

細胞膜微小ドメインの動的機構解明に向けた
スフィンゴ糖脂質プローブの創製と応用

2 0 2 0 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)

浅 野 早 知

細胞膜微小ドメインの動的機構解明に向けた
スフィンゴ糖脂質プローブの創製と応用

浅 野 早 知

目次

略号表	5
緒言	9
第一部 糖鎖合成への応用を指向した溶解性向上のための保護基の有用性検証	11
第一章 <i>p</i> 位置換 BzId 基を導入した新規 GalN 誘導体の溶解性の比較	13
第一節 各種 GalN 誘導体の合成	13
第二節 溶解性の比較	14
第三節 供与体としての性質の検証	16
第四節 保護基としての性質の検証	17
第二章 GlcNAc 誘導体をモデルとした <i>p</i> 位置換効果の検証	18
第一節 各種 GlcNAc 誘導体の合成	18
第二節 溶解性の比較	22
第三章 グリコシル化反応における <i>p</i> -tert-ブチル基修飾の影響	25
第一節 TBBz 型 GlcCer 受容体の合成	25
第二節 Bz 型 GlcCer 受容体との反応性の比較	28

第二部	蛍光スフィンゴ糖脂質プローブの開発と	
	細胞膜ドメインの動態解明に関する研究	29
第一章	L-LacCer 蛍光プローブの開発	34
第一節	分子設計と合成戦略	37
第二節	L-LacCer プローブの合成	41
第一項	L-Gal 供与体の合成	41
第二項	L-GlcCer 受容体の合成	45
第三項	L-LacCer 骨格の構築、脱保護、蛍光標識の導入	47
第三節	一分子追跡実験によるダイマー化の観察	48
第二章	グロボ系列スフィンゴ糖脂質蛍光プローブの開発	50
第一節	分子設計と合成戦略	54
第二節	三糖共通受容体の合成	58
第三節	SSEA-3 プローブの合成	59
第四節	SSEA-4 プローブの合成	62
第一項	四糖受容体の合成	62
第二項	Neu 供与体の合成	63
第三項	SSEA-4 プローブの合成	65
第五節	Globo-H プローブの合成	67
第一項	末端 Gal 供与体の合成	67
第二項	Globo-H プローブの合成	68
第六節	機能評価実験と一分子追跡実験	70
第一項	DRM 分配実験	70
第二項	Lo/Ld 分配実験	72
第三項	一分子追跡実験によるダイマー化の観察	74

第三部 脂質ラフトの動的構造の理解に向けた	
光親和性スフィンゴ糖脂質プローブの開発	7 5
第一章 光反応性基の特徴	8 0
第一節 光化学反応の原理	8 0
第二節 従来型の光反応性基の特徴	8 3
第三節 α -ケトアミドの光化学反応と光反応性基としての利用	8 9
第四節 セレノフェン-2-イル型 α -ケトアミドの光反応性基としての可能性	9 2
第二章 光反応性基としてのセレノフェン-2-イル型 α -ケトアミドの開発	9 5
第一節 α -ケトアミド構造を有する α -Man 誘導体の合成	9 5
第一項 無置換型 α -Man 誘導体の合成	9 7
第二項 2 位アルキン修飾型 α -Man プローブの合成	9 9
第二節 セレノフェン-2-イル型 α -ケトアミドの性質評価	1 0 2
第一項 ハイドレート形成に関する評価	1 0 2
第二項 光分解速度の解析	1 0 5
第三項 吸収波長の測定	1 0 7
第四項 ITC を用いたレクチンとの結合評価	1 0 9
第三節 光親和性標識実験	1 1 2
第一項 ラベル化条件の検討	1 1 2
第二項 ラベル化効率の検証	1 1 6
第三項 選択性の検証	1 1 8
第三章 光親和性スフィンゴ糖脂質プローブの開発	1 2 1
第一節 光反応性基ユニットの合成	1 2 1
第一項 分子設計と合成戦略	1 2 1
第二項 光反応性基ユニットの合成	1 2 2
第二節 光反応性基ユニットの性質評価	1 3 9
第一項 ハイドレート形成に関する評価	1 3 9
第二項 光分解速度の解析	1 4 0
第三項 吸収波長の測定	1 4 1
第三節 光反応性基ユニットの <i>in vitro</i> における性質評価	1 4 2
第一項 光反応性基ユニット導入型 α -Man プローブの合成	1 4 2

第二項	ITC を用いたレクチンとの結合評価	1 4 3
第三項	光親和性標識実験	1 4 4
第四節	光親和性 GM3 プローブの合成	1 4 7
第一項	分子設計と合成戦略	1 4 7
第二項	NeuGal 供与体の合成	1 4 8
第三項	GM3 骨格の構築、脱保護	1 4 9
第四項	光反応性基ユニットの導入	1 5 0
第五節	細胞膜上での光架橋実験とプロテオミクス解析	1 5 1
総括		1 5 3
実験の部		1 5 6
謝辞		2 7 3

略号表

便宜上、本論文において以下に示す略号を用いた。

Ac	: acetyl
acac	: acetylacetonate
<i>p</i> -ADA	: <i>p</i> -anisaldehyde dimethyl acetal
AIDS	: acquired immunodeficiency syndrome
Ar	: aryl
Arg	: arginine
Asn	: asparagine
AW	: acid-washed
BDA	: benzaldehyde dimethyl acetal
Bn	: benzyl
Boc	: <i>tert</i> -butoxycarbonyl
BPB	: bromophenol blue
BSA	: bovine serum albumin
Bu	: butyl
Bz	: benzoyl
Bzld	: benzylidene
CAN	: cerium(IV) ammonium nitrate
CD	: cluster of differentiation
Cer	: ceramide
CFP	: cyan fluorescent protein
CMOS	: complementary metal oxide semiconductor
cod	: 1,5-cyclooctadiene
COMU	: (1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminoxy)dimethylamino-morpholino-carbenium hexafluorophosphate
Con A	: concanavalin A
COSY	: correlation spectroscopy
CoV	: coronavirus
CPME	: cyclopentyl methyl ether
CSA	: (±)-10-camphorsulfonic acid
CuAAC	: Cu-catalyzed azide alkyne cycloaddition
DBU	: 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DFT	: density functional theory
DIAD	: diisopropyl azodicarboxylate

DIBAL	: diisobutylaluminium hydride
DLS	: dynamic light scattering
DMAP	: 4-dimethylaminopyridine
DMEAD	: di-2-methoxyethyl azodicarboxylate
DMEM	: Dulbecco's modified eagle medium
DMF	: <i>N,N</i> -dimethylformamide
2,2-DMP	: 2,2-dimethoxypropane
DMSO	: dimethyl sulfoxide
DMTST	: dimethyl(methylthio)sulfonium triflate
DOPC	: 1,2-dioleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphocholine
DOPE	: 1,2-dioleoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphatidylethanolamine
DRM	: detergent-resistant membrane
DSC	: <i>N,N'</i> -disuccinimidyl carbonate
DTBS	: di- <i>tert</i> -butylsilylene
DTT	: dithiothreitol
EDA	: ethylenediamine
EDC	: 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide
EGFR	: epidermal growth factor receptor
ESI	: electrospray ionization
Et	: ethyl
ET	: electron transfer
FAK	: focal adhesion kinase
FCS	: fetal calf serum
FDA	: Food and Drug Administration
FKBP	: FK506-binding protein
FRET	: Förster/fluorescence resonance energy transfer
Fuc	: fucose
Gal	: galactose
GalN	: galactosamine
Glc	: glucose
GlcN	: glucosamine
GPI	: glycosylphosphatidylinositol
GPMV	: giant plasma membrane vesicle
GSD	: glycosignaling domain
GSL	: glycosphingolipid
HAT	: hydrogen atom transfer
HBSS	: Hank's balanced salt solution

HEPES	: 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
HMBC	: heteronuclear multiple bond coherence
HMQC	: heteronuclear multiple quantum correlation
HOMO	: highest occupied molecular orbital
HPLC	: high performance liquid chromatography
HRP	: horseradish peroxidase
HS	: hydrogen sulfate
ISC	: intersystem crossing
Ispd	: isopropylidene
ITC	: isothermal titration calorimetry
Lac	: lactose
L _d	: liquid-disordered
LDA	: lithium diisopropylamide
Leu	: leucine
Lev	: levulinoyl
LHMDS	: lithium bis(trimethylsilyl)amide
L _o	: liquid-ordered
LUMO	: lowest unoccupied molecular orbital
Man	: mannose
Me	: methyl
MP	: <i>p</i> -methoxyphenyl
MS	: molecular sieves
NBS	: <i>N</i> -bromosuccinimide
Neu	: neuraminic acid
NGFR	: nerve growth factor receptor
NHS	: <i>N</i> -hydroxysuccinimide
NIS	: <i>N</i> -iodosuccinimide
NMM	: <i>N</i> -methylmorpholine
NMR	: nuclear magnetic resonance
NP	: nitrophenyl
Nu	: nucleophile
PAGE	: polyacrylamide gel electrophoresis
PBS	: phosphate-buffered saline
PC	: phosphatidylcholine
PDB	: Protein Data Bank
PDC	: pyridinium dichromate
PDGFR	: platelet-derived growth factor receptor

PEG	: polyethylene glycol
Ph	: phenyl
Phen	: phenanthroline
Phth	: phthaloyl
PMB	: <i>p</i> -methoxybenzyl
SARS	: severe acute respiratory syndrome
SDS	: sodium dodecyl sulfate
SEM	: standard error of the mean
SSEA	: stage-specific embryonic antigen
Su	: succinimidyl
TB	: <i>tert</i> -butyl
TBA	: tetra- <i>n</i> -butylammonium
TBDPS	: <i>tert</i> -butyldiphenylsilyl
TBAHF	: tributylamine hydrofluoride
TBP	: <i>tert</i> -butylphenyl
TBS	: <i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TBTA	: tris[(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amine
TCEP	: tris(2-carboxyethyl)phosphine
TEAF	: formic acid-triethylamine (5:2) azeotrope
Tf	: trifluoromethanesulfonyl
TFA	: trifluoroacetic acid
TFAA	: trifluoroacetic anhydride
TFAc	: trifluoroacetyl
Th	: thienyl
THF	: tetrahydrofuran
TIPS	: triisopropylsilyl
TLC	: thin-layer chromatography
TMEDA	: <i>N,N,N',N'</i> -tetramethylethylenediamine
TMR (TAMRA)	: tetramethylrhodamine
TMS	: trimethylsilyl
Tr	: trityl
Troc	: 2,2,2-trichloroethoxycarbonyl
Ts	: <i>p</i> -toluenesulfonyl
TTBP	: 2,4,6-tri- <i>tert</i> -butylpyrimidine
Tyr	: tyrosine
UV	: ultraviolet
YFP	: yellow fluorescent protein

緒言

人類の歴史は感染症との戦いであった。中世ヨーロッパではペストが大流行し、ヨーロッパ人口の 3 分の 1 が死亡したといわれている。6 世紀頃から三度のパンデミックを経験し、1894 年に北里らにより病原菌が発見されるまで 10 世紀以上を要した。また、1918 年からはスペイン風邪 (後のインフルエンザ H1N1 亜型) が大流行し、世界人口の約半数が感染したといわれている。ワクチンの開発や抗生物質の発見は 18 世紀以降に行われるようになり、感染症の予防・治療法が飛躍的に進歩している。近年では、1976 年にエボラ出血熱、1981 年に AIDS、2003 年に重症急性呼吸器症候群 (SARS) など、多くの新興感染症が発生している¹。そして 2019 年 12 月以降、中国湖北省武漢市において発生した新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は、今もなお世界中で感染拡大が続いている。

一方、SARS-CoV-2 の流行が始まった約一ヶ月後に最初の関連論文が発表され²、2020 年 12 月時点で既に 8 万報以上の関連論文が発表されている。2003 年の SARS に関連する論文は半年後の時点で 100 本程度に留まっていたことから、現代の科学技術の飛躍的な進歩による結果であると言っても過言ではない。驚くべきことに、SARS-CoV-2 の発生から一年以内という未曾有の速さで、Pfizer 社 (アメリカ) 製のワクチンがアメリカ食品医薬品局 (FDA) に緊急使用許可の申請がなされた。このような科学技術、医療技術の急速な発展のためには、分野の垣根を超えた、技術や知の共有がもはや欠かせない時代となっている。

「ケミカルバイオロジー」という学問もその一端を担っている。ケミカルバイオロジーは 1980 年頃に提唱された比較的新しい分野であり、化学的手法を用いて生命現象を解明する

¹ 平成 16 年度 厚生労働白書。

² Zhu, N.; Zhang, D.; Wang, W.; Li, X.; Yang, B.; Song, J.; Zhao, X.; Huang, B.; Shi, W.; Lu, R.; Niu, P.; Zhan, F.; Ma, X.; Wang, D.; Xu, W.; Wu, G.; Gao, G. F.; Tan, W. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *382*, 727–733.

分野である。即ち、天然化合物や合成化合物、分子プローブなどを用いて生命現象を明らかにするという、化学を重視した学問である点が「バイオケミストリー」とは異なる。Schreiber³による FK506 結合タンパク質 FKBP12 の同定に端を発し、その後数十年で爆発的に広がった。我々が専門とする糖鎖研究においても、医薬やワクチンの開発、ドラッグデリバリーシステムの観点から、合成化学と生物学、そして他のあらゆる学問との知識や技術の融合が求められている⁴。

糖鎖とは、核酸、タンパク質に続く第三の生命鎖と呼ばれており、細胞間の認識や宿主・リガンドとの相互作用、細胞の分化・増殖、がん、受精、免疫など多岐にわたる重要な生命現象に関与している生体分子である。糖鎖はその構造と機能の多様性、複雑性のために多くの研究者から避けられてきた背景がある。しかし、2000 年代初頭にヒトゲノムが解読され、2 万余種のタンパク質しか体内に存在しないことがわかったとき、タンパク質や脂質に無限に近い多様性を与えている、糖鎖の重要性が提唱されてきた⁵。純品の天然糖鎖や機能性糖鎖プローブを安定的に供給し、糖鎖の生命現象の解明に活かすことが、我々、糖鎖合成化学者に与えられた使命であり、今後も更なる糖鎖化学の発展が必要とされている。

本論文の第一部では、糖鎖合成の課題の一つである、化合物の難溶性の解決に向けた、糖鎖化学の基礎となる研究について述べる。第二部及び第三部では、糖鎖の生命現象の解明に向けた分子プローブの創製と応用に関する研究について述べる。本研究において、糖鎖合成化学及び糖鎖のケミカルバイオロジー研究の礎を築くことにより、将来的には医療分野への応用を目指す。

³ Harding, M. W.; Galat, A.; Uehling, D. E.; Schreiber, S. L. *Nature* **1989**, *341*, 758–760.

⁴ Lepenies, B.; Yin, J.; Seeberger, P. H. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 404–411.

⁵ Kadomatsu, K. *Seikagaku* **2020**, *92*, 303–306.

第一部

糖鎖合成への応用を指向した

溶解性向上のための保護基の有用性検証

化学反応において、複数の官能基を持つ化合物の特定の一点のみを反応させたい時、他の反応点を一時的に塞ぐ必要がある¹。このように、特定の化学反応から官能基を保護する目的で利用され、着脱可能である官能基は「保護基」と呼ばれ、特に、複数の水酸基やアミノ基を有する糖鎖の化学合成において欠かせないものとなっている。特に、糖鎖合成においては、高極性の糖鎖誘導体を保護基によって低極性化することにより、有機溶媒への溶解性が向上し、種々の化学反応が可能となる。また、グリコシル化における反応性、位置選択性、立体選択性の制御にも重要な役割を果たしており、糖鎖合成を志向した様々な保護基がこれまでに開発されてきた²。多糖のワンポット合成や自動合成技術の確立のためには、溶解性や反応制御の課題を打破することが望まれる。

本研究においては、多糖の合成を志向し、糖鎖合成における溶解性の課題に着目した。多糖を構築する際、保護基の導入、糖鎖伸長、保護基の除去及び変換の繰り返しにより達成することが出来る。しかし、長鎖になるにつれ、糖誘導体の反応性低下や、単離精製の困難化などの問題が生じる。これらは、糖誘導体の高い凝集性や、カラムクロマトグラフィーを用いた単離精製操作における化合物の結晶化が主な原因であると考えられる。特に、芳香族系保護基の導入により難溶化は顕著になることが知られており、ベンゼン環同士の π - π (CH- π)

¹ Wuts, P. G. M.; Greene, T. W. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th ed.; John Wiley & Sons, Inc., **2007**.

² (a) Codée, J. D. C.; Ali, A.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A. *C. R. Chimie* **2011**, *14*, 178–193; (b) Nigudkar, S. S.; Demchenko, A. V. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2687–2704; (c) Bols, M.; Pedersen, C. M. *Beilstein J. Org. Chem.* **2017**, *13*, 93–105; (d) Kulkarni, S. S.; Wang, C.-C.; Sabbavarapu, N. M.; Podilapu, A. R.; Liao, P.-H.; Hung, S.-C. *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 8025–8104; (e) Ghosh, B.; Kulkarni, S. S. *Chem. Asian J.* **2020**, *15*, 450–462.

スタッキング相互作用による化合物の凝集に起因すると考えられる。

一方で、芳香族系保護基は非常に汎用性が高く、様々な利点を持ち合わせている。例えば、エーテル系保護基の代表である **Bn** 基は、化学的に最も安定な保護基の一つであり、接触水素還元などの方法で選択的に除去することが可能である。また、**Bzld** 基は二つの水酸基を同時に塞ぐことが出来る保護基であり、酸加水分解によって容易に除去することが可能である。更に、酸化的及び還元的開裂反応により、一方の水酸基を塞いだまま、片方の水酸基のみを選択的に除去することも出来る。アシル系保護基である **Bz** 基は、**Ac** 基と同様、塩基性条件下、加水分解や加溶媒分解により除去可能な保護基であり、アノマー位の隣接位の水酸基に導入した場合は、1,2-*trans* 選択的にグリコシドを与えることが出来るため、立体制御においても重要な役割を果たす。更に、グリコシル化反応の際、ベンゼン環の立体障害により、**Ac** 基を用いた場合よりも副生成物であるオルソエステル体を形成しにくいという利点を有する。チオエーテル系の **SPh** 基は、ヨウ素カチオンにより活性化が可能な脱離基として知られているが、化学安定性が高いため、合成の序盤で簡便に導入することが出来る保護基としての機能も有する。そして、上述の全ての芳香族系保護基に共通し、UV 吸収を持つため、TLC による反応追跡や単離精製過程の簡便化に寄与する。

本研究では、芳香族系保護基の利点を維持しつつ、化合物の凝集や難溶化を抑制する新規保護基の探索を行い、ベンゼン環 *p* 位の *tert*-ブチル基修飾が溶解性の向上に有効であることを示した (**Figure 1-1**)。第一部では、*p*-*tert*-ブチル基修飾型芳香族系保護基の多糖合成への応用を志向し、化合物の物性や化学反応への影響を系統的に検証したので、その結果を述べる。

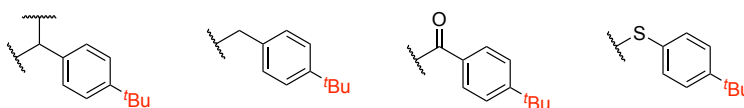
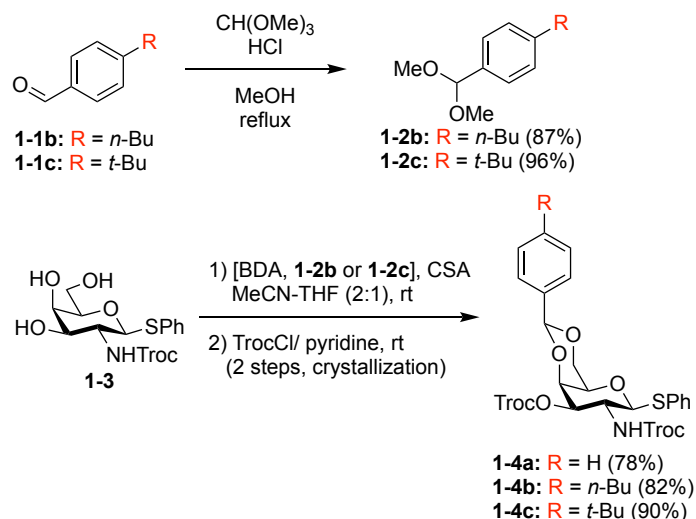


Figure 1-1. *p*-*tert*-Butyl-substituted protective groups used in this study.

第一章 *p* 位置換 Bzld 基を導入した新規 GalN 誘導体の溶解性の比較

第一節 各種 GalN 誘導体の合成

本章では、既知の GalN 誘導体 **1-4a**³ を難溶性の標準物質として用い、二種類の新規 GalN 供与体 **1-4b** 及び **1-4c** と性質の比較を行なった。保護基の着脱や種々の化学反応における立体障害の影響を最小限にするため、*p* 位へのアルキル鎖修飾が最適であると判断した。まず、三種類の誘導体の合成を行なった (Scheme 1-1)。市販のベンズアルデヒド **1-1b** 及び **1-1c** に対し、アセタール交換反応によりジメチルアセタール体 **1-2b** 及び **1-2c** へとそれぞれ誘導した。続いて、BDA、及び調製した **1-2b** 及び **1-2c** をそれぞれ GalN 誘導体 **1-3**⁴ に導入して 4,6 位をアセタール保護し、3 位に Troc 基を導入することにより、三種類の誘導体 **1-4a**、**1-4b**、及び **1-4c** を得た。



Scheme 1-1. Synthesis of GalN derivatives **1-4a**, **1-4b** and **1-4c**.

³ Imamura, A.; Ando, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3009–3023.

⁴ Imamura, A.; Ando, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4415–4418.

第二節 溶解性の比較

得られた GaIn 誘導体 **1-4a-c** に対し、溶解性及び物性の変化を調査した (**Table 1-1**)。まず、エタノールに対する溶解度の比較を行なった。Takebayashi ら⁵は、有機半導体化合物である NBP (*N,N'*-di(1-naphthyl)-*N,N'*-diphenyl benzidine) の種々の有機溶媒への溶解度を系統的に示しており、溶解度の測定は本報告における手法に基づいて行なった。過剰量の各誘導体をエタノール (>1 mL) に懸濁し、40 °C に加温した。室温に冷却した後、得られた懸濁液をメンブレンフィルターで濾過し、飽和溶液を得た。飽和溶液の溶媒留去、真空乾燥を行い、得られた重量をエタノール 1 mL に対する溶解度 (mg/mL) として算出した。測定の結果、Bzld 基 *p* 位への *tert*-ブチル基の導入により、溶解度が飛躍的に向上したことが示された。

溶解性及び物性の変化を更に詳細に示すため、動的光散乱 (DLS) によるエタノール中における粒子径の測定を試みた。懸濁溶液や溶液中に分散した微粒子は通常ブラウン運動をしており、その動きは大きな粒子では遅く、小さな粒子ほど速くなる。この時、ブラウン運動をしている粒子にレーザー光を照射すると、粒子からの散乱光はそれぞれのブラウン運動の速度に対応した揺らぎを持った信号として観測される。DLS では、溶液中に分散している粒子にレーザー光を照射し、その散乱光を検出器 PMT (photomultiplier tube; 光電子増倍管) で観測する (**Figure 1-2**)。溶解性の比較で DLS を用いる場合、溶解性の低い化合物は溶媒との接触面積を小さくするため分子同士で凝集し、これが大きな粒子として観測される。一方、溶解性の高い化合物は溶媒中で分散するため小さな粒子として観測されると予想できる。Sato ら⁶は、重油や原油の成分であり多環式有機化合物の混合物であるアスファルテンの凝集性や分散性を評価するため、DLS により溶解度の測定を行なっている。アスファ

⁵ Takebayashi, T.; Morii, N.; Sue, K.; Furuya, T.; Yoda, S.; Ikemizu, D.; Taka, H. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2015**, 54, 8801–8808.

⁶ Sato, T.; Araki, S.; Morimoto, M.; Tanaka, R.; Yamamoto, H. *Energy Fuels* **2014**, 28, 891–897.

ルテンの凝集性は主に、多環式芳香族クラスター間の π - π スタッキング相互作用によるものであるとされており、本研究における糖誘導体の溶解性の評価にも適用可能であると考えた。DLS 測定の結果、誘導体 **1-4c** において高い分散性が見られ、粒子径を糖誘導体の溶解性の指標として適用可能であることが示唆された。

更に、融点の測定においては、誘導体 **1-4c** で顕著に低い値を示し、*tert*-ブチル基の嵩高い構造により結晶のパッキングが抑制されている⁷ことを裏付ける結果を得た。

Table 1-1. Solubilities, particle sizes, and M.p. of Bzld-protected GalN derivatives in this study ^a.

Compd.	Solubility (mg/mL) ^b	Particle size (nm) ^c	M.p. (°C)
1-4a (R = H)	22.1	199.8	189–194
1-4b (R = <i>n</i> -Bu)	30.8	243.3	183–188
1-4c (R = <i>t</i> -Bu)	149.2	1.0	141–147

^a All data were obtained by single measurement. ^b Solubility in EtOH. ^c 5 mg/mL in EtOH. Measured by Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Ltd., UK).

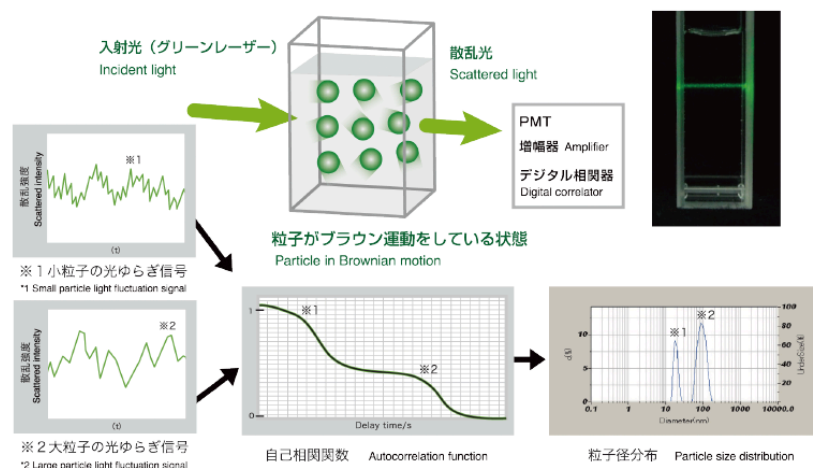


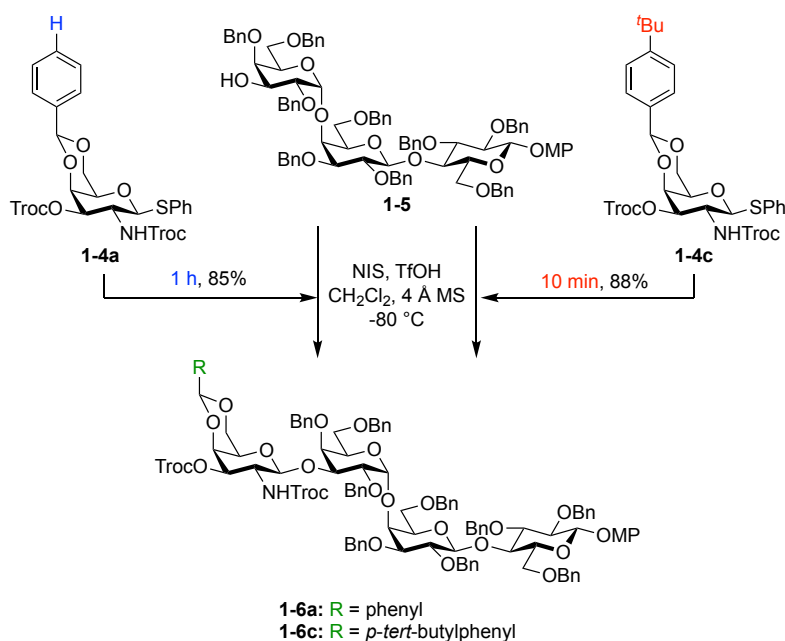
Figure 1-2. The basic principle of DLS (<https://unit.aist.go.jp/mcml/rg-nd/coms/nano/dls.html>).

⁷ Ishikawa, M.; Hashimoto, Y. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1539–1554.

第三節 供与体としての性質の検証

本節では、前節までに得られた結果を踏まえ、溶解性の違いがグリコシル化反応に及ぼす影響を調査した (Scheme 1-2)。高い溶解性を示した化合物 **1-4c** の供与体としての性質を、化合物 **1-4a** の反応性と比較することにより調べた。

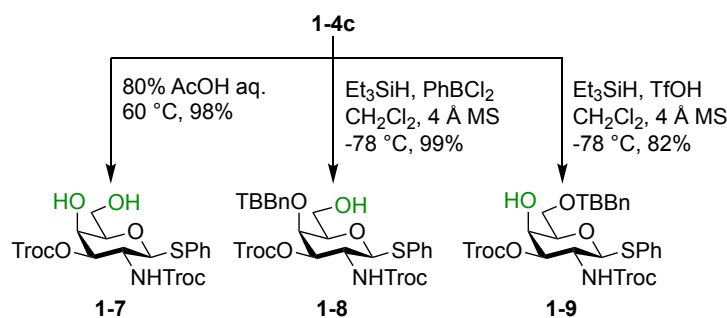
三糖受容体 **1-5** に対し、CH₂Cl₂ 溶媒中、-80 °C にて NIS、TfOH を作用させ、それぞれの供与体 **1-4a** 及び **1-4c** とのグリコシル化反応を行なった。いずれの反応においても同程度の収率を与えたが、反応終結時間に差が見られた。化合物 **1-4a** が -80 °C において一部 CH₂Cl₂ に溶解していなかったと考えられ、反応成績体 **1-6a** が得られると同時に **1-4a** が徐々に溶解したことが反応時間に影響を与えたと推測される。本検証により、化合物 **1-4c** が供与体として優れた性質を発揮することが示唆された。



Scheme 1-2. Glycosylation of trisaccharide acceptor **1-5**.

第四節 保護基としての性質の検証

糖鎖合成で汎用されている Bzld 基は、二つの水酸基を同時保護することが出来る保護基であり、酸加水分解や接触水素添加による除去に加えて、酸化的、還元的な方法によりいずれか一方の C-O 結合を選択的に除去することが可能である⁸。本節では、糖誘導体の溶解性向上に寄与することが示唆された TBBzld 基が、Bzld 基と同様の条件で除去及び選択的環開裂が可能であるかを、代表的な反応条件により調査した (Scheme 1-3)。除去反応においては、80%酢酸水溶液中、60 °C にて反応を行い、高収率にて 4,6-diol 体 1-7 を得た。選択的環開裂においては、ルイス酸を用いた条件 ($\text{Et}_3\text{SiH}/\text{PhBCl}_2$) 及びブレンステッド酸を用いた条件 ($\text{Et}_3\text{SiH}/\text{TfOH}$) により行い、4-O-TBBn 体 1-8 及び 6-O-TBBn 体 1-9 をそれぞれ高収率にて得た。以上の結果から、TBBzld 基は、Bzld 基の利点を保持しつつ、糖誘導体の優れた溶解性に寄与する保護基として有用であることが示唆された。



Scheme 1-3. Manipulation of the TBBzld group.

⁸ Wuts, P. G. M.; Greene, T. W. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th ed.; John Wiley & Sons, Inc., 2007.

第二章 GlcNAc 誘導体をモデルとした *p* 位置換効果の検証

第一節 各種 GlcNAc 誘導体の合成

本章では、前章で得られた結果を受け、芳香族系保護基の *p* 位 *tert*-ブチル基修飾の有用性の更なる検証を行なった。Bzld 基に加え、汎用性の高い他の芳香族系保護基 (Bn, Bz, SPh) に対しても *p*-*tert*-ブチル基修飾を行うことにより、溶解性が相乗的に向上するのではないかと考えた。本研究におけるモデル糖として、強い分子間水素結合や CH- π 相互作用により極めて高い難溶性を示す⁹ことで知られている、GlcNAc を用いることとした。

検証を行うにあたり、16 種類の GlcNAc 誘導体 **1-10a-d**、**1-11a-d**、**1-12a-d**、**1-13a-d** を設計した (Figure 1-3)。基準物質として、4,6 位を Bzld 基で保護した GlcNAc フェニルチオグリコシド誘導体 **1-10a** を調製した。この化合物は、EtOH をはじめ、殆どの有機溶媒に対して極めて高い難溶性を示した。3 位は遊離、又は汎用性の高い Ac 基、Bz 基、又は Bn 基で保護し、それぞれの誘導体が有する芳香族系保護基の一箇所又は二箇所に *p* 位 *tert*-ブチル基修飾した化合物を合成した。

⁹ (a) Li, L.; Hsieh, Y.-L. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 374–381; (b) Loft, K. J.; Bojarová, P.; Slámová, K.; Křen, V.; Williams, S. J. *ChemBioChem* **2009**, *10*, 565–576.

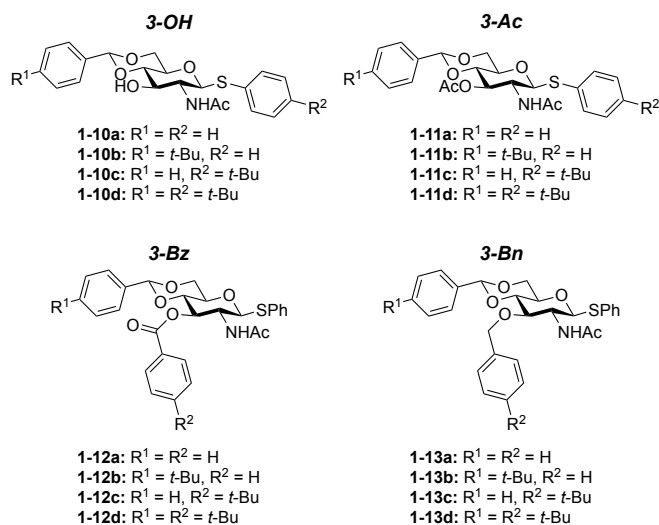
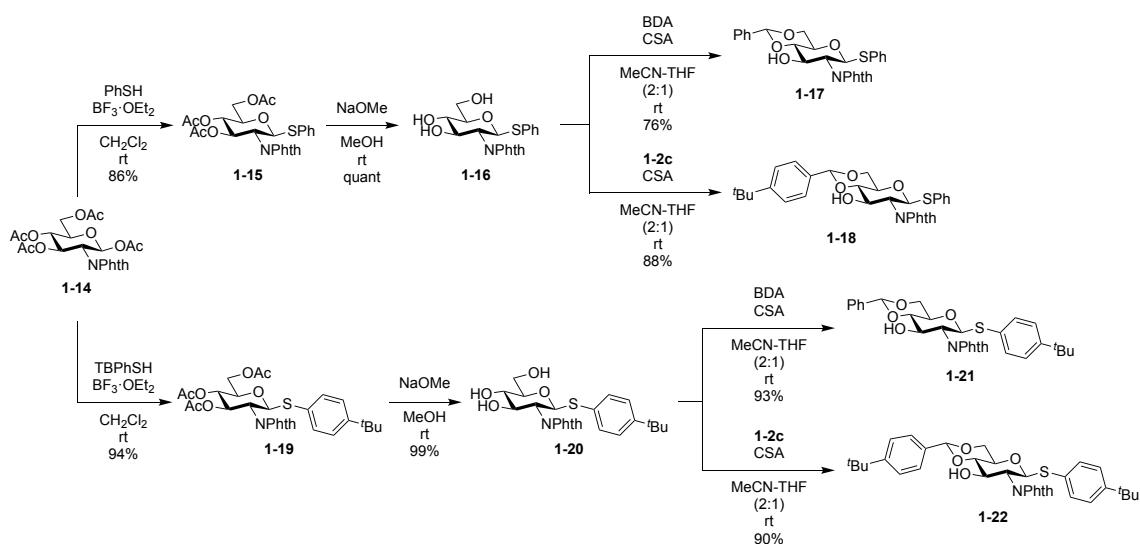


Figure 1-3. GlcNAc derivatives **1-10a–d**, **1-11a–d**, **1-12a–d** and **1-13a–d** used in this study.

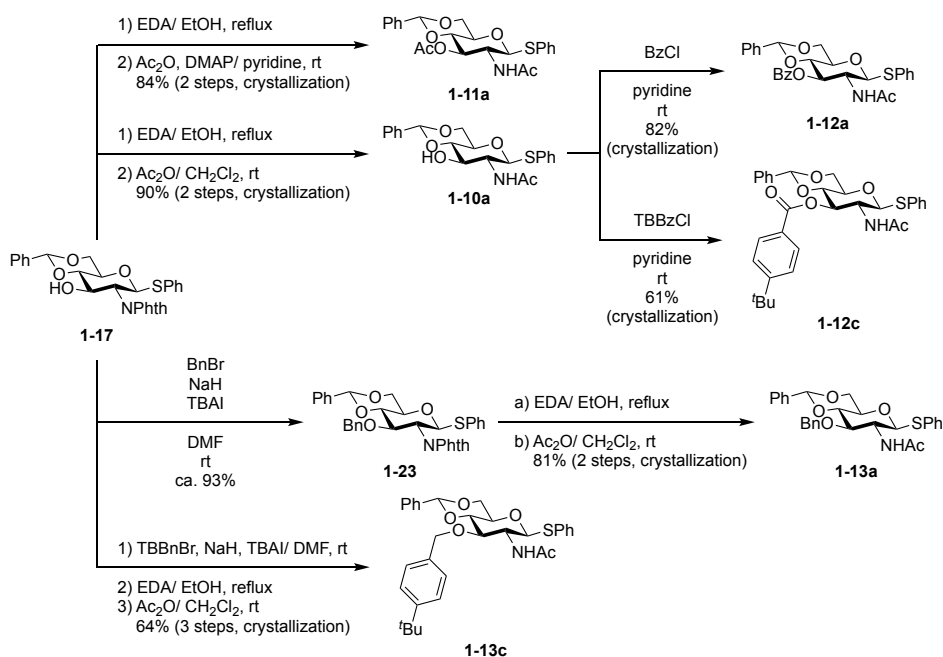
まず、4,6 位を Bzld 基または TBBzld 基で保護した GlcNPhth 誘導体を合成した (Scheme 1-4)。2 位アミノ基を Phth 基で保護した化合物 **1-14**¹⁰に対し、フェニルチオ化、Ac 基の除去を行い、二種類の誘導体 **1-16** 及び **1-20** を得た後、4,6 位のアセタール保護を行い、**1-17**、**1-18**、**1-21**、**1-22** をそれぞれ得た。



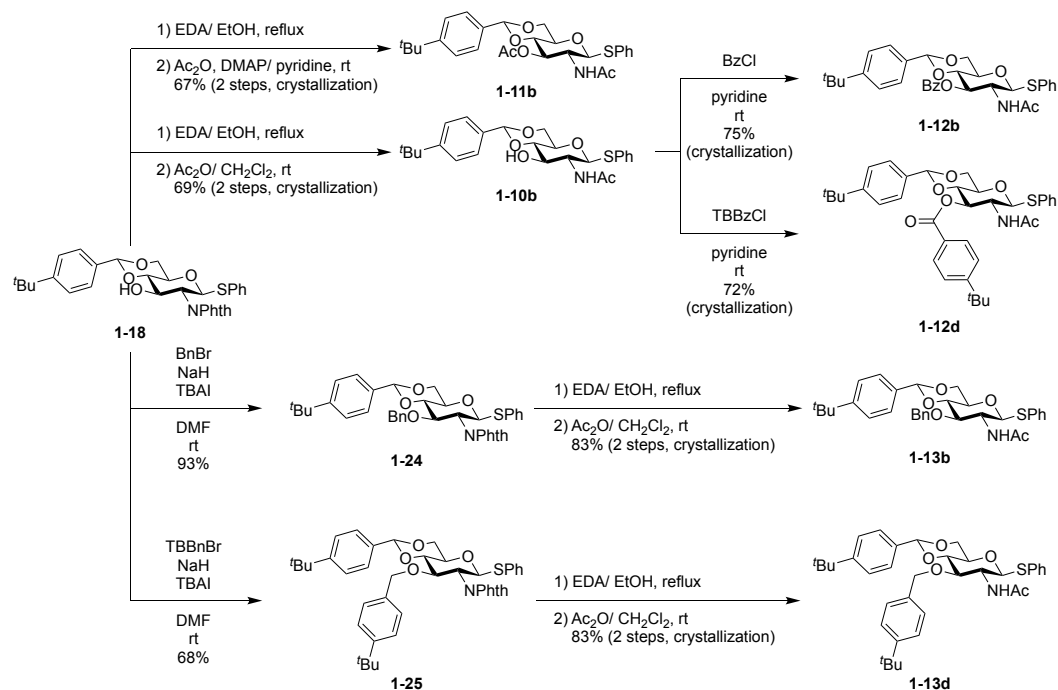
Scheme 1-4. Synthesis of GlcNPhth derivatives **1-17**, **1-18**, **1-21** and **1-22**.

¹⁰ Liu, R.; Wei, A. *J. Carbohydr. Chem.* **2012**, *31*, 384–419.

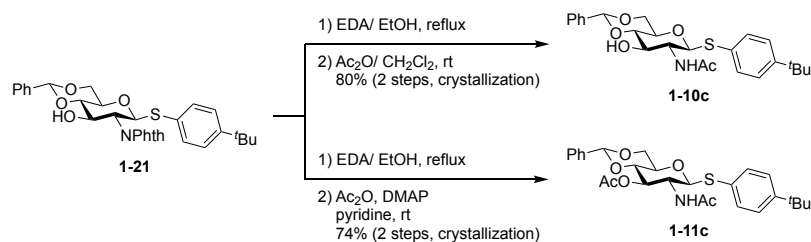
得られた化合物 **1-17**、**1-18**、**1-21**、**1-22** を出発とし、各種 GlcNAc 誘導体 **1-10a-d**、**1-11a-d**、**1-12a-d**、**1-13a-d** の合成を行なった (Scheme 1-5-1-8)。3-OH 型誘導体 **1-10a-d** については、EtOH 溶媒中、還流条件下にて EDA を作用させ、Phth 基の除去を行なった後、CH₂Cl₂ 溶媒中、室温にて Ac₂O を作用させアミノ基の選択的 Ac 化を行うことにより合成した。3-Ac 誘導体 **1-11a-d** は、Phth 基の除去後、pyridine 溶媒中、Ac₂O、DMAP を作用させ、アミノ基及び 3 位水酸基を同時に Ac 基で保護することにより合成した。3-Bz 型誘導体 **1-12a-d** は、合成した 3-OH 型誘導体 **1-10a-d** に対し、pyridine 溶媒中、BzCl または TBBzCl を作用させることにより得た。3-Bn 型誘導体 **1-13a-d** は、GlcNPhth 誘導体 **1-17**、**1-18** に対し、DMF 溶媒中、BnBr または TBBnBr、NaH を作用させることにより 3 位を保護した後、Phth 基の除去、アミノ基の Ac 化を行うことにより合成した。



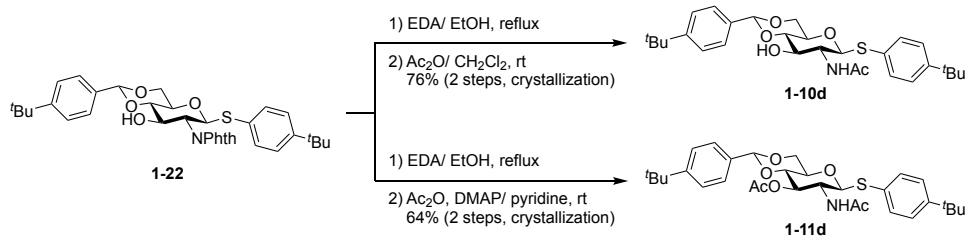
Scheme 1-5. Synthesis of GlcNAc derivatives **1-10a-13a**, **1-12c** and **1-13c**.



Scheme 1-6. Synthesis of GlcNAc derivatives **1-10b–1-13b**, **1-12d–1-13d**.



Scheme 1-7. Synthesis of GlcNAc derivatives **1-10c** and **1-11c**.



Scheme 1-8. Synthesis of GlcNAc derivatives **1-10d** and **1-11d**.

第二節 溶解性の比較

前節で得られた 16 種類の GlcNAc 誘導体 **1-10a-d**、**1-11a-d**、**1-12a-d**、**1-13a-d** に対し、溶解度、融点、粒子径の測定を行なった (Table 1-2)。全ての測定条件は、第一章と同様の方法で行なった。融点については、測定限界を超えるものについては「300<」、粒子径については、化合物がエタノールに溶解せず測定出来なかったものは「-」で示した。全体として、*tert*-ブチル基修飾を施すことにより、溶解性が向上し、物性に変化が見られた。

Table 1-2. Measurement data for GlcNAc derivatives **1-10a-d**、**1-11a-d**、**1-12a-d**、**1-13a-d**.

Compd.	M.p. (°C)	Solubility ^a (mg/mL)	Particle size ^b (nm)	Label ^d
1-10a	300<	1	- ^c	●
1-10b	201–205	22.9	0.9	●
1-10c	242–248	6.5	357.5	●
1-10d	236–240	93.3	1.1	●
1-11a	300<	0.5	- ^c	●
1-11b	243–246	10.6	242	●
1-11c	282–285	5	- ^c	●
1-11d	223–226	51.6	0.8	●
1-12a	300<	0.9	- ^c	●
1-12b	232–236	16.5	1.4	●
1-12c	243–247	3.7	- ^c	●
1-12d	187–193	24.8	1.1	●
1-13a	300<	0.6	- ^c	●
1-13b	240–245	10.9	966.9	●
1-13c	290–293	0.9	- ^c	●
1-13d	231–235	9.5	1126	●

^a Solubility in EtOH. ^b 5 mg/mL in EtOH. Measured by Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Ltd., UK). ^c Not determined due to low solubility in EtOH. ^d Each label color corresponds to the plots in Figure 1-4.

粒子径の値を基に色分類し、散布図を作成した (**Figure 1-4**)。左上に位置するほど溶解性が高いことを示し、*tert*-ブチル基を導入した溶解性の高い化合物群が左上に位置する傾向が見られた。Loft ら¹¹は、GlcNAc *O-p*-NP グリコシドに対して、Bzld 基の *p* 位アルキル鎖修飾による同様のアプローチで化合物の溶解性の改善を試みたが、溶解性に殆ど変化は見られず、本戦略を断念したことを報告しているが、本研究ではこれに反する結果を得た。第一章で有用性を示した、TBBzld 基保護体 **1-10b–13b** においては、**1-10a–13a** と比較して高い溶解性向上効果が確認された。一方、SPh 基 (**1-10c**、**1-11c**)、Bz 基 (**1-12c**)、Bn 基 (**1-13c**) のみを *tert*-ブチル修飾した誘導体については、TBBzld 基のみを導入した誘導体における溶解性の変化と比較して効果は弱いものであったが、TBBzld 基と組み合わせることにより顕著な溶解性の向上が見られた (**1-10d–13d**)。興味深いことに、Bz 基 (**1-12a** → **1-12c**, **1-12b** → **1-12d**) 及び Bn 基 (**1-13a** → **1-13c**, **1-13b** → **1-13d**) における *tert*-ブチル基修飾による変化を比較すると、TBBz 基の方が TBBn 基に比べて溶解性向上に対する寄与が大きい傾向が見られた。以上の結果から、種々の芳香族系保護基に対する *p* 位 *tert*-ブチル基修飾が、糖誘導体の溶解性向上に有効である可能性が示唆された。尚、Kononov¹²は、基質や反応条件によって、非共有結合に基づく反応混合物の超分子集合体を形成するという「supramer」の概念を提唱しているが、本研究において化合物 **1-12b**、**1-10d–12d** で見られた粒子径の減少は、*tert*-ブチル基の嵩高さにより分子間の凝集が抑制されたためであると推測され、supramer は形成されにくいと考えられる。

¹¹ Loft, K. J.; Bojarová, P.; Slámová, K.; Křen, V.; Williams, S. J. *ChemBioChem* **2009**, *10*, 565–576.

¹² Kononov, L. O. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 46718–46734.

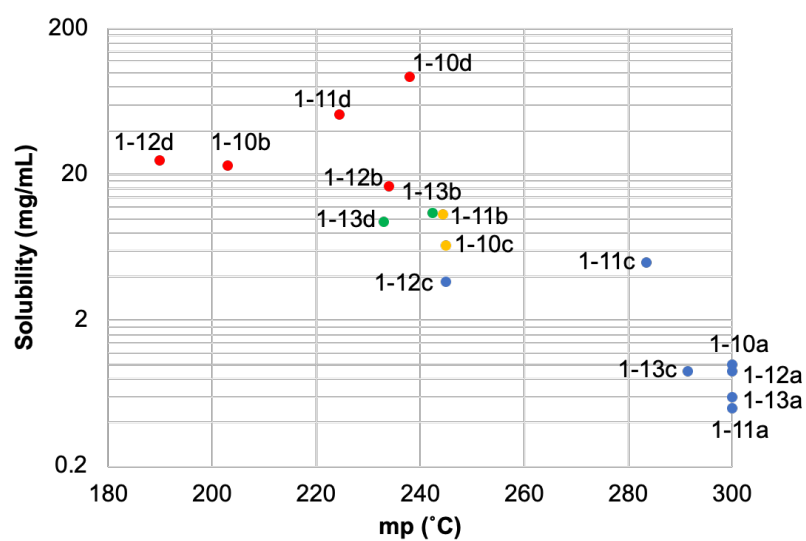


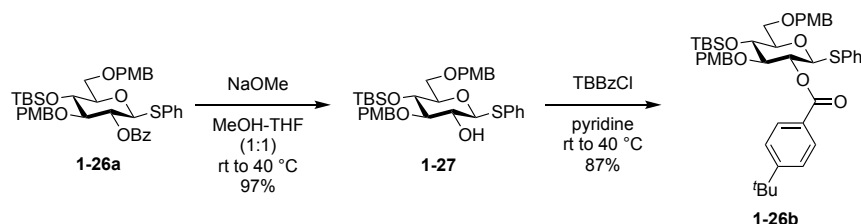
Figure 1-4. Relationships among M.p., solubility, and particle size of GlcNAc derivatives. The colors of the data points indicate their particle diameters (~1.0 nm (red), ~300 nm (yellow), ~1000 nm (green), and N.D. (blue)).

第三章 グリコシル化反応における *p*-*tert*-ブチル基修飾の影響

第一節 TBBz 型 GlcCer 受容体の合成

前章において得られた、TBBz 基の溶解性向上に対する効果が高いという結果を受け、GlcCer 誘導体への応用を試みることにした。当研究室ではこれまでに、GlcCer ユニットとしてオリゴ糖鎖供与体に導入すると高い収率で GSL 骨格を得ることが出来る「GlcCer カセットアプローチ」を報告しており¹³、これまでに本手法により種々のガングリオシドの全合成を達成している¹⁴。しかし、低温における結晶性は凄まじく、シアリル化を代表とする低温条件が必要な化学反応には適用が難しいという課題が残されている。加えて、酸触媒の当量によっては、分子中に有する PMB 基の脱離が見られる可能性がある。そのため、本研究において有用性を示した *tert*-ブチル基置換型保護基の適用により改善が可能であると考えた。

まず、Glc 供与体の合成を行なった (Scheme 1-9)。化合物 **1-26a** に対し、2 位 Bz 基の除去、TBBz 化を行い、化合物 **1-26b** を得た。

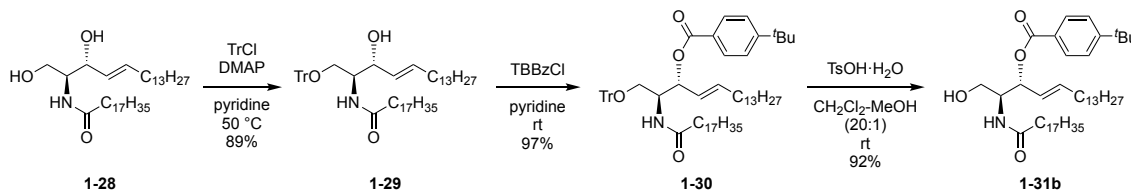


Scheme 1-9. Synthesis of Glc donor **1-26b**.

¹³ Imamura, A.; Ando, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3009–3023.

¹⁴ (a) Tamai, H.; Ando, H.; Tanaka, H.-N.; Hosoda-Yabe, R.; Yabe, T.; Ishida, H.; Kiso, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 2330–2333; (b) Nakashima, S. Ando, H.; Saito, R.; Tamai, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *Chem. Asian J.* **2012**, 7, 1041–1051; (c) Tamai, H.; Imamura, A.; Ogawa, J.; Ando, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 5199–5211; (d) Goto, K.; Sawa, M.; Tamai, H.; Imamura, A.; Ando, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 8323–8331.

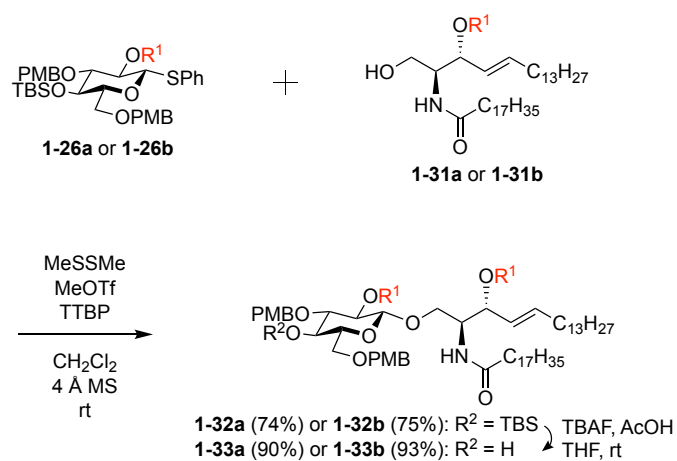
次に、Cer 受容体の合成を行なった (Scheme 1-10)。化合物 **1-28** に対し、1 位 Tr 化、3 位 TBBz 化、Tr 基の除去を行い、化合物 **1-31b** を得た。



Scheme 1-10. Synthesis of Cer acceptor **1-31b**.

続いて、GlcCer 受容体の合成について述べる (Scheme 1-11)。Bz 基及び TBBz 基置換型 GlcCer 骨格 **1-30a** 及び **1-30b** は、それぞれ対応する Glc 供与体 **1-26a** 及び **1-26b**、Cer 受容体 **1-31a** 及び **1-31b** の縮合反応により構築した。活性化剤には、CH₂Cl₂ 溶媒中、MeSSMe、MeOTf から *in situ* で生成した DMTST¹⁵を用いた。続く TBS 基の除去により、GlcCer 受容体 **1-33a** 及び **1-33b** をそれぞれ得た。グリコシル化及び TBS 基の除去における収率は、共に、Bz 型及び TBBz 型誘導体において同程度であった。驚くべきことに、Bz 基置換型 **1-33a** 及び TBBz 基置換型 **1-33b** の物性には顕著な変化が見られ、CH₂Cl₂ に溶解した **1-33a** 及び **1-33b** の -40 °C における挙動は大きく異なっていた (Figure 1-5)。次節では、**1-33a** 及び **1-33b** を用いた反応性の比較について述べる。

¹⁵ (a) Ohtsuka, I.; Ako, T.; Kato, R.; Daikoku, S.; Koroghi, S.; Kanemitsu, T.; Kanie, O. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1476–1487; (b) Komura, N.; Yamazaki, A.; Imamura, A.; Ishida, H.; Kiso, M.; Ando, H. *Trends Carbohydr. Res.* **2017**, *9*, 1–26.



Scheme 1-11. Synthesis of GlcCer acceptor. **1-26a**, **31a–33a**: R¹ = Bz. **1-26b**, **31b–33b**: R¹ = TBBz.

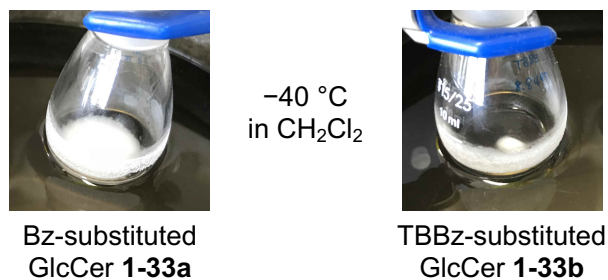
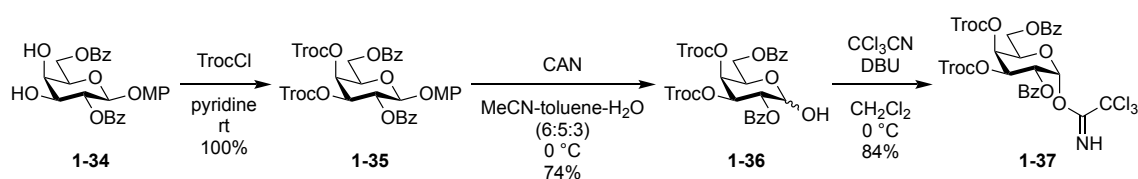


Figure 1-5. The behavior of **1-33a** and **1-33b** in CH₂Cl₂ at -40 °C.

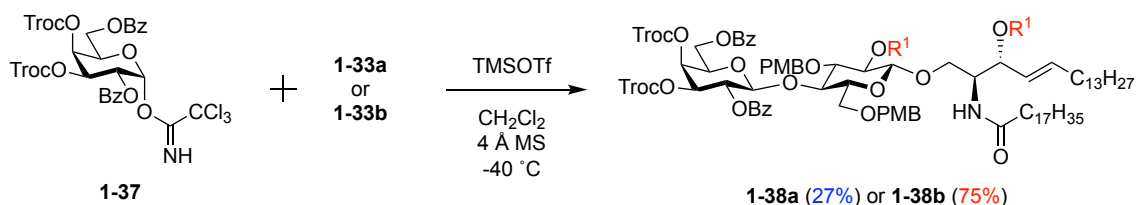
第二節 Bz 型 GlcCer 受容体との反応性の比較

GlcCer 受容体 **1-33a** 及び **1-33b** の化学反応における違いを検証するため、低温下におけるグリコシル化を行い LacCer 骨格を構築することにより比較することとした。まず、Gal 供与体の合成を行なった。化合物 **1-34**¹⁶ に対し、3,4 位 Troc 化、MP 基の除去、脱離基の導入を行い、化合物 **1-37** を得た (Scheme 1-12)。



Scheme 1-12. Synthesis of Gal donor **1-37**.

前節で合成した GlcCer 誘導体 **1-33a** 及び **1-33b** を用い、低温条件下におけるグリコシル化反応により反応性の比較を行なった (Scheme 1-13)。-40 °C にて、Gal 供与体 **1-37** とのグリコシル化反応を試みたところ、収率に顕著な違いが見られ、低温下における化合物 **1-33a** の難溶性がグリコシル化収率に影響を与えたと強調できる。以上の観点から、芳香族系保護基の *p* 位 *tert*-ブチル基修飾により、低温条件を必要とする化学反応や、温度による反応制御が可能となることが示唆された。



Scheme 1-13. Glycosylation of GlcCer acceptor. **1-38a**: R¹ = Bz. **1-38b**: R¹ = TBBz.

¹⁶ Gu, G.; Du, Y.; Pan, J. *Carbohydr. Res.* **2002**, 337, 1313–1317.

第二部

蛍光スフィンゴ糖脂質プローブの開発と 細胞膜ドメインの動態解明に関する研究

真核生物や一部の細菌には、スフィンゴ糖脂質 (GSL) と呼ばれる脂質を持つことが知られている。GSL は、疎水性のセラミドと親水性の糖鎖部分からなる分子であり¹、これまでに、糖鎖構造の違いから 400 種類以上が同定されている²。また、タンパク質や脂質とともに細胞膜を構成する分子として広く知られており、1972 年に Singer と Nicolson らにより「流動モザイクモデル³」が提唱されて以降、生体膜の構造や機能に関する研究が精力的になされてきた。現在では、細胞膜の特定の分子が互いに凝集することで細胞膜マイクロドメインを形成するという概念が支持されるようになった。このようなドメインに多くの生理活性物質の受容体が存在することが見出され、細胞膜における情報変換の中心的な部位である可能性が示唆されている。

細胞膜ドメインの一つに、「脂質ラフト」が知られている。脂質ラフトは Simons らにより提唱された概念であり⁴、直径 10–200 nm と不均一で、必要に応じて集合離散を繰り返すダイナミックなドメインと考えられており、「GSL とコレステロールに富み、GPI アンカー型タンパク質や脂質を介して細胞膜にアンカリングされた細胞内情報伝達分子を含む膜ドメインである⁵」と定義されている。脂質ラフトにおける GSL の役割としてまず、脂質ラフトに存在する受容体タンパク質との側方の相互作用 (*cis* 相互作用) により、細胞内シグナ

¹ Degroote, S.; Wolthoorn, J.; van Meer, G. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2004**, *15*, 375–387.

² Hakomori, S. *Curr. Opin. Hematol.* **2003**, *10*, 16–24.

³ Singer, S. J.; Nicolson, G. L. *Science* **1972**, *175*, 720–731.

⁴ Simons, K.; Ikonen, E. *Nature* **1997**, *387*, 569–572.

⁵ Nakagawa, H.; Iwabuchi, K. *Seikagaku* **2017**, *89*, 62–72.

ル伝達を促進的あるいは抑制的に制御する機能が挙げられる。例えば、代表的な GSL の一つであるガングリオシド GM3 は、脂肪細胞におけるインスリン受容体⁶や、上皮成長因子受容体 (EGFR)⁷ の機能を制御することが知られている。また、神経細胞に豊富に存在するガングリオシド GM1 は、神経成長因子受容体 (NGFR) TrkA⁸や、細胞外マトリックス分子であるラミニン-1⁹と結合し、シグナル伝達の活性化と神経突起伸長を促進することが報告されている。このように、脂質ラフトは様々な生命現象に関与していることが明らかとなっており、脂質ラフトの病態生理学的な役割についても近年注目されている。

一方、GSL の二つ目の役割として、GSL 自身がマイクロドメインを形成し、細胞内へ情報を伝達する機能が知られている。このような役割を担うドメインは Hakomori ら¹⁰により提唱され、グライコシグナリングドメイン (GSD) と呼ばれている。GSD に対して *trans* 相互作用で結合する分子として最もよく知られているのは、コレラ毒素のような菌体由来の毒素である。コレラ毒素の B サブユニットは五量体を形成することで、GM1 のクラスターと強固に結合することが知られており¹¹、Src ファミリーキナーゼの Lyn の活性化と神経突起伸長が起こる⁹。志賀赤痢菌や腸管出血性大腸菌の産生するシガ毒素は、Gb3 のクラスターに特異的に結合し、Yes の活性化及び細胞のアポトーシスを誘導する¹²。

以上に述べたように、GSL は糖鎖構造の僅かな違いによって異なる脂質ラフトや GSD を

⁶ Kabayama, K.; Sato, T.; Saito, K.; Loberto, N.; Prinetti, A.; Sonnino, S.; Kinjo, M.; Igarashi, Y.; Inokuchi, J. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, *104*, 13678–13683.

⁷ (a) Ringerike, T.; Blystad, F. D.; Levy, F. O.; Madhus, I. H.; Stang, E. *J. Cell Sci.* **2002**, *115*, 1331–1340; (b) Roepstorff, K.; Thomsen, P.; Sandvig, K.; van Deurs, B. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 18954–18960.

⁸ (a) Mutoh, T.; Tokuda, A.; Miyadai, T.; Hamaguchi, M.; Fujiki, N. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1995**, *92*, 5087–5091; (b) Nishio, M.; Fukumoto, S.; Furukawa, K.; Ichimura, A.; Miyazaki, H.; Kusunoki, S.; Urano, T.; Furukawa, K. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 33368–33378.

⁹ Ichikawa, N.; Iwabuchi, K.; Kurihara, H.; Ishii, K.; Kobayashi, T.; Sasaki, T.; Hattori, N.; Mizuno, Y.; Hozumi, K.; Yamada, Y.; Arikawa-Hirasawa, E. *J. Cell Sci.* **2009**, *122*, 289–299.

¹⁰ Hakomori, S.; Handa, K.; Iwabuchi, K.; Yamamura, S.; Prinetti, A. *Glycobiology* **1998**, *8*, xi–xviii.

¹¹ Lesieur, C.; Cliff, M. J.; Carter, R.; James, R. F. L.; Clarke, A. R.; Hirst, T. R. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 16697–16704.

¹² Katagiri, Y. U.; Kiyokawa, N.; Fujimoto, J. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **2001**, *13*, 281–290.

構成し、異なる機能に関与する可能性が示唆されており、細胞膜ドメインにおける分子間相互作用の詳細な機構を明らかにすることは、生物学・医学研究における重要な課題である¹³。

現在では、高感度の単分子イメージング技術により、生きた細胞の細胞膜上でラフトにおける分子の動態、分布、相互作用を観察出来るようになっている。Suzuki らは、GPI アンカー型タンパク質 CD59 が会合体シラフトを形成する際に、STALL (Stimulation-induced Temporary Arrest of Lateral diffusion) と呼ばれる一時停留と遅い拡散運動を繰り返す様子を観察することに成功している¹⁴ (**Figure 2-1a**)。更に、その後の研究により、刺激前の定常状態において、GPI アンカー型受容体が同じ分子同士で寿命が 200 ミリ秒程度の安定な「ホモダイマーラフト」を形成することが明らかとなった¹⁵。このホモダイマーラフトは、同じタンパク質同士の特異的なタンパク質相互作用、また、脂質部分のラフト脂質相互作用によってコレステロールや飽和脂質が凝集し安定化されることにより形成される。更にリガンド刺激後には、ホモダイマーラフトは 2 個以上会合して、寿命が数秒或いは数分以上の安定な会合体を形成し、その後、シグナル伝達を引き起こされることが分かった (**Figure 2-1b**)。即ち、刺激前から安定で大きなラフトを形成しているという、Simons らが提唱した「初期ラフトモデル」は否定され、細胞外からのシグナル分子が受容体に結合して on-demand で安定なラフトが形成されることが証明された。

¹³ Furukawa, K. *Seikagaku* **2016**, 88, 369–379.

¹⁴ (a) Suzuki, K. G. N.; Fujiwara, T. K.; Sanematsu, F.; Iino, R.; Edidin, M.; Kusumi, A. *J. Cell Biol.* **2007**, 177, 717–730; (b) Suzuki, K. G. N.; Fujiwara, T. K.; Edidin, M.; Kusumi, A. *J. Cell Biol.* **2007**, 177, 731–742.

¹⁵ Suzuki, K. G. N.; Kasai, R. S.; Hirose, K. M.; Nemoto, Y. L.; Ishibashi, M.; Miwa, Y.; Fujiwara, T. K.; Kusumi, A. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, 8, 774–783.

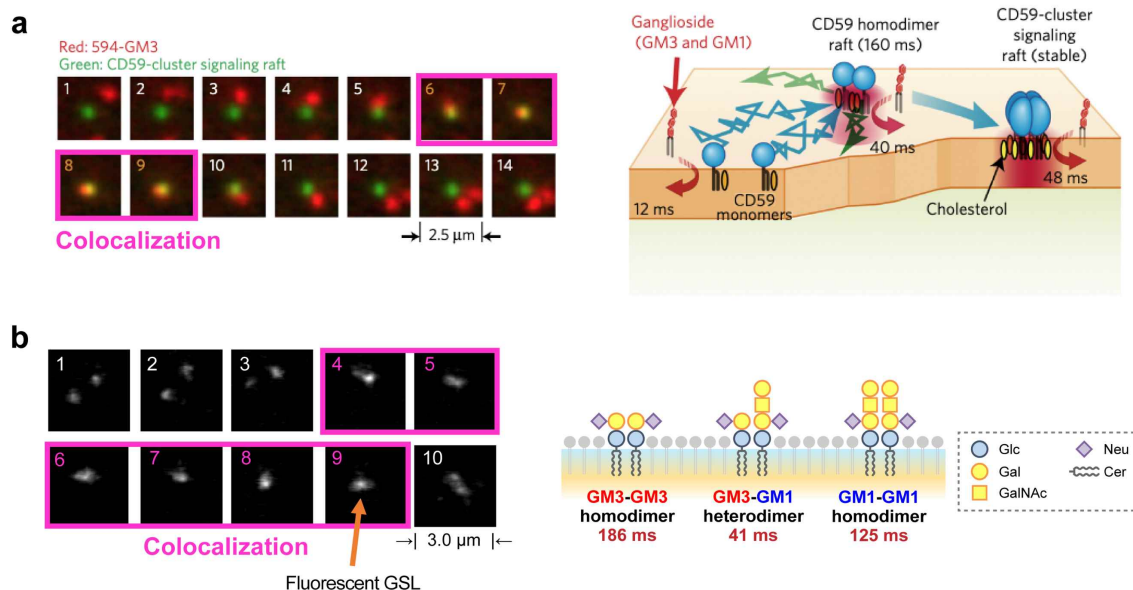


Figure 2-2. (a) Typical superimposed video-frame sequences of a CD59-cluster signaling raft and single molecules of 594-GM3, and schematic figure showing the transient association of gangliosides (GM1 and GM3) with CD59 monomers, transient homodimer rafts, and CD59-cluster signaling rafts. (b) Typical superimposed video-frame sequences of a homodimerization of GSL, and homodimer (GM3-GM3 and GM1-GM1) and heterodimer lifetimes observed by single molecule imaging.

第一章では、糖鎖-糖鎖相互作用の分子対称性の理解に向けた非天然型 L-LacCer 蛍光プローブの合成及び解析について、第二章では、癌抗原及び細胞分化関連抗原として知られている SSEA-3、SSEA-4、Globo-H 蛍光プローブの合成及び解析について述べる。そして、グリオシドが関わる細胞膜ドメインの形成機構、延いては細胞膜ドメインが関連する疾患の発症機構解明やその治療法の開発を目指す。尚、各プローブのねらいとするところは、各章の冒頭で詳しく述べる。

第一章 L-LacCer 蛍光プローブの開発

当研究室ではこれまでに、ガングリオ系列を中心に GSL の蛍光プローブが合成され、ホモダイマー寿命の比較が行われた (**Figure 2-3**)。その結果、LacCer 以上の糖残基を持つ GSL でホモダイマー化が起こることが示された。LacCer は、ヒト好中球の表面でマイクロドメインを形成し、遊走・貪食・活性酸素産生に関与することが知られている¹⁹。このことから、GSL のホモダイマー化と細胞膜ドメインの形成に関連性があることが示唆された。更に、ホモダイマー寿命を詳細に比較すると、asialo 体のモノシアル化によりホモダイマー寿命が長くなること (eg. LacCer < GM3)、糖鎖の分岐により寿命が短くなる (eg. GM3 > GM2 > GM1) という傾向が見られた。

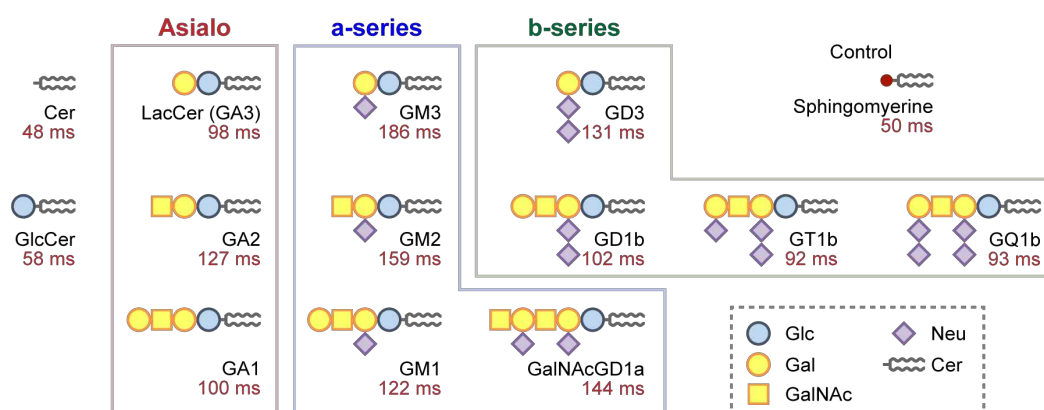


Figure 2-3. GSLs and homodimer lifetimes investigated previously.

当研究室では現在、GSL のホモダイマー化の機構を精査するため、種々の蛍光プローブを合成し解析を行なっている。当研究室の山崎は、GM3 の官能基構造を変換した GM3 の蛍

¹⁹ (a) Sato, T.; Iwabuchi, K.; Nagaoka, I.; Adachi, Y.; Ohno, N.; Tamura, H.; Seyama, K.; Fukuchi, Y.; Nakayama, H.; Yoshizaki, F.; Takamori, K.; Ogawa, H. *J. Leukoc. Biol.* **2006**, *80*, 204–211; (b) Iwabuchi, K.; Nagaoka, I. *Blood* **2002**, *100*, 1454–1464; (c) Nakayama, H.; Yoshizaki, F.; Prinetti, A.; Sonnino, S.; Mauri, L.; Takamori, K.; Ogawa, H.; Iwabuchi, K. *J. Leukoc. Biol.* **2008**, *83*, 728–741.

光プローブを系統的に合成し、ホモダイマー寿命の測定を行なった²⁰ (Figure 2-4)。Neu 5 位デアミノ型及び Neu 1 位デカルボキシル型 GM3 のホモダイマー寿命はそれぞれ 148 ms、197 ms であり、Neu 5 位アセトアミド構造が安定なホモダイマーの形成に重要であることが示唆された。また、カルボキシル基の電荷は受容体タンパク質との相互作用に重要である可能性が推測された。更に、Cer 部位の構造変換型プローブの合成も行われた。Phyto 型 GM3 プローブのホモダイマー寿命は 164 ms となり、Cer のオレフィン構造が脂質分子のクラスタリングに重要である可能性を示唆した。また、脂質鎖長を変換した場合、C16 以上の脂肪酸の長さがホモダイマー形成に必須であるが、ホモダイマーの形成のし易さに差は見られなかった。

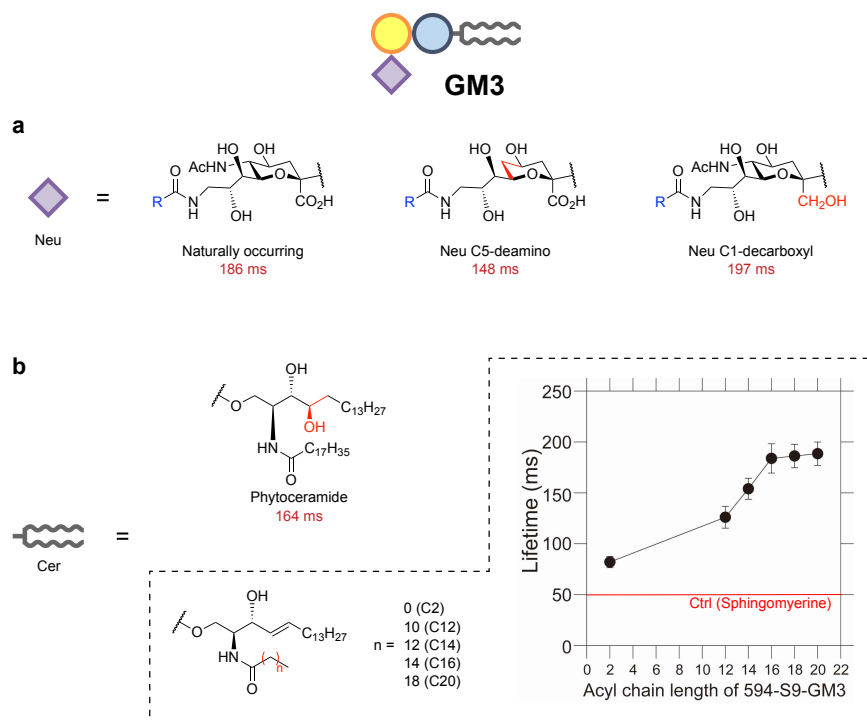


Figure 2-4. Structure modified GM3 probes synthesized previously. (a) Neu-modified analogs and homodimer lifetimes. (b) Lipid part-modified analogs and homodimer lifetimes. R = ATTO594 fluorophore.

²⁰ 山崎彩乃 岐阜大学大学院応用生物科学研究科平成 27 年度修士論文 2016.

以上に述べたように、GSL のホモダイマーは、特異的な糖鎖-糖鎖相互作用による GSL のダイマー化の誘導及び、脂質-脂質相互作用による安定化を受けることにより形成されるという、詳細なメカニズムを推定した。

我々は引き続き、GSL のホモフィリックなドメインの形成因を明らかにするための研究を進めている。GSL の糖鎖部位における水素結合能が細胞膜でクラスターを形成するのに重要であると考えられており²¹、糖鎖同士が互いに平行に重なり合いパッキングされることによりホモダイマーの形成が誘導されると仮定している。本研究では、各種 GSL の生合成の起点であり、細胞膜ドメインを形成する知見のある最小構造を有する LacCer に着目し、糖鎖部位が鏡像異性関係にある L 糖に置換した非天然型 GSL 構造を有する蛍光プローブを合成することにより、GSL ホモダイマーの形成因を明らかにすることを目指した (Figure 2-5)。また、現在までに提唱されている LacCer の脂質ラフトモデルは、脂肪酸鎖に着目したもの²²であるため、LacCer を含む細胞膜ドメイン像の解明にも新たな知見を与えることが出来ると期待される。

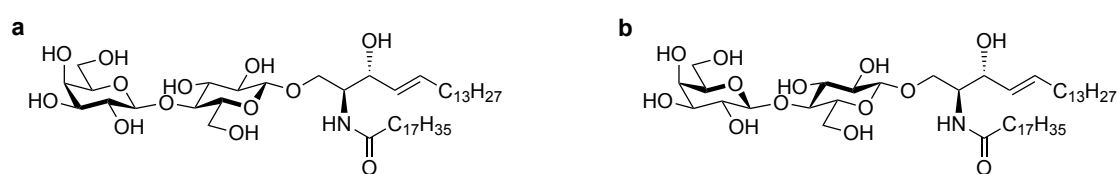


Figure 2-5. Structures of LacCer. (a) Naturally occurring LacCer (D-LacCer) and (b) unnatural LacCer (L-LacCer).

²¹ Gu, R.-X.; Ingólfsson, H. I.; de Vries, A. H.; Marrink, S. J.; Tieleman, D. P. *J. Phys. Chem. B* **2017**, *121*, 3262–3275.

²² (a) Grant, C. W. M.; Mehlhorn, I. E.; Florio, E.; Barber, K. R. *Biochim. Biophys. Acta* **1987**, *902*, 169–177; (b) Morrow, M. R.; Singh, D.; Lu, D.; Grant, C. W. *Biophys. J.* **1995**, *68*, 179–186; (c) Li, X.-M.; Momsen, M. M.; Brockman, H. L.; Brown, R. E. *Biophys. J.* **2002**, *83*, 1535–1546; (d) Chiricozzi, E.; Ciampa, M. G.; Brasile, G.; Compostella, F.; Prinetti, A.; Nakayama, H.; Ekyalongo, R. C.; Iwabuchi, K.; Sonnino, S.; Mauri, L. *J. Lipid Res.* **2015**, *56*, 129–141.

第一節 分子設計と合成戦略

これまでの報告から、天然の GSL と同等の性質を保持したプローブを合成するためには、分子設計が極めて重要となることがわかっている。GSL は、Cer 部分の水酸基やアセトアミド構造から生じる水素結合や、炭化水素鎖によるファンデルワールス力に基づく側方向の相互作用によって細胞膜上でクラスターを形成する²³。種々の蛍光標識及び修飾位置を変えた蛍光プローブを系統的に合成し、物理化学的性質を評価した結果、脂質間相互作用を妨げない糖鎖末端に親水性の蛍光標識 (eg. ATTO594) を導入することが望ましいことが示され、これまでにラフト研究に用いられてきた²⁴、Neu 5 位 NHAc 基²⁵や脂質部位²⁶を修飾した (eg. Bodipy-FL-GM1) プローブは、ラフト分子としての性質を示さないことが明らかとなった。糖鎖部分の修飾位置については、例えば、Neu 9 位を蛍光修飾したプローブは、ラフト分子の性質が保持されるが、内部 Gal 6 位を標識した分子は、ラフト分子としての性質を損なうことがわかっている。

本研究で標的とする LacCer の糖鎖構造は、Gal-Glc からなる二糖骨格であるため、これまでに得られた知見を踏まえると、Gal 6 位への修飾は望ましくないと考えられた。当研究室の山口は、天然型である D-LacCer 蛍光プローブの合成を行っており、GM3 プローブの蛍光標識導入位置である Neu 9 位から標的水酸基である Gal 3 位までの距離を参考にスペーサ

²³ Sonnino, S.; Prinetti, A.; Mauri, L.; Chigorno, V.; Tettamanti, G. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2111–2125.

²⁴ (a) Taylor, D. R.; Watt, N. T.; Perera, W. S. S.; Hooper, N. M. *J. Cell Sci.* **2005**, *118*, 5141–5153; (b) Lenne, P.-F.; Wawrezynieck, L.; Conchonaud, F.; Wurtz, O.; Boned, A.; Guo, X.-J.; Rigneault, H.; He, H.-T.; Marguet, D. *EMBO J.* **2006**, *25*, 3245–3256; (c) Jones, R.; Howes, E.; Dunne, P. D.; James, P.; Bruckbauer, A.; Klenerman, D. *Dev. Biol.* **2010**, *339*, 398–406; (d) Svistounov, D.; Warren, A.; McNerney, G. P.; Owen, D. M.; Zencak, D.; Zykova, S. N.; Crane, H.; Huser, T.; Quinn, R. J.; Smedsrød, B.; Couteur, D. G. L.; Cogger, V. C. *PLoS One* **2012**, *7*, e46134.

²⁵ Polyakova, S. M.; Belov, V. N.; Yan, S. F.; Eggeling, C.; Ringemann, C.; Schwarzmans, G.; de Meijere, A.; Hell, S. W. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 5162–5177.

²⁶ Eggeling, C.; Ringemann, C.; Medda, R.; Schwarzmans, G.; Sandhoff, K.; Polyakova, S.; Belov, V. N.; Hein, B.; von Middendorff, C.; Schönle, A.; Hell, S. W. *Nature* **2009**, *457*, 1159–1162.

一長を設定し、親水性のトリエチレングリコール鎖を介して蛍光標識を導入することにより、天然の GSL の物理学的性質を保持したプローブを合成することに成功した²⁷ (Figure 2-6)。

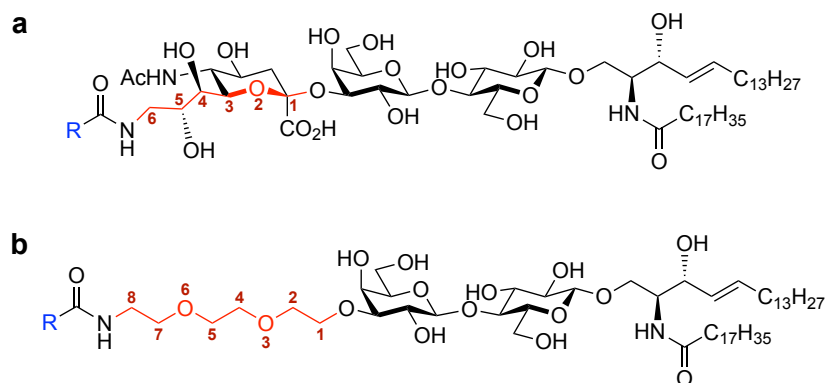


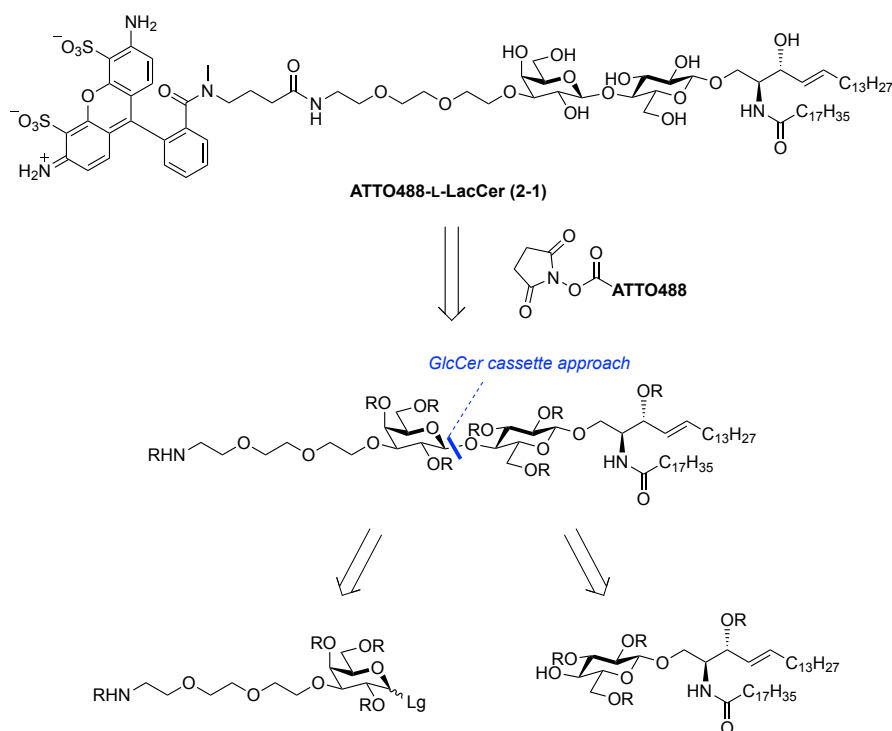
Figure 2-6. Fluorescently labeled (a) GM3 and (b) LacCer synthesized previously. R = fluorophore.

本研究では、D-LacCer プローブの知見に従い、L-Gal 供与体に対し、L-GlcCer 受容体のグリコシル化を行うことにより、LacCer 骨格の構築を行う経路を考案した (Scheme 2-1)。蛍光標識は、ATTO594 標識した D-LacCer プローブとの一分子 FRET 解析を行うことを想定し、優れた水溶性を示す ATTO488 (ATTO-TEC GmbH, Siegen, Germany) を選択した。FRET (蛍光共鳴エネルギー移動、またはフェルスター共鳴エネルギー移動) は、励起状態の蛍光ドナーから、近接した基底状態の蛍光アクセプターへの双極子-双極子カップリングによって発生するエネルギー移動で、二分子がフェルスター半径内に入り FRET が起こるとドナーの蛍光が減衰し、エネルギー移動によって励起状態となったアクセプターが蛍光を発する²⁸。Lam らは、ドナーとアクセプターに Clover-mRuby2 の蛍光タンパク質ペアを用いることにより、汎用性の高い CFP-YFP ペアにおける低いダイナミックレンジを改善したことを

²⁷ 山口英利子 岐阜大学応用生物科学部平成 26 年度卒業論文 2015.

²⁸ Algar, W. R.; Hildebrandt, N.; Vogel, S. S.; Medintz, I. L. *Nat. Methods* **2019**, 16, 815–829.

報告している²⁹。ATTO488-ATTO594 ペアにおいても、Clover-mRuby2 と同程度のダイナミックレンジを持ち、高い FRET 効率を発揮することが期待出来る (Figure 2-7)。尚、Suzuki ら³⁰は、ATTO488 及び Alexa594 をそれぞれドナー、アクセプターとして用い、一分子 FRET により CD59 のホモダイマー化の解析を行なっている。蛍光団同士が互いに一定の距離内まで近接した際にのみ FRET が起こるため、単にラフト領域に二分子が入ったのではなく、細胞外に露出したタンパク質部分が相互作用して真のダイマーが形成されることを明らかにしている。本研究においても、FRET により糖鎖-糖鎖相互作用の寄与を直接的に調べることができると期待される。



Scheme 2-1. Retrosynthetic analysis of the ATTO488-L-LacCer probe **2-1**.

²⁹ Lam, A. J.; St-Pierre, F.; Gong, Y.; Marshall, J. D.; Cranfill, P. J.; Baird, M. A.; McKeown, M. R.; Wiedenmann, J.; Davidson, M. W.; Schnitzer, M. J.; Tsien, R. Y.; Lin, M. Z. *Nat. Methods* **2012**, 9, 1005–1012.

³⁰ Suzuki, K. G. N.; Kasai, R. S.; Hirose, K. M.; Nemoto, Y. L.; Ishibashi, M.; Miwa, Y.; Fujiwara, T. K.; Kusumi, A. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, 8, 774–783.

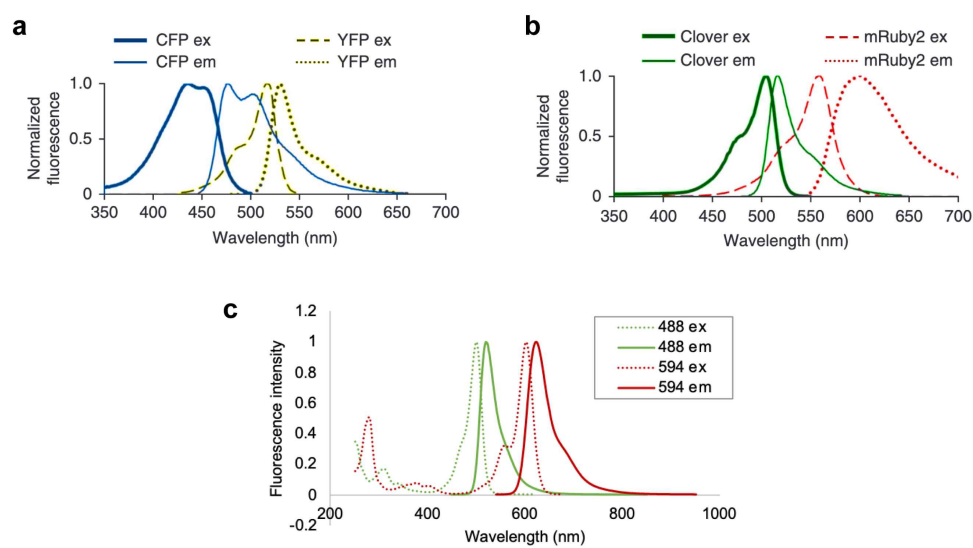
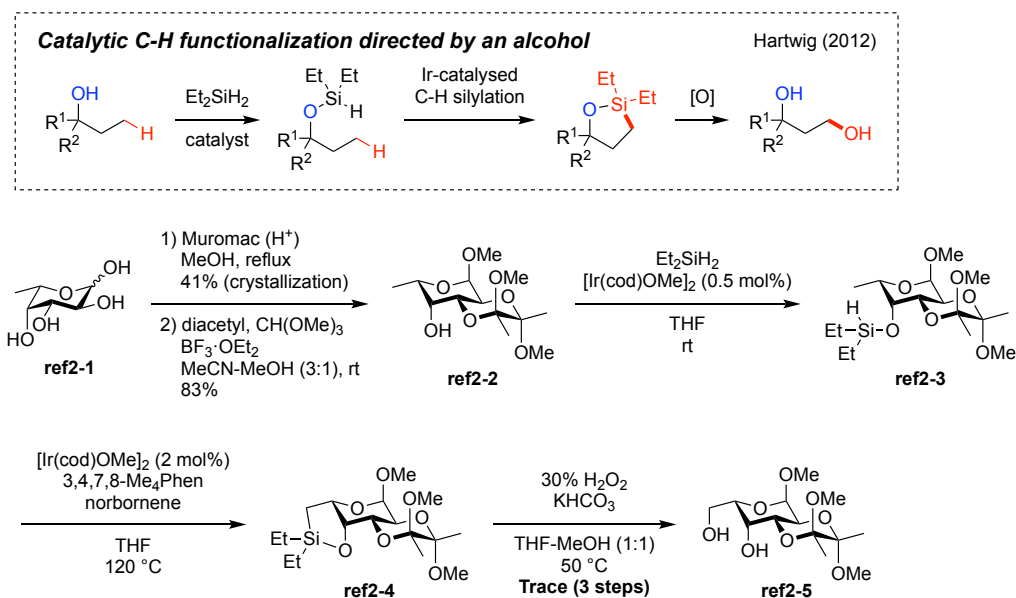


Figure 2-7. Excitation and emission spectra of (a) CFP-YFP, (b) Clover-mRuby2 and (c) ATTO488-ATTO594 pairs. ex = excitation, em = emission.

第二節 L-LacCer プロープの合成

第一項- L-Gal 供与体の合成

L-Gal は市販品より供給可能であるものの、少量且つ高価であるため大量合成には不適であった。当研究室の菅原³¹は、Frihed らの報告³²に従い、L-Fuc **ref2-1** を出発とし、イリジウム触媒を用いた C-H シリル化反応³³、Tamao-Fleming Oxidation を鍵反応とした、L-Gal 誘導体 **ref2-5** の合成を試みたが、触媒の不安定さ故に、再現性は得られなかった (Scheme 2-2)。



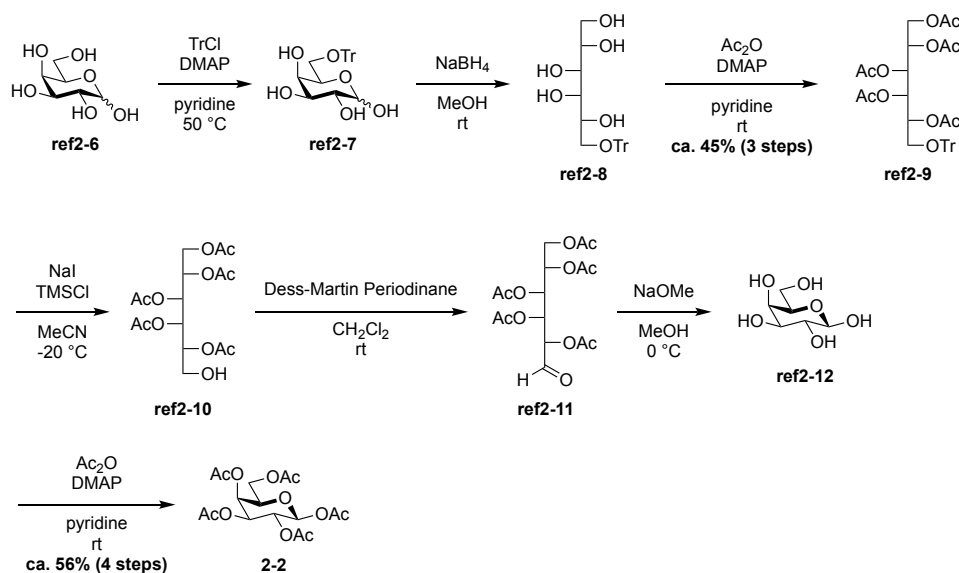
Scheme 2-2. Synthesis of L-Gal **ref 2-5** from L-Fuc **ref 2-1**.

³¹ 菅原湧斗 岐阜大学応用生物科学部平成 29 年度卒業論文 2018.

³² Frihed, T. G.; Heuckendorff, M.; Pedersen, C. M.; Bols, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 12285–12288.

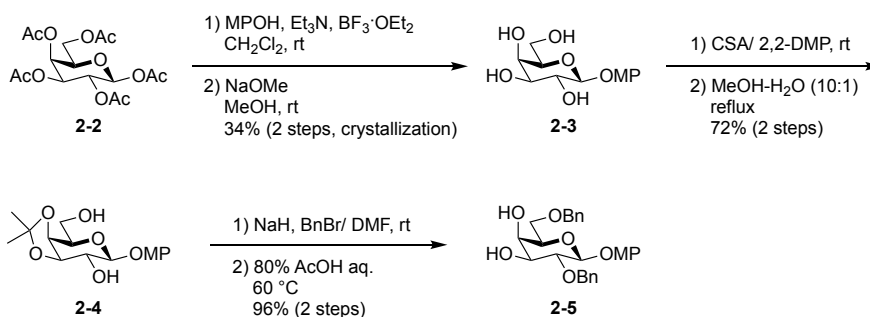
³³ Simmons, E. M.; Hartwig, J. F. *Nature* **2012**, 483, 70–73.

一方、Doboszewski ら³⁴、Orii ら³⁵により、head-to-tail inversion 法による D-Gal **ref2-6** を出発とした L-Gal **ref2-12** の合成法が報告されており、後者の方法を参考に、L-Gal 骨格 **2-2** の合成が達成された (**Scheme 2-3**)。



Scheme 2-3. Synthesis of L-Gal derivative **2-2** from D-Gal **ref 2-6**.

