



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## 糖鎖-蛋白質複合体のX線結晶構造解析のためのセレン標識糖鎖プローブの開発

|       |   |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: ja<br>出版者:<br>公開日: 2015-03-23<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 鈴木, 達哉<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/49111">http://hdl.handle.net/20.500.12099/49111</a>   |

糖鎖-蛋白質複合体のX線結晶構造解析のための  
セレン標識糖鎖プローブの開発

2013年

岐阜大学大学院連合農学研究科

生物資源科学

(岐阜大学)

鈴木 達哉

## 略号表

|        |  |
|--------|--|
| Ac     | : acetyl                                     |
| AW-300 | : acid washed 4Å molecular sieves            |
| BDA    | : benzaldehyde dimethylacetal                |
| Bn     | : benzyl                                     |
| Bz     | : benzoyl                                    |
| Bzld   | : benzylidene                                |
| Cp     | : cyclopentadienyl                           |
| CSA    | : DL-10-camphorsulfonic acid                 |
| DAST   | : <i>N,N</i> -diethylaminosulfur trifluoride |
| DIEA   | : <i>N,N</i> -diisopropylethylamine          |
| DMAP   | : 4-dimethylaminopyridine                    |
| DMF    | : <i>N,N</i> -dimethylformamide              |
| Gal    | : galactose                                  |
| Glc    | : glucose                                    |
| Imdt   | : trichloroacetoimidoyloxy                   |
| Me     | : methyl                                     |
| MPM    | : 4-methoxyphenylmethyl                      |
| MS3Å   | : 3 Å molecular sieves                       |
| MS4Å   | : 4 Å molecular sieves                       |
| NIS    | : <i>N</i> -iodosuccinimide                  |
| Ph     | : phenyl                                     |
| Pyr    | : pyridine                                   |
| SE     | : 2-(trimethylsilyl)ethyl                    |

|      |  |
|------|--|
| TBAF | : tetra- <i>n</i> -butylanmonium fluoroide |
| TEA  | : triethylamine                            |
| Tf   | : trifluoromethanesulfonyl                 |
| TFAc | : trifluoroacetyl                          |
| THF  | : tetrahydrofuran                          |
| TMS  | : trimethylsilyl                           |
| Tol  | : <i>p</i> -methylbenzoyl                  |
| Ts   | : <i>p</i> -toluenesulfonyl                |

## 目次

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| 緒言                                 | 05 |
| 第1部 一級水酸基置換型セレノラクトースの合成と X 線結晶構造解析 | 08 |
| 第1章 分子設計と合成戦略                      | 08 |
| 第2章 6'-セレノラクトースの合成                 | 13 |
| 第1節 セレノガラクトース供与体の合成                | 13 |
| 第2節 6'-セレノラクトースの構築                 | 15 |
| 第3章 6-セレノラクトースの合成                  | 20 |
| 第1節 セレノグルコース受容体の合成                 | 20 |
| 第2節 6-セレノラクトースの構築                  | 21 |
| 第4章 SPR 法によるヒトガレクチン-9 NCRD との結合試験  | 23 |
| 第5章 セレン標識糖鎖への MAD 法の適用と共結晶 X 線構造解析 | 25 |
| 総括                                 | 28 |

|     |                                   |    |
|-----|-----------------------------------|----|
| 第2部 | アセタール交換反応を利用する新規セレン導入反応の開発        | 29 |
| 第1章 | 新規セレン導入反応の開発戦略                    | 29 |
| 第2章 | 直鎖型セレノアセタール試薬の開発                  | 31 |
| 第3章 | セレン多置換糖鎖の合成                       | 36 |
| 第1節 | セレン多置換糖鎖の合成戦略                     | 36 |
| 第2節 | メチルセレノ基を有する求核剤の開発                 | 38 |
| 第3節 | トリセレノシアリル $\alpha$ (2-6)ガラクトースの合成 | 41 |
|     | 総括                                | 42 |
|     | まとめ                               | 43 |
|     | 実験の部                              | 44 |
|     | 謝辞                                |    |

## 緒言

核酸、蛋白質に続く第三の生命鎖である糖鎖は、生体内では細胞表層に多く存在し、様々な生命現象、例えば、細胞間のシグナル伝達、病原菌やウイルスの感染などに関与している。このような糖鎖の高次機能発現においては、糖鎖-糖鎖または、糖鎖-蛋白質の相互作用を介した糖鎖と認識受容体との複合体の形成が重要であり、その認識複合体の立体構造情報の取得は、分子レベルでの糖鎖の生物学的意義の解明において不可欠である。これまでに当研究室では、有機化学的に合成した糖鎖と、シアル酸認識蛋白質 Siglec7<sup>1</sup>、細菌毒素 Tetanus Toxin<sup>2</sup>、Botulinus Toxin<sup>3</sup>やメルケル細胞ポリオーマウイルス<sup>4</sup>との糖鎖-蛋白質複合体の共結晶を作成し X 線結晶構造解析を行うことで、認識機構の解明、作用機構の解明に繋げてきており、糖鎖認識機構の解明にはこのような構造生物学的なアプローチが有力であることを証明してきた。

蛋白質の立体構造解析では、セレン原子特有な X 線散乱強度の波長依存性を利用し位相決定を行う、多波長異常分散法 (Multi-wavelength Anomalous Diffraction method : MAD 法 (Figure 1))<sup>5</sup>があり、1990 年代頃から盛んに行なわれるようになってきた。従来法である重原子同型置換法 (Multiple Isomorphous Replacement method: MIR 法)に比べて、困難であった蛋白質結晶の重原子置換の必要が無くなり、セレン原子置換型蛋白質の結晶の調製を行い多波長の X 線を用いるのみで蛋白質の構造情報を得られるため、蛋白質の立体構造決定数を飛躍的に増大させた。

しかしながら、この MAD 法にも二つの問題が存在している。一つ目はセレン標識蛋白質

---

<sup>1</sup> H. Attrill, A. Imamura, R. S. Sharma, M. Kiso, P. R. Crocker, D. M. F. van Aalten, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 32774-32783.

<sup>2</sup> C. Fotinou, P. Emsley, I. Black, H. Ando, H. Ishida, M. Kiso, K. A. Sinha, N. F. Fairweather, N. W. Isaacs, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 32274-32281.

<sup>3</sup> P. Stenmark, J. Dupuy, A. Imamura, M. Kiso, R. C. Stevens, *PLoS Pathogens* **2008**, *4*, e1000129.

<sup>4</sup> U. Neu, H. Hengel, B. S. Blaum, R. M. Schowalter, D. Macejak, M. Gilbert, W. W. Wakarchuk, A. Imamura, H. Ando, M. Kiso, N. Arnberg, R. L. Garcea, T. Peters, C. B. Buck, T. Stehle, *PLoS Pathogens* **2012**, *8*, e1002738.

<sup>5</sup> W. Yang, W. A. Hendrikson, R. J. Crouch, Y. Satow, *Science* **1990**, *249*, 1398-1405.

の調製がしばしば困難化する点である。MAD 法の適用においては、遺伝工学的な操作によりセレン標識蛋白質を調製する必要があり、蛋白質をコードするリコンビナント DNA の取得、ベクターによる大腸菌への導入、大腸菌培養、蛋白質の精製と、多工程を要し、長い時間を費やす場合も多い。加えて、セレン標識蛋白質の発現量が概して低く、とりわけ昆虫細胞やヒト細胞の発現系では費用が高額になることもしばしば問題とされている。

二つ目には、セレン標識により蛋白質の物性が変化する可能性の点が挙げられる。セレン標識蛋白質は、もとの蛋白質と比べ蛋白質の脆弱化、結晶性の低下、立体構造の変化が生じる場合がある。

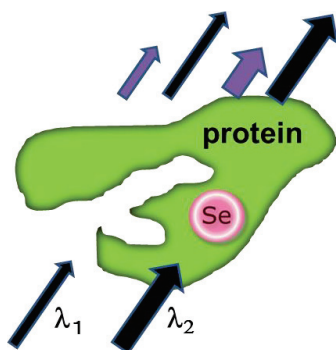


Figure 1 MAD 法の概念図

近年 Huang ら<sup>6</sup>は、DNA の結晶構造解析において、核酸の 2'位やリン酸エステル部位にあらかじめセレン原子を導入し MAD 法による DNA 結晶構造解析に成功しており、MAD 法の応用範囲が広がってきている。

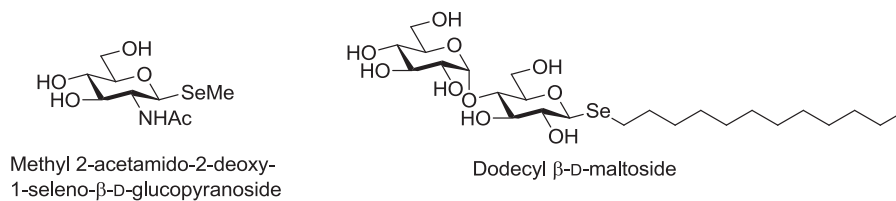
また、Buts ら<sup>7</sup>はセレノグルコサミン誘導体を用いて *E. coli* 由来の糖結合蛋白質 F-17G adhesin との共結晶の構造解析に、齊野ら<sup>8</sup>はセレノマルトシド誘導体を界面活性剤として用いて膜蛋白質 Leukotriene C4 synthase との共結晶の構造解析に成功している (Figure 2)。

<sup>6</sup> a) Q. Du, N. Carrasco, M. Teplova, C. J. Wilds, M. Egli, Z. Huang, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 24. b) N. Carrasco, Z. Huang, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 448. c) J. Salon, G. Chen, Y. Portilla, M. W. Germann, Z. Huang, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5645. d) J. Salon, J. Sheng, J. Jlang, G. Chen, J. Caton-Williams, Z. Huang, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4862.

<sup>7</sup> L. Buts, R. Loris, E. De Genst, S. Oscarson, M. Lahmann, J. Messens, E. Brosens, L. Wyns, H. De Greve, J. Bouckaert, *Acta Cryst.* **2003**, *D59*, 1012-1015.

<sup>8</sup> H. Saino, H. Ago, Y. Ukita, M. Miyano, *Acta Cryst.* **2011**, *F67*, 1666-1673.





**Figure 2**

このように、糖鎖-蛋白質複合体の X 線結晶構造解析においてもセレノ糖を用いることで蛋白質を加工することなく MAD 法が適用可能であることが示されてきている。

しかしながら、糖鎖のセレン標識が分子構造、化学的・物性学的性質に与える影響は、系統的に検証されておらず、セレノ糖鎖を用いた MAD 法の適用限界など明らかとされていない。これは、主にセレノ糖鎖の合成法が確立していないことに起因していると考えられる。

そこで、本研究ではセレン標識糖鎖の合成法を確立し MAD 法におけるセレン標識糖鎖の有効性を検証することを目的とした。第 1 部では一級水酸基置換型ラクトースの合成と MAD 法を用いた X 線結晶構造解析への適用を行うこととし、第 2 部では、大型の蛋白質解析への MAD 法の適用に向けて新規のセレノグリコシド構築法の開発を行うこととした。

## 第1部 一級水酸基置換型セノラクトースの合成とX線結晶構造解析

### 第1章 分子設計と合成戦略

これまでに当研究室ではグリコシド結合の酸素原子をセレン原子に置換した糖鎖の合成を報告している<sup>9</sup>。しかしながら、セレン原子による置換がグリコシド結合の角度、距離を変化させ立体構造の変形による蛋白質の認識への影響が出るのが懸念される。そこで、立体構造の保持のためにはグリコシド結合に含まれない水酸基の酸素をセレンで置換する方が有利と考えられるが、この場合でも果たして糖鎖リガンドのミミックとして正しく蛋白質に認識されるかは依然として不明である。

そこで本研究では、ラクトース、ラクトサミン、ラクトサミン二量体などとの、X線結晶構造解析がすでに報告され、その糖鎖認識機構についても詳細に解析されているガレクチン-9を糖鎖結合蛋白質のモデルとして着目し、セノ糖鎖に対する認識を検証することとした (Figure 3)<sup>10</sup>。

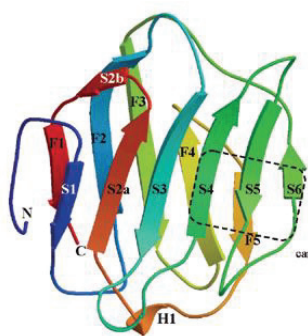


Figure 3 ガレクチン-9の立体構造

ガレクチン-9は353アミノ酸残基、分子量約40 kDaからなり、1998年に好酸球の遊走活性に関与するエカレクチンとして同定され、免疫細胞に多く発現し、炎症や腫瘍に深く関わっていることが報告されている。ガレクチン-9を含むガレクチンの一類<sup>11</sup>は動物レクチンファミリーの中で、 $\beta(1\rightarrow4)$ ガラクトシド結合を認識する一群と定義されており、多糖中の

<sup>9</sup> a) Y. Kawai, H. Ando, H. Ozeki, M. Koketsu, H. Ishihara, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4653-4656. b) M. Nanami, H. Ando, Y. Kawai, M. Koketsu, H. Ishihara, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 1113-1116.

<sup>10</sup> M. Nagae, N. Nishi, S. Nakamura-Tsuruta, J. Hirabayashi, S. Wakatsuki, R. Kato, *J. Mol. Biol.* **2008**, *375*, 119-135.

<sup>11</sup> H. Leffer, *Trends Glycosci. Glycotech.* **1997**, *9*, **45**, 9-19.

$\beta(1\rightarrow4)$ ガラクトシド結合をも認識することが可能である。本研究では、ガレクチン-9 が認識する最小のリガンド構造の1つであるラクトースのセレン標識体を合成することとした。

ラクトースはヒト由来ガレクチン-9 のアミノ酸残基と水素結合を介して、ガラクトース残基の4位水酸基、6位水酸基の順で強く認識されることが知られている (Figure 4)。本研究では、認識に関わる水酸基の酸素を敢えてセレンに置換することで、セレン置換の及ぼす糖鎖認識への影響を調べることにした。しかし、水酸基 (OH) に対応するセレノール (SeH) は容易に酸化されてジセレニド結合を形成するため、保護基として立体障害が最小のメチル基を導入することとし、MeSe 基で水酸基を置換することとした。また、セレンで置換する位置として、立体的な障害が小さく、アキラルな炭素である6位及び6'位を選択し、MeSe で置換したセレノラクトース類縁体を目的化合物と設定した。

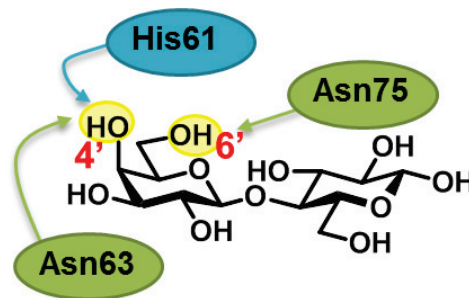


Figure 4 ヒトガレクチン-9 の認識する糖の水酸基

また、合成したセレノラクトースは前述の通りガレクチン-9 にリガンドとして認識されるかどうかの検証を行う必要があり、その解析手法として本研究では表面プラズモン共鳴法 (SPR 法) を選択することとした。そのため、合成したセレノ糖鎖をセンサーチップ上へ固定化するために、アミノ基を有するリンカーを導入した化合物も合成することとした。

以上より、目的の化合物はガラクトース 6 位メチルセレノ基置換ラクトース誘導体 1 (6'-SeMe ラクトース誘導体)、及び、グルコース 6 位メチルセレノ基置換ラクトース誘導体 2 (6-SeMe ラクトース誘導体) と、それらのアグリコン部位にアミノ基を有するリンカーを導入した SPR 試験時にセンサーチップへ固定化するための化合物 3、及び、化合物 4 と設定した (Figure 5)。

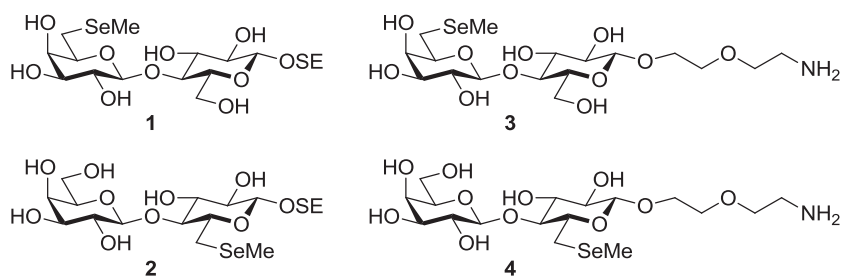
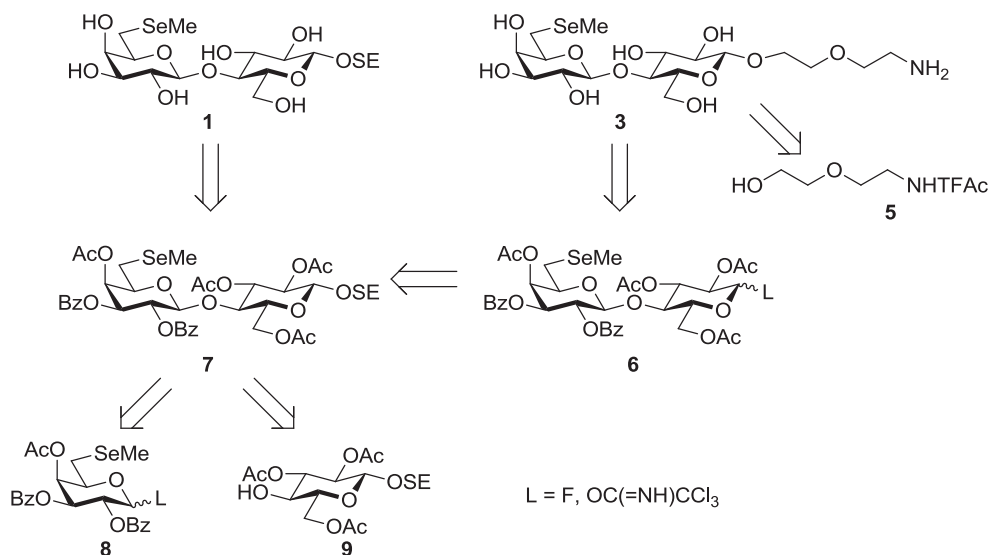


Figure 5

まず、6'-SeMe ラクトース誘導体 1 及び 3 の合成を目指すこととし、逆合成解析を行った

(Scheme 1)。



Scheme 1

今後のより大きなセレノ糖鎖合成を視野に入れた際に、収率が未知のセレン導入反応を、オリゴ糖構築後に行うことは合成上リスクが高いと考えられた。そこで、単糖の段階でセレン原子導入を行うこととし、MeSe 基を有するガラクトース供与体 8 を設計した。供与体 8 は、グルコース受容体 9 とのグリコシル化を行いセレノラクトース 7 へと誘導後、一部はアシル系保護基の脱保護を行い共結晶化用の糖鎖 1 へと誘導し、残りの部分はスペーサーとなるアミノエトキシエタノールの TFAc 保護体<sup>12</sup> (化合物 5) を導入した後に脱保護を行い結合試験用の糖鎖 3 を合成することとした。

続いて、各合成ユニットの保護様式について述べる。セレン原子は硫黄原子と同様にパ

<sup>12</sup> Y. J. Kwon, S. M. Standley, A. P. Goodwin, E. R. Gillies, J. M. J. Frechet, *Mol. Pharmaceutics* **2005**, 2, 83-91.

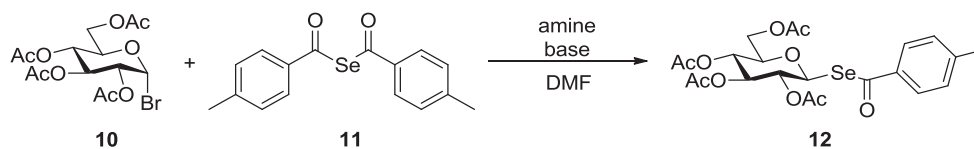
ラジウムへの強い配位力を有するため、接触水素添加法による Bn 基の脱保護が不可能となる<sup>13</sup>。そのため、本研究では遊離水酸基の保護に Bn 基を用いない合成計画とした。

ガラクトース供与体では、グリコシド結合形成時の隣接基関与を期待し 2 位水酸基は Bz 基で保護し、3 位及び 4 位水酸基には脱保護を考慮してエステル系の保護基で保護することとした。また、アノマー位は脱離基への誘導を行うため、酸性条件で選択的脱保護が可能な SE 基で保護することとした。グリコシル化の際の脱離基については、後述するが、セレン原子存在下で同族の硫黄原子の選択的活性化が困難であることが考えられたため、フッ素またはトリクロロアセトイミデート供与体を用いる計画とした。

グルコース受容体では、前述の理由により Bn 基を用いることができないため、アシル系保護基の中で立体障害の小さい Ac 基で水酸基を保護することとした。また、グルコース受容体でも、アノマー位に酸性条件で脱保護可能な SE 基を導入し、リンカー導入の際のグリコシル供与体への変換を考慮することとした。このグルコーストリアセチル受容体 **9** は当研究室で、すでに縮合反応における有用性が確認されている<sup>14</sup>。

最後に、リンカーの前駆体であるアミノエトキシエタノールのアミノ基の保護については、一段階で糖鎖のアシル系保護基と同時に脱保護可能な TFAc 基を選択することとした。

続いて、鍵となる一級水酸基へのセレンの導入法についてだが、当研究室の毛受<sup>15</sup>が開発した、結晶化による精製が可能なセレントルオイル酸無水物 **11** を二級アミンによって活性化し反応に用いるセレン導入法を採用することとした (Scheme 2)。



Scheme 2

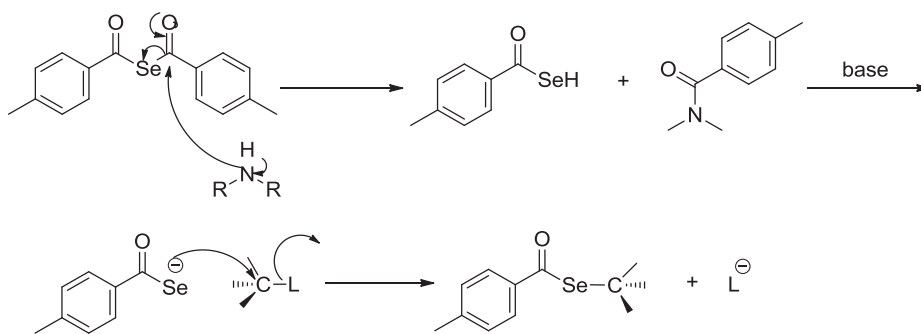
セレントルオイル酸無水物 **11** は、次の反応機構に沿って求電子剤と反応し、炭素-セレン

<sup>13</sup> 河合由美子, 岐阜大学大学院工学研究科修士論文 2007.

<sup>14</sup> 玉井秀樹, 岐阜大学大学院工学研究科修士論文 2009.

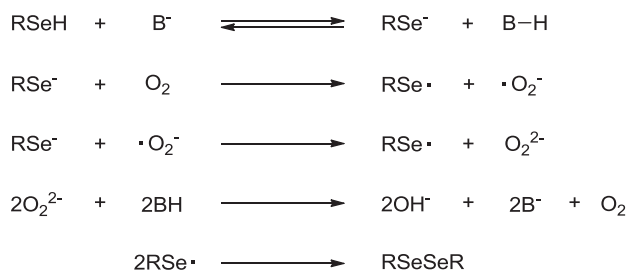
<sup>15</sup> a) 毛受雅典, 岐阜大学大学院工学研究科修士論文 2010. b) H. Ishihara, S. Sato, Y. Hirabayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1977, 50, 3007-3009.

結合を形成する。化合物 11 のカルボニル炭素が求核剤（二級アミン）により攻撃されることでセノトルオイル酸が脱離し、塩基の存在下で生成したセノラートアニオンが脱離基を持つ炭素を攻撃、立体の反転を伴いながら炭素-セレン結合を新たに形成させる (Scheme 3)。



Scheme 3

反応中に発生するセノラートアニオンは、塩基と酸素の存在下で容易にジセレンイド<sup>16</sup>へと分解するため、4級アンモニウム塩の形で安定化させるために DIEA を用いる必要がある (Scheme 4)。



Scheme 4

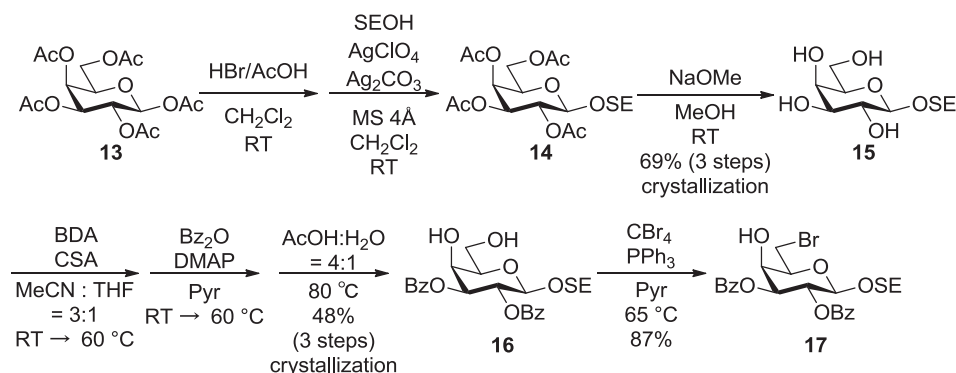
次に、グルコース 6 位セレン置換型である 6 セノラクトース誘導体 2 の合成戦略についてだが、6'-セノラクトース誘導体 1 の合成で得られる情報をもとに設計することとし、詳細については第 3 章で後述することとした。

<sup>16</sup> MARCH'S *Advanced Organic Chemistry Reaction, Mechanisms, and Structure 5<sup>th</sup> edition*; M. B. Smith, J. March, Eds.; Wiley-Interscience: Hoboken, New Jersey, 2001, pp. 1543-1547.

## 第2章 6'セレノラクトースの合成

### 第1節 セレノガラクトース供与体の合成

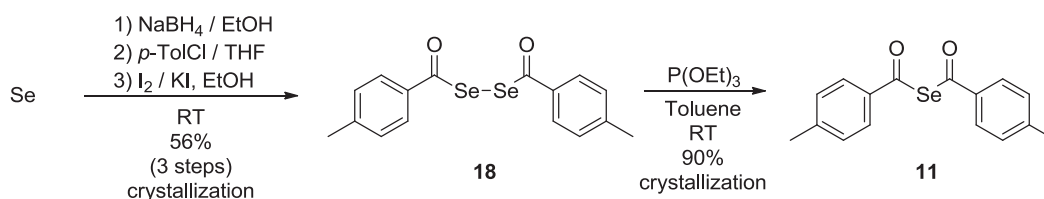
アノマー位を SE 基で保護し、2,3 位をベンゾイル基で、4 位をアセチル基で保護した 6-セレノガラクトース供与体の合成を行った (Scheme 5)。



Scheme 5

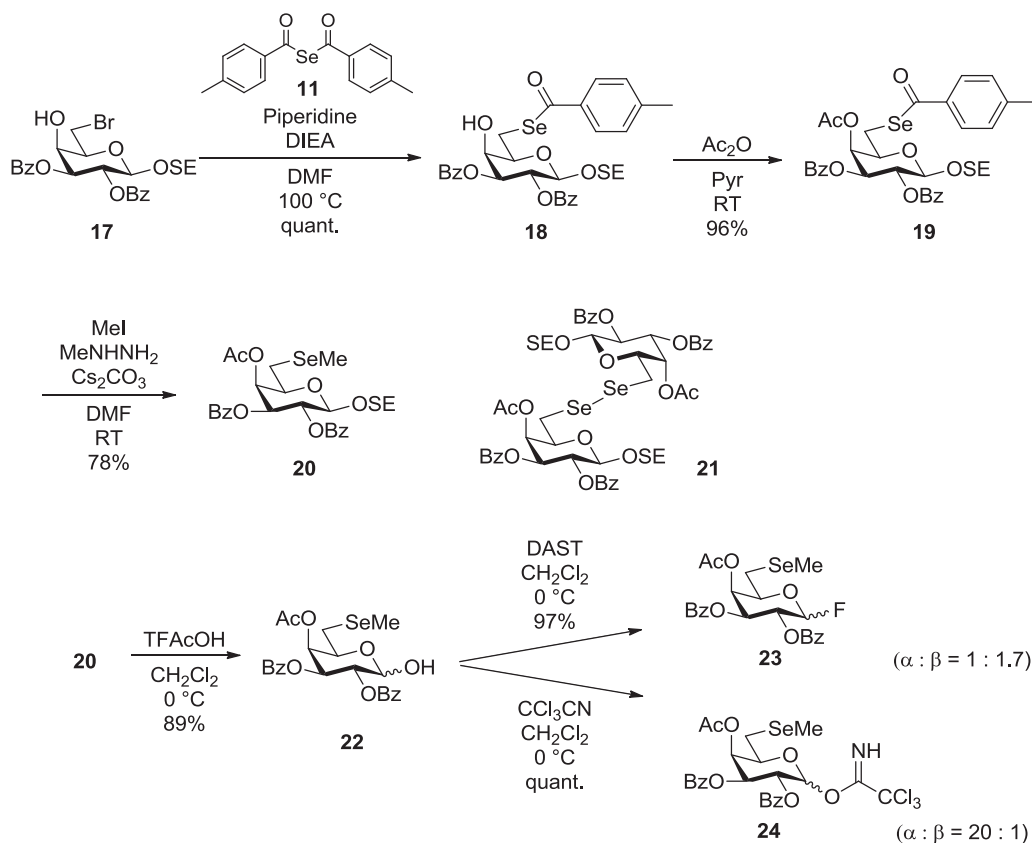
市販のβ-D-galactose-pentaacetate (化合物 13) を出発原料として、定法によりアノマー位を SE 基にて保護し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて試薬のみを除いた後、Ac 基を脱保護し、EtOH / *n*-hexane にて結晶化を行い三段階、収率 69%にて化合物 15 を得た。化合物 15 の 4,6 位水酸基のベンジリデン化、2,3 位水酸基のベンゾイル化、脱ベンジリデン化を連続的に行い、結晶化 (AcOEt / *n*-Hexane)による単離で、三段階収率 48%にて化合物 16 を得た。その後、アッペル反応を用いて化合物 22 の遊離となった一級の 6 位水酸基を、選択的に Br で置換し収率 87%で化合物 17 を得ることができた。

続いてセレン導入試薬であるセレノトルオイル酸無水物 11 の合成を行った (Scheme 6)。金属セレンの水素化ホウ素ナトリウムによる還元が続いて、*p*-methylbenzoyl chloride によるセレン原子のトルオイル化、最後にヨウ素のフリーラジカルによるセレンの酸化を行い、結晶化 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> / *n*-hexane)により収率 56% (三段階)にてセレノトルオイル酸ジセレニド 18 を得た。続いて化合物 18 を亜リン酸トリエチルで還元し、結晶化 (diethylether / *n*-hexane)にて、セレノカルボン酸無水物 11 を収率 90%で得た。



Scheme 6

調製したセレントルオイル酸無水物 **11** と Br 体 **17** に piperidine、DIEA を反応させることで、定量的に化合物 **18** を得ることができた。その後、遊離の 4 位水酸基を Ac 基で保護した後に、Tol 基から Me 基への変換を行い収率 78%にて化合物 **20** を得た。また、この反応では副生成物として、ジセレニド体 **21** が得られた。その後、化合物 **20** の SE 基を脱保護しヘミアセタール体 **22** へと誘導した後、定法に従ってフッ素供与体 **23** を 97%の収率で、トリクロロアセトイミデート供与体 **24** を定量的に得ることができた (Scheme 7)。

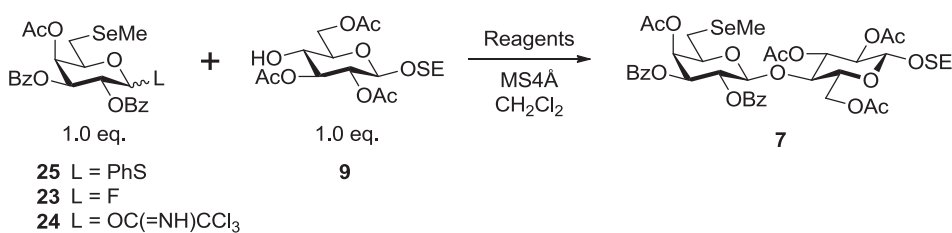


Scheme 7



## 第2節 6'セレノラクトースの合成

調製したフッ素供与体 **23**、トリクロロアセトイミデート供与体 **24** と比較のために別途合成したフェニルチオグリコシド供与体 **25** を用いて縮合反応を行った。受容体にはトリアセチルグルコース受容体 **9** を用いた (Table 1)。



| Entry | Donor                   | Reagents (eq.)   | Temp.       | Time | Yield |
|-------|-------------------------|--|-------------|------|-------|
| 1     | PhS                     | NIS (1.0)      TfOH (0.05)                               | -78 °C → RT | 26 h | -     |
| 2     | F                       | Cp <sub>2</sub> ZrCl <sub>2</sub> (2.5)      AgOTf (5.0) | -80 °C → RT | 96 h | trace |
| 3     | OC(=NH)CCl <sub>3</sub> | TMSOTf<br>(0.1 → 0.2 → 0.3 → 0.4)                        | -40 °C → RT | 95 h | -     |

Table 1

Entry 1 では PhS 供与体 **25** に、NIS、TfOH を作用させ反応を行ったが、PhS 基の活性化は起こらず目的化合物を得ることはできなかった<sup>17</sup>。また、得られたものは、化合物 **25** の分解物と未反応の受容体だけであった。Entry 2 ではフッ素供与体 **23** を、Cp<sub>2</sub>ZrCl<sub>2</sub> と AgOTf により活性化したが、目的の縮合物は痕跡量程度しか確認できず、ヘミアセタール体と未反応の受容体を得るのみであった<sup>18</sup>。Entry 3 ではトリクロロアセトイミデート供与体 **24** を、TMSOTf により活性化したがヘミアセタール体、受容体未反応分と TMS 化された受容体を得るのみであった<sup>19</sup>。

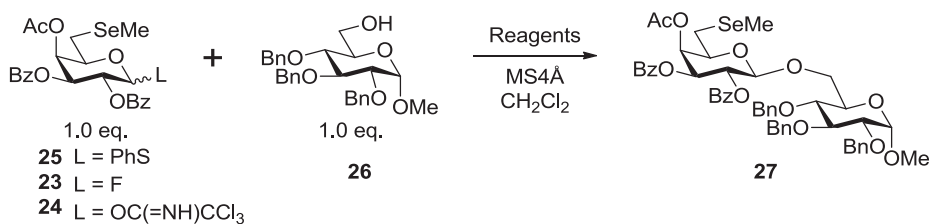
以上の結果より、フッ素及びトリクロロアセトイミデート基を脱離基に持つセレノガラクトース供与体を用いた場合、縮合物は得られなかったが、脱離基の活性化は起こり、へ

<sup>17</sup> a) P. Konradsson, U. E. Udodong, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4313-4316; b) P. Konradsson, D. R. Mootoo, R. E. McDevitt, B. Fraser-Reid, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 270-272; c) G. H. Veeneman, S. H. Van Leeuwen, J. H. Van Boom, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1331-1334.

