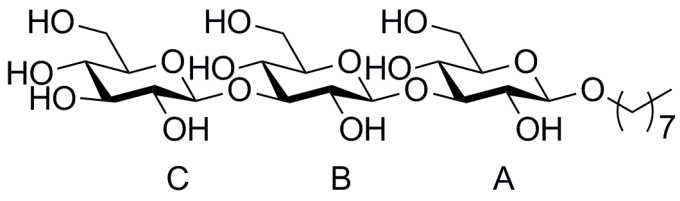


Octyl 3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (3-65)

A solution of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-13**) (12.6 mg, 10.6 μmol, 1.00 eq.) in MeOH (5.00 mL) and ethyl acetate (5.00 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with flow rate 1 mL/min at 60 ˚C under 60 bar. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the residue in MeOH (10.0 mL) and acetic acid (0.100 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with the same condition. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo* and azeotroped with toluene. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in MeOH (1.00 mL) was added a catalytic amount of sodium methoxide at room temperature. After being stirred at the same temperature for 4 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X at room temperature. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with MeOH:water 40:60 to give octyl 3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (**3-65**) (3.10 mg, 5.03 μmol, 2 steps 48%).

$[\alpha]_D^{25}$ -23.6 ˚ (*c* 0.130, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O, 45 ˚C): δ 4.75 (d, 1H, H-B1 or H-C1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.72 (d, 1H, H-B1 or H-C1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.45 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 8.2 Hz), 3.88-3.91 (m, 4H, H-A3, H-A6b, H-B6b, H-C6b), 3.63-3.77 (m, 6H, H-A4, H-B4, H-C4, H-A6a, H-B6a, H-C6a), 3.32-3.56 (m, 10H, H-A2, H-B2, H-C2, H-B3, H-C3, H-A5, H-B5, H-C5, OCH_2), 1.60 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.26-1.35 (m, 10H, aliphatic), 0.84 (t, 3H, CH_2CH_3, *J* = 6.8 Hz); IR (solid): 3336, 2912, 2154, 1642, 1454, 1344, 1082, 642, 483 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{26}H_{49}O_{16}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 617.3021, found: 617.3027.

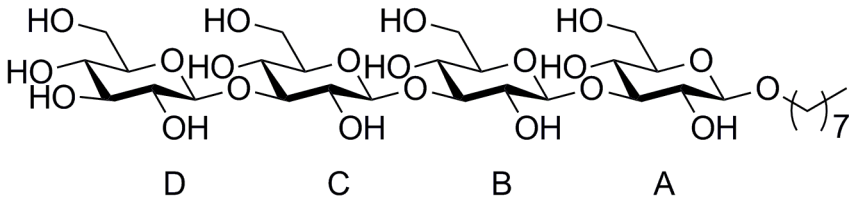


Octyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (3-66)

A solution of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-14**) (15.6 mg, 10.1 μmol, 1.00 eq.) in MeOH (5.00 mL) and ethyl acetate (5.00 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with flow rate 1 mL/min at 60 ˚C under 60 bar. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the residue in MeOH (10.0 mL) and acetic acid (0.100 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with the same condition. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo* and azeotroped with toluene. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in MeOH (1.00 mL) was added a catalytic amount of sodium methoxide at room temperature. After being stirred at the same temperature for 4 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X at room temperature. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with MeOH:water 40:60 to give octyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (**3-66**) (4.80 mg, 6.16 μmol, 2 steps 61%).

$[\alpha]_D^{25}$ -21.6 ˚ (*c* 0.245, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O, 45 ˚C): δ 4.77 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.74 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.72 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.45 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz), 3.85-3.92 (m, 5H, H-A3, H-A6b, H-B6b, H-C6b, H-D6b), 3.63-3.76 (m, 8H, H-A4, H-B4, H-C4, H-D4, H-A6a, H-B6a, H-C6a, H-D6a), 3.32-3.56 (m, 13H, H-A2, H-B2, H-C2, H-D2, H-B3, H-C3, H-D3, H-A5, H-B5, H-C5, H-D5, OC*H*$_2$), 1.60 (br-t, 2H, OCH$_2$C*H*$_2$), 1.26-1.35 (m, 10H, aliphatic), 0.84 (t, 3H, CH$_2$C*H*$_3$, *J* = 6.8 Hz); IR (solid): 3390, 2926, 2554, 1642, 1464, 1078, 1036, 856, 638, 494 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{32}H_{59}O_{21}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 779.3549, found: 779.3554.

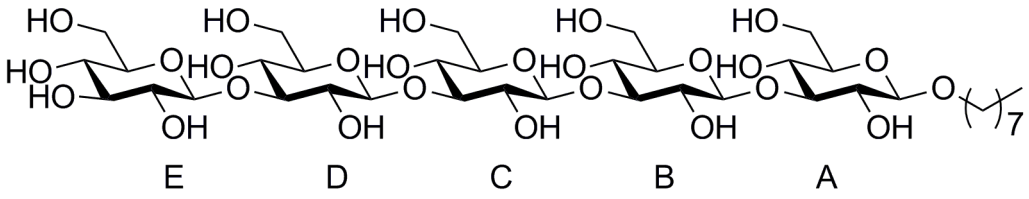


Octyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (3-67)

A solution of octyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-15**) (12.5 mg, 6.57 μmol, 1.00 eq.) in MeOH (5.00 mL) and ethyl acetate (5.00 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with flow rate 1 mL/min at 60 ˚C under 60 bar. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo*. A solution of the residue in MeOH (10.0 mL) and acetic acid (0.100 mL) was introduced at the inlet tube to fill the hydrogenation reactor (H-Cube™) with the same condition. After hydrogenation, the reaction mixture in the hydrogenation reactor was collected and concentrated *in vacuo* and azeotroped with toluene. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in MeOH (1.00 mL) was added a catalytic amount of sodium methoxide at room temperature. After being stirred at the same temperature for 4 h, the reaction mixture was neutralized with DOWEX 50W-4X at room temperature. After being stirred for 5 min, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with MeOH:water 40:60 to give octyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranoside (**3-67**) (2.20 mg, 2.34 μmol, 2 steps 36%).

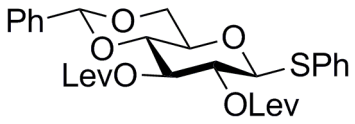
$[\alpha]_D^{25}$ -21.3 ˚ (*c* 0.115, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O, 50 ˚C): δ 4.76 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1 or H-E1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.74 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1 or H-E1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.72 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1 or H-E1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.71 (d, 1H, H-B1 or H-C1 or H-D1 or H-E1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.44 (d, 1H, H-A1, $J_{A1,A2}$ = 7.7 Hz), 3.85-3.91 (m, 6H, H-A3, H-A6b, H-B6b, H-C6b, H-D6b, H-E6b), 3.62-3.78 (m, 10H, H-A4, H-B4, H-C4, H-D4, H-E4, H-A6a, H-B6a, H-C6a, H-D6a, H-E6a), 3.31-3.55 (m, 16H, H-A2, H-B2, H-C2, H-D2, H-E2, H-B3, H-C3, H-D3, H-E3, H-A5, H-B5, H-C5, H-D5, H-E5, OCH_2), 1.60 (br-t, 2H, OCH_2CH_2), 1.26-1.34 (m, 10H, aliphatic), 0.84 (t, 3H, CH_2CH_3, *J* = 7.2 Hz); IR (solid): 3437, 2913, 2086, 1635, 1367, 1079, 896, 687, 517 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{38}H_{69}O_{26}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 941.4077, found: 941.4076.


HO
HO
HO
O
OH
E
D
C
B
A
7

Phenylthio 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranoside (3-48)

To a stirred solution of phenylthio 4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-52**) (10.0 g, 27.8 mmol, 1.00 eq.) in CH_2Cl_2 (100 mL) was added EDCI-HCl (12.8 g, 66.6 mmol, 2.40 eq.), levulinic acid (6.82 mL, 66.6 mmol, 2.40 eq.) and a catalytic amount of DMAP (340 mg, 2.78 mmol, 0.100 eq.) at 0 ˚C. After being stirred at room temperature for 6 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was recrystalized to give phenylthio 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranoside (**3-48**) (14.6 g, 26.2 mmol, 94%).

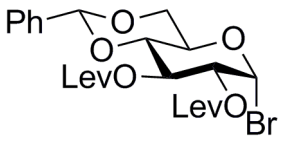
$[\alpha]_D^{25}$ -39.9 (c = 1.05, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.32-7.55 (m, 10H, aromatic), 5.49 (s, 1H, benzylidene), 5.36 (dd, 1H, H-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 5.03 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.78 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz), 4.39 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.79 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}$ = 10.2 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.65 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 10.2 Hz), 3.57 (ddd, 1H, H-5, $J_{5,4}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 10.2 Hz), 2.49-2.88 (m, 8H, Lev), 2.19 (s, 3H, Lev), 2.15 (s, 3H, Lev) ; ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.3 x 2, 172.0, 136.8, 133.1, 131.9, 129.2, 129.1, 128.5, 128.3, 126.3, 101.5, 86.9, 78.3, 72.8, 70.8, 70.6, 68.5, 37.9 x 2, 29.9, 29.8, 28.1, 28.0; IR (solid): 2980, 2036, 1717, 1586, 1411, 1148, 972, 690, 516 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{29}H_{33}O_9S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 557.1845, found: 557.1843.



4,6-*O*-Benzyliden-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl bromide (3-49)

A mixture of phenylthio 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranoside (**3-48**) (4.99 g, 8.96 mmol, 1.00 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (4.48 g) in dry CH_2Cl_2 (45.0 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to 0 ˚C. Iodinemonobromide (1.0 M solution in CH_2Cl_2, 13.4 mL, 13.4 mmol, 1.50 eq.) was added to the reaction mixture. After being stirred at same temperature for 2 h, the reaction mixture was quenched with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue (**3-49**) was used for the next reaction without

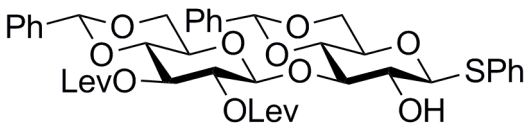
further purification.



Phenylthio 4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-53)

A mixture of 4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl bromide (**3-49**) (8.96 mmol, 1.00 eq.), phenylthio 4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**3-52**) (3.39 g, 9.41 mmol, 1.05 eq.) (azeotropycally dried three times with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (9.00 g) in dry CH_2Cl_2 (72.0 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -10 ˚C. To the mixture was added AgOTf (2.76 g, 10.8 mmol, 1.20 eq.) in dry toluene (18.0 mL). After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The filtrate was chromatographed on silica gel with 80:20 toluene:ethyl acetate and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give phenylthio 4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-53**) (3.10 g, 3.84 mmol, 2 steps 41%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.56-7.58 (m, 2H, aromatic), 7.48 (d, 2H, aromatic, J = 6.8 Hz), 7.30-7.42 (m, 11H, aromatic), 5.53 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.32 (dd, 1H, B-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 5.06 (dd, 1H, B-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 4.84 (d, 1H, B-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.67 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.34-4.38 (m, 2H, A-6a, OH), 4.15 (dd, 1H, B-6a, $J_{5,6a}$ = 10.6 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.55-3.81 (m, 6H, A-2, A-3, A-4, B-4, A-6b, B-6b), 3.38-3.50 (m, 2H, A-5, B-5), 2.44-2.98 (m, 8H, Lev), 2.23 (s, 3H, Lev), 2.12 (s, 3H, Lev); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 208.8, 206.3, 171.7 x 2, 137.3, 136.9, 133.0, 132.2, 129.1, 129.0, 128.2, 128.1 x 2, 126.2, 126.0, 102.9, 101.4, 101.0, 89.0, 84.6, 79.0, 78.2, 72.8, 72.0, 71.8, 70.7, 68.6, 66.2, 37.7, 30.1, 29.8, 27.9, 27.6; IR (solid): 3380, 2921, 2857, 2000, 1740, 1716, 1452, 1373, 1261, 1072, 1027, 747, 699, 554 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{42}H_{47}O_{14}S$ $[M+H]^+$ m/z = 807.2687, found: 807.2672.

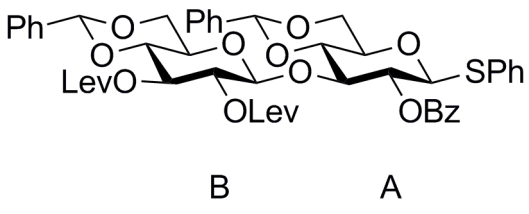


B A

Phenylthio
2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-46)

To a stirred solution of phenylthio 4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-53**) (3.03 g, 3.75 mmol, 1.00 eq.) in dry CH_2Cl_2 (19.0 mL) was added benzoyl chloride (1.32 mL, 11.2 mmol, 3.00 eq.), TMEDA (3.24 mL, 22.5 mmol, 6.00 eq.) and a catalytic amount of DMAP (45.8 mg, 0.375 mmol, 0.100 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 85:15 toluene:ethyl acetate to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-46**) (2.77 g, 3.05 mmol, 81%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -23.1 (c = 0.955, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.07 (d, 2H, aromatic, J = 7.7 Hz),7.64 (dd, 1H, aromatic, J = 7.2 Hz, J = 7.7 Hz), 7.48-7.54 (m, 4H, aromatic), 7.26-7.41 (m, 13H, aromatic), 5.56 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 5.30 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz), 5.07 (dd, 1H, B3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3.4}$ = 9.2 Hz), 4.99 (dd, 1H, B-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 4,85 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz), 4.70 (d, 1H, B-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.39 (dd, 1H, A-6a, $J_{5,6a}$ = 4.3 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.16-4.23 (m, 2H, A-3, B-6a), 3.83 (dd, 1H, A-6b. $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz, J_{gem} 10.1 Hz). 3.75 (dd, 1H, A-4, $J_{3.4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.54-3.68 (m, 3H, B-4, A-5, B-6b), 3.34 (ddd, 1H, B-5, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz), 2.34-2.74 (m, 8H, Lev), 2.08 (s, 6H, Lev); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5, 206.4, 171.8, 171.4, 165.0, 137.2, 136.9, 133.7, 132.8, 132.4, 129.9, 129.6, 129.3, 129.0, 128.8, 128.3, 128.2, 126.2, 126.1, 101.3, 101.2, 100.9, 87.5, 79.6, 78.7, 78.3, 72.4, 71.9, 71.7, 71.0, 68.6, 66.2, 37.9, 37.8, 29.7, 27.9, 27.5; IR (neat) 2873, 1719, 1601, 1377, 1268, 1155, 1026, 916, 748, 699, 543 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{49}H_{51}O_{15}S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 911.2949, found: 911.2919.

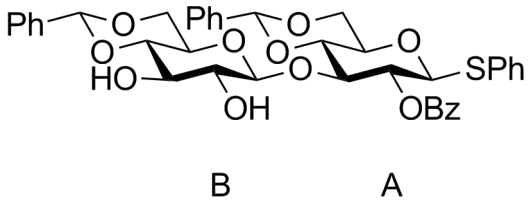


Phenylthio
2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside

(3-38)

To a stirred solution of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-46**) (932 mg, 1.02 mmol, 1.00 eq.) in THF (10.0 mL) was added acetic acid (2.00 mL) and hydrazine monohydrate (1.00 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 90:10 $CHCl_3$:MeOH and recrystalized to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-38**) (633 mg, 0.886 mmol, 87%).

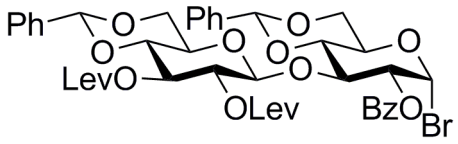
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.07 (d, 2H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.62 (dd, 1H, aromatic, J = 7.2 Hz, J = 7.2Hz), 7.32-7.51 (m, 17H, aromatic), 5.60 (s, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.27 (dd, 1H, A2, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.93 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz), 4.42-4.46 (m, 2H, B-1, A-6a), 4.19 (dd, 1H, A-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 3.85 (dd, 1H, A-6b, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.72-3.80 (m, 2H, A-4, B-6a), 3.57-3,65 (m, 2H, B-3, A-5), 3.38-3.46 (m, 3H, B-2, B-4, B-6b), 3.26 (ddd, 1H, B-5, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz, $J_{5.6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5.6b}$ = 9.7 Hz), 2.91 (br-s, 1H, OH), 2.50 (br-s, 1H, OH); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 165.8, 137.0, 136.6, 133.7, 133.4, 131.7, 130.0, 129.8, 129.6, 129.3, 129.1, 128.7, 128.6, 128.4 x 2, 126.4, 126.2, 103.1, 101.9, 101.7, 87.0, 80.3, 79.3, 79.0, 73.4, 72.8, 72.2, 70.9, 68.6, 68.4, 66.7; IR (solid): 3480, 2890, 2371, 1977, 1719, 1452, 1265, 1068, 709, 541 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{39}H_{39}O_{11}S$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 715.2213, found: 715.2216.



2-*O*-Benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl bromide (3-37)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-46**) (940 mg, 1.03 mmol, 1.00 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (1.03 g) in dry CH_2Cl_2 (10.3 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to 0 ˚C. Iodinemonobromide (1.0 M solution in CH_2Cl_2, 1.55 mL, 1.55 mmol, 1.50 eq.) was

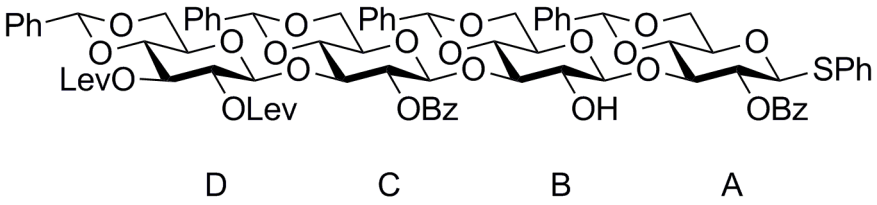
added to the reaction mixture. After being stirred at same temperature for 1 h, the reaction mixture was quenched with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 99:1 $CHCl_3$:NEt_3 and used for the next reaction without further purification.



Phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-33)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-32**) (610 mg, 0.853 mmol, 1.00 eq.), 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl bromide (**3-31**) (1.02 mmol, 1.20 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (1.70 g) in dry CH_2Cl_2 (13.8 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -10 ˚C. To the mixture was added AgOTf (318 mg, 1.23 mmol, 1.44 eq.) in dry toluene (3.40 mL). After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The filtrate was chromatographed on silica gel with 95:5 toluene:acetone to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-33**) (984 mg, 0.649 mmol, 76%).

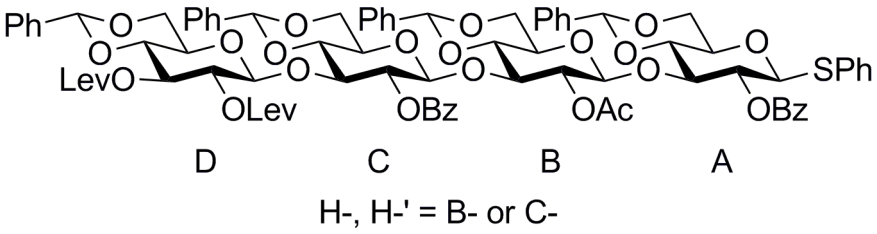
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.18-8-04 (m, 35H, aromatic), 5.55 (s, 1H, benzylidene), 5.42 (s, 2H, benzylidene), 5.26 (dd, 1H, D-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.6 Hz), 5.21 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 5.10 (dd, 1H, C-2, $J_{1,2}$ = 5.5 Hz, $J_{2,3}$ = 4.4 Hz), 5.06 (dd, 1H, D-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 5.01 (d, 1H, C-1, $J_{1,2}$ = 4.8 Hz), 4.88 (s, 1H, benzylidene), 4.87 (br-d, 2H, A-1, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.83 (s, 1H, benzylidene), 3.22-4.43 (m, 19H, A-3, A-4, A-5, A-6a, A-6b, B-3, B-1, B-2, B-3, B-4, B-5, B-6a, B-6b, C-4, C-5, C-6a, C-6b, D-4, D-5, D-6a, D-6b), 3.06 (d, 1H, OH, *J* = 3.4 Hz), 2.51-2.79 (m, 8H, Lev), 2.13 (s, 6H, Lev); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 207.1, 206.4, 171.9, 171.3, 165.6, 165.1, 137.9, 137.4, 137.2, 136.9, 136.6, 133.6, 133.5, 131.2, 131.9, 129.9, 129.8 x 2, 129.5, 129.4 x 2, 129.1, 129.0, 128.9, 128.7, 128.6, 128.4, 128.3 x 2, 128.0, 126.4, 126.2, 126.1, 126.0, 125.4, 103.1, 101.9, 101.6, 101.5, 101.4, 100.5, 100.4, 99.1, 86.9, 79.1, 78.9 x 2, 78.8, 78.4, 77.7, 77.6, 74.1 x 2, 73.9, 72.1, 71.9, 70.6, 68.7, 68.6, 68.5 x 2, 66.8, 66.3, 65.4, 37.9, 29.8 x 3, 28.0, 27.8, 21.5; IR (solid): 3497, 2869, 2429, 1967, 1734, 1378, 1267, 1177, 1101, 971, 747, 553 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{82}H_{83}O_{26}S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1515.4893, found: 1515.4910.



Phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-34)

To a stirred solution of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-33**) (963 mg, 0.636 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (3.20 mL) was added acetic anhydride (0.595 mL, 6.36 mmol, 10.0 eq.) and a catalytic amount of DMAP (7.70 mg, 0.0636 mmol, 0.100 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 95:5 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-34**) (862 mg, 0.554 mmol, 87%).

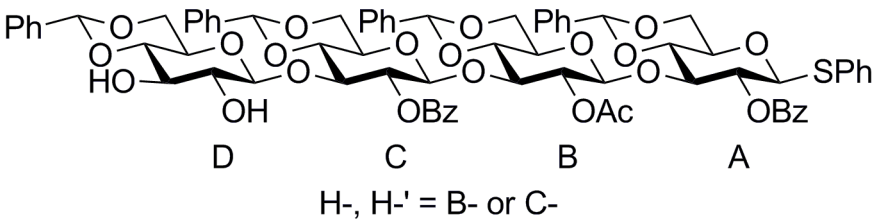
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.13-8.07 (m, 35H, aromatic), 5.52 (s, 1H, benzylidene), 5.38 (s, 1H, benzylidene), 5.23 (s, 1H, benzylidene), 5.21 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 6.8 Hz, $J_{2,3}$ = 7.7 Hz), 5.12 (dd, 1H, D-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 4.99 (dd, 1H, D-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.91 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 6.8 Hz), 4.89 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 9.2 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.81 (dd, 1H, H-2', $J_{1,2}$ = 4.8 Hz, $J_{2,3}$ =7.3 Hz), 4.79 (s, 1H, benzylidene), 4.75 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.71 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.64 (d, 1H, H-1', $J_{1,2}$ = 4.8 Hz), 3.26-4.37 (m, 19H, A-3, A-4, A-5, A-6a, A-6b, H-3, H-4, H-5, H-6a, H-6b, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b', D-4, D-5, D-6a, D-6b), 2.40-2.71 (m, 8H, Lev), 2.09 (s, 3H, Lev), 2.05 (s, 3H, Lev), 1.73 (s, 3H, Ac); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.4, 206.3, 171.7, 171.3, 169.0, 164.8, 164.7, 137.2, 137.1, 136.8, 133.8, 133.4, 133.0, 132.2, 129.8, 128.9, 128.1 x 2, 128.0, 126.1, 126.0, 101.6, 101.2 x 2, 100.8 x 2, 98.6, 98.1, 87.4, 78.5, 78.4, 78.3, 77.9, 76.2, 76.0, 73.7, 73.0, 72.2, 71.7, 71.6, 70.8, 68.6, 68.5, 37.8, 37.7, 29.7, 29.6, 27.9, 27.5, 20.4; IR (neat) 2871, 1753, 1373, 1266, 1096, 917, 750, 699 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{84}H_{85}O_{27}S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1557.4999, found: 1557.5037.



Phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-38)

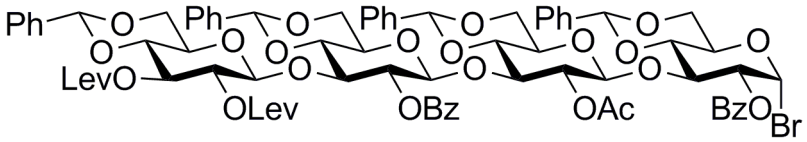
To a stirred solution of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-40**) (165 mg, 0.106 mmol, 1.00 eq.) in THF (2.00 mL) was added acetic acid (1.00 mL) and hydrazine monohydrate (0.500 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 99:1 $CHCl_3$:MeOH to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-38**) (146 mg, 0.106 mmol, quant.).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21-8.08 (m, 35H, aromatic), 5.51 (s, 1H, benzylidene), 5.45 (s, 1H, benzylidene), 5.30 (s, 1H, benzylidene), 5.26 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 6.8 Hz, $J_{2,3}$ = 6.3 Hz), 5.07 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 6.8 Hz), 5.01 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.86 (dd, 1H, H-2', $J_{1,2}$ = 4.8 Hz, $J_{2,3}$ = 4.8 Hz), 4.78 (s, 1H, benzylidene), 4.77 (d, 1H, A-1 , $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.70 (d, 1H, H-1', $J_{1,2}$ = 4.8 Hz), 4.56 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 3.30-4.35 (m, 21H, A-3, A-4, A-5, A-6a, A-6b, H-3, H-4, H-5, H-6a, H-6b, H-3', H-4', H-5', H-6a', H-6b', D-2, D-3, D-4, D-5, D-6a, D-6b), 3.05 (s, 1H, OH), 2.58 (s, 1H, OH), 1.76 (s, 3H, Ac); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169.4, 165.5, 165.0, 137.3, 137.2, 137.1, 136.8, 134.0, 133.5, 132.6, 130.0, 129.9, 129.7, 129.6, 129.4, 129.3 x 2, 129.2, 129.0, 128.9, 128.7, 128.4 x 2, 128.3, 128.2, 126.5, 126.4, 126.3, 126.2, 102.5, 101.9 x 3, 101.5, 101.2, 98.6, 98.1, 87.4, 80.4, 78.9, 78.3, 78.2, 78.1, 76.7, 76.6, 73.7, 73.4, 73.2, 72.9, 72.1, 71.0, 68.8, 68.7, 68.5 x 2. 66.7. 65.8. 65.4. 20.5; IR (solid): 3513, 2870, 1961, 1717, 1452, 1265, 1092, 961, 749, 712, 541 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{74}H_{73}O_{23}S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1361.4263, found: 1361.4270.



2-*O*-Benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl bromide (3-43)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-40**) (174 mg, 0.112 mmol, 1.00 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (223 mg) in dry CH_2Cl_2 (2.20 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to 0 ˚C. Iodinemonobromide (1.0 M solution in CH_2Cl_2, 0.220 mL, 0.220 mmol, 2.00 eq.) was added to the reaction mixture. After being stirred at same temperature for 1 h, the reaction mixture was quenched with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 90:9:1 toluene:acetone:NEt_3 and used for the next reaction without further purification.

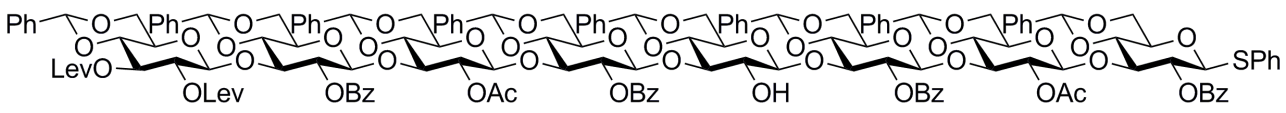


Phenylthio
2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-54)

A mixture of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-

O-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-38**) (130 mg, 0.0956 mmol, 1.00 eq.), 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl bromide (**3-43**) (0.112 mmol, 1.17 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (191 mg) in dry CH_2Cl_2 (1.53 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -10 ˚C. To the mixture was added AgOTf (35.4 mg, 0.138 mmol, 1.44 eq.) in dry toluene (0.380 mL). After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The filtrate was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-54**) (112 mg, 0.0400 mmol, 42%)

$[\alpha]_D^{23}$ = -16.6 (c = 0.990, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CHCl_3$) δ 7.19-8.03 (m, 65H), 3.22-5.49 (m, 56H), 2.74 (d, 1H, OH, *J* = 2.4 Hz), 2.36-2.71 (m, 8H), 2.09 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.80 (s, 3H), 1.78 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5 x 2, 171.9, 171.4, 169.6, 169.0, 165.5, 165.2, 165.0, 164.8, 137.4 x 4, 137.2, 137.0, 136.9, 134.0, 133.9, 133.6, 132.9, 132.4, 130.0, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, x 3, 129.4, 129.3 x 2, 129.2, 129.1 x 2, 128.9, 128.7, 128.3 x 2, 128.2 x 2, 128.1, 126.4, 126.3 x 2, 126.2, 126.1, 126.0, 102.9, 101.7, 101.6, 101.4, 101.3, 101.1, 101.0, 100.9, 100.6, 99.8, 99.0 x 2, 98.6, 98.4, 87.6, 78.8, 78.6, 78.5, 78.4 x 2, 78.0, 76.6, 76.4, 76.3, 74.5, 74.4, 74.3, 73.9, 73.7, 73.1, 72.7, 72.2, 71.8 x 2, 70.9, 68.8, 68.7, 68.6 x 2, 68.5, 66.8, 66.2, 66.1, 65.9, 65.8, 65.7 x 2, 38.0 x 2, 29.8, 29.7, 28.0, 27.6, 20.8, 20.5; IR (solid): 3566, 2875, 1730, 1452, 1374, 1262, 1071, 751, 711, 551 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{152}H_{150}O_{50}S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 2807.8994, found: 2807.8999.

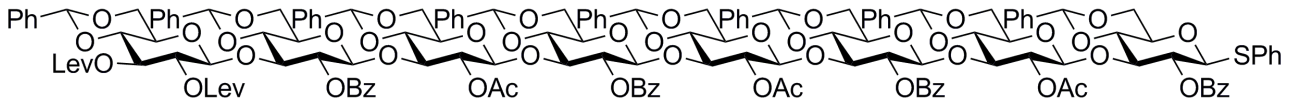


Phenylthio
2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyrano

syl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (3-41)

To a stirred solution of phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-54**) (92.4 mg, 0.0329 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (0.700 mL) was added acetic anhydride (30.8 μL, 0.329 mmol, 10.0 eq.) and a catalytic amount of DMAP (2.00 mg, 0.0165 mmol, 0.500 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone to give phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-41**) (86.5 mg, 0.0303 mmol, 92%).

$[\alpha]_D^{26}$ = -14.4 (c = 0.965, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CHCl_3$) δ 7.15-8.04 (m, 65H), 3.17-5.51 (m, 56H), 2.35-2.71 (m, 8H), 2.09 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.76 (s, 6H), 1.74 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5 x 2. 171.8, 171.4, 169.1, 169.1, 164.9, 164.8 x 2, 137.4 x 2, 137.2, 136.9, 134.0, 134.0, 133.9 x 3, 133.5, 133.1, 132.3, 129.9 x 3, 129.7, 129.6, 129.5 x 2, 129.3, 129.1 x 2, 129.0 x 2, 128.9 x 2, 128.6, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 126.5,126.4 x 2, 126.2 x 3, 126.1, 101.9, 101.6, 101.4, 101.3, 101.0, 100.9, 100.6, 98.5 x 2, 98.3, 97.9, 97.8, 87.6, 78.6, 78.5, 78.4, 78.2, 78.0, 76.1 x 2, 76.0, 75.7, 75.4 x 2, 74.2 x 2, 73.8, 73.2, 72.3, 72.1, 71.8 x 2, 70.9, 68.7, 68.6, 66.2, 66.1, 66.0, 65.6 x 2, 65.5, 38.0, 37.7, 29.8, 29.7, 28.0, 27.6, 20.6, 20.5; IR (solid): 2874, 2005, 1751, 1601, 1439, 1216, 965, 710, 696, 558 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{154}H_{153}O_{51}S$ $[M+H]^+$ *m/z* = 2849.9099, found: 2849.9001.

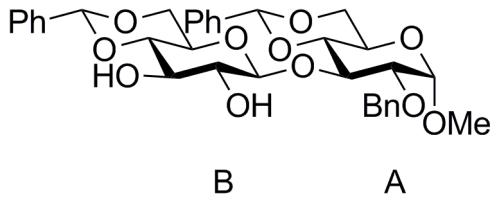


Methyl
2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-47)

A mixture of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-α-D-glucopyranoside (**3-51**) (4.98 g, 13.4 mmol, 1.00 eq.), phenylthio 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranoside (**3-48**) (8.18 g, 14.7 mmol, 1.10 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (6.70 g) in dry CH_2Cl_2 (66.9 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -30 ˚C. *N*-iodosuccinimide (3.97 g, 17.7 mmol, 1.32 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (0.12 mL, 1.34 mmol, 0.100 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 92:8 toluene:acetone and used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of part of residue (12.0 mmol) in THF (30.0 mL) and MeOH (30.0 mL) was added a catalytic amount of NaOMe (64.7 mg, 1.20 mmol, 0.100 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 60:40 toluene:ethyl acetate to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene -3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-47**) (5.56 g, 8.93 mmol, 2 steps 66%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.48-7.49 (m, 4H, aromatic), 7.33-7.39 (m, 11H, aromatic), 5.55 (s, 1H, benzylidene), 5.51 (s, 1H, benzylidene), 4.75 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.64-4.68 (m, 2H, A-1, PhCH_2), 4.60 (d, 1H, B-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.17-4.28 (m, 3H, A-3, A-6a, B-6a), 3.75-3.83 (m, 3H, B-3, A-5 or B-5, A-6b or B-6b), 3.70 (dd, 1H, A-6b or B-6b, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.61-3.65 (m, 2H, A-2, OH), 3.52-3.59 (m, 3H, B-2, A-4, B-4), 3.42 (ddd, 1H, A-5 or B-5, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz), 3.34 (s, 3H, OMe), 2.73 (d, 1H, OH, $J_{B\text{-}3,OH}$ = 1.6 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 137.2, 137.0, 136.9, 129.3, 129.1, 128.8, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 126.4, 125.9, 105.6, 102.0, 101.0, 98.2, 80.5, 80.3, 79.8, 78.6, 75.8, 73.1, 73.0, 68.8, 68.7, 66.8, 62.6, 55.4; IR (solid): 3485, 2883, 2158, 1613, 1452, 1373, 1284, 1179, 1076, 971, 745, 694, 552 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{34}H_{39}O_{11}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 623.2492, found: 623.2471.

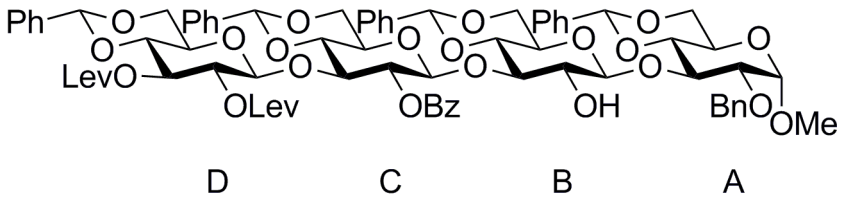


Methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-55)

A mixture of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-47**) (419 mg, 0.673 mmol, 1.20 eq.), phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-46**) (511 mg, 0.560 mmol, 1.00 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (1.12 g) in dry CH_2Cl_2 (11.2 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -30 ˚C. *N*-iodosuccinimide (151 mg, 0.673 mmol, 1.20 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (0.150 mL, 0.112 mmol, 0.300 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 15 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 70:30 toluene:ethyl acetae and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-55**) (546 mg, 0.384 mmol, 68%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.04 (d, 2H, aromatic, J = 7.2 Hz), 7.23-7.53 (m, 28H, aromatic), 5.53 (s, 1H, benzylidene), 5.50 (s, 1H, benzylidene), 5.39 (s, 1H, benzylidene), 5.28 (dd, 1H, C-2, $J_{1,2}$ = 6.3 Hz, $J_{2,3}$ = 6.8 Hz), 5.21 (s, 1H, benzylidene), 5.15 (dd, 1H, D-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 5.07 (d, 1H, C-1, $J_{1,2}$ = 6.3 Hz), 5.03 (dd, 1H, D-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.78 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.52 (d, 1H, B-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.38-4.42 (m, 2H, A-1, PhCH_2), 4.30 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 12.6 Hz), 4.18-4.26 (m, 4H, A-6a, B-6a, C-6a, D-6a), 4.06-4.11 (m, 2H, B-3, C-3), 3.94 (dd, 1H, C-4, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.81 (dd, 1H, A-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 3.34-3.77 (m, 14H, A-2, B-2, A-4, B-4, D-4, A-5, B-5, C-5, D-5, A-6b, B-6b,

C-6b, D-6b, OH), 3.26 (s, 3H, OMe), 2.40-2.78 (m, 8H, Lev), 2.09 (s, 6H, Lev); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.6, 206.4, 171.8, 171.4, 165.2, 137.4, 137.3, 137.2, 137.1, 136.9, 133.4, 129.8, 129.7, 129.2, 129.0 x 2, 128.7, 128.6, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 126.3, 126.2, 126.1, 125.9, 105.5, 101.5, 101.4, 101.2, 100.9, 100.8 x 2, 98.4, 80.2, 79.9, 79.7, 79.0, 78.9, 78.7, 78.4, 78.2, 75.8, 74.4, 73.2, 71.8, 68.8 x 2, 68.7, 68.6, 67.0, 66.2, 66.0, 62.5, 55.3, 37.9, 37.8, 29.8, 28.0, 27.6; IR (solid): 3525, 2916, 2158, 2012, 1716, 1452, 1374, 1269, 1087, 932, 772, 695, 551 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{77}H_{83}O_{26}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1423.5173, found: 1423.5195.

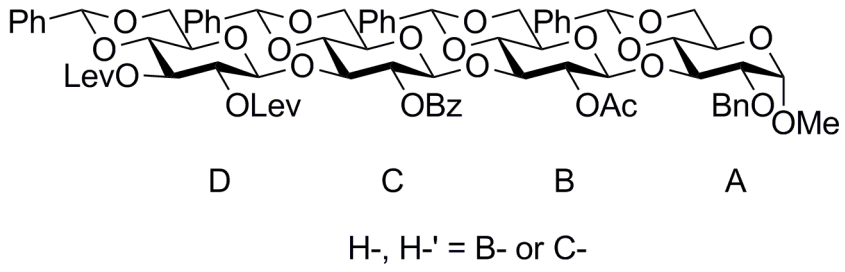


Methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-56)

To a stirred solution of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-55**) (519 mg, 0.364 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (1.80 mL) was added acetic anhydride (0.341 mL, 3.64 mmol, 10.0 eq.) and a catalytic amount of DMAP (4.40 mg, 0.0364 mmol, 0.100 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-56**) (490 mg, 0.335 mmol, 92%).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.09 (d, 2H, aromatic, J = 7.2 Hz), 7.17-7.62 (m, 28H, aromatic), 5.51 (s, 1H, benzylidene), 5.37 (s, 1H, benzylidene), 5.33 (s, 1H, benzylidene), 5.29 (dd, 1H, H-2', $J_{1,2}$ = 7.2 Hz, $J_{2,3}$ = 7.7 Hz), 5.09 (dd, 1H, D-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 4.97-5.01 (m, 2H, H-1', D-2), 4.96 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 4.8 Hz), 4.88 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 4.8 Hz, $J_{2,3}$ = 4.3 Hz), 4.72 (s, 1H, benzylidene), 4.70 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.39 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 3.9 Hz), 4.37 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.30 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 12.1

Hz), 4.20-4.25 (m, 3H, A-6a, D-6a, H-6a'), 4.13 (dd, 1H, H-3', $J_{2,3}$ = 7.7 Hz, $J_{3,4}$ = 8.2 Hz), 4.00-4.09 (m, 3H, A-3, H-4, H-6a), 3.82-3.86 (m, 2H, H-3, H-4'), 3.59-3.75 (m, 5H, D-4, A-5, A-6b, D-6b, H-6b'), 3.46-3.53 (m, 2H, H-5', H-6b), 3.33-3.45 (m, 2H, D-5, H-5), 3.31 (s, 3H, OMe), 3.27 (dd, 1H, A-4, $J_{3,4}$ = 9.4 Hz, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz), 2.93 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 3.9 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 2.35-2.75 (m, 8H, Lev), 2.09 (s, 3H, Lev), 2.07 (s, 3H, Lev), 1.93 (s, 3H, Ac); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5, 138.0, 137.5 x 2, 137.4, 136.9, 133.5, 130.0, 129.9, 129.4, 129.1 x 2, 128.9 x 2, 128.5, 128.4, 128.2 x 2, 128.1, 128.0, 126.5, 126.2, 126.1, 102.1, 101.4, 101.0, 100.8, 100.7, 99.0, 98.7, 98.4, 80.5, 79.9, 78.7, 78.6, 78.4, 78.2, 74.1, 73.8, 73.2, 73.1, 71.9, 71.8, 69.1, 68.8, 68.6 x 2, 66.4, 66.2, 65.3, 62.4, 55.3, 37.9, 37.9, 29.8, 29.7, 28.0, 27.6, 21.0; IR (solid): 2931, 2006, 1745, 1372, 1230, 1044, 750, 698, 557 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{79}H_{85}O_{27}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1465.5337, found: 1465.5308.

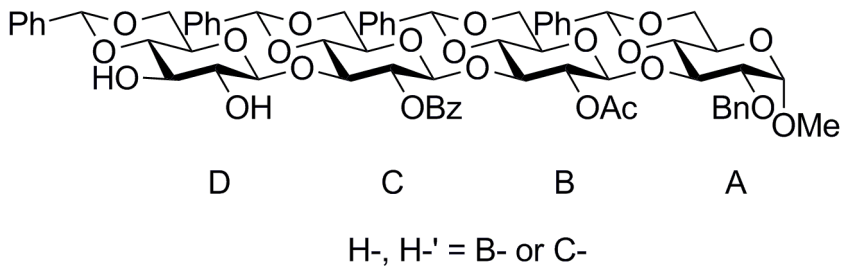


Methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-45)

To a stirred solution of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-56**) (453 mg, 0.309 mmol, 1.00 eq.) in THF (4.00 mL) was added acetic acid (2.00 mL) and hydrazine monohydrate (1.00 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 98:2 $CHCl_3$:MeOH to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-45**) (405 mg, 0.319 mmol, quant.).

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.09 (d, 2H, aromatic, *J* = 7.2 Hz), 7.23-7.59 (m, 28H, aromatic), 5.52 (s, 1H, benzylidene), 5.43 (s, 1H, benzylidene), 5.31-5.34 (m, 2H, benzylidene, H-2), 5.16 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 6.3

Hz), 5.01 (d, 1H, H-1', $J_{1,2}$ = 4.8 Hz), 4.92 (dd, 1H, H-2', $J_{1,2}$ = 4.8 Hz, $J_{2,3}$ = 4.3 Hz), 4.76 (s, 1H, benzylidene), 4.59 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.40-4.43 (m, 2H, A-1, PhCH_2), 4.33 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 12.1), 4.19-4.22 (m, 2H, A-6a, H-6a), 4.01-4.15 (m, 4H, A-3, H-3, H-4', H-6a'), 3.86-3.96 (m, 3H, H-3', H-4, D-6a), 3.65-3.78 (m, 4H, D-3, A-5, A-6b, H-6b), 3.58 (ddd, 1H, H-5, $J_{4,5}$ = 10.2 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz), 3.31-3.53 (m, 10H, D-2, A-4, D-4, D-5, D-5', H-5', D-6b, D-6b', OMe), 3.12 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 3.05 (d, 1H, OH, $J_{D\text{-}2,OH}$ = 2.9 Hz), 2.58 (d, 1H, OH, $J_{D\text{-}3,OH}$ = 1.5 Hz), 1.97 (s. 3H, Ac); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169.8, 165.3, 138.0, 137.5, 137.4, 137.0, 136.8, 133.6, 130.1, 129.8, 129.5, 129.4, 129.3, 129.1, 128.8, 128.5, 128.4 x 2, 128.3, 128.2, 128.1, 126.6, 126.4, 126.3, 126.2, 102.4, 102.2, 101.9, 101.5, 101.0, 98.8, 98.6, 98.5, 80.4, 80,3, 79.8, 78.8, 78.4, 78.2, 77.6, 74.2, 73.7, 73.5, 73.3, 72.9 x 2, 69.1, 68.8 x 2, 68.5, 66.7, 65.9, 65.2, 62.5, 55.3, 20.9; IR (solid): 3590, 2923, 2005, 1748, 1703, 1452, 1374, 1178, 974, 744, 695, 558 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{69}H_{73}O_{23}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1269.4543, found: 1269.4543.

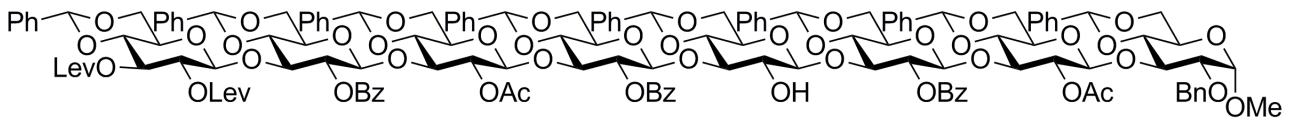


Methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-57)

A mixture of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-45**) (202 mg, 0.159 mmol, 1.00 eq.), phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-40**) (272 mg, 0.175mmol, 1.10 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (317 mg) in dry CH_2Cl_2 (3.20 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -30 ˚C. *N*-iodosuccinimide (47.5 mg, 0.211 mmol, 1.21 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (7.00 μL, 0.0794

mmol, 0.500 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 15 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-57**) (348 mg, 0.128 mmol, 81%).

$[\alpha]_D^{23}$ = -24.9 (c = 1.54, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.96-8.08 (m, 6H, aromatic), 7.14-7.60 (m, 54H, aromatic), 5.47 (s, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.29 (s, 1H), 5.18-5.25 (m, 2H), 5.16 (s, 1H), 5.12 (dd, 1H, *J* = 9.2 Hz, *J* = 9.7 Hz), 5.07-5.09 (m, 2H), 4.97-5.02 (m, 3H), 4.80-4.94 (m, 6H), 4.76 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz), 4.71 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz), 4.41-4.44 (m, 2H), 4.36 (d, 1H, *J* = 3.4 Hz), 4.32 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 3.25-4.24 (m, 43H), 3.07 (dd, 1H, *J* = 3.4 Hz, *J* = 9.2 Hz), 2.72 (d, 1H, OH (D-2) *J* = 1.9 Hz), 2.31-2.71 (m, 8H), 2.09 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.97 (s, 3H), 1.81 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5, 206.4, 171.9, 171.5, 171.4, 169.7, 168.9, 165.4, 165.1, 164.8, 137.9, 137.4 x 2, 137.3, 136.9, 133.8, 133.6, 130.1, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.4, 129.2 x 2, 129.1, 129.0 x 2, 128.9, 128.7 x 2, 128.6, 128.4, 128.3 x 2, 128.2 x 2, 128.1 x 2, 126.5, 126.4, 126.3 x 2, 126.2 x 2, 126.1, 125.4, 120.3, 102.2, 101.7 x 2, 101.4, 101.3, 101.1, 100.9, 100.8, 100.6, 99.2 x 2, 98.9 x 2, 98.8, 98.4, 80.4, 79.9, 78.8, 78.7, 78.6, 78.5 x 2, 78.4 x 2, 78.3, 77.8 x 2, 76.4, 76.3, 76.2, 74.4, 74.2, 73.9 x 2, 73.8, 73.3, 73.0, 72.7, 71.8 x 2, 68.8, 68.7, 68.5 x 2, 66.2, 66.1 x 2, 65.9, 65.6, 65.3, 62.4, 62.3, 59.6, 55.3, 38.1, 37.8, 29.8, 29.7, 28.0, 27.6, 21.5, 21.0, 20.8; IR (solid): 3568, 2872, 1989, 1725, 1452, 1374, 1263, 1220, 1084, 963, 766, 699, 550 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{147}H_{151}O_{50}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 2715.9273, found: 2715.9207.



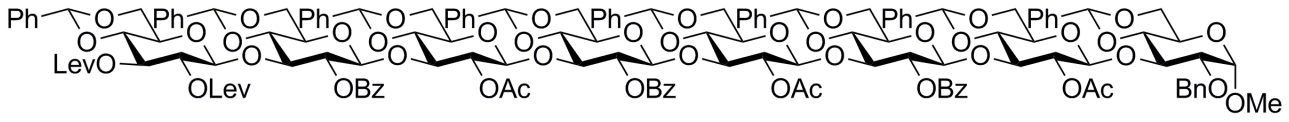
Methyl

2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosy

l)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-58)

To a stirred solution of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-57**) (316 mg, 0.116 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (2.30 mL) was added acetic anhydride (0.110 mL, 1.16 mmol, 10.0 eq.) and a catalytic amount of DMAP (7.10 mg, 0.0581 mmol, 0.500 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-58**) (322 mg, 0.117 mmol, quant.).

$[\alpha]_D^{23}$ = -18.5 (c = 1.11, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.00-8.05 (m, 6H), 7.16-7.59 (m, 54H), 5.52 s, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.25 (s, 1H), 5.19-5.23 (m, 2H), 5.17 (s, 1H), 5.13 (dd, 1H, *J* = 9.2 Hz, *J* = 9.7 Hz), 5.00 (dd, 1H, *J* = 7.7 Hz, *J* = 9.3 Hz), 4.96 (d, 1H, *J* = 4.8 Hz), 4.93 (d, 1H, *J* = 6.8 Hz), 4.78-4.90 (m, 9H), 4.74 (s, 1H), 4.70 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz), 4.64 (br-d, 2H, *J* = 5.3 Hz), 4.40 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz), 4.36 (d, 1H, PhC*H*$_2$, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.30 (d, 1H, PhC*H*$_2$, J_{gem} = 12.1 Hz), 3.16-4.24 (m, 42H), 2.91 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 2.35-2.71 (m, 8H), 2.09 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.77 (s, 3H), 1.75 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5 x 2, 171.9, 171.4, 169.5, 169.1, 169.0, 164.9, 164.8, 164.5, 138.0, 137.5, 137.4 x 2, 136.9, 134.1, 133.4, 130.0, 129.9, 129.6, 129.5, 129.4, 129.2, 129.1, 129.0 x 2, 128.8, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2 x 2, 128.1, 128.0, 126.5, 126.4 x 2, 126.2 x 2, 126.1, 102.3, 101.7, 101.5, 101.4, 101.0 x 2, 100.9, 100.8, 100.7, 98.7, 98.5, 98.4, 98.3, 97.8, 80.4, 79.9, 78.6, 78.5, 78.4, 78.3, 78.2 x 2, 78.1, 76.1, 75.7, 75.5, 75.3, 74.6, 74.2, 73.8 x 2, 73.2, 72.8, 72.3, 72.0, 71.8 x 2, 69.1, 68.8, 68.7 x 2, 68.6, 66.2, 66.1 x 2, 65.6 x 2, 65.3, 62.4, 55.3, 38.0, 37.8, 29.8, 29.7, 28.0, 27.6, 21.0, 20.7, 20.6; IR (solid): 2874, 2157, 2008, 1744, 1453, 1372, 1264, 1221, 1093, 750, 712, 698, 557 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{149}H_{153}O_{51}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 2757.9379, found: 2757.9246.

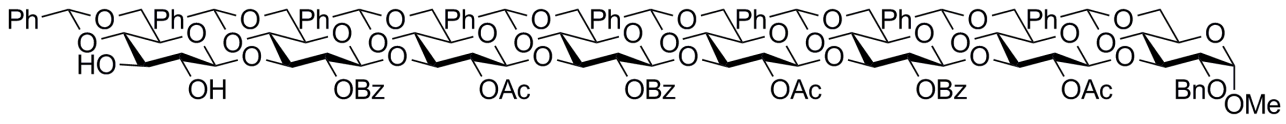


Methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-42)

To a stirred solution of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-58**) (301 mg, 0.109 mmol, 1.00 eq.) in THF (2.00 mL) was added acetic acid (1.00 mL) and hydrazine monohydrate (0.500 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 85:15 toluene:acetone to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-42**) (256 mg, 0.100 mmol, 92 %).

$[\alpha]_D^{25}$ = -19.0 (c = 0.910, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.02-8.07 (m, 6H), 7.17-7.59 (m, 54H), 5.52 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.33 (s, 1H), 5.25-5.28 (m, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.07 (d, 1H, *J* = 6.8 Hz), 4.95-5.00 (m, 2H), 4.78-4.92 (m, 8H), 4.75 (s, 1H), 4.71 (d, 1H, *J* = 5.3 Hz), 4.64 (d, 1H, *J* = 4.8 Hz), 4.51 (d, 1H, 7.7 Hz), 4.36-4.40 (m, 2H), 4.31 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 3.20-4.24 (m, 44H), 3.05 (br-s, 1H), 2.92 (dd, 1H, *J* = 3.4 Hz, *J* = 9.2 Hz), 2.58 (br-s, 1H), 1.94 (s, 3H), 1.79 (s, 3H), 1.76 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169.5, 169.4, 169.0, 165.6, 164.9, 164.5, 138.0, 137.5, 137.3 x 2, 137.1, 136.8, 134.1, 133.3, 129.9 x 3, 129.5, 129.3 x 2, 129.2, 129.1 x 2, 129.0, 128.9 x 2, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2 x 2, 128.1 x 3, 127.9, 126.5, 126.4 x 2, 126.2 x 2, 126.1, 102.6, 102.2, 101.9, 101.7, 101.5, 101.4, 101.1, 100.9, 100.7, 98.6, 98.5, 98.3, 97.7, 80.4, 80.3, 79.9, 78.8, 78.3, 78.2, 78.0, 75.6 x 2, 75.3, 74.6, 74.2, 73.7, 73.6, 73.4, 73.1, 72.8, 72.1, 69.1,

68.8, 68.7 x 2, 68.6, 68.5, 68.4, 66.7, 66.1, 66.0, 65.9, 65.5, 65.4, 65.3, 62.3, 55.3, 29.7, 20.9, 20.6; IR (solid): 3525, 2875, 2014, 1732, 1453, 1370, 1314, 1265, 1219, 1025, 988, 751, 696, 550 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{139}H_{140}O_{47}Na$ $[M+Na]^+$ *m/z* = 2583.8463, found: 2583.8455.

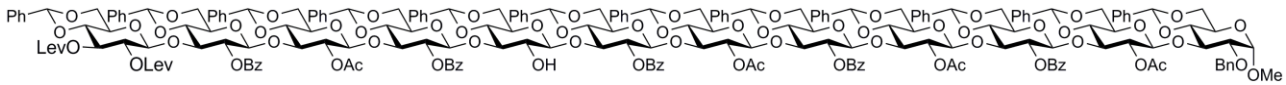


Methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-76)

A mixture of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-42**) (78.8 mg, 0.0308 mmol, 1.00 eq.), phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-40**) (57.5 mg, 0.0369 mmol, 1.20 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (123 mg) in dry CH_2Cl_2 (1.20 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -30 ˚C. *N*-iodosuccinimide (10.0 mg, 0.0443 mmol, 1.44 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (1.40 μL, 0.0154 mmol, 0.500 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 15 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 90:10 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-

O-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-76**) (86.1 mg, 0.0215 mmol, 70%).

$[\alpha]_D^{23}$ = -16.5 (c = 0.185, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.99-8.04 (m, 10H), 7.16-7.59 (m, 80H), 5.52 (s, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.38 (s, 1H), 4.64-5.24 (m, 30H), 4.29-4.40 (m, 4H), 3.21-4.23 (m, 63H), 2.93 (dd, 1H, *J* = 3.4 Hz, *J* = 9.2 Hz), 2.74 (d, 1H, OH, *J* = 1.0 Hz), 2.35-2.71 (m, 8H), 2.09 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.94 (s, 3H), 1.85 (s, 3H), 1.77 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5, 206.4, 171.8, 171.4, 169.6, 169.5, 169.0, 165.5, 165.1, 164.8, 164.8, 164.5, 138.0, 137.5, 137.4 x 2, 137.3, 137.2, 137.0, 136.9, 134.1 x 2, 134.0 x 2, 133.9, 133.6, 133.3, 130.1, 129.9 x 2, 129.8 x 2, 129.7, 129.6, 129.5, 129.4 x 2, 129.3, 129.2 x 2, 129.1 x 2, 129.0, 128.9 x 2, 128.8 x 3, 128.7, 128.6 x 2, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2 x 2, 128.1, 127.9, 126.5, 126.4, 126.3 x 2, 126.2, 126.1, 126.0, 102.8, 102.3, 102.2, 101.7, 101.5, 101.4, 101.3, 101.2 x 2, 101.1 x 2, 101.0, 100.9 x 2, 100.8 x 2, 100.5, 99.8, 98.8 x 2, 98.7, 98.5, 98.4 x 2, 80.4, 79.9, 78.7 x 2, 78.6 x 2, 78.5, 78.4 x 2, 78.3, 78.2 x 2, 78.0, 77.9, 77.8, 77.7 x 2, 77.6, 76.3, 76.0, 75.6, 75.4, 74.5, 74.4, 74.1, 73.9, 73.8, 73.1, 72.8, 72.2, 72.1, 71.8, 71.7, 70.6, 69.1, 68.8, 68.7 x 2, 68.6 x 2, 68.5, 66.8, 66.2 x 2, 66.1, 66.0 x 2, 65.7, 65.6, 65.3, 62.3, 55.3, 37.9, 37.7, 29.7 x 2, 28.0, 27.6, 20.9, 20.7, 20.6 x 2; IR (solid): 3525, 2883, 2149, 2014, 1863, 1718, 1601, 1423, 1269, 932, 771, 715, 551 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{217}H_{218}O_{74}Na$ $[M+Na]^+$ *m/z* = 4030.3193, found: 4030.3250.

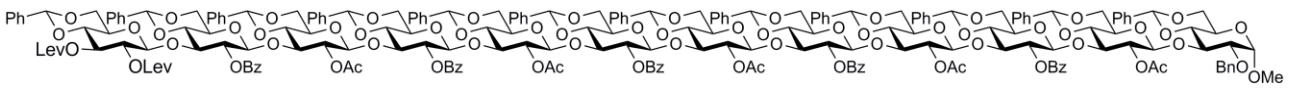


Methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-77)

To a stirred solution of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzyli

dene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-76**) (82.4 mg, 0.0205 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (0.820 mL) was added acetic anhydride (19.2 μL, 0.205 mmol, 10.0 eq.) and a catalytic amount of DMAP (1.30 mg, 0.0103 mmol, 0.500 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-77**) (79.4 mg, 0.0196 mmol, 96%).

$[\alpha]_D^{23}$ = -13.7 (c = 0.220, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98-8.04 (m, 10H), 7.18-7.59 (m, 80H), 5.52 (s, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.10-5.25 (m, 6H), 4.63-5.02 (m, 27H), 4.40 (d, 1H, *J* = 3.9 Hz), 4.37 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 4.31 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 3.15-4.24 (m, 62H), 2.92 (dd, 1H, *J* = 3.4 Hz, *J* = 9.2 Hz), 2.33-2.72 (m, 8H), 2.10 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.76-1.77 (m, 12H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5 x 2, 171.9, 171.4, 169.5, 169.1 x 2, 164.9, 164.5, 138.0, 137.5, 137.4, 136.9, 134.1, 134.0, 133.4, 130.0, 129.9 x 2, 129.7, 129.6, 129.5, 129.4, 129.3, 129.2, 129.1, 129.0 x 2, 128.9, 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3 x 2, 128.2, 128.1 x 2, 128.0, 126.5 x 2, 126.4 x 2, 126.3, 126.2, 126.1, 102.3, 101.7, 101.6, 101.4 x 2, 101.0 x 2, 100.9, 100.8, 100.6, 98.7, 98.5, 98.4, 98.3, 97.8, 80.4, 79.9, 78.6, 78.5, 78.4, 78.3, 78.2 x 2, 78.0, 77.9, 77.8 x 2, 77.7, 76.1, 75.7 x 2, 75.4 x3, 75.3, 75.2, 74.6, 74.2 x 2, 73.8, 73.4, 73.2, 72.8, 72.4, 72.1 x 3, 71.8 x 2, 70.6, 69.1, 68.8, 68.7, 68.6, 66.2, 66.1 x 2, 65.6 x 2, 65.3, 62.4, 55.3, 38.8, 38.0, 37.7, 32.0, 29.8, 29.7, 29.4, 28.0, 27.6, 22.8, 21.0, 20.7, 20.6, 17.4, 14.2; IR (solid): 2928, 2024, 1726, 1452, 1373, 1219, 1180, 1025, 750, 710, 551 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{219}H_{220}O_{75}Na[M+Na]^+$ *m/z* = 4072.3299, found: 4072.3208.



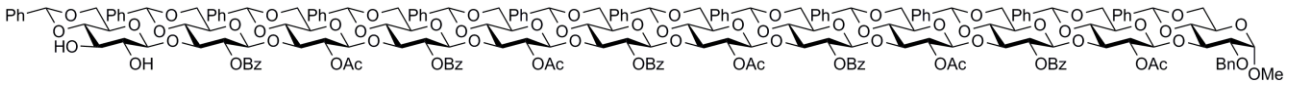
Methyl

2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-78)

To a stirred solution of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-77**) (75.0 mg, 0.0185 mmol, 1.00 eq.) in THF (1.00 mL) was added acetic acid (0.500 mL) and hydrazine monohydrate (0.250 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 88:12 toluene:acetone to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-78**) (66.0 mg, 0.171 mmol, 92%).

$[\alpha]_D^{23}$ = -17.1 (c = 2.33, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.99-8.06 (m, 10H), 7.16-7.59 (m, 80H), 5.52 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.33 (s, 1H), 5.25-5.28 (m, 2H), 5.18 (s, 1H), 5.17 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 5.07 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz), 4.64-5.60 (m, 23H), 4.51 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz), 4.40 (d, 1H, *J* = 3.2 Hz), 4.37 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 4.30 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 3.17-4.23 (m, 64 H), 3.06 (br-s, 1H), 2.92 (dd, 1H, *J* = 3.5 Hz, *J* = 9.2 Hz), 1.95 (s, 3H), 1.76-1.79 (m, 12H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169.5, 169.4, 169.1, 169.0, 165.6, 164.9 x 3, 164.5, 138.0, 137.5, 137.4, 137.1, 136.8, 134.1 x 2, 134.0 x 2, 133.4, 130.9, 130.0, 129.9, 129.8, 129.5, 129.4, 129.3, 129.2, 129.1 x 2, 129.0 128.9, 128.8, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3 x 2, 128.2 x 2, 128.1 x 3, 127.9, 126.5,

126.4, 126.2 x 3, 102.6, 102.2, 101.9, 101.8 x 2, 101.7, 101.7, 101.6, 101.5, 101.4 x 2, 101.1, 100.9 x 2, 100.7, 98.6, 98.5, 98.4, 98.3, 97.8 x 2, 80.4, 80.3, 79.9 x 2, 78.3, 78.2, 78.1 x 2, 77.7, 75.7, 75.5, 75.3 x 2, 75.2, 74.5, 74.2, 73.7, 73.6, 73.5, 73.1, 72.8, 72.1 x 2, 72.0, 70.6, 69.1, 68.8, 68.7 x 2, 68.6, 68.4, 66.7, 66.1, 66.0, 65.9, 65.6, 65.5, 65.4 x 2, 65.3 x 2, 55.3, 38.8, 32.0, 30.4, 29.8, 29.7 x 2, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.0, 23.8, 23.0, 22.7, 21.0, 20.7, 20.6, 14.2, 14.1, 11.0; IR (solid): 3525, 2873, 2341, 1734, 1453, 1374, 1219, 1180, 985, 766, 711, 537 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{209}H_{208}O_{71}Na[M+Na]^+$ *m/z* = 3876.2563, found: 3876.2551.

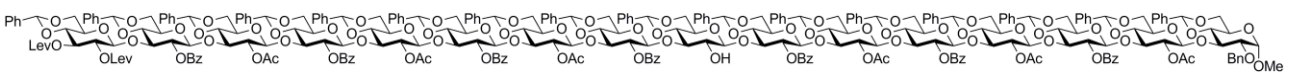


Methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-59)

A mixture of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-42**) (58.8 mg, 0.0229 mmol, 1.00 eq.), phenylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-*O*-levurinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**3-41**) (78.4 mg, 0.0275 mmol, 1.20 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (91.6 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.920 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -35 ˚C. *N*-iodosuccinimide (7.40 mg, 0.0330 mmol, 1.44 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (1.00 μL, 0.0115 μmol, 0.500 eq.) were added to the reaction mixture. After

being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 88:12 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-59**) (81.9 mg, 0.0158 mmol, 69%).

$[\alpha]_D^{23}$ = -19.6 (c = 0.180, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98-8.04 (m, 14H), 7.14-7.58 (m, 106H), 5.52 (s, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.38 (s, 1H), 4.63-5.23 (m, 42H), 4.29-4.40 (m, 4H), 3.15-4.24 (m, 83H), 2.93 (dd, 1H, *J* = 3.9 Hz, *J* = 9.2 Hz), 2.30-2.72 (m, 9H), 2.09 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.94 (s, 3H), 1.87 (s, 3H), 1.75-1.77 (m, 12H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5 x 2, 171.9, 171.4, 169.6, 169.5, 169.1 x 2, 165.6, 165.2 x 2, 164.9, 164.5, 138.0, 137.9, 137.5, 137.4 x 2, 137.3, 137.2, 137.1, 136.9, 134.1 x 2, 133.9, 133.7, 133.4, 130.0, 129.9 x 2, 129.7, 129.5, 129.4 x 2, 129.3 x 2, 129.2, 129.1, 129.0, 128.9 x 2, 128.8, 128.5, 128.4 x 2, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 126.5, 126.4 x 2, 126.3, 126.3, 126.2, 126.1, 126.0, 125.4, 103.0, 102.2, 101.7, 101.6. 101.5. 101.4 x 2, 101.3, 101.1 x 2, 101.0 x 2, 100.9, 100.8, 100.6, 100.1, 98.8, 98.7, 98.6 x 2, 98.5 x 2, 98.4, 98.3 x 2, 98.0, 97.8, 80.4, 80.0, 79.0, 78.9, 78.8, 78.7 x 2, 78.6, 78.5, 78.4 x 2, 78.3, 78.2 x 2, 78.1 x 2, 77.7, 76.1 x 2, 75.9, 75.7, 75.6 x 2, 75.5 x 2, 75.4, 75.2 x 2, 74.6, 74.5, 74.3, 74.2, 74.1, 73.9, 73.8, 73.2, 72.9, 72.4, 72.3 x 3, 72.2 x 2, 72.1, 71.8 x 2, 70.6, 69.1, 68.8 x 2, 68.7 x 2, 68.7, 68.6, 66.7, 66.2, 66.1, 66.0, 65.8, 65.7, 65.6, 65.3, 62.3, 55.3, 38.0, 37.7, 29.8, 29.7, 28.0, 27.6, 21.5, 21.0, 20.7 x 2, 20.6, 15.7, 14.2; IR (solid): 3511, 2881, 2013, 1726, 1454, 1262, 983, 772, 712, 557 cm^{-1}.



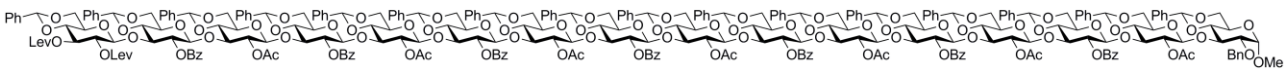
Methyl
2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzyli

dene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-60)

To a stirred solution of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-59**) (72.6 mg, 0.0140 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (1.10 mL) was added acetic anhydride (13.1 μL, 0.140 mmol, 10.0 eq.) and a catalytic amount of DMAP (0.900 mg, 7.00 μmol, 0.500 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-60**) (66.7 mg, 0.0128 mmol, 91%).

$[\alpha]_D^{23}$ = -13.9 (c = 0.200, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98-8.04 (m, 14 H), 7.15-7.59 (m, 106H),

5.52 (s, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.10-5.25 (m, 9H), 4.63-5.01 (m, 36H), 4.40 (d, 1H, *J* = 3.9 Hz), 4.37 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 4.30 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 3.16-4.24 (m, 82H), 2.92 (dd, 1H, *J* = 3.4 Hz, *J* = 9.2 Hz), 2.35-2.71 (m, 8H), 2.09 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.76-1.77 (m, 18H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5 x 2, 171.8, 171.4, 169.5, 169.1, 169.0, 164.9, 164.5, 138.0, 137.9, 137.5, 137.4, 136.9, 134.1, 134.0, 133.4, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.5, 129.4 x 2, 129.3, 129.1 x 2, 129.0, 128.9, 128.8 x 2, 128.7, 128.6 x 2, 128.5, 128.4, 128.3 x 2, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 126.5, 126.4 x 2, 126.2 x 2, 126.1, 125.3, 102.2, 101.7, 101.6 x 2, 101.4 x 2, 101.3, 101.0, 100.9 x 2, 100.7, 100.6, 98.6, 98.5, 98.4, 98.3, 98.2 x 2, 97.8 x 2, 80.4, 79.9, 78.6, 78.5, 78.4, 78.3, 78.2, 78.1, 77.7, 76.6, 76.0, 75.7, 75.6, 75.4 x 2, 75.3 x 2, 75.2 x 3, 74.5, 74.2, 74.1 x 2, 73.8, 73.7, 73.1, 72.8 x 2, 72.3, 72.0, 71.8, 71.7, 70.6 x 2, 69.1, 68.8, 68.7, 68.6, 66.2, 66.1, 66.0, 65.9 x 3, 65.6 x 2, 65.5, 65.3, 65.2, 62.3, 55.3, 38.8, 37.9, 37.7, 32.0, 30.4, 29.7, 29.6 x 2, 29.5 x 2, 29.4, 29.3, 29.2 x 2, 29.1, 29.0, 28.9, 28.0, 27.6, 26.8, 22.7, 21.5, 20.9, 20.6 x 2, 15.6, 14.2; IR (solid): 2929, 2327, 2013, 1724, 1456, 1263, 1220, 984, 711, 550 cm^{-1}.

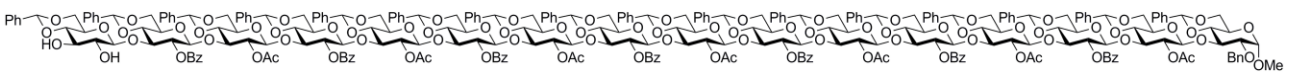


Methyl
2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-61)

To a stirred solution of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-gluc

opyranoside (**3-60**) (62.7 mg, 0.0120 mmol, 1.00 eq.) in THF (1.00 mL) was added acetic acid (0.500 mL) and hydrazine monohydrate (0.250 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 88:12 toluene:acetone to give methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-61**) (56.8 mg, 0.0113 mmol, 94%).

$[\alpha]_D^{23}$ = -15.7 (c = 1.17, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98-8.07 (m, 14H), 7.16-7.59 (m, 106H), 5.52 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.33 (s, 1H), 5.25-5.28 (m, 2H), 5.18 (br-s, 4H), 5.13 (s, 1H), 5.07 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz), 4.64-5.01 (m, 33H), 4.51 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz), 4.40 (d, 1H, *J* = 3.4 Hz), 4.37 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 4.31 (d, 1H, *J* = 12.1 Hz), 3.15-4.24 (m, 84H), 3.06 (br-s, 1H), 2.92 (dd, 1H, *J* = 3.2 Hz, *J* = 9.2 Hz), 1.95 (s, 3H), 1.76-1.79 (m, 18H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169.5, 169.4, 169.1, 169.0, 165.6, 164.9 x 2, 164.5, 138.0, 137.5, 137.4, 137.1, 136.9, 134.1 x 2, 134.0 x 2, 133.4, 130.0 x 2, 129.7, 129.5, 129.4, 129.3, 129.2, 129.1, 129.1 x 3, 128.9, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4 x 2, 128.3 x 2, 128.2 x 2, 128.1 x 2, 128.0, 127.9, 126.5,126.4, 126.3, 126.2 x 2, 102.7, 102.2 x 2, 101.9, 101.7, 101.6, 101.5, 101.4 x 2, 101.1, 100.9, 100.8, 98.7, 98.5, 98.4, 98.3, 98.2, 97.8 x 2, 80.4, 80.3, 79.9, 78.9, 78.3, 78.2, 78.1 x 2, 77.8, 75.7, 75.6, 75.3 x 2, 75.2, 74.6, 74.2, 73.8, 73.6, 73.5, 73.1, 72.8, 72.1 x 2, 70.6, 69.1, 68.8 x 2, 68.6, 68.5, 68.4, 66.7, 66.1, 66.0, 65.9 x 2, 65.5, 65.4, 65.3, 62.3, 55.3, 32.0, 29.8, 29.4, 29.3, 22.8, 21.0, 20.7, 20.6, 14.2; IR (solid): 3525, 2873, 1958, 1734, 1452, 1374, 1263, 1179, 984, 752, 713, 550 cm^{-1}.



Methyl
3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-68)

A mixture of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-42**) (14.7 mg, 5.74 μmol, 1.00 eq.), (3,4-dihydro-2H-pyran-2-ylmethoxy)-acetic acid 4-nitro-phenyl ester (10.1 mg, 0.0344 mmol, 6.00 eq.) (azeotroped two times with toluene), and pulverized activated MS-4A (46.0 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.460 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to 0 ˚C. 10-Camphorsulfonic acid (5.40 mg, 0.0230 mmol, 4.00 eq.) was added to the reaction mixture. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature. After being stirred at the same temperature for 5 h, the reaction mixture was filtered through a pad of Celite. The filtrate was concentrated in vacuo and chromatographed on a small amount of silica gel to remove excess (3,4-dihydro-2H-pyran-2-ylmethoxy)-acetic acid 4-nitro-phenyl ester. The residue was used for the next reaction without further purification.

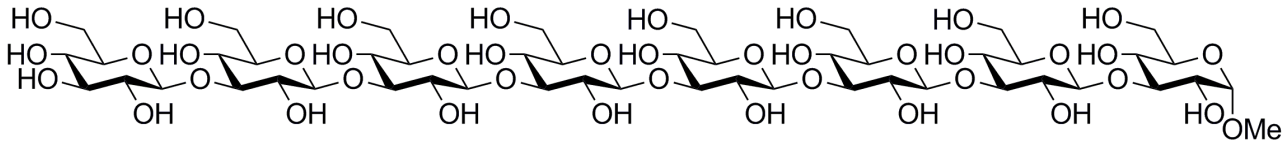
To a solution of the residue in dry CH_2Cl_2 (0.500 mL) and dry DMF (0.500 mL) was added Argo Pore resin (0.750 mmol/g, 10.0 eq.) and DIEA (0.0100 mL) at room temperature. After being shaken at room temperature for 12 h, the reaction mixture was filtrated and the resin was washed three times each with DMF (3.00 mL x 2), CH_2Cl_2 (3.00 mL x 2), MeOH (3.00 mL x 2), and CH_2Cl_2 (3.00 mL x 2). The resin was dried in vacuo.

The solid-support (resin was packed into MacroKans™ microreactor) was stirred in dry THF (3.00 mL) at room temperature for 15 min. Then liq. NH_3 (27.0 mL) and lithium-granule (50.0 mg) were added at -78 ˚C. After being stirred at the same temperature for 1.5 h, the reaction mixture was allowed to warm to reflux. After being stirred under reflux for 1 h, the reaction mixture was quenched with MeOH and stirred at room temperature for 12 h. The reaction mixture was filtered and the solid-support was washed three times each with THF (10.0 mL x 2), CH_2Cl_2 (10.0 mL x 2), THF/distilluted water (1/1) (10.0 mL x 2), MeOH (10.0 mL x 2), and CH_2Cl_2 (10.0 mL x 2). The solid-support (**3-70**) was dried in vacuo.

The solid-support (**3-70**) was treated with a solution of TFA (0.800 mL), MeOH (0.160 mL), and CH_2Cl_2 (3.04 mL) at room temperature for 30 min. The reaction mixture was filtered and rinsed with MeOH and distilluted watar. The filtrate was concentrated and azeotroped three times with EtOH.

To a solution of the residue in MeOH (1.00 mL) was added dimethylamine (0.100 mL) at room temperature. After being shaken at the same temperature for 5 min, the reaction was concentrated *in vacuo* and the residue was purified by revese-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with 90:10 water:MeOH to give methyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-68**) (3.50 mg, 2.63 μmol, 5 steps 46%)

$[\alpha]_D^{23}$ = +14.8 (c = 0.175, H_2O); ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.79 (d, 1H, anomericHα, *J* = 3.9 Hz), 4.76 (br-d, 1H, anomericHβ x 5, *J* = 8.2 Hz), 4.72 (d, 1H, anomericHβ, *J* = 6.8 Hz), 4.70 (d, 1H, anomericβ, *J* = 7.2 Hz), 3.83-3.91 (m, 8H), 3.67-3.78 (m, 16H), 3.31-3.55 (m, 27H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 103.4, 85.2, 76.5, 74.1, 69.0, 61.5.; IR (solid): 3633, 2998, 2722, 2566, 2031, 1465, 1180, 1042, 902, 769, 653, 514 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{49}H_{85}O_{41}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1329.4566, found: 1329.4550.



Methyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-72)

A mixture of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-78**) (19.6 mg, 5.08 μmol, 1.00 eq.), (3,4-dihydro-2H-pyran-2-ylmethoxy)-acetic acid 4-nitro-phenyl ester (8.90 mg, 0.0305 mol, 6.00 eq.) (azeotroped two times with toluene), and pulverized activated MS-4A (41.0 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.410 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to 0 ˚C. 10-Camphorsulfonic acid (4.70 mg, 0.0203 mmol, 4.00 eq.) was added to the reaction mixture. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was filtered through a pad of Celite. The filtrate was concentrated in vacuo and chromatographed on a small amount of silica gel to remove excess (3,4-dihydro-2H-pyran-2-ylmethoxy)-acetic acid 4-nitro-phenyl ester. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in dry CH_2Cl_2 (0.500 mL) and dry DMF (0.500 mL) was added Argo Pore resin (0.750 mmol/g, 10.0 eq.) and DIEA (0.0500 mL) at room temperature. After being shaken at room temperature for 12 h, the reaction mixture was filtrated and the resin was washed three times each with

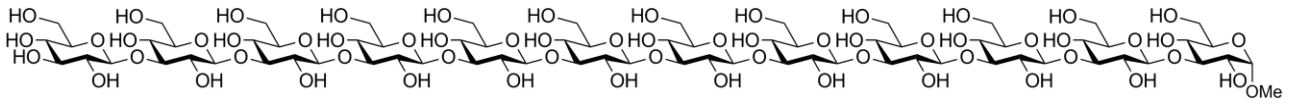
DMF (3.00 mL x 2), CH_2Cl_2 (3.00 mL x 2), MeOH (3.00 mL x 2), and CH_2Cl_2 (3.00 mL x 2). The resin was dried in vacuo.

The solid-support (resin was packed into MacroKans™ microreactor) was stirred in dry THF (3.00 mL) at room temperature for 15 min. Then liq. NH_3 (27.0 mL) and lithium-granule (50.0 mg) were added at -78 ˚C. After being stirred at the same temperature for 1.5 h, the reaction mixture was allowed to warm to reflux. After being stirred under reflux for 1 h, the reaction mixture was quenched with MeOH and stirred at room temperature for 12 h. The reaction mixture was filtered and the solid-support was washed three times each with THF (10.0 mL x 2), CH_2Cl_2 (10.0 mL x 2), THF/distilluted water (1/1) (10.0 mL x 2), MeOH (10.0 mL x 2), and CH_2Cl_2 (10.0 mL x 2). The solid-support (**3-79**) was dried in vacuo.

The solid-support (**3-79**) was treated with a solution of TFA (0.800 mL), MeOH (0.160 mL), and CH_2Cl_2 (3.04 mL) at room temperature for 15 min. The reaction mixture was filtered and rinsed with MeOH and distilluted watar. The filtrate was concentrated and azeotroped three times with EtOH.

To a solution of the residue in MeOH (1.00 mL) was added dimethylamine (0.100 mL) at room temperature. After being shaken at the same temperature for 5 min, the reaction was concentrated *in vacuo* and the residue was purified by revese-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with 90:10 water:MeOH to give methyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-72**) (2.10 mg, 1.06 μmol, 5 steps 21%)

$[\alpha]_D^{24}$ = -2.08 (c = 0.0550, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.79 (d, 1H, anomericHα, *J* = 2.9 Hz), 4.76 (br-d, 9H, anomericHβ x 9, *J* = 7.7 Hz), 4.72 (d, 1H, anomericHβ, *J* = 7.7 Hz), 3.83-3.91 (m, 12H), 3.63-3.78 (m, 24H), 3.31-3.55 (m, 39H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 103.4, 85.0, 76.5, 74.2, 69.0, 61.5; IR (solid): 3476, 3140, 2596, 2019, 1465, 1188, 1043, 915, 775, 654, 524 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{73}H_{125}O_{61}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1977.6679, found: 1977.6666.



Methyl
3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (3-17)

A mixture of methyl 2-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3-61**) (4.60 mg, 0.881 μmol, 1.00 eq.), 3-(3,4-dihydro-2H-pyran-2-yl)-propanoic acid 4-nitro-phenyl ester (6.80 mg, 0.0245 mmol, 27.8 eq.) (azeotroped two times with toluene), and pulverized activated MS-4A (mg) in dry CH_2Cl_2 (0.0200 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to 0 ˚C. 10-Camphorsulfonic acid (0.400 mg, 1.76 μmol, 2.00 eq.) was added to the reaction mixture. The reaction mixture was allowed to warm to room temperature. After being stirred at the same temperature for 5 h, the reaction mixture was filtered through a pad of Celite. The filtrate was concentrated in vacuo and chromatographed on a small amount of silica gel to remove excess 3-(3,4-dihydro-2H-pyran-2-yl)-propanoic acid 4-nitro-phenyl ester. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in dry CH_2Cl_2 (1.00 mL) and dry DMF (1.00 mL) was added Argo Pore resin (0.750 mmol/g, 30.0 eq.) and DIEA (0.0500 mL) at room temperature. After being shaken at room temperature for 12 h, the reaction mixture was filtrated and the resin was washed three times each with DMF (3.00 mL x 2), CH_2Cl_2 (3.00 mL x 2), MeOH (3.00 mL x 2), and CH_2Cl_2 (3.00 mL x 2). The resin was dried in vacuo.

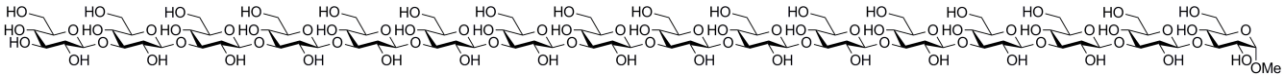
The solid-support (resin was packed into MacroKans™ microreactor) was stirred in dry THF (3.00 mL) at room temperature for 15 min. Then liq. NH_3 (27.0 mL) and lithium-granule (50.0 mg) were added at -78 ˚C. After being stirred at the same temperature for 1.5 h, the reaction mixture was allowed to warm to reflux. After being stirred under reflux for 1 h, the reaction mixture was quenched with MeOH and stirred at room temperature for 12 h. The reaction mixture was filtered and the solid-support was washed three times each with THF (10.0 mL x 2), CH_2Cl_2 (10.0 mL x 2), THF/distilluted water (1/1) (10.0 mL x 2), MeOH (10.0 mL x 2), and CH_2Cl_2 (10.0 mL x 2). The solid-support (**3-69**) was dried in vacuo.

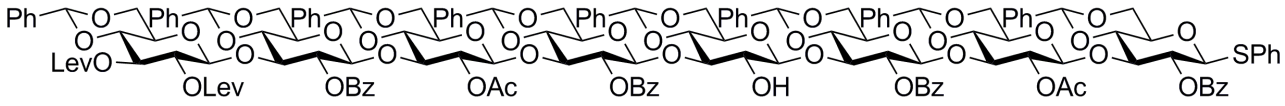
The solid-support (**3-69**) was treated with a solution of TFA (0.800 mL), MeOH (0.150 mL), and CH_2Cl_2 (3.04 mL) at room temperature for 15 min. The reaction mixture was filtered and rinsed with MeOH and distilluted watar. The filtrate was concentrated and azeotroped three times with EtOH.