本項では、L-Gal 供与体への誘導について述べる。まず、化合物 **2-2** に対し、1 位の MP 化、Ac 基の除去を行い、二段階で化合物 **2-3** を得た。次に、3,4 位を Ispd 基で保護した後、2,6 位の Bn 化、Ispd 基の除去を行い、3,4-diol 体 **2-5** を得た (**Scheme 2-4**)。

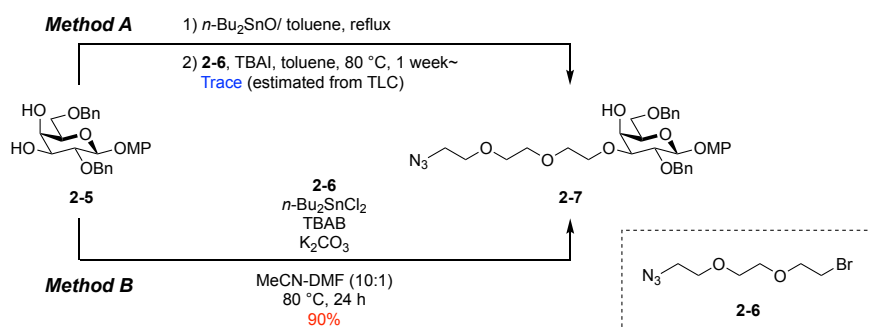


Scheme 2-4. Synthesis of L-Gal derivative **2-5**.

³⁴ Doboszewski, B.; Herdewijn, P. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 2253–2256.

³⁵ Orii, R.; Izumi, M.; Kajihara, Y.; Okamoto, R. *J. Carbohydr. Chem.* **2015**, 34, 560–566.

続いて、3 位へのスペーサー**2-6** の導入を試みた。山口³⁶の方法に従い、toluene 溶媒中、 $n\text{-Bu}_2\text{SnO}$ を作用させ、Dean-Stark 装置を用いた還流条件下でスズアセタール中間体を形成した後、**2-6**、TBAI を加え、化合物**2-7**を得ようと試みたが、反応の進行は確認されなかった (**Scheme 2-5**; see **Method A**)。一方、Xu らにより報告された、触媒量の $n\text{-Bu}_2\text{SnCl}_2$ を用いたワンポットの位置選択的アルキル化法³⁷を参考にスペーサー**2-6** の導入を試みたところ、高収率で化合物**2-7**を得ることが出来た (**Scheme 2-5**; see **Method B**)。

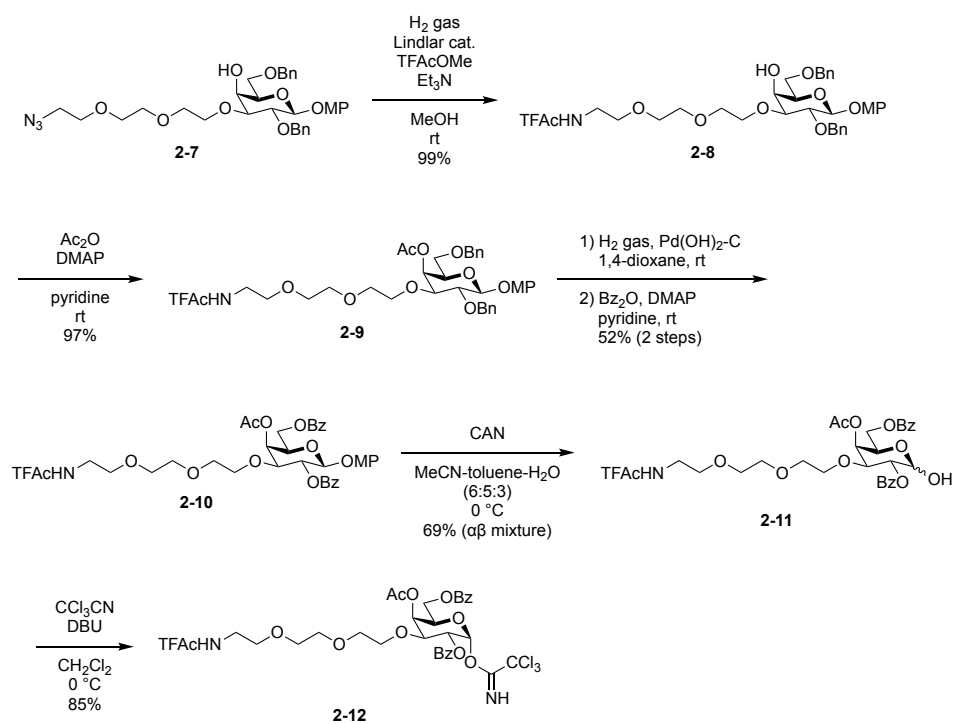


Scheme 2-5. Synthesis of spacer-conjugated L-Gal derivative **2-7**.

得られた化合物**2-7**に対し、ワンポットでのアジド基の Lindlar 還元並びに TFA アミド化、4 位への Ac 基の導入を行い、化合物**2-9**を得た。続いて、水酸化パラジウムを用いた接触水素化による Bn 基の除去を行なった後、2,6 位の Bz 化を行なった。この際、Ac 基が 6 位へ転移したことに由来する化合物が副生したため、収率は中程度に留まった。化合物**2-10**に対し、MP 基の除去、トリクロロアセトイミドイル化を行い、L-Gal 供与体**2-12**を得た (**Scheme 2-6**)。

³⁶ 山口英利子 岐阜大学応用生物科学部平成 26 年度卒業論文 2015.

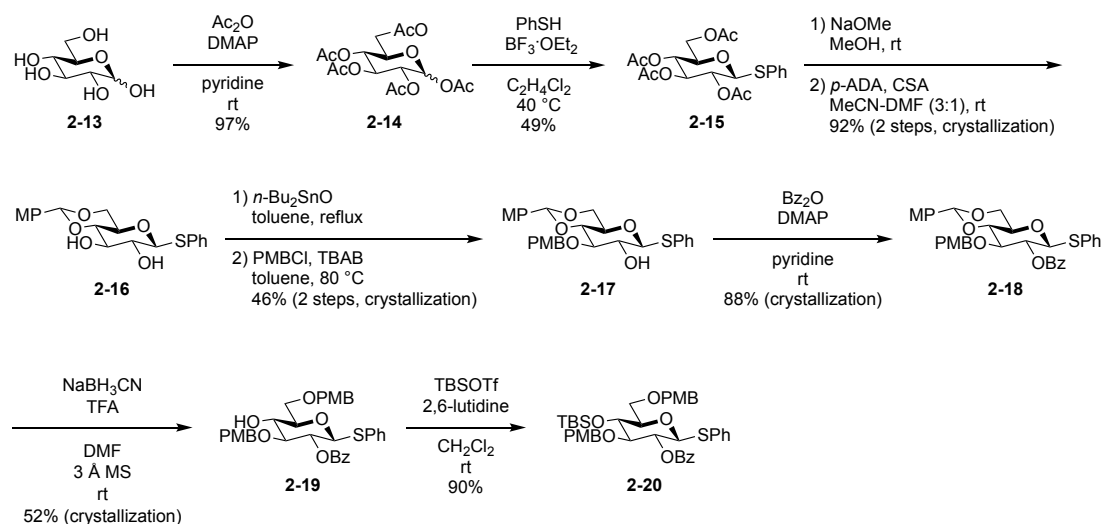
³⁷ Xu, H.; Ren, B.; Zhao, W.; Xin, X.; Lu, Y.; Pei, Y.; Dong, H.; Pei, Z. *Tetrahedron* **2016**, 72, 3490–3499.



Scheme 2-6. Synthesis of L-Gal donor **2-12**.

第二項 L-GlcCer 受容体の合成

まず、L-Glc 供与体の合成を行なった (Scheme 2-7)。供与体の設計及び合成方法は、当研究室における報告³⁸に従った。L-Glc **2-13** はグラム単位で市販品 (Cat. No. G0226; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan) の供給が可能であったため、購入して合成に用いた。化合物 **2-13** に対し、Ac 化、 β -フェニルチオ化、Ac 基の除去、4,6 位のアニシリデン化、3 位選択的 PMB 化、2 位の Bz 化、アニシリデンアセタールの還元的環開裂、4 位の TBS 化を行い、供与体 **2-20** へと導いた。

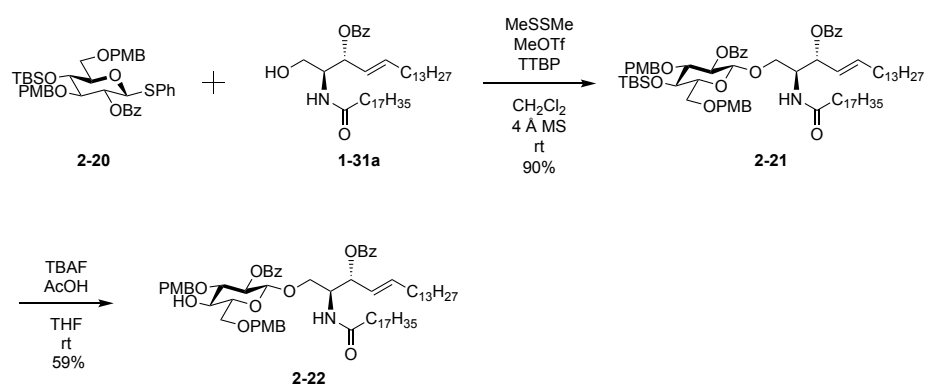


Scheme 2-7. Synthesis of Glc donor **2-20**.

次に、得られた L-Glc 供与体 **2-20** と Cer 受容体 **1-31a** の縮合反応を行なった (Scheme 2-8)。活性化剤には、 CH_2Cl_2 溶媒中、MeSSMe、MeOTf から *in situ* で調製した DMTST³⁹を用いた。続く TBS 基の除去により、L-GlcCer 受容体 **2-22** を得た。

³⁸ (a) Imamura, A.; Ando, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3009–3023; (b) Nakashima, S.; Ando, H.; Saito, R.; Tamai, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *Chem. Asian J.* **2012**, *7*, 1041–1051.

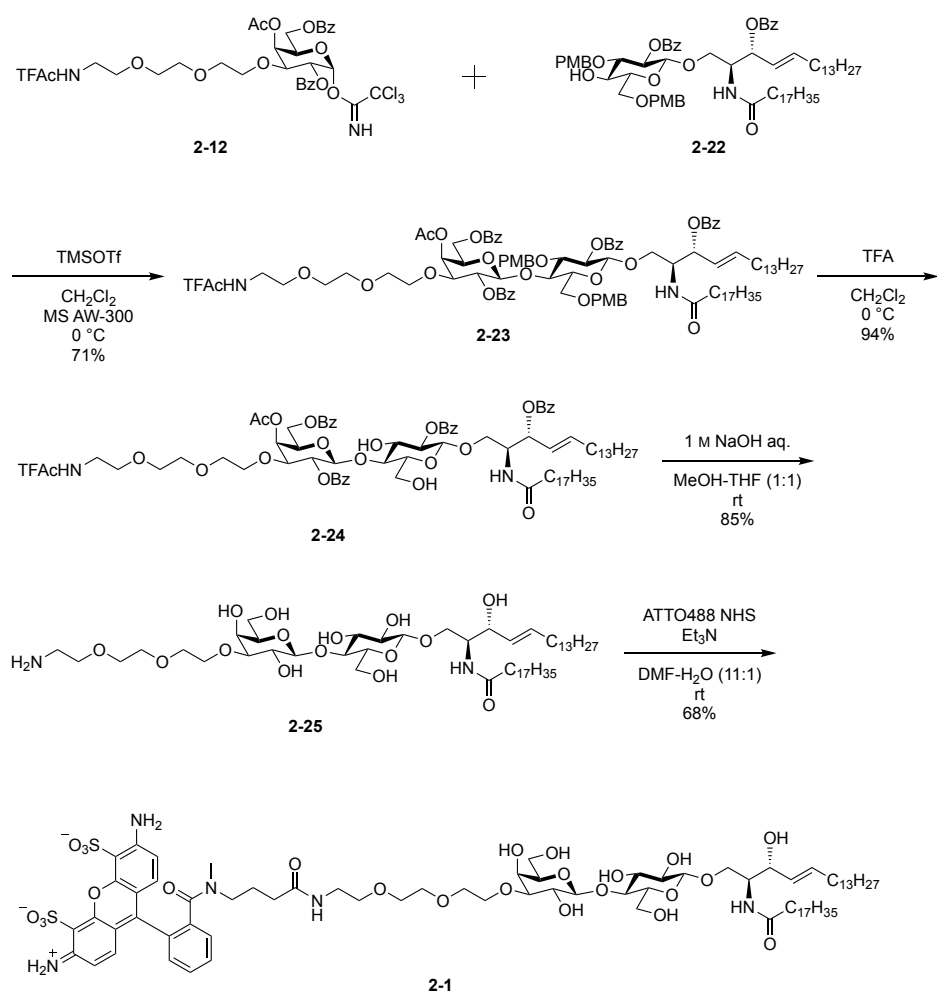
³⁹ (a) Ohtsuka, I.; Ako, T.; Kato, R.; Daikoku, S.; Koroghi, S.; Kanemitsu, T.; Kanie, O. *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1476–1487; (b) Komura, N.; Yamazaki, A.; Imamura, A.; Ishida, H.; Kiso, M.; Ando, H. *Trends Carbohydr. Res.* **2017**, *9*, 1–26.



Scheme 2-8. Synthesis of L-GlcCer acceptor **2-22**.

第三項 L-LacCer 骨格の構築、脱保護、蛍光標識の導入

まず、前項までに得られた L-Gal 供与体 **2-12** と L-GlcCer 受容体 **2-22** の縮合反応を行なった。CH₂Cl₂ 溶媒中、モレキュラーシーブス AW-300 存在下、TMSOTf を 0 °C にて作用させ、収率 71% で L-LacCer 骨格 **2-23** を構築した。PMB 基の除去、アシル系保護基の除去を行い、脱保護体 **2-25** を得た後、遊離となったスパーサー末端のアミノ基に対し、蛍光標識 ATTO488 の導入を行い、L-LacCer プローブ **2-1** の合成を達成した (Scheme 2-9)。



Scheme 2-9. Synthesis of ATTO488-L-LacCer **2-1**.

第三節 一分子追跡実験によるダイマー化の観察

まず、単色一分子観察によるホモダイマー化の観察結果について述べる (**Figure 2-8**)。互いに蛍光団の異なる ATTO594-D-LacCer のホモダイマー、ATTO488-D-LacCer のホモダイマーの形成時間は、それぞれ 98 ms、100 ms とほぼ同じ値をとり、蛍光団の違いによる影響は少ないと窺える。ATTO488-L-LacCer のホモダイマー形成時間は 102 ms であり、D 体とほぼ同じ共局在時間を示した。

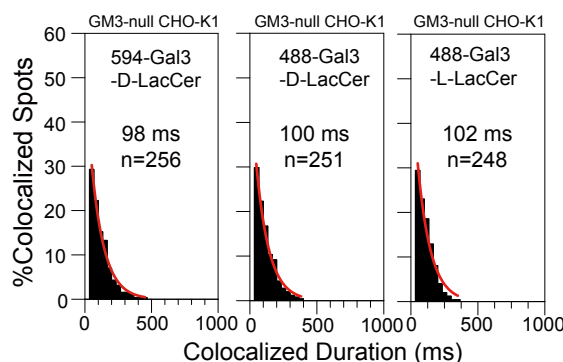


Figure 2-8. The distributions of individual colocalization durations for homodimers of 594-D-LacCer, 488-D-LacCer and 488-L-LacCer.

続いて、一分子 FRET による相互作用観察を行なった (**Figure 2-9**)。ATTO488-D-LacCer と ATTO594-D-LacCer の解析においては、CHO-K1 細胞及び人工脂質二重膜上におけるホモダイマー形成時間はそれぞれ 63 ms、65 ms であり、上記の共局在時間より短い値を示した。Suzuki らの報告⁴⁰では、CD59 ホモダイマーの共局在時間は、ラフト領域に二分子が入った時間、即ちフェルスター半径より外側の領域を含んでいるため、FRET 寿命が短くなるのは必然の結果である。従って、D 体と L 体の相互作用を調べることにより、糖鎖-糖鎖相互作用の直接的な影響を調べることが可能であると説明できる。糖鎖部分が互いに鏡像異性の

⁴⁰ Suzuki, K. G. N.; Kasai, R. S.; Hirose, K. M.; Nemoto, Y. L.; Ishibashi, M.; Miwa, Y.; Fujiwara, T. K.; Kusumi, A. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, 8, 774–783.

関係にある ATTO488-L-LacCer と ATTO594-D-LacCer のヘテロダイマー形成時間を調べたところ、CHO-K1 細胞及び人工脂質二重膜上においてそれぞれ 37 ms、32 ms であり、D 体同士 of 相互作用に比べて FRET 寿命が短くなった。このことから、糖鎖-糖鎖相互作用が GSL ホモダイマーの重要な形成因であり、GSL の糖鎖部分が細胞膜上で互いに平行に重なり合った状態で強い水素結合を形成している可能性を示唆した。Gu ら⁴¹は、GM1-GM1 及び GM3-GM3 ホモダイマーにおける糖鎖-糖鎖相互作用の詳細を分子動力学シミュレーションにより調査し、GM3-GM3 相互作用における糖鎖部位の水素結合による平行な重なり合いが GM3 クラスターの高い凝集性の一因であると仮定している。本研究により、GSL のホモダイマー化における糖鎖部位の配向性に関する知見を支持する結果を得ることができた。

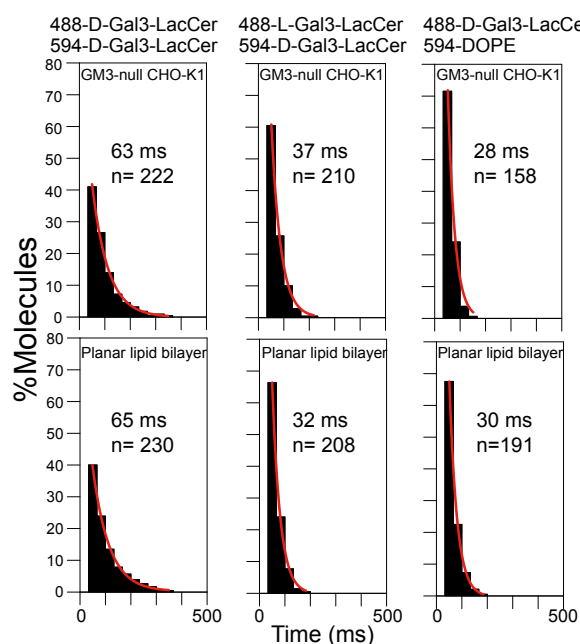


Figure 2-9. The distributions of durations of individual FRET events for D-LacCer homodimer, L-LacCer-D-LacCer heterodimer and D-LacCer-DOPE heterodimer.

⁴¹ Gu, R.-X.; Ingólfsson, H. I.; de Vries, A. H.; Marrink, S. J.; Tieleman, D. P. *J. Phys. Chem. B* **2017**, *121*, 3262–3275.

第二章 グロボ系列スフィンゴ糖脂質蛍光プローブの開発

第二部の冒頭で述べたように、GSL の種類は極めて多様性に富んでおり、細胞や組織の分化、老化、癌化などの状態変化に伴ってダイナミックな変化を示す⁴²。特に、内部の中性糖鎖部位の基本構造の違いにより系列分類されることが知られており、GSL の局在や機能に多様性を与える一因となっている (Figure 2-10)。

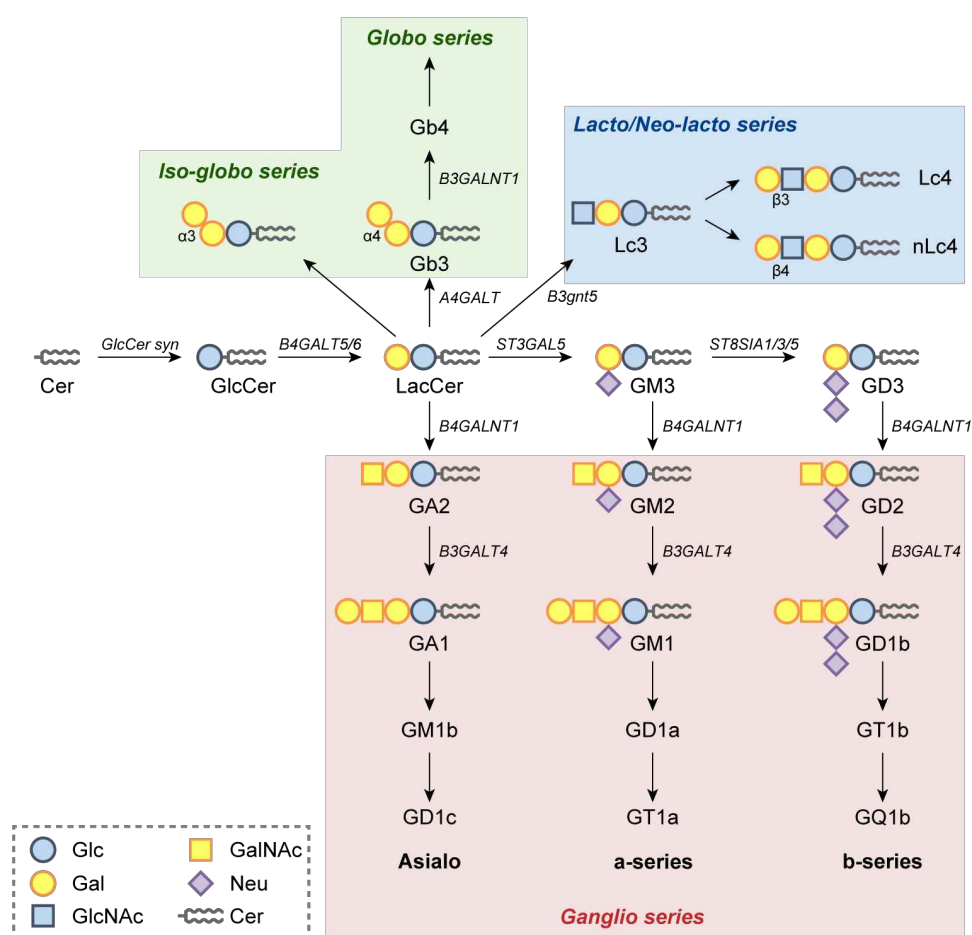


Figure 2-10. Biosynthetic pathway of representative GSLs.⁴³

⁴² Furukawa, K. *Seikagaku* **2016**, 88, 369–379.

⁴³ Ryckman, A. E.; Brockhausen, I.; Walia, J. S. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, 21, 6881.

その中でも、癌化に関与する GSL については、Hakomori ら⁴⁴をはじめとし、多くの報告がなされてきた。グロボ系列の GSL (**Figure 2-11**) である SSEA-3 (Gb5)、SSEA-4 (sialyl Gb5)、Globo-H (fucosyl Gb5) は、GalNAc β (1,3)Gal α (1,4)Gal β (1,4)Glc β (1,1)Cer を基本構造に持ち⁴⁵、種々の癌細胞⁴⁶に加え、ES 細胞⁴⁷、iPS 細胞⁴⁸を代表とする未分化細胞に特異的に発現することが知られている。正常の成熟細胞には発現しないため、細胞表面マーカーとして利用されている。また、免疫チェックポイント分子として免疫細胞の活性制御に関与する可能性も示唆されており⁴⁹、生物学的に大変興味深い分子群として注目されている。

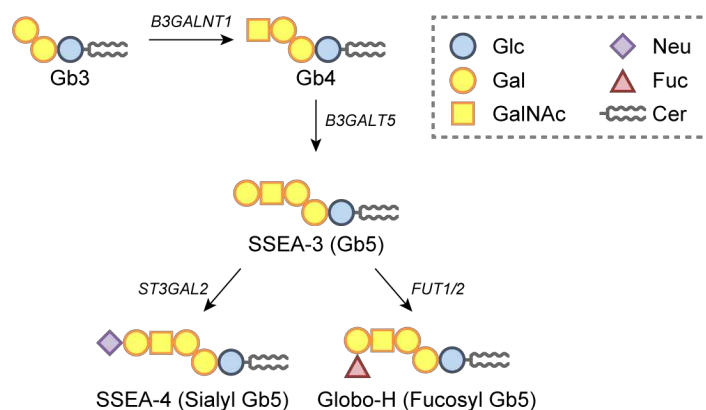


Figure 2-11. Biosynthetic pathway of globo-series GSLs.

一方、マーカー分子としての役割のみならず、GSL 自身が癌の浸潤や悪性化に対し機能を発揮することが知られている。Steelant らは、乳がん細胞株 MCF-7 における SSEA-4 のクラスタリングにより、下流の FAK や cSrc キナーゼが活性化し、浸潤・遊走能を上昇させる

⁴⁴ Hakomori, S.; Handa, K. *FEBS Lett.* **2002**, *531*, 88–92.

⁴⁵ (a) Hakomori, S.; Siddiqui, B.; Li, Y.-T.; Li, S.-C.; Hellerqvist, C. G. *J. Biol. Chem.* **1971**, *246*, 2271–2277; (b) Hakomori, S. *Biochim. Biophys. Acta* **2008**, *1780*, 325–346.

⁴⁶ Lou, Y.-W.; Wang, P.-Y.; Yeh, S.-C.; Chuang, P.-K.; Li, S.-T.; Wu, C.-Y.; Khoo, K.-H.; Hsiao, M.; Hsu, T.-L.; Wong, C.-H. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2014**, *111*, 2482–2487.

⁴⁷ Henderson, J. K.; Draper, J. S.; Baillie, H. S.; Fishel, S.; Thomson, J. A.; Moore, H.; Andrews, P. W. *Stem Cells* **2002**, *20*, 329–337.

⁴⁸ Takahashi, K.; Tanabe, K.; Ohnuki, M.; Narita, M.; Ichisaka, T.; Tomoda, K.; Yamanaka, S. *Cell* **2007**, *131*, 861–872.

⁴⁹ Rodríguez, E.; Schetters, S. T. T.; van Kooyk, Y. *Nat. Rev. Immunol.* **2018**, *18*, 204–211.

と報告している⁵⁰。また、Chuang らは、SSEA-3、SSEA-4 及び Globo-H が脂質ラフトを形成し、Akt シグナル伝達を介して癌細胞の生存シグナルを制御する可能性を示唆している⁵¹。このように、癌細胞表面の GSL が細胞膜ドメインを形成し、癌細胞の機能を制御する足場として働くと考えられており、グロボ系列 GSL を標的としたワクチン開発も進められている⁵²。

未分化細胞においても、発生における細胞膜ドメインとの関連性が示唆されている⁵³。Sato らは、抗 SSEA-4 抗体 Mab 6E2 を用いて着床前胚を免疫染色し、マウス着床前胚上の SSEA-4 の割球界面への集積、即ちマイクロドメインの検出に成功している⁵⁴。

以上に述べたように、グロボ系列 GSL である SSEA-3、SSEA-4 及び Globo-H が細胞膜ドメインの形成に関与し、同一細胞膜上の分子との *cis* 相互作用及び外界との *trans* 相互作用により、癌細胞や未分化細胞の機能を制御すると推測される。*trans* 相互作用に関しては、当該 GSL に特異的な抗体が存在することはもちろん、グライカンマイクロアレイなどの方法により調べる事が可能である。これまでに、SSEA-4 が FK506 結合タンパク質 4 (FKBP4)

⁵⁰ (a) Steelant, W. F.; Kawakami, Y.; Ito, A.; Handa, K.; Bruyneel, E. A.; Mareel, M.; Hakomori, S. *FEBS Lett.* **2002**, *531*, 93–98; (b) van Slambrouck, S.; Steelant, W. F. A. *Biochem. J.* **2007**, *401*, 689–699.

⁵¹ Chuang, P.-K.; Hsiao, M.; Hsu, T.-L.; Chang, C.-F.; Wu, C.-Y.; Chen, B.-R.; Huang, H.-W.; Liao, K.-S.; Chen, C.-C.; Chen, C.-L.; Yang, S.-M.; Kuo, C. W.; Chen, P.; Chiu, P.-T.; Chen, I.-J.; Lai, J.-S.; Yu, C.-D. T.; Wong, C.-H. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2019**, *116*, 3518–3523.

⁵² (a) Slovin, S. F.; Ragupathi, G.; Adluri, S.; Ungers, G.; Terry, K.; Kim, S.; Spassova, M.; Bornmann, W. G.; Fazzari, M.; Dantis, L.; Olkiewicz, K.; Lloyd, K. O.; Livingston, P. O.; Danishefsky, S. J.; Scher, H. I. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1999**, *96*, 5710–5715; (b) Gilewski, T.; Ragupathi, G.; Bhuta, S.; Williams, L. J.; Musselli, C.; Zhang, X. F.; Bornmann, W. G.; Spassova, M.; Bencsath, K. P.; Panageas, K. S.; Chin, J.; Hudis, C. A.; Norton, L.; Houghton, A. N.; Livingston, P. O.; Danishefsky, S. J. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, *98*, 3270–3275; (c) Sabbatini, P. J.; Ragupathi, G.; Hood, C.; Aghajanian, C. A.; Juretzka, M.; Iasonos, A.; Hensley, M. L.; Spassova, M. K.; Ouerfelli, O.; Spriggs, D. R.; Tew, W. P.; Konner, J.; Clausen, H.; Rustum, N. A.; Danishefsky, S. J.; Livingston, P. O. *Clin. Cancer Res.* **2007**, *13*, 4170–4177; (d) Huang, Y.-L.; Hung, J.-T.; Cheung, S. K. C.; Lee, H.-Y.; Chu, K.-C.; Li, S.-T.; Lin, Y.-C.; Ren, C.-T.; Cheng, T.-J. R.; Hsu, T.-L.; Yu, A. L.; Wu, C.-Y.; Wong, C.-H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 2517–2522.

⁵³ Katagiri, Y. U.; Sato, B.; Miyado, K.; Akutsu, H.; Okita, H.; Umezawa, A.; Fujimoto, J.; Kiyokawa, N. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **2008**, *20*, 131–139.

⁵⁴ Sato, B.; Katagiri, Y. U.; Miyado, K.; Akutsu, H.; Miyagawa, Y.; Horiuchi, Y.; Nakajima, H.; Okita, H.; Umezawa, A.; Hata, J.; Fujimoto, J.; Toshimori, K.; Kiyokawa, N. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2007**, *364*, 838–843.

と相互作用することがわかっている ($K_d = 150 \text{ nM}$)⁵⁵。一方、*cis* 相互作用に関しては、共免疫沈降などの間接的な方法による解析が殆どであり、実際の細胞膜上における動態や分布、ドメインの構成に関する解釈は極めて曖昧なものである。また、免疫染色による検出では、GSL の局在や挙動を変化させてしまう可能性がある⁵⁶。グロボ系列 GSL の細胞膜上における動態を明らかにするためには、天然の GSL と同等の性質を有する蛍光プローブが必要となる。本研究では、SSEA-3、SSEA-4、Globo-H (Figure 2-12) の蛍光プローブの合成を行い、一分子イメージングによる解析により細胞膜上における相互作用の詳細を明らかにすることを目指した。

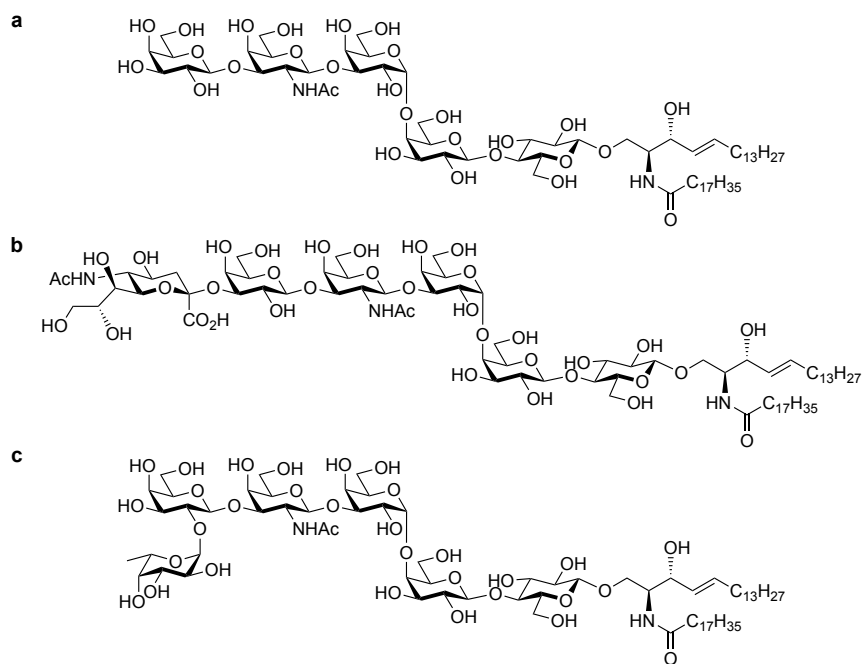


Figure 2-12. (a) SSEA-3, (b) SSEA-4 and (c) Globo-H focused in this study.

⁵⁵ Hung, T.-C.; Lin, C.-W.; Hsu, T.-L.; Wu, C.-Y.; Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 5934–5937.

⁵⁶ (a) Chinnapen, D. J.-F.; Hsieh, W.-T.; te Welscher, Y. M.; Saslowsky, D. E.; Kaoutzani, L.; Brandsma, E.; D'Auria, L.; Park, H.; Wagner, J. S.; Drake, K. R.; Kang, M.; Benjamin, T.; Ullman, M. D.; Costello, C. E.; Kenworthy, A. K.; Baumgart, T.; Massol, R. H.; Lencer, W. I. *Dev. Cell* **2012**, *23*, 573–586; (b) Hammond, A. T.; Heberle, F. A.; Baumgart, T.; Holowka, D.; Baird, B.; Feigenson, G. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 6320–6325.

第一節 分子設計と合成戦略

蛍光標識の導入位置は、これまでの知見に基づき、糖鎖末端に設定し、末端をアミノ基で置換した GSL 骨格に対し、アミド結合を介して導入することとした。SSEA-4 プローブについては Neu 9 位に、SSEA-3 及び Globo-H プローブについては、SSEA-4 プローブの末端 Gal 3 位から Neu 9 位の距離を模倣した、親水性のスペーサーをそれぞれの末端 Gal 3 位に導入し蛍光標識と連結する設計とした (Figure 2-13)。

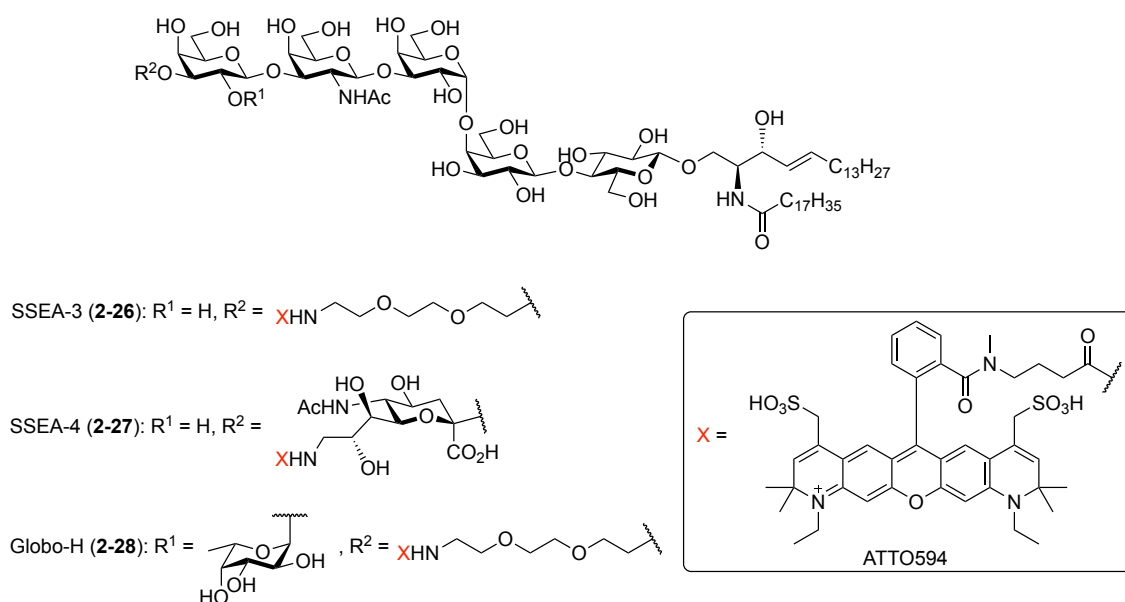
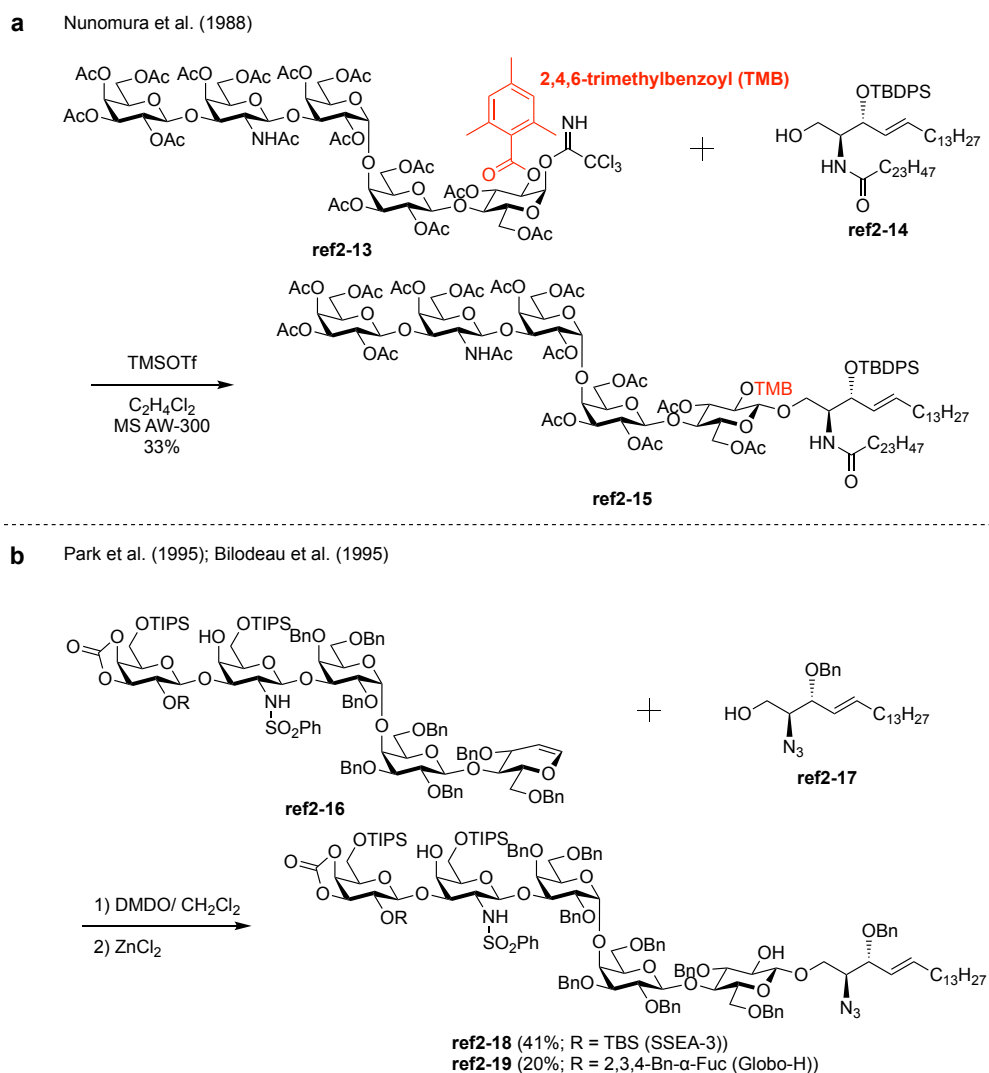


Figure 2-13. Design of fluorescent probes of SSEA-3 **2-26**, SSEA-4 **2-27** and Globo-H **2-28**.

SSEA-3、SSEA-4 及び Globo-H 糖脂質の全合成は、既に複数の報告がなされている。SSEA-3 糖脂質については、Nunomura、Ogawa らによる全合成が最初の報告例⁵⁷である。本報告では、Glc 2 位に立体障害の大きい TMB (2,4,6-trimethylbenzoyl) 基を導入することにより、Cer 受容体 **ref2-14** との縮合収率 33%にて 1,2-*trans* グリコシド **ref2-15** を得ている。また、Park

⁵⁷ Nunomura, S.; Ogawa, T. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 5681–5684.

ら⁵⁸は、グリカル 2-16 を五糖供与体として用い、エポキシドを経由してスフィンゴシン ref2-17 との縮合を行っており、同様のアプローチで Globo-H 糖脂質の全合成も達成している⁵⁹。しかし、いずれも縮合収率は芳しいものではなかった (Scheme 2-10)。

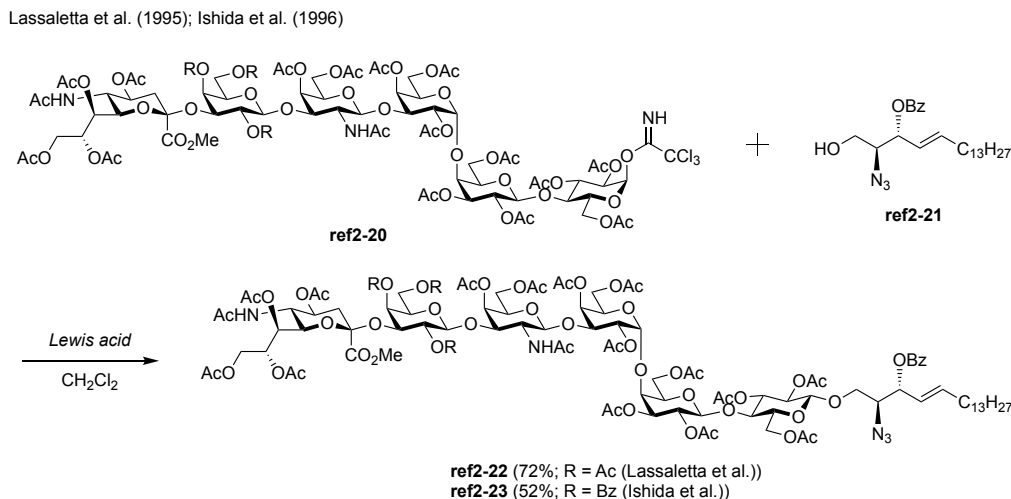


Scheme 2-10. Precedents for the total synthesis of SSEA-3 and Globo-H.

⁵⁸ Park, T. K.; Kim, I. J.; Danishefsky, S. J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 9089–9092.

⁵⁹ Bilodeau, M. T.; Park, T. K.; Hu, S.; Randolph, J. T.; Danishefsky, S. J.; Livingston, P. O.; Zhang, S. J. *Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 7840–7841.

SSEA-4 糖脂質は、Lassaletta ら⁶⁰、Ishida ら⁶¹により全合成が達成されており、いずれも六糖イミデート型供与体 **ref2-20** とスフィンゴシン受容体 **ref2-21** の縮合反応を行なった後、脂肪酸を導入する経路で合成が行われたが、縮合収率は中程度であった (**Scheme 2-11**)。



Scheme 2-11. Precedents for the total synthesis of SSEA-4.

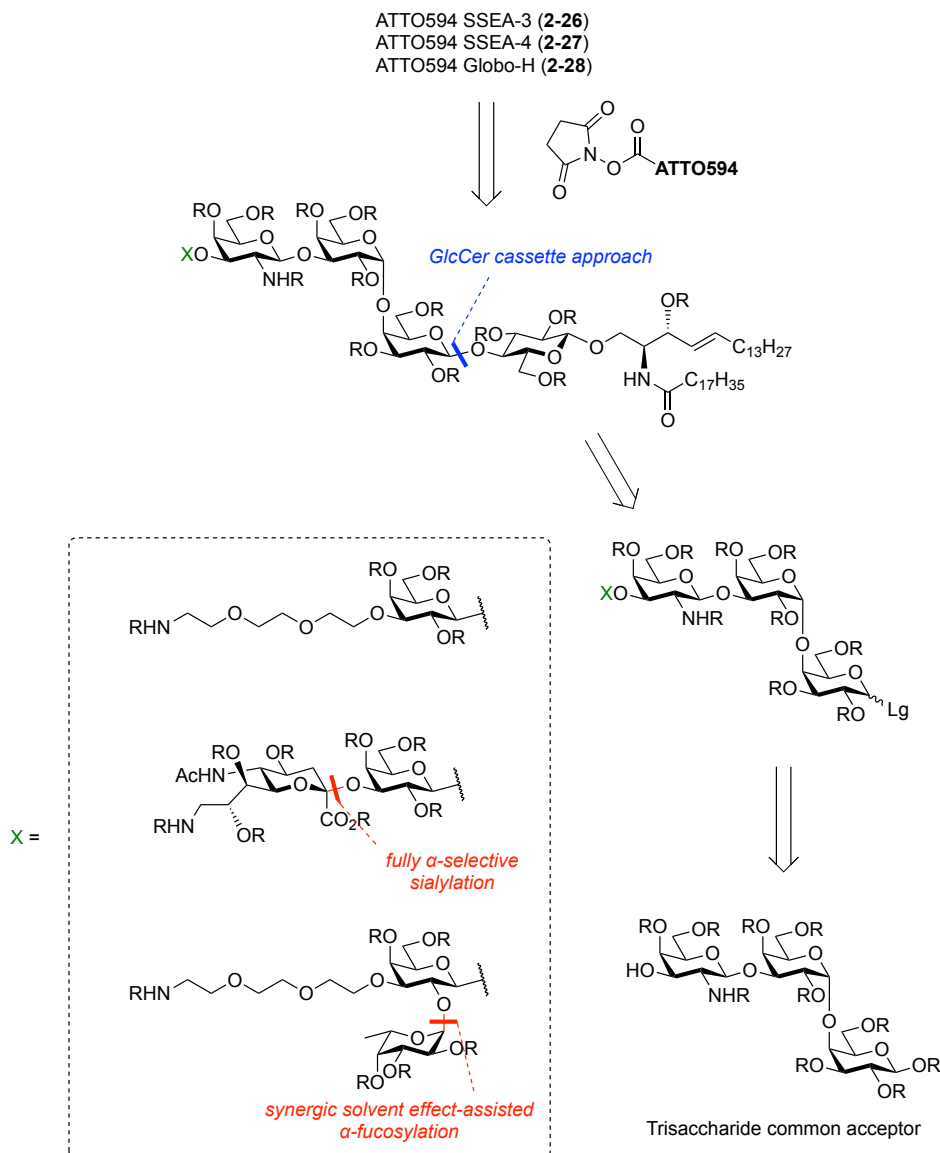
上述の結果に対し、当研究室では、脂質部分を効率的に導入できる「GlcCer カセットアプローチ⁶²」を開発し、高収率での GSL 骨格の構築及び複雑なガングリオシドの全合成に成功している。本研究においては、本アプローチを適用し、脂質部分の導入効率の向上を狙った。更に、三種類のプローブを効率的に合成するため、三糖共通ユニットを設計し、末端ユニット、GlcCer ユニットの逐次結合させた後、脱保護及び蛍光標識の導入を行う合成経路を立案した (**Scheme 2-12**)。SSEA-4 プローブにおける α -シアロシド結合は、二環性 Neu

⁶⁰ Lassaletta, J. M.; Schmidt, R. R. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 4209–4212.

⁶¹ Ishida, H.; Miyawaki, R.; Kiso, M.; Hasegawa, A. *J. Carbohydr. Chem.* **1996**, 15, 163–182.

⁶² Imamura, A.; Ando, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3009–3023.

供与体⁶³により、Globo-H プローブ における α -フコシド結合は、エーテル混合溶媒効果⁶⁴により構築することとした。



Scheme 2-12. Retrosynthetic analysis of the fluorescent probes **2-26**, **2-27** and **2-28**.

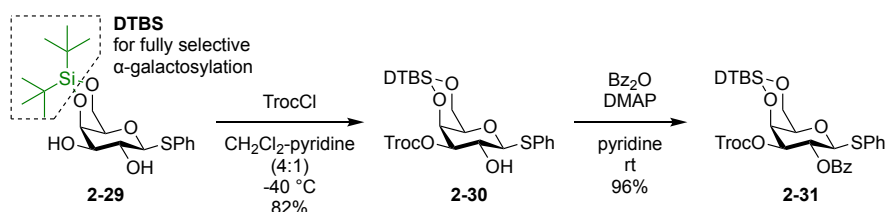
⁶³ Komura, N.; Kato, K.; Udagawa, T.; Asano, S.; Tanaka, H.-N.; Imamura, A.; Ishida, H.; Kiso, M.; Ando, H. *Science* **2019**, *364*, 677–680.

⁶⁴ Ishiwata, A.; Munemura, Y.; Ito, Y. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 92–102.

第二節 三糖共通受容体の合成

ここでは、三糖共通受容体の合成について述べる。当研究室ではこれまでに、Gal 供与体の 4,6 位に DTBS 基を導入することによる α -ガラクトシド化法⁶⁵を報告しており、Gal α (1,4)Gal 二糖骨格の構築の際に本手法を適用した。

まず、Gal 供与体の合成を行なった (Scheme 2-13)。化合物 **2-29**⁶⁶に対し、3 位選択的 Troc 化、2 位 Bz 化を行い、化合物 **2-31** を得た。



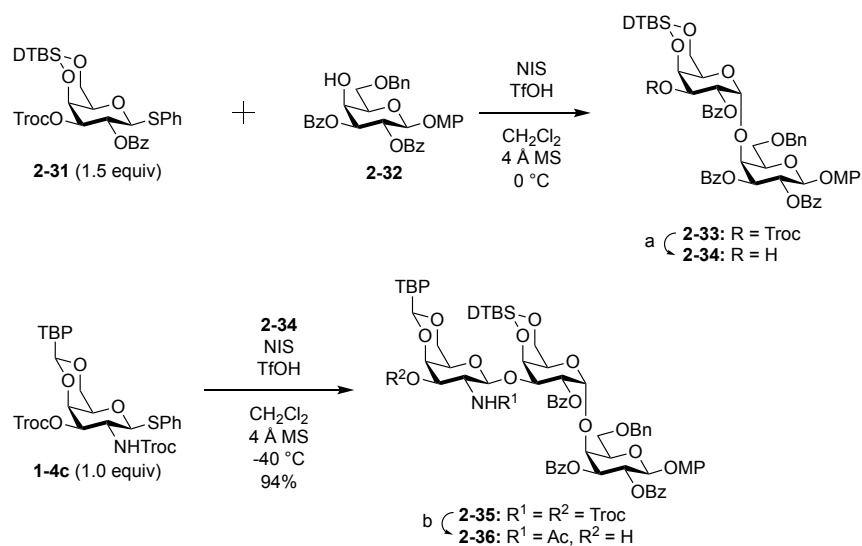
Scheme 2-13. Synthesis of Gal donor **2-31**.

続いて、二糖骨格の構築を行なった。この反応では、供与体 **2-31** が有する 2 位 Bz 基の存在により、望まないオルソエステル体の生成が確認されたが、TfOH を 0.9 当量用いることにより、オルソエステルの生成を抑えることが出来た。しかし、目的の 1,2-*cis* グリコシドと同じ極性でありオルソエステル体との分離が不可能であったため、化合物 **2-33** とオルソエステル体の混合物を、続く Troc 基の除去反応に供した。幸いにも、用いた酢酸によりオルソエステル体が分解し、化合物 **2-34** と分解物を単離することが出来た。続いて、GalN 供与体の導入を行なった。ここでは、第一部にて報告した、TBBzld 基修飾型 GalNTroc 供与体 **1-4c** を適用した。CH₂Cl₂ 溶媒中、-40 °C にて、NIS、TfOH を作用させ、収率 94% で三糖骨

⁶⁵ (a) Imamura, A.; Ando, H.; Korogi, S.; Tanabe, G.; Muraoka, O.; Ishida, H.; Kiso, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6725–6728; (b) Imamura, A.; Matsuzawa, N.; Sakai, S.; Udagawa, T.; Nakashima, S.; Ando, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 9086–9104.

⁶⁶ Gold, H.; Boot, R. G.; Aerts, J. M. F. G.; Overkleeft, H. S.; Codée, J. D. C.; van der Marel, G. A. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 1652–1663.

格 **2-35** を構築した。有機溶媒への溶解性を克服した、化合物 **1-4c** の適用により、大量スケールでの合成が可能となった。得られた化合物 **2-35** に対し、Troc 基の除去、2 位アミノ基の選択的 Ac 化を行い、三糖共通受容体 **2-36** へと変換した (Scheme 2-14)。



Scheme 2-14. Synthesis of trisaccharide common acceptor **2-36**. (a) Zn/AcOH, rt, 78% (2 steps); (b) (i) Zn/AcOH, rt; (ii) Ac₂O/ CH₂Cl₂, rt, 86% (2 steps).

第三節 SSEA-3 プロープの合成

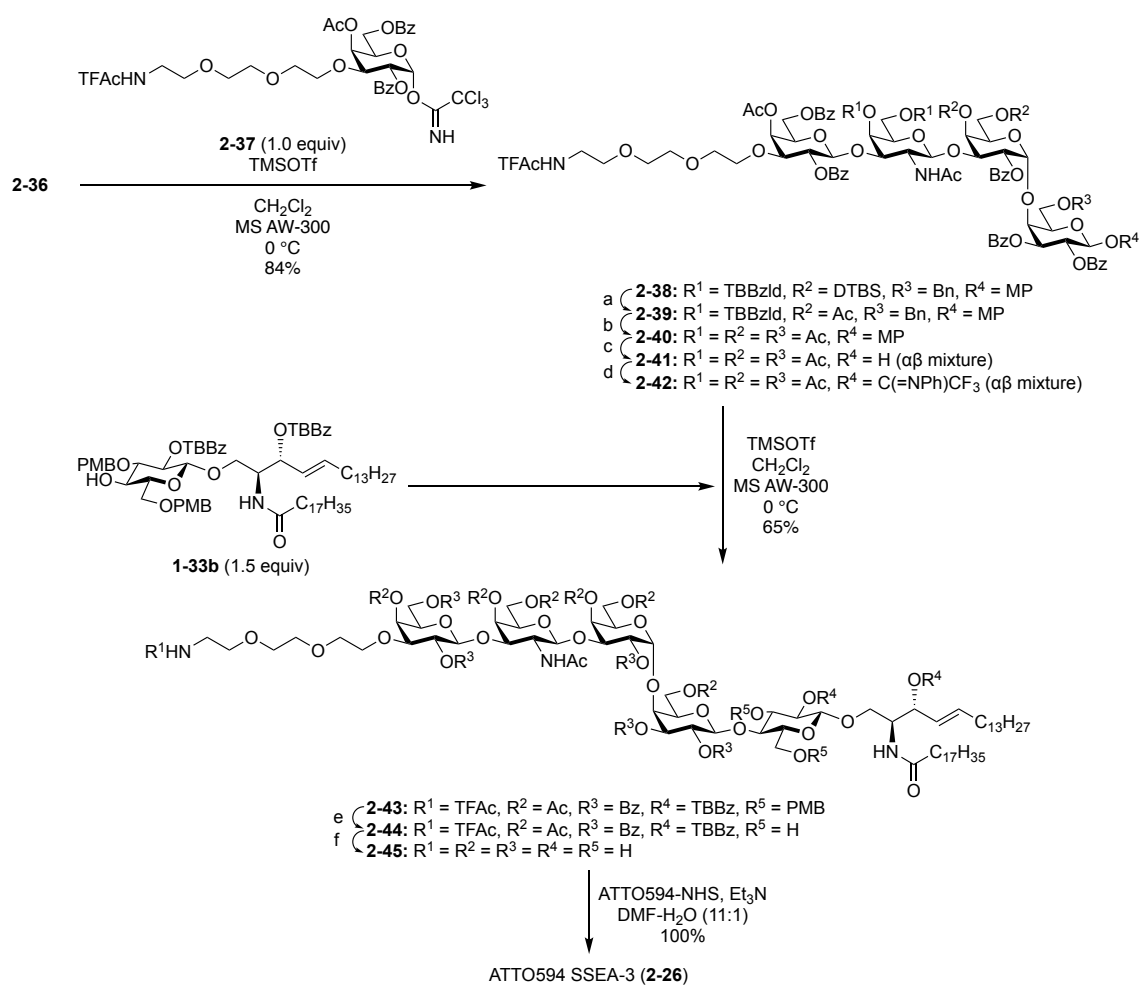
前節で構築した三糖受容体 **2-36** に対し、3 位にスペーサーを導入した Gal 供与体 **2-37**⁶⁷ との縮合反応を行い、収率 84% で四糖骨格 **2-38** を得た。その後、保護基の変換を行なった。DTBS 基の除去⁶⁸、接触水素添加による Bn 基及び TBBzld 基の除去、各段階で Ac 化を施し、アシル保護体 **2-40** を得た後、MP 基の除去、脱離基の導入を行い、四糖供与体 **2-42** へと導いた。脱離基には、供与体の安定性の低さを懸念し、*N*-フェニルトリフルオロアセトイミデート⁶⁹を採用した。

続いて、GlcCer の導入を行なった。ここでは、第一部で報告した TBBz 基置換型 GlcCer 受容体 **1-33b** を適用し、化合物の易溶性に伴う縮合操作の簡便化に成功した。しかし、従来報告されたガングリオシドの合成研究における結果と比較して縮合収率は 65% と中程度であったが、ルイス酸触媒により活性中間体となった際、還元末端側 Gal 4 位に伸長したオリゴ糖鎖の立体障害により、 β 面側からの求核攻撃が阻害されやすい環境にあった可能性が考えられる。得られた SSEA-3 骨格 **2-43** に対し、PMB 基の除去、アシル系保護基の除去、ATTO594 の導入を行い、SSEA-3 プロープ **2-26** の合成を達成した (Scheme 2-15)。

⁶⁷ 山口英利子 岐阜大学応用生物科学部平成 26 年度卒業論文 2015.

⁶⁸ Furusawa, K. *Chem. Lett.* **1989**, 18, 509–510.

⁶⁹ (a) Yu, B.; Tao, H. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 2405–2407; (b) Yu, B.; Sun, J. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 4668–4679.



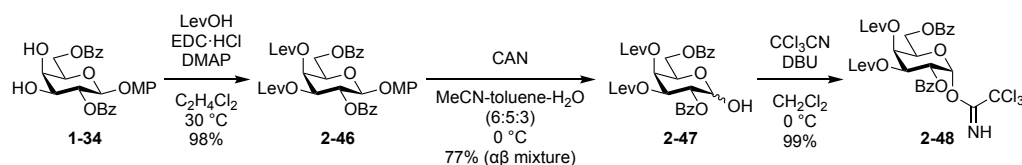
Scheme 2-15. Synthesis of ATTO594-SSEA-3 **2-26**. (a) (i) TBAHF/THF, rt; (ii) Ac_2O , DMAP/pyridine, rt, 85% (2 steps); (b) (i) H_2 gas, $\text{Pd}(\text{OH})_2\text{-C/}$ dioxane-MeOH (1:1), rt; (ii) Ac_2O , DMAP/pyridine, rt, 87% (2 steps); (c) CAN/ MeCN-toluene- H_2O (6:5:3), 0°C , 62%; (d) $\text{CF}_3\text{C(=NPh)Cl}$, K_2CO_3 / acetone, rt, 94%; (e) TFA/ CH_2Cl_2 , 0°C , 96%; (f) 1 M NaOH aq./ MeOH-THF (1:1), rt, quant.

第四節 SSEA-4 プローブの合成

第一項 四糖受容体の合成

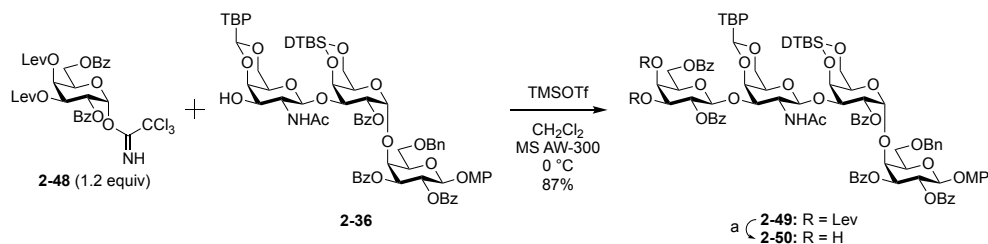
当研究室では、Neu の β 面側に大環状の架橋構造を導入することによる、完全立体選択的な α -シアロシドの構築法が開発された⁷⁰。本研究では、SSEA-3 四糖骨格に対し、直接的に Neu を導入することを試みた。

まず、末端 Gal 供与体の合成を行なった (Scheme 2-16)。化合物 **1-34**⁷¹ に対し、3,4 位への Lev 基の導入、MP 基の除去、脱離基の導入を行い、化合物 **2-48** を得た。



Scheme 2-16. Synthesis of Gal donor **2-48**.

続いて、四糖受容体の合成を行なった (Scheme 2-17)。Gal 供与体 **2-48** と三糖共通受容体 **2-36** の縮合反応を行い、収率 87%にて四糖骨格 **2-49** を得た後、MeOH-THF (1:5) 混合溶媒中、hydrazine acetate を作用させ、Lev 基の除去を行い、四糖受容体 **2-50** へと変換した。



Scheme 2-17. Synthesis of tetrasaccharyl acceptor **2-50**. (a) hydrazine acetate/ MeOH-THF (1:5), rt, 95%.

⁷⁰ Komura, N.; Kato, K.; Udagawa, T.; Asano, S.; Tanaka, H.-N.; Imamura, A.; Ishida, H.; Kiso, M.; Ando, H. *Science* **2019**, *364*, 677–680.

⁷¹ Gu, G.; Du, Y.; Pan, J. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1313–1317.

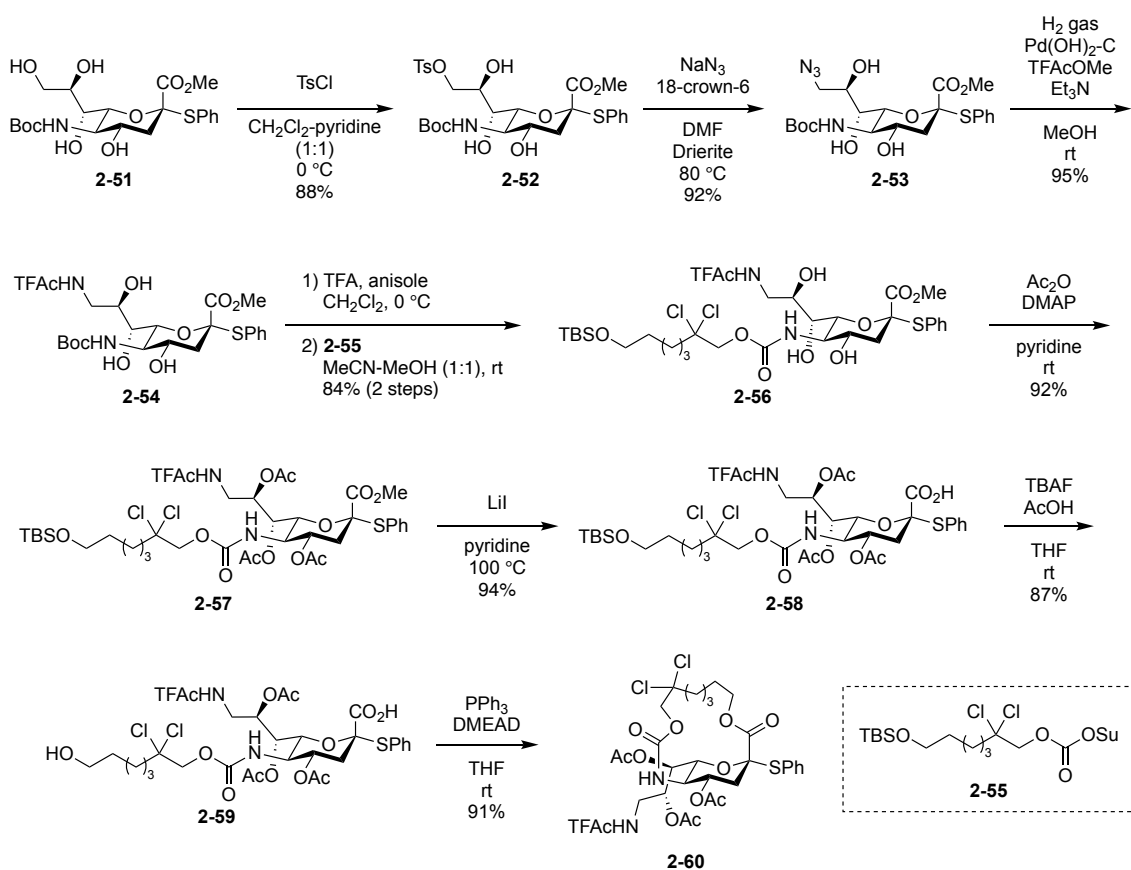
第二項 Neu 供与体の合成

ここでは、Neu 供与体の合成について述べる (Scheme 2-18)。最終段階で Neu 9 位をアミノ基へと変換した後、蛍光標識を導入するため、9 位を TFA アミド基で置換した Neu 供与体を設計した。合成の際、5 位アミノ基の保護基として、Boc 基を選択した。Boc 基は強酸で選択的に除去することが出来る保護基であり、TFA アミド基への変換の際に影響を受けない点、及び Boc 基の除去の際に他の官能基に影響を受けない点から最適であると判断した。化合物 **2-51**⁷²を出発とし、9 位の Ts 化、アジド基への変換、ワンポットでのアジド基の還元及び TFA アミド化により、化合物 **2-54** を得た。続いて、Boc 基の除去を行いアミノ基へと導いた後、*in situ* で調製した **2-55** を作用させ、架橋部を導入した化合物 **2-53** を得た。その後、4,7,8 位の Ac 化、メチル基の除去、TBS 基の除去、マクロラクトン化を行ない、Neu 供与体 **2-60** を得た。従来の検討⁷³では、Mitsunobu 条件での環化反応において最も収率が良好であることを見出した。しかし、アゾ試薬として DIAD を用いた際、副産物であるヒドラジン体との単離が困難であり、グラムスケールでの合成に適さないことが課題であった。そこで、副生したヒドラジン体の抽出操作による除去が可能であると報告されている DMEAD⁷⁴をアゾ試薬として用いたところ、グラムスケールにおいても容易に精製を行うことが出来た。

⁷² Tanaka, H.; Ando, H.; Ishihara, H.; Koketsu, M. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1585–1593.

⁷³ 浅野早知 岐阜大学大学院応用生物科学研究科平成 29 年度修士論文 **2018**.

⁷⁴ (a) Sugimura, T.; Hagiya, K. *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 566–567; (b) Hagiya, K.; Muramoto, N.; Misaki, T.; Sugimura, T. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 6109–6114.



Scheme 2-18. Synthesis of the Neu donor **2-60**.

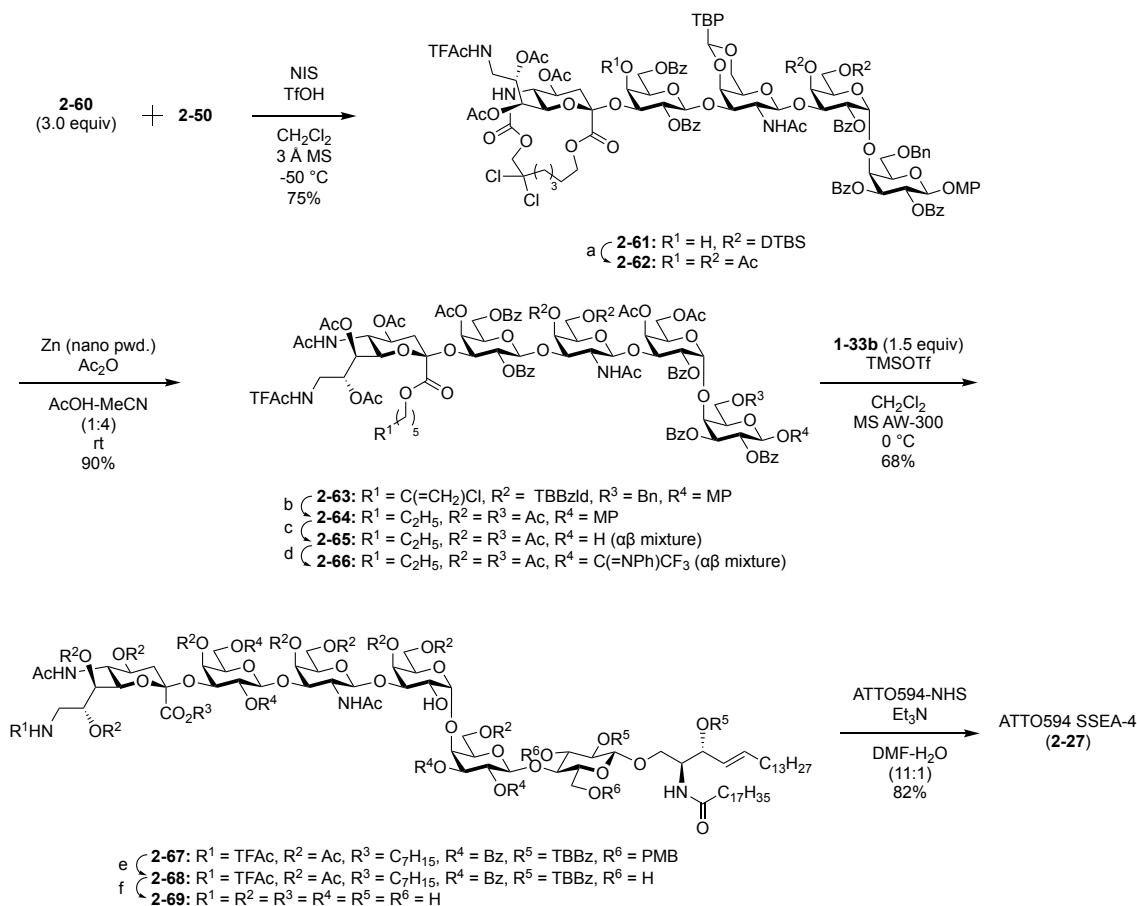
第三項 SSEA-4 プローブの合成

当研究室ではこれまでに、一つ以上の Neu 残基を含むガングリオシド及びそのアナログの化学合成が行われてきた。しかし、シアリル化における完全な立体制御が困難であったため、NeuGal 二糖ユニットとして導入する手法が用いられてきた。本研究では、第一項の冒頭で述べたように、オリゴ糖鎖に対して直接的に Neu 単糖を導入することを試みた。

CH₂Cl₂ 溶媒中、モレキュラーシーブス 3Å 存在下、-50 °C にて、NIS、TfOH を作用させ、合成した Neu 供与体 **2-60** と四糖受容体 **2-50** を縮合反応に供した。Neu 供与体 **2-60** の自己分解反応による 2,3-グリカル体の生成が避けられないため、受容体 **2-50** を完全に消費するために供与体 **2-60** を 3.0 当量要したが、75%の収率で α-シアロシド **2-61** を構築することが出来た。得られた結果より、当研究室で開発された大環状の Neu 供与体を用いることで、種々の糖鎖骨格に対し自在に Neu を導入することが出来る可能性が示唆された。続いて、DTBS 基の除去、遊離水酸基の Ac を行なった後、架橋部の開裂を行なった。酢酸溶媒中、Zn nanopowder (40–60 nm avg. part. size; Merck KGaA, Darmstadt, Germany) を作用させた際は、反応の進行が非常に遅く、基質の酢酸に対する溶解性が低いためであると考えられた。そこで、MeCN を加えた混合溶媒中で反応を行なったところ、反応は素早く進行したが、生成した遊離アミノ基への 8 位 Ac 基の転移⁷⁵が促進した。そのため、AcOH-MeCN 混合溶媒中、Zn nanopowder、Ac₂O を作用させ、架橋部の開裂とアミノ基の Ac 化をワンポットで行なったところ、良好な収率で化合物 **2-63** を得ることが出来た。その後、接触水素添加、Ac 化、MP 基の除去、脱離基の導入を行い、五糖供与体 **2-66** へと導いた。

⁷⁵ Tamai, H.; Ando, H.; Tanaka, H.-N.; Hosoda-Yabe, R.; Yabe, T.; Ishida, H.; Kiso, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 2330–2333.

得られた供与体 **2-66** を、GlcCer 受容体 **1-33b** との縮合反応に供し、収率 68%で SSEA-4 骨格 **2-67** を得た。その後、PMB 基の除去、アシル系保護基の除去、ATTO594 の導入を行い、SSEA-4 プローブ **2-27** の合成を達成した (Scheme 2-19)。

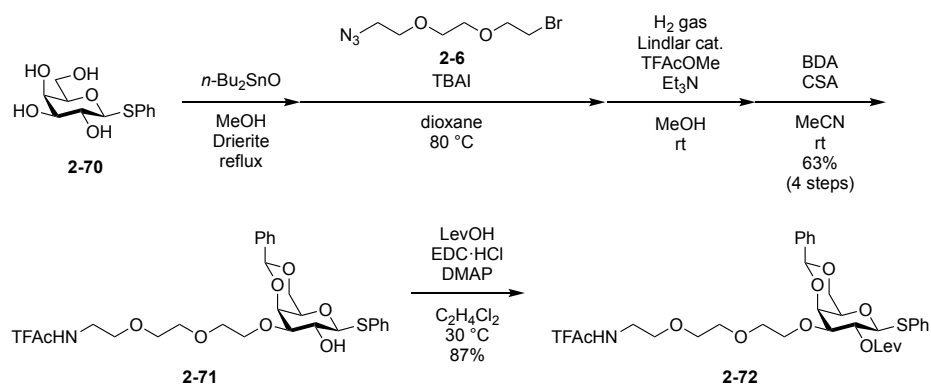


Scheme 2-19. Synthesis of ATTO594 SSEA-4 **2-27**. (a) (i) TBAHF/ THF, rt; (ii) Ac_2O , DMAP/ pyridine, rt, 97% (2 steps); (b) (i) H_2 gas, $\text{Pd}(\text{OH})_2\text{-C}/$ dioxane-MeOH (1:1), rt; (ii) Ac_2O , DMAP/ pyridine, rt, 82% (2 steps); (c) CAN/ MeCN-toluene- H_2O (6:5:3), 0 °C, 65%; (d) $\text{CF}_3\text{C}(=\text{NPh})\text{Cl}$, K_2CO_3 / acetone, rt, 94%; (e) TFA/ CH_2Cl_2 , 0 °C, 96%; (f) 1 M NaOH aq./ MeOH-THF (1:1), rt, 92%.

第五節 Globo-H プローブの合成

第一項 末端 Gal 供与体の合成

まず、四糖受容体の構築に向け、末端 Gal 供与体の合成を行なった (Scheme 2-20)。Gal 2 位に Fuc を導入するため、2 位は選択的に除去が可能な Lev 基を導入することとした。化合物 **2-70**⁷⁶ に対し、スズアセタール中間体を経由した 3 位アルキル化によりスペーサー **2-6** を導入した後、ワンポットでのアジド基の還元及び TFA アミド化、4,6 位の BzId 基による保護を行い、化合物 **2-71** を得た。試薬由来の化合物との単離が困難であったため、四段階での収率を算出した。その後、2 位への Lev 基の導入を行い、供与体 **2-72** を得た。



Scheme 2-20. Synthesis of Gal donor **2-72**.

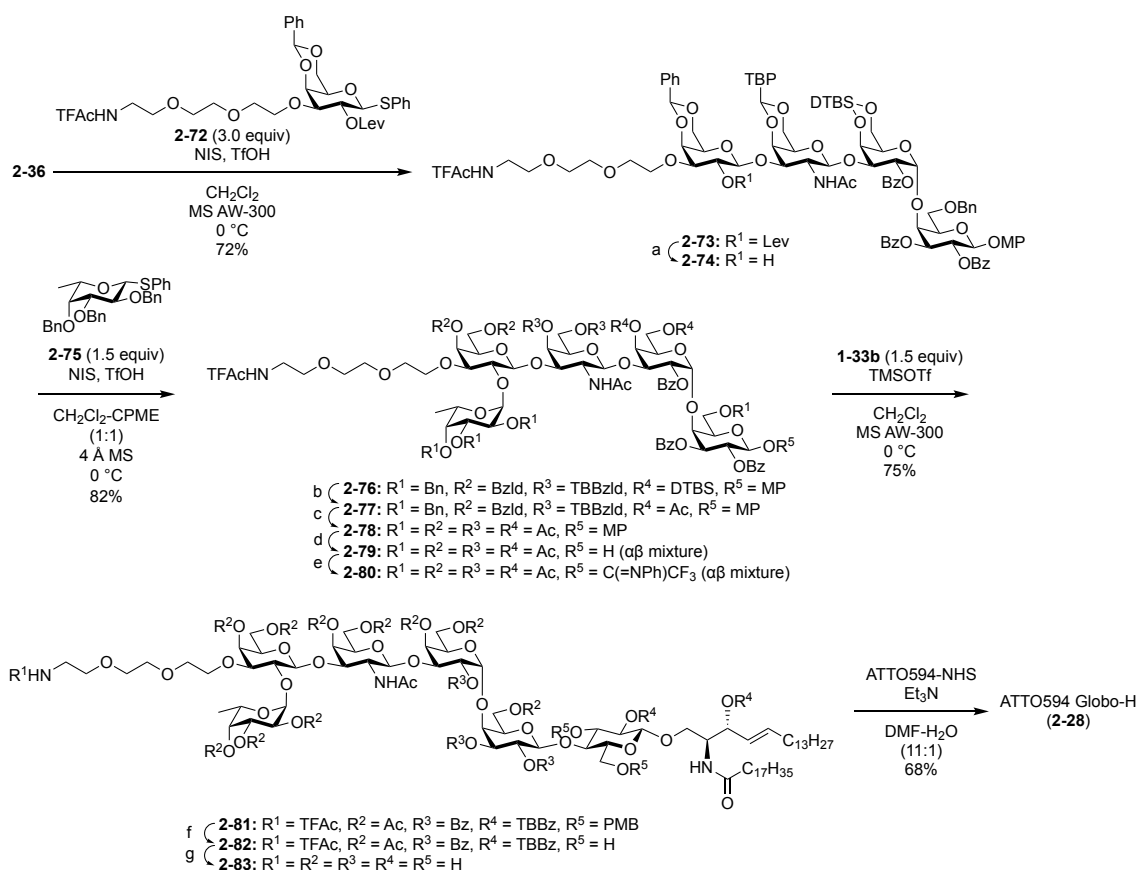
⁷⁶ Hossain, M. I.; Hanashima, S.; Nomura, T.; Lethu, S.; Tsuchikawa, H.; Murata, M.; Kusaka, H.; Kita, S.; Maenaka, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, 24, 3687–3695.

第二項 Globo-H プロープの合成

得られた Gal 供与体 **2-72** を用い、四糖受容体の合成を行なった。Gal 供与体 **2-72** と三糖共通受容体 **2-36** の縮合反応により、四糖骨格 **2-73** を得た。その際、乾燥剤にモレキュラーシーブス AW-300 を用いることにより、オルソエステルの形成を抑制することが出来た。続いて、Lev 基の選択的除去を行い、収率 94%で四糖受容体 **2-74** へと導いた。

次に、 α -フコシドの構築を行なった。 CH_2Cl_2 -CPME (1:1) 混合溶媒中、0 °C にて Fuc 供与体 **2-75**⁷⁷ と四糖受容体 **2-74** の縮合反応を行い、収率 82%で α -アノマー **2-76** を得た。その後、保護基の変換を行い、五糖供与体 **2-80** へと導き、GlcCer 受容体 **1-33b** との縮合反応により、Globo-H 骨格 **2-81** を構築した。PMB 基の除去、アシル系保護基の除去、ATTO594 の導入により、Globo-H プロープ **2-28** の合成を達成した (Scheme 2-21)。

⁷⁷ Komba, S.; Ishida, H.; Kiso, M.; Hasegawa, A. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1833–1847.



Scheme 2-21. Synthesis of ATTO594 Globo-H **2-28**. (a) hydrazine acetate/ MeOH-THF (1:5), rt, 94%; (b) (i) TBAHF/ THF, rt; (ii) Ac₂O, DMAP/ pyridine, rt, 93% (2 steps); (c) (i) H₂ gas, Pd(OH)₂-C/ dioxane-MeOH (1:1), rt; (ii) Ac₂O, DMAP/ pyridine, rt, 88% (2 steps); (d) CAN/ MeCN-toluene-H₂O (6:5:3), 0 °C, 65%; (e) CF₃C(=NPh)Cl, K₂CO₃/ acetone, rt, 95%; (f) TFA/ CH₂Cl₂, 0 °C, 97%; (g) 1 M NaOH aq./ MeOH-THF (1:1), rt, 98%.

第六節 機能評価実験と一分子追跡実験

第一項 DRM 分配実験

一般的に、脂質ラフトに存在する分子は、脂質間相互作用により凝集した脂質環境にあるため、界面活性剤不溶性であることが知られている⁷⁸。ここでは、機能評価実験の一つである DRM 分配実験について述べる。

T24 ヒト上皮細胞に、P-HBSS で終濃度 1 μ M に希釈したプローブ溶液を加え、22 °C で 15 分間静置した。その後、氷上 (2.8 °C) にて細胞を冷却し、冷 P-HBSS で三回洗浄した。そこへ、1% (v/v) Triton X-100 を含む冷 P-HBSS を加え、氷上で 15 分間静置した。Triton 処理細胞を冷 P-HBSS で三回、冷 PBS で二回洗浄し、4%パラホルムアルデヒドを含む PBS で 90 分間、細胞の固定化を行なった後、CMOS カメラ DS-Qi2 搭載 Nikon Ts-2FL 落射型蛍光顕微鏡にて観察した (**Figure 2-14**)。

⁷⁸ (a) Kenworthy, A. K.; Nichols, B. J.; Remmert, C. L.; Hendrix, G. M.; Kumar, M.; Zimmerberg, J.; Lippincott-Schwartz, J. *J. Cell Biol.* **2004**, *165*, 735–746; (b) Nichols, B. J.; Kenworthy, A. K.; Polishchuk, R. S.; Lodge, R.; Roberts, T. H.; Hirschberg, K.; Phair, R. D.; Lippincott-Schwartz, J. *J. Cell Biol.* **2001**, *153*, 529–541.

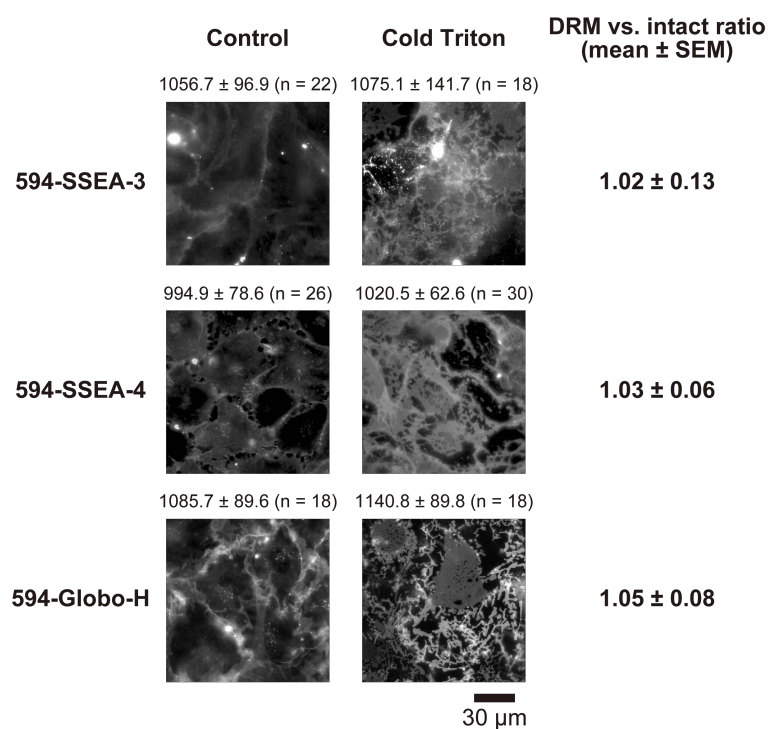


Figure 2-14. Cold-Triton solubility of the fluorescent analogs. The number of cells examined for each probe was >18.

各画像上の数値は、細胞膜の蛍光強度からバックグラウンドの蛍光強度を差し引いた値の平均 (n>18) を示す。これらの値から算出した、Triton X-100 処理後/処理前の蛍光強度比は、いずれも約 1.0 の値を示した。本実験においては、細胞膜に残っている分子が界面活性剤不溶性画分となる。即ち、蛍光プローブはいずれも細胞膜上に残っており、ラフト分子の候補となり得ることが示唆された。

第二項 Lo/Ld 分配実験

ここでは、ジャイアントベシクル (GPMV) を用い、蛍光プローブの分配を調べた。GPMV とは、両親媒性分子が会合した粒径 1 μm 以上の袋状膜構造体で、生体膜と同じ構造であることから、生体膜のモデル系として広く利用されている⁷⁹。実際の細胞膜分子は、スフィンゴ脂質やコレステロールに富む L_o phase と、DOPC などの不飽和リン脂質に富む L_d phase に相分離することが知られており、脂質ラフトに存在する分子は L_o phase に分配される⁸⁰。

GPMV は、マスト細胞の一種である RBL-2H3 細胞を用いて生成した。 L_o 様ドメインのマーカには合成した各プローブ (ATTO594-SSEA-3, ATTO594-SSEA-4, ATTO594-Globo-H)、 L_d 様ドメインのマーカには BodipyFL-PC を用い、終濃度 10 μM となるように各マーカを細胞に導入した。細胞を P-HBSS で三回洗浄後、25 mM formaldehyde、2 mM DTT を加え、37 $^{\circ}\text{C}$ で 1 時間インキュベートすることにより、GPMV を生成した。得られた GPMV を 10 $^{\circ}\text{C}$ に冷却することにより相分離し、全反射照明蛍光顕微鏡で観察した (**Figure 2-15**)。尚、分配画像は、488 nm (L_d phase) 及び 594 nm (L_o phase) の励起による二色同時観察による撮影を行うことにより得た。

⁷⁹ Toyota, T.; Kazayama, Y.; Osaki, T.; Takeuchi, S. *Bunseki Kagaku* **2016**, 65, 715–727.

⁸⁰ Kaiser, H.-J.; Lingwood, D.; Levental, I.; Sampaio, J. L.; Kalvodova, L.; Rajendran, L.; Simons, K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, 106, 16645–16650.

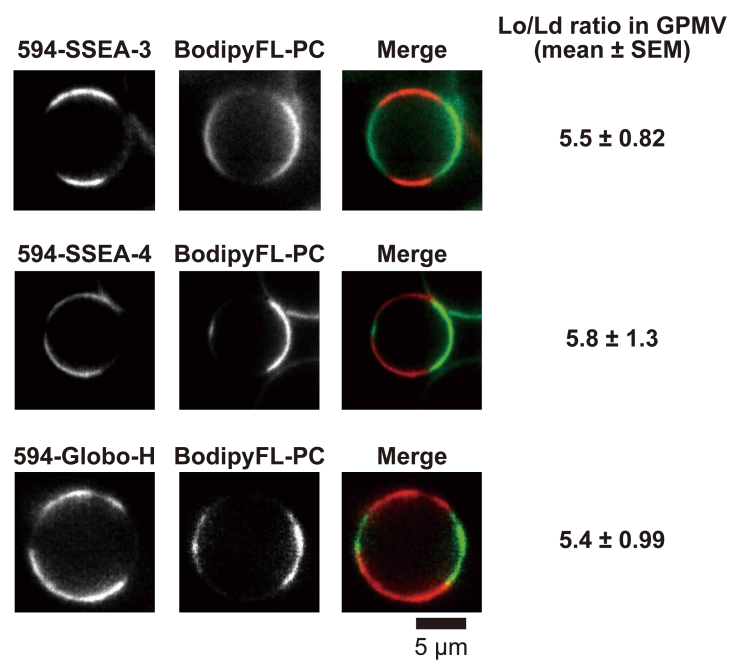


Figure 2-15. Partitioning of the fluorescent analogs into the L_o - and L_d -like domains in giant PM vesicles (GPMVs) of RBL-2H3 cells at 10 °C. Still images taken from simultaneous two-color video sequences. The number of GPMVs examined for each probe was >14.

本研究で合成した蛍光プローブは全て L_o phase に分配され、 L_d phase と相分離した様子が観察された。前項及び本項における結果より、三種類の蛍光プローブは全てラフト分子としての性質を保持していることが示唆された。

第三項 一分子追跡実験によるダイマー化の観察

本項では、合成した三種類の蛍光プローブを用いた単色一分子追跡実験によるホモダイマー化の観察について述べる (**Figure 2-16**)。これまでに観察した際と同様に、蛍光団由来の輝点が互いに接近し、一定時間の共局在化を示す様子が観察された。SSEA-3、SSEA-4、Globo-H のホモダイマー寿命の解析を行なったところ、それぞれ 115 ms、132 ms、121 ms の共局在時間を示した。ガングリオ系列の母核となる GA2 (127 ms) や GA1 (100 ms) と比較しても同等の共局在時間であり、GSL の系列に依らない、ホモダイマー化の普遍性を示唆した。ヘテロフィリックな相互作用を詳細に調べる必要はあるが、同種 GSL 間における強いホモフィリックな相互作用を示したことから、グロボ系列 GSL においても、各 GSL が互いに独立したドメインに存在し、細胞機能の制御に関与している可能性を示唆した。

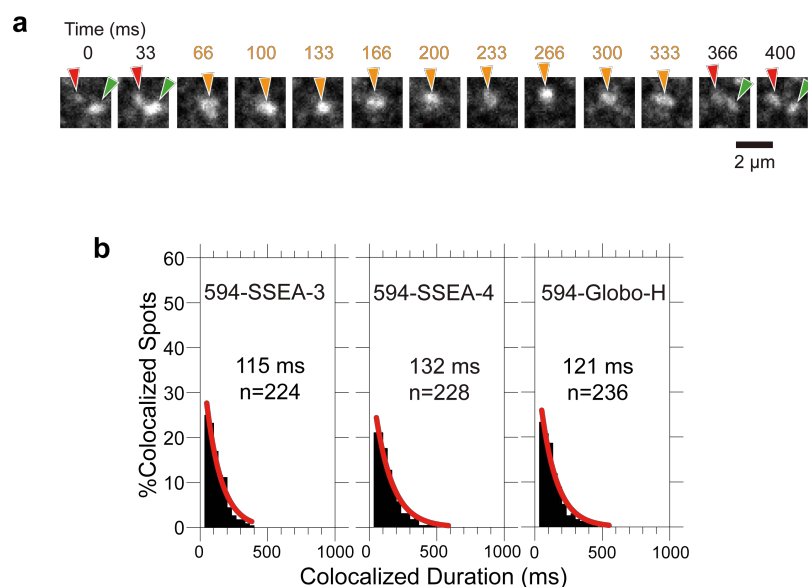


Figure 2-16. (a) Typical superimposed video-frame sequences of a homodimer of Globo-H probes. (b) The distributions of individual colocalization durations for homodimers of 594-SSEA-3, 594-SSEA-4 and 594-Globo-H.

第三部

脂質ラフトの動的構造の理解に向けた 光親和性スフィンゴ糖脂質プローブの開発

細胞は、様々な細胞小器官、タンパク質、脂質、糖質などの生体分子から構成されている。個々の生体分子は相互作用し協調的に働くことで細胞機能に影響を与えており、現在では生体分子同士の相互作用研究 (interactome) が注目されている。第二部で述べたように、細胞膜上の分子は常にダイナミックに自由運動しており、特定の生体分子同士が会合、拡散を繰り返し相互作用している。この分子間相互作用及びその結果形成される細胞膜ドメインは、細胞内シグナル伝達に寄与しているほか、細胞増殖やウイルス感染、免疫機構などに重要な役割を果たすことが示唆されている¹。従って、細胞膜相互作用の意義を理解するためには、どのようなタイミングで、どのような分子が相互作用しているかを知る必要がある²。

細胞膜上における分子間相互作用の解析法として、生化学的な手法による解析・同定法と、分子の標識化により相互作用を観察する方法、といった二つに大別される。前者については、共免疫沈降法や DRM 法がしばしば利用される。共免疫沈降は、任意の細胞膜分子について抗体を用いて免疫沈降し、同時に沈降してくる分子を相互作用分子として同定する手法である。DRM 法は、第二部で述べたように、ラフト分子が界面活性剤に難溶であるという性質を利用した手法である。生化学的手法は簡便である反面、相互作用のタイミングの判断が難しく、実際の生体環境における相互作用を結果に反映しているのか疑問視されている。一方、後者については、FRET や一分子イメージングを用いた解析が挙げられる。これらの手法は、生理的な相互作用を反映している反面、決められた分子間の相互作用を形態

¹ Brown, D. A.; London, E. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1998**, *14*, 111–136.

² Kotani, N.; Honke, K. *Seikagaku* **2011**, *83*, 754–758.

学的に観察する手法であり、相互作用分子の同定は出来ない。特に、糖鎖分子については、糖鎖の構造的・機能的複雑さ、及び糖認識分子とのアフィニティの弱さ故に、相互作用解析が遅れている³。

この課題に対し、Honke ら⁴は、EMARS (Enzyme-Mediated Activation of Radical Sources) と呼ばれる細胞膜上分子間相互作用の解析法を報告している (**Figure 3-1**)。この手法では、西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) 標識抗体を用いて解析したい分子を HRP 標識し、ビオチンや蛍光などで標識されたアリールアジドを加えることにより、アジド基が HRP による活性化を受け、標的分子近傍の相互作用分子を標識し、同定することが出来る。本手法は、*in vivo* での相互作用を生化学的に可視化出来る手法であり、細胞膜上における分子間相互作用を解析する手法として画期的なツールであるといえる。

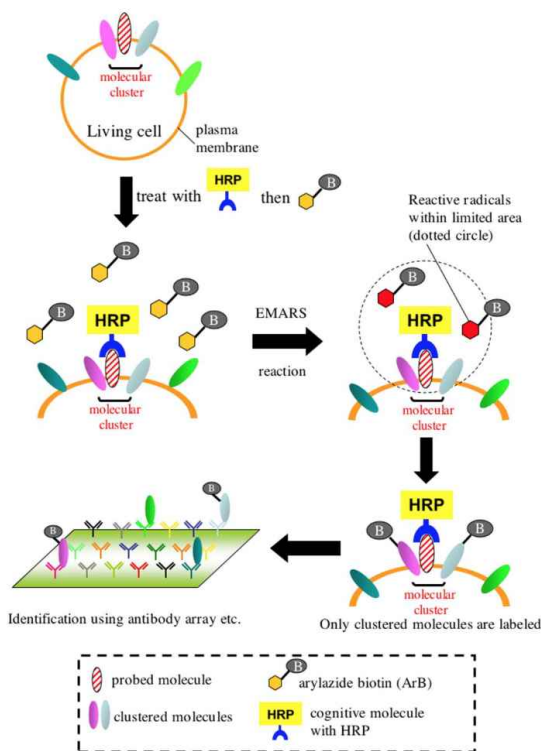


Figure 3-1. Schematic diagram of the *in vivo* EMARS analysis.

³ Wu, H.; Kohler, J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2019**, *53*, 173–182.

⁴ Kotani, N.; Gu, J.; Isaji, T.; Uda, K.; Taniguchi, N.; Honke, K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 7405–7409.

Ohkawa らは、悪性黒色腫に特異的に発現するガングリオシド GD3 と脂質ラフト中で相互作用する分子を EMARS 法により解析し、PDGFR α を同定した⁵。しかし、EMARS 法は標的分子の活性化及びドメインの形成を伴う相互作用を解析しているため、定常状態における分子間相互作用の解析が困難である可能性がある。加えて、GSL においては、相互作用するラフト親和性タンパク質の活性化により GSL が集積する場合も考えられるため、相互作用タンパク質が未知である場合は本手法を適用できない。更に、EMARS 法は半径約 200–300 nm 以内における相互作用を間接的に捉える手法であるが、Suzuki ら⁶の一分子イメージングにより、on-demand で形成されるラフトにおいて会合するタンパク質受容体はせいぜい 4 個程度であると報告されており、また、GSL-受容体タンパク質の cis 相互作用が一過性のものであるため、非特異的な標識化の可能性も否定出来ない。そのため、GSL-受容体タンパク質の相互作用を直接的に明らかにする別のアプローチが必要となる。

そこで本研究では、ケミカルバイオロジー的手法の一つである、光親和性標識法に着目した。光親和性標識法は、光反応により生成した反応種により、多くのタンパク質が存在する系中から、標的のタンパク質との間で選択的に共有結合を形成する手法であり、標的分子との直接的な相互作用を検出出来ることから、ドラッグディスカバリーや分子間相互作用の研究で広く利用されている⁷。糖鎖-標的分子の相互作用の検出においても、これまでに多くの光親和性糖鎖プローブが開発されてきた⁸。GSL の光親和性プローブについても幾つかの報告例が存在し、光反応性基と、ビオチンや蛍光分子などの機能性タグを、GSL の脂質部

⁵ Ohkawa, Y.; Momota, H.; Kato, A.; Hashimoto, N.; Tsuda, Y.; Kotani, N.; Honke, K.; Suzumura, A.; Furukawa, K.; Ohmi, Y.; Natsume, A.; Wakabayashi, T.; Furukawa, K. *J. Biol. Chem.* **2015**, 290, 16043–16058.