<sup>18</sup> K. Suzuki, H. Maeta, T. Suzuki, T. Matsumoto, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 6879-6882.

<sup>19</sup> a) R. R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, *19*, 731-732; b) R. R. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 212-235.

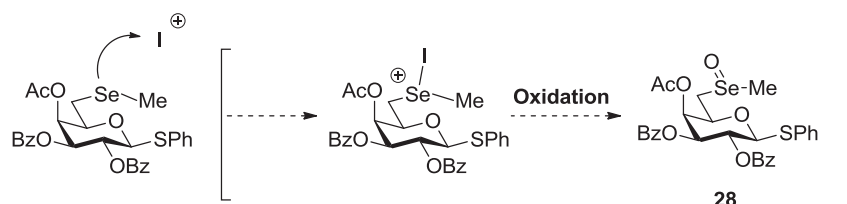
ミアセタール体を与えることが分かった。このことは、グルコーストリアセチル受容体 9 の低反応性が原因と考えられたため、高反応性グルコース受容体のモデルとして、市販の methyl 2,3,4-tri-*O*-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (化合物 26) を用いて縮合反応の検討を行うこととした (Table 2)。



| Entry | Donor                   | Reagents (eq.)                                      | Temp.     | Time  | Yield |
|-------|-------------------------|---|-----------|-------|-------|
| 1     | PhS                     | NIS (1.0) TfOH (0.05)                               | -40 °C    | 4.5 h | -     |
| 2     | F                       | Cp <sub>2</sub> ZrCl <sub>2</sub> (2.5) AgOTf (5.0) | 0 °C → RT | 24 h  | 53%   |
| 3     | OC(=NH)CCl <sub>3</sub> | TMSOTf (0.1 → 0.2)                                  | -40 °C    | 11 h  | 66%   |

Table 2

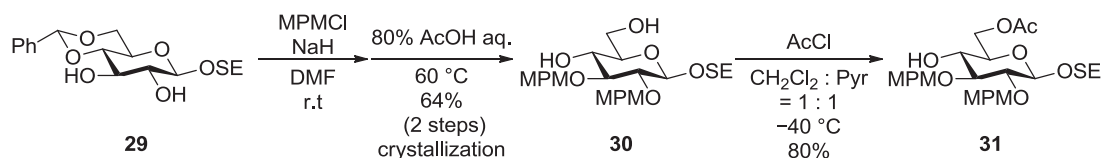
Entry 1 では、Table 1 の結果より活性化が起きづらいことが考えられたため試薬の等量を増やし、反応温度も高くして反応を行ったが、目的の縮合物を得ることはできなかった。この反応では、セレノキシド体 28 を混合物として得た。このセレノキシド体は、反応系中でヨウ素カチオンがセレン原子に配位した後に、酸化を受けて生成したと考えられるため (Scheme 8)、セレン原子存在下における PhS 基の活性化が困難であることを強く示唆している。しかしながら、セレノキシド体 28 は不安定であり単離には至らなかった。



Scheme 8

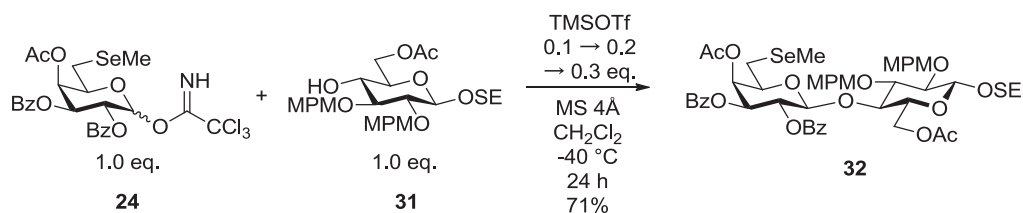
Entry 2 でも、活性化が起きづらいことが考えられたため温度を上げて反応を行った。結果として、収率 53%で、縮合物 27 を得ることができた。また、27 の他にはヘミアセタール体と受容体の未反応分とを回収した。一方、トリクロロアセトイミデート供与体を用いた

Entry 3 では、化合物 27 を 66% の収率で得ることができた。副生成物として、ヘミアセタール体、N-グリコシド、TMS 化された受容体を得た。以上の結果から、MeSe 基の存在下で PhS 基を供与体の脱離基として用いることは困難であるが、フッ素及びトリクロロアセトイミデート基を脱離基として用いることによりグリコシル化が可能であることがわかった。また、Table 1 と Table 2 の結果は、グルコーストリアセチル受容体 9 の低反応性を示した。そこで、グリコシル化の収率向上を目的に、電子供与性であり、且つ、酸性条件による選択的脱保護が可能な MPM 基を 2、3 位に導入した新しいグルコース受容体 31 を設計した (Scheme 9)。



Scheme 9

グルコースの 4,6-Bzld 保護体<sup>20</sup> (化合物 29) を出発物質として、2,3 位を MPM 基で保護した後に、Bzld 基を脱保護して、二段階収率 64% にて化合物 30 を得た。その後、6 位を選択的に Ac 基で保護し、目的のグルコース受容体 31 を収率 80% にて合成した。この新しいグルコース受容体を用いて、Table 2 において最も収率の高かったトリクロロアセトイミデート基を持つセレノガラクトース供与体 24 との縮合反応を行った (Scheme 10)。



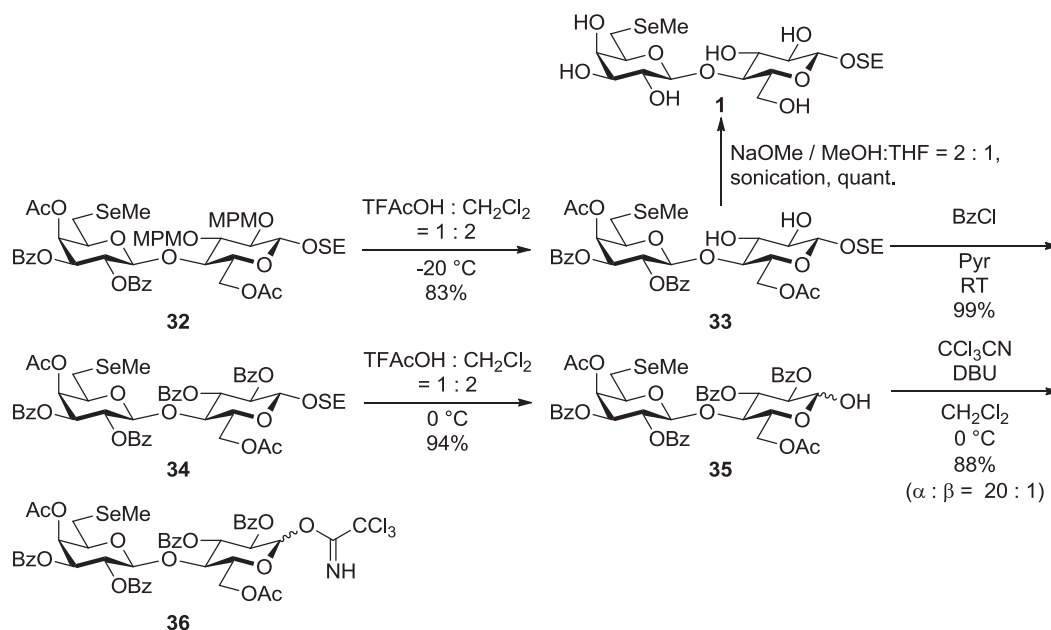
Scheme 10

反応の結果、目的とする 6'-MeSe ラクトース誘導体 32 を 71% の収率で合成することができた。副生成物としてはヘミアセタール体と、受容体の TMS 化体を得て、また受容体の未反応分も回収した。また、MPM 基の一つがルイス酸により脱保護された二糖が質量分析に

<sup>20</sup> K. Jansson, S. Ahlfors, T. Frejd, J. Kihlberg, G. Magnusson, J. Dahmen, G. Noori, K. Stenvall, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5629-5647.

より確認されたため収率改善においては、MPM 基の脱離を最小限に抑制する条件の確立が必要であると考えられる。

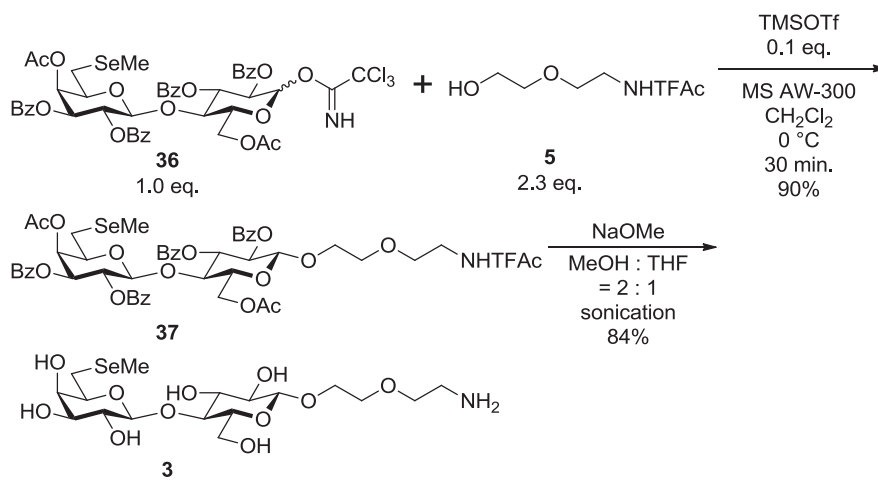
続いて得られた 6'-セレノラクトース誘導体 32 から、目的化合物 1 への誘導と、リンカーの導入に向けて二糖供与体への誘導を行った (Scheme 11)。



Scheme 11

化合物 32 の MPM 基を -20 °C において選択的に除去し、化合物 33 を得た。得られた化合物 33 の一部は、超音波照射下<sup>21</sup>、加溶媒分解によるアシル系保護基の除去を行い共結晶化用の糖鎖 1 へと誘導した。残りの化合物 33 は二糖供与体へと誘導するため、グリコシル化時の隣接基関与を期待し遊離となった 2,3 位の水酸基にベンゾイル基を収率 91% で導入した。その後、定法に従い、化合物 35 の SE 基の脱保護、トリクロロアセトイミデート化を行い、6'-セレノラクトース供与体 36 へと誘導した。最後にリンカー化合物 5 との縮合反応に供し、収率 90% で化合物 37 を合成し、続いて、超音波照射下、加溶媒分解を行うことで SPR 試験用の化合物 3 の合成を達成した (Scheme 12)。

<sup>21</sup> S. Deng, U. Gangadharmath, C.-W. T. Chang, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5179-5185.

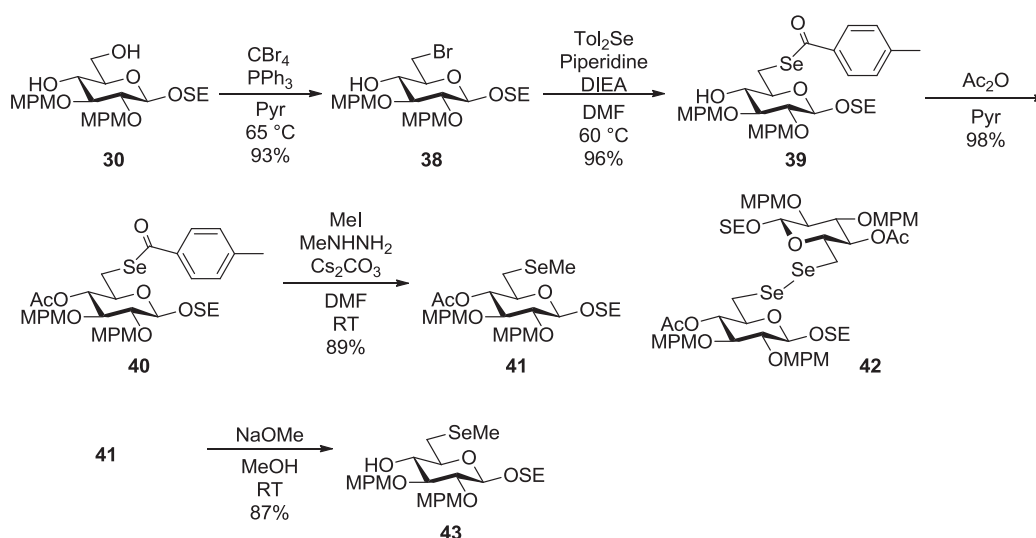


**Scheme 12**

### 第3章 6-セレノラクトースの合成

#### 第1節 セレノグルコース受容体の合成

第2章において、得られた知見を元にグルコースの6位をセレン置換したグルコース受容体を設計することとした。グルコース2位には二糖構築後のアノマー位へのリンカー導入時に、立体選択的にβ-グリコシドを得る必要があるため、隣接基関与を与えるアシル系保護基を導入することが望まれた。しかしながら、ガラクトース供与体によるグリコシル化時に際して4位水酸基の低反応性が懸念されたため、電子供与性のMPM基を2,3位基に持つ6-セレノグルコース受容体43を設計した (Scheme 13)。

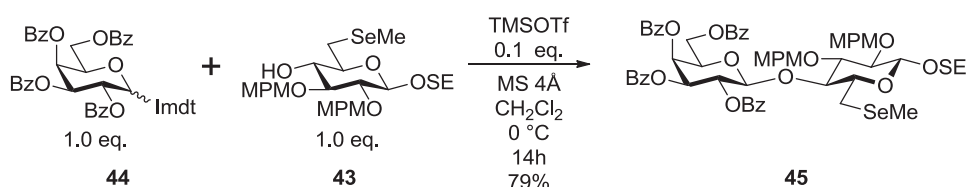


Scheme 13

第2章で用いた化合物30を出発物質として、6-MeSeガラクトース供与体合成時と同様の経路で合成を行った。化合物30の6位を96%の収率にてBr化、その後、セレントルオイル酸無水物11を用いてトルオイルセレン化し、化合物39を収率96%で得た。次に、遊離4位水酸基をアセチル基で保護し収率98%で化合物40を得た後、トルオイル基を *in situ* セレノラートアニオン法を用いてMe基へと収率89%で変換し化合物41を得た。この反応ではジセレニド体42も得た。最後に、化合物41の4位アセチル基を脱保護し収率87%で6-セレノグルコース受容体43を合成した。

## 第2節 6-セレノラクトースの構築

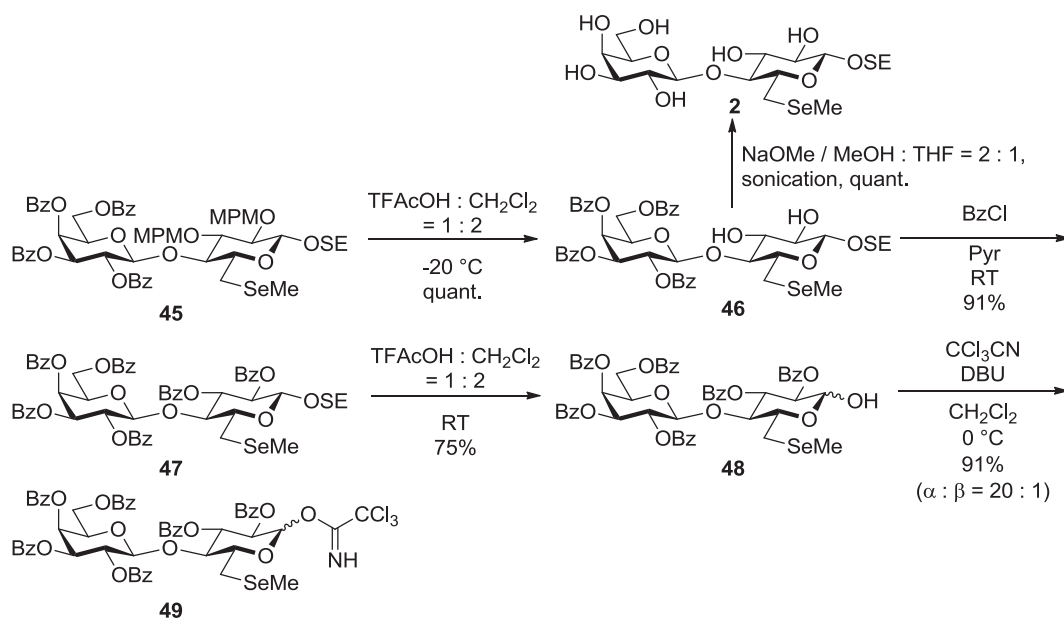
第1節にて合成したセレノグルコース受容体と、簡便に調製することが可能なガラクトース供与体<sup>22</sup> (化合物 44) との縮合反応を行った(Scheme 14)。



Scheme 14

反応の結果、収率 79%で目的の 6-MeSe ラクトース誘導体 45 を合成することができた。副生成物としてはヘミアセタール体と TMS 化された受容体を得て、また、受容体の未反応分も回収した。

続いて得られた 6-セレノラクトース誘導体 45 から、目的化合物 2 への誘導と、リンカーの導入に向けて二糖供与体への誘導を行った (Scheme 15)。

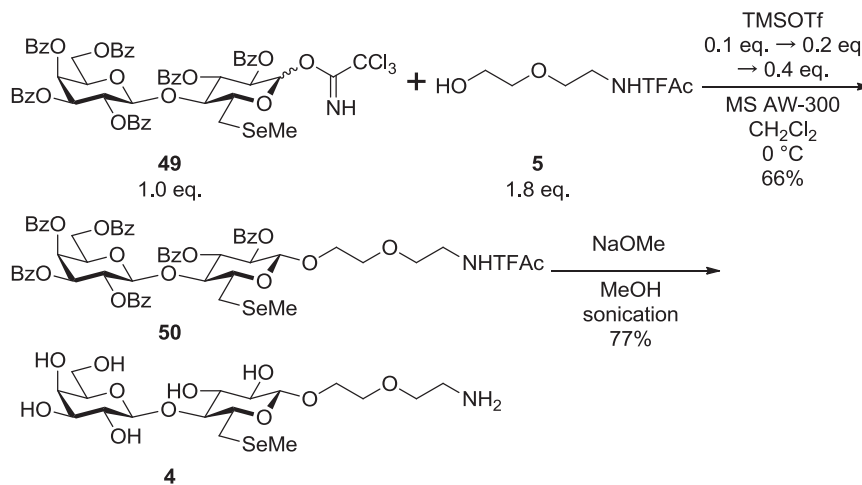


Scheme 15

6'-セレノラクトース誘導体 32 の保護基変換と同様に、化合物 45 の MPM 基を -20 °C において選択的に除去し、一部は、超音波照射下、加溶媒分解によりアシル系保護基を除去し

<sup>22</sup> S. Rio, J. M. Beau, J. C. Jacquinet, *Carbohydr. Res.* **1991**, 219, 71-90.

化合物 2 へと誘導した。化合物 46 の残りは遊離となった 2,3 位の水酸基に収率 91%でベンゾイル基を導入した。その後、定法に従い化合物 47 の SE 基を脱保護し、遊離となった水酸基のトリクロロアセトイミデート化を行い、6-セレノラクトース供与体 49 へと誘導した。



Scheme 16

続いて、化合物 49 と、リンカー化合物 5 との縮合反応を行い、収率 66%で化合物 50 を得た (Scheme 16)。その後、超音波照射下、加溶媒分解によりアシル基の脱保護を行い、目的化合物 4 の合成を達成した。



#### 第4章 SPR法によるヒトガレクチン-9 NCRD との結合試験

第2章、第3章において合成したリンカー末端にアミノ基を有する二種類のセレノラクトース誘導体3、4とポジティブコントロールとして未標識のラクトースにリンカーを導入したものをを用いてSPR法による結合試験を行うこととした。測定の際のセンサーチップには、金膜上にデキストランを介し結合用の官能基としてカルボキシ基を有するセンサーチップCM5を選択し、リガンドとなるラクトース誘導体三種類それぞれをアミド結合によって固定化した (Figure 5)。

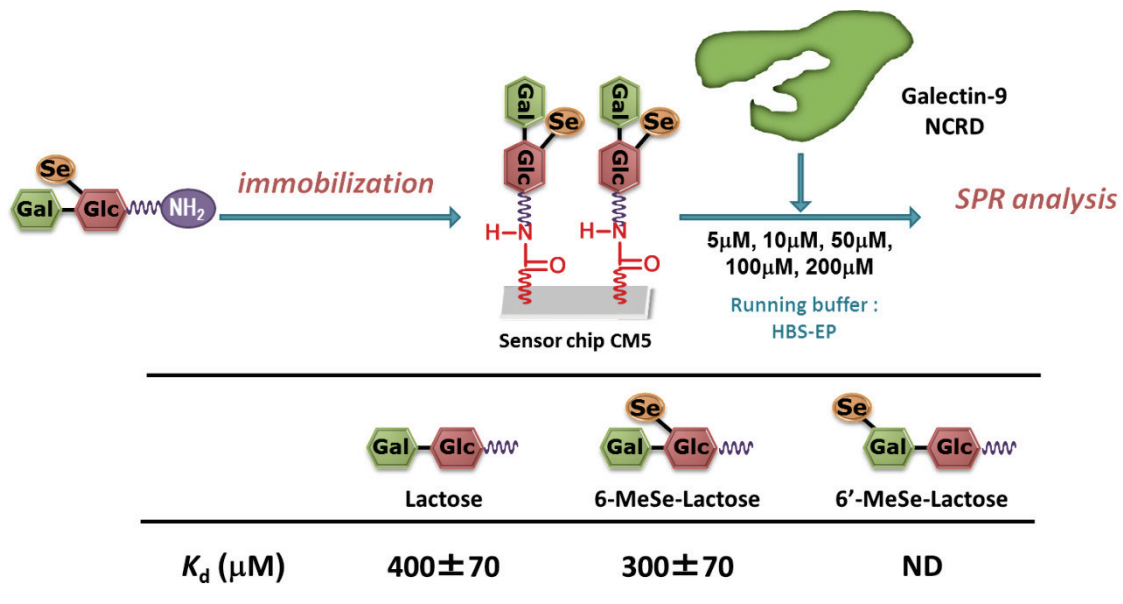


Figure 5

分析対象としてヒトガレクチン-9 NCRD を用いて、5  $\mu\text{M}$ 、10  $\mu\text{M}$ 、50  $\mu\text{M}$ 、100  $\mu\text{M}$ 、200  $\mu\text{M}$  の五段階の濃度に設定し、それぞれのラクトースをリガンドとして固定化したセンサーチップを用いて解析を行った。ポジティブコントロールである未標識ラクトースでは、 $K_d = 400 \pm 70 \mu\text{M}$  という結果を与えた。また、6-メチルセレノラクトースでは  $K_d = 300 \pm 70 \mu\text{M}$  という結果を与えて、未標識ラクトースと同程度の解離定数を持つことが分かった。平林ら<sup>23</sup>によるフロンタルアフィニティークロマトグラフィー (FAC)を用いたヒトガレクチン

<sup>23</sup> J. Hirabayashi, T. Hashidate, Y. Arata, N. Nishi, T. Nakamura, M. Hirashima, T. Urashima, T. Oka, M. Futai, W. E. G. Muller, F. Yagi, K. Kasai, *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, 1572, 232-254.

-9 NCRD とラクトースの解離定数測定の結果が  $K_d = 103 \mu\text{M}$  であることと、一般にレクチンと糖の認識にはそれほど強い結合を必要とせず  $K_d$  は  $10 \sim 1000 \mu\text{M}$  程度ということから、今回の差は優位な差ではなくあくまで同程度の強さで認識されたものと結論づけた。一方、6'-メチルセレノラクトースでは、いずれの測定濃度でも結合を表す曲線は得られず、相互作用を示さないことがわかった。以上のことから、第1章で想定していたとおり、ラクトースの6'位水酸基はガレクチン-9がラクトースを認識する際の重要な水酸基であり、この位置をセレン標識したことにより認識が阻害されてしまったものと考えられた。一方、ラクトース6'位水酸基は認識には重要ではない位置であったため、こちらを置換した6-メチルセレノラクトースはガレクチン-9による認識が可能であったと結論付けた。

## 第5章 セレン標識糖鎖へのMAD法の適用と共結晶X線構造解析

第4章で、6メチルセノラクトースがヒトガレクチン-9 NCRDに認識されることが分かった。続いて共結晶化、X線結晶構造解析を行うこととした。共結晶化に用いるバッファーを種々検討した結果、グルコース6位にメチルセノ基を有するラクトース誘導体2では、共結晶の作成に成功した (Figure 6)。しかしながら、ガラクトース6位にメチルセノ基を有するラクトース誘導体1では共結晶を得ることができなかった。

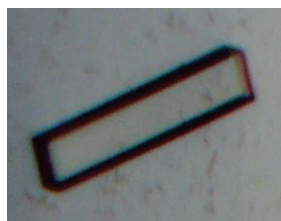


Figure 6. 6-MeSe ラクトースとヒトガレクチン-9 NCRD の共結晶. <共結晶化条件> hG9NCRD (5 mg/mL) + 6-MeSe-Lactose (10 mM) 10% PEG 6000, 100 mM Tris (pH 7.5), 16 °C

ヒトガレクチン-9 NCRD と 6-メチルセノラクトース2の共結晶に関して、高エネルギー加速器研究機構のビームライン BL-17A で、SAD および MAD にて異常分散を測定したところ、SAD、MAD のどちらでも十分な異常散乱効果を得られた。その後、種々のプログラムにより電子密度図の計算を行った (Figure 7)。

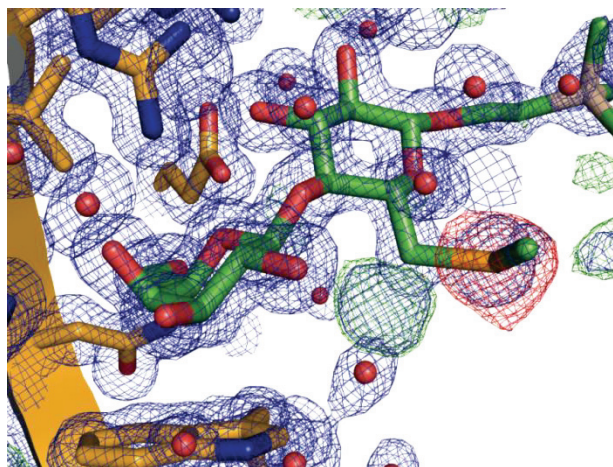
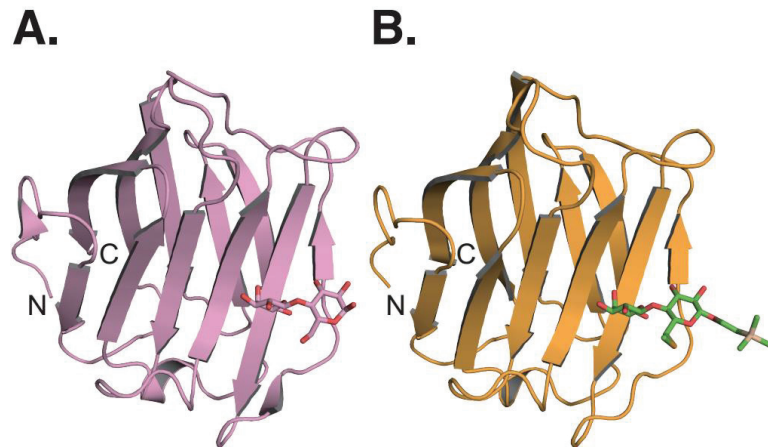
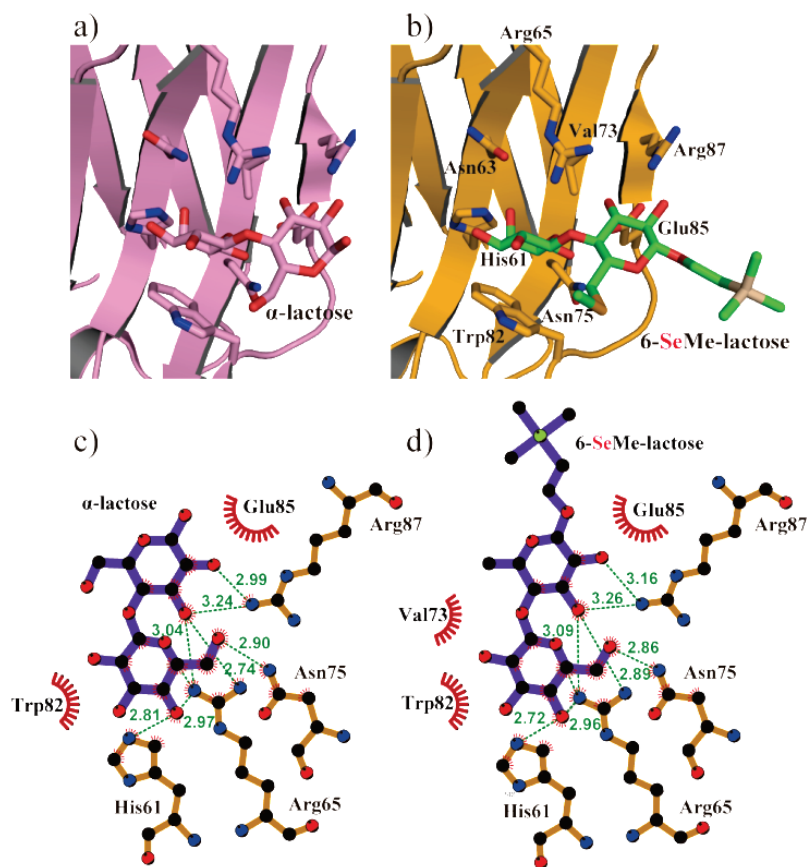