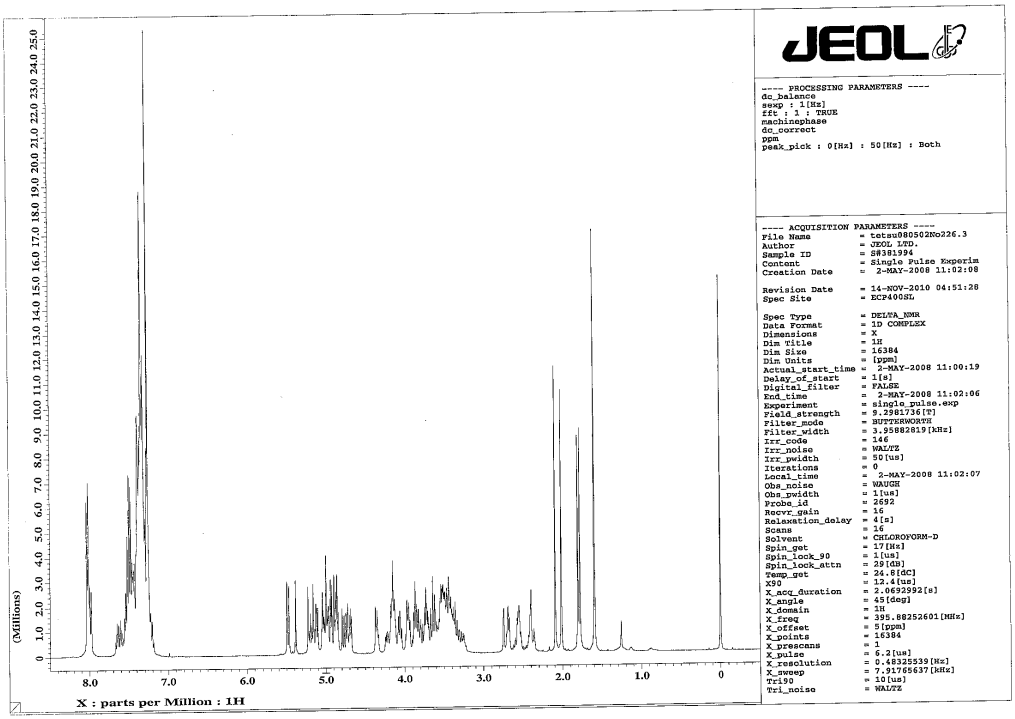
To a solution of the residue in MeOH (1.00 mL) was added dimethylamine (0.100 mL) at room temperature. After being shaken at the same temperature for 5 min, the reaction was concentrated *in vacuo*

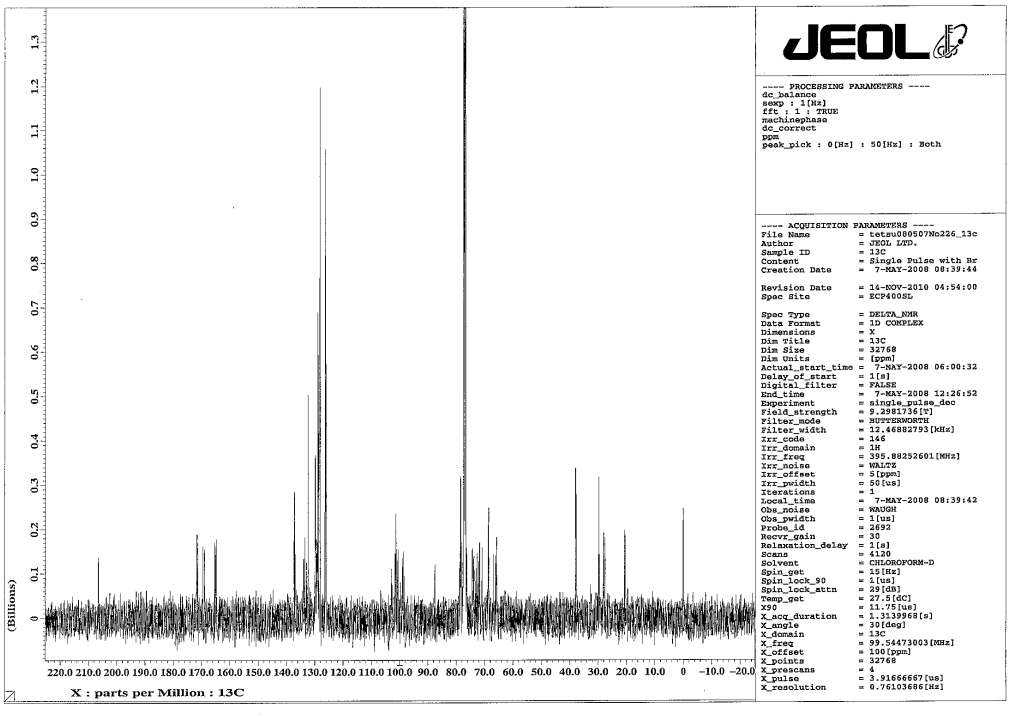
and the residue was purified by revese-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with 90:10 water:MeOH to give methyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-α-D-glucopyranoside (**3**-**17**) (0.600 mg, 0.228 μmol, 5 steps 26%)

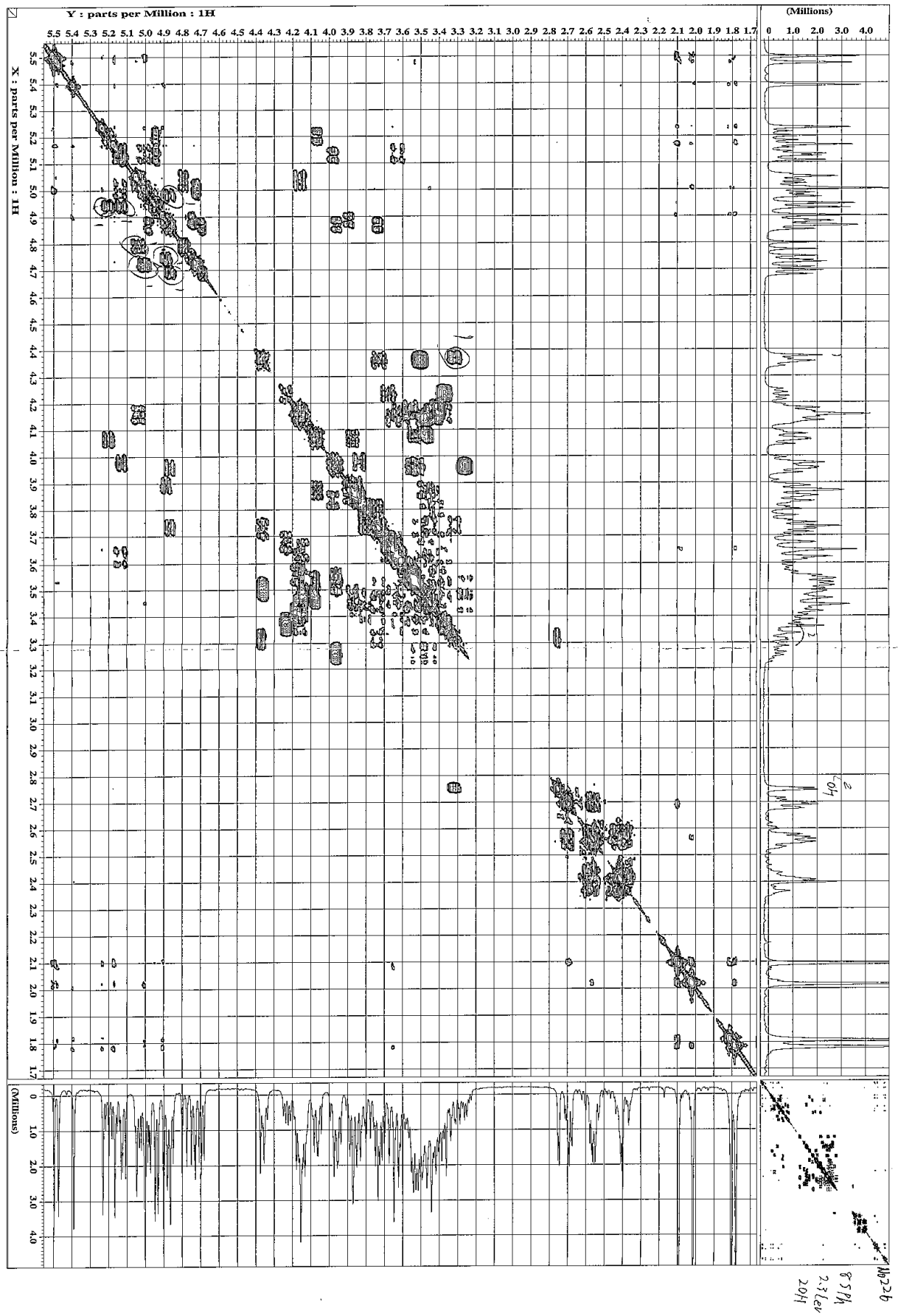
$[\alpha]_D^{24}$ = -2.36 (c = 0.0800, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.79 (d, 1H, anomericHα, *J* = 3.9 Hz), 4.75-4.77 (br-d, 13H, anomericHβ x 13, *J* = 8.2 Hz), 4.72 (d, 1H, anomericHβ, *J* = 7.2 Hz), 4.70 (d, 1H, anomericHβ, *J* = 7.2 Hz), 3.83-3.91 (m, 17H), 3.63-3.78 (m, 31H), 3.44-3.55 (m, 46H), 3.31-3.41 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 103.3, 85.0, 76.4, 74.1, 68.9, 61.5; IR (solid): 3637, 3022, 2716, 2573, 2012, 1465, 1198, 1077, 797, 663, 524 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{97}H_{165}O_{81}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 2625.8792, found: 2625.8809.

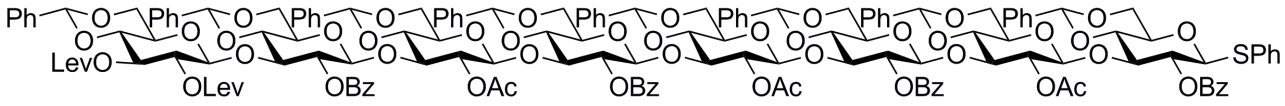


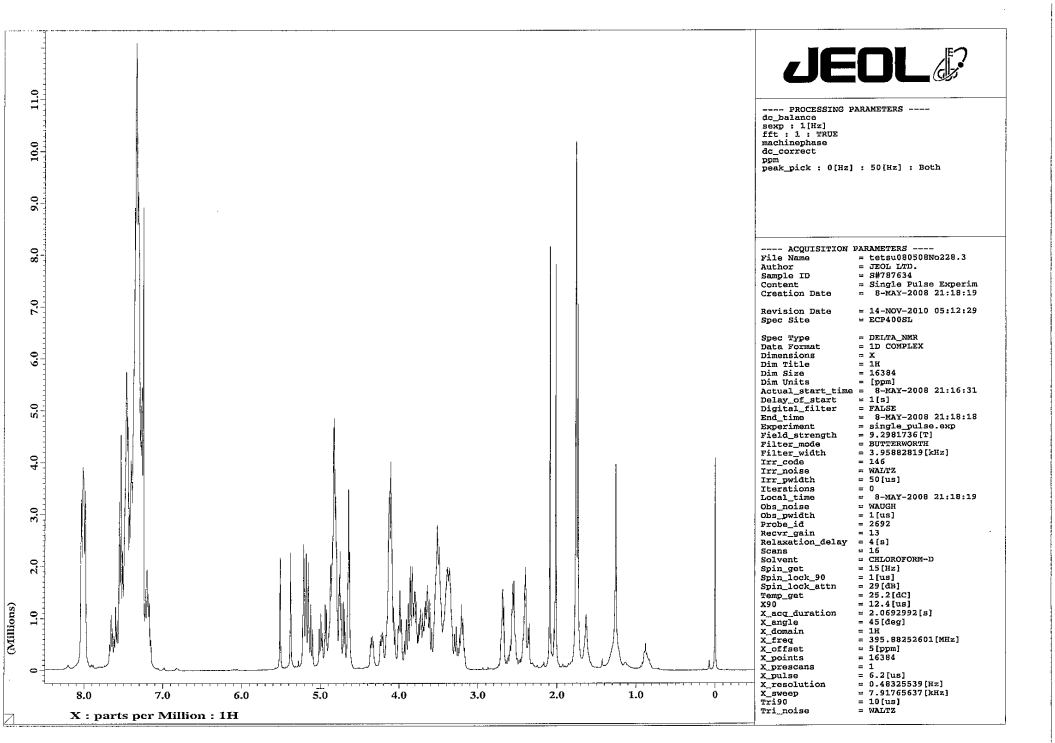

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OH
OBz
OAc
OBz
SPh

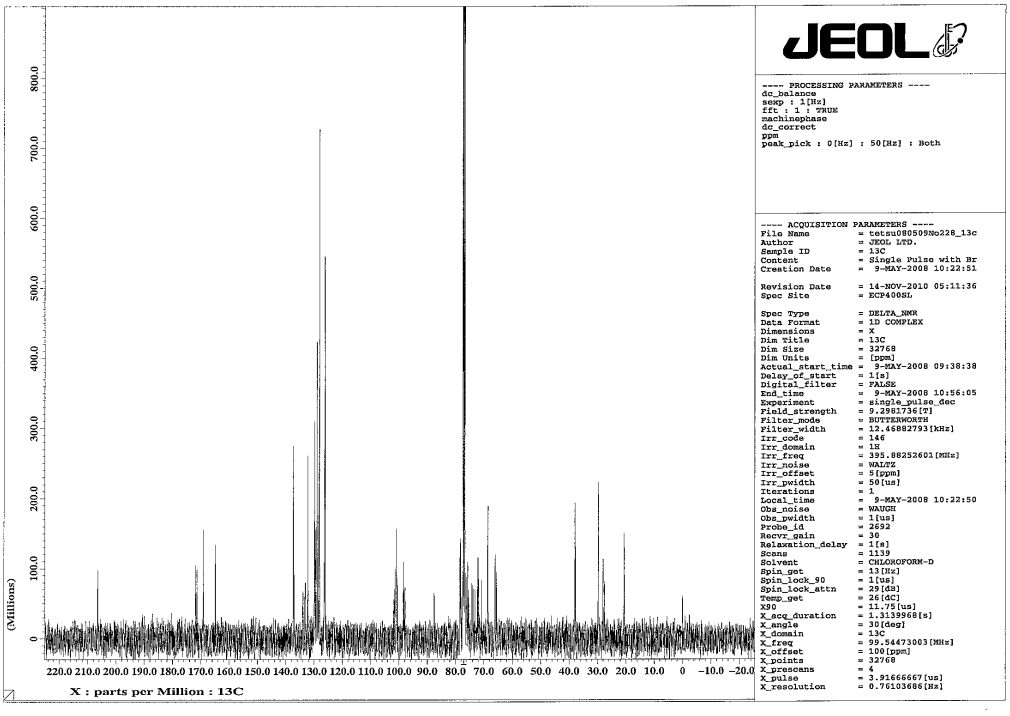

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080502No226.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S8381394
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 2-MAY-2008 11:02:08
Revision Date = 14-NOV-2010 04:51:28
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 2-MAY-2008 11:00:19
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 2-MAY-2008 11:02:06
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.98882819[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 2-MAY-2008 11:02:07
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 11us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.8[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

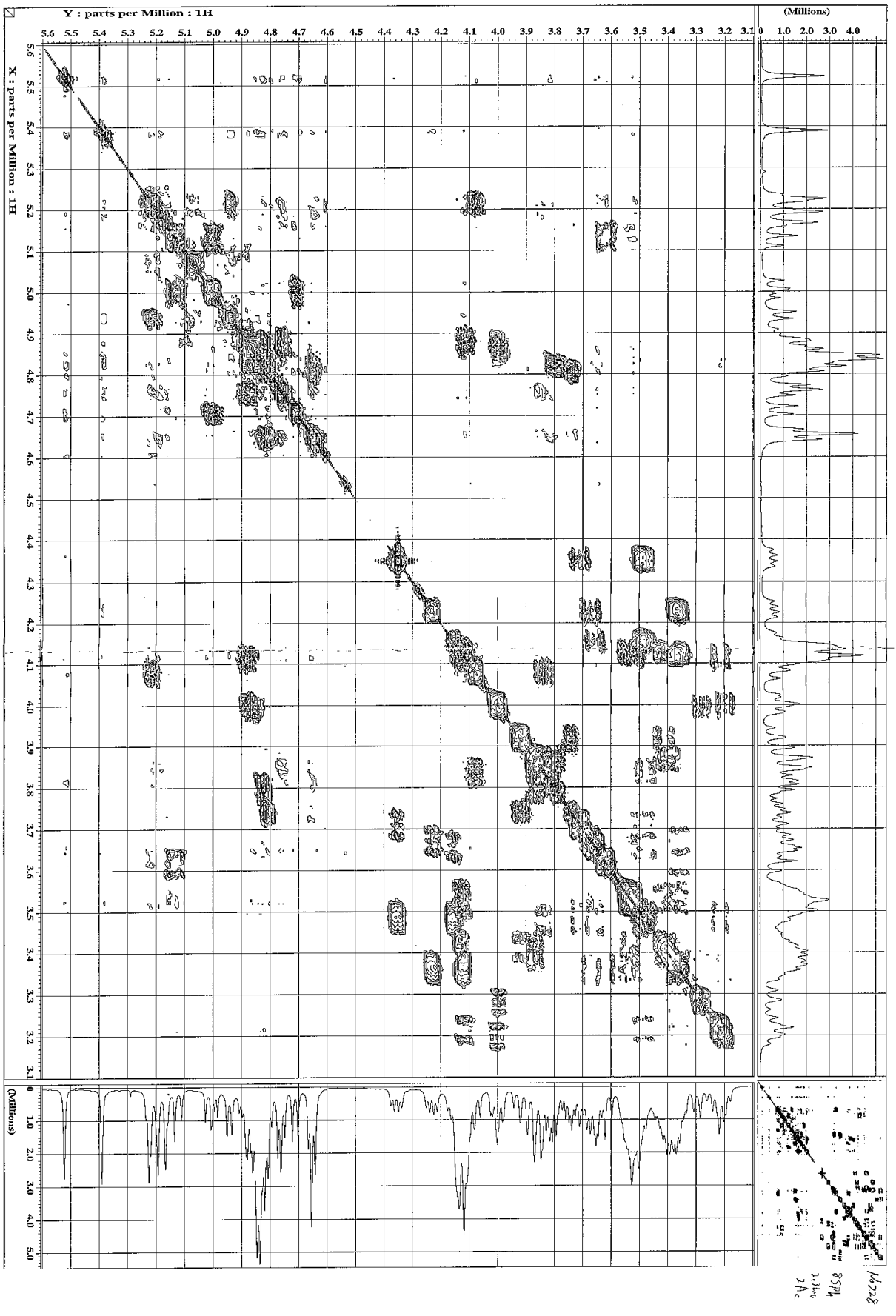

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080507No226_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Hr
Creation Date = 7-MAY-2008 08:39:44
Revision Date = 14-NOV-2010 04:54:00
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 7-MAY-2008 06:00:32
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 7-MAY-2008 12:26:52
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 7-MAY-2008 08:39:42
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 4128
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27.5[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

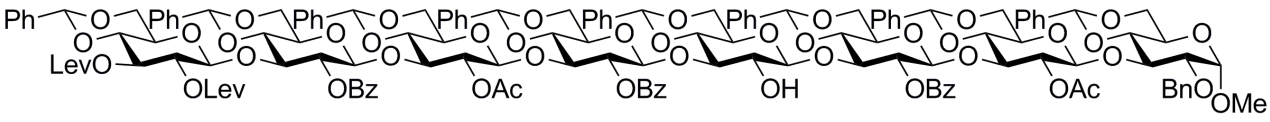

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
(Millions)

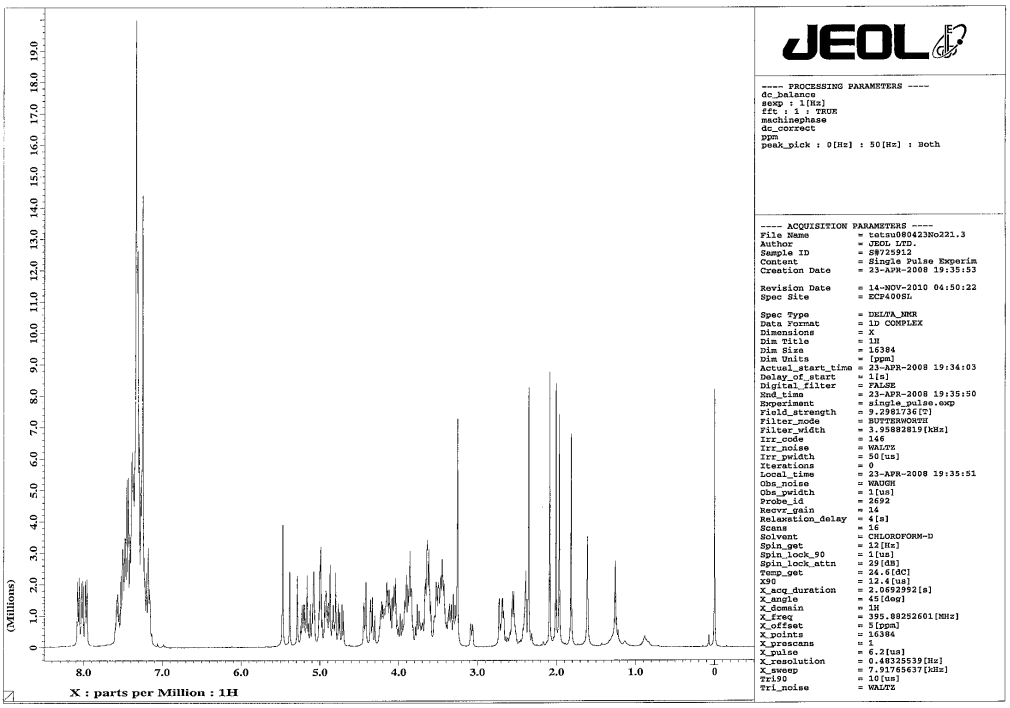

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
SPh

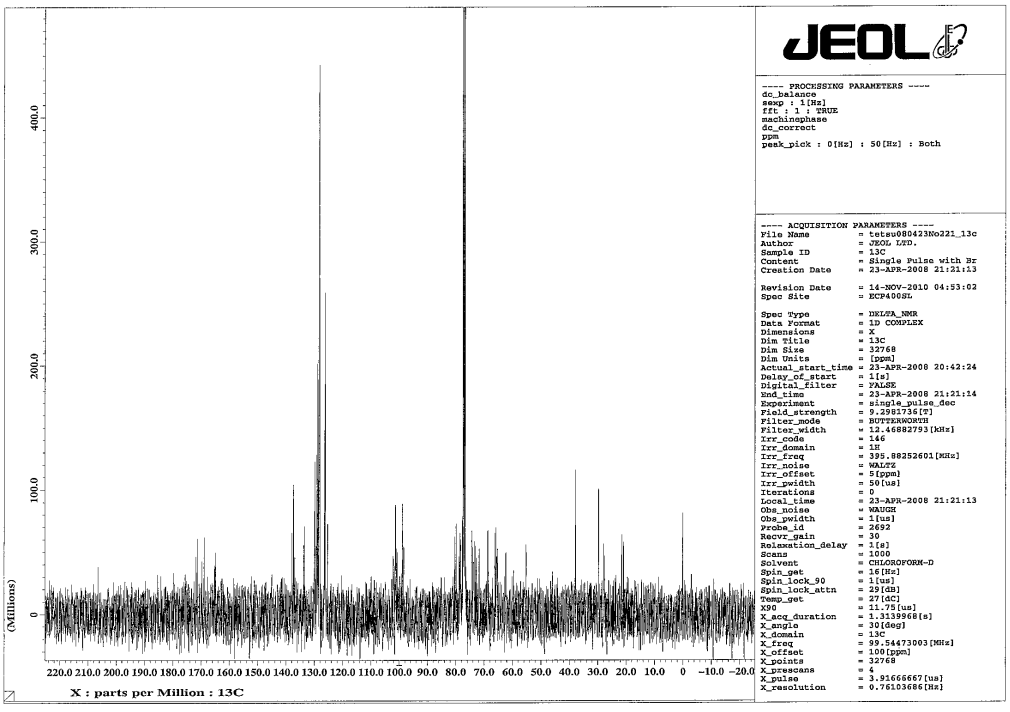

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080508No228.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#787634
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 8-MAY-2008 21:18:19
Revision Date = 14-NOV-2010 05:12:29
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 8-MAY-2008 21:16:31
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 8-MAY-2008 21:18:18
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 8-MAY-2008 21:18:19
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 13
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 25.2[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

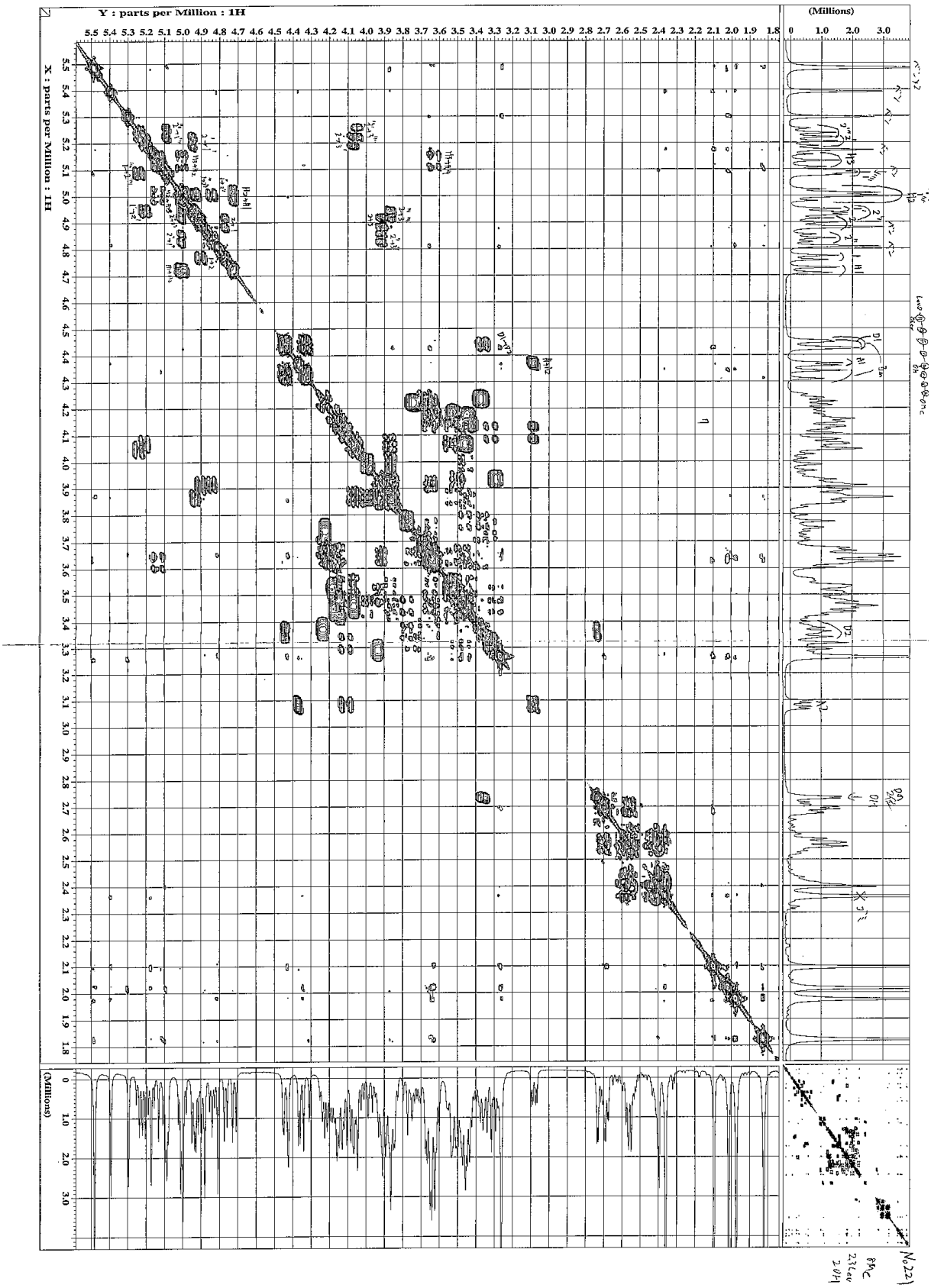

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080509No228_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 9-MAY-2008 10:22:51
Revision Date = 14-NOV-2010 05:11:36
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 9-MAY-2008 09:38:38
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 9-MAY-2008 10:56:05
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 9-MAY-2008 10:22:50
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 1139
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 13[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 26[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Millions)
X : parts per Million : 13C

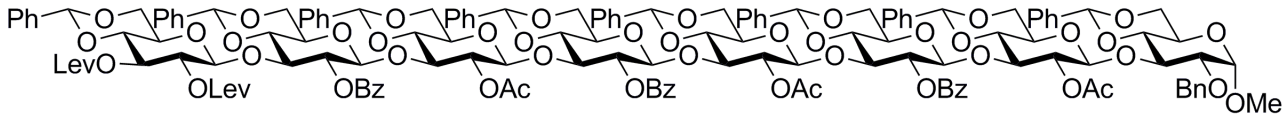

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
(Millions)

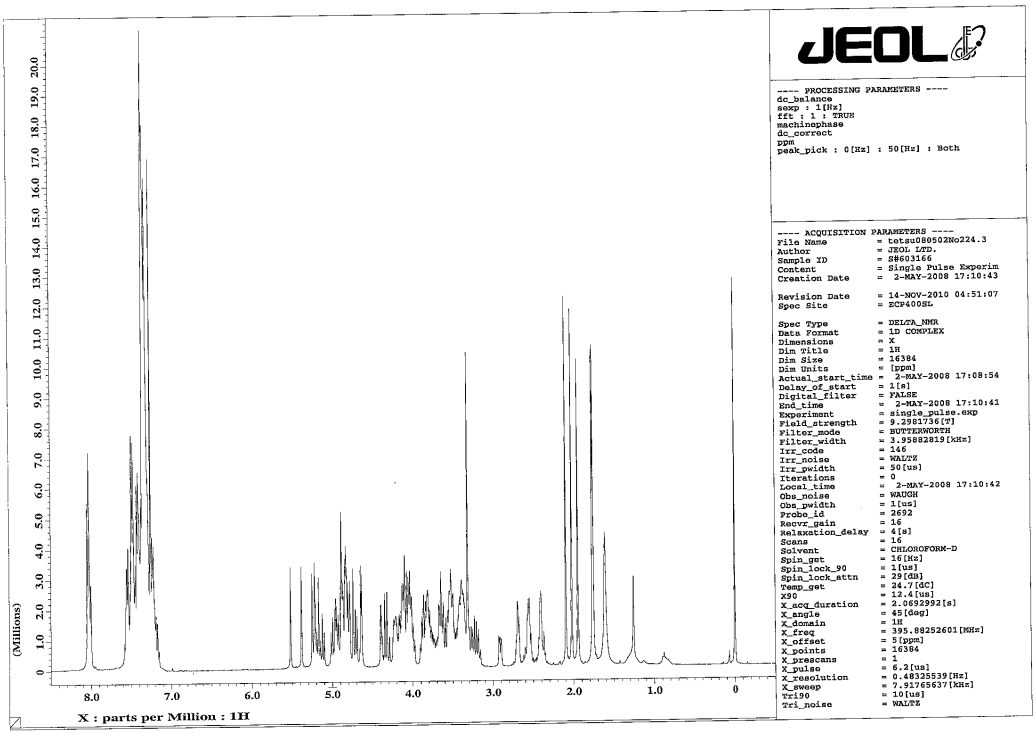

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OH
OBz
OAc
BnO
OMe

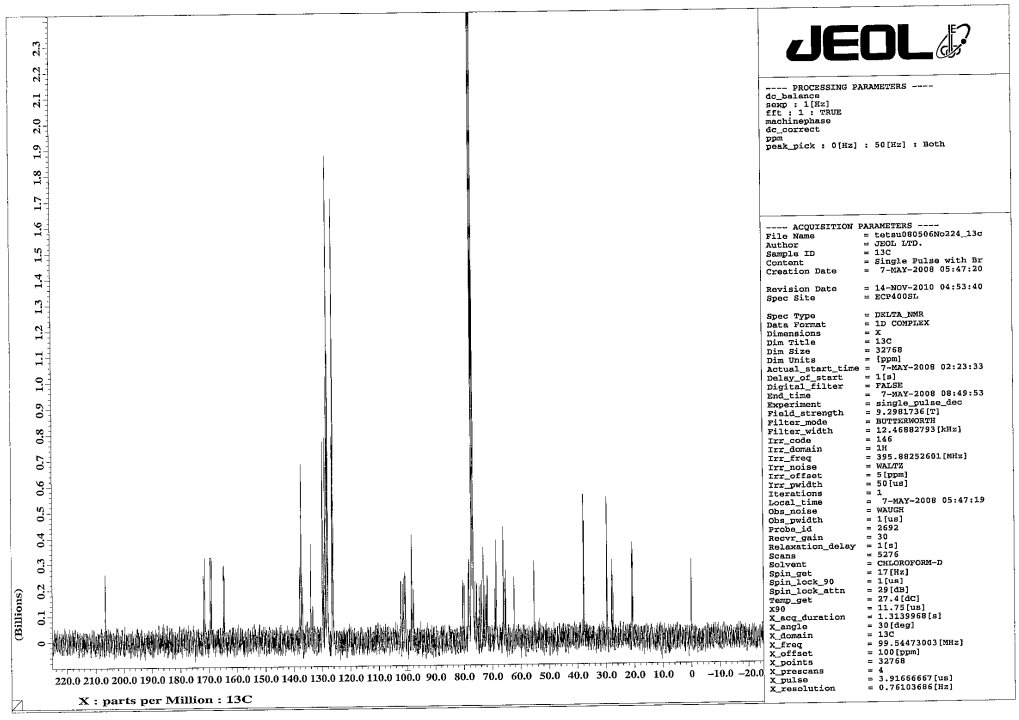

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080423No221.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S8725912
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 23-APR-2008 19:35:53
Revision Date = 14-NOV-2010 04:50:22
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 23-APR-2008 19:34:03
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 23-APR-2008 19:35:50
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 23-APR-2008 19:35:51
Obs_noise = WANGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 14
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 12[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.6[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

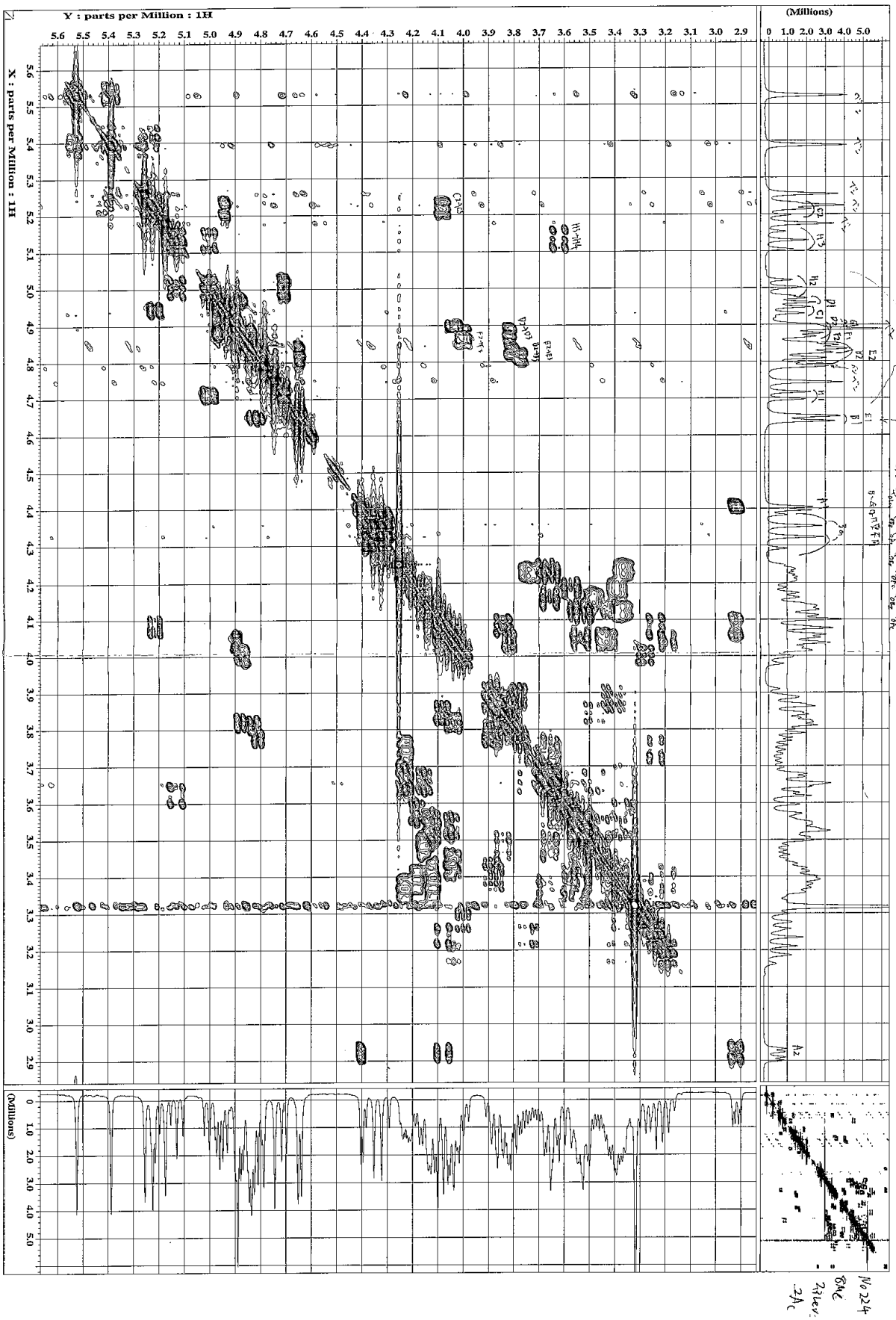

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080423No221_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 23-APR-2008 21:21:13
Revision Date = 14-NOV-2010 04:53:02
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 23-APR-2008 20:42:24
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 23-APR-2008 21:21:14
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 23-APR-2008 21:21:13
Obs_noise = WANGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 1000
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Millions)
X : parts per Million : 13C

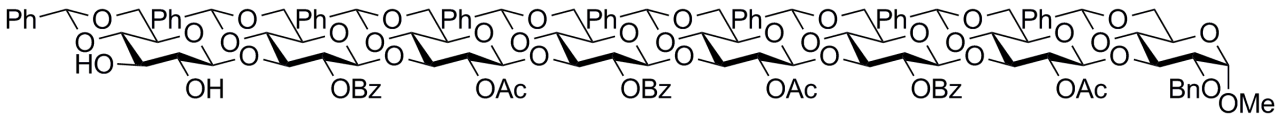

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)

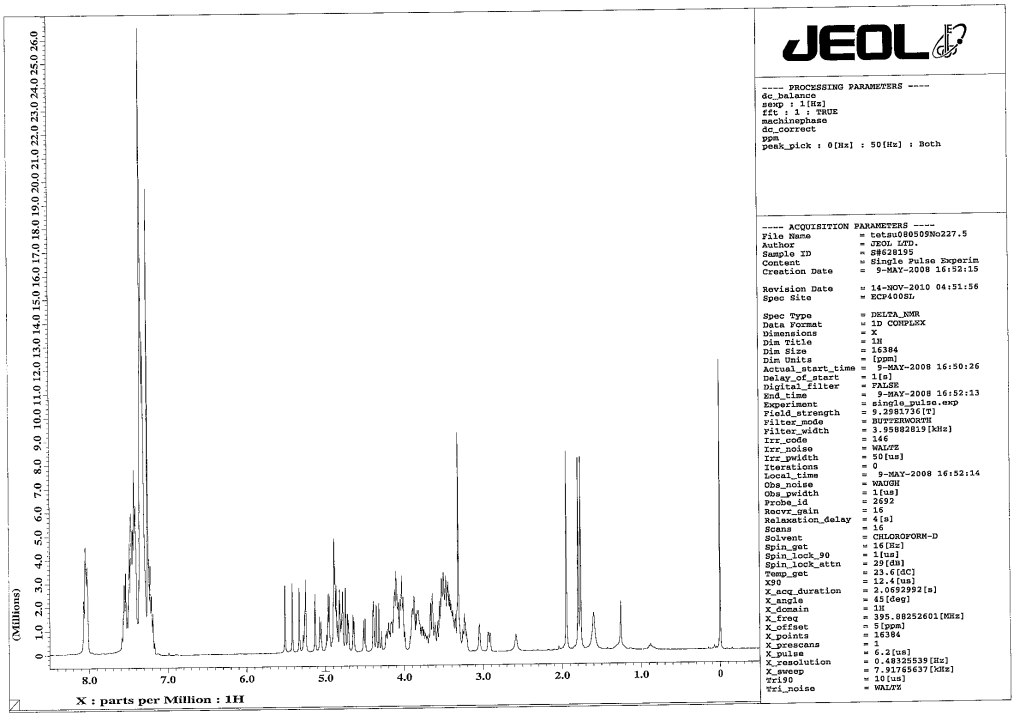

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
BnO
OMe

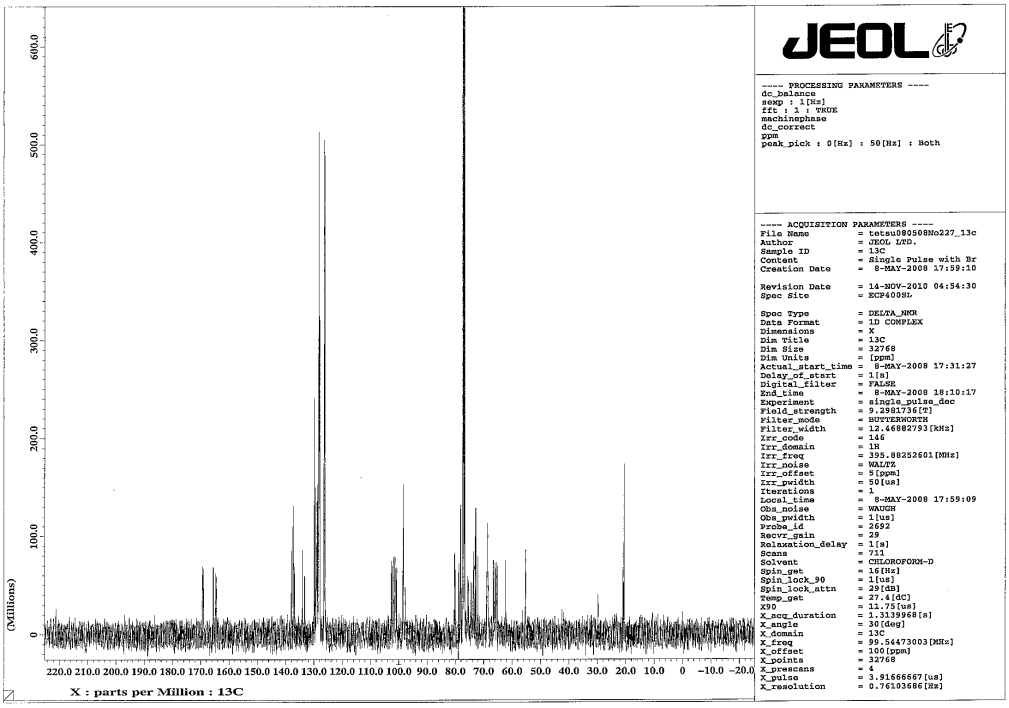

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080502No224.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#603166
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 2-MAY-2008 17:16:43
Revision Date = 14-NOV-2010 04:51:07
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 2-MAY-2008 17:08:54
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 2-MAY-2008 17:10:41
Experiment = single_pulse.ekp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 2-MAY-2008 17:10:42
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.7[dC]
z90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

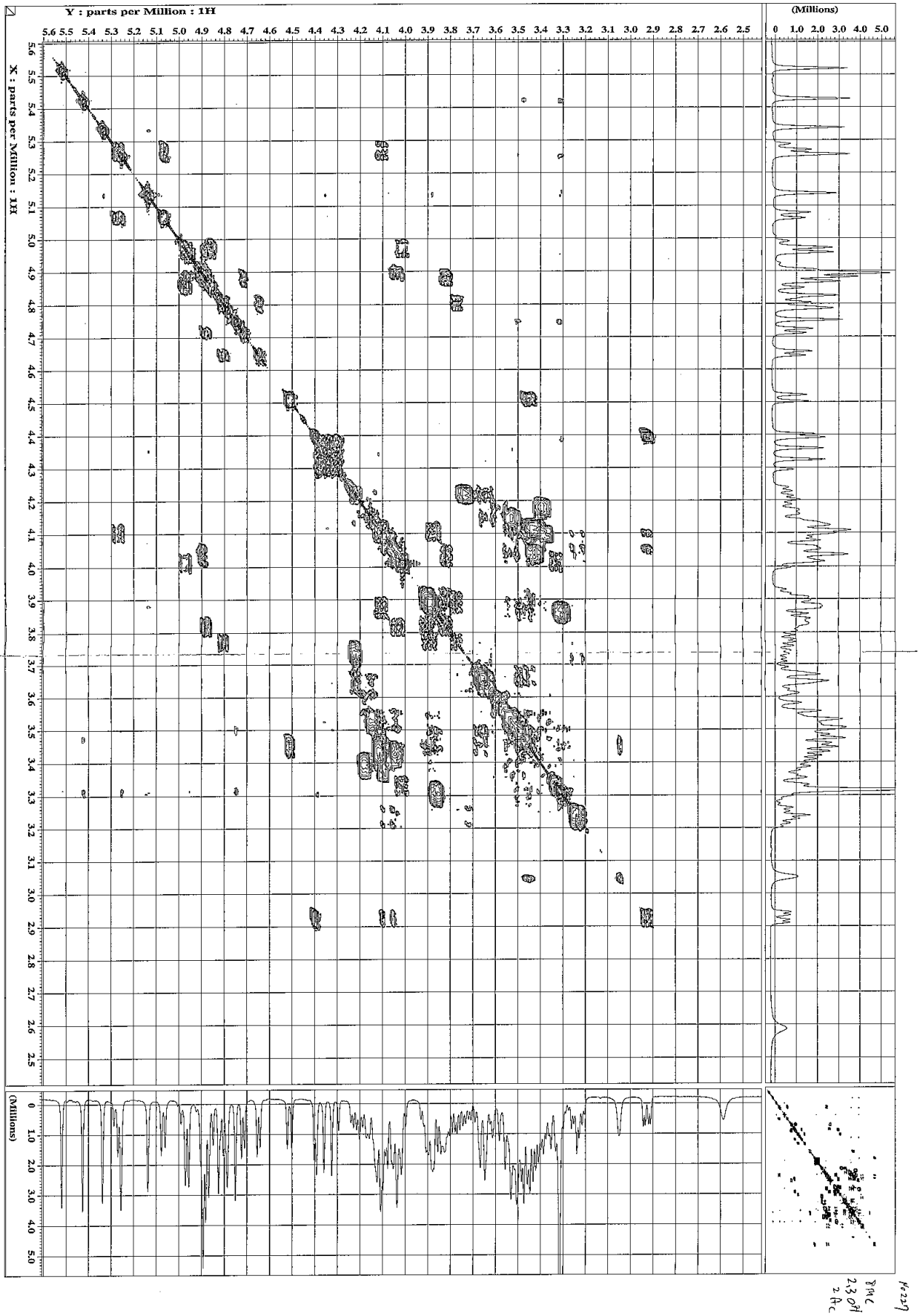

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080506No224_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 7-MAY-2008 05:47:20
Revision Date = 14-NOV-2010 04:53:40
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 7-MAY-2008 02:23:33
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 7-MAY-2008 08:49:53
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 7-MAY-2008 05:47:19
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 5276
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27.4[dC]
z90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103685[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

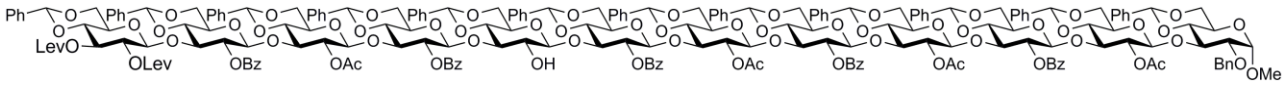

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)

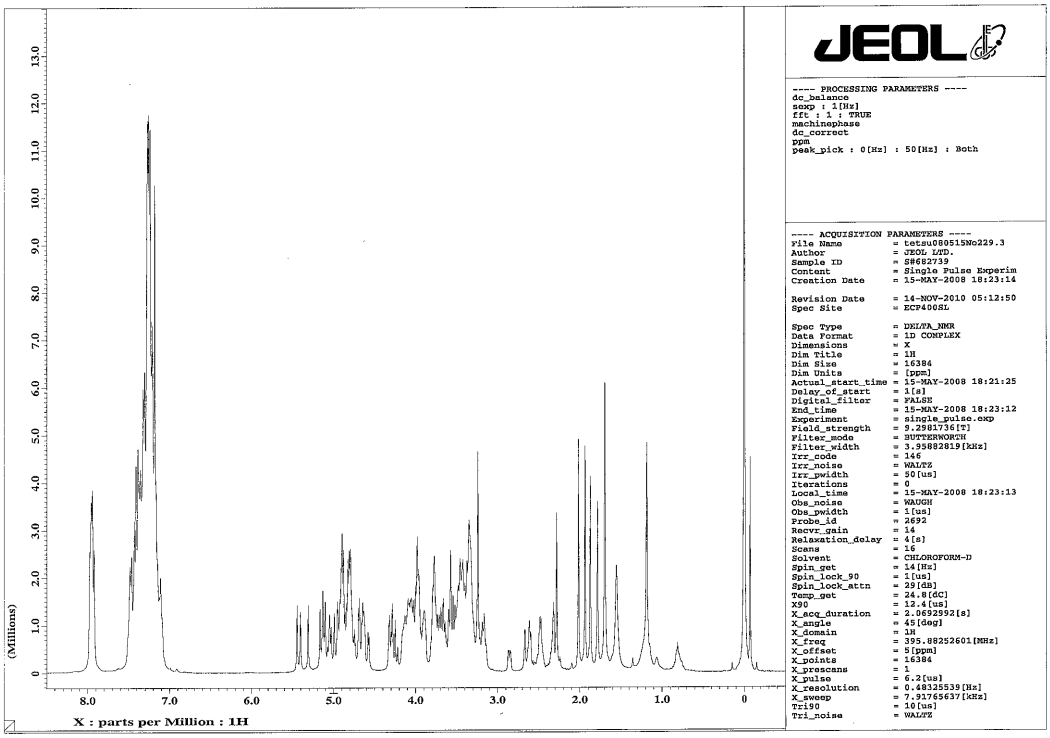

Ph
HO
OH
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
BnO
OMe

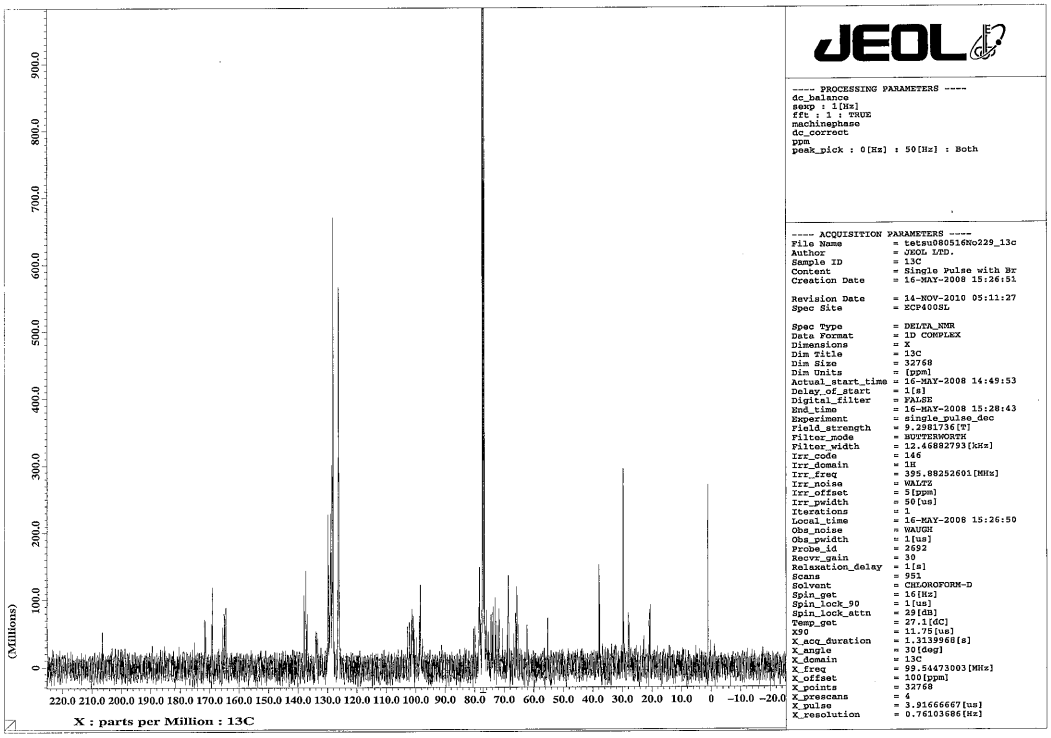

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tatsu080509No227.5
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#628195
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 9-MAY-2008 16:52:15
Revision Date = 14-NOV-2010 04:51:56
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 9-MAY-2008 16:50:26
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 9-MAY-2008 16:52:13
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 9-MAY-2008 16:52:14
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 23.6[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

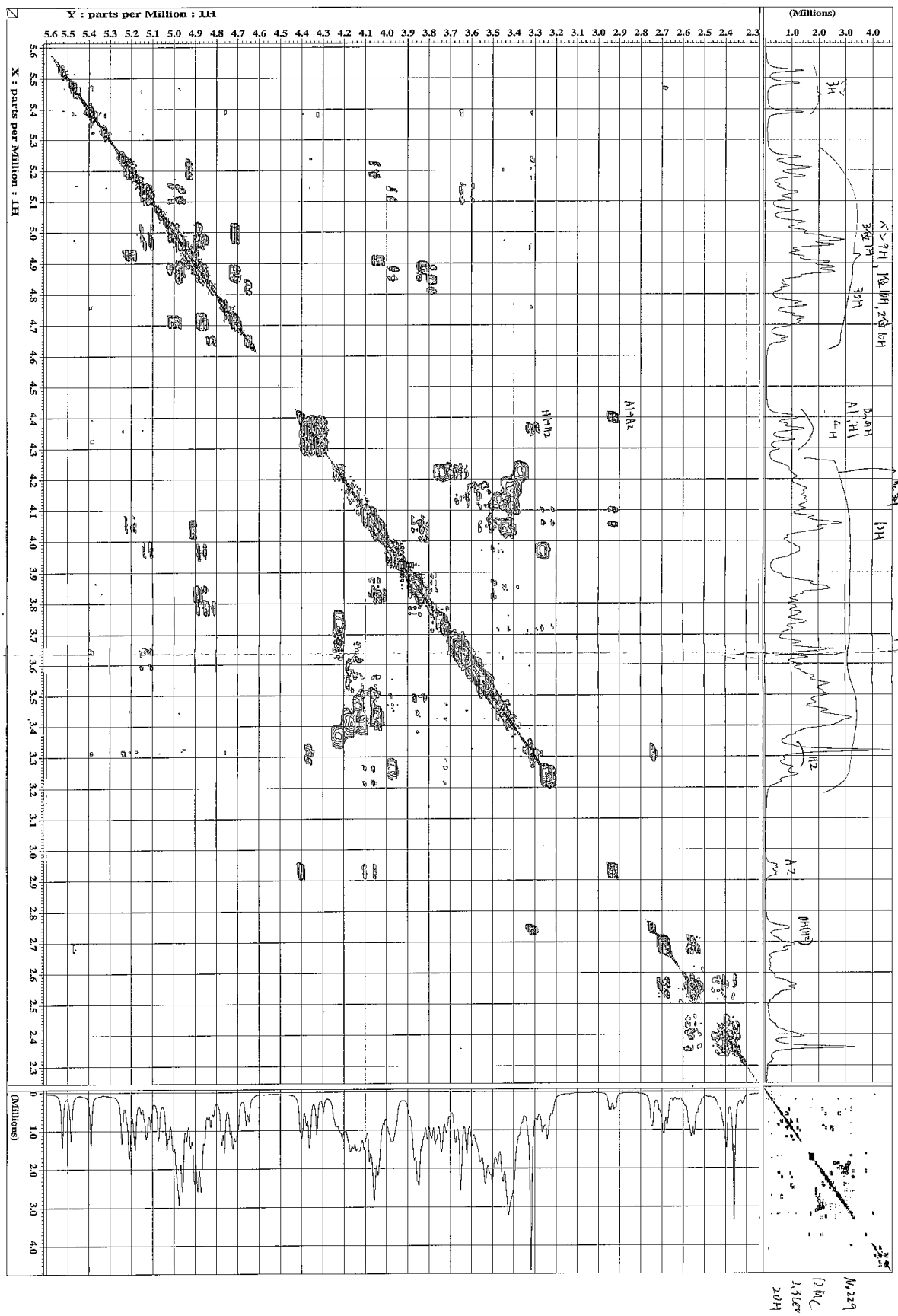

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tatsu080508No227_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 8-MAY-2008 17:59:10
Revision Date = 14-NOV-2010 04:54:30
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 8-MAY-2008 17:31:27
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 8-MAY-2008 18:10:17
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 8-MAY-2008 17:59:09
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 29
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 711
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27.4[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Millions)
X : parts per Million : 13C

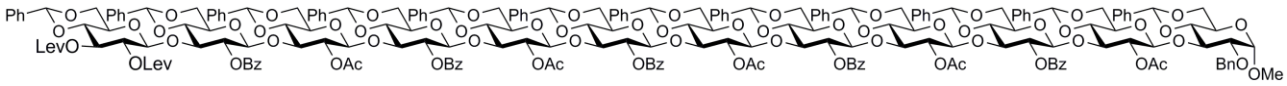

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
(Millions)

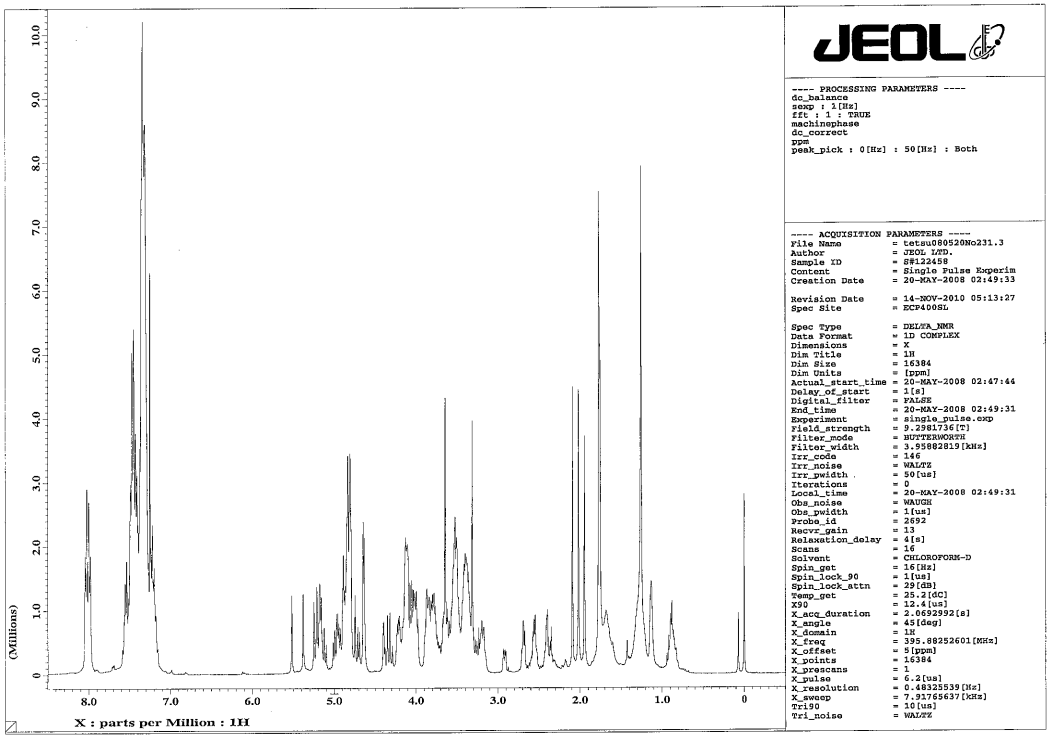

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OH
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
BnO
OMe

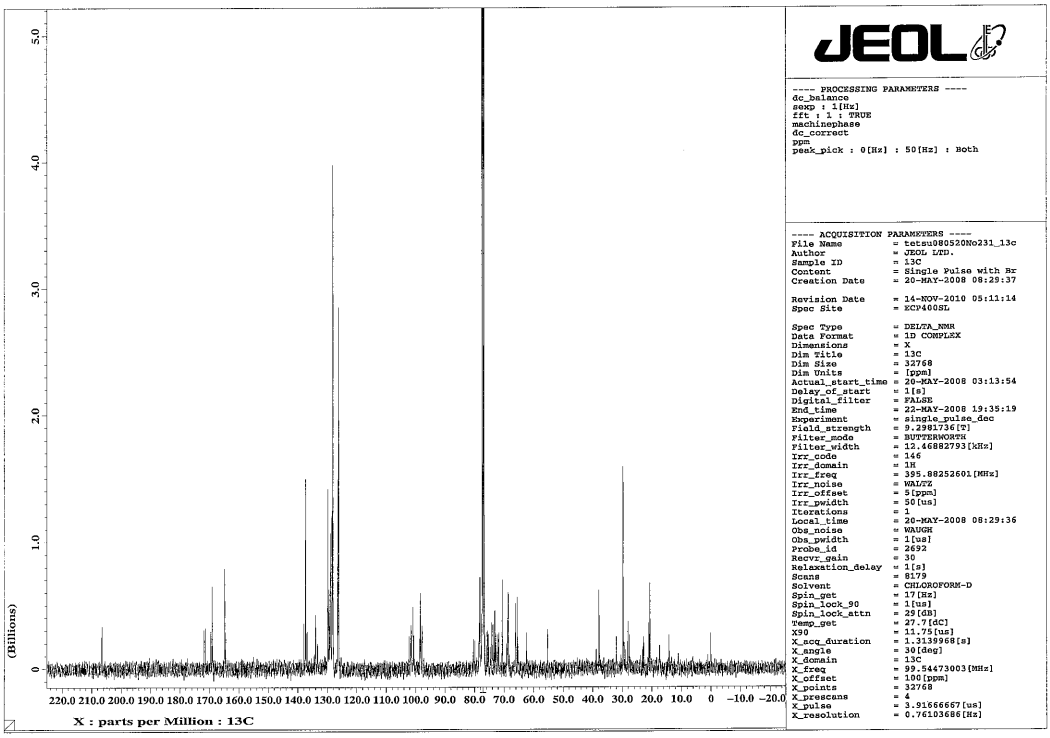

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080515No229.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#682739
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 15-MAY-2008 18:23:14
Revision Date = 14-NOV-2010 05:12:50
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DEL/FA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 15-MAY-2008 18:21:25
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 15-MAY-2008 18:23:12
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 15-MAY-2008 18:23:13
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 14
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 14[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.6[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Trr_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

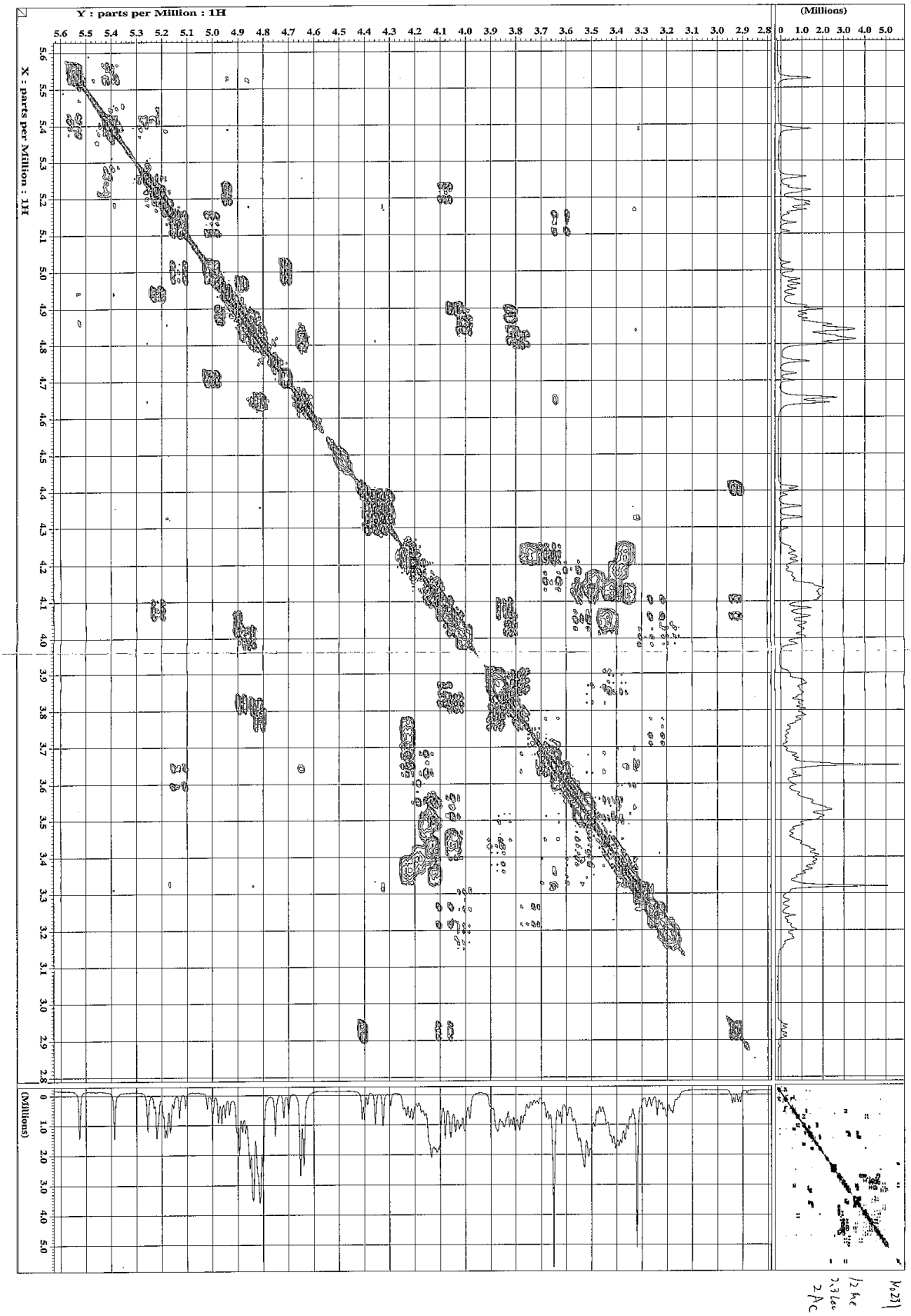

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080516No229_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 16-MAY-2008 15:26:51
Revision Date = 14-NOV-2010 05:11:27
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DEL/DA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 16-MAY-2008 14:49:53
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 16-MAY-2008 15:28:43
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 16-MAY-2008 15:26:50
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 951
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27.1[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Millions)
X : parts per Million : 13C

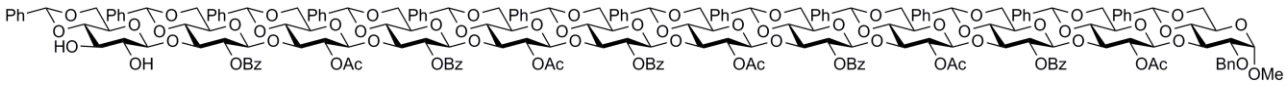

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)

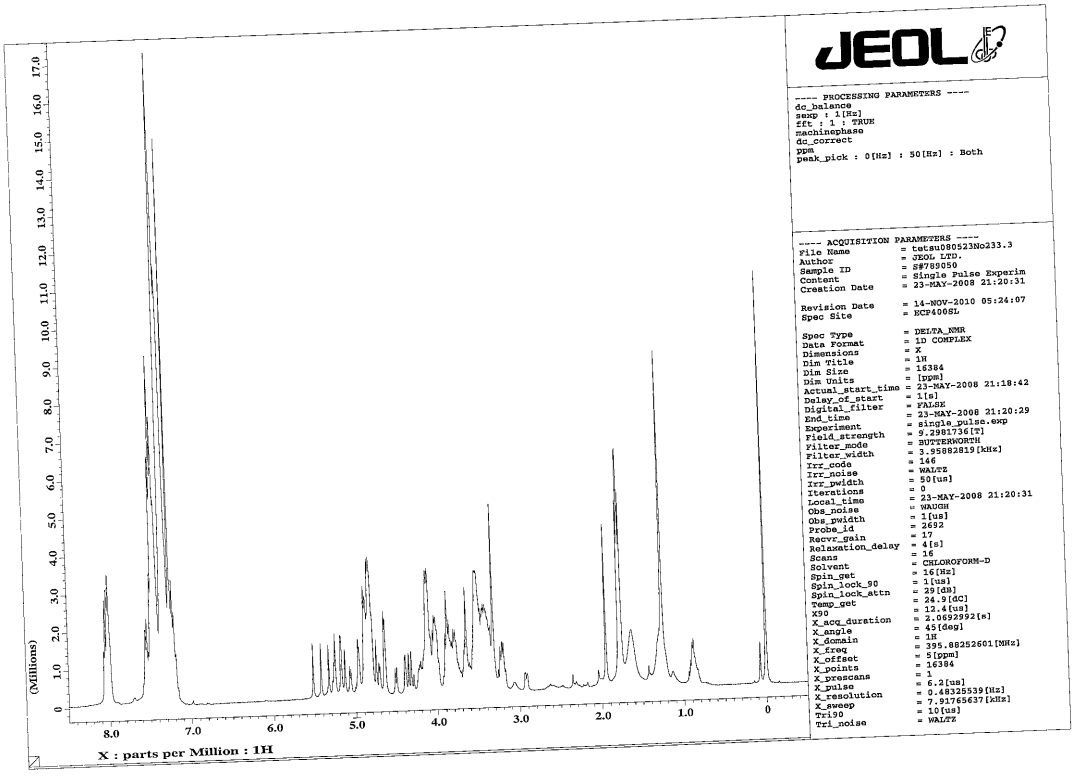

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
BnO
OMe

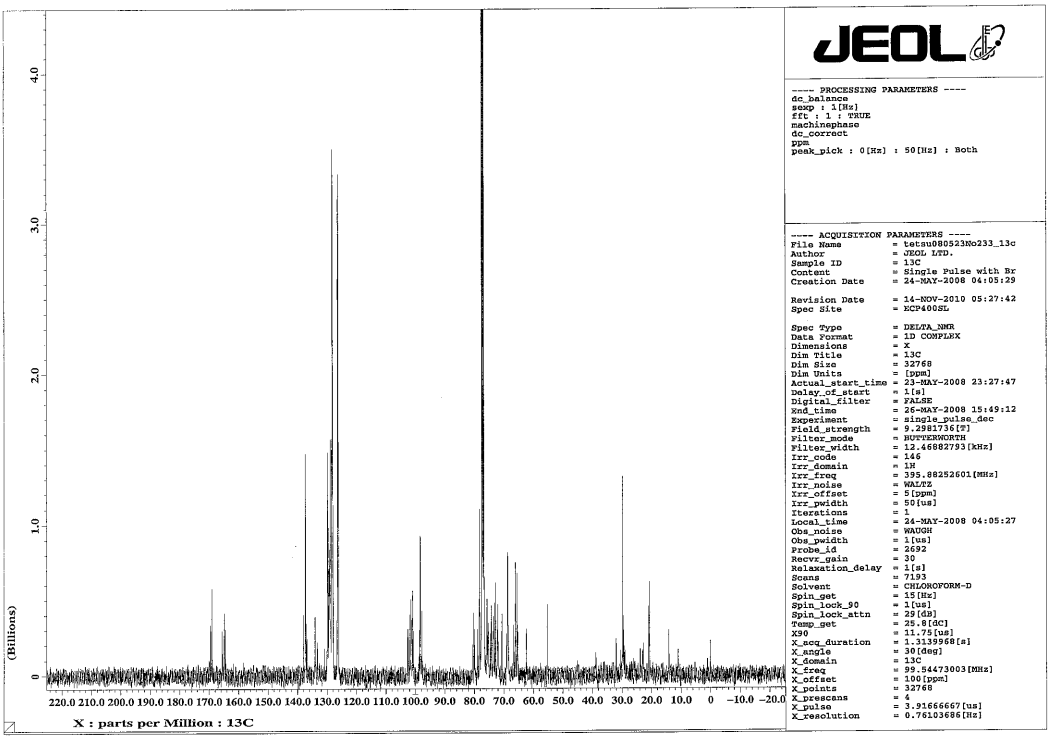

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080520No231.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#122458
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 20-MAY-2008 02:49:33
Revision Date = 14-NOV-2010 05:13:27
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 20-MAY-2008 02:47:44
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 20-MAY-2008 02:49:31
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.9588281[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 8
Local_time = 20-MAY-2008 02:49:31
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 13
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 25.2[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

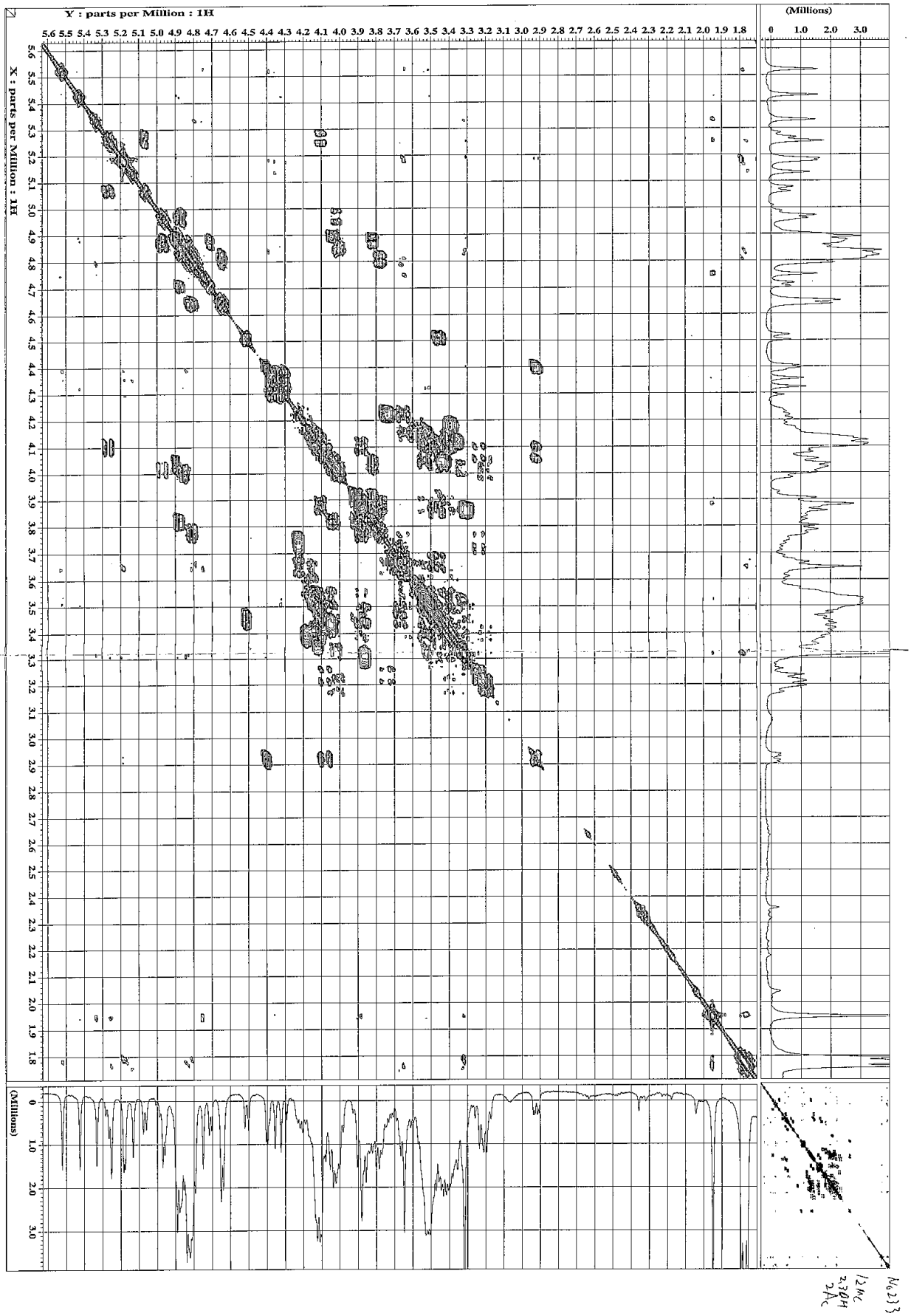

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080520No231_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Rr
Creation Date = 20-MAY-2008 08:29:37
Revision Date = 14-NOV-2010 05:11:14
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 20-MAY-2008 03:13:54
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 22-MAY-2008 19:35:19
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 20-MAY-2008 08:29:36
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 8179
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27.7[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103688[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

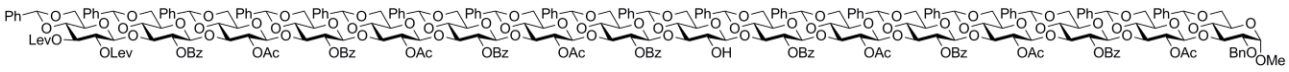

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
(Millions)

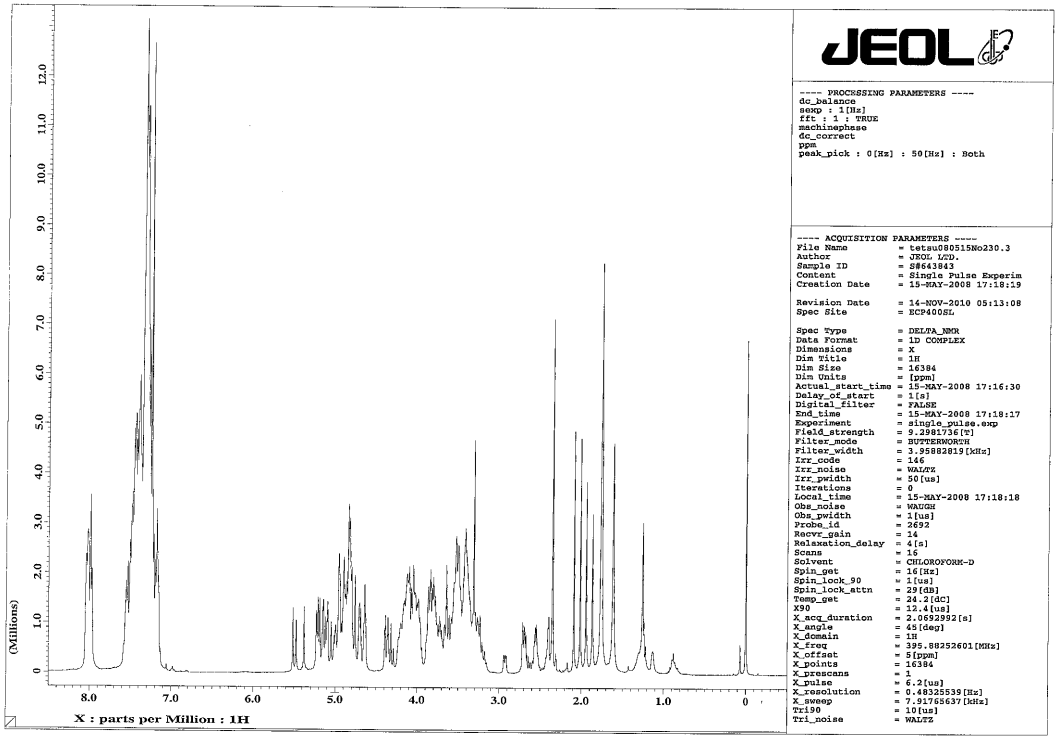

Ph
HO
OH
OBz
OAc
BnO
OMe

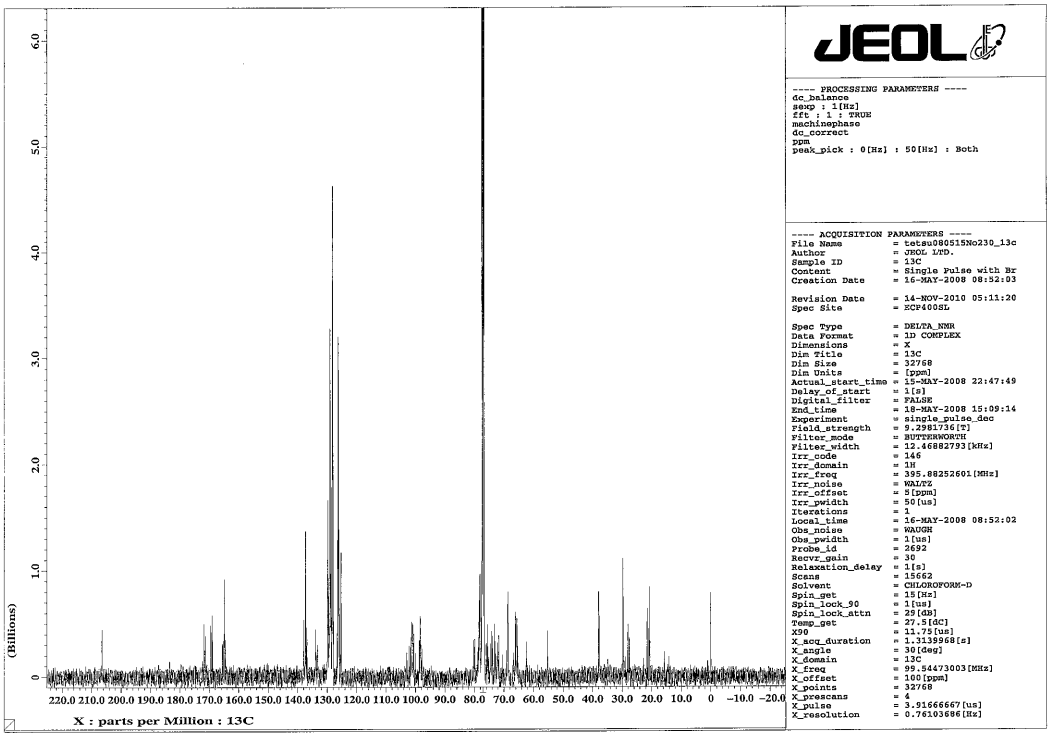

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080523No233.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#789050
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 23-MAY-2008 21:20:31
Revision Date = 14-NOV-2010 05:24:07
Spec Site = NCP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 23-MAY-2008 21:18:42
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 23-MAY-2008 21:20:29
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 23-MAY-2008 21:20:31
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 17
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.9[dC]
X90 = 13.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