⁶ Suzuki, K. G. N.; Kasai, R. S.; Hirose, K. M.; Nemoto, Y. L.; Ishibashi, M.; Miwa, Y.; Fujiwara, T. K.; Kusumi, A. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, 8, 774–783.

⁷ Smith, E.; Collins, I. *Future Med. Chem.* **2015**, 7, 159–183.

⁸ Wu, H.; Kohler, J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2019**, 53, 173–182.

位⁹または糖鎖部位¹⁰に結合させたプローブが開発された (Figure 3-2)。

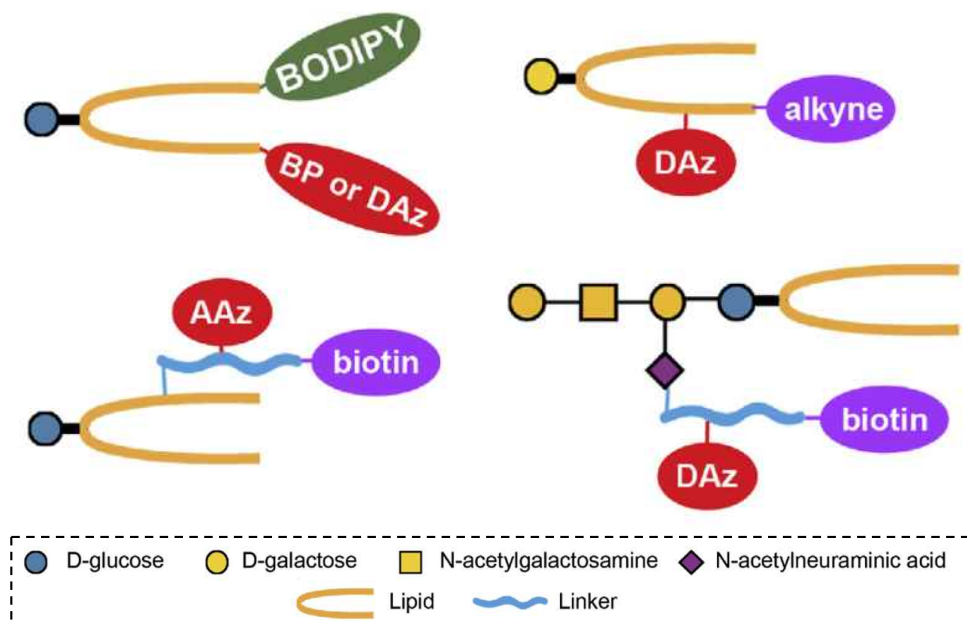


Figure 3-2. Design of representative glycolipid photocrosslinking probes from recent studies. AAz: aryl azide, BP: benzophenone, DAz: diazine.

本研究では、脂質ラフトの構造の理解に向けた、ラフト親和性タンパク質を捕捉する新たな光親和性 GSL プローブの開発に着手することとした。細胞膜上において GSL と相互作用する標的ラフト親和性タンパク質を光照射により捕捉した後、機能性タグの導入を行いアフィニティ精製し、プロテオミクス解析を行う手法を考案した (Figure 3-3)。先述した通り、細胞膜上における GSL-タンパク質の *cis* 相互作用は非常に弱いため、光反応性基の選択及び分子設計が非常に重要となる。第一章では、光化学反応の原理及び既存の光反応性基について述べるとともに、本研究における光反応性基の選択に至る経緯について触れる。本研究では、同位体組成を標的としたプロテオミクス解析への応用を指向した新規構造の光反応

⁹ (a) Sakurai, K.; Yamaguchi, T.; Mizuno, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, 26, 5110–5115; (b) Höglinger, D.; Nadler, A.; Haberkant, P.; Kirkpatrick, J.; Schifferer, M.; Stein, F.; Hauke, S.; Porter, F. D.; Schultz, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2017**, 114, 1566–1571; (c) Liu, X.; Dong, T.; Zhou, Y.; Huang, N.; Lei, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 14330–14334.

¹⁰ Komura, N.; Yamazaki, A.; Imamura, A.; Ishida, H.; Kiso, M.; Ando, H. *Trends Carbohydr. Res.* **2017**, 9, 1–26.

基の開発に着手したため、第二章ではその特性の評価について、第三章では光親和性 GSL
プローブの開発と応用に関して述べる。

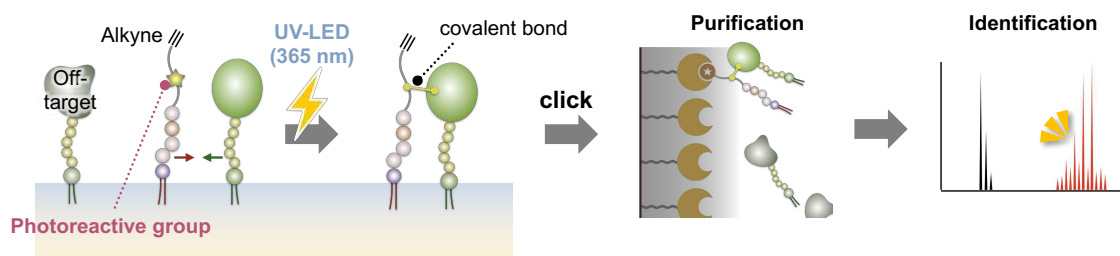


Figure 3-3. Schematic diagram of photocrosslinking in the cell membrane.

第一章 光反応性基の特徴

第一節 光化学反応の原理

光化学反応は、光を吸収して励起状態となった有機分子から開始する (**Figure 3-4**)。分子が光を吸収すると、被占軌道に入っている一個の電子がスピンの向きを保持したまま反結合性軌道に上がり、励起状態となる。HOMO の電子が LUMO に励起された状態を最低励起一重項状態 (lowest excited singlet state) と呼ぶ。励起状態において、LUMO に入っている電子がスピン反転し HOMO と同じ向きのスピンを持つ最低励起三重項状態 (lowest excited triplet state) を生ずることがある。一般に三重項状態の方が一重項状態よりもエネルギーが低く、寿命が長い。励起一重項状態から三重項状態へと変換する効率は、それぞれの分子により異なる。また、一重項基底状態から三重項励起状態への遷移確率は極めて小さく、スピン禁制則と呼ばれる。

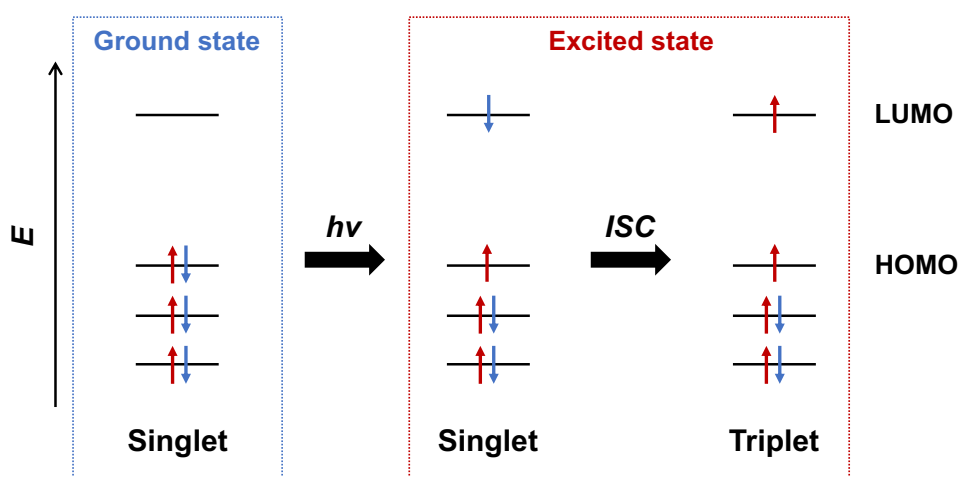


Figure 3-4. Schematic diagram of the ground state and the excited states.

カルボニル化合物における光化学反応はよく知られており¹¹、結合性 σ 、 π 軌道、反結合性 σ^* 、 π^* 軌道、及びケトン、アルデヒドなどの非共有電子対を有するヘテロ原子上に局在化した非結合性軌道 (n 軌道) の五種類の軌道が関与して励起状態を形成する (Figure 3-5)。結合性軌道または非結合性軌道から反結合性軌道への電子遷移により励起状態を生じ、 $n \rightarrow \pi^*$ 遷移、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移、 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 遷移などと表現される。 $n \rightarrow \pi^*$ 遷移は最も遷移エネルギーが小さいが、軌道の空間的な重なりが小さいため、吸収確率は小さい (対称禁制遷移)。 $\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移は最も吸収確率が大きく (許容遷移)、 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ 遷移には 200 nm より短波長の遠紫外線が必要である。

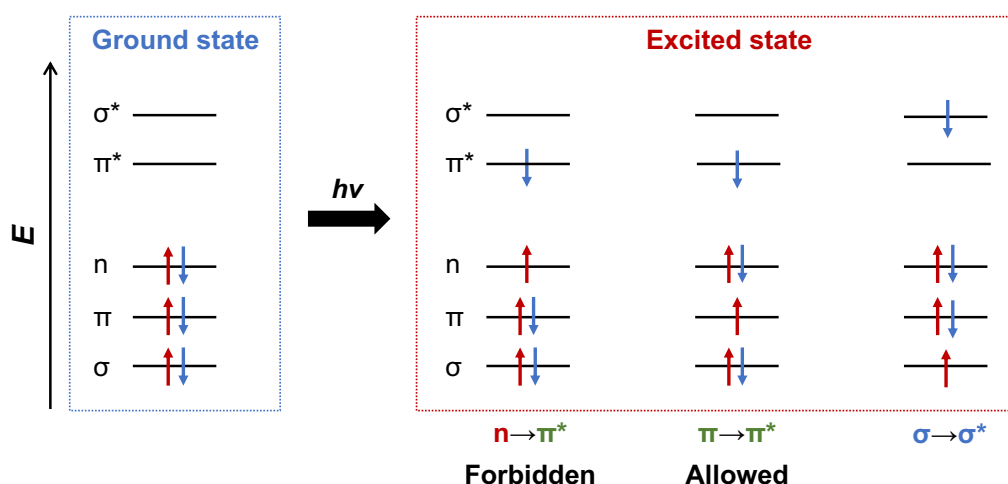


Figure 3-5. Schematic diagram of the electronic transitions and the energy levels.

では、基底一重項状態から励起三重項状態へどのように遷移が起こり、光反応が起こるのだろうか。この過程を詳細に示した図として、Jablonski 図が知られている (Figure 3-6)。カルボニル化合物の場合、基底状態 S_0 の分子が光を吸収すると、一重項の励起状態を形成する。このとき、励起状態 S_1 への遷移 ($n \rightarrow \pi^*$ 遷移) は禁制であるので、まず、励起状態 S_2 に

¹¹ Dinda, B. Photochemistry of Carbonyl Compounds. In *Essentials of Pericyclic and Photochemical Reactions*, Vol. 93; Springer: Switzerland, 2017; pp 241–275.

遷移 ($\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移) する。その後、励起分子は衝突によりエネルギーを失い、より低いエネルギー準位である S_1 へと落ちる。この過程は内部変換 (internal conversion) という。尚、 S_1 から基底状態 S_0 に戻るときに放射される光は、蛍光 (fluorescence) と呼ばれる。一方、 S_1 からスピン反転により励起三重項状態 T に移る過程を項間交差 (ISC) といい、ISC の起こりやすさは、直交する軌道の ISC が起こりやすいという、El-Sayed 則に従う。例えば、一重項の $n \rightarrow \pi^*$ 遷移から三重項の $\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移への ISC は許容遷移であり、一重項の $n \rightarrow \pi^*$ 遷移から三重項の $n \rightarrow \pi^*$ 遷移への ISC は禁制遷移である。つまり、三重項の励起状態 T_2 ($\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移) が S_1 より低い場合に ISC が起こりやすい。その後、内部変換により T_1 へと落ち、燐光 (phosphorescence) の放射や光化学反応、無放射失活により、基底状態へと戻る。殆どの光化学反応は、 S_1 や T_1 から起こるが、光親和性標識の場合、寿命が長く安定な三重項状態へのなりやすさがラベル化効率に影響するため、ISC の起こりやすさが重要となる。

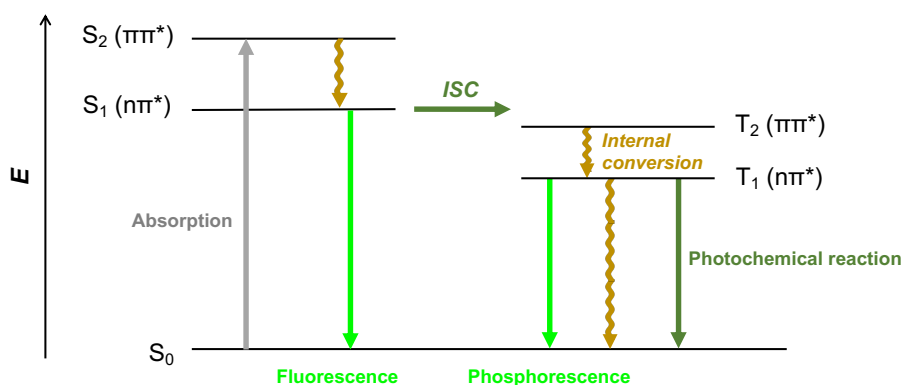


Figure 3-6. Jablonski diagram for absorption, fluorescence, phosphorescence and photochemical reaction.

次節からは、本節で述べた内容と関連付けながら、これまでに開発された光反応性基について取り上げる。

第二節 従来型の光反応性基の特徴

光反応性基は、1962 年に Singh らにより報告されたジアゾアセチル基¹²に端を発し、これまでに様々な官能基が開発されてきた。本節では、現在汎用されている代表的な三種類の光反応性基 (Figure 3-7) について述べる。

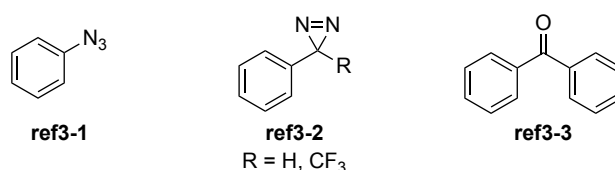


Figure 3-7. Structures of aryl azide **ref3-1**, aryl diazirine **ref3-2** and benzophenone **ref3-3**.

アリールアジド **ref3-1** は、1969 年に Fleet ら¹³により開発された光反応性基である。300 nm 以下の光を照射することにより活性種であるニトレン¹⁴を生成し、C-H/N-H 部位への挿入が起こる (Scheme 3-1)。短寿命の一重項ニトレン **ref3-4** が、ISC により三重項のニトレン **ref3-5** となる場合は、近傍のタンパク質の水素原子引き抜き (HAT) を伴う挿入が起こる¹⁵。一方、一重項ニトレンは、二環性のベンザジリン **ref3-8** を副生し、更に環拡大反応により求電子性のジデヒドロアゼピン¹⁶**ref3-9** を生成し得るため、ラベル化効率の低下及び非特異的ラベル化の原因となる¹⁷。ベンゼン環の水素原子をフッ素原子に置換した誘導体では、環化が起こりにくいことが報告されている¹⁸。アリールアジドは、芳香族求核置換反応 (S_NAr 反応) や有機金属試薬や遷移金属触媒を用いて比較的容易に合成が出来、市販の誘導体が多い

¹² Singh, A.; Thornton, E. R.; Westheimer, F. H. *J. Biol. Chem.* **1962**, 237, PC3006–PC3008.

¹³ Fleet, G. W. J.; Porter, R. R.; Knowles, J. R. *Nature* **1969**, 224, 511–512.

¹⁴ Platz, M. S. *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 487–492.

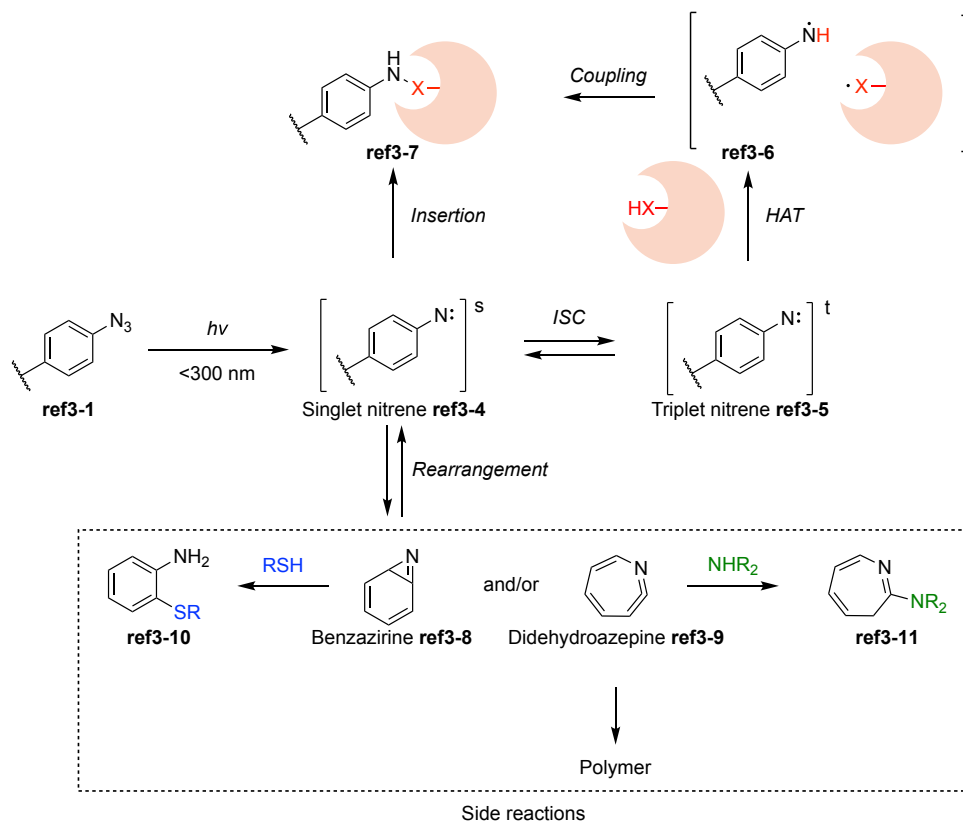
¹⁵ Kotzyba-Hibert, F.; Kapfer, I.; Goeldner, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1296–1312.

¹⁶ Li, Y.-Z.; Kirby, J. P.; George, M. W.; Poliakov, M.; Schuster, G. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 8092–8098.

¹⁷ Sumranjit, J.; Chung, S. J. *Molecules* **2013**, 18, 10425–10451.

¹⁸ (a) Young, M. J. T.; Platz, M. S. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2199–2202; (b) Cai, S. X.; Glenn, D. J.; Keana, J. F. W. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1299–1304.

ため汎用性が高い¹⁹ことに加え、他の光反応性基に比べて小さい構造を有することから、標識した化合物へ与える影響が少ないことが最大の利点である。しかし、アジド基がチオールと反応してアミンに還元され得るため、光活性化が抑制される場合がある。また、短波長の UV を長時間照射する必要があるため、生体分子の損傷リスクが懸念される。



Scheme 3-1. Photoactivation mechanism of aryl azide **ref3-1**.

アリールジアジリン **ref3-2** は、1973 年に Smith ら²⁰により報告された光反応性基である。360 nm 付近の光照射により反応性の高い中間体であるカルベン **ref3-12** を生成し、近傍の標的分子と共有結合を形成する (**Scheme 3-2**)。水とも反応することから、ラベル化効率は低下するものの、近傍にタンパク質が存在しない場合は失活し、非特異的なクロスリンクを起こ

¹⁹ Vodovozova, E. L. *Biochemistry (Moscow)* **2007**, 72, 1–20.

²⁰ Smith, R. A. G.; Knowles, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 5072–5073.

しにくいと考えられている。Brunner ら²¹は、トリフルオロメチルフェニルジアジリン基を開発し、CF₃ 基の導入により、ジアゾ化合物への異性化を抑えることに成功しており、現在ではこのトリフルオロメチルフェニルジアジリン基が汎用性の高いツールとして用いられている。副生成物のジアゾ体 **ref3-14** は、酸性条件下でアルキル化剤として働き、非特異的ラベル化の原因となり得ることに加えて、ジアゾ体からカルベンへの再活性化のためには強い照射条件が必要²²であり、生体分子の損傷リスクが伴う。そのため、ジアゾ体の生成を抑制することは重要な課題である。CF₃ 基を導入してもなお 30%以上がジアゾ体へと変換されるため、カルベンの生成効率には改善の余地があるが、アジドとジアジリンの化学的性質を比較すると、ジアジリンの方が以下の点で優れている²³。ジアジリンは種々の化学反応条件下において安定であり、ニトロ化や Friedel-Crafts 反応などの激しい条件にも耐えることが出来る²⁴。また、比較的長波長の UV で励起することが出来、また、カルベンの方がニトレンよりも反応性が高く短時間で標識出来ることから、生体分子への損傷のリスクが少ない。更に、ニトレンでの架橋は、アミノ酸配列を決める際のエドマン分解により切断されてしまうため、機能部位の解析が困難²⁵である一方、カルベンの生成を伴うジアジリンは、標的分子と炭素原子上で共有結合を形成するので架橋構造の安定性においても優れている²⁶。一方、アリールアジドに比べると構築に手間がかかることが短所として挙げられる。

²¹ Brunner, J.; Senn, H.; Richards, F. M. *J. Biol. Chem.* **1980**, 255, 3313–3318.

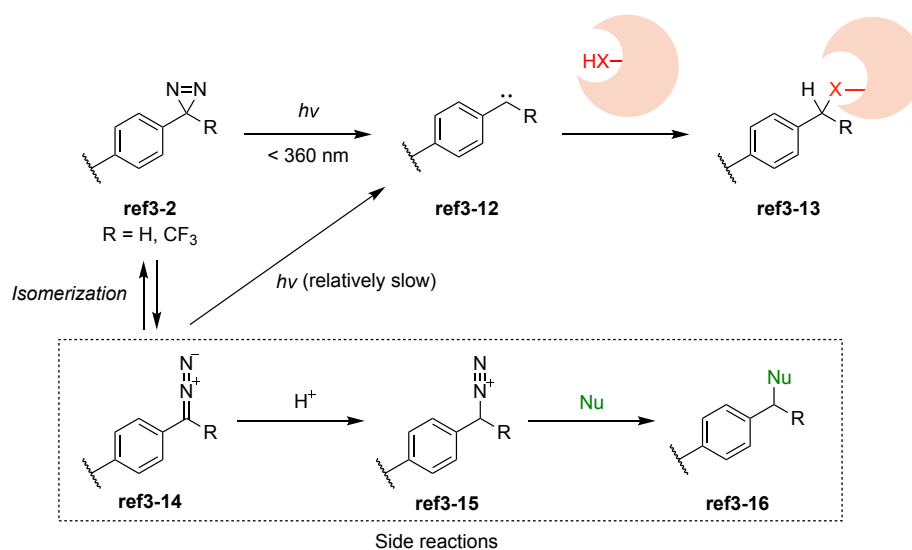
²² Vodovozova, E. L. *Biochemistry (Moscow)* **2007**, 72, 1–20.

²³ Sadakane, Y. *Yakugaku Zasshi* **2007**, 127, 1693–1699.

²⁴ Hatanaka, Y.; Nakayama, H.; Kanaoka, Y. *Rev. Heteroatom Chem.* **1996**, 14, 213–243.

²⁵ Maliarik, M. J.; Goldstein, I. J. *J. Biol. Chem.* **1988**, 263, 11274–11279.

²⁶ Hatanaka, Y. *Yakugaku Zasshi* **1994**, 114, 619–636.

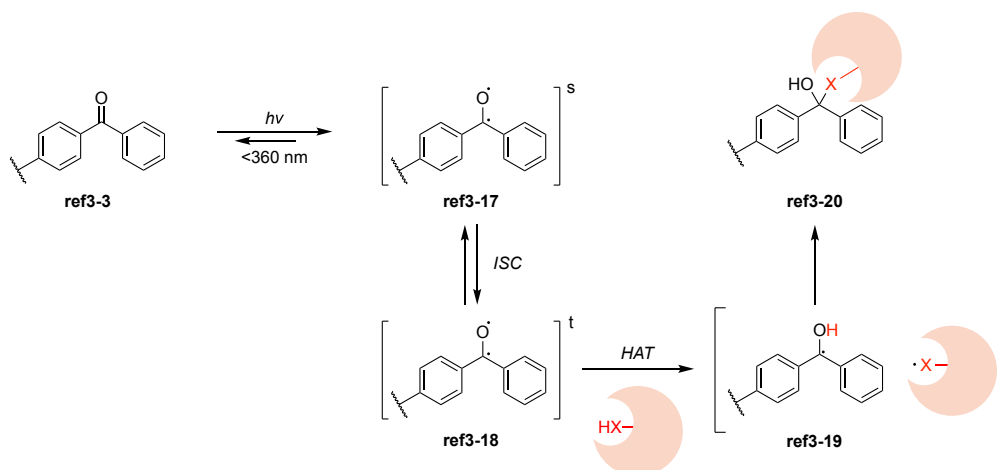


Scheme 3-2. Photoactivation mechanism of diazirines **ref3-2**.

ベンゾフェノン **ref3-3** は、1973 年に Galardy ら²⁷により報告された光反応性基であり、カルボニル基が活性化に関与する。360 nm 付近の光で励起されて活性種である一重項のビラジカル **ref3-17** を形成し、励起三重項状態 **ref3-18** となった際に、標的分子の炭素上の水素を引き抜いた後、標的分子のラジカルとベンゾフェノンの炭素ラジカルの間で共有結合を形成する (**Scheme 3-3**)。光照射により窒素分子を放出するアジドやジアジリンと異なり、対象の分子が存在しないときには基底状態に戻る可逆的な反応であるため、一般的に反応効率が低いと言われている。一方、最大の欠点はその嵩高さであり、元のリガンドの性質を変えてしまう可能性を有する。また、長時間の照射 (>30 分間²⁸) が必要であるため、非特異的な相互作用が起こる場合がある。

²⁷ Galardy, R. E.; Craig, L. C.; Printz, M. P. *Nat. New Biol.* **1973**, 242, 127–128.

²⁸ Vodovozova, E. L. *Biochemistry (Moscow)* **2007**, 72, 1–20.



Scheme 3-3. Photoactivation mechanism of benzophenone **ref3-3**.

現在でも、上記の光反応性基を用い、生理活性物質の標的タンパク質をラベル化し、同定する試みが盛んに行われている。しかし、タンパク質のラベル化を達成するためには、以下のような光反応性基の性質が求められる²⁹。

- 1) 蛍光灯など日常扱う光で励起しないこと。
- 2) 励起条件が温和で、生体成分に影響を与えないこと。
- 3) 励起状態の寿命が、タンパク質のラベル化のために十分に長いこと。
- 4) 非特異的にタンパク質と結合を形成しないこと。
- 5) 光反応性基の導入によって、生理活性物質の性質や、標的タンパク質とのアフィニティを変化させないこと。

本節で取り上げた光反応性基はいずれも、嵩高く疎水性が高い構造を有するため、上述の全ての条件を満たすためには未だ不十分である。三種類の光反応性基の選択性を直接比較

²⁹ Vodovozova, E. L. *Biochemistry (Moscow)* **2007**, 72, 1–20.

した例³⁰によると、ジアジリンが最も高い選択性を発揮したものの反応効率は低く、非特異的ラベル化を完全に抑制することは出来なかった。近年では、脂肪族ジアジリン³¹や、テトラゾール誘導体³²といった、コンパクトな構造を有する光反応性基も開発されているが、いずれも不可逆的な励起によりラベル化が起こるため反応効率に欠け、後者に関して生体直交反応で用いるには更なる検討が必要であるため、現時点において利用例は少ない³³。そのため、ベンゾフェノンのように可逆的に活性化を受け、コンパクトで疎水性の低い構造を有する、高い反応効率及び選択性を発揮する新規光反応性基の開発が求められていた。

この課題に対し、Ota らは近年、2-チエニル置換型 α -ケトアミド構造 **ref3-21** (**Figure 3-8**) が光反応性基として有用であることを報告した³⁴。この構造は上記の光反応性基よりコンパクトで疎水性が低く、安定性も高いうえ、光親和性標識において高い反応効率を示すことが証明された。次節では、 α -ケトアミド構造の光反応性について触れるとともに、2-チエニル置換型 α -ケトアミド構造の特徴及びその有用性について述べる。

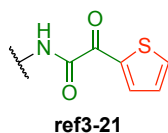


Figure 3-8. Structure of 2-thienyl-substituted α -ketoamide **ref3-21**.

³⁰ (a) Park, J.; Koh, M.; Koo, J. Y.; Lee, S.; Park, S. B. *ACS Chem. Biol.* **2016**, *11*, 44–52; (b) Nakamura, Y.; Miyatake, R.; Ueda, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7289–7292; (c) Sakurai, K.; Ozawa, S.; Yamada, R.; Yasui, T.; Mizuno, S. *ChemBioChem* **2014**, *15*, 1399–1403.

³¹ Li, Z.; Wang, D.; Li, L.; Pan, S.; Na, Z.; Tan, C. Y. J.; Yao, S. Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 9990–9998.

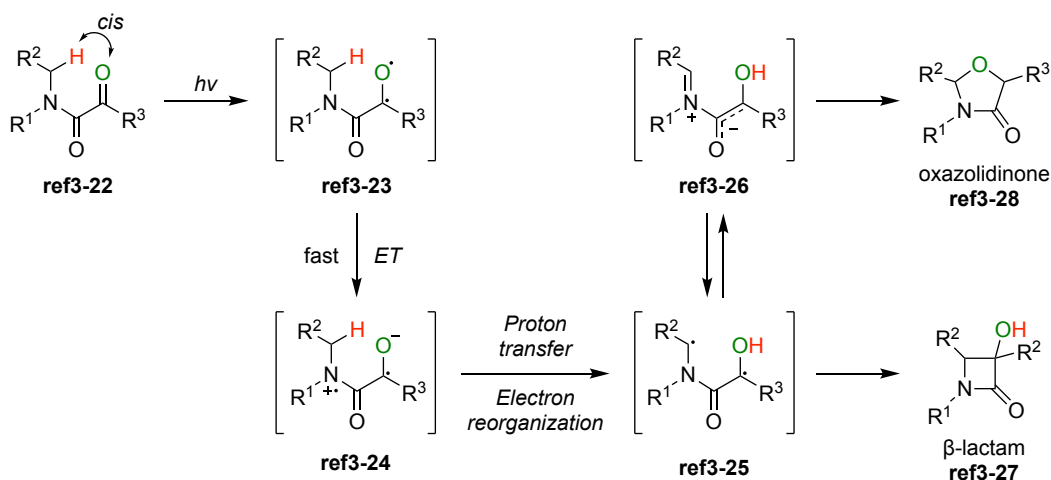
³² (a) Herner, A.; Marjanovic, J.; Lewandowski, T. M.; Marin, V.; Patterson, M.; Miesbauer, L.; Ready, D.; Williams, J.; Vasudevan, A.; Lin, Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 14609–14615; (b) Li, Z.; Qian, L.; Li, L.; Bernhammer, J. C.; Huynh, H. V.; Lee, J.-S.; Yao, S. Q. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 2002–2006.

³³ Wu, H.; Kohler, J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2019**, *53*, 173–182.

³⁴ Ota, E.; Usui, K.; Oonuma, K.; Koshino, H.; Nishiyama, S.; Hirai, G.; Sodeoka, M. *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 876–880.

第三節 α -ケトアミドの光化学反応と光反応性基としての利用

1,2-ジカルボニル化合物の光反応は、Norrish type-I 反応、Norrish type-II 反応として広く知られている。特に、*N,N*-ジ置換型 α -ケトアミド構造の光反応性について、Aoyama ら³⁵、Whitten ら³⁶によって精力的に調べられている。ケトアミド **ref3-22** の光照射によりビラジカル中間体 **ref3-23** を形成し、一電子移動 (ET) により即座に zwitterion **ref3-24** に変換される。生じた酸素アニオンによる、*cis* の位置にあるプロトンの引き抜き、及び electron reorganization によりビラジカル **ref3-25** を形成し、Norrish type-II 反応を経由して β -ラクタム **ref3-27** を与える。一方、**ref3-25** は zwitterion **ref3-26** と平衡状態をとり、オキサゾリジノン **ref3-28** を与える (Scheme 3-4)。

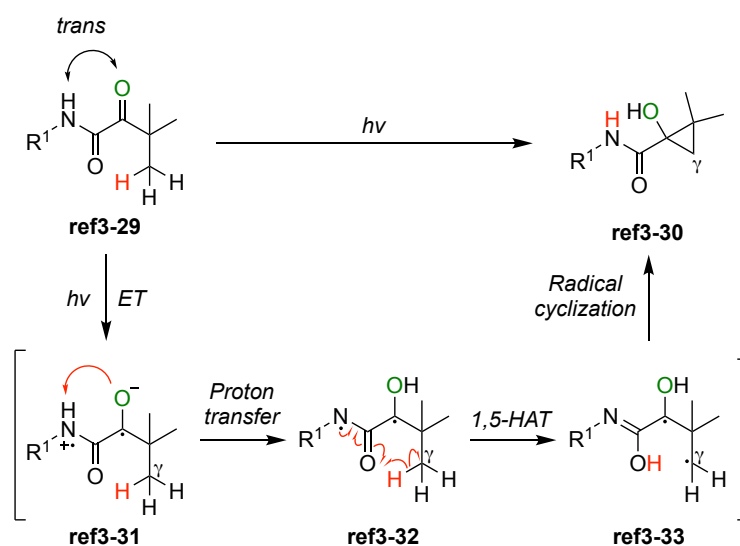


Scheme 3-4. Photoreaction of *N,N*-disubstituted α -ketoamide **ref3-22**.

³⁵ (a) Aoyama, H.; Hasegawa, T.; Watabe, M.; Shiraishi, H.; Omote, Y. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 419–422; (b) Aoyama, H.; Sakamoto, M.; Omote, Y. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1981**, 1357–1359; (c) Aoyama, H.; Sakamoto, M.; Kuwabara, K.; Yoshida, K.; Omote, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 1958–1964.

³⁶ (a) Richard, W. G.; Chesta, C. A.; Whitten, D. G. *Photochem. Photobiol.* **1991**, *54*, 557–562; (b) Chesta, C. A.; Whitten, D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2188–2197.

一方、*N*-モノ置換型 α -ケトアミド構造については、酸素アニオンが生じた際に *trans* の位置にあるアミンのプロトンを引き抜くため、ジ置換型とは機構が異なってくる。実際には、光照射後に生じた中間体が即座に分解するものが多いため、生成物に関する報告例は少ない。しかし、Ota ら³⁷により、ケト基に隣接する置換基に *tert*-ブチル基を導入すると、光照射によりカルボニル炭素と γ 位の炭素との間で共有結合を形成しシクロプロパノールを形成することが報告されている。**ref3-29** の光照射により電子移動が起こり、zwitterion **ref3-31** を形成する。その後、アミドのプロトン移動が起こりビラジカル中間体 **ref3-32** を形成し、 γ C-H 結合のホモリシスを伴う HAT により **ref3-33** を与え、ラジカル環化及びアミド-イミド酸互変異性によりシクロプロパノール **ref3-30** が得られる (Scheme 3-5)。



Scheme 3-5. Photo-induced formation of cyclopropanol from α -ketoamide **ref3-29**.

この知見は、ケト基に結合する置換基の構造を変えることにより、*N*-モノ置換型 α -ケトアミド構造の光特性が変化することを裏付ける結果である。つまり、置換基の種類を検討す

³⁷ Ota, E.; Mikame, Y.; Hirai, G.; Koshino, H.; Nishiyama, S.; Sodeoka, M. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 5991–5994.

れば、ベンゾフェノン **ref3-3** のように可逆的に活性化が可能な光反応性基として応用出来るのではないかと考えた。

種々の検討の結果、2-チエニル置換型 α -ケトアミドが、水中安定性、光安定性において優れていることが示された。更に、 α -Man のレクチンであるコンカナバリン A (Con A) の光親和性標識により、ラベル化効率及び選択性において既存の光反応性基よりも優れていることが見出された (**Figure 3-9**)。

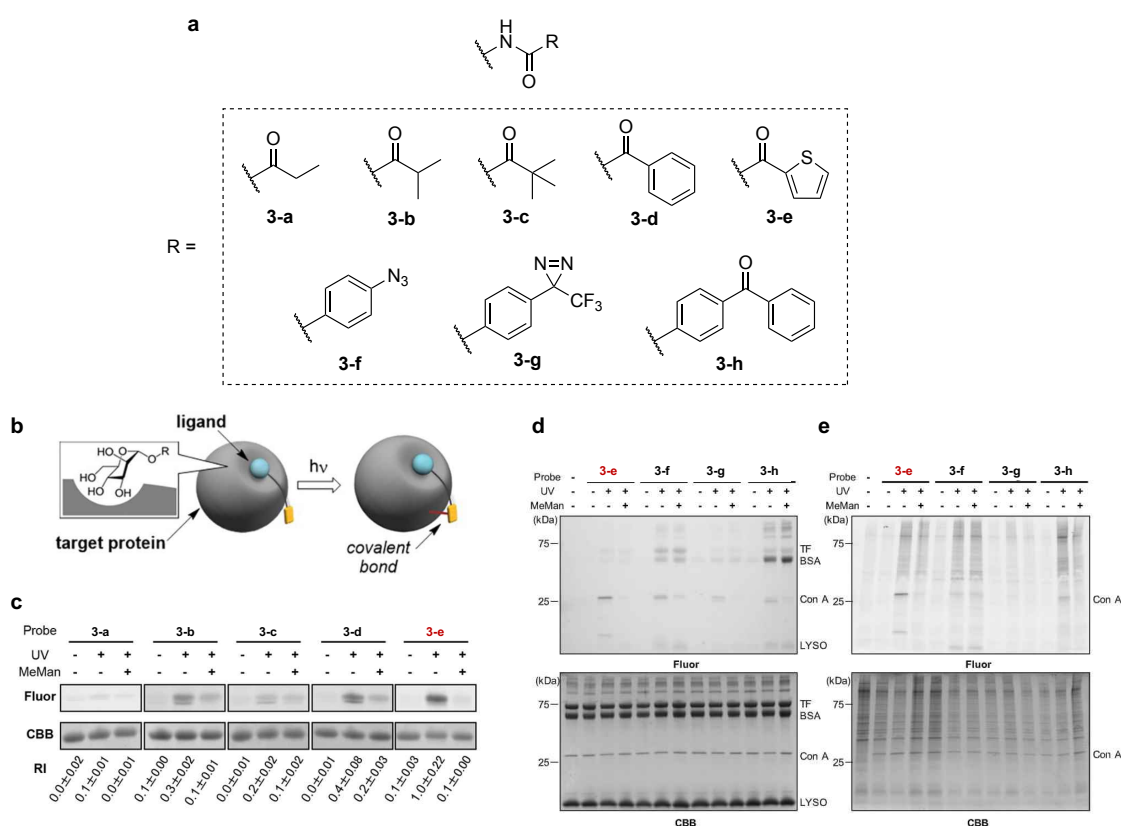
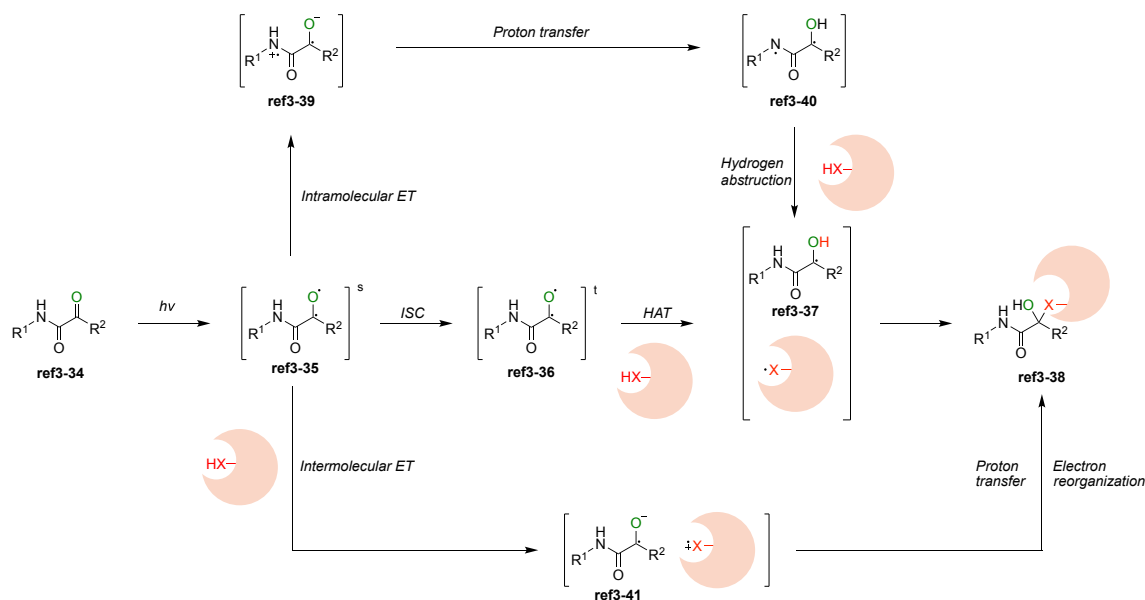


Figure 3-9. (a) Structures of photophores **3-a–h** investigated in the study. (b) Schematic representation of photoaffinity labeling. (c) Photoaffinity labeling of Con A with ligands **3-a–e**. (d and e) Photoaffinity labeling of Con A with ligands **3-e–h** (d) in the presence of other proteins and (e) in HeLa cell lysate.

第四節 セレノフェン-2-イル型 α -ケトアミドの光反応性基としての可能性

チエニル置換型 α -ケトアミドのラベル化の機構は、以下のように考察されている (Scheme 3-6)。光照射により **ref3-34** のケト基が活性化を受け一重項のビラジカル中間体 **ref3-35** を形成する。ISC が起こる場合は励起三重項状態 **ref3-36** となり、HAT 及び C-C 結合の形成によりラベル化が進行する。期待通り、ベンゾフェノンと同様の機構で進行することが証明された。一方、ISC が起こらない場合、分子内もしくは分子間 ET を経由し、ラベル化が進行することもあるが、中間体の不安定さ故に、ケトアミドの分解が優先する。



Scheme 3-6. Plausible photoreaction for photoaffinity labeling with α -ketoamides.

チエニル置換型 α -ケトアミドの光反応性を DFT 計算により解析したところ、 S_1 の $n\pi^*$ と直交する軌道である励起三重項状態の $\pi\pi^*$ のエネルギーが相対的に低くなっており、先述したような ISC が起こりやすくなっているため光反応性を示したと考察されている (Figure 3-10)。

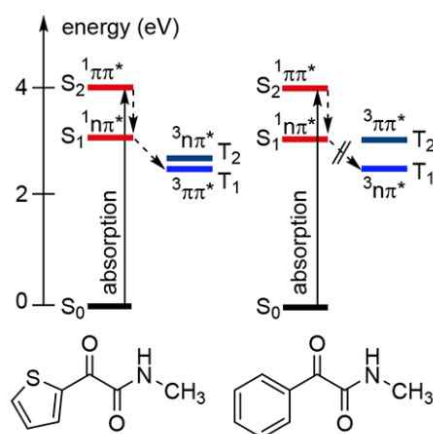


Figure 3-10. Calculated energy levels of singlet and triplet excited states of 2-thienyl- and phenyl-substituted α -ketoamides.

チエニル基の寄与については解明されていないが、分子内に硫黄原子を有するため、重原子効果によりスピン反転しやすく、即ち三重項状態になりやすくなったことが一つの要因として考えられる。原子は通常、原子核の周りを電子が自転と公転をしており、それぞれの磁気モーメントの相互作用をスピン-軌道相互作用 (SOC; spin-orbit coupling) という。重原子であるほどこの相互作用が大きくなり、スピン反転しやすくなる (Figure 3-11)。

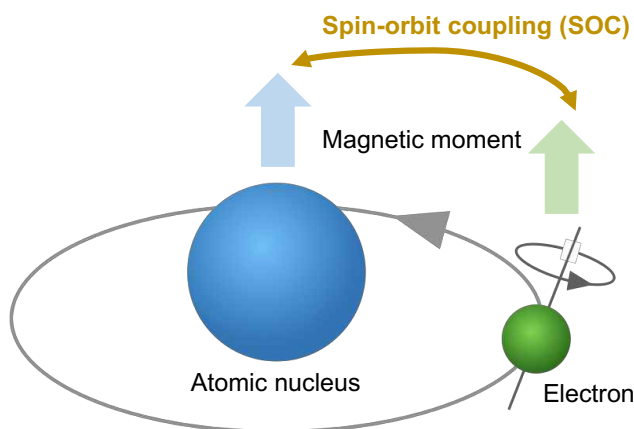


Figure 3-11. Schematic diagram of SOC.

仮に重原子効果の寄与が正しいとすれば、硫黄原子と周期表において同族であるセレン原子に置き換えることにより、更にラベル化効率が向上するのではないかと考えた。セレンは、周期表第 16 族に属するカルコゲン元素の一つであり、硫黄と化学・物理学性質が類似していることで知られている。

加えて、セレンの最も重要な特徴として、存在比の大きい安定な同位体が五種類存在することである (^{74}Se : 0.86%, ^{76}Se : 9.23%, ^{77}Se : 7.60%, ^{78}Se : 23.69%, ^{80}Se : 49.80%)。即ち、セレンの同位体組成を利用すれば、標的タンパク質捕捉後のプロテオミクス解析の際に、質量分析における特徴的なシグナルにより解析を簡便化出来ると考えた。

プロテオミクスでは一般的に、断片化したタンパク質を LC-MS で解析し、親タンパク質の同定を行なった後、LC-MS/MS により配列情報を解読することで、タンパク質の同定を行う。しかし、断片化されたタンパク質がごく少量である場合、質量分析におけるシグナルが見落とされてしまう可能性がある。これに対し、Bertozzi ら³⁸は、ジブロモ構造を有するタグを標的タンパク質に付加することによる、同位体組成を利用したプロテオミクス解析法を報告しており、本研究でセレノフェン-2-イル型 α -ケトアミド構造を新たに開発すれば、同様のアプローチが可能になると期待出来る。第二章では、セレノフェン-2-イル型 α -ケトアミドの光反応性基としての利用に向けた検討について、第三章では、細胞膜 *cis* 相互作用の検出に向けたセレノフェン-2-イル型 α -ケトアミド構造を有するプローブの開発について詳細を述べる。

³⁸ (a) Palaniappan, K. K.; Pitcher, A. A.; Smart, B. P.; Spiciarich, D. R.; Iavarone, A. T.; Bertozzi, C. R. *ACS Chem. Biol.* **2011**, *6*, 829–836; (b) Woo, C. M.; Iavarone, A. T.; Spiciarich, D. R.; Palaniappan, K. K.; Bertozzi, C. R. *Nat. Methods* **2015**, *12*, 561–567.

第二章 光反応性基としてのセレノフェン-2-イル型 α -ケトアミドの開発

第一節 α -ケトアミド構造を有する α -Man 誘導体の合成

新規光反応性基の開発に向け、糖リガンド-タンパク質相互作用のモデルとして、 α -Man と Con A の相互作用を採用した。Con A は、*Canavalia ensiformis* と呼ばれるマメ科の植物から単離されるレクチンの一種である。pH 5.5 未満では二量体、pH 7.0 以上では四量体を形成して存在しており³⁹、単量体の分子量は約 26 kDa で 237 のアミノ酸残基から構成されている。Con A の糖結合サイト一つに対して、 Ca^{2+} と Mn^{2+} が一つずつ含まれ、 α -Man 及び α -Glc、そしてそれらの誘導体と金属イオン存在下で特異的に結合する⁴⁰ことから、糖鎖構造の決定や糖タンパク質の検出、分離精製などの場面で汎用されている。単糖の中では、 α -MeMan が最も強く結合することが調べられている⁴¹ ($K_d \cong 1.0 \times 10^{-4}$ M)。

Con A の光親和性標識は、Beppu ら⁴²の報告が最初であり、フェニルアジドをアグリコンに有する α -Man プローブ **ref3-42** が用いられた。その後、Hamachi ら⁴³により、トリフルオロメチルフェニルジアジリン基とリガンド部位をジスルフィド結合で連結した α -Man プローブ **ref3-43** が開発され、タンパク質表面のラベル化及び機能性分子の導入を可能とするバイオセンサーとして機能することが報告された。Ota らは、以上の報告における α -Man プローブの光反応性基部位と同程度の位置にケトアミド構造を導入した、 α -Man 誘導体 **3-a-e**、

³⁹ (a) Mandal, D. K.; Kishore, N.; Brewer, C. F. *Biochemistry* **1994**, 33, 1149–1156; (b) Naismith, J. H.; Field, R. A. *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 972–976; (c) Loris, R.; Maes, D.; Poortmans, F.; Wyns, L.; Bouckaert, J. *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 30614–30618.

⁴⁰ Kaushik, S.; Mohanty, D.; Surolia, A. *Biophys. J.* **2009**, 96, 21–34.

⁴¹ Schwarz, F. P.; Puri, K. D.; Bhat, R. G.; Surolia, A. *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 7668–7677.

⁴² Beppu, M.; Terao, T.; Osawa, T. *J. Biochem.* **1975**, 78, 1013–1019.

⁴³ (a) Hamachi, I.; Nagase, T.; Shinkai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 12065–12066; (b) Nagase, T.; Nakata, E.; Shinkai, S.; Hamachi, I. *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 3660–3669; (c) Nakata, E.; Koshi, Y.; Koga, E.; Katayama, Y.; Hamachi, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13253–13261.

3-a'-e'を合成し、光特性の検討を行なった (**Figure 3-12**)。本研究では、チエニル型ケトアミド構造を有する α -Man 誘導体の設計を模倣し、セレノフェン-2-イル型 α -Man 誘導体を合成することにより、光特性及び光反応性をチエニル型と比較することとした。

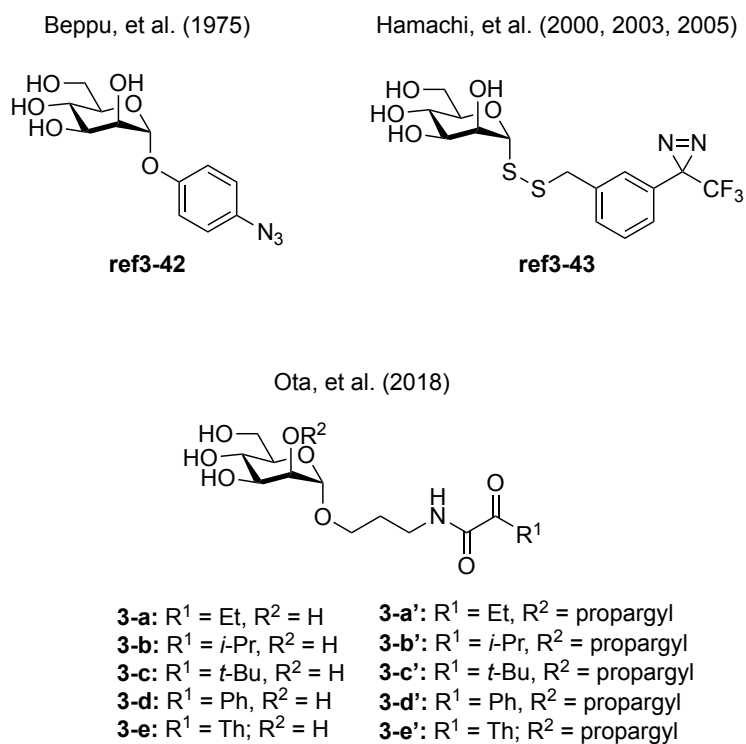
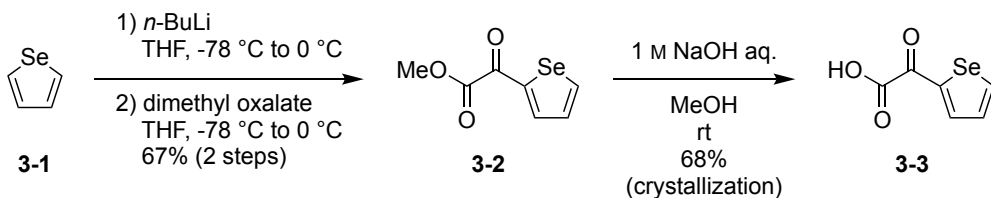


Figure 3-12. The photoaffinity α -Man analogs reported previously.

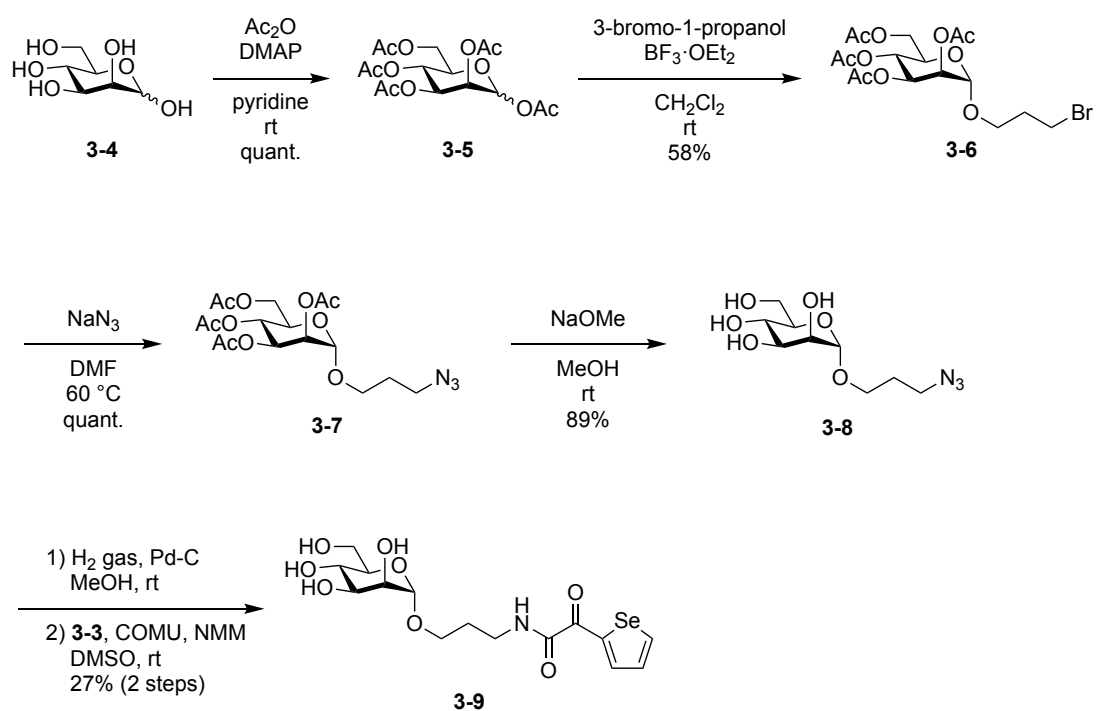
第一項 無置換型 α -Man 誘導体の合成

まず、 α -Man 誘導体に導入するケト酸の合成を行なった (Scheme 3-7)。セレンOFエン **3-1** (Cat. No. S0829; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan) を出発とし、 α 位のリチオ化を行なった後、dimethyl oxalate を作用させ、ケトエステル化を行い、化合物 **3-2** を得た。その後、塩基を用いた加水分解を行い、ケト酸 **3-3** を調製した。化合物 **3-3** は結晶化 (Et₂O/MeOH) により得られたが、熱に不安定であり、35 °C 以上の加温により分解が確認されたため、30 °C に設定した湯浴により濃縮操作を行なった。



Scheme 3-7. Synthesis of ketoacid **3-3**.

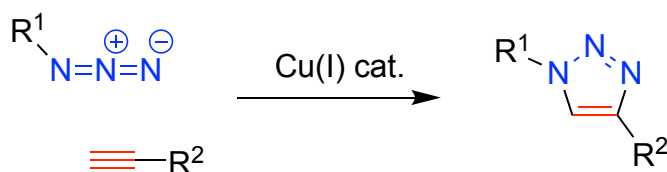
続いて、セレンOFエン-2-イル- α -ケトアミドの性質評価に向け、無置換型の α -Man 誘導体を合成した (Scheme 3-8)。 α -Man の Ac 化、3-bromo-1-propanol とのグリコシル化、アジド化、Ac 基の除去により誘導体 **3-8** を得た。接触水素化によるアジド基の還元を行いアミン体を得た後、ケト酸 **3-3** の導入を行い、化合物 **3-9** へと導いた。



Scheme 3-8. Synthesis of α -Man-conjugated ketoamide **3-9**.

第二項 2位アルキン修飾型 α -Man プロープの合成

本項では、レクチンとのラベル化複合体の検出に向けた、アルキンを有する α -Man プロープの合成について述べる。アルキンは、アジド基との間で[3+2]双極子付加環化反応によりトリアゾールを形成することが知られており、クリックケミストリーの代表格 (Huisgen 双極子環化付加反応⁴⁴) として知られている。最も汎用性が高いのは、銅触媒存在下におけるアジド-アルキン環化付加反応⁴⁵ (CuAAC; **Scheme 3-9**) であり、高反応性且つ高位置選択的に進行し、水中でも進行することから、生体直交型反応として広く利用されている⁴⁶。



Scheme 3-9. Summary of CuAAC reaction.

先行研究⁴⁷では、分子内にアルキンを導入したプローブを合成し、Con A との光架橋反応を行なった後、アジド基修飾した蛍光団を CuAAC 反応で導入することにより、複合体の検出を行なっている。Con A- α -MeMan 複合体の共結晶構造によると、 α -Man は還元末端が結合ポケットの外側を向くように Con A と結合している (**Figure 3-13ab**)。糖結合サイトにおいて、Leu99、Tyr100、Asn14、Arg228 アミノ酸残基が α -MeMan の 3,4,6 位水酸基との水素結合に関わっており、2 位水酸基は水素結合に関与しないと考えられている (**Figure 3-13c**)。

⁴⁴ Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, 2, 565–598.

⁴⁵ (a) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596–2599; (b) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057–3064.

⁴⁶ (a) Pickens, C. J.; Johnson, S. N.; Pressnall, M. M.; Leon, M. A.; Berkland, C. J. *Bioconjugate Chem.* **2018**, 29, 686–701; (b) Neumann, S.; Biewend, M.; Rana, S.; Binder, W. H. *Macromol. Rapid Comm.* **2020**, 41, 1900359.

⁴⁷ Ota, E.; Usui, K.; Oonuma, K.; Koshino, H.; Nishiyama, S.; Hirai, G.; Sodeoka, M. *ACS Chem. Biol.* **2018**, 13, 876–880.

この観点から、アルキンは、Con A と Man の相互作用を妨げない、2 位に導入することが望ましい。実際に、Ota とも Man 2 位にアルキンを導入したプローブを用いており、これに倣い合成を行うこととした。

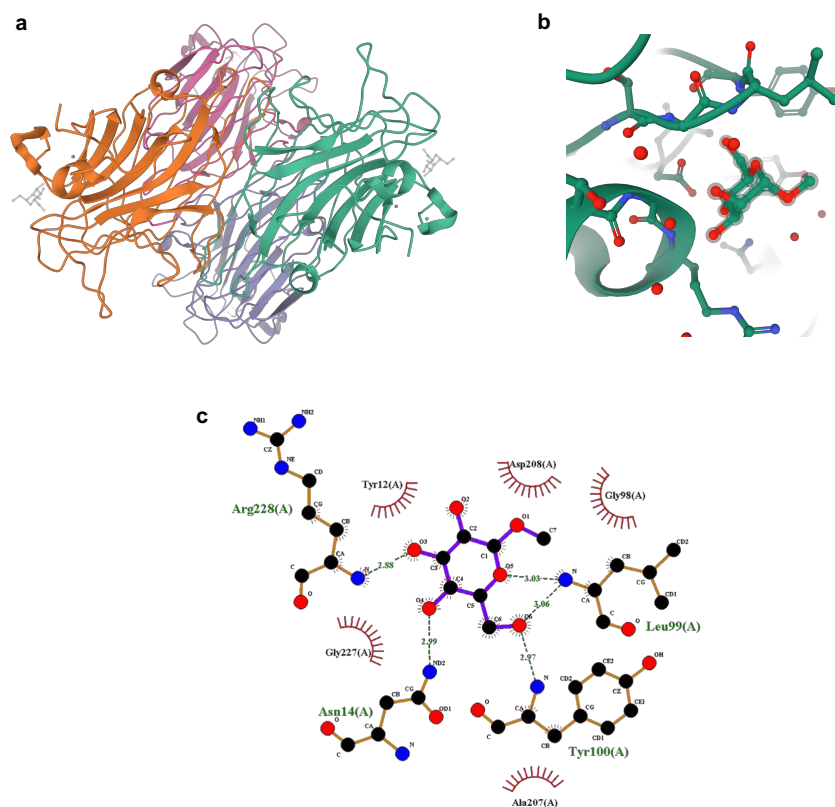
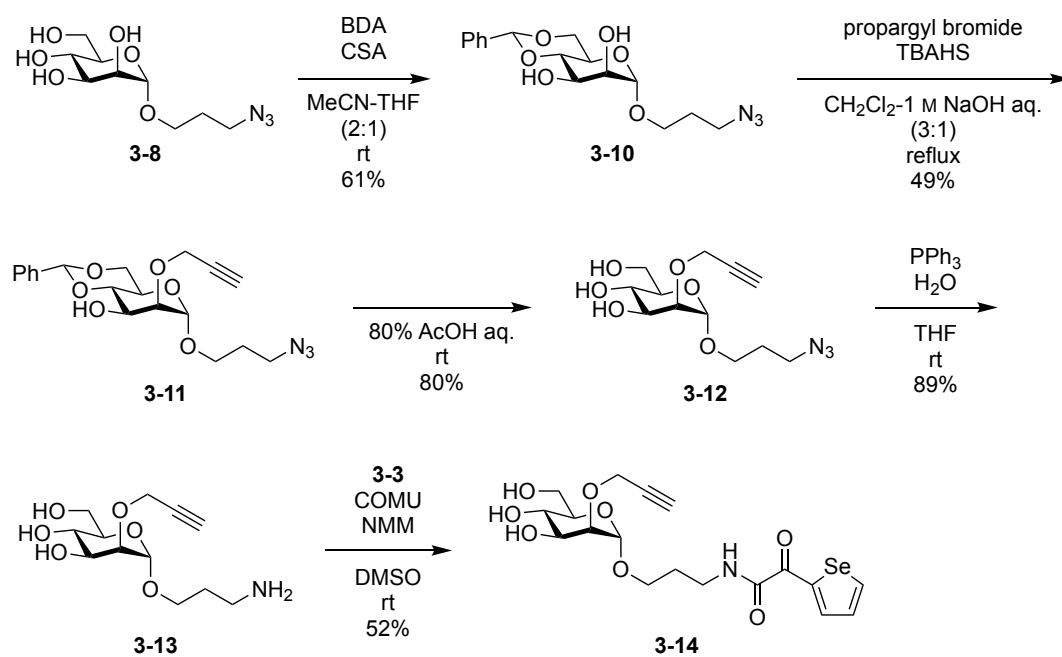


Figure 3-13. The crystal structure of concanavalin A complexed with α -MeMan (PDB ID: 5CNA). (a) Whole structure of Con A-mannoside complex. (b) Magnified view of the binding pocket. (c) 2D plot of the interaction of Con A and α -MeMan⁴⁸.

⁴⁸ Cavada, B. S.; Osterne, V. J. S.; Lossio, C. F.; Pinto-Junior, V. R.; Oliveira, M. V.; Silva, M. T. L.; Leal, R. B.; Nascimento, K. S. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *134*, 901–911.

前項で得られた化合物 **3-8** に対し、4,6 位の Bzld 化、2 位のプロパルギル化⁴⁹、Bzld 基の除去、アジド基の Staudinger 還元、ケト酸 **3-3** の導入を行い、アルキン型プローブ **3-14** を得た (Scheme 3-10)。



Scheme 3-10. Synthesis of alkyne-tagged α -Man probe **3-14**.

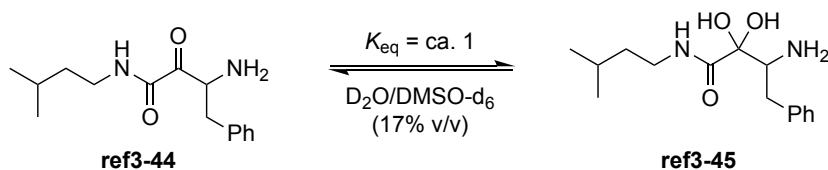
⁴⁹ Crich, D.; Li, W.; Li, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15081–15086.

第二節 セレノフェン-2-イル型 α -ケトアミドの性質評価

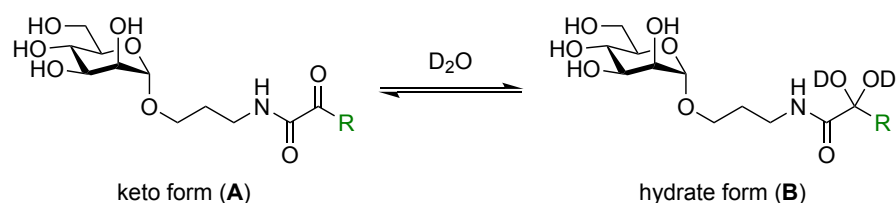
第一項 ハイドレート形成に関する評価

α -ケトアミドのケトン基は求電子性が高く、実際には約半数が水中でハイドレート **ref3-45** として存在することが知られている⁵⁰ (**Figure 3-14a**)。 α -ケトアミドのジカルボニル構造が消失すると、光励起されないため、高反応性活性種は生じない。 Ota らは、五種類の α -ケトアミド誘導体 **3-a-e** に対するハイドレートの生成比を ¹H NMR により算出し、チエニル型誘導体 **3-e** の水中における安定性を示した⁵¹ (**Figure 3-14b**)。

a Ocain et al. (1992)



b Ota et al. (2018)



R =					
	3-a (Et)	3-b (i-Pr)	3-c (t-Bu)	3-d (Ph)	3-e (Th)
Ratio (A:B)	1:0.704 (rt, 48 h)	1:0.485 (100 °C, 4 h)	1:0.294 (100 °C, 4 h)	1:0.190 (100 °C, 4 h)	1:<0.05 (100 °C, 4 h)

Figure 3-14. (a) Hydrate formation of α -ketoamide. (b) Evaluation of hydrate formation.

⁵⁰ Ocain, T. D.; Rich, D. H. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 451–456.

⁵¹ Ota, E.; Usui, K.; Oonuma, K.; Koshino, H.; Nishiyama, S.; Hirai, G.; Sodeoka, M. *ACS Chem. Biol.* **2018**, 13, 876–880.

上述の Ota らの報告に基づき、合成した α -ケトアミド誘導体 **3-9** の水中における安定性の評価を行なった。化合物を D₂O に溶解して 5.0 mM とし、100 °C で 4 時間加温した。室温に戻した後、¹H NMR によりハイドレートの生成比を求めた。ハイドレートが形成された場合、ケトン近傍にあるプロピル鎖や芳香族置換基のプロトンの化学シフトが変化する可能性がある (Figure 3-15)。

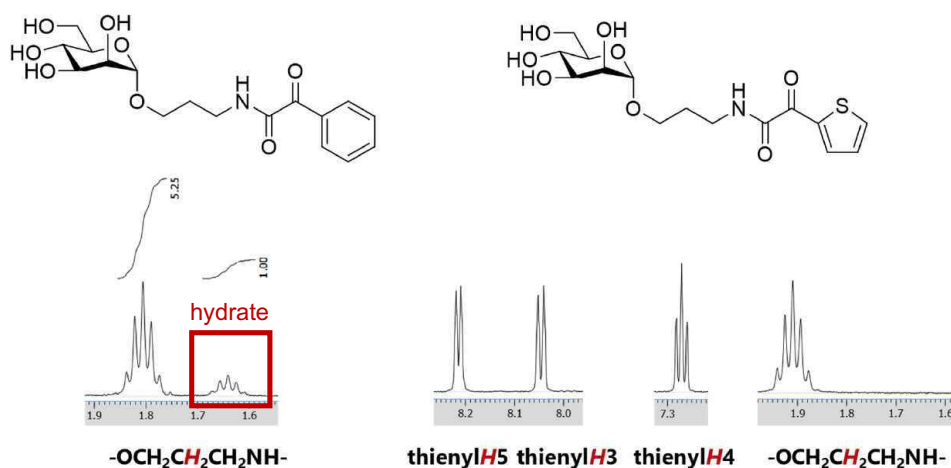


Figure 3-15. ¹H NMR spectra of α -ketoamide derivatives in D₂O before and after heating at 100 °C for 4 h.

本研究で合成した α -ケトアミド誘導体 **3-9** がハイドレートを形成するかどうか、加温操作前後の ¹H NMR を比較することにより確認したが、目立ったハイドレートの形成は確認されなかった (Figure 3-16)。この結果から、セレンフェン-2-イル型 α -ケトアミド構造は、チエニル型 α -ケトアミドと同等の水中安定性を示すことがわかった。

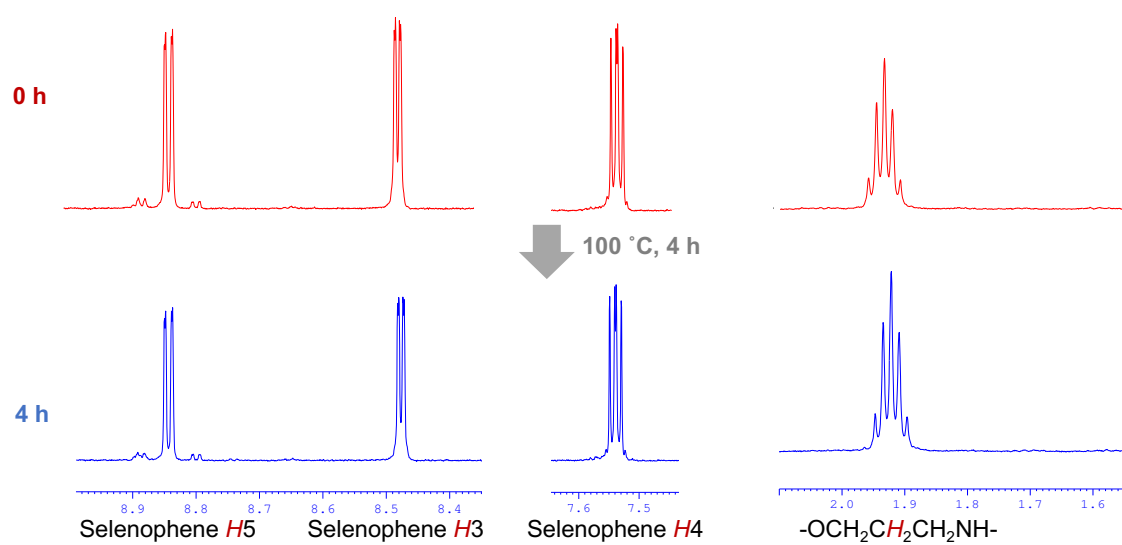


Figure 3-16. ^1H NMR spectra of α -Man analog **3-9** in D_2O before (red) and after (blue) heating at $100\text{ }^\circ\text{C}$ for 4 h.

第二項 光分解速度の解析

合成した α -Man 誘導体 **3-9** を光照射し、自己分解反応がどの程度起こるかを解析した。

Ota らは、五種類の α -ケトアミド誘導体 **3-a-e** の水中における光分解速度の解析を行っており、チエニル置換体 **3-e** の光安定性を示している⁵² (Figure 3-17)。

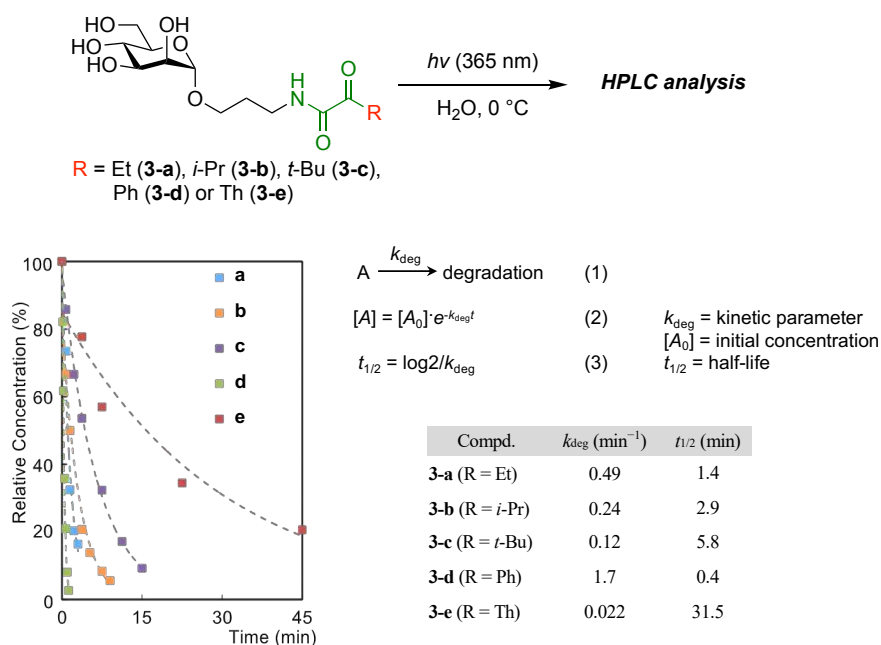


Figure 3-17. Photoinduced degradation of α -ketoamides **3-a-e** in H_2O .

本研究では、上述の方法に従い、合成した化合物 **3-9** の光分解速度の測定を行なった。254 nm における UV 検出により、残存する化合物 **3-9** の経時変化を観察し、出発物質より早い保持時間を持つ分解物の生成が確認された (Figure 3-18a)。また、光照射によって水溶液の色が褐色に変化する様子が観察された (Figure 3-18b)。化合物 **3-9** の HPLC におけるピーク面積から検量線を作成し (Figure 3-18c)、得られた数式から各照射時間における化合物 **3-9** の濃度を求めた後、経時濃度変化をグラフにプロットし、近似曲線を作成した (Figure 3-

⁵² Ota, E.; Usui, K.; Oonuma, K.; Koshino, H.; Nishiyama, S.; Hirai, G.; Sodeoka, M. *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 876–880.

18d。速度定数 $k_{\text{deg}} = 0.022 \text{ (min}^{-1}\text{)}$ 、半減期 $t_{1/2} = 31.5 \text{ (min)}$ となり、セレンフェン-2-イル型 α -ケトアミドは既報のチエニル型 α -ケトアミドと同等の光安定性を有することが示された。

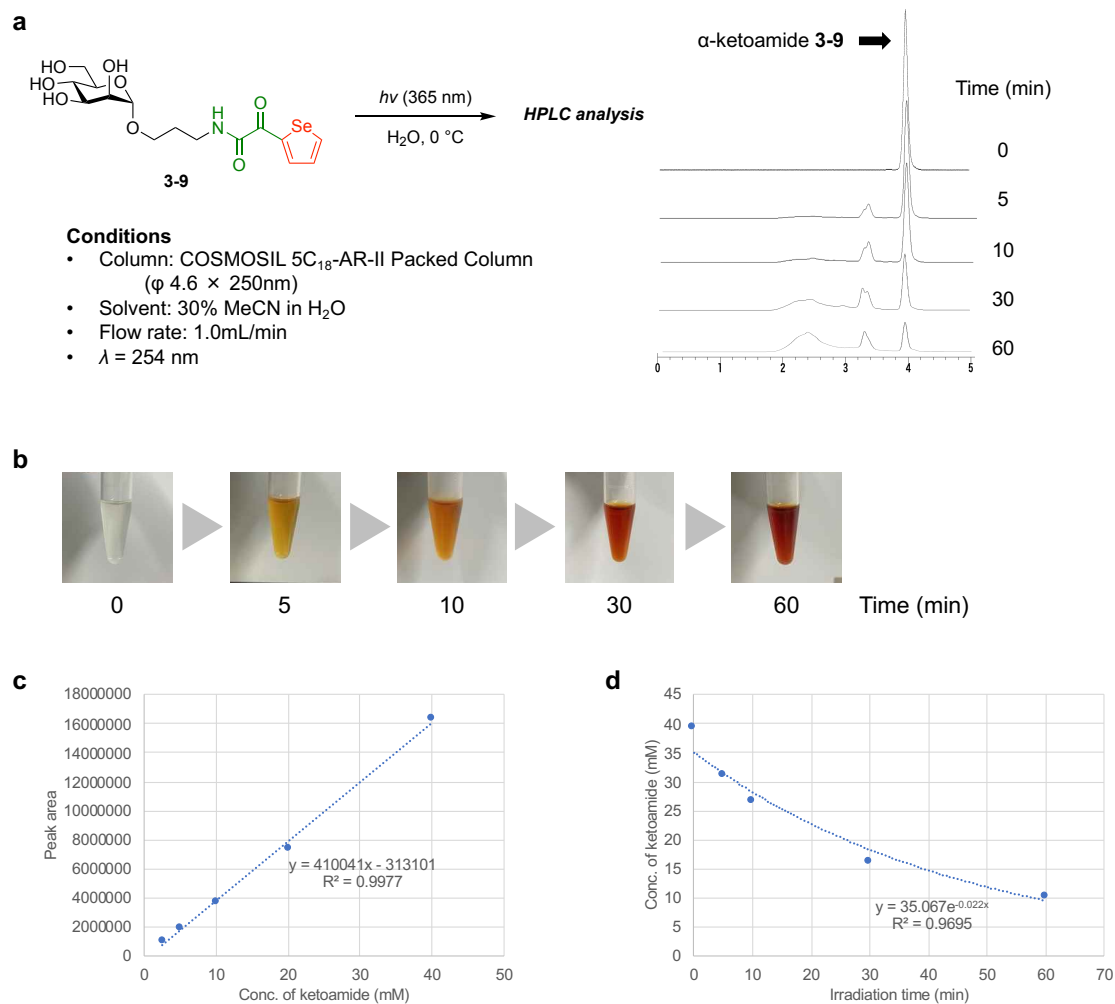


Figure 3-18. Photolysis of α -ketoamide **3-9**. (a) Conditions and HPLC profiles. (b) Color change of the degradation products in H₂O. (c) Standard curve. (d) Time-course analysis.

第三項 吸収波長の測定

Ota らの報告によると、置換基の異なるケトアミド誘導体 **3-a-e** の UV 吸収の違いにより、光分解速度の違いが光反応性の違いによるものであることを示唆している⁵³ (Figure 3-19)。本項においても、合成した α -ケトアミド誘導体 **3-9** を用い、UV 吸収の測定を行なった。

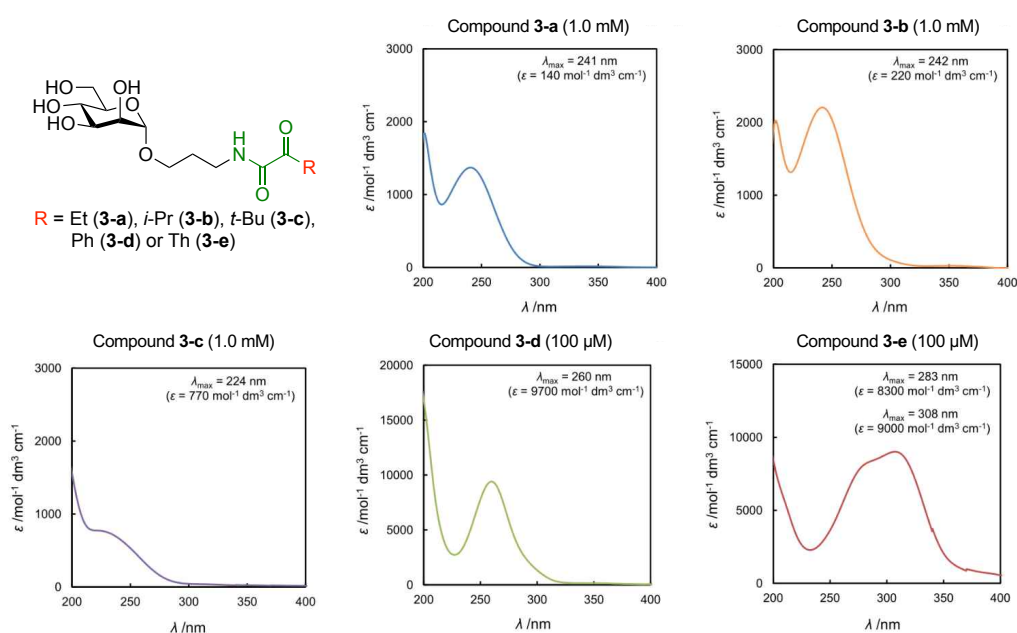


Figure 3-19. UV-absorption spectra of α -Man-conjugated α -ketoamides **3-a-e** in MeOH.

UV 吸収の測定は、UV-1800 UV-Visible spectrophotometer (Shimadzu, Kyoto, Japan) を用い
て行なった。化合物 **3-9** を MeOH で 30 μ M に希釈し、200–400 nm における吸収波長を測定
した。極大吸収波長 $\lambda_{\text{max}} = 302$ nm で、チエニル型と類似したスペクトルを示したことから、
セレノフェン-2-イル型構造は、チエニル型と同様の光反応性を示すことが示唆された
(Figure 3-20)。

⁵³ Ota, E.; Usui, K.; Oonuma, K.; Koshino, H.; Nishiyama, S.; Hirai, G.; Sodeoka, M. *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 876–880.

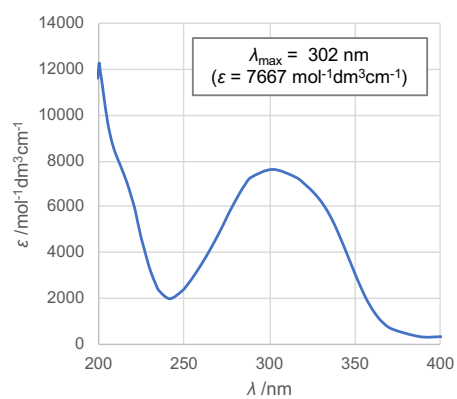


Figure 3-20. UV-absorption spectrum of α -Man-conjugated α -ketoamide **3-9** in MeOH (30 μ M).

第四項 ITC を用いたレクチンとの結合評価

Man に導入したケトアミド構造及びアルキンが Con A との結合に及ぼす影響を、等温滴定量カロリメトリー (ITC) を用いて評価した。ITC は、滴定によって生じるレクチンとリガンドの相互作用の熱量変化を計測し、結合定数 (K_a)、エンタルピー変化 (ΔH)、エントロピー変化 (ΔS)、結合比 (N) を同時に求めることが出来る (Figure 3-21)。

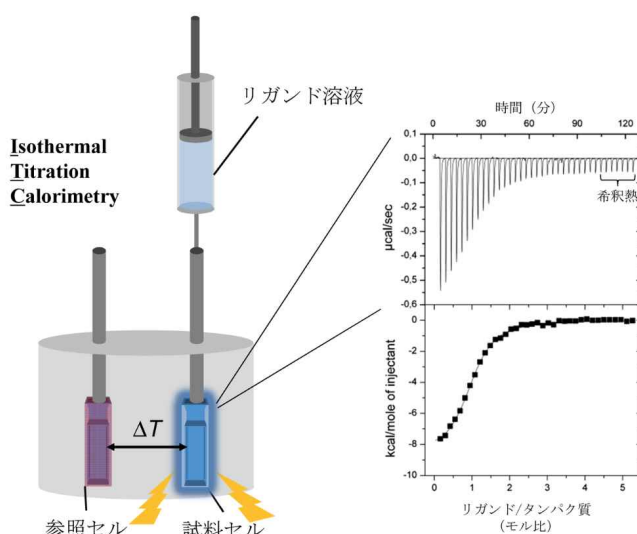


Figure 3-21. The principle of ITC.⁵⁴

本研究において、 α -Man 誘導体 **3-9** 及び 2 位アルキン修飾型 α -Man プローブ **3-14** に対し、ITC の測定を試みようとしたが、化合物 **3-9** は Con A と凝集体を形成したため、測定を行うことが出来なかった。アルキン体 **3-14** については測定を行うことが出来、サーモグラム及び結合等温線が得られた (Figure 3-22)。また、得られたデータから、化合物 **3-a'-e'** における測定値との比較を行なった (Table 3-1)。解離定数 (K_d) 及びギブス自由エネルギー (ΔG) は、以下の数式より算出した。

⁵⁴ Kitaoku, Y.; Ohnuma, T. *Kagaku To Seibutsu* **2015**, 53, 834–842.

$$K_d = \frac{1}{K_a} \quad \cdot \cdot \cdot (1)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad \cdot \cdot \cdot (2)$$

Con A と α -Man 誘導体の解離定数は $K_d = 10^{-3} \sim 10^{-4}$ (M) 程度であることが知られており⁵⁵、本研究で得られた結果は妥当であると言える。熱力学的パラメーターに着目すると、低分子とタンパク質相互作用では多くの場合、 ΔG が大きく負の値をとるほど、強い相互作用であると解釈される。 ΔG の値は、 ΔH と $T\Delta S$ の相殺によって決まる⁵⁶。 ΔG の負の値に対して ΔH の寄与が大きい場合は、相互作用水素結合やファンデルワールス相互作用が関与しており、特異性の高い相互作用が結合の駆動力となる「エンタルピー駆動型」であることが予測される。一方、 ΔS の寄与が大きい場合は、比較的特異性が低い疎水性相互作用が結合の駆動力となる「エントロピー駆動型」であることが予測される⁵⁷。 $T\Delta S$ は通常、結合に不利に働いており、水分子の再配置⁵⁸やコンフォメーションの柔軟性の喪失⁵⁹によるものであると考えられている。合成した化合物 **3-14** は、チエニル体 **3-e'** よりも結合強度が強くなっており、負の ΔH 、負の ΔG を示したことから、Man 自身の水素結合やファンデルワールス力に加え、セレン原子のファンデルワールス相互作用により、Con A と強い相互作用を示したと推測される。また、水素結合やファンデルワールス力の寄与から、化合物 **3-14** に導入した α -ケトアミド構造は、非疎水性の光反応性基として望ましい性質を有することが示唆された。

⁵⁵ Schwarz, F. P.; Puri, K. D.; Bhat, R. G.; Surolia, A. *J. Biol. Chem.* **1993**, 268, 7668–7677.

⁵⁶ Yamaguchi, Y. *Seikagaku* **2020**, 92, 369–377.

⁵⁷ Kitaoku, Y.; Ohnuma, T. *Kagaku To Seibutsu* **2015**, 53, 834–842.

⁵⁸ Lemieux, R. U.; Delbaere, L. T. J.; Beierbeck, H.; Spohr, U. *Ciba Found Symp.* **1991**, 158, 231–245; discussion 245–248.

⁵⁹ Carver, J. P. *Pure Appl. Chem.* **1993**, 65, 763–770.

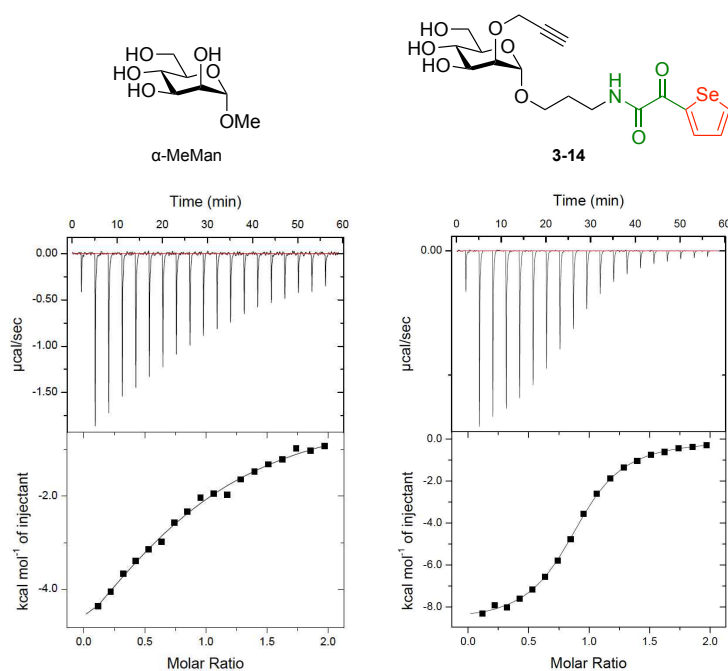
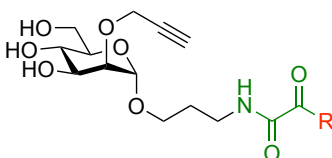


Figure 3-22. ITC results for binding of α -MeMan and **3-14** with Con A. Upper panels: ITC profile, Lower panels: Heat signal versus molar ratio of α -MeMan and **3-14** to Con A.

Table 3-1. Thermodynamic parameters derived from titration of Con A with mannosides^a.



R = Et (**3-a'**), *i*-Pr (**3-b'**), *t*-Bu (**3-c'**),
Ph (**3-d'**), Th (**3-e'**) or Selenophen-2-yl (**3-14**)

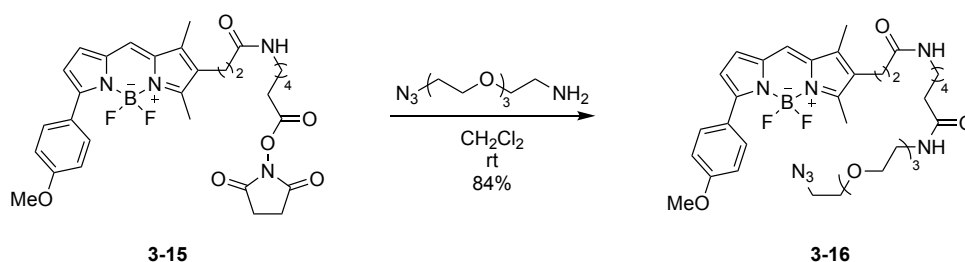
Ligand	K_d (mM)	ΔG (kcal/mol)	ΔH (kcal/mol)	$-T\Delta S$ (kcal/mol)	N (sites)
α -MeMan	14.8	-5.22	-8.59	3.37	0.835
α -MeMan (Ota, et al. 2018)	10.3	-5.53	-8.07	2.54	0.686
3-a' : R = Et	2.66	-6.35	-5.53	-0.812	0.926
3-b' : R = <i>i</i> -Pr	2.18	-6.46	-5.82	-0.649	0.944
3-c' : R = <i>t</i> -Bu	1.61	-6.65	-6.67	0.015	0.947
3-d' : R = Ph	2.26	-6.44	-5.83	-0.609	1.02
3-e' : R = Th	1.83	-6.57	-5.49	-1.08	1.17
3-14 : R = Selenophen-2-yl	0.934	-6.86	-8.76	1.90	0.884

^a Titration was performed in 10 mM acetate buffer (pH 5.0) containing 1 mM $MnCl_2$ and 1 mM $CaCl_2$.

第三節 光親和性標識実験

第一項 ラベル化条件の検討

セレノフェン-2-イル型ケトアミド構造の光反応性基としての有用性を証明するため、Con A の光親和性標識実験を行なった。クリック反応の際に導入する蛍光アジド **3-16** は、BODIPY[®] TMR-X NHS ester (Cat. No. D6117; Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, USA) **3-15** に対し、CH₂Cl₂ 溶媒中、11-azido-3,6,9-trioxaundecan-1-amine (Cat. No. A2363; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan) を作用させることにより調製した (Scheme 3-11)。



Scheme 3-11. Synthesis of **3-16**.

光親和性標識実験は、次のように実施した (Figure 3-23)。Con A と α -Man リガンドをバッファーA (pH 5.0, 10 mM acetate buffer containing 1 mM CaCl₂ and 1 mM MnCl₂) 中で混合し、氷上で1時間静置した。この際、競合阻害実験を行う場合は α -MeMan を加え、非競合阻害の場合は α -MeGal を加えた。形成した Con A- α -Man 複合体に対し 365 nm の光を照射して Con A をラベル化した後、蛍光アジド **3-16**、クリック試薬 (CuSO₄、TBTA、TCEP の混合溶液) を加え、CuAAC 反応により蛍光団を導入した。クロロホルム-メタノールによりタンパク質を沈殿させ、低分子・塩の除去を行い、SDS-PAGE によりタンパク質を分離した。電気

泳動後のポリアクリルアミドゲルをマルチ蛍光スキャナー (励起光 532 nm) を用いてスキャンし、蛍光バンドを検出した後、CBB 染色を行い、ゲルを CCD imager を用いて解析することにより、各バンドのタンパク質量を定量した。尚、用いたタンパク質、リガンド及び試薬の量は、各図の下部に記載した。

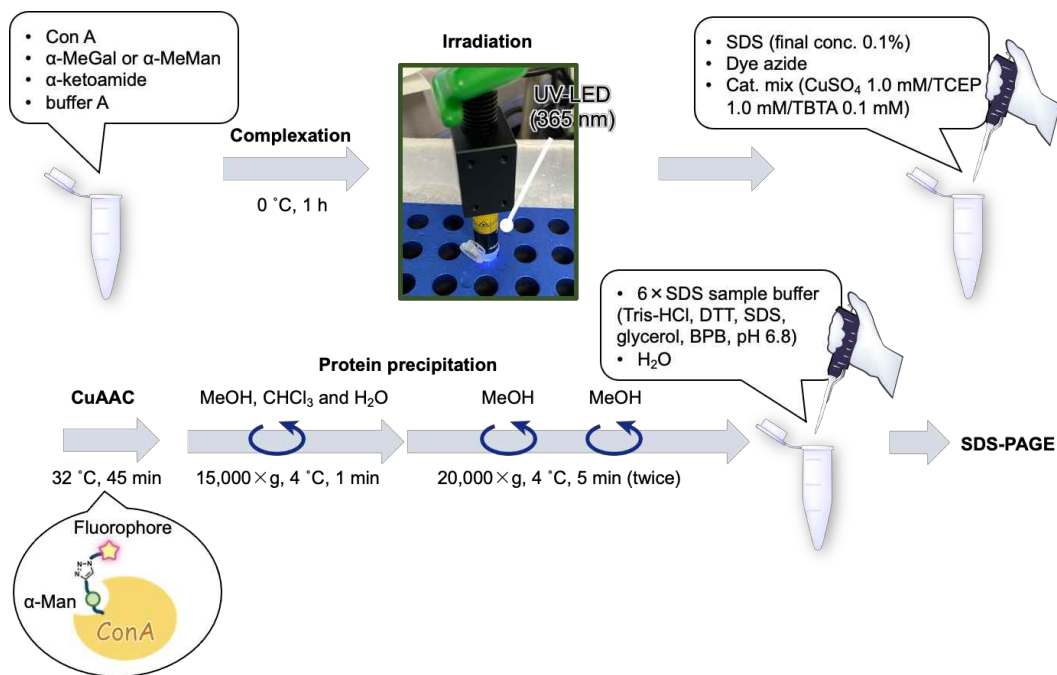


Figure 3-23. General protocol of photoaffinity labeling.

まず、光照射時間の検討を行なった (Figure 3-24)。光照射 1 秒において既に顕著なバンドが見られ、ラベル化効率の高さを示唆した。照射時間 1–5 秒においてバンド強度に緩やかな上昇が見られたが、5 秒以上では変化が見られず、分解したタンパク質断片のバンドが見られるようになった。以上の検討から、光照射時間は 5 秒に設定し、以降の光親和性標識実験を行うこととした。尚、第一章で述べたように、ケト基の活性化を伴うベンゾフェノンは長時間の照射が必要であるが、本研究で用いたケトアミド構造は短時間の照射により高いラベル化効率を発揮し、生体直交反応への有用性を示唆する結果を得た。

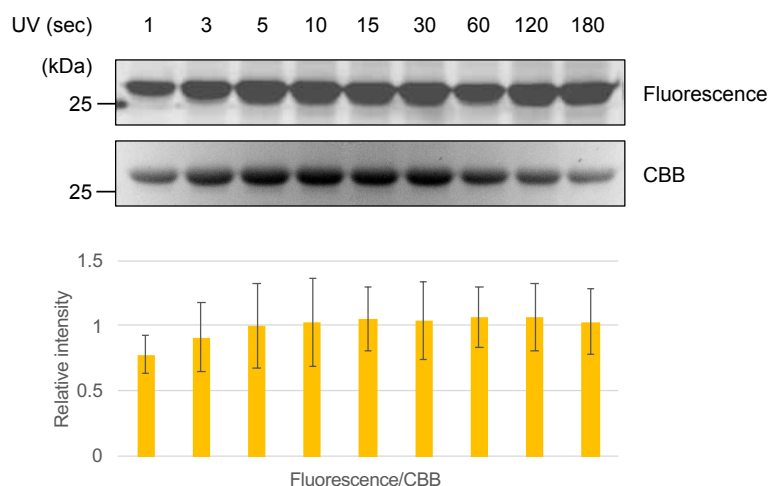


Figure 3-24. Screening of irradiation time ($n = 2$). Condition of photoaffinity labeling: Con A ($13 \mu\text{g}$), ligand **3-14** ($10 \mu\text{M}$), $\alpha\text{-MeGal}$ (2.5 mM). Condition of CuAAC: SDS (final conc.: 0.1%), fluorophore **3-16** (final conc: $21.5 \mu\text{M}$), CuSO_4 (final conc.: 1.0 mM), TBTA (final conc.: 0.1 mM), TCEP (final conc.: 1.0 mM).