Figure 7. セノラクトース近傍の電子密度図  
また、得られた電子密度図から蛋白質のリボンモデルを作成した (Figure 8)。



**Figure 8.** A) ヒトガレクチン-9 NCRD と  $\alpha$ -ラクトースのリボンモデル (PDB id: 2EAK),  
B) ヒトガレクチン-9 NCRD と 6-MeSe-ラクトースのリボンモデル(PDB id: 3WLU)

過去に報告されたヒトガレクチン-9 NCRD と  $\alpha$ -ラクトースの共結晶の立体構造解析の結果<sup>10</sup> (A)と今回得られたヒトガレクチン-9 NCRD と 6-メチルセレノラクトースの共結晶の立体構造解析の結果 (B)を比較すると、同じ糖鎖認識サイトで同様に糖鎖が認識されていることが確認された。また、糖の水酸基と蛋白質中のアミノ酸残基との水素結合の相関についても、よく一致した (Figure 9)。



**Figure 9.** a), b) ヒトガレクチン-9 NCRD 糖鎖認識部位周辺の模式図。糖鎖と相関のあるアミノ酸残基は棒モデルで表した。a)  $\alpha$ -ラクトースと結合した場合。b) 6-MeSe-ラクトースと結合した場合。c), d) 水素結合の模式図。水素結合は破線で表し、添え字の数字は結合距離 (Å) を表した。c)  $\alpha$ -ラクトースとヒトガレクチン-9 NCRD との水素結合の様子。d) 6-MeSe-ラクトースとヒトガレクチン-9 NCRD との水素結合の様子。

以上の比較から、6-メチルセレノラクトースはヒトガレクチン-9 NCRD の糖鎖認識サイトに、未標識の $\alpha$ -ラクトースと同様に認識されることが確認され、また、糖鎖中のセレン原子の異常分散効果を利用して立体構造決定の際の位相決定が可能であった。このことから、セレン標識糖鎖は糖鎖-蛋白質複合体の立体構造解析の有力な糖鎖ツールとして働くことが確認された。

## 総括

第 2 章において、脱離基にフッ素及びトリクロロアセトイミデート基を持つセレノ化糖供与体と、電子供与性のエーテル系保護基を有する糖受容体との反応を行うことでセレンを有する二糖の合成に成功した。また、第 3 章においては、セレン原子を有する受容体を用いての二糖合成にも成功した。今回、セレンを有する糖供与体、糖受容体を開発しグリコシル化に成功したことは、今後のセレノ糖鎖の合成に向けた大きな成果であると考えられる。

また、第 4 章においては、SPR 試験により、6 位セレノ体はガレクチン-9 に結合性を示すことがわかり、6' 位セレノ体はガレクチン-9 に対して結合性を示さないことがわかった。このことは、第 5 章において、6 位セレノ体はガレクチン-9 との共結晶を形成し、6' 位セレノ体 2 はガレクチン-9 との共結晶を形成できなかったことと相関しており、第 1 章において議論した水酸基をメチルセレノ基で置換する際には最適な位置を選択する必要があるということの証明となった。

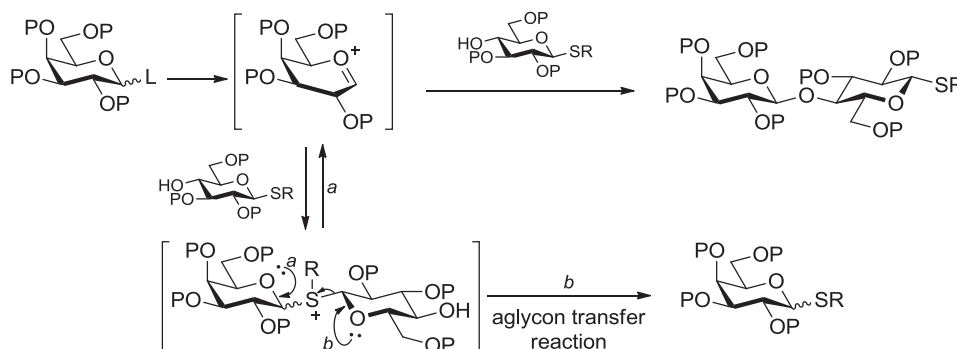
第 5 章においては、6 位セレノ体とヒトガレクチン-9 NCRD の共結晶について MAD 法を用いて糖鎖中のセレン原子を標的とし位相決定を行い立体構造解析に成功した。また、今回決定した立体構造は、過去に報告された $\alpha$ -ラクトースとヒトガレクチン-9 NCRD の共結晶の立体構造解析の結果と同様であった。このことにより、セレン標識糖鎖が X 線結晶構造解析の位相決定分子ツールとして有用であることが示された。

## 第2部 アセタール交換反応を利用する新規セレン導入反応の開発

### 第1章 新規セレン導入反応の開発戦略

第1部にて、セレン標識ラクトースとヒトガレクチン-9 NCRD との MAD 法による X 線結晶構造解析を達成することができた。しかしながら、1つのセレン原子により位相決定が可能な分子量の上限は 20 kDa（または 200 アミノ酸残基）が上限とされており、大型蛋白質への MAD 法の適用にはセレン多置換糖鎖が必要となる。そこで、第2部では、既に糖鎖中に導入されているセレン原子に影響を与えることなく、簡便に穏和な条件でセレン置換数を増加させる方法の開発を行うこととした。

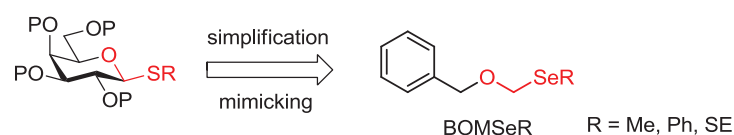
新たにセレンの導入に利用しようと考えたのが、糖鎖化学においてしばしば観察されるアセタール交換反応の一つである、アグリコン転移反応<sup>24</sup>である (Scheme 17)。



Scheme 17

<sup>24</sup> a) J. Kihlberg, E. Eichler, D. R. Bundle, *Carbohydr. Res.* **1991**, *211*, 59-75. b) S. Knapp, S. R. Nandan, *J. Org. Chem.* **1994**, *58*, 281-283. c) D. A. Leigh, J. P. Smart, A. M. Truscello. *Carbohydr. Res.* **1995**, *276*, 417-424. d) F. Belot, J. C. Jacquinet, *Carbohydr. Res.* **1996**, *290*, 79-86. e) Y. G. Du, J. H. Lin, R. J. Linhardt, *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, *16*, 1327-1344. f) H. Yu, B. Yu, X. Y. Wu, Y. Z. Hui, X. W. Han, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **12000**, 1445-1453. g) T. Zhu, G.-J. Boons, *Carbohydr. Res.* **2000**, *329*, 709-715. h) A. A. Sherman, O. N. Yudina, Y. V. Mironov, E. V. Sukhova, A. S. Shashkov, V. M. Menshov, N. E. Nifantiev, *Carbohydr. Res.* **2001**, *336*, 13-46. i) P. E. Cheshev, L. O. Kononov, Y. E. Tsvetkov, A. S. Shashkov, N. E. Nifantiev, *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2002**, *28*, 419-429. j) R. Geurtsen, G.-J. Boons, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 9429-9431. k) H. Tanaka, M. Adachi, T. Takahashi, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1433-1436. l) J. Xue, S. D. Khaja, R. D. Locke, K. L. Matta, *Synlett* **2004**, 861-865. m) J. D. C. Codee, B. Stubba, M. Schiattarella, H. S. Overkleeft, C. A. A. van Boeckel, J. H. van Boom, G. A. van der Marel, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3767-3773. n) J. S. Sun, X. W. Han, B. Yu, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1935-1938. o) Z. Li, J. C. Gildersleeve, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 559-562. p) M. Kato, G. Hirai, M. Sodeoka, *Chem. Lett.* **2011**, *40*, 877-879. q) F. Yu, H. M. Nguyen, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 17, 7330-7343.

グリコシル化反応において糖供与体を活性化した際に発生するオキシカルベニウムイオン中間体に対して、糖受容体の水酸基の酸素原子よりも、糖受容体アグリコン部位の電子豊富な硫黄原子が優先して、求核攻撃を行い、環内酸素からの電子の押し出しを経て、アルキルチオ基が転移するというものである。セレン原子は硫黄よりも高い HOMO (nse) を有するため、このようなアセタール交換反応においても、効率よく反応が進行すると予想できる。この現象に発想を得て、本研究では、新たなセレン化反応用試薬の開発を行うこととした。試薬の設計にあたり、糖環構造中の酸素原子と硫黄原子のヘテロアセタール構造に着目し、この構造を模倣し簡略化した直鎖型セレンアセタールである BOMSeR (R = Me, Ph, SE) を設計した (Scheme 18)。



Scheme 18

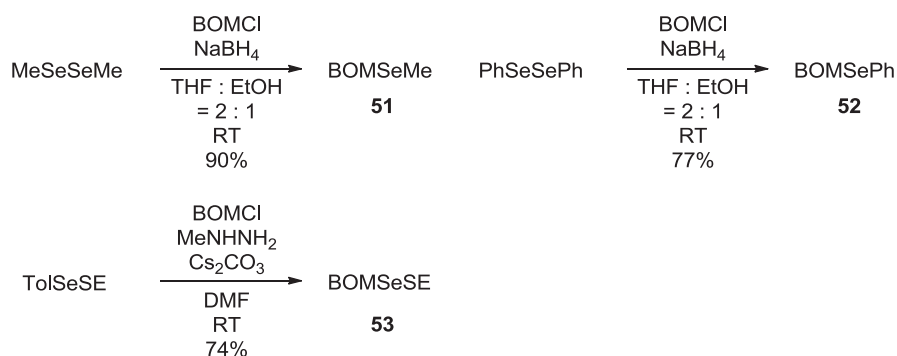
酸素原子側の置換基には、反応時の TLC 追跡を容易にするため、UV 吸収がある BOM 基を選択した。一方、セレン原子側の置換基には立体障害が最小の Me 基、グリコシル化における糖供与体のアグリコンの脱離基としての有用性が検証されている Ph 基<sup>25</sup>、また、アグリコンへのセレン導入後に他の置換基へ変換が可能な SE 基<sup>13</sup>を導入することとした。

<sup>25</sup> a) A. Mallet, J. M. Mallet, P. Sinay, *Tetrahedron Asym.* **1994**, *5*, **12**, 2593-2608, b) P. Grice, S. V. Ley, J. Pietruszka, H. W. M. Priepeke, E. P. E. Walther, *Synlett* **1995**, *7*, 781-784, c) T. Furuta, K. Takeuchi, M. Iwamura, *Chem. Commun.* **1996**, *2*, 157-158. d) R. V. Stick, D. M. G. Tilbrook, S. J. Williams, *Aust. J. Chem.* **1997**, *50*, **3**, 237-240. e) P. Grice, S. V. Ley, J. Pietruszka, H. M. I. Osborn, H. W. M. Priepeke, S. L. Warriner, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, **3**, 431-440. e) N. L. Douglas, S. V. Ley, U. Lücking, S. L. Warriner, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 51-66, f) S. Mehta, B. M. Pinto, *Carbohydr. Res.* **1998**, *310*, *1-2*, 43-51. g) P. Langer, S. J. Ince, S. V. Ley, Steven V. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, *23*, 3913-3916. h) D. K. Baeschlin, L. G. Green, M. G. Hahn, B. Hinzen, S. J. Ince, S. V. Ley, *Tetrahedron Asym.* **2000**, *11*, **1**, 173-197. i) S. Yamago, T. Yamada, O. Hara, H. Ito, Y. Mino, J.-I. Yoshida, *Org. Lett.* **2001**, *3*, **24**, 3867-3870. j) S. C. Ennis, I. Cumpstey, A. J. Fairbanks, T. D. Butters, M. Mackeen, M. R. Wormald, *Tetrahedron* **2002**, *58*, **46**, 9403-9411. k) S. Yamago, K. Kokubo, O. Hara, S. Masuda, J.-I. Yoshida, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, **24**, 8584-8592. l) R. N. MacCoss, P. E. Brennan, S. V. Ley, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, **12**, 2029-2031. m) R. R. France, R. G. Compton, B. G. Davis, A. J. Fairbanks, N. V. Rees, J. D. Wadhawan, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, **15**, 2195-2202. n) S. Yamago, T. Yamada, H. Ito, O. Hara, Y. Mino, J.-I. Yoshida, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, **21**, 6159-6174. o) R. M. van Well, T. S. Kärkkäinen, K. P. R. Kartha, R. A. Field, *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, **10**, 1391-1397. p) S. Valerio, A. Iadonisi, M. Adinolfi, A. Ravidà, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, **16**, 6097-6106. q) I. Cumpstey, D. Crich, *J. Org. Chem.* **2011**, *30*, **7-9**, 469-485. r) M. Spell, X. Wang, A. E. Wahba, E. Conner, J. Ragains, *Carbohydr. Res.* **2013**, *369*, 42-47.



## 第2章 直鎖型セレンアセタール試薬の開発

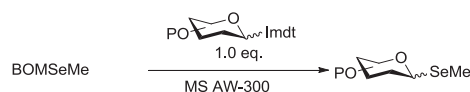
まず、BOMSeMe（化合物 51）の合成を行った。ジメチルジセレニドに水素化ホウ素ナトリウムを作用させ、発生したメチルセレンアニオンへ求電子剤として BOMCl を反応させることで簡便に調製した。BOMSePh（化合物 52）については BOMSeMe（化合物 51）と同様にジフェニルジセレニドを原料とすることでこちらも簡便に調製した。BOMSeSE（化合物 53）については、TolSeSE<sup>26</sup>を原料とし、Tol 基をアミンにより活性化し BOMCl を作用させることで調製した (Scheme 19)。



Scheme 19

続いて、各種イミデート供与体へのセレンの導入検討を行った。始めに BOMSeMe（化合物 51）を用いたセレン原子導入の検討を行った (Table 3)。

<sup>26</sup> D. R. Garud, H. Ando, Y. Kawai, H. Ishihara, M. Koketsu, *Org. Lett.* **2007**, *9*, **22**, 4455-4458.



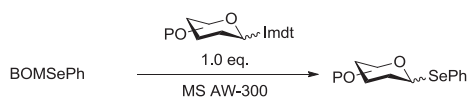
| Entry | Donor                                | BOMSeMe | TMSOTf  | Solvent   | Temp.(°C) | Product          |
|-------|--------------------------------------|---------|---------|---|-----------|------------------|
| 1     | <br>44                               | 1.0 eq. | 0.3 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                   | -40       | <br>56<br>81%    |
| 2     | <br>54 ( $\alpha : \beta = 7 : 1$ )  | 1.0 eq. | 0.3 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                   | -40       | <br>57<br>70%    |
| 3     | <br>55 ( $\alpha : \beta = 20 : 1$ ) | 1.0 eq. | 0.3 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                   | -40       | <br>58<br>ca 90% |
| 4     | <br>55 ( $\alpha : \beta = 20 : 1$ ) | 1.0 eq. | 0.3 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : EtCN<br>(1 : 1) | -40       | <br>58<br>83%    |

Table 3

Entry 1 ではガラクトースのトリクロロアセチミデート体を用いた。ジクロロメタン溶媒中、TMSOTf 存在下イミデート 44 と反応させることで、BOMSeMe (化合物 51) は収率 81% で  $\beta$ -セレノグリコシドのみを与えた。続いて二糖への導入の検討として、Entry 2 ではラクトースのトリクロロアセチミデート体 54<sup>27</sup>を用いた。Entry 2 でも  $\beta$ 体のみ収率 70% で得ることに成功した。続いてシアリルガラクトースのトリクロロアセチミデート体<sup>28</sup> (化合物 55) についても導入検討を行った。Entry 3 ではジクロロメタン溶媒中反応を行ったが、主生成物である  $\beta$ 体と微量生成した  $\alpha$ 体と考えられる生成物との単離が困難となった。そこで、Entry 4 では、 $\alpha$ 体の生成を抑制することを狙い、ニトリル溶媒効果を用いることとし、ジクロロメタン-プロピオニトリルの混合溶液中で反応を行ったところ、 $\alpha$ 体の生成なく、収率 83% で  $\beta$ 体のみを得ることに成功した。

<sup>27</sup> G. J. P. H. Boons, F. L. van Delft, P. A. M. van der Klein, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Tetrahedron* **1992**, 48, 885-904.

<sup>28</sup> 化合物 55 の調製については実験項に記載する。



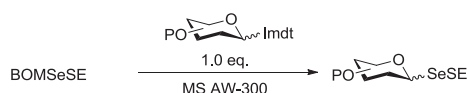
| Entry | Donor | BOMSePh | TMSOTf  | Solvent                         | Temp.(°C) | Products |
|-------|-------|---------|---------|---------------------------------|-----------|----------|
| 1     |       | 1.0 eq. | 0.3 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | -40       |          |
| 2     |       | 2.0 eq. | 0.6 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | -40       |          |
| 3     |       | 2.0 eq. | 0.6 eq. | EtcN                            | -80       |          |

<sup>a)</sup> The ratio of isomer was calculated from <sup>1</sup>H NMR spectra

**Table 4**

続いて PhSe 基の導入を行った (Table 4)。Entry 1 では、ガラクトースのイミデート体との反応を行ったが、BOMSePh (化合物 52) 1.0 等量を用いた場合、反応中に BOMSePh が分解し生成したベンジルオキシメチルアルコールを経由して生成したと考えられる BOM グリコシドが副生し精製が困難となった。そこで、Entry 2 では、BOMSePh (化合物 52) を 2.0 等量、TMSOTf を 0.6 等量に増やし、反応を行ったところ高収率 99%にて化合物のβ体のみを得ることができた。Entry 3 では適用できる基質の拡大を図り、シアル酸供与体への導入を検討した。この際の、グリコシルイミデートにはシアル酸グリコシド合成時に用いられる *N*-フェニルトリフルオロアセトイミデート<sup>29</sup> (化合物 59) を用いた。プロピオニトリル溶媒中で反応を行ったところ収率 90%、 $\alpha:\beta=2:1$  で化合物を得ることに成功した。

<sup>29</sup> K. Tanaka, T. Goi, K. Fukase, *Synlett* **2005**, 19, 2958-2962.



| Entry | Donor                                   | BOMSeSe | TMSOTf  | Solvent   | Temp.(°C) | Product             |
|-------|---|---------|---------|---|-----------|---------------------|
| 1     |   | 2.0 eq. | 0.6 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                   | -40       |                     |
|       | <b>44</b>                               |         |         |   |           | <b>65</b><br>90%    |
| 2     |   | 2.0 eq. | 0.6 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                   | 0         |                     |
|       | <b>63</b> ( $\alpha : \beta = 20 : 1$ ) |         |         |   |           | <b>66</b><br>ca 79% |
| 3     |   | 2.0 eq. | 0.6 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : MeCN<br>(1 : 1) | 0         |                     |
|       | <b>63</b> ( $\alpha : \beta = 20 : 1$ ) |         |         |   |           | <b>66</b><br>84%    |
| 4     |   | 2.0 eq. | 0.6 eq. | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : MeCN<br>(1 : 1) | 0         |                     |
|       | <b>64</b> ( $\alpha : \beta = 20 : 1$ ) |         |         |   |           | <b>67</b><br>85%    |

**Table 5**

最後に、BOMSeSe (化合物 53) を用いた検討を行った (Table 5)。Entry 1 ではガラクトーストリクロロアセトイミデート 44 に対しての SeSe 基の導入を行ったところ、収率 90% でβ体のみを合成することができた。Entry 2 では糖鎖内部にセレノグリコシド結合を持つシリアルα(2-6)ガラクトースのトリクロロアセトイミデート体<sup>30</sup> (化合物 63) に対しての SeSe 基の導入を行った。ジクロロメタン溶媒中で反応を行ったところ、5%ほどα体と思われる化合物が生成し精製が困難となった。これは Table 3 の Entry 3 の時と類似した結果であった。そこで、Entry 3 では、α体の生成を抑制することを狙い、ニトリル溶媒効果を用いることとしジクロロメタン-アセトニトリルの混合溶液中で反応を行ったところ、副生成物の生成を抑制することができ、βグリコシドのみを 84%で得ることに成功した。また、Entry 2,3 の結果より、本反応条件は、内部のセレノグリコシドに影響を与えることなく還元末端にセレン原子を導入できることが明らかとなった。Entry 4 ではより大きな糖鎖への基質拡大とし

<sup>30</sup> 化合物 63 の調製については実験項に記載する。

て、ガングリオシド GM1 の非還元末端四糖のトリクロロアセトイミデート体<sup>31</sup>(化合物 64) に対してニトリル溶媒効果を用いた条件で反応を行ったところ、β体のみを収率 85%で得ることに成功した。

以上のように、ルイス酸存在下イミデート供与体に対し、3 種類のセレノアセタールは求核剤として働き、アルキルセレノ基を導入できることが証明できた。

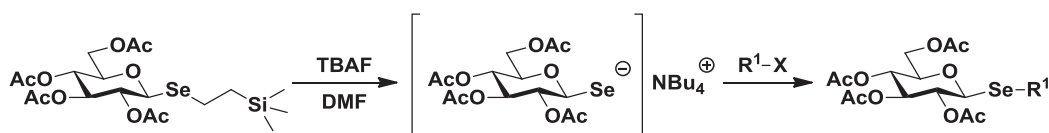
---

<sup>31</sup> T. Yoshikawa, Y. Kato, N. Yuki, T. Yabe, H. Ishida, M. Kiso, *Glycoconj. J.* **2008**, *25*, 545-553.

### 第3章 セレン多置換糖鎖の合成

#### 第1節 セレン多置換糖鎖の合成戦略

合成した SESe 基を有する化合物 65 を用いてセレン原子を一分子内に複数個有するセレン多置換糖鎖の合成を行うこととした。当研究室ではこれまで、アグリコン部位の SE 基をフッ素アニオンにより活性化させ、発生したセレノアニオンに対し任意の求電子剤を反応させることで新たなセレノグリコシドを構築する方法を研究してきた (Scheme 20)<sup>13</sup>。本研究でもその手法を採用し、SESe 基の形で導入した SE 基を変換し、新たにセレン原子を有するアグリコンを導入することとした。

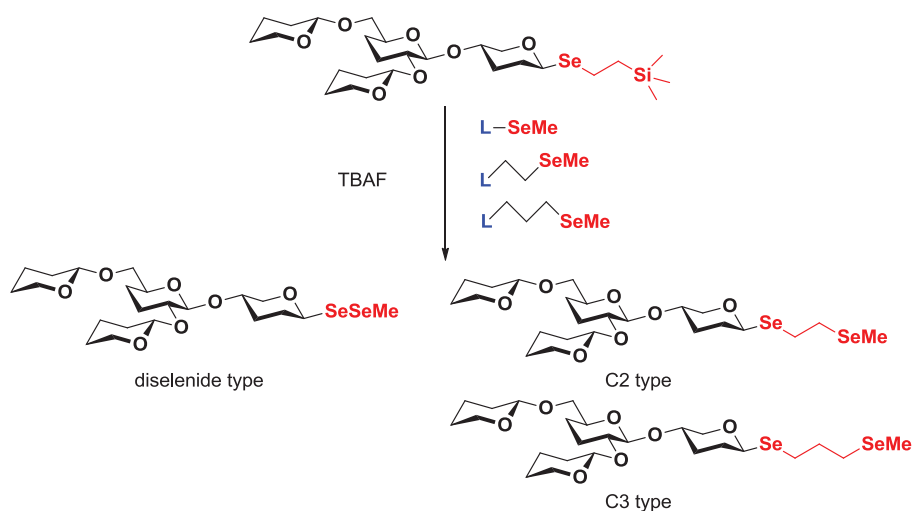


Scheme 20

側鎖を設計する際に重要となるのが、アグリコンのどの場所にセレン原子を配置するかである。これにより、受容体蛋白質に正しく認識されるかどうかの成否と、共結晶を作成した際の構造決定の難易度が変わる。糖鎖還元末端のグリコシド結合したセレン近傍に新しいセレンを配置した場合、糖鎖と蛋白質との認識を阻害し、正しく認識されず共結晶が作成できない可能性が考えられる。しかしながら、共結晶が作成できた場合には、糖鎖還元末端からセレン原子までの原子間距離が短いため、共結晶中でセレンの取りうる空間座標の自由度が小さくなり構造決定を行いやすい結晶が得られると考えられる。一方で、糖鎖還元末端のセレンから離れた位置（アグリコンの中で糖鎖に結合していない末端側）に新しいセレンを配置した場合、糖鎖と蛋白質との認識を阻害する可能性は低いと考えられる。しかしながら、共結晶を作成した場合には、糖鎖還元末端からセレン原子までの原子間距離が長くなるため、セレンの取りうる空間座標の自由度が大きくなり、空間座標が一定に定まらず構造決定が困難化する可能性が考えられる。

これらの懸案事項を踏まえ、3種類のセレンを有する求電子剤を設計し、多置換セレノ糖

鎖を構築し共結晶化へ適用し検証することとした (Scheme 21)。

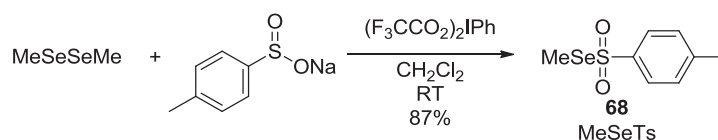


Scheme 21

本研究で設計した求電子剤は、セレン原子同士を直接結合させたジセレニド型、2炭素を介した先にセレンを導入したC2型、3炭素を介した先にセレンを導入したC3型の3つである。各求電子剤に導入するセレン原子については、立体障害が最小の保護基として働くMe基で保護することとした。C1型の設計も考えられたが、アグリコンに導入後、構築される構造が直鎖状のジセレノアセタール構造であり、この構造は合成例が少なく物性が予測できなかったため今回は合成の対象から除外した。

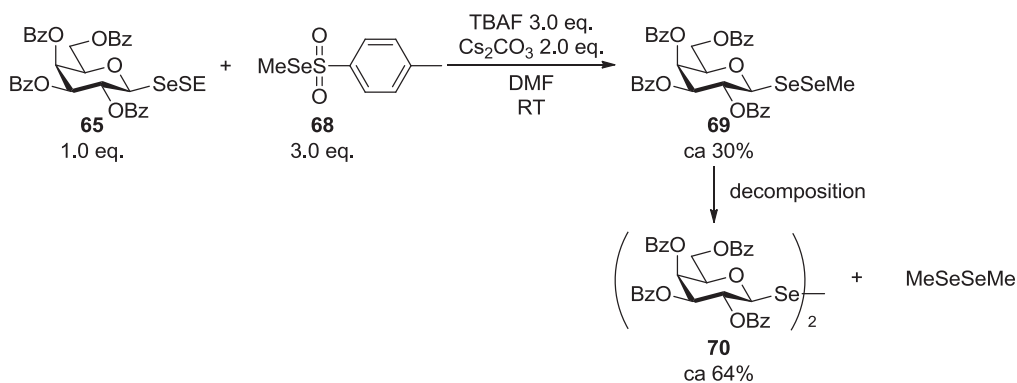
## 第2節 メチルセレノ基を有する求核剤の開発

始めにジセレニド型の合成にとりかかった。ジセレニド型を作るためには、メチルセレノカチオンを放出できる試薬の開発が必要となる。そこで、脱離性の高いトシル基を有する試薬として MeSeTs (化合物 68) の合成を行った。超原子価ヨウ素試薬であるビストリリフルオロアセトキシヨードベンゼンを用いた系<sup>32</sup>で、ジメチルジセレニドとスルフィン酸ナトリウムとの反応から MeSeTs (化合物 68) を合成した (Scheme 22)。



Scheme 22

続いて、TBAF を用いた系で SESe 体を活性化し、MeSeTs (化合物 68) を求電子剤として作用させ、ヘテロジセレニドの形成を試みた (Scheme 23)。



Scheme 23

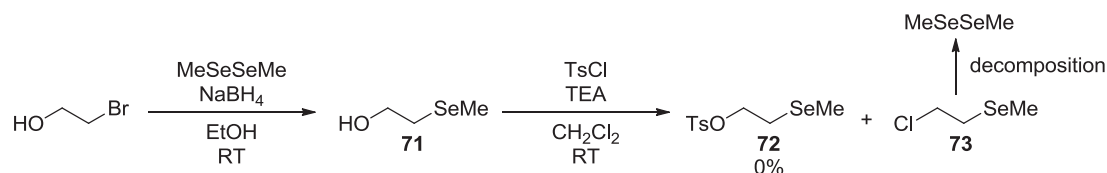
目的物の生成は <sup>1</sup>H-NMR、質量分析により確認されたものの、化合物は徐々に分解し糖のジセレニド 70 とジメチルジセレニドとの二種類のホモジセレニドに分解してしまった。これは、側鎖のメチル基により外側のセレン原子の電子密度が上昇し Se-Se 結合が不安定化することで起きたものと考えられた。側鎖の置換基を変更することで形成するジセレニドの安定性を向上できる可能性は考えられたが、ここで、ジセレニド型の合成は断念すること

<sup>32</sup> D. W. Chen, Z. C. Chen, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 7637-7638