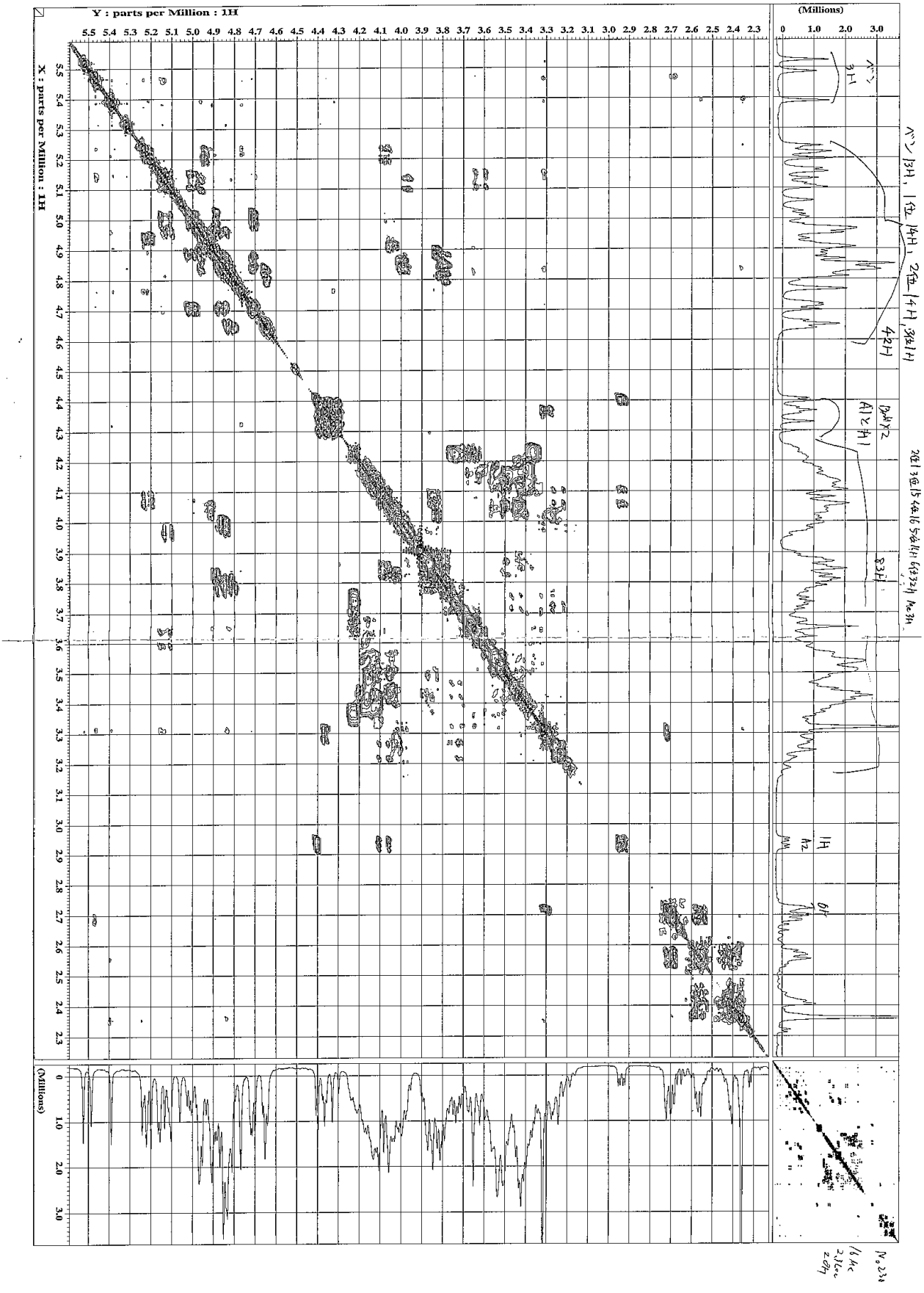

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080523No233_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 24-MAY-2008 04:05:29
Revision Date = 14-NOV-2010 05:27:42
Spec Site = NCP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 23-MAY-2008 23:27:47
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 26-MAY-2008 15:49:12
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 24-MAY-2008 04:05:27
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 7193
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 25.8[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

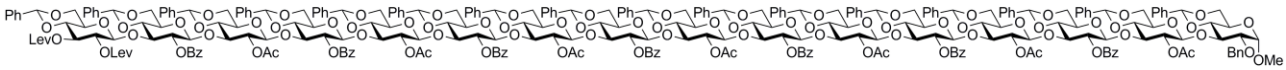

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
(Millions)

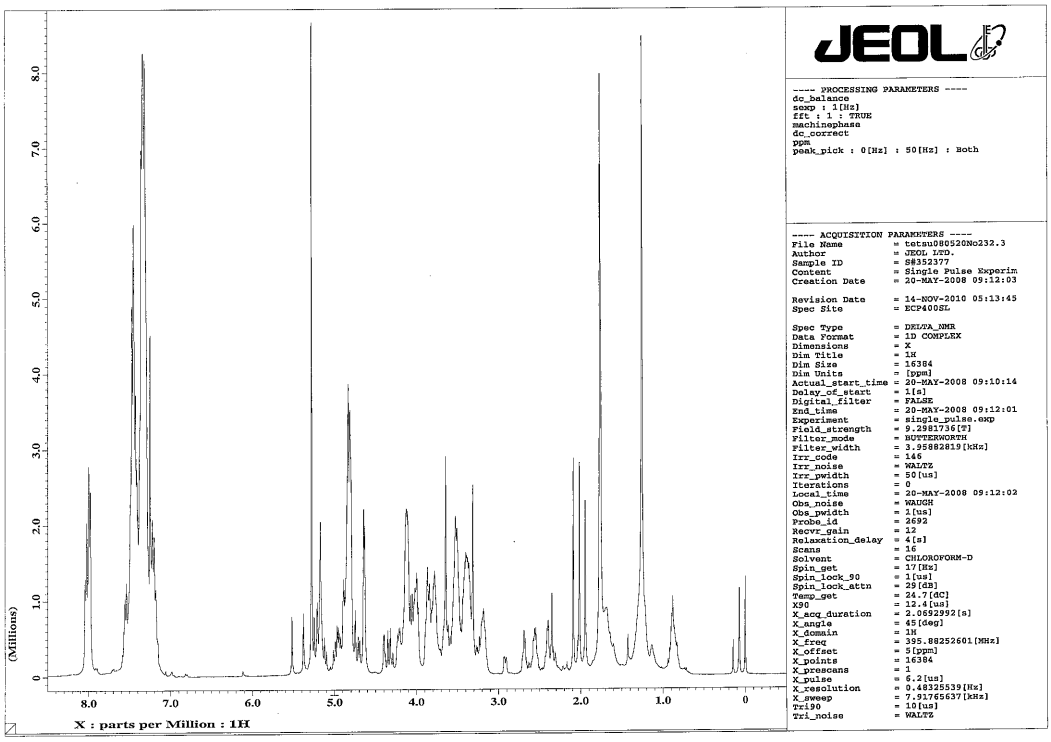

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OH
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
BnO
OMe

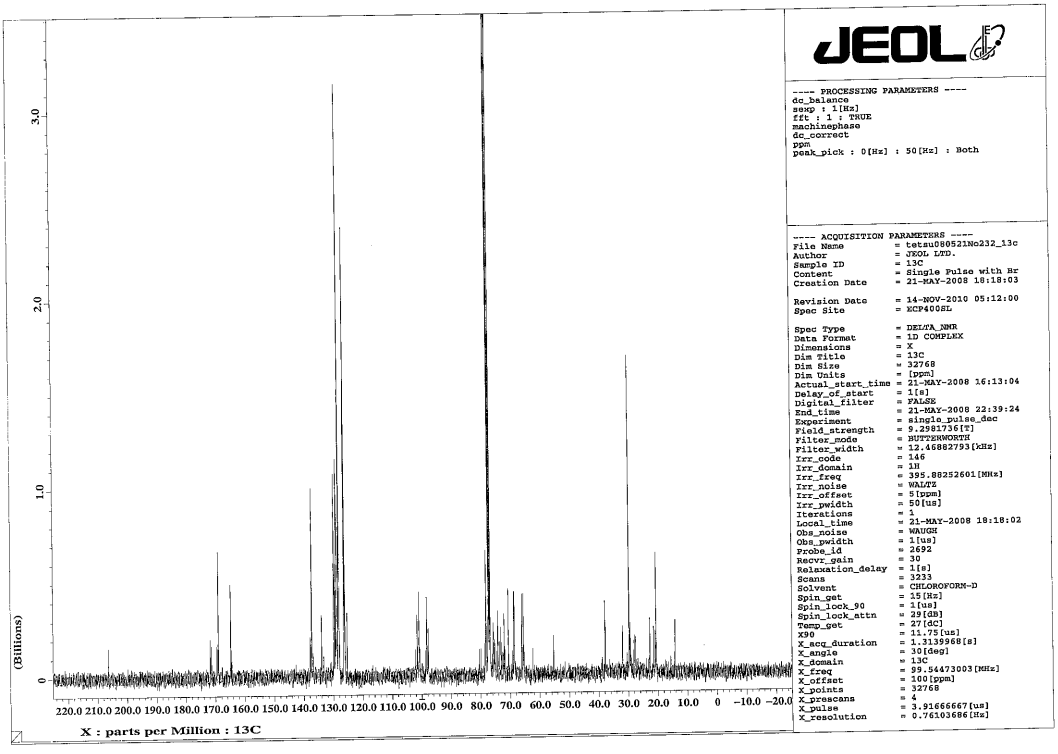

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080515No230.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#643843
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 15-MAY-2008 17:18:19
Revision Date = 14-NOV-2010 05:13:08
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 15-MAY-2008 17:16:30
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 15-MAY-2008 17:18:17
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 15-MAY-2008 17:18:18
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 14
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.2[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

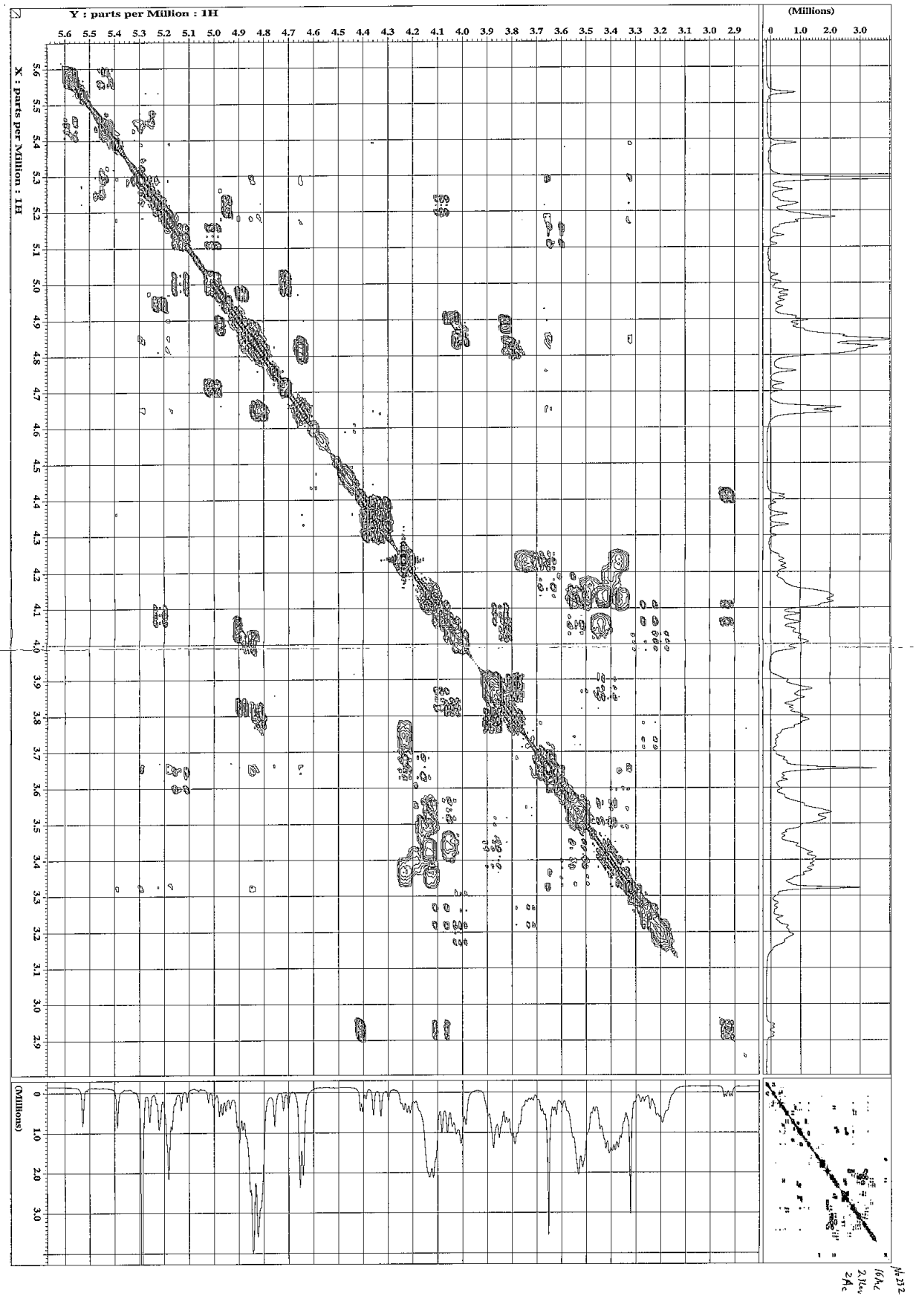

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080515No230_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 16-MAY-2008 08:52:03
Revision Date = 14-NOV-2010 05:11:20
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 15-MAY-2008 22:47:49
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 16-MAY-2008 15:09:14
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 16-MAY-2008 08:52:02
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 15662
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27.5[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103696[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

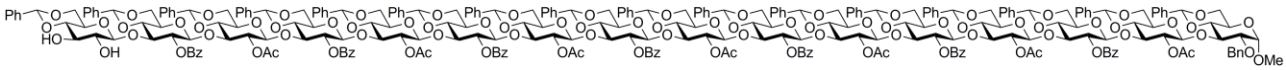

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
(Millions)

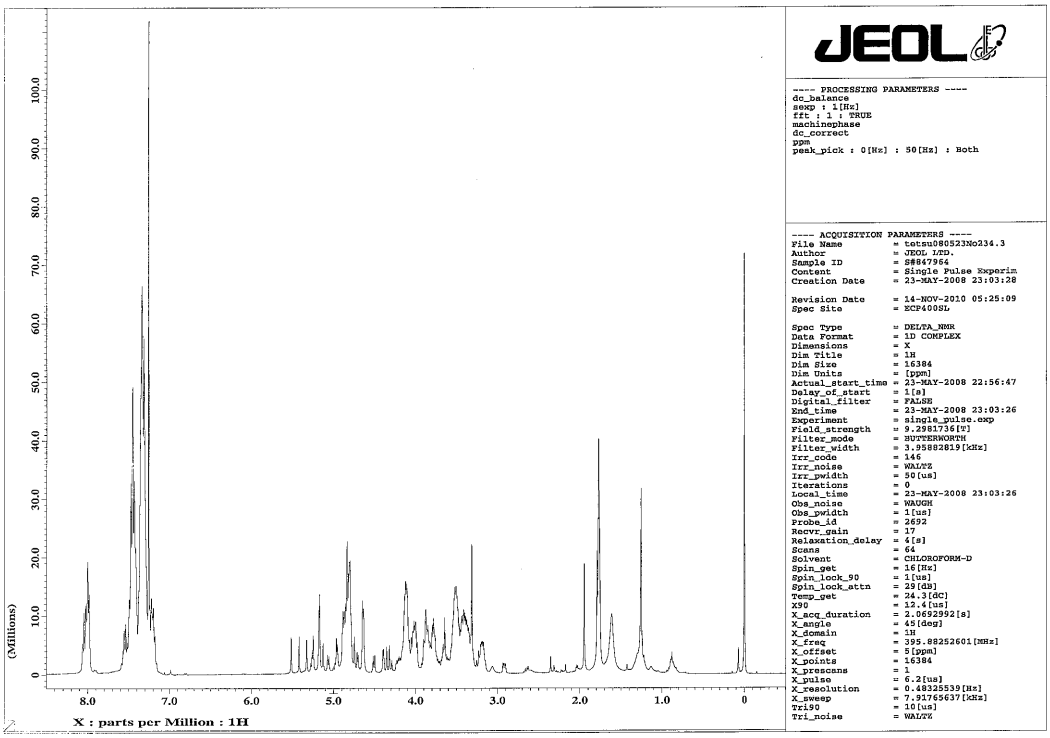

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
BnO
OMe

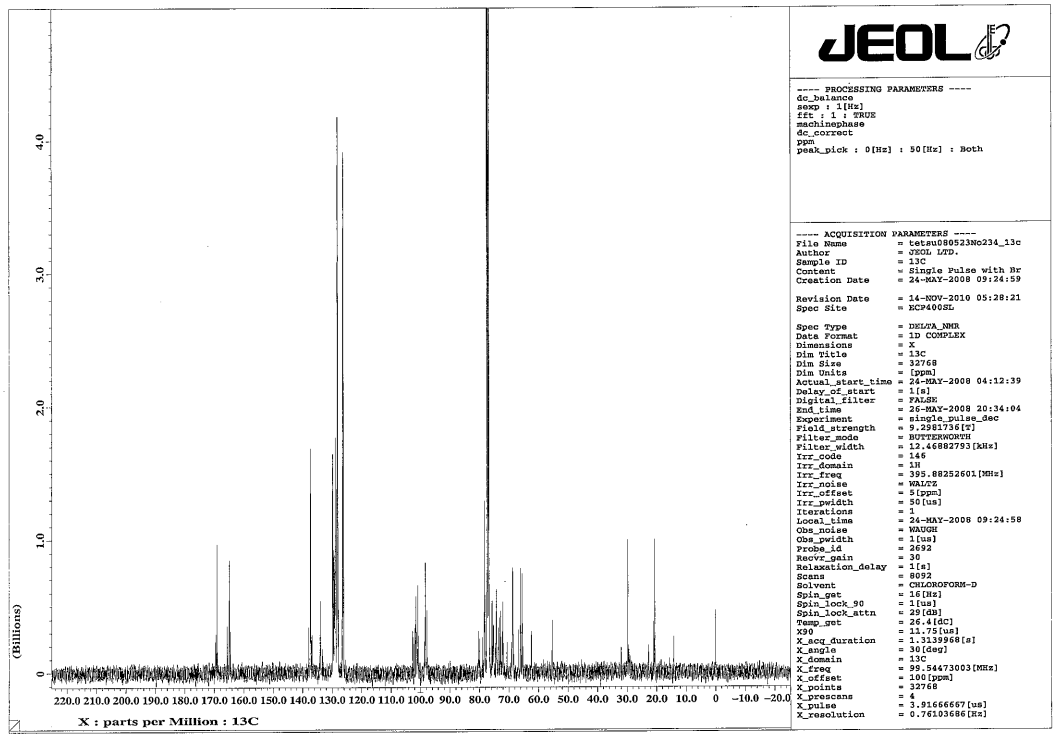

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tatsu080520No232.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#352377
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 20-MAY-2008 09:12:03
Revision Date = 14-NOV-2010 05:13:45
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 20-MAY-2008 09:10:14
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 20-MAY-2008 09:12:01
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 20-MAY-2008 09:12:02
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 12
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.7[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

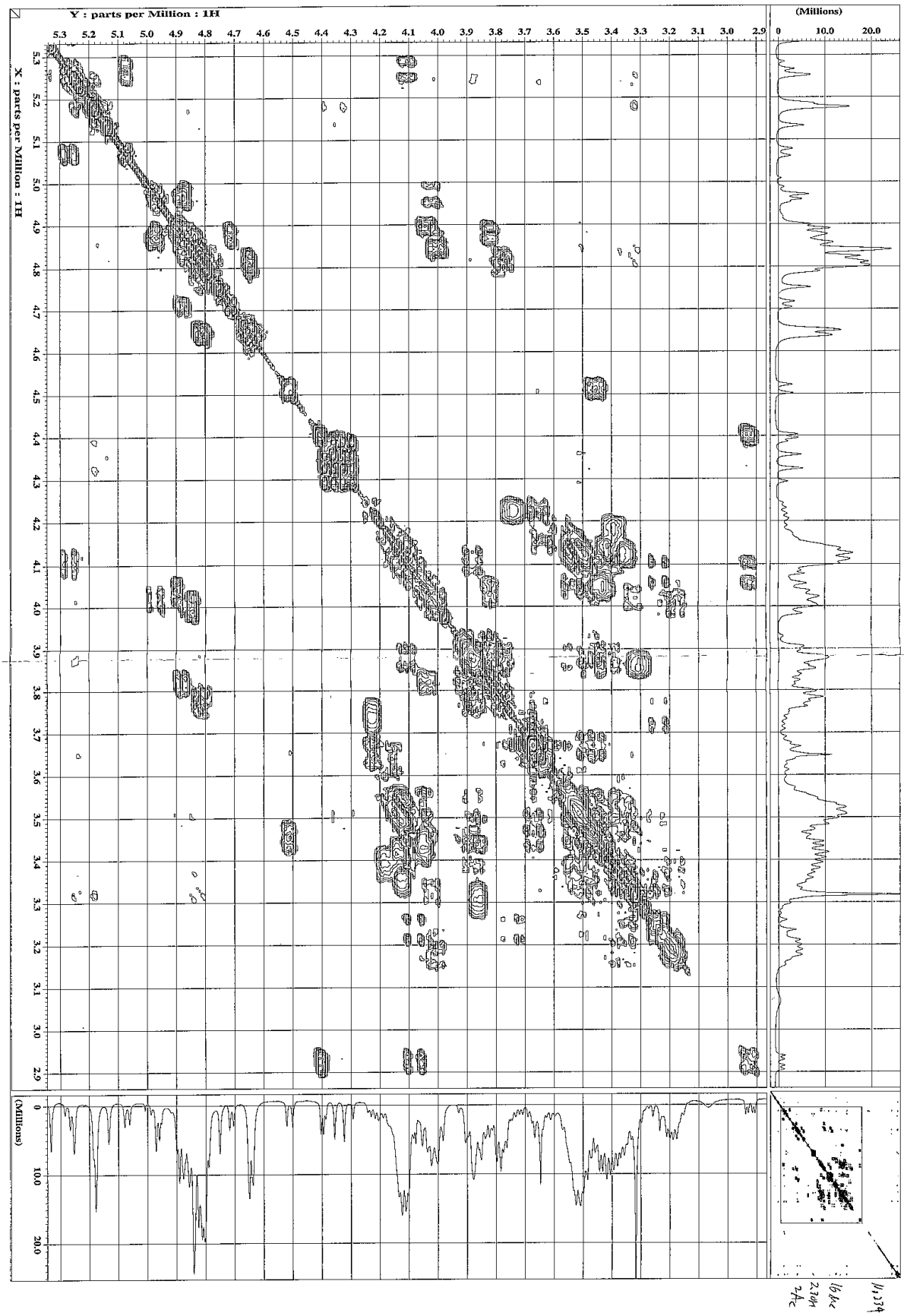

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tatsu080521No232_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 21-MAY-2008 18:18:03
Revision Date = 14-NOV-2010 05:12:00
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 21-MAY-2008 16:13:04
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 21-MAY-2008 22:39:24
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 21-MAY-2008 18:18:02
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 3233
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

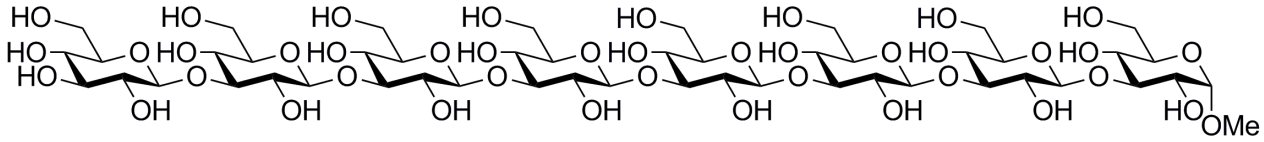

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
(Millions)

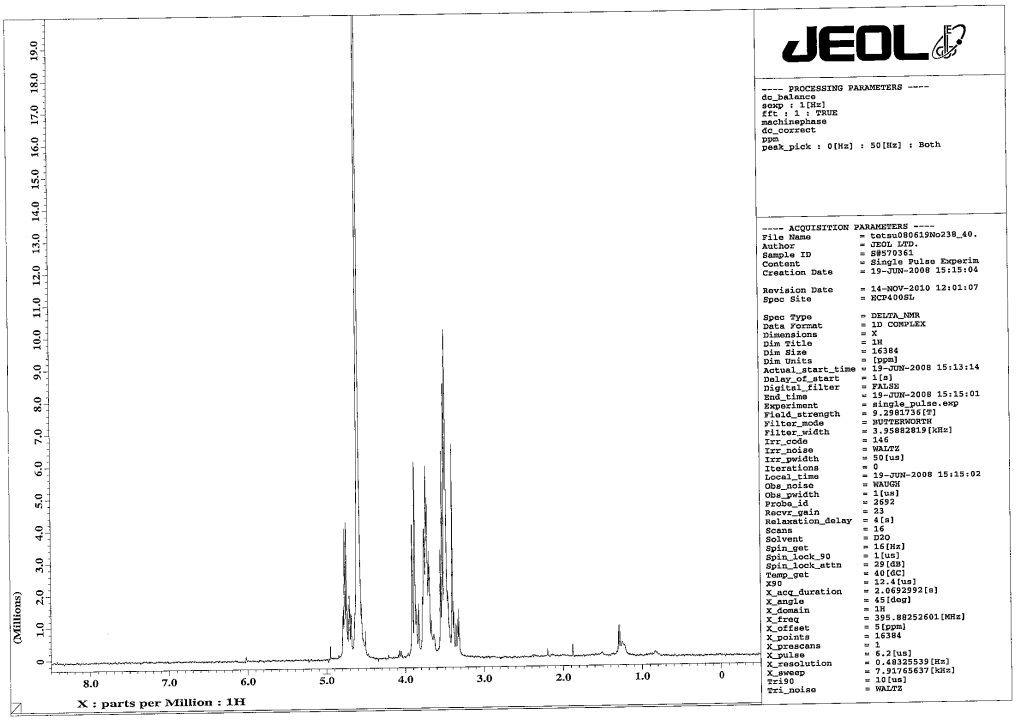

Ph
HO
OH
OBz
OAc
BnO
OMe

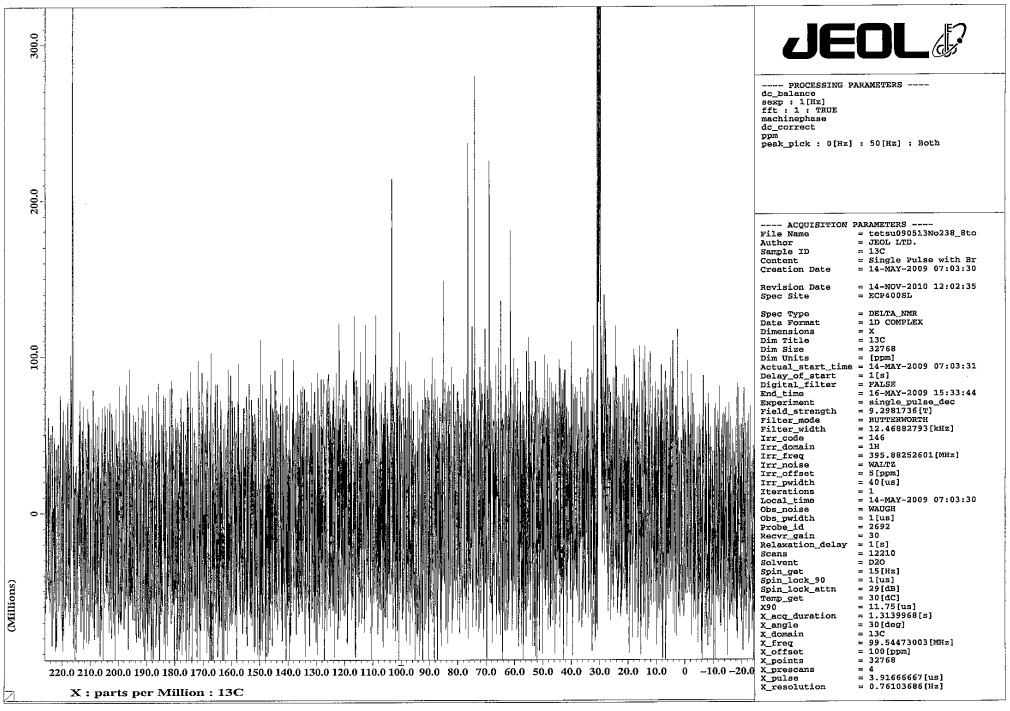

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080523No234.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#847964
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 23-MAY-2008 23:03:28
Revision Date = 14-NOV-2010 05:25:09
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 23-MAY-2008 22:56:47
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 23-MAY-2008 23:03:26
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 8
Local_time = 23-MAY-2008 23:03:26
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 17
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 64
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.3[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

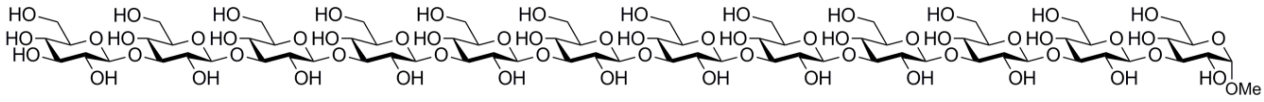

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080523No234_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 24-MAY-2008 09:24:59
Revision Date = 14-NOV-2010 05:28:21
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 24-MAY-2008 04:12:39
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 26-MAY-2008 20:34:04
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 24-MAY-2008 09:24:58
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 8092
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 26.4[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

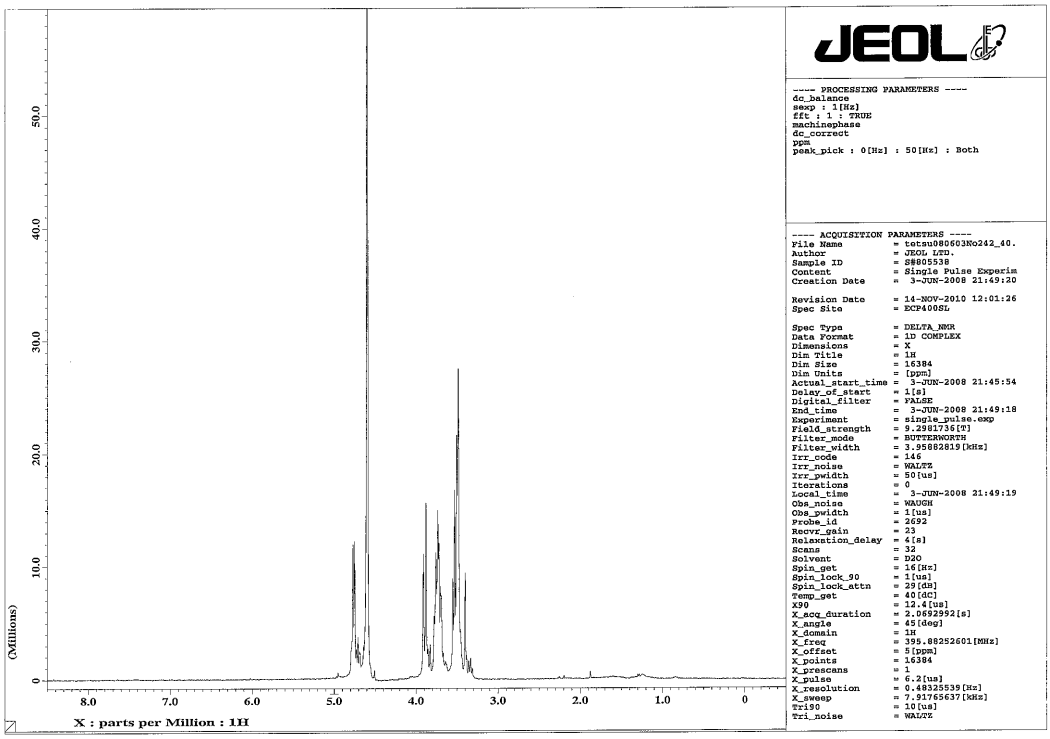

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
(Millions)

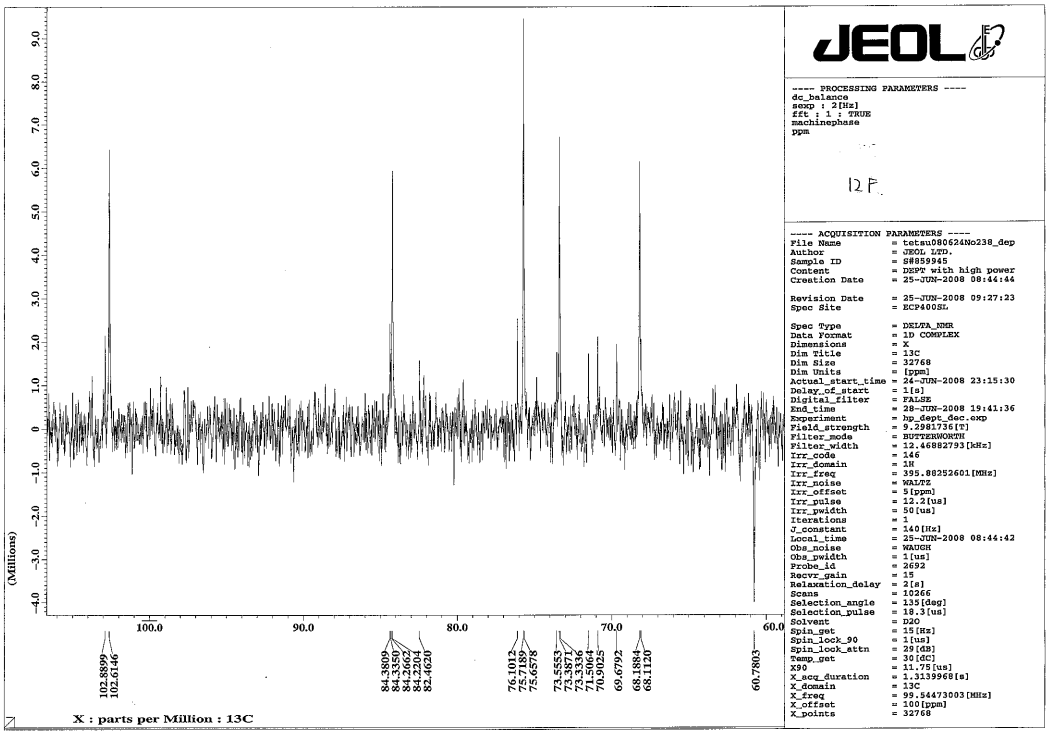

HO
HO
OH
O
OMe

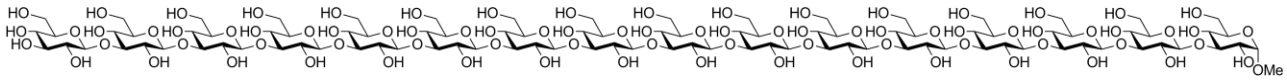

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080619No238_40.
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 88970361
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 19-JUN-2008 15:15:04
Revision Date = 14-NOV-2010 12:01:07
Spec Site = NCP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 19-JUN-2008 15:13:14
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 19-JUN-2008 15:15:01
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = RUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 8
Local_time = 19-JUN-2008 15:15:02
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 23
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = D2O
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 40[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

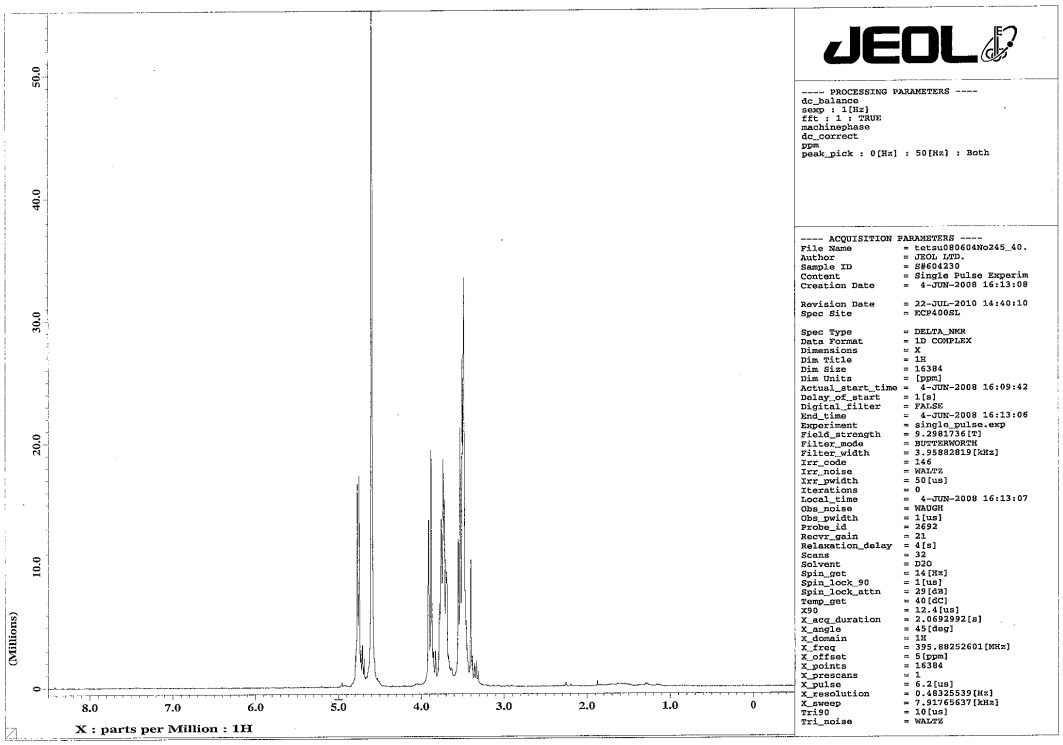

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090513No238_8to
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 14-MAY-2009 07:03:30
Revision Date = 14-NOV-2010 12:02:35
Spec Site = NCP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 14-MAY-2009 07:03:31
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 16-MAY-2009 15:33:44
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = RUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 14-MAY-2009 07:03:30
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 12210
Solvent = D2O
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 30[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Millions)
X : parts per Million : 13C

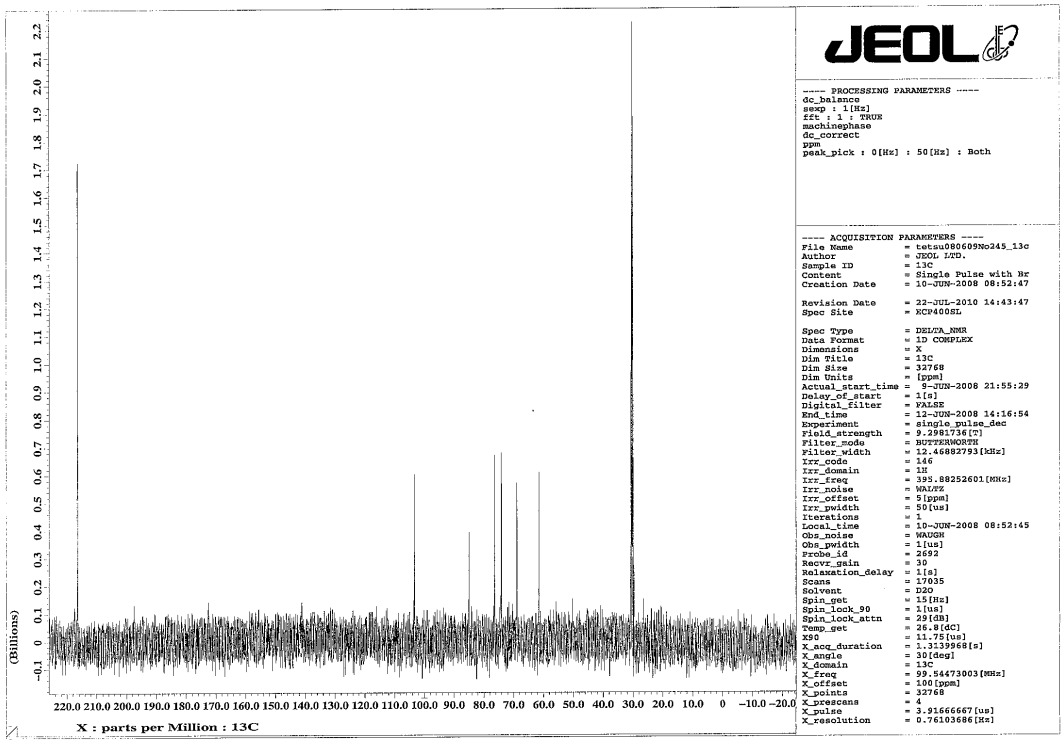



JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080603No242_40.
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#805538
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 3-JUN-2008 21:49:20
Revision Date = 14-NOV-2010 12:01:26
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 3-JUN-2008 21:45:54
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 3-JUN-2008 21:49:18
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 8
Local_time = 3-JUN-2008 21:49:19
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 23
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 32
Solvent = D2O
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 40[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H


JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
ppm
12P.
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080624No238_dep
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#859945
Content = DEPT with high power
Creation Date = 25-JUN-2008 08:44:44
Revision Date = 25-JUN-2008 09:27:23
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 24-JUN-2008 23:15:30
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 28-JUN-2008 19:41:36
Experiment = hp_dept_dec.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pulse = 12.2[us]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
J_constant = 140[Hz]
Local_time = 25-JUN-2008 08:44:42
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 15
Relaxation_delay = 2[s]
Scans = 10266
Selection_angle = 135[deg]
Selection_pulse = 18.3[us]
Solvent = D2O
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 30[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
(Millions)
102.8899
102.6146
84.3809
84.3580
84.2967
84.2204
82.4620
76.1012
75.7189
75.6578
73.5553
73.3871
73.3336
73.1561
70.9025
69.6792
68.1884
68.1120
60.7803
X : parts per Million : 13C




JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080604No245_40.
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#604230
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 4-JUN-2008 16:13:08
Revision Date = 22-JUL-2010 14:40:10
Spec Site = KCP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 4-JUN-2008 16:09:42
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 4-JUN-2008 16:13:06
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 1&6
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 0
Local_time = 4-JUN-2008 16:13:07
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 21
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 32
Solvent = D2O
Spin_get = 14[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 40[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H


JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu080605No245_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Nr
Creation Date = 10-JUN-2008 08:52:47
Revision Date = 22-JUL-2010 14:43:47
Spec Site = KCP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 9-JUN-2008 21:55:29
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 12-JUN-2008 14:16:54
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 1&6
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 50[us]
Iterations = 1
Local_time = 10-JUN-2008 08:52:45
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 17035
Solvent = D2O
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 26.8[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

第４章

β グルカン関連オリゴ糖鎖の合成法の開発

４－１　はじめに

３章の結果から、直鎖１６糖までの単分子の糖鎖ではデクチン１との結合が見られず、より強い結合のためには多価効果を期待する複合糖鎖の開発が必要であると結論付けた。そこで、デクチン１を介した免疫調整機能分子の合成を目指し、βグルカン糖鎖を微粒子上に束ねた糖鎖微粒子の開発を行うこととした（Figure 4-1)。糖鎖の微粒子への固定化を行うことで、糖鎖の多価効果によるデクチン１に対する強い相互作用効果（結合力向上や免疫活性化作用発現など）を期待した。この微粒子は自然免疫活性化のメカニズムを明らかにするための人工真菌モデル化合物と考えられ、微粒子に適切なマーカー（蛍光など）をもたせることで、生物プロセスの過程を解析するための有用なケミカルプローブになると期待した。本章では、微粒子への固定化を目的として還元末端にアミノ基を有するオリゴ糖鎖を行なうこととした。

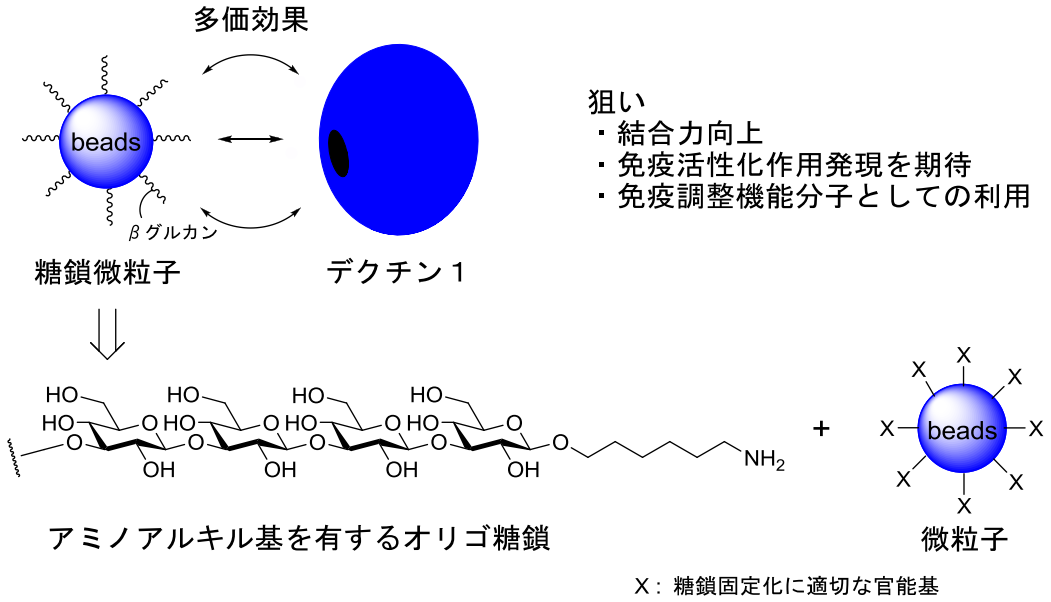


Figure 4-1

４－２　標的化合物の設計

序論において述べたように、９糖を主鎖とする合成βグルカンにおいて、β（１，６）分岐鎖を有する糖鎖は直鎖の糖鎖よりもデクチン１に対して約１００倍の結合力を有することが報告されている。[1)]そこで、本研究では、アミノアルキル基を有する直鎖の１６糖、および、分岐１７糖以下のβグルカンを合成標的分子として、糖鎖長および分岐構造に関わる多様性指向型合成戦略の開発を行うこととした。すなわち、Figure 4-2 に示す６種類の非還元末端にアミノ基を有する分岐糖および直鎖糖を合成ターゲットとすることとした。

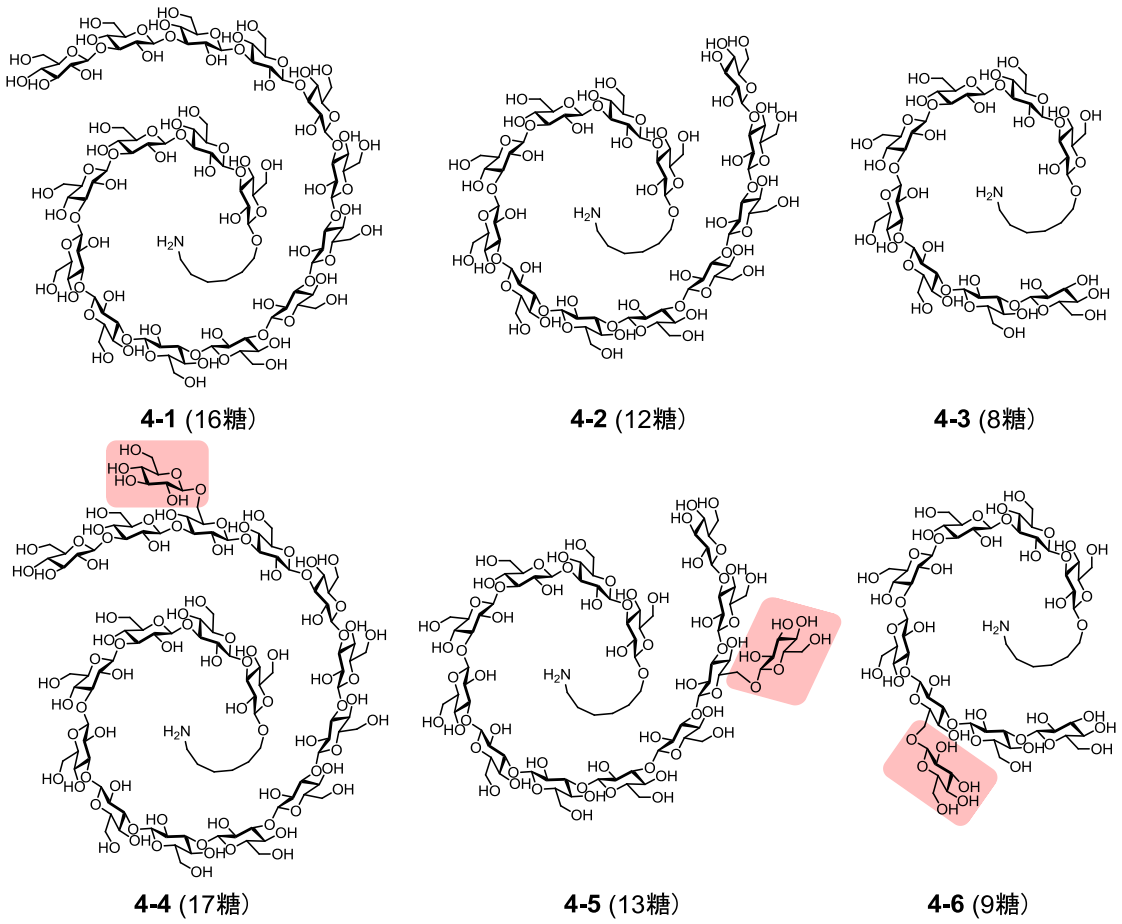


Figure 4-2

４－３　合成戦略

３章では、２糖＋２糖、４糖＋４糖、８糖＋８糖と逐次的なブロック合成法を用いて１６糖の構築を行った。しかしながら、この手法では標的化合物である１６糖を効率的に合成するためには有用であるが、糖鎖長や分岐構造など骨格構造の複雑な多糖の部分構造を多種類構築するためには必ずしも効率的な合成戦略であるとは言えない。そこで、本研究では、共通オリゴ糖ブロックを利用する多様性指向型合成戦略に基づく合成の開発を行うことした。１６糖主鎖の糖鎖 **4-1** 、**4-2** は、４糖主鎖のブロックに分けて2,3位ジオール型糖受容体に対する位置選択的グリコシル化と脱保護を順次繰り返すことにより合成する。すなわち、直鎖の４糖 **4-8**、および、分岐単糖を有し主鎖４糖とする５糖 **4-9** を用意することにより、直鎖８糖 **4-3**、１２糖 **4-2**、１６糖 **4-1**、および、分岐９糖 **4-6**、１３糖 **4-5**、１７糖 **4-4** が合成できる。その際、分岐糖部を内部に有する分岐オリゴ糖ブロックを用いることにより、分岐構造のグリコシル化反応への影響を抑えることとした。そこで、直鎖４糖ブロックは、前章の収束的合成法と同様、非還元末端糖の２、３位に化学選択的に脱保護可能なレブリノイル基、４、６位にベンジリデン基を有するオリゴ糖を用いる。４糖チオ糖 **4-8** は、

２糖活性化糖 **4-12** と２糖チオ糖 **4-10** との化学選択的グリコシル化反応により合成する。一方、分岐５糖 **4-9** は、６位に穏和な還元条件で脱保護可能なオルトアジドメチルベンゾイル基（以下 Azmb 基）を有する２糖チオ糖 **4-11** の３位遊離水酸基に対して２糖活性化糖 **4-12** とグリコシル化反応を行い、得られた４糖の Azmb 基を脱保護することで得られる６位遊離水酸基に対して単糖イミデート糖 **4-13** とグリコシル化反応を行うことで合成する。６位に糖を有するグルコースの３位は非常に反応性が低下していることが明らかになっているため、先に直鎖４糖を合成した後反応性の高い６位水酸基へのグリコシル化することに効率的に分岐糖が合成できると考えた。最終段階である脱保護反応とアジド基の還元は、Birch 還元反応を用いて行なう。

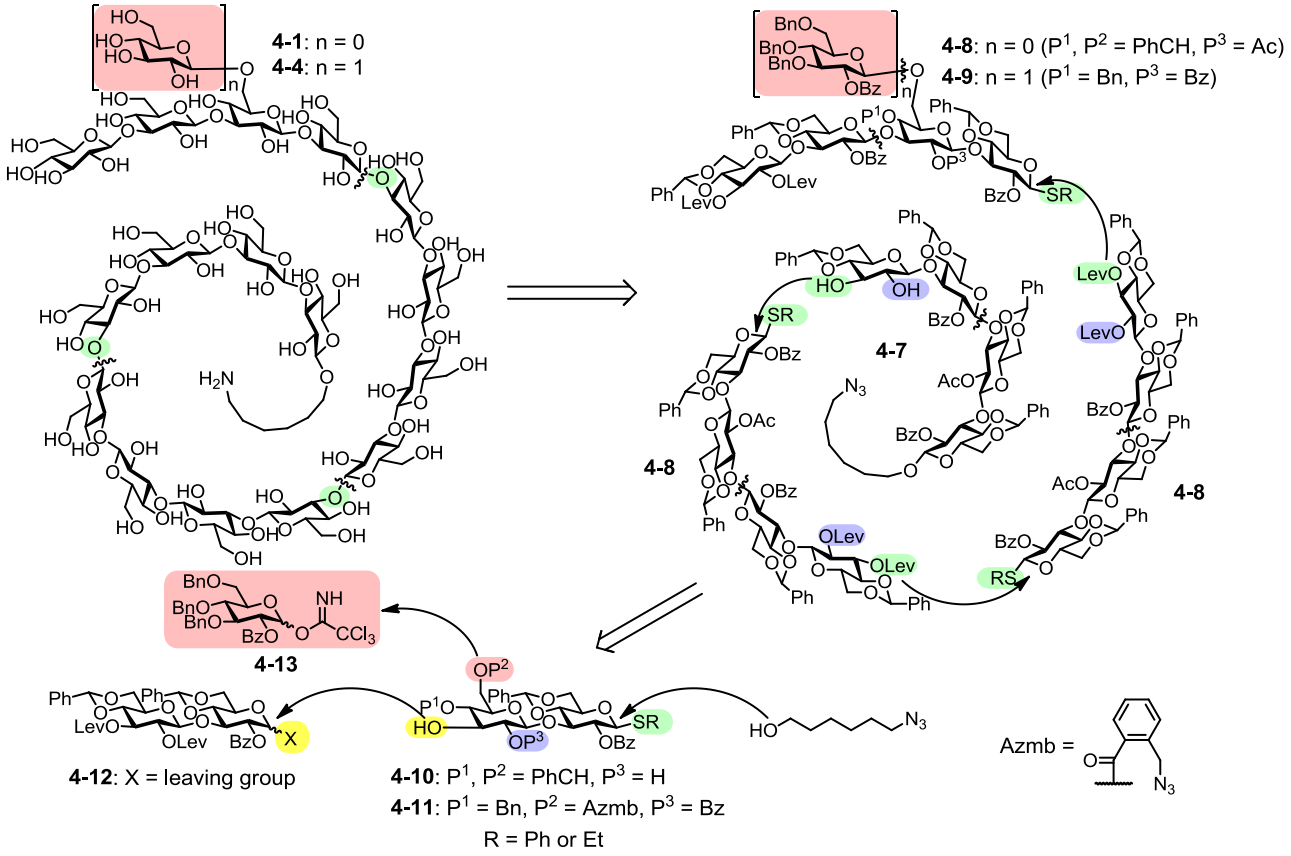


Figure 4-3

４－４　多様性指向型合成戦略に基づく合成

以下の順序で研究を進めた。

１）直鎖の４糖糖供与体 **4-8** の合成
２）分岐糖の５糖糖供与体 **4-9** の合成
３）直鎖の４糖糖受容体 **4-7** の合成と直鎖の８糖、１２糖、１６糖の合成
４）分岐９糖、１３糖、１７糖の合成

５）位置選択性の証明
６）脱保護の検討

１）直鎖の４糖糖供与体 4-8 の合成

直鎖４糖糖供与体 4-8 の合成について述べる(Figure 4-4)。前章での４糖合成と同様、合成中間体となる２糖チオ糖 4-12(X = SR)を合成し、２糖糖供与体 4-12(X = leaving group)および２糖糖受容体 4-10 へと変換することで４糖 4-8 へと糖鎖伸長を行う。

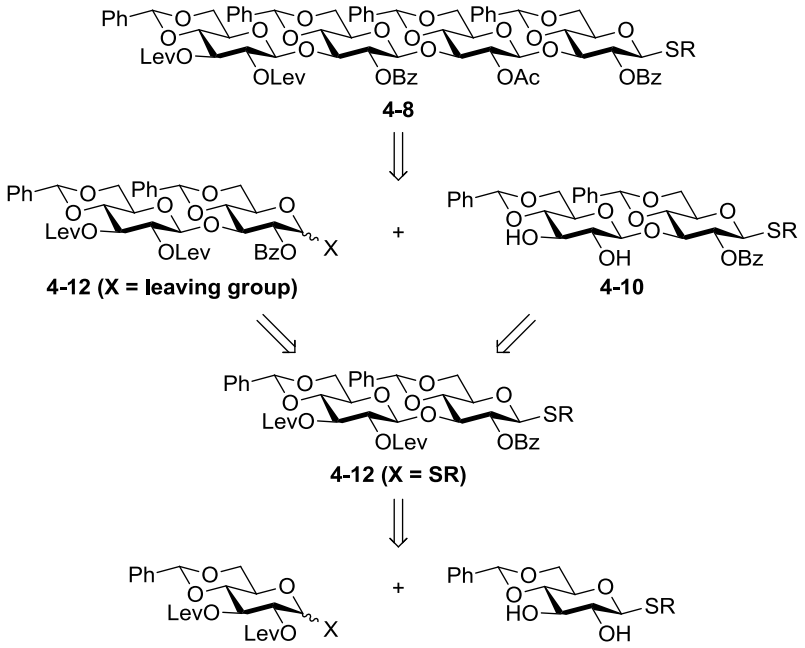


Figure 4-4

しかしながら、前章においてブロモ糖(X = Br)とチオ糖を用いる化学選択的グリコシル化反応における収率の不安定さが課題であった。ブロモ糖とチオ糖の化学選択的グリコシル化反応において低収率となった要因を以下に挙げて考察する。

（１）ブロモ糖の不安定性
（２）ジオール糖受容体の結晶性の高さ

（１）ブロモ糖は、銀塩を活性化剤とするグリコシル化反応において最も用いられる糖供与体の一つである。しかしながら、今回用いたブロモ糖は、ブロモ糖自身が不安定であり、反応系中での分解が見受けられた。より反応性が高いが、取り扱いが容易な糖供与体を用いる必要がある。

（2）ベンジリデンアセタールを有するやフェニルチオ糖は、極性と結晶性が高かったため、反応溶媒となる塩化メチレン溶媒に対する溶解性が低かった。2，3ジオール糖受容体の位置選択的グリコシル化反応において、糖受容体の析出してしまうと、糖供与体との当量比が崩れるために、生成物のさらなるグリコシル化を促進すると考えられる（Figure 4-5)。そのため、実際には、希釈条件下、比較的高めの反応温度で（-10～0 ℃）グリコシル化反応を行なった。その結果、目的物は得られたものの、ブロモ糖の分解反応を抑制することは困難であった。

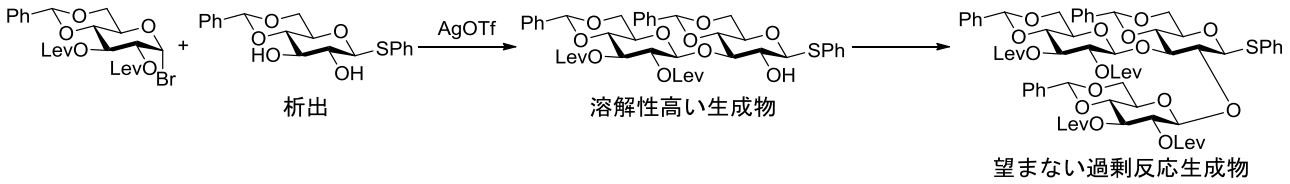


Figure 4-5

以上の考察をふまえ、糖受容体と糖供与体について、以下のような改善を検討することした。すなわち

（1） 糖受容体のチオ基を、フェニルチオ基からエチルチオ基へと変えることにより、糖受容体の結晶性を低下させ、塩化メチレンに対する溶解性の向上を図る。
（2） 糖供与体については、脱離基と活性化剤を検討することにより、より適した糖供与体を探索する。

まず、糖供与体の脱離基について検討した。

a）クロロ糖 **4-14**(X=Cl)

ブロモ基よりも脱離性が低く、同様の条件で活性化可能なハロゲン化糖。

b）フッ化糖 **4-15**(X=F)

安定な糖であり、$SnCl_2$-$AgClO_4$[2]やCp_2HfCl_2-AgOTf[3]等で活性化可能である。

c）トリクロロアセトイミデート糖 **4-16**(X=OC(NH)CCl_3)

調製のためにラクトール構造に変換する必要はあるが、触媒量のルイス酸で活性化可能であり、反応性も高い。しかしながら、反応性の低い糖受容体を用いた場合には、脱離したトリクロロアセトアミドが、N-グリコシル化したグリコシルアミドを副生成物として得られる。

d）チオ糖の **4-17**(X=SPh)、**4-18**(X=SEt)

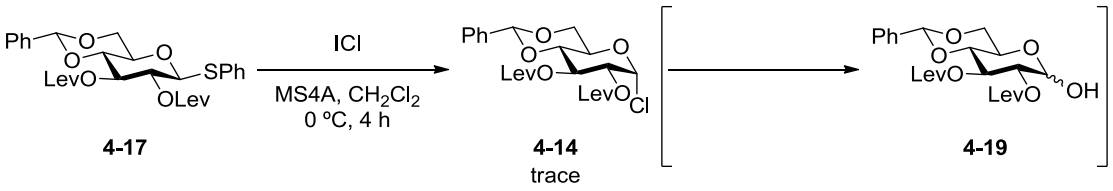
チオ糖は、あらかじめ低温下、1-ベンゼンスルフィニルピペリジン(以下 BSP）/トリフルオロメタンスルホン酸無水物（以下 Tf_2O）[4]またはベンゼンスルフィニルモルホリン(以下 BSM）/Tf_2O[5]条件下活性化させた後に、チオ糖糖受容体を加えてグリコシル化反応することにより、同一のチオ糖同士においても化学選択的にグリコシル化できることが知られている。活性化糖本体はトリフラー

ト糖であると考えられている。活性種の反応性が高く、糖供与体への変換が必要無いため優れた手法である。しかしながら、トリフラート糖が低温下ある程度の寿命を有する必要がある。

ａ）～ｃ）における活性化糖の合成を行った。

ａ）クロロ糖 **4-14**(X=Cl)

単糖クロロ糖**4-14**(X=Cl)の合成を検討した(Scheme 4-1)。２，３位にLev基を有するチオ糖**4-17**(=**3-55**、1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、0 ℃で、一塩化ヨウ素（1.0 M CH_2Cl_2 溶液、2.0 当量）を加えることで、クロロ基の導入を行った。TLC 解析を行うことで、原料が消失する前に系中が複雑な混合物の混ざりとなったのを確認した。2 時間後、反応がほぼ停止したため、さらに一塩化ヨウ素（1.0 M CH_2Cl_2 溶液、2.0 当量）を加えた。開始 4 時間後、TLC 上でチオ糖 **4-17** の消失を確認した。後処理後、シリカゲル精製を行うことで高極性成分を除いた。NMR 解析、MASS 解析の結果、痕跡量しかクロロ体を確認することができなかった。また、ブロモ体同様、シリカゲル精製において一部分解し、ラクトール体 **4-19** の生成が見られた。これらより、クロロ体の調製は困難であると考えられる。

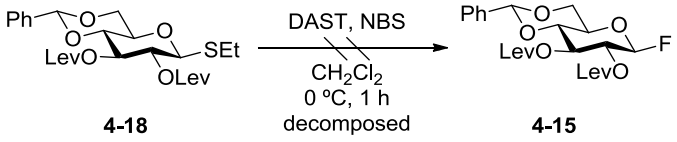


4-17 **4-14** trace **4-19**

Scheme 4-1

ｂ）フッ化糖 **4-15**(X=F)

単糖フッ化糖 **4-15**(X=F)の合成を検討した(Scheme 4-2)。２，３位に Lev 基を有するチオ糖**4-18**(1.0 当量)に対し、ジクロロメタン溶媒中、三フッ化ジエチルアミノ硫黄（DAST、1.3 当量）と NBS（1.5 当量）を加えることで、フルオロ基の導入を行った。1 時間後、TLC 上でチオ糖 **4-18** の消失を確認した。しかしながら、系中が複雑な混合物の混ざりとなった。NBS によってベンジリデンアセタールの酸化、脱離が進行したものと考えられる。以上により、フルオロ体の調製は困難であると考えられる。

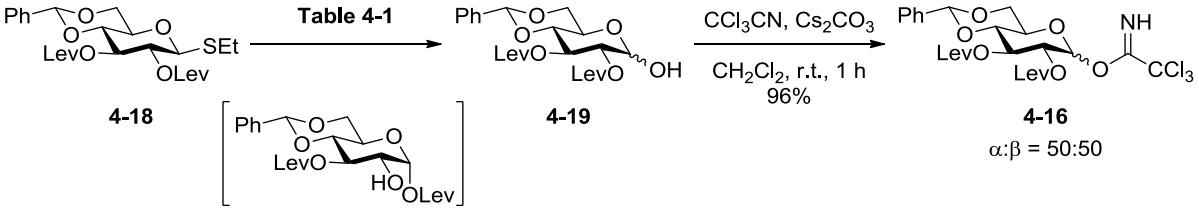


4-18 **4-15**

Scheme 4-2

c）トリクロロアセトイミデート糖 **4-16**(X=OC(NH)CCl_3)

単糖イミデート糖 **4-16**(X=OC(NH)CCl_3)の合成を検討した(Scheme 4-3)。まず、ラクトール **4-19** への変換の検討を行った（Table 4-1)。一般的に、チオ糖のラクトール体への変換反応は、基質が異なるだけでなく、スケールが変わることにおいても収率が大きく変動することがあり、その都度条件検討が必要である。2，3位に Lev 基を有するチオ糖 **4-18**(1.0 当量)に対し、アセトン／水（１００／１）混合溶媒中、NBS（2.0 当量）を加えることで、チオ基の脱離を試みた(Entry 1)。5 分後、TLC 上でチオ糖 **4-18** の消失を確認した。しかしながら、系中は高極性化合物の混合物となった。NBS の水による分解物(酸)によってベンジリデンアセタールの脱離が進行したものと考えられる。その他に目立った副生成物が見られなかったため、ラクトール化の条件検討を行うこととした。本結果より、系中において過剰に存在する活性化剤が副反応を引き起こす要因になると考え、あらかじめ調製した活性化剤を滴下する方法を行った。チオ糖 **4-18**(1.0 当量)に対し、ジクロロメタン／水(１００／１)混合溶媒中、あらかじめ調製した活性化剤である、NIS(1.3当量)に対しTfOH(0.0678当量)を加えたジクロロメタン／THF（４０／１）混合溶液を滴下した（Entry 2)。TLC 上でチオ糖 **4-18** の消失を確認し、目的のラクトール体 **4-19** を確認したが、ほぼベンジリデンアセタールの脱離が進行したものとみられる高極性化合物の混合物となった（収率 5%)。これらの結果より、水と酸が比較的高い温度（0 ℃）において共存する系がベンジリデンアセタールの脱離を促すと考えられる。そこで、無水条件かつ低温でチオ糖を活性化することができれば、塩基性水溶液へと注ぐことで、水酸基の導入と同時に酸の中和を行うことができ、安定にラクトール体が得られるのではないかと考えた。低温でチオ糖を活性化する条件として、Crich らによって報告されている反応性の高いスルフィニル /Tf_2O[4),5)]条件を採用した。チオ糖 **4-18**(1.0 当量)に対し、ジクロロメタン溶媒中、-40 ℃にて BSM（1.1 当量)、Tf_2O（1.2 当量）によりチオ基を活性化させた（Entry 3)。5 分後、勢いよく撹拌した飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と 10%チオ硫酸ナトリウム水溶液、酢酸エチルの二相系に対し、反応混合物を注ぐことで糖に水酸基の導入を行った。後処理後、NMR 解析によってアノマー位に２位の Lev 基が転位した化合物(Scheme 4-3 括弧内)が見られたため、ラクトールへの変換を行った。得られた混合物に対し、ジクロロメタン溶媒中、トリエチルアミンを加えることでアノマー位の Lev 基が２位に転位し、ラクトール体 **4-19** を２段階収率 96%（α:β = 61:39）で得た。本手法では、再現性良くラクトール体が得られた。また、30 g スケールのチオ糖であっても高収率で目的物が得られた（２段階収率 90%)。続いて、得られたラクトール体 **4-19** に対し、ジクロロメタン溶媒中、トリクロロアセトニトリル（3.0 当量)、触媒量の炭酸セシウム（0.10 当量）を加えてイミデート基の導入を行い、収率 96%でイミデート糖 **4-16**（α:β = 50:50）を得た。このイミデート糖 **4-16** はブロモ糖よりも安定性が高く、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおいても基質の損壊やイミデート基の脱離は見られなかった。

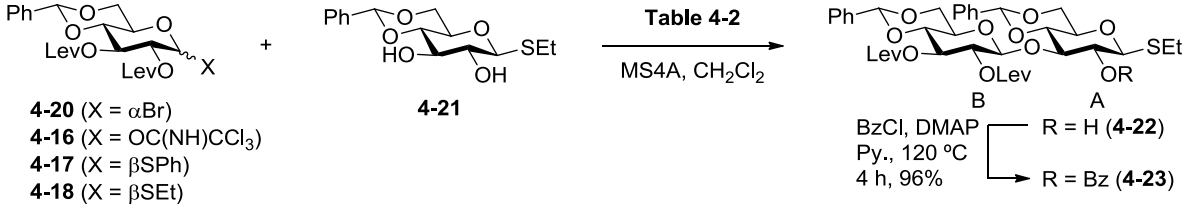


Scheme 4-3

Entry	Activator	temp. (ºC)	**4-19** (%)
1	NBS (2.0 eq.)	0	decomposed
2	NIS (1.3 eq.), TfOH (0.0678 eq.)	0	5
3	BSM (1.1 eq.), Tf_2O (1.2 eq.); NEt_3/CH_2Cl_2	-40	96

Table 4-1

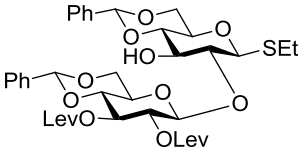
これらの結果を受けて、エチルチオ糖２，３ジオール体 **4-21**[6)] を糖受容体とする化学選択的グリコシル化反応の検討を行った(Scheme 4-4)。エチルチオ糖は、フェニルチオ糖よりも塩化メチレン溶媒に対する溶解性が高く、低温においても析出は観測されなかった。



Scheme 4-4

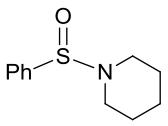
Entry	X	Activator	Isolated Yield (%) C3-selective	C2-selective
1	αBr (4.97 g[a)])	AgOTf (1.2 eq.)	28	0
2	αBr (15.0 g[a)])	AgOTf (1.2 eq.)	12	0
3	$OC(NH)CCl_3$ (12.4 g)	TMSOTf (0.1 eq.)	69	6
4	$OC(NH)CCl_3$ (39.7 g)	TMSOTf (0.1 eq.)	64	7
5	βSPh (57.8 mg)	Tf_2O (1.2 eq.), BSP (1.1 eq.) TTBP (1.5 eq.)	complex mixture	
6	βSEt (53.8 mg)	Tf_2O (1.2 eq.), BSP (1.1 eq.) TTBP (1.5 eq.)	complex mixture	

C2-selective product



4-24

BSP



a) ブロモ糖調製前のチオ糖換算、収率は2段階収率

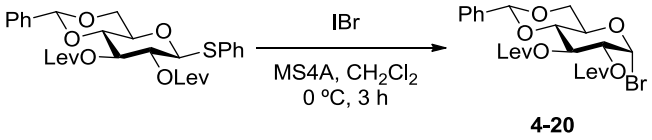
Table 4-2

	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-A2	H-A3	H-B1 ($J_{1,2}$)
4-22	4.47 (9.7)	3.61	3.73-3.79	4.85 (7.7)
4-23	4.52 (9.7)	5.01	3.93	5.04-5.11

Table 4-3

・ブロモ糖糖供与体を用いる検討 (Entry 1,2)

エチルチオ糖２，３ジオール体 **4-21** (1.0 当量)と２，３位水酸基に Lev 基を有するブロモ糖 **4-20**(1.0 当量、調製は３章に準ずる)をジクロロメタン、トルエン混合溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(0.5 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃で、銀トリフラート(以下 AgOTf、1.2 当量)を用いてブロモ基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。開始 2 時間後、TLC 上で **4-20** の消失を確認した。後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２糖 **4-22** が単一異性体で得られた。この際、糖供与体量を多く用いるほど収率の低下が確認できた (4.97 g(28%: Entry 1)、15.0 g(12%: Entry 2)。収率はブロモ化からの２段階収率)。低収率となった原因として、ブロモ糖の調製において高極性の副生成物が多く見られた(Scheme 4-5)。理由として、大量になるほど反応溶液の温度コントロールが難しく、一臭化ヨウ素によってベンジリデンアセタールが酸化、開裂したものと考えられる。また、グリコシル化反応における糖供与体 **4-20** の消失に時間がかかり、生成する TfOH によってベンジリデンアセタールが外れたためであると考えられる。



Scheme 4-5

続いて、２糖 **4-22** のベンゾイル化を行った、２糖 **4-22**(1.0 当量)をピリジン溶媒中、ベンゾイルクロライド (3.0 当量) と触媒量の DMAP (0.1 当量) を加えることで２位にベンゾイル基の導入を行った。その後、120 ℃で 4 時間反応を行い、TLC 上で **4-22** の消失を確認した。後処理、精製を行い、収率 96%で２糖 **4-23** を得た。この際の **4-22** と **4-23** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行なった(Table 4-3：還元末端糖を A、非還元末端糖を B とおく。ピークの分離が悪い化学シフトは範囲を示した)。還元末端糖の２，３位の化学シフトに注目すると、ベンゾイル化前後において３位の化学シフトにはあまり変化が見られないが、２位の化学シフトが 1.40 ppm 低磁場シフトした。また、^{1}H-^{1}H COSY より、**4-22** は遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が見られた。これらより、グリコシル化反応は３位選択的に進行したものと決定した。一方、**4-22** のアノマー位の立体化学は、アノマー位のプロトンの結合定数にて、β体であると決定した。

・イミデート糖糖供与体を用いる検討（Entry 3,4）

エチルチオ糖２，３ジオール体 **4-21**(1.05～1.10 当量)と２，３位水酸基に Lev 基を有するイミデート糖 **4-16**(1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(1.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-40 ℃で、トリメチルシリルトリフラート(以下 TMSOTf、0.1 当量)を用いてイミデート基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、高収率でβ（１，３）体 **4-22** が得られた。また、少量ではあるがβ（１，２）体 **4-24** の生成が見られた。この際、糖供与体量に収率はほとんど左右されなかった（12.4 g(69%: Entry 3)、39.7 g(64%: Entry 4)）。40 g スケールのイミデート糖においても高収率で目的のβ（１，３）２糖 **4-22** が得られており、今回の化学選択的グリコシル化反応においてイミデート糖とエチルチオ糖の組み合わせが良い結果を与えることが分かった。

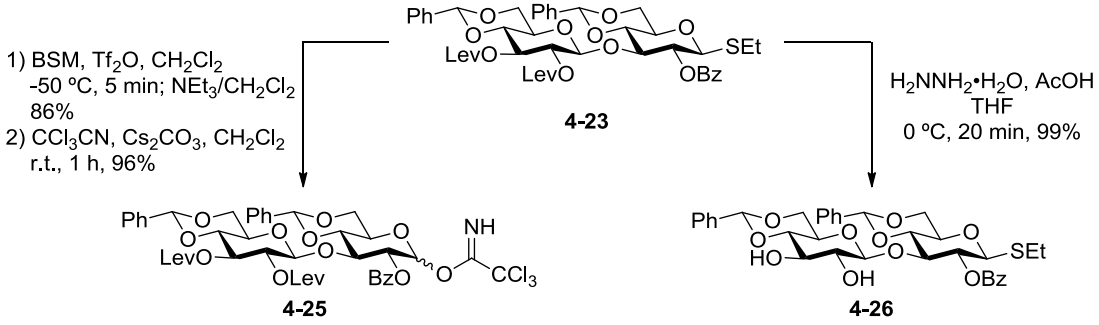
・チオ糖のプレアクティベートを用いる検討（Entry 5,6）

２，３位水酸基に Lev 基を有するチオ糖 **4-17**(X = SPh、1.0 当量)および **4-18**(X = SEt、1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(1.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-60 ℃で、BSP(1.1 当量)と 2,4,6-トリ-*t*-ブチルピリジン(以下 TTBP、1.5 当量)、Tf_2O (1.2 当量）を加えてチオ基を活性化させた。5 分後、チオ糖２，３ジオール体 **4-21**(0.9 当量)を加えてグリコシル化反応を行った。5 分後、TLC 上にて糖供与体（**4-17**、**4-18**）および糖受容体 **4-21** が消失し、系中が複雑化していることを確認した。後処理を行うも、副生成物の解析は困難であった。塩基 TTBP 存在下においても、当量発生する TfOH の酸にベンジリデンアセタールが開裂し、複雑化したものと考えられる。

以上の検討により、大量合成を視野に入れた、活性化糖の調製と化学選択的グリコシル化反応を高収率で行うことができるイミデート糖が有用であることが分かった。直鎖の４糖糖供与体 **4-8** や分岐糖の５糖糖供与体 **4-9** の合成においてもこのイミデート糖とエチルチオ糖の組み合わせを用いることとした。

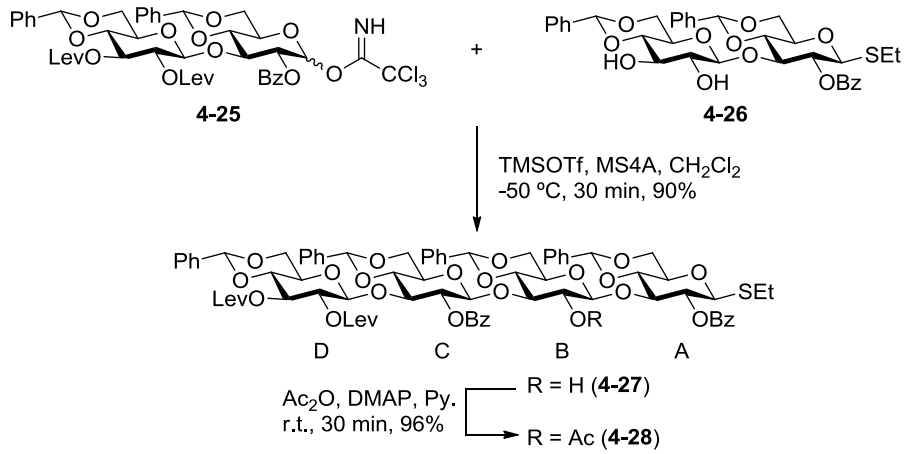
直鎖の４糖 **4-28**（**4-8** のエチルチオ糖体（R = Et)）の合成を行った。共通中間体である２，３ Lev 基を有する２糖チオ糖 **4-23** からイミデート糖 **4-25** とジオール **4-26** への変換を行い、化学選択的グリコシル化反応を行うことで４糖 **4-8** を得る。まず、２糖チオ糖 **4-23** の変換を行った（Scheme 4-6)。チオ糖 **4-23** をジクロロメタン溶媒中、-50 ℃にて BSM（1.1 当量)、Tf_2O（1.2 当量）によりチオ基を活性化させた。5 分後、勢いよく攪拌した飽和重曹水溶液と 10%チオ硫酸ナトリウム水溶液、酢酸エチルの二層系に対し、反応混合物を注ぐことで糖に水酸基の導入を行った。続いて、ジクロロメタン溶媒中、トリエチルアミンを加えることでラクトール体（２段階収率 86%、α:β = 66:34）を得た。得られたラクトール体に対し、ジクロロメタン溶媒中、トリクロロアセトニトリル（5.0 当量)、触媒量の炭酸セシウム（0.10 当量）を加えてイミデート基の導入を行い、収率 96%

でイミデート糖 **4-25**（α:β = 84:16）を得た。このイミデート糖 **4-25** も単糖のイミデート糖 **4-16** と同様、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおいて基質の損壊やイミデート基の脱離は見られなかった。一方、非還元末端の２，３位に Lev 基を有する **4-23** に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。反応は速やかに進行し、後処理、精製を行うことで、目的とするジオール **4-26** が収率 99％で得られた。



Scheme 4-6

続いて、４糖チオ糖 **4-28** の合成を示す(Scheme 4-7)。非還元末端の２，３位に遊離水酸基を持つ２糖チオ糖 **4-26**(1.2 当量)と２，３位に Lev 基を有する２糖イミデート糖 **4-25**(1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-50 ℃で、TMSOTf(0.1 当量)を用いてイミデート基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、４糖 **4-27** が収率 90％で得られた。続いて、４糖 **4-27** をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることで２位にアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、４糖 **4-28** を収率 96％で得た。この際の **4-27** と **4-28** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行なった(Table 4-4：還元末端糖から A、B、C、D とおく。**4-28** の糖ユニット B と C（内部の糖）は順不同)。**4-27** の糖ユニット B の２位の化学シフトに注目すると、化学シフトが 3.41 ppm であるのに対し、アセチル化後の **4-28** は全ての２位の化学シフトが低磁場に存在することが確認できた(4.83～5.19 ppm)。また、^{1}H-^{1}H COSY より、**4-27** は遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンの相関が見られた。これらより、グリコシル化反応は３位選択的に進行したものと決定した。一方、４糖 **4-27** の糖ユニット C のアノマー位の結合定数は、小さくなっていることが明らかとなった。これは、舟形の立体配座が含まれていることによると考えている。アノマー位の正確な構造決定は、後に行うこととした（直鎖の４糖糖受容体 **4-7** の合成 Scheme 4-13 にて)。



Scheme 4-7

	δ (ppm) (*J*, Hz)							
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-A2	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-B2	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-C2	H-D1 ($J_{1,2}$)	H-D2
4-27	4.66 (9.7)	5.23-5.29	4.40 (7.2)	3.41	5.01 (4.8)	5.11	4.88 (7.7)	5.06
4-28	4.50 (9.7)	4.93	4.88 (6.8)	4.83	4.64 (5.3)	5.19	4.70 (7.7)	4.99

Table 4-4

２）分岐糖の５糖糖供与体 **4-9** の合成

分岐５糖糖供与体 **4-9** の合成方法について述べる（Figure 4-6)。５糖 **4-9** は三つのフラグメント **4-13**、**4-25**、**4-31** に分けて合成する（Figure 4-6 下)。化学選択的グリコシル化の組み合わせは先の検討で有用であったイミデート糖とエチルチオ糖の組み合わせとした。その際、二つの合成方法が考えられる。以下に挙げて検討する。

Route 1）３位遊離水酸基を有する２糖 **4-31** に対し、２糖イミデート糖 **4-25** をグリコシル化させる。その後、得られた４糖 **4-29** の６位保護基（P^2）を脱保護し、Demchenko ら [7]に反応性の高い糖供与体であると報告されている単糖糖供与体 **4-13** をグリコシル化反応させる（Figure 4-6 左)。込み入った内部の糖にグリコシル化させるが、反応性の高い一級水酸基である６位にグリコシル化させるため、大きな問題はないと考えた。また、序論において述べたが、当研究室雨夜は４糖受容体の任意の６位に対し、単糖を導入することに成功している。

Route 2）６位遊離水酸基を有する２糖 **4-31** に対し、単糖イミデート糖 **4-13** をグリコシル化させる。その後、得られた３糖 **4-30** の３位保護基（P^4）を脱保護し、２糖糖供与体 **4-25** をグリコシル化反応させる（Figure 4-6 右)。この合成方法では、３糖 **4-30** の分岐鎖が立体障害となり、３位水酸基の反応を下げる可能性がある。