続いて、リガンド濃度の検討を行なった (**Figure 3-25**)。リガンド濃度が高い場合、非特異的ラベル化が起こる可能性が考えられたため、Con A に対して約 1.0 当量となるリガンド濃度 ($10 \mu\text{M}$) を最大濃度とし、検討した。光親和性標識の結果、濃度依存的にラベル化効率が変化することを確認し、以降の実験は $10 \mu\text{M}$ のリガンド濃度で行うこととした。また、本実験の結果から、Con A に対して約 1.0 当量となるリガンドを用いた場合でもほぼ定量的にラベル化が進行する可能性を示唆した。

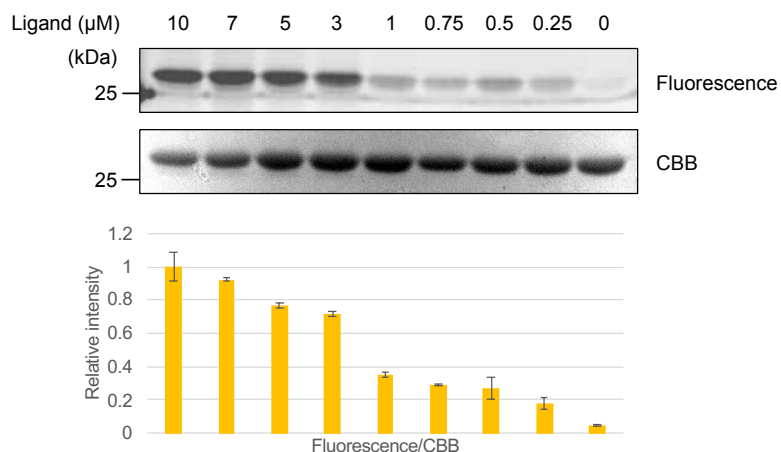
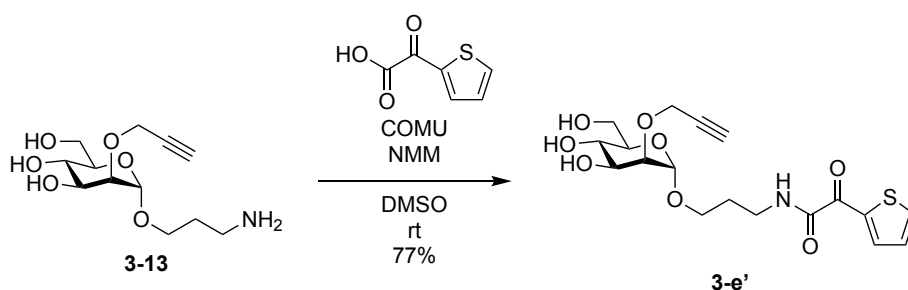


Figure 3-25. Screening of equivalent of ligand ($n = 2$). Condition of photoaffinity labeling (irradiation for 5 sec): Con A (13 μg), ligand **3-14** (0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 3, 5, 7 or 10 μM), α -MeGal (2.5 mM). Condition of CuAAC: SDS (final conc.: 0.1%), fluorophore **3-16** (final conc: 21.5 μM), CuSO_4 (final conc.: 1.0 mM), TBTA (final conc.: 0.1 mM), TCEP (final conc.: 1.0 mM).

第二項 ラベル化効率の検証

本項では、前項にて決定したラベル化条件に基づき、 α -MeMan を用いた競合阻害実験を行なった。同時に、既報のチエニル型プローブとのラベル化効率の比較を試みた。

まず、チエニル型プローブ **3-e'** の合成を行なった (Scheme 3-12)。化合物 **3-13** に対し、DMSO 溶媒中、2-thiopheneglyoxylic acid (Cat. No. 328-72401; FUJIFILM Wako Pure Chemical Co., Osaka, Japan)、COMU、NMM を作用させ、収率 77%にて化合物 **3-e'** を得た。



Scheme 3-12. Synthesis of **3-e'**.

続いて、二種類のリガンドをそれぞれ用いて競合阻害実験を行なった (Figure 3-26)。 α -MeMan の添加により蛍光バンドの強度が低下していることから、いずれの α -Man リガンドにおいてもラベル化に特異性が見られた。興味深いことに、新規のセレノフェン型プローブ **3-14** を用いた場合、既報のチエニル型プローブ **3-e'** よりも高いラベル化効率を示した。作用機序は断言出来ないが、第一章にて述べたような、セレン原子の重原子効果が硫黄原子に比べて強く働いたことが一因である可能性が推測される。

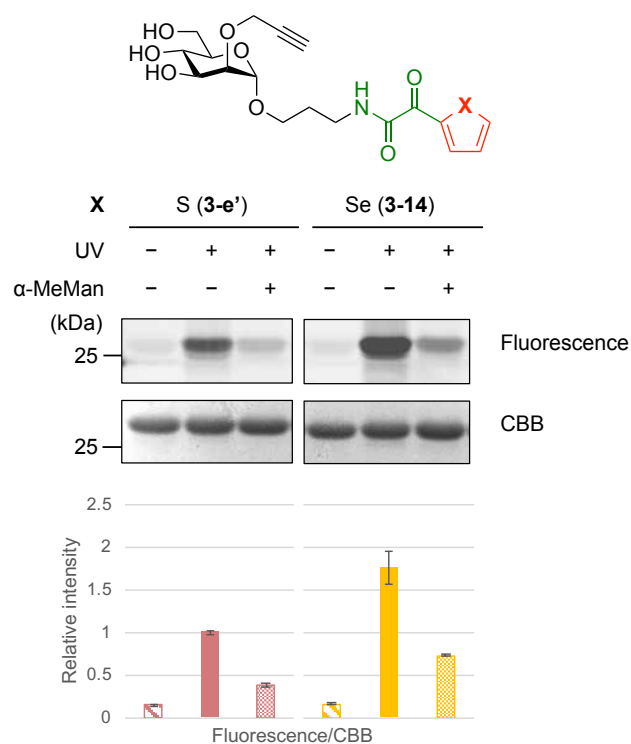


Figure 3-26. The effect of α -MeMan as a competitor ($n = 2$). Condition of photoaffinity labeling (irradiation for 5 sec): Con A (13 μ g), ligand **3-e'** or **3-14** (10 μ M), α -MeGal (2.5 mM). In the competitive study, α -MeMan (2.5 mM) was used instead of α -MeGal. Condition of CuAAC: SDS (final conc.: 0.1%), fluorophore **3-16** (final conc: 21.5 μ M), CuSO₄ (final conc.: 1.0 mM), TBTA (final conc.: 0.1 mM), TCEP (final conc.: 1.0 mM).

第三項 選択性の検証

本項では、 α -Man の非標的タンパク質である transferrin (77 kDa)、BSA (60.4 kDa)、lysozyme (14.3 kDa) 存在下における Con A の選択的ラベル化を行なった (Figure 3-27)。前項と同様、 α -MeMan 存在下における競合阻害が起こり、ラベル化が特異的であることを示した。また、セレノフェン型プローブ 3-14 におけるラベル化効率の高さを示した。しかし、UV 非照射下においても蛍光バンドが観察される結果となった。初めは、蛍光アジドをリガンドに対して約 2.0 当量用いたため、非特異的な蛍光修飾が起こったと推測し、蛍光アジドを約 1.0 当量に減らしたが、大きな変化は見られなかった。一方、光照射前後において、非標的タンパク質の蛍光バンドの強度に大きな変化が見られなかったことから、Con A のラベル化が選択的である可能性が示唆された。

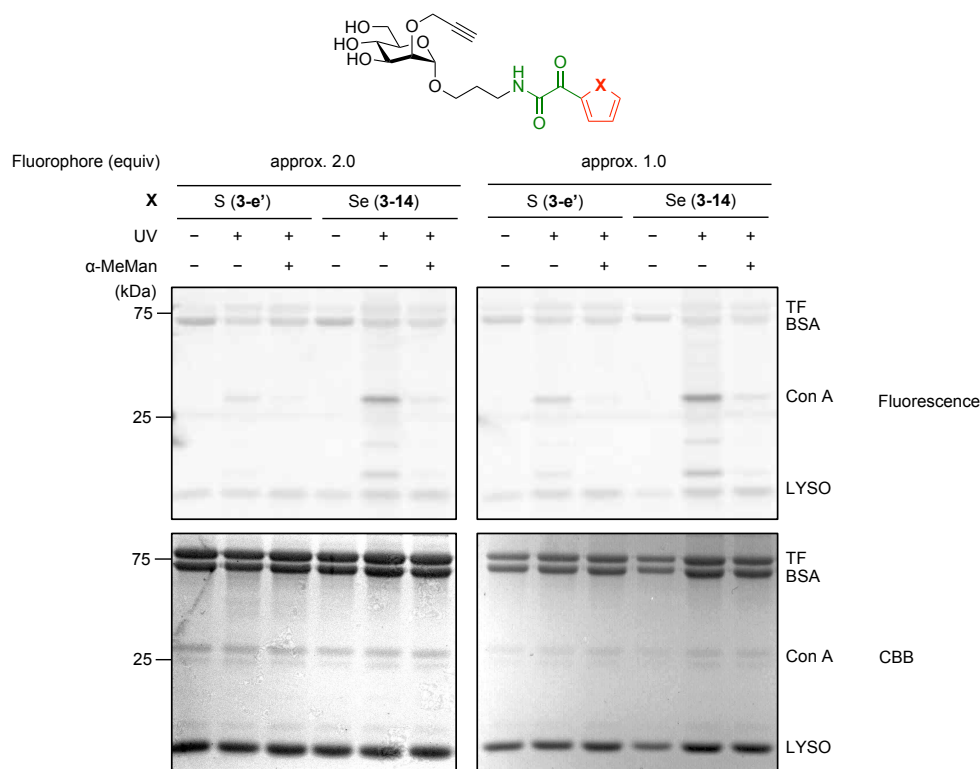


Figure 3-27. Photoaffinity labeling of Con A in the presence of other proteins. Condition of photoaffinity labeling (irradiation for 5 sec): Con A (1 μ g), transferrin (4 μ g), BSA (4 μ g), lysozyme (4 μ g), ligand **3-e'** or **3-14** (10 μ M), α -MeGal (2.5 mM). In the competitive study, α -MeMan (2.5 mM) was used instead of α -MeGal. Condition of CuAAC: SDS (final conc.: 0.1%), fluorophore **3-16** (final conc: 21.5 μ M (left) or 9.7 μ M (right)), CuSO₄ (final conc.: 1.0 mM), TBTA (final conc.: 0.1 mM), TCEP (final conc.: 1.0 mM).

非特異的な蛍光バンドの検出を抑制するため、蛍光団の種類を検討することとした (Figure 3-28)。BODIPY[®] TMR-X は疎水性の蛍光団であるため、タンパク質との疎水性相互作用により強固に吸着し、非特異的な蛍光バンドが検出されたと考えた。そこで、親水性の蛍光団である ATTO594-azide (ATTO-TEC GmbH, Siegen, Germany) を用いて検討した。尚、ATTO594 を用いた際は 633 nm の励起光により検出した。しかし、非特異的な蛍光バンドの程度に変化は見られなかった。一方、O'Brien ら⁶⁰は、光照射による BSA の蛍光ラベル化を

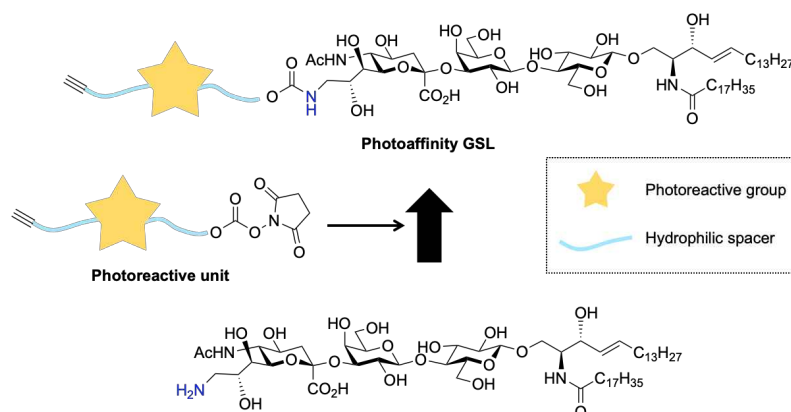
⁶⁰ O'Brien, J. G. K.; Jemas, A.; Asare-Okai, P. N.; Ende, C. W. am; Fox, J. M. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 9415–9420.

第三章 光親和性スフィンゴ糖脂質プローブの開発

第一節 光反応性基ユニットの合成

第一項 分子設計と合成戦略

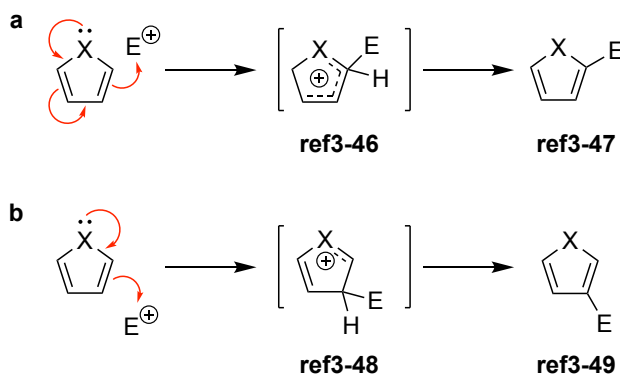
第二部で述べたように、蛍光 GSL プローブの合成において、蛍光標識の修飾位置及び種類を検討した結果、脂質間相互作用を妨げない糖鎖末端に親水性の標識を導入することが望ましいと示唆された。この結果を踏まえ、光親和性プローブの合成においても、糖鎖末端に親水性の高いラベルを導入できるよう、光反応性基ユニットの設計を行なった。また、合成を効率化するため、第二部で蛍光プローブ用に合成した末端アミノ基修飾型 GSL から誘導できるよう、光反応性基の糖鎖側と連結させる部位の官能基は水酸基とし、NHS カルボネートへと誘導することによりアミノ基とのカップリングを可能とする設計とした。最末端には、アジド基修飾したビオチンや蛍光分子との CuAAC 反応を行うことを考慮し、アルキンを導入することとした。親水性を維持するため、各ユニット間は PEG で連結する設計を考案した (Scheme 3-13)。



Scheme 3-13. Synthetic strategy of photoaffinity GSL (eg. GM3)

第二項 光反応性基ユニットの合成

まず、セレンフェン α 位の修飾を行なった。 π 過剰系単環ヘテロ環化合物の求電子置換反応 (S_EAr 反応) は、基本的に α 位 (2,5 位) で起こり、二つの α 位が共に置換された場合にはじめて β 位 (3,4 位) の置換が起こることが知られている。求電子試薬が結合すると Wheland 中間体 (σ 中間体) を形成するが、 α 位へ攻撃して生成する中間体 **ref3-46** (線形共役系) の方が、 β 位へ攻撃して生じる中間体 **ref3-48** (交差共役系) よりも活性化エネルギーが小さいため、 α 位の修飾が優先する (Scheme 3-14)。

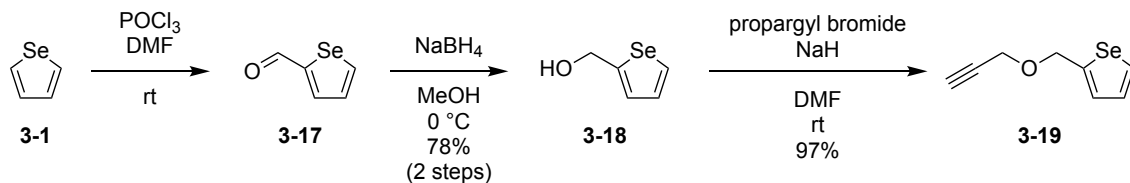


Scheme 3-14. S_EAr reaction of five-membered heterocyclic compound. (a) Mechanism of α -substitution. (b) Mechanism of β -substitution. X = NR, O, S, Se or Te.

まず、Kim らの手法⁶²を参考に、Vilsmeier-Haack 反応によるセレンフェン **3-1** α 位のホルミル化を行なった後、 $NaBH_4$ を作用させヒドリド還元を行なった。セレンフェン α 位のプロトンは、セレン原子と異核種スピン結合 ($^2J_{Se,H-2}$ 及び $^2J_{Se,H-5}$) するが、 ^{77}Se の天然存在比が約 7.6%と大きいと、 α 位のプロトンの両脇に明確なサテライトシグナルが観測される。化合物 **3-18** が α 位一置換体であることは、サテライトシグナルを有するプロトンが一つで

⁶² Kim, K.; Jo, C.; Easwaramoorthi, S.; Sung, J.; Kim, D. H.; Churchill, D. G. *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 4881–4894.

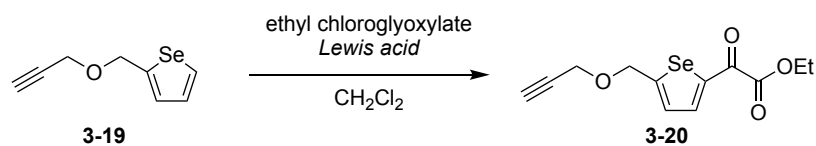
あったことにより確認した。その後、水酸基のプロパルギル化を行い、化合物 **3-19** を合成した (Scheme 3-15)。



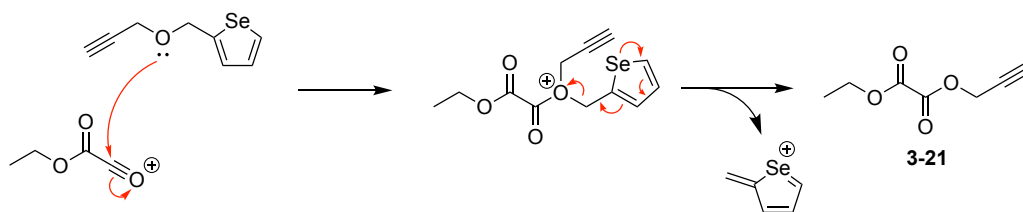
Scheme 3-15. Synthesis of compound **3-19**.

得られた化合物 **3-19** に対し、Friedel-Crafts アシル化によるセレンフェン 5 位へのケトエステルを導入を試みた (Table 3-2)。しかし、いずれの温度、ルイス酸においても目的物 **3-20** の生成は見られず、TLC 上で UV 吸収のある化合物の生成も確認されなかった。詳細に解析した結果、セレンフェンが脱離した化合物と思われる副生成物 **3-21** が確認された。脱離したセレンフェン由来の化合物の単離には至らなかったが、セレン原子の電子供与性によりセレンフェンに隣接する酸素原子の求核性が高まり、求電子性の高いケト基との反応により脱離が起こり、化合物 **3-21** が副生したと推定した (Scheme 3-16)。

Table 3-2. Friedel-Crafts acylation of compound **3-20**.

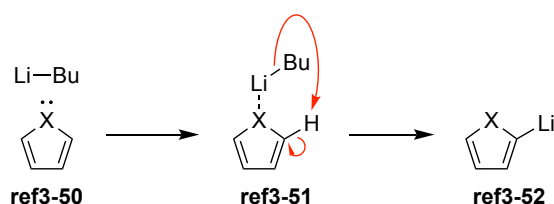


Entry	Lewis acid (2.2 equiv)	Temp.	Yield
1	AlCl ₃	−80 °C	n.d.
2	AlCl ₃	rt	n.d.
3	SnCl ₄	rt	n.d.



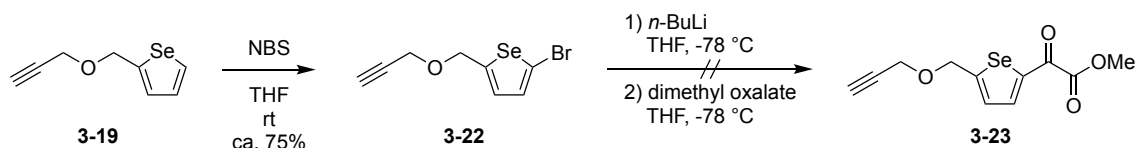
Scheme 3-16. Predicted mechanism of the side reaction.

以上の結果を踏まえ、酸性条件下での導入を断念し、リチオ体を経由した導入を試みることにした。一般的なベンゼン環のメタル化では、リチウム-ハロゲン交換、または、メトキシ基のような活性化基の隣接位では、C-H を C-Li に変換する位置選択的オルトリチオ化により達成出来る。芳香族ヘテロ 5 員環であるフラン、チオフェン、セレンフェンの場合、環内のヘテロ原子がリチウムに配位して活性化を受け、 α 位の水素とリチウムとの交換反応により直接的・位置選択的リチオ化が可能である (**Scheme 3-17**)。



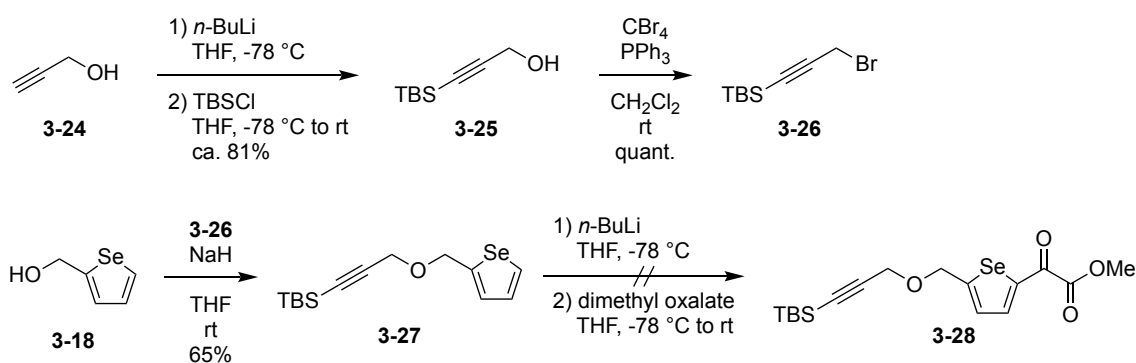
Scheme 3-17. Direct and regioselective lithiation of five-membered heterocycles **ref3-50**. X = O, S, Se or Te.

しかし、アルキン末端の水素原子の酸性度は約 25 と高く、脱プロトン化を受け易いことが知られており、出発物として化合物 **3-19** を直接用いることが難しい。そこで、予め 5 位を臭素化して化合物 **3-22** を得た後、ハロゲン-金属交換反応を速度論的に優先させる戦略を立てた。しかし、目的物 **3-23** は得られず、 ^1H NMR において臭素原子の脱離とアルキンプロトンの消失が確認された (**Scheme 3-18**)。

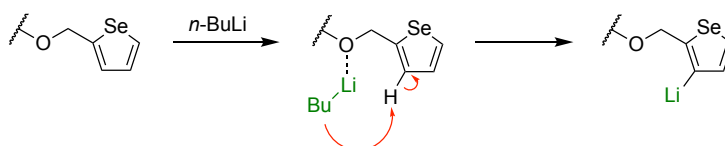


Scheme 3-18. Introduction of α -ketoester.

上記の結果より、アルキンプロトンの脱離を回避することは困難であると判断し、アルキンを保護した後にリチオ化を行う戦略を立てた (**Scheme 3-19**)。化合物 **3-24** に対し、アルキンの TBS 基による保護、臭素化を行い化合物 **3-26** を調製し、合成したセレンOFエン誘導体 **3-18** の水酸基への導入を行い、化合物 **3-27** を得た。続いて、セレンOFエン 5 位のリチオ化、ケトエステル化を試みた。TLC 上で UV 吸収のある化合物が確認されたが、目的物 **3-28** は得られなかった。生成物が夾雑であったため解析には至らなかったが、 $^1\text{H NMR}$ によりセレンOFエン 3 位が置換されていることを確認した。セレンOFエンに隣接する酸素原子が配向性基として働き、オルトリチオ化が起きたと考えられる (**Scheme 3-20**)。



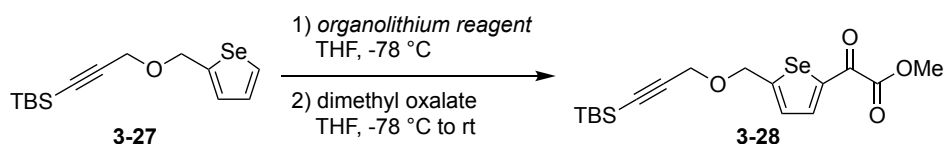
Scheme 3-19. Introduction of α -ketoester.



Scheme 3-20. Plausible mechanism of ortholithiation.

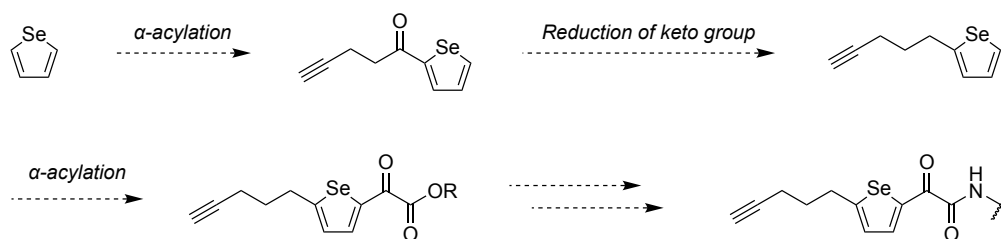
一方、嵩高いリチウム試薬を用いれば、オルトリチオ化が抑制出来ると考えた (Table 3-3)。まず、LHMDS を用いたが、反応の進行は見られなかった。これは、LHMDS の酸性度 ($pK_a = 26$) がセレンフェン α 位の酸性度よりも低く、LHMDS がプロトン化を受けにくいいためであると考えられる。そこで、より酸性度の高い LDA ($pK_a = 36$) を用いて反応を試みた。しかし、 α 位置換体 **3-28** の生成は確認されず、オルト位の修飾が確認された。

Table 3-3. Introduction of α -ketoester.



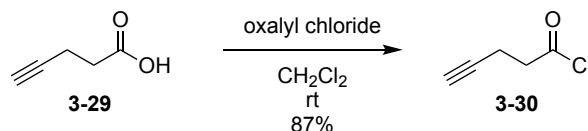
Entry	Reagent	Yield
1	<i>n</i> -BuLi	n.d.
2	LHMDS	no reaction
3	LDA	n.d.

上記の結果より、酸素原子の寄与による望まないオルト位の修飾は避けられないと考え、酸素原子を炭素原子に置換した設計を新たに考案した。セレンフェンに導入する置換基を炭化水素鎖とすることにより、オルトリチオ化を抑えることが出来ると考えた。アルキン側については、酸塩化物を用いた α -アシル化、ケト基の還元により構築が可能であると考えた (Scheme 3-21)。



Scheme 3-21. New synthetic scheme of α -ketoamide.

まず、酸塩化物の調製を行なった (Scheme 3-22)。4-pentynoic acid (Cat. No. P2341; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan) **3-29** に対し、CH₂Cl₂ 溶媒中、oxalyl chloride を作用させ、化合物 **3-30**⁶³を得た。



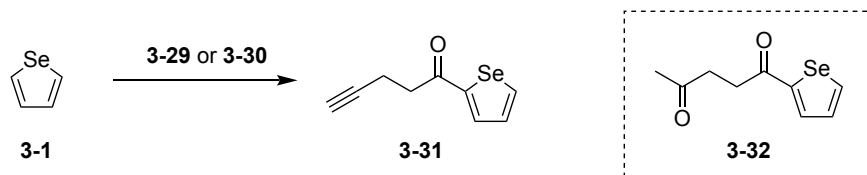
Scheme 3-22. Synthesis of acid chloride **3-30**.

続いて、Friedel-Crafts 反応による α -アシル化の検討を行なった (Table 3-4)。ルイス酸を変更した種々の条件にて反応を行い、目的物は僅かに確認されたが、反応の進行に伴い、末端のアルキンがケトンに変換した副生成物 **3-32** の生成が見られた。一方、カルボン酸を TFAA、リン酸により活性化しチオフエン α 位をアシル化する方法⁶⁴ (Scheme 3-23) を試みたら、 α 置換体、 β 置換体の混合物であったものの、比較的良好な収率にてアシル化体を得ることが出来た。

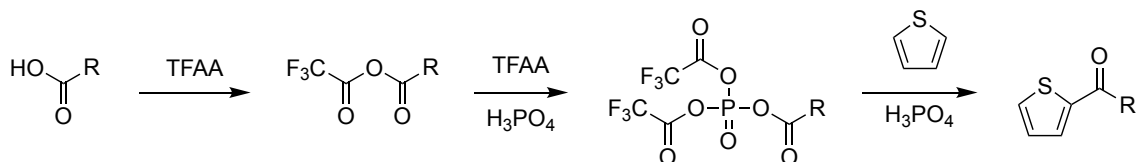
⁶³ Crossey, K.; Migaud, M. E. *Chem. Commun.* **2015**, 51, 11088–11091.

⁶⁴ Bindu, P.; Naini, S. R.; Rao, K. S.; Dubey, P. K.; Pal, S. J. *Heterocyclic Chem.* **2014**, 51, 586–593.

Table 3-4. α -Acylation.

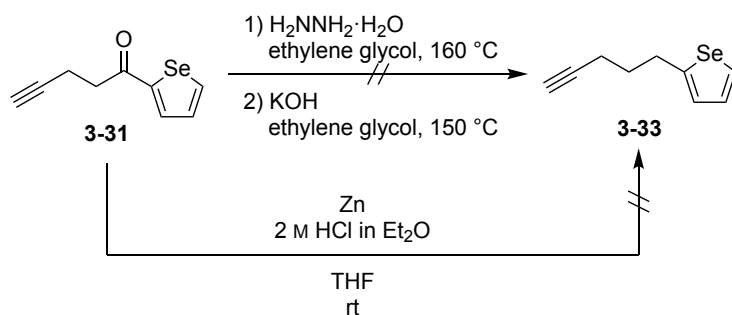


Entry	Acid	Reagents	Solvent	Temp	Yield
1	3-30	AlCl_3	CH_2Cl_2	rt	<12%
2	3-30	AlCl_3	CH_2Cl_2	$-80\text{ }^\circ\text{C}$	- (observed on TLC)
3	3-30	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	CH_2Cl_2	rt	2%
4	3-30	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	$\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$	$40\text{ }^\circ\text{C}$	ca. 11%
5	3-30	BBR_3	CH_2Cl_2	rt	ca. 17%
6	3-30	BBR_3	CH_2Cl_2	$-20\text{ to }0\text{ }^\circ\text{C}$	no reaction
7	3-29	TFAA, 85% H_3PO_4	MeCN	rt	<70% ($\alpha/\beta = 1:0.07$)
8	3-29	TFAA, 85% H_3PO_4	MeCN	$50\text{ }^\circ\text{C}$	<69% ($\alpha/\beta = 1:0.07$)
9	3-29	TFAA, 85% H_3PO_4	MeCN	$0\text{ }^\circ\text{C}$	<86% ($\alpha/\beta = 1:0.07$)



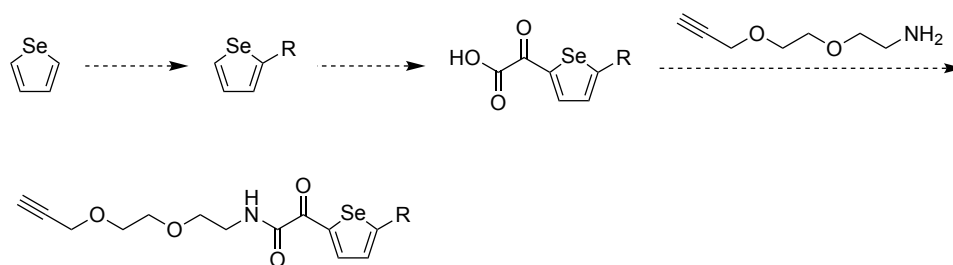
Scheme 3-23. Probable mechanism for TFAA/ H_3PO_4 -mediated reaction of carboxylic acids with thiophene.

得られた化合物 **3-31** に対し、ケト基の還元を試みた。Wolff-Kishner 還元、Clemmensen 還元を試みたが、いずれも目的物の生成は確認されず、複数のスポットが TLC 上で確認された (Scheme 3-24)。



Scheme 3-24. Reduction of ketone **3-31**.

アルキン自体の不安定さを考慮し、上述の戦略を断念することとし、最後にアルキンを導入する合成経路を新たに考案した (**Scheme 3-25**)。光反応性部位の距離を確保するための親水性のスペーサーを α 位に導入した後、最終段階でのアルキンの導入を可能とする設計とした。アルキンは、市販の 2-[2-(2-propynyloxy)ethoxy]ethylamine (Cat. No. P2225; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan) とケト酸とのカップリングにより導入し、同時にケトアミド構造を構築することとした。

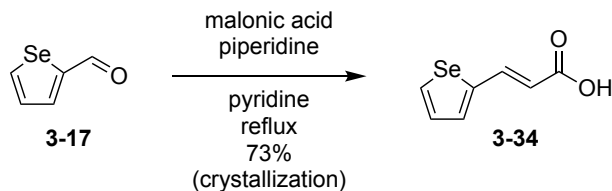


Scheme 3-25. Synthetic strategy of photoreactive part. R = hydrophilic spacer.

まず、セレンフェン α 位の増炭反応を行なった。2-ホルミルセレンフェン **3-17** は、市販の化合物 (Cat. No. F0782; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan) より供給可能であったため、購入して用いた。Xu らの手法⁶⁵を参考に、pyridine 溶媒中、還流条件下にて malonic

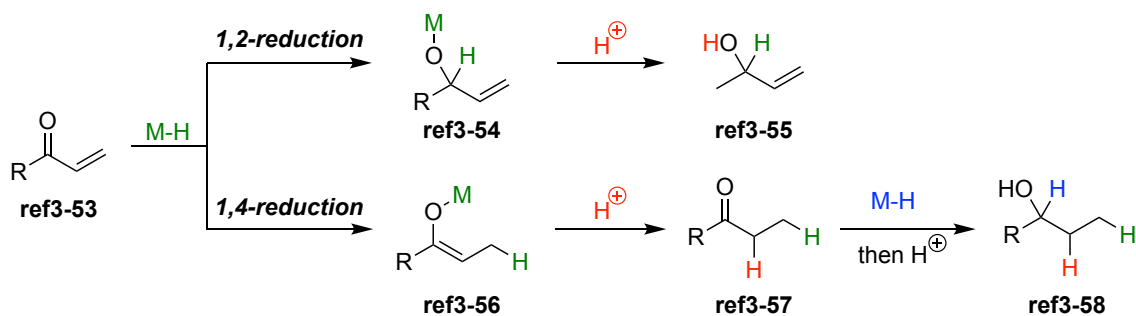
⁶⁵ Xu, G.; Yang, X.; Jiang, B.; Lei, P.; Liu, X.; Wang, Q.; Zhang, X.; Ling, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, 26, 1849–1853.

acid、piperidine を作用させ、Knoevenagel 縮合及び脱炭酸を伴う Doebner 変法により、結晶化収率 73%にて α,β -不飽和カルボン酸 **3-34** を得た (Scheme 3-26)。



Scheme 3-26. Synthesis of α,β -unsaturated carboxylic acid **3-34**.

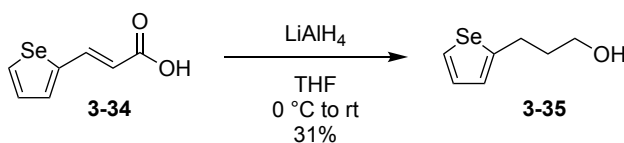
続いて、 α,β -不飽和カルボン酸 **3-34** の還元を試みた。オレフィンは光照射により可逆的にシス-トランス (*E/Z*) 異性化を起こすことが知られている⁶⁶。そのため、本研究における生体膜上での光反応の際に、光反応性基やプローブの性質を変化させてしまう可能性があり、予め飽和型に還元しておくことが望ましいと判断した。 α,β -不飽和カルボニル化合物 **ref3-53** は一般的に、ヒドリドの C=O への直接付加 (1,2-付加) または C=C 二重結合への共役付加 (1,4-付加) による還元が起こり得る。1,4-還元の場合は、条件によっては飽和カルボニル化合物 **ref3-57** から更に還元を受けて飽和アルコール **ref3-58** を得ることが出来る (Scheme 3-27)。



Scheme 3-27. 1,2-reduction and 1,4-reduction. M = metal.

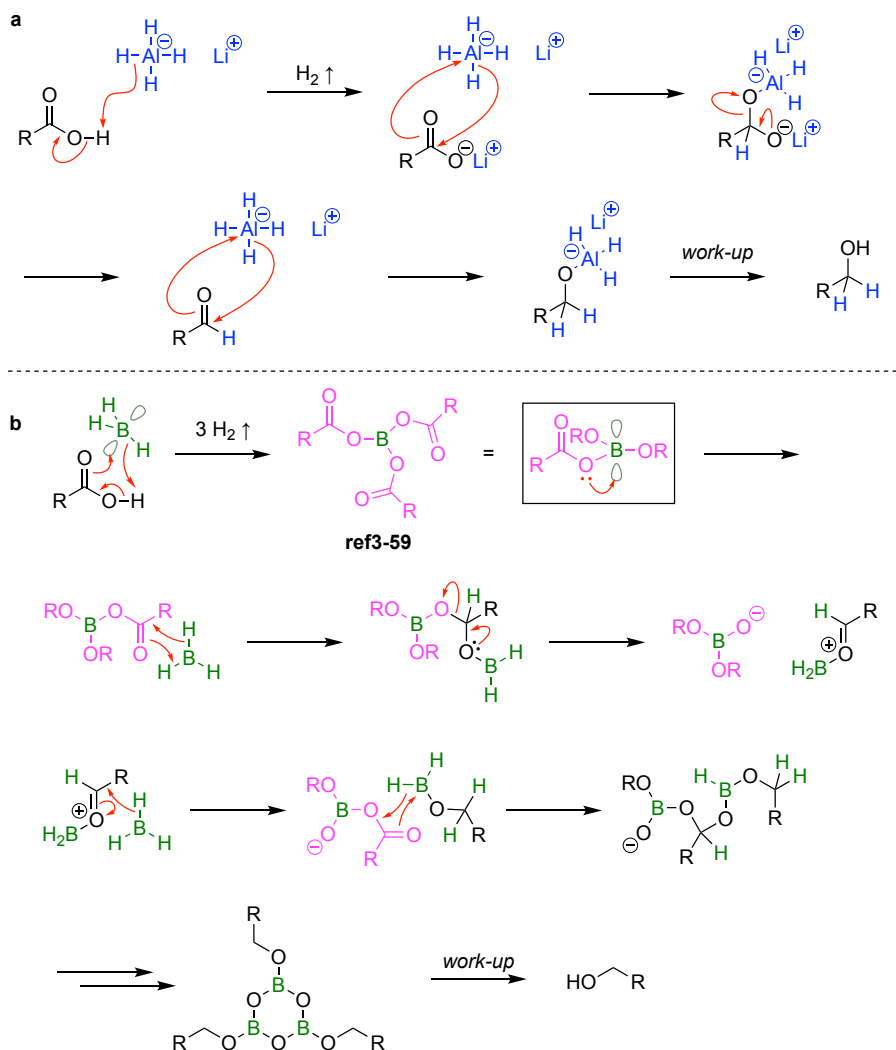
⁶⁶ Dugave; C.; Demange, L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2475–2532.

まず、 LiAlH_4 を用いた還元を試みた (Scheme 3-28)。 α,β -不飽和カルボン酸を LiAlH_4 を用いて還元する場合は、カルボン酸部位の還元がゆっくりと進行するため、位置選択的に 1,4-還元が優先し、飽和カルボン酸を経て飽和アルコールが得られる。本反応においては、1,2-還元が優先して生成した不飽和アルコールは確認されなかったが、収率は 31%に留まり、複数の副生成物が確認された。



Scheme 3-28. Reduction of α,β -unsaturated carboxylic acid **3-34**.

上述の結果を踏まえ、より穏和な条件で還元できる条件を探索することとした。カルボン酸は、 LiAlH_4 の他に、 BH_3 を用いて還元することも可能であるが、求核的に進行するヒドリドを用いた反応機構とは異なり、 BH_3 は空の p 軌道を持つため、求電子的にプロトン性水素と BH_3 が反応して生成したホウ酸アシル誘導体 **ref3-59**を経由して反応が進行する (Scheme 3-29)。そのため、ヒドリド還元のような 1,4-付加反応は起こらない。



Scheme 3-29. Reaction mechanisms of the reduction of carboxylic acid. (a) Reduction by LiAlH_4 . (b) Reduction by borane.

他の種類のヒドリド還元剤は、カルボン酸を還元することは出来ないため、カルボン酸をエステルに変換してから還元を行うこととした (Table 3-5)。まず、化合物 **3-34** に対し、MeOH 中、還流条件下にて $\text{TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ を作用させ、メチルエステル化を行い、収率 97%にて化合物 **3-36** を得た。

続いて、還元を検討を行なった。Entry 1-3 では、エステルの還元最適である LiBH_4 を用いた。しかし、1,2-還元が優先して生成した不飽和アルコール **3-37** が生成し、目的物 **3-35** との単離が困難であった。溶媒を変更した際も、**3-37** の生成を抑制することは出来なかつ

た。Santaniello ら⁶⁷は、PEG 400 を溶媒として用い、NaBH₄ を作用させることによる、穏和な条件下でのエステルの還元法を報告しており、cinnamic acid (3-phenyl-prop-2-enoic acid) から飽和アルコールのみが得られたと述べられている。この反応では、系中で NaBH₄ そのものよりも反応性が高い、ジアルコキシボロハイドライド [BH₂(OR)₂]⁻ ((OR)₂ = -OCH₂CH₂(OCH₂CH₂)₆CH₂CH₂O-) の安定な多量体が生成するためであると考察している。これを参考に、Entry 4,5 に示す条件を試みた。化合物 **3-37** の割合は減少したが、1,4-還元を完全に優先させることは出来なかった。Jagdale ら⁶⁸は、添加剤として CoCl₂·6H₂O 及び *i*-Pr₂NH を加えると、α,β-不飽和エステルの 1,4-還元が優先して進行し、飽和アルコールが得られることを報告している。詳細な機構は述べられていないが、Lundevall ら⁶⁹によると、CoCl₂ と NaBH₄ が反応して Co₂B のナノ粒子を形成し、Co に基質が配位した状態で、粒子表面に修飾されたヒドリド種と反応するという機構が報告されており、同様の機構で 1,4-還元が優先して起こると推定される。Entry 6 において本反応条件を試みた結果、化合物 **3-35** のみの生成が確認された。しかし、1,4-還元は円滑に進行したが、エステルの還元が非常にゆっくりであった。Entry 7 では別の還元方法として、DIBAL を用いた方法を試みた。DIBAL を用いると 1,2-還元が進行することはよく知られているが (Scheme 3-30a)、Co(acac)₂ を共存させると 1,4-還元が選択的に進行し飽和カルボニル **ref3-61** が得られることが報告されている⁷⁰ (Scheme 3-30b)。まず、DIBAL、Co(acac)₂ を作用させることにより 1,4-還元を行い、その後、DIBAL を追加することにより、1,2-還元を進行させることを狙った。しかし、一段階目の反応が進行せず、本反応条件は断念した。

⁶⁷ Santaniello, E.; Ferraboschi, P.; Sozzani, P. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4584–4585.

⁶⁸ Jagdale, A. R.; Paraskar, A. S.; Sudalai, A. *Synthesis* **2009**, *4*, 660–664.

⁶⁹ Lundevall, F. J.; Elumalai, V.; Drageset, A.; Totland, C.; Bjørsvik, H.-R. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 3416–3425.

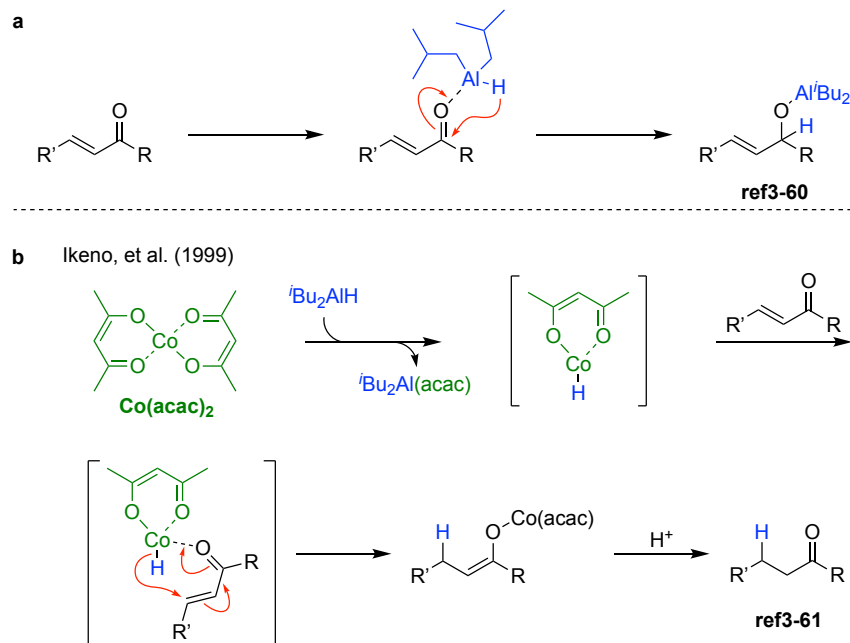
⁷⁰ Ikeno, T.; Kimura, T.; Ohtsuka, Y.; Yamada, T. *Synlett* **1999**, *1*, 96–98.

以上の結果より、Entry 5 の条件が最適であると判断した。しかし、1,2-還元が遅い点から、ワンポットで反応を完結させることが困難であったため、1,4-還元を行なった後に、LiBH₄ で 1,2-還元を行うといった、二段階での還元が望ましいと判断した (Scheme 3-31)。

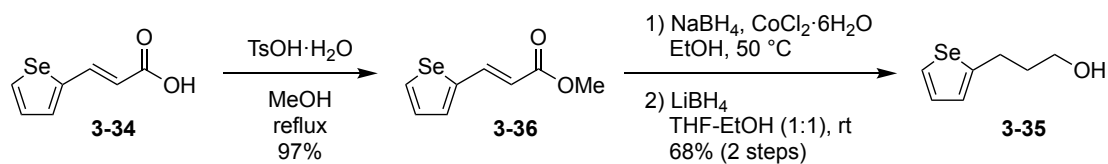
Table 3-5. Reduction of α,β -unsaturated ester **3-36**.

Entry	Reducing agent (equiv)	Additives (equiv)	Solvent	Temp	Ratio ^a (3-35 : 3-37)
1	LiBH ₄ (5.0)	-	THF	rt to 60 °C	1:0.5
2	LiBH ₄ (5.0)	-	EtOH	rt to 60 °C	1:1.9
3	LiBH ₄ (5.0)	-	THF-EtOH (3:1)	rt	1:2.2
4	NaBH ₄ (5.0)	-	PEG400	65 °C	1:0.5
5	NaBH ₄ (5.0)	-	PEG400	rt to 65 °C	1:0.4
6	NaBH ₄ (5.0)	CoCl ₂ ·6H ₂ O (0.1), <i>i</i> -Pr ₂ NH (0.2)	EtOH	50 °C	1:0 (3-35 : saturated ester = 5:5~4:6)
7	DIBAL (1.2(+1.2))	Co(acac) ₃ (1.2)	THF	-78 °C to 0 °C	no reaction

^a The ratio was estimated from ¹H NMR.

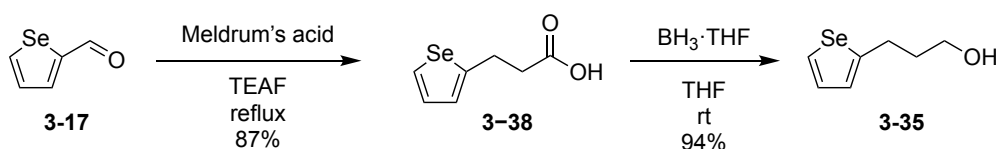


Scheme 3-30. Reduction of α,β -unsaturated carbonyl compound with DIBAL. (a) without Co(acac)₃. (b) with Co(acac)₃.



Scheme 3-31. Synthesis of **3-35** from **3-34** via α,β -unsaturated ester **3-36**.

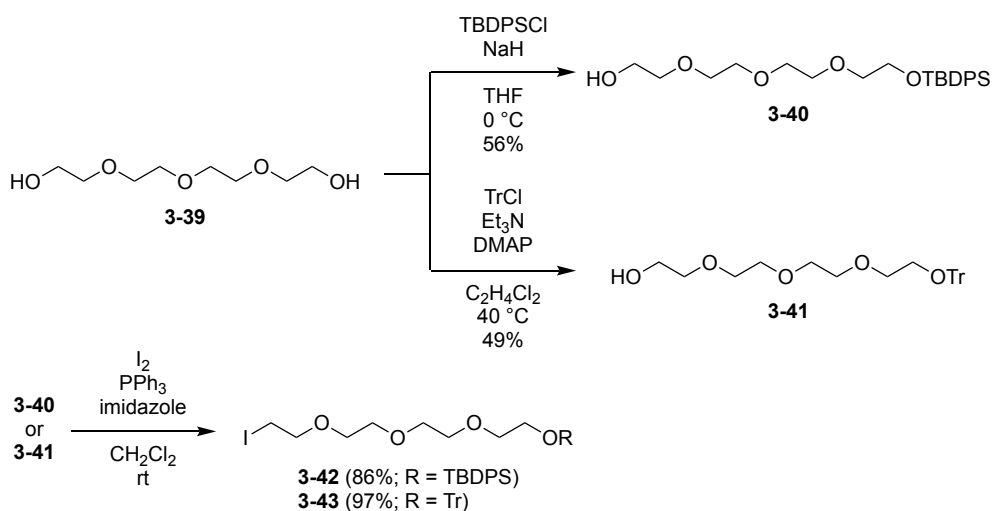
穏和な条件にてヒドリド還元を行うことが出来たものの、反応工程数が増えてしまうことが課題として残った。視点を変えれば、予め飽和型のカルボン酸を合成すれば、1,2-及び1,4-還元の制御に関する問題を無視できると考えた。Liu ら⁷¹は、2-ホルミルチオフェンに対し、TEAF 中、還流条件下にて Meldrum's acid を作用させることにより、飽和の 3-置換プロピオン酸を合成しており、本研究にも適用することとした。その結果、良好な収率にて飽和カルボン酸 **3-38** を得ることが出来た。続いて、先述したように、 $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ を用いてカルボン酸の還元を行なったところ、副生成物の生成は見られず、極めて良好な収率にてアルコール **3-35** を得ることが出来た (Scheme 3-32)。



Scheme 3-32. Synthesis of **3-35** from **3-17** via saturated carboxylic acid **3-38**.

得られたアルコール **3-35** に対し、スペーサーの導入を行なった。ここでは、Williamson エーテル合成によるアルキル化を試みた。まず、スペーサーの合成を行い、二種類の化合物 **3-42** 及び **3-43** を得た (Scheme 3-33)。

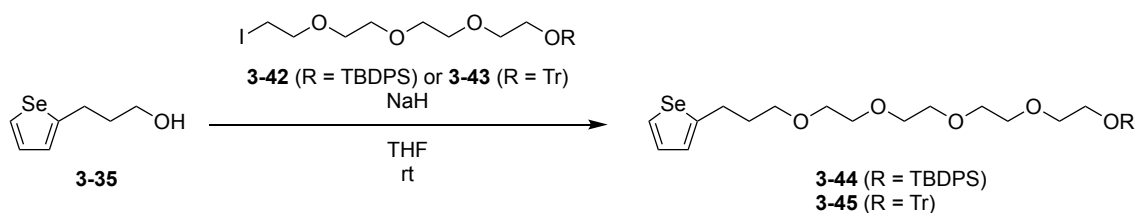
⁷¹ Liu, J.; Wang, S.; Wang, H.; Yin, L.; Xue, Q.; Wang, D.; Fang, Y.; Zhang, H. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2017**, *312*, 543–555.



Scheme 3-33. Synthesis of spacer units **3-42** and **3-43**.

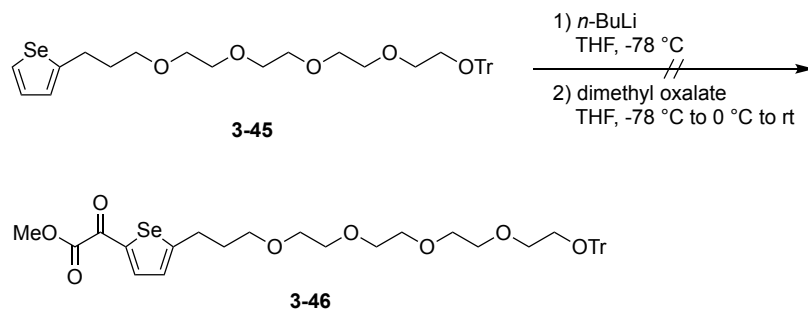
続いて、スペーサーの導入を行なった (**Table 3-6**)。Entry 1 では、末端を TBDPS 基で保護したスペーサー**3-42** を 1.5 当量用いた。しかし、TBDPS 基の転移が起こったため、末端を Tr 基で保護したスペーサー**3-43** に変更した。また、E2 脱離も競合して起きたため、Entry 2,3 ではスペーサーの当量を増やして行なった。スペーサー**3-43** を 6.0 当量加えた際に、収率 67%にて導入体 **3-45** を得ることが出来た。

Table 3-6. Introduction of spacer.



Entry	R (Compd.; equiv)	Compd.: Yield (%)
1	TBDPS (3-42 ; 1.5)	3-44 : 15
2	Tr (3-43 ; 3.0)	3-45 : 29
3	Tr (3-43 ; 6.0)	3-45 : 67

得られたスペーサー導入体を用いて、ケトエステルの導入を試みた (Scheme 3-34)。しかし、反応の進行は全く見られなかった。低温下における化合物 **3-45** の凝集や、複数の酸素原子を有するためリチウムが配位し、反応が進行しなかった可能性がある。

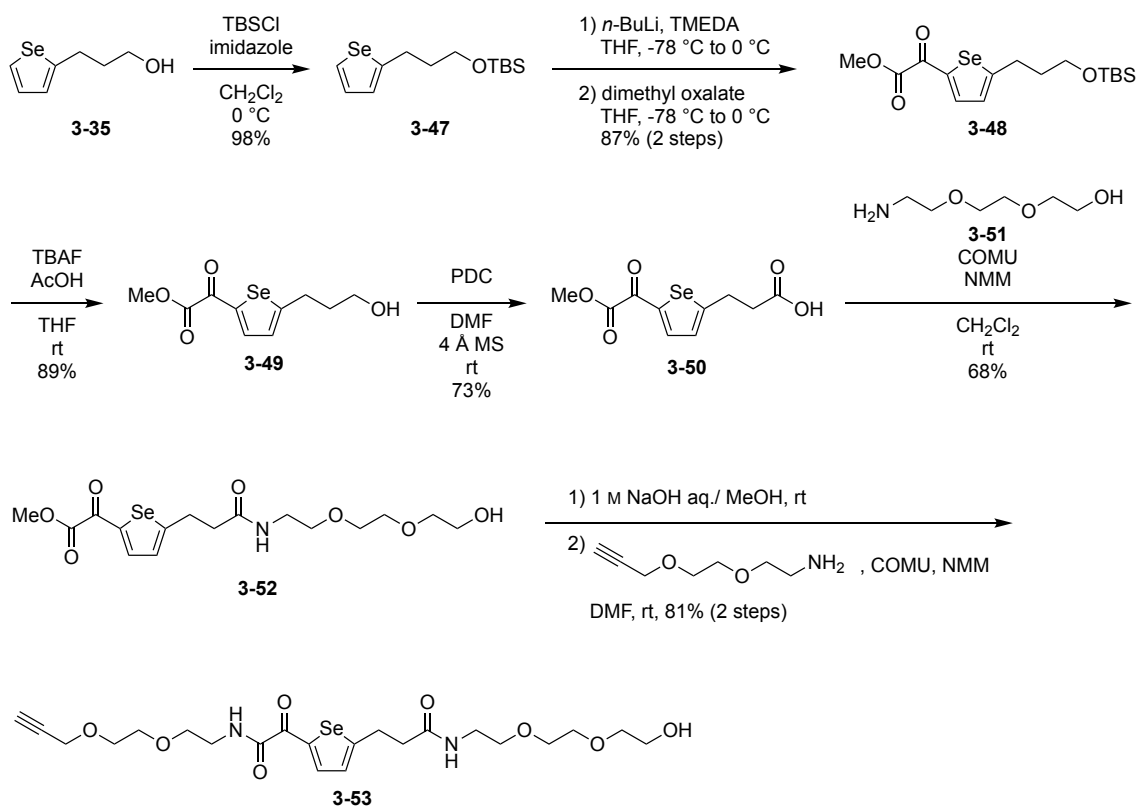


Scheme 3-34. α -Acylation of **3-45**.

以上の結果を踏まえ、ケトエステルは単純な構造から導入することが望ましいと考え、戦略を変更し、化合物 **3-35** の水酸基を TBS 基で保護したのち、導入することとした。その結果、良好な収率にて α -ケトエステル体 **3-48** を得ることが出来た。

スペーサーの導入については、ケトエステル導入後に先述したようなエーテル化を行うことが出来ないため、ペプチドカップリングによりスペーサーと連結する戦略へと変更した。化合物 **3-48** に対し、TBAF、AcOH を作用させ、TBS 基の除去を行なった後、PDC を用いたアルコールの酸化を行い、カルボン酸 **3-50** を得た。続いて、CH₂Cl₂ 溶媒中、別途調製したアミン体 **3-51**、COMU、NMM⁷² を作用させ、ペプチドカップリングを行い、化合物 **3-52** を得た後、加溶媒分解、2-[2-(2-propynyloxy)ethoxy]ethylamine の導入を二段階で行い、光反応性基ユニット **3-53** の合成を達成した (Scheme 3-35)。

⁷² Ota, E.; Mikame, Y.; Hirai, G.; Koshino, H.; Nishiyama, S.; Sodeoka, M. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 5991–5994.



Scheme 3-35. Synthesis of photoreactive unit **3-53**.

第二節 光反応性基ユニットの性質評価

第一項 ハイドレート形成に関する評価

第二章で述べた方法に基づき、合成した光反応性基ユニット **3-53** の水中における安定性を ^1H NMR を用いて評価した (Figure 3-29)。100 °C で 4 時間加温した後、室温に戻し、 ^1H NMR の測定を行なった。末端アルキンのプロトンが消失していたが、室温で 24 時間静置した後に測定した ^1H NMR スペクトルにおいて、末端アルキンのプロトンの積分値が減少していたことから、水素-重水素交換が起きたためであると考えられる。構造中のプロトン **H-1-4** が表すプロトンの化学シフト変化は見られず、近傍に新たなピークの形成が見られなかったことから、合成した光反応性基ユニット **3-53** は望まないハイドレートを形成せず、水中において安定であることが示唆された。

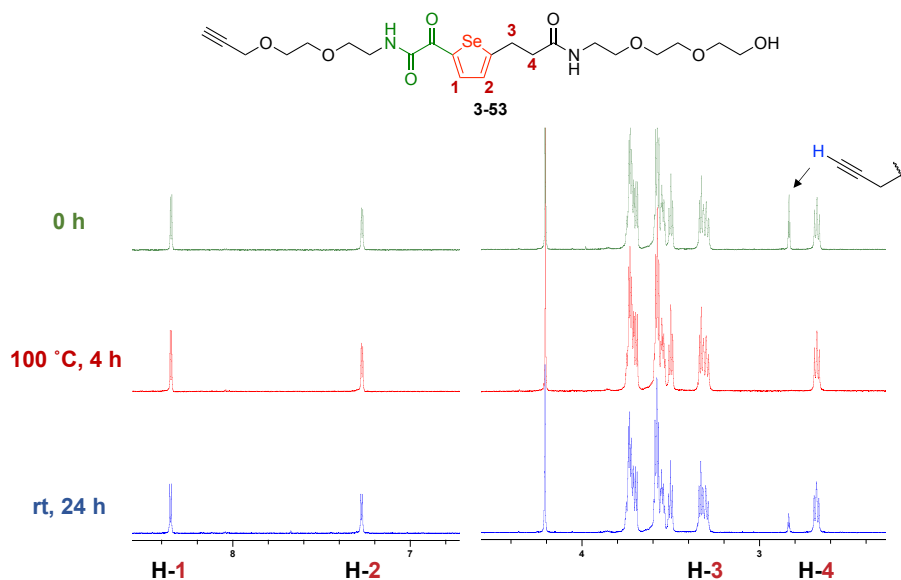


Figure 3-29. ^1H NMR spectra of **3-53** in D_2O before (green) and after (red) heating at 100 °C for 4 h, and incubated for 24 h at rt (blue).

第二項 光分解速度の解析

第二章で行なったように、光反応性基ユニット **3-53** の光安定性を HPLC を用いて評価した。254 nm における UV 検出により出発物質の消費量を測定し、出発物質より早い保持時間を持つ分解物や、遅い保持時間においても小さなピークが確認された (**Figure 3-30a**)。また、先述の α -Man 誘導体 **3-9** と同様、光照射によって水溶液の色が褐色に変化する様子が観察された (**Figure 3-30b**)。検量線 (**Figure 3-30c**)、及び近似曲線 (**Figure 3-30d**) から、速度定数 $k_{\text{deg}} = 0.033 \text{ (min}^{-1}\text{)}$ 、半減期 $t_{1/2} = 21.0 \text{ (min)}$ となり、チエニル体 **3-e** や、セレノフェン-2-イル体 **3-9** を用いた際よりも早い分解速度であったが、十分な光安定性を有することが示された。

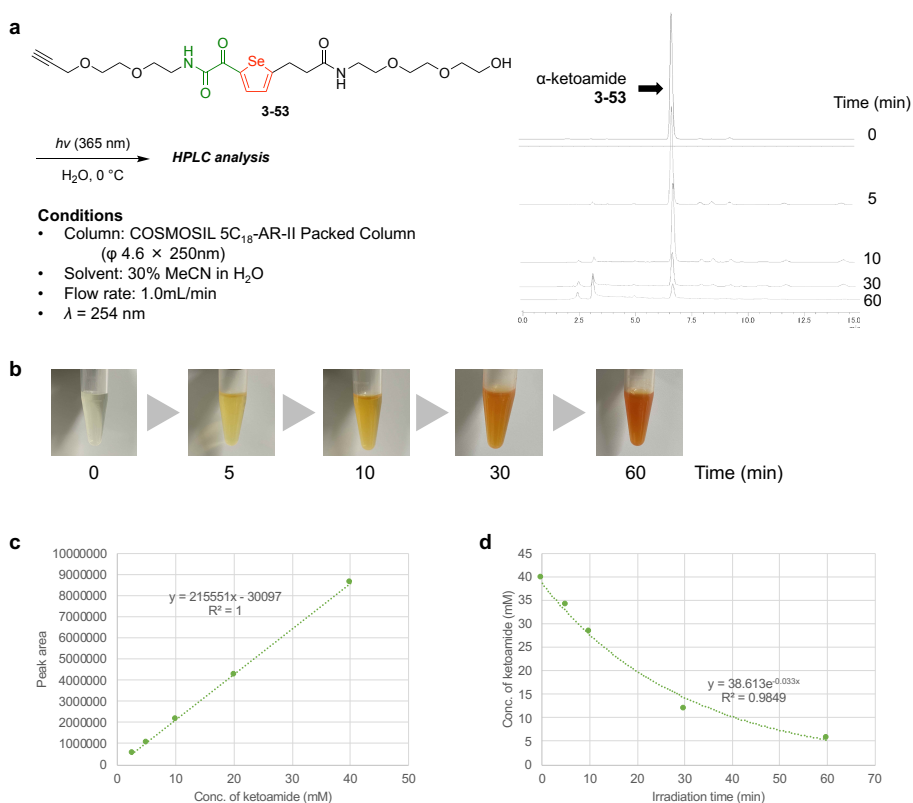


Figure 3-30. Photolysis of α -ketoamide **3-53**. (a) Conditions and HPLC profiles. (b) Color change of the degradation products in H_2O . (c) Standard curve. (d) Time-course analysis.

第三項 吸収波長の測定

第二章では、2-チエニル置換型 α -ケトアミド **3-e** と、セレノフェン-2-イル型構造の UV 吸収スペクトルの比較を行い、チエニル型と同様の光反応性を示唆したことを述べた。ここでは、合成した光反応性基ユニット **3-53** の UV 吸収の測定を行なった (Figure 3-31b)。化合物 **3-9** を用いた際に得られたスペクトル (Figure 3-31a) と類似したスペクトルが得られ、セレノフェン 5 位への修飾により光反応性が大きく妨げられないことが推測された。

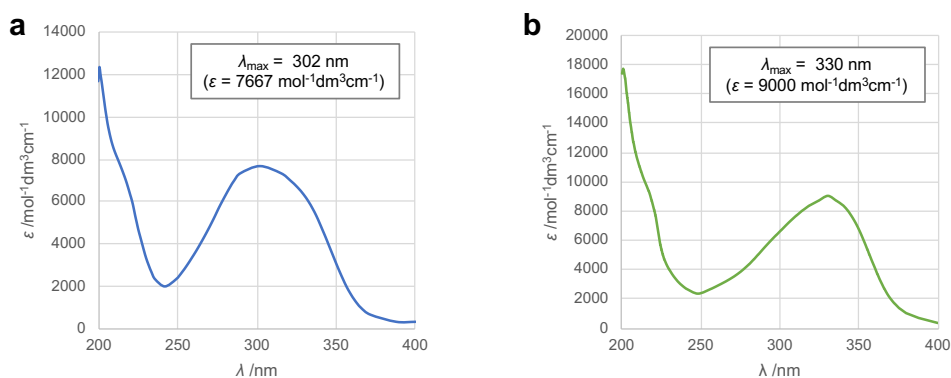


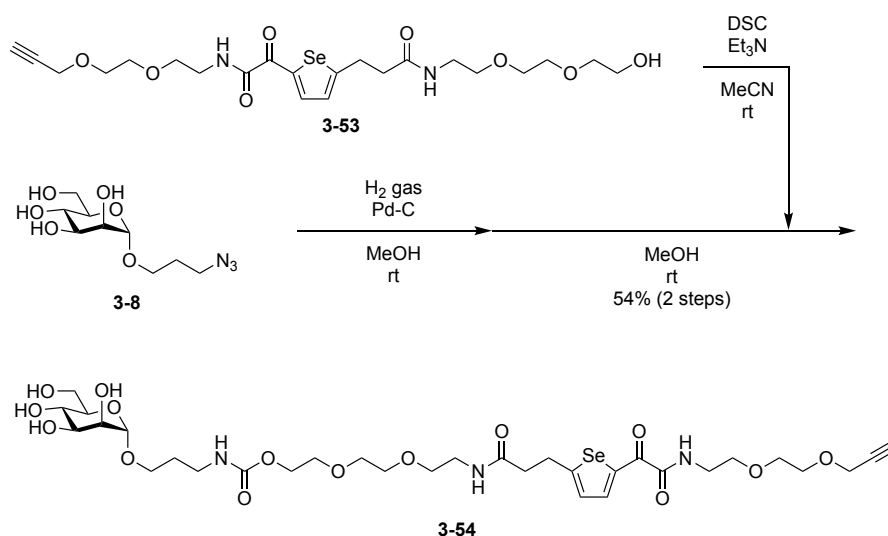
Figure 3-31. UV-absorption spectra of (a) mannose-conjugated α -ketoamide **3-9** and (b) photoreactive unit **3-53** in MeOH (30 μM).

第三節 光反応性基ユニットの *in vitro* における性質評価

第一項 光反応性基ユニット導入型 α -Man プロープの合成

合成した光反応性基ユニット **3-53** の有用性を評価するため、第二章で行なったのと同様に、Con A と Man リガンドとの相互作用をモデルとし、*in vitro* における光特性や反応性を評価することとした。

まず、 α -Man プロープの合成を行なった (Scheme 3-36)。化合物 **3-8** に対し、アジド基の還元を行なった後、得られたアミン体を MeOH に溶解し、**3-53** より *in situ* で調製した NHS カルボネートエステル体混合物の MeCN 溶液を加え、化合物 **3-54** を得た。



Scheme 3-36. Synthesis of **3-54**.

第二項 ITC を用いたレクチンとの結合評価

合成した化合物 **3-54** に対し、ITC の測定を行なった (**Figure 3-32, Table 3-7**)。第二章で述べた化合物 **3-14** の結果と比較し、Con A との結合強度は低下したものの、十分な結合強度 ($K_d=4.57$) 及び、エンタルピー駆動型の相互作用を示した。結合強度が低下した理由としては、 α -Man の還元末端が結合ポケットの外側に向くように Con A と結合していることから、セレン原子のファンデルワールス相互作用の寄与が減少したためであると推測される。

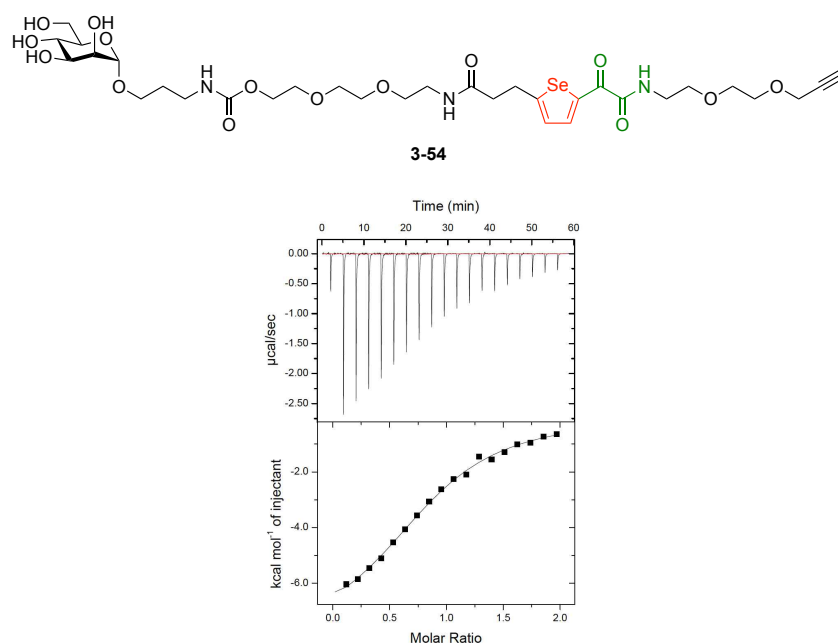


Figure 3-32. ITC result for binding of **3-54** with Con A. Upper panel: ITC profile, Lower panel: Heat signal versus molar ratio of **3-54** to Con A.

Table 3-7. Thermodynamic parameters derived from titration of Con A with mannosides.

Ligand	K_d (mM)	ΔG (kcal/mol)	ΔH (kcal/mol)	$-T\Delta S$ (kcal/mol)	N (sites)
α -MeMan	14.8	-5.22	-8.59	3.37	0.835
α -MeMan (Ota, et al. 2018)	10.3	-5.53	-8.07	2.54	0.686
3-14	0.934	-6.86	-8.76	1.90	0.884
3-54	4.57	-5.92	-8.02	2.10	0.855

第三項 光親和性標識実験

ここでは、**3-54** を用いた Con A の光親和性標識実験を行い、光反応性基ユニットの反応効率を検証した。まず、第二章で行なった方法と同様に、照射時間の検討を行なった (**Figure 3-33**)。照射時間 1–10 秒においては、バンド強度が右肩上がりにより上昇したが、10 秒より長い時間の照射においてはバンド強度に変化が見られなかった。このことから、照射時間は 10 秒に設定した。尚、本実験においても短時間の照射で高いラベル化効率を発揮することが示され、光反応性の観点においてセレノフェン 5 位の置換が光反応性基の性質に大きく影響を及ぼさないことが証明された。

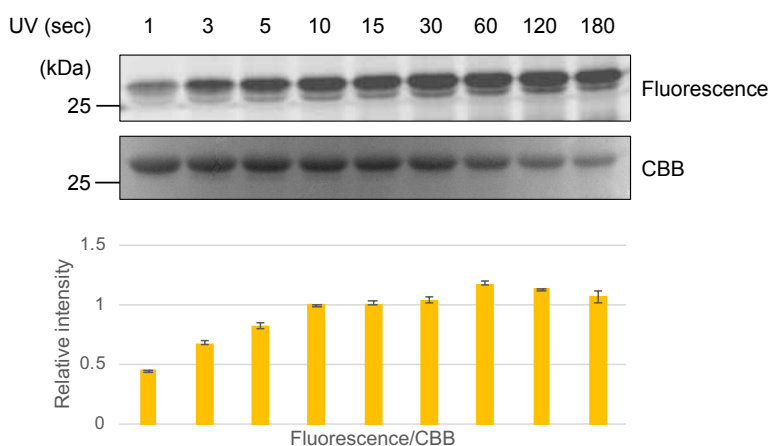


Figure 3-33. Screening of irradiation time ($n = 2$). Condition of photoaffinity labeling: Con A ($13 \mu\text{g}$), ligand **3-54** ($10 \mu\text{M}$), $\alpha\text{-MeGal}$ (2.5 mM). Condition of CuAAC: SDS (final conc.: 0.1%), fluorophore **3-16** (final conc: $21.5 \mu\text{M}$), CuSO_4 (final conc.: 1.0 mM), TBTA (final conc.: 0.1 mM), TCEP (final conc.: 1.0 mM).

次に、リガンド濃度の検討を行なった (**Figure 3-34**)。 $10 \mu\text{M}$ を最大濃度とし、検討した結果、リガンド **3-14** を用いて行なった場合と同様、濃度依存的にバンド強度が減少した。このことから、リガンド濃度は $10 \mu\text{M}$ に設定した。

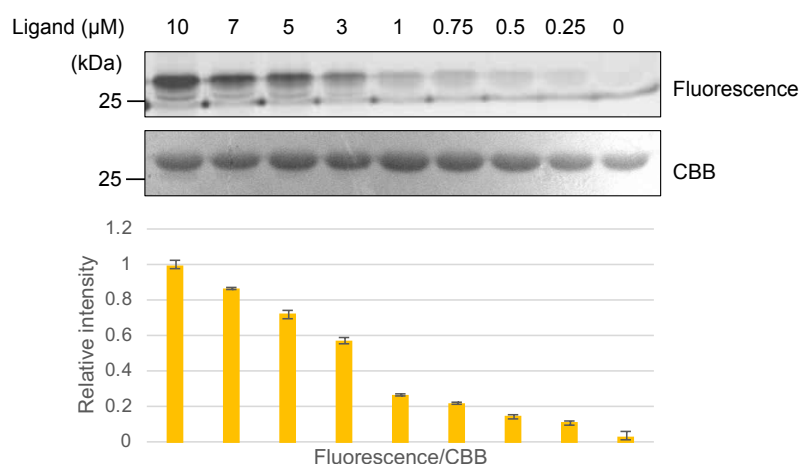


Figure 3-34. Screening of equivalent of ligand ($n = 2$). Condition of photoaffinity labeling (irradiation for 10 sec): Con A (13 μg), ligand **3-54** (0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 3, 5, 7 or 10 μM), α -MeGal (2.5 mM). Condition of CuAAC: SDS (final conc.: 0.1%), fluorophore **3-16** (final conc: 21.5 μM), CuSO_4 (final conc.: 1.0 mM), TBTA (final conc.: 0.1 mM), TCEP (final conc.: 1.0 mM).

続いて、設定したラベル化条件に基づき、 α -MeMan を用いた競合阻害実験を行なった (Figure 3-35)。リガンド **3-14** を用いた場合に比べてラベル化効率は僅かに低下したが、相互作用部位と光反応基の距離が相対的に離れているためであると考えられる。しかし、 α -MeMan の添加によりバンド強度が低下したことから、相互作用部位特異的にラベル化が起こったことが示された。以上の検討により、合成した光反応性基ユニットが細胞膜上における GSL-タンパク質相互作用の検出に有用である可能性が示唆された。

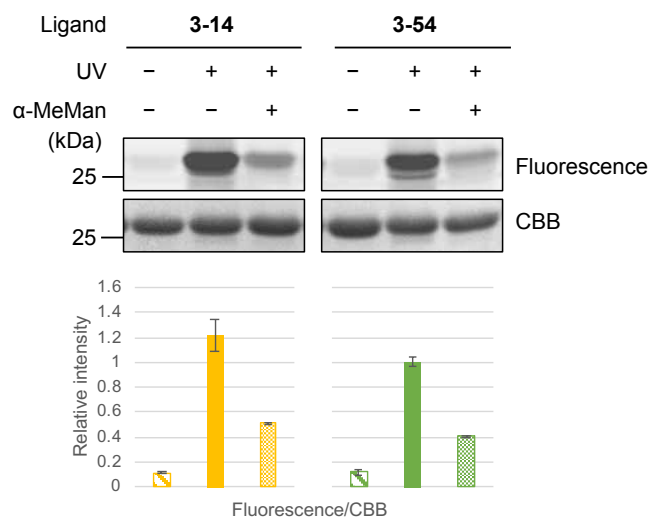
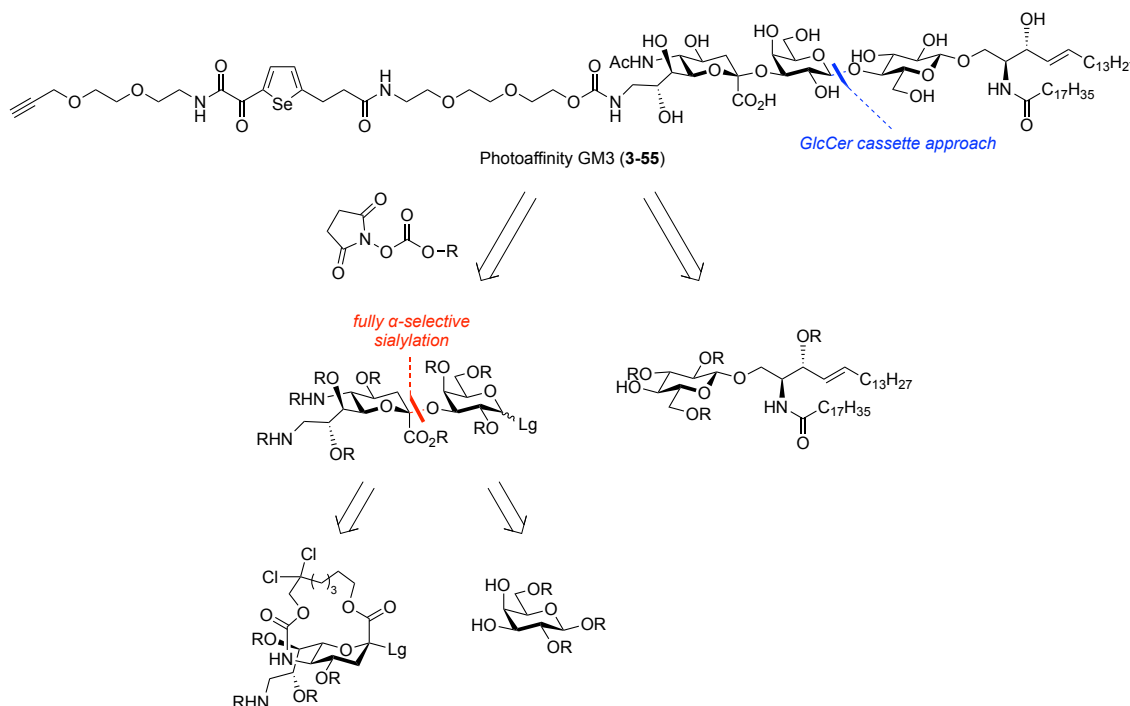


Figure 3-35. The effect of α -MeMan as a competitor ($n = 2$). Condition of photoaffinity labeling (irradiation for 5 sec (**3-14**) or 10 sec (**3-54**)): Con A (13 μ g), ligand **3-14** or **3-54** (10 μ M), α -MeGal (2.5 mM). In the competitive study, α -MeMan (2.5 mM) was used instead of α -MeGal. Condition of CuAAC: SDS (final conc.: 0.1%), fluorophore **3-16** (final conc.: 21.5 μ M), CuSO_4 (final conc.: 1.0 mM), TBTA (final conc.: 0.1 mM), TCEP (final conc.: 1.0 mM).

第四節 光親和性 GM3 プロープの合成

第一項 分子設計と合成戦略

ここでは、光親和性 GM3 プロープ **3-55** の分子設計及び合成戦略について述べる (Scheme 3-37)。GM3 と相互作用するラフト親和性タンパク質は幾つか報告があるため、細胞膜における光架橋実験のモデルとして合成し、実験系の確立を目指した。本章の冒頭で述べたように、合成の最終段階で Neu9 位をアミノ基で修飾した GM3 に対し、カルバメート結合を介して光反応性基ユニットを導入する設計とした。GM3 骨格は GlcCer カセット法⁷³により導入することとし、 α -シアロシド結合は、二環性 Neu 供与体⁷⁴を適用して構築することとした。



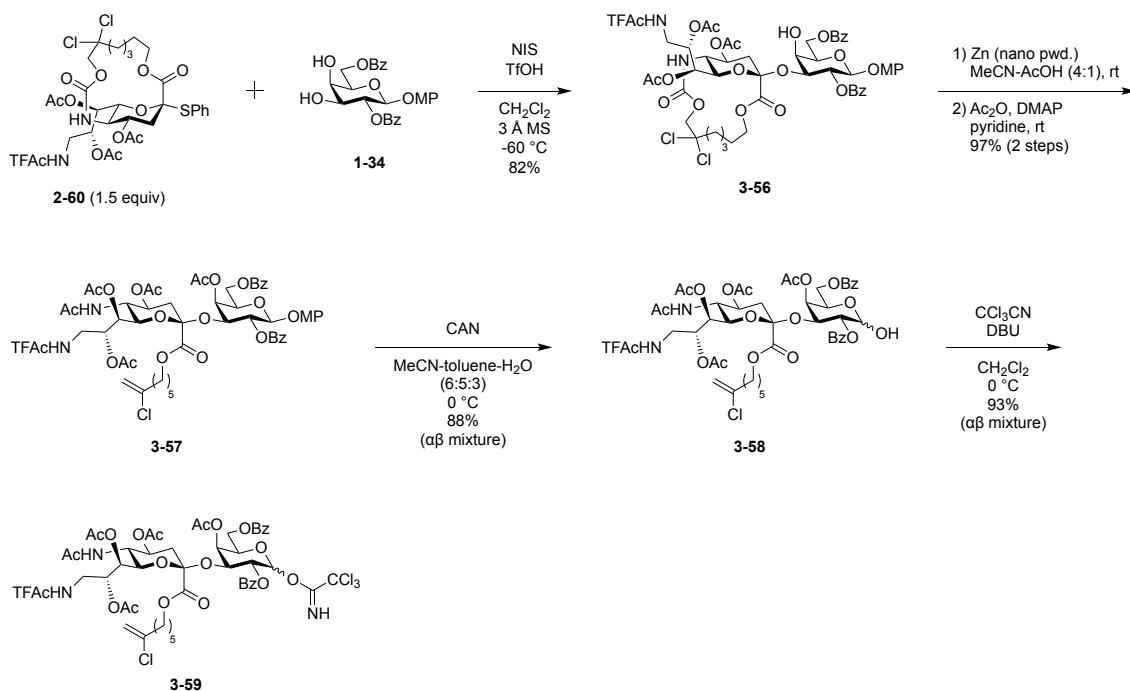
Scheme 3-37. Retrosynthetic analysis of the photoaffinity GM3 probe **3-55**.

⁷³ Imamura, A.; Ando, H.; Ishida, H.; Kiso, M. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3009–3023.

⁷⁴ Komura, N.; Kato, K.; Udagawa, T.; Asano, S.; Tanaka, H.-N.; Imamura, A.; Ishida, H.; Kiso, M.; Ando, H. *Science* **2019**, 364, 677–680.

第二項 NeuGal 供与体の合成

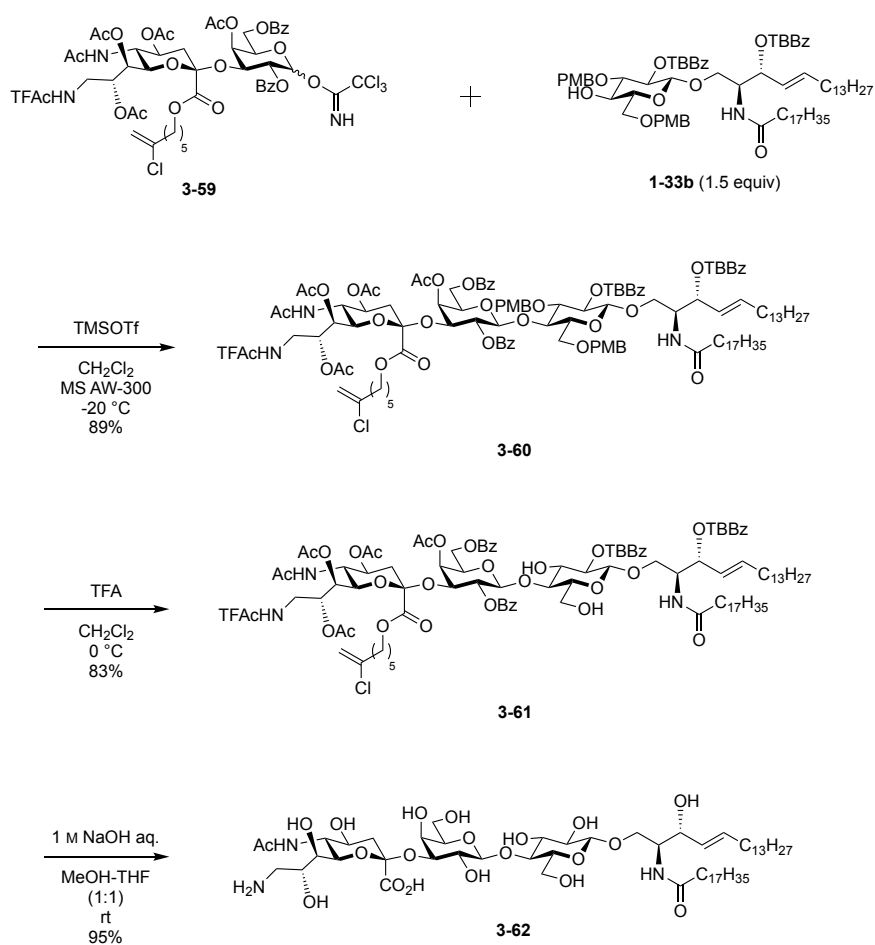
まず、NeuGal 供与体の合成を行なった (Scheme 3-38)。第二部にて合成した Neu 供与体 **2-60** を 1.5 当量用い、Gal 受容体 **1-34** との縮合反応を行い、収率 82%にて化合物 **3-56** を得た。続いて、Zn nanopowder (40–60 nm avg. part. size; Merck KGaA, Darmstadt, Germany) を用いた架橋構造の開裂、Neu 5 位アミノ基及び Gal 4 位水酸基の Ac 化を二段階で行なった後、MP 基の除去、脱離基の導入を行い、NeuGal 供与体 **3-59** へと導いた。



Scheme 3-38. Synthesis of NeuGal donor **3-59**.

第三項 GM3 骨格の構築、脱保護

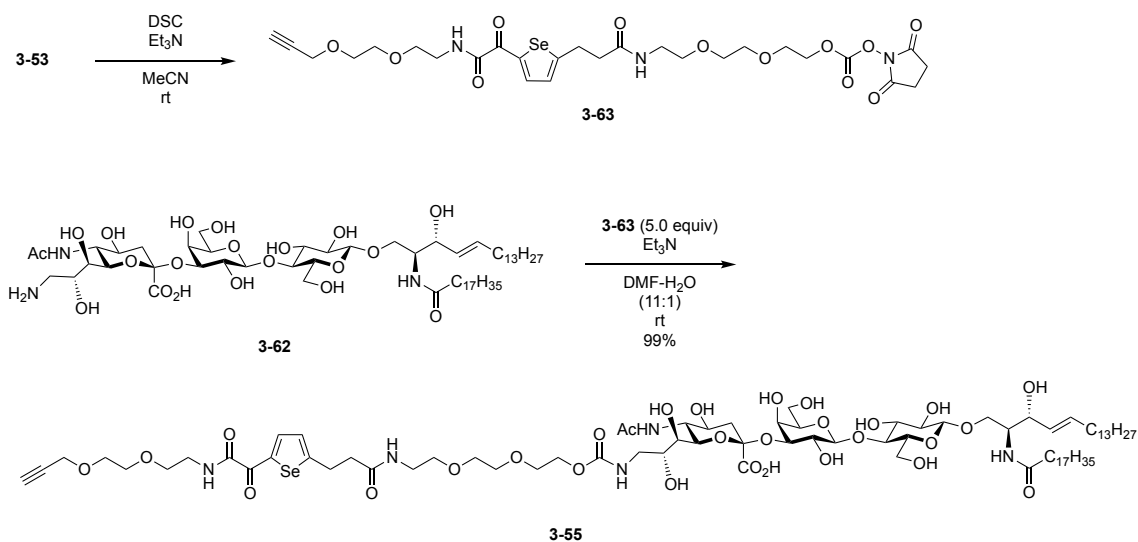
得られた NeuGal 供与体 **3-59** と、第一部にて合成した GlcCer 受容体 **1-33b** の縮合反応を行い、GM3 骨格 **3-60** を構築した。その後、PMB 基の除去、アシル系保護基の除去を行い、GM3 脱保護体 **3-62** を得た (Scheme 3-39)。



Scheme 3-39. Synthesis of N9-amino modified GM3 **3-62**.

第四項 光反応性基ユニットの導入

光反応性基ユニット **3-53** に対し、MeCN 溶媒中、DSC、Et₃N を作用させ、NHS カーボネートエステル **3-63** を得た。化合物 **3-63** は GM3 に対し 5.0 当量合成し、また、得られた **3-63** は洗浄及び濃縮操作のみを行い、精製を行わず次の反応に供した。GM3 脱保護体 **3-62** に対し、**3-63** の混合物を加え、アミノ基とのカップリングを行い、光親和性 GM3 プローブ **3-55** の合成を達成した (Scheme 3-40)。



Scheme 3-40. Synthesis of photoaffinity GM3 **3-55**.

第五節 細胞膜上での光架橋実験とプロテオミクス解析

前節で合成した光親和性 GM3 プローブ **3-55** を用い、次に示すプロトコルに従い、光架橋実験及びプロテオミクス解析を行なった。

A549 細胞は、10% FCS を含む DMEM 培地 (Invitrogen) を用い、5% CO₂ 存在下 37 °C で培養したものを用いた。そこに、終濃度が 50 µM になるように光親和性 GM3 プローブ **3-55** を加えて培養した後、UV 照射し、培養細胞の固定化を行い、クリック試薬 (50 mM HEPES, 150 mM NaCl, 500 µM CuSO₄, 500 µM TBTA, 2.5 mM Na-ascorbate, 10 µM Biotin-PEG3-azide) を加えて室温で 1 時間インキュベートした。細胞破碎液を調製した後、Streptavidin Sepharose (Sigma) を用いたアフィニティカラムによりビオチン化タンパク質を精製し、SDS-PAGE により分画した。目的のビオチン化タンパク質は、Avidin-HRP を用いた Western blot を行うことにより確認した。ビオチン化タンパク質を含むゲルのバンドを切り出し、ペプチド消化、質量分析を行い、得られた MS 及び MS/MS のデータを、Mascot ver.2.5.1 (Matrixscience, UK) が搭載された Proteome Discoverer software (Thermo Fisher Scientific) を用いて解析した。

プロテオミクス解析の結果、17 種類のタンパク質が同定された (**Table 3-9**)。今後、同定されたタンパク質と GM3 の関連性を調べていく予定である。また、セレン原子の同位体組成を利用したプロテオミクス解析の有用性に関する検証も行なっていく。

Table 3-9. Identified proteins as candidates for GM3-associated proteins in A549 cells.