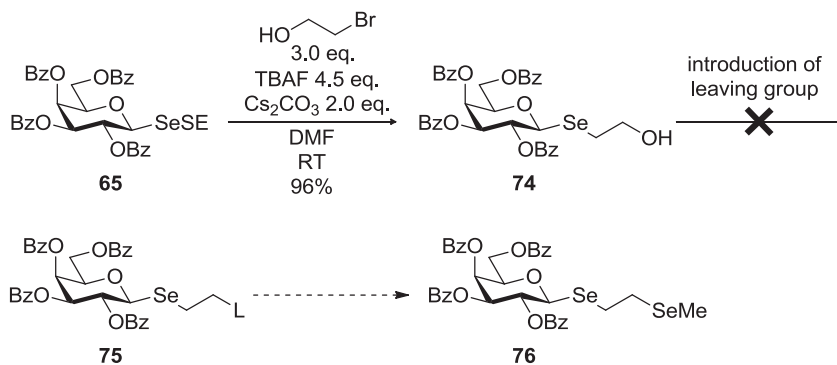
とした。

続いて、C2 型求電子剤を開発することとした (Scheme 24)。2-ブロモエタノールを出発原料としメチルセレノ化を試みたが、生成した 2-メチルセレノエタノール 71 は低沸点であり、濃縮、乾燥の操作が困難となった。分子量の増加により沸点が上昇し物質の取り扱いが改善することを期待し、脱離基としてトシル基を導入することを試みたが、目的のトシル体 72 は得られず、塩素化された化合物 73 を得るのみであった。塩素体 73 も求電子剤としてセレノアニオンと反応させることは可能だと考えられたが、この化合物も低沸点で取り扱いが困難であり、またジメチルジセレニドへの分解も観察されたため、その利用は断念した。



Scheme 24

そこで合成戦略を立て直し、先に糖へブロモエタノールを導入し、その後末端の水酸基を脱離基に変換し、最後にメチルセレノ基で置換するという方法を取ることとした (Scheme 25)。



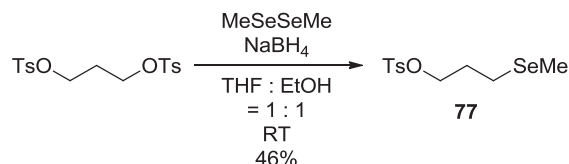
Scheme 25

SE 基からヒドロキシエチル基への変換は高収率で行うことができた。その後、脱離基として臭素、トリフレート基、メシル基、トシル基の導入を試みたが、いずれの場合も反応は複雑となり、目的とする化合物を主生成物として得ることはできなかった。

以上の C2 型求電子剤の結果からセレン原子からβ位に当たる位置に脱離性の高い官能基

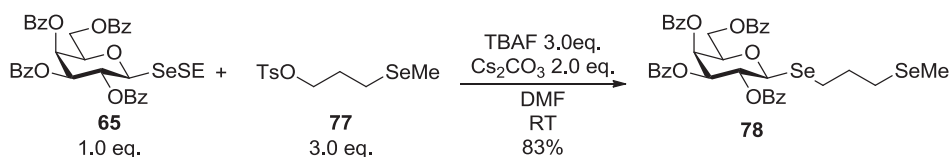
を導入することは困難であり、導入できたとしても化合物の安定性は低く取り扱いが困難になることが分かった。

ジセレニド型、C2 型の結果を踏まえ、続いて C3 型を合成することとした (Scheme 26)。



Scheme 26

1,3-ビストシルオキシプロパンを原料としてジメチルジセレニド及び水素化ホウ素ナトリウムを作用させることで化合物 77 を得ることができた。この化合物 77 は-20 °C での長期保存では一部分解があるものの、沸点は高く比較的取り扱い易い化合物であった。

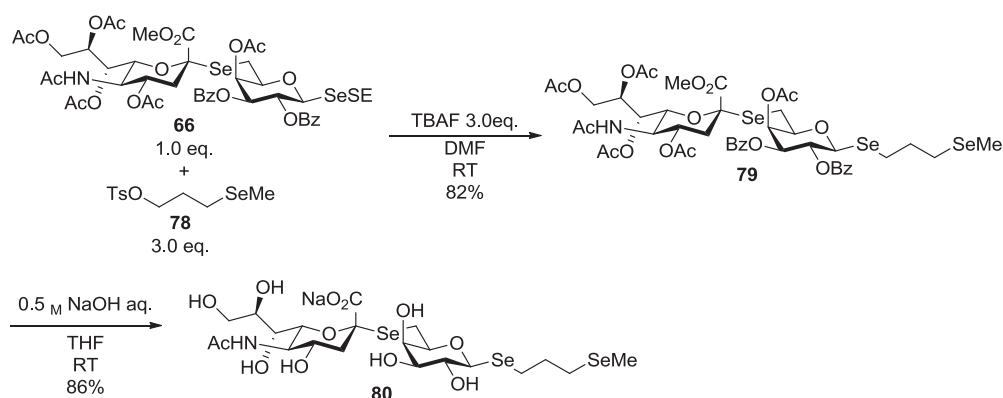


Scheme 27

TBAF を用いた系で SSeSe 体を活性化し、化合物 77 を求電子剤として反応を行ったところ、収率 83% でメチルセレノプロピル基を導入することができた。このようにして、一分子内に 2 個のセレン原子を持つ糖の合成に成功した (Scheme 27)。

### 第3節 トリセレノシアリル $\alpha(2-6)$ ガラクトースの合成

続いて、一分子内に3個のセレン原子を有するトリセレノシアリル $\alpha(2-6)$ ガラクトースの合成を行った。第2節で合成したシアリル $\alpha(2-6)$ ガラクトースの SESe グリコシド体 **66** を出発原料として、TBAF により SE 基を活性しメチルセレノ基を有する求電子剤 **78** と反応させることで、トリセレノ化合物 **79** を収率 82% で合成した (Scheme 28)。



Scheme 28

最後に、アシル系保護基及びシアル酸残基のメチルエステルを加水分解し、収率 86% でトリセレノシアリル $\alpha(2-6)$ ガラクトース **80** の合成に成功した。

この化合物は現在、共同研究先にて、分子量 42 kDa の大型蛋白質ヒト由来シアリダーゼ Neu 2<sup>33</sup>との構造解析へ適用中である。この蛋白質との立体構造決定が達成されることでセレノ化糖鎖を用いる X 線共結晶構造解析の有用性が高まるものと考えている。

<sup>33</sup> L. M. G. Chavas, C. Tringali, P. Fusi, B. Venerando, G. Tettamanti, R. Kato, E. Monti, S. Wakatsuki, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 469-475.

## 総括

新たに、直鎖セレノアセタールである BOMSeR (R=Me,Ph,SE)を求核剤として開発し、これをグリコシルイミデート体とルイス酸存在下で反応させることで、単糖から四糖までの糖鎖の還元末端に 70%以上の収率でアルキルセレノ基を立体選択的に導入することに成功した。本手法は、一般的なグリコシル化の反応条件にてセレノ化糖鎖を合成できるため、様々な合成糖鎖への応用が可能であり、さらに、合成終盤でもセレンを導入可能な優れた方法であることが確認された。

また、SESe基を TBAFにより活性化し、3-メチルセレノプロピルトシレート求電子剤として反応させることで、セレン三置換シアリル $\alpha$ (2-6)ガラクトースの合成に成功した。こちらは今後、分子量 42 kDa のシアリダーゼ Neu2 との共結晶化、構造解析を行い、セレン多置換糖鎖の X 線結晶構造解析における有用性の検証を行っていく。

## まとめ

近年の糖鎖科学の潮流は、分子生物学的なアプローチによる糖鎖の有する生命機能の解明にあると思われ、様々な糖鎖プローブを用いた研究、例えば蛍光標識化糖脂質を用いた一分子追跡法による膜上での糖脂質の動的な振る舞いの研究や、安定同位体標識した糖タンパク質を用いた超高磁場 NMR によるコンフォメーション解析の研究などが脚光を浴びている。本研究で有用性を検証したセレン標識糖鎖を用いた MAD 法による糖鎖-蛋白質複合体の X 線結晶構造解析は、それら手法と同様に重要な技術となりうると考えられ、生命現象の解明に寄与し、薬学分野におけるドラッグデザインへの有用な情報まで与えられ、考えられる。

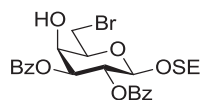
本研究中で得られた研究結果は、第 1 部で開発したセレン標識糖供与体、受容体と、それらを用いたグリコシル化の検討に関しては、今後のセレン標識化多糖の構築を行う際に有用な情報を与えるものであり、第 2 部で開発した新規セレノグリコシド合成法に関しては、様々な糖鎖への簡便なセレン標識を可能にするものである。本研究を通じて得られた成果を基に、多種多様なセレノグリコシドライブラリーを構築することで、迅速な糖鎖-蛋白質複合体の立体構造解析が可能になると考えられる。

今後は、セレン標識糖鎖を用いた蛋白質複合体の結晶構造解析の実施例を増やし、本手法をより強力なものとして、糖鎖の関わる生命現象の解明に貢献していきたい。

## 実験の部

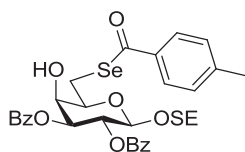
本論文において全ての実験は以下の手順、器具及び装置を使用した。また、記載についても以下の通り統一した。

反応溶媒はあらかじめ MS3Å、MS4Å、MS AW-300 (Wako chemical)にて乾燥したものを使用した。反応に用いた乾燥剤は 300 °C にて 2 時間活性化し使用した。脱気操作が必要な溶媒については、減圧下、20 分間ソニケーションを行った後に、アルゴンバブリングを 30 分間行い反応に用いた。超音波照射条件での反応は US CLEANER USD-4R (AS ONE)を用いて行った。TLC 分析には TLC plate silica gel 60F<sub>254</sub> (Merck)を使用し、検出は UV 吸収 (254 nm) 及び発色試薬 (10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in EtOH, Phosphomolybdic acid solution 5 wt. % in ethanol, Ninhydrin reagent)を用いた。カラムクロマトグラフィーは Silica gel (Fuji Silysia, 80 mesh and 300 mesh) または、Sephadex (Pharamacia, LH-20)を用いた。なお TLC の展開溶媒及びカラムクロマトグラフィーの溶出溶媒は (v/v)に示した。<sup>1</sup>H-NMR スペクトル、<sup>13</sup>C-NMR スペクトル及び <sup>77</sup>Se-NMR スペクトルは JEOL ECX400 (400MHz)、JEOL ECA500 (500MHz)、JEOL ECA600 (600MHz)及び Bruker Avance III 500 (500MHz)を用いた。ケミカルシフト値は、<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR については内部標準物質 (tetramethylsilane)に対するδ値 (ppm)で示し、<sup>77</sup>Se NMR については外部標準に対するδ値 (ppm)で示した。旋光度は Horiba High Sensitive Polarimeter SEPA-300 を用いて測定し、HRMS スペクトル (ESI-TOF)は Bruker Daltonics micrOTOF (ESI-TOF) mass spectrometer を用いて positive-ion モード、または negative-ion モードで測定した。



17

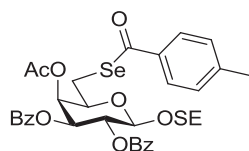
**2-(Trimethylsilyl)ethyl 2,3-di-O-benzoyl-6-bromo-6-deoxy-β-D-galactopyranoside (17):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **16** (384 mg, 787 μmol) を pyridine (5.3 mL) に溶かし、triphenylphosphine (310 mg, 1.18 mmol) 及び carbontetrabromide (262 mg, 790 μmol) を 0 °C にて加え 10 分攪拌した。その後、65 °C に昇温し、1 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/toluene = 1/5) で確認後、MeOH を加え反応を停止し、toluene 共沸を行なった後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toluene = 1/20) で精製し、化合物 **17** を (379 mg, 87 %) 白色泡状粉末として得た。[α]<sub>D</sub><sup>+</sup> = +63.8° (c=1.1, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.99-7.36 (m, 10 H, Ph), 5.69 (dd, 1 H, *J*<sub>1,2</sub> = 7.8 Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 10.5 Hz, H-2), 5.32 (dd, 1 H, *J*<sub>3,4</sub> = 3.2 Hz, H-3), 4.72 (d, 1 H, H-1), 4.47 (dd, 1 H, *J*<sub>4,OH</sub> = 6.0 Hz, H-4), 4.07 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.93 (t, 1 H, *J*<sub>5,6a</sub> = *J*<sub>5,6b</sub> = 6.9 Hz, H-5), 3.69-3.57 (m, 3 H, H-6a, H-6b, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.25 (d, 1 H, OH), 1.00-0.81 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), -0.07 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.8, 165.3, 133.5, 133.1, 129.9, 129.7, 128.9, 128.5, 128.3, 100.8, 74.6, 74.3, 69.5, 67.6, 67.3, 28.9, 17.9, -1.5; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>BrO<sub>7</sub>SiNa<sup>+</sup>: 573.0915 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 573.0912.



18

**2-(Trimethylsilyl)ethyl 2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-(*p*-methylbenzoylseleno)-β-D-galactopyranoside (18):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **17** (5.61 g, 10.2 mmol) 及び *p*-methylselenobenzoic anhydride (化合物 **11**) (4.12 g, 13.0 mmol) を脱気した DMF (67 mL) に溶かし、*N,N*-diisopropylethylamine (2.2 mL, 13.0 mmol) 及び piperidine (1.3 mL, 13.0 mmol) を室温にて加え、100 °C にて 45 分間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/2) で確認後、EtOAc で 2 回抽出、洗浄 (2M 塩酸、

飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/6, EtOAc/toluene = 1/15)で精製し、化合物 **18** (6.52 g, 97 %)を白色泡状粉末として得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>+</sup> = +36.8° (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.99-7.47 (m, 14 H, Ar), 5.72 (dd, 1 H,  $J_{1,2}$  = 8.1 Hz,  $J_{2,3}$  = 10.4 Hz, H-2), 5.30 (dd, 1 H,  $J_{3,4}$  = 3.2 Hz, H-3), 4.70 (d, 1 H, H-1), 4.36 (dd, 1 H,  $J_{4,OH}$  = 6.0 Hz, H-4), 4.06 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.85 (t, 1 H,  $J_{5,6a}$  =  $J_{5,6b}$  = 7.3 Hz, H-5), 3.63 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.50-3.39 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 2.59 (d, 1 H, OH), 2.41 (s, 3 H, ArCH<sub>3</sub>), 1.00-0.84 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), -0.07 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  194.3, 165.9, 165.3, 145.1, 136.0, 133.3, 133.0, 129.9, 129.7, 129.5, 129.1, 129.0, 128.4, 128.2, 127.4, 100.7, 74.5, 69.7, 68.4, 67.4, 24.5, 21.7, 17.9, -1.5; <sup>77</sup>Se NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  530.7; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub>SeSiNa<sup>+</sup>: 693.1393 [ $M$ +Na]<sup>+</sup>; found: 693.1390.

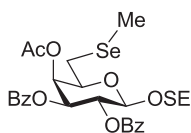


**19**

**2-(Trimethylsilyl)ethyl 4-O-acetyl-2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-(p-methylbenzoyl)seleno- $\beta$ -D-galactopyranosid(19):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **18** (5.48 g, 8.18 mmol)を pyridine (40.9 mL)に溶かし、acetic anhydride (3.9 mL, 41.3 mmol)を加え、室温にて 25 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/3, 二回展開)で確認後、MeOH を加えた後、toluene 共沸を行ない、残渣を EtOAc で 2 回抽出し、洗浄 (2M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/8)で精製し、化合物 **19** (5.60 g, 96 %)を白色泡状粉末として得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>+</sup> = +30.8° (c=1.3, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.97-7.25 (m, 14 H, Ar), 5.76 (d, 1H,  $J_{3,4}$  = 3.3 Hz, H-4), 5.67 (dd, 1H,  $J_{1,2}$  = 7.8 Hz,  $J_{2,3}$  = 10.5 Hz, H-2), 5.40 (dd, 1H, H-3), 4.73 (d, 1H, H-1), 4.07 (m, 1H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.97 (t, 1H,



$J_{5,6a} = J_{5,6b} = 7.3$  Hz, H-5), 3.64 (m, 1H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.36–3.25 (m, 2H, H-6a, H-6b), 2.41 (s, 3H, ArCH<sub>3</sub>), 2.16 (s, 3H, Ac), 1.02–0.85 (m, 2H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.07 (s, 9H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 193.0, 170.1, 165.5, 165.2, 145.0, 135.9, 133.2, 133.0, 129.7, 129.6, 129.5, 129.0, 128.3, 128.2, 127.3, 100.7, 73.2, 72.1, 69.6, 69.1, 67.7, 60.3, 24.4, 21.7, 20.6, 17.9, 14.1, 1.5; <sup>77</sup>Se NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 495.6; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>33</sub>H<sub>40</sub>O<sub>9</sub>SeSiNa<sup>+</sup>: 735.1504 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 735.1504.

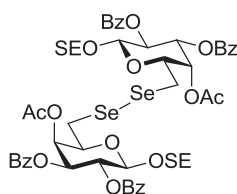


20

**2-(Trimethylsilyl)ethyl 4-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno-β-D-galactopyranoside(20):** Ar 雰囲気下にて、化合物 19 (308 mg, 432 μmol)及び cesium carbonate (289 mg, 885 μmol)を脱気した DMF (8.7 mL)に溶かし、methyl hydrazine (34.2 μL, 650 μmol)及び methyl iodide (53.9 μL, 865 μmol)を加え、室温にて攪拌した。反応追跡を TLC (EtOAc/toluene = 1/10)にて行い、反応開始から 2 時間後に、methyl hydrazine (34.2 μL, 650 μmol)及び methyl iodide (53.9 μL, 865 μmol)を追加し、反応開始から 17 時間後、反応終了を確認した。EtOAc で 2 回抽出し、洗浄(2M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/3)で精製し、化合物 20 (206 mg, 78 %)を白色固体として得た。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>=+31.2° (c=0.5, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.98-7.33 (m, 10 H, Ph), 5.69-5.64 (m, 2 H, H-4, H-2), 5.41 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 2.8$  Hz,  $J_{2,3} = 10.5$  Hz, H-3), 4.74 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 8.2$  Hz, H-1), 4.06 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.98 (m, 1 H,  $J_{5,6b} = 6.0$  Hz,  $J_{5,6a} = 7.8$  Hz, H-5), 3.64 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.84 (dd, 1 H,  $J_{gem} = 12.8$  Hz, H-6a), 2.60 (dd, 1 H, H-6b), 2.14 (s, 3 H, Ac), 2.09 (s, 3 H, 3 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.5, 165.2, 165.2, 164.8, 160.7, 133.5, 133.5, 133, 1.02-0.85 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), -0.07 (s, 9

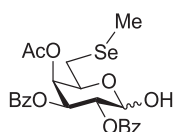
H, TMS);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.2, 165.6, 165.2, 133.3, 133.1, 132.3, 129.7, 129.6, 129.0, 128.4, 128.4, 128.3, 100.8, 74.6, 72.1, 69.6, 69.3, 67.7, 24.6, 20.6, 17.9, 5.6, -1.5;  $^{77}\text{Se}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  73.2; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_8\text{SeSiNa}^+$ : 631.1237  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 631.1237.

また、上記の反応系において副生成物 **21** を黄色粘性液体として得た。



**21**

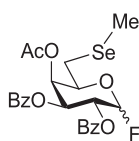
**Bis-{6-[2-(trimethylsilyl)ethyl 4-*O*-acetyl-6-deoxy-2,3-di-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl]} diselenide (**21**):**  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +95.2^\circ$  ( $c=1.9$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.97-7.33 (m, 20 H, Ar), 5.74 (d, 2 H,  $J_{3,4} = 2.8$  Hz, H-4), 5.69 (dd, 2 H,  $J_{1,2} = 7.8$  Hz,  $J_{2,3} = 10.6$  Hz, H-2), 5.47 (d, 2 H, H-3), 4.81 (d, 2 H, H-1), 4.12-4.05 (m, 4 H, H-5,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.69-3.62 (m, 2 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.27 (dd, 2 H,  $J_{5,6a} = 8.3$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.8$  Hz, H-6a), 3.02 (dd, 2 H,  $J_{5,6b} = 5.5$  Hz, H-6b), 2.16 (s, 6 H, OAc), 1.03-0.85 (m, 4 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), -0.07 (s, 18 H, TMS);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.2, 165.6, 165.2, 133.3, 133.1, 129.7, 129.7, 129.5, 128.9, 128.4, 128.3, 100.8, 73.3, 72.2, 69.6, 69.2, 67.8, 29.3, 20.7, 17.9, -1.5;  $^{77}\text{Se}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  302.8; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{54}\text{H}_{66}\text{O}_{16}\text{Se}_2\text{Si}_2\text{Na}^+$ : 1209.2118  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 1209.2118.



**22**

**4-*O*-Acetyl-2,3-di-*O*-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno- $\beta$ -D-galactopyranose (**22**):** Ar 雰囲気下

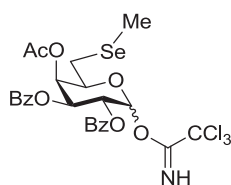
にて、化合物 **20** (190 mg, 312  $\mu$ mol)を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4.1 mL)に溶かし、氷浴中にて trifluoroacetic acid (2.1 mL)を加え、その後、室温に昇温し、2時間攪拌した。反応終了を TLC ( $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3 = 1/50$ )で確認後、toluene 共沸を行い、濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( $\text{EtOAc}/\text{hexane} = 1/3$ )で精製し、化合物 **22** (128 mg, 81 %,  $\alpha/\beta = 3/1$ )を白色泡状粉末として得た。 $\alpha$ -isomer;  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.00-7.35 (m, 10 H Ar), 5.88 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 2.8$  Hz,  $J_{2,3} = 11.0$  Hz, H-3), 5.75-5.71 (m, 2 H, H-1, H-4), 5.58 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 3.4$  Hz, H-2), 4.54 (t, 1 H,  $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.9$  Hz, H-5), 3.36 (broad s, 1 H, OH), 2.74 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 13.1$ , H-6a), 2.58 (dd, 1 H, H-6b), 2.16 (s, 3 H, Ac), 2.05 (s, 3 H, 3 H, Se $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  165.5, 165.2, 165.2, 164.8, 160.7, 133.5, 133.5, 133);  $^{77}\text{Se}$  NMR (113 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  64.4; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{SeNa}^+$ : 531.0534 [M+Na] $^+$ ; found: 531.0534.



**23**

**4-O-Acetyl-2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno-D-galactopyranosyl fluoride(23):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **22** (101 mg, 199  $\mu$ mol)を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.0 mL)に溶かし、0  $^\circ\text{C}$ に冷却し、diethylaminosulfur trifluoride (39.6  $\mu\text{L}$ , 300  $\mu\text{mol}$ )を加え、0  $^\circ\text{C}$ にて25分攪拌した。反応終了を TLC ( $\text{EtOAc}/\text{hexane} = 1/2$ )で確認後、 $\text{CHCl}_3$ で抽出し、洗浄 (飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( $\text{EtOAc}/\text{hexane} = 1/2$ )で精製し、化合物 **23** (99 mg, 97 %,  $\alpha/\beta = 1/1.7$ )を白色泡状粉末として得た。 $\alpha$ -isomer;  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +113.5^\circ$  ( $c = 0.8$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.01-7.36 (m, 10 H, Ph), 5.98 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 2.8$  Hz,  $J_{1,\text{F}} = 53.2$  Hz, H-1), 5.86-5.81 (m, 2 H, H-3, H-4), 5.63 (m, 1 H,  $J_{2,\text{F}} = 23.8$  Hz, H-2), 4.47 (t, 1 H,  $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 7.7$  Hz, H-5), 2.77 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 12.8$  Hz, H-6a) 2.61 (dd, 1 H, H-6b), 2.18 (s, 3 H, Ac), 2.08 (s, 3 H, 3 H, Se $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169.8, 165.9, 165.4, 133.4, 129.9, 129.6, 129.0, 128.7, 1

28.5, 128.4, 105.8, 103.5, 71.9, 69.2, 68.3, 68.1, 68.0, 23.8, 20.6, 5.4;  $^{77}\text{Se}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  64.8; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{FO}_8\text{SeNa}^+$ : 533.0485  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 533.0482;  $\beta$ -isomer;  $[\alpha]_D^{25} = +74.4^\circ$  ( $c=0.8$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.99-7.35 (m, 10 H Ph), 5.81-5.73 (m, 2 H, H-2, H-4), 5.60-5.45 (m, 2 H, H-1, H-3), 4.10 (t, 1 H,  $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.9$  Hz, H-5), 2.87 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 13.3$  Hz, H-6a), 2.66 (dd, 1 H, H-6b), 2.17 (s, 3 H, Ac), 2.09 (s, 3 H, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169.9, 165.4, 165.1, 133.5, 129.8, 129.6, 128.8, 128.6, 128.5, 128.4, 108.2, 106.1, 74.9, 71.0, 70.9, 69.6, 69.3, 68.3, 23.9, 20.6, 5.7;  $^{77}\text{Se}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  71.3; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{FO}_8\text{SeNa}^+$ : 533.0485  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 533.0485.

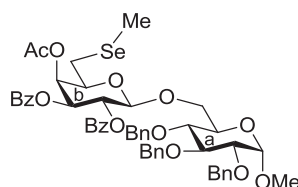


24

**4-O-Acetyl-2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno- $\alpha$ -D-galactopyranosyl trichloroacetimidate(31):**

Ar 雰囲気下にて、化合物 **22** (36 mg, 71  $\mu\text{mol}$ )を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.4 mL)に溶かし、 $0^\circ\text{C}$  に冷却し、trichloroacetonitril (70.8  $\mu\text{L}$ , 706  $\mu\text{mol}$ )及び DBU (3.2  $\mu\text{L}$ , 210  $\mu\text{mol}$ )を加え、 $0^\circ\text{C}$  にて 70 分攪拌した。反応終了を TLC ( $\text{EtOAc}/\text{hexane} = 1/2$ )で確認後、溶媒留去を行った。濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( $\text{EtOAc}/\text{hexane} = 1/6$ )で精製し、化合物 **24** (46 mg, quant. ,  $\alpha/\beta = 20/1$ )を白色泡状粉末として得た。 $\alpha$ -isomer;  $[\alpha]_D^{25} = +75.0^\circ$  ( $c=0.2$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.62 (s, 1 H, NH), 8.00-7.26 (m, 10 H, Ph), 6.76 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 2.3$  Hz, H-1), 5.92-5.82 (m, H-2, H-3, H-4), 4.52 (t, 1 H,  $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.9$  Hz, H-5), 2.76 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 12.8$  Hz, H-6a) 2.58 (dd, 1 H, H-6b), 2.19 (s, 3 H, Ac), 2.03 (s, 3 H, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.0, 165.7, 165.5, 160.6, 133.5, 133.4, 129.8, 129.6, 129.0, 128.8, 128.5, 128.4, 93.8, 90.9, 72.5, 69.5,

68.7, 67.6, 24.0, 20.6, 5.3, 0.0;  $^{77}\text{Se}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  71.3; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{Cl}_3\text{O}_8\text{Se Na}^+$ : 673.9631  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 673.9630.



27

**Methyl (4-O-acetyl-2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 6)-2,3,**

**4-tri-O-benzyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (27):** Ar 雰囲気下にて、化合物 24 (48 mg, 74  $\mu\text{mol}$ )、

化合物 26 (35 mg, 75  $\mu\text{mol}$ )を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.2 mL)に溶かし、MS4Å (90 mg)を加えて室温にて

1 時間攪拌を行った。-40  $^\circ\text{C}$  に冷却し、TMSOTf (1.5  $\mu\text{L}$ , 7.4  $\mu\text{mol}$ )を加え、反応追跡を T

LC (EtOAc/hexane = 2/3)にて行った。反応開始から 3 時間後 TMSOTf (1.5  $\mu\text{L}$ , 7.4  $\mu\text{mol}$ )

を追加し、反応開始から 11 時間まで攪拌した。反応終了を確認後、 $\text{CHCl}_3$ で希釈した。溶

液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶

液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)し、溶媒留去後の残渣をゲル濾過クロマトグラフィー(Sep

hadex LH-20, MeOH/ $\text{CHCl}_3$  = 1/1)、フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (Et

OAc/hexane = 1/10)で精製し、化合物 27 (47 mg, 66 %)を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +44.6^\circ$

( $c = 0.9$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.88-7.06 (m, 25 H, Ph), 5.72 (dd, 1 H,  $J$

$_{1,2} = 8.0$  Hz,  $J_{2,3} = 10.3$  Hz, H-2<sup>b</sup>), 5.66 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 2.9$  Hz, H-4<sup>b</sup>), 5.41 (dd, 1 H, H-3

<sup>b</sup>), 4.88 (d, 2 H,  $J_{\text{gem}} = 10.9$  Hz,  $\text{PhCH}_2$ ), 4.74-4.67 (m 3 H, H-1<sup>b</sup>,  $\text{PhCH}_2$ ), 4.58 (d, 1 H, P

h $\text{CH}_2$ ), 4.47 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 3.4$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 4.32 (d, 1 H,  $\text{PhCH}_2$ ), 4.19 (m, 1 H, H-6a<sup>a</sup>), 3.9

2-3.87 (m, 2 H, H-3<sup>a</sup>, H-5<sup>b</sup>), 3.75-3.71 (m, 2 H, H-5<sup>a</sup>, H-6b<sup>a</sup>), 3.43-3.36 (m, 2 H, H-2<sup>a</sup>, H-

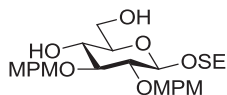
4<sup>a</sup>), 3.20 (s, 3 H, OMe), 2.81 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 13.2$  Hz,  $J_{5,6a} = 8.0$  Hz, H-6a<sup>b</sup>), 2.58 (dd, 1

H,  $J_{5,6b} = 5.7$  Hz, H-6b<sup>b</sup>), 2.16 (s, 3 H, Ac), 2.06 (s, 3 H, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125

MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.1, 165.6, 165.1, 138.8, 133.3, 133.1, 128.4, 128.3, 128.4, 128.1, 127.9,

127.6, 127.5, 101.6, 97.9, 81.9, 79.8, 77.4, 75.5, 74.7, 74.7, 73.3, 71.9, 69.4, 69.3, 68.5, 5

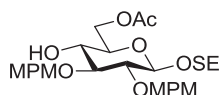
4.9, 24.5, 20.6, 5.7;  $^{77}\text{Se}$  NMR (113 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  72.6; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{51}\text{H}_{54}\text{O}_{13}$   $\text{SeNa}^+$ : 977.2622,  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 977.2627.



30

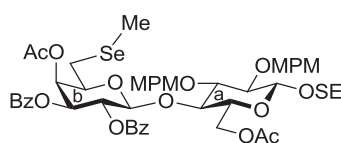
**2-(Trimethylsilyl)ethyl 2,3-di-*O*-(*p*-methoxybenzyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside (30)**: Ar 雰囲気下にて、2-(Trimethylsilyl)ethyl 4,6-*O*-benzyliden- $\beta$ -D-glucopyranoside 化合物 **29** (674 mg, 1.83 mmol)を DMF (18.3 mL)に溶かし、0 °C に冷却し、Sodium hydride (60% in oil; 220 mg, 5.49 mmol)を加え、0 °C にて 30 分攪拌した。続いて、*p*-methoxybenzyl chloride (632  $\mu\text{L}$ , 4.03 mmol)を加え、室温に昇温し、22 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/2)で確認後、0 °C に冷却し飽和塩化アンモニウム水溶液 (15 mL)を加え、EtOAc で 2 回抽出し、洗浄 (水、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/10)で粗精製を行った。続いて、得られた残渣を真空乾燥 (12 時間)し、室温にて AcOH (16 mL)に溶解後、蒸留水 (4 mL)を加え、50°C に加熱し、6 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/2)で確認後、toluene 共沸を行った。溶媒留去後の残渣を、EtOAc にて希釈し洗浄 (水、飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/2)で精製し、化合物 **30** (608 mg, 64%)を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}=-27.5^\circ$  ( $c=0.7$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.31-6.86 (m, 8 H, Ar), 4.90-4.87 (2 d, 2 H,  $J_{\text{gem}} = 11.6$  Hz,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.67 (d, 1 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.59 (d, 1 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.44 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.5$  Hz, H-1), 4.00 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.86 (m, 1 H, H-6a), 3.80 (s, 3 H,  $\text{ArOCH}_3$ ), 3.79 (s, 3 H,  $\text{ArOCH}_3$ ), 3.74 (m, 1 H, H-6b), 3.63 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.51-3.48 (near t, 1 H,  $J_{4,\text{OH}} = 2.1$  Hz,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 8.9$  Hz, H-4), 3.40 (t, 1 H,  $J_{2,3} = 8.9$  Hz, H-3), 3.36 (t, 1 H, H-2), 3.32-3.29 (m, 1 H, H-5), 2.40 (d, 1 H, OH), 2.15 (t, 1 H,  $J_{6,\text{OH}} = 6.2$  Hz, OH), 1.07-1.04 (m, 2 H,  $\text{TMSCH}_2$ ), 0.04 (s, 9 H, TMS);  $^{13}\text{C}$  N

MR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  159.3, 159.2, 130.6, 130.5, 129.8, 129.6, 114.0, 113.8, 103.4, 83.4, 81.6, 74.8, 74.7, 74.3, 70.4, 67.8, 62.7, 55.2, 18.6, -1.5; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O<sub>8</sub>SiNa<sup>+</sup>: 543.2390 [M+Na]<sup>+</sup>; found: 543.2390.