以上から、Route 1 の合成法で分岐５糖糖供与体 **4-9** を得ることとした。

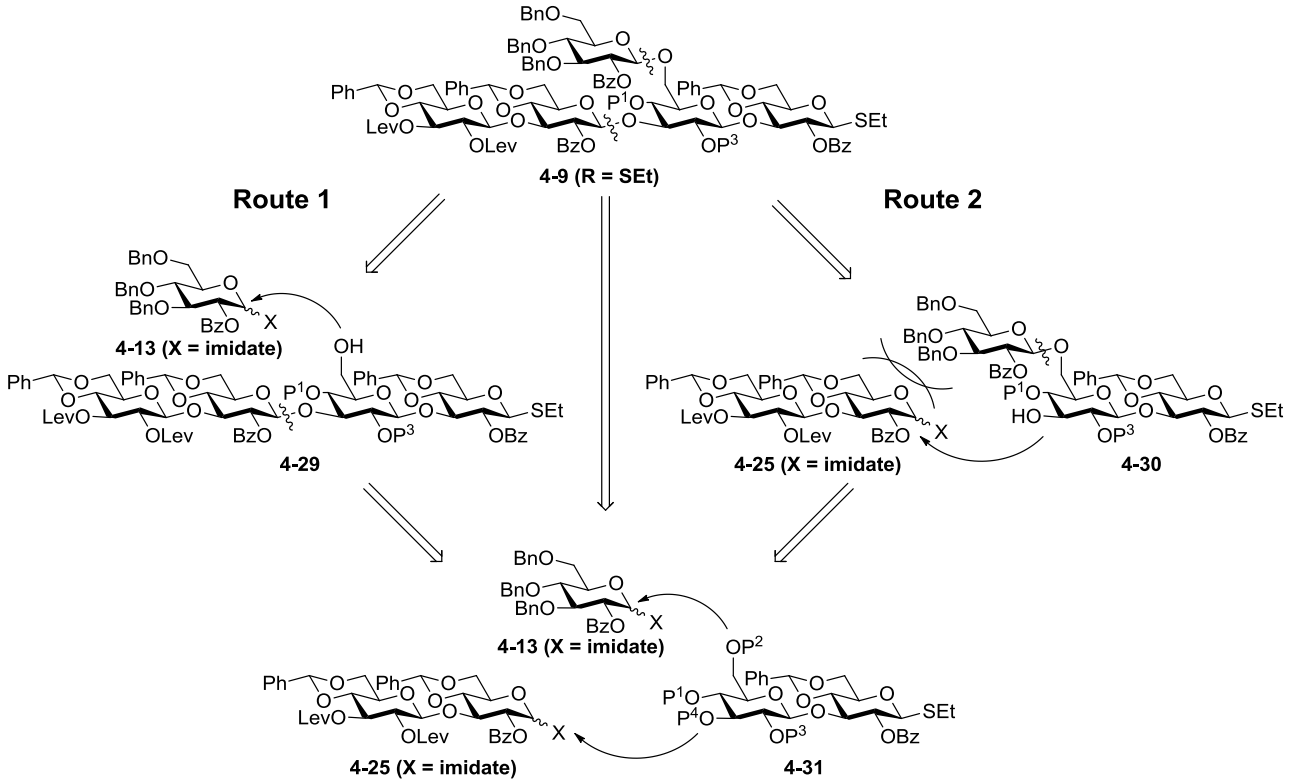


Figure 4-6

２糖受容体 **4-31** の候補として、以下の二種類のチオ糖を挙げる（Figure 4-7）。すなわち、２、３ジオールを有し、４、６位に 2-アジドメチルベンゾイル（以下 AZMB）基を有する２糖 **4-32** と、３位に遊離水酸基を有し、６位に AZMB 基を有する２糖 **4-33** である。AZMB 基はアジド基を還元することにより生じたアミンが分子内でエステル基を求核攻撃することで水酸基から脱離する[8]。安定な保護基であるが、他の保護基に影響を与えない穏和な条件で外れるために有用な保護基である。

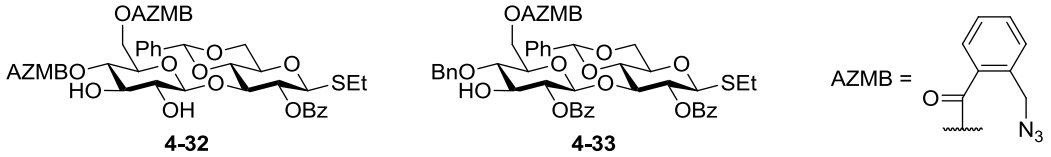


Figure 4-7

まず、３位選択的グリコシル化反応に有用であったジオールを用いて効率的に分岐糖を合成しようと考えた（Figure 4-8）。２糖 **4-25** との３位選択的グリコシル化反応後、得られた４糖の４、６位の AZMB 基を脱保護し、反応性の高い一級水酸基である６位に対して単糖 **4-13** との６位選択的グリコシル化反応が行えると考えた。しかしながら、２糖 **4-32** は４、６位の保護基としてエステル基を用いた場合には、４位のエステルによる３位水酸基の反応性の低下の影響により、十分な３位

水酸基へのグリコシル化反応の位置選択性が得られない可能性がある。

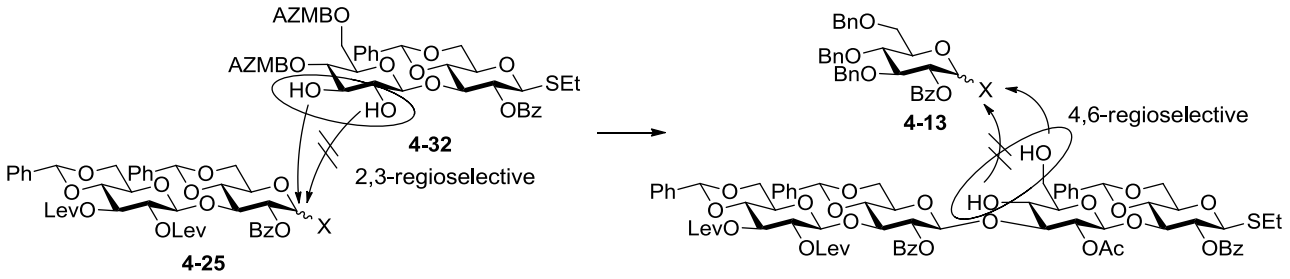
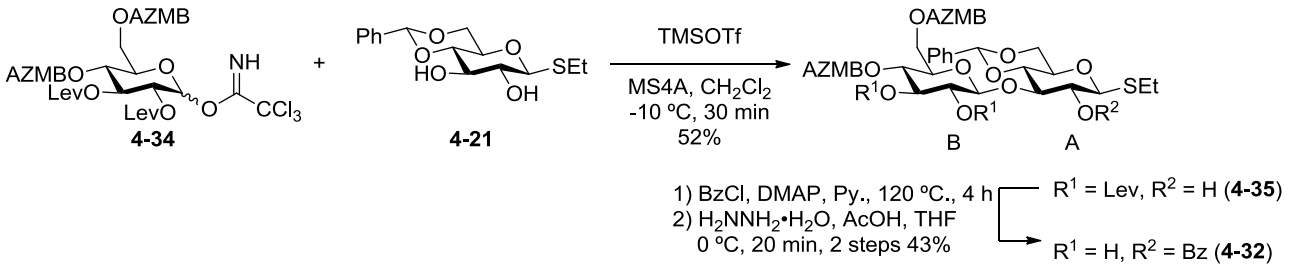


Figure 4-8

２糖 **4-32** の合成を行った(Scheme 4-8)。非還元末端の２，３位に遊離水酸基を持つ単糖チオ糖 **4-21**(1.2 当量)と２，３位に Lev 基を有する単糖イミデート糖 **4-34**(1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-10 ℃で、TMSOTf(0.1 当量)を用いてイミデート基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２糖 **4-35** が収率 52%で得られた。続いて、２糖 **4-35** のベンゾイル化を行った、２糖 **4-35**(1.0 当量)をピリジン溶媒中、ベンゾイルクロライド（3.0 当量）と触媒量の DMAP（0.1 当量）を加えることで２位にベンゾイル基の導入を行った。その後、120 ℃で 4 時間反応を行い、TLC 上で **4-35** の消失を確認した。後処理後、Lev 基の脱保護を行った。得られた化合物に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えた。反応は速やかに進行し、後処理、精製を行うことで、目的とするジオール **4-32** が２段階収率 43%で得られた。この際の **4-32** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行なった(Table 4-5：還元末端糖を A、非還元末端糖を B とおく)。還元末端糖 A の２，３位の化学シフトに注目すると、３位の化学シフトは高磁場よりであるが、２位の化学シフトは低磁場であり、ベンゾイル化が２位に進行したことが分かる。このことからグリコシル化反応は３位選択的に進行したものと決定した。一方、非還元末端糖 B のアノマー位の立体化学は、アノマー位のプロトンの結合定数にて、β体であると決定した。

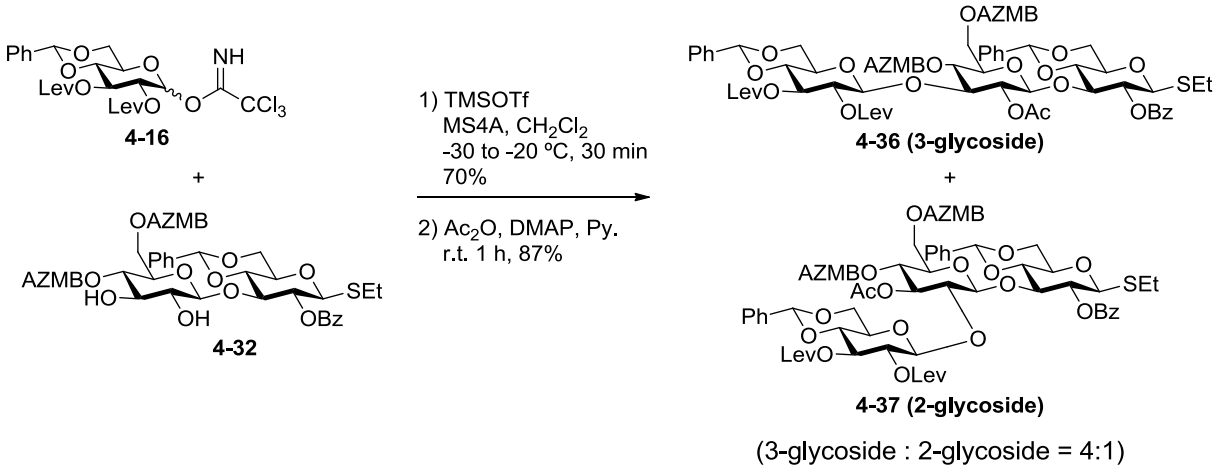


Scheme 4-8

	δ (ppm) (*J*, Hz)				
compound	H-A2	H-A3	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-B2	H-B3
4-32	5.39	4.24	4.48 (7.7)	3.52	3.64

Table 4-5

続いて、２糖 **4-32** による位置選択的グリコシル化反応の検討を行った（Scheme 4-9)。この際、位置選択性の解析を容易にするため、単糖供与体 **4-16** を用いた。非還元末端の２，３位に遊離水酸基を持つ２糖チオ糖 **4-32**(1.0 当量)と単糖イミデート糖 **4-16**(1.5 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(4.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-30 ℃で、TMSOTf(0.2 当量)を用いてイミデート基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、TLC 上で二種類の生成物が見られた。後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製を試みるも、非常に分離困難であったため、混合物のままアセチル化を行うことで生成物の同定を行うことにした。得られた混合物をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることでアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、β（１，３）３糖 **4-36** およびβ（１，２）３糖 **4-37** を 4:1 の比で得た(NMR により生成比を決定)。この際の **4-36**、**4-37** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行なった。**4-36** の２位の化学シフトに注目すると、アセチル化前後で化学シフトが 1.14 ppm 低磁場シフトした（3.54→4.68 ppm)。このことから、３位結合体であると決定した。また、**4-37** の３位の化学シフトに注目すると、アセチル化前後で化学シフトが 1.70 ppm 低磁場シフトした（3.63→5.33 ppm)。このことから、２位結合体であると決定した。一方、非還元末端糖のアノマー位の立体化学は、アノマー位のプロトンの結合定数（**4-36**: 4.71 ppm (7.7 Hz)、**4-37**: 4.32 ppm (8.2 Hz)）にて、β体であると決定した。



Scheme 4-9

以上、４，６位に AZMB 基を用いた２糖 **4-32** では位置選択的グリコシル化反応の選択性が下がり、

非常に分離困難なβ（１，２）生成物が得られることが分かった。この結果より、分岐５糖の合成において２糖 **4-32** を用いるのは適切ではないと結論付けた。

続いて、３位に遊離水酸基を有し、６位に AZMB 基を有する２糖 **4-33** を用いる分岐５糖の合成を行うことにした（Figure 4-9)。非還元末端糖の２位にベンゾイル基を有するため、反応性が低下する可能性や副生成物の可能性が考えられるが、モノオールに反応を行うために分離困難な位置異性体は得られない。４位の保護基は３位の求核性を上げるために、電子供与性であるベンジル基を用いた。

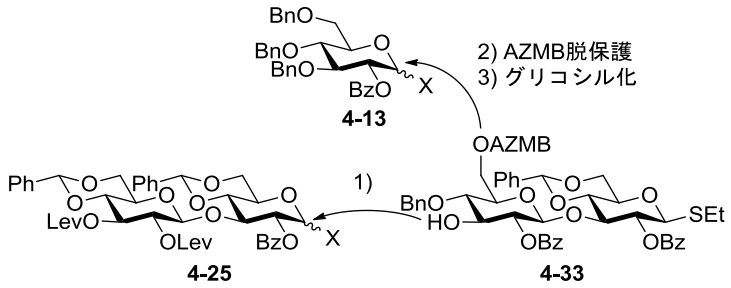
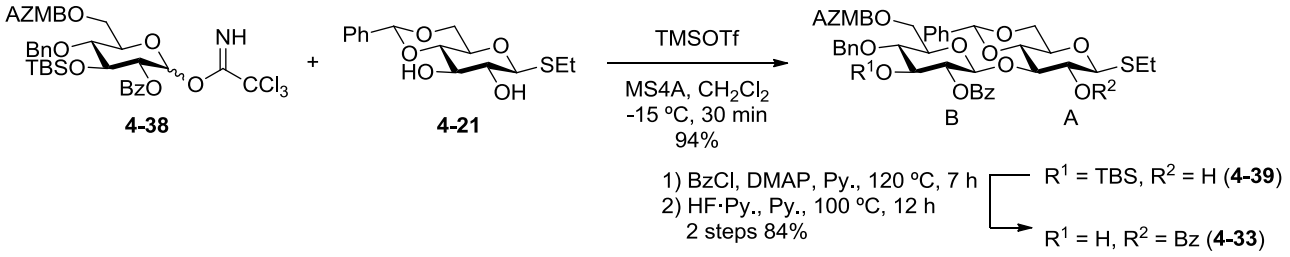


Figure 4-9

２糖 **4-33** の合成を行った(Scheme 4-10)。非還元末端の２，３位に遊離水酸基を持つ単糖チオ糖 **4-21**(1.2 当量)と、化学選択的に脱保護可能な *t*-ブチルジメチルシリル（以下 TBS）基を３位に、AZMB 基を６位に有する単糖イミデート糖 **4-38**(1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(1.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-15 ℃で、TMSOTf (0.2 当量)を用いてイミデート基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２糖 **4-39** が収率 94%で得られた。続いて、２糖 **4-39** のベンゾイル化を行った、２糖 **4-39**(1.0 当量)をピリジン溶媒中、ベンゾイルクロライド（3.0 当量）と触媒量の DMAP（0.1 当量）を加えることで２位にベンゾイル基の導入を行った。その後、120 ℃で７時間反応を行い、TLC 上で **4-35** の消失を確認した。後処理後、TBS 基の脱保護を行った。得られた化合物に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えた。反応は速やかに進行し、後処理、精製を行うことで、目的とするモノオール **4-33** が２段階収率 84%で得られた。この際の **4-39** と **4-33** の同定は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて行なった(Table 4-6：還元末端糖を A、非還元末端糖を B とおく。ピークの分離が悪い化学シフトは範囲を示した)。**4-39** と **4-33** の還元末端糖 A の２，３位の化学シフトに注目すると、３位はほとんど変化がないのに対して、２位の化学シフトが大きく低磁場シフトしており、ベンゾイル化が２位に進行したことが分かる。このことからグリコシル化反応は３位選択的に進行したものと決定した。一方、非還元末端糖 B のアノマー位の立体化学は、アノマー位のプロトンの結合定数にて、β体であると決定した。

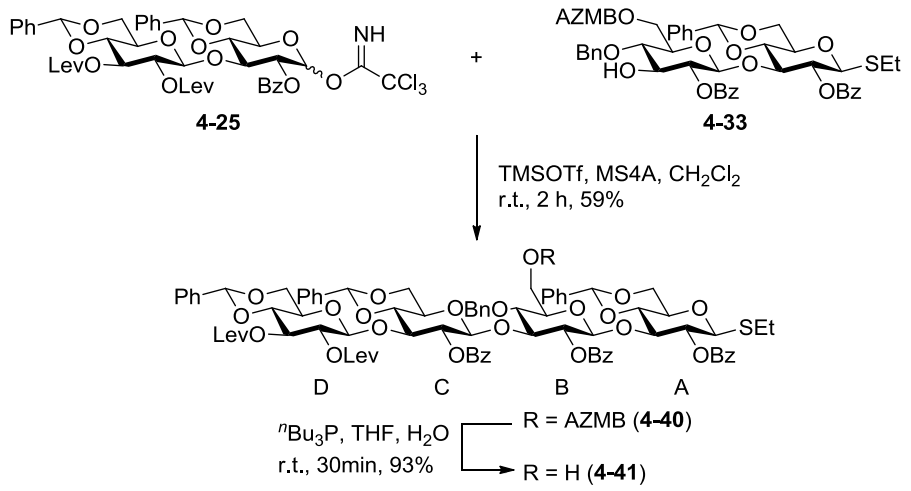


Scheme 4-10

	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-A2	H-A3	H-B1 ($J_{1,2}$)
4-39	4.25-4.31	3.31-3.42	3.79	4.93 (7.7)
4-33	4.50-4.60	5.30	4.27	4.86 (7.2)

Table 4-6

6位遊離水酸基を有する4糖チオ糖 **4-41** の合成を示す(Scheme 4-11)。非還元末端の3位に遊離水酸基を持つ2糖チオ糖 **4-33**(1.0当量)と2糖イミデート糖 **4-25**(1.1当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(0.5 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-50 ℃で、TMSOTf(0.1当量)を用いてイミデート基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その後、反応を完結させるために室温まで昇温し、反応開始から2時間後にイミデート糖 **4-25** の消失を確認した。後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、4糖 **4-40** が収率59%で得られた。この際、2糖チオ糖 **4-33** と非常に極性の近い副生成物が見られたが、2位のベンゾイル基が転位したものと考えられる。また、2位結合体は得られていないため、転位体にグリコシル化反応は進行していないものと考えられる。この際の **4-40** の立体化学は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて確認した(Table 4-7：還元末端糖から A、B、C、D とおく。ピークの分離が悪い化学シフトは範囲を示した)。4糖 **4-40** の糖ユニットCのアノマー位のプロトンの結合定数(7.7 Hz)により、β体であると決定した。続いて、4糖 **4-40** を THF 溶媒中、水（5.0当量）とトリ-*n*-ブチルフォスフィン（3.0当量）を加えることで6位の AZMB 基の脱保護を行った。速やかに反応は進行し、4糖 **4-41** を収率93%で得た。

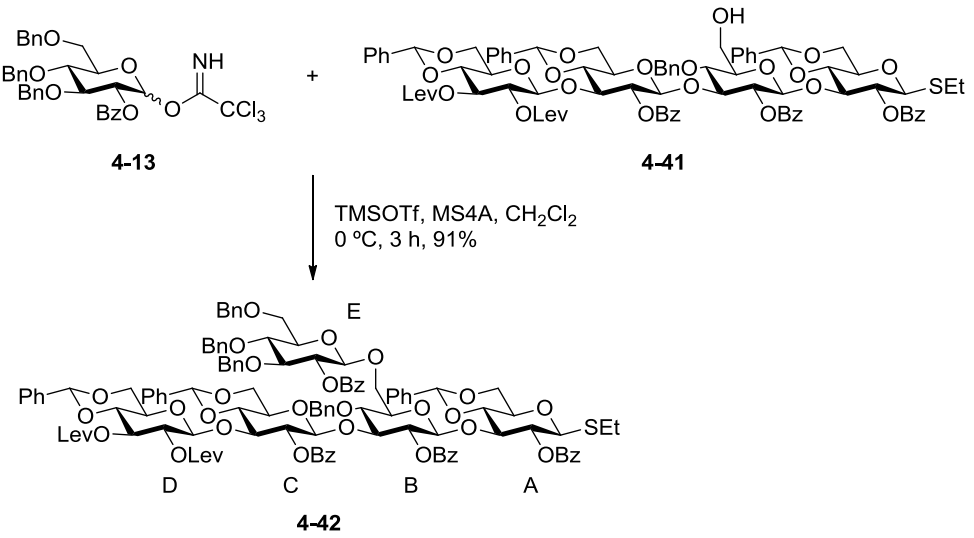


Scheme 4-11

	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)
4-40	4.37-4.44	4.69-4.81	4.96 (7.7)	4.55 (7.7)

Table 4-7

分岐５糖チオ糖 **4-42** の合成を示す(Scheme 4-12)。６位に遊離水酸基を有する４糖チオ糖 **4-41**(1.0 当量)と単糖イミデート糖 **4-13**[9](2.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(1.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-10 ℃で、TMSOTf(0.1 当量)を用いてイミデート基を活性化させ、グリコシル化反応を行った。その後、反応を完結させるために 0 ℃まで昇温し、反応開始から３時間後に４糖チオ糖 **4-41** の消失を確認した。後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、５糖 **4-42** が収率 91%で得られた。この際の **4-42** の立体化学は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて確認した(Table 4-8：還元末端糖から A、B、C、D、E とおく。ピークの分離が悪い化学シフトは範囲を示した)。新たに結合が生成する **4-42** の糖ユニット E のアノマー位のプロトンの結合定数(7.7 Hz)により、β体であると決定した。



Scheme 4-12

	δ (ppm) (*J*, Hz)				
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)	H-E1 ($J_{1,2}$)
4-42	4.13-4.26	4.54-4.66	4.73-4.80	4.51 (7.7)	4.65 (7.7)

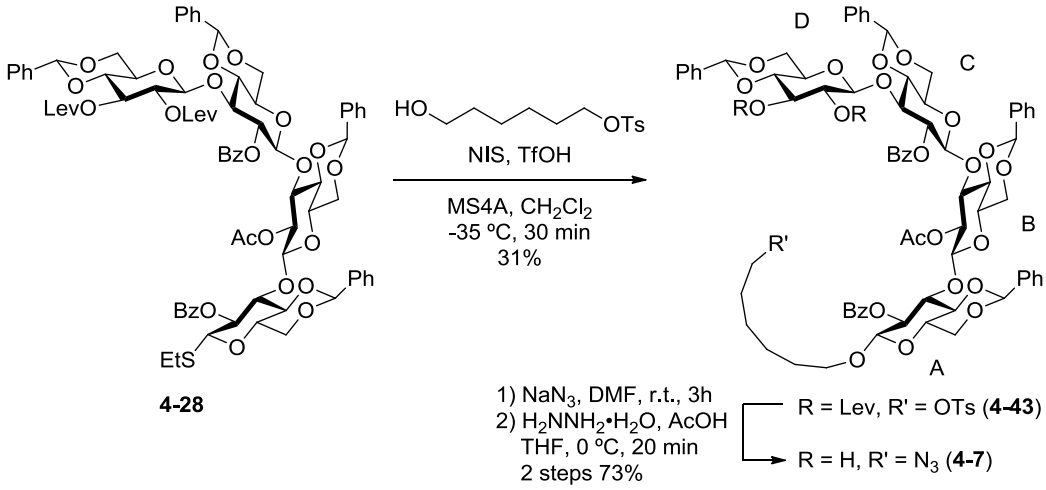
Table 4-8

３）直鎖の４糖糖受容体 **4-7** の合成と直鎖の８糖、１２糖、１６糖の合成

・アジドアルキル基を有する４糖糖受容体 **4-7** の合成

アジドアルキル基を有する４糖糖受容体 **4-7** の合成を行った（Scheme 4-13)。４糖糖受容体 **4-7** は脂肪鎖アルコールに対し４糖チオ糖 **4-28** をグリコシル化させることで得る。モノトシル化されたヘキサンジオール(1.2 当量)と２，３位に Lev 基を有する４糖チオ糖 **4-28**(1.0 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(4.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-35 ℃で、*N*-ヨードコハク酸イミド（以下 NIS、1.2 当量)、トリフルオロメタンスルホン酸（以下 TfOH、0.50 当量)によりエチルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。開始から 30 分後、ヘキサンジオールモノトシル体の消失を確認した。後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、トシルアルキル基を有する４糖 **4-43** が収率 31%で得られた。また、エステル化されたヘキサンジオールモノトシル体が見られた。強い酸性条件では、嵩低いアルコールが糖鎖のエステル基を求核攻撃してしまうと考えられる。この際の **4-43** の立体化学は ^{1}H-NMR、^{1}H-^{1}H COSY を用いて確認した(Table 4-9：還元末端糖から A、B、C、D とおく。糖ユニット B と C（内部の糖）は順不同)。新たに結合が生成する **4-43** の糖ユニット A のアノマー位のプロトンの結合定数(7.7 Hz)により、β体であると決定した。さらに、全てのアノマー位の結合定数がβ体を表しており（6.3～7.7 Hz)、４糖チオ糖 **4-28** は全てβ結合していることを証明する結果である。続いて、トシルアルキル基を有する４糖

4-43 を DMF 溶媒中、アジ化ナトリウムを加えることでアジド基の導入を行った。室温で反応は進行し、４糖 **4-43** の消失を確認した。後処理後、Lev 基の脱保護を行った。得られた化合物に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えた。反応は速やかに進行し、後処理、精製を行うことで、目的とするアジドアルキル基を有するジオール **4-7** が２段階収率 73%で得られた。



Scheme 4-13

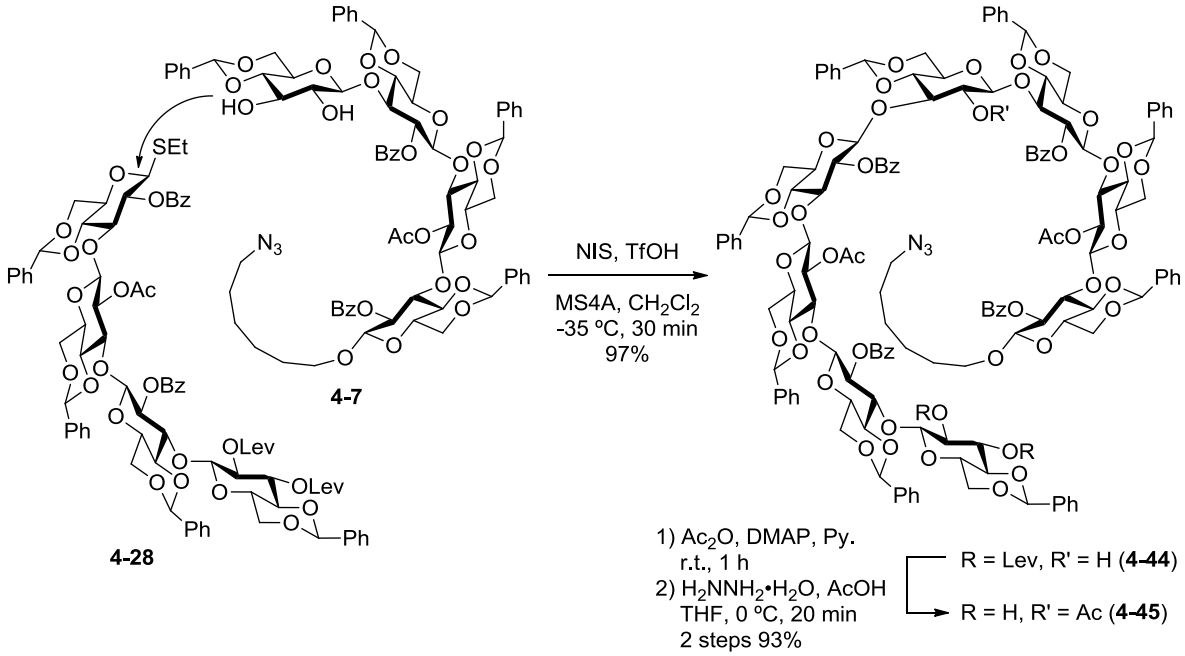
	δ (ppm) (*J*, Hz)			
compound	H-A1 ($J_{1,2}$)	H-B1 ($J_{1,2}$)	H-C1 ($J_{1,2}$)	H-D1 ($J_{1,2}$)
4-43	4.47 (7.7)	4.62 (6.3)	4.87 (6.3)	4.70(7.7)

Table 4-9

・直鎖８糖の合成

直鎖８糖 **4-45** の合成を行った（Scheme 4-14)。直鎖８糖 **4-45** は２，３ジオール４糖 **4-7** に対し４糖チオ糖 **4-28** をグリコシル化させることで得る。２，３ジオール４糖 **4-7**（1.0 当量)と２，３位に Lev 基を有する４糖チオ糖 **4-28**(1.1 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(2.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-35 ℃で、NIS（1.32 当量)、TfOH（0.50 当量)によりエチルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２位遊離水酸基を有する８糖 **4-44** が収率 97%、単一異性体で得られた。この際の８糖 **4-44** の３位選択性の証明は５）位置選択性の証明にて述べる。また、β選択性の証明は、脱保護後行うこととした。続いて、８糖 **4-44** をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることで２位にアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、８糖 **4-44** の消失を確認した。後処理後、Lev 基の脱保護を行った。８糖 **4-44** に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。反応は速やかに進行し、後処理、カラム精製を行うことで、目的とする２，３ジオール８糖 **4-45** が２段階収率 93%で得ら

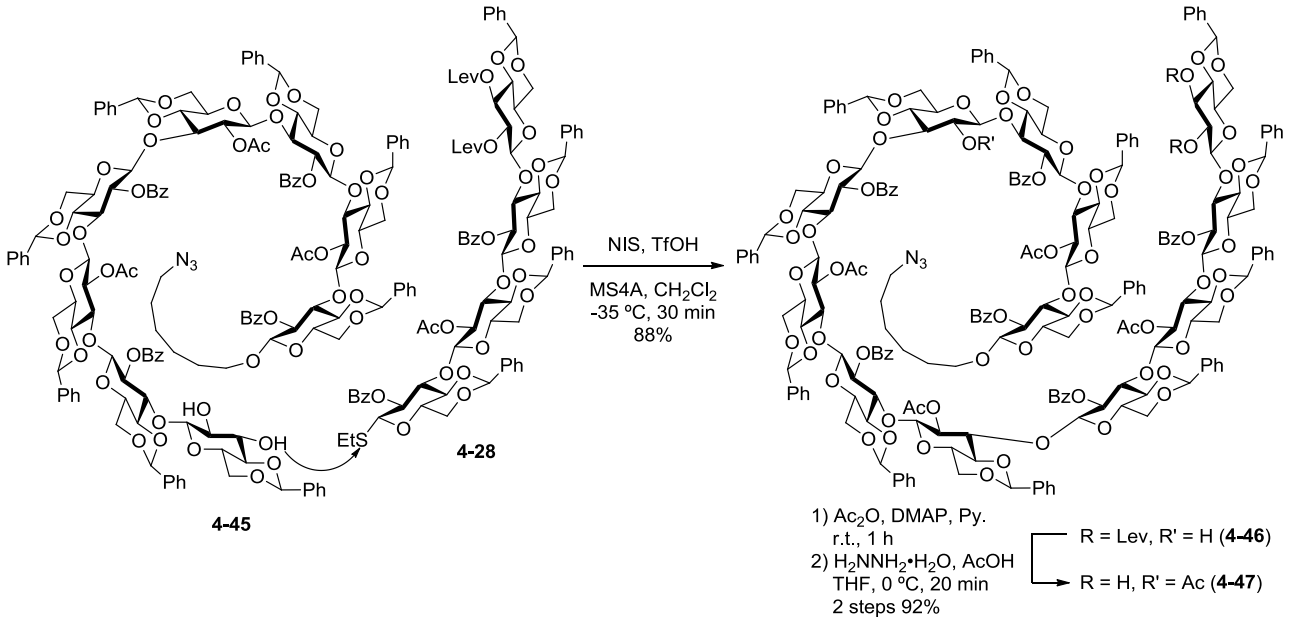
れた。



Scheme 4-14

・直鎖１２糖の合成

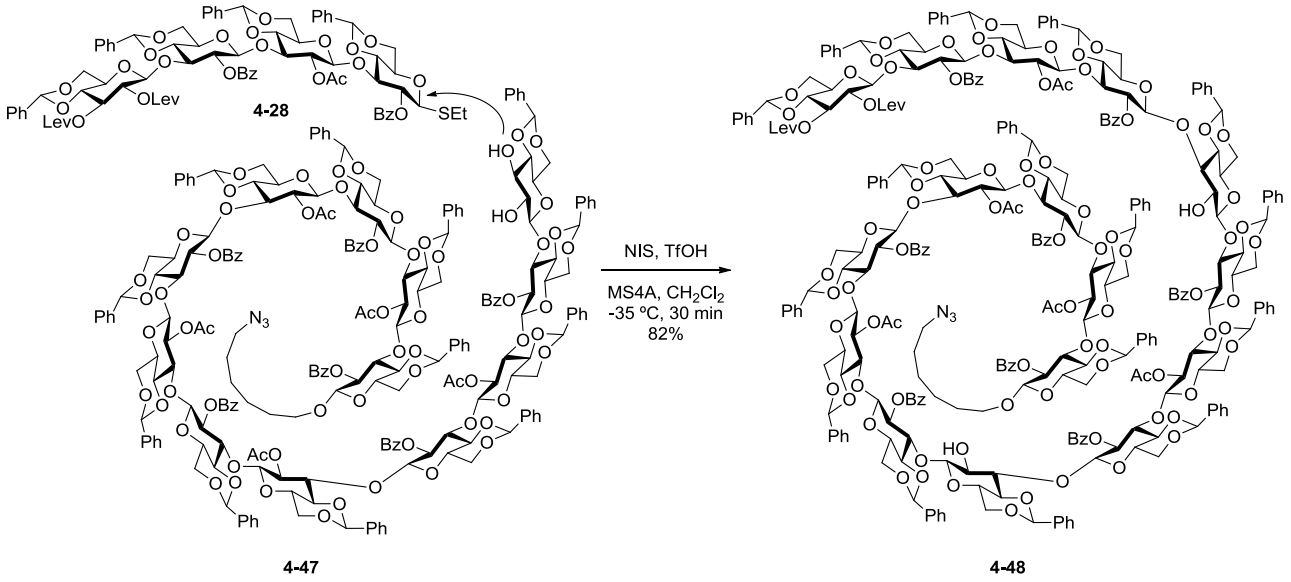
直鎖１２糖 **4-47** の合成を行った（Scheme 4-15)。直鎖１２糖 **4-47** は２，３ジオール８糖 **4-45** に対し４糖チオ糖 **4-28** をグリコシル化させることで得る。２，３ジオール８糖 **4-45** (1.0 当量)と２，３位に Lev 基を有する４糖チオ糖 **4-28**(1.2 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(6.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-35 ℃で、NIS (1.44 当量)、TfOH (0.50 当量）によりエチルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２位遊離水酸基を有する１２糖 **4-46** が収率 88%、単一異性体で得られた。この際の１２糖 **4-46** の３位選択性の証明は「５）位置選択性の証明」にて述べる。また、β選択性の証明は、脱保護後行うこととした。続いて、１２糖 **4-46** をピリジン溶媒中、無水酢酸と触媒量の DMAP を加えることで２位にアセチル基の導入を行った。速やかに反応は進行し、１２糖 **4-46** の消失を確認した。後処理後、Lev 基の脱保護を行った。得られた化合物に対し、THF 溶媒中、ヒドラジン／酢酸を加えて Lev 基の脱保護を行った。反応は速やかに進行し、後処理、カラム精製を行うことで、目的とする２，３ジオール１２糖 **4-47** が２段階収率 92%で得られた。



Scheme 4-15

・直鎖１６糖の合成

直鎖１６糖 **4-48** の合成を行った（Scheme 4-16)。直鎖１６糖 **4-48** は２，３ジオール１２糖 **4-47** に対し４糖チオ糖 **4-28** をグリコシル化させることで得る。２，３ジオール１２糖 **4-47** (1.0 当量) と２，３位に Lev 基を有する４糖チオ糖 **4-28**(1.2 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(10 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-35 ℃で、NIS (1.44 当量)、TfOH (0.70 当量)によりエチルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２位遊離水酸基を有する１６糖 **4-48** が収率 82%、単一異性体で得られた。物性変化の少ないと考えられる４糖と１２糖とのグリコシル化反応であるが、生成物である１６糖との分離は可能であった。この際の１６糖 **4-48** の３位選択性の証明は５）位置選択性の証明にて述べる。また、β選択性の証明は、脱保護後行うこととした。なお、免疫調整機能分子の合成研究や機能評価研究のために約１ｇの１６糖 **4-48** を供給した。本手法は、スケールアップにも対応できる効率的な合成法である。



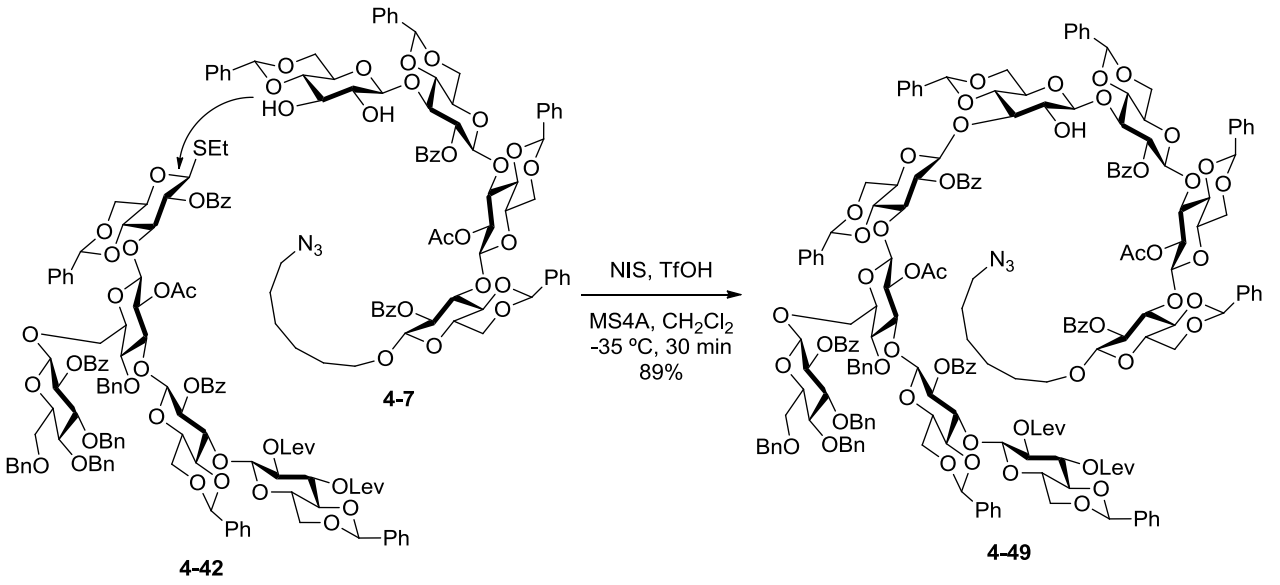
Scheme 4-16

４）分岐９糖、１３糖、１７糖の合成

それぞれ、直鎖の４、８、１２糖糖受容体に対し、分岐５糖糖供与体とのグリコシル化反応を行うことで得る。

・分岐９糖の合成

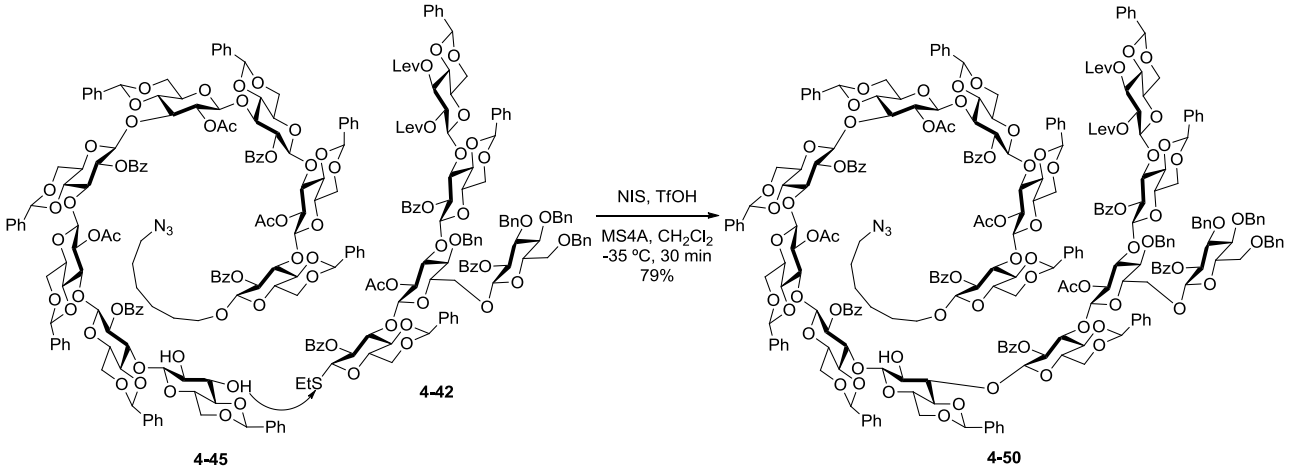
分岐９糖 **4-49** の合成を行った（Scheme 4-17)。分岐９糖 **4-49** は２，３ジオール４糖 **4-7** に対し分岐５糖チオ糖 **4-42** をグリコシル化させることで得る。２，３ジオール４糖 **4-7**（1.0 当量)と５糖チオ糖 **4-42**(1.2 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(6.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-35 ℃で、NIS（1.44 当量)、TfOH（0.30 当量)によりエチルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２位遊離水酸基を有する９糖 **4-49** が収率 89%、単一異性体で得られた。この際の９糖 **4-49** の３位選択性の証明は５）位置選択性の証明にて述べる。また、β選択性の証明は、脱保護後行うこととした。



Scheme 4-17

・分岐１３糖の合成

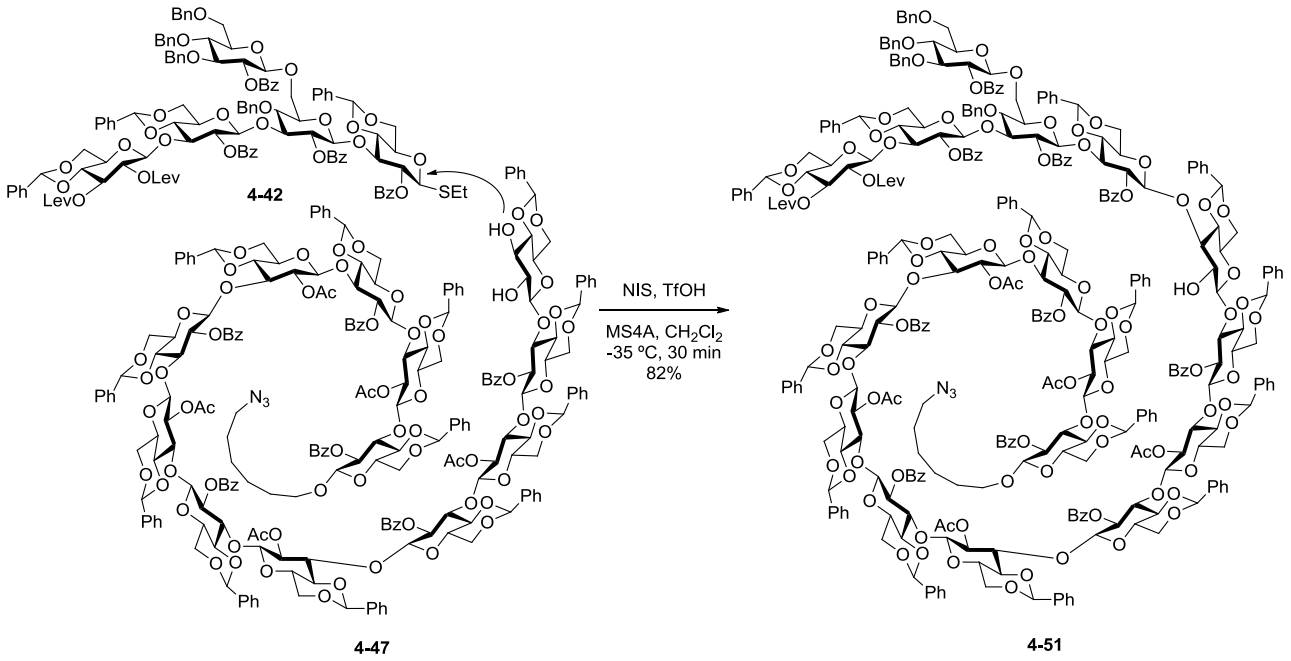
分岐１３糖 **4-50** の合成を行った（Scheme 4-18)。分岐１３糖 **4-50** は２，３ジオール８糖 **4-45** に対し分岐５糖チオ糖 **4-42** をグリコシル化させることで得る。２，３ジオール８糖 **4-45** (1.0 当量)と５糖チオ糖 **4-42**(1.5 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(6.0 g/mmol)存在下混在させ脱水を行った。その後、-35 ℃で、NIS (1.80 当量)、TfOH (0.50 当量)によりエチルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２位遊離水酸基を有する１３糖 **4-50** が収率 79%、単一異性体で得られた。この際の１３糖 **4-50** の３位選択性の証明は５）位置選択性の証明にて述べる。また、β選択性の証明は、脱保護後行うこととした。



Scheme 4-18

・分岐１７糖の合成

分岐１７糖 **4-51** の合成を行った（Scheme 4-19)。分岐１７糖 **4-51** は２，３ジオール１２糖 **4-47** に対し分岐５糖チオ糖 **4-42** をグリコシル化させることで得る。２，３ジオール１２糖 **4-47**（1.0 当量)と５糖チオ糖 **4-42**(1.5 当量)をジクロロメタン溶媒中、モレキュラーシーブス 4A(10 g/mmol) 存在下混在させ脱水を行った。その後、-35 ℃で、NIS（1.80 当量)、TfOH（0.30 当量)によりエチルチオ基を活性化させグリコシル化反応を行った。その結果、速やかにグリコシル化反応は進行し、後処理、ゲルろ過カラム(GPC)を含む精製後、２位遊離水酸基を有する１７糖 **4-51** が収率 82%、単一異性体で得られた。物性変化の少ないと考えられる５糖と１２糖とのグリコシル化反応であるが、生成物である１７糖との分離は可能であった。この際の１７糖 **4-51** の３位選択性の証明は５）位置選択性の証明にて述べる。



Scheme 4-19

５）位置選択性の確認

βグルカンはグルコースの繰り返し構造を有する糖鎖であるため、長鎖になるほどその構造決定は難しい。特に、本章での、直鎖８糖、１２糖、１６糖や分岐９糖、１３糖、１７糖における完全な構造の帰属は非常に難しい。そこで、化学合成においては、選択性を伴う反応ごとに証明をすることが望ましい。本項では３位選択的グリコシル化反応後の位置選択性の証明について述べる。また、β結合の証明に関しては、アノマー位の結合定数が保護基の影響を受けやすいため、脱保護を行うことで証明する（次項)。

すでに直鎖４糖糖供与体 **4-28** と分岐５糖糖供与体 **4-42**、直鎖４糖糖受容体 **4-7** の主鎖が β（１，３）結合していることの証明はなされているので、直鎖８糖 **4-44** と分岐９糖 **4-49** の主鎖（１，３）結合の証明は、新たに生成した結合の３位選択性を証明できれば良いことになる。さらに、直鎖８糖 **4-44** の（１，３）結合の証明がなされれば、直鎖１２糖 **4-46** と分岐１３糖 **4-50** の主鎖（１，３）結合の証明は、新たに生成した結合の３位選択性を証明できれば良いことになる。同様に、直鎖１２糖 **4-46** の（１，３）結合の証明がなされれば、直鎖１６糖 **4-48** と分岐１７糖 **4-51** は新たに生成した結合の３位選択性を証明できれば良い。

今回、位置選択的グリコシル化反応後において、残る遊離水酸基に着目した。２次元 NMR（^{1}H-^{1}H COSY）において、遊離水酸基のプロトンと２位のプロトンが相関していることを証明できれば、遊離水酸基は２位のものであることがわかり、３位選択的にグリコシル化反応が進行したことが証明できる（Figure 4-10）。それぞれの糖鎖は非常に複雑な ^{1}H-NMR のピークを呈するが、水酸基の化学シフトは濃度や温度によって値を変化させることができ、検出可能であると考えた。手順について述べる。

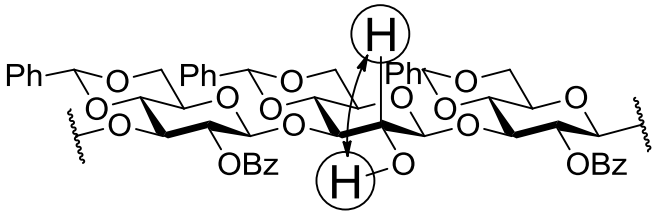


Figure 4-10

（１）重水素化による水酸基の ^{1}H-NMR ピークの消失から、水酸基のピークであることを証明する。
（２）^{1}H-^{1}H COSY により、水酸基と相関しているピークを探し、その帰属をする（２位または３位）。

この手法を用いることで、直鎖８糖、１２糖、１６糖や分岐９糖、１３糖、１７糖の主鎖構造が全て（１，３）結合でつながっていることを証明した。ここでは、特に複雑な ^{1}H-NMR のピークを呈する分岐１７糖について示す。その他の糖鎖は章末の実験項の NMR に詳細を載せた。

（１）重水素化による水酸基の証明

分岐１７糖 **4-51** における通常の ^{1}H-NMR チャートを Figure 4-11 上に、重水を添加して重水素化を行ったチャートを Figure 4-11 下に示す。Figure 4-11 を比べると重水素化を行ったチャートにおいて、2.35 ppm 付近のピークが消失した（Figure 4-12 拡大）。この結果から、2.35 ppm のピークは遊離水酸基であることが証明された。

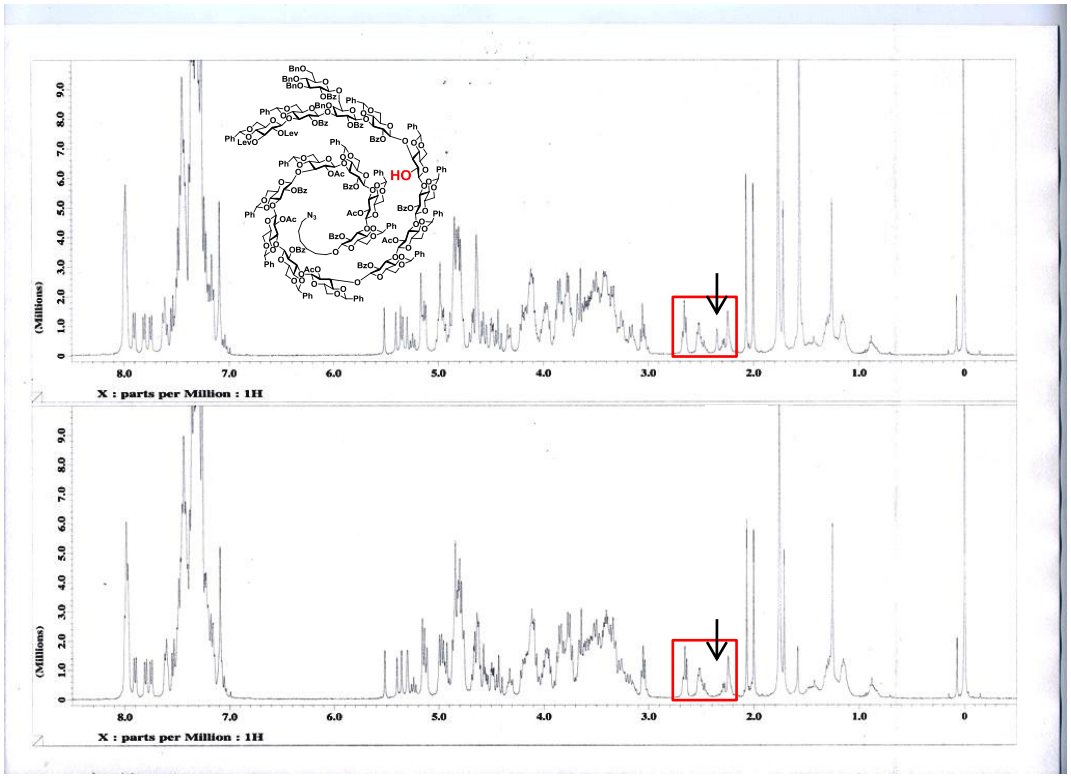


Figure 4-11

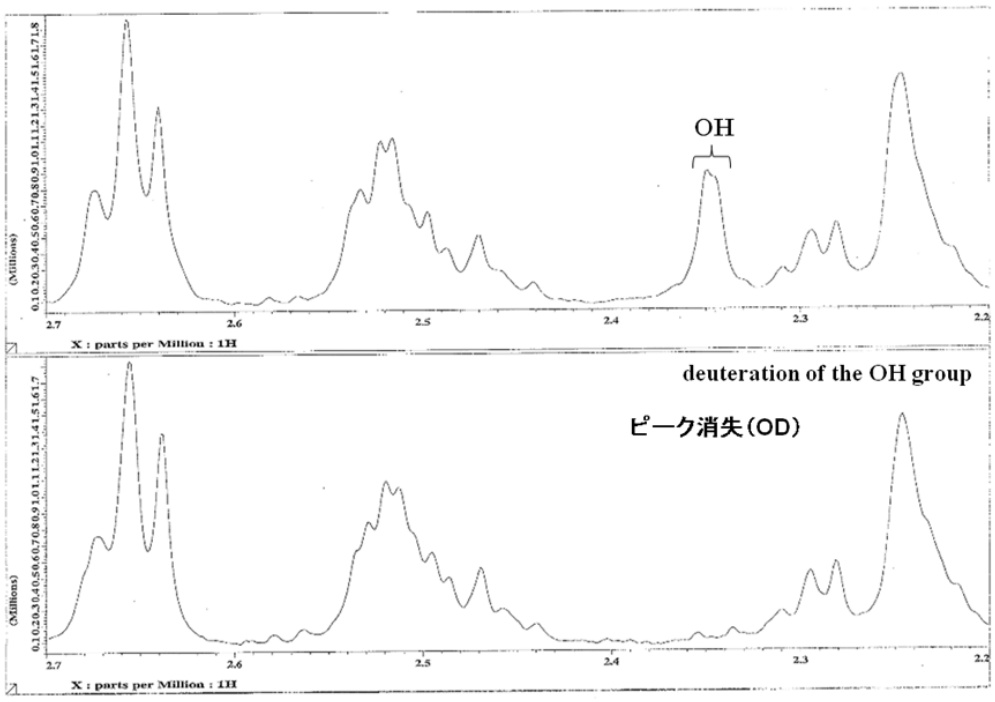


Figure 4-12

（２）^{1}H-^{1}H COSY による、水酸基と相関するピークの帰属

分岐１７糖 **4-51** の ^{1}H-^{1}H COSY チャートを Figure 4-13 に示す。2.35 ppm の水酸基プロトンピークに相関するピークとして 2.65 ppm 付近のピークが挙げられる。このピークは ^{1}H-^{1}H COSY のデータから２位のプロトンピークであることが分かっており、遊離水酸基が２位のものであることを証明する結果である。

この結果から、分岐１７糖 **4-51** の合成反応である、２，３ジオール１２糖 **4-47** と５糖チオ糖 **4-42** の位置選択的グリコシル化反応は３位選択的であったことが証明された。

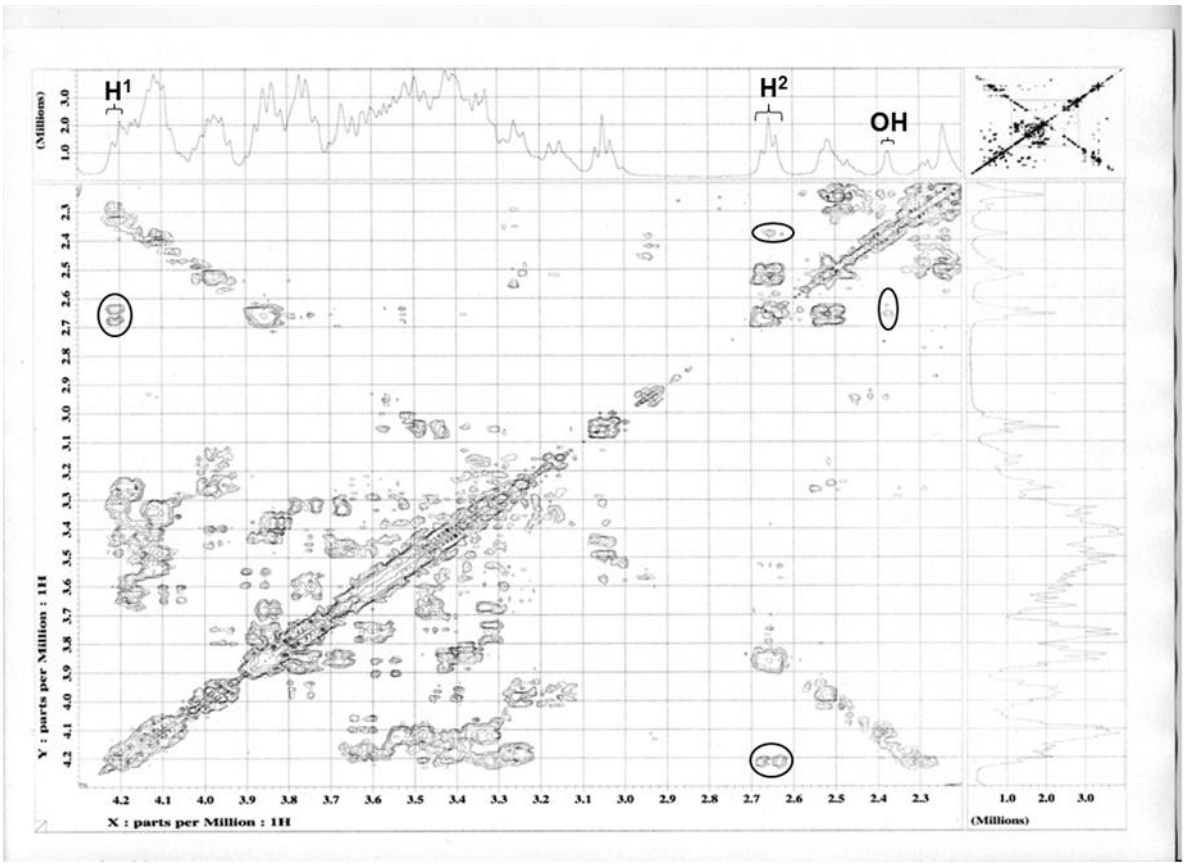


Figure 4-13

６）脱保護の検討

本項では、直鎖８糖 **4-44**、１２糖 **4-47**、１６糖 **4-48**、および、分岐９糖 **4-49**、１３糖 **4-50**、１７糖 **4-51** の脱保護を検討する。合成した分岐糖には分岐鎖に多くのベンジル基が用いられているため、固-液反応である固相脱保護において外れ切らない可能性がある。そこで、直接 Birch 還元反応を行う、液-液反応にて脱保護を試みることにした。液相にて脱保護反応を行う上で、糖鎖の凝集化による反応の停止、および、高極性糖鎖の取り扱いの難しさが問題点として残る。それぞれについて考察する。

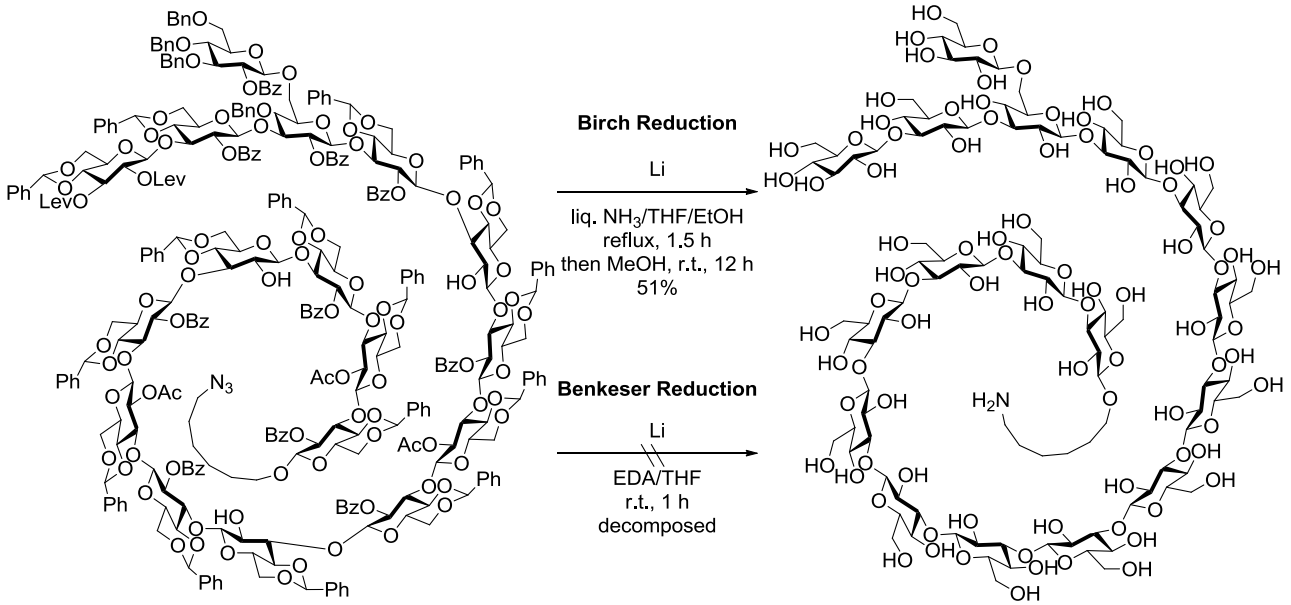
（1）糖鎖の凝集化

今回の糖鎖はベンジリデン保護基とベンジル基、エステル基、アジド基を有している。このうちBirch還元において外れるのはベンジリデン保護基とベンジル基、アジド基（アミノ基に変換）である。結晶性が高い芳香環保護基が先に外れるため、凝集化防止が期待できる。また、アジド基は還元されやすく、生成したアミノ基が液体アンモニア溶媒において高い溶解性を発揮すると期待できる。また、通常のBirch還元は低温で行うため(-78～-35 ℃)に基質の低溶解性が予想されるが、室温で反応が行えるエチレンジアミン溶媒を用いたBirch還元（ベンケサー還元）も検討する。

（2）高極性糖鎖の取り扱い

糖鎖を液相においてBirch還元する際、反応後の大量の金属塩と水溶性糖鎖の分離の問題が挙げられる。３章において８糖および１２糖、１６糖メチルグリコシド体は順に疎水性が上がり、逆相カラム（Bond Elut-C18）により容易に精製が可能であった。本章で合成した糖鎖においてもBirch還元による金属塩との分離が可能であると推測できる。また、ゲルろ過カラムや陽イオン交換樹脂を用いることで金属塩との分離を図る。

以上を踏まえ、液相Birch還元による脱保護の検討を行った（Scheme 4-20(１７糖)上)。それぞれの糖鎖（直鎖８糖 **4-44**、１２糖 **4-47**、１６糖 **4-48**、および、分岐９糖 **4-49**、１３糖 **4-50**、１７糖 **4-51**）に対し、THF、EtOH混合溶媒中、反応容器を-78 ℃へと冷却し、液体アンモニアの導入を行った。EtOHはプロトン供与体であり、Birch還元の反応性を向上させる目的で加えた。混合溶媒は液体アンモニア/THF/EtOH = 8.5/1/0.5の反応容器とし、-78 ℃条件下リチウム(100 mg)を加えた。溶液が濃青色を呈しラジカルの発生を確認後、アンモニア還流条件下1.5時間反応を行った。反応溶液に対し、MeOHを加えることでラジカルを消失させ、室温で12時間攪拌することでエステル基の脱保護を行った。減圧下溶媒を飛ばし、大量のリチウム塩と脱保護された糖鎖を確認した。この際、陽イオン交換樹脂（DOWEX™ 50WX8）を用いてある程度リチウムイオンを除き、その後、ゲルろ過カラムにより塩と低分子の副生成物を除くことにした。しかしながら、少量であるが強塩基条件下において陽イオン交換樹脂に基質が取り込まれた。糖鎖の末端アミンを介して陽イオン交換樹脂の硫酸基と静電吸着したものと考えられる。続いて、ゲルろ過カラムにより塩と低分子の副生成物をある程度除き、逆相カラム（Bond Elut-C18）により精製を行った。いずれの糖鎖も逆相カラムによって保持され、精製可能であった。それぞれの収率は、直鎖８糖 **4-3**（43%）、１２糖 **4-2**（90%）、１６糖 **4-1**（80%）、および、分岐９糖 **4-6**（quant.）、１３糖 **4-5**（81%）、１７糖 **4-4**（51%）である。この際、１７糖においてベンジル基が外れ残った副生成物が見られた。そこで、より強力な還元反応であるベンケサー還元の検討を行った（Scheme 4-20 下）。１７糖 **4-51** に対し、THF、エチレンジアミン（EDA）混合溶媒中(THF/EDA = 1/9)、0 ℃でリチウム(100 mg)を加えた。溶液が濃青色を呈しラジカルの発生を確認した。反応開始後、TLC解析を行ったところ、系中が複雑化していた。目的の１７糖 **4-4** よりも高極性の生成物が見られたことから、基質が損壊したものと考えられる。その後、反応を続けるも、TLC上の生成物に収束は見られなかった。



4-51 **4-4** (17糖)

Scheme 4-20

以上の検討により、全ての糖鎖の脱保護に成功した。糖鎖の立体化学は、^{1}H-NMR によるアノマー位のプロトンの結合定数にて全てβ体であることを確認した（直鎖８糖 **4-3**（4.44～4.76 ppm、7.7 Hz)、１２糖 **4-2**（4.44～4.76 ppm、7.7～8.2 Hz)、１６糖 **4-1**（4.45～4.77 ppm、7.7 Hz)、および、分岐９糖 **4-6**（4.44～4.80 ppm、7.7 Hz)、１３糖 **4-5**（4.45～4.76 ppm、7.7～8.7 Hz)、１７糖 **4-4**（4.44～4.76 ppm、7.7 Hz))。前項の結果と併せて、合成した糖鎖の主鎖が全てβ（１，３）結合していることが証明された。構造が証明されたこれらの糖鎖は、βグルカンの機能を解明するための有用なケミカルプローブになると期待できる。

４－５　結合試験および免疫活性化試験

３章において直鎖β（１，３）１６糖メチルグリコシド体では、天然βグルカン（SPG）とデクチン１との結合に対する阻害作用は見られなかった。Williams らの報告では、β（１，６）分岐鎖糖は直鎖糖よりも飛躍的にリガンドとしての能力が上がることを主張しており、今回合成した１７糖をはじめとするβ（１，６）分岐鎖糖は阻害作用能を有する可能性がある。本節ではβグルカン糖鎖を微粒子上に束ねた免疫調整機能分子の合成を行う上で、担持糖鎖の評価を行った。

４－５－１　競合阻害活性試験

得られた直鎖８糖、１２糖、１６糖、および、分岐９糖、１３糖、１７糖（**4-1**～**4-6**）の、SPG とデクチン１との結合に対する競合阻害試験を行った。測定結果を Figure 4-14 に示す。横軸は SPG および合成βグルカンオリゴ糖鎖の濃度であり、縦軸は吸光度である。一定の吸光度を表す（一定量のデクチン１と SPG との結合を阻害する）ために必要なオリゴ糖鎖の濃度が少ないほど、デクチン１に強く結合する。測定結果より、直鎖１６糖 **4-1**、分岐１７糖 **4-4** が、SPG の 10 分の１程度の強い結合作用を示すことを見出した。分子量３千弱の糖鎖が、平均分子量 45 万の天然β（１，３）グルカンの 10 分の１の結合能を有することは非常に興味深い結果である。１６糖メチルグリコシド体では阻害作用が確認できなかったため、末端のアミノアルキル基が結合の関与や溶解性の向上など、何らかの役割を担っていることが示唆された。実際に、アミノアルキル体はメチルグリコシド体よりも溶解性が高かった。一方、１３糖 **4-5**、１２糖 **4-2** が、その順で弱いながら競合阻害作用を示した。

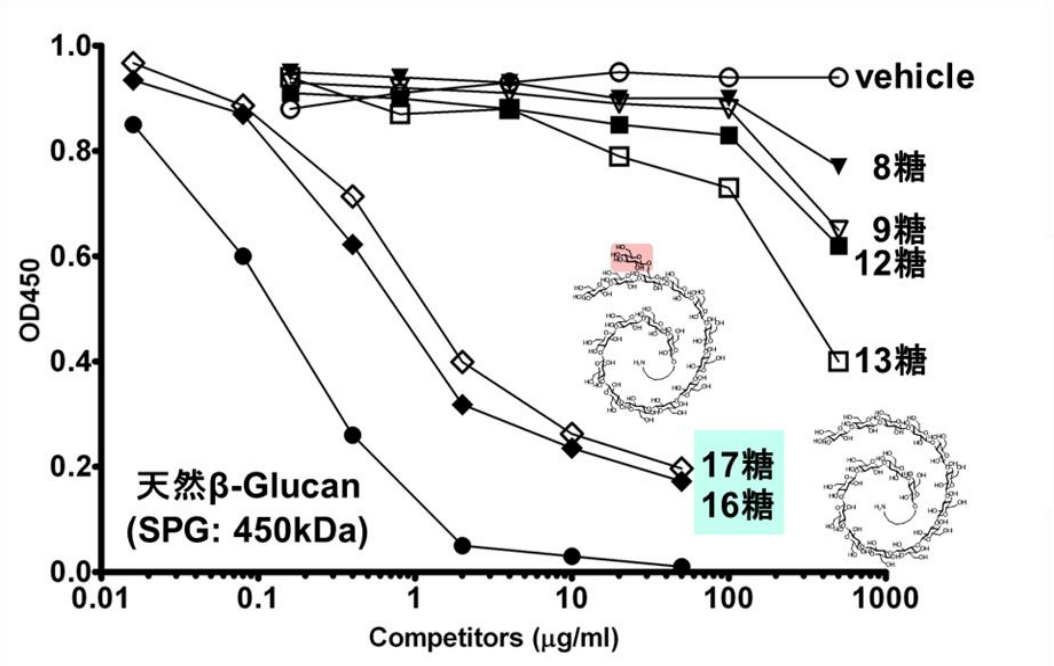


Figure 4-14

４－５－２　NMR を用いる結合様式の検討

デクチン１に対するリガンドの供給が可能となったので、結合様式を解明することとした。直鎖１６糖 **4-1** とデクチン１との結合様式を、飽和移動差 NMR（STD-NMR）[10]を用いて解析した。１６糖メチルグリコシド体は結合が確認できず、アミノアルキル基を有する１６糖 **4-1** では阻害作用が見られたことから、その結合様式は非常に興味深い。STD-NMR は、高分子タンパク質と低分子リガンドの直接的な相互作用を解析できる方法である（Figure 4-15）。特に、そのため、複合体形成の平衡定数が比較的小さいリガンドにおいても、その結合部位を明らかにすることができる特徴を有している。本手法では、タンパク質とそのリガンドの混合溶液中のタンパク質のシグナルを照射して飽和させる。その結果、複合体形成したリガンドにタンパク質からリガンドへ飽和移動が起こる。タンパク質に面したリガンドの水素への飽和移動が大きいため、結合に関与している部分の水素のシグナルが、そうでない部分のシグナルより大きく現れる。また、解離平衡速度が十分速い場合には、そのシグナルの影響をうけた分子の数が増幅されるため、NMR によって観測が容易になる。得られたスペクトルと通常の手法で測定したスペクトルを比較することにより、リガンドのどの部分がタンパク質との結合に関与しているかを明らかにする。

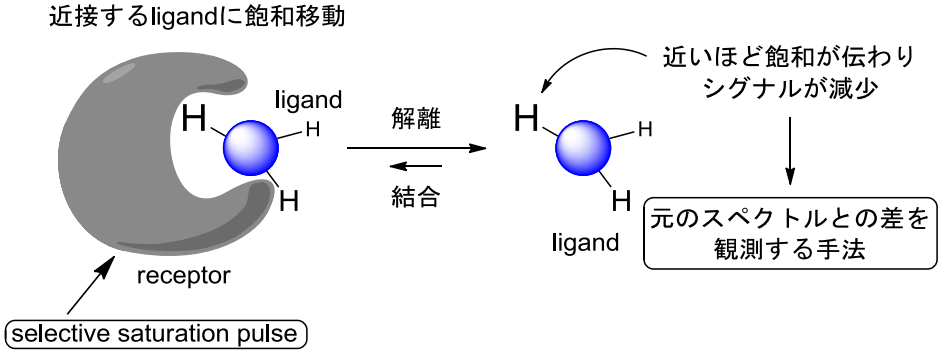


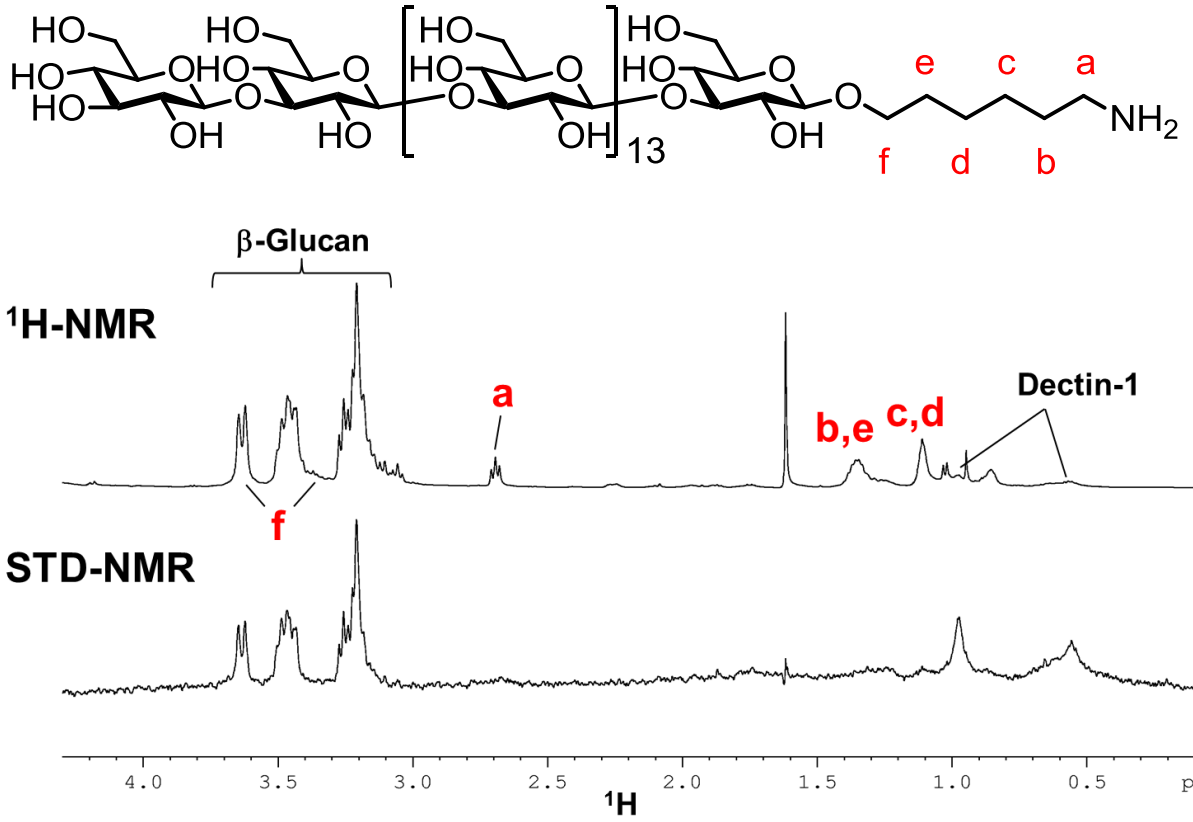
Figure 4-15

本測定は、理化学研究所山口芳樹博士の指導のもと行なった。結果を以下に示す。まず始めに、デクチン１に直鎖１６糖 **4-1** を添加しながら ^{1}H-NMR によりタンパク質のシグナル変化を追跡した。その結果、シグナルに顕著な変化は見られず、^{1}H-NMR で測定され得るほど結合力は強くないと考えられる。続いて、デクチン１存在下、直鎖１６糖 **4-1** の STD-NMR を測定した。具体的な測定方法としては以下の条件で行った。

・デクチン１(10 μM)：１６糖 **4-1** = 1:25、PBS buffer(pH 7.4)、10%D_2O としてサンプルの調整を行い、5 ℃において測定を行った。
・1H-NMR において１６糖 **4-1** のシグナルはないがデクチン１のシグナルが存在する領域に、飽和させるためのパルスを連続して照射させ（１６糖 **4-1** のシグナルは 5 ppm 以下に存在。デクチン１の

アミド、アロマティック領域である 7.5 ppm に 25 Hz の強度で 60 回連続照射)、スペクトルを測定する。
・飽和移動がおこらない領域（タンパク質や糖鎖のピークが存在しない領域：40 ppm）において、同じ条件で照射したスペクトルを測定する。
・両者の差スペクトルである STD シグナルを得た。

500 MHz の NMR を用いて測定した結果、直鎖１６糖 **4-1** の糖鎖ピークの領域（約 3.1～3.7 ppm）において、差スペクトルのシグナルが観測され、デクチン１と直鎖１６糖 **4-1** が直接結合することを確認した（Figure 4-16: 500 MHz)。また、アミノアルキル基は差スペクトルのシグナルが観測されず、直接結合に関与しないことが明らかになった（アルキルプロトン a～f 消失)。

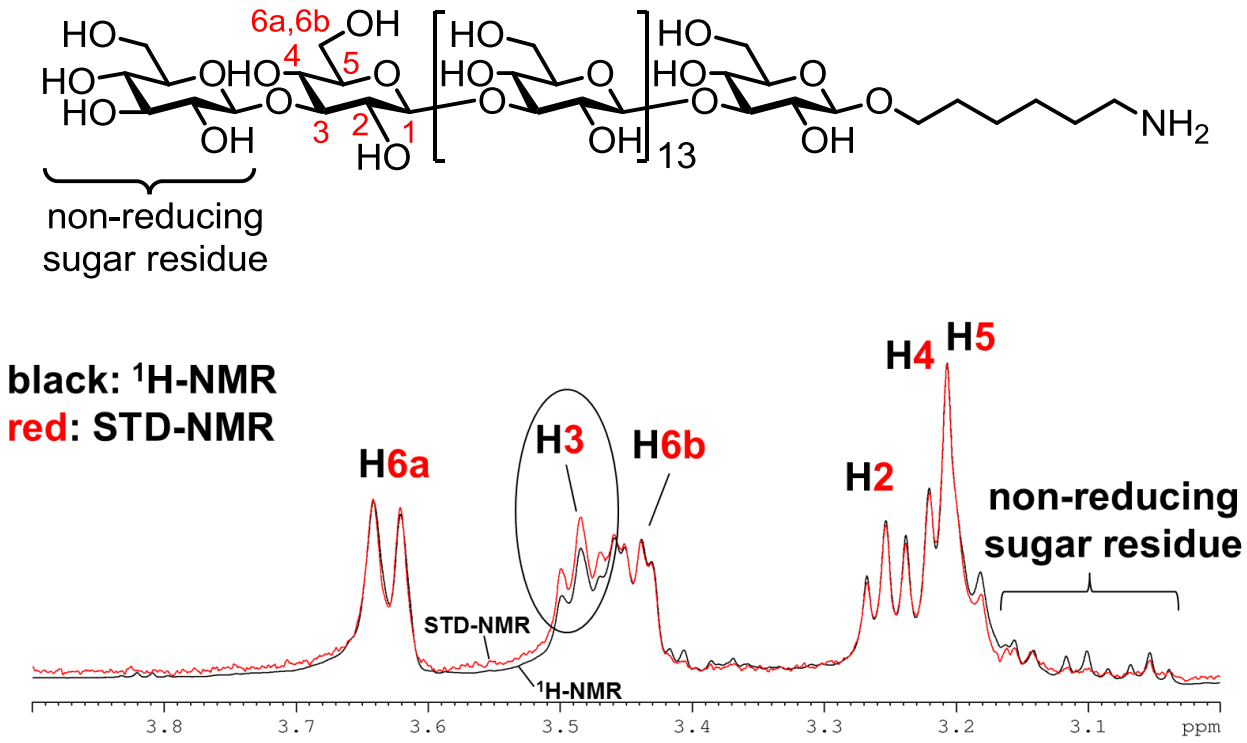


500 MHz(上: ^{1}H-NMR、下: STD-NMR)

Figure 4-16

続いて、より詳細に結合様式を解析するために、600 MHz の NMR を用いて STD-NMR を測定し、^{1}H-NMR のスペクトルを重ねることでスペクトルの増減を比較した（Figure 4-17: 600 MHz)。その結果、STD-NMR スペクトルにおける糖鎖の３位のプロトンのシグナル強度が ^{1}H-NMR スペクトルと比較して増加した。すなわち、直鎖１６糖 **4-1** において特に３位のプロトンがデクチン１と強く相互作用し

ていることが明らかになった。また、非還元末端のグルコースユニットのプロトンシグナル強度が減少しており、デクチン１との結合にはあまり関与していないものと考えられる。



600 MHz(¹H-NMR と STD-NMR を重ねたもの)

Figure 4-17

以上の結果より、デクチン１と直鎖１６糖 **4-1** との結合について考察する。

通常、３位のプロトンはβグルカン糖鎖のらせん分子の内側を巻いており（３章初めの１６糖の計算結果、および、X 線データより)、デクチン１と結合する際にらせんが解けながら相互作用しているものと考えられる。このことから予想するに、１６糖 **4-1** は３位のプロトンがデクチン１に接しながら挟み込むように結合しているのではないだろうかと考えている。また、アルキルアミノ基は結合に直接関与せず、溶解性の向上に寄与したものではないかと考えている（３章における１６糖メチルグリコシド体よりも水溶性高い)。

本結果より、本 β グルカン類縁体は、糖鎖部位でデクチン１と結合しており、天然の β グルカンの結合様式を解明する上でも非常に有用なプローブとなることが明らかになった。

４－５－３　免疫活性化試験

得られた直鎖８糖、１２糖、１６糖、および、分岐９糖、１３糖、１７糖（4-1～4-6）の、デクチン１およびそのシグナルシステムを導入した細胞を用いる免疫活性化作用について検証した。デクチン１と結合する分子を発見したことから、生理活性を発現する可能性も考えられる。免疫反応において中心的役割を果たす転写因子 NF-κB の活性化試験を行った。デクチン１を介する免疫シグナル系を導入した 293T 細胞を用いて NF-κB 活性化の評価を Dual-Luciferase assay を用いて行った。測定結果を Figure 4-18 に示す。横軸は SPG および合成βグルカンオリゴ糖鎖の濃度であり、縦軸は NF-κB にアシストされるホタルルシフェラーゼとチミジンキナーゼ（TK）プロモーターにアシストされるウミシイタケルシフェラーゼ（バックグラウンド）の比である。内部コントロールの活性で標準化することにより、外的影響が低減され、実験データ解釈の信頼性を高めることができる。測定結果より、結合作用が見られた１６糖 4-1、１７糖 4-4 には、デクチン１を介した免疫活化作用を有することを見出した[11]。しかしながら、その活性強度は、結合作用より予想されるものよりも小さい。本結果より、免疫作用の活性化には、糖鎖の結合だけでなく、標的タンパク質同士の集合化などの工程が必要であることを示していると考えている。また、１３糖以下（4-2、4-3、4-5、4-6）では活性化が行われなかった。今回の Figure には載せていないが、３章において合成したメチルグリコシド体１６糖、１２糖、８糖の免疫活性化作用についても検証を行ったところ、いずれも活性化作用を示さなかった。デクチン１の免疫活性化作用発現と結合には密接な関係があることがわかった。

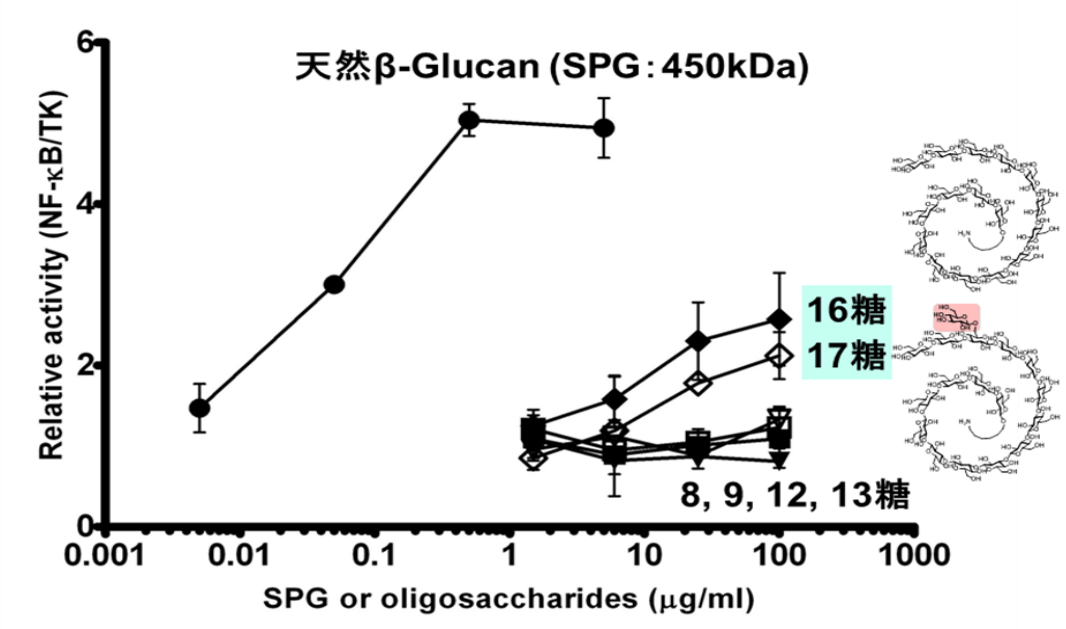


Figure 4-18

続いて、デクチン１と同様に自然免疫活性化に関係している受容体タンパク質 TLR4 を用いて直

鎖８糖、１２糖、１６糖（**4-1～4-3**）の免疫活性化試験を行った。TLR4 は LPS（リポ多糖）の受容体として知られている。合成したオリゴ糖と LPS(0.5 μg/ml)を作用させ、LPS による NF-κB 活性化の増強および、抑性について評価を行った。測定結果を Figure 4-19 に示す（８糖（G8-NH2)、１２糖（G12-NH2)、１６糖（G16-NH2))。その結果、TLR4 遺伝子導入 293T 細胞における、LPS による NF-κB 活性化においては、どの糖鎖においても、増強も抑制も示さなかった。この結果から、１６糖 **4-1** はデクチン１に特異的に活性を誘導する可能性を示した。

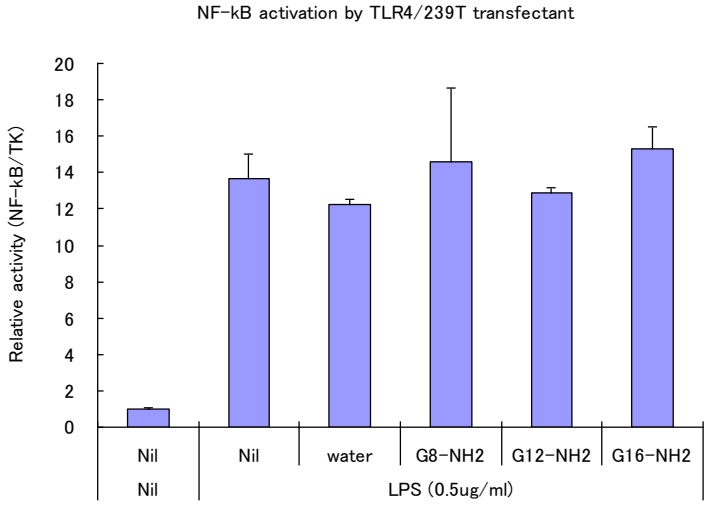


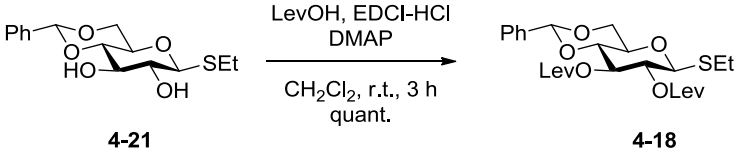
Figure 4-19

４－６　まとめ

デクチン１を介した免疫調整機能分子の合成を目指し、βグルカン糖鎖を微粒子上に束ねた糖鎖微粒子の開発を行うこととした。本章では、微粒子への固定化を見据えたオリゴ糖鎖の設計とその類縁体合成法の開発を行い、その生物評価を行った。この際、直鎖糖および分岐鎖を有する糖鎖の、糖鎖長に関わる効率的な類縁体合成法の開発を行った。４糖チオ糖および５糖チオ糖を合成し、この二つの組み合わせによって様々な糖鎖を合成可能であると考えた。この際、３章において開発した２，３ジオール糖受容体の設計と、イミデート糖とチオ糖の化学選択的グリコシル化反応を用いて効率的かつ収率良く、直鎖の８糖、１２糖、１６糖、および、分岐の９糖、１３糖、１７糖を合成することに成功した。免疫調整機能分子の合成研究や機能評価研究を見据えて、本合成手法を用いて１６糖保護体を約１ｇ供給し、大量合成にも適応可能であることを示した。続いて、合成βグルカンオリゴ糖の、SPG とデクチン１との結合に対する競合阻害試験を行った。その結果、直鎖１６糖および分岐１７糖に強い阻害作用を見出した。デクチン１のリガンドを開発することができたので、アミノアルキル基を有する直鎖１６糖とデクチン１との結合様式を STD-NMR を用いて解析した。その結果、糖鎖部位でデクチン１と結合していることが分かり、特に３位のプロトンと強く相互作用していることが明らかとなった。このことから、天然の β グルカンの結合様式を解明する上でも非常に有用なプローブとなることが明らかになった。さらに、免疫活性化試験を行ったところ、結合作用を示した直鎖１６糖と分岐１７糖が、デクチン１を介して免疫活性化することを示した。さらに直鎖１６糖は他の受容体タンパク質 TLR4 を介する免疫活性化に影響を与えなかった。以上から、直鎖１６糖はデクチン１特異的に活性を誘導する可能性を示し、デクチン１を介した生物プロセスの過程を解析するための有用なケミカルプローブになると期待できる。

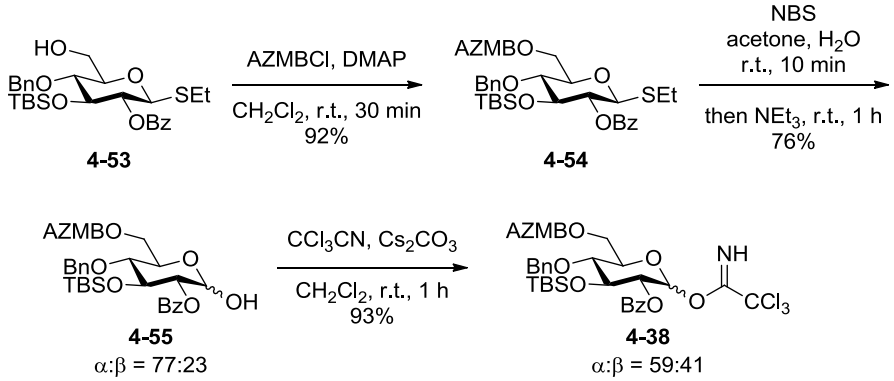
４－７　基質の合成

単糖供与体 **4-18** の合成について述べる(Scheme 4-21)。２、３位に遊離水酸基を有する **4-21** に対し、ジクロロメタン溶媒中、レブリン酸(2.2 当量)と縮合剤 EDCI(2.2 当量)、触媒量の DMAP を加えて、２，３位に Lev 基の導入を行い、定量的に Lev 体 **4-18** を得た。



Scheme 4-21

単糖供与体 **4-38** の合成について述べる(Scheme 4-22)。６位に遊離水酸基を有する **4-53** [12]に対しジクロロメタン溶媒中 AZMBCl(3.32 当量)と触媒量の DMAP を加えて、６位に AZMB 基の導入を行い、収率 92%で AZMB 体 **4-54** を得た。続いて、得られた **4-54** に対しアセトン、水混合溶媒中、NBS(1.2 当量)を加えることで、収率 76%でラクトール **4-55** を得た。最後に、ラクトール **4-55** に対しジクロロメタン溶媒中、トリクロロアセトニトリル(5.0 当量)と炭酸セシウム(0.1 当量) を加えることで、収率 93%で単糖供与体 **4-38** を得た。



Scheme 4-22

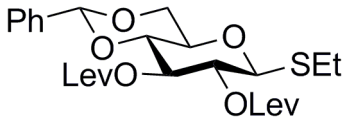
References

1) Adams, E. L.; Rice, P. J.; Graves, B.; Ensley, H. E.; Yu, H.; Brown, G. D.; Gordon, S.; Monteiro, M. A.; Papp-Szabo, E.; Lowman, D. W.; Power, T. D.; Wempe, M. F.; Williams, D. L. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, *325*, 115-123.
2) Mukaiyama, T.; Murai, Y.; Shoda, S. *Chem. Lett.* **1981**, 431-432.
3) a) Suzuki, K.; Maeta, H.; Matsumoto, T.; Tsuchihashi, G. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 3571-3574.
b) Suzuki, K.; Maeta, H.; Matsumoto, T. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 4853-4856.
4) Crich, D.; Smith, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, ***123***, 9015-9020.
5) Wang, C.; Wang, H.; Huang, X.; Zhang, L.H.; Ye, X.S. *Synlett* **2006**, 2846-2850.
6) Ennis, S. C.; Gridley, J. J.; Osborn, H. M. I.; Spackman, D. G. *Synlett* **2000**, 1593-1596.
7) Premathilake, H. D.; Mydock, L. K.; Demchenko, A. V. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1095-1100.
8) Wada, T.; Ohkubo, A.; Mochizuki, A.; Sekine, M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1069-1072.
9) Okada, Y.; Nagata, O.; Taira, M.; Yamada, H. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2755-2758.
10) Mayer, M.; Meyer, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6108-6117.
11) Tanaka, H.; Kawai, T.; Adachi, Y.; Ohno, N.; Takahashi, T. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 8249-8251.
12) Takahashi, T.; Okano, A.; Amaya, T.; Tanaka, H.; Doi, T. *Synlett* **2002**, 911-914.

Ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranoside (4-18)

To a stirred solution of ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-21**) (9.50 g, 30.4 mmol, 1.00 eq.) in CH_2Cl_2 (60.8 mL) was added EDCI-HCl (12.8 g, 66.9 mmol, 2.20 eq.), levulinic acid (6.85 mL, 66.9 mmol, 2.20 eq.) and a catalytic amount of DMAP (371 mg, 3.04 mmol, 0.100 eq.) at 0 ˚C. After being stirred at room temperature for 3 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 80:20 toluene:ethyl acetate to give ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D- glucopyranoside (**4-18**) (15.4 g, 30.3 mmol, quant.).

$[\alpha]_D^{24}$ = -74.7 (c = 1.20, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.42-7.45 (m, 2H, aromatic), 7.33-7.36 (m, 3H, aromatic), 5.50 (s, 1H, benzylidene), 5.36 (dd, 1H, H-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 5.06 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.56 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.36 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.77 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.68 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.55 (ddd, 1H, H-5, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz), 2.52-2.87 (m, 10H, Lev, SCH_2CH_3), 2.17 (s, 3H, Lev), 2.13 (s, 3H, Lev), 1.26 (t, 3H, SCH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.3, 206.2, 171.8, 171.5, 136.8, 129.0, 128.2, 126.2, 101.4, 84.2, 78.4, 72.6, 70.8, 70.5, 68.5, 37.8 x 2, 29.7 x 2, 27.9, 24.3, 23.5, 14.9; IR (solid): 2971, 2873, 1746, 1718, 1369, 1208, 1152, 1080, 1026, 918, 753, 701, 544 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{25}H_{36}NO_9S$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 526.2111, found: 526.2112.



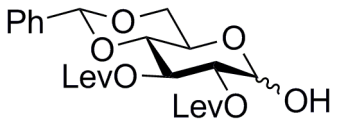
4,6-*O*-Benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-D-glucopyranose (4-19)

To a stirred solution of ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranoside (**4-18**) (102 mg, 0.201 mmol, 1.00 eq.) in CH_2Cl_2 (2.01 mL) was added benzenesulfinyl morpholine (46.7 mg, 0.221 mmol, 1.10 eq.) and Tf_2O (40.6 μl, 0.241 mmol, 1.20 eq.) at -40 ˚C. After being stirred at the same temperature for 5 min, the reaction mixture was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in CH_2Cl_2 (2.00 mL) was added triethylamine (0.500 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was

concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 40:60 hexane:ethyl acetate to give 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-D-glucopyranose (**4-19**) (89.9 mg, 0.194 mmol, 2 steps 96%, α:β = 61:39). The α:β ratio was determined by ^{1}H NMR analysis.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.34-7.46 (m, 10H, aromaticαβ), 5.63 (dd, 1H, H-3α, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 5.50 (s, 2H, benzylideneαβ), 5.40 (br-d, 1H, H-1α, $J_{1,2}$ = 2.4 Hz), 5.37 (dd, 1H, H-3β, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 4.89-4.93 (m, 2H, H-2α, H-2β), 4.82 (br-d, 1H, H-1β, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.37 (dd, 1H, H-6aβ, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.30 (dd, 1H, H-6aα, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.18 (ddd, 1H, H-5α, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz), 3.95 (br-s, 1H, OHβ), 3.52-3.83 (m, 6H, H-4α, H-4β, H-5β, H-6bα, H-6bβ, OHα), 2.50-2.84 (m, 16H, Levαβ), 2.14-2.19 (m, 12H, Levαβ); IR (solid): 3457, 2920, 2871, 1758, 1391, 974, 919, 769, 648, 509 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{23}H_{32}NO_{10}$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 482.2026, found: 482.2027.



***O*-(4,6-*O*-Benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (4-16)**

To a stirred solution of 4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-D-glucopyranose (**4-19**) (31.7 g, 68.3 mmol, 1.00 eq.) in CH_2Cl_2 (68.3 mL) was added trichloroacetonitrile (20.5 mL, 205 mmol, 3.00 eq.) and a catalytic amount of Cs_2CO_3 (222 mg, 0.683 mmol, 0.0100 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 60:40 hexane:ethyl acetate to give *O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (**4-16**) (39.7 g, 65.2 mmol, 96%, α:β = 50:50). The α:β ratio was determined by ^{1}H NMR analysis.

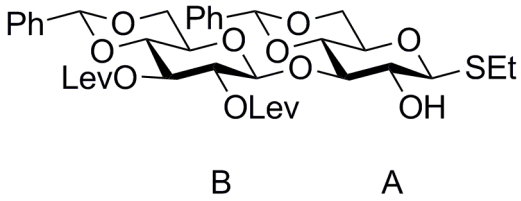
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.73 (s, 1H, NHβ), 8.67 (s, 1H, NHα), 7.35-7.47 (m, 10H, aromaticαβ), 6.50 (d, 1H, H-1α, $J_{1,2}$ = 3.9 Hz), 5.96 (d, 1H, H-1β, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 5.69 (dd, 1H, H-3α, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 5.54 (s, 1H, benzylideneα), 5.52 (s, 1H, benzylideneβ), 5.42 (dd, 1H, H-3β, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 5.32 (dd, 1H, H-2β, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 5.19 (dd, 1H, H-2α, $J_{1,2}$ = 3.9 Hz, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz), 4.43 (dd, 1H, H-6aβ, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-6aα, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.12 (ddd, 1H, H-5α, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz), 3.70-3.85 (m, 5H, H-4α, H-4β, H-5β, H-6bα, H-6bβ), 2.49-2.84 (m, 16H, Levαβ), 2.14-2.16 (m, 12H, Levαβ); IR (solid): 3316, 2920, 1751, 1718, 1677, 1364, 1146, 921, 797, 648 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{25}H_{32}N_2O_{10}$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 625.1123, found: 625.1124.

Ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-22)

A mixture of ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-21**) (6.99 g, 22.4 mmol, 1.10 eq.), *O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (**4-16**) (12.4 g, 20.4 mmol, 1.00 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (20.0 g) in dry CH_2Cl_2 (407 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -40 ˚C. A catalytic amount of trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate (0.369 mL, 2.04 mmol, 0.100 eq.) was added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 48:52 hexane:ethyl acetate to give ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-22**) (10.6 g, 14.0 mmol, 69%) and ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-2-*O* -(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-24**) (0.994 g, 1.31 mmol, 6%).

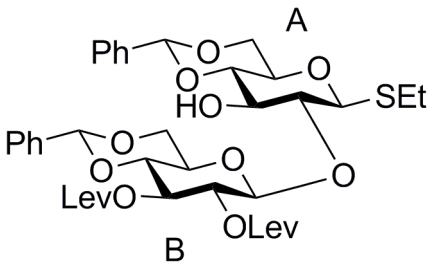
β(1,3) isomer (4-22)

$[\alpha]_D^{24}$ = -54.0 (c = 1.03, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.31-7.51 (m, 10H, aromatic), 5.55 (s, 1H, benzylidene), 5.44 (s, 1H, benzylidene), 5.33 (dd, 1H, B-3, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 5.10 (dd, 1H, B-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz), 4.85 (d, 1H, B-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.47 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.36 (dd, 1H, A-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.28 (d, 1H, OH, $J_{A\text{-}2,OH}$ = 4.8 Hz), 4.20 (dd, 1H, B-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.73-3.79 (m, 3H, A-3, A-6b, B-6b), 3.68 (dd, 1H, B-4, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz), 3.59-3.64 (m, 2H, A-2, A-4), 3.41-3.49 (m, 2H, A-5, B-5), 2.44-3.01 (m, 10H, Lev, SCH_2CH_3), 2.22 (s, 3H, Lev), 2.13 (s, 3H, Lev), 1.32 (t, 3H, SCH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 208.9, 206.3, 171.7 x 2, 137.4, 136.9, 129.1 x 2, 128.3, 128.2, 126.3, 126.1, 103.1, 101.5, 101.0, 87.0, 84.7, 79.2, 78.3, 72.8, 72.4, 71.9, 70.9, 68.7, 66.3, 37.8, 30.1, 29.8, 27.9, 27.7, 24.3, 15.1; IR (solid): 3488, 2868, 2457, 2272, 1719, 1387, 1147, 1106, 917, 693, 524 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{38}H_{50}NO_{14}S$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 776.2952, found: 776.2944.



β(1,2) isomer (4-24)

$[\alpha]_D^{26}$ = -65.8 (c = 1.14, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.34-7.52 (m, 10H, aromatic), 5.53 (s, 1H, benzylidene), 5.49 (s, 1H, benzylidene), 5.35 (dd, 1H, B-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 5.04-5.11 (m, 2H, B-1, B-2), 4.52 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.31-4.38 (m, 2H, A-6a, B-6a), 3.93 (ddd, 1H, A-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz, $J_{3,OH}$ = 3.9 Hz), 3.81-3.87 (m, 2H, B-6b, OH), 3.71-3.76 (m, 2H, B-4, A-6b), 3.65 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 3.48-3.54 (m, 2H, A-4, B-5), 3.44 (ddd, 1H, A-5, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz), 2.46-2.84 (m, 10H, Lev, SCH_2CH_3), 2.19 (s, 3H, Lev), 2.13 (s, 3H, Lev), 1.28 (t, 3H, SCH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 208.0, 206.3, 171.8, 171.5, 137.2, 136.9, 129.2, 129.1, 128.3, 128.2, 126.4, 126.2, 101.8, 101.7, 101.5, 84.1, 80.4, 80.3, 78.2, 75.2, 72.7, 71.9, 70.3, 68.7, 68.5, 66.3, 37.8 x 2, 29.9, 29.8, 27.9, 24.4, 14.7; IR (solid): 3425, 2856, 2351, 1742, 1706, 1368, 1307, 1154, 1097, 971, 749, 698, 547 cm^{-1}.



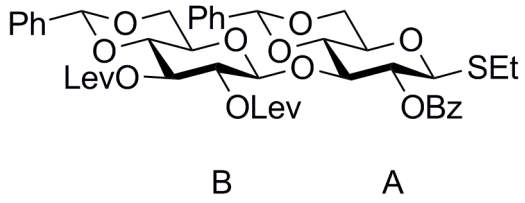
Ethylthio

2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-23)

To a stirred solution of ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-22**) (1.02 g, 1.34 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (6.70 mL) was added benzoyl chloride (0.471 mL, 4.02 mmol, 3.00 eq.) and a catalytic amount of DMAP (16.4 mg, 0.134 mmol, 0.100 eq.) at room temperature. After being stirred at 120 ˚C for 4 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 97:3 toluene:acetone to give

ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl) -β-D-glucopyranoside (**4-23**) (1.11 g, 1.28 mmol, 96%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -42.7 (c = 1.05, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.04 (d, 2H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.32-7.65 (m, 13H, aromatic), 5.57 (s, 1H, benzylidene), 5.38 (s, 1H, benzylidene), 5.31 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 5.08 (dd, 1H, B-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 5.01 (dd, 1H, B-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 4.70 (d, 1H, B-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.60 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.38 (dd, 1H, A-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.24 (dd, 1H, B-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.18 (dd, 1H, A-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 3.81 (dd, 1H, A-6b, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 3.75 (dd, 1H, A-4, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz), 3.68 (dd, 1H, B-6b, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.63 (dd, 1H, B-4, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz), 3.56 (ddd, 1H, A-5, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz), 3.37 (ddd, 1H, B-5, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz), 2.33-2.76 (m, 10H, Lev, S$CH_2$$CH_3$), 2.08 (s, 6H, Lev), 1.20 (t, 3H, SCH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.4 x 2, 171.8, 171.5, 165.1, 137.3, 136.9, 133.6, 129.9, 129.6, 129.2, 129.1, 128.8, 128.3, 128.2, 126.2, 126.1, 101.4, 101.2, 101.1, 84.4, 79.6, 78.9, 78.4, 72.2, 71.9, 71.8, 71.2, 68.6, 66.3, 37.9, 37.8, 29.7 x 2, 28.0, 27.5, 24.1, 14.8; IR (solid): 2972, 1753, 1717, 1401, 1364, 1149, 1095, 1015, 917, 751, 698, 540 cm^{-1}.



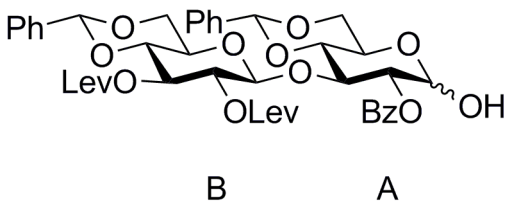
2-*O*-Benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-D-glucopyranose (4-52)

To a stirred solution of ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O* -levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-23**) (103 mg, 0.119 mmol, 1.00 eq.) in CH_2Cl_2 (1.19 mL) was added benzenesulfinyl morpholine (27.8 mg, 0.131 mmol, 1.10 eq.) and Tf_2O (24.0 μl, 0.143 mmol, 1.20 eq.) at -50 ˚C. After being stirred at the same temperature for 5 min, the reaction mixture was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in CH_2Cl_2 (2.00 mL) was added triethylamine (0.500 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was

concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone to give 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-D-glucopyranose (**4-52**) (84.2 mg, 0.103 mmol, 2 steps 86%, α:β = 66:34). The α:β ratio was determined by ^{1}H NMR analysis.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.04-8.07 (m, 4H, aromaticαβ), 7.31-7.64 (m, 26H, aromaticαβ), 5.55 (s, 1H, benzylideneα), 5.53 (s, 1H, benzylideneβ), 5.46 (br-s, 1H, A-1α), 5.37 (s, 1H, benzylideneα), 5.35 (s, 1H, benzylideneβ), 5.06-5.17 (m, 4H, A-2α, A-2β, B-3α, B-3β), 4.98-5.03 (m, 2H, B-2α, B-2β), 4.85 (d, 1H, B-1α, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.78 (dd, 1H, A-1β, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz, $J_{1,OH}$ = 8.7 Hz), 4.75 (d, 1H, B-1β, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.44 (dd, 1H, A-3α, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 4.34 (dd, 1H, A-6aβ, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.11-4.30 (m, 6H, A-3β, A-5α, A-6aα, B-6aα, B-6aβ, OHβ), 3.89 (d, 1H, OHα, $J_{1,OH}$ = 2.4 Hz), 3.59-3.81 (m, 8H, A-4α, A-4β, B-4α, B-4β, A-6bα, A-6bβ, B-6bα, B-6bβ), 3.38-3.54 (m, 3H, A-5β, B-5α, B-5β), 2.01-2.71 (m, 28H, Levαβ); IR (solid): 3493, 2921, 2862, 2056, 1895, 1709, 1601, 1413, 1265, 975, 772, 672, 534 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{43}H_{50}NO_{16}$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 836.3130, found: 836.3127.

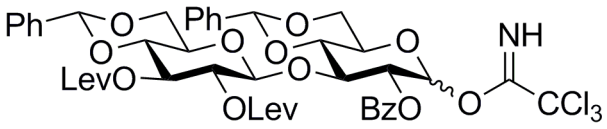


_O_-(2-_O_-Benzoyl-4,6-_O_-benzylidene-3-_O_-(4,6-_O_-benzylidene-2,3-di-_O_-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (4-25)

To a stirred solution of 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-D-glucopyranose (**4-52**) (4.34 mg, 5.30 mmol, 1.00 eq.) in CH_2Cl_2 (26.5 mL) was added trichloroacetonitrile (2.66 mL, 26.5 mmol, 5.00 eq.) and a catalytic amount of Cs_2CO_3 (173 mg, 0.530 mmol, 0.100 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 94:6 toluene:acetone to give *O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (**4-25**) (4.86 g, 5.06 mmol, 96%, α:β = 84:16). The α:β ratio was determined by ^{1}H NMR analysis.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.65 (s, 1H, NHβ), 8.57 (s, 1H, NHα), 7.99-8.03 (m, 4H, aromaticαβ), 7.33-7.64 (m, 26H, aromaticαβ), 6.61 (d, 1H, A-1α, $J_{1,2}$ = 4.3 Hz), 6.05 (d, 1H, A-1β, $J_{1,2}$ = 7.2 Hz), 5.62 (s, 1H, benzylideneα), 5.60 (s, 1H, benzylideneβ), 5.56 (dd, 1H, A-2β, $J_{1,2}$ = 7.2 Hz, $J_{2,3}$ = 7.7 Hz), 5.37-5.40 (m,

3H, A-2α, benzylideneαβ), 5.13-5.18 (m, 2H, B-3α, B-3β), 5.02-5.08 (m, 2H, B-2α, B-2β), 4.84 (d, 1H, B-1α, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.77 (d, 1H, B-1β, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.44-4.48 (m, 2H, A-3α, A-6aβ), 4.37 (dd, 1H, A-6aα, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.33 (dd, 1H, B-6aα, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.22-4.26 (m, 2H, A-3β, B-6aβ), 4.11 (ddd, 1H, A-5α, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz), 3.96 (dd, 1H, A-4β, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.63-3.88 (m, 8H, A-4α, B-4α, B-4β, A-5β, A-6bα, A-6bβ, B-6bα, B-6bβ), 3.51 (ddd, 1H, B-5α, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz), 3.42 (ddd, 1H, B-5β, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 10.6 Hz), 2.06-2.75 (m, 28H, Levαβ); IR (solid): 2886, 1720, 1368, 1142, 959, 793, 664, 530 cm^{-1}.



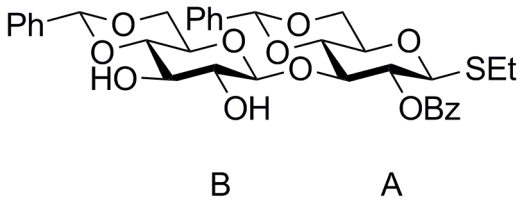
B A

Ethylthio
2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-26)

To a stirred solution of ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-23**) (4.03 g, 4.67 mmol, 1.00 eq.) in THF (50.0 mL) was added acetic acid (5.00 mL) and hydrazine monohydrate (2.00 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 89:11 toluene:acetone to give ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-26**) (3.09 g, 4.63 mmol, 99%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -49.6 (c = 1.05, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.05 (d, 2H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.31-7.61 (m, 13H, aromatic), 5.61 (s, 1H, benzylidene), 5.41 (s, 1H, benzylidene), 5.35 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.72 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.46 (d, 1H, B-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.42 (dd, 1H, A-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.20 (dd, 1H, A-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 3.77-3.86 (m, 3H, A-4, B-6a, A-6b), 3.57-3.63 (m, 2H, B-3, A-5), 3.42-3.47 (m, 3H, B-2, B-4, B-6b), 3.28 (ddd, 1H, B-5, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz), 2.92 (d, 1H, OH, $J_{B\text{-}2,OH}$ = 2.4 Hz), 2.66-2.80 (m, 2H, SCH_2CH_3), 2.54 (d, 1H, OH, $J_{B\text{-}3,OH}$ = 1.0 Hz), 1.25 (t, 3H, SCH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 165.9, 137.0, 136.7, 133.6, 130.0, 129.7, 129.5, 129.3, 128.6, 128.4, 128.3, 126.4, 126.2, 103.1, 101.9, 101.7, 84.4, 80.3, 79.4, 79.1, 73.5, 72.8, 72.0, 71.0, 68.6, 68.4, 66.7, 24.2, 14.9; IR (solid): 3488, 2980, 2868, 1721, 1452, 1388, 1287, 1183,

1071, 971, 922, 751, 710, 572 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{35}H_{42}NO_{11}S$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 684.2479, found: 684.2487.

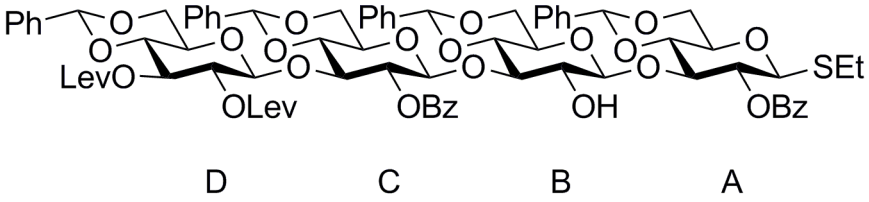


Ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-27)

A mixture of ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-26**) (46.8 mg, 0.0702 mmol, 1.17 eq.), *O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (**4-25**) (56.1 mg, 0.0600 mmol, 1.00 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (120 mg) in dry CH_2Cl_2 (2.40 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -50 ˚C. A catalytic amount of trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate (1.09 μL, 6.00 μmol, 0.100 eq.) was added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 94:6 toluene:acetone to give ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-27**) (79.2 mg, 0.0540 mmol, 90%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -32.8 (c = 1.11, $CHCl_3$); ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.00-8.02 (m, 4H, aromatic), 7.20-7.64 (m, 26H, aromatic), 5.56 (s, 1H, benzylidene), 5.44 (s, 1H, benzylidene), 5.42 (s, 1H, benzylidene), 5.23-5.29 (m, 2H, A-2, D-3), 5.11 (dd, 1H, C-2, $J_{1,2}$ = 4.8 Hz, $J_{2,3}$ = 4.3 Hz), 5.06 (dd, 1H, D-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 5.01 (d, 1H, C-1, $J_{1,2}$ = 4.8 Hz), 4.88 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.85 (s, 1H, benzylidene), 4.66 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.39-4.41 (m, 2H, B-1, A-6a), 4.23 (dd, 1H, D-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 4.18 (dd, 1H, A-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 4.03-4.08 (m, 2H, C-4, C-6a), 3.93 (dd, 1H, C-3, $J_{2,3}$ = 4.3 Hz, $J_{3,4}$ = 8.2 Hz), 3.39-3.86 (m, 13H, B-2, B-3, A-4, B-4, D-4, A-5, C-5, D-5, A-6b, B-6a, B-6b, C-6b, D-6b), 3.25 (ddd, 1H, B-5, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 10.1 Hz), 3.07 (d, 1H, OH, $J_{B\text{-}2,OH}$ = 3.4 Hz), 2.49-2.80 (m, 10H,

Lev, SCH_2CH_3), 2.14 (s, 3H, Lev), 2.12 (s, 3H, Lev), 1.23 (t, 3H, SCH_2CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 207.0, 206.4, 171.9, 171.3, 165.7, 165.2, 137.5, 137.3, 137.0, 136.7, 133.6, 133.4, 129.9, 129.8, 129.6, 129.4, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.3 x 3, 128.0, 126.4, 126.2, 126.1, 126.0, 103.1, 101.9, 101.6, 101.5, 100.5 x 2, 99.2, 84.4, 79.1, 78.9, 78.4, 77.7, 77.2, 74.2, 73.9, 72.0, 70.8, 68.8, 68.6 x 2, 68.5, 66.9, 66.3, 65.5, 37.9 x 2, 29.8 x 3, 29.7, 28.1, 27.8, 24.3, 14.9; IR (solid): 3523, 2923, 2853, 2362, 1720, 1380, 1069, 917, 734, 672, 507 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{78}H_{86}NO_{26}S$ $[M+NH_4]^+$ m/z = 1484.5159, found: 1484.5149.

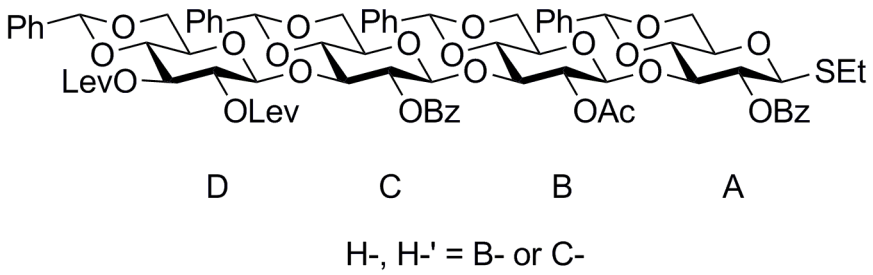


Ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-28)

To a stirred solution of ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-27**) (3.53 g, 2.40 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (12.0 mL) was added acetic anhydride (2.25 mL, 24.0 mmol, 10.0 eq.) and a catalytic amount of DMAP (29.3 mg, 0.240 mmol, 0.100 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 95:5 toluene:acetone to give ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-28**) (3.48 g, 2.30 mmol, 96%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -33.5 (c = 1.13, $CHCl_3$); ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.04 (d, 2H, aromatic, J = 7.2 Hz), 7.98 (d, 2H, aromatic, J = 7.2 Hz), 7.29-7.68 (m, 25H, aromatic), 7.21 (t, 1H, aromatic, J = 7.2 Hz), 5.53 (s, 1H, benzylidene), 5.38 (s, 1H, benzylidene), 5.17-5.21 (m, 2H, H-2', benzylidene), 5.11 (dd, 1H, D-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 4.99 (dd, 1H, D-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 4.93 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.90 (s, 1H, benzylidene), 4.88 (d, 1H, H-1', $J_{1,2}$ = 6.8 Hz), 4.83 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 5.3 Hz, $J_{2,3}$ = 5.8

Hz), 4.70 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.64 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 5.3 Hz), 4.50 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.34 (dd, 1H, A-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.22 (dd, 1H, D-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.09-4.18 (m, 3H, A-3, H-6a, H-6a'), 4.05 (dd, 1H, H-3', $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 3.90 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.84 (dd, 1H, H-4', $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.54-3.77 (m, 6H, H-3, D-4, A-6b, D-6b, H-6b, H-6b'), 3.32-3.50 (m, 5H, A-4, A-5, D-5, H-5, H-5'), 2.34-2.72 (m, 10H, Lev, SCH_2CH$_3$), 2.09 (s, 3H, Lev), 2.05 (s, 3H, Lev), 1.73 (s, 3H, Ac), 1.20 (t, 3H, SCH$_2$CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5, 206.4, 171.8, 171.4, 169.2, 164.9, 164.8, 137.4, 137.3, 137.2, 136.9, 133.8, 133.4, 129.9, 129.8, 129.7, 129.3, 129.1, 129.0, 128.9, 128.6, 128.3, 128.2 x 2, 126.3 x 2, 126.2, 126.1, 101.6, 101.4, 101.1, 100.9, 100.7, 99.0, 98.4, 84.4, 78.6, 78.4 x 2, 78.1, 76.7, 76.2, 73.9, 72.8, 72.5, 71.8 x 2, 71.2, 68.8, 68.6 x 2, 66.2, 66.1, 65.7, 37.9, 37.8, 29.7 x 2, 28.0, 27.6, 24.3, 20.5, 14.8; IR (solid): 2983, 2884, 1753 1719, 1374, 1267, 1095, 1006, 746, 696, 515 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{80}H_{88}NO_{27}S$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 1526.5264, found: 1526.5272.

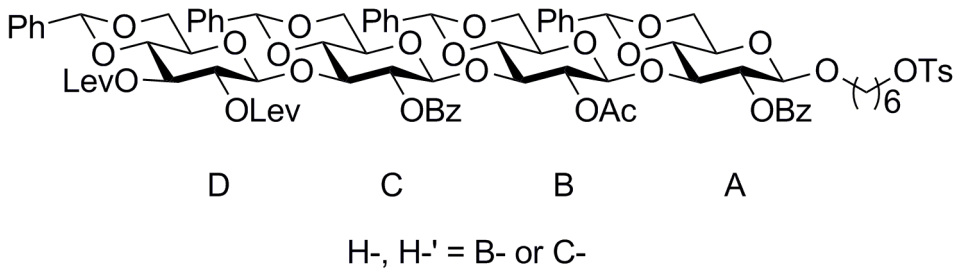


6-(((4-Methylphenyl)sulfonyl)oxy)hexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-43)

A mixture of 1,6-hexanediol mono-*p*-toluenesulfonate (21.7 mg, 79.5 μmol, 1.20 eq.), ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-28**) (100 mg, 66.2 μmol, 1.00 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (265 mg) in dry CH_2Cl_2 (2.65 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -35 ˚C. *N*-iodosuccinimide (17.9 mg, 79.5 μmol, 1.20 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (2.93 μL, 33.1 μmol, 0.500 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with

a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 92:8 toluene:acetone to give 6-(((4-methylphenyl)sulfonyl)oxy)hexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-43**) (35.2 mg, 20.5 μmol, 31%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -31.9 (c = 0.290, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.01 (d, 2H, aromatic, J = 8.2 Hz), 7.97 (d, 2H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.76 (d, 2H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.24-7.64 (m, 28H, aromatic), 5.51 (s, 1H, benzylidene), 5.38 (s, 1H, benzylidene), 5.09-5.18 (m, 3H, H-2', D-3, benzylidene), 4.94-5.01 (m, 3H, A-2, D-2, benzylidene), 4.87 (d, 1H, H-1', $J_{1,2}$ = 6.3 Hz), 4.84 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 6.3 Hz, $J_{2,3}$ = 6.3 Hz), 4.70 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.62 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 6.3 Hz), 4.47 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.32 (dd, 1H, A-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.22 (dd, 1H, D-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.17 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.01-4.14 (m, 3H, A-3, H-3', H-6a'), 3.57-3.87 (m, 11H, H-3, D-4, H-4, H-4', A-6b, D-6b, H-6b, H-6b', CH_2OTs, OC*Ha*HbCH$_2$), 3.32-3.47 (m, 6H, A-4, A-5, D-5, H-5, H-5', OCHa*Hb*CH$_2$), 2.38-2.76 (m, 11H, Lev, SO_2PhCH_3), 2.09 (s, 3H, Lev), 2.05 (s, 3H, Lev), 1.70 (s, 3H, Ac), 1.07-1.56 (m, 8H, aliphatic); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5, 206.4, 171.9, 171.5, 169.1, 164.8, 144.7, 137.4, 137.3, 133.7, 133.5, 133.4, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.3, 129.2, 129.1, 128.9, 128.7, 128.3, 128.2 x 2, 127.9, 126.3, 126.2, 126.1, 101.7, 101.5, 101.4, 101.3, 100.8, 100.7, 99.4, 98.6, 78.7 x 2, 78.4 x 2, 77.7, 76.3, 76.1, 74.3, 73.9, 72.6, 71.8 x 2, 70.5, 69.8, 68.8, 68.7 x 2, 68.6, 66.7, 66.3, 66.1, 65.9, 38.0, 37.8, 29.8, 29.7, 29.2, 28.7, 28.0, 27.6, 25.3, 25.0, 21.7, 20.5; IR (solid): 2873, 2350, 2111, 1720, 1450, 1366, 1266, 1084, 916, 752, 634, 494 cm^{-1}.



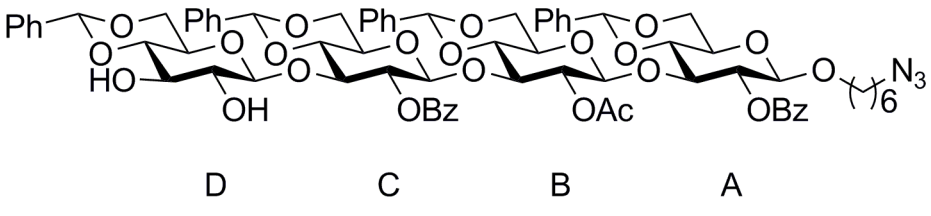
6-Azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-7)

To a stirred solution of 6-(((4-methylphenyl)sulfonyl)oxy)hexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-

O-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-43**) (52.2 mg, 30.4 μmol, 1.00 eq.) in DMF (1.52 mL) was added sodium azido (3.95 mg, 60.7 μmol, 2.00 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into water. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with water and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in THF (1.00 mL) was added acetic acid (0.300 mL) and hydrazine monohydrate (0.100 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 88:12 toluene:acetone to give 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-7**) (31.0 mg, 22.2 μmol, 2 steps 73%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -34.6 (c = 1.10, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.03 (d, 2H, aromatic, J = 8.2 Hz), 8.00 (d, 2H, aromatic, J = 8.2 Hz), 7.25-7.62 (m, 26H, aromatic), 5.51 (s, 1H, benzylidene), 5.42 (s, 1H, benzylidene), 5.27 (s, 1H, benzylidene), 5.23 (dd, 1H, H-2', $J_{1,2}$ = 6.3 Hz, $J_{2,3}$ = 6.3 Hz), 5.06 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 5.02 (d, 1H, H-1', $J_{1,2}$ = 6.3 Hz), 4.96 (s, 1H, benzylidene), 4.90 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 5.3 Hz, $J_{2,3}$ = 5.8 Hz), 4.69 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 5.3 Hz), 4.53 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.50 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz), 4.32 (dd, 1H, A-6a, $J_{5,6a}$ = 3.4 Hz, J_{gem} = 9.7 Hz), 4.05-4.17 (m, 4H, A-3, H-3', H-6a, H-6a'), 3.35-3.92 (m, 17H, D-2, D-3, H-3, A-4, D-4, H-4, H-4', A-5, H-5, H-5', D-6a, A-6b, D-6b, H-6b, H-6b', O$CH_2$$CH_2$), 3.31 (ddd, 1H, D-5, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz), 3.03-3.06 (m, 3H, OH, CH_2N_3), 2.60 (br-s, 1H, OH), 1.74 (s, 3H, Ac), 1.14-1.50 (m, 8H, aliphatic); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 208.3, 169.5, 165.5, 164.8, 137.3, 137.2, 137.1, 136.9, 133.7, 133.4, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 129.3 x 2, 128.8, 128.7, 128.3 x 2, 126.4 x 2, 126.3, 126.1, 102.5, 101.9, 101.6, 101.4 x 2, 101.3, 99.1, 98.4, 80.3, 78.8, 78.7, 78.6, 78.5, 78.2, 76.1, 74.4, 73.7, 73.5, 72.9, 72.3, 69.9, 68.8, 68.7 x 2, 68.5, 66.7, 65.8, 65.6, 51.3, 29.3, 28.6, 26.3, 25.4, 20.5; IR (solid): 3625, 2974, 2884, 2831, 2089, 1760, 1719, 1380, 1275, 1220, 1095, 765, 697, 515 cm^{-1}.



H-, H-' = B- or C-

6-Azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-44)

A mixture of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-7**) (631 mg, 0.453 mmol, 1.00 eq.), ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-28**) (752 mg, 0.498 mmol, 1.10 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (906 mg) in dry CH_2Cl_2 (18.1 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -35 ˚C. *N*-iodosuccinimide (135 mg, 0.598 mmol, 1.32 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (20.0 μL, 0.227 mmol, 0.500 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 92:8 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-44**) (1.25 g, 0.441 mmol, 97%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -28.3 (c = 0.840, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98-8.03 (m, 8H), 7.18-7.63 (m, 52H), 5.50 (s, 1H), 5.47 (s, 1H), 5.39 (s, 1H), 4.85-5.21 (m, 16H), 4.71-4.74 (m, 2H), 4.67 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz), 4.52 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz), 4.32-4.37 (m, 2H), 3.22-4.24 (m, 41H), 3.05 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz), 2.35-2.74 (m, 9H, Lev, OH), 2.09 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.80 (s, 3H), 1.77 (s, 3H), 1.10-1.50 (m, 8H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5 x 2, 171.9, 171.4, 169.6, 169.0, 165.5, 165.2, 164.8 x 3, 137.4 x 3, 137.3 x 2, 137.1, 137.0, 136.9, 133.9, 133.8, 133.6, 133.5, 130.0, 129.9, 129.8 x 2, 129.7 x 2, 129.6, 129.5, 129.4, 129.3, 129.2 x 2, 129.1,

129.0, 128.9, 128.7 x 2, 128.3 x 2, 128.2 x 2, 126.4, 126.3 x 2, 126.2, 126.1, 126.0, 102.9, 101.7, 101.6 x 2, 101.5, 101.4, 101.3, 101.1, 101.0, 100.8, 100.6, 99.8, 99.6, 98.9, 98.7, 98.6, 78.8, 78.7, 78.6 x 2, 78.5, 78.4, 78.3, 78.0, 77.8, 77.7, 77.6, 76.6, 76.5, 76.4, 76.2, 74.5, 74.4, 74.3 x 2, 73.9, 73.8, 72.6, 72.4, 71.8 x 2, 69.9, 68.8 x 2, 68.7 x 2, 68.6 x 2, 68.5 x 2, 66.8, 66.7, 66.2, 66.1, 65.9 x 2, 65.8, 65.7 x 2, 51.3, 38.0, 37.8, 29.8, 29.7, 29.3, 28.6, 28.0, 27.6, 26.3, 25.4, 20.8, 20.5; IR (solid): 2989, 2883, 2822, 2267, 1725, 1386, 1262, 1091, 675, 517 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{152}H_{161}N_4O_{51}$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 2858.0128, found: 2858.0181.

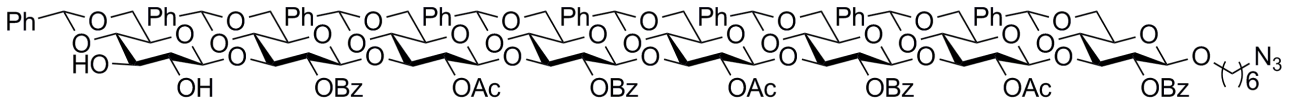
6-Azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-45)

To a stirred solution of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-44**) (57.9 mg, 20.4 μmol, 1.00 eq.) in pyridine (0.408 mL) was added acetic anhydride (19.1 μL, 0.204 mmol, 10.0 eq.) and a catalytic amount of DMAP (1.25 mg, 10.2 μmol, 0.500 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in THF (1.00 mL) was added acetic acid (0.300 mL) and hydrazine monohydrate (0.100 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 88:12 toluene:acetone to give 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-

O-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-45**) (50.8 mg, 18.9 μmol, 2 steps 93%).

$[\alpha]_D^{23}$ = -23.8 (c = 1.04, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.96-8.06 (m, 8H), 7.17-7.63 (m, 52H), 5.52 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.32 (s, 1H), 5.26 (dd, 1H, *J* = 6.8 Hz, 6.8 Hz), 5.12 (s, 2H), 5.06 (d, 1H, *J* = 6.8 Hz), 4.94-5.00 (m, 3H), 4.76-4.88 (m, 8H), 4.70 (d, 1H, *J* = 5.3 Hz), 4.63 (br-d, 2H, *J* = 5.3 Hz), 4.48-4.52 (m, 2H), 4.33 (dd, 1H, *J* = 4.3 Hz, 10.1 Hz), 3.25-4.19 (m, 42H), 3.06 (br-s, 1H), 3.05 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz), 2.71 (br-s, 1H), 1.79 (s, 3H), 1.77 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 1.14-1.48 (m, 8H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169.2, 169.0, 168.9, 165.5, 164.8, 164.6 x 2, 137.8, 137.2, 137.0, 136.8, 133.9, 133.8, 133.5, 133.3, 129.8, 129.7 x 2, 129.6, 129.5 x 2, 129.4, 129.3, 129.2 x 2, 129.1, 129.0, 128.9, 128.8, 128.7, 128.5, 128.4 x 2, 128.2 x 2, 128.1 x 2, 128.0 x 2, 127.8, 126.3, 126.2, 126.1, 126.0, 125.3, 102.5, 101.7, 101.6, 101.5, 101.4 x 2, 101.3 x 2, 101.0, 100.9, 100.8, 99.1, 98.2 x 2, 98.0, 97.8, 80.2, 78.7, 78.5, 78.2 x 2, 78.0, 77.9, 75.9, 75.7 x 2, 75.4, 75.2, 74.2, 74.1, 73.4, 73.3, 72.7, 72.2, 72.0 x 2, 71.9 x 2, 69.7, 68.6, 68.5, 68.4 x 2, 68.3, 66.5, 65.9, 65.7, 65.5, 65.3, 51.1, 29.1, 28.5, 26.1, 25.3, 21.4, 20.5 x 2, 20.3; IR (solid): 3046, 2883, 2320, 1732, 1373, 1266, 1097, 997, 700, 517 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{144}H_{151}N_4O_{48}$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 2703.9498, found: 2703.9475.



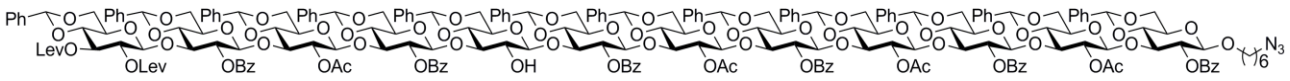
6-Azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-46)

A mixture of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-gl

ucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-45**) (125 mg, 46.6 μmol, 1.00 eq.), ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-28**) (84.3 mg, 55.9 μmol, 1.20 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (279 mg) in dry CH_2Cl_2 (2.79 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -35 ˚C. *N*-iodosuccinimide (15.1 mg, 67.0 μmol, 1.44 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (2.10 μL, 23.3 μmol, 0.500 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-46**) (170 mg, 41.1 μmol, 88%).

$[\alpha]_D^{16}$ = -24.6 (c = 0.950, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.97-8.03 (m, 12H), 7.16-7.62 (m, 78H), 5.51 (s, 1H), 5.47 (s, 1H), 5.38 (s, 1H), 5.10-5.21 (m, 6H), 4.91-5.04 (m, 11H), 4.78-4.88 (m, 9H), 4.68-4.72 (m, 3H), 4.63 (br-d, 2H, *J* = 6.3 Hz), 4.48 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz), 4.31-4.37 (m, 2H), 3.22-4.24 (m, 61H), 3.05 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz), 2.35-2.75 (m, 9H, Lev, OH), 2.09 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.85 (s, 3H), 1.78 (s, 3H), 1.76 (s, 3H), 1.72 (s, 3H), 1.10-1.43 (m, 8H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.5, 206.4, 171.8, 171.4, 169.6, 169.1, 169.0 x 2, 165.5, 165.1, 164.9, 164.8 x 2, 164.7, 137.4, 137.3, 137.2, 137.0, 136.9, 134.0, 133.9, 133.7, 133.6, 133.4, 129.9, 129.8 x 3, 129.7 x 2, 129.6, 129.5 x 2, 129.4, 129.3 x 2, 129.2 x 2, 129.1, 129.0, 128.9, 128.8 x 2, 128.7, 128.6, 128.3, 128.2 x 3, 128.1, 126.3 x 2, 126.2, 126.1, 126.0, 102.9, 101.7, 101.6, 101.5, 101.4 x 2, 101.3, 101.2, 101.1, 100.9, 100.8, 100.6, 99.9, 99.2, 98.8, 98.5, 98.4, 98.2, 97.9, 78.7, 78.6 x 2, 78.5, 78.4, 78.2, 78.1, 78.0, 76.3, 76.1, 75.9 x 2, 75.7, 75.5, 74.5, 74.4 x 2, 74.2, 74.1, 73.8 x 2, 72.5, 72.4, 72.2, 71.8, 71.7, 69.9, 68.8, 68.7, 68.6, 68.5, 66.8, 66.7, 66.2, 66.0 x 2, 65.8, 65.7, 51.2, 37.9, 37.7, 29.7 x 2, 29.3, 28.6, 28.0, 27.6, 26.3, 25.4, 20.7 x 3, 20.5; IR (solid): 3492, 2971, 2877, 2417, 2097, 1732, 1602, 1452, 1373, 1262, 1222, 1096, 996, 765, 697, 508 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{222}H_{229}N_4O_{75}$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* =

4150.4228, found: 4150.4053.



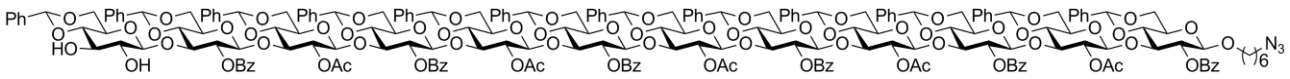
6-Azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-47)

To a stirred solution of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-46**) (72.6 mg, 17.6 μmol, 1.00 eq.) in pyridine (1.76 mL) was added acetic anhydride (16.4 μL, 0.176 mmol, 10.0 eq.) and a catalytic amount of DMAP (1.07 mg, 8.80 μmol, 0.500 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in THF (1.00 mL) was added acetic acid (0.300 mL) and hydrazine monohydrate (0.100 mL) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 20 min, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 88:12 toluene:acetone to give 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-b

enzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-gl ucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-gl ucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-47**) (65.2 mg, 16.4 μmol, 2 steps 93%).

$[\alpha]_D^{16}$ = -24.2 (c = 1.43, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.96-8.06 (m, 12H), 7.17-7.62 (m, 78H), 5.52 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 5.32 (s, 1H), 5.26 (dd, 1H, *J* = 6.8 Hz, 7.2 Hz), 5.16 (s, 2H), 5.13 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 5.06 (d, 1H, *J* = 6.3 Hz), 4.94-4.98 (m, 3H), 4.77-4.88 (m, 16H), 4.71 (d, 1H, *J* = 5.3 Hz), 4.63-4.64 (m, 4H), 4.47-4.52 (m, 2H), 4.33 (dd, 1H, *J* = 4.3 Hz, 10.1 Hz), 3.18-4.19 (m, 62H), 3.03-3.08 (m, 3H), 2.65 (br-s, 1H), 1.79 (s, 3H), 1.77 (s, 3H), 1.76 (br-s, 6H), 1.72 (s, 3H), 1.14-1.46 (m, 8H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 169.4, 169.1 x 3, 165.6, 164.9 x 2, 164.8 x 2, 137.4 x 3, 137.3 x 2, 137.1, 136.9, 134.0 x 2, 133.6, 129.9, 129.8 x 2, 129.7, 129.6, 129.5, 129.3 x 4, 129.2 x 2, 129.1 x 5, 129.0 x 3, 128.9, 128.8 x 2, 128.6 x 2, 128.4, 128.3 x 3, 128.2 x 4, 128.1 x 2, 126.4 x 2, 126.3, 126.2, 102.7, 101.9, 101.7, 101.6 x 3, 101.5, 101.4, 101.2, 101.1, 101.0 x 2, 98.5, 98.4, 98.3 x 3, 97.9, 78.9, 78.7, 78.4, 78.3 x 3, 78.2 x 3, 78.1, 76.6, 75.9, 75.8, 75.7, 74.4, 74.3 x 2, 74.2 x 3, 73.6, 72.8, 72.1 x 3, 69.9, 68.8, 68.7, 68.6 x 4, 68.4, 66.7, 66.1, 66.0 x 2, 65.8, 65.6, 51.3, 29.8, 29.3, 28.6, 26.3, 25.4, 20.7, 20.6 x 2, 20.5; IR (solid): 2971, 2877, 2825, 1733, 1374, 1262, 1222, 1091, 695, 505 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{214}H_{219}N_4O_{72}$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 3996.3598, found: 3996.3635.

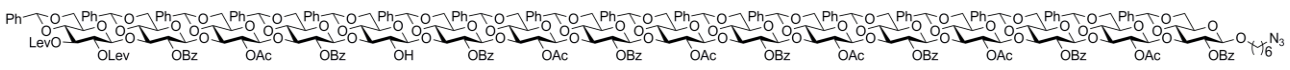


6-Azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-48)

A mixture of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzyli

dene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-47**) (20.4 mg, 5.12 μmol, 1.00 eq.), ethylthio 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-28**) (9.30 mg, 6.15 μmol, 1.20 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (51.2 mg) in dry CH_2Cl_2 (0.512 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -35 ˚C. *N*-iodosuccinimide (1.70 mg, 7.37 μmol, 1.44 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (0.317 μL, 3.58 μmol, 0.700 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(

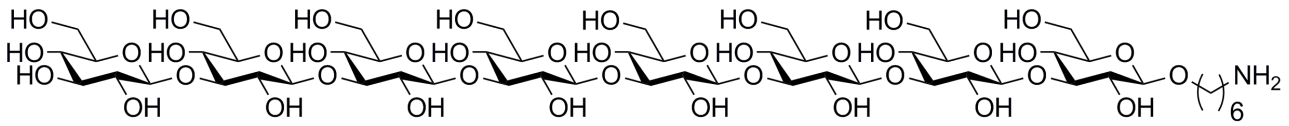
78.5 x 2, 78.4, 78.2 x 2, 78.1, 78.0 x 3, 77.9, 77.8, 77.7, 76.6 x 2, 76.4, 76.3 x 2, 76.0, 75.9, 75.8, 75.7 x 2, 75.6 x 3, 75.4, 75.3, 74.5 x 2, 74.4 x 2, 74.3 x 2, 74.2 x 2, 74.1, 73.9, 73.8, 72.5, 72.3, 72.2 x 2, 72.1 x 2, 71.8 x 2, 71.7, 69.9, 68.9 x 3, 68.8, 68.7, 68.6, 68.5, 68.4 x 2, 68.2, 66.8, 66.7, 66.2, 66.1, 66.0 x 2, 65.9, 65.8, 65.7, 65.6, 51.2, 38.8, 37.9, 37.7, 32.0, 29.8, 29.7, 29.6 x 3, 29.5 x 2, 29.4, 29.3, 29.0, 28.6, 28.0, 27.6, 26.3, 25.4, 23.0, 22.7, 21.5, 20.7 x 2, 20.6, 20.5; IR (solid): 3536, 2926, 2093, 1720, 1369, 1256, 1093, 909, 647, 496 cm^{-1}.



6-Aminohexyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-3)

To a stirred solution of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-44**) (28.5 mg, 10.6 μmol, 1.00 eq.) in NH_3/THF/EtOH (8.50 mL/1.00 mL/0.500 mL) was added a large amount of lithium (100 mg) at -78 ˚C. After being stirred under reflux for 1.5 h, the reaction mixture was added methanol (1.00 mL). After being stirred at room temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by size exclusion column chromatography on Sephadex LH-20 eluted with water and further purified by revese-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with 90:10 water:methanol to give 6-aminohexyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-3**) (7.00 mg, 4.58 μmol, 43%).

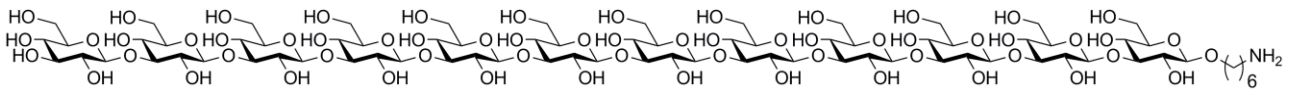
$[\alpha]_D^{24}$ = -33.7 (c = 0.255, H_2O); ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.70-4.76 (m, 7H, anomericH x 7), 4.44 (d, 1H, anomericH, *J* = 7.7 Hz), 3.88-3.91 (m, 9H), 3.70-3.85 (m, 16H), 3.33-3.56 (m, 27H), 2.99 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz), 1.59-1.68 (m, 4H), 1.37-1.40 (m, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 103.7, 103.6, 103.5, 103.4, 102.8, 85.5 x 2, 85.4, 85.3, 85.2 x 2, 85.0, 76.8, 76.6, 76.5, 76.4, 74.3, 74.2, 74.1, 74.0, 73.7, 71.2, 70.4, 69.0, 68.9, 61.5, 40.5, 29.3, 28.7, 26.2, 25.4; IR (solid): 3307, 2897, 2341, 1591, 1438, 1307, 1154, 1042, 669, 525 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{54}H_{96}NO_{41}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1414.5458, found: 1414.5460.



6-Aminohexyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-2)

To a stirred solution of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-47**) (30.8 mg, 7.45 μmol, 1.00 eq.) in NH_3/THF/EtOH (8.50 mL/1.00 mL/0.500 mL) was added a large amount of lithium (100 mg) at -78 ˚C. After being stirred under reflux for 1.5 h, the reaction mixture was added methanol (1.00 mL). After being stirred at room temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by size exclusion column chromatography on Sephadex LH-20 eluted with water and further purified by revese-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with 90:10 water:methanol to give 6-aminohexyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-2**) (13.8 mg, 6.69 μmol, 90%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -13.9 (c = 0.315, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.70-4.76 (m, 11H, anomericH x 11), 4.44 (d, 1H, anomericH, *J* = 8.2 Hz), 3.88-3.91 (m, 13H), 3.63-3.81 (m, 24H), 3.32-3.56 (m, 37H), 2.77 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz), 1.49-1.63 (m, 4H), 1.28-1.36 (m, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 103.6, 103.4, 102.8, 85.5, 85.2, 85.0, 76.8, 76.5, 76.4, 74.3, 74.1, 73.7, 71.2, 70.4, 69.0, 68.9, 61.5, 40.4, 30.9, 30.7, 30.5, 30.3, 30.1, 29.9, 29.7, 29.3, 28.1, 26.1, 25.4; IR (solid): 3341, 2912, 2352, 2014, 1836, 1592, 1439, 1309, 1154, 1077, 1044, 911, 671, 526 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{78}H_{136}NO_{61}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 2062.7571, found: 2062.7598.

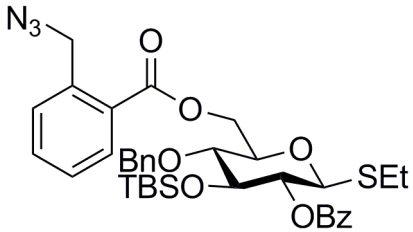


**6-Aminohexyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-

Ethylthio 6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (4-54)

To a stirred solution of ethylthio 2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (**4-53**) (778 mg, 1.46 mmol, 1.00 eq.) in CH_2Cl_2 (7.26 mL) was added 2-(azidomethyl)benzoyl chloride (4.84 mmol, 3.32 eq.) and DMAP (1.48 g, 12.1 mmol, 8.29 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 90:10 hexane:ethyl acetate to give ethylthio 6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (**4-54**) (927 mg, 1.34 mmol, 92%).

$[\alpha]_D^{20}$ = +24.6 (c = 0.855, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.01-8.06 (m, 3H, aromatic), 7.30-7.61 (m, 11H, aromatic), 5.25 (dd, 1H, H-2, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.89 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.80 (s, 2H, N_3CH_2), 4.63 (dd, 1H, H-6a, $J_{5,6a}$ = 2.4 Hz, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.58 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.56 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz), 4.35 (dd, 1H, H-6b, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.01 (dd, 1H, H-4, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.74 (ddd, 1H, H-5, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz, $J_{5,6a}$ = 2.4 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz), 3.63 (dd, 1H, H-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 2.60-2.78 (m, 2H, SC$H_2$$CH_3$), 1.18 (t, 3H, SCH_2CH_3, J = 7.2 Hz), 0.80 (s, 9H, TBS), 0.04 (s, 3H, TBS), -0.13 (s, 3H, TBS); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 166.2, 165.6, 137.6, 137.5, 133.2, 133.0, 121.4, 130.3, 130.0, 129.8, 128.5, 128.4, 128.2, 128.0, 127.8, 83.7, 78.8, 77.0, 75.4, 72.9, 63.9, 53.1, 25.9, 25.7, 23.9, 17.9, 14.9, -3.9, -4.1; IR (solid): 2959, 2928, 2856, 2104, 1724, 1452, 1262, 1070, 838, 711, 519 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{36}H_{49}N_4O_7SiS$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 709.3091, found: 709.3082.

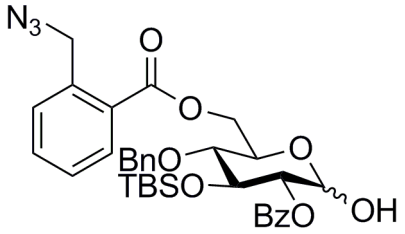


6-*O*-(2-(Azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucopyranose (4-55)

To a stirred solution of ethylthio 6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranoside (**4-54**) (682 mg, 0.986 mmol, 1.00 eq.) in acetone (4.93 mL) and

water (49.3 μL) was added *N*-bromosuccinimide (211 mg, 1.18 mmol, 1.20 eq.) at 0 ˚C. After being stirred at the same temperature for 10 min, the reaction mixture was added triethylamine (1.00 mL). After being stirred at room temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 85:15 hexane:ethyl acetate to give 6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucopyranose (**4-55**) (488 mg, 0.753 mmol, 76%, α:β = 77:23). The α:β ratio was determined by ^{1}H NMR analysis.

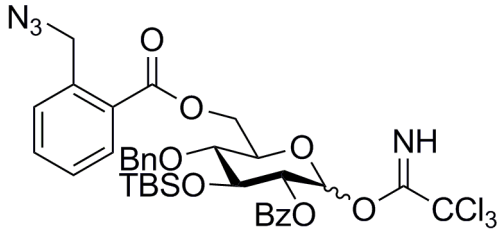
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.00-8.10 (m, 6H, aromaticαβ), 7.22-7.66 (m, 22H, aromaticαβ), 5.41 (br-s, 1H, H-1α), 5.14 (dd, 1H, H-2α, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 5.10 (dd, 1H, H-2β, $J_{1,2}$ = 8.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 4.88-4.93 (m, 2H, PhCH_2), 4.73-4.83 (m, 5H, H-1β, N_3CH_2αβ), 4.57-4.65 (m, 4H, H-6aα, H-6aβ, PhCH_2), 4.37-4.42 (m, 3H, H-3α, H-6bα, H-6bβ), 4.30 (ddd, 1H, H-5α, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 1.9 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.3 Hz), 4.06 (dd, 1H, H-3β, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 3.77 (ddd, 1H, H-5β, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 2.4 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.3 Hz), 3.58-3.67 (m, 2H, H-4α, H-4β), 3.34 (d, 1H, OHβ, $J_{1,OH}$ = 9.7 Hz), 2.97 (br-s, 1H, OHα), 0.79 (s, 18H, TBSαβ), -0.05-0.08 (m, 12H, TBSαβ); IR (solid): 3427, 2928, 2856, 2411, 2101, 1724, 1453, 1264, 1097, 838, 713, 520 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{34}H_{45}N_4O_8Si$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 665.3007, found: 665.3002.



_O_-(6-_O_-(2-(Azidomethyl)benzoyl)-2-_O_-benzoyl-4-_O_-benzyl-3-_O_-_tert_-butyldimethylsilyl-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (4-38)

To a stirred solution of 6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucopyranose (**4-55**) (960 mg, 1.48 mmol, 1.00 eq.) in CH_2Cl_2 (2.96 mL) was added trichloroacetonitrile (0.742 mL, 7.40 mmol, 5.00 eq.) and a catalytic amount of Cs_2CO_3 (48.0 mg, 0.148 mmol, 0.100 eq.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 90:10 hexane:ethyl acetate to give *O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (**4-38**) (1.09 g, 1.38 mmol, 93%, α:β = 59:41). The α:β ratio was determined by ^{1}H NMR analysis.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.59 (s, 1H, NHβ), 8.51 (s, 1H, NHα), 8.00-8.05 (m, 6H, aromaticαβ), 7.22-7.61 (m, 22H, aromaticαβ), 6.55 (d, 1H, H-1α, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz), 5.97 (d, 1H, H-1β, $J_{1,2}$ = 7.2 Hz), 5.51 (dd, 1H, H-2β, $J_{1,2}$ = 7.2 Hz, $J_{2,3}$ = 8.2 Hz), 5.40 (dd, 1H, H-2α, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz), 4.93 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.89 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 11.6 Hz), 4.74-4.83 (m, 4H, N_3CH_2αβ), 4.56-4.65 (m, 4H, H-6aα, H-6aβ, PhCH_2), 4.38-4.49 (m, 3H, H-3α, H-6bα, H-6bβ), 4.25 (ddd, 1H, H-5α, $J_{4,5}$ = 10.1 Hz, $J_{5,6a}$ = 1.9 Hz, $J_{5,6b}$ = 3.4 Hz), 4.12 (dd, 1H, H-3β, $J_{2,3}$ = 8.2 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 3.96 (ddd, 1H, H-5β, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz, $J_{5,6a}$ = 2.4 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz), 3.72-3.79 (m, 2H, H-4α, H-4β), 0.80-0.83 (m, 18H, TBSαβ), -0.08-0.11 (m, 12H, TBSαβ); IR (solid): 2959, 2855, 2105, 1725, 1672, 1452, 1255, 1070, 712, 519 cm^{-1}.

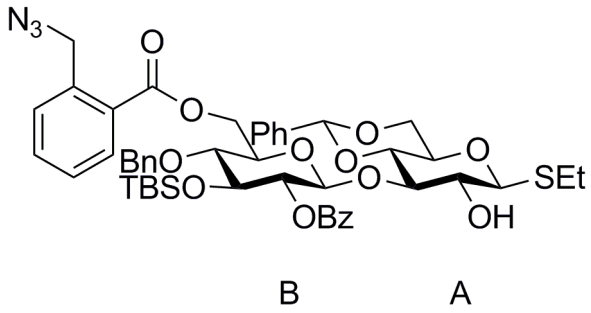


Ethylthio 3-*O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (4-39)

A mixture of ethylthio 4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-21**) (5.64 g, 18.1 mmol, 1.20 eq.), *O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-D-glucopyranosyl) trichloroacetimidate (**4-38**) (11.9 g, 15.1 mmol, 1.00 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (15.1 g) in dry CH_2Cl_2 (151 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -15 ˚C. A catalytic amount of trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate (0.544 mL, 3.01 mmol, 0.200 eq.) was added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 90:10 hexane:ethyl acetate to give ethylthio 3-*O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-39**) (13.3 g, 14.2 mmol, 94%).

$[\alpha]_D^{19}$ = -3.94 (c = 1.05, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.08 (d, 2H, aromatic, J = 7.2 Hz), 7.97 (d, 1H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.15-7.60 (m, 16H, aromatic), 5.48 (s, 1H, benzylidene), 5.23 (dd, 1H, B-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 4.93 (d, 1H, B-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.83 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.74 (d, 1H, N_3CH_2, J_{gem} = 14.5 Hz), 4.67 (d, 1H, N_3CH_2, J_{gem} = 14.5 Hz), 4.50 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 11.1 Hz), 4.46 (dd,

1H, B-6a, $J_{5,6a}$ = 1.9 Hz, J_{gem} = 11.6 Hz), 4.25-4.31 (m, 3H, A-1, A-6a, B-6b), 4.00 (dd, 1H, B-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 3.79 (dd, 1H, A-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 8.7 Hz), 3.54-3.72 (m, 4H, A-4, B-4, B-5, A-6b), 3.31-3.42 (m, 2H, A-2, A-5), 2.48-2.64 (m, 2H, SCH_2CH_3), 2.42 (d, 1H, OH, $J_{A\text{-}2,OH}$ = 1.9 Hz), 1.18 (t, 3H, SCH_2CH_3, J = 7.2 Hz), 0.79 (s, 9H, TBS), 0.03 (s, 3H, TBS), -0.11 (s, 3H, TBS); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 166.3, 165.9, 137.5, 137.3, 137.1, 133.3, 132.8, 131.6, 130.2, 129.9, 129.7, 129.0, 128.6, 128.5 x 2, 128.2 x 2, 127.9, 127.8, 126.0, 101.4, 101.3, 86.2, 81.8, 79.2, 78.7, 75.4, 75.3, 72.9, 72.8, 71.0, 68.6, 63.7, 53.1, 25.7, 24.0, 17.9, 15.2, -4.0, -4.2; IR (solid): 3478, 2928, 2855, 2102, 1724, 1600, 1452, 1264, 1071, 985, 837, 700, 518 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{49}H_{63}N_4O_{12}S$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 959.3932, found: 959.3979.



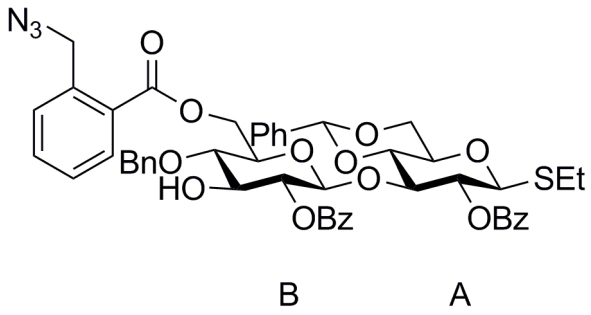
Ethylthio 3-*O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (4-33)

To a stirred solution of ethylthio 3-*O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-3-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-39**) (3.05 g, 3.23 mmol, 1.00 eq.) in pyridine (16.2 mL) was added benzoyl chloride (1.14 mL, 9.69 mmol, 3.00 eq.) and a catalytic amount of DMAP (39.5 mg, 0.323 mmol, 0.100 eq.) at room temperature. After being stirred at 120 ˚C for 7 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a stirred solution of the residue in pyridine (16.2 mL) was added HF/ pyridine (1.62 mL) at room temperature. After being stirred at 100 ˚C for 12 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 78:22 hexane:ethyl acetate to give ethylthio 3-*O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benz

ylidene-β-D-glucopyranoside (**4-33**) (2.53 g, 2.72 mmol, 2 steps 84%).

$[\alpha]_D^{18}$ = -8.44 (c = 1.07, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.96 (d, 1H, aromatic, *J* = 7.7 Hz), 7.83 (d, 2H, aromatic, *J* = 8.2 Hz), 7.73 (d, 2H, aromatic, *J* = 8.2 Hz), 7.21-7.59 (m, 19H, aromatic), 5.55 (s, 1H, benzylidene), 5.30 (dd, 1H, A-2, $J_{1,2}$ = 9.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 5.01 (dd, 1H, B-2, $J_{1,2}$ = 7.2 Hz, $J_{2,3}$ = 8.2 Hz), 4.86 (d, 1H, B-1, $J_{1,2}$ = 7.2 Hz), 4.65-4.78 (m, 3H, PhC*H*$_2$, N_3CH_2), 4.50-4.60 (m, 3H, A-1, B-6a, PhC*H*$_2$), 4.32-4.37 (m, 2H, A-6a, B-6b), 4.27 (dd, 1H, A-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 3.71-3.83 (m, 3H, B-3, A-4, A-6b), 3.62 (dd, 1H, B-4, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 8.7 Hz), 3.49-3.55 (m, 2H, A-5, B-5), 2.61-2.68 (m, 2H, SC*H*$_2$$CH_3$), 2.57 (d, 1H, OH, $J_{B\text{-}3,OH}$ = 4.8 Hz), 1.16 (t, 3H, SCH_2C*H*$_3$, *J* = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 166.4, 164.8, 137.6, 137.2, 137.1, 133.2, 132.9, 131.6, 130.1, 130.0, 129.8, 129.5, 129.2 x 2, 128.7, 128.6 x 2, 128.5, 128.3 x 3, 128.1, 126.1, 101.6, 99.9, 84.3, 79.4, 78.7, 77.8, 76.5, 75.3, 74.9, 72.8, 72.2, 71.1, 68.7, 63.7, 53.1, 24.1, 14.8; IR (solid): 3499, 2967, 2875, 2105, 1732, 1602, 1452, 1273, 1096, 913, 712, 542 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{50}H_{53}N_4O_{13}S$ $[M+NH_4]^+$ *m/z* = 949.3330, found: 949.3322.

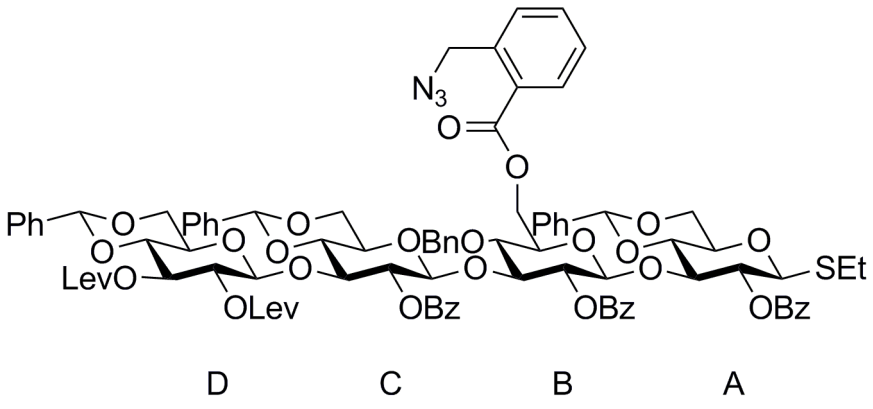


Ethylthio
3-*O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (4-40)

A mixture of ethylthio 3-*O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-33**) (521 mg, 0.559 mmol, 1.00 eq.),
O-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (**4-25**) (592 mg, 0.615 mmol, 1.10 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (280 mg) in dry CH_2Cl_2 (2.80 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -50 ˚C. A catalytic amount of trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate (10.1 μL, 55.9 μmol, 0.100 eq.) was added to the reaction mixture. After being stirred at room temperature for 2 h, the reaction mixture was neutralized with

triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 85:15 toluene:ethyl acetate and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give ethylthio 3-*O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-40**) (573 mg, 0.330 mmol, 59%).

$[\alpha]_D^{18}$ = -17.0 (c = 1.19, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.99 (d, 1H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.92 (d, 2H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.81 (d, 2H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.14-7.72 (m, 34H, aromatic), 5.52 (s, 1H, benzylidene), 5.49 (s, 1H, benzylidene), 5.37 (s, 1H, benzylidene), 5.25 (dd, 1H, C-2, $J_{1,2}$ = 8.2 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 4.93-5.06 (m, 4H, C-1, B-2, D-2, D-3), 4.69-4.81 (m, 4H, B-1, A-2, N_3CH_2), 4.63 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.55 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.37-4.44 (m, 3H, A-1, B-6a, B-6b), 4.16-4.32 (m, 4H, A-3, A-6a, C-6a, D-6a), 4.02 (dd, 1H, B-3, $J_{2,3}$ = 5.8 Hz, $J_{3,4}$ = 7.2 Hz), 3.93-3.98 (m, 2H, C-3, PhCH_2), 3.77 (dd, 1H, B-4, $J_{3,4}$ = 7.2 Hz, $J_{4,5}$ = 10.1 Hz), 3.62-3.70 (m, 5H, C-4, B-5, A-6b, C-6b, D-6b), 3.58 (dd, 1H, D-4, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz), 3.36-3.44 (m, 2H, A-5, C-5), 3.25-3.32 (m, 2H, A-4, D-5), 2.14-2.71 (m, 10H, Lev, SCH_2CH$_3$), 2.08 (s, 3H, Lev), 2.03 (s, 3H, Lev), 1.14 (t, 3H, SCH$_2$CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.4, 206.3, 171.8, 171.4, 166.5, 165.0, 164.8, 164.5, 138.0, 137.3, 137.2, 137.1, 136.9, 133.8, 133.3, 133.2, 132.8, 131.7, 130.0, 129.9, 129.8, 129.6 x 2, 129.3, 129.2, 129.1, 129.0, 128.9, 128.4, 128.3, 128.2, 127.8, 126.5, 126.2, 126.0, 102.0, 101.3, 101.2, 101.0, 99.5, 98.0, 84.3, 79.9, 79.2, 78.8, 78.4 x 2, 76.0, 75.4, 74.3, 73.5, 73.3, 72.9, 72.0, 71.8, 71.6, 70.9, 68.7, 68.6, 66.6, 66.2, 64.6, 53.1, 37.9, 37.7, 29.8, 29.7, 27.9, 27.4, 24.4, 14.8; IR (solid): 2881, 2101, 1716, 1367, 1261, 1096, 994, 879, 702, 517 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{93}H_{97}N_4O_{28}S$ $[M+NH_4]^+$ m/z = 1749.6010, found: 1749.6022.

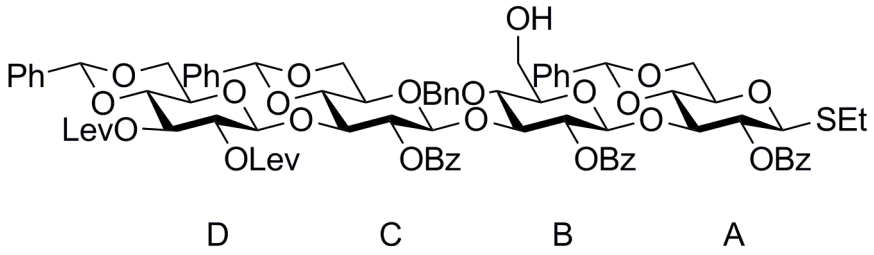


Ethylthio
2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene

-β-D-glucopyranoside (4-41)

To a stirred solution of ethylthio 3-*O*-(6-*O*-(2-(azidomethyl)benzoyl)-2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-40**) (251 mg, 0.145 mmol, 1.00 eq.) in THF (1.45 mL) was added water (13.1 μL, 0.725 mmol, 5.00 eq.) and $^{n}Bu_3P$ (0.109 mL, 0.435 mmol, 3.00 eq.) at 0 ˚C. After being stirred at room temperature for 30 min, the reaction mixture was poured into saturated aq. $NaHCO_3$. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aq. $NaHCO_3$ and brine, dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone to give ethylthio 2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-41**) (212 mg, 0.134 mmol, 93%).

$[\alpha]_D^{17}$ = -13.1 (c = 1.04, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.85 (d, 2H, aromatic, J = 7.2 Hz), 7.73 (d, 2H, aromatic, J = 7.2 Hz), 7.22-7.69 (m, 31H, aromatic), 5.47 (s, 2H, benzylidene), 5.37 (s, 1H, benzylidene), 5.21 (dd, 1H, C-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 5.01 (dd, 1H, D-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz), 4.88-4.96 (m, 3H, A-2, B-2, D-2), 4.86 (d, 1H, C-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.67-4.71 (m, 2H, B-1, PhCH_2), 4.52 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.46 (d, 1H, A-1, $J_{1,2}$ = 10.1 Hz), 4.32 (dd, 1H, A-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.24 (dd, 1H, C-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.18 (dd, 1H, D-6a, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.12 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 10.6 Hz), 4.09 (dd, 1H, A-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 4.01 (dd, 1H, B-3, $J_{2,3}$ = 6.8 Hz, $J_{3,4}$ = 7.7 Hz), 3.88 (dd, 1H, C-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 3.54-3.70 (m, 7H, B-4, C-4, D-4, B-6a, A-6b, C-6b, D-6b), 3.33-3.51 (m, 5H, A-4, A-5, B-5, C-5, B-6b), 3.26 (ddd, 1H, D-5, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, $J_{5,6a}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6b}$ = 9.7 Hz), 2.17-2.67 (m, 10H, Lev, SCH_2CH$_3$), 2.07 (s, 3H, Lev), 2.03 (s, 3H, Lev), 1.93 (br-s, 1H, OH), 1.14 (t, 3H, SCH$_2$CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.4, 206.3, 171.8, 171.7, 171.4, 165.0, 164.6, 164.2, 143.7, 138.2, 137.1, 136.8, 133.6, 133.2, 133.1, 132.1, 131.8, 129.9, 129.8, 129.7, 129.5, 129.4, 129.2 x 2, 129.0, 128.8, 128.4, 128.3, 128.2 x 3, 128.0, 127.8, 126.3, 126.1, 126.0, 123.8, 123.2, 102.0, 101.3, 101.0, 100.9, 99.7, 98.8, 84.4, 79.5, 79.0, 78.8, 78.4, 78.3, 75.6, 74.5, 74.2, 73.6, 73.4, 72.4, 71.6 x 2, 71.0, 68.6, 68.5, 66.5, 66.1, 63.7, 62.3, 45.6, 37.8, 37.6, 29.7, 29.6, 28.1, 27.9, 27.3, 27.2, 24.3, 24.1 x 2, 24.0 x 2, 18.9, 14.7, 13.7, 13.6; IR (solid): 3531, 2875, 1737, 1602, 1452, 1376, 1264, 984, 750, 703, 484 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{85}H_{89}O_{27}S$ $[M+H]^+$ m/z = 1573.5312, found: 1573.5287.