No.	Protein name	Accession
1	Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	Q9Y277
2	Voltage-dependent anion-selective channel protein 2	P45880
3	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM44	O43615
4	Annexin A2	P07355
5	Mitochondrial import receptor subunit TOM40 homolog	O96008
6	Calcium-binding mitochondrial carrier protein SCaMC-1	Q6NUK1
7	Galectin-7	P47929
8	Phosphate carrier protein, mitochondrial	Q00325
9	Cathepsin D	P07339
10	Ras-related protein Rab-5C	P51148
11	Sideroflexin-1	Q9H9B4
12	Fatty acid-binding protein 5	Q01469
13	EH domain-binding protein 1	Q8NDI1
14	Protein S100-A9	P06702
15	Desmoplakin	P15924
16	Junction plakoglobin	P14923
17	Filaggrin-2	Q5D862

総括

第一部では、糖鎖合成における化合物の難溶性克服に向け、芳香族系保護基の *p-tert*-ブチル基修飾の有用性を検証した。まず、三種類の GalN 誘導体を用い、融点、溶解度の測定、DLS による粒子径の測定を行い物性を比較したところ、TBBzld 基を導入した GalN 誘導体は他の GalN 誘導体と比較して顕著な変化を示した。また、TBBzld 基は汎用性の高い Bzld 基と同様、除去及び開裂が可能であることも示した。更に、糖の中でも特に有機溶媒への難溶性が顕著である GlcNAc をモデル化合物とし物性を比較した結果、種々の芳香族系保護基 (Bzld 基、Bz 基、Bn 基、SPh 基) への *tert*-ブチル基の導入により相乗的に溶解性が向上することが示された。これらの結果を踏まえ、低温下での溶解性が低いことで知られる、GlcCer 受容体をモデル化合物とし、Bz 基を TBBz 基に置換した、TBBz 型 GlcCer 受容体を用い、グリコシル化反応における影響を調べたところ、低温下でも容易に溶解し、従来型では不可能であった -40°C におけるグリコシル化を行うことに成功した。以上の検証により、*tert*-ブチル基修飾型芳香族系保護基は、多糖合成や、化学反応の制御などに重要な役割を果たすことが示唆された。

第二部では、GSL のホモダイマー化における分子対称性を明らかにするための L-LacCer 蛍光プローブ、及びグロボ系列 GSL の基本骨格を有し、細胞分化制御や癌の悪性化に関与することで知られる SSEA-3、SSEA-4、Globo-H の蛍光プローブの合成を行なった。

L-LacCer 蛍光プローブについては、L-Lac 供与体と L-GlcCer 受容体との縮合反応により GSL 骨格を構築した後、保護基の除去、蛍光標識 ATTO488 の導入により合成を達成した。天然型 LacCer 構造を有する ATTO594-D-LacCer プローブとの一分子 FRET 解析により、D 型-L 型間のヘテロダイマー寿命が、D 型同士のホモダイマー寿命に比べて短くなったことから、糖鎖同士の平行な重なり合いにより生じる水素結合が GSL ホモダイマー形成に重要で

ある可能性が示唆された。

SSEA-3、SSEA-4、Globo-H 蛍光プローブについては、三糖共通ユニットに対し、末端ユニットの導入、GlcCer の導入により、合成を行う戦略を立案した。三糖共通ユニットの合成の際、DTBS 効果により α -ガラクトシドを構築して二糖受容体へと導き、第一部にて報告した TBBzId 基保護型 GalN 供与体とのグリコシル化を行なった。化合物の優れた溶解性により、反応操作の簡便化及びグラムスケールでの合成に成功した。その後、各末端ユニットの導入を行なった。SSEA-3 については、3 位にスペーサーを導入した Gal 供与体を高収率にて導入した。SSEA-4 については、二環性 Neu 供与体を用いることにより、SSEA-3 四糖骨格に対して直接的に α -シアロシドを構築することに成功した。Globo-H については、SSEA-3 骨格構築後、末端 Gal 2 位に対してエーテル混合溶媒効果により Fuc 残基を α 選択的に導入することが出来た。その後、保護基の変換、GlcCer の導入、脱保護、蛍光標識 ATTO594 の導入を行い、三種類の蛍光プローブの合成を達成した。DRM 分配実験、Lo/Ld 分配実験により、合成した蛍光プローブのラフト分配性を確認し、天然の GSL 分子との等価性を示した。一分子イメージングによりホモダイマーの形成を確認し、ホモフィリックな GSL-GSL 相互作用の普遍性、及び SSEA-3、SSEA-4、Globo-H がホモフィリックなドメインを形成する可能性を示唆した。

第三部では、新規光反応性基の開発と、脂質ラフトにおける分子間相互作用の解明に向けた光親和性 GSL プローブの開発を行なった。疎水性が低くコンパクトで、ラベル化効率及び選択性共に優れた 2-チエニル置換型 α -ケトアミド構造を模倣し、硫黄原子を周期表同族のセレン原子に置き換えたセレノフェン-2-イル型の構造を新たに考案した。これにより、セレンの同位体組成によるプロテオミクス解析の簡便化を期待した。

まず、セレノフェン-2-イル型構造の水中安定性及び光分解特性を評価し、チエニル型構

造と同等の性質を有することが示された。ケトアミドを導入した α -Man と、Con A の相互作用を ITC により解析した結果、特異性が高く、水素結合やファンデルワールス力を駆動力とする強い相互作用を検出し、非疎水性の光反応性基として望ましい性質を有することが示唆された。更に、SDS-PAGE による光親和性標識実験を行なった結果、チエニル型構造よりも高いラベル化効率を示し、光反応性基としての応用が可能であることを示唆した。更に、夾雑環境下においてもチエニル型構造と同様、高い選択性を発揮することが示された。

光親和性 GSL プローブの合成に向け、光反応性基ユニットの合成を行なった。光反応性基は脂質から離れた糖鎖末端側に導入することとし、各ユニット間は親水性のスペーサーで連結する設計とした。種々の検討の結果、ペプチドカップリングを基本とした戦略により光反応性基ユニットの合成を達成した。これを GM3 に導入して光親和性プローブを合成し、細胞膜上における光架橋実験とプロテオミクス解析により、17 種類の GM3 親和性タンパク質の候補を同定した。今後、同位体組成を利用したプロテオミクス解析の有用性の検証及び、光架橋条件の確立を行い、他の GSL を用いた光架橋実験へと発展させる予定である。

本研究全体を通して、糖鎖合成や糖鎖のケミカルバイオロジー研究に新たな知見を提供することが出来ると確信している。本研究の更なる進展により、糖鎖が関わる生命現象の解明研究がより一層発展することを期待し、総括とする。

実験の部

一般操作

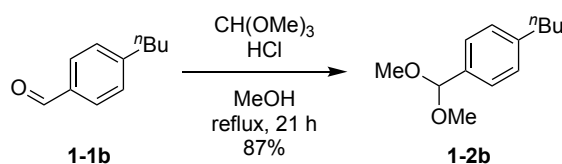
反応溶媒は、ソルベントサプライシステム (Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Japan) により供給されたもの (CH_2Cl_2 , toluene, THF, MeCN, DMF and pyridine)、又は、予め MS3Å または MS4Å (FUJIFILM Wako Pure Chemical Co., Osaka, Japan) にて乾燥したものを使用した。反応に用いたモレキュラーシーブスは 300 °C にて 2 時間活性化し、さらにホットプレート式マグネチックスターラー及びアルミブロック (Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan) を用いて減圧下、300°C で一晩活性化させたものを使用した。

TLC には TLC plate silica gel 60F₂₅₄ (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) を使用し、検出は UV 吸収 (254 nm) 及び発色試薬 (10% H_2SO_4 EtOH 溶液、 $12\text{MoO}_3 \cdot \text{H}_3\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} / \text{H}_2\text{SO}_4 / 85\% \text{H}_3\text{PO}_4$ aq. 混合溶液、1% ニンヒドリン水溶液) を用いた。カラムクロマトグラフィーは silica gel (80 and 300 mesh; Fuji Silysia Chemical Ltd., Aichi, Japan)、Iatrobeads 6RS-8060 (LSI Medience Corporation, Tokyo, Japan)、Sephadex LH-20 (Cytiva, Tokyo, Japan)、Silica gel 120 (spherical) RP-18 (40–50 μm ; Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Japan)、フラッシュ自動精製システム Isolera One 及び最新超高速フラッシュ自動精製システム Selekt (Biotage AB, Uppsala, Sweden) 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) として記した。全ての濃縮操作は湯浴による加温と減圧条件下で行なった。

^1H NMR、 ^{13}C NMR、 ^{77}Se NMR スペクトルは Biospin AVANCE III 500 及び Biospin AVANCE III 800 (Bruker, Billerica, Massachusetts, US) を用いて測定した。化学シフト値は内部標準 (tetramethylsilane) に対する相対値 ($\delta = 0.00$ ppm) 又は外部標準に対する相対値 ppm (δ) で示した。全ての帰属情報は、化学シフト (δ)、多重度 (s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet,

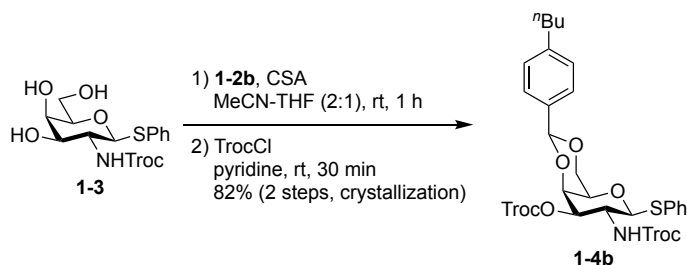
quin = quintet, sext = sextet, dd = double doublet, dt = double triplet, and m = multiplet and/or multiple resonances)、積分値、結合定数 (Hz)、対応するプロトンの位置により示した。化合物の帰属は、 ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HMBC 及び ^1H - ^{13}C HMQC を用いて行なった。

旋光度の測定には高速・高感度旋光度計 SEPA-300 又は SEPA-500 (Horiba, Ltd., Kyoto, Japan) を用いた。また、高分解能マススペクトル (ESI-TOF MS) は micrOTOF-GF ESI-TOF Mass Spectrometer (Bruker, Billerica, Massachusetts, US) を用いて、positive-ion モード又は negative-ion モードにて測定を行なった。



Compound 1-2b

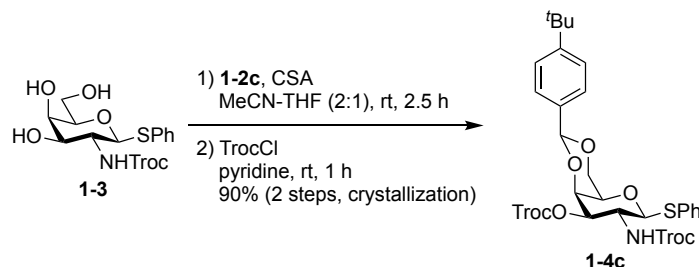
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-1b** (500 mg, 3.08 mmol) を MeOH (6.20 mL) に溶かし、trimethyl orthoformate (1.01 mL, 9.25 mmol)、37% hydrochloric acid (1.9 μ L, 22.1 μ mol) を加え、還流条件下にて 21 時間撹拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 12/1, developed twice) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を 2 M 水酸化ナトリウム水溶液で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃) で精製し、**1-2b** (559 mg, 87%) を無色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.35–7.17 (m, 4 H, Ar), 5.36 (s, 1 H, ArCH<), 3.33 (s, 6 H, 2 OMe), 2.61 (t, 2 H, ArCH₂CH₂CH₂), 1.62–1.56 (m, 2 H, ArCH₂CH₂CH₂), 1.35 (sext, 2 H, ArCH₂CH₂CH₂), 0.92 (t, 3 H, Me); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 143.2, 135.4, 128.3, 126.6, 103.4, 52.8, 35.4, 33.6, 22.3, 13.9; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 231.1360, C₁₃H₂₀O₂ calcd for [M+Na]⁺ 231.1356.



Compound 1-4b

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-3** (295 mg, 0.660 mmol) を MeCN/THF = 2/1 (6.60 mL) に溶かし、**1-2b** (275 mg, 1.32 mmol)、(±)-10-camphorsulfonic acid (61.3 mg, 0.264 mmol) を加え、室温にて 1 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、トリエチルアミンを加えて反応を停止し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を pyridine (6.60 mL) に溶かし、2,2,2-trichloroethyl chloroformate (566 μ L, 4.22 mmol) を 0 °C にて加え、室温にて 30 分間撹拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 1/1) で確認後、トルエン共沸を行なった。残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/EtOAc = 70/1 \rightarrow 5/1) 及び結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**1-4b** (1.68 g, 82%) を白色結晶として得

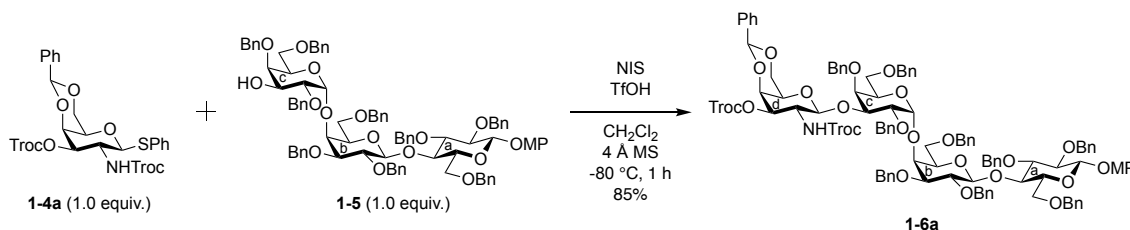
た。M.p. 183–188 °C; $[\alpha]_D^{25} +19.2^\circ$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ 7.65–7.20 (m, 9 H, 2 Ar), 7.17 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.0$ Hz, NH-2), 5.64 (s, 1 H, ArCH<), 5.24–5.21 (m, 2 H, H-1, H-3), 4.89 (s, 2 H, 2 C(=O)OCH₂CCl₃), 4.82 (d, 1 H, $J_{gem} = 12.3$ Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.77 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.65 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4), 4.26 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 1.5$ Hz, $J_{gem} = 12.5$ Hz, H-6a), 4.20–4.14 (m, 2 H, H-2, H-6b), 3.89 (d, 1 H, H-5), 2.63 (t, 2 H, ArCH₂CH₂CH₂), 1.64–1.58 (m, 2 H, ArCH₂CH₂CH₂), 1.36 (sext, 2 H, ArCH₂CH₂CH₂), 0.93 (t, 3 H, Me); ¹³C NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ 155.0, 154.3, 144.4, 136.8, 133.9, 133.1, 129.7, 128.8, 128.3, 127.3, 101.5, 96.9, 95.6, 86.5, 77.8, 77.4, 74.8, 73.6, 70.4, 69.7, 51.4, 36.0, 34.5, 22.9, 14.2; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 785.9798, C₂₉H₃₁Cl₆NO₈S calcd for $[M+Na]^+$ 785.9794.



Compound 1-4c

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-3** (201 mg, 0.450 mmol) を MeCN/THF = 2/1 (4.50 mL) に溶かし、**1-2c** (187 mg, 0.900 mmol)、(±)-10-camphorsulfonic acid (41.8 mg, 0.180 mmol) を加え、室温にて 2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、トリエチルアミンを加えて反応を停止し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を pyridine (4.50 mL) に溶かし、2,2,2-trichloroethyl chloroformate (181 μ L, 1.35 mmol) を 0 °C にて加え、室温にて 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 1/1) で確認後、トルエン共沸を行なった。クロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/CHCl₃/EtOAc = 5/1/1) 及び結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**1-4c** (310 mg, 90%) を白色結晶として得た。M.p. 141–147 °C; $[\alpha]_D^{25} +17.5^\circ$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ 7.64–7.29 (m, 9 H, 2 Ar), 7.17 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.0$ Hz, NH-2), 5.65 (s, 1 H, ArCH<), 5.24–5.21 (m, 2 H, H-1, H-3), 4.89 (s, 2 H, 2 C(=O)OCH₂CCl₃), 4.82 (d, 1 H, $J_{gem} = 12.5$ Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.77 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.65 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4), 4.27 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 1.5$ Hz, $J_{gem} = 12.5$ Hz, H-6a), 4.21–4.15 (m, 2 H, H-2, H-6b), 3.89 (d, 1 H, H-5), 1.33 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ 155.1, 154.3, 152.5, 136.6, 134.0, 133.0, 129.7, 128.3, 127.1, 125.6, 101.4, 96.9, 95.6,

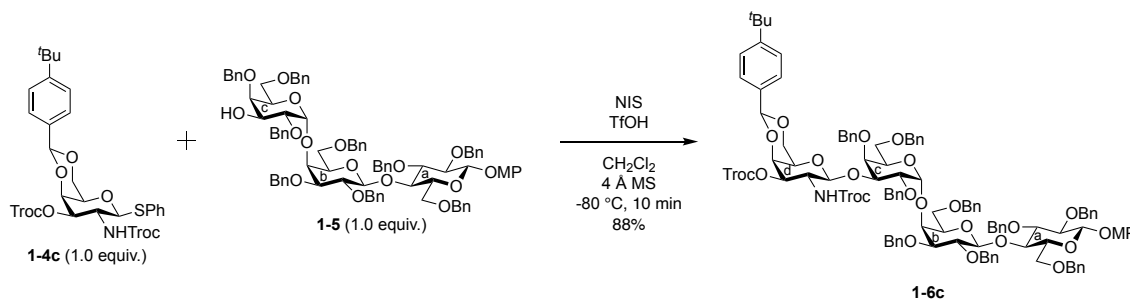
86.6, 79.2, 77.8, 77.4, 74.8, 73.6, 70.4, 69.7, 51.4, 35.2, 31.6; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 785.9796, $C_{29}H_{31}Cl_6NO_8S$ calcd for $[M+Na]^+$ 785.9794.



Compound 1-6a

Ar 雰囲気下にて、供与体 **1-4a** (93.8 mg, 0.132 mmol) と受容体 **1-5** (188 mg, 0.132 mmol) を CH_2Cl_2 (1.30 mL) に溶かし、*N*-iodosuccinimide (59.2 mg, 0.264 mmol)、活性化したモレキュラーシーブス 4 Å (300 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、 $-80\text{ }^{\circ}C$ に冷却し、trifluoromethanesulfonic acid (2.3 μ L, 26.4 μ mol) を加え、1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/ $CHCl_3$ /acetone = 3/1/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応溶液を中和し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/ $CHCl_3$ /acetone = 6/1/1) で精製し、**1-6a** (228 mg, 85%) を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_D +12.8^{\circ}$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ 7.58–6.80 (m, 54 H, 11 Ar), 6.53 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.5$ Hz, NH-2 d), 5.60 (s, 1 H, PhCH<), 5.31 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.0$ Hz, PhCH $_2$), 5.19 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, PhCH $_2$), 5.01 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1 c), 4.97 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1 a), 4.97–4.79 (m, 11 H, H-1 d , H-3 d , 7 PhCH $_2$, 2 C(=O)OCH $_2$ CCl $_3$), 4.75 (d, 1 H, $J_{gem} = 12.5$ Hz, PhCH $_2$), 4.66 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, H-1 b), 4.64–4.57 (m, 3 H, 2 PhCH $_2$, C(=O)OCH $_2$ CCl $_3$), 4.51–4.49 (m, 2 H, H-5 c , PhCH $_2$), 4.44 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4 d), 4.42–4.31 (m, 6 H, H-3 c , H-4 c , 3 PhCH $_2$, C(=O)OCH $_2$ CCl $_3$), 4.29–4.17 (m, 5 H, H-4 b , H-2 d , H-6a d , 2 PhCH $_2$), 4.08–4.04 (m, 3 H, H-4 a , H-6a b , H-6b d), 3.99 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2 c), 3.88 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4.3$ Hz, $J_{gem} = 10.8$ Hz, H-6a a), 3.84 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 1.8$ Hz, H-6b a), 3.79 (t, 1 H, $J_{2,3} = 7.5$ Hz, H-2 b), 3.77–3.67 (m, 6 H, H-3 a , H-5 a , H-6b b , OMe), 3.60–3.51 (m, 4 H, H-2 a , H-3 b , H-5 b , H-6a c), 3.28 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 5.0$ Hz, $J_{gem} = 8.5$ Hz, H-6b c), 3.02 (s, 1 H, H-5 d); ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ 156.1, 155.1, 154.2, 152.6, 140.9, 140.6, 140.1, 140.0, 140.0, 140.0, 139.7, 139.6, 139.3, 130.3, 129.6, 129.2, 129.1, 129.0, 129.0, 129.0, 128.8, 128.7, 128.7, 128.7, 128.4, 128.4, 128.3, 128.3, 128.2, 128.2, 128.1, 128.0, 127.8, 127.4, 118.8, 115.3, 103.5, 103.1, 102.9, 101.6, 101.4, 96.7, 95.6, 82.5, 82.1, 81.1, 80.4, 79.0, 78.7, 77.4, 77.3, 76.6, 76.5, 76.0, 75.9, 75.7, 75.7, 75.4, 75.0, 74.8, 74.7, 74.4, 73.6, 73.4, 73.1,

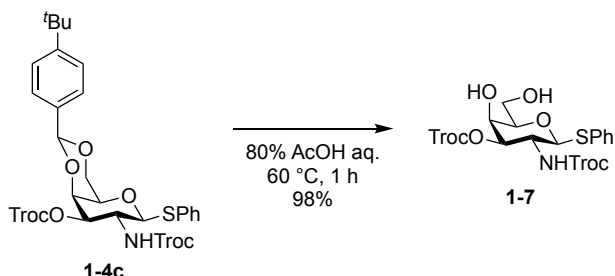
72.6, 70.0, 69.7, 69.5, 69.3, 68.9, 66.3, 55.8, 53.4; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 2040.5310, $C_{107}H_{109}Cl_6NO_{25}$ calcd for $[M+Na]^+$ 2040.5312.



Compound 1-6c

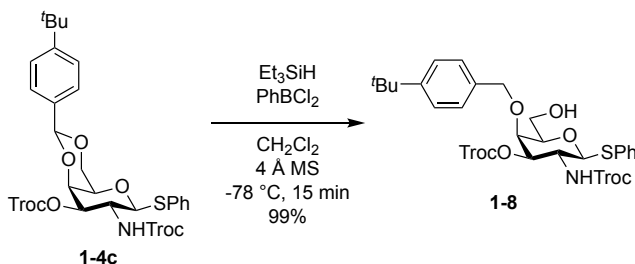
Ar 雰囲気下にて、供与体 **1-4c** (177 mg, 0.124 mmol) と受容体 **1-5** (95.0 mg, 0.124 mmol) を CH_2Cl_2 (1.20 mL) に溶かし、*N*-iodosuccinimide (55.6 mg, 0.248 mmol)、活性化したモレキュラーシーブス 4 Å (300 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、 $-80\text{ }^{\circ}C$ に冷却し、trifluoromethanesulfonic acid (2.2 μ L, 24.8 μ mol) を加え、10 分間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/ $CHCl_3$ /acetone = 3/1/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応溶液を中和し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (1st: *n*-hexane/ $CHCl_3$ /acetone = 6/1/1, 2nd: *n*-hexane/ $CHCl_3$ /acetone = 7/1/1) で精製し、**1-6c** (227 mg, 88%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +13.7° (c 1.0, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ 7.58–6.80 (m, 53 H, 11 Ar), 6.52 (d, 1 H, $J_{2,NH}$ = 9.5 Hz, NH-2^d), 5.58 (s, 1 H, ArCH<), 5.35 (d, 1 H, J_{gem} = 11.0 Hz, PhCH₂), 5.19 (d, 1 H, J_{gem} = 11.0 Hz, PhCH₂), 5.00 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 3.5 Hz, H-1^c), 4.97–4.79 (m, 12 H, H-1^a, H-1^d, H-3^d, 7 PhCH₂, 2 C(=O)OCH₂CCl₃), 4.75 (d, 1 H, J_{gem} = 12.5 Hz, PhCH₂), 4.66 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 7.5 Hz, H-1^b), 4.64 (d, 1 H, J_{gem} = 12.0 Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.61 (d, 1 H, J_{gem} = 12.5 Hz, PhCH₂), 4.59 (d, 1 H, PhCH₂), 4.52–4.48 (m, 2 H, H-5^c, PhCH₂), 4.42–4.31 (m, 12 H, H-4^b, H-3^c, H-4^c, H-2^d, H-4^d, H-6a^d, 5 PhCH₂, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.08–4.02 (m, 3 H, H-4^a, H-6a^b, H-6b^d), 3.99 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 10.0 Hz, H-2^c), 3.88 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 4.5 Hz, J_{gem} = 11.0 Hz, H-6a^a), 3.84 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ = 1.5 Hz, H-6b^a), 3.81–3.67 (m, 7 H, H-3^a, H-5^a, H-2^b, H-6b^b, OMe), 3.60–3.51 (m, 4 H, H-2^a, H-3^b, H-5^b, H-6a^c), 3.28 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 8.3 Hz, H-6b^c), 3.04 (s, 1 H, H-5^d), 1.22 (s, 9 H, ^tBu); ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ 156.1, 155.1, 154.3, 152.6, 152.4, 141.0, 140.6, 140.2, 140.0, 140.0, 140.0, 139.7, 139.6, 139.3, 136.5, 130.3, 129.8, 129.4, 129.2, 129.0, 129.0, 129.0, 129.0, 128.9, 128.8, 128.7, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.3, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.8, 127.1, 126.1, 125.5, 118.8, 115.3, 103.5, 103.2,

102.9, 101.5, 96.7, 95.6, 82.5, 82.1, 81.3, 80.4, 78.8, 77.4, 77.3, 76.6, 76.5, 76.1, 76.0, 75.7, 75.7, 75.4, 75.0, 74.8, 74.6, 74.3, 73.6, 73.5, 73.4, 73.0, 72.6, 70.0, 69.7, 69.5, 69.3, 68.9, 66.3, 55.8, 53.4, 35.0, 31.5; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 2096.5935, $C_{111}H_{117}Cl_6NO_{25}$ calcd for $[M+Na]^+$ 2096.5938.



Compound 1-7

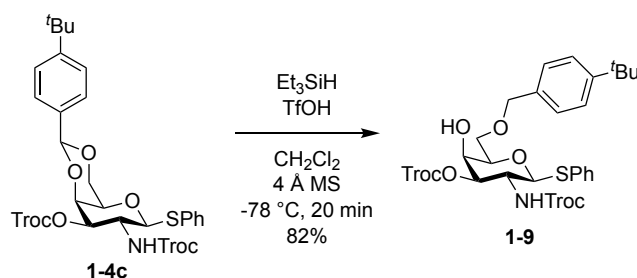
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-4c** (20.0 mg, 26.1 μ mol) を AcOH/H₂O = 4/1 (0.60 mL) に溶かし、60 °C にて 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 2/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/acetone = 4/1 \rightarrow 1/1) で精製し、**1-7** (15.9 mg, 98%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_D^{+3.3}$ (c 1.6, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ 7.56–7.25 (m, 5 H, Ar), 7.14 (d, 1 H, $J_{2,NH}$ = 9.5 Hz, NH-2), 5.11 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 10.5 Hz, H-1), 5.03 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ = 2.9 Hz, $J_{2,3}$ = 10.5 Hz, H-3), 4.92 (d, 1 H, J_{gem} = 12.0 Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.87 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.83 (d, 1 H, J_{gem} = 12.0 Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.79 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.65 (d, 1 H, $J_{4,OH}$ = 5.2 Hz, OH-4), 4.35 (dd, 1 H, H-4), 4.23 (q, 1 H, H-2), 4.00 (t, 1 H, $J_{6,OH}$ = 6.0 Hz, OH-6), 3.83–3.80 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 3.74 (t, 1 H, $J_{5,6a}$ = $J_{5,6b}$ = 6.0 Hz, H-5); ¹³C NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ 155.2, 154.2, 135.6, 131.7, 129.7, 127.9, 97.0, 95.6, 87.9, 80.4, 79.7, 77.5, 74.8, 66.7, 62.0, 51.8; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 641.8855, $C_{18}H_{19}Cl_6NO_8S$ calcd for $[M+Na]^+$ 641.8855.



Compound 1-8

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-4c** (46.1 mg, 60.2 μ mol) を CH₂Cl₂ (0.60 mL) に溶かし、活性化し

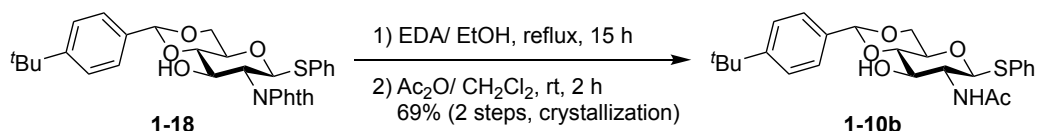
たモレキュラーシーブス 4Å (46.1 mg) を加え、室温で 30 分間攪拌した。その後、 -78°C に冷却し、triethylsilane (21.0 μL , 132 μmol)、dichlorophenylborane (17.5 μL , 132 μmol) を加え、15 分間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 1/1) で確認後、トリエチルアミン、メタノールを加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 1/1) で精製し、**1-8** (45.9 mg, 99%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +2.6^{\circ}$ (c 1.1, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ 7.53–7.23 (m, 9 H, 2 Ar), 7.17 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 9.5$ Hz, NH-2), 5.18 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-3), 5.11 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1), 5.02 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CCl}_3$), 4.89 (d, 1 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CCl}_3$), 4.84 (d, 1 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CCl}_3$), 4.79–4.77 (m, 2 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CCl}_3$, Ar CH_2), 4.66 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 10.5$ Hz, Ar CH_2), 4.28 (d, 1 H, H-4), 4.21 (q, 1 H, H-2), 4.00 (dd, 1 H, OH-6), 3.83–3.75 (m, 3 H, H-5, H-6a, H-6b), 1.33 (s, 9 H, ^tBu); ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ 155.2, 154.3, 151.2, 136.4, 135.1, 131.9, 129.7, 128.6, 127.9, 126.0, 97.0, 95.7, 87.5, 80.4, 79.6, 77.4, 75.7, 74.8, 74.2, 61.2, 61.1, 52.2, 35.1, 31.7; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 787.9951, $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{Cl}_6\text{NO}_8\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 787.9950.



Compound 1-9

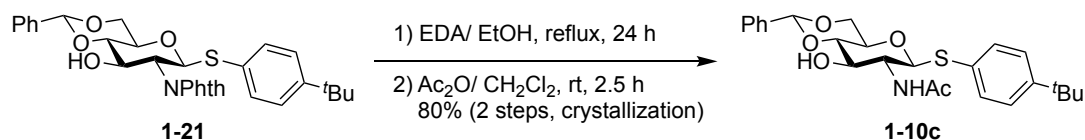
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-4c** (47.8 mg, 62.4 μmol) を CH_2Cl_2 (0.60 mL) に溶かし、活性化したモレキュラーシーブス 4Å (53.6 mg) を加え、室温で 30 分間攪拌した。その後、 -78°C に冷却し、triethylsilane (29.8 μL , 187 μmol)、trifluoromethanesulfonic acid (16.5 μL , 187 μmol) を加え、20 分間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/ CHCl_3 /EtOAc = 5/1/1) で精製し、**1-9** (39.1 mg, 82%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +6.2^{\circ}$ (c 0.7, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ 7.55–7.24 (m, 9 H, 2 Ar), 7.16 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 9.5$ Hz, NH-2), 5.13 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-1), 5.05 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-3), 4.92

(d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.5$ Hz, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CCl}_3$), 4.86 (d, 1 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CCl}_3$), 4.83 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.3$ Hz, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CCl}_3$), 4.79 (d, 1 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CCl}_3$), 4.69 (d, 1 H, $J_{4,\text{OH}} = 5.5$ Hz, OH-4), 4.56–4.51 (m, 1 H, 2 ArCH₂), 4.31 (dd, 1 H, H-4), 4.24 (q, 1 H, H-2), 3.94 (near t, 1 H, H-5), 3.79 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.0$ Hz, H-6a), 3.75 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.5$ Hz, H-6b), 1.32 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ 155.3, 154.2, 151.0, 136.6, 135.6, 131.7, 129.8, 128.3, 127.9, 125.9, 97.0, 95.6, 87.9, 80.2, 78.2, 77.5, 74.8, 73.6, 70.2, 66.9, 51.8, 35.0, 31.7; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 787.9948, C₂₉H₃₃Cl₆NO₈S calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 787.9950.



Compound 1-10b

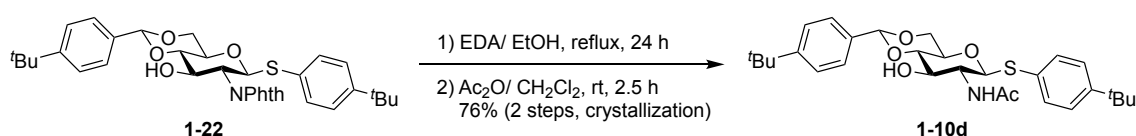
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-18** (600 mg, 1.10 mmol) を EtOH (11.0 mL) に溶かし、ethylenediamine (1.24 mL, 22.0 mmol) を加え、還流条件下にて 15 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 3/2) で確認後、2 M 塩酸を加え反応溶液を中和した (pH < 8)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。得られた固体を CH₂Cl₂ (11.0 mL) に溶解し、acetic anhydride (156 μ L, 1.65 mmol) を加え、室温にて 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、溶媒留去を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**1-10b** (349 mg, 69%) を白色結晶として得た。M.p. 201–205 °C; $[\alpha]_{\text{D}} -38.7^\circ$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.52–7.32 (m, 9 H, 2 Ar), 5.70 (d, $J_{2,\text{NH}} = 6.5$ Hz, NH-2), 5.53 (s, 1 H, ArCH<), 5.03 (d, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-1), 4.36 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.8$ Hz, H-6a), 4.11 (td, 1 H, $J_{3,\text{OH}} = 2.3$ Hz, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3), 3.78 (t, 1 H, $J_{5,6b} = 10.0$ Hz, H-6b), 3.61–3.50 (m, 4 H, H-2, H-4, H-5, OH-3), 2.09 (s, 3 H, Ac), 1.29 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.5, 152.4, 134.1, 132.7, 131.8, 129.1, 128.3, 126.0, 125.3, 101.9, 86.0, 81.4, 72.8, 70.4, 68.5, 56.6, 34.6, 31.3, 23.6; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 480.1815, C₂₅H₃₁NO₅S calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 480.1815.



Compound 1-10c

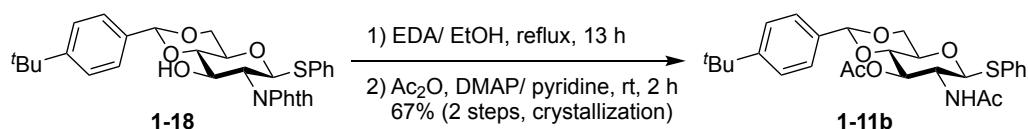
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-21** (200 mg, 0.367 mmol) を EtOH (3.70 mL) に溶かし、

ethylenediamine (0.50 mL, 7.33 mmol) を加え、還流条件下にて 24 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 1/1) で確認後、2 M 塩酸を加え反応溶液を中和した (pH < 8)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。得られた固体を CH₂Cl₂ (3.70 mL) に溶解し、acetic anhydride (52.1 μ L, 0.550 mmol) を加え、室温にて 2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、溶媒留去を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/EtOH) で精製し、**1-10c** (134 mg, 80%) を白色結晶として得た。M.p. 242–248 °C; [α]_D –47.0° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.48–7.33 (m, 9 H, 2 Ar), 5.84 (d, 1 H, $J_{2,NH}$ = 7.0 Hz, NH-2), 5.52 (s, 1 H, PhCH<), 4.91 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 10.5 Hz, H-1), 4.36 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 4.3 Hz, J_{gem} = 10.5 Hz, H-6a), 4.07–4.04 (m, 2 H, H-3, OH-3), 3.77 (m, 1 H, H-6b), 3.60–3.50 (m, 3 H, H-2, H-4, H-5), 2.06 (s, 3 H, Ac), 1.32 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.7, 151.8, 137.0, 132.8, 129.3, 128.3, 127.9, 126.3, 126.2, 101.9, 86.1, 81.4, 72.8, 70.4, 68.5, 56.7, 34.7, 31.2, 23.6; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 480.1815, C₂₅H₃₁NO₅S calcd for [M+Na]⁺ 480.1815.



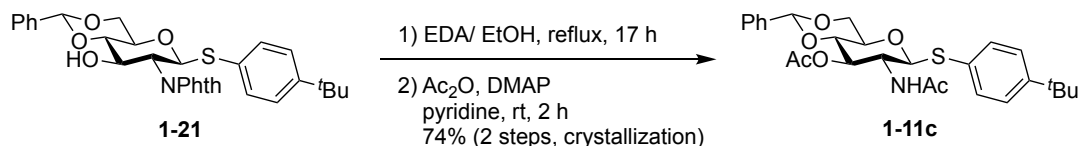
Compound 1-10d

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-22** (200 mg, 0.332 mmol) を EtOH (3.30 mL) に溶かし、ethylenediamine (0.45 mL, 6.65 mmol) を加え、還流条件下にて 24 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 1/1) で確認後、2 M 塩酸を加え反応溶液を中和した (pH < 8)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。得られた固体を CH₂Cl₂ (3.70 mL) に溶解し、acetic anhydride (47.3 μ L, 0.499 mmol) を加え、室温にて 2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、溶媒留去を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/EtOH) で精製し、**1-10d** (130 mg, 76%) を白色結晶として得た。M.p. 236–240 °C; [α]_D –40.8° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.42–7.34 (m, 8 H, 2 Ar), 5.75 (d, 1 H, $J_{2,NH}$ = 7.0 Hz, NH-2), 5.52 (s, 1 H, ArCH<), 4.97 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 10.5 Hz, H-1), 4.37 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 4.3 Hz, J_{gem} = 10.3 Hz, H-6a), 4.11 (dt, 1 H, $J_{3,OH}$ = 2.8 Hz, $J_{2,3} = J_{3,4}$ = 9.0 Hz, H-3), 3.78 (t, 1 H, $J_{5,6b}$ = 10.0 Hz, H-6b), 3.71 (d, 1 H, OH-3), 3.58–3.50 (m, 3 H, H-2, H-4, H-5), 2.09 (s, 3 H, Ac), 1.32 (s, 9 H, ^tBu), 1.29 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.5, 152.3, 151.8, 134.1, 132.8, 127.9, 126.2, 126.0, 125.3, 102.0, 86.1, 81.4, 72.9, 70.4, 68.5, 56.8, 34.7, 31.3, 31.2, 23.6; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 536.2442, C₂₉H₃₉NO₅S calcd for [M+Na]⁺ 536.2441.



Compound 1-11b

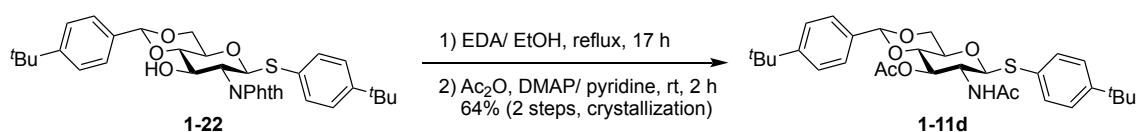
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-18** (300 mg, 0.550 mmol) を EtOH (5.50 mL) に溶かし、ethylenediamine (0.743 mL, 11.0 mmol) を加え、還流条件下にて 13 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 3/2) で確認後、2 M 塩酸を加え反応溶液を中和した (pH < 8)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。得られた固体を pyridine (5.50 mL) に溶解し、acetic anhydride (156 μ L, 1.65 mmol)、4-dimethylaminopyridine (6.7 mg, 55.0 μ mol) を 0 $^{\circ}$ C にて加え、室温にて 2 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 1/1) で確認後、トルエン共沸を行なった。残渣を結晶化 (EtOH) で精製し、**1-11b** (184 mg, 67%) を白色結晶として得た。M.p. 243–246 $^{\circ}$ C; $[\alpha]_D -59.5^{\circ}$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.48–7.22 (m, 9 H, 2 Ar), 5.54 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.5$ Hz, NH-2), 5.50 (s, 1 H, ArCH<), 5.21 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 4.80 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-1), 4.35 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4.8$ Hz, $J_{gem} = 10.5$ Hz, H-6a), 4.18 (near q, 1 H, H-2), 3.80 (t, 1 H, $J_{5,6b} = 10.8$ Hz, H-6b), 3.71 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.55 (m, 1 H, H-5), 2.06 (s, 3 H, Ac), 2.00 (s, 3 H, Ac), 1.30 (s, 9 H, 'Bu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.3, 170.0, 152.2, 134.0, 132.7, 132.2, 129.0, 128.0, 125.8, 125.2, 101.5, 88.0, 78.2, 73.1, 70.8, 68.5, 53.5, 34.6, 31.3, 23.3, 20.9; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 522.1921, C₂₇H₃₃NO₆S calcd for $[M+Na]^+$ 522.1921.



Compound 1-11c

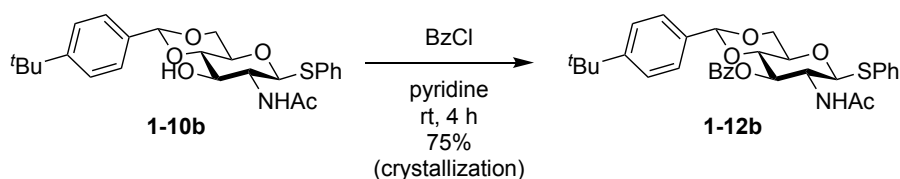
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-21** (298 mg, 0.546 mmol) を EtOH (5.50 mL) に溶かし、ethylenediamine (0.736 mL, 10.9 mmol) を加え、還流条件下にて 17 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 3/2) で確認後、2 M 塩酸を加え反応溶液を中和した (pH < 8)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。得られた固体を pyridine (5.50 mL) に溶解し、acetic anhydride (155 μ L, 1.64 mmol)、4-dimethylaminopyridine (6.7 mg, 54.6 μ mol) を加え、室温にて 2 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 1/1) で確認後、トルエン共沸を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/CHCl₃) で精製し、**1-11c** (201

mg, 74%) を白色結晶として得た。M.p. 282–285 °C; $[\alpha]_D -35.3^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.43–7.32 (m, 9 H, 2 Ar), 5.75 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 10.0$ Hz, NH-2), 5.50 (s, 1 H, $\text{PhCH}<$), 5.22 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 4.76 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-1), 4.34 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.5$ Hz, H-6a), 4.20 (near q, 1 H, H-2), 3.80 (t, 1 H, $J_{5,6b} = 10.3$ Hz, H-6b), 3.72 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.54 (m, 1 H, H-5), 2.07 (s, 3 H, Ac), 2.00 (s, 3 H, Ac), 1.31 (s, 9 H, ^tBu); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171.4, 170.1, 151.3, 136.9, 132.2, 129.2, 128.2, 126.2, 126.1, 101.4, 88.3, 78.3, 73.1, 70.8, 68.5, 53.6, 34.6, 31.2, 23.4, 20.9; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+ 522.1921$, $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{NO}_6\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+ 522.1921$.



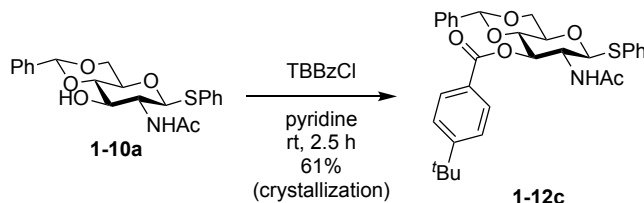
Compound 1-11d

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-22** (323 mg, 0.537 mmol) を EtOH (5.40 mL) に溶かし、ethylenediamine (0.723 mL, 10.7 mmol) を加え、還流条件下にて 17 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 3/2) で確認後、2 M 塩酸を加え反応溶液を中和した ($\text{pH} < 8$)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水の順で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。得られた固体を pyridine (5.40 mL) に溶解し、acetic anhydride (152 μL , 1.61 mmol)、4-dimethylaminopyridine (6.6 mg, 53.7 μmol) を加え、室温にて 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 1/1) で確認後、トルエン共沸を行なった。残渣を結晶化 (n -hexane/EtOAc) で精製し、**1-11d** (192 mg, 64%) を白色結晶として得た。M.p. 223–226 °C; $[\alpha]_D -33.7^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.41–7.32 (m, 8 H, 2 Ar), 5.70 (d, 1 H, $J_{\text{NH},2} = 10.0$ Hz, NH-2), 5.49 (s, 1 H, $\text{ArCH}<$), 5.21 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 4.75 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-1), 4.33 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.4$ Hz, H-6a), 4.19 (q, 1 H, H-2), 3.80 (t, 1 H, $J_{5,6b} = 10.3$ Hz, H-6b), 3.71 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.54 (m, 1 H, H-5), 2.06 (s, 3 H, Ac), 2.00 (s, 3 H, Ac), 1.31 (s, 9 H, ^tBu), 1.29 (s, 9 H, ^tBu); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171.3, 170.0, 152.2, 151.3, 134.0, 132.2, 129.2, 126.0, 125.9, 125.2, 101.5, 88.3, 78.2, 73.1, 70.8, 68.5, 53.6, 34.6, 34.6, 31.3, 31.2, 23.4, 20.9; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+ 578.2547$, $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{NO}_6\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+ 578.2547$.



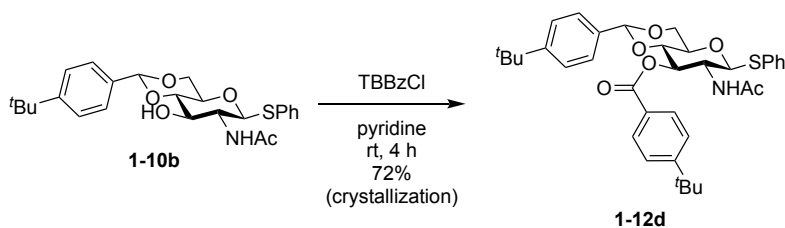
Compound 1-12b

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-10b** (167 mg, 0.365 mmol) を pyridine (3.70 mL) に溶かし、benzoyl chloride (63.5 μL , 0.547 mmol) を加え、室温で 4 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$) で確認後、トルエン共沸を行なった。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 ($\text{CHCl}_3/\text{EtOAc} = 30/1$) 及び結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**1-12b** (153 mg, 75%) を白色結晶として得た。M.p. 232–236°C; $[\alpha]_{\text{D}} -53.8^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.01–7.32 (m, 14 H, 3 Ar), 5.68 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 9.5$ Hz, NH-2), 5.53 (s, 1 H, ArCH<), 5.51 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 4.91 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-1), 4.40–4.33 (m, 2 H, H-2, H-6a), 3.91–3.83 (m, 2 H, H-4, H-6b), 3.64 (m, 1 H, H-5), 1.89 (s, 3 H, Ac), 1.26 (s, 9 H, ^tBu); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 170.0, 167.0, 152.1, 134.0, 133.5, 133.0, 132.1, 129.9, 129.2, 129.0, 128.5, 127.9, 125.8, 125.2, 101.5, 88.2, 78.6, 73.6, 71.0, 68.5, 53.7, 34.6, 31.2, 23.3; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 584.2078, $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{NO}_6\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 584.2077.



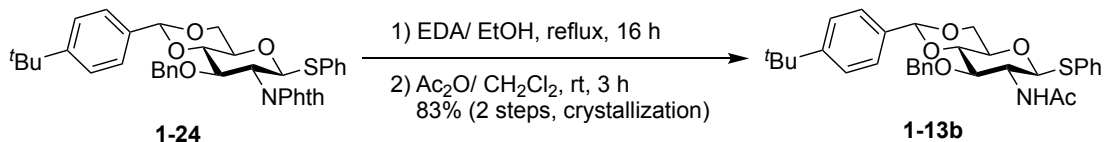
Compound 1-12c

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-10a** (210 mg, 0.523 mmol) を pyridine (5.20 mL) に溶かし、*p*-tert-butylbenzoyl chloride (142 μL , 0.785 mmol) を加え、室温で 2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$) で確認後、トルエン共沸を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/ CHCl_3) で精製し、**1-12c** (179 mg, 61%) を白色結晶として得た。M.p. 243–247 °C; $[\alpha]_{\text{D}} -32.2^\circ$ (c 0.6, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.94–7.24 (m, 14 H, 3 Ar), 5.91 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 9.5$ Hz, NH-2), 5.56–5.53 (m, 2 H, H-3, PhCH<), 4.91 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-1), 4.39 (near q, 1 H, H-2), 4.32 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.4$ Hz, H-6a), 3.88 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.83 (t, 1 H, $J_{5,6b} = 10.3$ Hz, H-6b), 3.64 (m, 1 H, H-5), 1.89 (s, 3 H, Ac), 1.32 (s, 9 H, ^tBu); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 170.1, 167.0, 157.3, 136.8, 133.1, 132.0, 129.8, 129.0, 128.2, 127.9, 126.4, 126.1, 125.5, 101.4, 88.3, 78.6, 73.3, 70.9, 68.5, 53.7, 35.1, 31.1, 23.3; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 584.2079, $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{NO}_6\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 584.2077.



Compound 1-12d

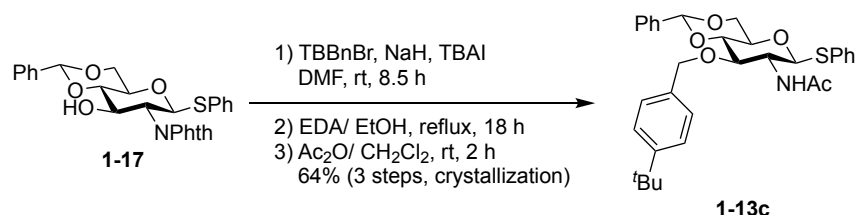
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-10b** (186 mg, 0.406 mmol) を pyridine (4.10 mL) に溶かし、*p*-tert-butylbenzoyl chloride (110 μL , 0.610 mmol) を加え、室温で 4 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$) で確認後、トルエン共沸を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\text{CHCl}_3/\text{EtOAc} = 30/1$) 及び結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**1-12d** (181 mg, 72%) を白色結晶として得た。M.p. 187–193 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}} -62.7^{\circ}$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.94–7.28 (m, 13 H, 3 Ar), 5.69 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 9.5$ Hz, NH-2), 5.53 (s, 1 H, ArCH<), 5.49 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 4.90 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-1), 4.39–4.32 (m, 2 H, H-2, H-6a), 3.88 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.85 (t, 1 H, $J_{5,6b} = J_{\text{gem}} = 10.3$ Hz, H-6b), 3.64 (m, 1 H, H-5), 1.89 (s, 3 H, Ac), 1.32 (s, 9 H, ^tBu), 1.26 (s, 9 H, ^tBu); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 170.0, 167.0, 157.2, 152.0, 134.0, 133.2, 132.0, 129.8, 129.0, 127.8, 126.4, 125.8, 125.5, 125.1, 101.5, 88.3, 78.6, 73.4, 71.0, 68.5, 53.7, 35.1, 34.6, 31.2, 31.1, 23.3; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 640.2703, $\text{C}_{36}\text{H}_{43}\text{NO}_6\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 640.2703.



Compound 1-13b

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-24** (310 mg, 0.488 mmol) を EtOH (4.90 mL) に溶かし、ethylenediamine (658 μL , 9.75 mmol) を加え、還流条件下にて 16 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 4/1) で確認後、2 M 塩酸を加え反応溶液を中和した ($\text{pH} < 8$)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。得られた固体を CH_2Cl_2 (4.90 mL) に溶解し、acetic anhydride (69.2 μL , 0.731 mmol) を加え、室温にて 3 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 4/1) で確認後、溶媒留去を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**1-13b** (222 mg, 83%) を白色結晶として得た。M.p. 240–245 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}} +11.8^{\circ}$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.47–7.27 (m, 14 H, 3 Ar), 5.57 (s, 1 H, ArCH<), 5.42 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 8.0$ Hz, NH-2), 5.26 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.5$ Hz, H-1), 4.90 (d, 1 H, J_{gem}

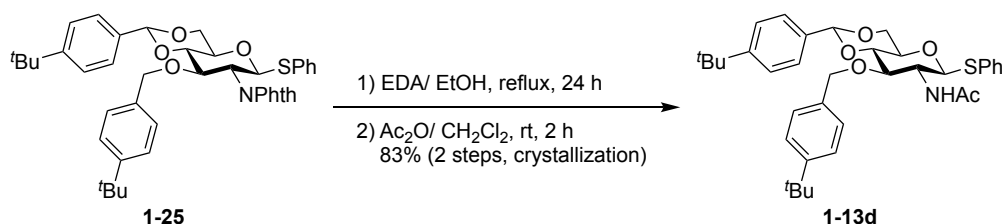
= 12.0 Hz, PhCH₂), 4.64 (d, 1 H, PhCH₂), 4.36 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{gem} = 10.4$ Hz, H-6a), 4.18 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.3$ Hz, H-3), 3.79 (t, 1 H, $J_{5,6b} = 10.3$ Hz, H-6b), 3.67 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4), 3.57 (m, 1 H, H-5), 3.43 (near q, 1 H, H-2), 1.91 (s, 3 H, Ac), 1.32 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.2, 152.0, 138.2, 134.4, 132.5, 132.5, 129.0, 128.5, 128.4, 127.9, 127.9, 125.7, 125.2, 101.2, 86.0, 82.5, 77.7, 74.6, 70.4, 68.7, 56.0, 34.7, 31.3, 23.6; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 570.2285, C₃₂H₃₇NO₅S calcd for [M+Na]⁺ 570.2285.



Compound 1-13c

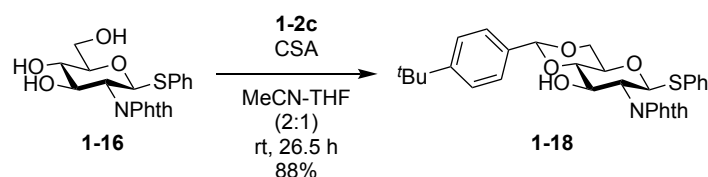
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-17** (300 mg, 0.613 mmol) を DMF (6.10 mL) に溶かし、*p*-tert-butylbenzyl bromide (338 μL, 1.84 mmol)、tetra-*n*-butylammonium iodide (22.6 mg, 61.3 μmol)、sodium hydride (44.2 mg, 1.84 mmol) を加え、0 °C にて 30 分間攪拌し、その後、室温にて 8.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 6/1) で精製し、一晚真空乾燥した。得られた固体を EtOH (6.10 mL) に溶かし、ethylenediamine (0.831 mL, 12.3 mmol) を加え、還流条件下にて 18 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 4/1) で確認後、2 M 塩酸を加え中和した (pH < 8)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。得られた固体を CH₂Cl₂ (6.10 mL) に溶かし、acetic anhydride (87.1 μL, 0.920 mmol) を加え、室温にて 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 4/1) で確認後、トルエン共沸を行なった。残渣を結晶化 (EtOH) で精製し、**1-13c** (194 mg, 64%) を白色結晶として得た。M.p. 290–293 °C; [α]_D +139.0° (c 0.3, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.51–7.22 (m, 14 H, 3 Ar), 5.59 (s, 1 H, PhCH<), 5.40 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 8.0$ Hz, NH-2), 5.29 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1), 4.86 and 4.59 (2 d, 2 H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, 2 ArCH₂), 4.38 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{gem} = 10.3$ Hz, H-6a), 4.20 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.80 (t, 1 H, $J_{5,6b} = 10.0$ Hz, H-6b), 3.66 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4), 3.59 (m, 1 H, H-5), 3.40 (near q, 1 H, H-2), 1.89 (s, 3 H, Ac), 1.30 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.2, 151.0, 137.3, 135.2, 132.5, 132.4, 129.0, 128.3, 128.3, 127.9, 126.0, 125.4, 101.2, 86.0, 82.6, 77.5, 74.5, 70.3, 68.7, 56.1, 34.6, 31.3, 30.3, 23.6; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 570.2285,

$C_{32}H_{37}NO_5S$ calcd for $[M+Na]^+$ 570.2284.



Compound 1-13d

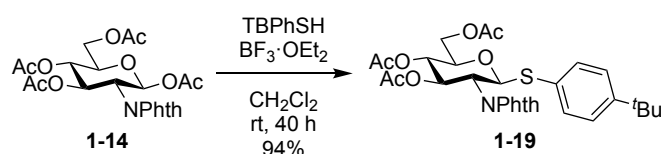
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-25** (244 mg, 0.353 mmol) を EtOH (3.50 mL) に溶かし、ethylenediamine (476 μ L, 7.05 mmol) を加え、還流条件下にて 24 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 4/1) で確認後、2 M 塩酸を加え反応溶液を中和した (pH < 8)。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晩真空乾燥した。得られた固体を CH₂Cl₂ (3.50 mL) に溶解し、acetic anhydride (50.1 μ L, 0.529 mmol) を加え、室温にて 2 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 4/1) で確認後、溶媒留去を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**1-13d** (176 mg, 83%) を白色結晶として得た。M.p. 231–235 °C; $[\alpha]_D +10.3^\circ$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.47–7.22 (m, 13 H, 3 Ar), 5.57 (s, 1 H, ArCH<), 5.40 (d, 1 H, $J_{2,NH}$ = 8.0 Hz, NH-2), 5.28 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 10.5 Hz, H-1), 4.87 (d, 1 H, J_{gem} = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.59 (d, 1 H, ArCH₂), 4.36 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 5.0 Hz, J_{gem} = 10.4 Hz, H-6a), 4.19 (t, 1 H, $J_{2,3}$ = $J_{3,4}$ = 9.3 Hz, H-3), 3.79 (t, 1 H, $J_{5,6b}$ = 10.3 Hz, H-6b), 3.65 (t, 1 H, $J_{4,5}$ = 9.3 Hz, H-4), 3.57 (m, 1 H, H-5), 3.40 (near q, 1 H, H-2), 1.89 (s, 3 H, Ac), 1.32 (s, 9 H, ^tBu), 1.30 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.2, 152.0, 150.9, 135.2, 134.5, 132.5, 132.4, 129.0, 128.3, 127.9, 125.7, 125.4, 125.2, 101.2, 86.0, 82.6, 77.5, 74.5, 70.4, 68.7, 56.0, 34.7, 34.6, 31.3, 31.3, 30.3, 23.6; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 626.2911, C₃₆H₄₅NO₅S calcd for $[M+Na]^+$ 626.2911.



Compound 1-18

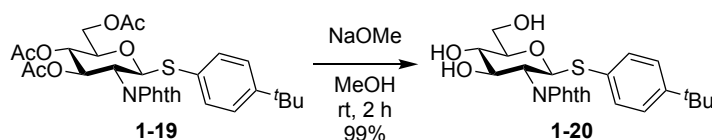
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-16** (4.34 g, 10.8 mmol) を MeCN/THF = 2/1 (108 mL) に溶かし、**1-2c** (4.50 g, 21.6 mmol)、(±)-10-camphorsulfonic acid (251 mg, 1.08 mmol) を加え、室温にて 26.5 時間撹拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 7/3) で確認後、トリエチルアミンを

加え反応を停止し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 3/1) で精製し、**1-18** (5.19 g, 88%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +31.2° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.91–7.26 (m, 13 H, 3 Ar), 5.70 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 10.5 Hz, H-1), 5.55 (s, 1 H, ArCH<), 4.64 (dt, 1 H, $J_{3,\text{OH}}$ = 3.3 Hz, $J_{2,3}$ = $J_{3,4}$ = 9.7 Hz, H-3), 4.39 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 5.0 Hz, J_{gem} = 10.0 Hz, H-6a), 4.34 (t, 1 H, H-2), 3.82 (t, 1 H, $J_{5,6b}$ = 10.0 Hz, H-6b), 3.71 (m, 1 H, H-5), 3.60 (t, 1 H, $J_{4,5}$ = 9.3 Hz, H-4), 2.49 (d, 1 H, OH-3), 1.30 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 168.2, 167.5, 152.5, 134.2, 134.0, 132.7, 131.7, 131.6, 129.0, 128.1, 126.0, 125.4, 123.9, 123.4, 102.1, 84.3, 81.9, 70.3, 69.8, 68.6, 55.4, 34.7, 31.3; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 568.1764, C₃₁H₃₁NO₆S calcd for [M+Na]⁺ 568.1764.



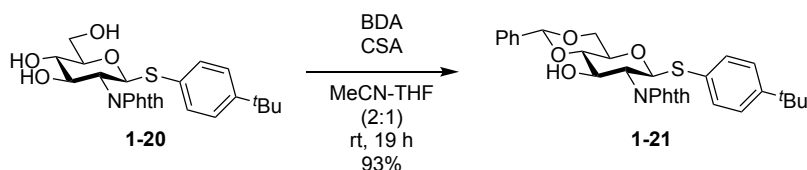
Compound 1-19

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-14** (10.0 g, 20.9 mmol) を CH₂Cl₂ (209 mL) に溶かし、*p*-tert-butylbenzenethiol (4.22 mL, 25.1 mmol)、boron trifluoride diethyl ether complex (3.94 mL, 31.4 mmol) を加え、室温で 40 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 3/2) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で精製し、**1-19** (11.4 g, 94%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +44.7° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.88–7.27 (m, 8 H, 2 Ar), 5.80 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ = 9.5 Hz, $J_{2,3}$ = 10.3 Hz, H-3), 5.67 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 10.5 Hz, H-1), 5.15 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ = 10.0 Hz, H-4), 4.36 (t, 1 H, H-2), 4.29 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 5.3 Hz, J_{gem} = 12.3 Hz, H-6a), 4.22 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ = 2.3 Hz, H-6b), 3.90 (m, 1 H, H-5), 2.10 (s, 3 H, Ac), 2.02 (s, 3 H, Ac), 1.85 (s, 3 H, Ac), 1.30 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.7, 170.1, 169.5, 167.8, 167.0, 151.8, 134.5, 134.3, 133.5, 131.6, 131.2, 127.2, 126.0, 123.7, 83.2, 75.8, 71.7, 68.7, 62.2, 53.7, 34.6, 31.2, 20.8, 20.6, 20.4; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 606.1768, C₃₀H₃₃NO₉S calcd for [M+Na]⁺ 606.1768.



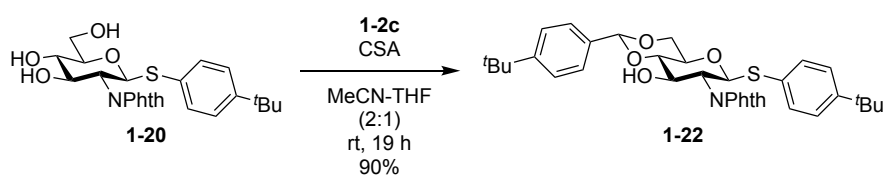
Compound 1-20

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-19** (11.4 g, 19.5 mmol) を MeOH (195 mL) に溶かし、28 wt% sodium methoxide (376 mg, 1.95 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 15/1) で確認後、Muromac (H⁺) を加えて反応溶液を中和し、樹脂の濾別、メタノールによる樹脂の洗浄、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 40/1) で精製し、**1-20** (8.83 g, 99%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +77.8° (c 1.0, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.91–7.26 (m, 8 H, 2 Ar), 5.53 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 10.4 Hz, H-1), 4.23 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 8.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.2 Hz, H-3), 4.08 (t, 1 H, H-2), 3.93 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 2.0 Hz, *J*_{gem} = 12.0 Hz, H-6a), 3.75 (dd, 1 H, *J*_{5,6b} = 5.5 Hz, H-6b), 3.48–3.40 (m, 2 H, H-4, H-5), 1.27 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 169.8, 169.3, 152.2, 135.7, 135.6, 133.2, 133.1, 133.0, 130.8, 127.0, 124.5, 124.2, 85.7, 82.7, 73.9, 72.3, 62.9, 58.0, 35.4, 31.7; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 480.1451, C₂₄H₂₇NO₆S calcd for [M+Na]⁺ 480.1451.



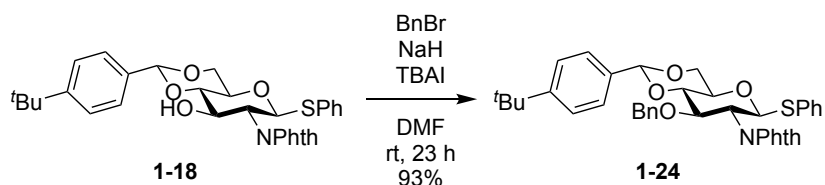
Compound 1-21

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-20** (4.38 g, 9.57 mmol) を MeCN/THF = 2/1 (96.0 mL) に溶かし、benzaldehyde dimethyl acetal (2.88 mL, 19.1 mmol)、(±)-10-camphorsulfonic acid (222 mg, 0.957 mmol) を加え、室温で 19 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 7/3) で確認後、トリエチルアミンを加え反応を停止し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 3/1) で精製し、**1-21** (4.87 g, 93%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +38.2° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.92–7.26 (m, 13 H, 3 Ar), 5.65 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 10.5 Hz, H-1), 5.57 (s, 1 H, PhCH<), 4.64 (m, 1 H, H-3), 4.41 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 4.8 Hz, *J*_{gem} = 10.3 Hz, H-6a), 4.34 (t, 1 H, *J*_{2,3} = 10.3 Hz, H-2), 3.83 (t, 1 H, *J*_{5,6b} = 10.3 Hz, H-6b), 3.71 (m, 1 H, H-5), 3.61 (t, 1 H, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 9.3 Hz, H-4), 2.51 (d, 1 H, *J*_{3,OH} = 3.5 Hz, OH-3), 1.29 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 168.2, 167.6, 151.5, 136.9, 132.8, 131.7, 129.4, 128.4, 128.1, 126.3, 126.0, 123.9, 123.4, 102.0, 84.5, 81.9, 70.2, 69.8, 69.7, 68.6, 55.6, 55.6, 34.6, 31.2; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 568.1764, C₃₁H₃₁NO₆S calcd for [M+Na]⁺ 568.1764.



Compound 1-22

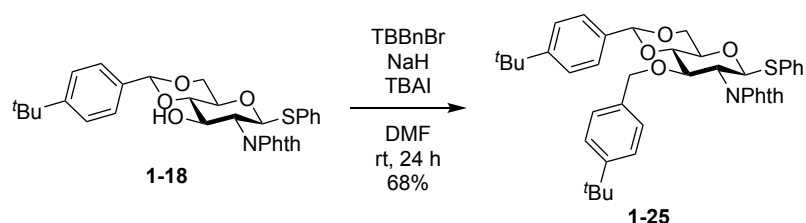
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-20** (4.45 g, 9.73 mmol) を MeCN/THF = 2/1 (97.0 mL) に溶かし、**1-2c** (4.06 g, 19.5 mmol)、(±)-10-camphorsulfonic acid (226 mg, 0.973 mmol) を加え、室温で 19 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 7/3) で確認後、トリエチルアミンを加え反応を停止し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc = 3/1) で精製し、**1-22** (5.28 g, 90%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +38.5° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.92–7.26 (m, 12 H, 3 Ar), 5.66 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 10.5 Hz, H-1), 5.55 (s, 1 H, ArCH<), 4.64 (dt, 1 H, $J_{3,\text{OH}}$ = 2.2 Hz, $J_{2,3}$ = $J_{3,4}$ = 9.5 Hz, H-3), 4.40 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 5.0 Hz, J_{gem} = 10.5 Hz, H-6a), 4.34 (t, 1 H, H-2), 3.82 (t, 1 H, $J_{5,6b}$ = 10.3 Hz, H-6b), 3.71 (m, 1 H, H-5), 3.61 (t, 1 H, H-4), 2.47 (d, 1 H, OH-3), 1.30 (s, 9 H, ^tBu), 1.29 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 168.2, 167.6, 152.5, 151.5, 134.2, 134.0, 132.8, 131.6, 128.1, 126.0, 126.0, 125.4, 123.9, 123.4, 102.0, 84.5, 81.9, 70.3, 69.8, 68.6, 55.6, 34.7, 34.6, 31.3, 31.2; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 624.2390, C₃₅H₃₉NO₆S calcd for [M+Na]⁺ 624.2390.



Compound 1-24

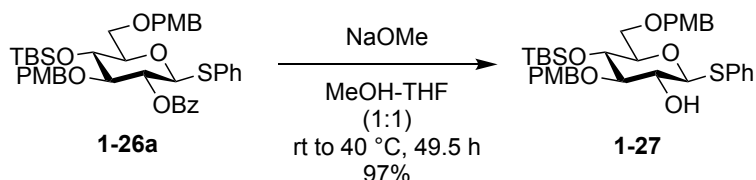
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-18** (301 mg, 0.552 mmol) を DMF (5.50 mL) に溶かし、benzyl bromide (191 μ L, 1.65 mmol)、tetra-*n*-butylammonium iodide (20.4 mg, 55.2 μ mol)、sodium hydride (39.6 mg, 1.65 mmol) を加え、0 °C にて 30 分間攪拌し、その後、室温にて 23 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 5/1) で精製し、**1-24** (326 mg, 93%) を白色固体として得た。[α]_D +95.2° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.87–6.85 (m, 18 H, 4 Ar), 5.61 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 10.4 Hz, H-1), 5.61 (s, 1 H, ArCH<), 4.78 (d, 1 H, J_{gem} = 12.5 Hz, PhCH₂), 4.50 (d, 1 H, PhCH₂), 4.44–4.39 (m, 2 H, H-3, H-6a), 4.28 (t, 1 H, $J_{2,3}$ = 10.3 Hz, H-2), 3.84 (t, 1 H, $J_{3,4}$ = $J_{4,5}$ = 10.3 Hz, H-4), 3.79 (t, 1 H, $J_{5,6b}$

$=J_{\text{gem}} = 9.3 \text{ Hz}$, H-6b), 3.70 (m, 1 H, H-5), 1.32 (s, 9 H, $t\text{Bu}$); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 167.8, 167.2, 152.1, 137.8, 134.4, 134.0, 133.8, 132.8, 131.7, 131.6, 128.9, 128.2, 128.1, 128.0, 127.4, 125.7, 125.3, 123.5, 123.4, 101.3, 84.1, 82.8, 75.5, 74.2, 70.4, 68.7, 54.7, 34.7, 31.3; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 658.2230, $\text{C}_{38}\text{H}_{37}\text{NO}_6\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 658.2234.



Compound 1-25

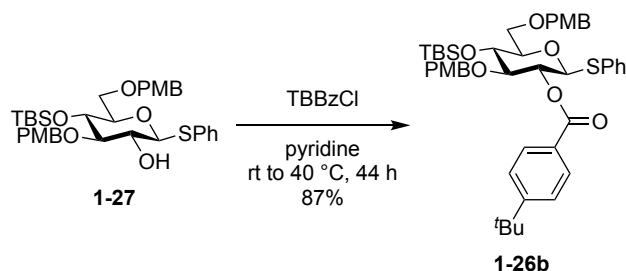
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-18** (301 mg, 0.552 mmol) を DMF (5.50 mL) に溶かし、*p*-tert-butylbenzyl bromide (303 μL , 1.65 mmol)、tetra-*n*-butylammonium iodide (20.4 mg, 55.2 μmol)、sodium hydride (39.6 mg, 1.65 mmol) を加え、0 °C にて 30 分間攪拌し、その後、室温にて 24 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 6/1) 及び結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**1-25** (261 mg, 68%) を白色結晶として得た。M.p. 190–194 °C; $[\alpha]_{\text{D}} +76.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.92–6.91 (m, 17 H, 4 Ar), 5.63 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.5 \text{ Hz}$, H-1), 5.60 (s, 1 H, ArCH<), 4.76 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.0 \text{ Hz}$, ArCH₂), 4.52 (d, 1 H, ArCH₂), 4.44 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.7 \text{ Hz}$, H-3), 4.40 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.3 \text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 10.6 \text{ Hz}$, H-6a), 4.32 (t, 1 H, H-2), 3.84 (t, 1 H, $J_{5,6b} = 10.3 \text{ Hz}$, H-6b), 3.80 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.3 \text{ Hz}$, H-4), 3.70 (m, 1 H, H-5), 1.32 (s, 9 H, $t\text{Bu}$), 1.19 (s, 9 H, $t\text{Bu}$); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 167.8, 167.3, 152.0, 150.4, 134.8, 134.4, 134.1, 134.0, 132.7, 131.7, 128.9, 128.1, 127.8, 125.7, 125.3, 125.0, 123.7, 123.3, 101.3, 84.1, 82.9, 75.2, 73.8, 70.4, 68.6, 54.8, 34.7, 34.3, 31.3, 31.3; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 714.2860, $\text{C}_{42}\text{H}_{45}\text{NO}_6\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 714.2860.



Compound 1-27

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-26a** (406 mg, 0.555 mmol) を MeOH/THF = 1/1 (5.60 mL) に溶か

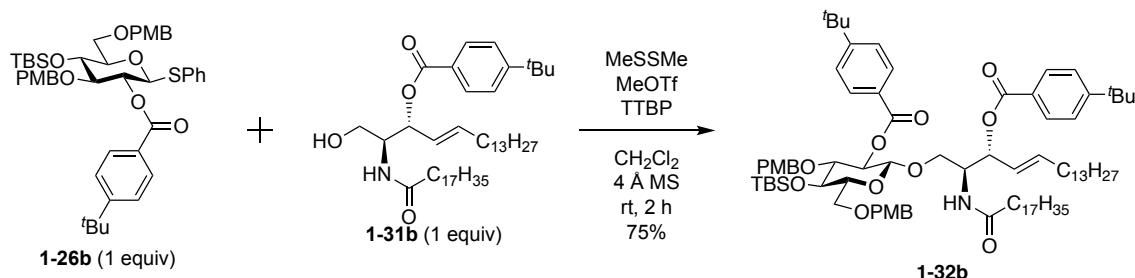
し、28 wt% sodium methoxide (53.5 mg, 0.278 mmol) を三回に分けて加え、室温で7時間、40 °C で42.5時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/toluene/EtOAc = 5/3/1) で確認後、Muromac (H⁺) を加え反応溶液を中和し、樹脂の濾別、メタノールによる樹脂の洗浄、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/toluene/EtOAc = 7/2/1 → 5/3/1) で精製し、**1-27** (336 mg, 97%) を無色シロップとして得た。[α]_D -12.5° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.56–6.84 (m, 13 H, 3 Ar), 4.82 (d, 1 H, *J*_{gem} = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.69 (d, 1 H, ArCH₂), 4.56 (d, 1 H, *J*_{gem} = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.53 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 9.5 Hz, H-1), 4.45 (d, 1 H, ArCH₂), 3.81 (s, 3 H, OMe), 3.79 (s, 3 H, OMe), 3.77 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 2.0 Hz, *J*_{gem} = 10.5 Hz, H-6a), 3.59–3.54 (m, 2 H, H-4, H-6b), 3.50–3.43 (m, 2 H, H-2, H-5), 3.36 (t, 1 H, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 8.3 Hz, H-3), 2.26 (d, 1 H, *J*_{2,OH} = 2.0 Hz, OH-2). 0.86 (s, 9 H, OSi(*t*Bu)Me₂), 0.04 (s, 3 H, OSi(*t*Bu)Me₂), 0.00 (s, 3 H, OSi(*t*Bu)Me₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 159.1, 159.1, 132.4, 132.3, 130.8, 130.6, 129.4, 129.1, 128.9, 127.8, 113.8, 113.7, 88.1, 86.0, 80.8, 74.6, 73.0, 72.9, 70.6, 69.2, 55.3, 55.2, 25.9, 18.0, -3.7, -4.8; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 649.2624, C₃₄H₄₆O₇SSi calcd for [M+Na]⁺ 649.2626.



Compound 1-26b

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-27** (322 mg, 0.514 mmol) を pyridine (5.10 mL) に溶かし、*p*-tert-butylbenzoyl chloride (187 μL, 1.03 mmol) を加え、室温で19時間、40 °C で25時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 3/1) で確認後、MeOH を加えて反応を停止した。反応溶液をトルエン共沸した後、残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を2M塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 10/1 → 8/1) で精製し、**1-26b** (352 mg, 87%) を白色固体として得た。[α]_D +58.3° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.93–6.64 (m, 17 H, 4 Ar), 5.28 (t, 1 H, *J*_{1,2} = *J*_{2,3} = 9.3 Hz, H-2), 4.83 (d, 1 H, H-1), 4.58–4.54 (m, 3 H, 3 ArCH₂), 4.46 (d, 1 H, *J*_{gem} = 11.5 Hz, ArCH₂), 3.81–3.79 (m, 4 H, H-6a, OMe), 3.70–3.64 (m, 5 H, H-3, H-4, OMe), 3.61–3.57 (m, 2 H, H-5, H-6b), 1.33 (s, 9 H, *t*Bu), 0.86 (s, 9 H, OSi(*t*Bu)Me₂), 0.00 (s, 3 H, OSi(*t*Bu)Me₂), -0.02 (s, 3 H, OSi(*t*Bu)Me₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 165.2, 159.1, 158.8, 156.8, 133.6, 131.9, 130.5,

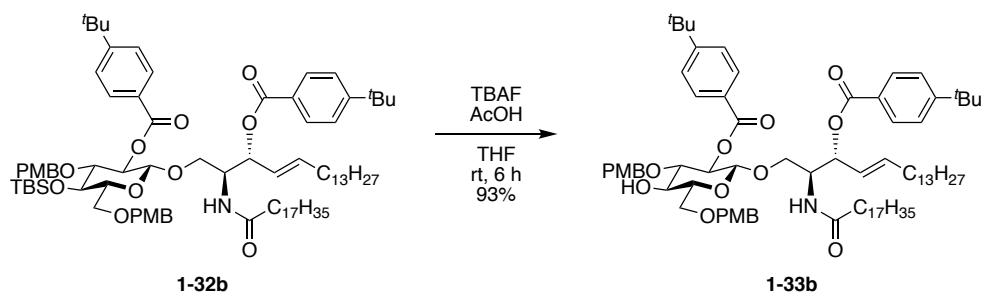
130.1, 129.7, 129.3, 129.2, 128.7, 127.4, 127.1, 125.3, 113.7, 113.4, 86.2, 84.5, 80.8, 74.8, 73.1, 72.7, 71.1, 69.3, 55.3, 55.1, 35.1, 31.1, 25.9, 18.0, -3.7, -4.7; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 809.3511, $C_{45}H_{58}O_8SSi$ calcd for $[M+Na]^+$ 809.3514.



Compound 1-32b

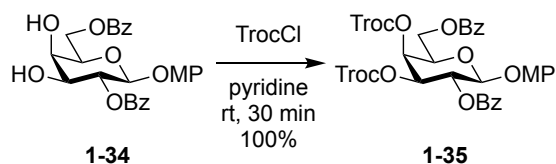
Ar 雰囲気下にて、供与体 **1-26b** (860 mg, 1.09 mmol) と受容体 **1-31b** (792 mg, 1.09 mmol) を CH_2Cl_2 (15.0 mL) に溶かし、活性化させたモレキュラーシーブス 4Å (3.27 g)、2,4,6-tri-*tert*-butylpyrimidine (1.08 g, 4.36 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。そこへ dimethyl disulfide (581 μ L, 6.54 mmol) と methyl trifluoromethanesulfonate (358 μ L, 3.27 mmol) を CH_2Cl_2 (5.00 mL) 中で 5 分間攪拌して調製した溶液を 0 °C にて反応溶液に加え、更に CH_2Cl_2 (1.80 mL) で洗い込みを行い、室温で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/toluene/EtOAc = 4/2/1) で確認後、0 °C に冷却し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (1st: *n*-hexane/toluene/EtOAc = 5/3/1, 2nd: toluene/EtOAc = 30/1 → 20/1) で精製し、**1-32b** (1.15 g, 75%) を無色シロップとして得た。 $[\alpha]_D^{+26.3^\circ}$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.96–6.65 (m, 16 H, 4 Ar), 5.84–5.79 (m, 2 H, H-5^{Cer}, NH-2^{Cer}), 5.52 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 7.3$ Hz, H-3^{Cer}), 5.44 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 15.0$ Hz, H-4^{Cer}), 5.22 (t, 1 H, $J_{1,2} = J_{2,3} = 8.3$ Hz, H-2^{Glc}), 4.59 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.56 (d, 1 H, ArCH₂), 4.50 (d, 1 H, H-1^{Glc}), 4.40–4.36 (m, 2 H, H-2^{Cer}, ArCH₂), 4.24 (d, 1 H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.12 (dd, 1 H, $J_{1a,2} = 3.3$ Hz, $J_{gem} = 9.8$ Hz, H-1a^{Cer}), 3.78 (s, 3 H, OMe), 3.70 (s, 3 H, OMe), 3.69–3.62 (m, 3 H, H-3^{Glc}, H-4^{Glc}, H-6a^{Glc}), 3.58 (dd, 1 H, $J_{1b,2} = 3.8$ Hz, H-1b^{Cer}), 3.49–3.43 (m, 2 H, H-5^{Glc}, H-6b^{Glc}), 1.98–1.94 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.72 (t, 2 H, $NHCOCH_2^{Cer}$), 1.39–1.10 (m, 70 H, 26 CH₂^{Cer}, 2 ^tBu), 0.89–0.86 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}), 0.82 (s, 9 H, $OSi(^tBu)Me_2$), -0.02 (s, 3 H, $OSi(^tBu)Me_2$), -0.03 (s, 3 H, $OSi(^tBu)Me_2$); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 172.7, 165.4, 165.2, 159.1, 158.8, 157.0, 156.4, 136.9, 130.3, 130.2, 129.6, 129.6, 129.2, 129.1, 127.7, 126.9, 125.4, 125.3, 125.0, 113.7, 113.4, 100.8, 82.8, 74.5, 74.4,

74.3, 73.1, 71.1, 69.0, 66.9, 55.2, 55.1, 50.5, 36.4, 35.1, 35.0, 32.3, 31.9, 31.1, 31.1, 29.7, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.3, 29.0, 25.9, 25.6, 22.7, 18.0, 14.1, -3.8, -4.8; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 1424.9646, $C_{86}H_{135}NO_{12}S$ calcd for $[M+Na]^+$ 1424.9646.



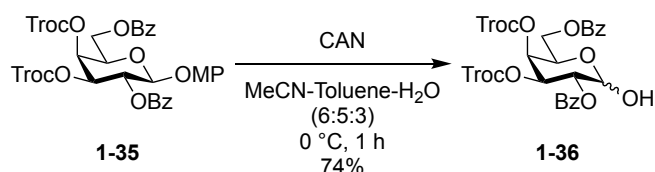
Compound 1-33b

Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-32b** (432 mg, 0.308 mmol) を THF (6.20 mL) に溶かし、acetic acid (21.1 μ L, 0.369 mmol)、1 M tetra-*n*-butylammonium fluoride in THF (0.92 mL, 0.924 mmol) を加え、室温で 6 時間撹拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 3/1 \rightarrow 1/1) で精製し、**1-33b** (369 mg, 93%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_D^{+9.8^\circ}$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.94–6.70 (m, 16 H, 4 Ar), 5.81 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} = 15.5$ Hz, H-5^{Cer}), 5.73 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.5$ Hz, NH-2^{Cer}), 5.49 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 7.3$ Hz, H-3^{Cer}), 5.42 (dd, 1 H, H-4^{Cer}), 5.17 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, $J_{2,3} = 9.3$ Hz, H-2^{Glc}), 4.67 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.60 (d, 1 H, ArCH₂), 4.45 (d, 1 H, H-1^{Glc}), 4.40–4.35 (m, 2 H, H-2^{Cer}, ArCH₂), 4.33 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.06 (dd, 1 H, $J_{1a,2} = 3.0$ Hz, $J_{gem} = 10.0$ Hz, H-1a^{Cer}), 3.79 (s, 3 H, OMe), 3.75–3.71 (m, 4 H, H-4^{Glc}, OMe), 3.65–3.61 (m, 2 H, H-3^{Glc}, H-6a^{Glc}), 3.60–3.54 (m, 2 H, H-1b^{Cer}, H-6b^{Glc}), 3.46 (near dt, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 4.8$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-5^{Glc}), 2.78 (d, 1 H, $J_{4,OH} = 2.0$ Hz, OH-4^{Glc}), 1.98–1.94 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.76–1.73 (m, 2 H, NHCOCH₂^{Cer}), 1.39–1.09 (m, 70 H, 26 CH₂^{Cer}, ^tBu), 0.89–0.86 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 172.7, 165.4, 165.1, 159.3, 159.2, 157.1, 156.5, 137.1, 130.2, 129.7, 129.6, 129.4, 127.7, 126.9, 125.5, 125.3, 125.0, 113.9, 113.8, 101.0, 81.4, 74.2, 74.1, 73.9, 73.6, 73.5, 72.5, 70.3, 67.2, 55.3, 55.2, 50.4, 36.5, 35.1, 35.1, 32.3, 31.9, 31.1, 31.1, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.3, 29.0, 25.6, 22.7, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 1310.8784, $C_{80}H_{121}NO_{12}$ calcd for $[M+Na]^+$ 1310.8781.



Compound 1-35

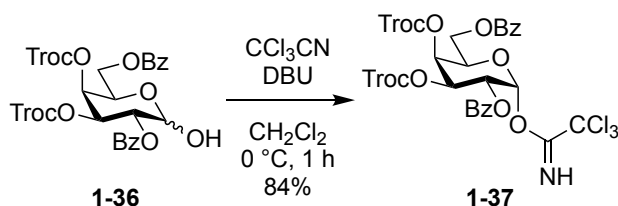
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-34** (60.0 mg, 0.121 mmol) を pyridine (1.20 mL) に溶かし、2,2,2-trichloroethyl chloroformate (50.1 μL , 0.364 mmol) を 0 °C にて加え、室温で 30 分間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、0 °C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止し、トルエン共沸を行なった。残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 3/1) で精製し、**1-35** (102 mg, 100%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +22.7° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.04–6.67 (m, 14 H, 3 Ar), 5.87 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz, $J_{2,3}$ = 10.1 Hz, H-2), 5.59 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.4 Hz, H-4), 5.30 (dd, 1 H, H-3), 5.11 (d, 1 H, H-1), 4.86 (d, 1 H, J_{gem} = 11.8 Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.81 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.74 (d, 1 H, J_{gem} = 11.8 Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.68 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 7.0 Hz, J_{gem} = 11.4 Hz, H-6a), 4.63 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.52 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ = 6.3 Hz, H-6b), 4.27 (near t, 1 H, H-5), 3.72 (s, 3 H, OMe); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 165.9, 164.8, 155.9, 154.1, 153.3, 150.9, 133.5, 129.9, 129.8, 129.2, 129.1, 128.6, 128.5, 119.1, 114.5, 101.2, 94.2, 93.8, 77.2, 77.1, 75.5, 71.9, 70.7, 69.2, 61.5, 55.6; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 864.9553, C₃₃H₂₈Cl₆O₁₃ calcd for [M+Na]⁺ 864.9553.



Compound 1-36

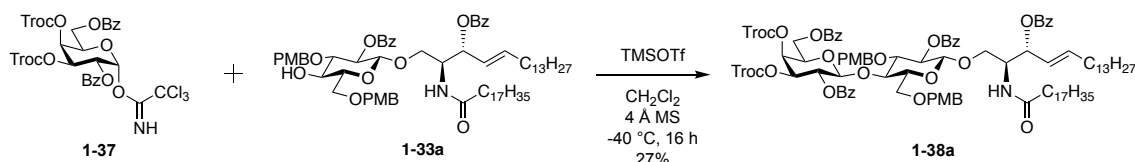
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-35** (91.8 mg, 0.109 mmol) を MeCN/toluene/H₂O = 6/5/3 (2.20 mL) に溶かし、cerium (IV) ammonium nitrate (598 mg, 1.09 mmol) を 0 °C にて加え、1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc = 3/1)、ゲル濾過クロマトグラフィー (LH-20, Eluent: CHCl₃/MeOH = 1/1) で精製し、**1-36** (59.9 mg, 74%, α : β = 1:0.9) を白色泡状粉末として得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.04–7.42 (m, 20 H, 2 Ph $\alpha\beta$), 5.80 (t, 1 H, $J_{1,2}$ = $J_{1,\text{OH}}$ = 3.6 Hz,

H-1 α), 5.67–5.64 (m, 2 H, H-3 α , H-4 α), 5.57 (near d, 1 H, H-4 β), 5.48–5.44 (m, 2 H, H-2 α , H-2 β), 5.32 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, $J_{3,4} = 10.5$ Hz, H-3 β), 4.90–4.76 (m, 7 H, H-1 β , 3 C(=O)OCH₂CCl₃ $\alpha\beta$), 4.72 (near t, 1 H, H-5 α), 4.66 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 6.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, H-6 $\alpha\beta$), 4.66–4.61 (m, 2 H, C(=O)CH₂CCl₃ $\alpha\beta$), 4.59 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 6.3$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.3$ Hz, H-6 $\alpha\alpha$), 4.46 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 7.3$ Hz, H-6 $\beta\beta$), 4.41 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 7.3$ Hz, H-6 $\beta\alpha$), 4.22 (near t, 1 H, H-5 β), 3.99 (d, 1 H, $J_{1,\text{OH}} = 9.5$ Hz, OH-1 β), 3.08 (near d, 1 H, OH-1 α); HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 758.9137, C₂₆H₂₂Cl₆O₁₂ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 758.9135.



Compound 1-37

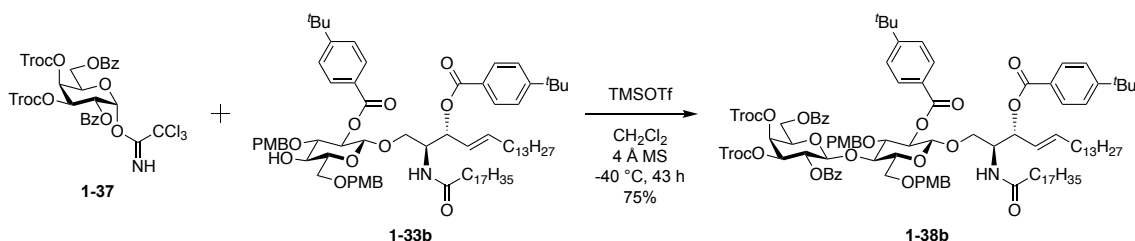
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-36** (50.2 mg, 67.9 μmol) を CH₂Cl₂ (1.40 mL) に溶かし、trichloroacetonitrile (136 μL , 1.36 mmol)、1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (2.0 μL , 13.6 μmol) を 0 °C にて加え、1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、反応溶液の溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc = 5/1) で精製し、**1-37** (50.6 mg, 84%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +63.7° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.62 (s, 1 H, C(=NH)CCl₃), 8.01–7.39 (m, 10 H, 2 Ph), 6.85 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8$ Hz, H-1), 5.76–5.73 (m, 2 H, H-2, H-4), 5.67 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-3), 4.85 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.81 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.78 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.70 (near t, 1 H, H-5), 4.67 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.60 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 6.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.3$ Hz, H-6 α), 4.46 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 7.0$ Hz, H-6 β); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 165.8, 165.2, 160.3, 154.1, 153.2, 133.7, 133.5, 129.9, 129.8, 129.2, 128.6, 128.5, 128.5, 94.1, 93.8, 93.3, 90.6, 77.2, 77.1, 72.4, 72.3, 68.8, 67.5, 61.5; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 901.8234, C₂₈H₂₂Cl₉NO₁₂ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 901.8231.



Compound 1-38a

Ar 雰囲気下にて、供与体 **1-37** (20.6 mg, 23.3 μmol) と受容体 **1-33a** (27.4 mg, 23.3 μmol) を CH₂Cl₂ (0.93 mL) に溶かし、活性化させたモレキュラーシーブス AW-300 (144 mg) を加え、

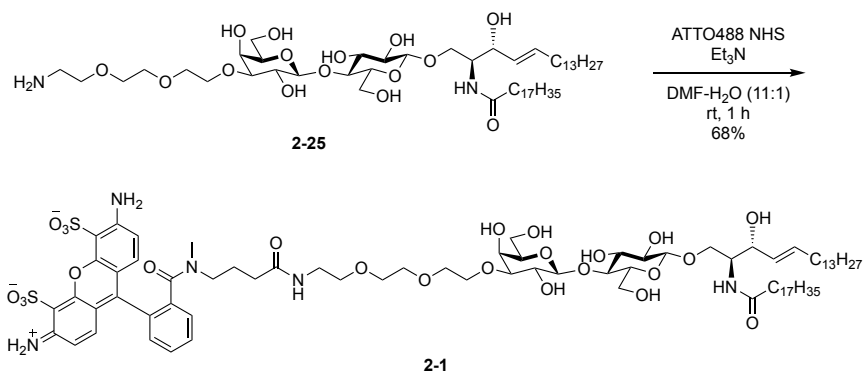
室温で1時間攪拌した後、 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却し、trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (0.84 μL , 4.66 μmol)を加え、さらに16時間攪拌した。反応終了をTLC ($n\text{-hexane/EtOAc} = 2/1$)で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止し、反応溶液をセライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 ($n\text{-hexane/EtOAc} = 4/1 \rightarrow 3/1 \rightarrow 1/1$)で精製し、**1-38a** (12.1 mg, 27%)を無色シロップとして得た。 $[\alpha]_{\text{D}} +1.1^{\circ}$ (c 0.9, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.00–6.65 (m, 28 H, 6 Ar), 5.78 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.8\text{ Hz}$, $J_{4,5} = 15.3\text{ Hz}$, H-5^{Cer}), 5.67 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 9.0\text{ Hz}$, NH-2^{Cer}), 5.59 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0\text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.5\text{ Hz}$, H-2^{Gal}), 5.48 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 7.3\text{ Hz}$, H-3^{Cer}), 5.44–5.39 (m, 2 H, H-4^{Gal}, H-4^{Cer}), 5.18 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0\text{ Hz}$, $J_{2,3} = 9.0\text{ Hz}$, H-2^{Glc}), 5.06 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.5\text{ Hz}$, H-3^{Gal}), 4.85–4.83 (m, 2 H, ArCH₂, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.79 (d, 1 H, H-1^{Gal}), 4.76 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5\text{ Hz}$, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.75 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5\text{ Hz}$, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.61 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 10.5\text{ Hz}$, ArCH₂), 4.56 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.55 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.0\text{ Hz}$, ArCH₂), 4.38–4.32 (m, 3 H, H-1^{Glc}, H-6a^{Gal}, H-2^{Cer}), 4.28 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 8.0\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 11.3\text{ Hz}$, H-6b^{Gal}), 4.14–4.08 (m, 2 H, H-4^{Glc}, ArCH₂), 4.02 (dd, 1 H, $J_{1a,2} = 3.0\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 9.8\text{ Hz}$, H-1a^{Cer}), 3.82 (near t, 1 H, H-5^{Gal}), 3.77–3.73 (m, 4 H, H-3^{Glc}, OMe), 3.68 (s, 3 H, OMe), 3.55 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 3.0\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 11.0\text{ Hz}$, H-6a^{Glc}), 3.48 (dd, 1 H, $J_{1b,2} = 4.0\text{ Hz}$, H-1b^{Cer}), 3.36 (br d, 1 H, H-6b^{Glc}), 3.23 (br dt, 1 H, $J_{4,5} = 9.3\text{ Hz}$, H-5^{Glc}), 1.98–1.93 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.75–1.71 (m, 2 H, NHCOCH₂^{Cer}), 1.40–1.07 (m, 52 H, 26 CH₂^{Cer}), 0.89–0.86 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 172.6, 165.7, 165.2, 165.1, 164.5, 159.5, 159.0, 154.1, 153.2, 137.2, 133.6, 133.4, 133.3, 132.8, 130.4, 130.1, 129.8, 129.7, 129.7, 129.6, 129.6, 129.3, 128.9, 128.6, 128.5, 128.5, 128.3, 124.8, 113.9, 113.5, 101.2, 100.2, 94.2, 93.8, 79.5, 77.0, 77.0, 76.6, 75.6, 74.9, 74.5, 74.5, 73.5, 73.2, 71.9, 70.2, 69.7, 67.4, 67.2, 60.8, 55.2, 55.1, 50.4, 36.4, 32.3, 31.9, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.0, 25.5, 22.7, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1916.6664, $\text{C}_{98}\text{H}_{125}\text{Cl}_6\text{NO}_{23}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1916.6666.



Compound 1-38b

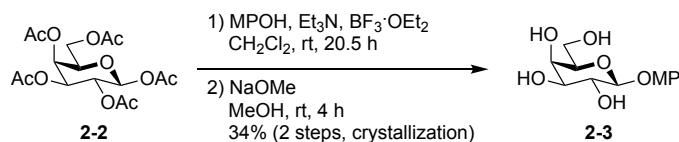
Ar 雰囲気下にて、供与体 **1-37** (20.6 mg, 23.3 μmol) と受容体 **1-33b** (30.0 mg, 23.3 μmol) を

CH₂Cl₂ (0.93 mL) に溶かし、活性化させたモレキュラーシーブス AW-300 (152 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、−40 °C に冷却し、trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (0.84 μL, 4.66 μmol) を加え、更に 43 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 5/2) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィ (*n*-hexane/EtOAc = 3/1 → 5/2 → 1/1) で精製し、**1-38b** (35.2 mg, 75%) を無色シロップとして得た。[α]_D +6.8° (c 1.2, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.00–6.67 (m, 26 H, 6 Ar), 5.78 (near quin, 1 H, *J*_{5,6a} = *J*_{5,6b} = 7.0 Hz, *J*_{4,5} = 15.0 Hz, H-5^{Cer}), 5.69 (d, 1 H, *J*_{2,NH} = 9.0 Hz, NH-2^{Cer}), 5.58 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, H-2^{Gal}), 5.47 (t, 1 H, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 7.3 Hz, H-3^{Cer}), 5.43–5.39 (m, 2 H, H-4^{Gal}, H-4^{Cer}), 5.18 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, *J*_{2,3} = 9.0 Hz, H-2^{Glc}), 5.05 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 3.5 Hz, H-3^{Gal}), 4.84 (d, 1 H, *J*_{gem} = 12.0 Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.83 (d, 1 H, *J*_{gem} = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.80 (d, 1 H, H-1^{Gal}), 4.76 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.74 (d, 1 H, *J*_{gem} = 12.0 Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.62 (d, 1 H, ArCH₂), 4.56 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.54 (d, 1 H, *J*_{gem} = 11.3 Hz, ArCH₂), 4.38–4.34 (m, 2 H, H-1^{Glc}, H-2^{Cer}), 4.31 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 6.3 Hz, *J*_{gem} = 11.3 Hz, H-6a^{Gal}), 4.27 (dd, 1 H, *J*_{5,6b} = 7.8 Hz, H-6b^{Gal}), 4.11 (t, 1 H, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 9.0 Hz, H-4^{Glc}), 4.09 (d, 1 H, ArCH₂), 4.01 (dd, 1 H, *J*_{1a,2} = 3.0 Hz, *J*_{gem} = 9.9 Hz, H-1a^{Cer}), 3.80 (near t, 1 H, H-5^{Gal}), 3.77–3.73 (m, 4 H, H-3^{Glc}, OMe), 3.69 (s, 3 H, OMe), 3.55 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 3.0 Hz, *J*_{gem} = 11.0 Hz, H-6a^{Glc}), 3.47 (dd, 1 H, *J*_{1b,2} = 3.8 Hz, H-1b^{Cer}), 3.36 (br d, 1 H, H-6b^{Glc}), 3.23 (br dt, 1 H, H-5^{Glc}), 1.98–1.93 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.79–1.69 (m, 2 H, NHCOCH₂^{Cer}), 1.46–1.09 (m, 70 H, 26 CH₂^{Cer}, 2 ^tBu), 0.89–0.86 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 165.7, 165.3, 165.1, 164.5, 159.5, 159.0, 157.0, 156.4, 154.1, 153.2, 137.0, 133.6, 133.4, 130.4, 130.2, 129.8, 129.6, 129.6, 129.5, 129.3, 129.0, 128.6, 128.5, 127.6, 126.9, 125.5, 125.3, 124.9, 113.9, 113.5, 101.2, 100.2, 94.2, 93.8, 79.6, 77.0, 77.0, 76.6, 75.6, 74.9, 74.5, 74.2, 73.4, 73.2, 71.9, 70.2, 69.7, 67.4, 67.3, 60.8, 55.2, 55.2, 50.4, 36.5, 35.1, 35.0, 32.3, 31.9, 31.1, 31.1, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.3, 29.0, 25.6, 22.7, 14.1; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 2028.7914, C₁₀₆H₁₄₁Cl₆NO₂₃ calcd for [M+Na]⁺ 2028.7918.