### 31

**2-(Trimethylsilyl)ethyl 6-O-acetyl-2,3-di-O-(*p*-methoxybenzyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside (31):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **30** (553 mg, 1.06 mmol)を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.53 mL)及び pyridine (0.53 mL) に溶かし、-40 °C に冷却し、acetyl chloride (75.8  $\mu$ L, 1.06 mmol)を加え、反応追跡を TLC (EtOAc/hexane = 1/1)にて行った。反応開始から 2 時間後、acetyl chloride (37.6  $\mu$ L, 0.53 mmol)を追加し、反応開始から 6 時間後まで攪拌した。-40 °C にて MeOH (100  $\mu$ L)を加え反応を停止した後、EtOAc で 2 回抽出し、洗浄 (2M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー(EtOAc/toluene = 1/3)及びゲル濾過クロマトグラフィー (Sephadex LH-20, MeOH/CHCl<sub>3</sub> = 1/1)で精製し、化合物 **31** (480 mg, 80 %)を透明粘性液体として得た。 $[\alpha]_D^{20} = -20.1^\circ$  (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.31-6.87 (m, 8 H, Ar), 4.89 (d, 1 H,  $J_{gem} = 11.0$  Hz, ArCH<sub>2</sub>), 4.86 (d, 1 H,  $J_{gem} = 11.7$  Hz, ArCH<sub>2</sub>), 4.67 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.63 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.40 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 6.8$  Hz, H-1), 4.37 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 4.1$  Hz,  $J_{gem} = 12.4$  Hz, H-6a), 4.28 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 1.4$  Hz, H-6b), 4.00 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.80 (2 s, 6 H, ArOCH<sub>3</sub>), 3.62 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.45-3.36 (m, 4 H, H-2, H-3, H-4, H-5), 2.46 (d, 1 H,  $J_{4,OH} = 2.0$  Hz, OH), 2.06 (s, 3 H, Ac), 1.06 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.04 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  171.4, 159.3, 159.2, 130.6, 130.5, 129.8, 129.7, 114.0, 113.8, 103.3, 83.2, 81.4, 74.9, 74.3, 73.2, 69.8, 67.7, 63.3, 55.2, 20.9, 18.5, -1.5; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>O<sub>9</sub>SiNa<sup>+</sup>: 585.2490, [M+Na]<sup>+</sup>; found: 585.2490.

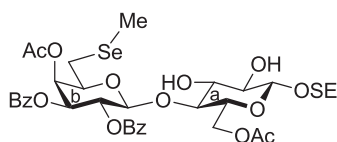


32

**2-(Trimethylsilyl)ethyl (4-O-acetyl-2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno- $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-6-O-acetyl-2,3-di-O-(*p*-methoxybenzyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside (32):** Ar 雰囲気下にて、化合物 24 (48 mg, 74  $\mu$ mol)、化合物 31 (61 mg, 109  $\mu$ mol)を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.5 mL)に溶かし、 $\text{MS4\AA}$  (110 mg)を加えて室温にて 1 時間攪拌を行った。 $-40\text{ }^\circ\text{C}$ に冷却し、 $\text{TMSOTf}$  (1.4  $\mu\text{L}$ , 7.3  $\mu\text{mol}$ )を加え、反応追跡を TLC (EtOAc/toluene = 1/4)にて行った。反応開始から 48 時間後  $\text{TMSOTf}$  (1.4  $\mu\text{L}$ , 7.3  $\mu\text{mol}$ )を追加し、反応開始から 51 時間まで攪拌した。反応終了を確認後、 $-40\text{ }^\circ\text{C}$ にて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 mL)を加えた。 $\text{CHCl}_3$ で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (2M 塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をゲル濾過クロマトグラフィー (Sephadex LH-20,  $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3 = 1/1$ )、フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toluene = 1/8)で精製し、化合物 32 (55 mg, 71 %)を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +40.3^\circ$  ( $c=0.2$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.98-6.80 (m, 18 H, Ar), 5.71 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz, H-4<sup>b</sup>), 5.65 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 8.2$  Hz,  $J_{2,3} = 10.3$  Hz, H-2<sup>b</sup>), 5.35 (dd, 1 H, H-3<sup>b</sup>), 4.94 (d, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 10.3$  Hz, ArCH<sub>2</sub>), 4.91 (d, 1 H, H-1<sup>b</sup>), 4.83 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.81 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.62 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.32-4.30 (m, 2 H, H-1<sup>a</sup>, H-6a<sup>a</sup>), 4.07 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 4.8$  Hz, H-6b<sup>a</sup>), 3.89 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.84-3.74 (m, 8 H, H-4<sup>a</sup>, H-5<sup>b</sup>, ArOCH<sub>3</sub>), 3.61-3.53 (m, 2 H, H-3<sup>a</sup>,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.39 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 3.45 (t, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 2.58 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 6.2$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 13.1$  Hz, H-6a<sup>b</sup>), 2.49 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 7.6$  Hz, H-6b<sup>b</sup>), 2.12 (s, 3 H, Ac), 1.90 (s, 3 H, Ac), 1.87 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>), 0.99 (t, 2 H,  $\text{TMSCH}_2$ ), 0.00 (s, 9 H, TMS);  $^{13}\text{C NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.4, 169.9, 165.4, 165.1, 159.1, 158.9, 133.4, 133.3, 131.2, 130.5, 129.8, 129.7, 129.6, 128.9, 128.9, 128.8, 128.5, 128.4, 113.7, 113.5, 102.9, 100.6, 82.2, 81.5, 77.3, 74.6, 74.4, 72.3, 72.1, 70.2, 68.6, 67.5,



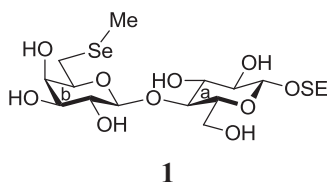
62.4, 55.3, 55.2, 29.7, 23.9, 20.7, 20.6, 18.4, 5.5, 1.0, 0.0, -1.5;  $^{77}\text{Se}$  NMR (113 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  64.8; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{52}\text{H}_{64}\text{O}_{16}\text{SeSiNa}^+$ : 1075.3021 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ ; found: 1075.3021.



33

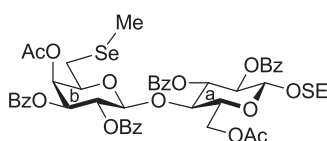
**2-(Trimethylsilyl)ethyl (4-O-acetyl-2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-6-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (33):** Ar 雰囲気下にて、化合物 32 (55 mg, 52  $\mu\text{mol}$ )を、室温にて  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (700  $\mu\text{L}$ )に溶かし、 $-20\text{ }^\circ\text{C}$  に冷却し、trifluoroacetic acid (350  $\mu\text{L}$ )を加え 2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC ( $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3 = 1/15$ )で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (3 mL)を加えた。 $\text{CHCl}_3$  で 2 回抽出し、洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( $\text{EtOAc}/\text{hexane} = 1/2$ )で精製し、化合物 33 (35 mg, 83%)を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +43.8^\circ$  ( $c=0.7$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.95-7.34 (m, 10 H, Ph), 5.72-7.68 (m, 2 H, H-2<sup>b</sup>, H-4<sup>b</sup>), 5.43 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $J_{2,3} = 10.3$  Hz, H-3<sup>b</sup>), 4.91 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz, H-1<sup>b</sup>), 4.32 (d, 1 H, OH), 4.28 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.5$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 4.17 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 1.9$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.0$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 4.02 (m, 1 H, H-5<sup>b</sup>), 3.95-3.88 (m, 2 H, H-6b<sup>a</sup>,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.75 (m, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 3.61-3.54 (m, 2 H, H-3<sup>a</sup>,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.49 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 3.41 (t, 1 H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 8.6$  Hz, H-4<sup>a</sup>), 2.79 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 13.1$  Hz,  $J_{5,6a} = 8.3$  Hz, H-6a<sup>b</sup>), 2.66 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 5.5$  Hz, H-6b<sup>b</sup>), 2.57 (broad s, 1 H, OH), 2.17 (s, 3 H, Ac), 2.08 (s, 3 H, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ ), 1.77 (s, 3 H, Ac), 1.04-0.89 (m, 2 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), -0.01 (s, 9 H, TMS);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  170.0 169.9, 165.4, 165.1, 133.5, 133.4, 129.7, 129.6, 129.0, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 101.7, 101.6, 80.9, 75.1, 73.5, 73.3, 71.9, 71.6, 69.4, 68.9, 67.4, 62.2, 24.7, 20.5, 20.4, 18.1, 5.6, -

1.5;  $^{77}\text{Se}$  NMR (94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  61.1; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{46}\text{H}_{52}\text{O}_{14}\text{SeSiNa}^+$ : 835.1876  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 835.1876.

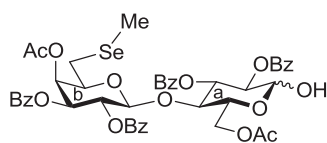


**2-(Trimethylsilyl)ethyl (6-deoxy-6-methylseleno- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyran**

**oside (1):** Ar 雰囲気下にて、化合物 33 (39 mg, 48  $\mu\text{mol}$ )を THF (530  $\mu\text{L}$ )と MeOH (1.1 mL)に溶かし、Sodium methoxide (28% in MeOH, 9 mg, 48  $\mu\text{mol}$ )を加えて、超音波照射下にて 3.5 時間反応を行った。反応終了を TLC ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ , 5/4/1)にて確認後、Dowex-50 ( $\text{H}^+$ )を加えて中和した。溶媒留去後、残渣をゲル濾過クロマトグラフィーSephadex LH-20 (MeOH)で精製し、化合物 1 (25 mg, quant.)を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}=-6.7^\circ$  ( $c=0.5$ , MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  4.38 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.3$  Hz, H-1<sup>b</sup>), 4.30 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.8$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 3.99 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.95 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 2.6$  Hz, H-4<sup>b</sup>), 3.91 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 5.6$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 3.84 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 4.2$  Hz, H-6b<sup>a</sup>), 3.70 (t, 1 H, H-5<sup>b</sup>), 3.63 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.58-3.51 (m, 4 H, H-3<sup>a</sup>, H-4<sup>a</sup>, H-2<sup>b</sup>, H-3<sup>b</sup>), 3.41 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 3.23 (t, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 2.83-2.76 (m, 2 H, H-6a<sup>b</sup>, H-6b<sup>b</sup>), 2.04 (s, 1 H, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  165.5, 165.2, 165.2, 164.8, 160.7, 133.5, 133.5, 133), 1.09-0.94 (m, 2 H,  $\text{TMSCH}_2$ ), 0.0 (s, 9 H, TMS);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  105.1, 103.7, 80.9, 76.5, 76.3, 76.1, 74.9, 72.2, 70.8, 68.2, 62.0, 25.5, 19.1, 4.5, -1.4;  $^{77}\text{Se}$  NMR (94 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  51.8; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_{10}\text{SeSiNa}^+$ : 543.1135  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 543.1135.



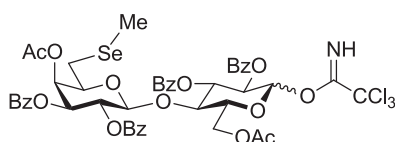
2-(Trimethylsilyl)ethyl (4-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-6-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (34): Ar 雰囲気下にて、化合物 33 (68 mg, 83  $\mu$ mol)を室温にて pyridine (1.7 mL)に溶かし、benzoyl chloride (77.4  $\mu$ L, 666  $\mu$ mol)を加えた。反応開始から 24 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/toluene = 1/2)で確認後、MeOH を加えた後、toluene 共沸を行ない、残渣を EtOAc で 2 回抽出し、洗浄 (2M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toluene = 1/10)で精製し、化合物 34 (85 mg, 99 %)を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_D^{25} = +40.0^\circ$  (c=0.9, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.17-7.31 (m, 20 H, Ph), 5.71 (t, 1 H,  $J_{2,3} = 9.5$  Hz, H-3<sup>a</sup>), 5.57-5.53 (m, 2 H, H-2<sup>b</sup>, H-4<sup>b</sup>), 5.35 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 7.9$  Hz,  $J_{2,3} = 10.8$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.29 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $J_{2,3} = 10.4$  Hz, H-3<sup>b</sup>), 4.75 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.9$  Hz, H-1<sup>b</sup>), 4.66 (d, 1 H, H-1<sup>a</sup>), 4.40 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 1.9$  Hz,  $J_{gem} = 12.0$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 4.16-1.09 (m, 2 H, H-4<sup>a</sup>, H-6b<sup>a</sup>), 3.91 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.71 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 3.59-3.50 (m, 2 H, H-5<sup>b</sup>, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.08 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 6.2$  Hz,  $J_{gem} = 13.0$  Hz, H-6a<sup>b</sup>), 1.98-1.95 (m, 7 H, H-6a<sup>b</sup>, Ac), 1.81 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>), 0.90-0.77 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.00 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.3, 169.8, 165.4, 165.2, 165.1, 164.9, 133.3, 133.3, 133.0, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 129.5, 128.9, 128.8, 128.4, 128.3, 128.3, 128.2, 100.5, 100.2, 75.6, 73.7, 73.3, 72.6, 72.0, 71.9, 69.9, 68.2, 67.5, 62.0, 23.4, 20.6, 20.4, 17.8, 5.0, -1.6; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  60.0; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>50</sub>H<sub>56</sub>O<sub>16</sub>SeSiNa<sup>+</sup>: 1043.2395 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 1043.2395.



35

(4-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-6-*O*-acetyl-

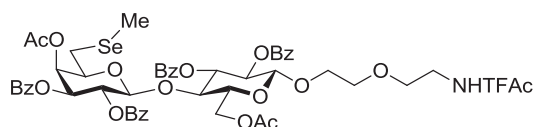
**2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranose (35):** Ar 雰囲気下にて、化合物 34 (78 mg, 76 μmol)を、室温にて CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL)に溶かし、氷浴中にて trifluoroacetic acid (500 μL)を加え、その後、室温に昇温し、2 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/toluene = 1/3)で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え反応を停止、CHCl<sub>3</sub>で 2 回抽出し、洗浄 (飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/Hexane = 2/3)で精製し、化合物 35 (66 mg, 94 %)を透明粘性液体として得た。α-isomer; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.12-7.18 (m, 20 H, Ph), 6.09 (t, 1 H, *J*<sub>2,3</sub> = *J*<sub>3,4</sub> = 9.5 Hz, H-3<sup>a</sup>), 5.60-5.53 (m, 3 H, H-1<sup>a</sup>, H-2<sup>b</sup>, H-4<sup>b</sup>), 5.32-5.28 (m, 1 H, H-3<sup>b</sup>), 5.21-5.14 (m, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 4.83 (d, 1 H, *J*<sub>1,2</sub> = 8.0 Hz, H-1<sup>b</sup>), 4.43-4.37 (m, 1 H, H-6a<sup>a</sup>), 4.27 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 4.18-4.05 (m, 2 H, H-4<sup>a</sup>, H-6b<sup>a</sup>), 3.35 (t, 1 H, *J*<sub>5,6a</sub> = *J*<sub>5,6b</sub> = 7.5 Hz, H-5<sup>b</sup>), 2.21-2.02 (m, 2 H, H-6a<sup>b</sup>, H-6b<sup>b</sup>), 1.98 (s, 3, H, Ac), 1.90 (s, 3, H, Ac), 1.79 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 58.3; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>45</sub>H<sub>44</sub>O<sub>16</sub>SeNa<sup>+</sup>: 943.1692 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 943.1692.



36

**(4-O-acetyl-2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-6-O-acetyl-2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyl trichloroacetimidate (36):** Ar 雰囲気下にて、化合物 35 (65 mg, 71 μmol)を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.4 mL)に溶かし、0 °C に冷却し、trichloroacetonitrile (270.7 μL, 275 μmol)及び DBU (3.2 μL, 21 μmol)を加え、0 °C にて 75 分攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/1)で確認後、溶液をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toulene = 1/10)で精製し、化合物 36 (67 mg, 88%, α/β = 20/1)を透明粘性液体として得た。α-isomer; [α]<sub>D</sub>=+95.8° (c=0.9, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.54 (s, 1 H, NH), 8.11-7.29 (m, 20 H, Ph), 6.67 (d, 1 H, *J*<sub>1,2</sub> = 3.5 Hz, H-1<sup>a</sup>), 6.12 (t, 1 H, *J*<sub>2,3</sub> =

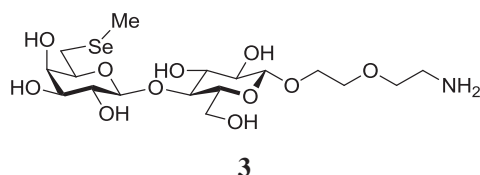
$J_{3,4} = 9.5$  Hz, H-3<sup>a</sup>), 5.61-5.55 (m, 2 H, H-2<sup>b</sup>, H-4<sup>b</sup>), 5.42 (dd, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 5.30 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 3.3$  Hz,  $J_{2,3} = 10.4$  Hz, H-3<sup>b</sup>), 4.87 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.5$  Hz, H-1<sup>b</sup>), 4.43 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 1.4$  Hz,  $J_{gem} = 12.3$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 4.26-4.16 (m, 2 H, H-4<sup>a</sup>, H-5<sup>a</sup>), 4.14 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 2.8$  Hz, H-6b<sup>a</sup>), 3.51 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 6.4$  Hz,  $J_{5,6a} = 8.0$  Hz, H-5<sup>b</sup>), 2.18-2.09 (m, 2 H, H-6a<sup>b</sup>, H-6b<sup>b</sup>), 1.99 (s, 3, H, Ac), 1.86 (s, 3 H, Ac), 1.75 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.5, 165.2, 165.2, 164.8, 160.7, 133.5, 133.5, 133.4, 133.3, 133.2, 130.0, 129.9, 129.7, 129.7, 129.7, 129.6, 129.4, 129.0, 128.9, 128.7, 128.6, 128.6, 128.5, 128.4, 128.4, 128.2, 101.6, 92.9, 90.8, 79.2, 77.2, 73.5, 71.9, 71.3, 70.8, 70.2, 67.5, 60.7, 29.7, 25.2, 5.3; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 56.8; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>47</sub>H<sub>44</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>16</sub>SeNa<sup>+</sup>: 1086.0783 [M+Na]<sup>+</sup>; found: 1086.0783.



37

**2-(2-Trifluoroacetamidoethoxy)ethyl (4-O-acetyl-2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-6-O-acetyl-2,3-di-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyl trichloroacetimidate (37):** Ar 雰囲気下にて、化合物 36 (67 mg, 62 μmol)、化合物 5 (29 mg, 143 μmol)を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 mL)に溶かし、AW-300 (200 mg)を加え、室温にて 1 時間攪拌を行った。0 °C に冷却し、TMSOTf (1.2 μL, 6 μmol)を加え、45 分間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/3)にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1 mL)を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub>で希釈した後に溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/2)で精製し、化合物 37 (62 mg, 90 %)を透明粘性液体として得た。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +18.2° (c=0.9, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.03-7.31 (m, 20 H, Ph), 6.85 (broad s, 1 H, NH), 5.75 (t, 1 H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$  Hz, H-3<sup>a</sup>),

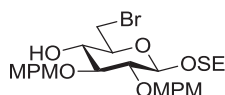
5.57-5.53 (m, 2 H, H-2<sup>b</sup>, H-4<sup>b</sup>), 5.34 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.29 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 10.5$  Hz,  $J_{3,4} = 3.5$  Hz, H-3<sup>b</sup>), 4.78 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz, H-1<sup>b</sup>), 4.69 (d, 1 H, H-1<sup>a</sup>), 4.45 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 2.0$  Hz,  $J_{gem} = 12.0$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 4.14-4.10 (m, 2 H, H-4<sup>a</sup>, H-6b<sup>a</sup>), 3.92 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.73 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 3.66-3.51 (m, 4 H, H-5<sup>b</sup>, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 3.45-3.38 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.34-3.21 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>), 2.11 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 6.3$  Hz,  $J_{gem} = 12.9$  Hz, H-6a<sup>b</sup>), 2.03-1.97 (m, 4 H, H-6b<sup>b</sup>, Ac), 1.93 (s, 3 H, Ac), 1.81 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 170.3, 169.8, 165.4, 165.2, 165.1, 164.9, 157.3, 157.0, 133.3, 133.3, 133.1, 133.2, 129.8, 129.8, 129.7, 129.6, 129.2, 129.0, 128.8, 128.5, 128.4, 128.3, 117.0, 114.7, 101.0, 100.6, 77.2, 75.4, 73.8, 72.9, 72.9, 72.0, 71.9, 69.9, 69.9, 69.3, 68.7, 68.2, 61.7, 39.5, 29.6, 23.5, 20.6, 20.3, 5.0; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 60.2; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>51</sub>H<sub>52</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>18</sub>SeNa<sup>+</sup>: 1126.2194 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>; found: 1126.2199.



### 2-Aminoethyl (6-deoxy-6-methylseleno-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-β-D-glucopyranoside (**3**)

Ar 雰囲気下にて、化合物 **37** (46 mg, 42 μmol) を THF (550 μL) と MeOH (1.1 mL) に溶かし、Sodium methoxide (28% in MeOH, 8 mg, 42 μmol) を加えて、超音波照射下にて 48 時間反応を行った。反応終了を TLC (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O/AcOH = 5/4/1/0.1) にて確認後、Muromac C1002 (H<sup>+</sup>) を加えて中和した。溶媒留去後の残渣を、水に溶かし、洗浄 (CHCl<sub>3</sub>) し、水層を濃縮した。濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O/NH<sub>3</sub> aq. = 1/6/1/0.08) にて精製し、化合物 **3** (18 mg, 84%) を白色固体として得た。[α]<sub>D</sub><sup>+</sup> +5.7° (c=0.4, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 4.38-4.34 (m, 2 H, H-1<sup>a</sup>, H-1<sup>b</sup>), 4.03-2.84 (m, 18 H, H-2<sup>a</sup>, H-3<sup>a</sup>, H-4<sup>a</sup>, H-5<sup>a</sup>, H-6a<sup>a</sup>, H-6b<sup>a</sup>, H-2<sup>b</sup>, H-3<sup>b</sup>, H-4<sup>b</sup>, H-5<sup>b</sup>, NCH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 2.83-2.77 (m, 2 H, H-6a<sup>b</sup>, H-6b<sup>b</sup>), 2.04 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C

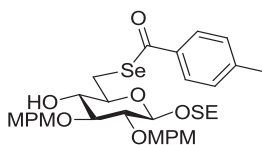
NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  105.1, 104.3, 80.7, 76.4, 76.3, 76.1, 74.9, 74.8, 72.7, 72.4, 71.9, 71.2, 70.9, 69.9, 41.8, 25.6, 4.6; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  48.1; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>17</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>11</sub>SeNa<sup>+</sup>: 508.1292 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 508.1292.



38

### 2-(Trimethylsilyl)ethyl 6-bromo-6-deoxy-2,3-di-*O*-(*p*-methoxybenzyl)-β-D-glucopyranoside

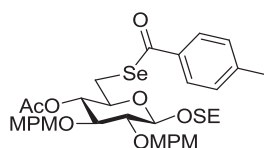
(38): Ar 雰囲気下にて、化合物 30 (117 mg, 225 μmol) を pyridine (2.3 mL) に溶かし、triphenylphosphine (89 mg, 340 μmol) 及び carbontetrabromide (114 mg, 345 μmol) を 0°C にて加え 10 分攪拌した。65 °C に加熱し、1 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/1) で確認後、MeOH を加え反応を停止し、toluene 共沸を行なった後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toluene = 1/20) で精製し、化合物 38 (122 mg, 93 %) を透明粘性液体として得た。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -25.4° (c=1.0, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.31-6.86 (m, 8 H Ar), 4.89 (2 d, 2 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.66 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.56 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.43 (d, 1 H, *J*<sub>1,2</sub> = 6.8 Hz, H-1), 4.03 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.79 (s, 6 H, ArOCH<sub>3</sub>), 3.71-3.64 (m, 2 H, H-6a, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.45 (m, 1 H, *J*<sub>5,6b</sub> = 5.9 Hz, H-6b), 3.42-3.36 (m, 4 H, H-2, H-3, H-4, H-5), 2.24 (s, 1 H, OH), 1.10-1.04 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.04 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  159.4, 159.2, 130.5, 130.4, 129.8, 129.6, 114.0, 113.8, 103.1, 83.1, 81.5, 74.7, 74.2, 71.8, 67.5, 55.2, 32.6, 18.4, -1.5; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>27</sub>H<sub>39</sub>BrO<sub>7</sub>SiNa<sup>+</sup>: 605.1546 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 605.1546



39

### 2-(Trimethylsilyl)ethyl 2,3-di-*O*-(*p*-methoxybenzyl)-6-deoxy-6-(*p*-methylbenzoylseleno)-β-D-glu

**copyranoside (39):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **38** (1.03g, 1.77 mmol)及び *p*-methylselenobenzoic anhydride (化合物 **11**) (702 mg, 2.21 mmol)を脱気した DMF (18 mL)に溶かし、*N,N*-diisopropylethylamine (377  $\mu$ L, 2.22 mmol)及び piperidine (220  $\mu$ L, 2.22 mmol)を室温にて加え、60  $^{\circ}$ C に加熱し 45 分間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/toluene = 1/5)で確認後、EtOAc で 2 回抽出、洗浄 (2M 塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後、残渣を、ゲル濾過クロマトグラフィー (Sephadex LH-20, MeOH/CHCl<sub>3</sub> = 1/1)フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toluene = 1/20)で精製し、化合物 **39** (1.19 g, 96 %)を黄色粘性液体として得た。 $[\alpha]_D = -8.9^{\circ}$  (c=1.2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.82-6.85 (m, 12 H, Ar), 4.87-4.82 (m, 2 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.70-4.65 (m, 2 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.41 (d, 1 H, *J*<sub>1,2</sub> = 8.3 Hz, H-1), 3.97 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.79 (2 s, 6 H, ArOCH<sub>3</sub>), 3.62 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.52 (dd, 1 H, *J*<sub>5,6a</sub> = 2.7 Hz, *J*<sub>gem</sub> = 13.1 Hz, H-6a), 3.48 (m, 1 H, H-5), 3.44-3.42 (m, 2 H, H-3, H-4), 3.39 (dd, 1 H, *J*<sub>5,6b</sub> = 5.5 Hz, H-6b), 3.35 (t, 1 H, *J*<sub>2,3</sub> = 8.9 Hz, H-2), 2.97 (d, 1 H, *J*<sub>4,OH</sub> = 2.8 Hz, OH), 2.40 (s, 3 H, ArCH<sub>3</sub>), 1.06-1.03 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.03 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  195.8, 159.2, 159.2, 144.8, 136.2, 130.7, 130.7, 129.8, 129.6, 129.4, 127.4, 113.9, 113.7, 103.0, 83.0, 81.6, 75.0, 74.3, 73.1, 67.5, 55.2, 27.4, 21.7, 18.5, -1.4; <sup>77</sup>Se NMR (113 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  485.9; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>36</sub>H<sub>46</sub>O<sub>9</sub>SeSiNa<sup>+</sup>: 725.2019 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 725.2024.

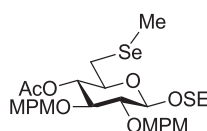


**40**

**2-(Trimethylsilyl)ethyl 4-O-acetyl-6-deoxy-2,3-di-O-(*p*-methoxybenzyl)-6-(*p*-methylbenzoyl)sele no)- $\beta$ -D-glucopyranoside (40):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **39** (1.13 g, 1.61 mmol)を pyridine (16.1 mL)に溶かし、acetic anhydride (7.6 mL, 8.06 mmol)を加え、室温にて 17 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/toluene = 1/5)で確認後、MeOH を加えた後、toluene 共沸を行ない、残渣



を EtOAc で希釈し、洗浄 (2M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toluene = 1/30) で精製し、化合物 **40** (1.17 g, 98%) を透明粘性液体として得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = -4.7° (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.78-6.83 (m, 12 H Ar), 4.91 (t, 1 H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.8$  Hz, H-4), 4.84 (d, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 10.3$  Hz, ArCH<sub>2</sub>), 4.72 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.63 (d, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 11.0$  Hz, ArCH<sub>2</sub>), 4.54 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.37 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 8.3$  Hz, H-1), 3.97 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.78 (s, 6 H, ArOCH<sub>3</sub>), 3.66-3.62 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.54 (t, 1 H,  $J_{2,3} = 8.9$  Hz, H-3), 3.48-3.43 (m, 2 H, H-2, H-5), 3.38 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 2.8$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 13.1$  Hz, H-6a), 3.05 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 9.6$  Hz, H-6b), 2.38 (s, 3 H, ArCH<sub>3</sub>), 2.05 (s, 3 H, Ac), 1.06-1.01 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.26 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  193.5, 170.0, 159.2, 159.1, 144.6, 136.2, 130.6, 129.8, 129.4, 127.2, 113.7, 102.9, 81.9, 81.1, 74.6, 74.5, 73.8, 73.6, 67.4, 55.2, 26.8, 21.7, 21.0, 18.4, -1.4; <sup>77</sup>Se NMR (113 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  499.1; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>37</sub>H<sub>48</sub>O<sub>9</sub>SeSiNa<sup>+</sup>: 767.2131 [M+Na]<sup>+</sup>; found: 767.2130.