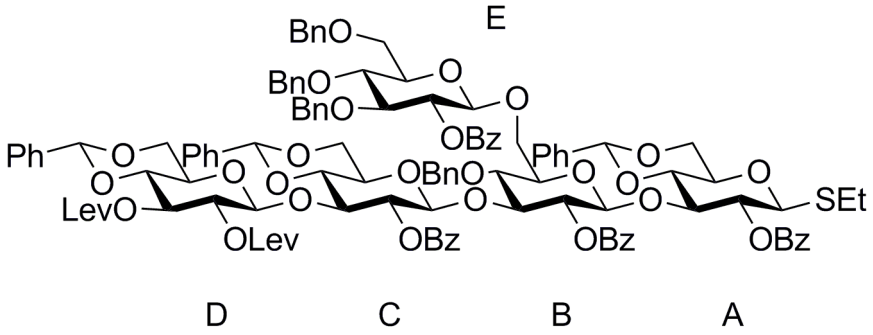


Ethylthio 2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (4-42)

A mixture of ethylthio 2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-41**) (212 mg, 0.134 mmol, 1.00 eq.), *O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-D-glucopyranosyl)trichloroacetimidate (**4-13**) (188 mg, 0.269 mmol, 2.00 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (134 mg) in dry CH_2Cl_2 (1.34 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -10 ˚C. A catalytic amount of trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate (2.43 μL, 13.4 μmol, 0.100 eq.) was added to the reaction mixture. After being stirred at 0 ˚C for 3 h, the reaction mixture was neutralized with triethylamine, filtered through a pad of Celite and concentrated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 94:6 toluene:acetone to give ethylthio 2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-42**) (259 mg, 0.123 mmol, 91%).

$[\alpha]_D^{17}$ = -10.4 (c = 1.19, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98 (d, 2H, aromatic, J = 7.2 Hz), 7.84 (d, 2H, aromatic, J = 7.7 Hz), 7.69 (d, 2H, aromatic, J = 7.2 Hz), 7.10-7.67 (m, 49H, aromatic), 5.47 (s, 1H, benzylidene), 5.41 (s, 1H, benzylidene), 5.36 (s, 1H, benzylidene), 5.26 (dd, 1H, B-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 5.15 (dd, 1H, C-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz), 5.00 (dd, 1H, D-3, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 4.93 (dd, 1H, D-2, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz), 4.88 (dd, 1H, E-2, $J_{1,2}$ = 6.3 Hz, $J_{2,3}$ = 6.3 Hz), 4.73-4.80 (m, 4H, C-1, A-2, PhCH_2), 4.54-4.66 (m, 6H, B-1, E-1, PhCH_2), 4.51 (d, 1H, D-1, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz), 4.46 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 12.1 Hz), 4.13-4.26 (m, 4H, A-1, A-6a, C-6a, D-6a), 4.05 (d, 1H, PhCH_2, J_{gem} = 12.1 Hz), 3.85-3.96 (m, 4H, A-3, C-3, E-3, B-6a), 3.78 (dd, 1H, B-3, $J_{2,3}$ = 8.7 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz), 3.69 (dd, 1H, A-6b, $J_{5,6a}$ = 10.1 Hz, J_{gem} = 10.1 Hz), 3.45-3.65 (m, 9H, C-4, D-4, B-5, E-5, E-6a, B-6b, C-6b, D-6b, E-6b), 3.40 (dd, 1H, E-4, $J_{3,4}$ =

7.7 Hz, $J_{4,5}$ = 9.2 Hz), 3.15-3.32 (m, 5H, A-4, B-4, A-5, C-5, D-5), 2.22-2.68 (m, 10H, Lev, SCH_2CH$_3$), 2.07 (s, 3H, Lev), 2.02 (s, 3H, Lev), 1.15 (t, 3H, SCH$_2$CH_3, J = 7.2 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.4 x 2, 171.8, 171.4, 165.4, 165.0, 164.7, 164.2, 138.3, 138.2, 137.9, 137.4, 137.1, 136.8, 133.5, 133.1, 133.0, 130.2, 129.9 x 2, 129.8, 129.6 x 2, 129.2, 129.1, 129.0, 128.8, 128.7, 128.6 x 2, 128.4, 128.3 x 2, 128.2 x 3, 128.0 x 2, 127.9, 127.8 x 2, 127.7, 127.6 x 2, 126.6, 126.1, 126.0, 125.4, 101.6, 101.3, 101.0, 100.9, 100.8, 99.4, 98.2, 84.0, 82.7, 79.3 x 2, 79.0, 78.9, 78.4, 78.3, 78.1, 75.7, 75.1, 75.0, 74.8, 74.3, 74.0, 73.8, 73.6, 73.5, 73.4, 72.3, 71.7, 71.6, 71.0, 68.6, 68.5 x 2, 68.4, 66.4, 66.1, 37.9, 37.7, 29.7, 29.6, 27.9, 27.4, 24.1, 14.8; IR (solid): 2967, 2318, 1955, 1730, 1602, 1451, 1265, 1096, 772, 702, 527 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{119}H_{124}NO_{33}S$ $[M+NH_4]^+$ m/z = 2126.7776, found: 2126.7778.

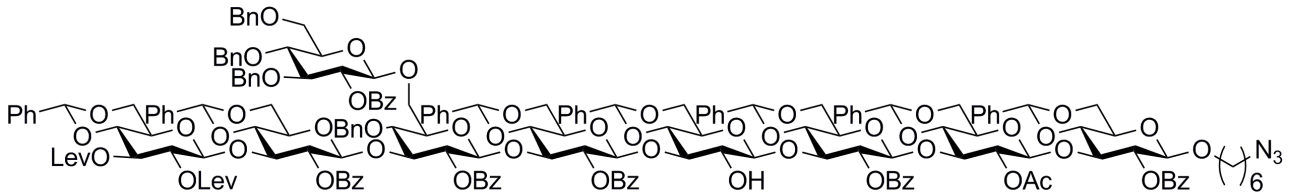


6-Azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-49)

A mixture of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-7**) (87.0 mg, 62.4 μmol, 1.00 eq.), ethylthio 2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-42**) (158 mg, 74.9 mmol, 1.20 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (374 mg) in dry CH_2Cl_2 (3.74 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -35 ˚C. *N*-iodosuccinimide (20.2 mg, 89.9 μmol, 1.44 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (1.66 μL, 18.7 μmol, 0.300 eq.) were added to the reaction mixture. After

being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-49**) (191 mg, 55.5 μmol, 89%).

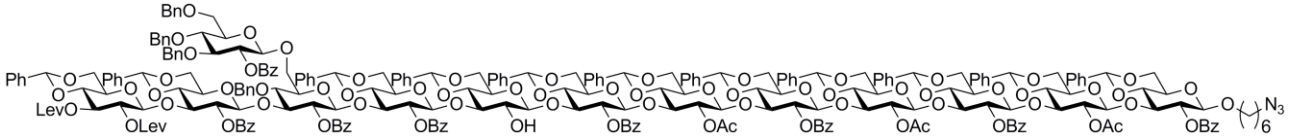
$[\alpha]_D^{21}$ = -5.37 (c = 0.980, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98-8.01 (m, 4H), 7.91 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.81 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.76 (d, 2H, *J* = 7.7 Hz), 7.63 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.03-7.61 (m, 73H), 5.48 (s, 1H), 5.41 (s, 1H), 5.37 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.28 (s, 1H), 5.25 (dd, 1H, *J* = 8.7 Hz, 8.7 Hz), 5.09-5.17 (m, 2H), 4.88-5.05 (m, 8H), 4.76-4.84 (m, 5H), 4.64-4.69 (m, 3H), 4.54-4.61 (m, 3H), 4.50 (br-d, 2H, *J* = 7.7 Hz), 4.40-4.46 (m, 2H), 4.29-4.34 (m, 2H), 4.05-4.23 (m, 7H), 3.98 (dd, 1H, *J* = 4.8 Hz, 10.1 Hz), 3.20-3.94 (m, 36H), 3.14 (ddd, 1H, *J* = 4.8 Hz, 9.7 Hz, 10.1 Hz), 3.01-3.06 (m, 3H), 2.25-2.72 (m, 10H, Lev, H-2, OH), 2.07 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.72 (s, 3H), 1.10-1.48 (m, 8H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.3 x 2, 171.7, 171.3, 169.3, 165.4, 165.2, 165.1, 164.8, 164.7, 163.9, 138.7, 138.4, 138.3, 138.0, 137.6, 137.2 x 2, 136.9, 136.8, 133.7, 133.4, 133.3, 133.2 x 2, 133.0 x 2, 129.8 x 2, 129.7, 129.6, 129.5 x 2, 129.2 x 3, 129.1 x 2, 129.0, 128.9, 128.8 x 2, 128.7, 128.6, 128.5 x 2, 128.4, 128.3, 128.2 x 2, 128.1 x 2, 128.0, 127.9, 127.8, 127.6, 127.5 x 2, 127.4, 126.4, 126.3, 126.2 x 2, 126.1, 126.0 x 2, 102.6, 101.6 x 2, 101.5, 101.4, 101.3, 101.2, 101.0, 100.9, 100.8, 100.6, 99.9, 99.2, 98.7, 98.5, 97.7, 82.8, 79.5, 78.8, 78.6, 78.5, 78.4, 78.3, 78.0, 77.8, 76.3, 76.0, 75.9, 75.7, 75.2, 74.8, 74.3 x 2, 74.1 x 2, 74.0, 73.9, 73.8, 73.4, 73.3, 72.1, 71.6, 69.8, 69.2, 68.7 x 3, 68.6 x 2, 68.5 x 2, 68.4 x 3, 68.3, 66.6 x 2, 66.3, 66.1, 65.9, 65.6, 65.2, 51.2, 37.8, 37.6, 29.6 x 2, 29.2, 28.5, 27.9, 27.3, 26.2, 25.3, 20.4; IR (solid): 3513, 2869, 2092, 1734, 1451, 1374, 1264, 1069, 752, 696, 654, 501 cm^{-1}.



6-Azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-50)

A mixture of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-45**) (73.0 mg, 27.2 μmol, 1.00 eq.), ethylthio 2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-42**) (86.0 mg, 40.8 μmol, 1.50 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (163 mg) in dry CH_2Cl_2 (1.63 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -35 ˚C. *N*-iodosuccinimide (11.0 mg, 48.9 μmol, 1.80 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (1.20 μL, 13.6 mmol, 0.500 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 91:9 toluene:acetone and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-50**) (102 mg, 21.5 μmol, 79%).

$[\alpha]_D^{21}$ = -9.17 (c = 0.960, $CHCl_3$); ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.96-8.00 (m, 8H), 7.90 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.81 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 7.75 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 6.99-7.63 (m, 101H), 5.51 (s, 1H), 5.40 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 5.33 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.24 (dd, 1H, *J* = 8.2 Hz, 8.7 Hz), 5.11-5.16 (m, 4H), 4.76-5.02 (m, 21H), 4.54-4.70 (m, 8H), 4.49 (d, 1H, *J* = 6.8 Hz), 4.48 (d, 1H, *J* = 7.7 Hz), 4.40-4.45 (m, 2H), 4.31-4.34 (m, 2H), 3.22-4.22 (m, 64H), 3.14 (ddd, 1H, *J* = 4.8 Hz, 8.7 Hz, 9.2 Hz), 3.00-3.07 (m, 3H), 2.22-2.67 (m, 10H, Lev, H-2, OH), 2.07 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.76 (s, 3H), 1.75 (s, 3H), 1.71 (s, 3H), 1.10-1.48 (m, 8H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 208.1, 206.4, 171.8, 171.4, 169.3, 169.1, 169.0, 165.3, 165.1, 164.9, 164.8 x 2, 138.7, 138.4, 138.3, 138.0, 137.7, 137.4, 137.3 x 3, 137.0, 136.9, 133.4 x 2, 133.3 x 2, 133.2, 133.1, 130.0 x 2, 129.8 x 2, 129.7 x 2, 129.6 x 2, 129.5 x 2, 129.4, 129.3 x 2, 129.2 x 3, 129.1 x 2, 129.0 x 2, 128.9 x 2, 128.8, 128.7, 128.6 x 2, 128.5 x 2, 128.3, 128.2 x 2, 128.1 x 2, 128.0, 127.9 x 2, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4, 126.5, 126.4, 126.3, 126.2, 126.1 x 3, 102.7, 101.8, 101.7, 101.6 x 2, 101.5 x 2, 101.4, 101.3, 101.2 x 2, 101.1 x 2, 101.0, 100.8, 100.6, 100.0, 99.2, 98.6 x 2, 98.5 x 2, 98.2, 98.0, 97.8, 82.9, 78.8, 78.7, 78.5 x 2, 78.4, 78.3, 78.2 x 2, 78.0, 77.9, 76.5, 76.1, 76.0, 75.9 x 2, 75.7, 75.2, 74.9, 74.4, 74.3, 74.2 x 2, 74.1, 73.9 x 2, 73.8, 73.5, 73.4, 72.4, 72.1, 71.6, 69.9, 68.8, 68.7 x 3, 68.6 x 3, 68.5, 68.4 x 2, 66.7, 66.6, 66.4, 66.1 x 2, 66.0 x 2, 65.8, 65.6 x 2, 65.2, 53.5, 51.2, 37.9, 37.7, 29.7, 29.6, 29.3, 28.6, 28.0, 27.4, 26.3, 25.4, 20.6 x 2, 20.5; IR (solid): 3631, 2964, 2093, 1734, 1412, 1258, 1089, 773, 696, 500 cm^{-1}.



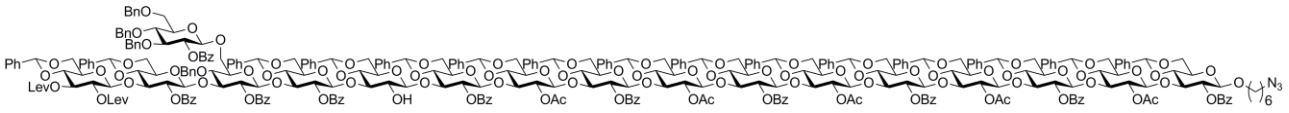
6-Azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-51)

A mixture of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylide

ne-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-47**) (70.0 mg, 17.6 μmol, 1.00 eq.), ethylthio 2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranoside (**4-42**) (55.7 mg, 26.4 mol, 1.50 eq.) (azeotroped twice with dry toluene) and pulverized activated MS-4A (176 mg) in dry CH_2Cl_2 (1.76 mL) was stirred at room temperature for 30 min under argon to remove a trace amount of water. Then the reaction mixture was cooled to -35 ˚C. *N*-iodosuccinimide (7.13 mg, 31.7 μmol, 1.80 eq.) and a catalytic amount of trifluoromethanesulfonic acid (0.467 μL, 5.28 μmol, 0.300 eq.) were added to the reaction mixture. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was neutralized with triethylamine and filtered through a pad of Celite. The filtrate was poured into a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$ with cooling. The aqueous layer was extracted with two portions of ethyl acetate. The combined extract was washed with a mixture of saturated aq. $NaHCO_3$ and 10% aq. $Na_2S_2O_3$, and brine, dried over $MgSO_4$, filtered, and evaporated *in vacuo*. The residue was chromatographed on silica gel with 85:15 toluene:ethyl acetate and further purified by gel permeation chromatography (GPC) to give 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-51**) (87.0 mg, 14.4 μmol, 82%).

$[\alpha]_D^{21}$ = -10.6 (c = 2.16, $CHCl_3$); ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.96-8.01 (m, 14H), 7.90 (d, 2H, *J* = 7.7 Hz), 7.81 (d, 2H, *J* = 7.7 Hz), 7.74 (d, 2H, *J* = 7.7 Hz), 6.99-7.63 (m, 125H), 5.52 (s, 1H), 5.41 (s, 1H), 5.36 (s, 1H), 5.33 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.25 (dd, 1H, *J* = 8.7 Hz, 8.7 Hz), 5.09-5.17 (m, 6H), 4.76-5.03 (m, 29H), 4.54-4.70 (m, 10H), 4.48 (br-d, 2H, *J* = 7.7 Hz), 4.40-4.45 (m, 2H), 4.31-4.35 (m, 2H), 3.12-4.22 (m, 85H), 3.00-3.07 (m, 3H), 2.17-2.67 (m, 10H, Lev, H-2, OH), 2.07 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.76 (s, 12H), 1.72 (s, 3H), 1.10-1.48 (m, 8H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 206.4 x 2, 171.8, 171.4, 169.3, 169.1 x 2, 165.7 x 3, 165.3, 165.1, 165.0, 164.9 x 2, 164.8, 164.0, 138.7, 138.5, 138.4, 138.1, 137.7, 137.5 x 2, 137.4, 137.3 x 2, 137.1,

136.9, 134.1, 134.0 x 3, 133.7, 133.6, 133.4 x 2, 133.3 x 3, 133.2, 133.1 x 2, 130.3, 130.2 x 2, 130.1, 129.8 x 2, 129.7, 129.6, 129.5 x 2, 129.4, 129.3, 129.2, 129.1, 128.9, 128.8, 128.7, 128.6 x 2, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2 x 2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.7, 127.6 x 2, 127.4, 126.6 x 3, 126.4 x 2, 126.3, 126.2, 126.1, 102.7 x 2, 102.5, 101.8 x 3, 101.7 x 2, 101.6 x 2, 101.5 x 3, 101.4 x 3, 101.3 x 2, 101.2 x 2, 101.1 x 3, 101.0, 100.9, 100.7 x 2, 100.1, 100.0, 99.2, 98.7, 98.6, 98.5, 98.4 x 3, 98.3 x 2, 98.2, 98.1, 98.0 x 3, 97.9 x 2, 82.9, 79.6, 79.5, 79.0, 78.9, 78.8, 78.7, 78.5, 78.4, 78.3, 78.2, 78.1, 77.9, 77.8 x 2, 77.7 x 3, 76.5 x 2, 76.4, 76.0 x 3, 75.9, 75.8, 75.7, 75.6 x 2, 75.5 x 2, 75.3 x 2, 75.2 x 2, 74.9, 74.4 x 2, 74.2 x 3, 73.9 x 2, 73.8, 73.5, 73.4, 72.4, 72.1, 71.7, 70.6, 69.9, 68.9, 68.7, 68.6 x 2, 68.4, 66.7, 66.6, 66.4, 66.1 x 2, 66.0, 65.8, 65.7, 65.6, 51.3, 37.9, 37.7, 29.7, 29.6, 29.3, 28.6, 28.0, 27.4, 26.3, 25.4, 20.7, 20.6, 20.5; IR (solid): 3729, 2863, 2344, 2138, 1968, 1734, 1496, 1368, 1218, 1023, 876, 770, 654, 508 cm^{-1}.

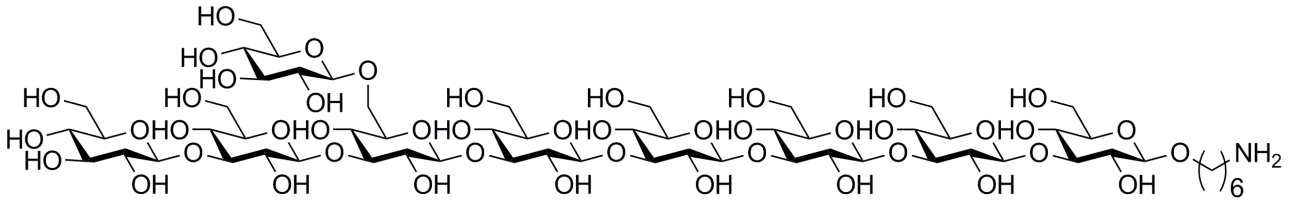


6-Aminohexyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(6-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-6)

To a stirred solution of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-49**) (33.9 mg, 9.85 μmol, 1.00 eq.) in NH_3/THF/EtOH (8.50 mL/1.00 mL/0.500 mL) was added a large amount of lithium (100 mg) at -78 ˚C. After being stirred under reflux for 1.5 h, the reaction mixture was added methanol (1.00 mL). After being stirred at room temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by size exclusion column chromatography on Sephadex LH-20 eluted with water and further purified by revese-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with 90:10 water:methanol to give 6-aminohexyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(6-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-6**) (15.5 mg, 9.83 μmol, quant.).

$[\alpha]_D^{24}$ = -24.2 (c = 0.335, H_2O); ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.70-4.80 (m, 7H, anomericH x 7), 4.49 (d, 1H,

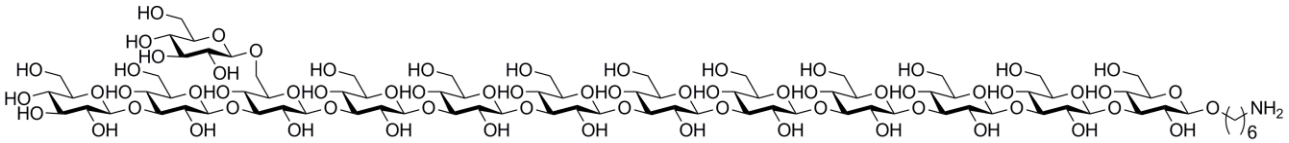
anomericH, *J* = 7.7 Hz), 4.44 (d, 1H, anomericH, *J* = 7.7 Hz), 4.18 (br-d, 1H, *J* = 10.6 Hz), 3.27-3.91 (m, 55H), 2.80 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz), 1.51-1.63 (m, 4H), 1.35-1.36 (m, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 103.6 x 2, 103.4 x 2, 102.7, 85.7, 85.5, 85.2, 85.1, 84.8, 76.8, 76.7, 76.5, 76.4, 75.4, 74.3, 74.1, 74.0 x 2, 73.9, 73.8, 73.7, 71.2, 70.4, 69.6, 69.0 x 2, 68.9, 61.5, 40.5, 29.3, 28.5, 26.2, 25.4; IR (solid): 3481, 2884, 1846, 1669, 1438, 1314, 1153, 1032, 855, 664, 526 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{60}H_{106}NO_{46}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 1576.5986, found: 1576.5981.



6-Aminohexyl
3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(6-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-5)

To a stirred solution of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-50**) (16.1 mg, 3.40 μmol, 1.00 eq.) in NH_3/THF/EtOH (8.50 mL/1.00 mL/0.500 mL) was added a large amount of lithium (100 mg) at -78 ˚C. After being stirred under reflux for 1.5 h, the reaction mixture was added methanol (1.00 mL). After being stirred at room temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by size exclusion column chromatography on Sephadex LH-20 eluted with water and further purified by revese-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with 80:20 water:methanol to give 6-aminohexyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(6-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-5**) (6.10 mg, 2.74 μmol, 81%).

$[\alpha]_D^{24}$ = -22.9 (c = 0.135, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.70-4.76 (m, 11H, anomericH x 11), 4.49 (d, 1H, anomericH, *J* = 7.7 Hz), 4.45 (d, 1H, anomericH, *J* = 8.7 Hz), 4.18 (br-d, 1H, *J* = 11.1 Hz), 3.27-3.91 (m, 79H), 2.79 (t, 2H, *J* = 7.2 Hz), 1.52-1.63 (m, 4H), 1.35-1.37 (m, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 103.6, 103.4 x 2, 102.5, 85.1, 76.5, 76.4, 74.1, 74.0, 70.4, 69.0, 68.9, 61.5, 40.6, 29.3, 29.0, 26.2, 25.4; IR (solid): 3413, 2885, 1821, 1648, 1591, 1368, 1154, 1077, 1042, 652, 519 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{84}H_{146}NO_{66}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 2224.8099, found: 2224.8054.

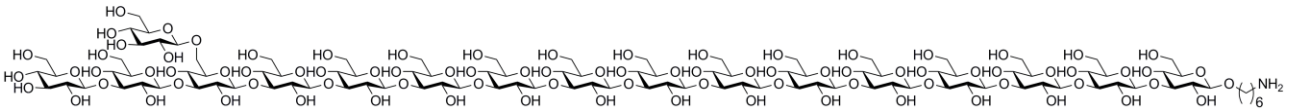


6-Aminohexyl
3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(6-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (4-4)

To a stirred solution of 6-azidohexyl 2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(3-*O*-(2-*O*-benzoyl-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-6-*O*-(2-*O*-benzoyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(2-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(4,6-*O*-benzylidene-2,3-di-*O*-levulinoyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-4-*O*-benzyl-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-4,6-*O*-benzylidene-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-51**) (40.7 mg, 6.75 μmol, 1.00 eq.) in NH_3/THF/EtOH (8.50 mL/1.00 mL/0.500 mL) was added a large amount of lithium (100 mg) at -78 ˚C. After being stirred under reflux for 1.5 h, the reaction mixture was added methanol (1.00 mL). After being stirred at room temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by size exclusion column chromatography on Sephadex LH-20 eluted with water and further purified by revese-phase column chromatography (Bond Elut-C18) with 70:30 water:methanol to give 6-aminohexyl 3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(3-*O*-(6-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-3-*O*-(3-*O*-(β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyran

osyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (**4-4**) (9.80 mg, 3.41 μmol, 51%).

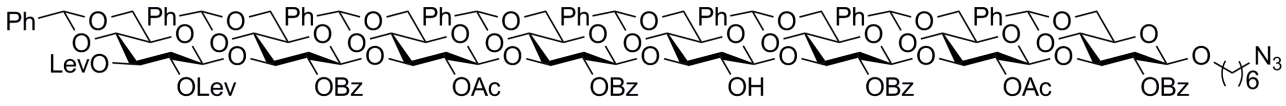
$[\alpha]_D^{24}$ = -31.9 (c = 0.125, H_2O); ^{1}H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.70-4.76 (m, 15H, anomericH x 15), 4.49 (d, 1H, anomericH, *J* = 7.7 Hz), 4.44 (d, 1H, anomericH, *J* = 7.7 Hz), 4.18 (br-d, 1H, *J* = 11.1 Hz), 3.26-3.95 (m, 103H), 2.82 (br-s, 1H), 2.50 (br-s, 1H), 1.55-1.64 (m, 4H), 1.36 (br-s, 4H); ^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) δ 103.6, 103.3, 85.1, 85.0 x 2, 76.5, 74.2, 74.1, 74.0 x 2, 70.4, 69.3, 68.9, 61.6, 61.5, 20.9; IR (solid): 3308, 2897, 1982, 1811, 1656, 1373, 1043, 891, 649, 526 cm^{-1}; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{108}H_{186}NO_{86}$ $[M+H]^+$ *m/z* = 2873.0212, found: 2873.0244.

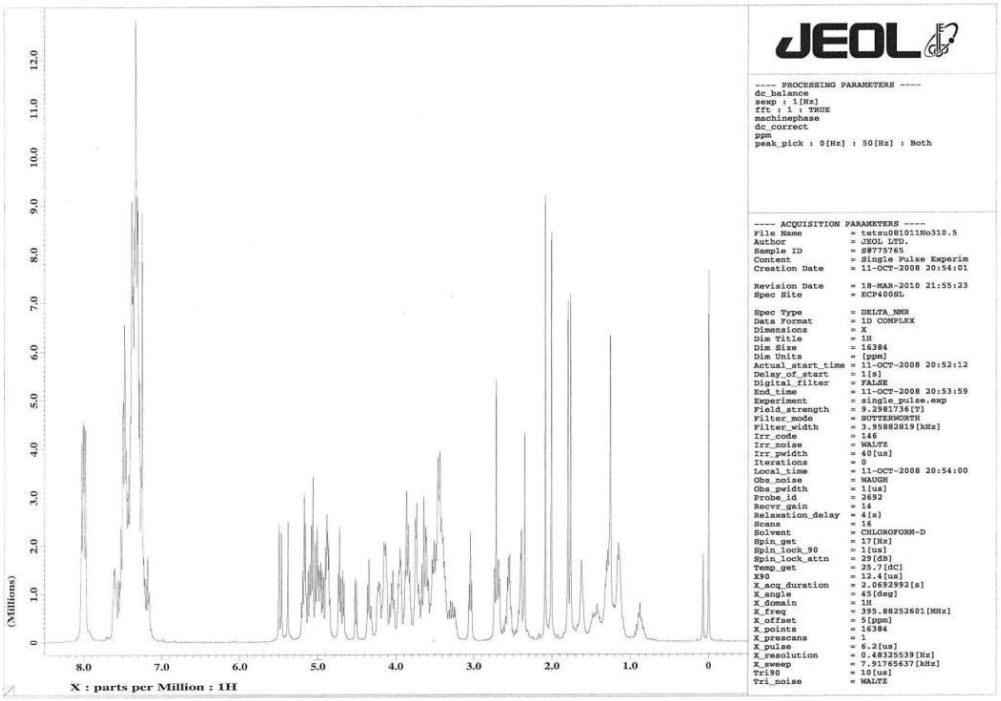


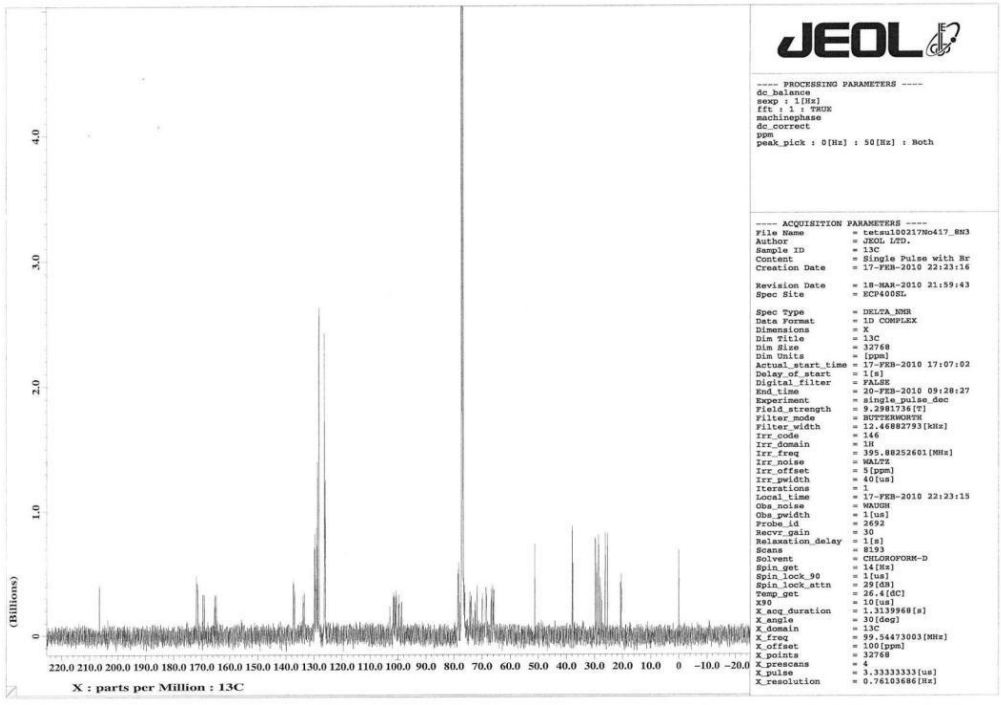
STD-NMR Experiments

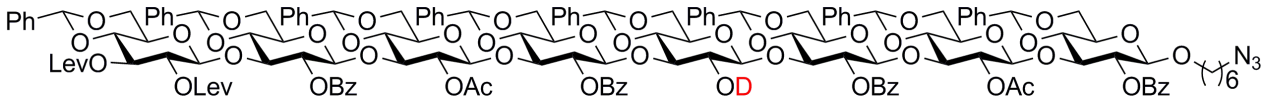
^{1}H-NMR spectra were recorded with 500 MHz and 600 MHz spectrometer (DRX-500, DRX-600, Bruker) equipped with either triple resonance inverse cryogenic (cryo-TXI) probe or a triple resonance inverse (TXI) probe. Dectin-1 (10 μM, 500 μL) in PBS (8.1 mM $Na_2HPO_4$and 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1.5 mM, and KH_2PO_4 (pH 7.4)) was prepared for NMR experiments, and 10% D_2O was added to obtain lock signal. β-Glucans were added to the corresponding NMR samples.

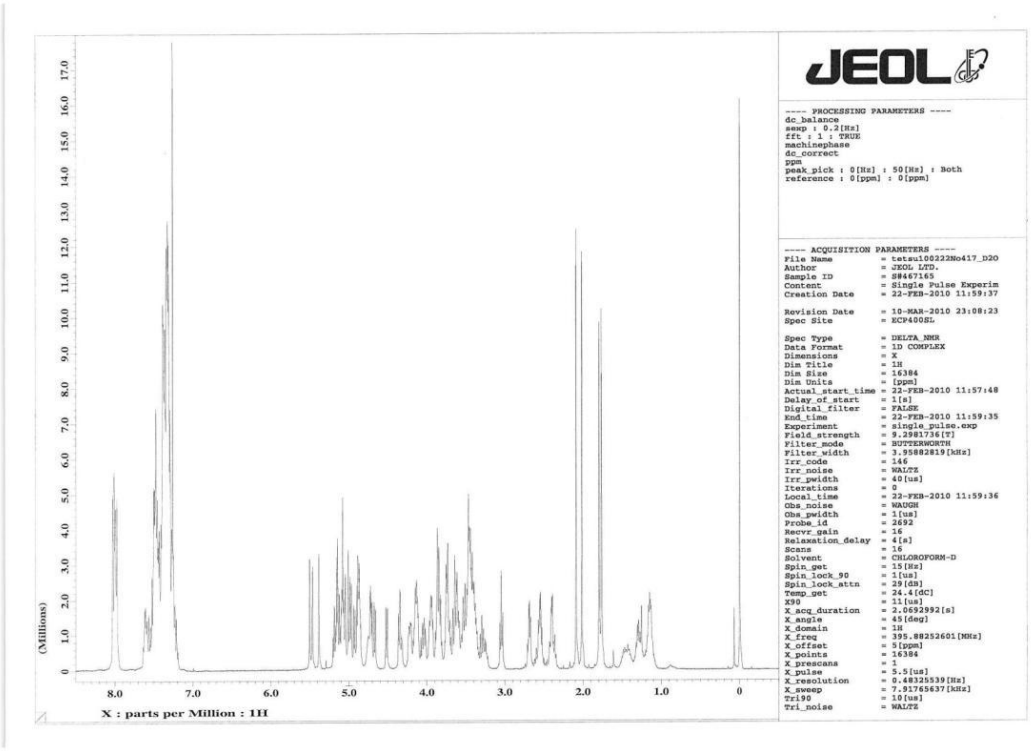
In saturation transfer difference (STD)-NMR experiments, the protein signal at 7.5 ppm was saturated with Gaussian 25 Hz pulse train with 60 times (on-resonance). Reference spectra were obtained by the irradiation of 40 ppm (off-resonance). The on-resonance and off-resonance spectra were collected in each scans to be as a set, and accumulated in different raw. Water suppression was achieved using WATERGATE pulse program with p3919 pulse train, and probe temperature was set at 5 °C. Either 512 scans or 1024 scans with 4 times loops were required to obtain good signal to noise ratio (S/N). Protein signal was partially suppressed using $T2_\sigma$ filter. Chemical shifts indicated with parts per million (ppm) were calibrated based on the outer standards of the chemical shift of 4,4-dimethyl-4-silapentane-1-sulfonic acid (DSS) at 0 ppm. NMR data were treated with XWIN-NMR (ver.3.5) and displayed using XWIN-PLOT (ver.3.5).

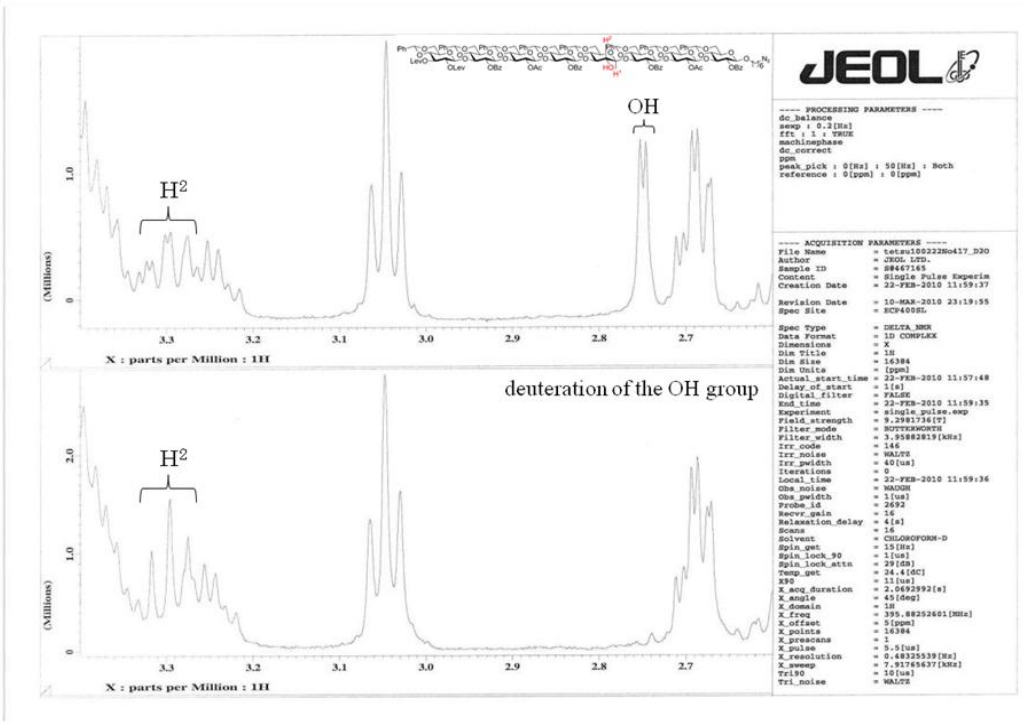

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OH
OBz
OAc
OBz
N3
6

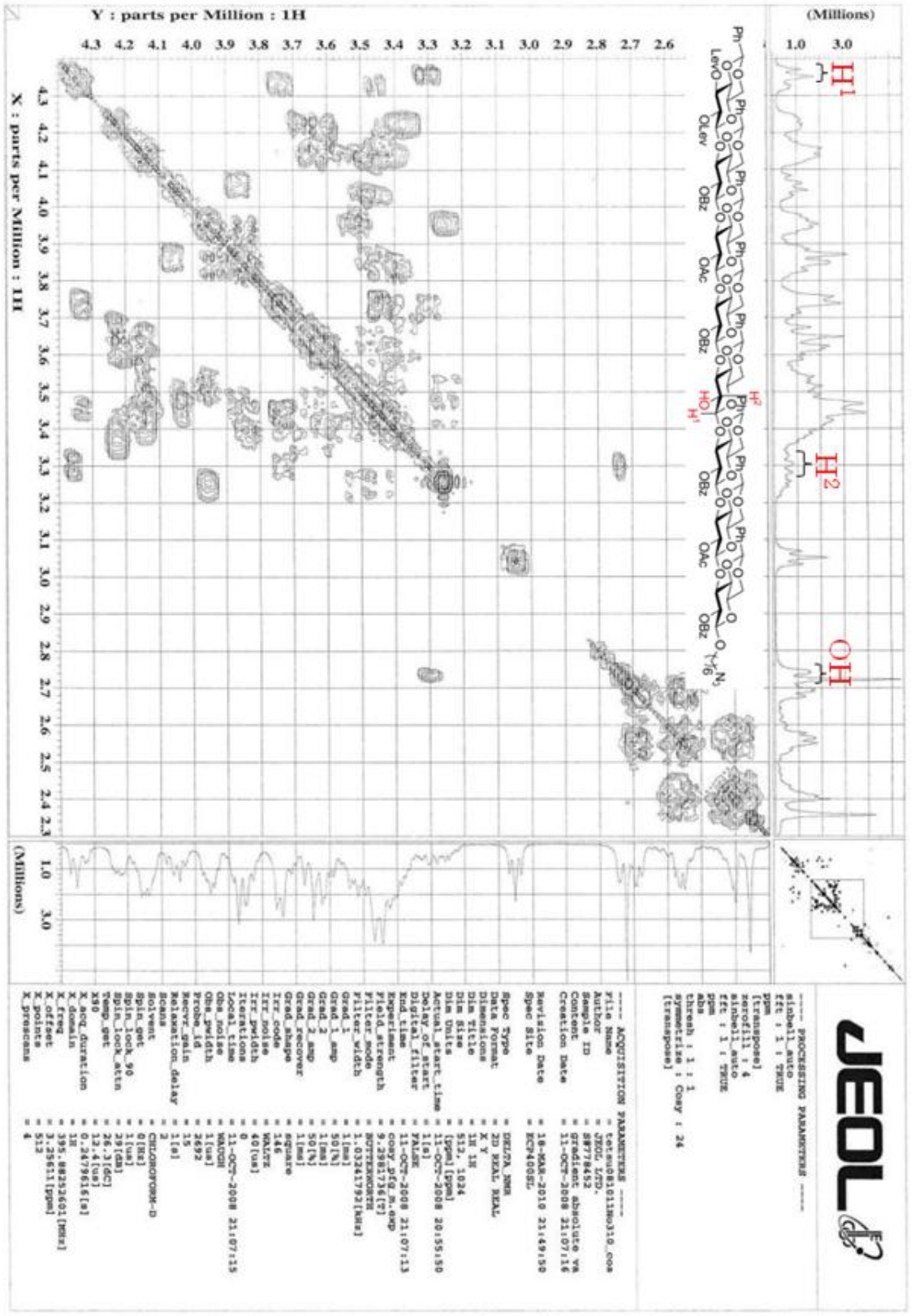

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu081011No310.5
Author = JEOL LTD.
Sample ID = ##775765
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 11-OCT-2008 20:54:01
Revision Date = 18-MAR-2010 21:55:23
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 11-OCT-2008 20:52:12
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 11-OCT-2008 20:53:59
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 11-OCT-2008 20:54:00
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 14
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 25.7[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

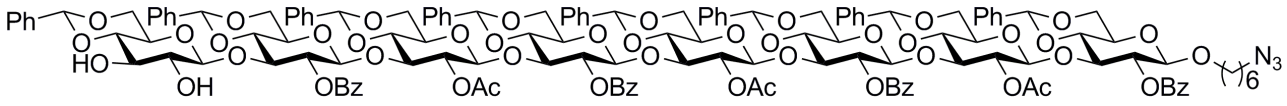

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100217No417_8N3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Hr
Creation Date = 17-FEB-2010 22:23:16
Revision Date = 18-MAR-2010 21:59:43
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 17-FEB-2010 17:07:02
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 20-FEB-2010 09:28:27
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 17-FEB-2010 22:23:15
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 8193
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 14[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 26.4[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

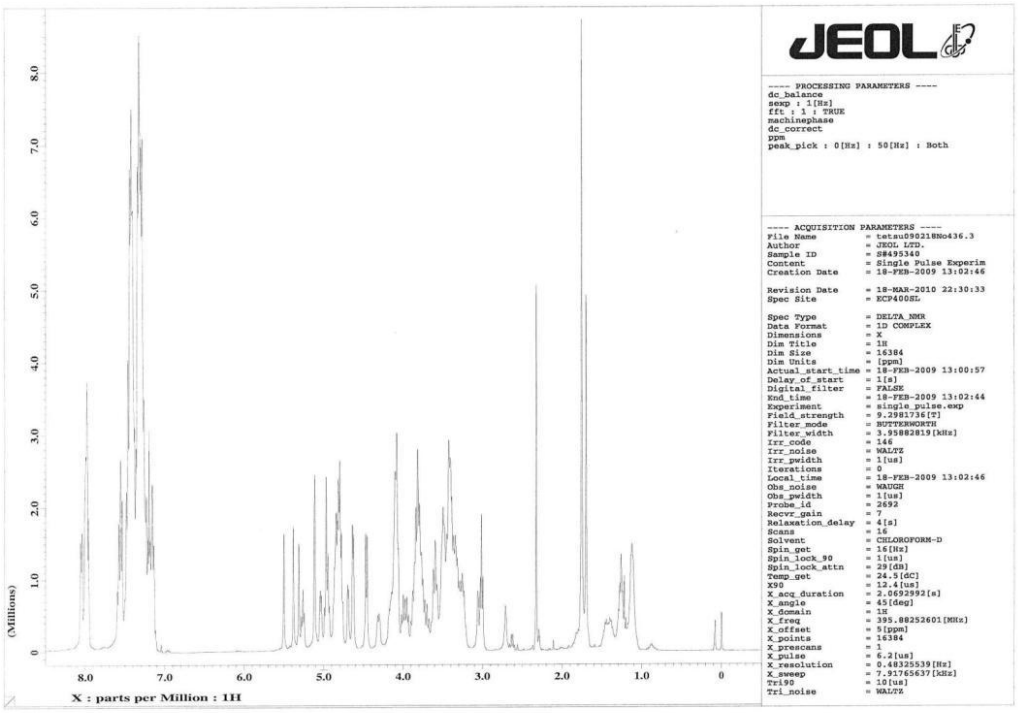

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OD
OBz
OAc
OBz
N3
6

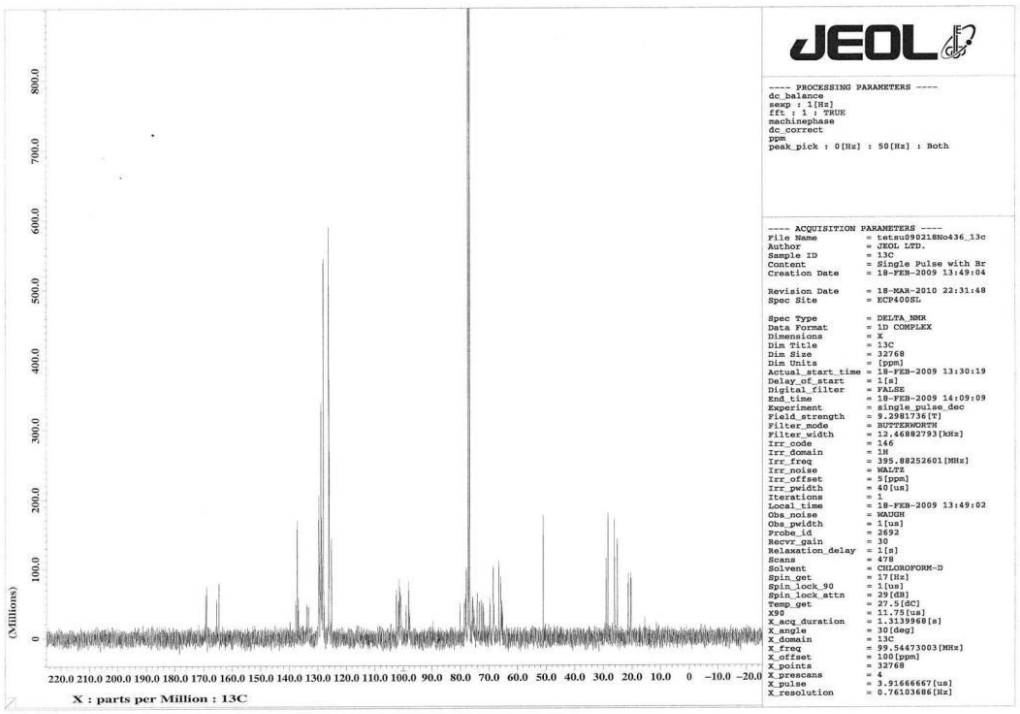

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
reference : 0[ppm] : 0[ppm]
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100222No417_D2O
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#467165
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 22-FEB-2010 11:59:37
Revision Date = 10-MAR-2010 23:08:23
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 22-FEB-2010 11:57:48
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 22-FEB-2010 11:59:35
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 22-FEB-2010 11:59:36
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.4[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

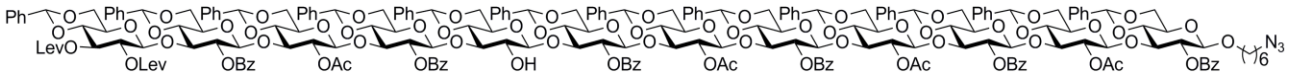

OH
H2
deuteration of the OH group
H2
JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
reference : 0[ppm] : 0[ppm]
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100222No417_D2O
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#467165
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 22-FEB-2010 11:59:37
Revision Date = 10-MAR-2010 23:19:55
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 22-FEB-2010 11:57:48
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 22-FEB-2010 11:59:35
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 22-FEB-2010 11:59:36
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.4[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

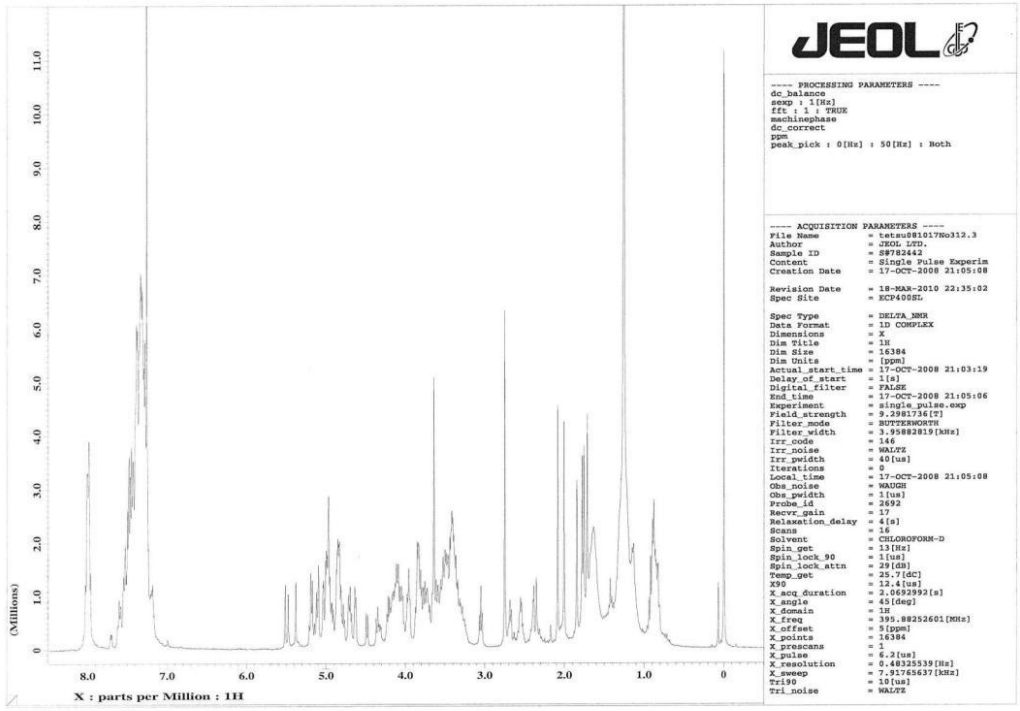

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
H1
H2
OH

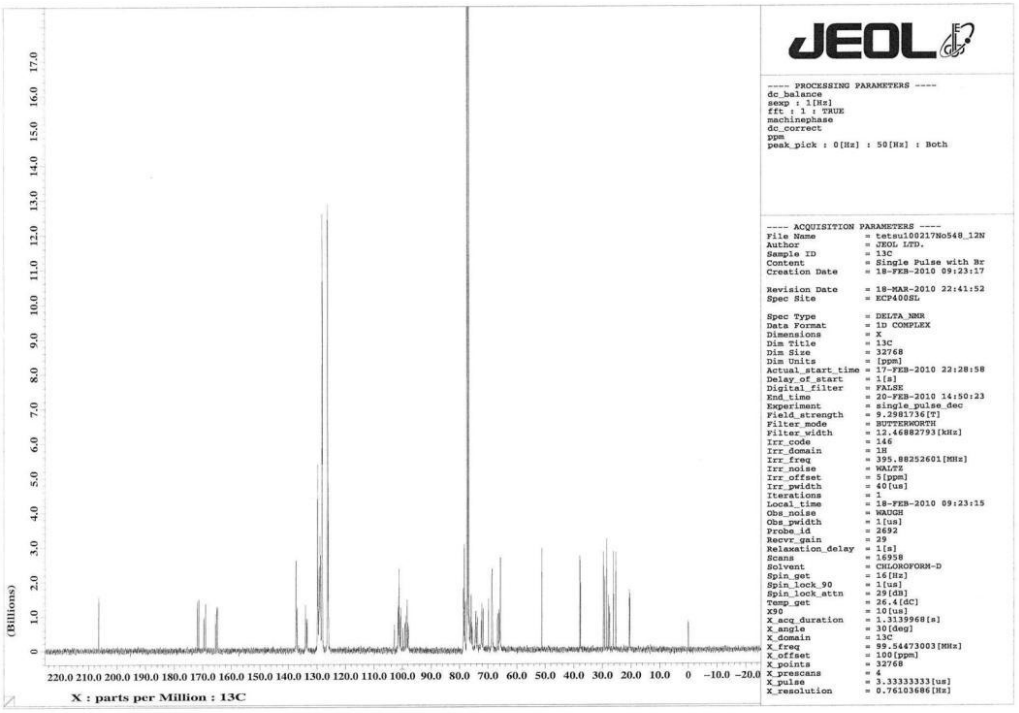

Ph
HO
OH
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
N3
6

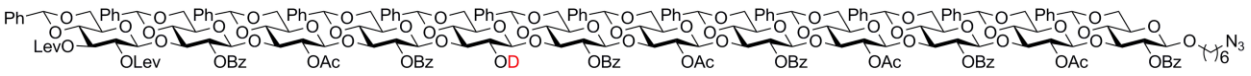

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090218No436.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#495340
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-FEB-2009 13:02:46
Revision Date = 18-MAR-2010 22:30:33
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-FEB-2009 13:00:57
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-FEB-2009 13:02:44
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 1[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-FEB-2009 13:02:46
Obs_noise = WALTZ
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 7
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.5[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

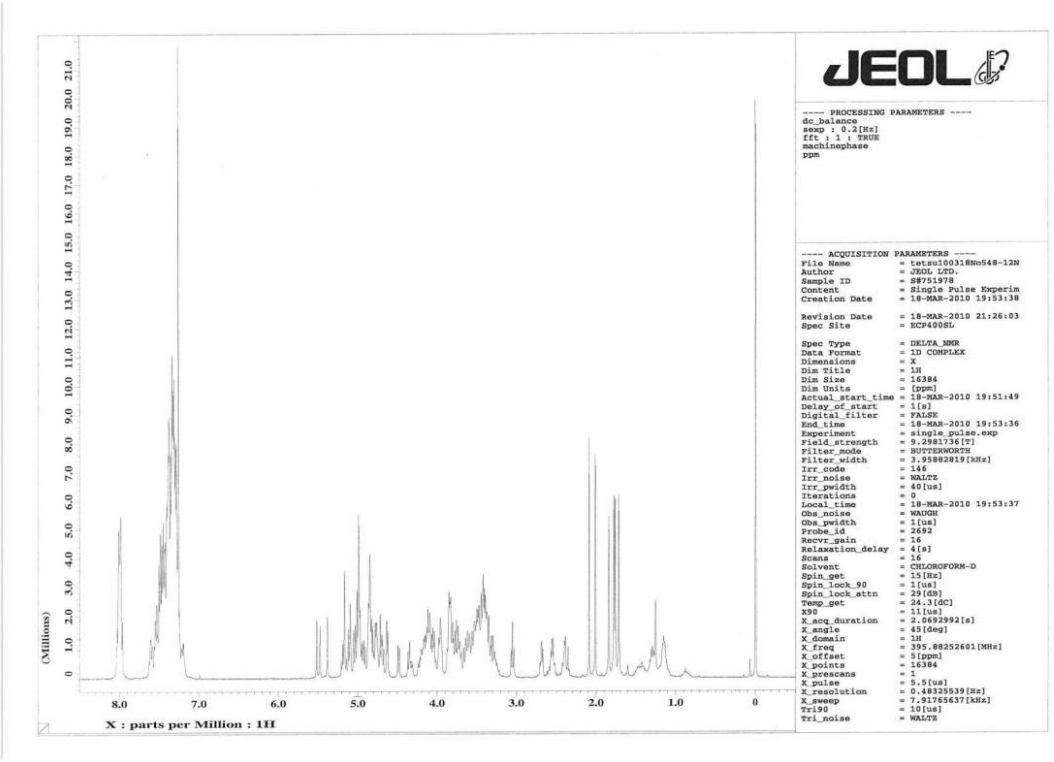

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090218No436_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 18-FEB-2009 13:49:04
Revision Date = 18-MAR-2010 22:31:48
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-FEB-2009 13:30:19
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-FEB-2009 14:09:09
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 18-FEB-2009 13:49:02
Obs_noise = WALTZ
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 478
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27.5[dC]
X90 = 11.75[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.91666667[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Millions)
X : parts per Million : 13C

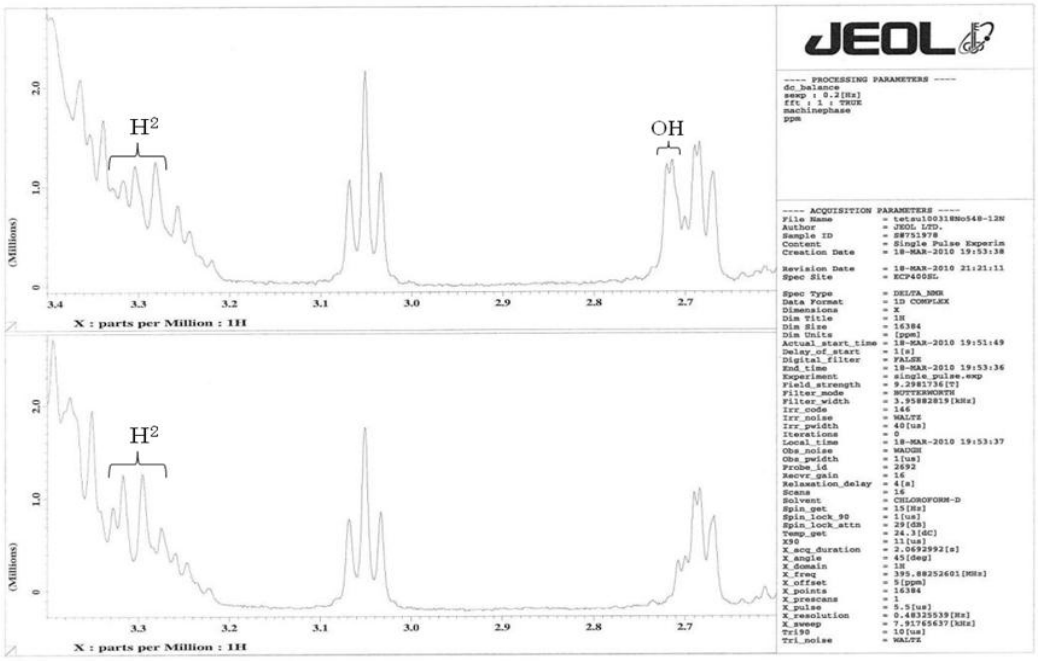

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OH
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
N3
6

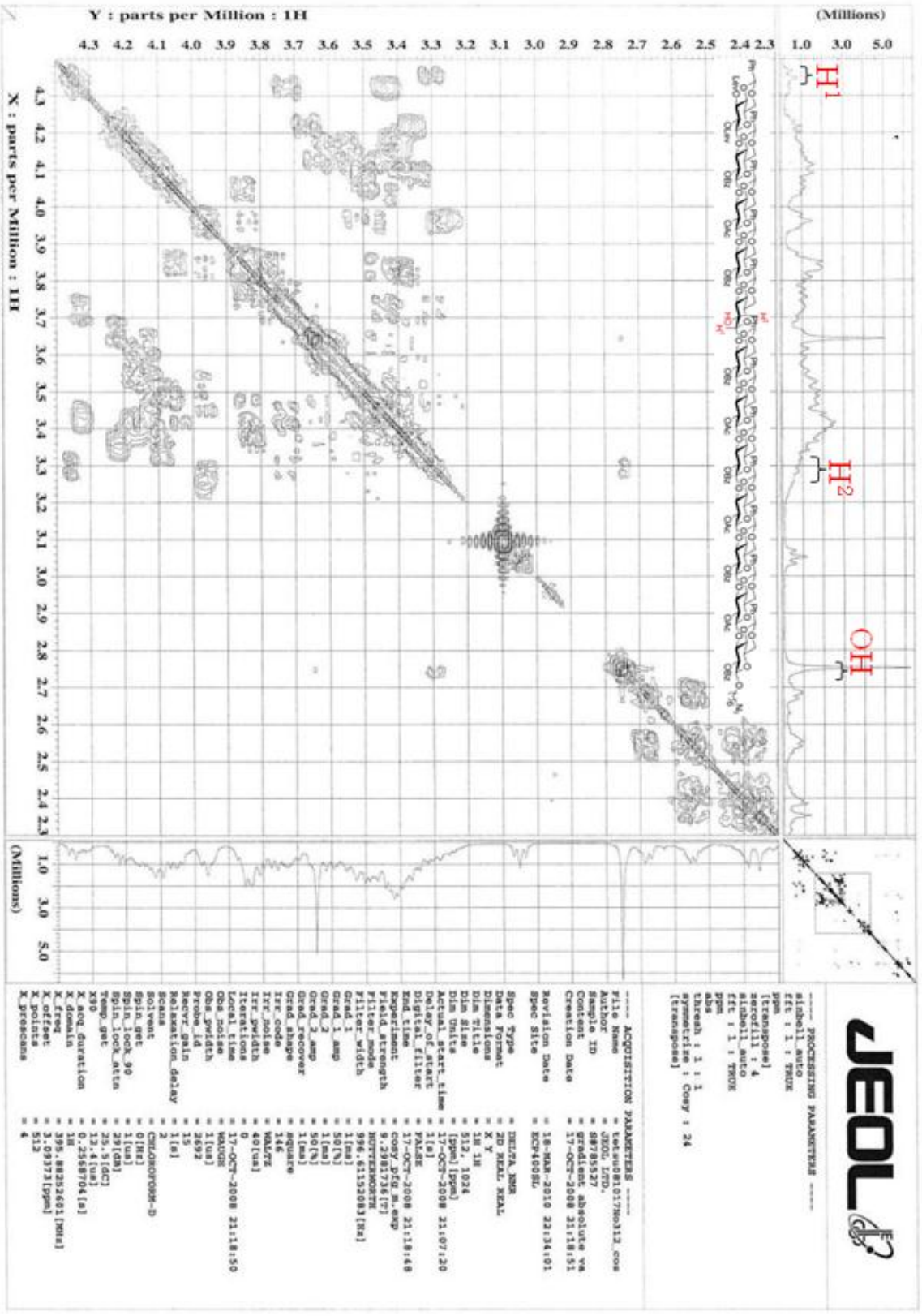

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu081017No312.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S8782442
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 17-OCT-2008 21:05:08
Revision Date = 18-MAR-2010 22:35:02
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 17-OCT-2008 21:03:19
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 17-OCT-2008 21:05:06
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 17-OCT-2008 21:05:08
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 17
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 13[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 25.7[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

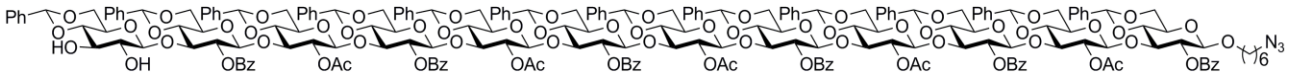

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100217No540_12N
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 18-FEB-2010 09:23:17
Revision Date = 18-MAR-2010 22:41:52
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 17-FEB-2010 22:28:58
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 20-FEB-2010 14:50:23
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 18-FEB-2010 09:23:15
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 29
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 16958
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 26.4[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

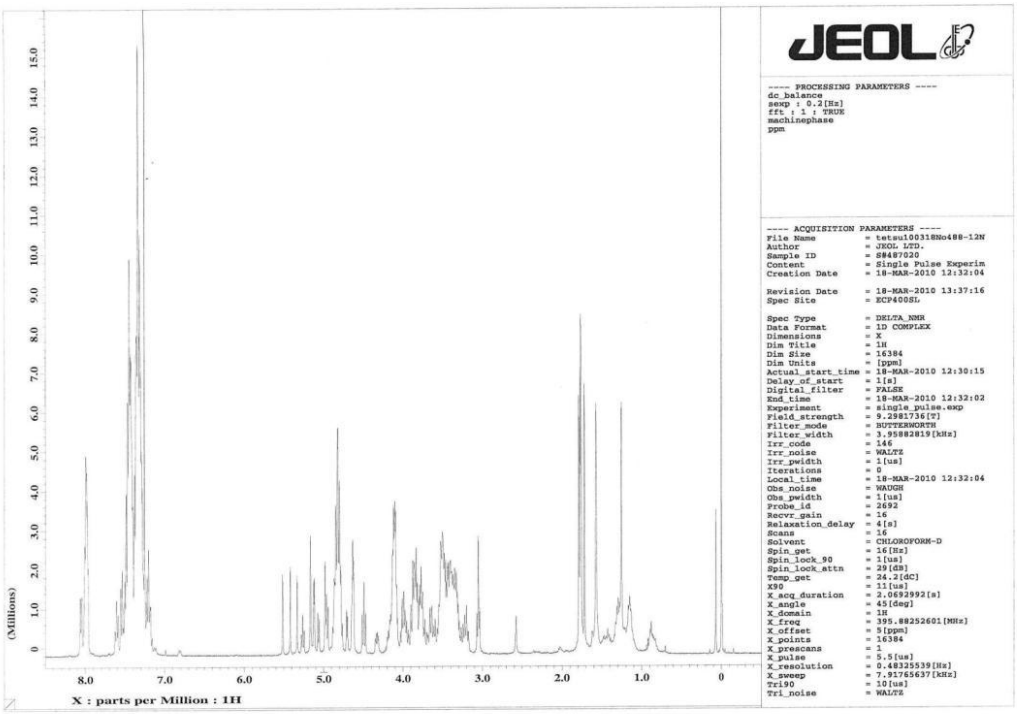

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OD
N3
6

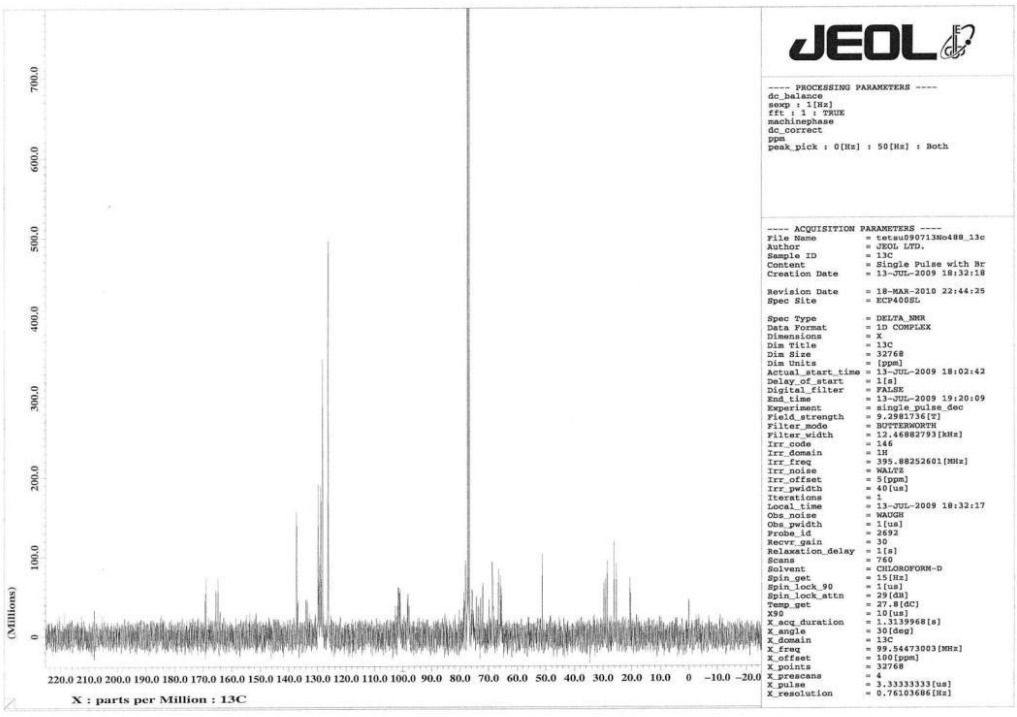

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
ppm
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu10031Mo548-12N
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#751978
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-MAR-2010 19:53:38
Revision Date = 18-MAR-2010 21:26:03
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-MAR-2010 19:51:49
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-MAR-2010 19:53:36
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-MAR-2010 19:53:37
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.3[GC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

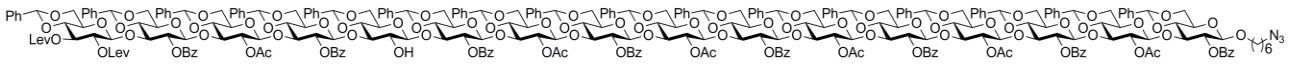

H2
OH
H2
JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
ppm
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu10031Mo548-12N
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#751978
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-MAR-2010 19:53:38
Revision Date = 18-MAR-2010 21:21:11
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-MAR-2010 19:51:49
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-MAR-2010 19:53:36
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-MAR-2010 19:53:37
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.3[GC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

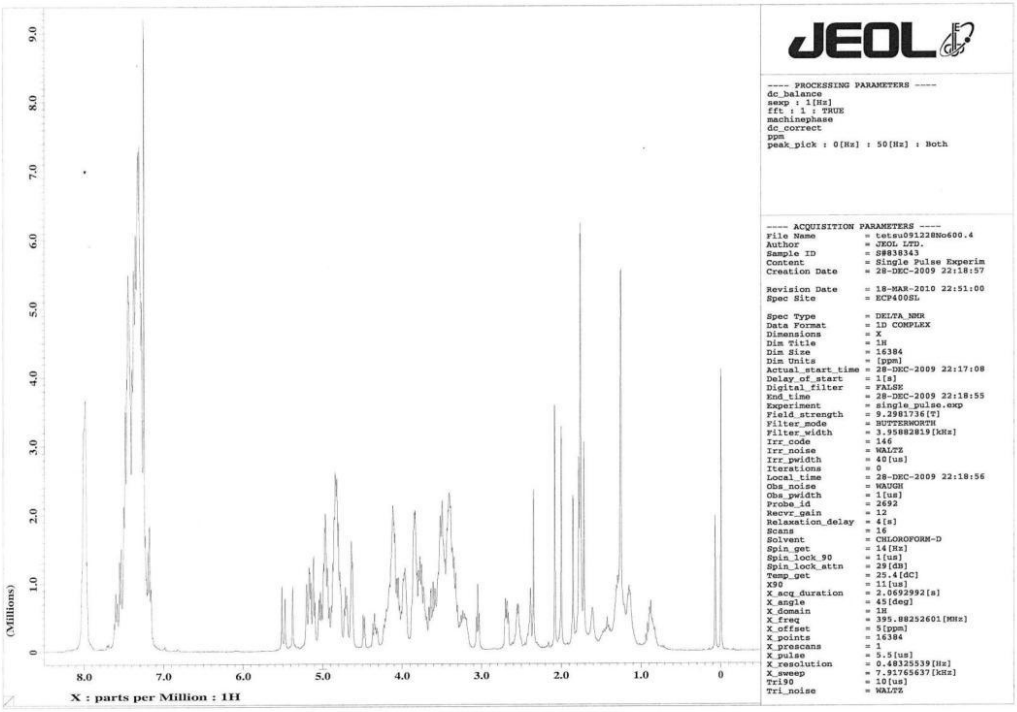

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
H1
H2
OH

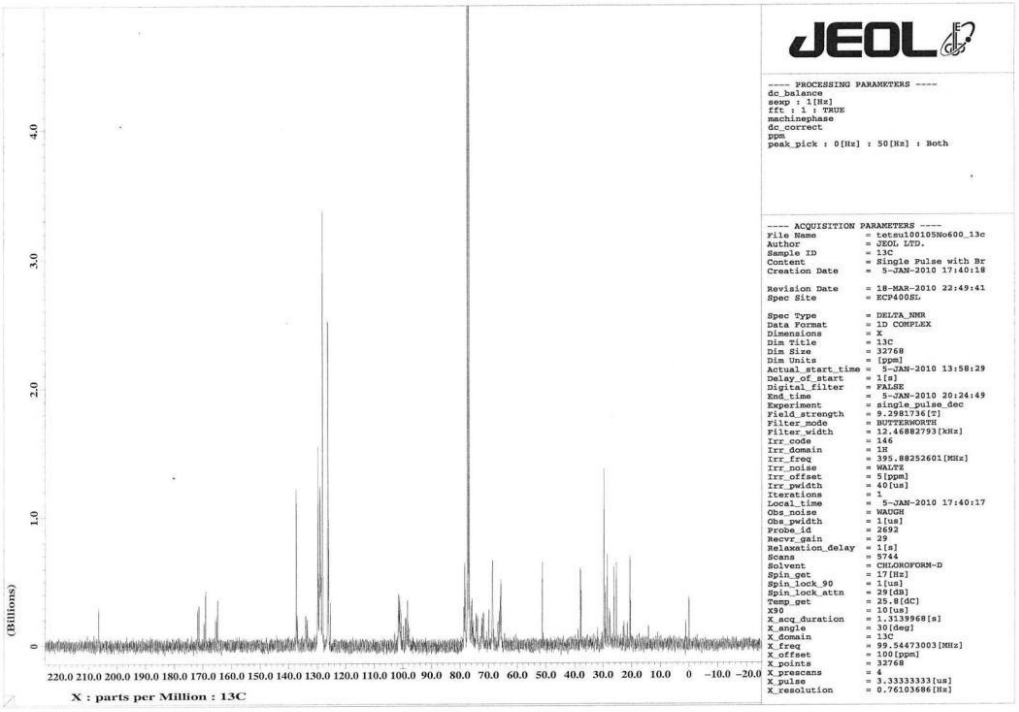

Ph
HO
OH
OBz
OAc
N3
6

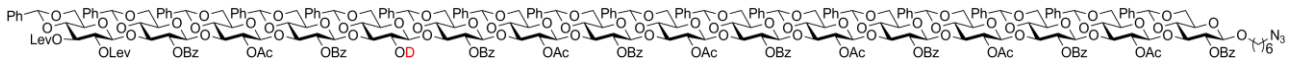

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
ppm
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100318No488-12N
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S8487020
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-MAR-2010 12:32:04
Revision Date = 18-MAR-2010 13:37:16
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-MAR-2010 12:30:15
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-MAR-2010 12:32:02
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 1[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-MAR-2010 12:32:04
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.2[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

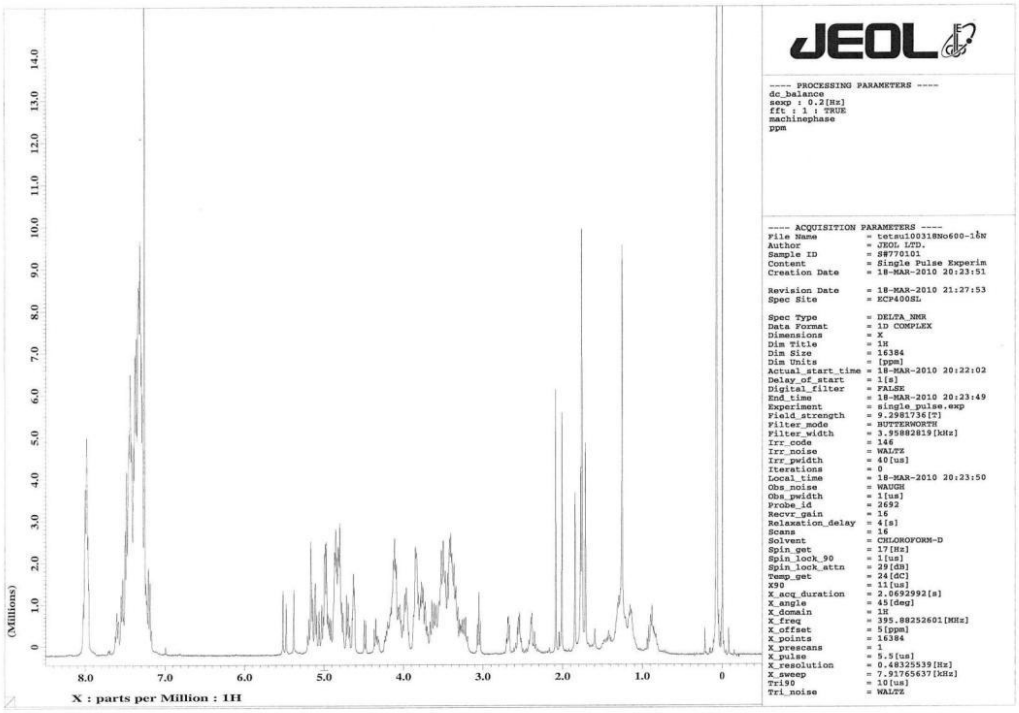

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090713No488_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 13-JUL-2009 18:32:18
Revision Date = 18-MAR-2010 22:44:25
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 13-JUL-2009 18:02:42
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 13-JUL-2009 19:20:09
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 13-JUL-2009 18:32:17
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 760
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27.8[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Millions)
X : parts per Million : 13C

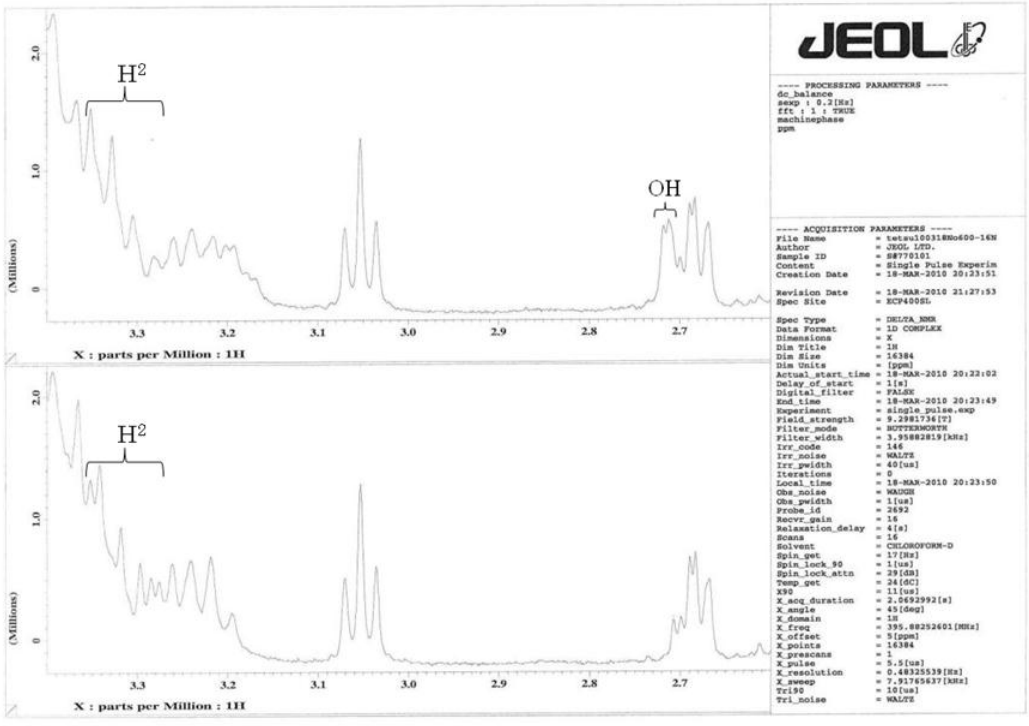

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OH
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
O
N3
6

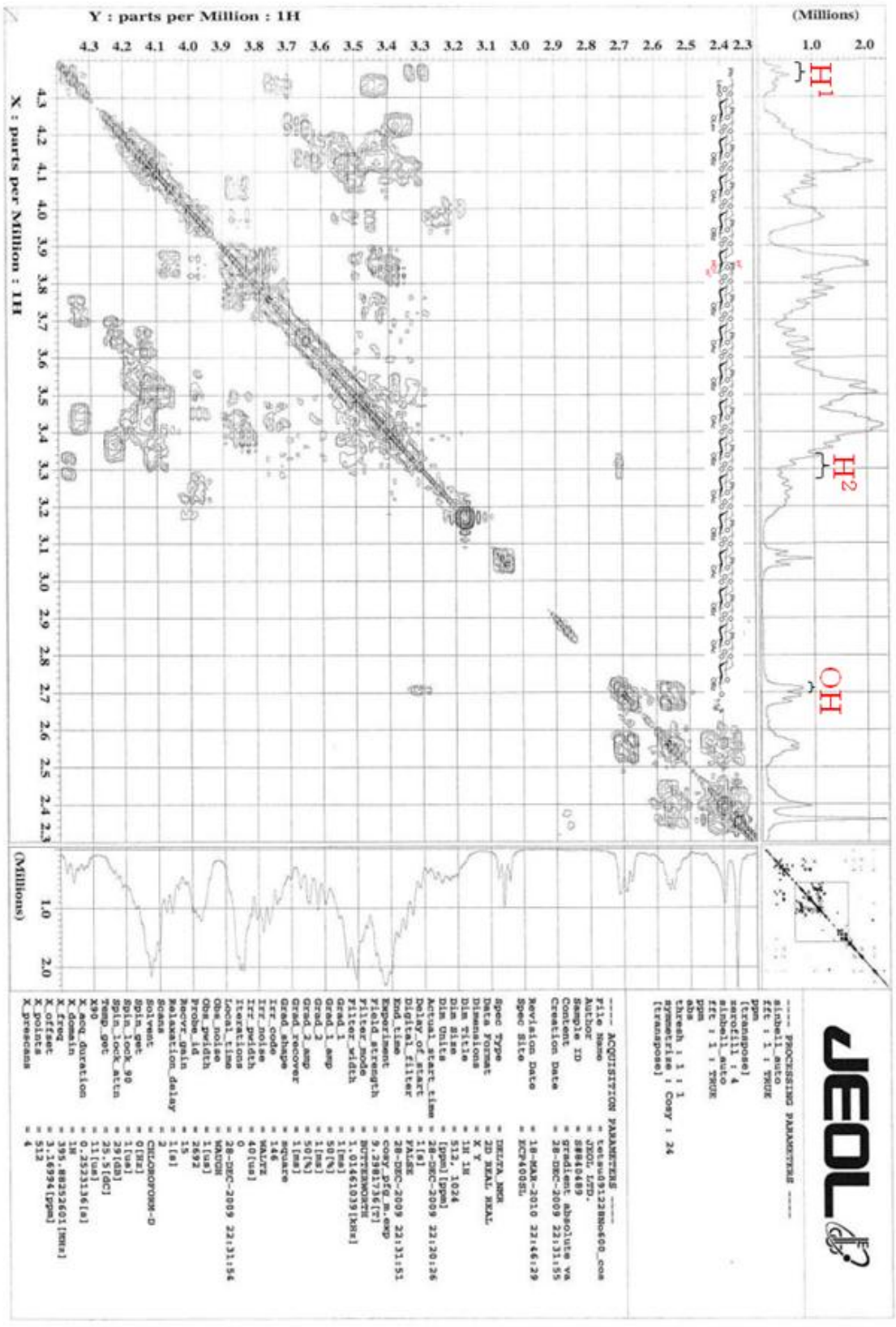

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu091228No600.4
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 88838343
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 28-DEC-2009 22:18:57
Revision Date = 18-MAR-2010 22:51:00
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 28-DEC-2009 22:17:08
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 28-DEC-2009 22:18:55
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 28-DEC-2009 22:18:56
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 12
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 14[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 25.4[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

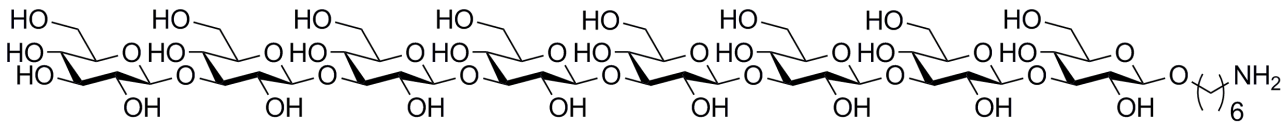

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100105No600_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 5-JAN-2010 17:40:18
Revision Date = 18-MAR-2010 22:49:41
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 5-JAN-2010 13:58:29
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 5-JAN-2010 20:24:49
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 5
Local_time = 5-JAN-2010 17:40:17
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 29
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 5744
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 25.8[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