ATTO488-L-LacCer (**2-1**)

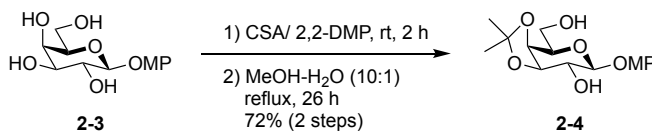
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-25** (3.5 mg, 3.43 μ mol) を DMF/H₂O = 11/1 (0.34 mL) に溶かし、ATTO488 *N*-succinimidyl ester (5.00 mg, 5.14 μ mol)、triethylamine (9.50 μ L, 68.5 μ mol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH/H₂O/AcOH = 5/4/0.1/0.1) で確認後、ゲル濾過クロマトフラフィー (LH20; CHCl₃/MeOH = 1/1) 及び PTLC (CHCl₃/MeOH/H₂O = 5/4/1) で精製し、**2-1** (3.7 mg, 68%) を紅紫色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD = 1/1) δ 7.78–6.92 (m, 8 H, Ar^{ATTO488}), 5.70 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.8$ Hz, $J_{4,5} = 15.1$ Hz, H-5^{Cer}), 5.45 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 7.3$ Hz, H-4^{Cer}), 4.46–3.24 (m, 32 H, H-1^{Gal}, H-2^{Gal}, H-3^{Gal}, H-4^{Gal}, H-5^{Gal}, H-6a^{Gal}, H-6b^{Gal}, H-1^{Glc}, H-2^{Glc}, H-3^{Glc}, H-4^{Glc}, H-5^{Glc}, H-6a^{Glc}, H-6b^{Glc}, H-1a^{Cer}, H-1b^{Cer}, H-2^{Cer}, H-3^{Cer}, 5 OCH₂, NHCH₂, NCH₂^{ATTO594}), 2.80 (s, 3 H, NMe^{ATTO594}), 2.19–2.16 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂^{Cer}), 2.04–2.00 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.59–1.19 (m, 56 H, 26 CH₂^{Cer}, NCH₂CH₂^{ATTO594}, NCH₂CH₂CH₂^{ATTO594}), 0.90–0.87 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (200 MHz, CDCl₃/CD₃OD = 1/1) δ 179.9, 175.4, 173.9, 172.7, 169.7, 157.5, 157.1, 157.0, 157.0, 137.2, 134.8, 132.6, 132.4, 131.1, 131.0, 130.6, 130.4, 130.2, 127.9, 120.0, 119.9, 114.4, 114.3, 113.4, 113.3, 104.5, 104.0, 82.0, 79.9, 76.1, 76.0, 75.5, 74.0, 72.5, 71.0, 70.4, 70.3, 70.1, 69.6, 68.6, 66.3, 63.9, 62.1, 61.5, 61.2, 58.0, 54.4, 52.9, 48.3, 46.9, 39.1, 37.6, 37.0, 33.0, 32.5, 32.2, 32.1, 31.3, 30.3, 30.3, 30.3, 30.2, 30.2, 30.1, 30.0, 30.0, 30.0, 29.9, 26.6, 24.1, 23.3, 23.2, 23.2, 23.1, 22.2, 21.0, 14.5, 14.3, 14.3; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na-H]⁺ 1612.7903, C₇₉H₁₂₄N₅O₂₄S₂⁺ calcd for [M+Na-H]⁺ 1612.7902.



Compound **2-3**

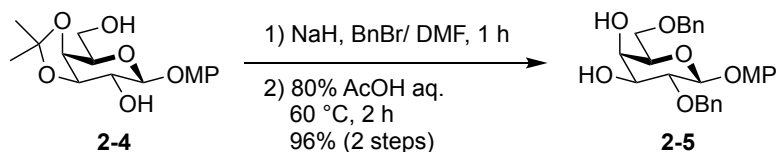
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-2** (500 mg, 1.28 mmol) を CH₂Cl₂ (3.20 mL) に溶かし、*p*-methoxyphenol (271 mg, 2.18 mmol)、triethylamine (89.4 μ L, 0.640 mmol)、boron trifluoride diethyl ether complex (244 μ L, 1.92 mmol) を 0 °C にて加え、室温で 20.5 時間攪拌した。反応の進行

を TLC (toluene/EtOAc = 2/1, developed twice) で確認後、*p*-methoxyphenol (111 mg, 1.83 mmol)、boron trifluoride diethyl ether complex (244 μ L, 1.92 mmol) を追加し、更に 47 時間攪拌した。反応終了を TLC で確認後、クラッシュアイスを加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を MeOH (6.40 mL) に溶かし、28 wt% sodium methoxide (29.7 mg, 0.154 mmol) を加え、室温にて 4 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 15/1) で確認後、Muromac (H⁺) を加えて反応溶液を中和し、樹脂の濾別、メタノールによる樹脂の洗浄、濾液の溶媒留去を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/EtOH) で精製し、**2-3** (125 mg, 34% in 2 steps) を白色結晶として得た。M.p. 159–165 °C; [α]_D +41.8° (c 1.0, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.07–6.81 (m, 4 H, Ar), 4.72 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 7.5 Hz, H-1), 3.88 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.4 Hz, H-4), 3.79–3.72 (m, 6 H, H-2, H-6a, H-6b, OMe), 3.63 (m, 1 H, H-5), 3.55 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 9.8 Hz, H-3); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 157.5, 154.2, 120.1, 116.3, 105.0, 77.7, 75.7, 73.2, 71.1, 63.3, 56.9; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 309.0941, C₁₃H₁₈O₇ calcd for [M+Na]⁺ 309.0945.



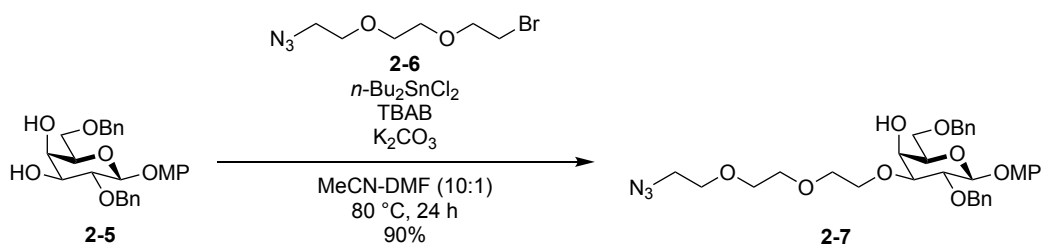
Compound 2-4

A 雰囲気下にて、化合物 **2-3** (305 mg, 1.07 mmol) を 2,2-DMP (11.0 mL) に溶かし、(±)-10-camphorsulfonic acid (12.4 mg, 53.3 μ mol) を 0 °C にて加え、室温で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 15/1) で確認後、0 °C に冷却し、トリエチルアミンによる反応溶液の中和、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を MeOH/H₂O = 10/1 (11.0 mL) に溶かし、還流条件下で 26 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 15/1) で確認後、反応溶液の溶媒留去、エタノール共沸、トルエン共沸を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 2/3) で精製し、**2-4** (253 mg, 72%) を白色固体として得た。[α]_D +21.7° (c 1.0, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.05–6.81 (m, 4 H, Ar), 4.71 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 7.9 Hz, H-1), 4.25 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ = 2.0 Hz, $J_{3,4}$ = 5.6 Hz, H-4), 4.11 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 7.5 Hz, H-3), 3.98 (m, 1 H, H-5), 3.82–3.76 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 3.74 (s, 3 H, OMe), 3.64 (near t, 1 H, H-2), 1.51 (s, 3 H, C(Me)₂), 1.35 (s, 3 H, C(Me)₂); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 157.6, 154.0, 120.1, 116.3, 112.0, 103.9, 81.7, 76.1, 75.9, 75.1, 63.3, 56.9, 29.3, 27.4; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 349.1258, C₁₆H₂₂O₇ calcd for [M+Na]⁺ 349.1258.



Compound 2-5

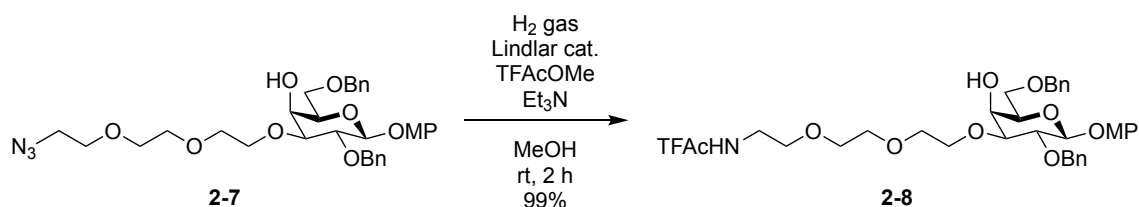
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-4** (243 mg, 0.745 mmol) を DMF (7.50 mL) に溶かし、sodium hydride (238 mg, 5.96 mmol) を 0 °C にて加え、室温にて 10 分間攪拌した後、benzyl bromide (430 μ L, 3.72 mmol) を 0 °C にて加え、室温にて 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 50/1) で確認後、0 °C に冷却し、炭酸カリウム、メタノールを加えて反応を停止した。反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去、トルエン共沸を行い、一晩真空乾燥した。残渣を AcOH/H₂O = 4/1 (7.50 mL) に溶かし、60 °C で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、反応溶液をトルエン共沸した。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 (*n*-hexane/EtOAc = 3/2) で精製し、**2-5** (335 mg, 96% in 2 steps) を白色固体として得た。[α]_D +4.0° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.40–6.80 (m, 14 H, 3 Ar), 5.07 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.3$ Hz, PhCH₂), 4.86 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1), 4.78 (d, 1 H, PhCH₂), 4.58 (s, 2 H, 2 PhCH₂), 4.05 (near t, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{4,\text{OH}} = 3.5$ Hz, H-4), 3.83 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.3$ Hz, H-6a), 3.81–3.76 (m, 5 H, H-2, H-3, OMe), 3.72 (t, 1 H, H-5), 3.67 (m, 1 H, H-6b), 2.64 (d, 1 H, $J_{3,\text{OH}} = 3.5$ Hz, OH-3), 2.53 (d, 1 H, OH-4); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 155.4, 151.3, 138.2, 137.9, 128.6, 128.5, 128.2, 128.0, 127.7, 118.5, 114.6, 102.9, 78.9, 74.8, 73.8, 73.7, 73.2, 69.4, 68.9, 55.7; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 489.1886, C₂₇H₃₀O₇ calcd for [M+Na]⁺ 489.1884.



Compound 2-7

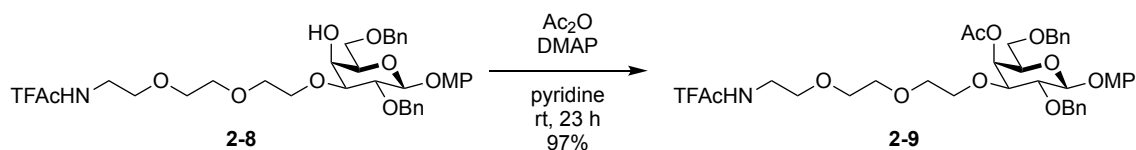
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-5** (29.0 mg, 62.2 μ mol)、化合物 **2-6** (74.0 mg, 0.311 mmol) を MeCN/DMF = 10/1 (0.62 mL) に溶かし、tetra-*n*-butylammonium bromide (2.5 mg, 7.75 μ mol)、potassium carbonate (12.9 mg, 93.3 μ mol)、dibutyltin dichloride (2.3 mg, 7.57 μ mol) を加え、80 °C で 24 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 2/1, developed twice) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を 10%フッ化カリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。

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 (toluene/acetone = 10/1) で精製し、**2-7** (35.1 mg, 90%) を無色シロップとして得た。[α]_D +4.4° (c 0.9, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.39–6.77 (m, 14 H, 3 Ar), 4.97 (d, 1 H, J_{gem} = 11.3 Hz, PhCH₂), 4.83 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz, H-1), 4.82 (d, 1 H, PhCH₂), 4.59 (d, 1 H, J_{gem} = 12.0 Hz, PhCH₂), 4.56 (d, 1 H, PhCH₂), 4.10 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.3 Hz, H-4), 3.87–3.76 (m, 8 H, H-2, H-5, H-6a, OCH₂, OMe), 3.71–3.60 (m, 9 H, H-6b, 4 OCH₂), 3.46 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 9.5 Hz, H-3), 3.36–3.34 (m, 2 H, CH₂N₃), 3.10 (br s, 1 H, OH-4); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 155.2, 151.6, 138.7, 138.2, 128.4, 128.3, 128.0, 127.7, 127.7, 127.6, 118.6, 114.5, 102.8, 81.9, 78.5, 75.2, 73.7, 70.8, 70.6, 70.1, 69.5, 69.1, 66.0, 55.6, 50.6; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 646.2736, C₃₃H₄₁N₃O₉ calcd for [M+Na]⁺ 646.2735.



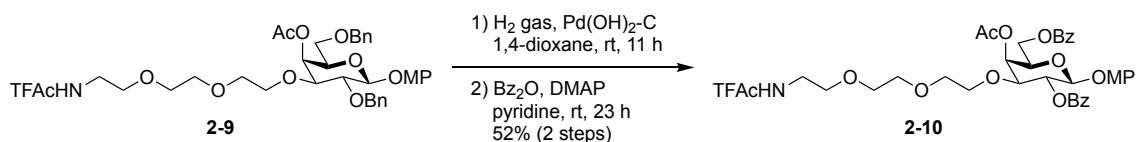
Compound 2-8

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-7** (347 mg, 0.556 mmol) を MeOH (28.0 mL) に溶かし、triethylamine (771 μ L, 5.56 mmol)、methyl trifluoroacetate (276 μ L, 2.78 mmol)、palladium (118 mg, 5% on calcium carbonate, lead-poisoned) を加え、H₂ 気流下にて室温で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 4/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄、濾液の溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 3/2) で精製し、**2-8** (381 mg, 99%) を無色シロップとして得た。[α]_D +3.5° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.63–6.78 (m, 15 H, 3 Ar, NH), 4.97 (d, 1 H, J_{gem} = 11.5 Hz, PhCH₂), 4.83–4.80 (m, 2 H, H-1, PhCH₂), 4.58 (d, 1 H, J_{gem} = 11.5 Hz, PhCH₂), 4.53 (d, 1 H, PhCH₂), 4.13 (br s, 1 H, H-4), 3.84–3.70 (m, 8 H, H-2, H-5, H-6a, OCH₂, OMe), 3.69–3.49 (m, 11 H, H-6b, OH-4, 4 OCH₂, NHCH₂), 3.48–3.43 (m, 2 H, H-3, NHCH₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 157.6, 157.3, 155.2, 151.6, 138.7, 138.0, 128.4, 128.3, 128.0, 127.8, 127.6, 118.7, 117.1, 114.8, 114.5, 102.8, 81.8, 78.2, 75.2, 73.7, 73.4, 70.3, 70.1, 70.0, 69.3, 69.1, 68.6, 65.7, 55.6, 39.8; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 716.2653, C₃₅H₄₂F₃NO₁₀ calcd for [M+Na]⁺ 716.2653.



Compound 2-9

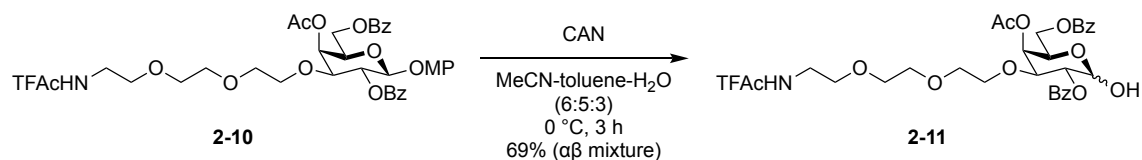
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-8** (334 mg, 0.481 mmol) を pyridine (4.80 mL) に溶かし、acetic anhydride (182 μ L, 1.93 mmol)、4-dimethylaminopyridine (2.9 mg, 24.1 μ mol) を 0 °C にて加え、室温にて 23 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 4/1) で確認後、0 °C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止した。反応溶液をトルエン共沸した後、残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 1/1) で精製し、**2-9** (344 mg, 97%) を無色シロップとして得た。[α]_D +6.3° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.34–6.78 (m, 15 H, 3 Ar, NH), 5.55 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.0 Hz, H-4), 4.96 (d, 1 H, J_{gem} = 11.0 Hz, PhCH₂), 4.87 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 7.5 Hz, H-1), 4.83 (d, 1 H, PhCH₂), 4.55 (d, 1 H, J_{gem} = 11.8 Hz, PhCH₂), 4.46 (d, 1 H, PhCH₂), 3.87 (m, 1 H, OCH₂), 3.82 (t, 1 H, $J_{5,6a}$ = $J_{5,6b}$ = 6.5 Hz, H-5), 3.80–3.76 (m, 4 H, H-2, OMe), 3.70 (m, 1 H, OCH₂), 3.66–3.53 (m, 11 H, H-3, H-6a, H-6b, 4 OCH₂), 3.49–3.46 (m, 2 H, NHCH₂), 2.11 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 157.4, 157.1, 155.3, 151.5, 138.6, 137.6, 128.4, 128.3, 128.0, 127.9, 127.7, 118.4, 117.0, 114.8, 114.5, 102.9, 80.6, 78.6, 75.3, 73.8, 72.5, 70.9, 70.4, 70.4, 70.1, 68.7, 68.3, 67.2, 55.6, 39.7, 20.9; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 758.2759, C₃₇H₄₄F₃NO₁₁ calcd for [M+Na]⁺ 758.2759.



Compound 2-10

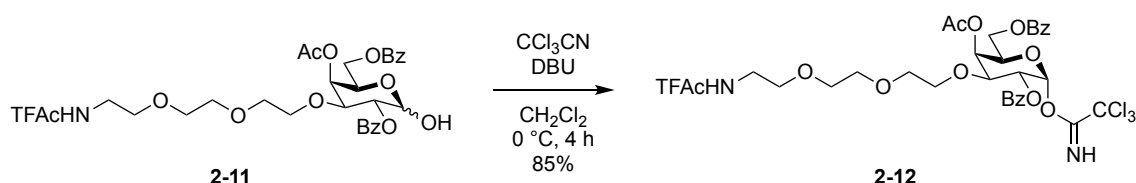
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-9** (334 mg, 0.454 mmol) を 1,4-dioxane (9.10 mL) に溶かし、palladium hydroxide (63.8 mg, 20% on carbon) を加え、H₂ 気流下にて室温で 11 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄、濾液の溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を pyridine (9.10 mL) に溶かし、benzoic anhydride (1.03 g, 4.54 mmol)、4-dimethylaminopyridine (5.6 mg, 45.4 μ mol) を 0 °C にて加え、室温で 23 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1) で確認後、0 °C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止した。反応溶液をトルエン共沸した後、残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食

塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 8/1) で精製し、**2-10** (181 mg, 52%) を無色シロップとして得た。[α]_D -19.2° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06–6.63 (m, 15 H, 3 Ar, NH), 5.67 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.3 Hz, H-4), 5.62 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz, $J_{2,3}$ = 10.0 Hz, H-2), 5.02 (d, 1 H, H-1), 4.54 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 7.5 Hz, J_{gem} = 11.1 Hz, H-6a), 4.48 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ = 5.5 Hz, H-6b), 4.13 (near dd, 1 H, H-5), 3.81 (dd, 1 H, H-3), 3.79 (m, 1 H, OCH₂), 3.70 (s, 3 H, OMe), 3.60–3.51 (m, 2 H, OCH₂), 3.48–3.41 (m, 7 H, 5 OCH₂, NHCH₂), 3.39–3.31 (m, 2 H, OCH₂), 2.23 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 166.2, 165.3, 157.4, 157.1, 155.6, 151.3, 133.4, 133.3, 129.8, 129.8, 129.7, 129.5, 128.5, 128.5, 118.8, 117.1, 114.8, 114.4, 101.1, 79.0, 71.3, 71.3, 70.7, 70.6, 70.5, 70.2, 68.5, 66.7, 62.4, 55.6, 39.6, 20.9; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 786.2343, C₃₇H₄₀F₃NO₁₃ calcd for [M+Na]⁺ 786.2344.



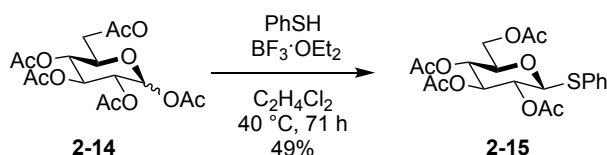
Compound 2-11

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-10** (171 mg, 0.224 mmol) を MeCN/toluene/H₂O = 6/5/3 (4.50 mL) に溶かし、cerium (IV) ammonium nitrate (1.23 g, 2.24 mmol) を 0 °C にて加え、3 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/EtOAc = 3/2 \rightarrow 1/2 \rightarrow 1/3) で精製し、**2-11** (101 mg, 69%, α : β = 1:0.7) を無色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06–7.38 (m, 22 H, 2 Ph $\alpha\beta$, NH $\alpha\beta$), 5.68 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 2.8 Hz, H-4 α), 5.62 (m, 2 H, H-1 α , H-4 β), 5.31 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ = 3.5 Hz, $J_{2,3}$ = 10.3 Hz, H-2 α), 5.24 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ = 8.1 Hz, $J_{2,3}$ = 10.0 Hz, H-2 β), 4.81 (near t, 1 H, $J_{1,OH}$ = 8.3 Hz, H-1 β), 4.56–4.50 (m, 2 H, H-5 α , H-6a β), 4.46 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 6.5 Hz, J_{gem} = 11.1 Hz, H-6a α), 4.43 (d, 1 H, OH-1 β), 4.35 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ = 6.3 Hz, J_{gem} = 11.3 Hz, H-6b β), 4.28 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 6.8 Hz, H-6b α), 4.15 (dd, 1 H, H-3 α), 4.06–4.04 (m, 2 H, H-5 β , OH-1 α), 3.83–3.76 (m, 3 H, H-3 β , OCH₂ $\alpha\beta$), 3.67–3.30 (m, 24 H, 9 OCH₂ $\alpha\beta$, NHCH₂ $\alpha\beta$), 2.17 (s, 3 H, Ac β), 2.16 (s, 3 H, Ac α); HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 680.1924, C₃₀H₃₄F₃NO₁₂ calcd for [M+Na]⁺ 680.1925.



Compound 2-12

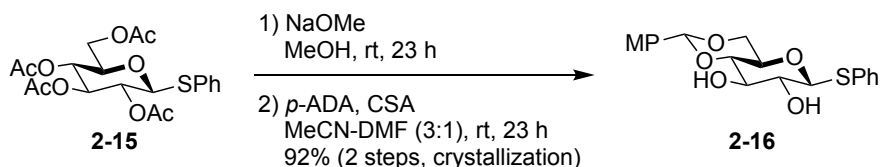
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-11** (100 mg, 0.152 mmol) を CH_2Cl_2 (3.00 mL) に溶かし、trichloroacetonitrile (305 μL , 3.04 mmol)、1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (27.2 μL , 0.182 mmol) を 0°C にて加え、4 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 1/1) で確認後、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene/EtOAc = 5/2) で精製し、**2-12** (104 mg, 85%) を無色シロップとして得た。 $[\alpha]_{\text{D}} -63.3^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.56 (s, 1 H, C(=NH)CCl₃), 8.02–7.15 (m, 11 H, 2 Ph, CF₃C(=O)NH), 6.68 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 5.78 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.8$ Hz, H-4), 5.58 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2), 4.56 (near t, 1 H, H-5), 4.46 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 7.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a), 4.39 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.0$ Hz, H-6b), 4.18 (dd, 1 H, H-3), 3.86 (m, 1 H, OCH₂), 3.67 (m, 1 H, OCH₂), 3.57 (m, 1 H, OCH₂), 3.53–3.36 (m, 9 H, 7 OCH₂, NHCH₂), 2.21 (s, 3 H, Ac); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 170.3, 166.1, 165.6, 160.5, 157.4, 157.1, 133.4, 133.3, 129.7, 129.5, 129.4, 129.0, 128.5, 128.4, 128.2, 125.3, 117.0, 114.8, 93.9, 90.9, 74.9, 70.7, 70.5, 70.4, 70.2, 69.7, 69.1, 68.6, 67.3, 62.4, 39.6, 20.8; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 823.1022, $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{Cl}_3\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_{12}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 823.1022.



Compound 2-15

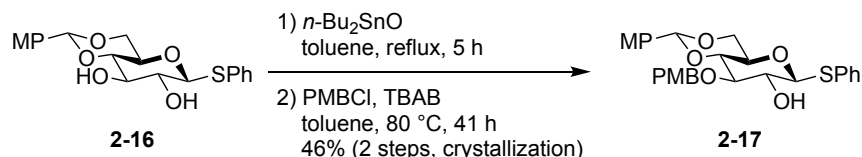
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-14** (9.20 g, 23.6 mmol) を $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ (236 mL) に溶かし、thiophenol (3.62 mL, 35.4 mmol)、boron trifluoride diethyl ether complex (3.01 mL, 47.2 mmol) を 0°C にて加え、 40°C で 71 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 1/1) で確認後、クラッシュアイスを加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 3/1) で精製し、**2-15** (5.08 g, 49%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}} +14.8^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.52–7.30 (m, 5 H, Ph), 5.23 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 9.8$ Hz, H-3), 5.04 (t, 1 H, $J_{4,5} = 9.8$ Hz, H-4), 4.98 (t, 1 H, $J_{1,2} = 9.8$ Hz, H-2), 4.71 (d, 1 H, H-1), 4.23 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, H-6a), 4.18 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 2.8$ Hz, H-6b), 3.73 (m, 1 H,

H-5), 2.09 (s, 3 H, Ac), 2.08 (s, 3 H, Ac), 2.02 (s, 3 H, Ac), 1.99 (s, 3 H, Ac); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 170.6, 170.2, 169.4, 169.3, 133.2, 131.7, 130.0, 128.4, 85.8, 75.9, 74.0, 70.0, 68.3, 62.2, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 463.1033, $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_9\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 463.1033.



Compound 2-16

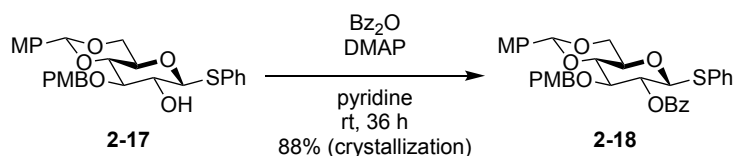
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-15** (5.08 g, 11.5 mmol) を MeOH (115 mL) に溶かし、28 wt% sodium methoxide (31.1 mg, 0.575 mmol) を加え、室温で 23 時間撹拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 8/1$) で確認後、Muromac (H^+) を加えて反応溶液を中和し、樹脂の濾別、メタノールによる樹脂の洗浄、濾液の溶媒留去、クロロホルム共沸を行い、一晚真空乾燥した。残渣を $\text{MeCN}/\text{DMF} = 3/1$ (115 mL) に溶かし、*p*-anisaldehyde dimethyl acetal (3.90 mL, 23.0 mmol)、(±)-10-camphorsulfonic acid (107 mg, 0.460 mmol) を 0°C にて加え、室温で 22 時間撹拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 10/1$) で確認後、トリエチルアミンを加えて反応溶液を中和し、溶媒留去、トルエン共沸を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/ CHCl_3) で精製し、**2-16** (4.14 g, 92% in 2 steps) を白色結晶として得た。M.p. $148\text{--}155^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}} +38.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.56–6.87 (m, 9 H, 2 Ar), 5.50 (s, 1 H, $\text{ArCH}<$), 4.65 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1), 4.37 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.5$ Hz, H-6a), 3.85 (td, 1 H, $J_{3,\text{OH}} = 2.1$ Hz, $J_{2,3} = 8.5$ Hz, H-3), 3.81–3.75 (m, 4 H, H-6b, OMe), 3.56–3.46 (m, 3 H, H-2, H-4, H-5), 2.71 (d, 1 H, OH-3), 2.61 (d, 1 H, OH-2); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 160.3, 133.0, 131.3, 129.3, 129.1, 128.5, 127.6, 113.7, 101.9, 88.6, 80.2, 74.6, 72.6, 70.6, 68.6, 55.3; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 413.1029, $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 413.1029.



Compound 2-17

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-16** (3.00 g, 7.68 mmol) を toluene (77.0 mL) に溶かし、dibutyltin oxide (2.10 g, 8.45 mmol) を加え、還流条件下で 5 時間撹拌した。反応溶液を室温に冷却した後、tetra-*n*-butylammonium bromide (2.72 g, 8.45 mmol)、*p*-methoxybenzyl chloride (1.15 mL, 8.45

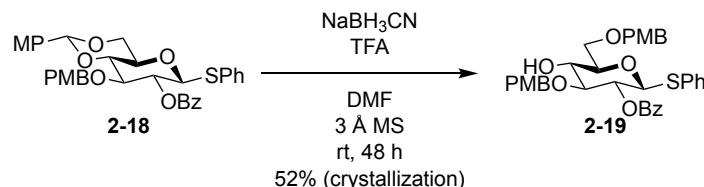
mmol) を加え、80 °C で 19 時間攪拌した。反応の進行を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、反応溶液を室温に冷却し、*p*-methoxybenzyl chloride (0.523 mL, 3.84 mmol) を加え、80 °C で更に 22 時間攪拌した。反応終了を TLC で確認後、0 °C に冷却し、トリエチルアミンを加えて反応を停止した。反応溶液の溶媒留去を行なった後、酢酸エチルで希釈し、有機相を 10% フッ化カリウム水溶液、飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 8/3) 及び結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**2-17** (1.80 g, 46% in 2 steps) を白色結晶として得た。M.p. 130–136 °C; $[\alpha]_D^{+32.3^\circ}$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.54–6.83 (m, 13 H, 3 Ar), 5.52 (s, 1 H, ArCH<), 4.87 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.70 (d, 1 H, ArCH₂), 4.62 (d, 1 H, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, H-1), 4.36 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.5$ Hz, H-6a), 3.81 (s, 3 H, OMe), 3.79–3.75 (m, 4 H, H-6b, OMe), 3.67–3.60 (m, 2 H, H-3, H-4), 3.52–3.46 (m, 2 H, H-2, H-5), 2.49 (d, 1 H, OH-2); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 160.1, 159.4, 133.2, 131.4, 130.3, 129.8, 129.7, 129.0, 128.4, 127.3, 113.9, 113.6, 101.3, 88.4, 81.2, 81.1, 74.5, 72.2, 70.8, 68.6, 55.3, 55.3; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 533.1602, C₂₈H₃₀O₇S calcd for $[M+Na]^+$ 533.1604.



Compound 2-18

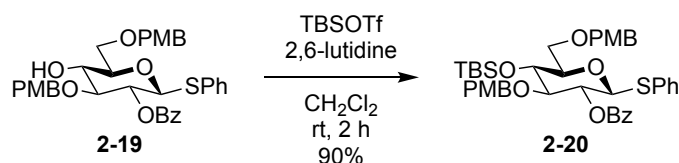
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-17** (1.78 g, 3.49 mmol) を pyridine (35.0 mL) に溶かし、benzoic anhydride (1.18 g, 5.23 mmol)、4-dimethylaminopyridine (21.4 mg, 0.175 mmol) を 0 °C にて加え、室温で 36 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 6/1) で確認後、0 °C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止し、反応溶液をトルエン共沸した。残渣を酢酸エチルで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣を結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**2-18** (1.89 g, 88%) を白色結晶として得た。M.p. 160–165 °C; $[\alpha]_D^{-63.2^\circ}$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.00–6.56 (m, 18 H, 4 Ar), 5.56 (s, 1 H, ArCH<), 5.25 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.0$ Hz, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-2), 4.83 (d, 1 H, H-1), 4.71 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.58 (d, 1 H, ArCH₂), 4.39 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4.9$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.5$ Hz, H-6a), 3.85 (t, 1 H, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.85–3.80 (m, 4 H, H-6b, OMe), 3.78 (near t, 1 H, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.69 (s, 3 H, OMe), 3.55 (td, 1 H, $J_{5,6b} = 9.5$ Hz, H-5); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 165.0, 160.1, 159.1, 133.2, 132.9, 132.3, 129.9, 129.8, 129.8, 129.7, 129.7, 128.9, 128.4, 128.2, 127.3, 113.7, 113.6, 101.3,

87.0, 81.4, 78.8, 73.8, 72.0, 70.7, 68.6, 55.3, 55.1; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 637.1864, $C_{35}H_{34}O_8S$ calcd for $[M+Na]^+$ 637.1867.



Compound 2-19

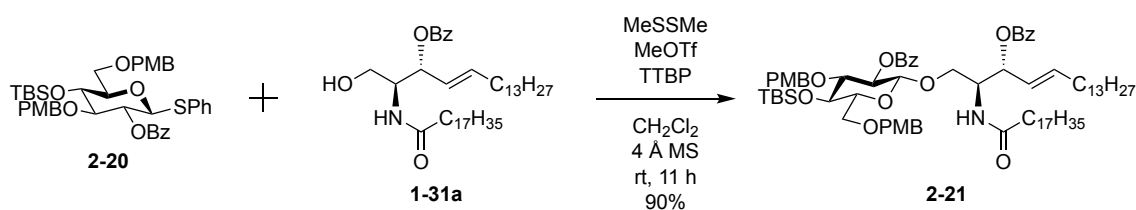
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-18** (1.86 g, 3.03 mmol) を DMF (15.0 mL) に溶かし、活性化したモレキュラーシーブス 3 Å (1.89 g)、sodium cyanoborohydride (1.90 g, 30.3 mmol) を 0 °C にて加え、室温で 30 分間攪拌した後、trifluoroacetic acid (2.34 mL, 30.3 mmol) を 0 °C にて加え、室温で 48 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 4/1) で確認後、セライト濾過、酢酸エチルによるセライト層の洗浄を行なった。濾液を酢酸エチルで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去、トルエン共沸を行なった。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 (toluene/EtOAc = 6/1) 及び結晶化 (*n*-hexane/EtOAc) で精製し、**2-19** (973 mg, 52%) を白色結晶として得た。M.p. 102–106 °C; $[\alpha]_D -18.0^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.05–6.67 (m, 18 H, 4 Ar), 5.23 (near t, 1 H, H-2), 4.79 (d, 1 H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1), 4.64 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, ArCH_2), 4.58 (d, 1 H, ArCH_2), 4.54 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, ArCH_2), 4.50 (d, 1 H, ArCH_2), 3.81 (s, 3 H, OMe), 3.80–3.73 (m, 3 H, H-4, H-6a, H-6b), 3.71 (s, 3 H, OMe), 3.69 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.0$ Hz, H-3), 3.58 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 4.8$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-5), 2.73 (d, 1 H, $J_{4,\text{OH}} = 2.0$ Hz, OH-4); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 165.2, 159.4, 159.3, 133.2, 133.1, 132.4, 130.0, 129.9, 129.7, 129.4, 128.8, 128.4, 127.8, 113.9, 113.8, 86.5, 83.2, 78.3, 74.3, 73.4, 72.2, 72.1, 70.2, 55.3, 55.2; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 639.2026, $C_{35}H_{36}O_8S$ calcd for $[M+Na]^+$ 639.2023.



Compound 2-20

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-19** (104 mmol, 0.169 mmol) を CH_2Cl_2 (0.84 mL) に溶かし、2,6-lutidine (58.9 μL , 0.506 mmol)、*tert*-butyldimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (58.2 μL , 0.253 mmol) を 0 °C にて加え、室温で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 3/1) で

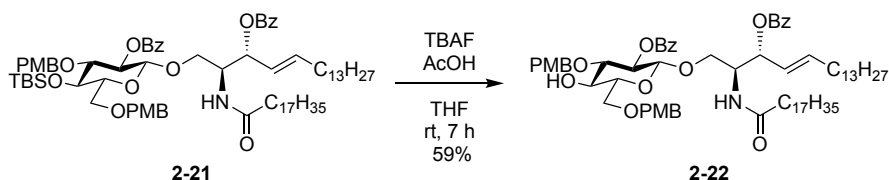
確認後、0 °C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc = 7/1) で精製し、**2-20** (112 mg, 90%) を無色シロップとして得た。[α]_D -57.0° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.97–6.60 (m, 18 H, 4 Ar), 5.26 (near t, 1 H, H-2), 4.81 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 10.5 Hz, H-1), 4.57 (d, 1 H, J_{gem} = 10.8 Hz, ArCH₂), 4.56 (d, 1 H, J_{gem} = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.52 (d, 1 H, ArCH₂), 4.45 (d, 1 H, ArCH₂), 3.80–3.77 (m, 4 H, H-6a, OMe), 3.70–3.63 (m, 5 H, H-3, H-4, OMe), 3.60–3.55 (m, 2 H, H-5, H-6b), 0.85 (s, 9 H, ^tBu), -0.02 (s, 6 H, 2 OSi(^tBu)Me₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 165.2, 159.2, 158.9, 133.6, 133.1, 132.0, 130.5, 130.0, 130.0, 129.8, 129.2, 129.2, 128.8, 128.3, 127.5, 113.8, 113.5, 86.3, 84.5, 80.9, 74.8, 73.1, 72.9, 71.2, 69.3, 55.3, 55.1, 25.9, 18.0, -3.7, -4.7; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 753.2886, C₄₁H₅₀O₈SSi calcd for [M+Na]⁺ 753.2888.



Compound 2-21

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-20** (100 mg, 0.137 mmol)、受容体 **1-31a** (92.0 mg, 0.137 mmol) を CH₂Cl₂ (2.50 mL) に溶かし、活性化したモレキュラーシーブス 4 Å (513 mg)、2,4,6-tri-*tert*-butylpyrimidine (136 mg, 0.547 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、0 °C に冷却し、dimethyl disulfide (220 μ L, 2.48 mmol)、methyl trifluoromethanesulfonate (136 μ L, 1.24 mmol) を CH₂Cl₂ (1.00 mL) 中で 5 分間攪拌して調製した溶液を 0 °C にて反応溶液に加え、更に CH₂Cl₂ (0.40 mL) で洗い込みを行い、室温で 11 時間攪拌した。反応終了を、TLC (*n*-hexane/EtOAc = 3/1) で確認後、0 °C に冷却し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液をセライト濾過し、セライト層をクロロホルムで洗浄した。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (1st: *n*-hexane/EtOAc = 4/1, 2nd: *n*-hexane/EtOAc = 8/1 \rightarrow 4/1) で精製し、**2-21** (129 mg, 73%) を無色シロップとして得た。[α]_D -16.6° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.03–6.62 (m, 18 H, 4 Ar), 6.07 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}}$ = 9.5 Hz, NH-2^{Cer}), 5.35–5.28 (m, 2 H, H-3^{Cer}, H-4^{Cer}), 5.24 (near t, 1 H, H-2^{Glc}), 5.16 (near quin, 1 H, $J_{5,6a}$ = $J_{5,6b}$ = 6.0 Hz, $J_{4,5}$ = 14.5 Hz, H-5^{Cer}), 4.60–4.56 (m, 2 H, 2 ArCH₂), 4.56 (d, 1 H, J_{gem} = 11.8 Hz, ArCH₂), 4.51 (d, 1 H, $J_{1,2}$ =

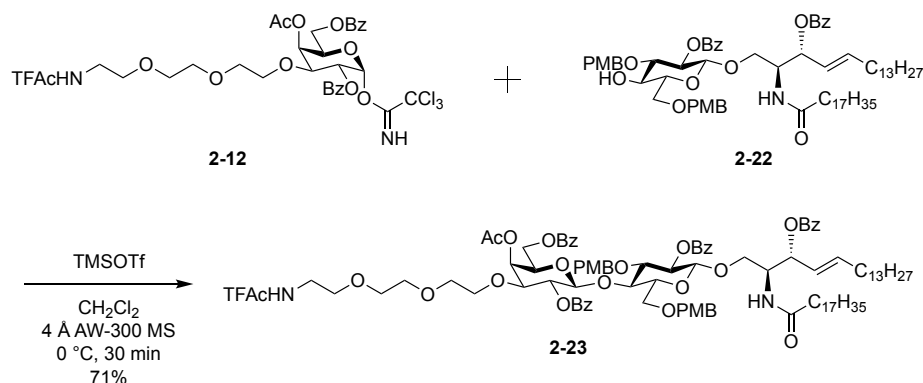
7.5 Hz, H-1^{Glc}), 4.38–4.33 (m, 2 H, H-2^{Cer}, ArCH₂), 3.88 (dd, 1 H, $J_{1a,2} = 3.0$ Hz, $J_{gem} = 10.8$ Hz, H-1a^{Cer}), 3.80 (s, 3 H, OMe), 3.72 (dd, 1 H, $J_{1b,2} = 2.0$ Hz, H-1b^{Cer}), 3.69–3.62 (m, 6 H, H-3^{Glc}, H-4^{Glc}, H-6a^{Glc}, OMe), 3.49–3.43 (m, 2 H, H-5^{Glc}, H-6b^{Glc}), 2.16–2.03 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂^{Cer}), 1.80–1.77 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.56–1.53 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂CH₂^{Cer}), 1.31–1.14 (m, 50 H, 25 CH₂^{Cer}), 0.89–0.86 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}), 0.82 (s, 9 H, ^tBu), 0.00 (s, 3 H, OSi(^tBu)Me₂), –0.04 (s, 3 H, OSi(^tBu)Me₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.8, 165.5, 165.1, 159.3, 158.9, 137.5, 133.1, 132.9, 130.4, 130.2, 130.0, 129.9, 129.8, 129.7, 129.2, 129.2, 128.5, 128.4, 128.3, 125.1, 113.9, 113.5, 101.5, 82.8, 76.5, 74.5, 74.5, 73.9, 71.3, 68.9, 68.2, 55.3, 55.1, 50.7, 36.7, 32.2, 32.0, 29.8, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.4, 29.2, 28.8, 25.9, 25.8, 22.7, 18.0, 14.1, –3.7, –4.8; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 1312.8393, C₇₈H₁₁₉NO₁₂Si calcd for [M+Na]⁺ 1312.8394.



Compound 2-22

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-21** (129 mg, 0.100 mmol) を THF (2.00 mL) に溶かし、acetic acid (5.70 μ L, 0.100 mmol)、1 M tetra-*n*-butylammonium fluoride in THF (300 μ L, 0.300 mmol) を加え、室温で7時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 3/2) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で精製し、**2-22** (69.4 mg, 59%) を白色固体として得た。[α]_D +12.3° (c 1.6, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.10–6.70 (m, 18 H, 4 Ar), 5.92 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.5$ Hz, NH-2^{Cer}), 5.32 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 8.5$ Hz, $J_{4,5} = 14.6$ Hz, H-4^{Cer}), 5.27 (t, 1 H, $J_{2,3} = 8.5$ Hz, H-3^{Cer}), 5.22 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, $J_{2,3} = 9.3$ Hz, H-2^{Glc}), 5.16 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 7.0$ Hz, H-5^{Cer}), 4.67 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.3$ Hz, ArCH₂), 4.60 (d, 1 H, ArCH₂), 4.49 (d, 1 H, H-1^{Glc}), 4.49 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.43 (d, 1 H, ArCH₂), 4.35 (m, 1 H, H-2^{Cer}), 3.87 (dd, 1 H, $J_{1a,2} = 3.5$ Hz, $J_{gem} = 10.5$ Hz, H-1a^{Cer}), 3.80 (s, 3 H, OMe), 3.75–3.71 (m, 4 H, H-6a^{Glc}, OMe), 3.69–3.64 (m, 4 H, H-3^{Glc}, H-4^{Glc}, H-6b^{Glc}, H-1b^{Cer}), 3.44 (m, 1 H, H-5^{Glc}), 2.67 (d, 1 H, $J_{4,OH} = 2.0$ Hz, OH-4^{Glc}), 2.14–2.02 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂^{Cer}), 1.79–1.78 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.54–1.52 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂CH₂^{Cer}), 1.30–1.13 (m, 50 H, 25 CH₂^{Cer}), 0.89–0.87 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.8, 165.6, 165.1, 159.4, 159.3, 137.6, 133.2, 132.9, 130.3, 130.1, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 129.4, 128.5, 128.3, 124.9, 113.9, 113.9, 101.6, 81.6, 74.3,

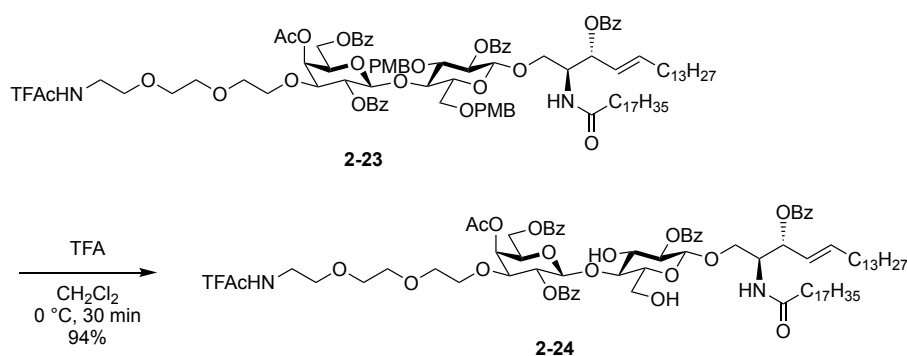
74.1, 74.0, 73.7, 73.4, 72.1, 69.8, 67.9, 55.3, 55.2, 50.5, 36.8, 32.2, 31.9, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.2, 28.8, 25.7, 22.7, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 1198.7527, $C_{72}H_{105}NO_{12}$ calcd for $[M+Na]^+$ 1198.7529.



Compound 2-23

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-12** (34.3 mg, 42.8 μ mol)、受容体 **2-22** (50.4 mg, 42.8 μ mol) を CH_2Cl_2 (2.90 mL) に溶かし、活性化したモレキュラーシーブス AW-300 (283 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、0 °C に冷却し、trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (0.77 μ L, 4.28 μ mol) を加え、30 分間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/ $CHCl_3$ /acetone = 3/1/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液をセライト濾過し、セライト層をクロロホルムで洗浄した。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/ $CHCl_3$ /acetone = 3/1/1 \rightarrow 1/1/1) で精製し、**2-23** (54.8 mg, 71%) を無色シロップとして得た。 $[\alpha]_D -4.5^\circ$ (c 0.7, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.04–6.61 (m, 29 H, 6 Ar, $CF_3C(=O)NH$), 5.82 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.5$ Hz, $NH-2^{Cer}$), 5.32 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $H-2^{Gal}$), 5.28 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 7.5$ Hz, $J_{4,5} = 15.0$ Hz, $H-4^{Cer}$), 5.23–5.18 (m, 2 H, $H-2^{Glc}$, $H-3^{Cer}$), 5.08 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.8$ Hz, $H-5^{Cer}$), 4.86 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.0$ Hz, $ArCH_2$), 4.64 (d, 1 H, $H-1^{Gal}$), 4.63 (d, 1 H, $ArCH_2$), 4.58 (d, 1 H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, $ArCH_2$), 4.37 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, $H-1^{Glc}$), 4.33–4.29 (m, 3 H, $H-6a^{Gal}$, $H-6b^{Gal}$, $H-2^{Cer}$), 4.20 (d, 1 H, $ArCH_2$), 4.08 (t, 1 H, $J_{3,4} = J_{4,5} = 9.0$ Hz, $H-4^{Glc}$), 3.83 (dd, 1 H, $J_{1a,2} = 3.3$ Hz, $J_{gem} = 10.7$ Hz, $H-1a^{Cer}$), 3.79–3.73 (m, 6 H, $H-5^{Gal}$, $H-3^{Glc}$, OMe, OCH_2), 3.67 (s, 3 H, OMe), 3.59 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 3.0$ Hz, $J_{gem} = 11.0$ Hz, $H-6a^{Glc}$), 3.52 (dd, 1 H, $J_{1b,2} = 2.0$ Hz, $H-1b^{Cer}$), 3.52–3.35 (m, 11 H, $H-3^{Gal}$, $H-6b^{Glc}$, 7 OCH_2 , $NHCH_2$), 3.32–3.20 (m, 3 H, $H-5^{Glc}$, OCH_2), 2.17 (s, 3 H, Ac), 2.11–1.98 (m, 2 H, $NHC(=O)CH_2$), 1.75–1.74 (m, 2 H, $H-6a^{Cer}$, $H-6b^{Cer}$), 1.52–1.49 (m, 2 H, $NHC(=O)CH_2CH_2$), 1.31–1.10 (m, 50 H, 25 CH_2^{Cer}), 0.89–0.86 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 172.7,

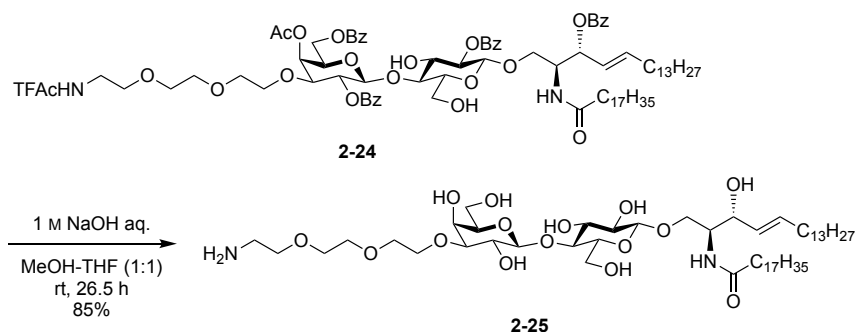
170.3, 166.1, 165.5, 164.9, 159.4, 158.9, 157.7, 157.4, 157.1, 156.8, 137.7, 133.4, 133.3, 133.1, 132.9, 130.6, 130.2, 130.0, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 129.6, 129.5, 129.4, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 124.8, 119.3, 117.1, 114.8, 113.9, 113.4, 112.5, 101.5, 100.4, 79.7, 78.8, 76.4, 74.7, 74.3, 73.9, 73.4, 73.0, 71.9, 70.8, 70.5, 70.4, 70.2, 68.5, 67.6, 67.0, 66.5, 61.7, 55.3, 55.1, 50.3, 39.6, 36.8, 32.1, 31.9, 31.8, 30.0, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.2, 28.7, 25.7, 22.7, 20.8, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 1837.9456, $C_{102}H_{137}F_3N_2O_{23}$ calcd for $[M+Na]^+$ 1837.9456.



Compound 2-24

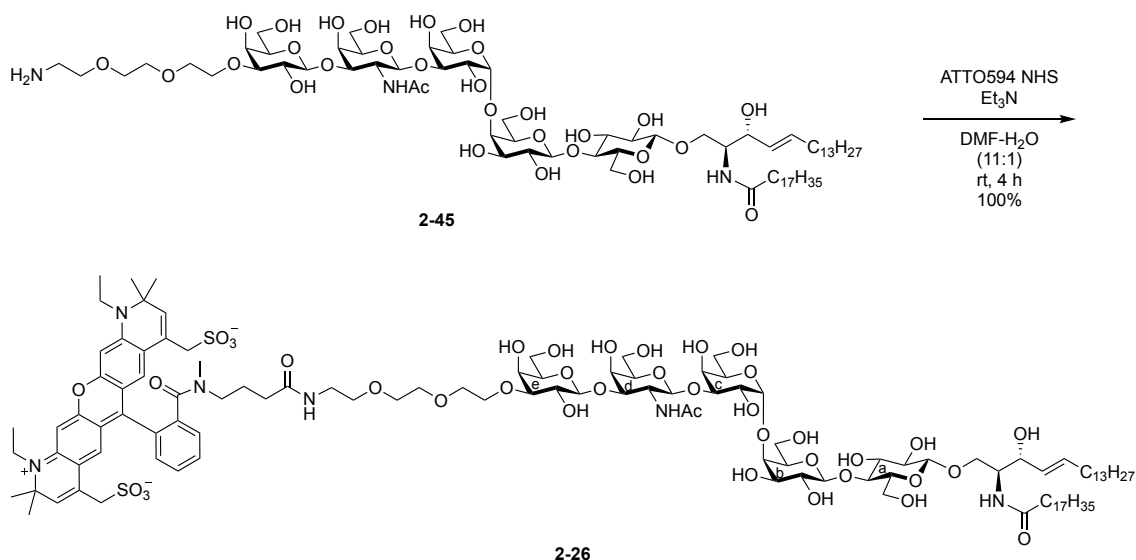
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-23** (48.2 mg, 26.5 μ mol) を CH_2Cl_2 (1.80 mL) に溶かし、trifluoroacetic acid (0.88 mL) を 0 °C にて加え、30 分間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 5/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウムを加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene/acetone = 5/1 \rightarrow 3/1) で精製し、**2-24** (39.3 mg, 94%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_D -7.4^\circ$ (c 0.7, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.12–7.25 (m, 21 H, 4 Ph, $CF_3C(=O)NH$), 5.68 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.5$ Hz, $NH-2^{Cer}$), 5.62 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $H-4^{Gal}$), 5.43 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, $H-2^{Gal}$), 5.40–5.29 (m, 3 H, $H-3^{Cer}$, $H-4^{Cer}$, $H-5^{Cer}$), 5.14 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.3$ Hz, $H-2^{Glc}$), 4.74 (d, 1 H, $H-1^{Gal}$), 4.62 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4.0$ Hz, $J_{gem} = 11.6$ Hz, $H-6a^{Gal}$), 4.55 (d, 1 H, $H-1^{Glc}$), 4.50 (m, 1 H, $H-2^{Cer}$), 4.36 (d, 1 H, $J_{3,OH} = 0.5$ Hz, $OH-3^{Glc}$), 4.23 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 8.6$ Hz, $H-6b^{Gal}$), 4.08 (dd, 1 H, $H-5^{Gal}$), 3.97 (near t, 1 H, $H-3^{Glc}$), 3.81–3.67 (m, 5 H, $H-3^{Gal}$, $H-4^{Glc}$, $H-1a^{Cer}$, $H-1b^{Cer}$, OCH_2), 3.57–3.31 (m, 14 H, $H-5^{Glc}$, $H-6a^{Glc}$, $H-6b^{Glc}$, 9 OCH_2 , $NHCH_2$), 2.62 (br s, 1 H, $OH-6^{Glc}$), 2.19 (s, 3 H, Ac), 2.14–2.02 (m, 2 H, $NHC(=O)CH_2$), 1.85–1.82 (m, 2 H, $H-6a^{Cer}$, $H-6b^{Cer}$), 1.53–1.52 (m, 2 H, $NHC(=O)CH_2CH_2$), 1.31–1.16 (m, 50 H, 25 CH_2^{Cer}), 0.89–0.87 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 173.2, 170.3, 166.4, 165.7, 165.2, 165.2, 157.7, 157.5, 157.2, 156.9, 137.5, 133.6, 133.4, 133.2, 133.1, 130.0, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.3, 129.0, 128.6, 128.5, 128.4, 124.3, 117.1, 114.8, 114.0, 102.1, 101.4, 81.0,

78.8, 74.4, 74.3, 73.3, 72.8, 72.1, 71.1, 70.9, 70.5, 70.4, 70.2, 68.5, 67.8, 66.8, 62.6, 60.3, 51.0, 39.6, 36.9, 32.2, 32.1, 31.9, 30.0, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 29.2, 28.8, 25.7, 22.7, 20.8, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 1597.8306, $C_{86}H_{121}F_3N_2O_{21}$ calcd for $[M+Na]^+$ 1597.8306.



Compound 2-25

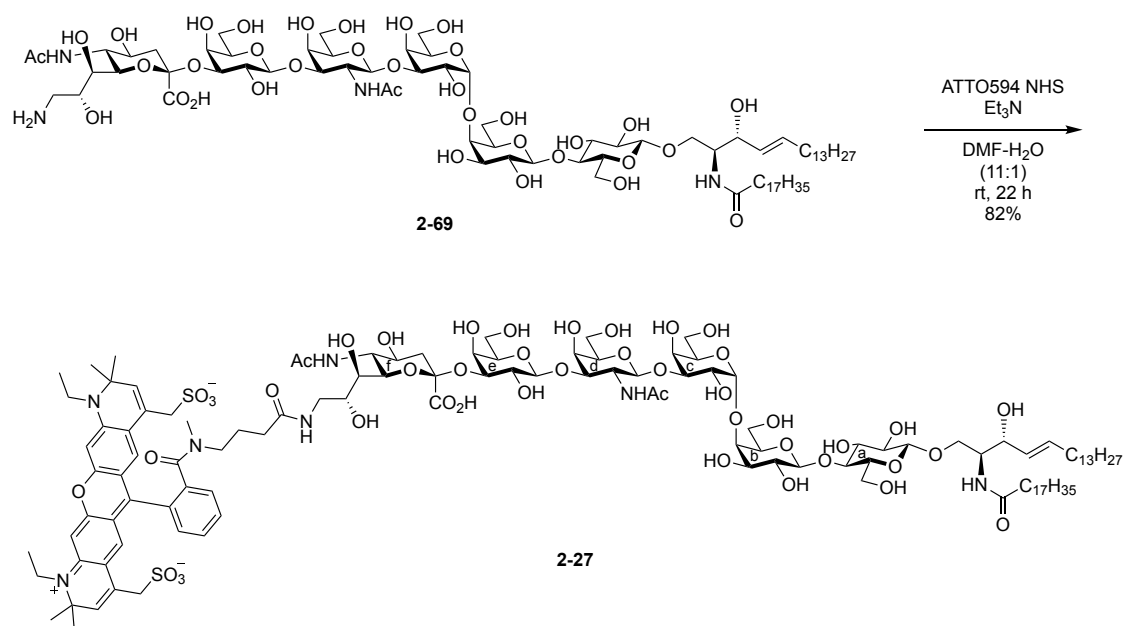
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-24** (32.9 mg, 20.9 μmol) を MeOH/THF = 1/1 (7.00 mL) に溶かし、1 M aq. sodium hydroxide (418 μL , 0.418 mmol) を加え、室温で 26.5 時間攪拌した。反応終了後、TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH} = 5/4/1/0.1$) で確認後、溶媒留去、エタノール共沸を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/28\% \text{ NH}_3 \text{ aq.} = 5/1/0.05/0 \rightarrow 5/2.5/0.2/0 \rightarrow 5/3/0.5/0.1$) で精製し、**2-25** (18.2 mg, 85%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_D -2.1^\circ$ (c 0.8, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD} = 1/1$) δ 5.71 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 7.0$ Hz, $J_{4,5} = 15.0$ Hz, H-5^{Cer}), 5.45 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 7.5$ Hz, H-4^{Cer}), 4.41 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1^{Glc}), 4.33 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^{Gal}), 4.11–4.09 (m, 2 H, H-4^{Gal}, H-3^{Cer}), 3.99 (m, 1 H, H-2^{Cer}), 3.91–3.30 (m, 23 H, H-2^{Gal}, H-3^{Gal}, H-5^{Gal}, H-6a^{Gal}, H-6b^{Gal}, H-2^{Glc}, H-3^{Glc}, H-4^{Glc}, H-5^{Glc}, H-6a^{Glc}, H-6b^{Glc}, H-1a^{Cer}, H-1b^{Cer}, 5 OCH₂), 3.15–3.13 (m, 2 H, NH₂CH₂), 2.20–2.17 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂), 2.05–2.01 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.59–1.58 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂CH₂), 1.37–1.27 (m, 50 H, 25 CH₂^{Cer}), 0.90–0.88 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD} = 1/1$) δ 175.3, 134.8, 129.9, 104.0, 103.9, 82.3, 80.2, 75.7, 75.5, 75.3, 73.9, 72.5, 70.7, 70.7, 70.2, 69.5, 68.5, 67.2, 66.1, 61.8, 61.5, 54.2, 49.9, 39.9, 37.0, 32.9, 32.4, 30.2, 30.1, 30.1, 30.0, 29.9, 29.8, 29.8, 26.4, 23.1, 14.3; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 1043.7329, $C_{54}H_{104}N_2O_{15}$ calcd for $[M+Na]^+$ 1043.7329.



ATTO594 SSEA-3 (**2-26**)

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-45** (3.4 mg, 2.20 μmol) を DMF/H₂O = 11/1 (0.22 mL) に溶かし、ATTO594 *N*-succinimidyl ester (4.6 mg, 3.29 μmol)、triethylamine (6.1 μL , 43.9 μmol) を加え、室温にて 4 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH/H₂O/AcOH = 5/4/1/0.2) で確認後、ゲル濾過クロマトグラフィー (LH20; CHCl₃/MeOH = 1/1)、PTLC (CHCl₃/MeOH/H₂O = 5/4/1) で精製し、**2-26** (5.1 mg, 100%) を青色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.75–5.89 (m, 9 H, Ar^{ATTO594}), 5.68 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} = 15.3$ Hz, H-5^{Cer}), 5.44 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 7.5$ Hz, H-4^{Cer}), 4.94 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1^c), 4.73–3.20 (m, 56 H, H-1^a, H-2^a, H-3^a, H-4^a, H-5^a, H-6^a, H-6^b, H-1^b, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6^a, H-6^b, H-2^c, H-3^c, H-4^c, H-5^c, H-6^a, H-6^b, H-1^d, H-2^d, H-3^d, H-4^d, H-5^d, H-6^a, H-6^b, H-1^e, H-2^e, H-3^e, H-4^e, H-5^e, H-6^a, H-6^b, H-1^a, H-1^b, H-2^{Cer}, H-3^{Cer}, 5 OCH₂, NHCH₂, 3 NCH₂^{ATTO594}, 2 CH₂SO₃^{ATTO594}), 2.72 and 2.64 (2 s, 3 H, NCH₃^{ATTO594}), 2.18–2.15 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂^{Cer}), 2.03–2.00 (m, 2 H, H-6^a, H-6^b), 1.97 (m, 3 H, Ac), 1.78–1.29 (m, 74 H, 26 CH₂^{Cer}, NCH₂CH₂^{ATTO594}, NCH₂CH₂CH₂^{ATTO594}, 2 NCH₂CH₃^{ATTO594}, 4 Me^{ATTO594}), 0.91–0.88 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 180.3, 176.0, 175.2, 175.1, 175.0, 173.0, 171.5, 171.3, 159.2, 155.1, 154.2, 138.4, 137.6, 137.4, 135.1, 132.2, 131.9, 131.8, 131.4, 131.2, 130.7, 130.5, 129.3, 129.0, 126.1, 124.3, 124.3, 124.2, 122.9, 115.0, 106.3, 105.6, 104.4, 104.3, 102.8, 97.0, 96.9, 83.3, 83.2, 81.3, 81.2, 80.8, 80.0, 80.0, 79.5, 79.0, 76.5, 76.4, 76.4, 76.3, 75.0, 74.7, 73.0, 72.6, 72.5, 71.7, 71.6, 71.5, 71.5, 71.1, 70.6, 70.5, 70.0, 69.7, 69.7, 69.5, 69.5, 66.8, 64.3, 62.7, 61.8, 61.7, 61.6, 61.5, 58.4, 54.7, 54.1, 54.1, 53.9, 53.9, 53.4, 53.0, 50.4, 47.5, 46.8, 41.4, 40.4, 40.3, 38.8, 37.4, 33.7, 33.5, 33.4, 33.2, 33.1, 32.9, 32.8, 32.7, 30.9, 30.9, 30.9, 30.9, 30.8, 30.8, 30.7, 30.6, 30.5, 30.5, 30.5, 29.5, 29.4, 29.3, 27.2, 25.1, 24.2, 23.8, 23.7, 23.7, 23.5, 23.0, 20.9, 18.4, 14.5, 14.5, 14.4, 13.8, 13.7; HRMS (ESI) m/z : found [(M-H)/2]⁻ 1166.5867, C₁₁₅H₁₈₁N₆O₃₉S₂⁻ calcd for

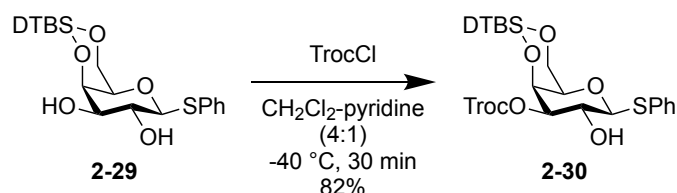
$[(M-H)/2]^-$ 1166.5869.



ATTO594 SSEA-4 (**2-27**)

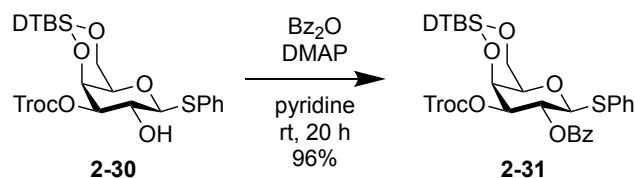
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-69** (3.5 mg, 2.05 μ mol) を DMF/H₂O = 11/1 (0.21 mL) に溶かし、ATTO594 *N*-succinimidyl ester (4.3 mg, 3.07 μ mol)、triethylamine (5.7 μ L, 41.0 μ mol) を加え、室温にて 22 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH/5% aq. CaCl₂ = 5/4/1) で確認後、ゲル濾過クロマトグラフィー (LH20; CHCl₃/MeOH = 1/1)、PTLC (1st: CHCl₃/MeOH/H₂O = 5/4/1, 2nd: CHCl₃/MeOH/H₂O = 5/4/1, 3rd: CHCl₃/MeOH/H₂O = 5/5/0.5) で精製し、**2-27** (4.2 mg, 82%) を青色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7.75–5.88 (m, 9 H, Ar^{ATTO594}), 5.68 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} = 15.4$ Hz, H-5^{Cer}), 5.44 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 7.8$ Hz, H-4^{Cer}), 4.94–3.16 (m, 58 H, H-1^a, H-2^a, H-3^a, H-4^a, H-5^a, H-6a^a, H-6b^a, H-1^b, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6a^b, H-6b^b, H-1^c, H-2^c, H-3^c, H-4^c, H-5^c, H-6a^c, H-6b^c, H-1^d, H-2^d, H-3^d, H-4^d, H-5^d, H-6a^d, H-6b^d, H-1^e, H-2^e, H-3^e, H-4^e, H-5^e, H-6a^e, H-6b^e, H-4^f, H-5^f, H-6^f, H-7^f, H-8^f, H-9a^f, H-9b^f, H-1a^{Cer}, H-1b^{Cer}, H-2^{Cer}, H-3^{Cer}, NHCH₂, 3 NCH₂^{ATTO594}, 2 CH₂SO₃^{ATTO594}), 2.85 (m, 1 H, H-3eq^f), 2.71 and 2.66 (2 s, 3 H, NCH₃^{ATTO594}), 2.18–2.15 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂^{Cer}), 2.04–1.96 (m, 8 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}, 2 Ac), 1.83–1.29 (m, 75 H, H-3ax^f, 26 CH₂^{Cer}, NCH₂CH₂^{ATTO594}, NCH₂CH₂CH₂^{ATTO594}, 2 NCH₂CH₃^{ATTO594}, 4 Me^{ATTO594}), 0.91–0.88 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (200 MHz, CD₃OD) δ 176.0, 175.9, 175.3, 175.3, 175.0, 175.0, 175.0, 171.2, 159.2, 159.1, 154.9, 154.2, 138.4, 137.7, 135.1, 132.2, 131.8, 131.4, 131.2, 130.7, 128.9, 126.2, 126.1, 124.2, 124.2, 122.9, 122.9, 115.0, 106.1, 106.1, 105.5, 104.4, 104.4, 102.8, 101.3, 97.2, 97.1, 81.3, 81.2, 81.1, 80.5, 80.0, 77.6, 76.8, 76.5, 76.4, 76.4, 76.2, 75.0, 74.8, 74.7, 73.0, 72.6, 72.5, 71.7, 70.8, 70.8, 70.7, 70.6, 69.9, 69.5, 69.5, 69.4, 69.4, 69.1, 63.0, 62.9, 62.8, 62.7, 61.8,

64.5, 62.7, 62.7, 61.9, 61.8, 61.7, 61.7, 61.6, 54.8, 53.9, 53.2, 48.3, 47.7, 41.4, 40.5, 39.3, 38.8, 37.4, 33.9, 33.5, 33.1, 33.1, 33.1, 30.9, 30.9, 30.9, 30.9, 30.8, 30.8, 30.8, 30.7, 30.7, 30.7, 30.5, 30.5, 30.5, 30.5, 29.5, 29.5, 29.3, 29.3, 27.9, 27.2, 24.2, 23.8, 23.6, 21.6, 16.7, 14.5, 14.4, 13.8, 13.8; HRMS (ESI) m/z : found $[(M-H)/2]^-$ 1239.6158, $C_{121}H_{191}N_6O_{43}S_2^-$ calcd for $[(M-H)/2]^-$ 1239.6159.



Compound 2-30

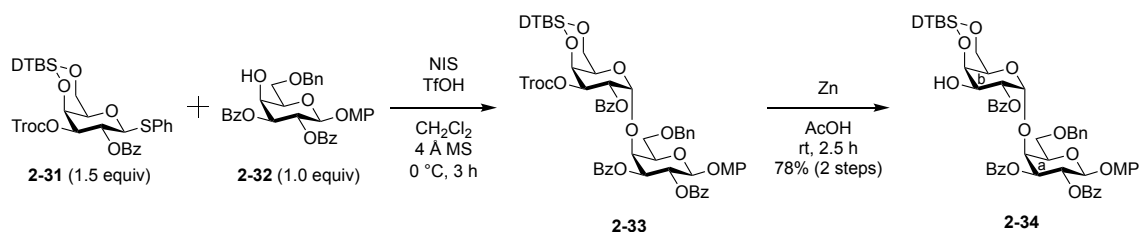
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-29** (1.45 g, 3.51 mmol) を CH_2Cl_2 /pyridine = 4/1 (35.0 mL) に溶かし、2,2,2-trichloroethyl chloroformate (566 μ L, 4.22 mmol) を $-40^\circ C$ にて加え、30 分間撹拌した。反応終了を TLC (n -hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、反応溶液をトルエン共沸した。残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (n -hexane/EtOAc = 12/1 \rightarrow 5/1) で精製し、**2-30** (1.68 g, 82%) を白色泡状粉末として得た。 $[\alpha]_D -1.8^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.57–7.29 (m, 5 H, Ph), 4.93 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.8$ Hz, $C(=O)OCH_2CCl_3$), 4.79 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4), 4.71 (d, 1 H, $C(=O)OCH_2CCl_3$), 4.63–4.58 (m, 2 H, H-1, H-3), 4.30–4.23 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 4.13 (td, 1 H, $J_{2,OH} = 2.6$ Hz, $J_{1,2} = J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2), 3.50 (br s, 1 H, H-5), 2.54 (d, 1 H, OH-2), 1.04 (s, 9 H, 'Bu), 1.00 (s, 9 H, 'Bu); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 153.5, 132.8, 129.1, 128.2, 94.3, 89.9, 81.4, 76.9, 74.9, 69.7, 67.1, 67.1, 27.5, 27.4, 23.3, 20.6; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 609.0675, $C_{23}H_{33}Cl_3O_7SSi$ calcd for $[M+Na]^+$ 609.0674.



Compound 2-31

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-30** (4.42 g, 7.52 mmol) を pyridine (75.0 mL) に溶かし、benzoic anhydride (2.56 g, 11.3 mmol)、4-dimethylaminopyridine (91.9 mg, 0.752 mmol) を $0^\circ C$ にて加え、室温で 20 時間撹拌した。反応終了を TLC (n -hexane/EtOAc = 3/1) で確認後、 $0^\circ C$ に冷却し、メタノールを加えて反応を停止し、トルエン共沸を行なった。残渣をクロロホルムで

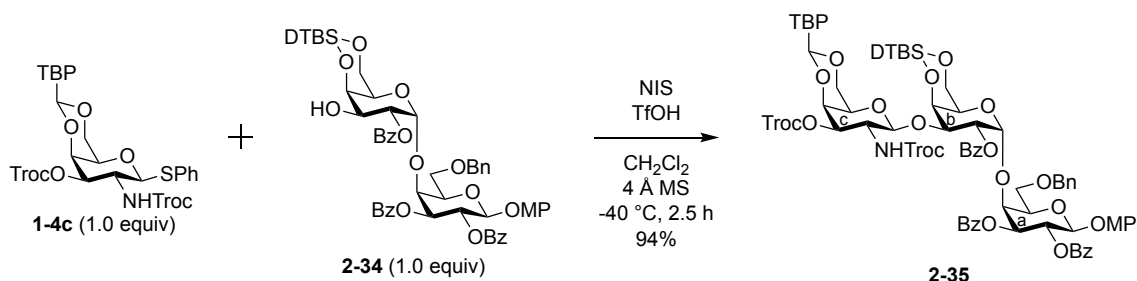
希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/EtOAc = 8/1) で精製し、**2-31** (5.01 g, 96%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +62.5° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.05–7.22 (m, 10 H, Ph), 5.79 (t, 1 H, $J_{1,2} = J_{2,3} = 9.9$ Hz, H-2), 4.95 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-3), 4.89 (d, 1 H, H-1), 4.80 (d, 1 H, H-4), 4.75 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.65 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.33–4.27 (m, 2 H, H-6a, H-6b), 3.57 (br s, 1 H, H-5), 1.15 (s, 9 H, ^tBu), 1.03 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 165.2, 153.7, 133.8, 133.4, 132.5, 129.9, 129.5, 128.9, 128.4, 127.9, 94.2, 87.6, 79.2, 76.8, 74.8, 70.3, 67.9, 67.0, 27.5, 27.5, 23.3, 20.7; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 713.0938, C₃₀H₃₇Cl₃O₈SSi calcd for [M+Na]⁺ 713.0936.



Compound 2-34

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-31** (2.74 g, 3.96 mmol)、受容体 **2-32** (1.34 g, 2.64 mmol) を CH₂Cl₂ (66.0 mL) に溶かし、活性化させたモレキュラーシーブス 4 Å (6.5 g)、*N*-iodosuccinimide (1.78 g, 7.92 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、0 °C に冷却し、trifluoromethanesulfonic acid (210 μ L, 2.38 mmol) を加え、更に 3 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 20/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/EtOAc = 90/1) で精製し、一晩真空乾燥した。得られた固体を AcOH (30.0 mL) に溶かし、zinc powder (15.4 g, 236 mmol) を加え、室温で 2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/EtOAc = 12/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をトルエン共沸した後、クロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/EtOAc = 20/1 \rightarrow 6/1) で精製し、**2-34** (2.04 g, 78%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +80.5° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.20–6.76 (m, 24 H, 5 Ar), 5.98 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, $J_{2,3} = 10.7$ Hz, H-2^a),

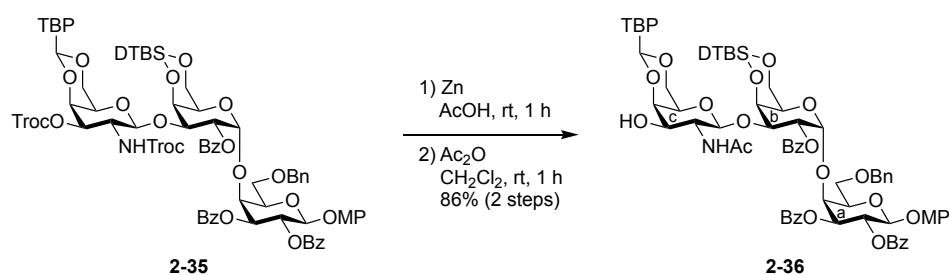
5.44 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^b), 5.31 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.8$ Hz, H-3^a), 5.16–5.14 (m, 2 H, H-1^a, H-1^b), 4.49 (d, 1 H, H-4^a), 4.46 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4^b), 4.27 (td, 1 H, $J_{3,\text{OH}} = 11.5$ Hz, H-3^b), 4.22 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.16 (d, 1 H, PhCH₂), 4.15 (br s, 1 H, H-5^b), 3.95 (near t, 1 H, H-5^a), 3.76 (s, 3 H, OMe), 3.69 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 7.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 9.4$ Hz, H-6a^a), 3.54 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.3$ Hz, H-6a^b), 3.37 (m, 2 H, H-6a^b, H-6b^b), 2.49 (d, 1 H, OH-3^b), 1.05 (s, 9 H, ^tBu), 0.99 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.6, 165.7, 165.5, 155.7, 151.1, 137.2, 133.7, 133.3, 133.2, 130.3, 129.8, 129.7, 129.4, 129.0, 129.0, 128.7, 128.4, 128.4, 128.2, 128.0, 127.9, 119.2, 114.5, 101.0, 98.0, 77.2, 73.8, 73.8, 73.7, 73.4, 73.3, 71.1, 69.5, 68.6, 67.7, 67.2, 66.2, 55.6, 27.5, 27.3, 23.3, 20.7; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 1013.3752, C₅₅H₆₂O₁₅Si calcd for [M+Na]⁺ 1013.3750.



Compound 2-35

Ar 雰囲気下にて、供与体 **1-4c** (2.98 g, 3.89 mmol)、受容体 **2-34** (3.86 g, 3.89 mmol) を CH₂Cl₂ (78.0 mL) に溶かし、*N*-iodosuccinimide (1.05 g, 4.67 mmol)、活性化したモレキュラーシーブス 4 Å (7.80 g) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、−40 °C に冷却し、trifluoromethanesulfonic acid (3.4 μ L, 38.9 μ mol) を加え、2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 20/1) で確認後、反応溶液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/EtOAc = 100/1) で精製し、**2-35** (6.04 g, 94%) を白色固体として得た。[α]_D +107.3° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ 8.24–6.79 (m, 29 H, 6 Ar, NH-2^c), 5.97 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.9$ Hz, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-2^a), 5.80 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 3.9$ Hz, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-2^b), 5.64 (s, 1 H, ArCH<), 5.56 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.8$ Hz, H-3^a), 5.49 (d, 1 H, H-1^a), 5.35 (d, 1 H, H-1^b), 5.32 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^c), 5.21 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 11.5$ Hz, H-3^c), 5.10 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.4$ Hz, H-4^b), 4.87 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.80 (d, 1 H, C(=O)OCH₂CCl₃), 4.61 (d, 1 H, H-4^c), 4.54 (d, 1 H, H-4^a), 4.51 (dd, 1 H, H-3^b), 4.36 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.5$ Hz, H-6a^c), 4.29 (t, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.8$ Hz, H-5^a), 4.26–4.21 (m, 4 H, H-5^b, H-6b^c, PhCH₂,

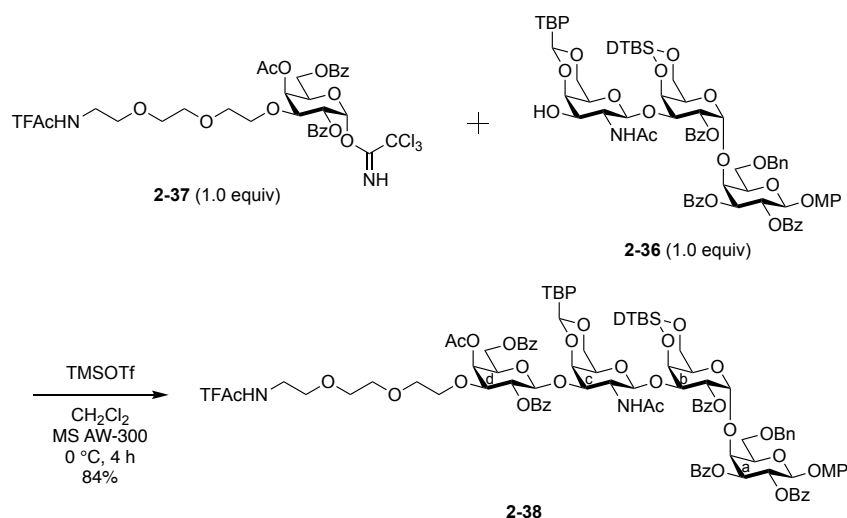
C(=O)OCH₂CCl₃), 4.15 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, PhCH₂), 4.06 (near q, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 8.5$ Hz, H-2^c), 3.91 (s, 1 H, H-5^c), 3.74–3.72 (m, 4 H, OMe, C(=O)OCH₂CCl₃), 3.64–3.54 (m, 3 H, H-6a^a, H-6b^a, H-6a^b), 3.48 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 0.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.3$ Hz, H-6b^b), 1.31 (s, 9 H, 'Bu), 1.08 (s, 9 H, 'Bu), 1.06 (s, 9 H, 'Bu); ¹³C NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ 166.6, 166.2, 156.6, 154.7, 154.2, 152.4, 152.2, 139.1, 136.8, 134.6, 134.3, 134.1, 131.3, 130.9, 130.6, 130.3, 130.2, 129.6, 129.5, 129.5, 129.1, 128.5, 128.4, 127.3, 125.5, 119.5, 115.3, 103.2, 101.6, 101.3, 98.8, 97.0, 95.5, 79.2, 78.3, 77.4, 76.7, 74.9, 74.7, 74.6, 74.4, 73.8, 73.5, 73.4, 70.8, 70.0, 69.6, 69.0, 68.8, 67.5, 67.0, 55.8, 53.2, 35.1, 31.6, 28.1, 28.0, 24.0, 21.3; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 1666.3463, C₇₈H₈₇Cl₆NO₂₃Si calcd for [M+Na]⁺ 1666.3462.



Compound 2-36

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-35** (100 mg, 60.7 μ mol) を AcOH (2.50 mL) に溶かし、zinc powder (500 mg, 7.64 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄、濾液の溶媒留去、トルエン共沸を行なった。残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晩真空乾燥した。残渣を CH₂Cl₂ (5.00 mL) に溶かし、acetic anhydride (8.6 μ L, 91.1 μ mol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/EtOAc = 20/1) で精製し、**2-36** (69.9 mg, 86%) を白色固体として得た。[α]_D +101.8° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.21–6.75 (m, 28 H, 6 Ar), 6.03 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.9$ Hz, H-2^a), 5.74 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^b), 5.59 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 3.5$ Hz, NH-2^c), 5.55 (s, 1 H, ArCH<), 5.35 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.9$ Hz, H-3^a), 5.20 (d, 1 H, H-1^b), 5.11 (d, 1 H, H-1^a), 4.81 (d, 1 H, $J_{3,\text{OH}} = 5.5$ Hz, OH-3^c), 4.76 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1^c), 4.74 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4^b), 4.51 (d, 1 H, H-4^a), 4.41 (br d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a^c), 4.29 (dd, 1 H, H-3^b), 4.18–4.15 (m, 2 H, H-4^c, PhCH₂), 4.12 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.11 (br d, 1 H, H-6b^c), 4.04 (br s, 1 H, H-5^b), 3.94 (near t, 1 H, H-5^a), 3.88–3.80 (m, 2 H, H-2^c, H-3^c), 3.76 (s, 3 H, OMe), 3.63 (br s, 1 H, H-5^c), 3.57 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 7.3$ Hz, $J_{\text{gem}} = 9.3$ Hz, H-6a^a), 3.48 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.8$ Hz, H-6b^a), 3.34–3.28 (m, 2 H, H-6a^b, H-6b^b), 1.41 (s, 3 H, Ac), 1.31 (s, 9 H, 'Bu), 1.06 (s, 9 H, 'Bu), 0.99 (s, 9 H, 'Bu);

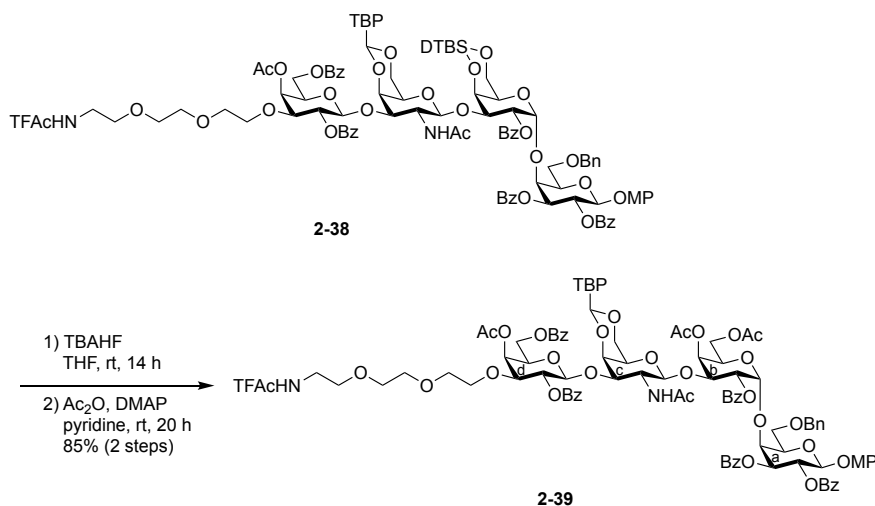
^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.8, 166.1, 165.8, 165.7, 155.7, 152.0, 151.3, 137.2, 135.1, 133.8, 133.8, 133.4, 130.2, 129.7, 129.7, 129.3, 129.2, 128.9, 128.8, 128.5, 128.4, 128.0, 127.9, 126.4, 125.0, 119.1, 114.5, 101.9, 101.5, 101.5, 97.7, 76.3, 75.0, 73.8, 73.6, 73.5, 73.3, 73.0, 71.9, 69.7, 69.5, 69.1, 68.0, 67.2, 66.9, 66.4, 55.7, 55.6, 34.6, 31.3, 27.5, 23.4, 22.6, 20.6; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1360.5485, $\text{C}_{74}\text{H}_{87}\text{NO}_{20}\text{Si}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1360.5483.



Compound 2-38

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-37** (208 mg, 0.259 mmol)、受容体 **2-36** (347 mg, 0.259 mmol) を CH_2Cl_2 (5.20 mL) に溶かし、活性化させたモレキュラーシーブス AW-300 (700 mg) を加え、室温で 1 時間撹拌した後、 $0\text{ }^\circ\text{C}$ に冷却し、trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (4.7 μL , 25.9 μmol) を加え、更に 4 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/ CHCl_3 /EtOAc = 3/1/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/ CHCl_3 /EtOAc = 5/1/1) で精製し、**2-38** (432 mg, 84%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +61.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.08–6.72 (m, 39 H, 8 Ar, $\text{CF}_3\text{C}(=\text{O})\text{NH}$), 5.92 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0\text{ Hz}$, $J_{2,3} = 11.0\text{ Hz}$, H-2^a), 5.58–5.55 (m, 2 H, H-2^b, H-4^d), 5.41 (s, 1 H, ArCH<), 5.34–5.28 (m, 3 H, H-3^a, H-2^d, NH-2^c), 5.23 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.5\text{ Hz}$, H-1^c), 5.15 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.8\text{ Hz}$, H-1^b), 5.08 (d, 1 H, H-1^a), 4.84 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.3\text{ Hz}$, $J_{2,3} = 11.3\text{ Hz}$, H-3^c), 4.72 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0\text{ Hz}$, H-1^d), 4.68 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.8\text{ Hz}$, H-4^b), 4.60 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 7.7\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 11.5\text{ Hz}$, H-6a^d), 4.37 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0\text{ Hz}$, H-4^a), 4.30–4.27 (m, 2 H, H-4^c, H-6b^d), 4.22 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.5\text{ Hz}$, H-3^b), 4.18 (br d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.3\text{ Hz}$, H-6a^c), 4.08–4.03 (m, 3 H, H-5^b, 2 PhCH₂), 4.01 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 4.9\text{ Hz}$, H-5^d), 3.88 (t, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5\text{ Hz}$, H-5^a), 3.75 (s, 3 H,

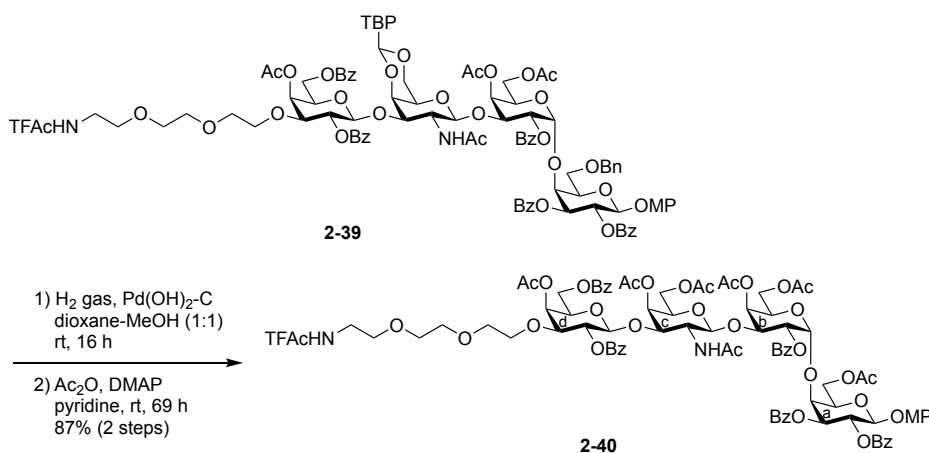
OMe), 3.71–3.67 (m, 2 H, H-3^d, OCH₂), 3.63 (br d, 1 H, H-6b^c), 3.51–3.25 (m, 17 H, H-6a^a, H-6b^a, H-6a^b, H-6b^b, H-2^c, H-5^c, 9 OCH₂, 2 NHCH₂), 2.20 (s, 3 H, Ac), 1.33 (s, 9 H, ^tBu), 0.99 (s, 9 H, ^tBu), 0.89 (s, 9 H, ^tBu), 0.66 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.0, 170.7, 166.0, 166.0, 165.9, 165.5, 164.9, 157.4, 157.1, 155.6, 151.5, 151.3, 137.5, 135.5, 133.6, 133.6, 133.3, 133.3, 133.1, 130.3, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.4, 129.4, 128.9, 128.7, 128.5, 128.4, 128.4, 128.3, 127.7, 126.3, 124.9, 118.9, 117.1, 114.8, 114.4, 102.5, 101.2, 100.8, 99.6, 98.0, 78.9, 76.0, 74.9, 74.1, 74.0, 73.9, 73.5, 73.2, 71.3, 71.0, 70.8, 70.5, 70.2, 70.1, 69.6, 69.4, 69.0, 68.6, 68.1, 68.0, 66.7, 66.5, 66.2, 62.9, 55.6, 54.9, 39.6, 34.6, 31.3, 27.5, 27.3, 23.3, 22.4, 20.9, 20.6; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 1999.7412, C₁₀₄H₁₁₉F₃N₂O₃₁Si calcd for [M+Na]⁺ 1999.7410.



Compound 2-39

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-38** (893 mg, 0.451 mmol) を THF (4.50 mL) に溶かし、1 M tributylamine hydrofluoride in THF (4.51 mL, 4.51 mmol) を加え、室温で 14 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 1/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を pyridine (4.50 mL) に溶かし、acetic anhydride (170 μL, 1.80 mmol)、4-dimethylaminopyridine (5.5 mg, 45.1 μmol) を 0 °C にて加え、室温で 20 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 1/1) で確認後、メタノールを加えて反応を停止し、トルエン共沸を行なった。混合物をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 4/3) で精製し、**2-39** (736 mg, 85%) を白色固体として得た。[α]_D +60.3° (c 1.0,

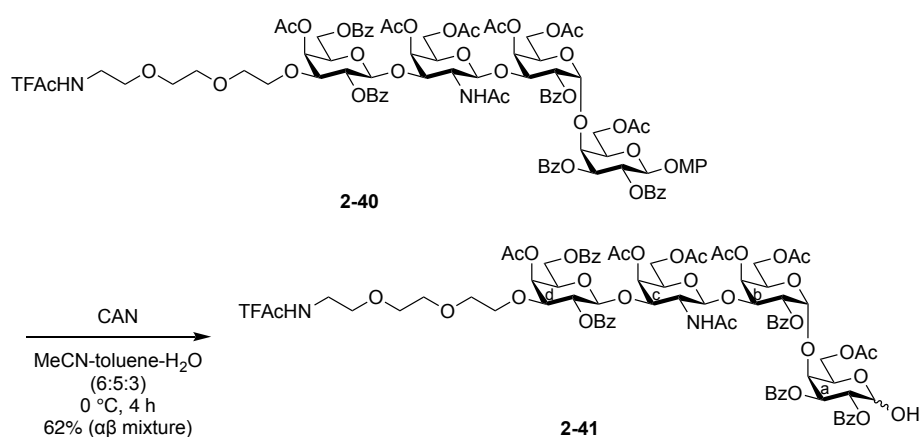
CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.09–6.73 (m, 39 H, 8 Ar, CF₃C(=O)NH), 6.01 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 7.7 Hz, *J*_{2,3} = 10.8 Hz, H-2^a), 5.56 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.2 Hz, H-4^d), 5.49 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, H-2^b), 5.44 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 2.5 Hz, H-4^b), 5.36–5.33 (m, 2 H, H-3^a, ArCH<), 5.31 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 8.3 Hz, *J*_{2,3} = 9.8 Hz, H-2^d), 5.22 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1^c), 5.19 (d, 1 H, H-1^b), 5.09 (d, 1 H, H-1^a), 5.01 (d, 1 H, *J*_{2,NH} = 6.5 Hz, NH-2^c), 4.72–4.69 (m, 2 H, H-3^c, H-1^d), 4.58 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 7.4 Hz, *J*_{gem} = 11.4 Hz, H-6a^d), 4.50 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-4^a), 4.47–4.44 (m, 2 H, H-3^b, H-4^c), 4.29 (dd, 1 H, *J*_{5,6b} = 5.3 Hz, H-6b^d), 4.25–4.22 (m, 2 H, H-5^b, PhCH₂), 4.19 (br d, 1 H, *J*_{gem} = 11.5 Hz, H-6a^c), 4.10 (d, 1 H, *J*_{gem} = 12.0 Hz, PhCH₂), 4.04 (dd, 1 H, H-5^d), 3.90 (t, 1 H, *J*_{5,6a} = *J*_{5,6b} = 7.0 Hz, H-5^a), 3.76 (s, 3 H, OMe), 3.72–3.67 (m, 2 H, H-3^d, OCH₂), 3.58 (br d, 1 H, H-6b^c), 3.52–3.27 (m, 16 H, H-6a^a, H-6b^a, H-6a^b, H-6b^b, H-5^c, 9 OCH₂, 2 NHCH₂), 3.19 (m, 1 H, H-2^c), 2.19 (s, 3 H, Ac), 2.04 (s, 3 H, Ac), 1.79 (s, 3 H, Ac), 1.31 (s, 9 H, ^tBu), 0.94 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.1, 170.7, 170.1, 169.9, 166.0, 165.9, 165.8, 165.4, 164.9, 157.4, 157.1, 155.6, 151.7, 151.3, 137.3, 135.5, 133.6, 133.6, 133.3, 133.1, 130.2, 129.9, 129.7, 129.7, 129.6, 129.5, 129.4, 128.8, 128.7, 128.4, 128.4, 127.8, 127.7, 126.4, 125.0, 119.0, 117.1, 114.5, 102.5, 101.1, 101.0, 98.4, 96.8, 78.8, 76.2, 75.8, 73.7, 73.5, 73.2, 72.8, 72.5, 71.3, 71.1, 70.9, 70.5, 70.2, 70.1, 69.7, 69.5, 68.8, 68.6, 67.2, 66.7, 66.5, 62.9, 61.5, 55.7, 54.7, 39.6, 34.6, 31.3, 29.3, 22.6, 20.9, 20.9, 20.6; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 1943.6601, C₁₀₀H₁₀₇F₃N₂O₃₃ calcd for [M+Na]⁺ 1943.6600.