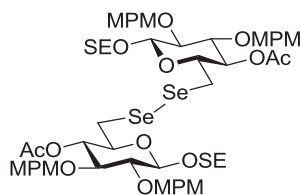


**41**

**2-(Trimethylsilyl)ethyl 4-O-acetyl-6-deoxy-2,3-di-O-(*p*-methoxybenzyl)-6-methylseleno- $\beta$ -D-glucopyranoside (41):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **40** (68 mg, 91  $\mu$ mol) 及び cesium carbonate (157 mg, 480  $\mu$ mol) を脱気した DMF (1.8 mL) に溶かし 10 分間攪拌した。その後、methyl hydrazine (24.0  $\mu$ L, 456  $\mu$ mol) を加え 5 分間攪拌した後に、methyl iodide (28.3  $\mu$ L, 456  $\mu$ mol) を加え、室温にて 25 分間攪拌し、反応終了を TLC (EtOAc/toluene = 1/5) にて確認した。EtOAc で 2 回抽出し、洗浄 (2M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/5) で精製し、化合物 **41** (52 mg, 89 %) を透明粘性液体として得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = -10.6° (c=0.9, CHCl<sub>3</sub>);

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.28-6.84 (m, 8 H Ar), 4.87-4.82 (m, 2 H, H-4,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.73 (d, 1 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.64 (d, 1 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.54 (d, 1 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.41 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.6$  Hz, H-1), 4.01 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.80 (s, 3 H,  $\text{ArOCH}_3$ ), 3.79 (s, 3 H,  $\text{ArOCH}_3$ ), 3.67 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.48 (m, 3 H, H-2, H-3, H-5), 2.64 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 8.9$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 13.1$  Hz, H-6a), 2.58 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 2.7$  Hz, H-6b), 2.06 (s, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ ), 1.95 (s, 3 H, Ac), 1.06 (t, 2 H,  $\text{TMSCH}_2$ ), 0.04 (s, 9 H, TMS);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  169.8, 159.2, 159.1, 130.6, 130.0, 129.4, 113.7, 113.7, 103.0, 81.9, 81.1, 75.1, 74.6, 74.5, 73.9, 67.4, 55.2, 26.3, 21.0, 18.5, 5.7, -1.5;  $^{77}\text{Se}$  NMR (113 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  76.9; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_8\text{SeSiNa}^+$ : 663.1863 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ ; found: 663.1868.

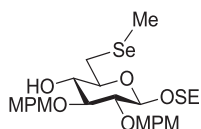
また、上記の反応では副生成物として以下の副生成物 **42** を黄色粘性液体として得た。



**42**

**Bis-{6-[2-(trimethylsilyl)ethyl 4-O-acetyl-6-deoxy-2,3-di-O-(*p*-methoxybenzyl)- $\beta$ -D-glucopyranosyl]} diselenide (**42**):**  $[\alpha]_{\text{D}} -29.7^\circ$  ( $c=0.9$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.28-6.84 (m, 16 H Ar), 4.86-4.81 (m, 4 H, H-4,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.73 (d, 2 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.63 (d, 2 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.53 (d, 2 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.38 (d, 2 H,  $J_{1,2} = 8.2$  Hz, H-1), 4.01-4.00 (m, 2 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.80 (s, 12 H,  $\text{ArOCH}_3$ ), 3.67-3.63 (m, 2 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.55-3.50 (m, 4 H,  $J_{2,3} = 8.9$  Hz, H-3, H-5), 3.43 (t, 2 H, H-2), 3.09 (dd, 2 H,  $J_{5,6a} = 9.6$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.3$  Hz, H-6a), 2.98 (dd, 2 H,  $J_{5,6b} = 2.7$  Hz, H-6b), 1.96 (s, 6 H, Ac), 1.04 (t, 4 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 0.01 (s, 18 H, TMS);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  159.4, 159.2, 130.6, 129.8, 129.6, 114.0,

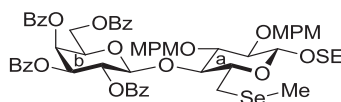
113.8, 103.1, 83.3, 81.8, 76.2, 74.7, 74.2, 73.3, 67.4, 55.2, 26.9, 18.5, 5.6, -1.5;  $^{77}\text{Se}$  NMR (113 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  307.6; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{58}\text{H}_{82}\text{O}_{16}\text{Se}_2\text{Si}_2\text{Na}^+$ : 1273.3364 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ ; found: 1273.3364.



43

**2-(Trimethylsilyl)ethyl 6-deoxy-2,3-di-*O*-(*p*-methoxybenzyl)-6-methylseleno- $\beta$ -D-glucopyranoside (43):**

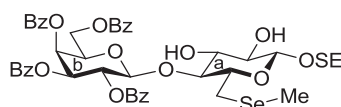
Ar 雰囲気下にて、化合物 41 (45 mg, 69  $\mu\text{mol}$ )を MeOH (1.4 mL)に溶かし、Sodium methoxide (28% in MeOH, 1 mg)を 0  $^\circ\text{C}$  にて加え、室温に昇温し、44 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/5)で確認後、溶液を MeOH で希釈、Dowex-50 ( $\text{H}^+$ )で中和した。溶媒留去後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/6)で精製し、化合物 43 (36 mg, 87 %)を透明粘性液体として得た。 $[\alpha]_D^{25} = -29.7^\circ$  ( $c=0.7$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.31-6.87 (m, 8 H, Ar), 4.89 (2 d, 2 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.66 (d, 1 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.56 (d, 1 H,  $\text{ArCH}_2$ ), 4.41 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.4$  Hz, H-1), 4.00 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.80 (s, 6 H,  $\text{ArOCH}_3$ ), 3.65 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.43-3.35 (m, 4 H, H-2, H-3, H-4, H-5), 2.93 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 2.9$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 13.2$  Hz, H-6a), 2.69 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 8.2$  Hz, H-6b), 2.16 (s, 1 H, OH), 2.07 (s, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ ), 1.06 (t, 2 H,  $\text{TMSCH}_2$ ), 0.04 (s, 9 H, TMS);  $^{13}\text{C}$  NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  159.4, 159.2, 130.6, 129.8, 129.6, 114.0, 113.8, 103.1, 83.3, 81.8, 76.2, 74.7, 74.2, 73.3, 67.4, 55.2, 26.9, 18.5, 5.6, -1.5;  $^{77}\text{Se}$  NMR (113 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  63.3; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_8\text{SeSiNa}^+$ : 621.1757 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ ; found: 621.1757.



45

**2-(Trimethylsilyl)ethyl (2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-6-deoxy-2,3-di-*O*-(*p*-methoxybenzyl)-6-methylseleno- $\beta$ -D-glucopyranoside (45):**

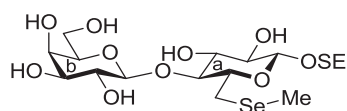
**-(*p*-methoxybenzyl)-6-methylseleno- $\beta$ -D-glucopyranoside (45):** Ar 雰囲気下にて、化合物 44 (58 mg, 78  $\mu$ mol)、化合物 43 (46 mg, 77  $\mu$ mol)を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.5 mL)に溶かし、MS4Å (148 mg)を加えて室温にて 2 時間攪拌を行った。0 °C に冷却し、TMSOTf (1.5  $\mu$ L, 7.7  $\mu$ mol)を加え、反応追跡を TLC (EtOAc/toluene = 1/8)にて行った。反応開始から 14 時間まで攪拌し、反応終了を確認後、0 °C にて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (500  $\mu$ L)を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub> で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をゲル濾過クロマトグラフィー (Sephadex LH-20, MeOH/CHCl<sub>3</sub> = 1/1)で精製し、化合物 45 (71 mg, 79 %)を白色泡状粉末として得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>=+36.0° (c=0.9, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  8.02-6.75 (m, 28 H, Ar), 5.91 (d, 1 H,  $J_{3,4}$  = 3.4 Hz, H-4<sup>b</sup>), 5.78 (dd, 1 H,  $J_{1,2}$  = 8.0 Hz,  $J_{2,3}$  = 10.4 Hz, H-2<sup>b</sup>), 5.53 (dd, 1 H, H-3<sup>b</sup>), 5.15 (d, 1 H, H-1<sup>b</sup>), 4.93 (s, 2 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.82 (d, 1 H,  $J_{gem}$  = 10.7 Hz, ArCH<sub>2</sub>), 4.61 (d, 1 H, ArCH<sub>2</sub>), 4.36-4.33 (m, 2 H, H-1<sup>a</sup>, H-6a<sup>b</sup>), 4.26 (dd, 1 H,  $J_{5,6b}$  = 7.8 Hz,  $J_{gem}$  = 11.2 Hz, H-6b<sup>b</sup>), 4.03 (t, 1 H, H-5<sup>b</sup>), 3.92 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.78 (m, 3 H, ArOCH<sub>3</sub>), 3.68-3.55 (m, 6 H, H-3<sup>a</sup>, H-4<sup>a</sup>, ArOCH<sub>3</sub>, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.45-3.35 (m, 2 H, H-2<sup>a</sup>, H-5<sup>a</sup>), 2.83 (dd, 1 H,  $J_{5,6a}$  = 2.7 Hz,  $J_{gem}$  = 12.7 Hz, H-6a<sup>a</sup>), 2.47 (dd, 1 H,  $J_{5,6b}$  = 9.1 Hz, H-6b<sup>a</sup>), 1.86 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>), 1.04-0.98 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.01 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  165.7, 165.5, 165.4, 165.1, 159.2, 158.8, 133.5, 133.5, 133.3, 133.1, 131.1, 130.6, 129.9, 129.8, 129.7, 129.7, 129.7, 129.4, 129.0, 129.0, 128.7, 128.6, 128.4, 128.3, 113.7, 113.6, 102.9, 101.4, 82.3, 81.9, 81.8, 75.4, 74.5, 74.3, 71.8, 71.4, 70.6, 67.8, 67.3, 61.3, 55.2, 55.1, 26.5, 18.5, 5.3, 0.0, -1.5; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  66.8; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>62</sub>H<sub>68</sub>O<sub>16</sub>SeSiNa<sup>+</sup>: 1199.3334 [ $M$ +Na]<sup>+</sup>; found: 1199.3334.



46

**2-(Trimethylsilyl)ethyl (2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-6-deoxy-6-meth**

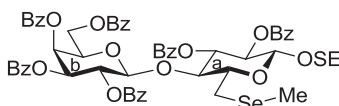
**ylseleno- $\beta$ -D-glucopyranoside (46)**: Ar 雰囲気下にて、化合物 **45** (52 mg, 44  $\mu$ mol)を、室温にて  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (580  $\mu\text{L}$ )に溶かし、 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ に冷却し、trifluoroacetic acid (290  $\mu\text{L}$ )を加え 75 分間攪拌した。反応終了を TLC ( $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3 = 1/10$ )で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (3 mL)を加え反応を停止した。 $\text{CHCl}_3$  で希釈後、洗浄 (飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー( $\text{EtOAc}/\text{hexane} = 3/8$ )で精製し、化合物 **46** (41 mg, quant.)を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +78.4^\circ$  ( $c=0.4$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8.10-7.23 (m, 20 H, Ph), 6.00 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 3.1$  Hz, H-4<sup>b</sup>), 5.87 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 8.1$  Hz,  $J_{2,3} = 10.4$  Hz, H-2<sup>b</sup>), 5.63 (dd, 1 H, H-3<sup>b</sup>), 4.99 (d, 1 H, H-1<sup>b</sup>), 4.64 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 4.4$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 11.5$  Hz, H-6a<sup>b</sup>), 4.53-4.45 (m, 2 H, H-5<sup>b</sup>, H-6b<sup>b</sup>), 4.36 (s, 1 H, OH), 4.32 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.8$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 3.92 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.73 (t, 1 H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.3$  Hz, H-3<sup>a</sup>), 3.61 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.56-3.49 (m, 2 H, H-4<sup>a</sup>, H-5<sup>a</sup>), 3.41 (t, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 2.58 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 2.0$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.7$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 2.49-2.45 (m, 2 H, H-6b<sup>a</sup>, OH), 1.69 (s, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ ), 1.06-0.94 (m, 2 H,  $\text{TMSCH}_2$ ), 0.00 (s, 9 H, TMS);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  166.1, 165.4, 165.0, 133.8, 133.7, 133.4, 133.4, 130.0, 129.8, 129.7, 129.1, 128.7, 128.7, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 102.3, 101.6, 85.7, 74.7, 74.7, 73.7, 72.3, 71.5, 69.6, 68.0, 67.2, 62.4, 29.7, 25.9, 18.2, 5.0, 0.0, -1.5;  $^{77}\text{Se}$  NMR (94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  61.1; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{46}\text{H}_{52}\text{O}_{14}\text{SeSiNa}^+$ : 959.2184 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>; found: 959.2184.



2

**2-(Trimethylsilyl)ethyl ( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-6-deoxy-6-methylseleno- $\beta$ -D-glucopyranoside (2)**: Ar 雰囲気下にて、化合物 **46** (36 mg, 39  $\mu$ mol)を THF (420  $\mu\text{L}$ )と MeOH (840  $\mu\text{L}$ )に溶かし、Sodium methoxide (28% in MeOH, 7 mg, 38  $\mu$ mol)を加えて、超音波照射下にて 5.5 時間

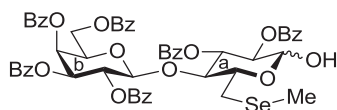
反応を行った。反応終了を TLC (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O, 5/4/1)にて確認後、Dowex-50 (H<sup>+</sup>)を加えて中和した。溶媒留去後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (MeOH/CHCl<sub>3</sub> = 1/7)及び、ゲル濾過クロマトグラフィー (Sephadex LH-20, MeOH)で精製し、化合物 **2** (20 mg, quant.)を白色固体として得た。 $[\alpha]_D^{25} = +3.5^\circ$  (c=0.4, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  4.34 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.6$  Hz, H-1<sup>b</sup>), 4.29 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.9$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 3.95 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.82 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 2.9$  Hz, H-4<sup>b</sup>), 3.78 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 7.6$  Hz,  $J_{gem} = 11.5$  Hz, H-6a<sup>b</sup>), 3.71-3.65 (m, 2 H, H-6b<sup>b</sup>, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.60-3.51 (m, 3 H, H-5<sup>a</sup>, H-2<sup>b</sup>, H-5<sup>b</sup>), 3.50-3.43 (m, 3 H, H-3<sup>a</sup>, H-4<sup>a</sup>, H-3<sup>b</sup>), 3.23 (t, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 3.18 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 2.5$  Hz,  $J_{gem} = 13.0$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 2.79 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 8.1$  Hz, H-6b<sup>a</sup>), 2.06 (s, 1 H, SeCH<sub>3</sub>), 1.02 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.0 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  105.5, 103.5, 84.6, 77.1, 77.0, 76.3, 74.9, 74.8, 72.5, 70.2, 68.0, 62.5, 27.5, 19.1, 5.2, -1.4; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  56.5; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>10</sub>SeSiNa<sup>+</sup>: 543.1135 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>; found: 543.1135.



47

**2-(Trimethylsilyl)ethyl (2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3-di-O-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno- $\beta$ -D-glucopyranoside (47):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **46** (63 mg, 68  $\mu$ mol)を室温にて pyridine (1.4 mL)に溶かし、benzoyl chloride (62.7  $\mu$ L, 540  $\mu$ mol)を加え、60  $^\circ$ Cに加熱し、14時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/toluene = 1/2)で確認後、toluene 共沸を行ない、残渣を EtOAc で2回抽出し、洗浄 (2M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 2/3)で精製し、化合物 **47** (71 mg, 91 %)を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_D^{25} = +26.8^\circ$  (c=0.9, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.99-7.14 (m, 30 H, Ph), 5.76-5.69 (m, 3 H, H-3<sup>a</sup>, H-2<sup>b</sup>, H-4<sup>b</sup>), 5.47 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 10.$

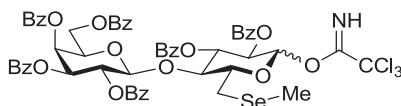
3 Hz,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz, H-3<sup>b</sup>), 5.40 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $J_{2,3} = 9.9$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 4.94 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.9$  Hz, H-1<sup>b</sup>), 4.65 (d, 1 H, H-1<sup>a</sup>), 4.05-3.90 (m, 3 H, H-4<sup>a</sup>, H-5<sup>b</sup>, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.75-3.64 (m, 3 H, H-5<sup>a</sup>, H-6a<sup>b</sup>, H-6b<sup>b</sup>), 3.56 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.86 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 13.0$  Hz,  $J_{5,6a} = 2.5$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 2.68 (m, 1 H,  $J_{5,6b} = 7.8$  Hz, H-6b<sup>a</sup>), 1.88 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>), 0.87 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.09 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.6, 165.5, 165.4, 165.2, 165.2, 164.7, 134.5, 133.6, 133.5, 133.4, 133.3, 133.2, 133.1, 133.0, 130.6, 130.1, 130.0, 129.8, 129.7, 129.7, 129.7, 129.6, 129.4, 129.0, 128.9, 128.9, 128.6, 128.6, 128.5, 128.5, 128.2, 101.3, 100.3, 79.9, 75.7, 73.1, 72.1, 71.8, 71.2, 70.1, 67.5, 67.3, 60.8, 25.6, 17.9, 5.4, 0.0, -1.5; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 62.4; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>60</sub>H<sub>60</sub>O<sub>16</sub>SeSiNa<sup>+</sup>: 1167.2708 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>; found: 1167.2708.



#### 48

**2-(Trimethylsilyl)ethyl (2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-2,3-di-*O*-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno-β-D-glucopyranose (48):** Ar 雰囲気下にて、化合物 47 (66 mg, 58 μmol)を、室温にて CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (800 μL)に溶かし、氷浴中にて trifluoroacetic acid (400 μL)を加え、その後、室温に昇温し、40 分攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/2)で確認後、*t*oluene 共沸を行い、濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/8)で精製し、化合物 48 (45 mg, 75%)を透明粘性液体として得た。α-isomer; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.12-7.18 (m, 30 H, Ph), 6.08 (t, 1 H,  $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$  Hz, H-3<sup>a</sup>), 5.83-5.76 (m, 1 H, H-4<sup>b</sup>), 5.73-5.68 (m, 1 H, H-2<sup>b</sup>), 5.59 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 3.5$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 5.51-5.47 (m, 1 H, H-3<sup>b</sup>), 5.23-5.19 (m, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 5.01-4.98 (m, 1 H, H-1<sup>b</sup>), 4.30 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 4.15-4.06 (m, 1 H, H-5<sup>b</sup>), 4.03-4.00 (m, 1 H, H-4<sup>a</sup>), 3.94-3.85 (m, 1 H, H-6a<sup>b</sup>), 3.77-3.65 (m, 1 H, H-6b<sup>b</sup>), 2.89-2.85 (m, 1 H, H-6a<sup>a</sup>), 2.72-2.67 (m, 1 H, H-6b<sup>a</sup>), 1.86 (s,

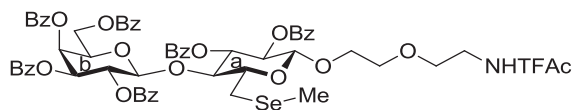
3 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 44.1; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>55</sub>H<sub>48</sub>O<sub>16</sub>SeNa<sup>+</sup>: 1067.2000 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 1067.2000.



49

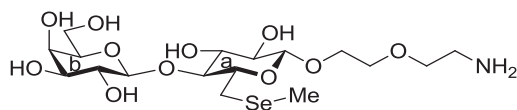
**2-(Trimethylsilyl)ethyl (2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-2,3-di-*O*-benzoyl-6-deoxy-6-methylseleno-β-D-glucopyranosyl trichloroacetimidate (49):** Ar 雰囲気下にて、化合物 48 (45 mg, 43 μmol)を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (860 μL)に溶かし、0 °C に冷却後、trichloroacetonitrile (43.3 μL, 432 μmol)及び DBU (2.1 μL, 22 μmol)を加え、0 °C にて 30 分攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 2/3)で確認後、溶液をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/4)で精製し、化合物 49 (47 mg, 91 %, α/β = 20/1)を透明粘性液体として得た。α-isomer; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +56.9° (c=0.8, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.53 (s, 1 H, NH), 8.04-7.05 (m, 30 H, Ph), 6.68 (d, 1 H, *J*<sub>1,2</sub> = 3.8 Hz, H-1<sup>a</sup>), 6.10 (t, 1 H, *J*<sub>2,3</sub> = *J*<sub>3,4</sub> = 9.7 Hz, H-3<sup>a</sup>), 5.78 (d, 1 H, *J*<sub>3,4</sub> = 3.0 Hz, H-4<sup>b</sup>), 5.73 (dd, 1 H, *J*<sub>1,2</sub> = 8.0 Hz, *J*<sub>2,3</sub> = 10.3 Hz, H-2<sup>b</sup>), 5.50-5.47 (m, 2 H, H-2<sup>a</sup>, H-3<sup>b</sup>), 5.03 (d, 1 H, H-1<sup>b</sup>), 4.26 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 4.19 (t, 1 H, *J*<sub>4,5</sub> = 9.5 Hz, H-4<sup>a</sup>), 3.99 (t, 1 H, *J*<sub>5,6a</sub> = 5.9 Hz, *J*<sub>5,6b</sub> = 7.8 Hz, H-5<sup>b</sup>), 3.86 (dd, 1 H, *J*<sub>gem</sub> = 11.3 Hz, H-6a<sup>b</sup>), 3.66 (dd, 1 H, H-6b<sup>b</sup>), 2.87 (dd, 1 H, *J*<sub>gem</sub> = 13.2 Hz, *J*<sub>5,6a</sub> = 2.5 Hz, H-6a<sup>a</sup>), 2.71 (dd, 1 H, *J*<sub>5,6b</sub> = 6.8 Hz, H-6b<sup>a</sup>), 1.87 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.5, 165.2, 165.2, 164.8, 160.7, 133.5, 133.5, 133.4, 133.3, 133.2, 130.0, 129.9, 129.8, 129.7, 129.7, 129.6, 129.4, 129.0, 128.9, 128.7, 128.6, 128.6, 128.5, 128.4, 128.4, 128.3, 101.6, 92.9, 90.7, 79.2, 73.5, 71.9, 71.2, 70.8, 70.2, 70.2, 67.5, 60.7, 25.2, 5.3, 0.0; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 52.8; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>57</sub>H<sub>48</sub>Cl<sub>3</sub>N O<sub>16</sub>SeNa<sup>+</sup>: 1210.1096 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 1210.1096.





50

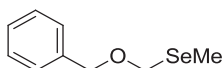
**2-(2-Trifluoroacetamidoethoxy)ethyl (2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3-di-*O*-benzoyl-6-6-deoxy-6-methylseleno- $\beta$ -D-glucopyranoside (50):** Ar 雰囲気下にて、化合物 49 (33 mg, 28  $\mu$ mol)、化合物 5 (10 mg, 50  $\mu$ mol)を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 mL)に溶かし、AW-300 (60 mg)を加え、室温にて 1 時間攪拌を行った。0 °C に冷却し、TMSOTf (3  $\mu$ L, 0.6  $\mu$ mol)を加え、8 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 2/3)にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (500  $\mu$ L)を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub> で希釈後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/2)で精製し、化合物 50 (23 mg, 66%)を透明粘性液体として得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub>=+1.2.2° (c=0.4, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.98-7.16 (m, 30 H, Ph), 6.79 (broad s, 1 H, NH), 5.78-5.74 (m, 2 H, H-3<sup>a</sup>, H-4<sup>b</sup>), 5.71 (dd, 1 H,  $J_{1,2}$  = 7.9 Hz,  $J_{2,3}$  = 10.3 Hz, H-2<sup>b</sup>), 5.48 (dd, 1 H,  $J_{3,4}$  = 3.8 Hz, H-3<sup>b</sup>), 5.39 (dd, 1 H,  $J_{1,2}$  = 8.0 Hz,  $J_{2,3}$  = 10.0 Hz, H-2<sup>a</sup>), 4.95 (d, 1 H, H-1<sup>b</sup>), 4.69 (d, 1 H, H-1<sup>a</sup>), 4.02 (t, 1 H,  $J_{3,4}$  =  $J_{4,5}$  = 9.4 Hz, H-4<sup>a</sup>), 3.98 (t, 1 H, H-5<sup>b</sup>), 3.94 (m, 1 H, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.76 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}}$  = 11.4 Hz, H-6a<sup>b</sup>), 3.72 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 3.68-3.64 (m, 2 H, H-6b<sup>b</sup>, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O), 3.57-3.55 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 3.45-3.40 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.32-3.26 (m, 2 H, NCH<sub>2</sub>), 2.86 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}}$  = 13.0 Hz,  $J_{5,6a}$  = 2.5 Hz, H-6a<sup>a</sup>), 2.68 (dd, 1 H,  $J_{5,6b}$  = 7.9 Hz, H-6b<sup>a</sup>), 1.85 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  165.6, 165.5, 165.3, 165.2, 165.2, 164.7, 133.6, 133.3, 133.3, 133.2, 130.0, 129.7, 129.7, 129.6, 129.6, 129.4, 129.3, 128.9, 128.9, 128.6, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.3, 101.4, 101.1, 79.7, 75.7, 72.7, 72.0, 71.7, 71.3, 70.1, 69.9, 69.2, 68.7, 67.5, 60.8, 39.5, 29.7, 25.6, 14.2, 5.3, 0.0; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  60.6; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>61</sub>H<sub>56</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>16</sub>SeNa<sup>+</sup>: 1250.2507 [ $M$ +Na]<sup>+</sup>; found: 1250.2507.



4

**2-Aminoethyl (β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-6-deoxy-6-methylseleno-β-D-glucopyranoside (4):**

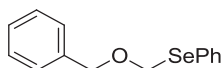
Ar 雰囲気下にて、化合物 **50** (15 mg, 12 μmol)を THF (280 μL)と MeOH (560 μL)に溶かし、Sodium methoxide (28% in MeOH, 5 mg, 24 μmol)を加えて、超音波照射下にて 46 時間反応を行った。反応終了を TLC (CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O/AcOH, 5/4/1/0.1)にて確認後濃縮した。濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー(CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O/NH<sub>3</sub> aq. = 1/6/1/0.08)にて精製し、化合物 **4** (5 mg, 77%)を白色固体として得た。[α]<sub>D</sub><sup>+</sup>+14.0° (c=0.5, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ4.34-4.33 (m, 2 H, H-1<sup>a</sup>, H-1<sup>b</sup>), 4.03-2.84 (m, 18 H, H-2<sup>a</sup>, H-3<sup>a</sup>, H-4<sup>a</sup>, H-5<sup>a</sup>, H-2<sup>b</sup>, H-3<sup>b</sup>, H-4<sup>b</sup>, H-5<sup>b</sup>, H-6a<sup>b</sup>, H-6b<sup>b</sup>, NCH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O) 2.83-2.79 (m, 2 H, H-6a<sup>a</sup>, H-6b<sup>a</sup>), 2.06 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ105.5, 104.3, 84.4, 77.1, 76.9, 76.2, 72.5, 71.2, 70.2, 70.0, 62.5, 27.5, 5.2; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 52.9; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>17</sub>H<sub>34</sub>NO<sub>11</sub>SeNa<sup>+</sup>: 508.1292 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 508.1292.



51

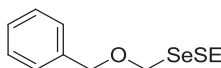
**Benzyloxymethyl methyl selenide (51):** Ar 雰囲気下にて、dimethylselenide (189.1 μl, 2.00 mmol), を THF (12 mL)に溶解し、Sodium borohydride (165 mg, 4.36 mmol)、EtOH (6 mL)の順に氷浴中にて加え、10 分間攪拌した。その後、benzyloxymethyl chloride (500 μl, 3.63 μmol)を加え、室温にて 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl<sub>3</sub>/hexane = 1/1)にて確認後、飽和塩化アンモニウム水溶液 (30 mL)を加え反応停止した後に、抽出 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>にて 3 回抽出、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/hexane = 1/5 → 1/2)で精製し、化合物 **51** (703 mg, 90%)を透明粘性液体として

得た。 $[\alpha]_D=0.0^\circ$  (c=1.0,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.37-7.28 (m, 5 H, Ph), 4.99 (s, 2 H,  $\text{PhCH}_2$ ), 4.60 (s, 2 H,  $\text{SeCH}_2$ ), 2.10 (s, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  137.3, 128.5, 128.2, 123.9, 68.6, 3.6;  $^{77}\text{Se NMR}$  (94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  118.6.



52

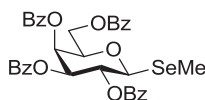
**Benzyloxymethyl phenyl selenide (52):** Ar 雰囲気下にて、dimphenyldiselenide (500 mg, 1.61 mmol), を THF (6.4 mL) に溶解し、Sodium borohydride (132 mg, 3.50 mmol)、EtOH (3.2 mL) の順に氷浴中にて加え、10 分間攪拌した。その後、benzyloxymethyl chloride (500  $\mu\text{l}$ , 3.63  $\mu\text{mol}$ ) を加え、室温にて 1.5 時間攪拌した。反応終了を TLC ( $\text{CHCl}_3/\text{hexane} = 1/1$ ) にて確認後、飽和塩化アンモニウム水溶液 (10 mL) を加え反応停止した後に、抽出  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  にて 3 回抽出、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( $\text{CHCl}_3/\text{hexane} = 1/10$ ) で精製し、化合物 52 (621 mg, 77%) を透明粘性液体として得た。 $[\alpha]_D=0.0^\circ$  (c=1.0,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.62-7.25 (m, 10 H, Ph), 5.32 (s, 2 H,  $\text{SeCH}_2$ ), 4.67 (s, 2 H,  $\text{PhCH}_2$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  136.9, 133.0, 130.7, 129.1, 128.5, 127.9, 127.2, 71.9, 70.8;  $^{77}\text{Se NMR}$  (94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  338.5.



53

**Benzyloxymethyl 2-(trimethylsilyl)ethyl selenide (53):** Ar 雰囲気下にて、*p*-methylbenzoyl 2-(trimethylsilyl)ethyl selenide (179 mg, 597  $\mu\text{mol}$ ) を脱気した DMF (6.0 mL) に溶かし、cesium carbonate (974 mg, 299  $\mu\text{mol}$ ) 及び methylhydrazine (156.5 mL, 299  $\mu\text{mol}$ ) を室温にて加え 5 分間攪拌した。続いて、benzyloxymethyl chloride (332.1  $\mu\text{l}$ , 299  $\mu\text{mol}$ ) を加え 10 分間攪拌した。反応終了を TLC ( $\text{CHCl}_3/\text{hexane} = 1/2$ ) にて確認後、EtOAc で 2 回抽出、洗浄 (2M 塩酸、飽和炭

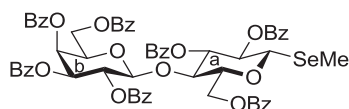
酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/hexane = 1/10)で精製し、化合物 **53** (133 mg, 74%)透明粘性液体として得た。[α]<sub>D</sub> = -2.7° (c=1.0, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.34-7.28 (m, 5H, Ph), 5.06 (s, 2 H, SeCH<sub>2</sub>O), 4.61 (s, 2 H, PhCH<sub>2</sub>), 2.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>TMS), 1.04 (s, 2H, CH<sub>2</sub>TMS), 0.27 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 195.2, 144.3, 136.9, 129.4, 127.2, 21.7, 21.4, 18.9, -1.9; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 258.1; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>OSeNa<sup>+</sup>: 325.0497 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 325.0501.