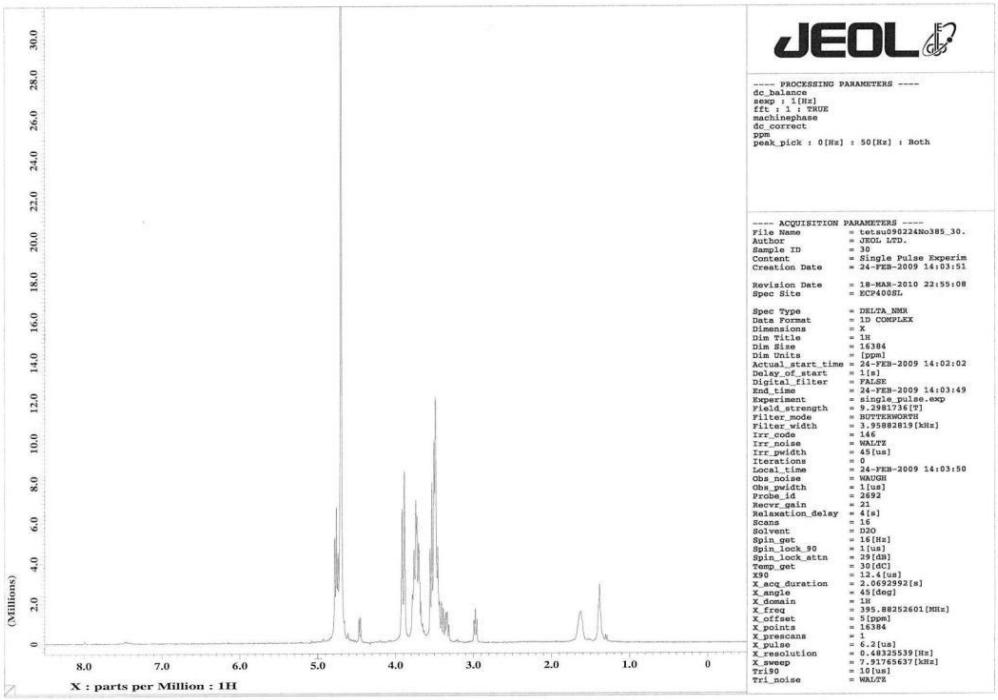

Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OD
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
N3
6

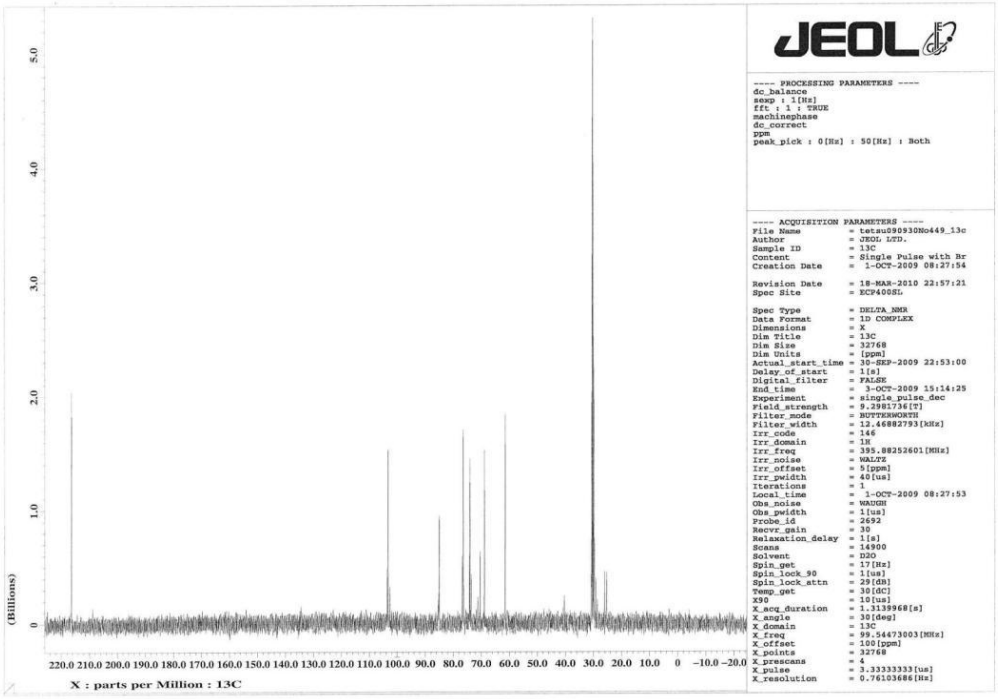

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
ppm
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100318No600-1HN
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#770101
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-MAR-2010 20:23:51
Revision Date = 18-MAR-2010 21:27:53
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-MAR-2010 20:22:02
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-MAR-2010 20:23:49
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-MAR-2010 20:23:50
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

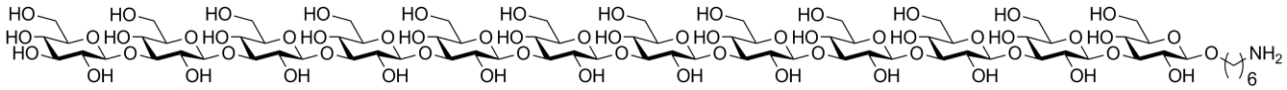

H2
OH
H2
JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
ppm
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100318No600-1HN
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#770101
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-MAR-2010 20:23:51
Revision Date = 18-MAR-2010 21:27:53
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-MAR-2010 20:22:02
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-MAR-2010 20:23:49
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-MAR-2010 20:23:50
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 16
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

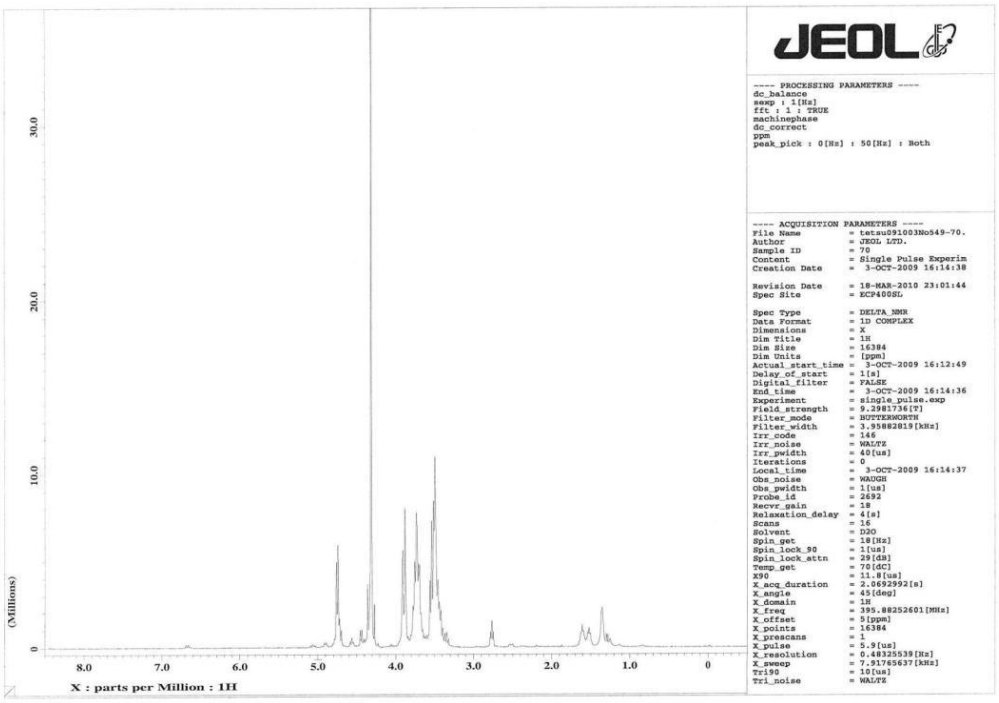

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
H1
H2
OH

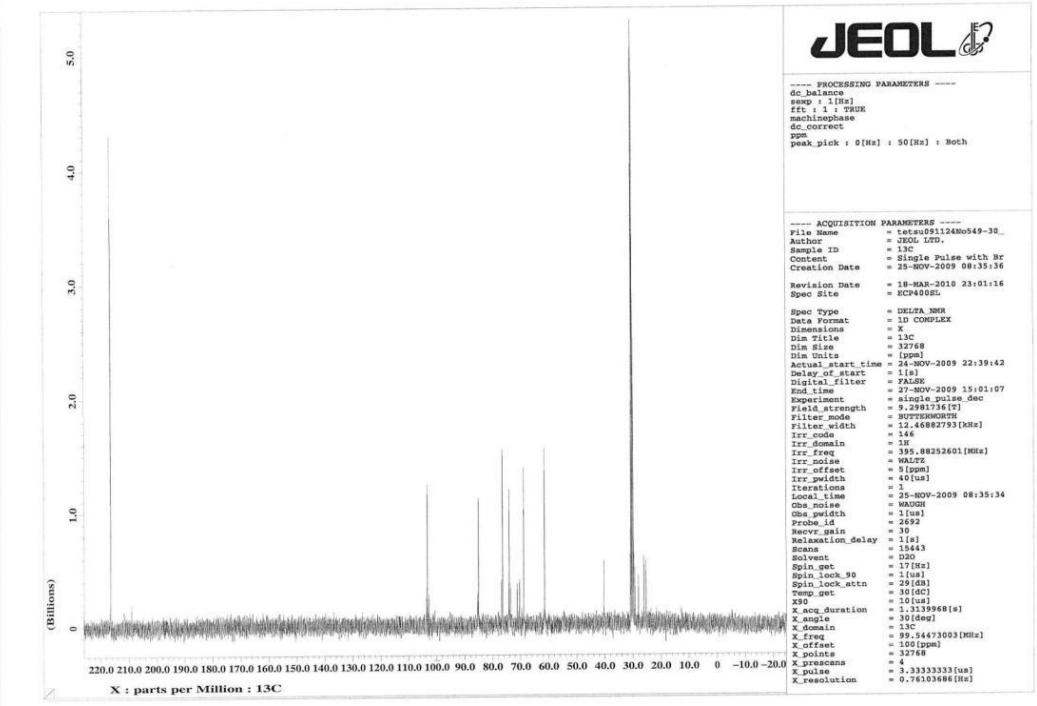


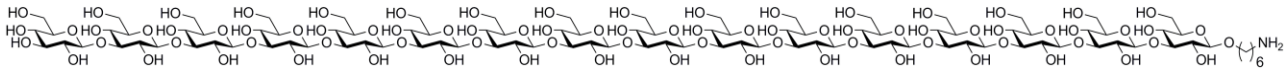

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090224No385_30.
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 30
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 24-FEB-2009 14:03:51
Revision Date = 18-MAR-2010 22:55:08
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 24-FEB-2009 14:02:02
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 24-FEB-2009 14:03:49
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 45[us]
Iterations = 0
Local_time = 24-FEB-2009 14:03:50
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 21
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = D2O
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 30[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

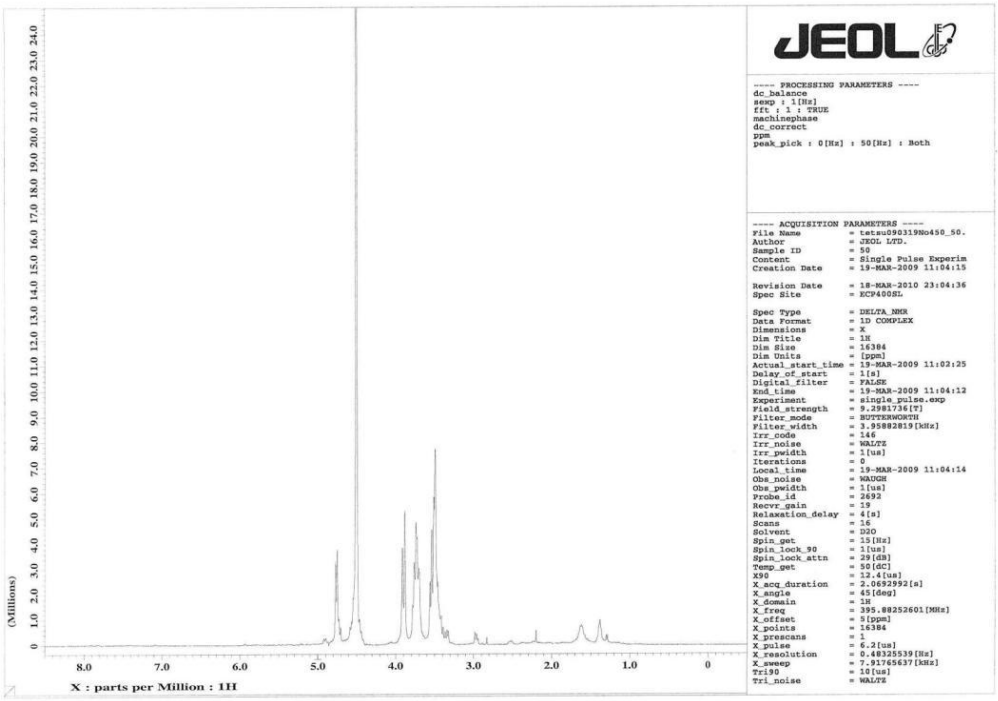

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090930No449_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 1-OCT-2009 08:27:54
Revision Date = 18-MAR-2010 22:57:21
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 30-SEP-2009 22:53:00
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 1-OCT-2009 15:14:25
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 1-OCT-2009 08:27:53
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 14900
Solvent = D2O
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 30[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

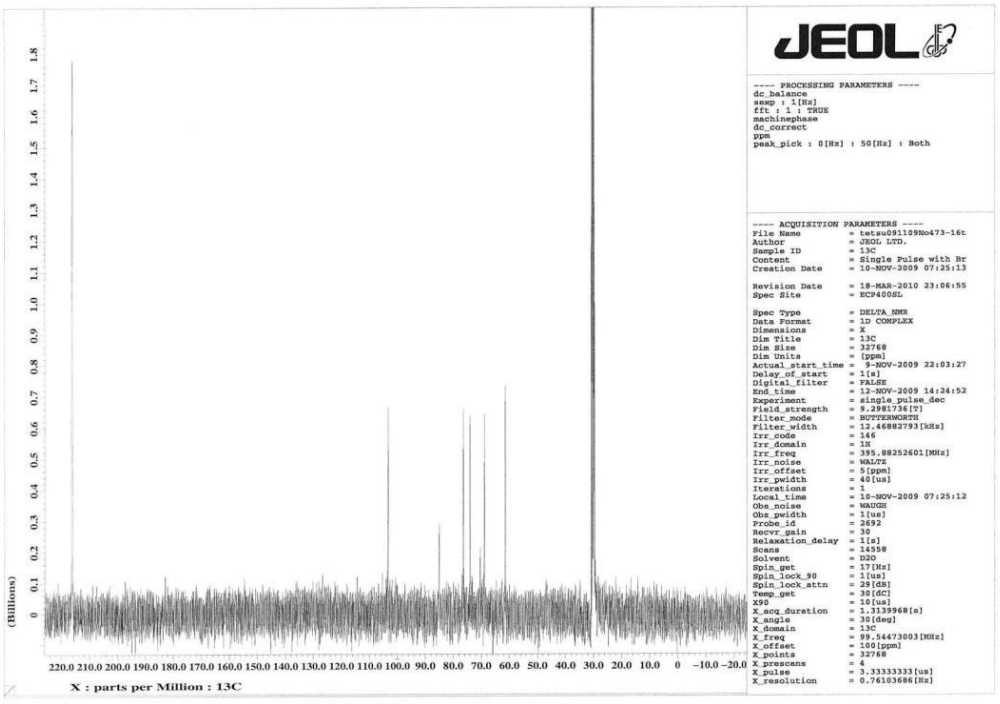


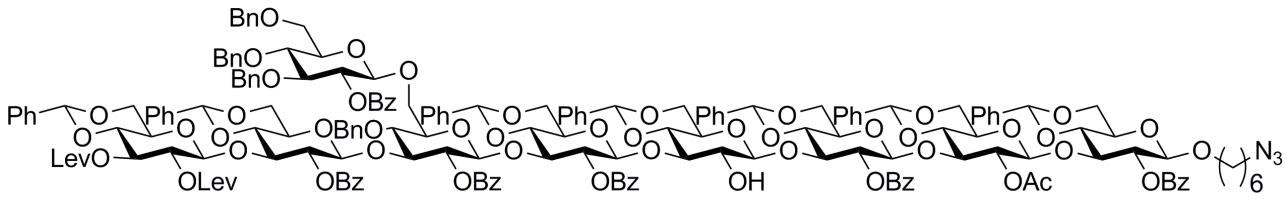

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu091003No549-70.
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 70
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 3-OCT-2009 16:14:38
Revision Date = 18-MAR-2010 23:01:44
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 3-OCT-2009 16:12:49
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 3-OCT-2009 16:14:36
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 3-OCT-2009 16:14:37
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 18
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = D2O
Spin_get = 18[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 70[dC]
X90 = 11.8[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.9[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
30.0
20.0
10.0
0
8.0 7.0 6.0 5.0 4.0 3.0 2.0 1.0 0
X : parts per Million : 1H

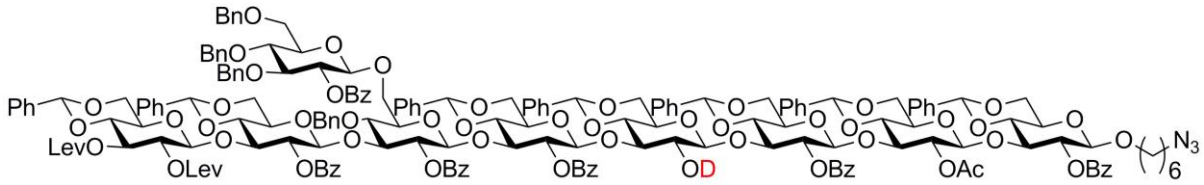

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu091124No549-30_
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 25-NOV-2009 08:35:36
Revision Date = 18-MAR-2010 23:01:16
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 24-NOV-2009 22:39:42
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 27-NOV-2009 15:01:07
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 25-NOV-2009 08:35:34
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 15443
Solvent = D2O
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 30[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0
220.0 210.0 200.0 190.0 180.0 170.0 160.0 150.0 140.0 130.0 120.0 110.0 100.0 90.0 80.0 70.0 60.0 50.0 40.0 30.0 20.0 10.0 0 −10.0 −20.0
X : parts per Million : 13C

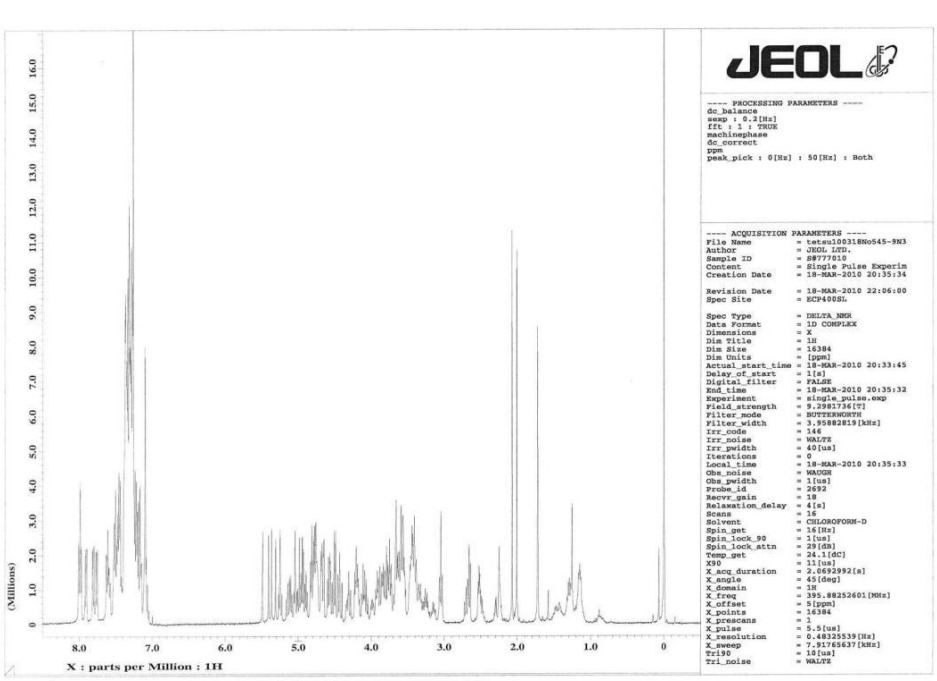


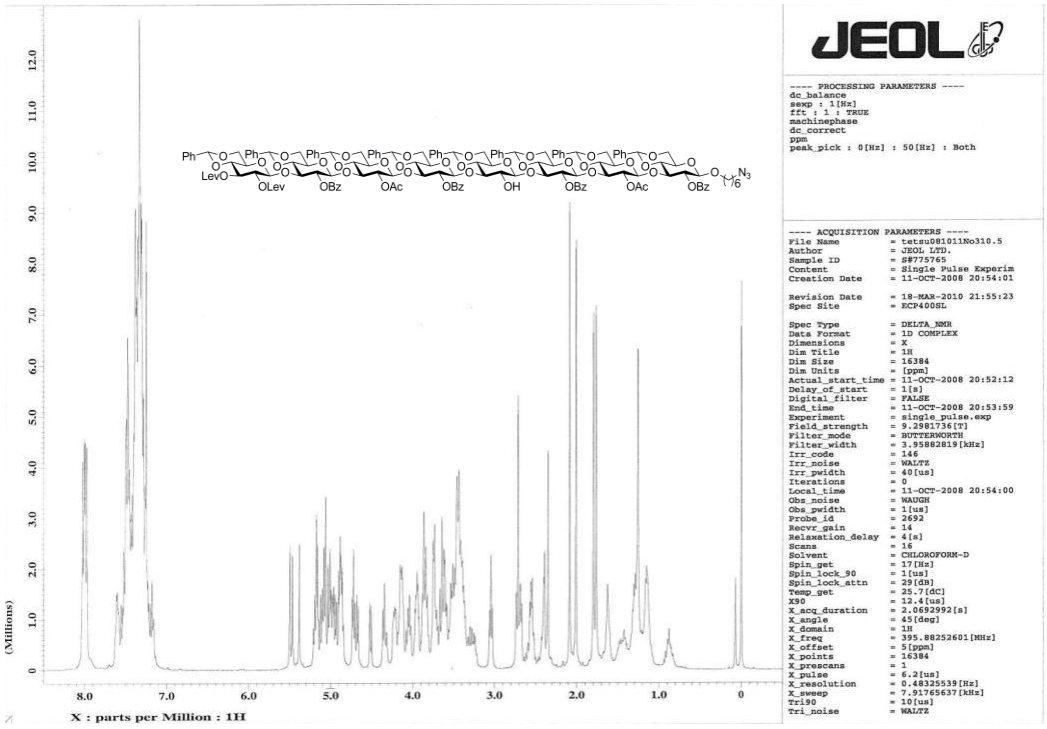

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090319No450_50.
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 50
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 19-MAR-2009 11:04:15
Revision Date = 18-MAR-2010 23:04:36
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 19-MAR-2009 11:02:25
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 19-MAR-2009 11:04:12
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 1[us]
Iterations = 0
Local_time = 19-MAR-2009 11:04:14
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 19
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = D2O
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 50[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

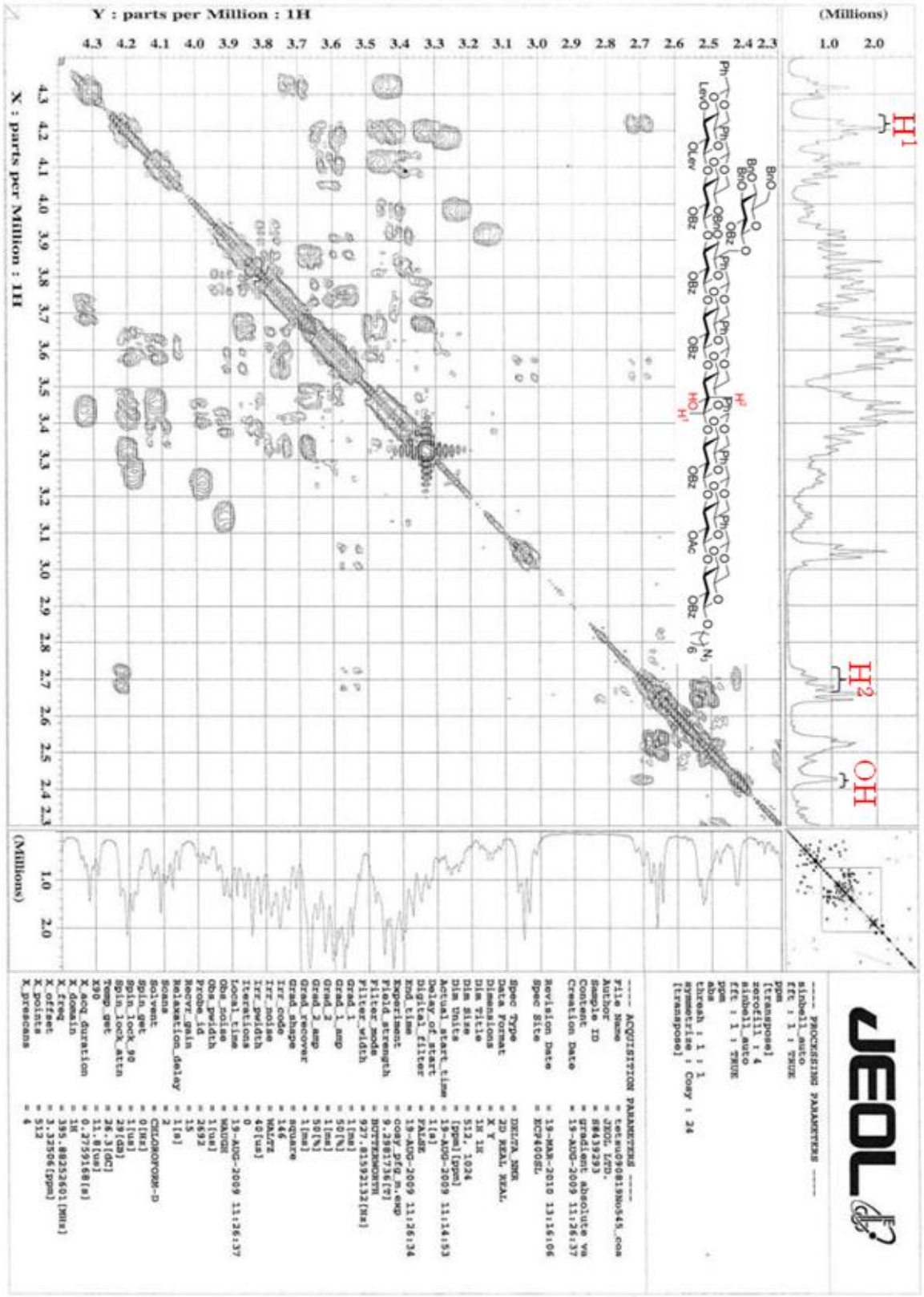

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu091109No473-16t
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 10-NOV-2009 07:25:13
Revision Date = 18-MAR-2010 23:06:55
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 9-NOV-2009 22:03:27
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 12-NOV-2009 14:24:52
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 10-NOV-2009 07:25:12
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 38
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 14558
Solvent = D2O
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 38[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

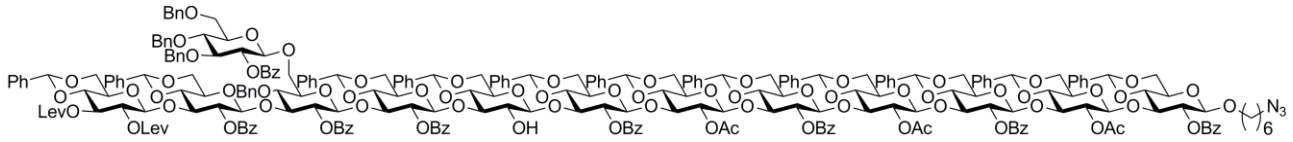

BnO
BnO
BnO
O
O
OBz
Ph
O
Ph
O
OBnO
Ph
O
Ph
O
Ph
O
Ph
O
Ph
O
Ph
O
O
LevO
O
O
O

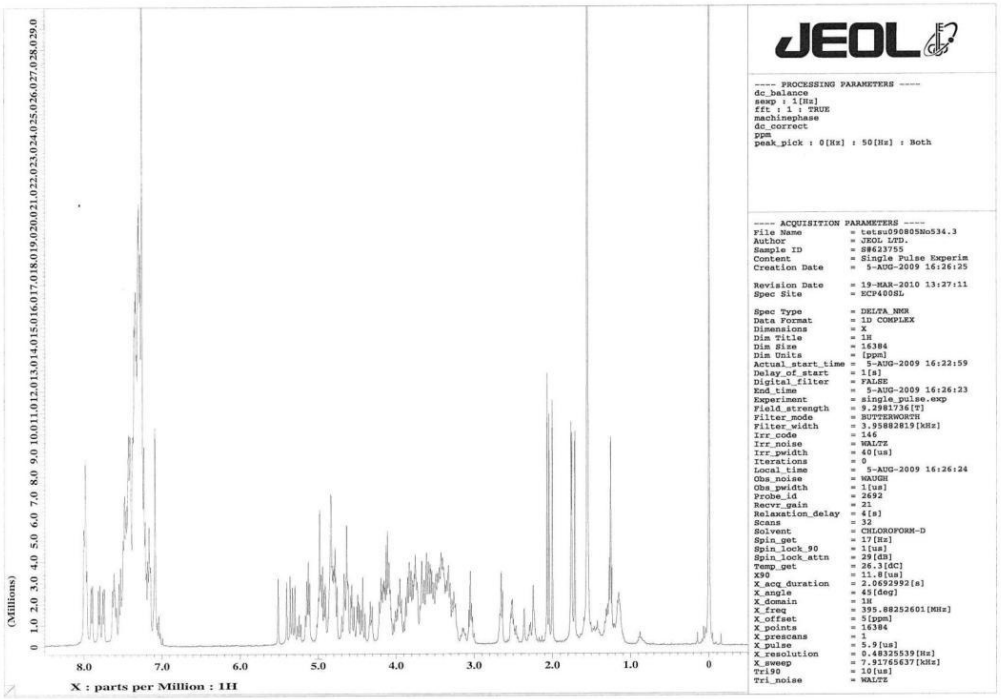

BnO
BnO
BnO
OBz
Ph
LevO
OLev
OBz
OBz
OBz
OD
OBz
OAc
OBz
N3
6

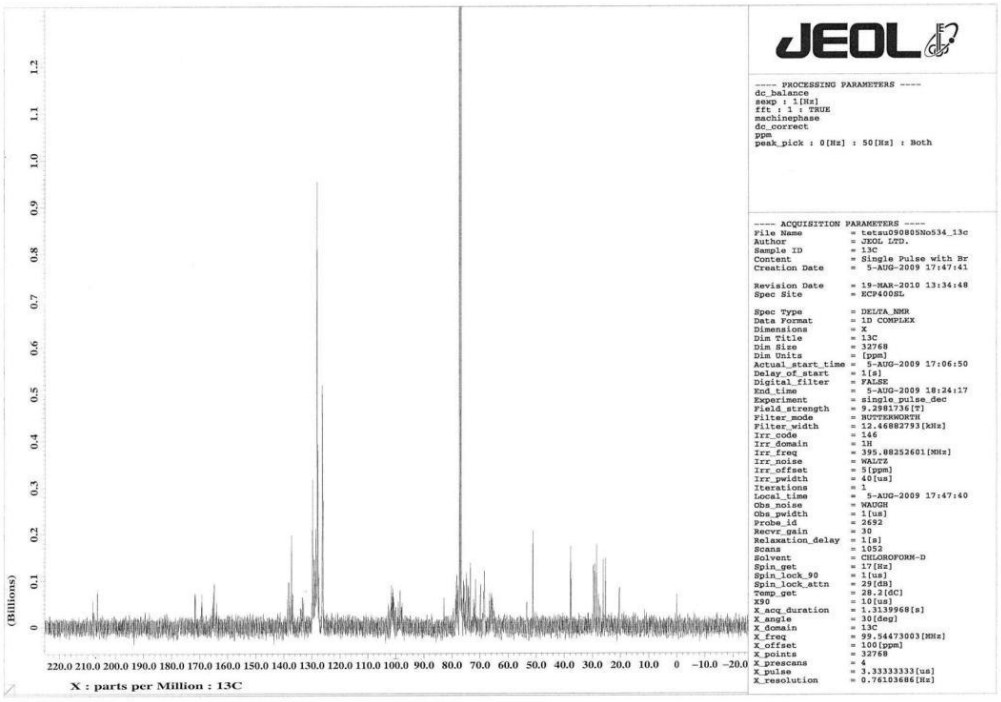

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100318No545-9N3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#777010
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-MAR-2010 20:35:34
Revision Date = 18-MAR-2010 22:06:00
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-MAR-2010 20:33:45
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-MAR-2010 20:35:32
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.3981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-MAR-2010 20:35:33
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 18
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.1[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

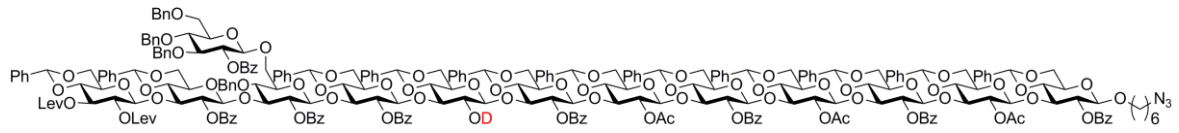

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu081011No310.5
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#775765
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 11-OCT-2008 20:54:01
Revision Date = 18-MAR-2010 21:55:23
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 11-OCT-2008 20:52:12
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 11-OCT-2008 20:53:59
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 11-OCT-2008 20:54:00
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 14
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 25.7[dC]
X90 = 12.4[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 6.2[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
Ph
LevO
OLev
OBz
OAc
OBz
OH
OBz
OAc
OBz
N3
6
(Millions)
X : parts per Million : 1H

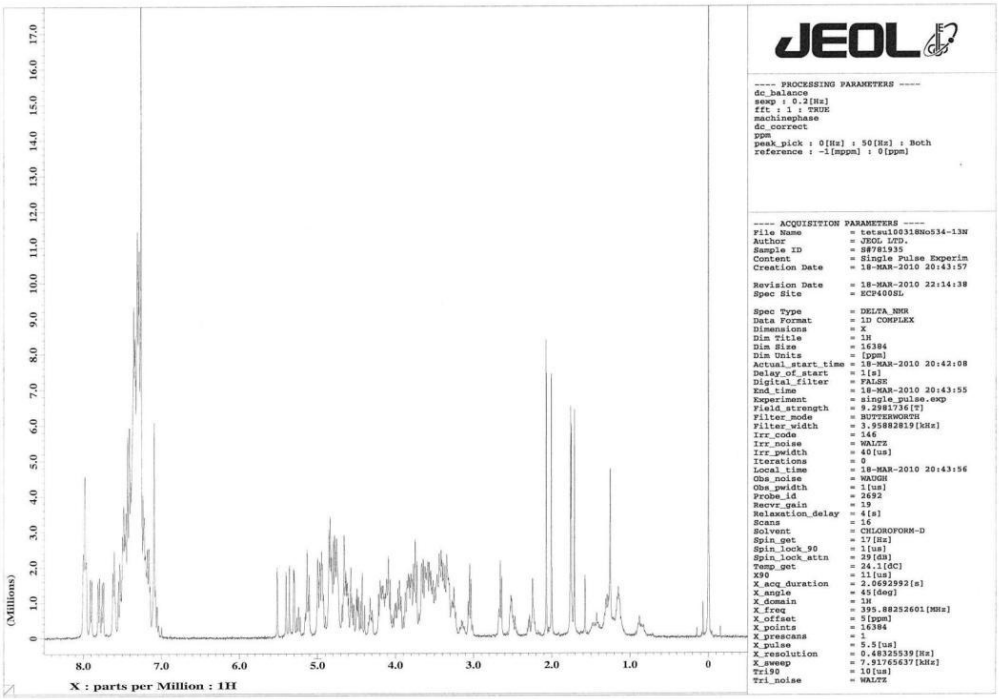

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
H1
H2
OH

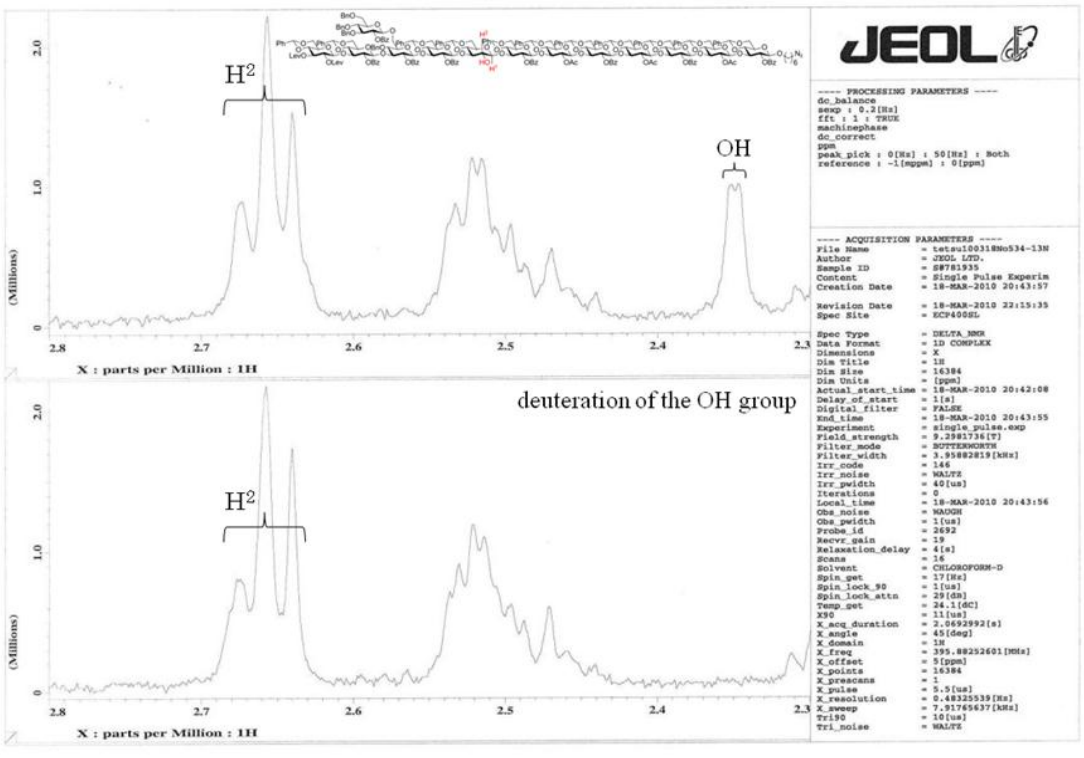

BnO
BnO
BnO
O
OBz
Ph
LevO
OLev
OBz
OBz
OBz
OH
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
N3
6

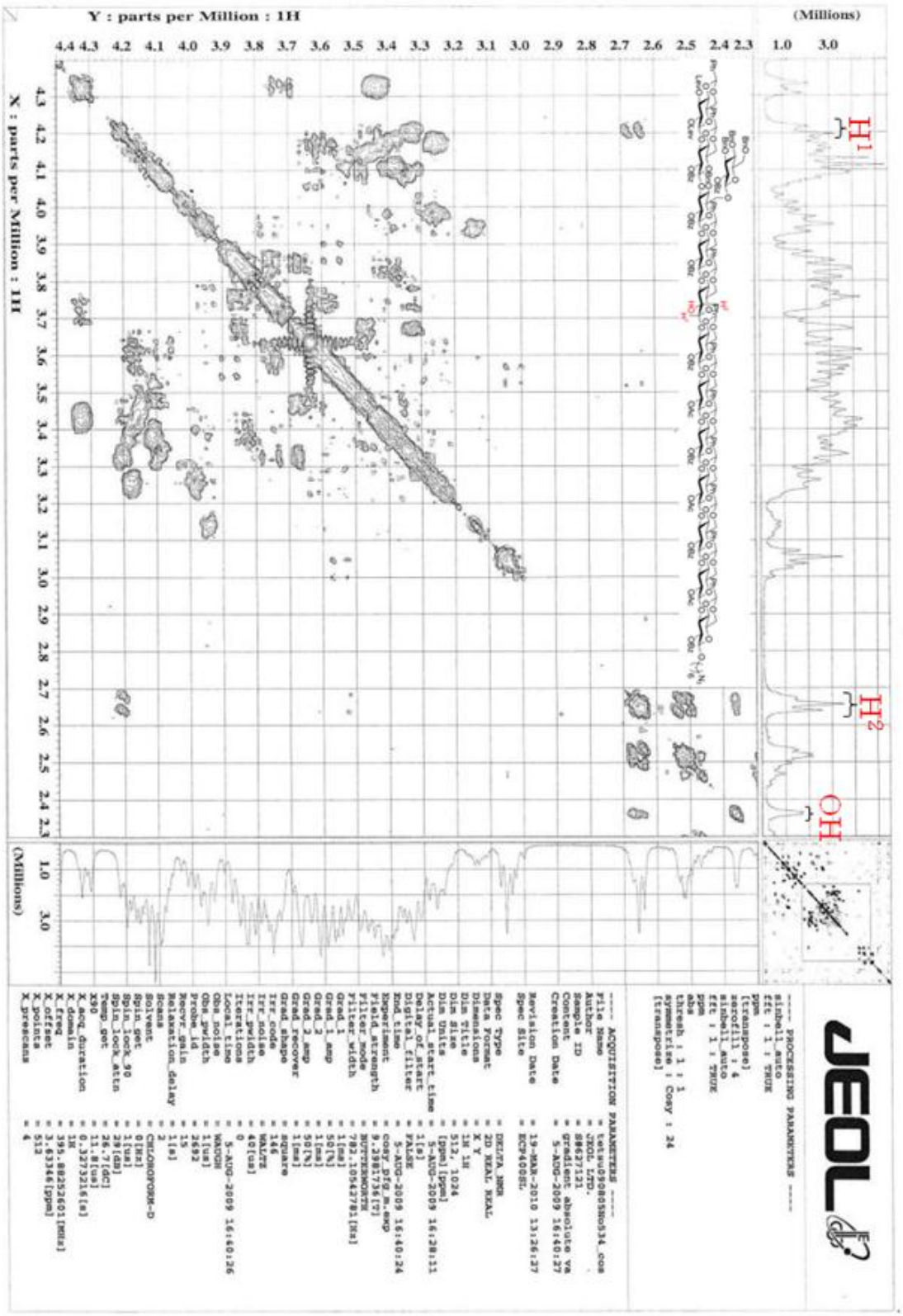

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090805No534.3
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 88623755
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 5-AUG-2009 16:26:25
Revision Date = 19-MAR-2010 13:27:11
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 5-AUG-2009 16:22:59
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 5-AUG-2009 16:26:23
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 5-AUG-2009 16:26:24
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 21
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 32
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 26.3[dC]
X90 = 11.8[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.9[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

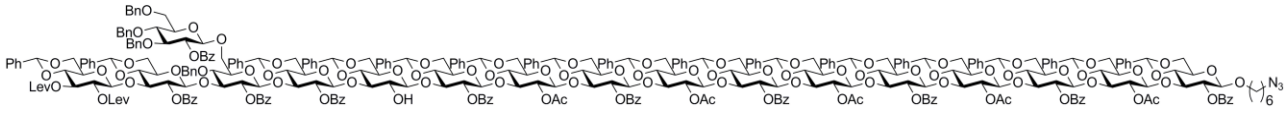

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090805No534_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Dr
Creation Date = 5-AUG-2009 17:47:41
Revision Date = 19-MAR-2010 13:34:48
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 5-AUG-2009 17:06:50
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 5-AUG-2009 18:24:17
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 1H
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 5-AUG-2009 17:47:40
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 1052
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 28.2[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

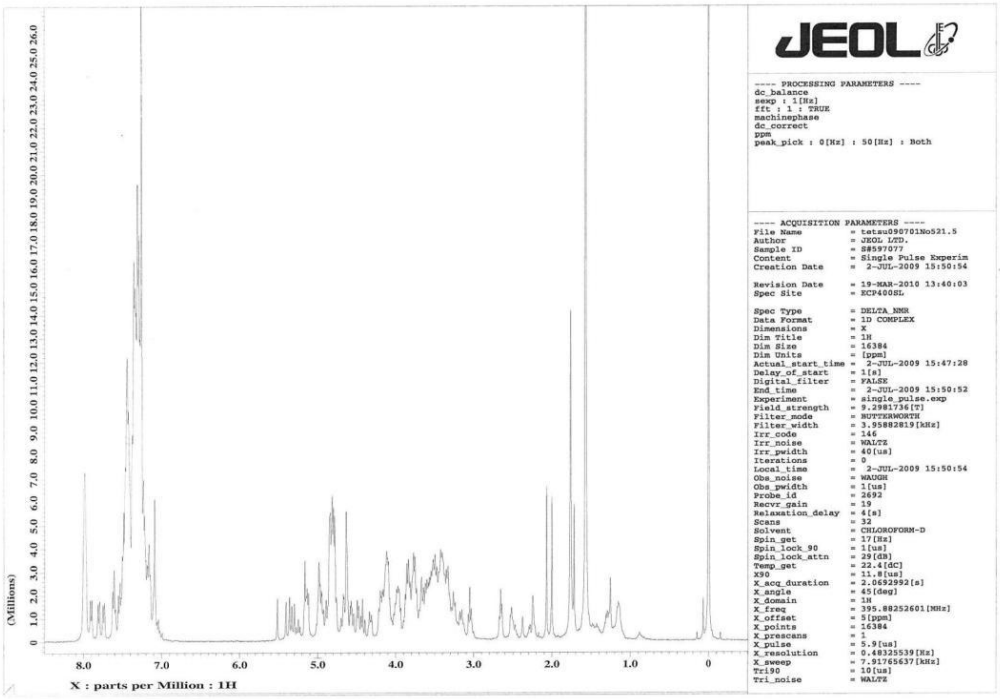

BnO
BnO
BnO
OBz
Ph
LevO
OLev
OBz
OBz
OBz
OD
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
N3
6

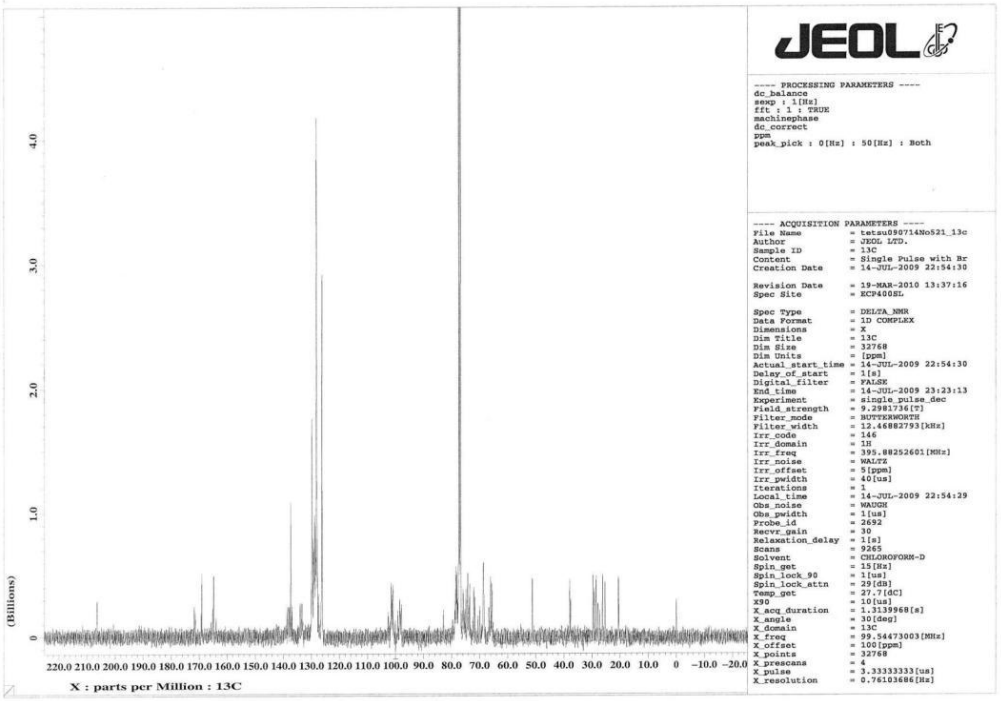

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
reference : -1[mppm] : 0[ppm]
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu10031Nno534-13N
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#781935
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-MAR-2010 20:43:57
Revision Date = 18-MAR-2010 22:14:38
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-MAR-2010 20:42:08
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-MAR-2010 20:43:55
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-MAR-2010 20:43:56
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 19
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.1[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

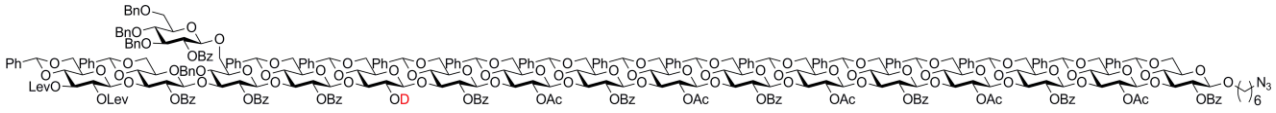

H2
OH
deuteration of the OH group
JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
reference : -1[mppm] : 0[ppm]
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu10031Nno534-13N
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S#781935
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-MAR-2010 20:43:57
Revision Date = 18-MAR-2010 22:15:35
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-MAR-2010 20:42:08
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-MAR-2010 20:43:55
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-MAR-2010 20:43:56
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 19
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.1[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

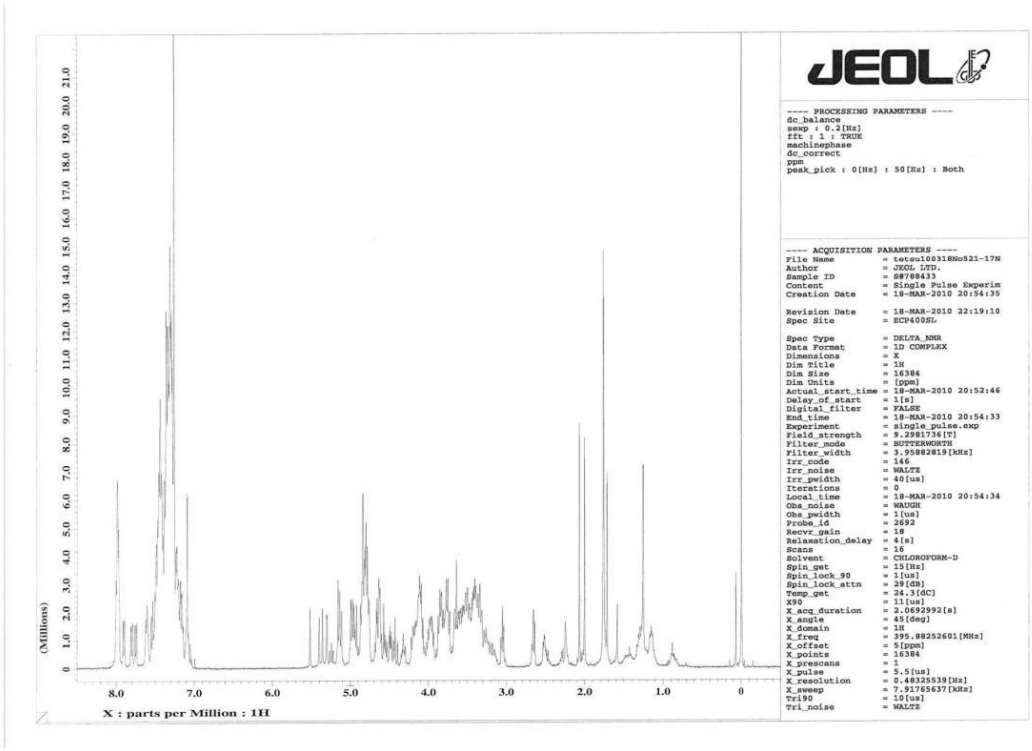

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
H1
H2
OH
JEOL

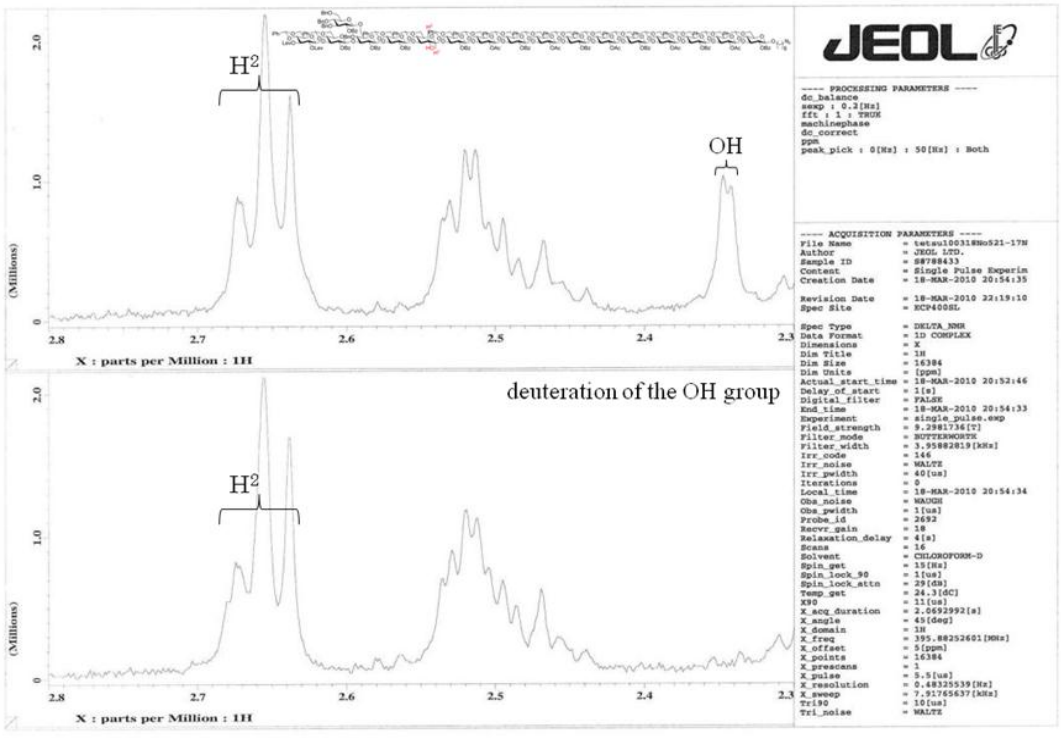

BnO
BnO
BnO
OBz
Ph
LevO
OBnO
OLev
OBz
OH
OAc
N3
6

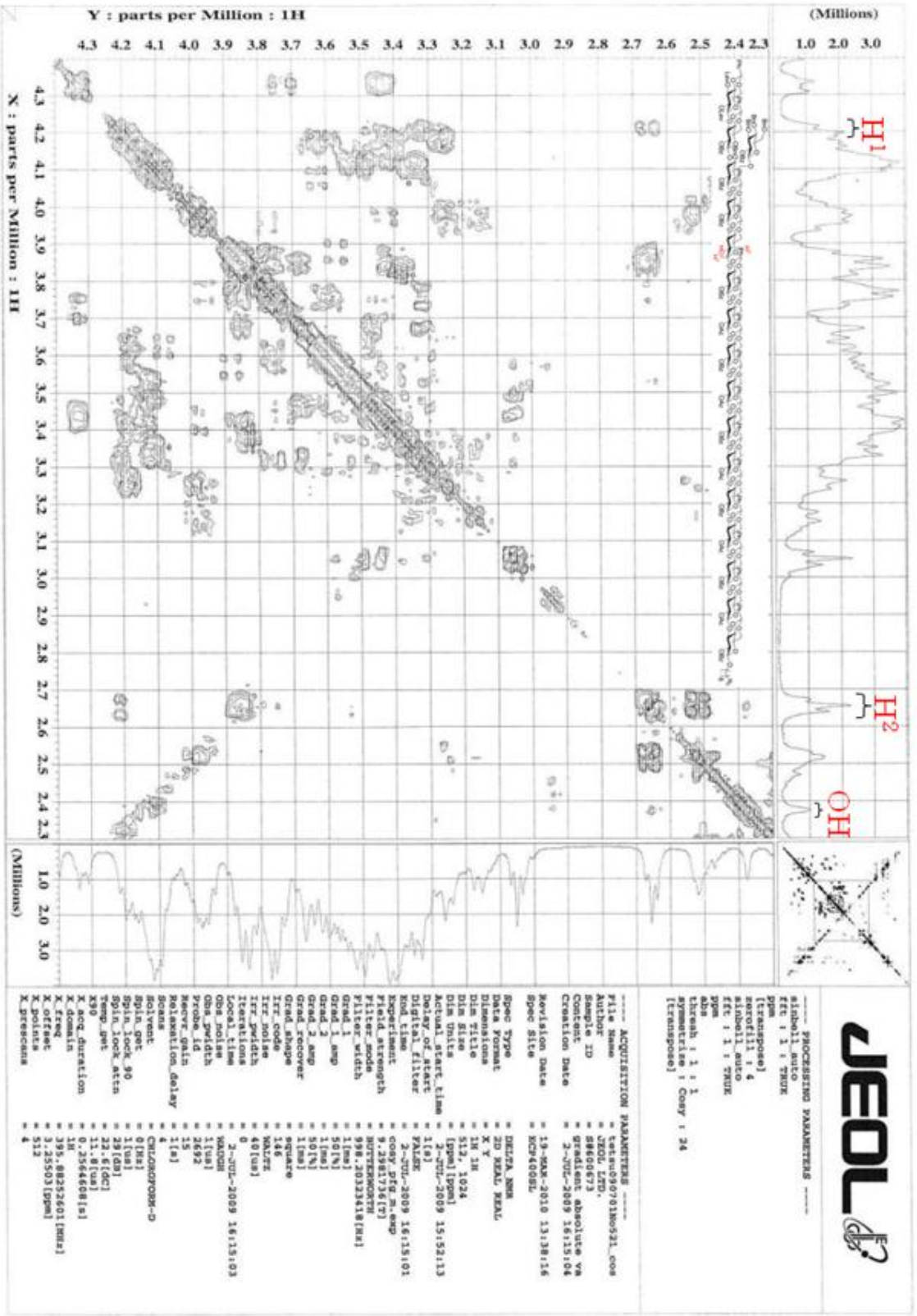

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090701No521.5
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S8597077
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 2-JUL-2009 15:50:54
Revision Date = 19-MAR-2010 13:40:03
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 2-JUL-2009 15:47:28
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 2-JUL-2009 15:50:52
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 2-JUL-2009 15:50:54
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 19
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 32
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 22.4[dC]
X90 = 11.8[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.9[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

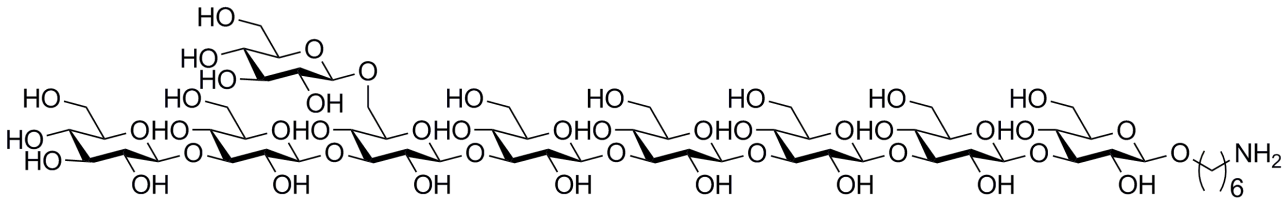

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090714No521_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 14-JUL-2009 22:54:30
Revision Date = 19-MAR-2010 13:37:16
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 14-JUL-2009 22:54:30
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 14-JUL-2009 23:23:13
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 14-JUL-2009 22:54:29
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 9265
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 27.7[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

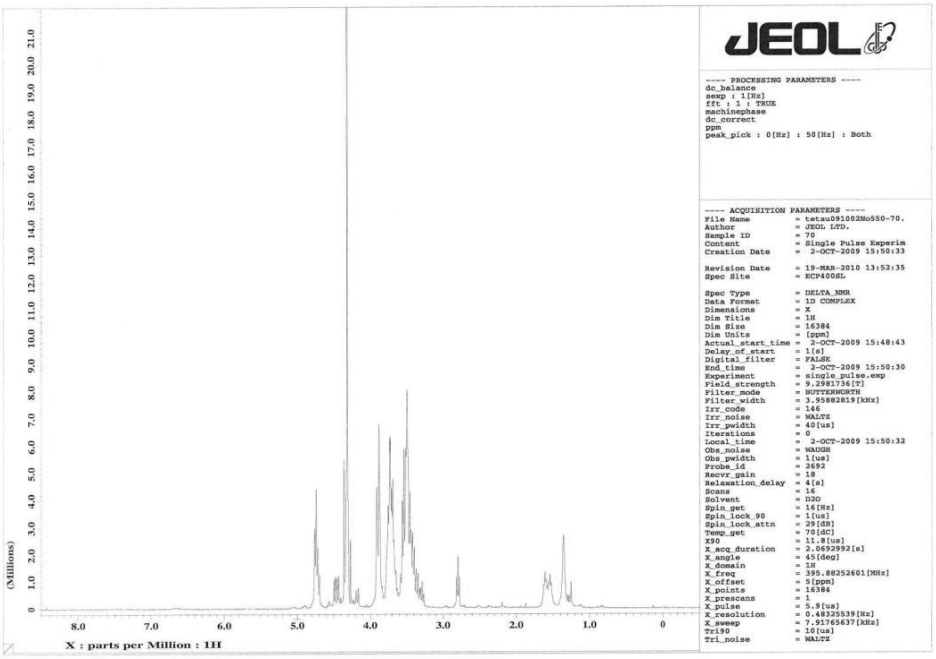

BnO
BnO
BnO
OBz
Ph
LevO
OLev
OBz
OBz
OBz
OD
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
OAc
OBz
N3
6

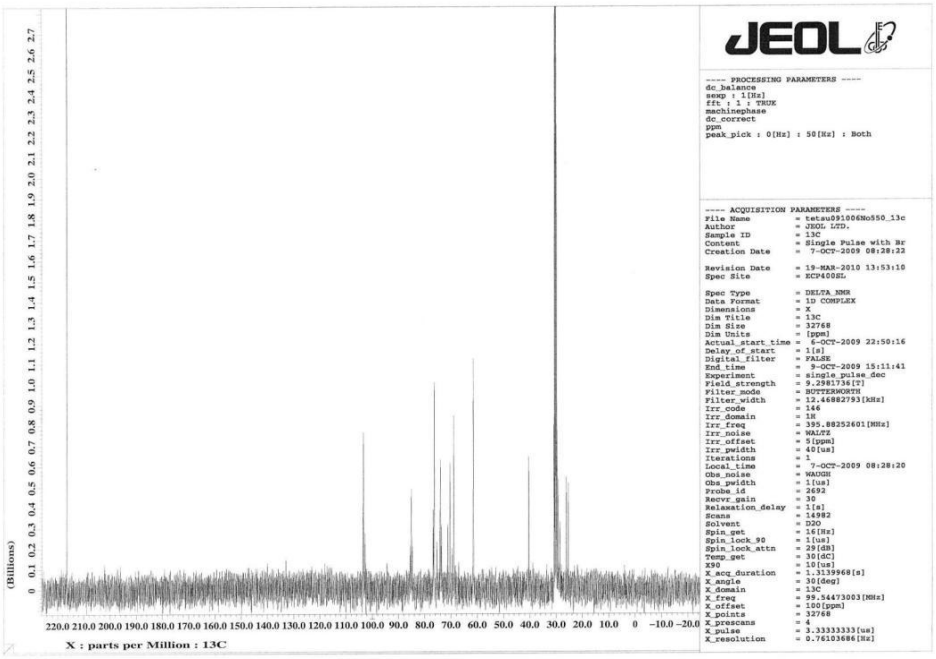

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 0.2[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu100318No521-17N
Author = JEOL LTD.
Sample ID = S8708433
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 18-MAR-2010 20:54:35
Revision Date = 18-MAR-2010 22:19:10
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 18-MAR-2010 20:52:46
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 18-MAR-2010 20:54:33
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 18-MAR-2010 20:54:34
Obs_noise = WALTZ
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 18
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = CHLOROFORM-D
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 24.3[dC]
X90 = 11[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.5[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

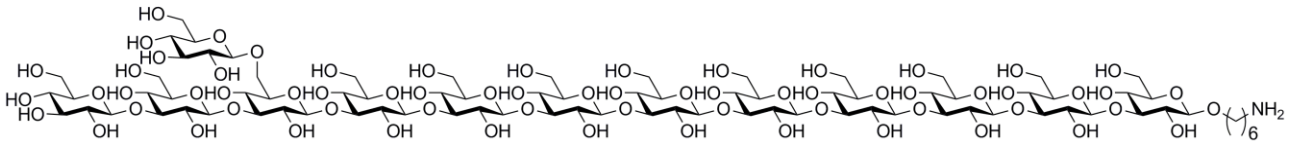

H2
OH
deuteration of the OH group
JEOL
(Millions)
X : parts per Million : 1H

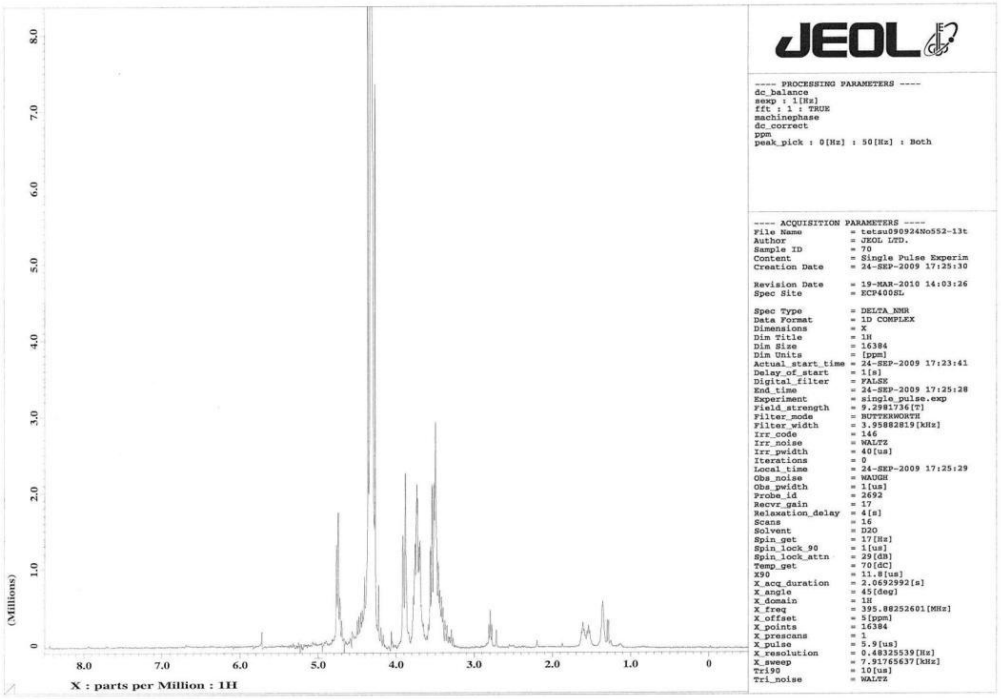

Y : parts per Million : 1H
X : parts per Million : 1H
(Millions)
H1
H2
OH
JEOL

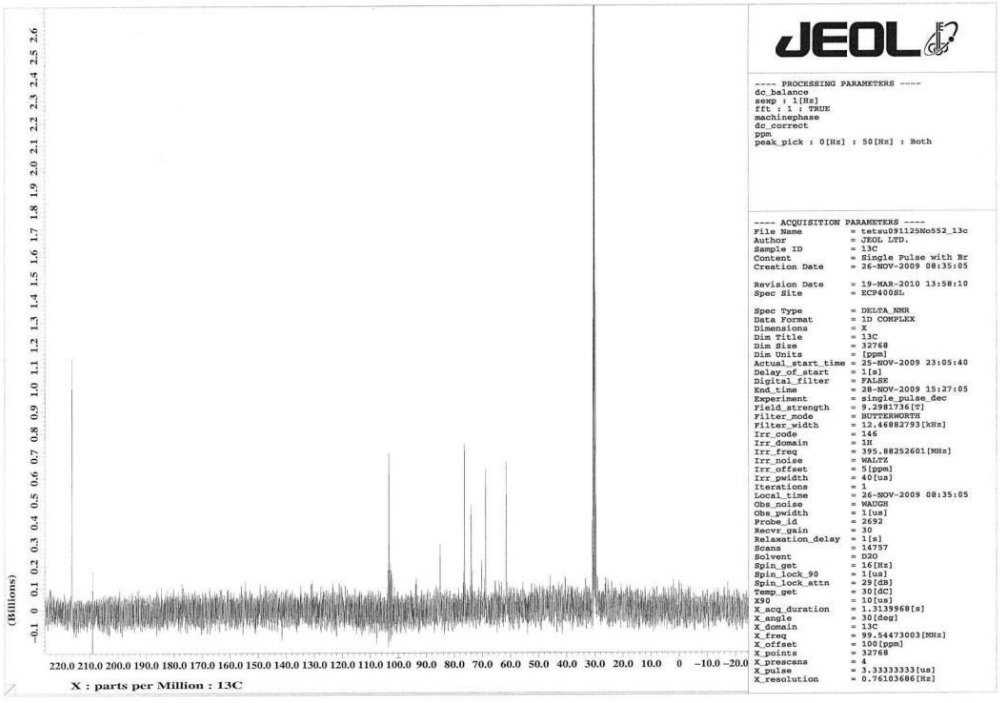


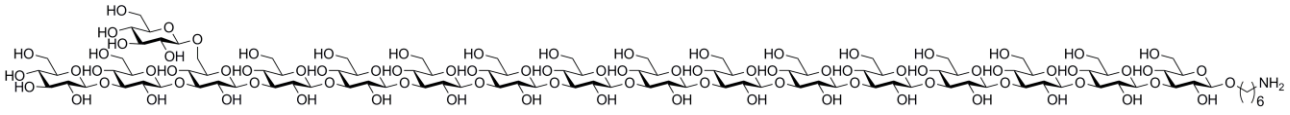

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu091002No550-70.
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 70
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 2-OCT-2009 15:50:33
Revision Date = 19-MAR-2010 13:52:35
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 2-OCT-2009 15:48:43
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 2-OCT-2009 15:50:30
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 0
Local_time = 2-OCT-2009 15:50:32
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 18
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = D2O
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 70[dC]
X90 = 11.8[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.9[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H

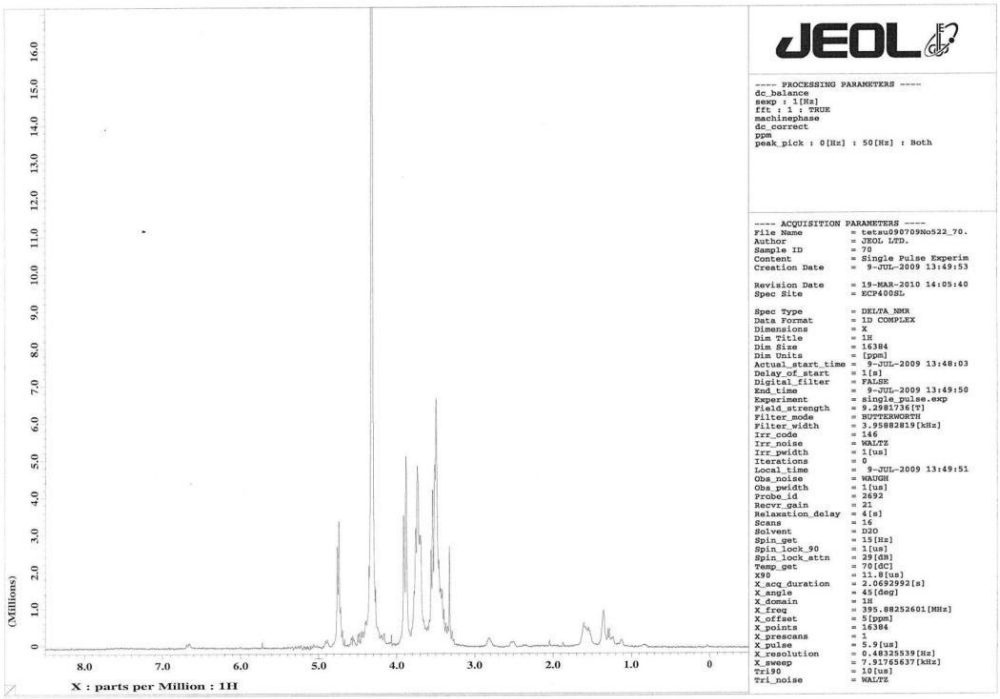

JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu091006No550_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 7-OCT-2009 08:28:22
Revision Date = 19-MAR-2010 13:53:10
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 6-OCT-2009 22:50:16
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 9-OCT-2009 15:11:41
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 7-OCT-2009 08:28:20
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 14982
Solvent = D2O
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 30[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

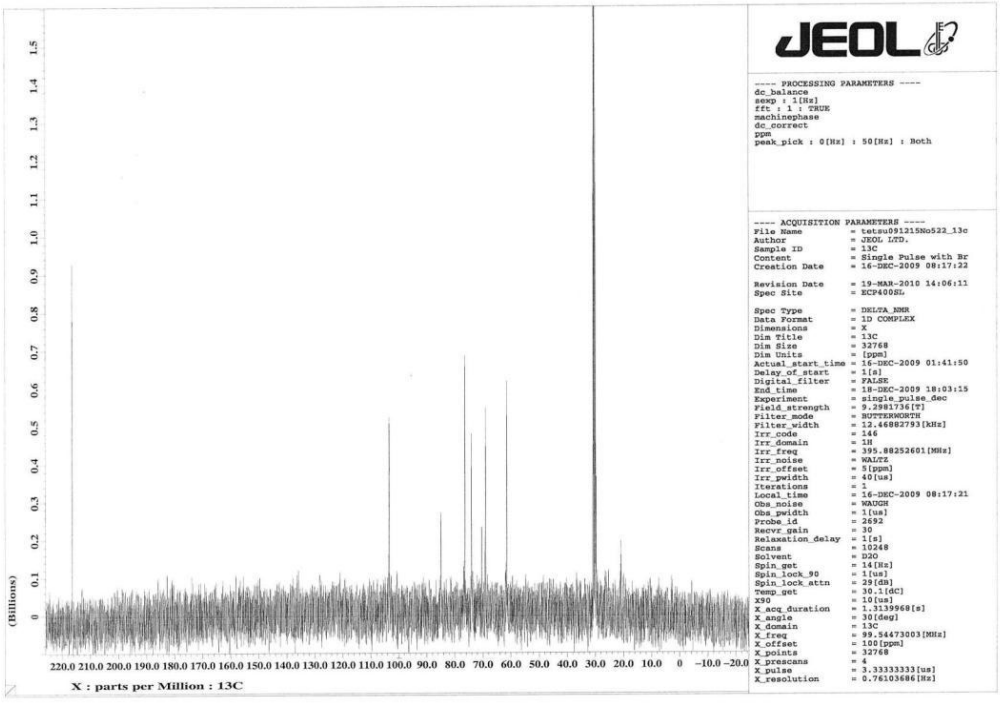



JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090924No552-13t
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 70
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 24-SEP-2009 17:25:30
Revision Date = 19-MAR-2010 14:03:26
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 24-SEP-2009 17:23:41
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 24-SEP-2009 17:25:28
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 9
Local_time = 24-SEP-2009 17:25:29
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 17
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = D2O
Spin_get = 17[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 70[dC]
X90 = 11.8[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.9[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H


JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu091125No552_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 26-NOV-2009 08:35:05
Revision Date = 19-MAR-2010 13:58:10
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA_NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 25-NOV-2009 23:05:40
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 28-NOV-2009 15:27:05
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 26-NOV-2009 08:35:05
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 14757
Solvent = D2O
Spin_get = 16[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 30[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C




JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu090709No522_70.
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 70
Content = Single Pulse Experim
Creation Date = 9-JUL-2009 13:49:53
Revision Date = 19-MAR-2010 14:05:40
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 1H
Dim Size = 16384
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 9-JUL-2009 13:48:03
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 9-JUL-2009 13:49:50
Experiment = single_pulse.exp
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 3.95882819[kHz]
Irr_code = 146
Irr_noise = WALTZ
Irr_pwidth = 1[us]
Iterations = 8
Local_time = 9-JUL-2009 13:49:51
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 21
Relaxation_delay = 4[s]
Scans = 16
Solvent = D2O
Spin_get = 15[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 70[dC]
X90 = 11.8[us]
X_acq_duration = 2.0692992[s]
X_angle = 45[deg]
X_domain = 1H
X_freq = 395.88252601[MHz]
X_offset = 5[ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 1
X_pulse = 5.9[us]
X_resolution = 0.48325539[Hz]
X_sweep = 7.91765637[kHz]
Tri90 = 10[us]
Tri_noise = WALTZ
(Millions)
X : parts per Million : 1H


JEOL
---- PROCESSING PARAMETERS ----
dc_balance
sexp : 1[Hz]
fft : 1 : TRUE
machinephase
dc_correct
ppm
peak_pick : 0[Hz] : 50[Hz] : Both
---- ACQUISITION PARAMETERS ----
File Name = tetsu091215No522_13c
Author = JEOL LTD.
Sample ID = 13C
Content = Single Pulse with Br
Creation Date = 16-DEC-2009 08:17:22
Revision Date = 19-MAR-2010 14:06:11
Spec Site = ECP400SL
Spec Type = DELTA NMR
Data Format = 1D COMPLEX
Dimensions = X
Dim Title = 13C
Dim Size = 32768
Dim Units = [ppm]
Actual_start_time = 16-DEC-2009 01:41:50
Delay_of_start = 1[s]
Digital_filter = FALSE
End_time = 16-DEC-2009 18:03:15
Experiment = single_pulse_dec
Field_strength = 9.2981736[T]
Filter_mode = BUTTERWORTH
Filter_width = 12.46882793[kHz]
Irr_code = 146
Irr_domain = 1H
Irr_freq = 395.88252601[MHz]
Irr_noise = WALTZ
Irr_offset = 5[ppm]
Irr_pwidth = 40[us]
Iterations = 1
Local_time = 16-DEC-2009 08:17:21
Obs_noise = WAUGH
Obs_pwidth = 1[us]
Probe_id = 2692
Recvr_gain = 30
Relaxation_delay = 1[s]
Scans = 10248
Solvent = D2O
Spin_get = 14[Hz]
Spin_lock_90 = 1[us]
Spin_lock_attn = 29[dB]
Temp_get = 30.1[dC]
X90 = 10[us]
X_acq_duration = 1.3139968[s]
X_angle = 30[deg]
X_domain = 13C
X_freq = 99.54473003[MHz]
X_offset = 100[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 4
X_pulse = 3.33333333[us]
X_resolution = 0.76103686[Hz]
(Billions)
X : parts per Million : 13C

第５章

β グルカン糖鎖固定化微粒子の開発

５－１　はじめに

４章の結果から、アミノアルキル基を有する１６糖および１７糖はデクチン１と強い結合を示し、さらに、微弱ながらもデクチン１を介した自然免疫活性化作用を示した。これらはデクチン１を介した生物プロセスの過程を解析するための有用なケミカルプローブになると期待できる。本章では、４章で合成したβグルカン糖鎖を微粒子上に束ねた糖鎖固定化微粒子の開発を行う。多価相互作用が期待できるこれらの微粒子は、高い自然免疫活性化作用を示すだけでなく、蛍光標識化された微粒子を用いることにより細胞への作用を追跡することが可能になる。すなわち、自然免疫活性化プロセス研究のための優れたケミカルプローブになると期待した。本研究では、粒径の異なる微粒子への糖鎖の固定化とその機能評価を行う(Figure 5-1)。

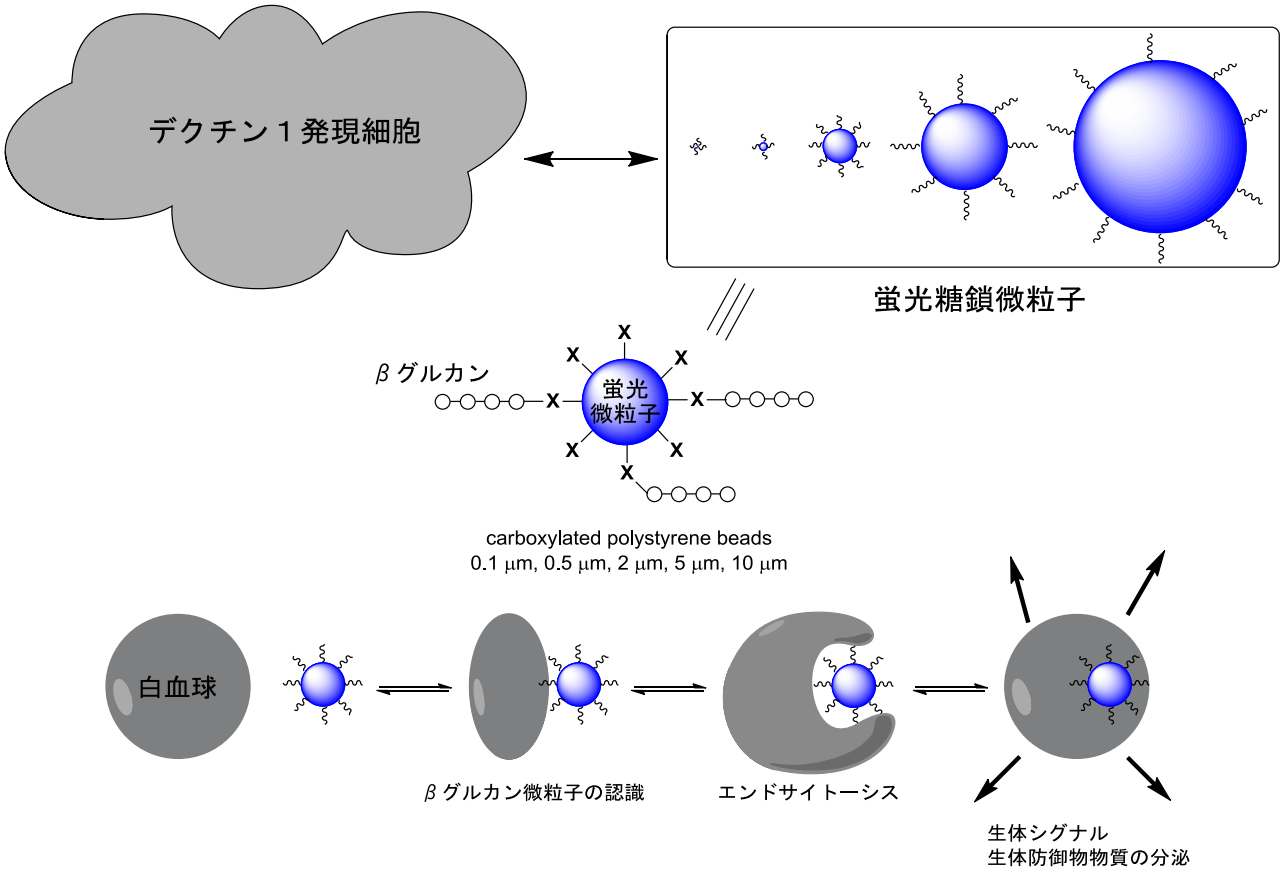


Figure 5-1

５－２　合成計画

糖鎖とタンパク質の相互作用は一般的にはそれほど大きなものではない。そこで、糖鎖を微粒子に集積化することで、より強い相互作用を発揮する多価効果を期待した。糖鎖固定化微粒子を設計

するにあたり、前章で開発したデクチン１結合性かつ免疫活性化作用を示したアミノアルキル基を有する１６糖を用いる。微粒子としては、蛍光標識された均一サイズのビーズを用いて固定化を行う。このような糖鎖蛍光微粒子を開発することで、粒子サイズに依存する白血球細胞における異物の取り込み（エンドサイトーシス）や、エンドサイトーシスと免疫活性化の関係を明らかにできる分子プローブになると期待できる(Figure 5-2)。