Compound 2-40

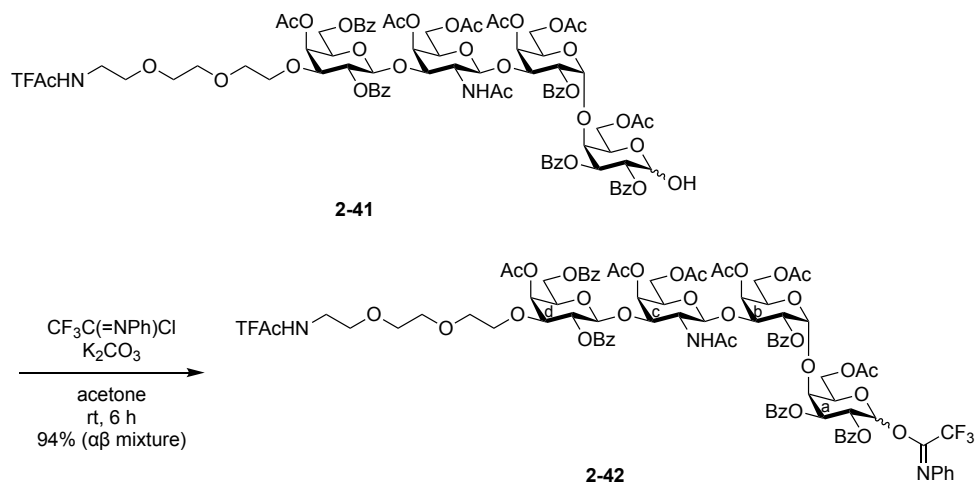
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-39** (736 mg, 0.383 mmol) を 1,4-dioxane/MeOH = 1/1 (19.0 mL) に溶かし、palladium hydroxide (53.8 mg, 20% on carbon) を加え、H₂ 気流下にて室温で 16 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄、濾液の溶媒留去を行ない、一晩真空乾燥した。残渣を pyridine (3.80 mL) に溶かし、acetic anhydride (145 μL, 1.53 mmol)、4-dimethylaminopyridine (4.7 mg, 38.3

μmol) を $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ にて加え、室温で 20 時間攪拌した。反応の進行を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$) で確認後、acetic anhydride ($145\text{ }\mu\text{L}$, 1.53 mmol) を追加し、更に 49 時間確認した。反応終了後、TLC で確認後、 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ に冷却し、メタノールを加えて反応を停止した。トルエン共沸を行なった後、残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 3/1) で精製し、**2-40** (607 mg , 87%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}} +72.7^{\circ}$ (c 1.0, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz , CDCl_3) δ 8.06–6.78 (m, 30 H, 6 Ar, $\text{CF}_3\text{C}(=\text{O})\text{NH}$), 5.93 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.8\text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.5\text{ Hz}$, H-2^a), 5.54 (m, 2 H, H-4^b, H-4^d), 5.48 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5\text{ Hz}$, H-4^c), 5.42 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 3.5\text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.5\text{ Hz}$, H-2^b), 5.29 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0\text{ Hz}$, H-3^a), 5.23 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.9\text{ Hz}$, $J_{2,3} = 9.9\text{ Hz}$, H-2^d), 5.21 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0\text{ Hz}$, H-1^c), 5.17 (d, 1 H, H-1^b), 5.11 (d, 1 H, H-1^a), 5.08 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 6.5\text{ Hz}$, NH-2^c), 4.77 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11.0\text{ Hz}$, H-3^c), 4.62 (d, 1 H, H-1^d), 4.50 (near t, 1 H, $J_{5,6b} = 6.0\text{ Hz}$, $J_{5,6a} = 7.0\text{ Hz}$, H-5^c), 4.47 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 6.8\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 11.4\text{ Hz}$, H-6a^d), 4.43–4.40 (m, 2 H, H-3^b, H-6a^b), 4.35 (d, 1 H, H-4^a), 4.31 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.5\text{ Hz}$, H-6b^d), 4.10 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 11.5\text{ Hz}$, H-6a^a), 4.02–3.93 (m, 4 H, H-6b^a, H-5^b, H-6b^b, H-5^d), 3.87 (near t, 1 H, $J_{5,6b} = 7.0\text{ Hz}$, H-5^a), 3.80–3.75 (m, 4 H, H-6a^c, OMe), 3.70 (m, 1 H, OCH_2), 3.65 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0\text{ Hz}$, H-3^d), 3.53 (dd, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.0\text{ Hz}$, H-6b^c), 3.51–3.23 (m, 11 H, 9 OCH_2 , 2 NHCH_2), 3.02 (m, 1 H, H-2^c), 2.16 (s, 3 H, Ac), 2.12 (s, 3 H, Ac), 2.07 (s, 3 H, Ac), 2.05 (s, 3 H, Ac), 1.88 (s, 3 H, Ac), 1.87 (s, 3 H, Ac), 0.73 (s, 3 H, Ac); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz , CDCl_3) δ 170.8, 170.6, 170.4, 170.3, 170.0, 170.0, 169.1, 166.2, 166.1, 165.8, 165.2, 165.0, 157.4, 155.7, 151.1, 133.7, 133.6, 133.4, 133.3, 130.0, 129.9, 129.7, 129.7, 129.6, 129.3, 128.9, 128.7, 128.6, 128.6, 128.5, 128.5, 128.5, 118.8, 117.1, 114.5, 101.7, 101.0, 98.7, 98.4, 78.6, 77.6, 74.8, 74.6, 73.4, 72.4, 72.0, 71.5, 71.4, 70.8, 70.8, 70.4, 70.2, 70.2, 70.1, 70.0, 69.4, 69.2, 68.5, 67.7, 66.4, 62.6, 62.0, 61.3, 61.0, 55.7, 55.5, 39.6, 22.2, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1835.5513, $\text{C}_{88}\text{H}_{95}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_{36}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1835.5509.



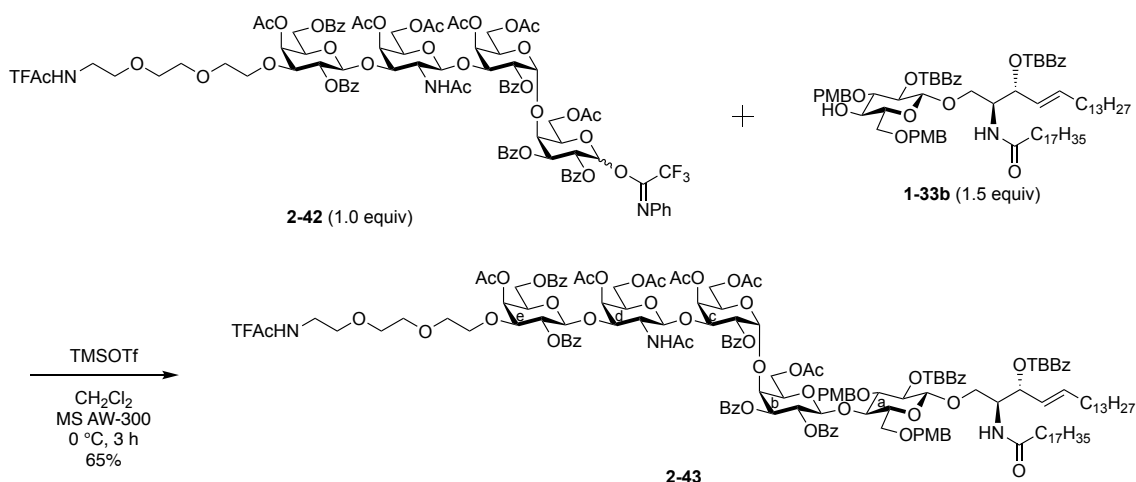
Compound 2-41

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-40** (595 mg, 0.328 mmol) を MeCN/toluene/H₂O = 6/5/3 (6.60 mL) に溶かし、cerium (IV) ammonium nitrate (1.80 g, 3.28 mmol) を 0 °C にて加え、4 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 30/1, developed twice) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 80/1) で精製し、**2-41** (349 mg, 62%, $\alpha:\beta = 1:0.3$) を白色固体として得た。 α isomer; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06–7.33 (m, 25 H, 5 Ph), 7.17 (br s, 1 H, CF₃C(=O)NH), 5.75 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.9$ Hz, H-3^a), 5.71 (near t, 1 H, $J_{1,\text{OH}} = 3.0$ Hz, $J_{1,2} = 3.4$ Hz, H-1^a), 5.61 (dd, 1 H, H-2^a), 5.55 (m, 1 H, H-4^d), 5.51–5.49 (m, 2 H, H-4^b, H-4^c), 5.41 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 3.4$ Hz, $J_{2,3} = 10.3$ Hz, H-2^b), 5.26–5.21 (m, 2 H, H-1^c, H-2^d), 5.19 (d, 1 H, H-1^b), 5.11 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 6.5$ Hz, NH-2^c), 4.76 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.8$ Hz, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-3^c), 4.62 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1^d), 4.50–4.46 (m, 2 H, H-5^c, H-6a^d), 4.40–4.36 (m, 2 H, H-3^b, H-6a^b), 4.33–4.28 (m, 2 H, H-4^a, H-6b^d), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a^a), 4.02–3.99 (m, 2 H, H-6b^a, H-6b^b), 3.96–3.94 (m, 2 H, H-5^b, H-5^d), 3.86 (near t, 1 H, H-5^a), 3.77–3.64 (m, 3 H, H-6a^c, H-3^d, OCH₂), 3.59 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 7.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.4$ Hz, H-6b^c), 3.51–3.24 (m, 11 H, 9 OCH₂, 2 NHCH₂), 3.02 (m, 1 H, H-2^c), 2.80 (d, 1 H, OH-1^a), 2.17 (s, 3 H, Ac), 2.12 (s, 3 H, Ac), 2.06 (s, 3 H, Ac), 2.05 (s, 3 H, Ac), 1.87 (s, 3 H, Ac), 1.70 (s, 3 H, Ac), 0.72 (s, 3 H, Ac); HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 1729.5090, C₈₁H₈₉F₃N₂O₃₅ calcd for [M+Na]⁺ 1729.5090.



Compound 2-42

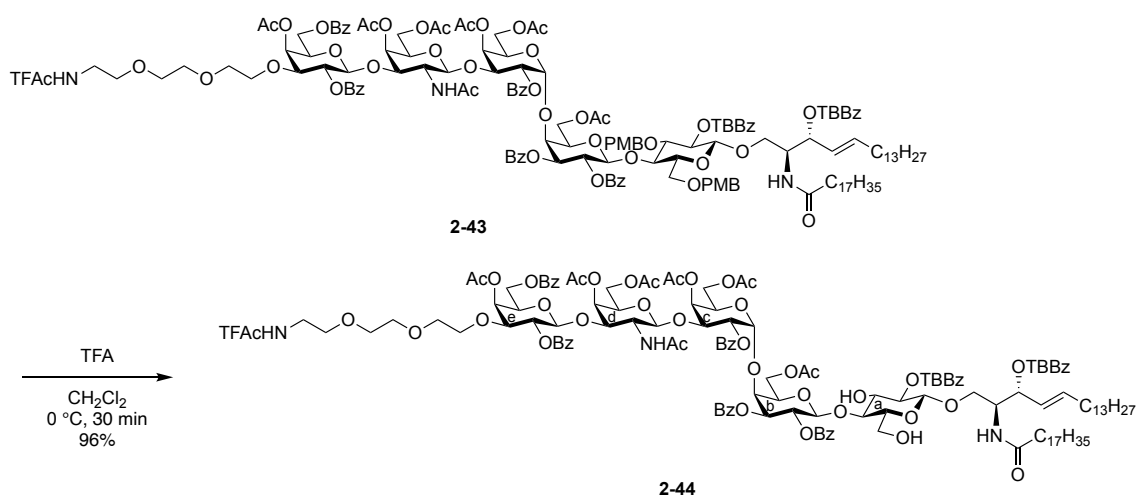
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-41** (32.7 mg, 19.1 μmol) を acetone (0.38 mL) に溶かし、2,2,2-trifluoro-*N*-phenylacetimidoyl chloride (6.2 μL , 38.3 μmol)、potassium carbonate (13.2 mg, 95.7 μmol) を加え、室温で 6 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$) で確認後、固形物の濾別、クロロホルムによる洗浄、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 80/1$) で精製し、**2-42** (33.9 mg, 94%, $\alpha:\beta = 1:0.3$) を白色固体として得た。 α isomer; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.06–6.48 (m, 31 H, 6 Ph, $\text{CF}_3\text{C(=O)NH}$), 6.05 (br s, 1 H, H-1^a), 5.87 (br dd, 1 H, H-2^a), 5.74 (br dd, 1 H, H-3^a), 5.55 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4^d), 5.52 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4^b), 5.49 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, H-4^c), 5.41 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^b), 5.25–5.19 (m, 3 H, H-1^b, H-1^c, H-2^d), 5.13 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 6.5$ Hz, NH-2^c), 4.75 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, H-3^c), 4.63 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 4.50–4.46 (m, 2 H, H-5^c, H-6a^d), 4.42 (br s, 1 H, H-4^a), 4.39–4.36 (m, 2 H, H-3^b, H-5^b), 4.33–4.27 (m, 2 H, H-6a^b, H-6b^d), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a^a), 4.04–3.97 (m, 2 H, H-6b^a, H-6b^b), 3.95 (near t, 1 H, H-5^d), 3.86 (near t, 1 H, H-5^a), 3.76 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 6.3$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.3$ Hz, H-6a^c), 3.72–3.64 (m, 2 H, H-3^d, OCH_2), 3.61 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.5$ Hz, H-6b^c), 3.50–3.24 (m, 11 H, 9 OCH_2 , 2 NHCH_2), 3.03 (m, 1 H, H-2^c), 2.16 (s, 3 H, Ac), 2.12 (s, 3 H, Ac), 2.06 (s, 3 H, Ac), 2.05 (s, 3 H, Ac), 1.90 (s, 3 H, Ac), 1.75 (s, 3 H, Ac), 0.73 (s, 3 H, Ac); HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1900.5390, $\text{C}_{89}\text{H}_{93}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_{35}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1900.5386.



Compound 2-43

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-42** (50.0 mg, 26.6 μ mol)、受容体 **1-33b** (51.4 mg, 39.9 μ mol) を CH₂Cl₂ (1.30 mL) に溶解し、活性化したモレキュラーシーブス AW-300 (130 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、0 °C に冷却し、trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (0.96 μ L, 5.32 μ mol) を加え、3 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応溶液を中和し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 10/1 \rightarrow 4/1) で精製し、**2-43** (51.4 mg, 65%) を白色固体として得た。[α]_D +50.7° (c 1.9, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06–6.66 (m, 42 H, 9 Ar, CF₃C(=O)NH), 5.78 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} = 15.5$ Hz, H-5^{Cer}), 5.68–5.64 (m, 2 H, H-2^b, NH-2^{Cer}), 5.53 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4^e), 5.46 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 7.4$ Hz, H-3^{Cer}), 5.44 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.0$ Hz, H-4^c), 5.39 (dd, 1 H, H-4^{Cer}), 5.34–5.31 (m, 2 H, H-2^c, H-4^d), 5.19 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, H-2^e), 5.17–5.13 (m, 2 H, H-2^a, H-1^c), 5.09 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.8$ Hz, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-3^b), 5.03 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 7.0$ Hz, NH-2^d), 4.94 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 4.91 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^b), 4.67 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.8$ Hz, ArCH₂), 4.62 (d, 1 H, ArCH₂), 4.58 (d, 1 H, H-1^e), 4.54 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, H-3^d), 4.48 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 6.5$ Hz, $J_{gem} = 11.0$ Hz, H-6a^e), 4.43–4.41 (m, 2 H, H-5^d, ArCH₂), 4.37–4.22 (m, 6 H, H-1^a, H-4^b, H-3^c, H-6b^e, H-1a^{Cer}, H-2^{Cer}), 4.11–4.05 (m, 2 H, H-4^a, ArCH₂), 4.00–3.91 (m, 4 H, H-6a^b, H-6a^c, H-5^e, H-1b^{Cer}), 3.83–3.67 (m, 10 H, H-3^a, H-6b^b, H-5^c, H-6a^d, 2 OMe), 3.62–3.22 (m, 19 H, H-5^a, H-6a^a, H-6b^a, H-5^b, H-6b^c, H-6b^d, H-3^e, 10 OCH₂, 2 NHCH₂), 2.97 (m, 1 H, H-2^d), 2.15 (s, 3 H, Ac), 2.08 (s, 3 H, Ac), 2.07 (s, 3 H, Ac), 2.01 (s, 3 H, Ac), 1.96–1.92 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.89 (s, 3 H, Ac), 1.81 (s, 3 H, Ac), 1.71–1.66 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂), 1.38–1.08 (m, 70 H, 26 CH₂^{Cer}, 2 ^tBu), 0.89–0.85 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}), 0.60 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.6, 170.5, 170.4, 170.3,

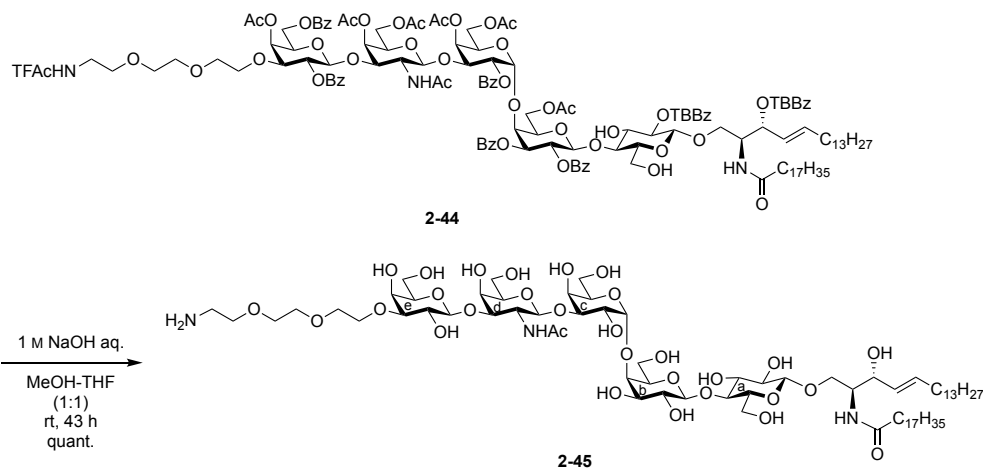
169.9, 169.9, 169.9, 166.2, 166.0, 165.8, 165.2, 165.1, 165.0, 165.0, 159.3, 159.0, 157.4, 157.1, 157.0, 156.5, 137.1, 133.6, 133.6, 133.4, 133.3, 133.3, 130.5, 130.1, 129.9, 129.8, 129.7, 129.7, 129.7, 129.6, 129.6, 129.6, 129.5, 129.1, 128.9, 128.8, 128.8, 128.7, 128.5, 128.5, 127.6, 126.8, 125.4, 125.3, 124.9, 117.1, 114.8, 113.9, 113.7, 101.5, 101.1, 100.6, 99.2, 98.4, 79.0, 78.6, 77.6, 75.3, 74.8, 74.7, 74.1, 73.5, 73.4, 73.3, 73.2, 72.5, 72.1, 71.5, 70.9, 70.7, 70.4, 70.3, 70.1, 70.1, 69.1, 68.5, 67.7, 67.5, 67.4, 66.3, 62.3, 61.8, 61.1, 60.9, 55.2, 50.4, 39.6, 36.4, 35.2, 35.0, 32.3, 31.9, 31.1, 30.0, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.3, 29.0, 25.6, 22.7, 22.0, 21.6, 20.8, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found $[M/2+Na]^+$ 1511.1882, $C_{161}H_{208}F_3N_3O_{46}$ calcd for $[M/2+Na]^+$ 1511.1883.



Compound 2-44

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-43** (55.5 mg, 18.6 μ mol) を CH₂Cl₂ (1.20 mL) に溶かし、trifluoroacetic acid (620 μ L, 8.10 mmol) を 0 °C にて加え、30 分間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1, developed twice) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応溶液を中和した後、クロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 4/1) で精製し、**2-44** (49.0 mg, 96%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_D^{+58.7^\circ}$ (c 1.1, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.05–7.03 (m, 34 H, 7 Ar, CF₃C(=O)NH), 5.90 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} = 15.5$ Hz, H-5^{Cer}), 5.80 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 10.0$ Hz, NH-2^{Cer}), 5.76 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-2^b), 5.59 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.8$ Hz, H-3^{Cer}), 5.54 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4^e), 5.50 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.2$ Hz, H-4^d), 5.48–5.41 (m, 3 H, H-2^c, H-4^c, H-4^{Cer}), 5.25 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-3^b), 5.23 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, $J_{2,3} = 10.3$ Hz, H-2^e), 5.17 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 5.15–5.11 (m, 2 H, H-2^a, NH-2^d), 5.00 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^c), 4.89 (d, 1 H, H-1^b), 4.76 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11.0$ Hz,

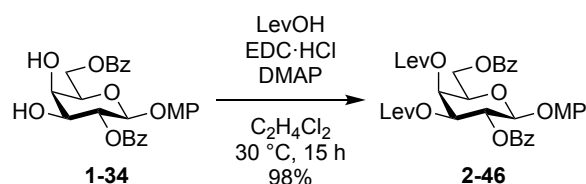
H-3^d), 4.61 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1^e), 4.50–4.41 (m, 4 H, H-1^a, H-5^d, H-6a^e, H-2^{Cer}), 4.33–4.27 (m, 3 H, H-4^b, H-3^c, H-6b^e), 4.20 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 7.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.3$ Hz, H-6a^b), 4.14–4.11 (m, 2 H, H-6a^c, OH-3^a), 4.03–3.85 (m, 8 H, H-3^a, H-4^a, H-5^b, H-6b^b, H-5^c, H-6b^c, H-5^e, H-1a^{Cer}), 3.70 (m, 1 H, OCH₂), 3.67–3.63 (m, 2 H, H-6a^d, H-3^e), 3.55 (dd, 1 H, $J_{1b,2} = 3.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 9.5$ Hz, H-1b^{Cer}), 3.50–3.24 (m, 13 H, H-6a^a, H-6b^d, 9 OCH₂, 2 NHCH₂), 3.16 (br d, 1 H, H-5^a), 3.04–2.97 (m, 2 H, H-6b^a, H-2^d), 2.90 (br s, 1 H, OH-6^a), 2.16 (s, 3 H, Ac), 2.11 (s, 3 H, Ac), 2.09 (s, 3 H, Ac), 2.03 (s, 3 H, Ac), 2.00–1.96 (m, 4 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}, NHC(=O)CH₂), 1.84 (s, 3 H, Ac), 1.83 (s, 3 H, Ac), 1.49–1.22 (m, 70 H, 26 CH₂^{Cer}, 2 ^tBu), 0.89–0.86 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}), 0.65 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 170.9, 170.5, 170.4, 170.1, 170.0, 169.9, 169.0, 166.0, 165.9, 165.6, 165.5, 165.2, 165.0, 157.4, 157.1, 157.0, 157.0, 138.5, 133.7, 133.5, 133.4, 133.3, 129.8, 129.8, 129.7, 129.7, 129.6, 129.5, 128.9, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.5, 127.3, 125.5, 125.4, 124.9, 117.1, 114.8, 102.2, 101.6, 99.7, 98.8, 98.3, 80.9, 78.6, 77.6, 77.3, 74.6, 74.2, 74.0, 74.0, 73.5, 73.4, 72.7, 72.6, 71.6, 71.2, 70.8, 70.8, 70.4, 70.2, 70.2, 70.1, 69.3, 69.2, 69.1, 68.5, 67.6, 66.4, 66.2, 62.5, 62.0, 61.2, 61.0, 59.6, 55.5, 50.4, 39.6, 36.8, 35.2, 35.1, 32.3, 31.9, 31.2, 31.1, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 29.3, 28.9, 25.6, 22.7, 22.0, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.2, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found [M/2+Na]⁺ 1391.1305, C₁₄₅H₁₉₂F₃N₃O₄₄ calcd for [M/2+Na]⁺ 1391.1308.



Compound 2-45

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-44** (37.5 mg, 13.7 μ mol) を MeOH/THF = 1/1 (4.60 mL) に溶かし、1 M aq. sodium hydroxide (274 μ L, 0.274 mmol) を加え、室温で 43 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH/H₂O/AcOH = 5/4/1/0.2) で確認後、Muromac (H⁺) を加えて反応溶液を中和し、樹脂の濾別、クロロホルム-メタノール (1:1) 混合溶媒による樹脂の洗浄、濾液の溶媒留去、エタノール共沸を行なった。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 (CHCl₃/MeOH/H₂O/28% NH₃ aq. = 5/1/0.05/0 \rightarrow 5/4/1/0 \rightarrow 3/3/1/0.1) で精製し、**2-45** (22.3

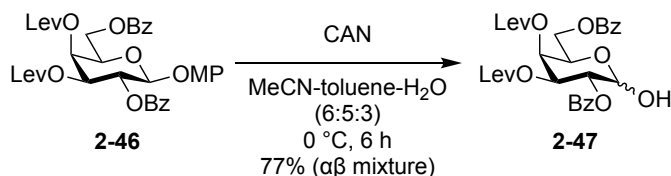
mg, quant.) を白色固体として得た。[α]_D +24.0° (c 1.0, CHCl₃/MeOH = 1/1); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD = 1/1) δ 5.70 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} = 15.4$ Hz, H-5^{Cer}), 5.45 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 7.8$ Hz, H-4^{Cer}), 4.99 (d, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1^c), 4.75–4.29 (4 d, 4 H, H-1^a, H-1^b, H-1^d, H-1^e), 4.22–3.27 (m, 44 H, H-2^a, H-3^a, H-4^a, H-5^a, H-6a^a, H-6b^a, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6a^b, H-6b^b, H-2^c, H-3^c, H-4^c, H-5^c, H-6a^c, H-6b^c, H-2^d, H-3^d, H-4^d, H-5^d, H-6a^d, H-6b^d, H-2^e, H-3^e, H-4^e, H-5^e, H-6a^e, H-6b^e, H-1a^{Cer}, H-1b^{Cer}, H-2^{Cer}, H-3^{Cer}, 5 OCH₂), 2.92–2.90 (m, 2 H, NH₂CH₂), 2.19–2.16 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂), 2.05–2.02 (m, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.99 (s, 3 H, Ac), 1.60–1.58 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂CH₂), 1.38–1.27 (m, 50 H, 25 CH₂^{Cer}), 0.90–0.88 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃/CD₃OD = 1/1) δ 175.2, 174.4, 172.6, 134.9, 130.1, 129.4, 128.7, 125.7, 105.4, 104.6, 103.6, 103.2, 102.3, 82.6, 80.5, 80.5, 80.3, 80.2, 78.7, 75.7, 75.6, 75.4, 75.2, 74.0, 74.0, 72.5, 72.2, 71.7, 71.5, 71.0, 70.8, 70.3, 69.7, 69.3, 69.2, 68.8, 68.4, 66.3, 62.3, 62.0, 61.2, 61.0, 53.8, 52.8, 51.9, 41.1, 39.5, 37.0, 32.9, 32.4, 32.1, 30.9, 30.2, 30.2, 30.2, 30.1, 30.1, 30.0, 29.9, 29.9, 29.9, 29.8, 26.5, 23.2, 23.1, 21.5, 21.0, 14.3, 14.2; HRMS (ESI) m/z : found [M+H]⁺ 1548.9364, C₇₄H₁₃₇N₃O₃₀ calcd for [M+H]⁺ 1548.9360.



Compound 2-46

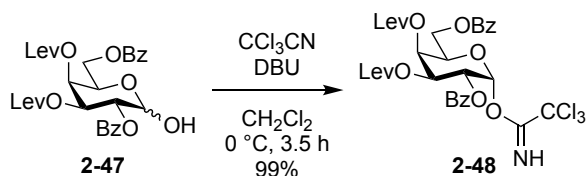
Ar 雰囲気下にて、化合物 **1-34** (1.00 g, 2.02 mmol) を C₂H₄Cl₂ (40.0 mL) に溶かし、4-dimethylaminopyridine (247 mg, 2.02 mmol)、levulinic acid (622 μ L, 6.07 mmol)、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (1.16 g, 6.07 mmol) を加え、30 °C で 15 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 30/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 1/1 \rightarrow 2/3) で精製し、**2-46** (1.37 mg, 98%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +20.0° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.05–6.64 (m, 14 H, 3 Ar), 5.74 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.5$ Hz, H-2), 5.62 (near d, 1 H, $J_{3,4} = 3.4$ Hz, H-4), 5.27 (dd, 1 H, H-3), 5.06 (d, 1 H, H-1), 4.57 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 8.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a), 4.44 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 5.5$ Hz, H-6b), 4.22 (near t, 1 H, H-5), 2.85–2.81 (m, 2 H, C(=O)CH₂), 2.79–2.71 (m, 2 H, C(=O)CH₂), 2.69–2.58 (m, 2 H, C(=O)CH₂), 2.52–2.41 (m, 2 H, C(=O)CH₂), 2.21 (s, 3 H, CH₂C(=O)Me), 2.03 (s, 3 H, CH₂C(=O)Me); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 206.0, 172.0, 171.9, 166.0, 165.2, 155.7, 151.1, 133.4,

133.3, 129.9, 129.8, 129.5, 129.3, 128.5, 128.5, 118.9, 114.4, 101.2, 71.4, 71.2, 69.3, 67.4, 62.0, 55.6, 37.9, 37.7, 29.8, 29.5, 27.9, 27.9; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 713.2205, $C_{37}H_{38}O_{13}$ calcd for $[M+Na]^+$ 713.2205.



Compound 2-47

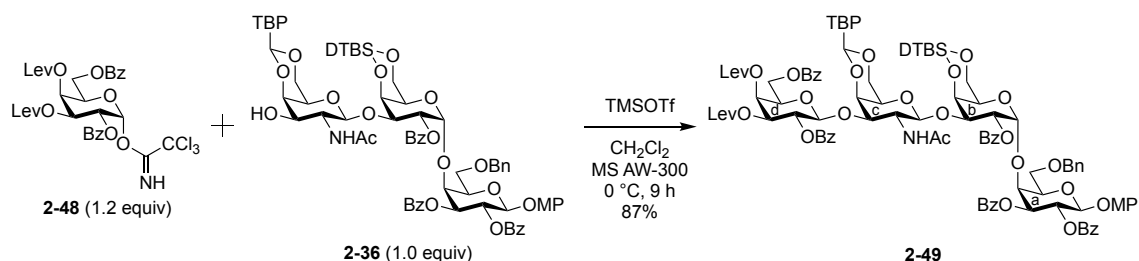
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-46** (127 mg, 0.184 mmol) を MeCN/toluene/ H_2O = 6/5/3 (3.70 mL) に溶かし、cerium (IV) ammonium nitrate (1.01 g, 1.84 mmol) を 0°C にて加え、6 時間撹拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 4/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene/acetone = 20/1 \rightarrow 10/1 \rightarrow 8/1 \rightarrow 3/1) で精製し、**2-47** (83.5 mg, 77%, $\alpha:\beta$ = 1:0.3) を白色泡状粉末として得た。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.06–7.42 (m, 20 H, 2 Ph α,β), 5.71 (t, 1 H, $J_{1,2} = J_{1,\text{OH}} = 2.8$ Hz, H-1 α), 5.68–5.64 (m, 2 H, H-3 α , H-4 α), 5.59 (br d, 1 H, H-4 β), 5.40 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2 α), 5.33–5.32 (m, 2 H, H-2 β , H-3 β), 4.87 (m, 1 H, H-1 β), 4.67 (t, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.8$ Hz, H-5 α), 4.54 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 6.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.4$ Hz, H-6 $\alpha\beta$), 4.48 (dd, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6 $\alpha\alpha$), 4.38 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.5$ Hz, H-6 $\beta\beta$), 4.32 (dd, 1 H, H-6 $\beta\alpha$), 4.16 (dd, 1 H, H-5 β), 3.96 (d, 1 H, $J_{1,\text{OH}} = 8.5$ Hz, OH-1 β), 3.03 (d, 1 H, OH-1 α), 2.80–2.40 (m, 16 H, 2 C(=O)CH $_{2\alpha,\beta}$), 2.18 (s, 3 H, CH $_2$ C(=O)Me β), 2.17 (s, 3 H, CH $_2$ C(=O)Me α), 2.05 (s, 3 H, CH $_2$ C(=O)Me α), 2.03 (s, 3 H, CH $_2$ C(=O)Me β); HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 607.1786, $C_{30}H_{32}O_{12}$ calcd for $[M+Na]^+$ 607.1786.



Compound 2-48

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-47** (640 mg, 1.09 mmol) を CH_2Cl_2 (22.0 mL) に溶かし、trichloroacetonitrile (2.20 mL, 21.9 mmol)、1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (32.7 μL , 0.219 mmol) を 0°C にて加え、3.5 時間撹拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ = 30/1) で確認

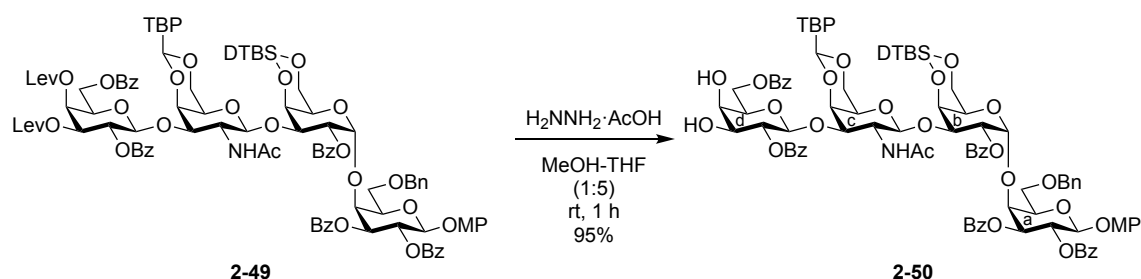
後、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene/acetone = 12/1) で精製し、**2-48** (785 mg, 99%) を無色シロップとして得た。 $[\alpha]_D^{+89.7^\circ}$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.58 (s, 1 H, $\text{C}(=\text{NH})\text{CCl}_3$), 8.02–7.43 (m, 10 H, 2 Ph), 6.76 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.0$ Hz, H-1), 5.74 (m, 1 H, H-4), 5.69–5.64 (m, 2 H, H-2, H-3), 4.65 (near t, 1 H, H-5), 4.48 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 7.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a), 4.37 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.0$ Hz, H-6b), 2.85–2.60 (m, 6 H, 3 $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2$), 2.56–2.43 (m, 2 H, $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2$), 2.18 (s, 3 H, $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{Me}$), 2.04 (s, 3 H, $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{Me}$); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 206.0, 205.9, 171.9, 171.9, 165.9, 165.6, 160.5, 133.6, 133.2, 129.9, 129.7, 129.5, 128.8, 128.5, 93.6, 90.7, 69.4, 67.8, 67.8, 67.4, 62.0, 37.8, 37.7, 29.7, 29.5, 27.8, 27.8; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 750.0882, $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{Cl}_3\text{NO}_{12}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 750.0882.



Compound 2-49

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-48** (291 mg, 0.399 mmol)、受容体 **2-36** (446 mg, 0.333 mmol) を CH_2Cl_2 (7.30 mL) に溶かし、活性化させたモレキュラーシーブス AW-300 (1.00 g) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、 0°C に冷却し、trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (6.0 μL , 33.3 μmol) を加え、更に 9 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene /acetone = 5/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 8/1 \rightarrow 7/1) で精製し、**2-49** (551 mg, 87%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_D^{+62.4^\circ}$ (c 0.9, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.08–6.72 (m, 38 H, 8 Ar), 5.93 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, $J_{2,3} = 10.9$ Hz, H-2^a), 5.56 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^b), 5.40 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, H-4^d), 5.43 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.3$ Hz, H-2^d), 5.41 (s, 1 H, ArCH<), 5.31 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-3^a), 5.25–5.23 (m, 2 H, H-1^c, NH-2^c), 5.17 (d, 1 H, H-1^b), 5.14 (dd, 1 H, H-3^d), 5.09 (d, 1 H, H-1^a), 4.87 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, H-3^c), 4.78 (d, 1 H, H-1^d), 4.70 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4^b), 4.66 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 7.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.3$ Hz, H-6a^d), 4.36 (d, 1 H, H-4^a), 4.27 (d, 1 H, H-4^c), 4.25–4.21 (m, 2 H, H-3^b, H-6b^d), 4.17 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a^c), 4.11 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, H-5^d), 4.07 (s, 3 H, H-5^b, PhCH_2), 3.89 (t, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5$

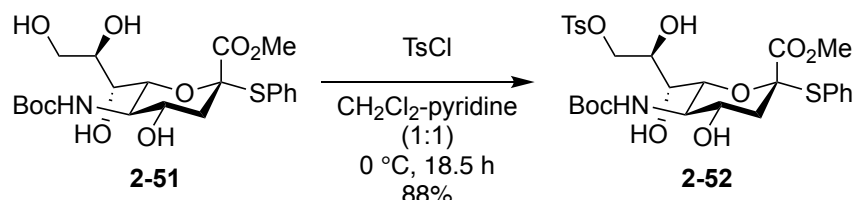
Hz, H-5^a), 3.74 (s, 3 H, OMe), 3.60 (d, 1 H, H-6b^c), 3.54–3.45 (m, 4 H, H-6a^a, H-6b^a, H-6a^b, H-6b^b), 3.37 (s, 1 H, H-5^c), 3.27 (m, 1 H, H-2^c), 2.75–2.72 (m, 4 H, 2 C(=O)CH₂), 2.56–2.52 (m, 2 H, C(=O)CH₂), 2.38–2.35 (m, 2 H, C(=O)CH₂), 2.11 (s, 3 H, CH₂C(=O)Me), 1.95 (s, 3 H, CH₂C(=O)Me), 1.33 (s, 9 H, ^tBu), 1.00 (s, 9 H, ^tBu), 0.91 (s, 9 H, ^tBu), 0.62 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 206.2, 205.9, 171.8, 171.7, 170.9, 166.0, 165.9, 165.5, 164.8, 155.6, 151.6, 151.3, 137.5, 135.6, 133.6, 133.5, 133.4, 133.3, 130.3, 129.8, 129.7, 129.6, 129.6, 129.4, 129.4, 129.4, 129.0, 128.9, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 127.7, 127.7, 126.4, 125.3, 124.9, 118.9, 114.4, 102.4, 101.1, 100.8, 99.7, 98.0, 75.9, 75.1, 74.1, 73.9, 73.5, 73.2, 71.1, 71.0, 69.6, 69.4, 69.3, 69.0, 68.1, 68.0, 67.5, 66.6, 66.2, 62.4, 55.6, 54.8, 37.8, 37.7, 34.6, 31.4, 29.7, 29.4, 28.0, 27.8, 27.5, 27.4, 23.3, 22.3, 20.6; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 1926.7271, C₁₀₄H₁₁₇NO₃₁Si calcd for [M+Na]⁺ 1926.7271.



Compound 2-50

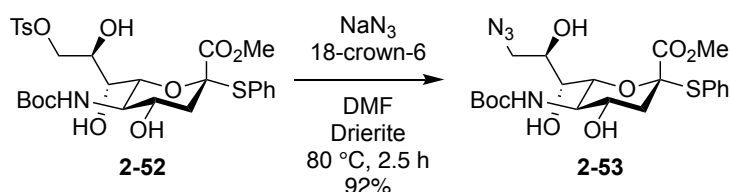
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-49** (118 mg, 61.9 μmol) を MeOH/THF = 1/5 (3.10 mL) に溶かし、hydrazine acetate (57.0 mg, 0.619 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 2/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene/acetone = 11/3) で精製し、**2-50** (101mg, 95%) を白色固体として得た。[α]_D +57.5° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CD₃NO₂, 70 °C) δ 8.14–6.82 (m, 38 H, 8 Ar), 5.96 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.7 Hz, H-2^a), 5.72 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 3.5 Hz, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, H-2^b), 5.47 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 2.8 Hz, H-3^a), 5.43 (s, 1 H, ArCH<), 5.38–5.36 (m, 2 H, H-1^a, NH-2^c), 5.27 (d, 1 H, H-1^b), 5.14 (near t, 1 H, H-2^d), 5.04 (br d, 1 H, H-1^c), 4.91 (br s, 1 H, H-4^c), 4.81–4.76 (m, 2 H, H-1^d, H-6a^d), 4.54–4.51 (m, 2 H, H-4^a, H-6b^d), 4.42 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 2.5 Hz, H-4^b), 4.36–4.09 (m, 9 H, H-5^a, H-3^b, H-5^b, H-3^c, H-6a^c, H-4^d, H-5^d, PhCH₂), 3.94 (m, 1 H, H-3^d), 3.77 (s, 3 H, OMe), 3.72–3.59 (m, 4 H, H-6a^a, H-6b^a, H-2^c, H-6b^c), 3.53 (d, 1 H, *J*_{gem} = 12.8 Hz, H-6a^b), 3.45 (d, 1 H, H-6b^b), 3.37 (s, 1 H, H-5^c), 3.06 (br s, 1 H, OH-3^d, OH-4^d), 1.32 (s, 9 H, ^tBu), 1.04 (s, 9 H, ^tBu), 1.02 (s, 9 H, ^tBu), 0.84 (br s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃NO₂, 70 °C) δ 167.9, 167.4, 167.3, 167.2, 157.5, 153.8, 152.7, 139.8, 137.4,

135.1, 134.9, 134.7, 134.6, 131.9, 131.6, 131.3, 131.1, 131.0, 130.9, 130.8, 130.1, 130.1, 129.9, 129.8, 129.7, 129.1, 127.8, 126.4, 120.3, 116.2, 103.9, 103.3, 102.5, 102.4, 99.4, 79.4, 79.0, 77.1, 75.5, 75.4, 75.1, 75.0, 74.6, 74.4, 74.3, 73.7, 71.8, 70.9, 70.5, 70.2, 69.9, 69.7, 68.1, 68.0, 65.4, 56.6, 54.2, 35.6, 31.8, 28.4, 28.2, 24.3, 23.2, 21.6; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 1730.6535, $C_{94}H_{105}NO_{27}Si$ calcd for $[M+Na]^+$ 1730.6535.



Compound 2-52

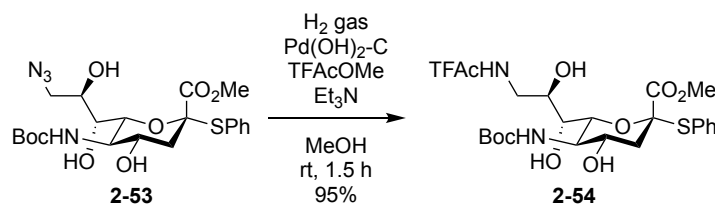
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-51** (47.1 mg, 99.5 μ mol) を CH_2Cl_2 /pyridine = 1/1 (2.00 mL) に溶かし、*p*-toluenesulfonyl chloride (28.4 mg, 0.149 mmol) を加え、0 °C にて 18.5 時間撹拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 1/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水の順で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 2/1) で精製し、**2-52** (55.2 mg, 88%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_D^{+65.7^\circ}$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, acetone- d_6) δ 7.82–7.36 (m, 9 H, 2 Ar), 6.18 (d, 1 H, $J_{5,NH}$ = 8.5 Hz, NH-5), 4.56 (d, 1 H, $J_{4,OH}$ = 5.5 Hz, OH-4), 4.49 (d, 1 H, $J_{7,OH}$ = 4.0 Hz, OH-7), 4.28 (dd, 1 H, $J_{8,9a}$ = 1.5 Hz, J_{gem} = 9.9 Hz, H-9a), 4.12 (dd, 1 H, $J_{8,9b}$ = 5.3 Hz, H-9b), 3.97 (m, 1 H, H-8), 3.75 (m, 1 H, H-4), 3.64 (s, 3 H, C(=O)OMe), 3.54 (near td, 1 H, $J_{6,7}$ = 1.6 Hz, $J_{7,8}$ = 4.7 Hz, H-7), 3.53–3.47 (m, 2 H, H-5, OH-8), 3.28 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ = 10.5 Hz, H-6), 2.84 (dd, 1 H, J_{gem} = 12.5 Hz, $J_{3eq,4}$ = 5.0 Hz, H-3eq), 2.46 (s, 3 H, ArMe), 1.87 (dd, 1 H, $J_{3ax,4}$ = 11.5 Hz, H-3ax), 1.42 (s, 9 H, 'Bu); ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6) δ 170.5, 159.0, 145.6, 137.5, 134.5, 130.9, 130.8, 129.8, 129.7, 128.7, 87.4, 80.6, 77.4, 73.0, 70.1, 69.5, 68.3, 54.4, 53.3, 41.7, 28.5, 21.5; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 650.1695, $C_{28}H_{37}NO_{11}S_2$ calcd for $[M+Na]^+$ 650.1695.



Compound 2-53

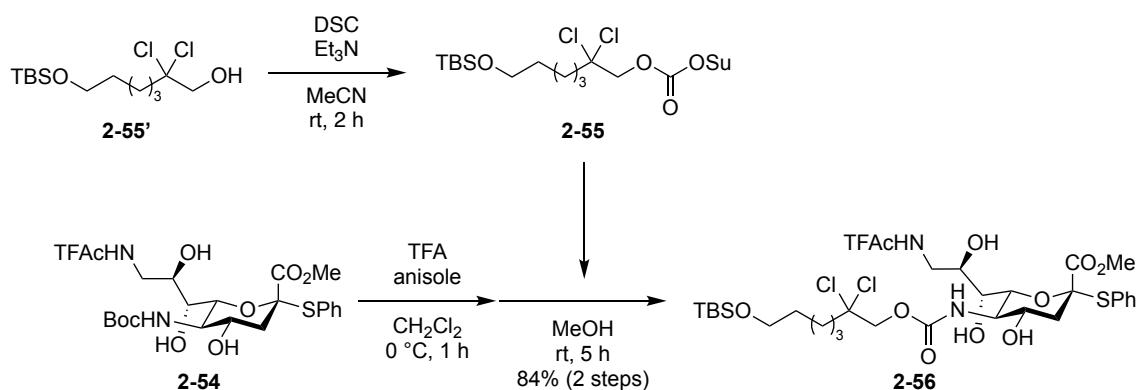
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-52** (4.21 g, 6.71 mmol) を DMF (134 mL) に溶かし、Drierite (4.21

g)、18-crown-6-ether (1.05 g, 3.97 mmol)、sodium azide (3.49 g, 53.7 mmol) を加え、80 °C にて 2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 3/2) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄、濾液の溶媒留去、トルエン共沸を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 2/1) で精製し、**2-53** (3.07 g, 92%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +56.3° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ 7.57–7.37 (m, 5 H, Ph), 6.19 (d, 1 H, $J_{5,\text{NH}}$ = 8.5 Hz, NH-5), 4.57 (d, 1 H, $J_{4,\text{OH}}$ = 5.5 Hz, OH-4), 4.54 (d, 1 H, $J_{7,\text{OH}}$ = 4.0 Hz, OH-7), 3.98 (m, 1 H, H-8), 3.76 (m, 1 H, H-4), 3.68 (s, 3 H, C(=O)OMe), 3.56–3.47 (m, 4 H, H-5, H-7, H-9a, OH-8), 3.32 (dd, 1 H, $J_{6,7}$ = 1.5 Hz, $J_{5,6}$ = 10.8 Hz, H-6), 3.29 (dd, 1 H, $J_{8,9b}$ = 6.5 Hz, J_{gem} = 13.0 Hz, H-9b), 2.86 (dd, 1 H, $J_{3\text{eq},4}$ = 4.8 Hz, J_{gem} = 12.8 Hz, H-3eq), 1.90 (dd, 1 H, $J_{3\text{ax},4}$ = 11.8 Hz, H-3ax), 1.42 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ 170.7, 159.0, 137.5, 131.0, 129.8, 129.7, 87.3, 80.6, 77.6, 72.0, 70.8, 68.3, 54.5, 54.4, 53.4, 41.7, 28.5; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 521.1677, C₂₁H₃₀N₄O₈S calcd for [M+Na]⁺ 521.1677.



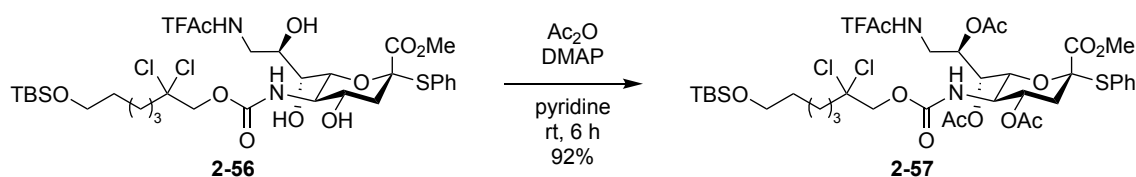
Compound 2-54

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-53** (3.79 g, 5.60 mmol) を MeOH (280 mL) に溶かし、triethylamine (7.76 mL, 56.0 mmol)、methyl trifluoroacetate (2.78 mL, 28.0 mmol)、palladium hydroxide (393 mg, 20% on carbon) を加え、H₂ 気流下にて室温で 1.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 3/2) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄、濾液の溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 2/1) で精製し、**2-54** (4.12 g, 95%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +70.8° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ 8.07 (br s, 1 H, CF₃C(=O)NH), 7.56–7.36 (m, 5 H, Ph), 6.18 (d, 1 H, $J_{5,\text{NH}}$ = 8.0 Hz, NH-5), 4.63 (d, 1 H, $J_{7,\text{OH}}$ = 4.5 Hz, OH-7), 4.57 (d, 1 H, $J_{4,\text{OH}}$ = 5.5 Hz, OH-4), 3.93 (m, 1 H, H-8), 3.79–3.67 (m, 5 H, H-4, H-9a, C(=O)OMe), 3.53 (near q, 1 H, H-5), 3.46 (d, 1 H, $J_{8,\text{OH}}$ = 3.0 Hz, OH-8), 3.41–3.35 (m, 2 H, H-7, H-9b), 3.31 (dd, 1 H, $J_{6,7}$ = 1.5 Hz, $J_{5,6}$ = 10.5 Hz, H-6), 2.85 (dd, 1 H, $J_{3\text{eq},4}$ = 4.5 Hz, J_{gem} = 12.5 Hz, H-3eq), 1.90 (dd, 1 H, $J_{3\text{ax},4}$ = 11.5 Hz, H-3ax), 1.41 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ 170.7, 158.9, 157.6, 157.3, 137.6, 130.9, 129.8, 129.6, 118.4, 116.1, 87.2, 80.5, 77.6, 72.1, 70.1, 68.3, 54.4, 53.3, 43.9, 41.7, 28.5; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 591.1591, C₂₃H₃₁F₃N₂O₉S calcd for [M+Na]⁺ 591.1595.



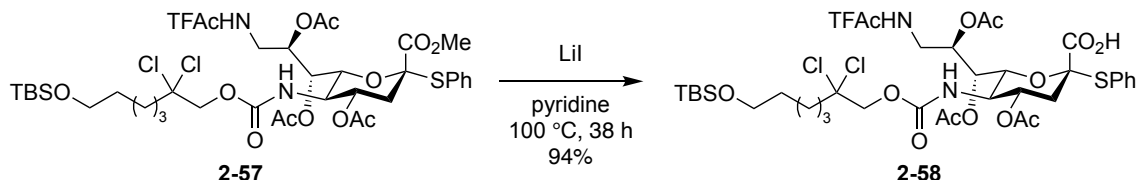
Compound **2-56**

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-54** (3.12 g, 5.49 mmol) を CH₂Cl₂ (220 mL) に溶かし、anisole (1.19 mL, 11.0 mmol)、trifluoroacetic acid (55.0 mL) を 0 °C にて加え、1 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を MeOH (110 mL) に溶かし、**2-55'** (6.94 g, 22.0 mmol)、*N,N'*-disuccinimidyl carbonate (5.75 g, 22.0 mmol)、triethylamine (7.65 mL, 54.9 mmol) を MeCN (110 mL) に溶かし 2 時間攪拌して得られた **2-55** の混合溶液を加え、室温で 5 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 4/1 → 3/1) で精製し、**2-56** (3.75 g, 84%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +57.8° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ 8.14 (br s, 1 H, CF₃C(=O)NH), 7.57–7.36 (m, 5 H, Ph), 6.74 (d, 1 H, *J*_{5,NH} = 8.5 Hz, NH-5), 4.64–4.61 (m, 2 H, NHC(=O)OCH₂, OH-4), 4.43 (d, 1 H, *J*_{gem} = 12.0 Hz, NHC(=O)OCH₂), 4.25 (d, 1 H, *J*_{7,OH} = 5.5 Hz, OH-7), 3.92 (m, 1 H, H-8), 3.84–3.74 (m, 2 H, H-4, H-9a), 3.67–3.63 (m, 6 H, H-5, 2 CH₂OSi(*t*Bu)Me₂, C(=O)OMe), 3.47–3.43 (m, 3 H, H-6, H-7, OH-8), 3.25 (m, 1 H, H-9b), 2.85 (m, 1 H, H-3_{eq}), 2.23 (m, 2 H, CCl₂CH₂CH₂), 1.92 (dd, 1 H, *J*_{gem} = 12.5 Hz, *J*_{3ax,4} = 11.5 Hz, H-3_{ax}), 1.68 (m, 2 H, CCl₂CH₂CH₂), 1.55 (m, 2 H, CH₂), 1.43 (m, 2 H, CH₂), 0.89 (s, 9 H, OSi(*t*Bu)Me₂), 0.05 (s, 6 H, OSi(*t*Bu)Me₂); ¹³C NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ 170.6, 157.8, 157.7, 157.4, 137.6, 130.9, 129.7, 129.6, 118.4, 116.1, 92.0, 87.2, 77.1, 72.3, 72.2, 70.3, 68.4, 63.4, 54.9, 53.3, 44.8, 44.1, 41.7, 33.3, 26.3, 26.0, 25.3, 18.8, –5.2; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 831.2099, C₃₂H₄₉Cl₂F₃N₂O₁₀SSi calcd for [M+Na]⁺ 831.2099.



Compound 2-57

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-56** (2.10 g, 2.59 mmol) を pyridine (26.0 mL) に溶かし、acetic anhydride (985 μ L, 10.4 mmol)、4-dimethylaminopyridine (31.6 mg, 0.259 mmol) を 0 °C にて加え、室温で 4 時間攪拌した後、acetic anhydride (491 μ L, 5.18 mmol) を追加し、更に 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 2/1) で確認後、0 °C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止し、トルエン共沸を行なった。残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 5/1) で精製し、**2-57** (2.22 g, 92%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +16.3° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.49–7.29 (m, 6 H, Ph, CF₃C(=O)NH), 5.14 (dt, 1 H, $J_{8,9a} = J_{8,9b} = 2.6$ Hz, $J_{7,8} = 9.5$ Hz, H-8), 5.09 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 1.5$ Hz, H-7), 4.82 (td, 1 H, $J_{3eq,4} = 4.5$ Hz, $J_{3ax,4} = J_{4,5} = 11.0$ Hz, H-4), 4.70 (d, 1 H, $J_{5,NH} = 10.0$ Hz, NH-5), 4.54 (d, 1 H, $J_{gem} = 12.0$ Hz, NHC(=O)OCH₂), 4.30 (d, 1 H, NHC(=O)OCH₂), 4.27 (ddd, 1 H, $J_{9a,NH} = 8.8$ Hz, $J_{gem} = 14.9$ Hz, H-9a), 3.87 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 10.5$ Hz, H-6), 3.79 (near q, 1 H, H-5), 3.62 (t, 2 H, CH₂OSi(*t*Bu)Me₂), 3.54 (s, 3 H, C(=O)OMe), 2.95 (dt, 1 H, $J_{9b,NH} = 3.3$ Hz, H-9b), 2.88 (dd, 1 H, $J_{gem} = 13.0$ Hz, H-3eq), 2.25 (s, 3 H, Ac), 2.12 (m, 2 H, CCl₂CH₂CH₂), 2.05–2.00 (m, 4 H, H-3ax, Ac), 1.98 (s, 3 H, Ac), 1.66 (m, 2 H, CCl₂CH₂CH₂), 1.56 (m, 2 H, CH₂), 1.40 (m, 2 H, CH₂), 0.89 (s, 9 H, OSi(*t*Bu)Me₂), 0.05 (s, 6 H, Si(*t*Bu)Me₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.2, 170.7, 169.7, 167.5, 158.0, 157.7, 154.9, 136.1, 130.0, 129.0, 129.0, 128.5, 128.2, 125.3, 117.0, 114.8, 90.0, 87.5, 74.1, 71.8, 69.3, 68.5, 67.9, 62.9, 52.8, 51.5, 44.1, 38.4, 38.3, 32.5, 26.0, 25.3, 24.5, 21.1, 20.9, 20.7, 18.4, –5.3; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 957.2415, C₃₈H₅₅Cl₂F₃N₂O₁₃SSi calcd for [M+Na]⁺ 957.2415.



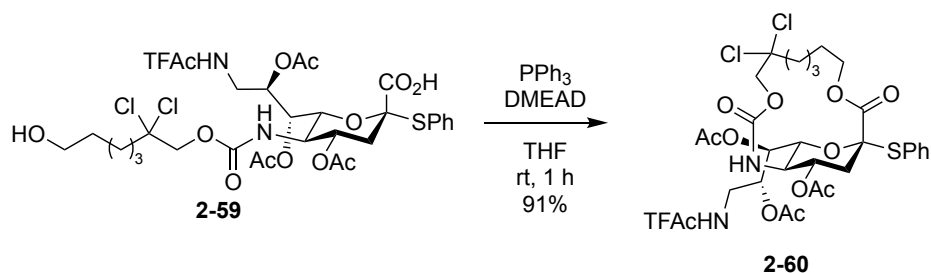
Compound 2-58

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-57** (3.46 g, 3.70 mmol) を pyridine (74 mL) に溶かし、lithium iodide

(2.48 g, 18.5 mmol) を加え、100 °C にて 38 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 5/1) で確認後、トルエン共沸を行なった。残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 60/1 → 20/1) で精製し、**2-58** (3.20 g, 94%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +26.3° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD = 1/1) δ 7.64–7.34 (m, 5 H, Ph), 5.32 (br d, 1 H, *J*_{7,8} = 4.0 Hz, H-7), 5.17 (m, 1 H, H-8), 4.95 (td, 1 H, *J*_{3eq,4} = 4.5 Hz, *J*_{3ax,4} = *J*_{4,5} = 11.0 Hz, H-4), 4.54 (d, 1 H, *J*_{gem} = 12.0 Hz, NHC(=O)OCH₂), 4.27 (d, 1 H, NHC(=O)OCH₂), 4.07–4.02 (m, 2 H, H-6, H-9a), 3.64 (t, 2 H, CH₂OSi(^{*t*}Bu)Me₂), 3.57–3.51 (m, 2 H, H-5, H-9b), 2.84 (dd, 1 H, *J*_{gem} = 12.3 Hz, H-3eq), 2.20 (s, 3 H, Ac), 2.15 (m, 2 H, CCl₂CH₂CH₂), 2.00 (s, 3 H, Ac), 1.98 (s, 3 H, Ac), 1.75 (t, 1 H, H-3ax), 1.67 (m, 2 H, CCl₂CH₂CH₂), 1.57 (m, 2 H, CH₂), 1.41 (m, 2 H, CH₂), 0.90 (s, 9 H, OSi(^{*t*}Bu)Me₂), 0.07 (s, 6 H, Si(^{*t*}Bu)Me₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃/CD₃OD = 1/1) δ 171.7, 171.5, 171.4, 158.7, 156.2, 136.7, 130.3, 129.9, 129.2, 117.7, 115.4, 90.9, 88.7, 74.8, 72.4, 71.9, 71.1, 69.2, 63.5, 51.5, 44.5, 39.7, 38.6, 32.9, 26.2, 25.7, 25.0, 21.1, 20.9, 20.8, 18.7, –5.2; HRMS (ESI) *m/z*: found [M–H][–] 919.2294, C₃₇H₅₃Cl₂F₃N₂O₁₃SSi calcd for [M–H][–] 919.2294.

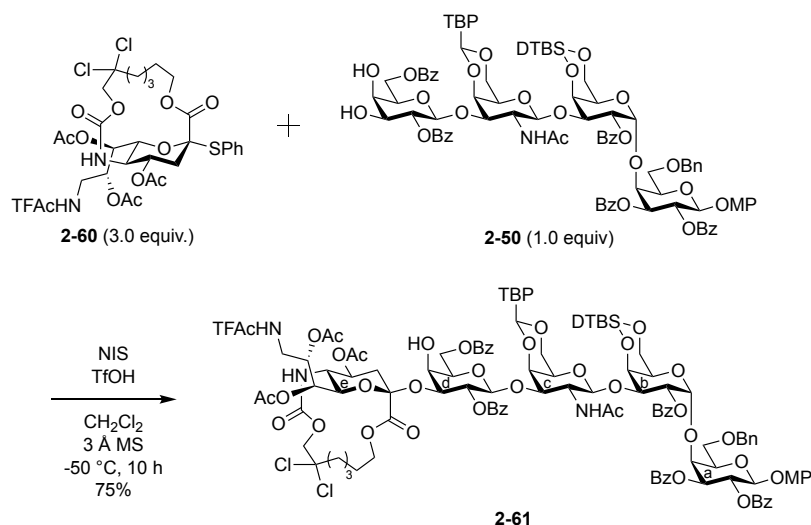
Compound 2-59

(s, 3 H, Ac), 1.97 (s, 3 H, Ac), 1.85 (t, 1 H, H-3_{ax}), 1.68 (m, 2 H, CCl₂CH₂CH₂), 1.60 (m, 2 H, CH₂), 1.43 (m, 2 H, CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃/CD₃OD = 1/1) δ 171.0, 170.1, 170.1, 168.8, 157.7, 157.4, 155.2, 155.2, 135.7, 129.1, 128.4, 128.2, 118.8, 116.6, 114.3, 89.7, 86.5, 73.4, 70.8, 69.5, 69.5, 67.8, 61.1, 50.4, 50.3, 43.5, 43.4, 38.4, 37.5, 31.5, 24.5, 23.9, 19.8, 19.5; HRMS (ESI) *m/z*: found [M-H]⁻ 805.1429, C₃₁H₃₉Cl₂F₃N₂O₁₃S calcd for [M-H]⁻ 805.1429.



Compound 2-60

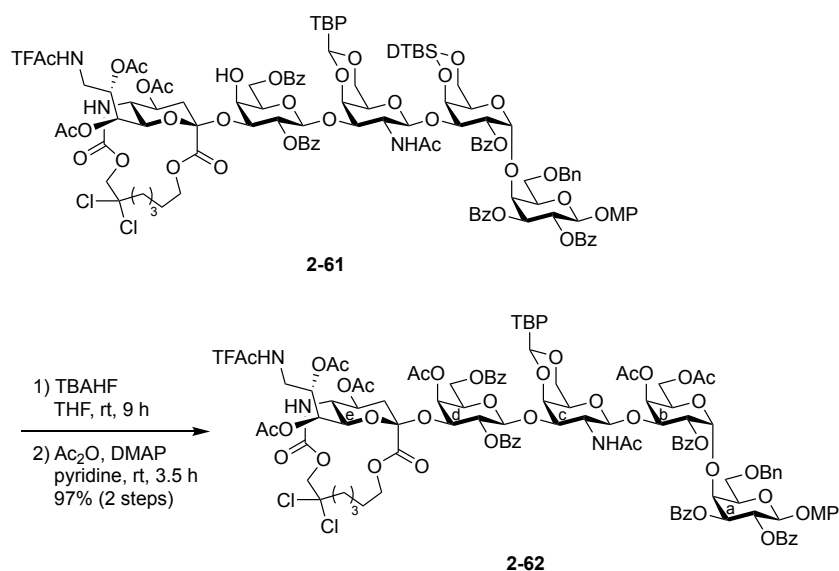
Ar 雰囲気下にて、triphenylphosphine (1.52 g, 5.79 mmol) を THF (659 mL) に溶かし、化合物 **2-60** (1.17 g, 1.45 mmol)、di-2-methoxyethyl azodicarboxylate (1.36 g, 5.79 mmol) を THF (181 mL) に溶かした溶液を 2 時間かけて滴下して加えた後、THF (66 mL) によるフラスコの洗込みを行い、室温で 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 2/1, CHCl₃/MeOH = 3/1) で確認後、メタノール、酢酸を加えて反応を停止し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 4/1 → 3/1) で精製し、**2-60** (1.04 g, 91%) を白色泡状粉末として得た。[α]_D +19.5° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CD₃NO₂, 90 °C) δ 7.58–7.37 (m, 5 H, Ph), 7.09 (br s, 1 H, CF₃C(=O)NH), 5.49 (td, 1 H, *J*_{3eq,4} = 5.0 Hz, *J*_{3ax,4} = *J*_{4,5} = 10.7 Hz, H-4), 5.41 (br s, 1 H, NH-5), 5.37 (br d, 1 H, *J*_{7,8} = 5.9 Hz, H-7), 5.18 (td, 1 H, *J*_{8,9a} = 3.2 Hz, *J*_{8,9b} = 5.8 Hz, H-8), 4.62 (d, 1 H, *J*_{gem} = 12.0 Hz, NHC(=O)OCH₂), 4.49–4.44 (m, 3 H, H-6, NHC(=O)OCH₂, C(=O)OCH₂), 4.00 (m, 1 H, C(=O)OCH₂), 3.92 (m, 1 H, H-9a), 3.58 (near dt, 1 H, *J*_{gem} = 14.5 Hz, H-9b), 3.01 (dd, 1 H, *J*_{gem} = 13.0 Hz, H-3eq), 2.95 (td, 1 H, *J*_{5,NH} = 6.8 Hz, *J*_{5,6} = 10.4 Hz, H-5), 2.43 (m, 1 H, CCl₂CH₂CH₂), 2.26 (m, 1 H, CCl₂CH₂CH₂), 2.21 (s, 3 H, Ac), 2.00 (s, 6 H, 2 Ac), 1.89–1.83 (m, 3 H, H-3_{ax}, CH₂), 1.65–1.56 (m, 4 H, 2 CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃NO₂, 90 °C) δ 172.7, 171.7, 171.6, 169.6, 158.9, 158.6, 155.6, 138.0, 131.4, 130.4, 130.3, 116.5, 91.4, 88.7, 74.7, 72.2, 71.6, 70.9, 69.2, 66.6, 54.6, 46.6, 41.1, 39.8, 28.3, 25.9, 24.1, 21.0, 20.8; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 811.1288, C₃₁H₃₇Cl₂F₃N₂O₁₂S calcd for [M+Na]⁺ 811.1289.



Compound 2-61

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-60** (297 mg, 0.376 mmol)、受容体 **2-50** (214 mg, 0.125 mmol) を CH₂Cl₂ (10.0 mL) に溶かし、*N*-iodosuccinimide (101 mg, 0.451 mmol)、活性化したモレキュラーシーブス 3 Å (511 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、trifluoromethanesulfonic acid (2.2 μL, 25.0 μmol) を -50 °C にて加え、10 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/CHCl₃/acetone = 2/1/1, developed twice; CHCl₃/acetone = 7/1, developed twice) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応溶液を中和し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をゲル濾過クロマトグラフィー (LH20; CHCl₃/MeOH = 1/1) 及びフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/CHCl₃/acetone = 2/1/1) で精製し、**2-61** (223 mg, 75%) を白色固体として得た。[α]_D +60.7° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CD₃NO₂, 80 °C) δ 8.14–6.81 (m, 39 H, 8 Ar, CF₃C(=O)NH), 5.96 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.7 Hz, H-2^a), 5.71 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 3.5 Hz, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, H-2^b), 5.47 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 2.8 Hz, H-3^a), 5.43 (s, 1 H, ArCH<), 5.37–5.27 (m, 7 H, H-1^a, H-1^b, H-4^e, H-7^e, H-8^e, NH-2^c, NH-5^e), 5.23 (near t, 1 H, H-2^d), 5.03 (br s, 1 H, H-1^c), 4.89 (br s, 1 H, H-4^c), 4.87 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1^d), 4.74 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 7.0 Hz, *J*_{gem} = 11.5 Hz, H-6a^d), 4.61–4.22 (m, 12 H, H-4^a, H-3^b, H-4^b, H-3^c, H-3^d, H-6b^d, H-6^e, 2 PhCH₂, 2 NHCO(=O)CH₂, C(=O)OCH₂), 4.18–4.10 (m, 4 H, H-5^a, H-5^b, H-6a^c, H-5^d), 4.06 (br s, 1 H, H-4^d), 3.96–3.88 (m, 2 H, H-9a^e, C(=O)OCH₂), 3.80–3.77 (m, 4 H, H-6b^c, OMe), 3.71–3.61 (m, 3 H, H-6a^a, H-6b^a, H-2^c), 3.54 (d, 1 H, *J*_{gem} = 12.8 Hz, H-6a^b), 3.48 (d, 1 H, H-6b^b), 3.41 (s, 1 H, H-5^c), 3.33 (dt, 1 H, *J*_{8,9b} = *J*_{9b,NH} = 5.9 Hz, *J*_{gem} = 14.5 Hz, H-9b^e), 2.97 (d, 1 H, *J*_{4,OH} = 3.5 Hz, OH-4^d), 2.85 (td, 1 H, *J*_{5,NH} = 6.8 Hz, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 10.3 Hz, H-5^e), 2.65 (dd, 1 H, *J*_{3eq,4} = 5.3 Hz, *J*_{gem} = 12.8 Hz, H-3eq^e), 2.36 (m, 1 H, CCl₂CH₂CH₂), 2.22 (m, 1 H, CCl₂CH₂CH₂), 2.08 (s, 3 H, Ac), 1.93 (s, 3 H, Ac),

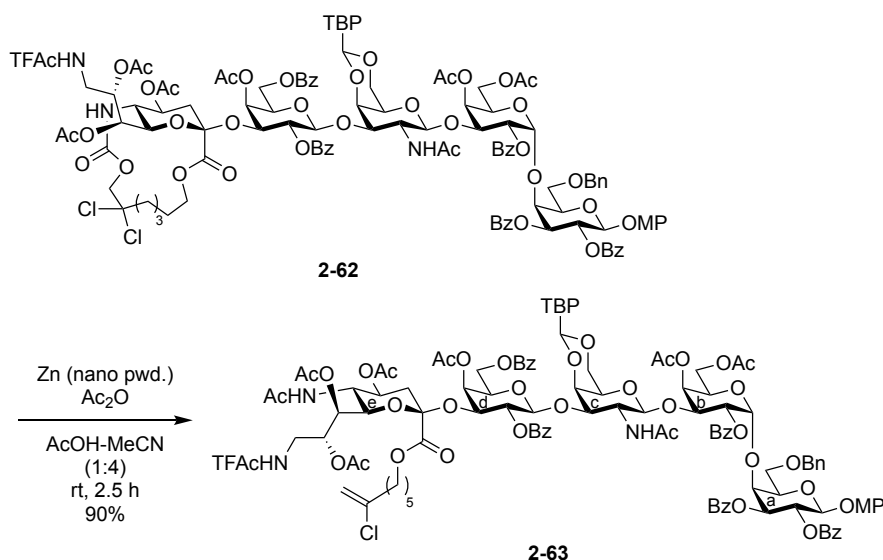
1.91 (s, 3 H, Ac), 1.79–1.69 (m, 3 H, H-3ax^e, CH₂^e), 1.63–1.49 (m, 4 H, 2 CH₂^e), 1.32 (s, 9 H, ^tBu), 1.04 (s, 9 H, ^tBu), 1.01 (s, 9 H, ^tBu), 0.91 (m, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃NO₂, 80 °C) δ 172.8, 172.1, 171.4, 169.4, 167.8, 167.5, 167.3, 167.2, 166.7, 159.2, 158.9, 157.6, 155.7, 153.8, 152.8, 139.8, 137.4, 135.0, 134.8, 134.7, 134.6, 131.9, 131.8, 131.6, 131.4, 131.2, 131.1, 130.9, 130.8, 130.1, 130.1, 129.9, 129.7, 129.0, 129.0, 127.7, 126.3, 120.4, 116.4, 116.2, 103.7, 103.4, 102.5, 99.7, 99.3, 91.4, 79.1, 77.0, 75.7, 75.6, 75.4, 75.2, 75.0, 74.4, 73.8, 72.3, 71.9, 71.4, 70.6, 70.2, 69.9, 69.7, 69.0, 68.2, 68.0, 66.7, 65.2, 56.6, 54.2, 46.3, 41.1, 38.1, 35.6, 31.8, 29.9, 28.4, 28.2, 28.1, 25.5, 24.3, 23.9, 23.2, 21.6, 21.4, 20.9, 20.8; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 2408.7742, C₁₁₉H₁₃₆Cl₂F₃N₃O₃₉Si calcd for [M+Na]⁺ 2408.7742.



Compound 2-62

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-61** (315 mg, 0.132 mmol) を THF (1.30 mL) に溶かし、1 M tributylamine hydrofluoride in THF (1.32 mL, 1.32 mmol) を加え、室温で9時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 1/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を pyridine (1.30 mL) に溶かし、acetic anhydride (50.0 μL, 0.528 mmol)、4-dimethylaminopyridine (1.6 mg, 13.2 μmol) を 0 °C にて加え、室温で 3.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 1/1) で確認後、0 °C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-

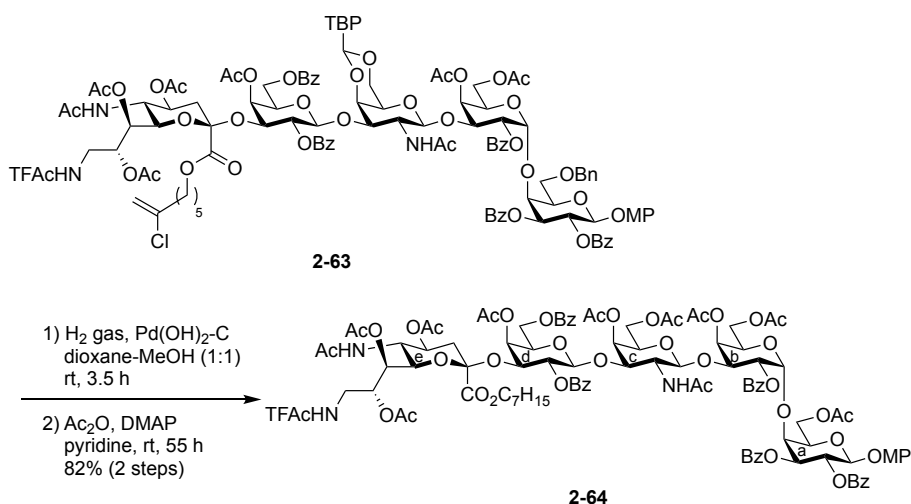
hexane/CHCl₃/acetone = 3/2/2) で精製し、**2-62** (303 mg, 97%) を白色固体として得た。[α]_D²⁰ +42.3° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CD₃NO₂, 80 °C) δ 8.17–6.78 (m, 39 H, 8 Ar, CF₃C(=O)NH), 6.01 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, H-2^a), 5.58 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-3^a), 5.54 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-4^b), 5.48–5.44 (m, 3 H, H-2^b, H-8^e, ArCH<), 5.39–5.34 (m, 5 H, H-1^a, H-1^b, H-4^d, H-4^e, NH-5^e), 5.24–5.20 (m, 2 H, H-2^d, H-7^e), 4.97 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1^d), 4.90 (br d, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1^c), 4.83 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, H-3^d), 4.70–4.04 (m, 17 H, H-4^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, H-3^c, H-4^c, H-6a^c, H-5^d, H-6a^d, H-6b^d, H-6^e, 2 PhCH₂, 2 NHCO(=O)CH₂, 2 C(=O)OCH₂), 3.91 (br d, 1 H, *J*_{gem} = 14.8 Hz, H-9a^e), 3.83 (d, 1 H, *J*_{gem} = 13.5 Hz, H-6b^c), 3.76 (s, 3 H, OMe), 3.71–3.62 (m, 5 H, H-6a^a, H-6b^a, H-6a^b, H-6b^b, H-2^c), 3.44 (s, 1 H, H-5^c), 3.25 (near d, 1 H, H-9b^e), 2.80 (t, 1 H, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 10.3 Hz, H-5^e), 2.64 (dd, 1 H, *J*_{3eq,4} = 4.0 Hz, *J*_{gem} = 12.0 Hz, H-3eq^e), 2.32 (m, 1 H, CCl₂CH₂CH₂), 2.26 (m, 1 H, CCl₂CH₂CH₂), 2.13 (s, 3 H, Ac), 2.11 (s, 3 H, Ac), 2.08 (s, 3 H, Ac), 1.94 (s, 3 H, Ac), 1.84–1.46 (m, 10 H, H-3ax^e, 3 CH₂^e, Ac), 1.32 (s, 9 H, ^tBu), 1.00 (m, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃NO₂, 80 °C) δ 173.1, 172.6, 172.2, 171.8, 169.5, 167.8, 167.7, 167.5, 167.0, 157.8, 154.1, 153.2, 140.1, 137.7, 135.3, 135.1, 135.0, 132.0, 131.9, 131.6, 131.3, 131.3, 131.1, 130.3, 130.2, 130.0, 129.3, 129.2, 127.9, 126.7, 120.5, 116.5, 104.0, 102.7, 98.4, 91.8, 79.9, 77.0, 75.9, 75.3, 74.7, 74.5, 73.6, 72.9, 72.5, 72.3, 72.2, 72.1, 70.5, 70.4, 70.1, 69.6, 68.6, 67.1, 64.4, 56.9, 41.1, 39.0, 35.9, 32.1, 28.5, 25.9, 24.4, 21.9, 21.3, 21.2, 21.1, 21.0; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 2394.7036, C₁₁₇H₁₂₆Cl₂F₃N₃O₄₂ calcd for [M+Na]⁺ 2394.7037.



Compound 2-63

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-62** (282 mg, 0.119 mmol) を MeCN/AcOH = 4/1 (12.0 mL) に溶かし、acetic anhydride (2.4 mL)、zinc powder (3.11 g, <50 nm particle size) を加え、室温で 2.5 時

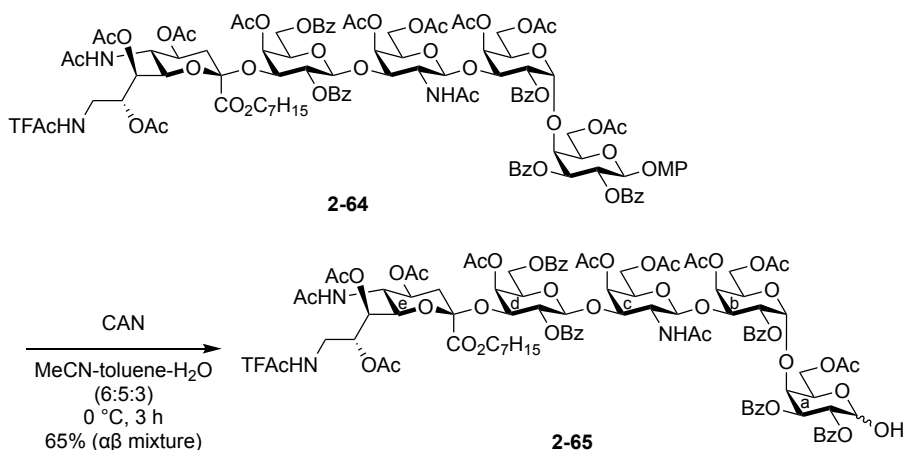
間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 30/1$, developed twice; toluene/acetone = 2/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene/acetone = 4/1 \rightarrow 3/1) で精製し、**2-63** (249 mg, 90%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}} +72.8^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CD_3CN) δ 8.11–6.79 (m, 39 H, 8 Ar, $\text{CF}_3\text{C}(=\text{O})\text{NH}$), 6.01 (d, 1 H, $J_{5,\text{NH}} = 9.5$ Hz, NH-5^e), 5.94 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^a), 5.82 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 9.0$ Hz, NH-2^c), 5.61 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-3^a), 5.47 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4^b), 5.42 (m, 1 H, H-8^e), 5.38–5.34 (m, 3 H, H-1^a , H-2^b , $\text{ArCH}<$), 5.27 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4^d), 5.22–5.21 (m, 2 H, H-1^b , $\text{C}(=\text{CH}_2)\text{Cl}$), 5.16 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 1.0$ Hz, $\text{C}(=\text{CH}_2)\text{Cl}$), 5.13–5.09 (m, 2 H, H-2^d , H-7^e), 4.85 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 4.83–4.76 (m, 3 H, H-1^c , H-3^d , H-4^e), 4.57 (near t, 1 H, H-5^a), 4.53–4.49 (m, 2 H, H-3^b , H-6a^d), 4.46 (d, 1 H, H-4^a), 4.27–4.22 (m, 5 H, H-4^c , H-5^d , H-6b^d , PhCH_2 , $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2$), 4.20 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, PhCH_2), 4.14–4.11 (m, 2 H, H-5^b , H-6a^c), 4.02 (dt, 1 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2$), 3.96 (br d, 1 H, H-3^c), 3.86 (near q, 1 H, H-5^e), 3.78–3.70 (m, 6 H, H-6b^c , H-6^e , H-9a^e , OMe), 3.61–3.47 (m, 5 H, H-6a^a , H-6b^a , H-6a^b , H-6b^b , H-2^c), 3.33 (s, 1 H, H-5^c), 3.10 (dt, 1 H, $J_{8,9b} = J_{9b,\text{NH}} = 6.3$ Hz, $J_{\text{gem}} = 15.0$ Hz, H-9b^e), 2.42 (dd, 1 H, $J_{3eq,4} = 4.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.8$ Hz, H-3eq^e), 3.47 (t, 2 H, $\text{C}(=\text{CH}_2)\text{ClCH}_2$), 2.12 (s, 3 H, Ac), 2.06 (s, 3 H, Ac), 2.06 (s, 3 H, Ac), 1.87 (s, 3 H, Ac), 1.81 (s, 3 H, Ac), 1.76 (s, 3 H, Ac), 1.72 (s, 3 H, Ac), 1.65 (m, 2 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2$), 1.58–1.48 (m, 3 H, H-3ax^e , $\text{C}(=\text{CH}_2)\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.43–1.30 (m, 11 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$, tBu), 0.81 (s, 3 H, Ac); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3CN) δ 172.0, 171.6, 171.2, 171.1, 170.8, 170.7, 170.7, 170.5, 168.3, 166.7, 166.6, 166.4, 166.4, 166.1, 158.6, 158.3, 158.1, 156.6, 153.0, 152.0, 143.9, 139.0, 136.8, 134.7, 134.6, 134.5, 134.3, 134.3, 131.1, 131.0, 131.0, 130.9, 130.6, 130.5, 130.5, 130.3, 130.3, 130.1, 129.7, 129.7, 129.6, 129.6, 129.5, 129.3, 128.6, 128.5, 127.1, 126.1, 119.4, 118.6, 115.9, 115.5, 113.0, 103.5, 102.0, 101.6, 101.0, 98.4, 97.3, 79.3, 79.1, 76.0, 74.6, 74.0, 73.7, 73.5, 72.8, 72.0, 71.9, 71.2, 70.9, 70.4, 70.2, 69.7, 69.4, 68.8, 68.2, 67.3, 67.2, 63.4, 62.9, 56.2, 54.6, 51.9, 49.1, 40.7, 39.3, 38.0, 35.3, 31.5, 28.5, 27.5, 25.4, 23.0, 22.5, 21.6, 21.4, 21.3, 21.2, 21.0, 20.9, 20.7; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 2358.7633, $\text{C}_{118}\text{H}_{129}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_{41}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 2358.7634.



Compound 2-64

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-63** (37.9 mg, 16.2 μ mol) を 1,4-dioxane/MeOH = 1/1 (0.80 mL) に溶かし、palladium hydroxide (75.8 mg, 20% on carbon) を加え、H₂ 気流下にて室温で 3.5 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄、濾液のトルエン共沸を行い、一晚真空乾燥した。残渣を pyridine (0.32 mL) に溶かし、acetic anhydride (7.7 μ L, 81.0 μ mol)、4-dimethylaminopyridine (0.2 mg, 1.62 μ mol) を 0 °C にて加え、室温で 55 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、0 °C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 100/1) で精製し、**2-64** (29.1 mg, 82%) を白色固体として得た。[α]_D +58.7° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CD₃CN) δ 7.97–6.74 (m, 30 H, 6 Ar, CF₃C(=O)NH), 5.87 (d, 1 H, $J_{5,NH}$ = 9.5 Hz, NH-5^e), 5.75 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ = 7.5 Hz, $J_{2,3}$ = 10.4 Hz, H-2^a), 5.58 (d, 1 H, $J_{2,NH}$ = 9.0 Hz, NH-2^c), 5.46 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ = 2.9 Hz, H-3^a), 5.41 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.0 Hz, H-4^b), 5.27–5.21 (m, 4 H, H-1^a, H-2^b, H-4^e, H-8^e), 5.12 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz, H-4^d), 5.10 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 3.5 Hz, H-1^b), 4.95–4.90 (m, 2 H, H-2^d, H-7^e), 4.74 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz, H-1^d), 4.68–4.63 (m, 2 H, H-3^d, H-4^e), 4.60 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 8.5 Hz, H-1^c), 4.46 (near t, 1 H, H-5^c), 4.34 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 10.5 Hz, H-3^b), 4.32 (d, 1 H, H-4^a), 4.29 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 5.5 Hz, J_{gem} = 10.0 Hz, H-6a^d), 4.23 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 7.5 Hz, J_{gem} = 11.0 Hz, H-6a^a), 4.09 (dt, 1 H, C(=O)OCH₂), 4.05–3.96 (m, 4 H, H-5^a, H-3^c, H-5^d, H-6b^d), 3.92–3.81 (m, 4 H, H-6b^a, H-6a^b, H-6^e, C(=O)OCH₂), 3.71–3.55 (m, 9 H, H-5^b, H-6b^b, H-2^c, H-6a^c, H-5^e, H-9a^e, OMe), 3.51 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ = 6.5 Hz, J_{gem} = 11.5 Hz, H-6b^c), 2.90 (dt, 1 H, $J_{8,9b}$ = $J_{9b,NH}$ = 5.8 Hz, J_{gem} = 15.0 Hz, H-9b^e), 2.30 (dd, 1 H, $J_{3eq,4}$ = 4.5 Hz, J_{gem} = 12.5 Hz, H-3eq^e), 1.99 (s, 3 H, Ac), 1.95 (s, 3 H, Ac), 1.94 (s, 3 H, Ac), 1.92 (s, 3 H, Ac), 1.92 (s, 3

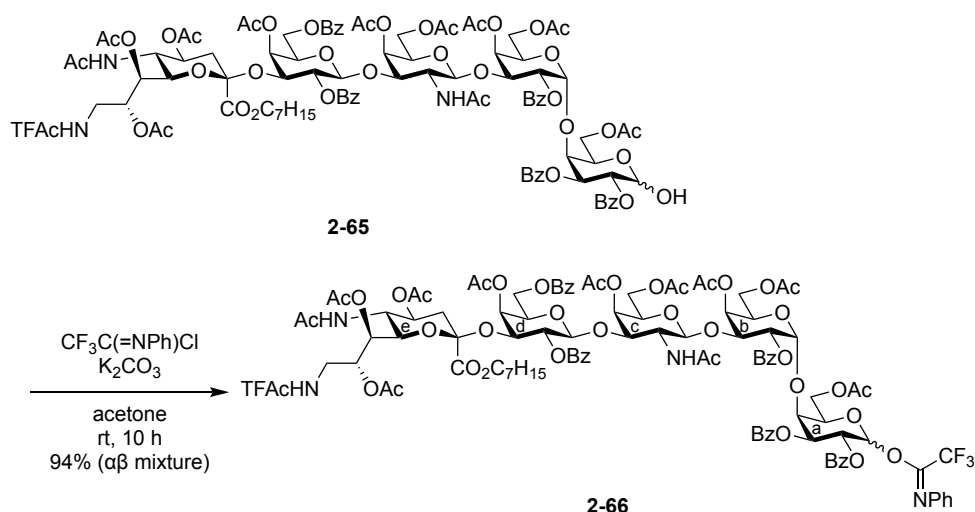
H, Ac), 1.79 (s, 3 H, Ac), 1.76 (s, 3 H, Ac), 1.71 (s, 3 H, Ac), 1.58 (s, 3 H, Ac), 1.58 (s, 3 H, Ac), 1.49 (t, 2 H, C(=O)OCH₂CH₂), 1.35 (t, 1 H, $J_{3ax,4} = 12.3$ Hz, H-3_{ax}^e), 1.21–1.16 (m, 8 H, C(=O)OCH₂CH₂CH₂, CH₂CH₂CH₂Me, CH₂CH₂Me, CH₂Me), 0.79 (t, 3 H, CH₂Me), 0.60 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN) δ 172.1, 171.5, 171.4, 171.0, 171.0, 170.9, 170.9, 170.8, 170.6, 170.6, 170.2, 168.3, 166.5, 166.5, 166.4, 166.2, 165.9, 158.5, 158.2, 156.6, 151.9, 134.7, 134.6, 134.4, 134.3, 134.3, 131.0, 130.9, 130.9, 130.6, 130.4, 130.3, 130.1, 129.6, 129.6, 129.6, 119.1, 118.6, 115.9, 115.5, 102.5, 102.2, 100.9, 98.7, 98.2, 79.1, 78.0, 75.5, 73.9, 73.8, 73.5, 72.7, 72.2, 72.0, 71.5, 71.4, 71.0, 70.9, 70.2, 70.0, 69.1, 68.8, 68.7, 67.5, 63.6, 62.9, 62.7, 62.3, 56.2, 52.4, 49.0, 40.3, 38.0, 32.3, 29.6, 28.8, 26.4, 23.3, 23.0, 22.2, 21.5, 21.2, 21.1, 21.1, 20.9, 20.9, 20.9, 20.8, 20.8, 14.3; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 2218.7088, C₁₀₆H₁₂₀F₃N₃O₄₄ calcd for [M+Na]⁺ 2218.7089.



Compound 2-65

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-64** (28.0 mg, 12.7 μmol) を MeCN/toluene/H₂O = 6/5/3 (0.26 mL) に溶かし、cerium (IV) ammonium nitrate (69.6 mg, 0.127 mmol) を 0 °C にて加え、3 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 30/1, developed twice) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 60/1 → 50/1) で精製し、**2-65** (17.4 mg, 65%, α:β = 1:0.3) を白色固体として得た。α isomer; ¹H NMR (500 MHz, CD₃CN) δ 8.05–7.35 (m, 26 H, 5 Ph, CF₃C(=O)NH), 5.94 (d, 1 H, $J_{5,NH} = 9.5$ Hz, NH-5^e), 5.78 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-3^a), 5.64 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.0$ Hz, NH-2^e), 5.55 (t, 1 H, $J_{1,2} = J_{1,OH} = 3.8$ Hz, H-1^a), 5.49–5.45 (m, 2 H, H-2^a, H-4^b), 5.36–5.32 (m, 2 H, H-4^c, H-8^e), 5.28–5.21 (m, 3 H, H-1^b, H-2^b, H-4^d), 5.04–4.98 (m, 2 H, H-2^d, H-7^e), 4.82 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 4.76–4.69 (m, 4 H, H-1^c, H-3^d, H-4^e, OH-1^a), 4.53 (near t, 1 H, H-5^c), 4.43–4.32 (m, 3 H, H-4^a, H-3^b, H-6a^d), 4.23 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$

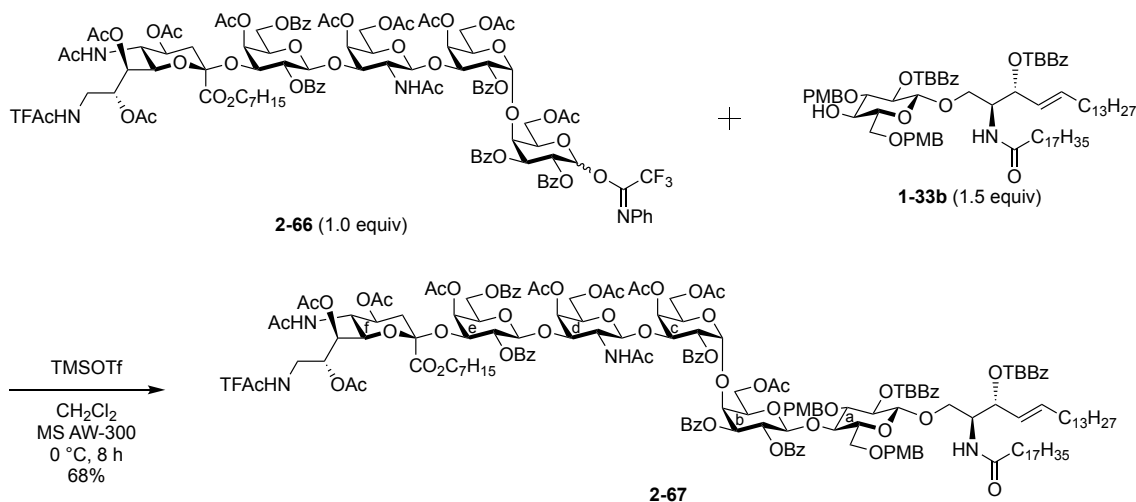
= 7.5 Hz, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, H-6a^a), 4.17 (dt, 1 H, C(=O)OCH₂), 4.12–3.90 (m, 7 H, H-5^a, H-6b^a, H-6a^b, H-3^c, H-5^d, H-6b^d, C(=O)OCH₂), 3.79–3.59 (m, 8 H, H-5^b, H-6b^b, H-2^c, H-6a^c, H-6b^c, H-5^e, H-6^e, H-9a^e), 2.99 (dt, 1 H, $J_{8,9b} = J_{9b,\text{NH}} = 5.9$ Hz, $J_{\text{gem}} = 15.0$ Hz, H-9b^e), 2.38 (dd, 1 H, $J_{3eq,4} = 4.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.4$ Hz, H-3eq^e), 2.11–1.58 (m, 30 H, 10 Ac), 1.57 (m, 2 H, C(=O)OCH₂CH₂), 1.44 (t, 1 H, $J_{3ax,4} = 12.3$ Hz, H-3ax^e), 1.27–1.24 (m, 8 H, C(=O)OCH₂CH₂CH₂, CH₂CH₂CH₂Me, CH₂CH₂Me, CH₂Me), 0.86 (t, 3 H, CH₂Me), 0.69 (s, 3 H, Ac); HRMS (ESI) m/z : found $[M+\text{Na}]^+$ 2112.6671, C₉₉H₁₁₄F₃N₃O₄₃ calcd for $[M+\text{Na}]^+$ 2112.6670.



Compound 2-66

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-65** (72.5 mg, 34.7 μmol) を acetone (0.69 mL) に溶かし、trifluoro-*N*-phenylacetimidoyl chloride (11.2 μL , 69.3 μmol)、potassium carbonate (23.9 mg, 17.3 μmol) を加え、室温で 10 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、固形物の濾別、クロロホルムによる洗浄、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 80/1) で精製し、**2-66** (73.6 mg, 94%, $\alpha:\beta = 1:0.3$) を白色固体として得た。 α isomer; ¹H NMR (500 MHz, CD₃CN) δ 8.05–6.54 (m, 31 H, 6 Ph, CF₃C(=O)NH), 6.13 (br s, 1 H, H-1^a), 5.95 (d, 1 H, $J_{5,\text{NH}} = 9.5$ Hz, NH-5^e), 5.88 (near d, 1 H, H-3^a), 5.73 (br d, 1 H, H-2^a), 5.67 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 9.0$ Hz, NH-2^c), 5.47 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4^b), 5.35–5.32 (m, 2 H, H-4^c, H-8^e), 5.29–5.26 (m, 2 H, H-1^b, H-2^b), 5.19 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4^d), 5.02–4.98 (m, 2 H, H-2^d, H-7^e), 4.81 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 4.75–4.66 (m, 3 H, H-1^c, H-3^d, H-4^e), 4.55 (near t, 1 H, H-5^c), 4.45–4.28 (m, 5 H, H-4^a, H-6a^a, H-6b^a, H-3^b, H-6a^d), 4.16 (dt, 1 H, C(=O)OCH₂), 4.11–4.04 (m, 3 H, H-3^c, H-5^d, H-6b^d), 3.98–3.88 (m, 4 H, H-5^a, H-6a^b, H-6b^b, C(=O)OCH₂), 3.79–3.60 (m, 7 H, H-5^b, H-2^c, H-6a^c, H-6b^c, H-5^e, H-6^e, H-9a^e), 2.98 (dt, 1 H, $J_{8,9b} = J_{9b,\text{NH}} = 6.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 14.5$ Hz, H-9b^e), 2.38 (dd, 1 H, $J_{3eq,4} = 5.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.3$ Hz, H-3eq^e), 2.14–

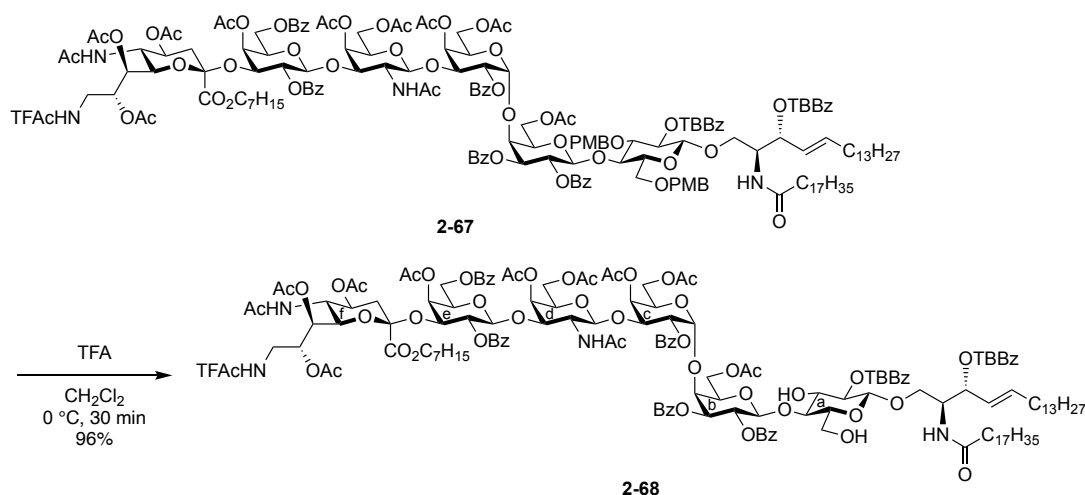
1.55 (m, 32 H, 10 Ac, C(=O)OCH₂CH₂), 1.41 (t, 1 H, $J_{3ax,4} = 12.0$ Hz, H-3^{ax^e}), 1.26–1.20 (m, 8 CH₂^e), 0.86 (t, 3 H, CH₂Me^{Cer}), 0.63 (s, 3 H, Ac); HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 2283.6966, C₁₀₇H₁₁₈F₆N₄O₄₃ calcd for $[M+Na]^+$ 2283.6966.