## 56

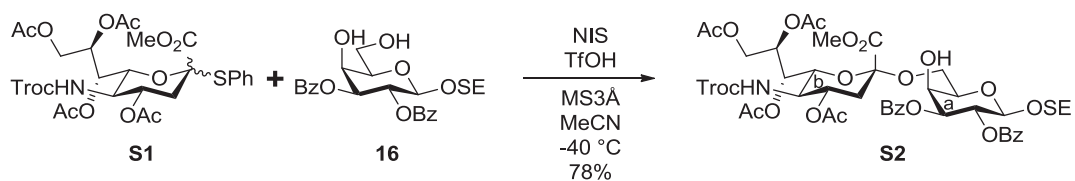
**Methyl 2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-1-seleno-β-D-galactopyranoside (56)**: Ar 雰囲気下にて、活性化した AW-300 (135 mg)に、化合物 **44** (100 mg, 135 μmol)と化合物 **51** (27 mg, 135 μmol)との CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.35 ml)溶液を室温にて加えて 30 分間攪拌した。-40 °C に冷却し、TMSOTf (8.2 μL, 41 μmol)を加え 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/4, 二回展開)にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (2.0 mL)を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub> で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/10)で精製し、化合物 **56** (75 mg, 82%)を白色泡状粉末として得た。[α]<sub>D</sub> = 76.9° (c=1.0, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.07-7.22 (m, 20 H, Ph), 6.32 (d, 1 H, *J*<sub>3,4</sub> = 3.3 Hz, H-4), 5.92 (t, 1 H, *J*<sub>1,2</sub> = *J*<sub>2,3</sub> = 10.0 Hz, H-2), 5.34 (dd, 1 H, H-3), 5.04 (d, 1 H, H-1), 4.67 (dd, *J*<sub>5,6a</sub> = 5.6 Hz, *J*<sub>gem</sub> = 10.5 Hz, H-6a), 4.42-4.36 (m, 2 H, H-5, H-6b), 2.26 (s, 1 H, SeCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.0, 165.5, 165.4, 133.6, 133.3, 133.3, 129.9, 129.8, 129.7, 129.7, 129.3, 129.1, 129.0, 128.7, 128.7, 128.4, 128.4, 128.3, 77.2, 76.0, 72.4, 68.4, 68.3, 62.1, 29.7; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 214.5; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>35</sub>H<sub>30</sub>O<sub>9</sub>SiNa<sup>+</sup>: 697.0947 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found:

697.0947.



57

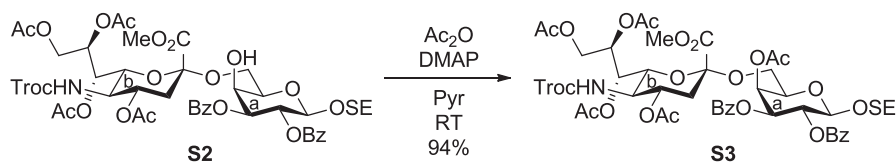
**Methyl (2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-*O*-benzoyl-1-seleno- $\beta$ -D-glucopyranoside (57):** Ar 雰囲気下にて、活性化した AW-300 (82 mg)に、化合物 54 (100 mg, 82  $\mu$ mol)と化合物 51 (18 mg, 82  $\mu$ mol)との  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (820  $\mu$ l)溶液を室温にて加えて 30 分間攪拌した。-40  $^\circ\text{C}$  に冷却し、TMSOTf (5.0  $\mu$ L, 25  $\mu$ mol)を加え 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/ $\text{CHCl}_3$  = 1/20)にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1.0 mL)を加え反応を停止した。 $\text{CHCl}_3$  で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toluene = 1/30)で精製し、化合物 57 (66 mg, 70%)を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +46.5^\circ$  ( $c=1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ : 8.02-7.13 (m, 35 H, Ar), 5.92 (t, 1 H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 8.9$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.79-5.71 (m, 4 H, H-1<sup>a</sup>, H-3<sup>a</sup>, H-2<sup>b</sup>, H-4<sup>b</sup>), 5.35 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz,  $J_{2,3} = 10.3$  Hz, H-3<sup>b</sup>), 4.86 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 7.9$  Hz, H-1<sup>b</sup>), 4.57 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 12.4$  Hz,  $J_{5,6a} = 1.6$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 4.50 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 4.2$  Hz, H-6b<sup>a</sup>), 4.24 (t, 1 H,  $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.6$  Hz, H-4<sup>a</sup>), 4.02 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 3.88 (t, 1 H,  $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.9$  Hz, H-5<sup>b</sup>), 3.75-3.68 (m, 2 H, H-6a<sup>b</sup>, H-6b<sup>b</sup>), 2.34 (s, 3 H,  $\text{PhCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  190.7, 165.8, 165.6, 165.4, 165.4, 165.3, 165.2, 164.8, 145.3, 135.5, 133.5, 133.4, 133.3, 133.3, 133.2, 133.1, 130.0, 129.9, 129.8, 129.8, 129.7, 129.6, 129.5, 129.5, 128.9, 128.9, 128.7, 128.6, 128.6, 128.5, 128.5, 128.3, 128.2, 127.6, 101.0, 79.9, 78.5, 75.7, 74.2, 71.8, 71.3, 70.7, 69.8, 67.5, 62.6, 61.1, 21.7;  $^{77}\text{Se}$  NMR (94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  626.2; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{69}\text{H}_{56}\text{O}_{18}\text{SeNa}^+$ : 1275.2524  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 1275.2524.



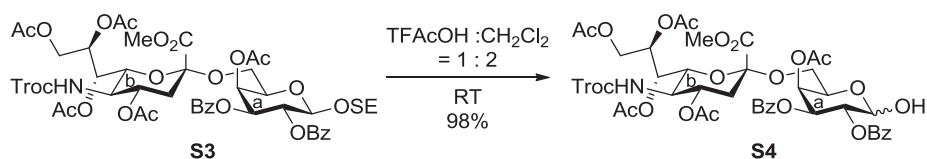
**2-(Trimethylsilyl)ethyl [methyl 4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-5-(2,2,2-trichloroethoxycarbonyl)-*D*-glycero- $\alpha$ -*D*-galacto-2-nonulopyranosylonate]-(2 $\rightarrow$ 6)-2,3-di-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-galactopyranoside (S2):**

Ar 雰囲気下にて、NIS (749 mg, 3.33 mmol)と活性化した MS3Å (2.66 g)に、化合物 S1 (1.91 g, 2.66mmol)と化合物 16 (1.09 g, 2.22 mmol)との MeCN (660  $\mu$ l)溶液を室温にて加えて 30 分間攪拌した。 $-40$   $^{\circ}$ C に冷却し、TfOH (29.0  $\mu$ L, 330  $\mu$ mol)を加え 30 分間攪拌した。反応終了を TLC (acetone/ $\text{CHCl}_3 = 1/8$ )にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (10 mL)を加え反応を停止した。EtOAc で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (acetone/ $\text{CHCl}_3 = 1/15$ )で精製し、化合物 S2 (1.87 g, 78%)を透明粘性液体として得た。

$[\alpha]_D^{23.9} = 23.9^{\circ}$  ( $c=1.1$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.01-7.35 (m, 10 H, Ph), 5.74 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $J_{2,3} = 10.3$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.39-5.37 (m, 2 H, H-7<sup>b</sup>, H-8<sup>b</sup>), 5.28 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 3.1$  Hz, H-3<sup>b</sup>), 4.99-4.96 (m, 2 H, H-4<sup>b</sup>, NH), 4.89 (d, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 12.5$  Hz,  $\text{Cl}_3\text{CCH}_2$ ), 4.72 (d, 1 H, H-1<sup>a</sup>), 4.49 (d, 1 H,  $\text{Cl}_3\text{CCH}_2$ ), 4.39-4.37 (m, 2 H, H-4<sup>a</sup>, H-9a<sup>b</sup>), 4.21 (near d, 1 H, H-6<sup>b</sup>), 4.10 (dd, 1 H,  $J_{8,9b} = 4.9$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.2$  Hz, H-9b<sup>b</sup>), 4.03 (m, 1 H,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 3.90-3.83 (m, 6 H, H-5<sup>a</sup>, H-6a<sup>a</sup>, H-6b<sup>a</sup>, COOMe), 3.66-3.58 (m, 2 H, H-5<sup>b</sup>,  $\text{TMSCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.86 (d, 1 H,  $J_{4,\text{OH}} = 5.3$  Hz, OH), 2.65 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 12.7$  Hz,  $J_{3\text{ax},4} = 4.7$  Hz, H-3ax<sup>b</sup>), 2.18-1.92 (m, 13 H, H-3eq<sup>b</sup>, Ac), 0.95-0.81 (m, 2 H,  $\text{TMSCH}_2$ ), -0.8 (s, 9 H, TMS);  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.8, 170.4, 170.2, 170.0, 167.8, 165.9, 165.3, 154.1, 133.2, 132.9, 129.9, 129.8, 129.7, 129.3, 128.3, 128.2, 100.9, 98.9, 95.3, 77.2, 74.5, 74.5, 72.5, 72.4, 69.8, 68.7, 68.3, 67.5, 67.3, 66.7, 62.6, 62.4, 53.1, 51.5, 37.3, 29.6, 21.0, 20.8, 20.7, 20.6, 17.9, -1.5; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{46}\text{H}_{58}\text{NO}_{21}\text{SiNa}^+$ : 1116.2228 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>; found: 1116.2226.



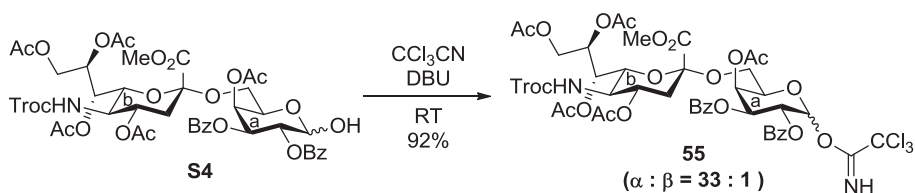
**2-(Trimethylsilyl)ethyl [methyl 4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-5-(2,2,2-trichloroethoxycarbonyl)-*D*-glycero- $\alpha$ -*D*-galacto-2-nonulopyranosylonate]-(2 $\rightarrow$ 6)-4-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzoyl- $\beta$ -*D*-galactopyranoside (S3):** Ar 雰囲気下にて、化合物 S2 (5.62 g, 5.17 mmol) を pyridine (52 mL) に溶かし、acetic anhydride (1.47 mL, 15.52 mmol) と DMAP (31.8 mg, 260  $\mu$ mol) を氷浴中にて加え、室温にて 23 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/Toluene = 1/4) で確認後、MeOH を加えた後、Toluene 共沸を行ない、残渣を EtOAc で希釈し、洗浄 (2M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/3) で精製し、化合物 S3 (5.55 g, 94%) を透明粘性液体として得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = 16.4° (c = 1.1, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.99-7.33 (m, 10 H, Ph), 5.64 (dd, 1 H,  $J_{2,3}$  = 10.4 Hz,  $J_{1,2}$  = 8.0 Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.47-5.41 (m, 2 H, H-3<sup>a</sup>, H-8<sup>b</sup>), 5.37 (dd, 1 H,  $J_{6,7}$  = 1.5 Hz,  $J_{7,8}$  = 9.3 Hz, H-7<sup>b</sup>), 4.98 (m, 1 H, H-4<sup>b</sup>), 4.90 (d, 1 H,  $J_{gem}$  = 12.1 Hz, Cl<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>), 4.86 (d, 1 H,  $J_{5,NH}$  = 4.7 Hz, NH), 4.80 (d, 1 H, H-1<sup>a</sup>), 4.50 (d, 1 H, Cl<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>), 4.38 (dd, 1 H,  $J_{8,9a}$  = 2.5 Hz,  $J_{gem}$  = 12.4 Hz, H-9a<sup>b</sup>), 4.22 (dd, 1 H,  $J_{5,6}$  = 10.8 Hz, H-6<sup>b</sup>), 4.17-4.11 (m, 2 H, H-5<sup>a</sup>, H-9b<sup>b</sup>), 4.06 (m, 1 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.85-3.80 (m, 4 H, H-6a<sup>a</sup>, COOMe), 3.66-3.59 (m, 2 H, H-5<sup>b</sup>, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.52 (dd, 1 H,  $J_{5,6b}$  = 8.2 Hz,  $J_{gem}$  = 10.4 Hz, H-6b<sup>a</sup>), 2.59 (dd, 1 H,  $J_{3ax,4}$  = 4.6 Hz,  $J_{gem}$  = 12.7 Hz, H-3ax<sup>b</sup>), 2.22-2.00 (m, 16 H, H-3eq<sup>b</sup>, Ac), 0.99-0.83 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), -0.8 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.7, 170.6, 170.4, 169.8, 169.7, 167.8, 165.5, 165.3, 154.0, 133.1, 133.0, 129.8, 129.6, 129.2, 128.3, 128.2, 100.7, 99.2, 95.4, 77.6, 74.5, 72.1, 71.6, 69.9, 68.0, 67.9, 67.7, 67.4, 67.3, 63.1, 62.6, 53.0, 51.6, 38.0, 21.0, 20.8, 20.6, 18.0, -1.5; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>48</sub>H<sub>60</sub>NO<sub>22</sub>SiNa<sup>+</sup>: 1158.2334 [ $M$ +Na]<sup>+</sup>; found: 1158.2336.



[Methyl 4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-5-(2,2,2-trichloroethoxycarbonyl)-*D*-glycero- $\alpha$ -*D*-galacto-2-nonulopyranosylonate]-(2 $\rightarrow$ 6)-4-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzoyl-6-deoxy-6-seleno-*D*-galactopyranose (S4):

Ar 雰囲気下にて、化合物 S3 (301 mg, 264  $\mu$ mol) を、室温にて CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.8 mL) に溶かし、氷浴中にて trifluoroacetic acid (0.9 mL) を加え、その後、室温に昇温し、2.5 時間撹拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub> で 2 回抽出し、洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/1) で精製し、化合物 S4 (267 mg, 98%) を透明粘性液体として得た。

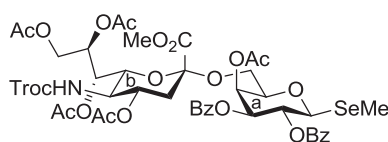
$\alpha$ -isomer; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.01-7.35 (m, 10 H, Ph), 5.92 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 10.7$  Hz,  $J_{3,4} = 3.4$  Hz, H-3<sup>a</sup>), 5.79 (d, 1 H, H-4<sup>a</sup>), 5.68 (t,  $J_{1,2} = J_{1,OH} = 3.4$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 5.57 (dd, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 5.45 (m, 1 H, H-8<sup>b</sup>), 5.33 (dd, 1 H,  $J_{6,7} = 1.4$  Hz,  $J_{7,8} = 8.4$  Hz, H-7<sup>b</sup>), 5.00 (m, 1 H, H-4<sup>b</sup>), 4.89-4.87 (m, 2 H, NH, Cl<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>), 4.67 (m, 1 H, H-5<sup>a</sup>), 4.52 (d, 1 H,  $J_{gem} = 12.0$  Hz, Cl<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>), 4.43-4.38 (m, 2 H, H-9a<sup>b</sup>, OH), 4.22 (m, 1 H, H-6<sup>b</sup>), 4.07 (dd, 1 H,  $J_{8,9b} = 7.3$  Hz,  $J_{gem} = 12.3$  Hz, H-9b<sup>b</sup>), 3.81 (s, 1 H, COOMe), 3.74-3.65 (m, 2 H, H-6a<sup>a</sup>, H-5<sup>b</sup>), 3.52 (m, 1 H, H-6b<sup>a</sup>), 2.60 (dd, 1 H,  $J_{3ax,4} = 4.6$  Hz,  $J_{gem} = 13.0$  Hz, H-3ax<sup>b</sup>), 2.33-1.90 (m, 16 H, H-3eq<sup>b</sup>, Ac); HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>43</sub>H<sub>48</sub>NO<sub>22</sub>SeNa<sup>+</sup>: 1058.1631 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>; found: 1058.1626.



[Methyl 4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-5-(2,2,2-trichloroethoxycarbonyl)-*D*-glycero- $\alpha$ -*D*-galacto-2-nonulopyranosylonate]-(2 $\rightarrow$ 6)-4-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzoyl-*D*-galactopyranosyl trichlo



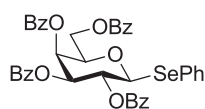
**roacetimidate (55)**: Ar 雰囲気下にて、化合物 **S4** (267 mg, 257  $\mu\text{mol}$ )を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.6 mL)に溶かし、 $0^\circ\text{C}$  に冷却し、trichloroacetonitrile (258.0  $\mu\text{L}$ , 2.57 mmol)及び DBU (19.2  $\mu\text{L}$ , 129  $\mu\text{mol}$ )を加え、 $0^\circ\text{C}$  にて 45 分攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/1)で確認後、溶液をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/ $\text{CHCl}_3$  = 1/10)で精製し、化合物 **55** (292 mg, 96%,  $\alpha/\beta$  = 33/1)を透明粘性液体として得た。 $\alpha$ -isomer;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.59 (s, 1 H,  $\text{Cl}_3\text{CC}=\text{NH}$ ), 8.96-7.34 (m, 10 H, Ph), 6.79 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 3.5$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 5.88 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 3.1$  Hz,  $J_{2,3} = 10.7$  Hz, H-3<sup>a</sup>), 5.83 (d, 1 H, H-2<sup>a</sup>), 5.79 (d, 1 H, H-4<sup>a</sup>), 5.38 (broad s, 2 H, H-7<sup>b</sup>, H-8<sup>b</sup>), 4.90 (d, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 12.1$  Hz,  $\text{Cl}_3\text{CCH}_2$ ), 4.86 (d, 1 H,  $J_{5,\text{NH}} = 10.0$  Hz, NH), 4.65 (d, 1 H,  $\text{Cl}_3\text{CCH}_2$ ), 4.51 (t,  $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.6$  Hz, H-5<sup>a</sup>), 4.25 (dd, 1 H,  $J_{8,9a} = 1.8$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 11.5$  Hz, H-9a<sup>b</sup>), 4.17-4.10 (m, 2 H, H-6<sup>b</sup>, H-9b<sup>b</sup>), 3.98 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 10.1$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 3.79 (s, 1 H, COOMe), 3.60 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 10.3$  Hz, H-5<sup>b</sup>), 3.41 (dd, 1 H, H-6b<sup>a</sup>), 2.60 (dd, 1 H,  $J_{3ax,4} = 4.5$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.5$  Hz, H-3ax<sup>b</sup>), 2.18-2.04 (m, 15 H, Ac), 1.89 (t, 1 H,  $J_{3eq,4} = 12.5$  Hz, H-3eq<sup>b</sup>); HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{45}\text{H}_{48}\text{Cl}_6\text{N}_2\text{O}_{22}\text{Na}^+$ : 1201.0722 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>; found: 1201.0722.



**58**

**Me [methyl 4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-5-(2,2,2-trichloroethoxycarbamoyl)-*D*-glycero- $\alpha$ -*D*-galacto-2-nonulopyranosylonate]-(2 $\rightarrow$ 6)-4-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzoyl-1-seleno- $\beta$ -*D*-galactopyranoside (58)**: Ar 雰囲気下にて、活性化した AW-300 (66 mg)に、化合物 **55** (78 mg, 66  $\mu\text{mol}$ )と化合物 **51** (14 mg, 66  $\mu\text{mol}$ )との  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (660  $\mu\text{l}$ )溶液を室温にて加えて 30 分間攪拌した。 $-40^\circ\text{C}$  に冷却し、TMSOTf (1.3  $\mu\text{L}$ , 7  $\mu\text{mol}$ )を加え、反応追跡を TLC (acetone/ $\text{CHCl}_3$  = 1/10)にて行い 7 時間攪拌した。TMSOTf (2.6  $\mu\text{L}$ , 14  $\mu\text{mol}$ )を加え 9 時間まで攪拌した。反応終了を TLC にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1.0 mL)を加え反応を停止した。 $\text{CHCl}_3$  で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (飽和炭酸水素ナ

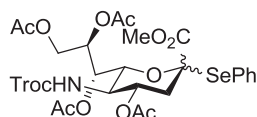
トリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (acetone/CHCl<sub>3</sub> = 1/20)で精製し、化合物 **58** (61 mg, 83%)を白色泡状粉末として得た。[α]<sub>D</sub>=24.7° (c=1.0, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.99-7.33 (m, 10 H, Ph), 5.79 (d, 1 H, *J*<sub>3,4</sub> = 3.0 Hz, H-4<sup>a</sup>), 5.74 (t, 1 H, *J*<sub>2,3</sub> = 10.0 Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.53 (dd, 1 H, H-3<sup>a</sup>), 5.43 (m, 1 H, H-8<sup>b</sup>), 5.36 (dd, 1 H, *J*<sub>6,7</sub> = 1.6 Hz, *J*<sub>7,8</sub> = 9.3 Hz, H-7<sup>b</sup>), 5.02-4.95 (m, 2 H, H-1<sup>a</sup>, H-4<sup>b</sup>), 4.92-4.89 (m, 2 H, NH, Cl<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>), 4.50 (d, 1 H, *J*<sub>gem</sub> = 12.0 Hz, Cl<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>), 4.39 (dd, 1 H, *J*<sub>8,9a</sub> = 2.4 Hz, *J*<sub>gem</sub> = 12.4 Hz, H-9a<sup>b</sup>), 4.22 (dd, 1 H, *J*<sub>5,6</sub> = 10.8 Hz, H-6<sup>b</sup>), 4.17-4.10 (m, 2 H, H-5<sup>a</sup>, H-9b<sup>b</sup>), 3.85-3.80 (m, 4 H, H-6a<sup>a</sup>, COOMe), 3.62 (m, 1 H, H-5<sup>b</sup>), 3.49 (dd, 1 H, *J*<sub>5,6b</sub> = 8.0 Hz, *J*<sub>gem</sub> = 10.7 Hz, H-6b<sup>a</sup>), 2.59 (dd, 1 H, *J*<sub>3ax,4</sub> = 4.7 Hz, *J*<sub>gem</sub> = 12.9 Hz, 3ax<sup>b</sup>), 2.22-2.00 (m, 18 H, Ac, SeCH<sub>3</sub>), 1.88 (t, 1 H, *J*<sub>3eq,4</sub> = 12.9 Hz, H-3eq<sup>b</sup>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.7, 170.5, 170.3, 169.8, 169.7, 167.8, 165.5, 165.3, 154.0, 133.2, 133.2, 129.8, 129.6, 129.3, 129.2, 128.3, 99.1, 95.4, 77.2, 76.4, 74.5, 72.5, 72.1, 68.6, 68.0, 67.9, 67.7, 67.3, 63.1, 62.6, 60.4, 53.0, 51.5, 38.0, 31.5, 22.6, 21.0, 20.8, 20.6, 14.2, 14.1, 2.6; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 209.4; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>44</sub>H<sub>50</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>21</sub>SeNa<sup>+</sup>: 1136.0998 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 1136.0998.



**60**

**Phenyl 2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-1-seleno-β-D-galactopyranoside (60):** Ar 雰囲気下にて、活性化した AW-300 (135 mg)に、化合物 **44** (100 mg, 135 μmol)と化合物 **52** (75 mg, 269 μmol)との CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1.4 mL)溶液を室温にて加えて 30 分間攪拌した。-40 °C に冷却し、TMSOTf (16.4 μL, 81 μmol)を加え 20 分間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/4)にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1.0 mL)を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub> で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラ

フイー (EtOAc/hexane = 1/8)で精製し、化合物 **60** (98 mg, 99%)を透明粘性液体として得た。  
物性値については、Boom<sup>34</sup>らが報告している。

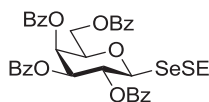


**62**

**Phenyl [methyl 4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-2-seleno-5-(2,2,2-trichloroethoxycarbonyl)**

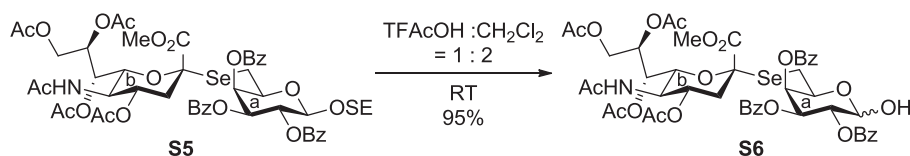
**-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid]onate (62):** Ar 雰囲気下にて、活性化した AW-300 (130 mg)に、化合物 **59** (100 mg, 126  $\mu$ mol)と化合物 **52** (75 mg, 269  $\mu$ mol)との propionitrile (1.3 mL) 溶液を室温にて加えて 30 分間攪拌した。-80 °C に冷却し、TMSOTf (14.8  $\mu$ L, 76  $\mu$ mol)を加え 6 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/2, 二回展開)にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1.0 mL)を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub> で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/8)で精製し、化合物 **62** (86 mg, 90%,  $\alpha/\beta = 2/1$ )を透明粘性液体として得た。  $\alpha$  isomer; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.63-7.32 (m, 5 H, Ph), 5.33 (dd, 1 H,  $J_{6,7} = 1.5$  Hz,  $J_{7,8} = 7.5$  Hz, H-7), 5.26 (m, 1 H, H-8), 4.80-4.88 (m, 3 H, H-4, NH, Cl<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>), 4.45 (d, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 12.0$  Hz, Cl<sub>3</sub>CCH<sub>2</sub>), 4.37 (dd, 1 H,  $J_{8,9a} = 2.5$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.5$  Hz, H-9a), 4.20 (dd, 1 H,  $J_{8,9b} = 5.0$  Hz, H-9b), 3.99 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 10.5$  Hz, H-6), 3.57-3.50 (m, 4 H, H-5, COOMe), 2.92 (dd, 1 H,  $J_{3ax,4} = 4.5$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 13.0$  Hz, H-3ax), 2.13-2.00 (m, 13 H, H-3eq, Ac); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  170.7, 170.3, 170.0, 169.9, 168.8, 154.0, 137.7, 129.7, 128.9, 125.8, 95.3, 81.5, 77.2, 74.5, 74.4, 69.5, 69.1, 67.6, 61.8, 60.4, 52.6, 51.5, 39.1, 29.2, 21.0, 20.9, 20.8, 20.8, 20.7, 14.2; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  623.7; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>13</sub>NSeNa<sup>+</sup>: 785.9997 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>; found: 785.9996.

<sup>34</sup> H. M. Zuurmond, P. H. van der Meer, P. A. M. van der Klein, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, **8**, 1091-103.



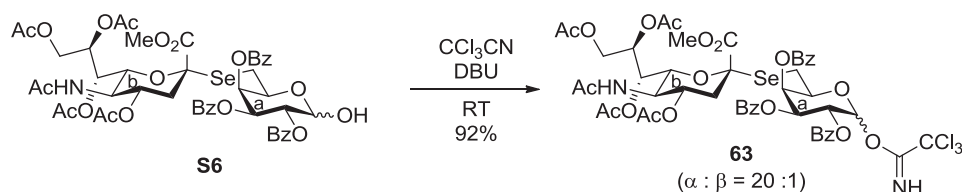
65

**2-(Trimethylsilyl)ethyl 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl-1-seleno-β-D-galactopyranoside (65):** Ar 雰囲気下にて、活性化した AW-300 (72 mg)に、化合物 44 (52 mg, 70 μmol)と化合物 53 (42 mg, 139 μmol)との CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (700 μl)溶液を室温にて加えて 30 分間攪拌した。-40 °C に冷却し、TMSOTf (8.2 μL, 42 μmol)を加え 12 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/4)にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1.0 mL)を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub> で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/hexane = 1/8)で精製し、化合物 65 (48 mg, 90%)を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_D^{20} = 60.1^\circ$  (c=0.7, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.17-7.23 (m, 20 H, Ph), 6.05 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 2.8$  Hz, H-4), 5.91 (t, 1 H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 10.0$  Hz, H-2), 5.62 (dd, 1 H, H-3), 5.11 (d, 1 H, H-1), 4.66 (dd,  $J_{5,6a} = 6.3$  Hz,  $J_{gem} = 11.1$  Hz, H-6a), 4.42-4.34 (m, 2 H, H-5, H-6b), 2.94 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 0.98 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.00 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.0, 165.5, 165.4, 165.3, 133.6, 133.3, 133.2, 129.9, 129.8, 129.7, 129.4, 129.2, 129.1, 128.8, 128.6, 128.4, 128.4, 128.3, 78.2, 76.1, 72.5, 68.9, 68.5, 62.3, 18.8, 17.9, -1.9; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 338.1; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>39</sub>H<sub>40</sub>O<sub>9</sub>SeNa<sup>+</sup>: 783.1499 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>; found: 783.1499.



**(methyl 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-α-D-galacto-2-nonulopyranosylonate)-(2→6)-2,3,4-tri-*O*-benzoyl-6-deoxy-6-seleno-D-galactopyranose (S6):** Ar 雰囲気下にて、

化合物 **S5**<sup>35</sup> (305 mg, 270  $\mu\text{mol}$ ) を、室温にて  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3.6 mL) に溶かし、0  $^\circ\text{C}$  にて trifluoroacetic acid (1.8 mL) を加え、その後、室温に昇温し、4 時間攪拌した。反応終了を TLC (acetone/hexane = 3/2) で確認後、トルエン共沸を行った。溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (acetone/hexane = 3/4) で精製し、化合物 **S6** (263 mg, 95%) を透明粘性液体として得た。 $\alpha$  isomer,  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.09-7.22 (m, 15 H, Ph), 6.09-6.06 (m, 2 H, H-3<sup>a</sup>, H-4<sup>a</sup>), 5.78 (t, 1 H,  $J_{1,2} = J_{1,\text{OH}} = 3.0$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 5.67 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 10.2$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.38 (m, 1 H, H-8<sup>b</sup>), 5.30 (d, 1 H,  $J_{5,\text{NH}} = 9.5$  Hz, NH), 5.25 (dd, 1 H,  $J_{6,7} = 1.5$  Hz,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz, H-7<sup>b</sup>), 5.07 (d, 1 H, OH), 4.90 (m, 1 H, H-4<sup>b</sup>), 4.73 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 1.6$  Hz,  $J_{5,6b} = 9.8$  Hz, H-5<sup>a</sup>), 4.41 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 12.5$  Hz, H-6<sup>b</sup>), 4.10-3.99 (m, 2 H, H-5<sup>b</sup>, H-9a<sup>b</sup>), 3.86 (dd, 1 H,  $J_{8,9b} = 1.4$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 10.8$  Hz, H-9<sup>b</sup>), 3.75 (s, 3 H, COOMe), 3.04 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 13.4$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 2.85-2.79 (m, 2 H, H-6b<sup>a</sup>, H-3ax<sup>b</sup>), 2.30-1.90 (m, 16 H, H-3eq<sup>b</sup>, Ac);  $^{77}\text{Se}$  NMR (94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  446.4; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{NO}_{20}\text{SeNa}^+$ : 1052.2062 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>; found: 1052.2067.

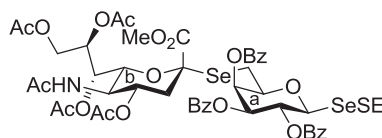


(methyl 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonate)-(2 $\rightarrow$ 6)-2,3,4-tri-*O*-benzoyl-6-deoxy-6-seleno-D-galactopyranosyl trichloroacetimidate

(**63**): Ar 雰囲気下にて、化合物 **S6** (249 mg, 240  $\mu\text{mol}$ ) を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4.8 mL) に溶かし、0  $^\circ\text{C}$  に冷却し、trichloroacetonitrile (243.0  $\mu\text{L}$ , 2.42 mmol) 及び DBU (18.0  $\mu\text{L}$ , 120  $\mu\text{mol}$ ) を加え、反応追跡を TLC (acetone/hexane = 3/2) にて行った。0  $^\circ\text{C}$  にて 2 時間攪拌した後に、trichloroacetonitrile (121.5  $\mu\text{L}$ , 1.21 mmol) を加え、反応開始から 3 時間まで攪拌した。反応終了を確認後、溶液をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (acetone/hexane = 1/1) で精製し、化合物 **63** (260 mg, 92%,  $\alpha/\beta = 20/1$ ) を褐色粘性液体として得た。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.62 (s,

<sup>35</sup> 林知衣香, 岐阜大学大学院応用生物化学研究科修士論文, 2013.