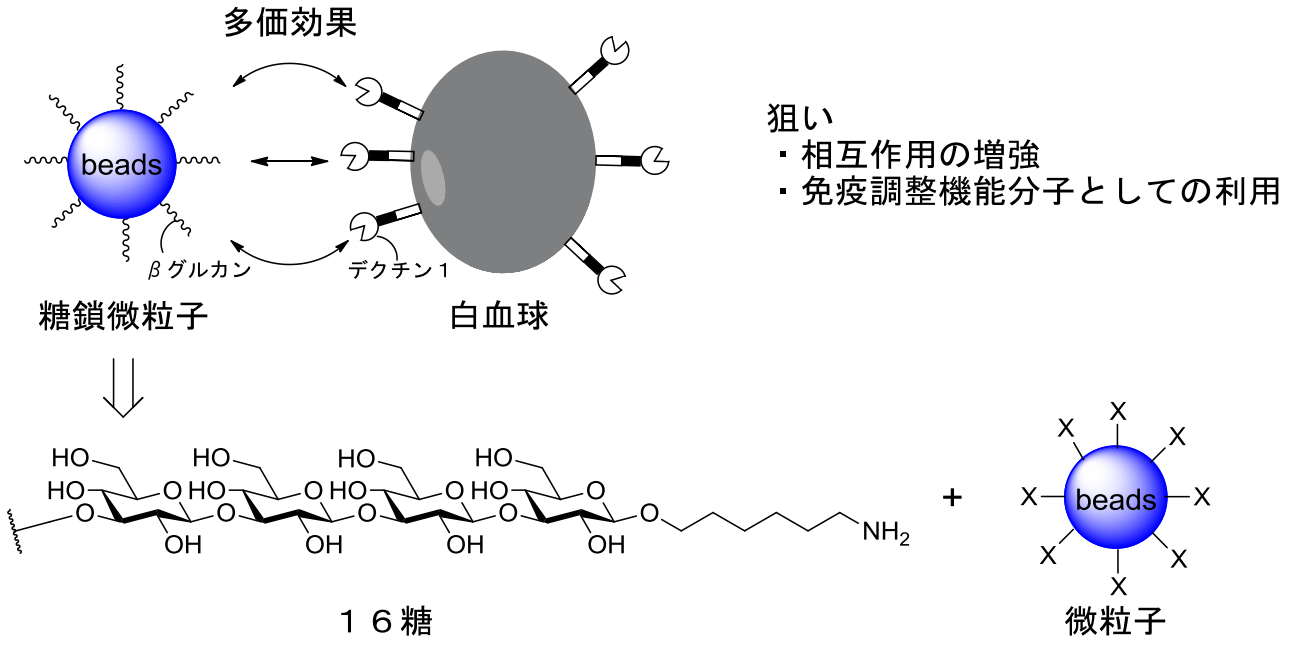


Figure 5-2

第一部　「BioAct gel を固相担体として用いる糖鎖固定化微粒子の合成とその機能評価」

まず、BioAct gel を固相担体として選択し、糖鎖固定化微粒子の合成を計画した。BioAct gel AMI は、ポリヒドロキシメタクリレートで構成される粒径 20～40 μm の微粒子であり、表面に１３炭素のアルキル鎖をスペーサーとする一級アミノ基を有している。主に、標的探索用アフィニティー微粒子として用いられるため、タンパク質の非特異的吸着が少ない。さらに、有機溶媒耐性を有しているために、基質を固定化するために様々な有機反応が適応可能である。しかしながら、蛍光標識化されてはいない。アミノ基を有する糖鎖を固定化するために、固相上のアミノ基をイソチオシアネート基に変換した微粒子 **5-2** の合成を計画した。イソチオシアネート基は安定な置換基であり、弱塩基性条件下、アミノ基を有する化合物と特異的に結合し、チオウレアを形成する。他の結合反応と比べて反応性は高いものではないが、水溶媒中においても安定であり、有用である。イソチオシアネートビーズ **5-2** はアミノビーズ **5-1** から変換する(Figure 5-3)。

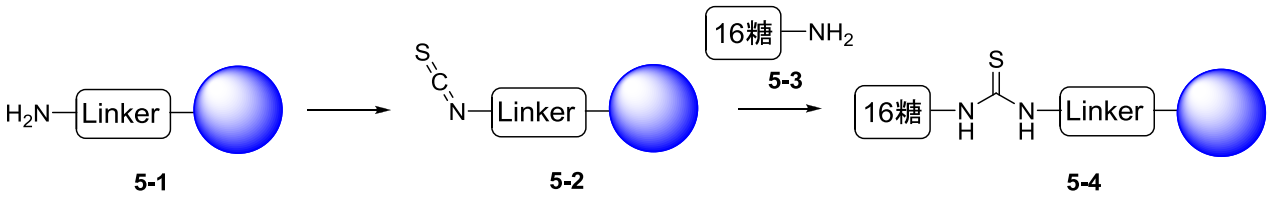


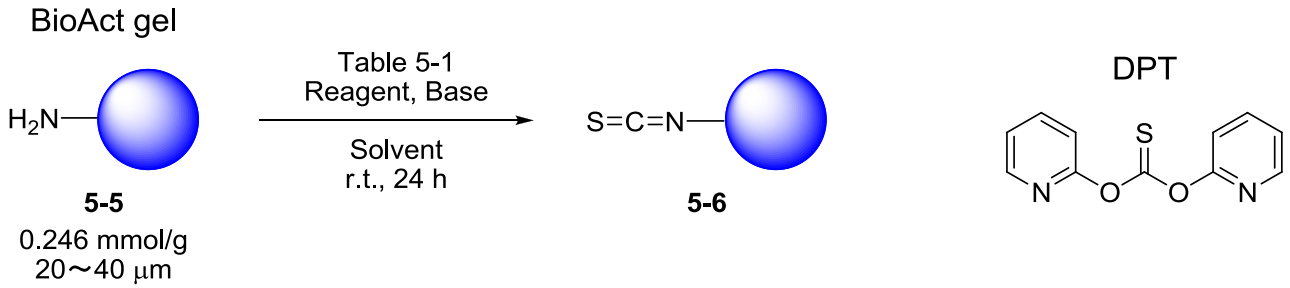
Figure 5-3

５－３　糖鎖固定化微粒子の合成法の確立と機能評価

微粒子 BioAct gel　AMI（粒径 20～40 μm）を用いて４章において合成した糖鎖（直鎖８、１２、１６糖と分岐９、１３、１７糖）の担持を行い、機能評価を行う。アミノ基を有する微粒子のイソチオシアネート化および、糖鎖のチオウレア化を伴う担持について検討する。

５－３－１　微粒子に対する糖鎖担持の検討

BioAct gel アミノ体 **5-5** のイソチオシアネート化の検討を行った（Scheme 5-1、Table 5-1）。反応の進行はカイザーテストによって残存アミンを検出することで確認した。まず、アミンの簡便なイソチオシアネート化の方法として塩基性条件下、アミノ体 **5-5** に対しチオホスゲンを作用させた（Entry 1～4）。アミノ体 **5-5** を水／ジオキサン混合溶媒中、無機塩基とチオホスゲンを加えて反応を行った。24 時間反応後、洗浄により後処理を行った。しかしながら、種々無機塩基を用いるも、アミノ基の消失は見られなかった。固相上では反応性が低いこと、また、チオホスゲンが不安定な試薬であることから、反応が進行する前に試薬が分解してしまったものと考えられる。そこで、より安定なイソチオシアネート化試薬である di-2-pyridyl thionocarbonate（以下 DPT）[1]を用いて反応を行った（Entry 5）。アミノ体 **5-5** を DMF 溶媒中、DPT（0.1 M）を加えることで反応を行った。24 時間反応後、洗浄により後処理を行った。カイザーテストを行ったところ、アミノ基の消失が確認された。以上により、微粒子上のアミノ基を全てイソチオシアネート化することに成功した。

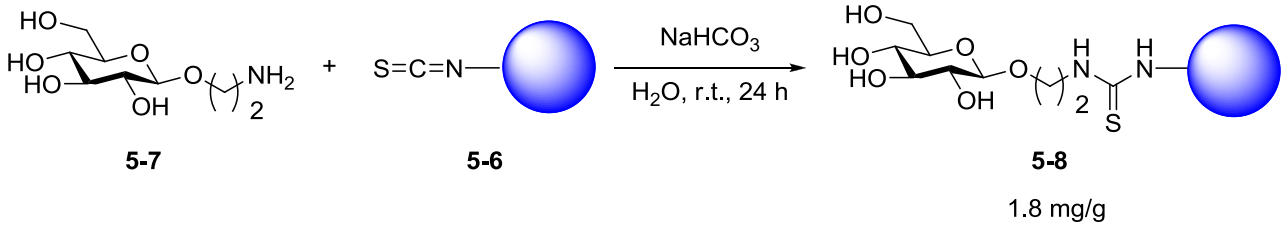


Scheme 5-1

Entry	Reagent	Base	Solvent	kaiser test
1	thiophosgene	NaOH	H_2O/Dioxane (1/1)	(＋)
2	thiophosgene	Na_2CO_3	H_2O/Dioxane (1/1)	(＋)
3	thiophosgene	$NaHCO_3$	H_2O/Dioxane (1/1)	(＋)
4	thiophosgene	phosphate buffer (pH 8.0)	H_2O/Dioxane (1/1)	(＋)
5	DPT	none	DMF	(－)

Table 5-1

続いて、単糖アミノ体 **5-7** を用いて糖鎖の担持の検討を行った（Scheme 5-2)。この際の糖鎖の検出方法としてフェノール硫酸法[2)]を用いた。この手法は硫酸によって糖鎖を分解してフェノール付加体とし、分光光度計（490 nm）にて糖鎖量を大まかに比色定量するものである。イソチオシアネートビーズ **5-6** を 0.1 M 重曹水溶液溶媒中、単糖アミノ体 **5-7** を加えて担持を行った。24 時間反応後、洗浄により後処理を行った。得られたビーズ **5-8** は、フェノール硫酸法により糖鎖が担持されていることを確認した（糖鎖量 1.8 mg/g-beads)。

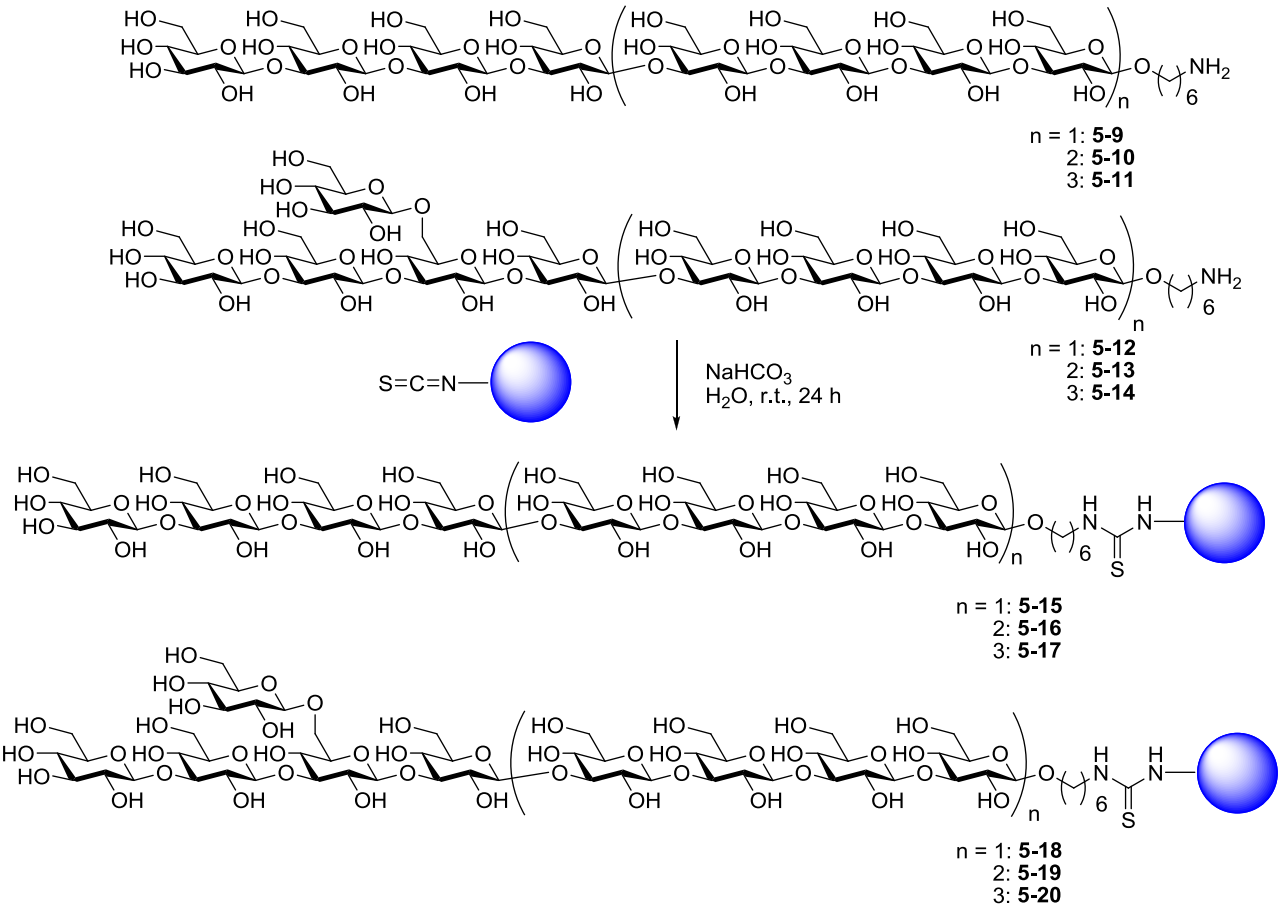


5-7 **5-6** **5-8**

1.8 mg/g

Scheme 5-2

単糖の担持に成功したので、４章において合成した糖鎖（直鎖８、１２、１６糖と分岐９、１３、１７糖）の担持を行った（Scheme 5-3)。イソチオシアネートビーズ **5-6** を 0.1 M 重曹水溶液溶媒中、それぞれの糖鎖アミノ体（**5-9～14**）を加えて担持を行った。24 時間反応後、洗浄により後処理を行った。得られたビーズ **5-15～20** は、フェノール硫酸法により糖鎖の担持量を確認した（糖鎖量 **5-15**(1.1 mg/g)、**5-16**(2.3 mg/g)、**5-17**(3.4 mg/g)、**5-18**(2.5 mg/g)、**5-19**(3.1 mg/g)、**5-20**(2.7 mg/g))。このことから、それぞれ均一な糖鎖を担持した微粒子の合成を達成した。以上により、チオウレア形成を伴う糖鎖担持の方法が１６糖などの大きな糖鎖を用いる際に有用であることが分かった。



Scheme 5-3

５－３－２　BioAct gel を用いた糖鎖固定化微粒子の機能評価

BioAct gel を用いた糖鎖固定化微粒子とデクチン１との結合試験を行った。糖鎖固定化微粒子に対して１次抗体を有するデクチン１を作用させ、その後、蛍光剤（FITC）を有する２次抗体を作用させてデクチン１に結合させた（Figure 5-4）。フローサイトメトリーを用いて、微粒子に対する蛍光強度の測定を行った。この際、デクチン１が微粒子に結合するほど、蛍光強度の強い微粒子が多く見られるはずである。結果を Figure 5-5 に示す。横軸は蛍光強度であり、縦軸は微粒子数を表す。また、黒線は糖鎖固定化微粒子のみを測定したものであり、緑線は糖鎖固定化微粒子にデクチン１を作用させて行ったものである。この比較を行うことで結合の有無を検討する。

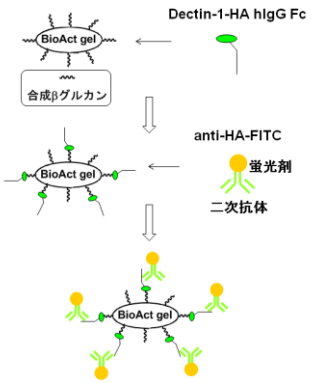


Figure 5-4

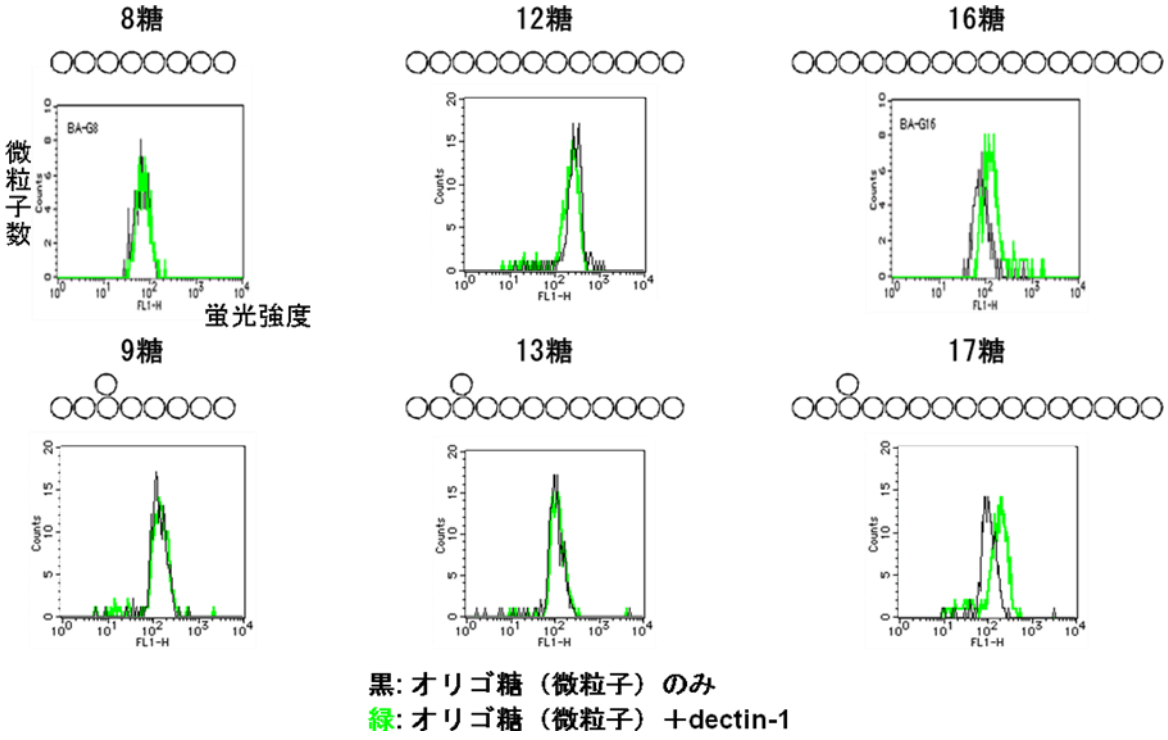


Figure 5-5

この結果より、１６糖微粒子 5-17 と１７糖微粒子 5-20 のみ微粒子の蛍光強度が増加し、デクチン１と結合していることがわかった。しかしながら、主鎖を１２糖とする糖鎖固定化微粒子以下はデクチン１との結合が確認できなかった。この結果より、糖鎖のクラスター効果は主鎖１２糖以下の糖鎖では期待できないと考えられる。

続いて、免疫活性化試験を行った。BioAct gel を用いた糖鎖固定化微粒子（直鎖８糖 5-15、１６糖 5-17、分岐１７糖 5-20 および）の、デクチン１およびそのシグナルシステムを導入した細胞を用いる NF-κB の活性化について検証した。測定結果を Figure 5-6 に示す。横軸はイソチオシアネート微粒子 5-6 と種々糖鎖固定化微粒子（2.5 mg/ml）、および、天然 β グルカン（SPG、2.5 μg/ml）であり、縦軸は NF-κB にアシストされるホタルルシフェラーゼとチミジンキナーゼ（TK）プロモーターにアシストされるウミシイタケルシフェラーゼ（バックグラウンド）の比である。糖鎖を加えないで測定したもの（Nii）を 1.0 としている。測定結果より、結合作用が見られた１６糖微粒子 5-17、１７糖微粒子 5-20 には、天然物と比較すると微弱ではあるが、デクチン１を介した免疫活性化作用を有することを見出した。微粒子自体（5-6）は免疫活性化に影響がなく、微粒子の糖鎖が免疫活性化に寄与している結果である。

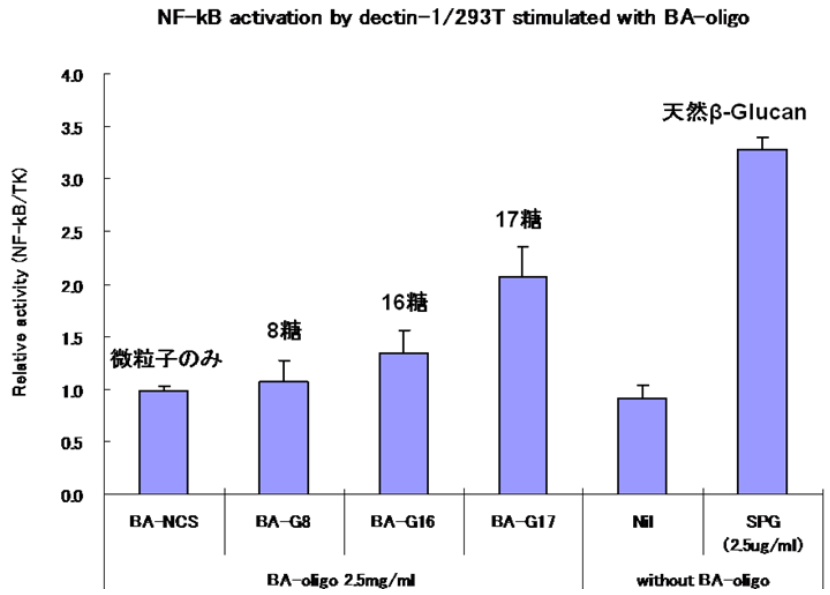


Figure 5-6

５－３－３　まとめ

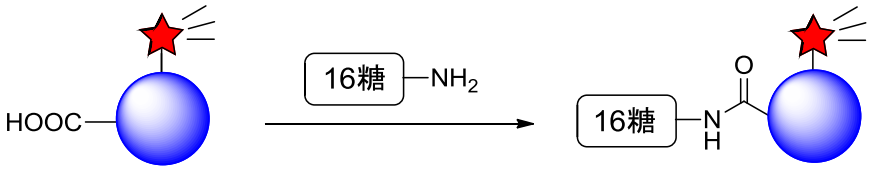
取り扱い容易なビーズである BioAct gel をモデルとして用いて糖鎖の担持を行い、デクチン１との結合評価、および、免疫活性化評価を行った。その結果、糖鎖アミンと微粒子イソチオシアネートを用いるチオウレアを形成する結合によって、糖鎖固定化微粒子を得ることに成功した。また、得られた微粒子はデクチン１と結合することが分かり、結合した糖鎖固定化微粒子は免疫活性化をすることを確認した。しかしながら、多価相互作用を利用する強力な生物活性を有する微粒子が合成できたとは言い難い。

第二部「蛍光微粒子 Fluoresbrite®を用いる糖鎖固定化微粒子の合成とその機能評価」

自然界における自然免疫の活性化プロセスでは、真菌等の病原性細菌を貪食細胞が貪食することによって、破壊する。貪食のプロセスには、対象細菌の大きさが重要であることが知られている。そこで、本研究では、より小さい貪食される可能性のある微粒子に糖鎖を固定化することにより、より強い自然免疫活性化作用を示す微粒子の合成を目指した。また、その際、蛍光微粒子を用いることにより貪食作用そのものをイメージングできる微粒子の創製に繋がると期待した。

蛍光微粒子 Fluoresbrite®は、表面にカルボン酸を有する微粒子として市販されている。そこで、本研究では、カルボン酸を直接活性化することによる糖鎖の固定化法を用いることとした（Figure 5-7)。Fluoresbrite®は、ポリスチレンで構成され表面処理された微粒子であり、非常に小さい粒径の微粒子、かつ、均一性が高い（<15%）。また、有機溶媒によってビーズが損壊するため、水溶

媒のみ使用可能である。水溶媒中において１６糖とのカップリングが進行する条件で反応を行わなくてはならない。



0.1, 0.5, 2, 4.5, 10 μm
FITC (λ_{ex} = 441.53, λ_{em} = 485.56)

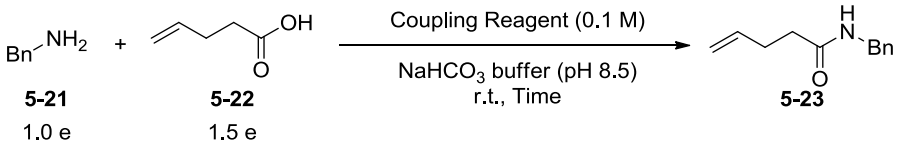
Figure 5-7

５－４　糖鎖固定化蛍光微粒子の合成法の確立と機能評価

蛍光微粒子 Fluoresbrite® (粒径 0.1、0.5、2.0、4.5、10 μm) を用いて直鎖１６糖 **5-11** の担持を行い、機能評価を行う。水溶媒中、カルボン酸を有する微粒子のアミド化を伴う担持について検討する。

５－４－１　微粒子に対する糖鎖担持の検討

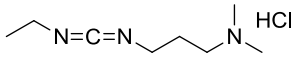
まず、水溶媒中でカルボン酸とアミンの縮合反応が進行するかどうかの検討を行った。この際、水溶性の縮合剤として EDCI-HCl および 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methyl morpholinium chloride(以下 DMT-MM)[3]を用いた。EDCI-HCl はアフィニティービーズ上にタンパク質を担持する試薬として広く使用されている。また、DMT-MM はアルコール溶媒および水溶媒中において、アミンとカルボン酸の縮合が選択的に行われると報告されている試薬である。まず、ベンジルアミン **5-21** およびペンテン酸 **5-22** を用いて液相の検討を行った(Scheme 5-4、Table 5-2)。ペンテン酸 **5-22**(1.5 当量)を 0.1 M 重曹水溶液溶媒中、縮合剤 (0.1 M) およびベンジルアミン **5-21** (1.0 当量) を加えて反応を行った。比較的濃度を高く縮合剤 (0.1 M) を用いたものの、EDCI-HCl を用いた反応では早い段階で反応が停止し、低収率 (29%) となった(Entry 2)。これは、カルボン酸とカルボジイミドの縮合剤により生成する活性化エステルが非常に不安定であり、塩基性条件下容易に分解してしまうためだと考えられる。これに対し、比較的安定な活性化エステルを生成する DMT-MM は(ジメトキシトリアジンエステル)、反応の進行は遅いものの、高収率 (79%) で目的の縮合反応が進行した (Entry 1)。



Scheme 5-4

Entry	Coupling Reagent	Time	Yield
1	DMT-MM	4 h	79%
2	EDCI-HCl	45 min	29%

EDCI-HCl



DMT-MM

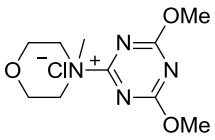
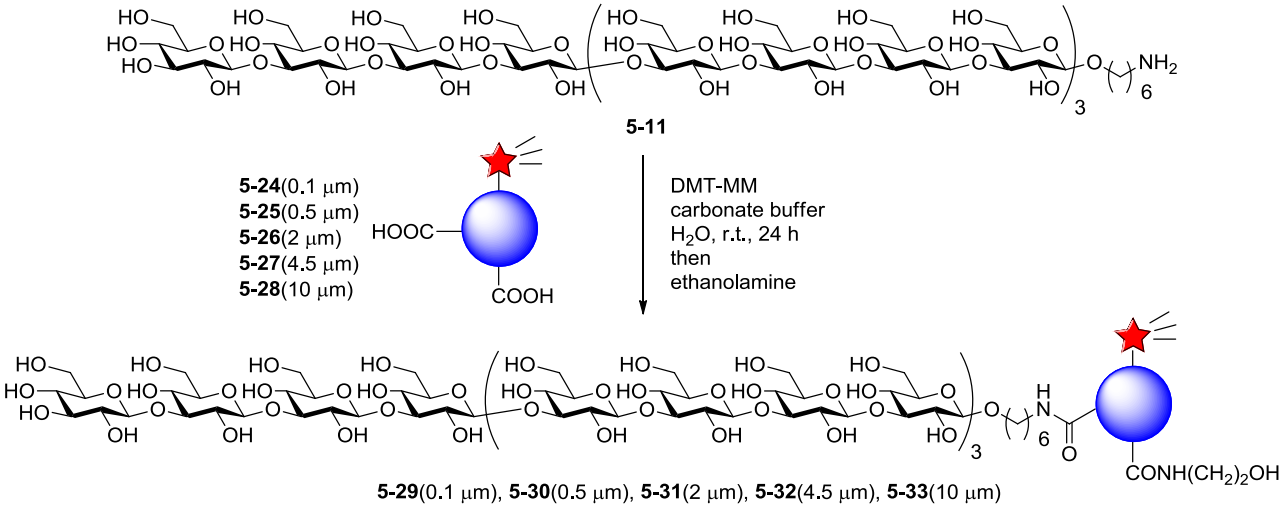


Table 5-2

嵩高い１６糖の微粒子へのカップリングは反応性が低いと考えられるため、不安定な EDCI-HCl ではなく、DMT-MM を用いることにした。

蛍光微粒子への担持を行った（Scheme 5-5）。様々なサイズのカルボン酸ビーズ（**5-24**(0.1 μm)、**5-25**(0.5 μm)、**5-26**(2 μm)、**5-27**(4.5 μm)、**5-28**(10 μm)）を 0.1 M 重曹水溶液溶媒中、１６糖アミノ体 **5-11** と DMT-MM（0.5 M）を加えて担持を行った。24 時間反応後、微粒子上に残ったカルボン酸に対しエタノールアミン（0.5 M）を加えて縮合することでキャッピングし、遠心分離機による洗浄により後処理を行った。得られたビーズ **5-29**～**33** は、490 nm 付近に蛍光を有する為にフェノール硫酸法による担持量の決定が行えない。糖鎖の担持の有無についてはデクチン 1 との結合試験により決定する。

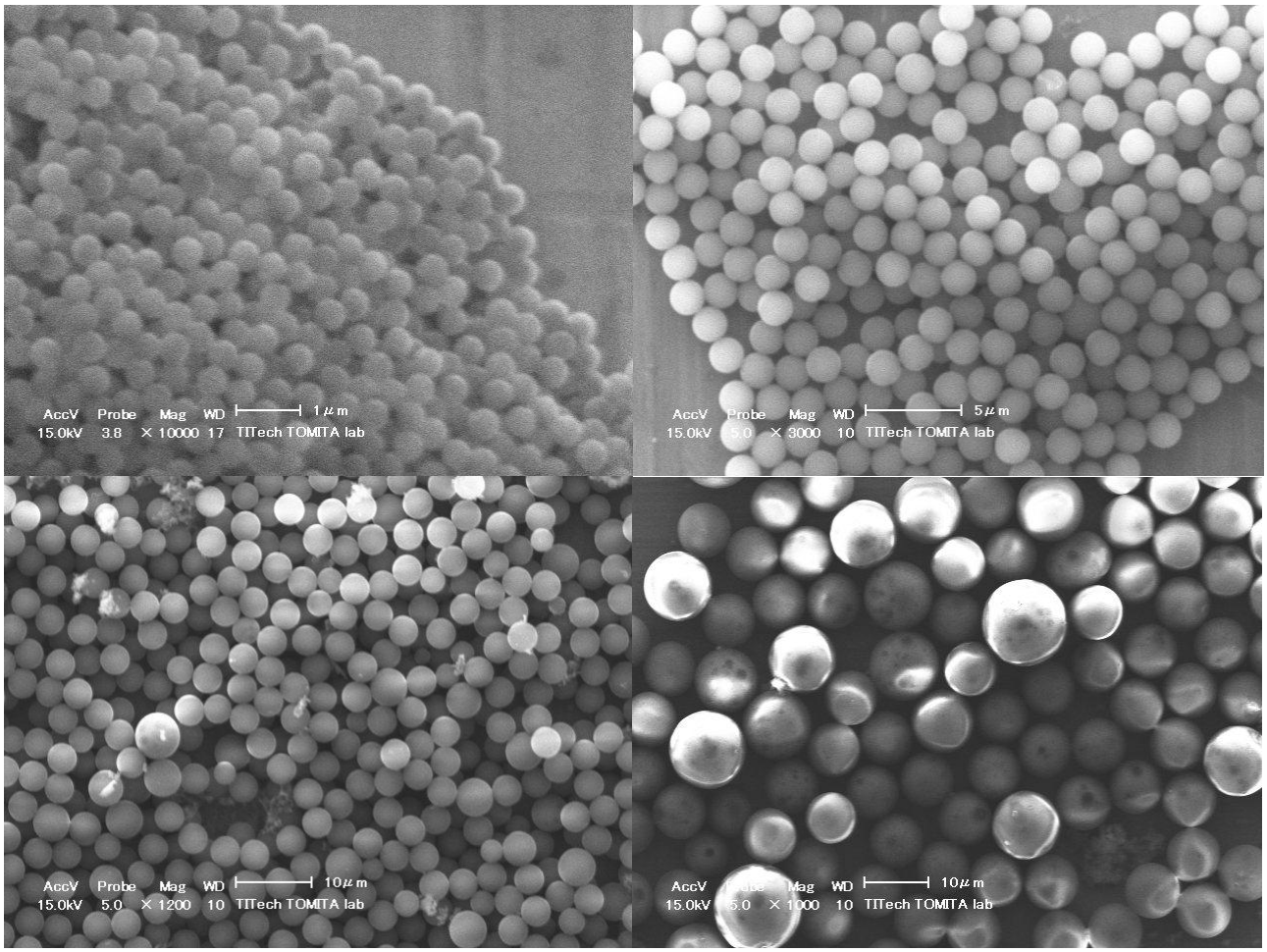


Scheme 5-5

５－４－２　糖鎖固定化蛍光微粒子の形状の評価

得られた糖鎖固定化蛍光微粒子の形状の評価をSEM測定によって行った。反応および後処理において微粒子が損壊する可能性が考えられる。構造が均一でなければサイズ依存の生物評価の検討は難しい。本測定は、東京工業大学冨田育義准教授の指導のもと行なった。結果を以下に示す（Figure 5-8）。

SEM画像の結果から、**5-25**(0.5 μm)と**5-26**(2 μm)、**5-27**(4.5 μm)、**5-28**(10 μm)のビーズは損壊が見られず、均一な球体であることが分かった。また、**5-24**(0.1 μm)のビーズは検出限界以下であり、測定できなかった。



糖鎖固定化蛍光ビーズのSEM画像（左上0.5 μm、右上2 μm、左下4.5 μm、右下10 μmビーズ）

Figure 5-8

以上の結果から 0.1 μm の微粒子を除く４種の糖鎖固定化微粒子が均一な球体であることが分かり、損壊は見られなかった。

５－４－３　糖鎖固定化蛍光微粒子の機能評価

糖鎖固定化蛍光微粒子とデクチン１との結合試験を行った。結果を Figure 5-9 に示す。黒線は糖鎖固定化蛍光微粒子のみを測定したものであり、緑線は糖鎖固定化蛍光微粒子にデクチン１を作用させて行ったものである。この比較を行うことで結合の有無を検討する。この結果より、**5-26**(2 μm)と **5-27**(4.5 μm)、**5-28**(10 μm)のビーズはデクチン 1 との結合が確認された。しかしながら **5-24**(0.1 μm) と **5-25**(0.5 μm)のビーズの検出は困難であり、それらのデクチン 1 結合の有無は評価できなかった。

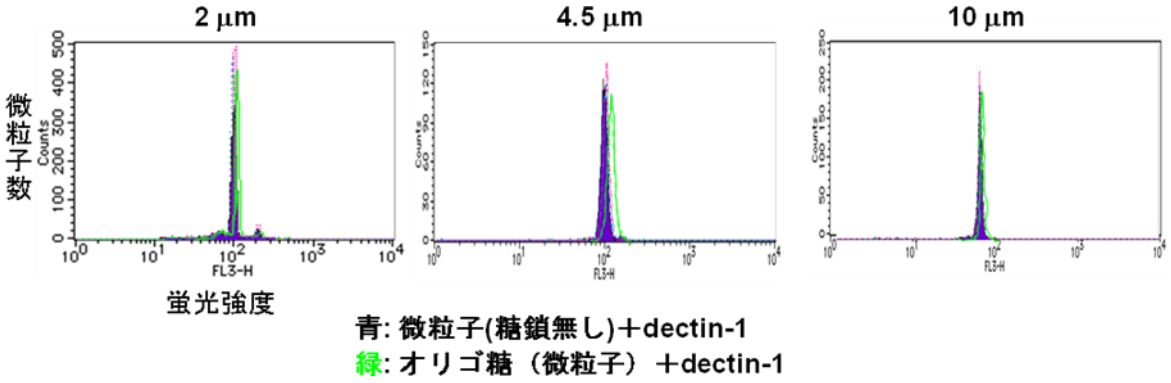


Figure 5-9

以上により、2、4.5、10 μm の蛍光微粒子には１６糖の担持が行われていると考えられ、目的とする糖鎖固定化蛍光微粒子の開発に成功した。

５－４－４　まとめ

蛍光微粒子 Fluoresbrite® (粒径 0.1、0.5、2.0、4.5、10 μm) を用いて糖鎖の担持を行い、微粒子の形状の評価、および、デクチン１との結合評価を行った。その結果、水溶媒中で反応が行える縮合剤 DMT-MM を用いた、１６糖アミンと微粒子カルボン酸のアミドを形成する結合によって、１６糖微粒子の合成を試みた。得られた微粒子のうち、0.5 と 2.0、4.5、10 μm のものは SEM 測定からビーズの損壊は確認できなかった。また、デクチン 1 との結合試験により 2.0 と 4.5、10 μm のものは結合が確認され、１６糖の担持が行われているものと考えている。今回合成した糖鎖固定化蛍光微粒子は、先の BioAct gel の糖鎖微粒子 (20～40 μm) よりもかなり小さく、貪食細胞に対する免疫活性化向上の期待ができ、貪食作用そのもののイメージングも期待できる。

５－５　まとめ

４章の結果から、アミノアルキル基を有する１６糖および１７糖はデクチン１と強い結合を示したが、デクチン１を介した自然免疫活性化作用は結合に見合うほどの強さを示さなかった。そこで、多価相互作用を利用した高い自然免疫活性化作用を期待する、糖鎖固定化微粒子の開発を行った。まず始めに、BioAct gel を固相担体として選択し、糖鎖固定化微粒子の合成を行った。BioAct gel アミノ体をイソチオシアネート体に変換し、糖鎖アミンとのチオウレア化によって糖鎖担持を行った。得られた糖鎖固定化微粒子のうち、直鎖１６糖および分岐１７糖微粒子はデクチン１と直接結合することが分かり、さらに、免疫活性化することが分かった。しかしながら、天然のβグルカンと比較すると強い相互作用が確認できたとは言い難い。今回用いた BioAct gel は粒径 20～40 μm の微粒子であり、免疫細胞（数μm）と比べると非常に大きな微粒子である。そこで、より小さい貪食される可能性のある糖鎖固定化微粒子を合成することにより、より強い自然免疫活性化作用を示す微粒子の合成を目指した。その際、蛍光微粒子を用いることにより貪食作用そのものをイメージングできる微粒子の創製に繋がると期待した。そこで、蛍光微粒子 Fluoresbrite® (粒径 0.1、0.5、2.0、4.5、10 μm) を用いて糖鎖の担持を行った。水溶媒中で反応が行える縮合剤 DMT-MM を用いた、１６糖アミンと微粒子カルボン酸のアミドを形成する結合によって、１６糖微粒子の合成を試みた。微粒子の形状の評価、および、デクチン１との結合評価を行ったところ、2.0 と 4.5、10 μm のものはビーズの損壊なしに１６糖の担持が行われていた。他の 0.1 および 0.5 μm の微粒子に関しても、測定機器の検出限界で糖鎖の担持や形状が確認できなかったが、糖鎖微粒子ができているものと考えている。これらの微粒子は、デクチン１を介した生物プロセスの過程を解析するための有用なケミカルプローブになると期待できる。

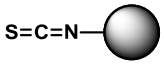
References

1) a) Kim, S.; Yi, K. Y. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1661-1664.
b) Kim, S. *Organic Preparations and Procedures Inc.* **1988**, *20*, 145-172.
c) Kilburn, J. P.; Lau, J.; Jones, R. C. F. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 1739-1743.
d) Kiburn, J. P.; Lau, J.; Jones, R. C. F. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3309-3311.
e) Severinsen, R.; Kilburn, J. P.; Lau, J. F. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 5565-5575.
f) Mays, J. R.; Roska, R. L. W.; Sarfaraz, S.; Mukhtar, H.; Rajski, S. R. *ChemBioChem* **2008**, *9*, 729-747.
2) Hodge, J. E.; Hofreiter, B. T. *Method in Carbohydrate Chemistry* **1962**, *1*, 338.
3) a) Kaminski, Z. J.; Paneth, P.; Rudzinski, J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4248-4255.
b) Kunishima, M.; Kawachi, C.; Iwasaki, F.; Terao, K.; Tani, S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 5327-5330.
c) Kunishima, M.; Kawachi, C.; Hioki, K.; Terao, K.; Tani, S. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1551-1558.

1. Bioactgel

Isocyanide gel (5-6)

To a suspension of the BioActgel (**5-5**) (118 mg) (0.246 mmol/g) in DMF (1.00 mL) was added DPT (23.2 mg) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 24 h, the reaction mixture was filtered. The gel was washed three times each with DMF (3.00 mL), MeOH (3.00 mL) and acetone (3.00 mL). The resin was dried *in vacuo* to give the isocyanide gel (**5-6**). A small amount of gel was used to perform a Kaiser test (negative : yellow color).



Synthesis of Saccharide supported gels (5-8, 15, 16, 17, 18, 19, 20)

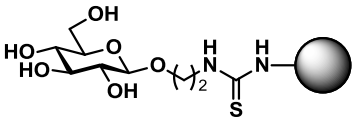
General procedure

To a suspension of the **isocyanide gel (5-6)** in **0.1 M aq. $NaHCO_3$** was added **amino saccharide** at room temperature. After being stirred at the same temperature for 24 h, the reaction mixture was filtered. The gel was washed three times each with water (3.00 mL) and acetone (3.00 mL). The gel was dried *in vacuo* to give the **saccharide supported gel (5-X)**.

General Procedure for phenol-sulfuric acid assay

5.00 mg of sugar-supported gel was dissolved in 0.500 mL of distilled water. To the solution of sugar-supported gel in tube were added 2.50 mL of sulfuric acid and 0.500 mL of 5% (w/v) aq. phenol solution. The mixture was stirred for 5 min, followed by incubation at room temperature for 5 min. Then the absorbance of each solution was read at 490 nm.

Monosaccharide-supported gel (5-8)
isocyanide gel (5-6) (10.1 mg)
0.1 M aq. $NaHCO_3$ (1.00 mL)
amino saccharide monogulcose (**5-7**) (18.0 mg)
Monosaccharide-supported gel (5-8) (1.8 mg/g)



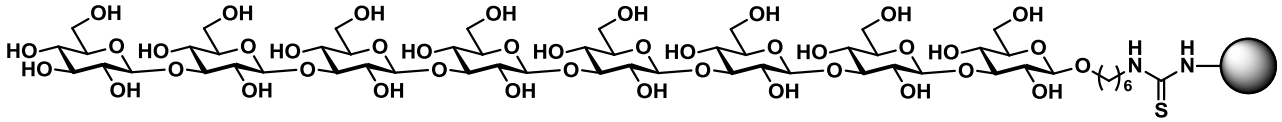
Oligosaccharide supported gel (5-15)

isocyanide gel (5-6) (22.0 mg)

0.1 M aq. $NaHCO_3$ (1.00 mL)

amino saccharide Oligogulcose (**5-9**) (16.7 mg)

Oligosaccharide supported gel (5-15) (1.1 mg/g)



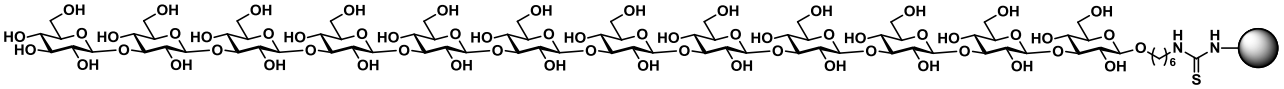
Oligosaccharide supported gel (5-16)

isocyanide gel (5-6) (31.2 mg)

0.1 M aq. $NaHCO_3$ (0.400 mL)

amino saccharide Oligogulcose (**5-10**) (4.60 mg)

Oligosaccharide supported gel (5-16) (2.3 mg/g)



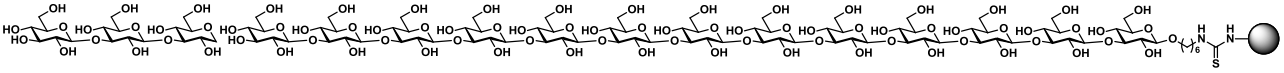
Oligosaccharide supported gel (5-17)

isocyanide gel (5-6) (7.5 mg)

0.1 M aq. $NaHCO_3$ (1.00 mL)

amino saccharide Oligogulcose (**5-11**) (10.1 mg)

Oligosaccharide supported gel (5-17) (3.4 mg/g)



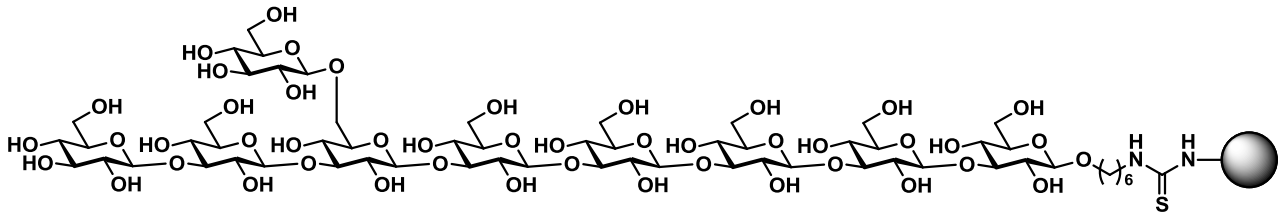
Oligosaccharide supported gel (5-18)

isocyanide gel (5-6) (34.5 mg)

0.1 M aq. $NaHCO_3$ (0.600 mL)

amino saccharide Oligogulcose (**5-12**) (5.70 mg)

Oligosaccharide supported gel (5-18) (2.5 mg/g)



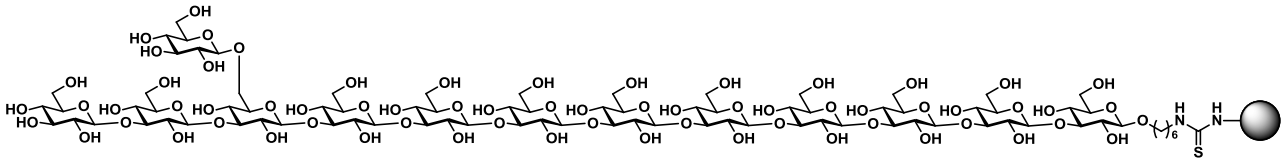
Oligosaccharide supported gel (5-19)

isocyanide gel (5-6) (35.9 mg)

0.1 M aq. $NaHCO_3$ (0.200 mL)

amino saccharide Oligogulcose (**5-13**) (2.03 mg)

Oligosaccharide supported gel (5-19) (3.1 mg/g)



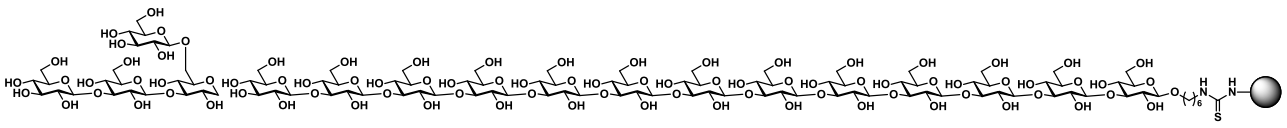
Oligosaccharide supported gel (5-20)

isocyanide gel (5-6) (34.2 mg)

0.1 M aq. $NaHCO_3$ (0.500 mL)

amino saccharide Oligogulcose (**5-14**) (4.90 mg)

Oligosaccharide supported gel (5-20) (2.7 mg/g)



2. Fluoresbrite

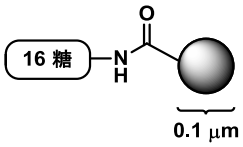
Synthesis of Saccharide supported gels (5-29, 30, 31, 32, 33)

General procedure

To a suspension of the **Fluoresbrite (5-24, 25, 26, 27, 28)** in **0.1 M aq. $NaHCO_3$** was added **amino saccharide (5-11)** and **DMT-MM** at room temperature. After being stirred at same temperature for 24 h, the reaction mixture was added ethanolamine. After being stirred at room temperature for 12 h, the reaction mixture was spined. The gel was washed using centrifugation three times with water (1.00 mL). The gel was resuspended in water to give the **Saccharide supported gels (5-29, 30, 31, 32, 33)**.

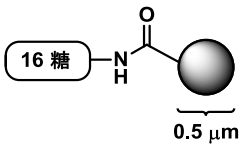
Oligosaccharide supported gel (5-29)

Fluoresbrite (5-24) (300 μL) (2.6% Solids-Latex)
0.1 M aq. $NaHCO_3$ (0.333 mL)
amino saccharide Oligogulcose (**5-11**) (13.1 mg)
DMT-MM (46.1 mg)
ethanolamine (10.1 μL)



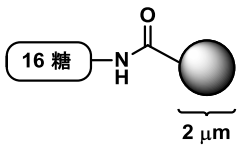
Oligosaccharide supported gel (5-30)

Fluoresbrite (5-25) (1.00 mL) (2.56% Solids-Latex)
0.1 M aq. $NaHCO_3$ (0.333 mL)
amino saccharide Oligogulcose (**5-11**) (10.0 mg)
DMT-MM (46.1 mg)
ethanolamine (10.1 μL)

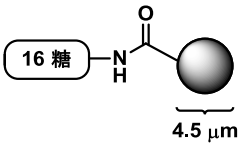


Oligosaccharide supported gel (5-31)

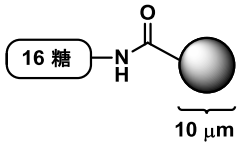
Fluoresbrite (5-26) (300 μL) (2.62% Solids-Latex)
0.1 M aq. $NaHCO_3$ (0.333 mL)
amino saccharide Oligogulcose (**5-11**) (13.1 mg)
DMT-MM (46.1 mg)
ethanolamine (10.3 μL)



Oligosaccharide supported gel (5-32)
Fluoresbrite (5-27) (1.00 mL) (2.73% Solids-Latex)
0.1 M aq. $NaHCO_3$ (0.333 mL)
amino saccharide Oligogulcose (**5-11**) (10.0 mg)
DMT-MM (46.1 mg)
ethanolamine (10.1 μL)



Oligosaccharide supported gel (5-33)
Fluoresbrite (5-28) (300 μL) (2.67% Solids-Latex)
0.1 M aq. $NaHCO_3$ (0.333 mL)
amino saccharide Oligogulcose (**5-11**) (13.1 mg)
DMT-MM (46.1 mg)
ethanolamine (10.3 μL)



第６章

結論

本論文は、多糖の有する特異的な免疫調整機能に着目し、β グルカン多糖類縁オリゴ糖鎖誘導体の合成とその機能評価について述べたものである。その際、繰り返し構造からなる多糖の部分構造の効率合成法の開発を行なった。さらに、合成した化合物の機能評価を行なうことにより、β グルカン認識タンパク質であるデクチン１のリガンドおよびアゴニストとして働くオリゴ糖誘導体を見出した。

第１章「序論」では、まず、免疫と糖鎖の関連について概観し、さらに、β グルカンとそのレセプターであるデクチン１との関連を研究することの有用性を述べた。続いて、機能解明研究における化学合成による糖鎖供給の有用性と近年の糖鎖合成技術の発展について説明した。さらに、β グルカンオリゴ糖の合成上の問題点と過去の合成手法について述べた。また、脱保護における問題点とその解決方法の提案を行なった。さらに、細胞表層糖鎖の生物活性発現におけるクラスター効果の重要性を挙げ、人工クラスター分子について述べることにより、解決すべき課題を明確にし、本論文の意義と目的を明らかにした。

第２章「デクチン１の低分子リガンド探索を目的とする糖鎖合成」では、デクチン１に対する低分子リガンドの発見を期待し、高度に分岐したβ グルカン関連オリゴ糖鎖ライブラリーの機能評価を行なった。まず、本研究室保有の分岐β グルカン関連オリゴ糖鎖の、SPG のデクチン１への結合に対する結合阻害作用を検討した(Figure 6-1、6-2)。その結果、TTK9-01、TTK16-01、TTK14-01が、その順で強くデクチン１と相互作用していることを見出した (Figure 6-2)。

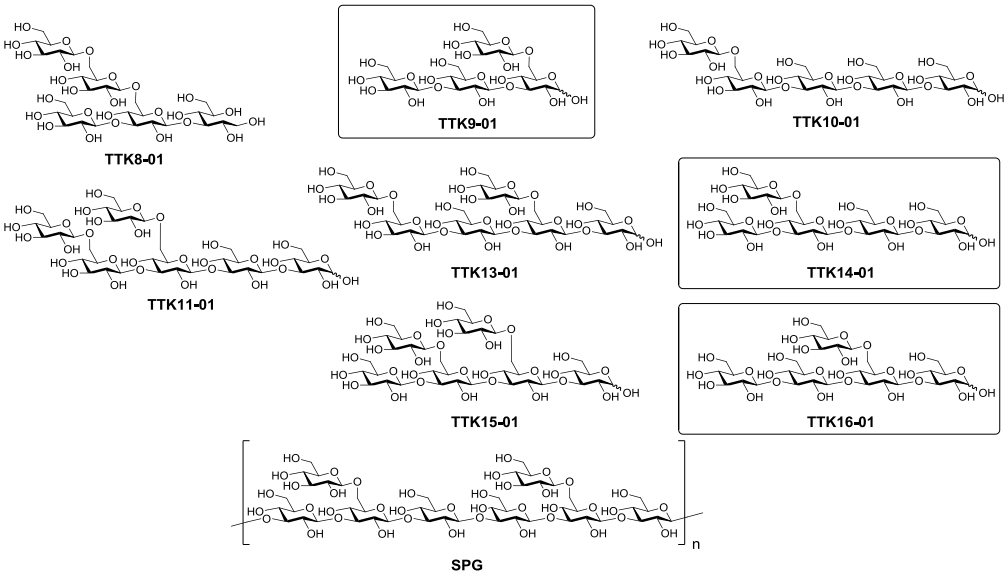
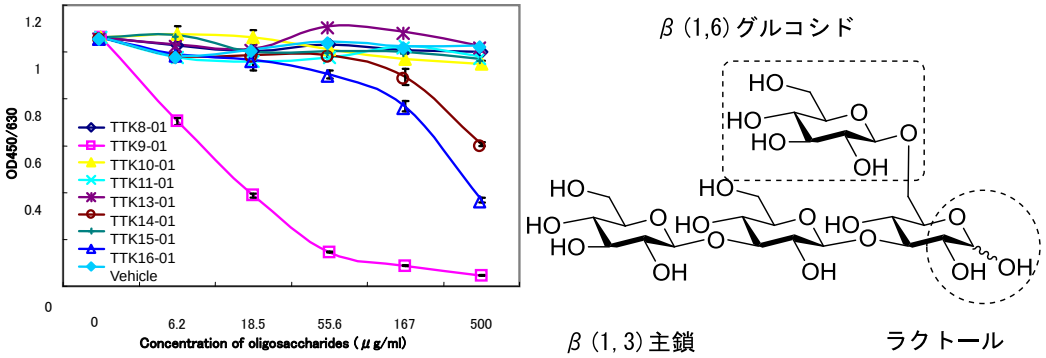


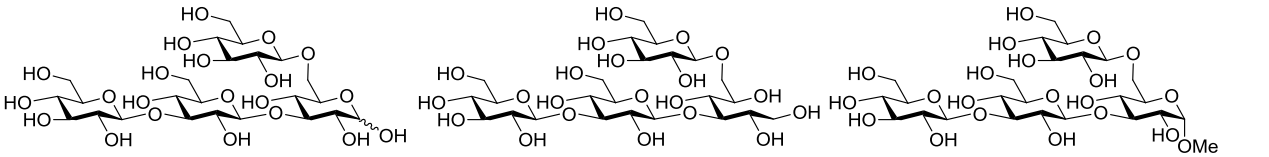
Figure 6-1



競合結合阻害試験　　TTK9-01

Figure 6-2

続いて、生物活性の確認とアノマー位の構造結合相関を明らかにするために、分岐オリゴ糖 TTK9-02、メチルグリコシド TTK18-01 と還元体 TTK19-01 の再合成とその評価を行った(Figure 6-3)。しかしながら、再合成化合物には生物活性は確認できなかった。そこで、過去の合成手法と同一の手法で TTK9 を合成した。得られた化合物の再評価を行ったところ、最終精製化合物 TTK9-04 に生物活性は見られなかった(Figure 6-4)。しかしながら、水素添加反応による脱保護における粗精製物 TTK9-03 には、阻害作用が確認された。このことより、TTK9 本体ではなく、ごく微量に含まれているパラジウムなどの無機物や糖以外の非水溶性化合物が活性に影響を与えているものだと結論付けた。



再合成体(TTK9-02)　　TTK9還元体(TTK19-01)　　メチルグリコシドTTK9誘導体(TTK18-01)

Figure 6-3

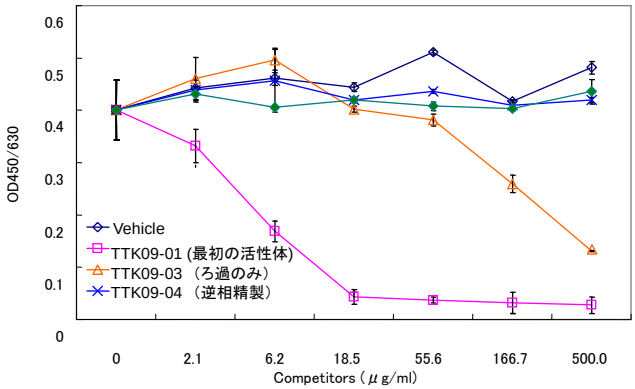


Figure 6-4

第３章「β（１，３）グルカン糖鎖の合成法の開発」では、β（１，３）グルカン合成法の開発

とそのデクチン１との結合評価を行なった。まず、デクチン１とリガンドとして働く最大のオリゴ糖部の大きさは、デクチン１の大きさよりも小さいという仮定のもとに、分子力場計算を用いて得られたβグルカン糖鎖の構造と X 線結晶構造解析より得られているデクチン１の構造を比較した。その結果、１６糖の糖鎖がデクチン１と同程度の長さを有することを明らかにし、主鎖１６糖の糖鎖を合成標的化合物とした(Figure 6-5)。

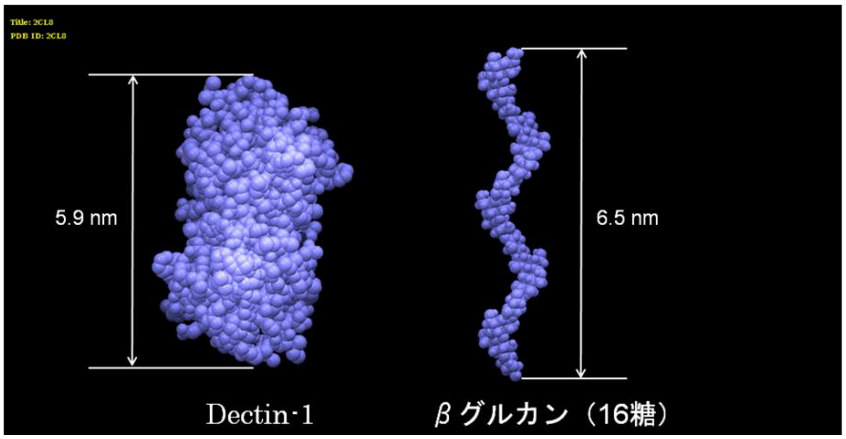


Figure 6-5

第一部では、単糖糖供与体を用いる直線的合成法によるβグルカン糖鎖の合成を検討した。本手法は、反応性が高く合成容易な単糖糖供与体を用いることができるため、反応性が低下している比較的大きなオリゴ糖鎖に対するグリコシル化においても十分な転嫁率にて行うことができると期待した。４、６ベンジリデン位に、３位に化学選択的に脱保護可能な保護基を有する単糖糖供与体を用いて糖鎖合成を検討した。しかしながら、本手法では、６糖保護体合成にて分離困難な副生成物が現れた(Figure 6-6)。これは２章において得られた２位のベンゾイル基が３位に転位した化合物だと考えている。この結果より、直線的合成戦略に基づく糖鎖合成は断念し、収束的合成法の開発を検討した。

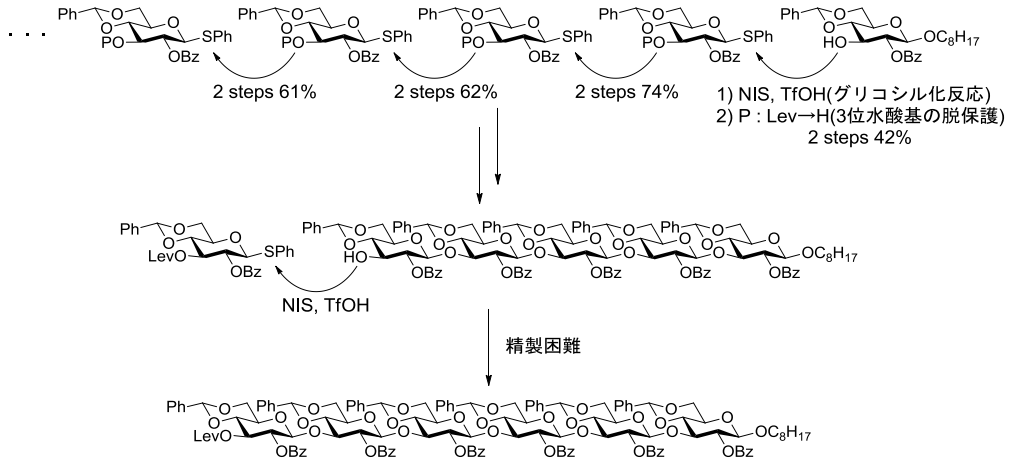
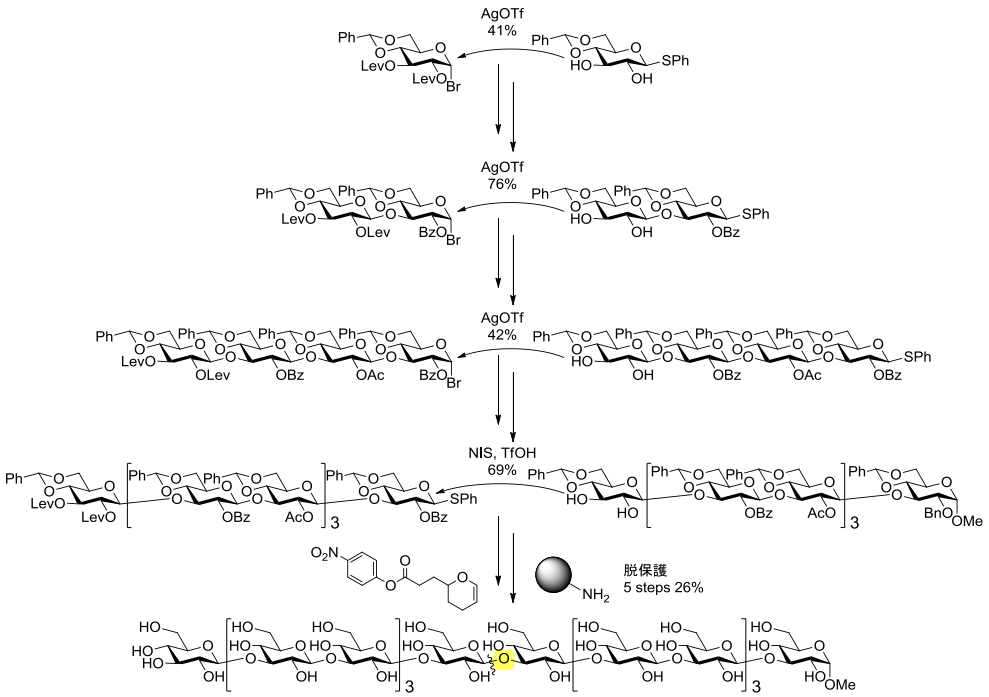


Figure 6-6

第二部では、収束的合成法について検討した。オリゴ糖同士のカップリング反応を基軸とする収束的合成法では、合成の総工程数を低減することができ、また、糖受容体や糖供与体と生成物との物性が大きく異なることが予想されるため、基質と生成物の分離が容易に可能であることが予想できる。しかしながら、一般に糖受容体や糖供与体が大きくなった場合には、それぞれのグリコシル化反応に対する反応性が低下することが知られているため、十分な転嫁率で目的物へと導くためには、適切な分子設計が必要である。そこで、本研究では、まず、高い反応性を有する糖受容体部として、ジオール型の糖受容体を設計した。２，３および３，４ジオール型の糖受容体に対する位置選択的なグリコシル化反応を検討したところ、２，３ジオール型が３位選択的グリコシル化反応を行うための優れた糖受容体として働くことを見出した。そこで、２，３ジオール型糖受容体を用いて１６糖の合成を検討したところ、１６糖を高収率で得ることに成功した（69%）(Figure 6-7)。さらに、流通系水素添加反応装置および、固相脱保護法を用いる脱保護を検討した。流通系反応装置では、６糖程度のオリゴ糖の脱保護は有効であったが、８糖の脱保護を行なうことができなかった。一方、固相脱保護は、１６糖の脱保護に適応できた。しかしながら、固相への固定化の効率に問題が残った。得られた単糖から６糖、および、８糖、１２糖、１６糖の SPG のデクチン１への結合に対する競合阻害試験を行った。しかしながら、いずれの糖鎖も、SPG とデクチン１の結合を阻害する結果が得られなかった。本結果から、単分子の糖鎖では結合力が弱く、SPG を用いる競合阻害試験においては結合を確認出来るほど強くないと考えた。そこで、より強い結合のためには糖鎖微粒子などの多価効果を期待する複合糖鎖の開発が必要であると結論付けた。



収束的合成法

Figure 6-7

第４章「βグルカン関連オリゴ糖鎖の合成法の開発」では、微粒子への固定化を目的としたオリゴ糖鎖の設計とその類縁体合成法の開発を行い、その生物評価を行った。合成戦略は、直鎖の４糖チオ糖 **6-2** または、分岐の５糖チオ糖 **6-3** 順次グリコシル化することにより糖鎖を伸張していくものである。まず、３章にて問題になった化学選択的グリコシル化に基づく２糖および４糖合成では、糖供与体としてブロモ糖よりもイミダート糖を用いた場合により高収率で目的とする糖鎖がえられることを明らかにした(Figure 6-8)。４糖および５糖ブロックを用いる１６および１７糖合成は効率的に進行し、目的とする直鎖８糖、１２糖、１６糖、および、分岐９糖、１３糖、１７糖を合成することに成功した(Figure 6-9)。本手法を用いて、１６糖保護体約１ｇの合成を達成した。

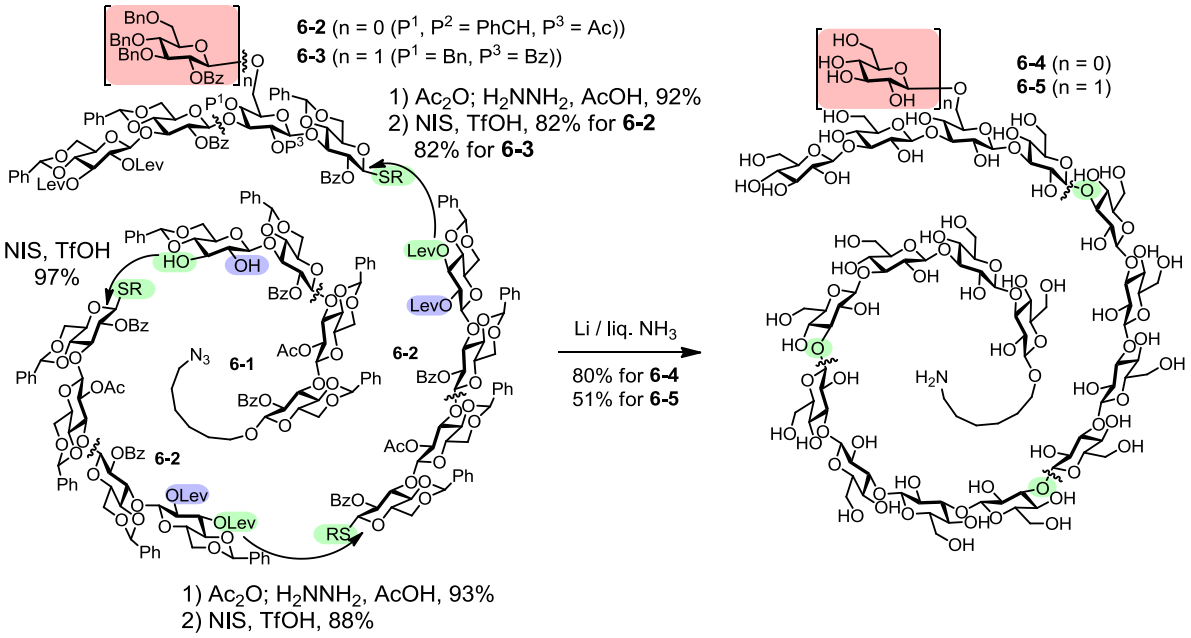


Figure 6-8

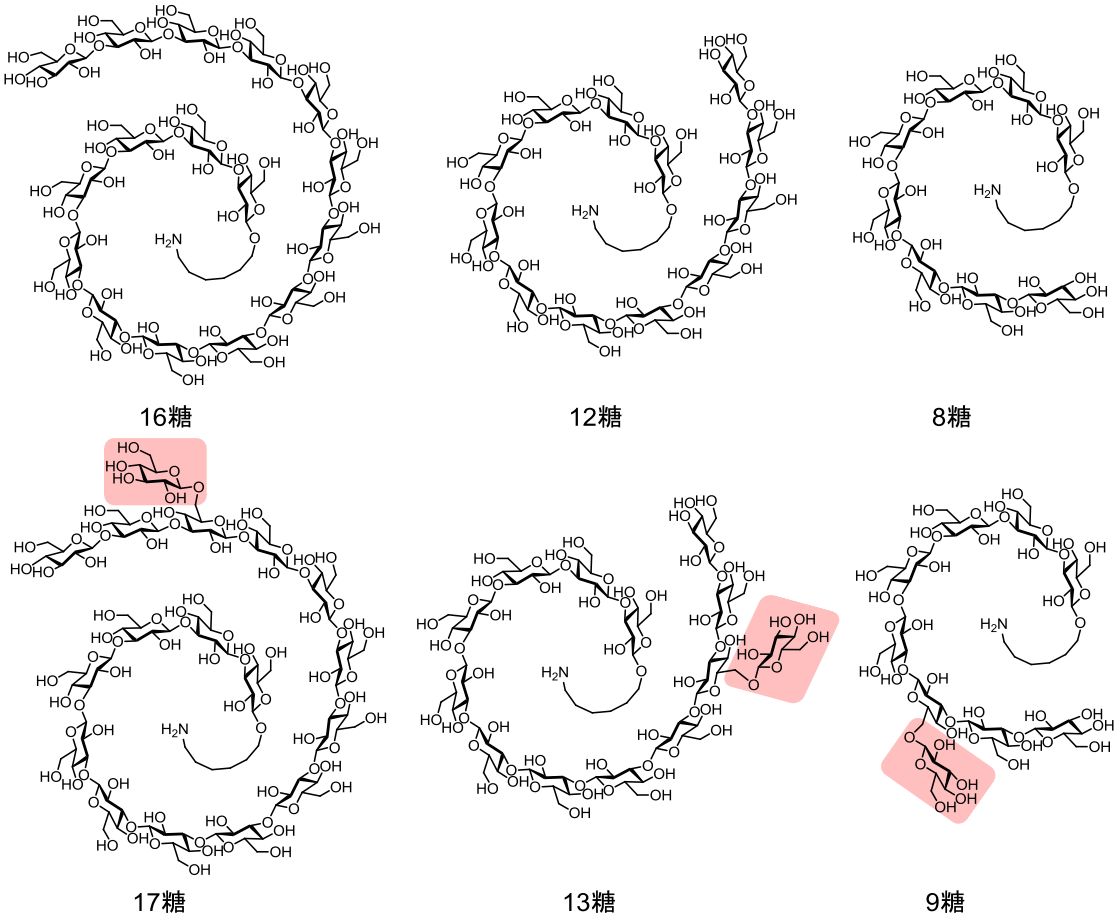


Figure 6-9

続いて、合成βグルカンオリゴ糖の、SPG とデクチン１との結合に対する競合阻害試験を行った(Figure 6-10)。その結果、直鎖１６糖および分岐１７糖に強い阻害作用を見出した。デクチン１のリガンドを開発することができたので、アミノアルキル基を有する直鎖１６糖とデクチン１との結合様式を STD-NMR を用いて解析した(Figure 6-11)。その結果、糖鎖部位でデクチン１と結合していることが分かり、特に３位のプロトンと強く相互作用していることが明らかとなった。このことから、天然の β グルカンの結合様式を解明する上でも非常に有用なプローブとなることが明らかになった。さらに、免疫活性化試験を行ったところ、結合作用を示した直鎖１６糖と分岐１７糖が、デクチン１を介して免疫活性化することを示した(Figure 6-12)。さらに直鎖１６糖は他の受容体タンパク質 TLR4 を介する免疫活性化に影響を与えなかった(Figure 6-13)。以上から、直鎖１６糖はデクチン１特異的に活性を誘導する可能性を示し、デクチン１を介した生物プロセスの過程を解析するための有用なケミカルプローブになると期待できる。

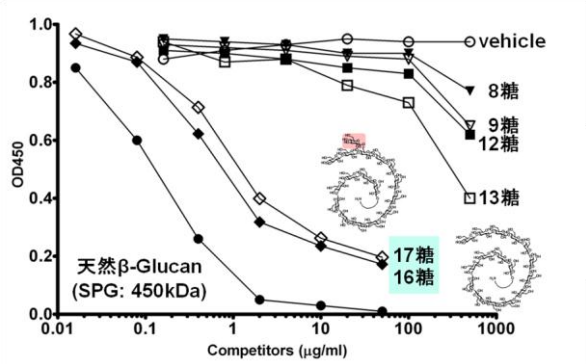


Figure 6-10

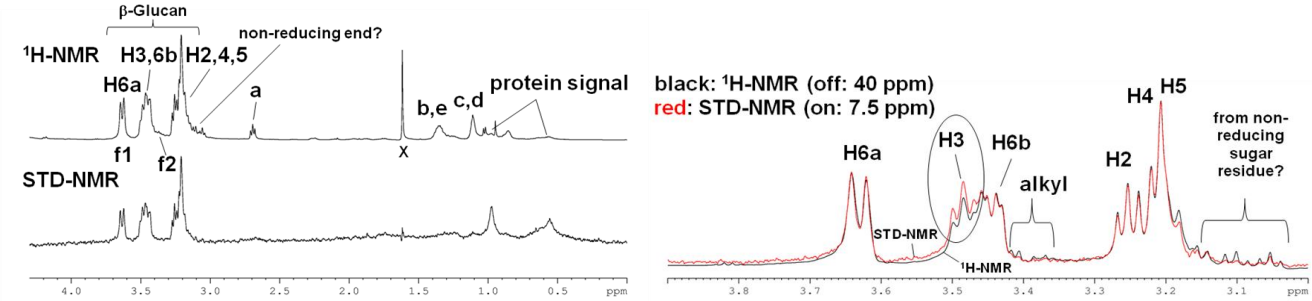


Figure 6-11

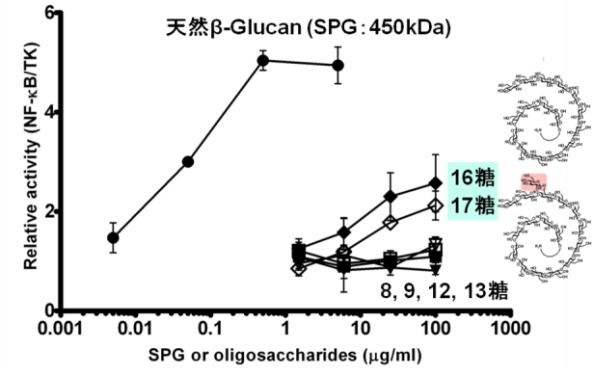


Figure 6-12

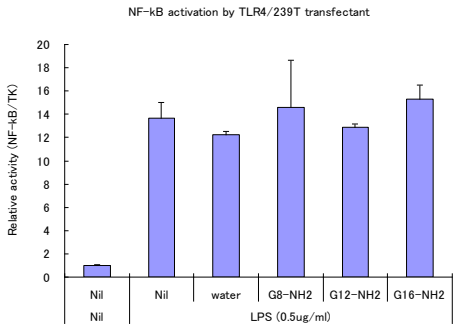


Figure 6-13

第５章「βグルカン糖鎖固定化微粒子の開発」では、４章の結果から、アミノアルキル基を有する１６糖および１７糖はデクチン１と強い結合を示したが、デクチン１を介した自然免疫活性化作用は結合に見合うほどの強さを示さなかった。そこで、多価相互作用を利用した高い自然免疫活性化作用を期待する、糖鎖固定化微粒子の開発を行った。まず始めに、BioAct gel を固相担体として選択し、糖鎖固定化微粒子の合成を行った。BioAct gel アミノ体をイソチオシアネート体に変換し、糖鎖アミンとのチオウレア化によって糖鎖担持を行った(Figure 6-14)。得られた糖鎖固定化微粒子のうち、直鎖１６糖および分岐１７糖微粒子はデクチン１と直接結合することが分かり、さらに、免疫活性化することが分かった。しかしながら、天然のβグルカンと比較すると強い相互作用が確認できたとは言い難い。今回用いた BioAct gel は粒径 20～40 μm の微粒子であり、免疫細

胞（数μm）と比べると非常に大きな微粒子である。そこで、より小さく、貪食される可能性のある糖鎖固定化微粒子を合成することにより、より強い自然免疫活性化作用を示す微粒子の合成を目指した。その際、蛍光微粒子を用いることにより貪食作用そのものをイメージングできる微粒子の創製に繋がると期待した。そこで、蛍光微粒子 Fluoresbrite® (粒径 0.1、0.5、2.0、4.5、10 μm) を用いて糖鎖の担持を行った。水溶媒中で反応が行える縮合剤 DMT-MM を用いた、１６糖アミンと微粒子カルボン酸のアミドを形成する結合によって、１６糖微粒子の合成を試みた(Figure 6-15)。微粒子の形状の評価、および、デクチン１との結合評価を行ったところ、2.0 と 4.5、10 μm のものはビーズの損壊なしに１６糖の担持が行われていた。他の 0.1 および 0.5 μm の微粒子に関しても、測定機器の検出限界で糖鎖の担持や形状が確認できなかったが、糖鎖微粒子ができているものと考えている。これらの微粒子は、デクチン１を介した生物プロセスの過程を解析するための有用なケミカルプローブになると期待できる。

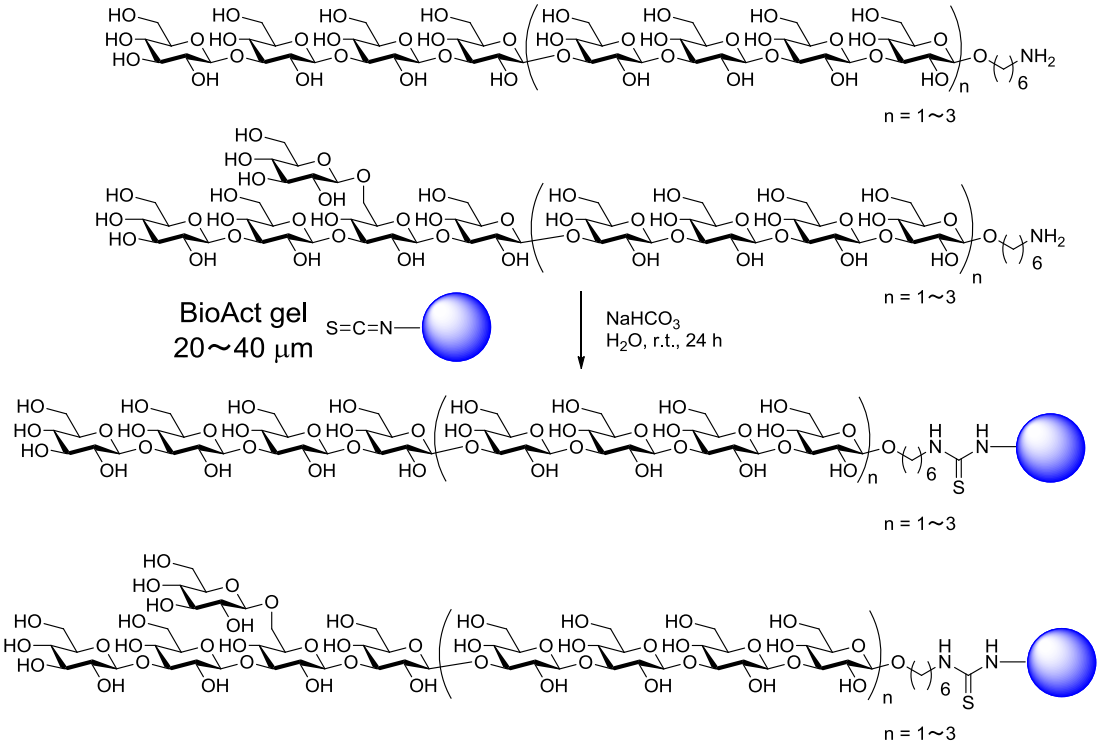


Figure 6-14

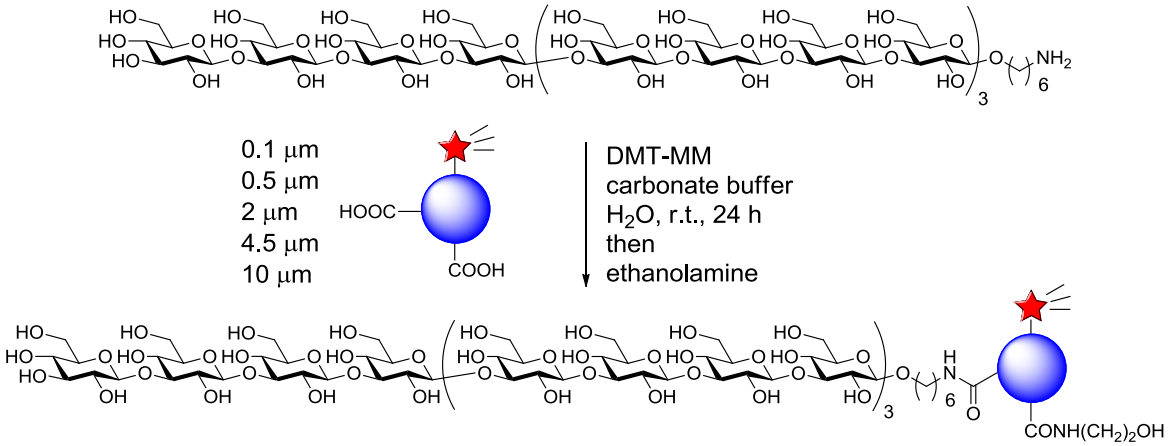


Figure 6-15

第６章　「結論」では本論文を総括した。

謝辞

本研究を行うにあたり、終始ご指導、御鞭撻いただきました高橋孝志教授に深く感謝いたします。

本研究を行うにあたり、御助言、御指導をいただきました東北大学薬学研究科土井隆行教授に心より感謝いたします。

本研究を行うにあたり、常に励まし有益な御助言くださいました田中浩士准教授に深く感謝いたします。

本研究を行うにあたり、叱咤激励してくださいました布施新一郎助教に深く感謝いたします。

本研究を行うにあたり、ご指導してくださいました飯島悠介助教に深く感謝いたします。

日常の研究が円滑に行えるよう取りはからって頂きました田能村有香さんに心より感謝いたします。

共同研究として糖鎖のデクチン１に対する結合試験および免疫活性化試験を行なって頂きました、東京薬科大学の大野尚仁教授、安達禎之准教授に深く感謝いたします。

共同研究として糖鎖のデクチン１に対する結合解析を行なって頂きました、理化学研究所の山口芳樹博士、花島慎弥博士に深く感謝いたします。

糖鎖微粒子の走査型電子顕微鏡解析を行なって頂きました、東京工業大学の冨田育義准教授に深く感謝いたします。

最後に、今まで私を支えてくれた家族、友人達に心より感謝いたします。

以上

平成 23 年 5 月