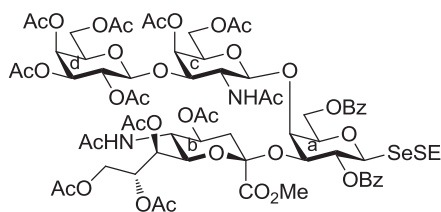
1 H, Cl<sub>3</sub>CC=NH), 8.10-7.24 (m, 15 H, Ph), 6.84 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 3.5$  Hz, H-1<sup>a</sup>), 6.03-6.00 (m, 2 H, H-3<sup>a</sup>, H-4<sup>a</sup>), 5.87 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 10.5$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.25 (dd, 1 H,  $J_{6,7} = 2.0$  Hz,  $J_{7,8} = 8.6$  Hz, H-7<sup>b</sup>), 5.21-5.15 (m, 2 H, H-8<sup>b</sup>, NH), 4.82 (m, 1 H, H-4<sup>b</sup>), 4.60 (dd,  $J_{5,6b} = 4.4$  Hz,  $J_{5,6a} = 8.9$  Hz, H-5<sup>a</sup>), 4.05-3.92 (m, 3 H, H-5<sup>b</sup>, 9a<sup>b</sup>, 9b<sup>b</sup>), 3.77-3.73 (m, 4 H, H-6<sup>b</sup>, COOMe), 3.26 (dd, 1 H,  $J_{gem} = 12.9$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 3.05 (dd, 1 H, H-6b<sup>a</sup>), 2.76 (dd, 1 H,  $J_{3ax,4} = 4.6$  Hz,  $J_{gem} = 12.7$  Hz, H-3ax<sup>b</sup>), 2.09-1.85 (m, 16 H, H-3eq<sup>b</sup>, Ac); <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 467.2; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>49</sub>H<sub>51</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>20</sub>SeNa<sup>+</sup>: 1195.1158 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 1195.1157.



66

**2-(Trimethylsilyl)ethyl (methyl 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonate)-(2→6)-2,3,4-tri-*O*-benzoyl-6-deoxy-1,6-seleno- $\beta$ -D-galactopyranoside (66):** Ar 雰囲気下にて、活性化した AW-300 (43 mg)に、化合物 63 (50 mg, 43  $\mu$ mol)と化合物 53 (26 mg, 86  $\mu$ mol)との CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (260  $\mu$ l)溶液を室温にて加えて 30 分間攪拌した。0 °C に冷却し、TMSOTf (2.9  $\mu$ L, 15  $\mu$ mol)を加え 24 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/4, 二回展開)にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1.0 mL)を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub>で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (acetone/hexane = 1/2)で精製し、化合物 66 (43 mg, 84%)を白色泡状粉末として得た。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = 93.6° (c=0.9, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.07-7.22 (m, 15 H, Ph), 6.07 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 3.0$  Hz, H-4<sup>a</sup>), 5.84 (t, 1 H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 10.0$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.70 (dd, 1 H, H-3<sup>a</sup>), 5.40-5.33 (m, 3 H, H-1<sup>a</sup>, H-7<sup>b</sup>, H-8<sup>b</sup>), 5.20 (d, 1 H,  $J_{5,NH} = 9.5$  Hz, NH), 4.85 (m, 1 H, H-4<sup>b</sup>), 4.38 (dd, 1 H,  $J_{8,9a} = 2.5$  Hz,  $J_{gem} = 12.5$  Hz, H-9a<sup>a</sup>), 4.26 (dd,  $J_{5,6b} = 5.2$  Hz,  $J_{5,6a} = 8.6$  Hz, H-5<sup>a</sup>), 4.04-4.01 (m, 2 H, H-5<sup>b</sup>, H-6<sup>b</sup>), 3.80 (s, 3 H, COOMe), 3.09 (dd, 1 H,  $J_{gem} = 13.6$  Hz,

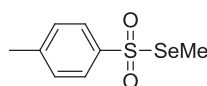
H-6a<sup>a</sup>), 3.00-2.90 (m, 3 H, H-6b<sup>a</sup>, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.80 (dd, 1 H,  $J_{3ax,4} = 4.5$  Hz,  $J_{gem} = 13.0$  Hz, H-3ax<sup>b</sup>), 2.22-1.90 (m, 16 H, H-3eq<sup>b</sup>, Ac), 1.12-1.01 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), 0.04 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.9, 170.6, 170.5, 170.1, 169.6, 169.6, 165.5, 165.4, 133.4, 133.1, 133.0, 129.9, 129.8, 129.7, 129.5, 129.4, 129.0, 128.5, 128.3, 128.2, 78.4, 77.8, 76.9, 74.4, 72.9, 70.4, 69.5, 69.4, 69.2, 68.0, 67.0, 62.5, 53.8, 53.0, 49.5, 39.5, 31.7, 29.2, 25.2, 23.2, 21.1, 20.8, 20.7, 19.0, 18.2, -1.9; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 468.9, 343.2 ; HRMS:  $m/z$  calcd for C<sub>52</sub>H<sub>63</sub>NO<sub>19</sub>Se<sub>2</sub>SiNa<sup>+</sup>: 1216.1986 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>; found: .1216.1986



67

**2-(Trimethylsilyl)ethyl (2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-(2-acetamido-4,6-di-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-[(methyl 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-α-D-galacto-2-nonulopyranosylate)-(2→3)]-2,6-O-benzoyl-1-seleno-β-D-galactopyranoside (67):** Ar 雰囲気にて、活性化した AW-300 (46 mg)に、化合物 64 (37 mg, 23 μmol)と化合物 53 (14 mg, 46 μmol)との CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (766 μl)溶液を室温にて加えて 30 分間攪拌した。0 °C に冷却し、TMSOTf (2.7 μL, 14 μmol)を加え 2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (MeOH/CHCl<sub>3</sub> = 1/15)にて確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (1.0 mL)を加え反応を停止した。CHCl<sub>3</sub> で希釈した後に、溶液をセライト濾過し、得られた濾液と洗液を合わせて、洗浄 (飽和炭酸水素ナトリウム水溶液)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後残渣をクロマトグラフィー (acetone/hexane = 1/1)で精製し、化合物 67 (32 mg, 85%)を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_D^{25} = 5.2^\circ$  (c=1.1, CHCl<sub>3</sub>) <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.12-7.42 (m, 10 H, Ph), 6.02 (d, 1 H,  $J_{2,NH} = 7.0$  Hz, NH<sup>c</sup>), 5.57 (m, 1 H, H-8<sup>b</sup>), 5.49 (t, 1 H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 10.0$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.36-5.34 (m, 2 H, H-4<sup>c</sup>, H-4<sup>d</sup>), 5.22 (dd, 1 H,  $J_{6,7} = 2.5$  Hz,  $J_{7,8} = 10.0$  Hz, H-7<sup>b</sup>), 5.15 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 8.5$  Hz, H-1<sup>c</sup>),

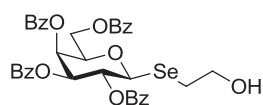
5.12 (dd, 1 H,  $J_{1,2} = 8.0$  Hz,  $J_{2,3} = 10.0$  Hz, H-2<sup>d</sup>), 5.07-5.04 (m, 2 H, H-1<sup>a</sup>, NH<sup>b</sup>), 4.98-4.94 (m, 2 H, H-3<sup>b</sup>, H-3<sup>d</sup>), 4.87 (m, 1 H, H-4<sup>b</sup>), 4.66-4.60 (m, 2 H, H-6a<sup>a</sup>, H-1<sup>d</sup>), 4.46 (dd,  $J_{3,4} = 2.5$  Hz, H-3<sup>a</sup>), 4.35 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 6.5$  Hz,  $J_{gem} = 12.5$  Hz, H-6b<sup>a</sup>), 4.26 (dd, 1 H,  $J_{8,9a} = 2.0$  Hz,  $J_{gem} = 12.5$  Hz, H-9a<sup>b</sup>), 4.16-4.09 (m, 2 H, H-6a<sup>c</sup>, H-6b<sup>c</sup>), 4.02-3.98 (m, 2 H, H-9b<sup>b</sup>, H-5<sup>d</sup>), 3.92-3.75 (m, 10 H, H-4<sup>a</sup>, H-5<sup>a</sup>, H-5<sup>b</sup>, H-6<sup>b</sup>, H-5<sup>c</sup>, H-6a<sup>d</sup>, H-6b<sup>d</sup>, COOMe), 3.38 (m, 1 H, H-2<sup>c</sup>), 2.83-2.73 (m, 3 H, H-3ax<sup>b</sup>, TMSCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.23-1.80 (m, 37 H, H-3eq<sup>b</sup>, Ac), 0.95-0.90 (m, 2 H, TMSCH<sub>2</sub>), -0.06 (s, 9 H, TMS); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 172.1, 170.9, 170.6, 170.4, 170.4, 170.3, 170.2, 170.0, 170.0, 169.2, 168.3, 165.9, 165.3, 133.2, 133.1, 130.2, 129.9, 129.8, 129.5, 128.4, 128.4, 101.1, 98.9, 97.7, 78.3, 74.1, 73.8, 73.8, 71.8, 70.8, 70.7, 70.4, 70.1, 69.0, 68.8, 67.3, 66.7, 66.4, 64.1, 62.6, 62.2, 60.8, 55.1, 53.7, 52.7, 49.1, 36.8, 31.7, 29.6, 29.2, 23.9, 23.1, 21.3, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5, 20.4, 20.2, 19.6, 18.1, -1.9; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 343.6; HRMS: *m/z* calcd for C<sub>71</sub>H<sub>94</sub>N<sub>2</sub>O<sub>35</sub>SeNa<sup>+</sup>: 1665.4464 [*M*+Na]<sup>+</sup>; found: 1665.4460.



68

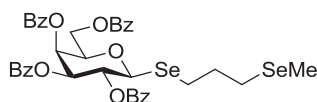
**Se-Methyl 4-methylbenzeneselenosulfonate (68):** Ar 雰囲気にて、dimethyldiselnide (1.0 mL, 5.32 mmol)及び Sodium toluene-4-sulphinat (3.79 g, 21.3 mmol)を CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL)に溶解し、0 °C に冷却後、[bis(trifluoroacetoxy)iodo]benzene (2.52 g, 5.55 mmol)の CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL)溶液をキヤヌレーションにて加え、室温に昇温し 33 時間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/5)にて確認後、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で 2 回抽出、洗浄 (水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/hexane = 1/1)にて精製し、化合物 68 (2.31 g, 87%)を得た。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.76-7.33 (m, 4 H, Ar), 2.61 (s, 3 H, SeCH<sub>3</sub>), 2.45 (s, 3 H, ArCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 144.6, 143.4, 129.7, 126.4, 21.5, 12.6; <sup>77</sup>Se NMR (94 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 785.7.





74

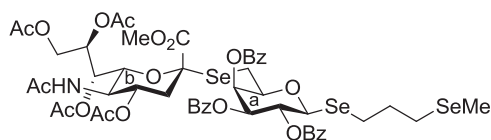
**2-Hydroxyethyl Se 2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-1-seleno-β-D-galactopyranoside (74):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **65** (103 mg, 135 μmol)を脱気した DMF (2.7 mL)に溶かし、cesium carbonate (88 mg, 270 μmol)及び 1M tetra-*n*-butylammonium fluoride in THF (410 μL, 410 μmol)を氷浴中にて加え 1 分間攪拌した。続いて 2-bromoethanol (29.3 μL, 410 μmol)を加え室温にて 1 時間攪拌した。反応追跡を TLC (EtOAc/toluene = 1/20)にて確認後、1M tetra-*n*-butylammonium fluoride in THF (205 μL, 205 μmol)を氷浴中にて加え 1.5 時間まで攪拌した。反応終了を確認後 EtOAc で 2 回抽出、洗浄 (水、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toluene = 1/8)で精製し、化合物 **74** (91 mg, 96%)を透明粘性液体として得た。 $[\alpha]_D^{25} = +94.2^\circ$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.11-7.23 (m, 20 H, Ph), 6.06 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 3.5$  Hz, H-4), 5.93 (t, 1 H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 10.0$  Hz, H-2), 5.64 (dd, 1 H, H-3), 5.14 (d, 1 H, H-1), 4.64 (dd,  $J_{5,6a} = 6.5$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 11.5$  Hz, H-6a), 4.42 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 6.5$  Hz, H-6b), 4.39 (t, 1 H, H-5), 3.95 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.18 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2.97 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 2.69 (t, 1 H, OH);  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.0, 165.5, 165.4, 137.8, 133.7, 133.4, 133.3, 130.0, 129.8, 129.7, 129.3, 128.2, 125.3, 78.0, 77.2, 76.5, 72.3, 68.7, 68.4, 62.3, 62.2, 28.4, 21.4;  $^{77}\text{Se NMR}$  (94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  268.6; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{O}_{10}\text{Se}_2\text{Na}^+$ : 727.1053 [ $M+\text{Na}$ ] $^+$ ; found: 727.1053.



78

**3-Methylselenoproryl 2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-1-seleno-β-D-galactopyranoside (78):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **65** (53 mg, 69 μmol)を脱気した DMF (1.3 mL)に溶かし、cesium carbonate (45

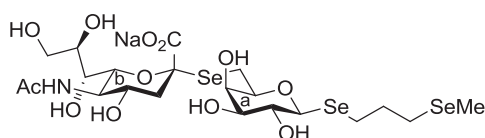
mg, 138  $\mu\text{mol}$ )及び 1M tetra-*n*-butylammonium fluoride in THF (207  $\mu\text{L}$ , 207  $\mu\text{mol}$ )を氷浴中にて加え 1 分間攪拌した。脱気した DMF (1.0 mL)に溶かした化合物 77 (64 mg, 207  $\mu\text{mol}$ )を加え、室温にて 40 分間攪拌した。反応終了を TLC (EtOAc/hexane = 1/2)にて確認後、EtOAc で 2 回抽出、洗浄 (水、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (EtOAc/toluene = 1/4)で精製し、化合物 78 (46 mg, 83%)を透明粘性液体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +67.6^\circ$  (c=1.0,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.09-7.23 (m, 20 H, Ph), 6.06 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 3.0$  Hz, H-4), 5.93 (t, 1 H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 10.1$  Hz, H-2), 5.64 (dd, 1 H, H-3), 5.12 (d, 1 H, H-1), 4.67 (dd,  $J_{5,6a} = 4.4$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 11.1$  Hz, H-6a), 4.42 (dd, 1 H,  $J_{5,6b} = 4.4$  Hz, H-6b), 4.39 (t, 1 H, H-5), 3.04 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_3$ ), 2.91 (m, 1 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_3$ ), 2.59 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_3$ ), 2.10 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{SeCH}_3$ ), 1.94 (s, 3 H,  $\text{SeCH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.0, 165.5, 165.3, 133.6, 133.3, 133.2, 129.9, 129.0, 128.7, 128.6, 128.4, 128.4, 128.3, 78.2, 76.2, 72.4, 68.9, 68.4, 62.2, 30.5, 24.9, 23.5, 4.0;  $^{77}\text{Se NMR}$  (94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  291.7, 70.9; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{38}\text{H}_{36}\text{O}_9\text{Se}_2\text{Na}^+$ : 819.0582  $[M+\text{Na}]^+$ ; found: 819.0582.



79

**3-Methylselenopropyl (methyl 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-*D*-glycero- $\alpha$ -*D*-galacto-2-nonulopyranosylate)-(2 $\rightarrow$ 6)-2,3,4-tri-*O*-benzoyl-6-deoxy-1,6-seleno- $\beta$ -*D*-galactopyranoside (79):** Ar 雰囲気下にて、化合物 66 (33 mg, 28  $\mu\text{mol}$ )と化合物 78 (13 mg, 42  $\mu\text{mol}$ )を脱気した DMF (1.4 mL)に溶かし、1M tetra-*n*-butylammonium fluoride in THF (84  $\mu\text{L}$ , 84  $\mu\text{mol}$ )を氷浴中にて加え 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (acetone/hexane = 1/1)にて確認後、EtOAc で 2 回抽出、洗浄 (水、飽和食塩水)、乾燥 (無水硫酸ナトリウム)、溶媒留去後、残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (acetone/hexane = 2/3, acetone/ $\text{CHCl}_3$  = 1/10)で

精製し、化合物 **79** (28 mg, 82%)を透明粘性液体として得た。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.07-7.22 (m, 15 H, Ph), 6.07 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 3.0$  Hz, H-4<sup>a</sup>), 5.84 (t, 1 H,  $J_{1,2} = J_{2,3} = 10.0$  Hz, H-2<sup>a</sup>), 5.70 (dd, 1 H, H-3<sup>a</sup>), 5.38-5.26 (m, 4 H, H-1<sup>a</sup>, H-7<sup>b</sup>, H-8<sup>b</sup>, NH), 4.87 (m, 1 H, H-4<sup>b</sup>), 4.37 (dd, 1 H,  $J_{8,9a} = 2.5$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.5$  Hz, H-9a<sup>a</sup>), 4.26 (t,  $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.4$  Hz, H-5<sup>a</sup>), 4.16 (dd, 1 H,  $J_{8,9b} = 5.2$  Hz, H-9b<sup>b</sup>), 4.02-3.97 (m, 2 H, H-5<sup>b</sup>, H-6<sup>b</sup>), 3.82 (s, 3 H, COOMe), 3.10-3.02 (m, 2 H, H-6a<sup>a</sup>,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_3$ ), 2.95-2.89 (m, 2 H, H-6b<sup>a</sup>,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_3$ ), 2.82 (dd, 1 H,  $J_{3ax,4} = 4.5$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 12.9$  Hz, H-3ax<sup>b</sup>), 2.63 (s, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_3$ ), 2.22-1.90 (m, 21 H, H-3eq<sup>b</sup>, Ac,  $\text{CH}_2\text{SeCH}_3$ , SeMe);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.9, 170.7, 170.5, 170.1, 170.0, 169.6, 165.6, 165.5, 165.4, 133.4, 133.2, 133.1, 130.0, 129.8, 129.7, 129.5, 129.4, 129.1, 128.6, 128.4, 128.2, 78.3, 78.0, 77.6, 74.5, 72.9, 70.3, 69.4, 69.2, 68.1, 67.1, 62.4, 53.1, 49.7, 39.3, 30.9, 29.7, 25.1, 23.6, 23.2, 21.2, 20.9, 20.8, 4.0;  $^{77}\text{Se}$  NMR (94 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  466.2, 289.8, 73.5; HRMS:  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{51}\text{H}_{59}\text{NO}_{19}\text{Se}_3\text{Na}^+$ : 1252.1069 [ $M+\text{Na}$ ]<sup>+</sup>; found: 1252.1069.



**80**

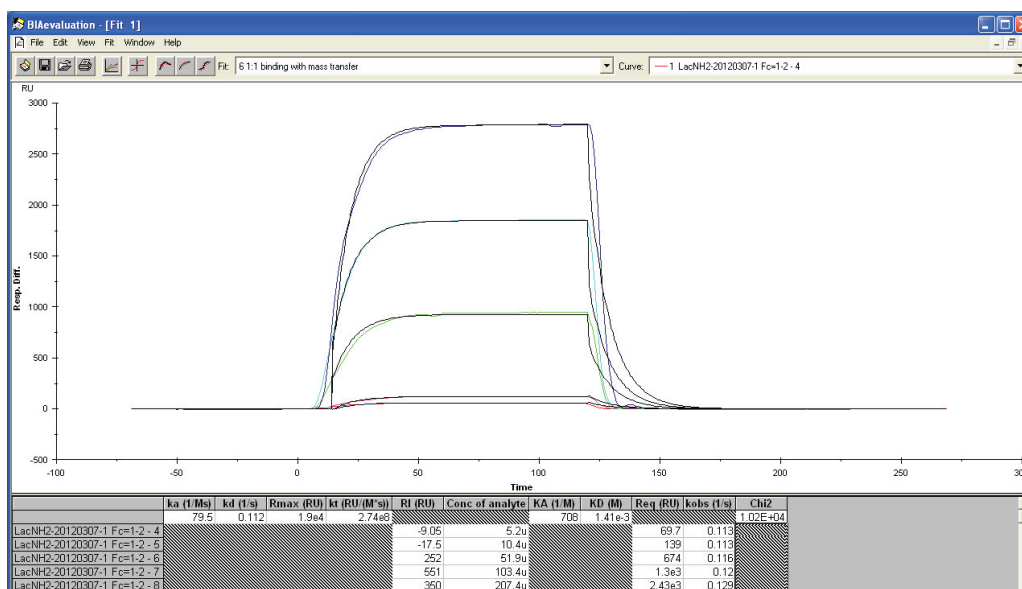
**Sodium salt of (methyl 5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonic acid)-(2 $\rightarrow$ 6)-6-deoxy-1,6-seleno- $\beta$ -D-galactopyranoside (**80**):** Ar 雰囲気下にて、化合物 **79** (10 mg, 8  $\mu\text{mol}$ )を THF (400  $\mu\text{L}$ )と 0.5 M NaOH aq. (400  $\mu\text{L}$ )に溶解し、室温にて 21 時間攪拌した。反応終了を TLC ( $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3 = 1/5$ )にて確認後、溶媒を留去し、濃縮後の残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ( $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3 = 2/3$ )にて精製を行い、化合物 **80** (5.0 mg, 86%)を透明粘性液体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +43.9^\circ$  ( $c=0.9$ , MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  4.79 (s, 1 H, H-1<sup>a</sup>), 4.08 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 2.0$  Hz, H-4<sup>a</sup>), 3.89-3.54 (m, 9 H, H-2<sup>a</sup>, H-3<sup>a</sup>, H-5<sup>a</sup>, H-4<sup>b</sup>, H-7<sup>b</sup>, H-8<sup>b</sup>, H-9a<sup>b</sup>, H-9b<sup>b</sup>, NH), 3.10 (dd, 1 H,  $J_{5,6a} = 8.0$  Hz,  $J_{\text{gem}} = 13.0$  Hz, H-6a<sup>a</sup>), 3.00-2.85 (m, 4 H, H-6b<sup>a</sup>, H-3ax<sup>b</sup>, H-5<sup>b</sup>, H-6<sup>b</sup>), 2.72 (t, 2 H,  $\text{SeCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SeCH}_3$ ), 2.18-2.03 (m, 7 H,

$CH_2CH_2SeCH_3$ ,  $CH_2SeCH_3$ ,  $SeCH_3$ ), 1.94 (t, 1 H,  $J_{gem} = J_{3eq,4} = 11.5$  Hz, H-3eq<sup>b</sup>);  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $D_2O$ )  $\delta$  173.0, 172.8, 79.1, 79.0, 77.4, 73.2, 71.5, 69.9, 68.1, 67.8, 66.3, 65.8, 60.3, 49.5, 39.0, 28.3, 22.4, 22.0, 21.5, 19.7, 1.2;  $^{77}Se$  NMR (94 MHz,  $D_2O$ )  $\delta$  426.5, 269.4, 53.3; HRMS:  $m/z$  calcd for  $C_{21}H_{36}NO_{12}Se_3-Na$ : 733.9739 [ $M-Na$ ]<sup>-</sup>; found: 733.9740.

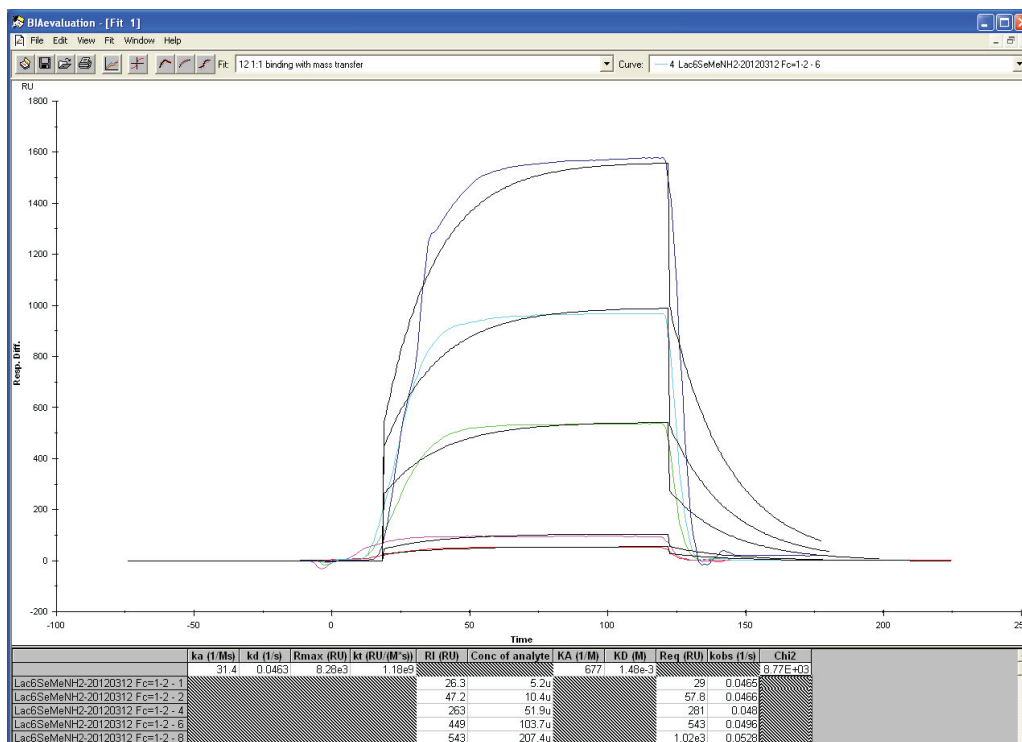
## SPR 試験

全ての SPR 試験は BIAcore J を用い、25 °C にて行った。データ解析には BIAevaluation for Biacore J を用いた。ランニングバッファーには脱気した HBS-EP buffer (0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% (v/v) Surfactant P20) を用い、センサーチップにはリサーチグレードの CM5 を使用した。糖鎖の固定化は、アミンカップリングキットを用いて行った。それぞれの糖鎖の固定化量はラクトース-NH<sub>2</sub> = 235.1 RU, 6-MeSe ラクトース = 188.0 RU, 6'-MeSe ラクトース-NH<sub>2</sub> = 213.8 RU であった。分析対象のヒトガレクチン-9 N CRD はランニングバッファーで 5 段階の濃度 (5.2 μM, 10.4 μM, 51.9 μM, 103.7 μM, 207.4 μM) に希釈したものを、流速 30 μL/min で 2 分間、それぞれの濃度で 3 回ずつ測定を行った。以下に各糖鎖リガンドの試験結果を抜粋し記載した。

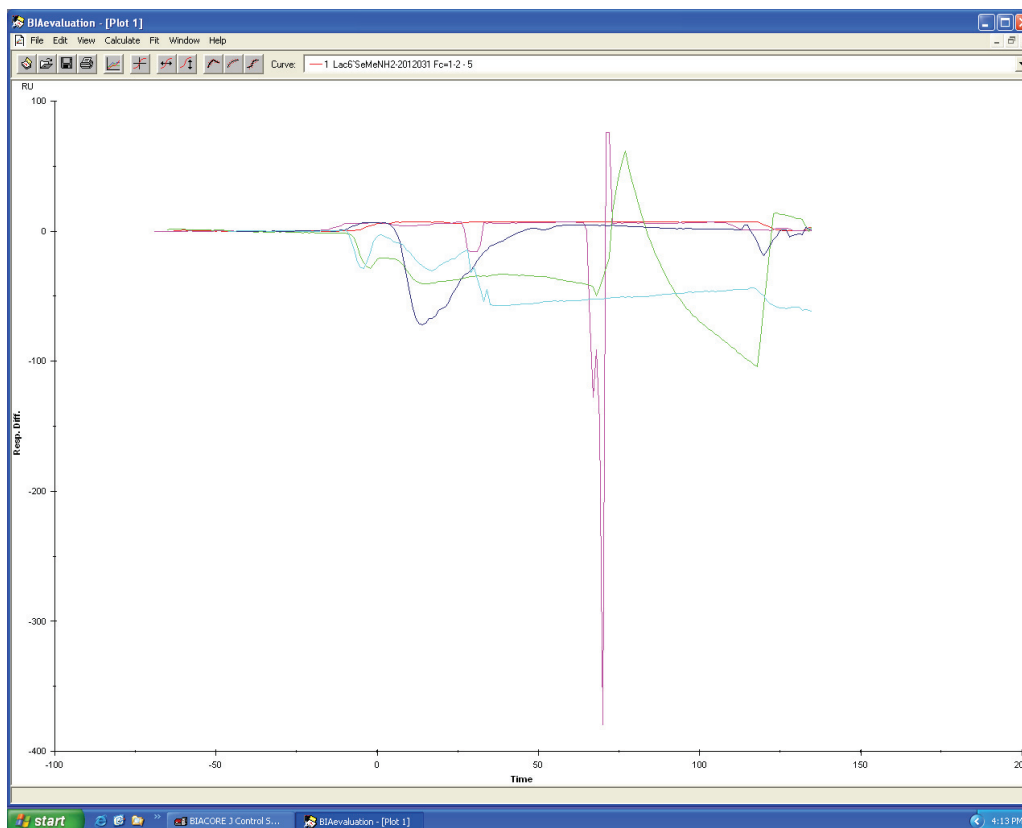
### ラクトースの結果



## 6-MeSe ラクトースの結果



## 6'-MeSe ラクトースの結果



非標識のラクトースおよび、6-MeSe ラクトースの試験では相互作用を示す濃度依存的曲線が観測されたが、6'-MeSe ラクトースの試験ではセンサーグラムは乱れ、相互作用は観測されなかった。BIAevaluation を用い線形解析により解離定数  $K_d$  を算定したところ、ラクトースは  $K_d = 395.3 \pm 69.2 \mu\text{M}$ 、6-MeSe ラクトースは  $K_d = 294.7 \pm 71.4 \mu\text{M}$  となった。

|               | Lactose             | 6-MeSe<br>Lactose   |
|---------------|---------------------|---------------------|
| $K_d$ Run 1   | 321 $\mu\text{M}$   | 257 $\mu\text{M}$   |
| $K_d$ Run 2   | 458 $\mu\text{M}$   | 377 $\mu\text{M}$   |
| $K_d$ Run 3   | 407 $\mu\text{M}$   | 250 $\mu\text{M}$   |
| $K_d$ Average | 395.3 $\mu\text{M}$ | 294.7 $\mu\text{M}$ |
| STDEV         | 69.2 $\mu\text{M}$  | 71.4 $\mu\text{M}$  |

## 謝辞

本研究に際し、研究の機会を与えてくださり、終始御懇篤な御指導、御助力を賜りました木曾真教授、石田秀治教授、安藤弘宗准教授、今村彰宏助教に厚く御礼申し上げます。

共同研究者として、ガレクチン-9 の提供から X 線共結晶構造解析、また、論文作成にまでも、多大なるご指導、ご助力を賜りました高エネルギー加速器研究機構の若槻壮市教授、加藤龍一准教授、山田悠介助教、牧尾尚能博士に厚く御礼申し上げます。

SPR 試験においては実験操作の基礎から丁寧なご指導を頂きました岐阜大学応用生物科学部食成分機能化学研究室の矢部富雄准教授、西田光貴博士にも厚く御礼申し上げます。

委細にわたり様々な御助言を頂きました安藤隆幸博士、植木章晴博士、リタパール博士、田中秀則博士、藤川紘樹博士、岩山祐己博士、玉井秀樹博士、中島慎也博士、河村奈緒子研究員、毛受雅典修士、小西美紅研究員に心から感謝いたします。

共同研究者として苦楽を共にし、いつも喜びを与えてくれた山路智也修士、岩井一晃修士、島袋隼平修士、後藤健太氏、福尾隼大氏に深く感謝いたします。

日々、有意義な討論をおこない、研究室での生活を充実したものにしてくださった生理活性物質学研究室の皆様心より感謝いたします。

最後に本研学生活に御理解を頂き、常に応援を送って下さった母、妹に感謝し謝辞とさせていただきます。