Compound 2-67

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-66** (127 mg, 56.1 μ mol)、受容体 **1-33b** (108 mg, 84.1 μ mol) を CH₂Cl₂ (2.80 mL) に溶解し、活性化したモレキュラーシーブス AW-300 (280 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、0 °C に冷却し、trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (2.0 μ L, 11.2 μ mol) を加え、8 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 5/2) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応溶液を中和し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 10/1 \rightarrow 4/1) で精製し、**2-67** (129 mg, 68%) を白色固体として得た。[α]_D +65.7° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.05–6.67 (m, 42 H, 9 Ar, CF₃C(=O)NH), 5.78 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} = 15.4$ Hz, H-5^{Cer}), 5.68–5.64 (m, 2 H, H-2^b, NH-2^{Cer}), 5.46 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 7.3$ Hz, H-3^{Cer}), 5.42 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4^c), 5.39 (dd, 1 H, H-4^{Cer}), 5.34–5.30 (m, 2 H, H-2^c, H-8^f), 5.28 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4^d), 5.17–5.09 (m, 5 H, H-2^a, H-3^b, H-1^c, H-2^e, H-4^e), 5.02–5.00 (m, 2 H, NH-2^d, NH-5^f), 4.95–4.89 (m, 3 H, H-1^b, H-1^d, H-7^f), 4.80–4.75 (m, 2 H, H-1^e, H-4^f), 4.66 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.3$ Hz, ArCH₂), 4.60 (d, 1 H, ArCH₂), 4.58 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-3^e), 4.45–4.32 (m, 6 H, H-1^a, H-3^d, H-5^d, H-6a^e, H-2^{Cer}, ArCH₂), 4.30–4.27 (m, 2 H, H-3^c, H-5^c), 4.23 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4^b), 4.20–3.90 (m, 11 H, H-4^a, H-6^b, H-5^e, H-6b^e, H-5^f, H-9a^f, H-1a^{Cer}, H-1b^{Cer}, ArCH₂, C(=O)OCH₂), 3.83–3.69 (m, 9 H, H-3^a, H-6b^b, H-6a^d, 2 OMe), 3.65–3.58 (m, 2 H, H-6a^c, H-6b^d), 3.52–3.37 (m, 5 H, H-

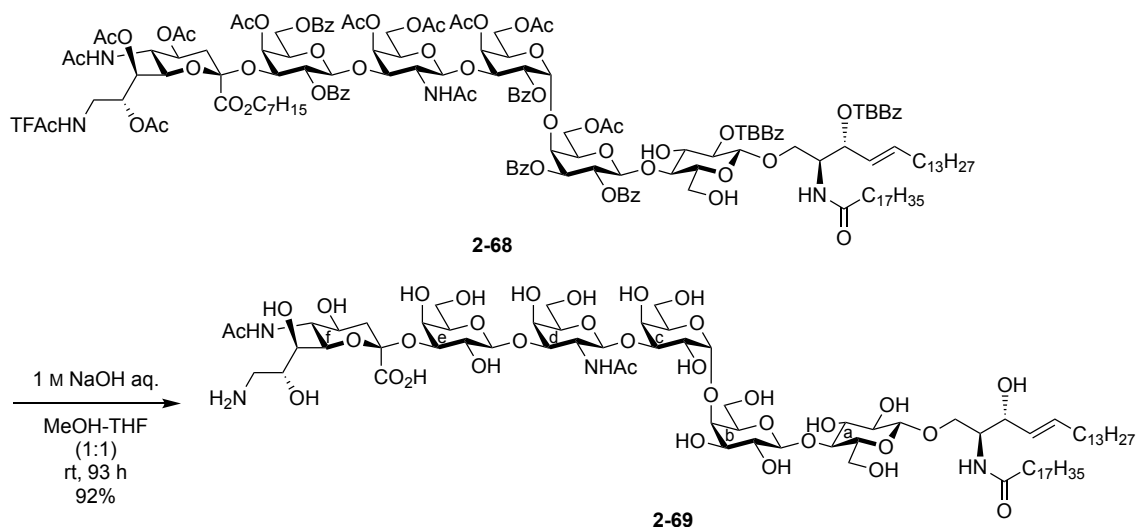
6a^a, H-6b^a, H-5^b, H-6b^c, H-6^f), 3.26 (br d, 1 H, H-5^a), 3.11 (m, 1 H, H-2^d), 2.73 (near dt, 1 H, H-9b^f), 2.47 (dd, 1 H, $J_{3eq,4} = 4.5$ Hz, $J_{gem} = 12.5$ Hz, H-3eq^f), 2.09 (s, 3 H, Ac), 2.06 (s, 3 H, Ac), 2.03 (s, 3 H, Ac), 1.99 (s, 3 H, Ac), 1.99 (s, 3 H, Ac), 1.95–1.92 (m, 5 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}, Ac), 1.82 (s, 3 H, Ac), 1.81 (s, 3 H, Ac), 1.70–1.58 (m, 8 H, H-3ax^f, C(=O)OCH₂CH₂), NHC(=O)CH₂, Ac), 1.38–1.08 (m, 78 H, 4 CH₂^f, 26 CH₂^{Cer}, 2 ^tBu), 0.89–0.86 (m, 9 H, CH₂Me^f, 2 Me^{Cer}), 0.73 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.6, 172.5, 170.7, 170.5, 170.4, 170.3, 170.3, 170.3, 169.9, 169.9, 169.1, 167.3, 166.2, 165.8, 165.6, 165.3, 165.1, 165.0, 164.8, 159.3, 159.1, 158.1, 157.8, 157.0, 156.4, 137.1, 133.6, 133.4, 133.2, 133.1, 130.5, 130.2, 130.1, 130.0, 130.0, 129.9, 129.8, 129.6, 129.5, 129.4, 129.1, 128.9, 128.9, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.4, 128.3, 127.6, 126.8, 125.4, 125.3, 124.9, 117.0, 114.8, 113.9, 113.7, 101.1, 100.9, 100.6, 99.4, 98.3, 96.9, 79.2, 79.1, 77.6, 75.3, 74.8, 74.1, 74.0, 73.5, 73.4, 73.2, 72.3, 72.1, 71.8, 71.3, 71.2, 70.8, 70.6, 70.5, 70.3, 70.2, 70.1, 69.3, 68.8, 67.7, 67.5, 67.4, 67.3, 66.9, 66.7, 62.3, 61.3, 61.2, 61.0, 55.2, 55.2, 54.8, 50.4, 48.9, 38.6, 37.4, 36.4, 35.1, 35.0, 32.3, 31.9, 31.7, 31.1, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.3, 29.0, 28.8, 28.1, 25.7, 25.6, 23.1, 22.7, 22.5, 22.0, 21.1, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.5, 14.1, 14.1; HRMS (ESI) *m/z*: found [M/2+Na]⁺ 1702.7669, C₁₇₉H₂₃₃F₃N₄O₅₄ calcd for [M/2+Na]⁺ 1702.7673.



Compound 2-68

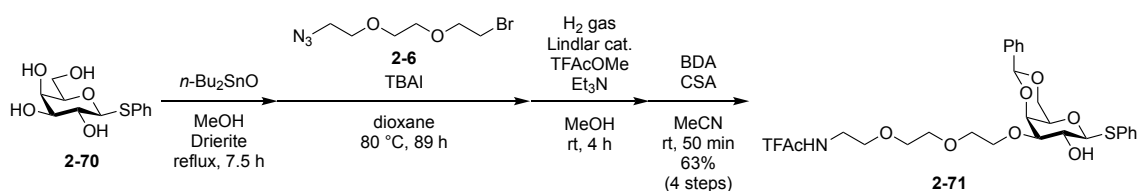
化合物 **2-67** (167 mg, 49.7 μmol) を CH₂Cl₂ (3.30 mL) に溶かし、trifluoroacetic acid (1.70 mL, 22.2 mmol) を 0 °C にて加え、30 分間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1, developed twice) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加え、反応溶液を中和した後、クロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene/acetone = 4/1) で精製し、**2-68** (149 mg,

96%) を白色固体として得た。[α]_D +73.1° (c 1.2, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.07–7.10 (m, 34 H, 7 Ar, CF₃C(=O)NH), 5.90 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 7.0$ Hz, $J_{4,5} = 15.0$ Hz, H-5^{Cer}), 5.80 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 10.0$ Hz, NH-2^{Cer}), 5.77 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, $J_{2,3} = 10.9$ Hz, H-2^b), 5.59 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.8$ Hz, H-3^{Cer}), 5.49 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4^c), 5.47–5.42 (m, 3 H, H-2^c, H-4^d, H-4^{Cer}), 5.34 (near dt, 1 H, $J_{7,8} = 10.0$ Hz, H-8^f), 5.26 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-3^b), 5.21–5.17 (m, 2 H, H-1^d, H-2^e), 5.15–5.07 (m, 4 H, H-2^a, H-4^e, NH-2^d, NH-5^f), 5.01 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^c), 4.92 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 2.5$ Hz, H-7^f), 4.89 (d, 1 H, H-1^b), 4.83 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1^e), 4.79 (td, 1 H, $J_{3eq,4} = 4.2$ Hz, $J_{3aq,4} = J_{4,5} = 11.3$ Hz, H-4^f), 4.68 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-3^d), 4.60 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-3^e), 4.49 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^a), 4.44–4.38 (m, 3 H, H-5^d, H-6a^e, H-2^{Cer}), 4.33–4.29 (m, 2 H, H-4^b, H-3^c), 4.23–4.11 (m, 5 H, H-6a^b, H-6a^c, H-6b^e, OH-3^a, C(=O)OCH₂^f), 4.03–3.84 (m, 11 H, H-3^a, H-4^a, H-5^b, H-6b^b, H-5^c, H-6b^c, H-5^e, H-5^f, H-9a^f, H-1a^{Cer}, C(=O)OCH₂), 3.66 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 7.5$ Hz, $J_{gem} = 11.3$ Hz, H-6a^d), 3.56 (dd, 1 H, $J_{1b,2} = 3.0$ Hz, $J_{gem} = 9.0$ Hz, H-1b^{Cer}), 3.49 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 11.0$ Hz, H-6^f), 3.36 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 6.0$ Hz, H-6b^d), 3.29 (br t, 1 H, H-6a^a), 3.17 (br d, 1 H, H-5^a), 3.08 (m, 1 H, H-2^d), 3.02 (br d, 1 H, H-6b^a), 2.87 (m, 1 H, OH-6^a), 2.75 (near dt, 1 H, H-9b^f), 2.49 (dd, 1 H, $J_{gem} = 12.5$ Hz, H-3eq^f), 2.10 (s, 3 H, Ac), 2.09 (s, 3 H, Ac), 2.05 (s, 3 H, Ac), 2.03 (s, 3 H, Ac), 2.00–1.95 (m, 10 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}, NHC(=O)CH₂, 2 Ac), 1.84 (s, 3 H, Ac), 1.83 (s, 3 H, Ac), 1.81 (s, 3 H, Ac), 1.69–1.64 (m, 4 H, H-3ax^f, Ac), 1.60–1.58 (m, 2 H, C(=O)OCH₂CH₂), 1.50–1.17 (m, 78 H, 4 CH₂^f, 26 CH₂^{Cer}, 2 ^tBu), 0.89–0.86 (m, 9 H, CH₂Me^f, 2 Me^{Cer}), 0.77 (s, 3 H, Ac); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 172.4, 170.6, 170.5, 170.5, 170.3, 170.2, 170.0, 169.9, 169.9, 169.1, 167.3, 166.0, 165.9, 165.6, 165.6, 165.5, 165.1, 164.8, 158.3, 158.0, 157.7, 157.0, 156.9, 138.5, 137.9, 133.7, 133.4, 133.1, 133.1, 130.3, 130.1, 129.9, 129.8, 129.7, 129.7, 129.4, 129.0, 128.9, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 127.3, 127.2, 125.5, 125.4, 125.3, 125.0, 119.3, 117.0, 114.7, 112.5, 102.2, 101.0, 99.6, 99.0, 98.2, 97.0, 81.0, 79.0, 77.7, 74.2, 74.0, 74.0, 73.9, 73.5, 73.4, 72.7, 72.6, 71.8, 71.3, 71.2, 71.2, 70.4, 70.1, 69.5, 69.3, 69.2, 68.8, 67.6, 67.4, 67.3, 66.9, 66.8, 66.1, 62.5, 61.3, 61.3, 61.1, 59.6, 55.3, 50.4, 48.8, 38.6, 37.3, 36.8, 35.2, 35.1, 32.3, 31.9, 31.6, 31.1, 31.1, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 29.3, 28.9, 28.8, 28.1, 25.7, 25.6, 23.0, 22.7, 22.5, 22.0, 21.4, 21.1, 20.8, 20.7, 20.6, 20.2, 14.1, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found [M/2+Na]⁺ 1582.7097, C₁₆₃H₂₁₇F₃N₄O₅₂ calcd for [M/2+Na]⁺ 1582.7098.



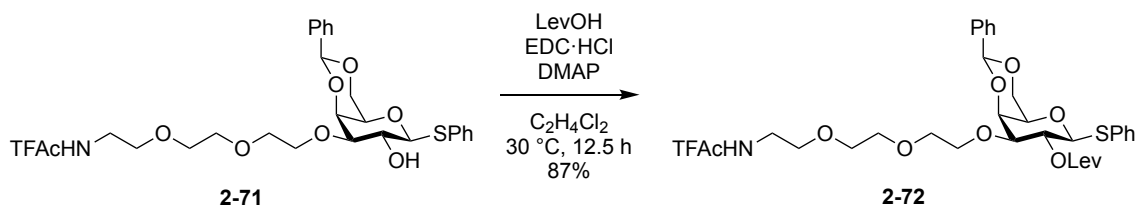
Compound 2-69

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-68** (138 mg, 44.2 μmol) を MeOH/THF = 1/1 (15.0 mL) に溶かし、1 M aq. sodium hydroxide (884 μL , 0.884 mmol) を加え、室温で 48 時間攪拌した。反応の進行を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/5\% \text{ aq. CaCl}_2 = 5/4/1$) で確認後、1 M aq. sodium hydroxide (442 μL , 0.442 mmol) を追加し、更に 45 時間攪拌した。反応終了を TLC で確認後、Muromac (H^+) を加えて反応溶液を中和し、樹脂の濾別、クロロホルム-メタノール (1:1) 混合溶媒による樹脂の洗浄、濾液の溶媒留去、エタノール共沸を行なった。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 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/28\% \text{ NH}_3 \text{ aq.} = 5/2/0.2/0 \rightarrow 5/5/0.5/0 \rightarrow 3/3/1/0.1$) で精製し、**2-69** (69.3 mg, 92%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}} +14.2^\circ$ (c 0.7, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 1/1$); ^1H NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD} = 1/1$) δ 5.71 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 7.0 \text{ Hz}$, $J_{4,5} = 15.2 \text{ Hz}$, H-5^{Cer}), 5.46 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 7.8 \text{ Hz}$, H-4^{Cer}), 4.99 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5 \text{ Hz}$, H-1^{c}), 4.94–2.88 (m, 46 H, H-1^a , H-2^a , H-3^a , H-4^a , H-5^a , H-6a^a , H-6b^a , H-1^b , H-2^b , H-3^b , H-4^b , H-5^b , H-6a^b , H-6b^b , H-2^c , H-3^c , H-4^c , H-5^c , H-6a^c , H-6b^c , H-1^d , H-2^d , H-3^d , H-4^d , H-5^d , H-6a^d , H-6b^d , H-1^e , H-2^e , H-3^e , H-4^e , H-5^e , H-6a^e , H-6b^e , H-3eq^f , H-4^f , H-5^f , H-6^f , H-7^f , H-8^f , H-9a^f , H-9b^f , H-1a^{Cer} , H-1b^{Cer} , H-2^{Cer} , H-3^{Cer}), 2.19–2.16 (m, 2 H, NHC(=O)CH_2), 2.04–2.00 (m, 5 H, H-6a^{Cer} , H-6b^{Cer} , 2 Ac), 1.73 (t, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.3 \text{ Hz}$, H-3ax^f), 1.59 (m, 2 H, $\text{NHC(=O)CH}_2\text{CH}_2$), 1.38–1.28 (m, 50 H, 25 CH_2^{Cer}), 0.90–0.88 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ^{13}C NMR (200 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD} = 1/1$) δ 175.3, 175.1, 174.6, 135.0, 130.0, 104.1, 103.6, 102.7, 77.1, 76.3, 75.7, 75.6, 75.1, 75.0, 74.0, 73.8, 72.5, 71.8, 71.4, 69.4, 69.2, 69.1, 68.8, 68.7, 68.5, 68.1, 67.9, 62.2, 61.0, 60.8, 54.2, 53.8, 53.1, 43.7, 41.5, 37.0, 32.9, 32.5, 30.2, 30.2, 30.2, 30.2, 30.1, 29.9, 29.9, 29.9, 29.8, 26.6, 23.6, 23.2, 22.5, 14.3; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M-H}]^-$ 1705.9382, $\text{C}_{79}\text{H}_{142}\text{N}_4\text{O}_{35}$ calcd for $[\text{M-H}]^-$ 1705.9382.



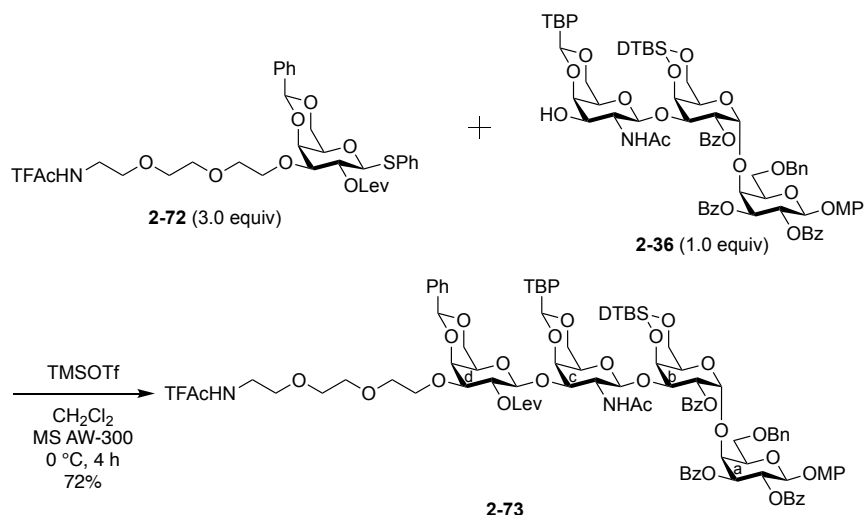
Compound 2-71

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-70** (300 mg, 1.10 mmol) を MeOH (11.0 mL) に溶かし、dibutyltin oxide (411 mg, 1.65 mmol)、Drierite (599 mg) を加え、還流条件下にて 7.5 時間攪拌した後、セライト濾過、メタノールによるセライト層の洗浄、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を 1,4-dioxane (11.0 mL) に溶かし、**2-6** (786 mg, 3.30 mmol)、tetra-*n*-butylammonium iodide (1.22 g, 3.30 mmol) を加え、80 °C で 89 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、メタノールを加えて反応を停止し、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 30/1) で精製し、得られた混合物を一晚真空乾燥した。残渣を MeOH (37.0 mL) に溶かし、triethylamine (1.52 mL, 11.0 mL)、methyl trifluoroacetate (546 μL, 5.50 mL)、palladium hydroxide (77.2 mg, 20% on carbon) を加え、H₂ 気流下にて室温で 4 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、セライト濾過、メタノールによるセライト層の洗浄、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 30/1) で精製し、得られた混合物を一晚真空乾燥した。残渣を MeCN (11.0 mL) に溶かし、benzaldehyde dimethyl acetal (332 μL, 2.20 mmol)、(±)-10-camphorsulfonic acid (25.6 mg, 0.110 mmol) を加え、室温で 50 分間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、トリエチルアミンを加えて反応溶液を中和し、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 100/1) で精製し、**2-71** (404 mg, 63%) を白色固体として得た。[α]_D -39.7° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.10 (br s, 1 H, CF₃C(=O)NH), 7.67–7.23 (m, 10 H, 2 Ph), 5.50 (s, 1 H, PhCH<), 4.56 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 9.4 Hz, H-1), 4.47 (br s, 1 H, OH-2), 4.38 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 1.5 Hz, *J*_{gem} = 12.5 Hz, H-6a), 4.27 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-4), 4.04–4.00 (m, 2 H, H-6b, OCH₂), 3.96 (br t, 1 H, *J*_{2,3} = 9.3 Hz, H-2), 3.74–3.66 (m, 2 H, 2 OCH₂), 3.65–3.45 (m, H-3, H-5, 7 OCH₂), 3.40–3.29 (m, 2 H, 2 NHCH₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 157.5, 157.2, 137.8, 133.5, 131.5, 129.2, 129.0, 128.8, 128.2, 128.2, 127.8, 126.6, 125.3, 117.2, 114.9, 101.3, 86.4, 83.7, 74.5, 70.7, 70.4, 70.1, 70.1, 70.0, 69.5, 68.9, 67.2, 39.8; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 610.1690, C₂₇H₃₂F₃NO₈S calcd for [M+Na]⁺ 610.1693.



Compound 2-72

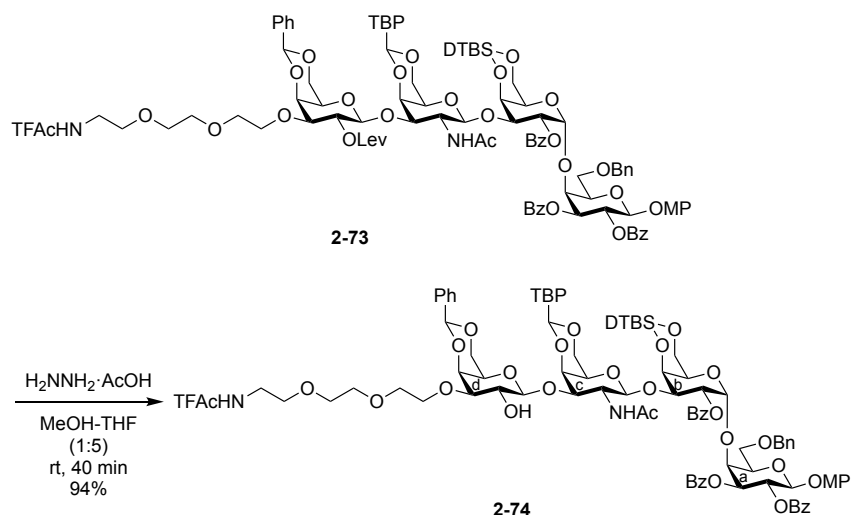
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-71** (391 mg, 0.665 mmol) を $\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ (13.0 mL) に溶かし、4-dimethylaminopyridine (81.2 mg, 0.665 mmol)、levulinic acid (102 μL , 0.998 mmol)、1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (191 mg, 0.998 mmol) を加え、30 $^\circ\text{C}$ で 12.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/2, developed twice) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 4/1) で精製し、**2-72** (398 mg, 87%) を白色固体として得た。[α]_D -3.8° (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.61–7.14 (m, 11 H, 2 Ph, $\text{CF}_3\text{C}(=\text{O})\text{NH}$), 5.49 (s, 1 H, $\text{PhCH}<$), 5.25 (t, 1 H, $J_{1,2} = J_{2,3} = 9.9$ Hz, H-2), 4.66 (d, 1 H, H-1), 4.38 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 1.3$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.2$ Hz, H-6a), 4.32 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4), 4.04 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 1.5$ Hz, H-6b), 3.76 (m, 1 H, OCH_2), 3.65–3.56 (m, 6 H, H-3, 5 OCH_2), 3.53–3.43 (m, 5 H, H-5, 4 OCH_2), 3.38–3.25 (m, 2 H, 2 NHCH_2), 2.87–2.59 (m, 4 H, 4 $\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2$), 2.20 (s, 3 H, $\text{C}(=\text{O})\text{Me}$); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 206.5, 171.2, 157.3, 157.0, 137.6, 133.5, 131.6, 129.2, 128.7, 128.1, 128.0, 126.6, 117.1, 114.8, 101.3, 85.2, 79.8, 73.3, 70.6, 70.4, 70.3, 70.0, 69.7, 69.3, 68.6, 68.4, 39.6, 37.9, 29.9, 28.1; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 708.2064, $\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{F}_3\text{NO}_{10}\text{S}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 708.2061.



Compound 2-73

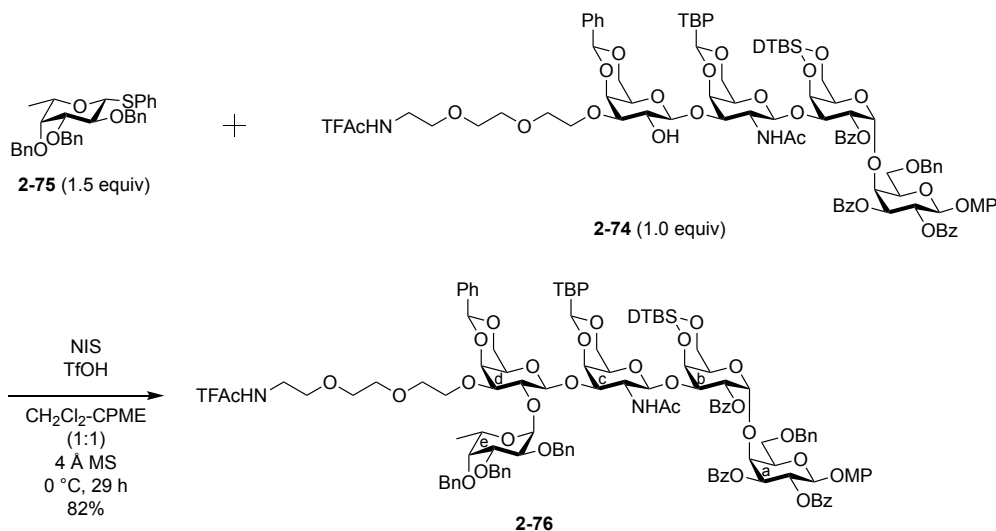
Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-72** (79.2 mg, 0.116 mmol)、受容体 **2-36** (51.5 mg, 38.5 μmol) を

CH₂Cl₂ (1.60 mL) に溶かし、活性化させたモレキュラーシーブス 4 Å (120 mg)、*N*-iodosuccinimide (34.5 mg, 0.154 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、0 °C に冷却し、trifluoromethanesulfonic acid (1.0 μL, 11.6 μmol) を加え、更に 4 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/Acetone = 4/1, developed twice) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液を CHCl₃ で希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 5/1 → 4/1 → 2/1) で精製し、**2-73** (53.2 mg, 72%) を白色固体として得た。[α]_D +89.7° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.20–6.72 (m, 34 H, 7 Ar, CF₃C(=O)NH), 6.55 (d, 1 H, *J*_{2,NH} = 6.5 Hz, NH-2^c), 5.96 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 7.8 Hz, *J*_{2,3} = 10.7 Hz, H-2^a), 5.69 (dd, 1 H, *J*_{1,2} = 3.8 Hz, *J*_{2,3} = 10.7 Hz, H-2^b), 5.56 (s, 1 H, ArCH<), 5.48 (s, 1 H, PhCH<), 5.45 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1^c), 5.33 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 2.8 Hz, H-3^a), 5.24–5.20 (m, 2 H, H-1^b, H-2^d), 5.09 (d, 1 H, H-1^a), 4.82–4.79 (m, 2 H, H-4^b, H-3^c), 4.56 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1^d), 4.40 (m, 2 H, H-4^a, H-4^c), 4.36 (br d, 1 H, *J*_{gem} = 11.5 Hz, H-6a^d), 4.31 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 2.5 Hz, H-3^b), 4.27 (br d, 1 H, *J*_{gem} = 12.0 Hz, H-6a^c), 4.23 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.5 Hz, H-4^d), 4.11–4.04 (m, 5 H, H-5^b, H-6b^c, H-6b^d, 2 PhCH₂), 3.90 (t, 1 H, *J*_{5,6a} = *J*_{5,6b} = 6.5 Hz, H-5^a), 3.77–3.69 (m, 4 H, OMe, OCH₂), 3.64–3.31 (m, 18 H, H-6a^a, H-6b^a, H-6a^b, H-6b^b, H-2^c, H-5^c, H-3^d, H-5^d, 9 OCH₂, NHCH₂), 3.22 (m, 1 H, NHCH₂), 2.85 (m, 1 H, C(=O)CH₂), 2.54–2.45 (m, 2 H, 2 C(=O)CH₂), 2.38 (m, 1 H, C(=O)CH₂), 2.11 (s, 3 H, C(=O)Me), 1.32–1.31 (m, 12 H, Ac, ^tBu), 1.03 (s, 9 H, ^tBu), 0.95 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 207.3, 171.2, 171.0, 166.2, 165.9, 165.5, 157.3, 157.0, 155.6, 151.3, 151.2, 137.7, 137.6, 135.6, 133.6, 133.2, 133.2, 130.5, 129.9, 129.8, 129.7, 129.4, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.4, 128.4, 128.2, 127.8, 127.7, 126.5, 126.3, 124.7, 119.0, 117.1, 114.8, 114.4, 101.7, 101.3, 101.2, 100.7, 100.0, 98.1, 78.5, 76.3, 75.2, 74.3, 74.2, 74.0, 73.8, 73.6, 73.3, 73.2, 70.8, 70.6, 70.5, 70.4, 69.7, 69.6, 69.4, 69.3, 68.4, 68.2, 68.0, 66.7, 66.4, 66.2, 55.6, 54.9, 39.6, 37.6, 34.6, 31.4, 29.9, 29.7, 27.8, 27.5, 27.4, 27.2, 23.3, 23.0, 22.7, 20.6; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 1935.7461, C₁₀₀H₁₁₉F₃N₂O₃₀Si calcd for [M+Na]⁺ 1935.7461.



Compound 2-74

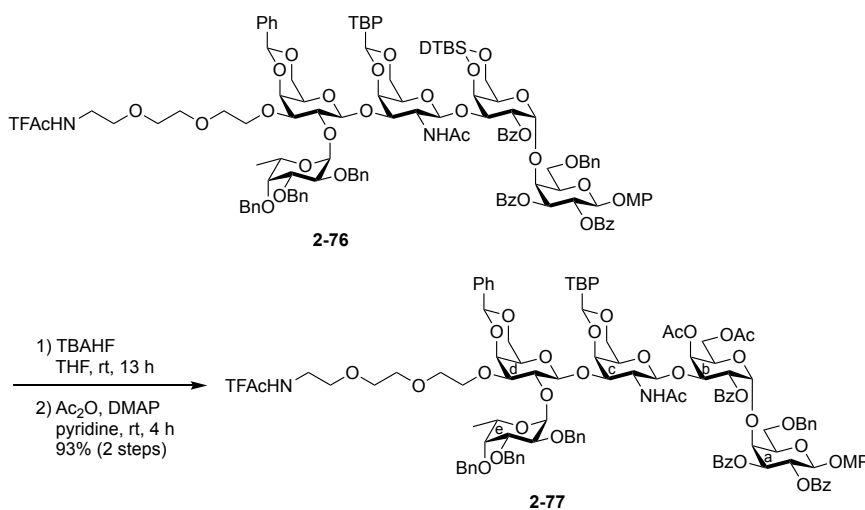
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-73** (66.3 mg, 34.6 μ mol) を MeOH/THF = 1/5 (1.70 mL) に溶かし、hydrazine acetate (31.9 mg, 0.346 mmol) を加え、室温で 40 分間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/2) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene/acetone = 2/1) で精製し、**2-74** (58.9 mg, 94%) を白色固体として得た。[α]_D +74.8° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.19–6.72 (m, 34 H, 7 Ar, CF₃C(=O)NH), 5.97 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ = 7.7 Hz, $J_{2,3}$ = 10.9 Hz, H-2^a), 5.72–5.69 (m, 2 H, H-2^b, NH-2^c), 5.55 (s, 1 H, ArCH<), 5.48 (s, 1 H, PhCH<), 5.36 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz, H-1^c), 5.33 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.0 Hz, H-3^a), 5.20 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 3.5 Hz, H-1^b), 5.10 (d, 1 H, H-1^a), 4.81–4.79 (m, 2 H, H-4^b, H-3^c), 4.42–4.41 (m, 2 H, H-4^a, H-4^c), 4.36–4.34 (m, 2 H, H-1^d, H-6^d), 4.31–4.25 (m, 2 H, H-3^b, H-6a^c), 4.18 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.3 Hz, H-4^d), 4.12–4.03 (m, 5 H, H-5^b, H-6b^c, H-6b^d, 2 PhCH₂), 3.92–3.82 (m, 3 H, H-5^a, H-2^d, OCH₂), 3.74–3.41 (m, 18 H, H-6a^a, H-6b^a, H-6a^b, H-6b^b, H-2^c, H-5^d, OMe, 9 OCH₂), 3.36 (br s, 1 H, H-5^c), 3.32 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 9.5 Hz, H-3^d), 3.26 (m, 1 H, NHCH₂), 3.10 (m, 1 H, NHCH₂), 2.43 (m, 1 H, OH-2^d), 1.30 (s, 9 H, ^tBu), 1.19 (s, 3 H, Ac), 1.04 (s, 9 H, ^tBu), 0.98 (s, 9 H, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.4, 166.0, 165.7, 165.4, 157.5, 157.2, 156.9, 156.6, 155.5, 151.5, 151.1, 137.8, 137.7, 137.4, 135.3, 133.5, 133.2, 133.2, 130.3, 129.7, 129.5, 129.4, 129.2, 128.9, 128.8, 128.6, 128.5, 128.3, 128.2, 128.1, 128.1, 127.7, 126.4, 126.3, 125.2, 124.7, 124.4, 118.9, 117.0, 114.7, 114.3, 104.0, 101.0, 100.3, 98.0, 80.5, 77.3, 77.2, 77.0, 76.7, 76.1, 75.8, 74.2, 74.0, 73.9, 73.8, 73.7, 73.5, 73.1, 70.5, 70.2, 70.1, 69.9, 69.6, 69.5, 69.4, 69.2, 69.2, 68.1, 68.0, 67.8, 66.5, 66.3, 55.5, 54.9, 39.4, 34.4, 31.6, 31.2, 27.4, 27.3, 23.3, 22.7, 21.3, 20.5; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 1837.7094, C₉₅H₁₁₃F₃N₂O₂₈Si calcd for [M+Na]⁺ 1837.7093.



Compound 2-76

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-75** (186 mg, 0.354 mmol)、受容体 **2-74** (428 mg, 0.236 mmol) を $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CPME} = 1/1$ (5.90 mL) に溶かし、*N*-iodosuccinimide (95.0 mg, 0.424 mmol)、活性化したモレキュラーシーブス 4 Å (600 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、0 °C に冷却し、trifluoromethanesulfonic acid (2.1 μL, 23.6 μmol) を加え、更に 29 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応溶液を中和し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をゲル濾過クロマトグラフィー (LH20; $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 1/1$) 及びフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (toluene/acetone = 7/1 → 4/1) で精製し、**2-76** (430 mg, 82%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +64.0^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.22–6.72 (m, 49 H, 10 Ar, $\text{CF}_3\text{C}(=\text{O})\text{NH}$), 5.95 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, $J_{2,3} = 10.7$ Hz, H-2^a), 5.86 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 3.7$ Hz, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-2^b), 5.74 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^e), 5.54 (s, 1 H, ArCH<), 5.46 (s, 1 H, PhCH<), 5.37 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^c), 5.32 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.8$ Hz, H-3^a), 5.25 (d, 1 H, H-1^b), 5.09 (d, 1 H, H-1^a), 4.91 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 7.0$ Hz, NH-2^c), 4.89–4.86 (m, 2 H, H-4^b, PhCH₂), 4.83 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, $J_{3,4} = 11.3$ Hz, H-3^c), 4.78 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 13.0$ Hz, PhCH₂), 4.68 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, PhCH₂), 4.60–4.55 (m, 2 H, 2 PhCH₂), 4.44 (d, 1 H, H-4^a), 4.33–4.31 (m, 4 H, H-3^b, H-4^c, 2 PhCH₂), 4.27 (br d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, H-6a^d), 4.21 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 4.15–4.11 (m, 4 H, H-5^b, H-6a^c, H-4^d, H-5^e), 4.08–4.06 (m, 2 H, H-6b^d, PhCH₂), 4.00 (br d, 1 H, H-6b^c), 3.97–3.89 (m, 3 H, H-5^a, H-2^d, H-2^e), 3.75 (s, 3 H, OMe), 3.66–3.18 (m, 20 H, H-6a^a, H-6b^a, H-6a^b, H-6b^b, H-2^c, H-5^c, H-3^d, H-5^d, H-3^e, H-4^e, 10 OCH₂), 3.09–3.05 (m, 2 H, 2 NHCH₂), 1.30 (s, 9 H, ^tBu), 1.04 (s, 9 H, ^tBu), 1.00 (s, 9 H, ^tBu), 0.85 (s, 3 H, Ac), 0.55 (d, 3 H, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H-6^e); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171.2,

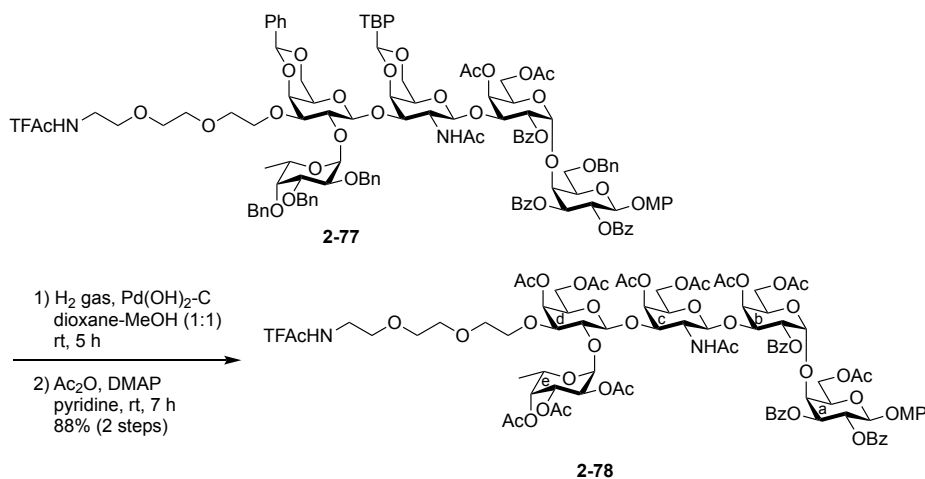
166.2, 165.9, 165.5, 157.7, 157.4, 155.6, 152.0, 151.3, 139.6, 138.7, 138.6, 137.8, 137.5, 136.1, 133.7, 133.3, 133.3, 130.5, 129.8, 129.7, 129.6, 129.4, 129.0, 128.9, 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 128.4, 128.2, 128.1, 127.9, 127.8, 127.8, 127.7, 127.5, 127.1, 126.9, 126.7, 126.1, 124.8, 119.1, 117.1, 114.8, 114.4, 101.2, 101.1, 101.1, 100.6, 100.5, 97.9, 95.1, 82.2, 77.9, 76.1, 75.8, 75.7, 75.5, 74.4, 74.1, 73.7, 73.6, 73.2, 72.2, 71.0, 70.8, 70.5, 70.1, 70.0, 69.8, 69.7, 69.4, 69.2, 68.1, 67.9, 66.7, 66.5, 66.2, 55.7, 55.6, 39.6, 34.6, 31.4, 29.7, 27.6, 27.4, 23.5, 22.6, 20.6, 15.4; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 2253.9080, $C_{122}H_{141}F_3N_2O_{32}Si$ calcd for $[M+Na]^+$ 2253.9081.



Compound 2-77

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-76** (426 mg, 0.191 mmol) を THF (3.80 mL) に溶かし、1 M tributylamine hydrofluoride in THF (1.91 mL, 1.91 mmol) を加え、室温で 13 時間撹拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 1/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を pyridine (1.90 mL) に溶かし、acetic anhydride (72.4 μ L, 0.764 mmol)、4-dimethylaminopyridine (2.3 mg, 19.1 μ mol) を 0 °C にて加え、室温で 2 時間撹拌した。反応の進行を TLC (*n*-hexane/acetone = 1/1) で確認後、acetic anhydride (72.4 μ L, 0.764 mmol) を追加し、更に 2 時間撹拌した。反応終了を TLC で確認後、0 °C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止した。反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 2/1 \rightarrow 3/2) で精製し、**2-77** (386 mg, 93%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_D^{+69.5^\circ}$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.12–6.72 (m, 49 H, 10 Ar, $CF_3C(=O)NH$), 6.07 (dd, 1

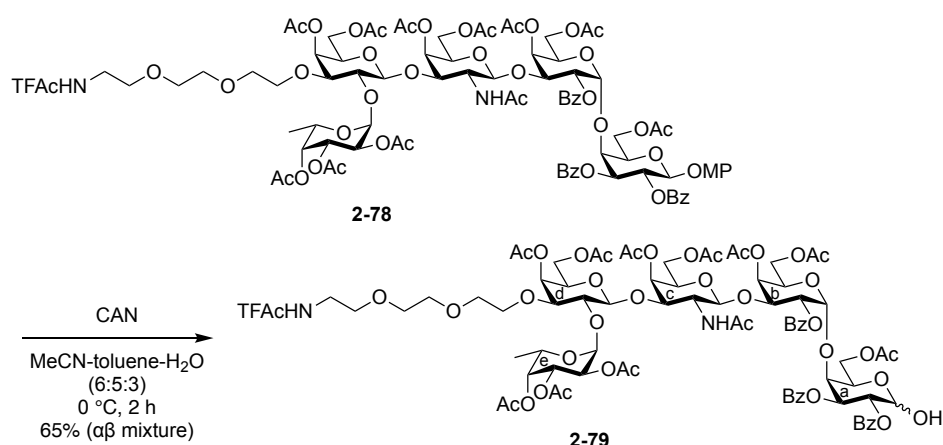
H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.7$ Hz, H-2^a), 5.73 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^e), 5.65–5.61 (m, 2 H, H-2^b, NH-2^c), 5.53 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4^b), 5.49 (s, 1 H, ArCH<), 5.47 (s, 1 H, PhCH<), 5.41 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.5$ Hz, H-1^c), 5.38 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.8$ Hz, H-3^a), 5.25 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^b), 5.09 (d, 1 H, H-1^a), 4.81 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 10.5$ Hz, PhCH₂), 4.96 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, PhCH₂), 4.64–4.56 (m, 3 H, H-3^b, 2 PhCH₂), 4.54 (t, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.8$ Hz, H-5^b), 4.51–4.49 (m, 2 H, H-4^a, H-3^c), 4.41 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 4.36–4.33 (m, 2 H, H-6a^d, PhCH₂), 4.30 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4^c), 4.28–4.24 (m, 3 H, H-6a^c, 2 PhCH₂), 4.19 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4^d), 4.11 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, PhCH₂), 4.06–3.90 (m, 6 H, H-5^a, H-6b^c, H-2^d, H-6b^d, H-2^e, H-5^e), 3.75 (s, 3 H, OMe), 3.67 (m, 1 H, OCH₂), 3.56–3.18 (m, 19 H, H-6a^a, H-6b^a, H-6a^b, H-6b^b, H-2^c, H-5^c, H-3^d, H-5^d, H-3^e, H-4^e, 9 OCH₂), 3.08–3.05 (m, 2 H, 2 NHCH₂), 2.09 (s, 3 H, Ac), 1.81 (s, 3 H, Ac), 1.42 (s, 3 H, Ac), 1.25 (s, 9 H, 'Bu), 0.52 (d, 3 H, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H-6^e); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.1, 170.1, 170.1, 165.9, 165.9, 165.5, 157.6, 157.4, 155.6, 151.8, 151.4, 139.3, 138.9, 138.8, 137.7, 137.4, 135.8, 133.7, 133.3, 130.3, 129.7, 129.7, 129.6, 129.4, 128.9, 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 128.4, 128.1, 128.1, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.5, 127.2, 126.5, 126.1, 124.8, 119.1, 117.0, 114.8, 114.4, 101.8, 101.3, 101.1, 100.7, 99.6, 96.7, 95.5, 82.1, 79.0, 78.8, 76.2, 75.6, 75.4, 73.8, 73.7, 73.5, 73.2, 72.8, 72.5, 72.2, 71.9, 70.2, 70.0, 69.9, 69.8, 69.6, 69.3, 68.8, 68.1, 68.0, 67.4, 67.3, 66.7, 66.4, 61.8, 55.6, 55.2, 39.6, 34.6, 31.3, 29.3, 23.1, 21.0, 20.6, 15.3; HRMS (ESI) m/z : found $[M+Na]^+$ 2197.8274, C₁₁₈H₁₂₉F₃N₂O₃₄ calcd for $[M+Na]^+$ 2197.8271.



Compound 2-78

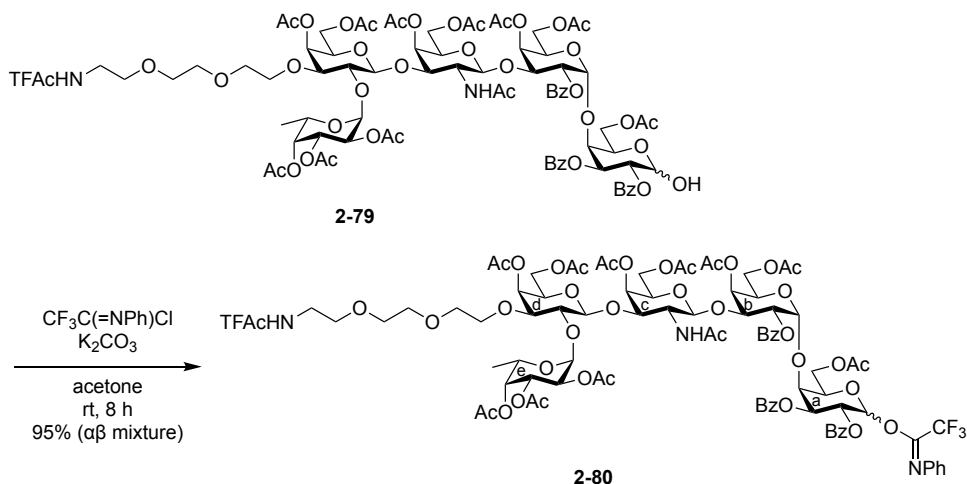
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-77** (57.5 mg, 26.4 μ mol) を 1,4-dioxane/MeOH = 1/1 (1.30 mL) に溶かし、palladium hydroxide (115 mg, 20% on carbon) を加え、H₂ 気流下にて室温で 5 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 5/1) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を pyridine (0.26 mL) に溶か

し、acetic anhydride (30.0 μ L, 0.317 mmol)、4-dimethylaminopyridine (0.3 mg, 2.64 μ mol) を 0 °C にて加え、室温で 7 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$) で確認後、メタノールを加えて反応を停止し、トルエン共沸を行なった。残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 1/1) で精製し、**2-78** (44.4 mg, 88%) を白色固体として得た。[α]_D +46.8° (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.12–6.75 (m, 20 H, 4 Ar, $\text{CF}_3\text{C}(=\text{O})\text{NH}$), 6.50 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 6.5$ Hz, NH-2^c), 5.94 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^a), 5.63 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^e), 5.59 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.0$ Hz, H-4^b), 5.51 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^b), 5.39 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4^c), 5.36–5.32 (m, 2 H, H-3^a, H-4^d), 5.27 (d, 1 H, H-1^b), 5.22 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^c), 5.20–5.19 (m, 2 H, H-3^e, H-4^e), 5.13 (m, 1 H, H-2^e), 5.11 (d, 1 H, H-1^a), 5.01 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, H-3^c), 4.60–4.56 (m, 2 H, H-3^b, H-5^c), 4.50–4.44 (m, 2 H, H-6a^b, H-5^e), 4.40 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 4.34 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.8$ Hz, H-4^a), 4.25 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.3$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.3$ Hz, H-6a^a), 4.12–4.07 (m, 3 H, H-6b^a, H-6a^d, H-6b^d), 4.03–3.95 (m, 3 H, H-5^a, H-5^b, H-6b^b), 3.85 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 6.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.3$ Hz, H-6a^c), 3.76–3.67 (m, 6 H, H-6b^c, H-5^d, OMe, OCH_2), 3.63–3.33 (m, 13 H, H-2^d, H-3^d, 9 OCH_2 , 2 NHCH_2), 3.02 (m, 1 H, H-2^c), 2.14 (s, 6 H, 2 Ac), 2.12 (s, 3 H, Ac), 2.10 (s, 3 H, Ac), 2.09 (s, 3 H, Ac), 2.08 (s, 3 H, Ac), 1.94 (s, 3 H, Ac), 1.92 (s, 3 H, Ac), 1.90 (s, 3 H, Ac), 1.89 (s, 3 H, Ac), 1.38 (s, 3 H, Ac), 1.10 (d, 3 H, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H-6^e); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 171.9, 171.3, 170.8, 170.6, 170.6, 170.5, 170.4, 170.1, 169.8, 169.6, 166.2, 166.0, 165.2, 157.5, 157.2, 155.7, 151.1, 133.7, 133.6, 133.4, 130.2, 129.9, 129.7, 129.2, 129.0, 128.7, 128.6, 128.6, 128.5, 118.7, 117.1, 114.8, 114.5, 101.8, 101.0, 99.0, 98.4, 95.1, 81.5, 74.8, 73.3, 73.2, 72.1, 71.6, 71.3, 71.1, 70.9, 70.8, 70.6, 70.4, 70.4, 70.2, 70.2, 70.1, 69.5, 69.4, 69.3, 68.7, 68.5, 67.9, 67.5, 66.1, 64.3, 62.5, 61.8, 61.6, 61.3, 56.1, 55.6, 53.8, 39.8, 31.7, 29.7, 29.3, 22.6, 20.8, 20.8, 20.7, 20.7, 20.7, 20.6, 20.6, 20.6, 20.5, 15.7; HRMS (ESI) *m/z*: found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1941.5987, $\text{C}_{93}\text{H}_{109}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_{41}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 1941.5986.



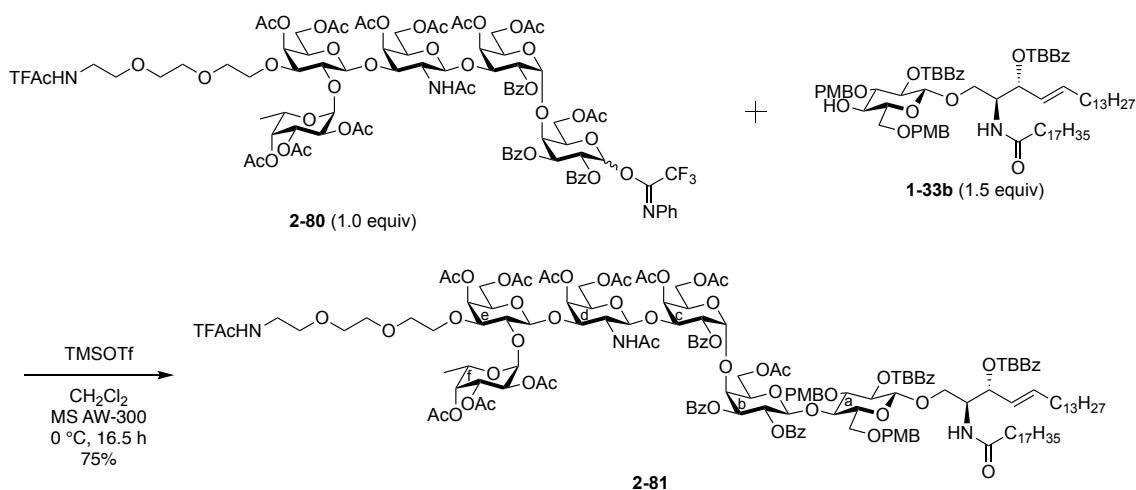
Compound 2-79

Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-78** (44.4 mg, 23.1 μ mol) を MeCN/toluene/H₂O = 6/5/3 (0.46 mL) に溶かし、cerium (IV) ammonium nitrate (127 g, 0.231 mmol) を 0 °C にて加え、2 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 20/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 60/1) で精製し、**2-79** (27.4 mg, 65%, α : β = 1:0.3) を白色固体として得た。 α isomer; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.11–7.33 (m, 16 H, 3 Ph, CF₃C(=O)NH), 6.50 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}}$ = 6.0 Hz, NH-2^c), 5.80 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 11.0 Hz, $J_{3,4}$ = 2.5 Hz, H-3^a), 5.70 (br t, 1 H, $J_{1,2}$ = $J_{1,\text{OH}}$ = 3.3 Hz, H-1^a), 5.63 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 3.4 Hz, H-1^e), 5.61 (dd, 1 H, H-2^a), 5.55 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz, H-4^b), 5.49 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ = 3.5 Hz, $J_{2,3}$ = 10.5 Hz, H-2^b), 5.39 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.5 Hz, H-4^c), 5.33 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 3.0 Hz, H-4^d), 5.30 (d, 1 H, H-1^b), 5.23 (d, 1 H, $J_{1,2}$ = 8.0 Hz, H-1^c), 5.22–5.18 (m, 2 H, H-3^e, H-4^e), 5.13 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 10.8 Hz, H-2^e), 5.01 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ = 11.0 Hz, H-3^c), 4.60–4.51 (m, 2 H, H-3^b, H-5^c), 4.49 (m, 1 H, H-5^e), 4.41–4.37 (m, 2 H, H-6a^b, H-1^d), 4.31 (d, 1 H, H-4^a), 4.24 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ = 5.3 Hz, J_{gem} = 11.3 Hz, H-6a^a), 4.12–3.99 (m, 6 H, H-5^a, H-6b^a, H-5^b, H-6b^b, H-6a^d, H-6b^d), 3.83 (m, 1 H, H-6a^c), 3.78–3.68 (m, 3 H, H-6b^c, H-5^d, OCH₂), 3.64–3.34 (m, 13 H, H-2^d, H-3^d, 9 OCH₂, 2 NHCH₂), 3.01 (m, 1 H, H-2^c), 2.90 (d, 1 H, OH-1^a), 2.15–2.08 (m, 18 H, 6 Ac), 1.94 (s, 3 H, Ac), 1.91 (s, 3 H, Ac), 1.89 (s, 3 H, Ac), 1.70 (s, 3 H, Ac), 1.38 (s, 3 H, Ac), 1.09 (d, 3 H, $J_{5,6}$ = 6.5 Hz, H-6^e); HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 1835.5567, C₈₁H₉₉F₃N₂O₄₁ calcd for [M+Na]⁺ 1835.3368.



Compound 2-80

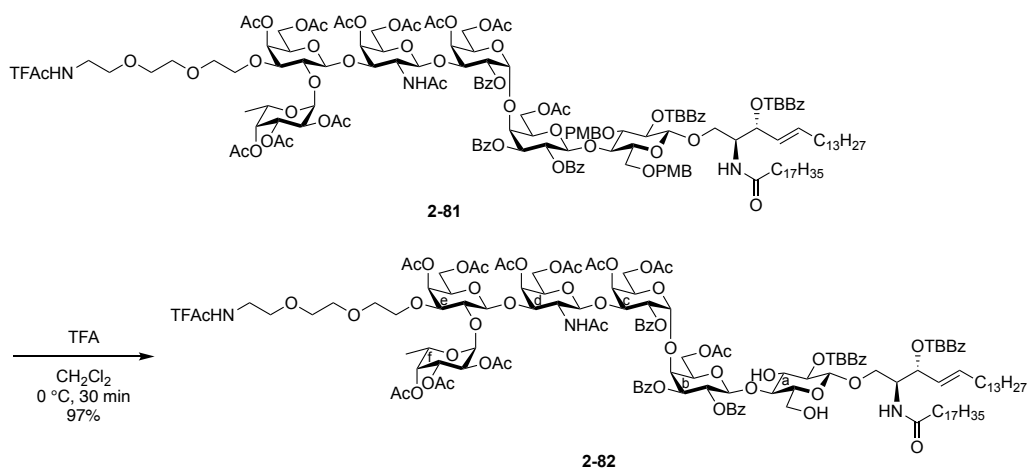
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-79** (12.7 mg, 7.00 μmol) を acetone (0.14 mL) に溶かし、2,2,2-trifluoro-*N*-phenylacetimidoyl chloride (2.3 μL , 14.0 μmol)、potassium carbonate (4.8 mg, 35.0 μmol) を加え、室温で 8 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$) で確認後、固形物の濾別、クロロホルムによる洗浄、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 80/1$) で精製し、**2-80** (13.2 mg, 95%, $\alpha:\beta = 1:0.3$) を白色固体として得た。 α isomer; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.11–6.47 (m, 22 H, 4 Ph, $\text{CF}_3\text{C(=O)NH}$, NH-2^c), 6.06 (br s, 1 H, H-1^a), 5.89 (m, 1 H, H-2^a), 5.78 (br dd, 1 H, $J_{3,4} = 2.3$ Hz, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-3^a), 5.64 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, H-1^e), 5.56 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4^b), 5.49 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^b), 5.40 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.2$ Hz, H-4^c), 5.33–5.32 (m, 2 H, H-1^b , H-4^d), 5.25 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^c), 5.22–5.19 (m, 2 H, H-3^e , H-4^e), 5.13 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^e), 5.03 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11.3$ Hz, H-3^c), 4.55–4.53 (m, 2 H, H-3^b , H-5^c), 4.48 (m, 1 H, H-5^e), 4.42–4.39 (m, 2 H, H-4^a , H-1^d), 4.34 (m, 1 H, H-6^b), 4.25 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a^a), 4.13–4.00 (m, 6 H, H-5^a , H-6b^a , H-5^b , H-6b^b , H-6a^d , H-6b^d), 3.84 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 5.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a^c), 3.79–3.69 (m, 3 H, H-6b^c , H-5^d , OCH_2), 3.63–3.33 (m, 13 H, H-2^d , H-3^d , 9 OCH_2 , 2 NHCH_2), 3.01 (m, 1 H, H-2^c), 2.15–2.07 (m, 18 H, 6 Ac), 1.94 (s, 3 H, Ac), 1.93 (s, 3 H, Ac), 1.91 (s, 3 H, Ac), 1.75 (s, 3 H, Ac), 1.39 (s, 3 H, Ac), 1.10 (d, 3 H, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H-6^e); HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 2006.5864, $\text{C}_{89}\text{H}_{103}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_{41}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 2006.5863.



Compound 2-81

Ar 雰囲気下にて、供与体 **2-80** (50.0 mg, 25.2 μmol)、受容体 **1-33b** (48.7 mg, 37.8 μmol) を CH_2Cl_2 (1.30 mL) に溶かし、活性化したモレキュラーシーブス AW-300 (130 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、0 $^\circ\text{C}$ に冷却し、trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (0.91 μL , 5.04 μmol) を加え、16.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応溶液を中和し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 10/1 \rightarrow 4/1) で精製し、**2-81** (58.6 mg, 75%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}} +31.1^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.05–6.67 (m, 32 H, 7 Ar, $\text{CF}_3\text{C(=O)NH}$), 6.40 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 7.0$ Hz, NH-2^d), 5.77 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.8$ Hz, $J_{4,5} = 15.0$ Hz, H-5^{Cer}), 5.68 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2^b), 5.63 (d, 1 H, $J_{2,\text{NH}} = 9.5$ Hz, NH-2^{Cer}), 5.60 (d, 1 H, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1^f), 5.48–5.36 (m, 4 H, H-2^c , H-4^c , H-3^{Cer} , H-4^{Cer}), 5.31 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4^e), 5.26–5.24 (m, 2 H, H-1^c , H-4^d), 5.16–5.09 (m, 5 H, H-2^a , H-3^b , H-2^f , H-3^f , H-4^f), 5.01 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^d), 4.91 (d, 1 H, H-1^b), 4.84 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.3$ Hz, $J_{2,3} = 11.3$ Hz, H-3^d), 4.68 (d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, ArCH_2), 4.61 (d, 1 H, ArCH_2), 4.50 (near t, 1 H, H-5^d), 4.45–4.41 (m, 3 H, H-3^c , H-5^f , ArCH_2), 4.36–4.30 (m, 4 H, H-1^a , H-1^e , H-6a^e , H-2^{Cer}), 4.23 (d, 1 H, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4^b), 4.14–4.05 (m, 5 H, H-4^a , H-6a^b , H-5^e , H-6b^e , ArCH_2), 4.02–3.97 (m, 2 H, H-6a^c , H-1a^{Cer}), 3.85–3.80 (m, 2 H, H-6b^b , H-6a^d), 3.76 (s, 3 H, OMe), 3.74–3.68 (m, 7 H, H-3^a , H-6b^d , 2 OCH_2 , OMe), 3.65–3.30 (m, 18 H, H-6a^a , H-6b^a , H-5^b , H-5^c , H-6b^c , H-2^e , H-3^e , H-1b^{Cer} , 8 OCH_2 , 2 NHC(=O)CH_2), 3.25 (near dt, 1 H, H-5^a), 2.93 (m, 1 H, H-2^d), 2.11 (s, 3 H, Ac), 2.11 (s, 3 H, Ac), 2.08 (s, 3 H, Ac), 2.08 (s, 3 H, Ac), 2.05 (s, 3 H, Ac), 2.04 (s, 3 H, Ac), 1.95–1.89 (m, 11 H, H-6a^{Cer} , H-6b^{Cer} , 3 Ac), 1.83 (s, 3 H, Ac), 1.70–1.66 (m, 2 H, NHC(=O)CH_2), 1.35–1.05 (m, 76 H, H-

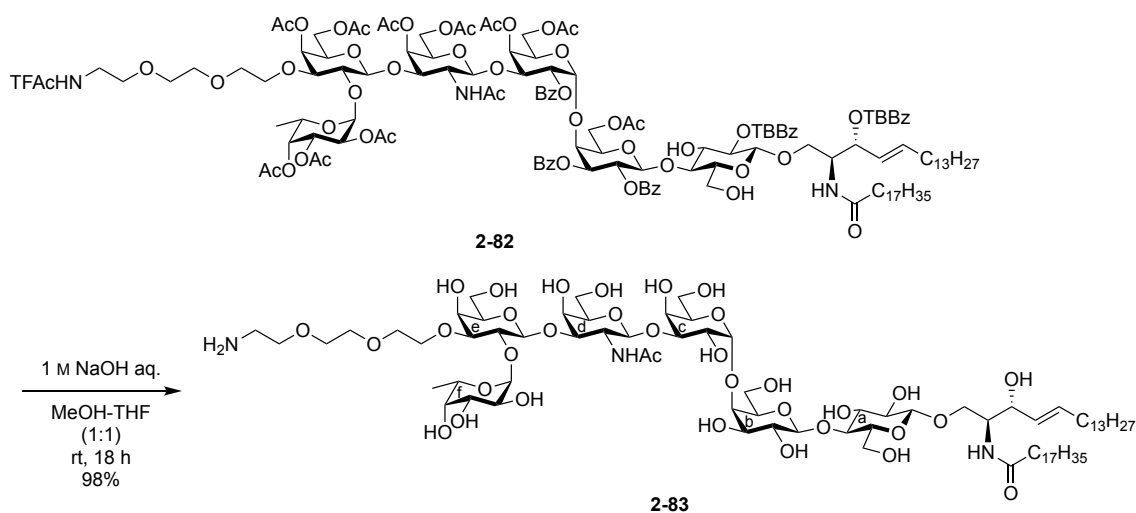
6f, 26 CH₂^{Cer}, 2 'Bu, Ac), 0.89–0.86 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.6, 171.7, 171.3, 170.6, 170.5, 170.5, 170.4, 170.4, 169.9, 169.8, 169.6, 169.5, 166.1, 165.9, 165.2, 165.1, 165.0, 159.3, 159.1, 157.5, 157.2, 157.0, 156.4, 137.1, 133.6, 133.6, 133.4, 130.5, 130.1, 129.8, 129.7, 129.6, 129.5, 129.5, 129.1, 128.9, 128.8, 128.7, 128.5, 128.5, 127.6, 126.8, 125.4, 125.3, 124.9, 117.1, 114.8, 113.9, 113.7, 101.7, 101.1, 100.6, 99.2, 98.4, 95.1, 81.6, 79.1, 77.6, 75.4, 74.8, 74.1, 73.5, 73.4, 73.4, 73.2, 72.9, 72.2, 71.4, 71.1, 71.1, 70.7, 70.6, 70.4, 70.3, 70.2, 70.1, 70.1, 69.3, 68.7, 68.5, 67.8, 67.5, 67.4, 66.0, 64.3, 62.0, 61.6, 61.3, 61.1, 55.9, 55.2, 55.2, 50.3, 39.8, 36.4, 35.1, 35.0, 32.3, 31.9, 31.1, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.3, 29.0, 25.6, 22.7, 22.5, 20.8, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6, 20.5, 20.5, 15.7, 14.1; HRMS (ESI) *m/z*: found [M/2+Na]⁺ 1564.2121, C₁₆₁H₂₁₈F₃N₃O₅₂ calcd for [M/2+Na]⁺ 1564.2121.



Compound 2-82

Ar雰囲気下にて、化合物**2-81** (154 mg, 49.9 μmol) をCH₂Cl₂ (3.30 mL) に溶解し、trifluoroacetic acid (1.70 mL, 22.2 mmol) を0 °Cにて加え、30 分間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1, developed twice) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応溶液を中和した後、クロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (toluene/acetone = 4/1) で精製し、**2-82** (138 mg, 97%) を白色固体として得た。[α]_D²⁰ +38.2° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06–7.16 (m, 24 H, 5 Ar, CF₃C(=O)NH), 6.51 (d, 1 H, *J*_{2,NH} = 6.5 Hz, NH-2^d), 5.89 (near quin, 1 H, *J*_{5,6a} = *J*_{5,6b} = 6.5 Hz, *J*_{4,5} = 15.4 Hz, H-5^{Cer}), 5.78–5.75 (m, 2 H, H-2^b, NH-2^{Cer}), 5.62 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 3.0 Hz, H-1^f), 5.58 (t, 1 H, *J*_{2,3} = *J*_{3,4} = 8.5 Hz, H-3^{Cer}), 5.54–5.52 (m, 2 H, H-2^c, H-4^c), 5.43 (dd, 1 H, H-4^{Cer}), 5.39 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-4^d), 5.32 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-4^e), 5.28 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 2.8 Hz, *J*_{2,3} = 10.8 Hz, H-3^b), 5.20–5.16 (m, 3 H, H-1^d, H-3^f, H-4^f), 5.14–5.10 (m, 3 H, H-2^a, H-1^c, H-2^f),

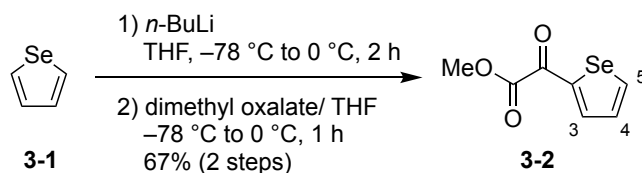
5.01 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, H-3^d), 4.87 (d, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1^b), 4.51–4.37 (m, 6 H, H-1^a, H-3^c, H-5^d, H-1^e, H-5^f, H-2^{Cer}), 4.29–4.24 (m, 3 H, H-4^b, H-6a^c, H-6a^e), 4.14–4.07 (m, 4 H, H-6a^b, H-6b^c, H-5^e, OH-3^a), 4.03–3.97 (m, 3 H, H-5^b, H-5^c, H-6b^e), 3.93–3.86 (m, 3 H, H-3^a, H-4^a, H-1a^{Cer}), 3.76–3.68 (m, 3 H, H-6b^b, H-6a^d, OCH₂), 3.62–3.26 (m, 16 H, H-6a^a, H-6b^d, H-2^e, H-3^e, H-1b^{Cer}, 9 OCH₂, 2 NHCH₂), 3.15 (br d, 1 H, H-5^a), 3.02–2.96 (m, 2 H, H-6b^a, H-2^d), 2.85 (br d, 1 H, OH-6^a), 2.14 (s, 3 H, Ac), 2.12–2.11 (m, 9 H, 3 Ac), 2.08 (s, 3 H, Ac), 2.07 (s, 3 H, Ac), 2.00–1.97 (m, 4 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}, NHC(=O)CH₂), 1.94 (s, 3 H, Ac), 1.92 (s, 3 H, Ac), 1.87 (s, 3 H, Ac), 1.86 (s, 3 H, Ac), 1.50–1.22 (m, 73 H, 26 CH₂^{Cer}, 2 ^tBu, Ac), 1.08 (d, 3 H, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H-6^f), 0.89–0.85 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 172.1, 171.2, 170.6, 170.4, 170.2, 170.1, 169.8, 169.6, 169.5, 166.0, 165.9, 165.7, 165.6, 165.2, 157.8, 157.5, 157.2, 157.0, 157.0, 138.5, 137.9, 133.7, 133.4, 130.0, 129.8, 129.8, 129.6, 129.4, 129.0, 128.9, 128.8, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 127.3, 127.2, 125.5, 125.4, 125.3, 124.9, 119.4, 117.1, 114.8, 102.2, 101.8, 99.6, 99.2, 98.1, 95.1, 81.5, 81.0, 74.3, 74.0, 73.9, 73.5, 73.3, 73.0, 72.8, 72.5, 71.9, 71.5, 71.2, 70.8, 70.6, 70.4, 70.3, 70.3, 70.2, 70.1, 69.5, 69.3, 69.2, 68.7, 68.5, 67.8, 67.5, 66.1, 64.3, 62.3, 61.9, 61.5, 61.4, 59.6, 56.0, 53.8, 50.4, 39.8, 36.8, 35.2, 35.1, 32.3, 31.9, 31.1, 31.1, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 29.3, 28.9, 25.6, 22.7, 22.6, 20.8, 20.8, 20.7, 20.7, 20.7, 20.6, 20.6, 20.3, 15.7, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found $[M/2+Na]^+$ 1444.1546, C₁₄₅H₂₀₂F₃N₃O₅₀ calcd for $[M/2+Na]^+$ 1444.1546.



Compound 2-83

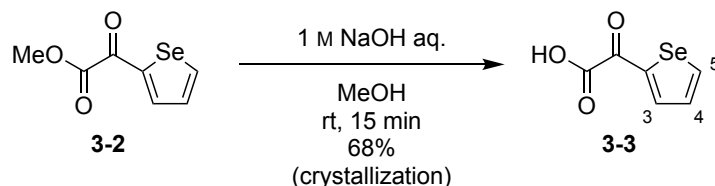
Ar 雰囲気下にて、化合物 **2-82** (129 mg, 45.4 μ mol) を MeOH/THF = 1/1 (15.0 mL) に溶かし、1 M aq. sodium hydroxide (908 μ L, 0.908 mmol) を加え、室温で 18 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH/H₂O/AcOH = 5/4/1/0.2) で確認後、Muromac (H⁺) を加えて反応溶液を中和し、樹脂の濾別、クロロホルム-メタノール (1:1) 混合溶媒による樹脂の洗浄、濾液の溶

媒留去、エタノール共沸を行なった。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 (CHCl₃/MeOH/H₂O/28% NH₃ aq. = 5/1/0.05/0 → 5/4/1/0 → 3/3/1/0.1) で精製し、**2-83** (75.3 mg, 98%) を白色固体として得た。[α]_D+13.2° (c 1.0, CHCl₃/MeOH = 1/1); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD = 1/1) δ 5.70 (near quin, 1 H, *J*_{5,6a} = *J*_{5,6b} = 6.8 Hz, *J*_{4,5} = 15.2 Hz, H-5^{Cer}), 5.46 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 7.8 Hz, H-4^{Cer}), 5.30 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 3.5 Hz, H-1^f), 4.98 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, H-1^c), 4.61–4.30 (4 d, 4 H, H-1^a, H-1^b, H-1^d, H-1^e), 4.24–3.31 (m, 48 H, H-2^a, H-3^a, H-4^a, H-5^a, H-6a^a, H-6b^a, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6a^b, H-6b^b, H-2^c, H-3^c, H-4^c, H-5^c, H-6a^c, H-6b^c, H-2^d, H-3^d, H-4^d, H-5^d, H-6a^d, H-6b^d, H-2^e, H-3^e, H-4^e, H-5^e, H-6a^e, H-6b^e, H-2^f, H-3^f, H-4^f, H-5^f, H-1a^{Cer}, H-1b^{Cer}, H-2^{Cer}, H-3^{Cer}, 5 OCH₂), 3.18 (m, 2 H, NHCH₂), 2.19–2.16 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂), 2.05–2.01 (m, 5 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}, Ac), 1.60–1.58 (m, 2 H, NHC(=O)CH₂CH₂), 1.37–1.24 (m, 53 H, H-6^f, 25 CH₂^{Cer}), 0.91–0.88 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃/CD₃OD = 1/1) δ 175.3, 174.1, 134.9, 130.2, 104.7, 104.5, 103.6, 103.1, 102.3, 99.9, 83.3, 80.4, 80.3, 78.8, 75.6, 75.5, 75.4, 75.3, 75.1, 74.1, 72.7, 72.5, 72.3, 71.8, 71.1, 70.8, 70.5, 69.7, 69.5, 69.3, 69.0, 68.6, 67.7, 67.2, 66.0, 62.3, 62.0, 61.2, 61.1, 58.0, 53.9, 52.5, 50.1, 40.2, 37.0, 32.9, 32.5, 32.1, 30.9, 30.2, 30.2, 30.2, 30.2, 30.2, 30.1, 30.1, 30.1, 30.0, 29.9, 29.9, 29.9, 29.8, 26.6, 26.2, 23.4, 23.2, 18.1, 16.3, 14.3; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+H]⁺ 1694.9937, C₈₀H₁₄₇N₃O₃₄ calcd for [M+H]⁺ 1694.9939.



Compound 3-2

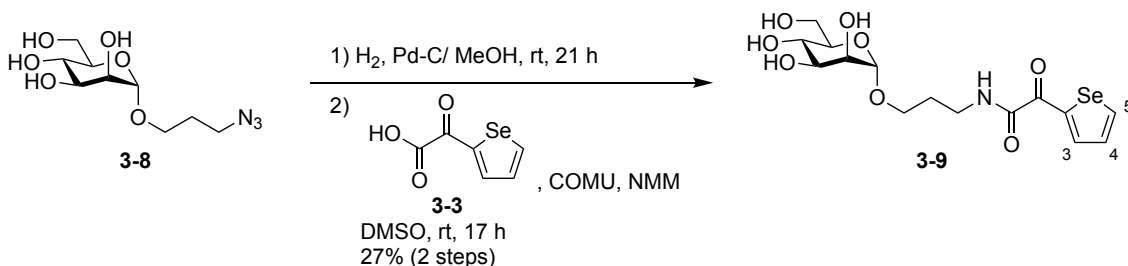
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-1** (1.00 g, 7.63 mmol) を THF (38.0 mL) に溶かし、1.6 M *n*-buthyllithium in *n*-hexane (5.24 mL, 8.39 mmol) を $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ にて滴下して加え、1 時間攪拌した後、 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ に昇温し、更に 1 時間攪拌した。得られた反応溶液を、 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ にて dimethyl oxalate (2.70 g, 22.9 mmol) を THF (38.0 mL) に溶かした溶液へ滴下して加えた後、 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ に昇温し、1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 5/1) で確認後、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣を Biotage Selekt フラッシュ自動精製装置 (SNAP Ultra 100 g cartridge, *n*-hexane/9% EtOAc for 3.1 CV \rightarrow *n*-hexane/15% EtOAc for 1.5 CV \rightarrow *n*-hexane/30% EtOAc for 1 CV)、フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (1st: *n*-hexane/EtOAc = 10/1, 2nd: *n*-hexane/EtOAc = 10/1)、Biotage Selekt フラッシュ自動精製装置 (1st: SNAP Ultra 25 g cartridge, *n*-hexane/9% EtOAc for 15.4 CV, 2nd: SNAP Ultra 25 g cartridge, *n*-hexane/10% EtOAc for 42.4 CV \rightarrow *n*-hexane/12% EtOAc for 15.9 CV \rightarrow *n*-hexane/12% EtOAc for 0.4 CV) で精製し、**3-2** (1.11 g, 67% in 2 steps) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.60 (dd, 1 H, $J_{3,5} = 0.9\text{ Hz}$, $J_{4,5} = 5.5\text{ Hz}$, selenopheneH-5), 8.42 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 4.1\text{ Hz}$, selenopheneH-3), 7.47 (dd, 1 H, selenopheneH-4), 3.98 (s, 3 H, OMe); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 176.8, 162.0, 144.6, 143.7, 140.0, 131.3, 53.3; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 633.5; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 240.9374, C₇H₆O₃Se calcd for [M+Na]⁺ 240.9374.



Compound 3-3

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-2** (1.09 g, 5.02 mmol) を MeOH (100 mL) に溶かし、1 M aq. sodium hydroxide (7.53 mL, 7.53 mmol) を加え、室温で 15 分間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 2/1) で確認後、Muromac (H⁺) を加えて反応溶液を中和し、樹脂の濾別、メタノールによる樹脂の洗浄、濾液の溶媒留去、エタノール共沸を行なった。残渣を結晶化

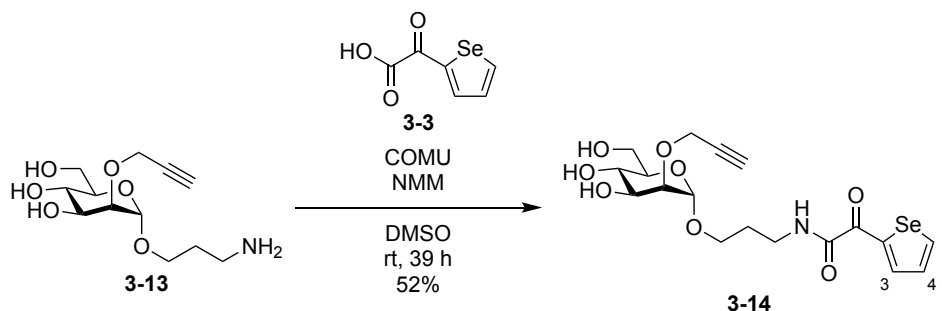
(Et₂O/MeOH) で精製し、**3-3** (688 mg, 68%) を淡黄色結晶として得た。M.p. >300 °C (decomposed); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.59 (near d, 1 H, *J*_{4,5} = 5.5 Hz, selenophene*H*-5), 8.16 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 0.8 Hz, *J*_{3,4} = 3.9 Hz, selenophene*H*-3), 7.44 (dd, 1 H, selenophene*H*-4); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 188.8, 170.4, 147.4, 143.3, 139.4, 131.9; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CD₃OD) δ 640.8; HRMS (ESI) *m/z*: found [M-H]⁻ 202.9253, C₆H₄O₃Se calcd for [M-H]⁻ 202.9253.



Compound 3-9

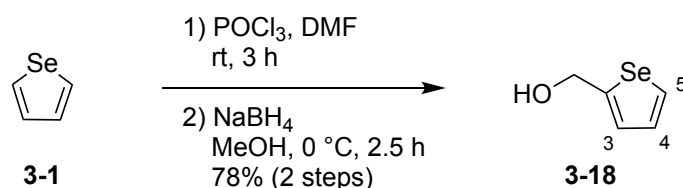
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-8** (53.4 mg, 0.203 mmol) を MeOH (4.10 mL) に溶かし、palladium (21.6 mg, 10% on carbon) を加え、H₂ 気流下にて室温で 21 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 2/1) で確認後、セライト濾過、メタノールによるセライト層の洗浄、濾液の溶媒留去を行い、真空乾燥した。残渣を DMSO (2.00 mL) に溶かし、*N*-methylmorpholine (44.6 μL, 0.406 mmol)、**3-3** (49.5 mg, 0.244 mmol)、(1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminooxy)dimethylaminomorpholinocarbenium hexafluorophosphate (104 mg, 0.244 mmol) を加え、室温で 17 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 2/1) で確認後、水を加えて反応を停止した。逆相カラムクロマトグラフィー (RP-18; H₂O → MeCN/H₂O = 1/10 → 1/5) で反応溶媒を除去した後、生成物画分の溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 10/1 → 5/1) で精製し、**3-9** (23.5 mg, 27%) を白色固体として得た。[α]_D +40.9° (c 0.8, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.75 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 1.0 Hz, *J*_{4,5} = 5.5 Hz, selenophene*H*-5), 8.48 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, selenophene*H*-3), 7.48 (dd, 1 H, selenophene*H*-4), 4.76 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 1.5 Hz, H-1^{Man}), 3.86–3.81 (m, 3 H, H-2^{Man}, H-6a^{Man}, CH₂O), 3.73 (dd, 1 H, *J*_{2,3} = 3.5 Hz, *J*_{3,4} = 9.4 Hz, H-3^{Man}), 3.69 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 5.8 Hz, *J*_{gem} = 11.8 Hz, H-6a^{Man}), 3.60 (near t, 1 H, H-4^{Man}), 3.55–3.38 (m, 4 H, H-5^{Man}, CH₂O, CH₂NH), 1.92–1.86 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂NH); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 180.8, 163.5, 147.3, 141.4, 140.7, 131.6, 101.8, 74.7, 72.6, 72.2, 68.7, 66.4, 62.9, 38.2, 30.0; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CD₃OD) δ 670.7; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 446.0325, C₁₅H₂₁NO₈Se calcd for [M+Na]⁺ 446.0325. [NMR spectrum for **3-9** in D₂O] ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 8.87 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 1.0 Hz, *J*_{4,5} = 5.5 Hz, selenophene*H*5), 8.50 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 4.3 Hz, selenophene*H*3), 7.57 (dd, 1 H, selenophene*H*4), 4.87 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 1.6 Hz, H-1^{Man}), 3.96 (dd, 1 H, *J*_{2,3} = 3.3 Hz, H-2^{Man}), 3.87–3.82 (m, 3 H, H-3^{Man}, H-

6a^{Man}, CH₂O), 3.74 (m, 1 H, H-6b^{Man}), 3.67–3.58 (m, 3 H, H-4^{Man}, H-5^{Man}, CH₂O), 3.49 (t, 2 H, *J* = 6.5 Hz, CH₂NH), 1.98–1.93 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂NH); ¹³C NMR (125 MHz, D₂O) δ 180.9, 163.3, 147.9, 141.2, 139.8, 131.3, 99.9, 72.7, 70.6, 70.1, 66.8, 65.5, 60.9, 37.0, 27.8.



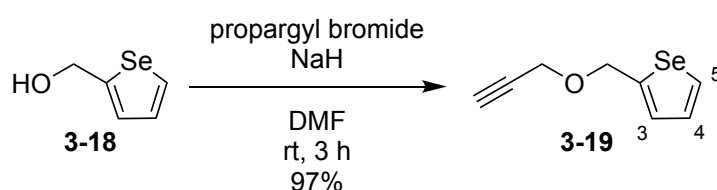
Compound 3-14

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-13** (127 mg, 0.461 mmol) を DMSO (4.60 mL) に溶かし、*N*-methylmorpholine (101 μL, 0.923 mmol)、**3-3** (112 mg, 0.554 mmol)、(1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminooxy)dimethylaminomorpholinocarbenium hexafluorophosphate (237 mg, 0.554 mmol) を加え、室温で 16 時間撹拌した。反応の進行を TLC (CHCl₃/MeOH = 2/1, CHCl₃/MeOH/H₂O/AcOH = 5/4/1/0.3) で確認後、(1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminooxy)dimethylaminomorpholinocarbenium hexafluorophosphate (39.5 mg, 92.2 μmol) を追加し、更に 23 時間撹拌した。反応終了を TLC で確認後、水を加えて反応を停止した。逆相カラムクロマトグラフィー (RP-18; H₂O → MeCN/H₂O = 1/5 → 1/2) で反応溶媒を除去した後、生成物画分の溶媒留去を行なった。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 (CHCl₃/MeOH = 30/1) で精製し、**3-14** (110 mg, 52%) を白色固体として得た。[α]_D +30.1° (c 1.0, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.75 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 1.3 Hz, *J*_{4,5} = 5.6 Hz, selenopheneH-5), 8.49 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 4.4 Hz, selenopheneH-3), 7.48 (dd, 1 H, selenopheneH-4), 4.95 (near s, 1 H, H-1^{Man}), 4.36 (dd, 1 H, *J* = 2.3 Hz, *J*_{gem} = 16.0 Hz, CH₂C≡CH), 4.31 (dd, 1 H, CH₂C≡CH), 3.86–3.78 (m, 4 H, H-2^{Man}, H-3^{Man}, H-6a^{Man}, CH₂O), 3.66 (dd, 1 H, *J*_{5,6b} = 6.0 Hz, *J*_{gem} = 11.5 Hz, H-6b^{Man}), 3.59–3.39 (m, 5 H, H-4^{Man}, H-5^{Man}, CH₂O, CH₂NH), 2.85 (t, 1 H, C≡CH), 1.92–1.87 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂NH); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 180.8, 163.5, 147.3, 141.4, 140.7, 131.6, 99.3, 80.9, 79.5, 76.1, 74.8, 72.5, 69.0, 66.5, 63.0, 59.6, 38.2, 30.0; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CD₃OD) δ 670.6; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 484.0481, C₁₈H₂₃NO₈Se calcd for [M+Na]⁺ 484.0481.



Compound 3-18

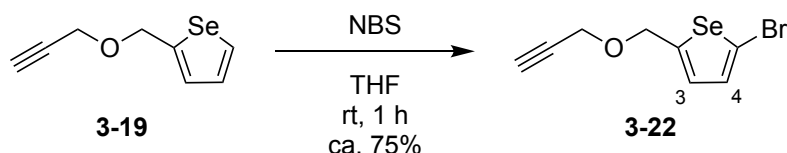
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-1** (1.06 g, 8.09 mmol) を $0\text{ }^\circ\text{C}$ に冷却し、DMF (755 μL , 9.71 mmol)、phosphoryl chloride (881 μL , 9.71 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した後、 $0\text{ }^\circ\text{C}$ にて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した。室温で 1 時間攪拌後、反応溶液をジエチルエーテルで希釈し、有機相を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、一晚真空乾燥した。残渣を MeOH (41.0 mL) に溶かし、sodium borohydride (1.53 g, 40.5 mmol) を加え、 $0\text{ }^\circ\text{C}$ で 2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl_3) で確認後、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液をジエチルエーテルで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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_3) で精製し、**3-18** (1.01 g, 78% in 2 steps) を淡黄色シロップとして得た。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.95 (dd, 1 H, $J_{3,5} = 1.0\text{ Hz}$, $J_{4,5} = 5.5\text{ Hz}$, selenophene-H-5), 7.18 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.5\text{ Hz}$, selenophene-H-4), 7.13 (dd, 1 H, selenophene-H-3), 4.82 (s, 2 H, CH_2), 2.43 (br s, 1 H, OH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 151.5, 130.8, 129.2, 127.0, 62.3; ^{77}Se NMR (94 MHz, CDCl_3) δ 603.5; HRMS (ESI) m/z : $\text{C}_5\text{H}_6\text{OSe}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 184.9476 (not ionized).



Compound 3-19

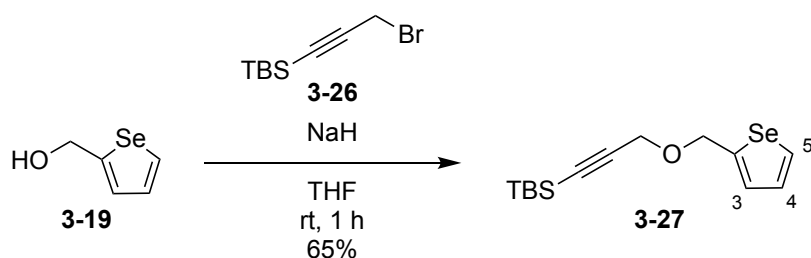
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-18** (393 mg, 2.44 mmol) を DMF (4.90 mL) に溶かし、sodium hydride (293 mg, 7.32 mmol) を $0\text{ }^\circ\text{C}$ にて加え、10 分間攪拌した後、80% propargyl bromide in toluene (796 μL , 7.32 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。反応終了を TLC (n -hexane/EtOAc = 5/1) で確認後、水を加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (1st: n -hexane/EtOAc = 1/0 \rightarrow 50/1, 2nd: n -hexane/toluene = 3/1) で精製し、**3-19** (471 mg, 97%) を淡黄

色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (t, 1 H, *J* = 3.3 Hz, selenophene-*H*-5), 7.21–7.19 (m, 2 H, selenophene-*H*-3, selenophene-*H*-4), 4.83 (s, 2 H, selenophene-CH₂), 4.20 (d, 1 H, *J* = 2.4 Hz, CH₂C≡CH), 2.47 (t, 1 H, C≡CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 147.0, 131.6, 129.0, 128.9, 79.4, 74.8, 67.9, 56.6; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 613.6; HRMS (ESI) *m/z*: C₈H₈OSe calcd for [M+Na]⁺ 222.9633 (not ionized).



Compound 3-22

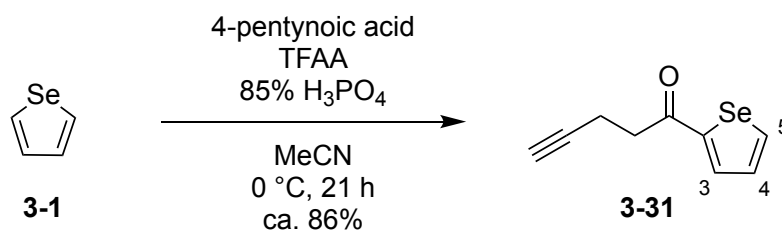
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-22** (123 mg, 0.618 mmol) を THF (62.0 mL) に溶かし、*N*-bromosuccinimide (121 mg, 0.679 mmol) を 0 °C にて加え、室温で 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/toluene = 1/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (*n*-hexane/toluene = 3/1) で精製し、**3-22** (including impurities, 129 mg, approx. 75%) を淡黄色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.11 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, selenophene-*H*-4), 6.89 (d, 1 H, selenophene-*H*-3), 4.74 (d, 2 H, *J* = 1.0 Hz, selenophene-CH₂), 4.19 (d, 2 H, *J* = 2.3 Hz, CH₂C≡CH), 2.47 (t, 1 H, C≡CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 149.3, 132.3, 128.7, 116.3, 79.1, 75.1, 68.0, 56.7; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 682.5; HRMS (ESI) *m/z*: C₈H₇BrOSe calcd for [M+Na]⁺ 300.8738 (not ionized).



Compound 3-27

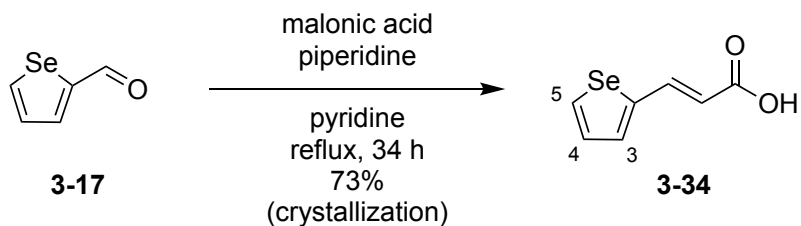
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-19** (284 mg, 1.76 mmol) を THF (5.90 mL) に溶かし、sodium hydride (212 mg, 5.29 mmol) を 0 °C にて加え、10 分間攪拌した後、化合物 **3-26** (80% in toluene; 575 μL, 5.29 mmol) を加え、室温で 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 5/1) で確認後、水を加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留

去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 5/1) で精製し、**3-27** (361 mg, 65%) を淡黄色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 1.5 Hz, *J*_{4,5} = 5.0 Hz, selenophene*H*-5), 7.22–7.19 (m, 2 H, selenophene*H*-3, selenophene*H*-4), 4.83 (s, 2 H, selenopheneCH₂), 4.21 (s, 2 H, CH₂C≡C), 0.96 (s, 9 H, *t*Bu), 0.14 (s, 6 H, 2 Me); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 147.5, 131.9, 129.2, 129.2, 102.1, 90.6, 67.8, 57.6, 26.4, 16.8, –4.35; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 614.4; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 337.0496, C₁₄H₂₂OSeSi calcd for [M+Na]⁺ 337.0497.



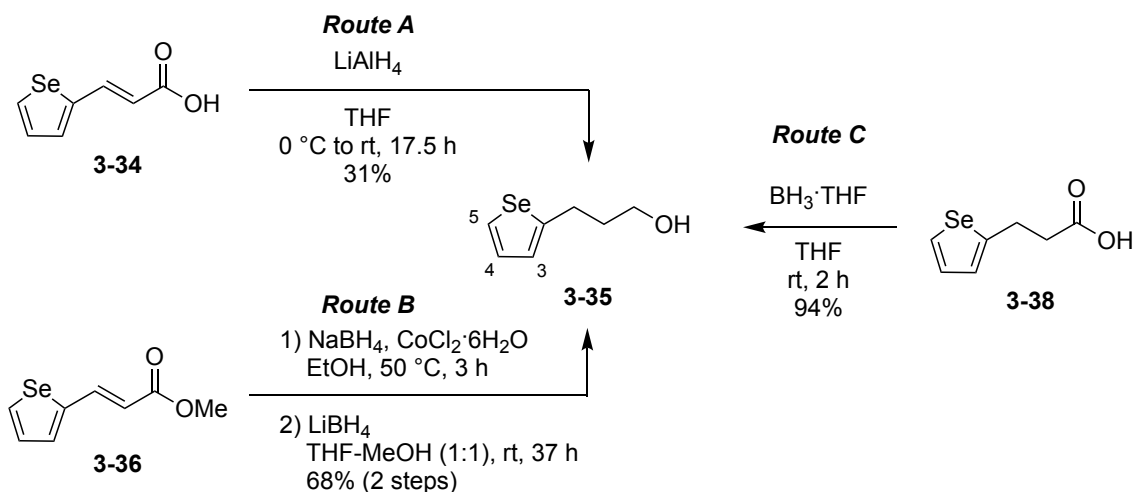
Compound 3-31

Ar 雰囲気下にて、4-pentynoic acid (225 mg, 2.29 mmol) を MeCN (23.0 mL) に溶かし、化合物 **3-1** (300 mg, 2.29 mmol)、85% phosphoric acid (156 μL, 2.29 mmol)、trifluoroacetic anhydride (1.29 mL, 9.16 mmol) を 0 °C にて加え、21 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 5/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 15/1) で精製し、**3-31** (including impurities, 417 mg, approx. 86%) を淡黄色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.39 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 1.0 Hz, *J*_{4,5} = 5.5 Hz, selenophene*H*-5), 7.95 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, selenophene*H*-3), 7.41 (dd, 1 H, selenophene*H*-4), 3.21–3.18 (m, 2 H, C(=O)CH₂), 2.65–2.61 (m, 2 H, CH₂C≡CH), 1.99 (t, 1 H, *J* = 2.8 Hz, C≡CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 191.7, 150.6, 140.2, 134.4, 130.8, 83.0, 69.0, 37.4, 13.6; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 634.5; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 234.9635, C₉H₈OSe calcd for [M+Na]⁺ 234.9633



Compound 3-34

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-17** (5.00 g, 31.4 mmol) を pyridine (10.0 mL) に溶かし、piperidine (311 μ L, 3.14 mmol)、malonic acid (4.26 g, 40.9 mmol) を室温にて加え、還流条件下で 34 時間撹拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 10/1$) で確認後、 0°C に冷却し、2 M 塩酸を加えて反応を停止した。反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 50/1$)、結晶化 ($n\text{-hexane}/\text{EtOAc} \rightarrow n\text{-hexane}/\text{CHCl}_3$) で精製し、**3-34** (4.58 g, 73%) を褐色結晶として得た。M.p. $141\text{--}148^\circ\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 11.4 (br s, 1 H, C(=O)OH), 8.11 (d, 1 H, $J_{4,5} = 5.5$ Hz, selenopheneH-5), 7.90 (d, 1 H, $J = 15.5$ Hz, selenopheneCH=CH), 7.49 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.8$ Hz, selenopheneH-3), 7.30 (dd, 1 H, selenopheneH-4), 6.14 (d, 1 H, selenopheneCH=CH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.1, 145.1, 141.7, 135.0, 134.5, 130.6, 117.0; ^{77}Se NMR (94 MHz, CDCl_3) δ 599.2; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M-H}]^-$ 200.9460, $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2\text{Se}$ calcd for $[\text{M-H}]^-$ 200.9640.



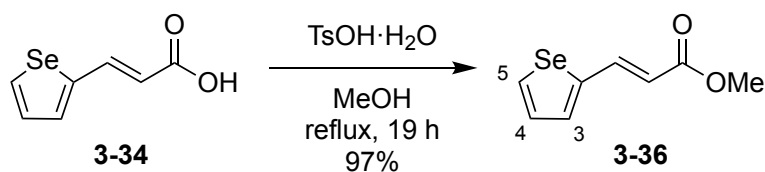
Compound 3-35

Route A: Ar 雰囲気下にて、lithium aluminum hydride (2.59 g, 68.3 mmol) を THF (100 mL) に懸濁し、化合物 **3-34** (4.58 g, 22.8 mmol) を THF (128 mL) に溶かした溶液をキャニュレーションで加え、室温で 17.5 時間撹拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 10/1$) で確認後、

0 °C に冷却し、飽和酒石酸カリウムナトリウム水溶液を加えて反応を停止し、さらに 30 分間攪拌した。反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣を Biotage Isolera One フラッシュ自動精製装置 (SNAP Ultra 25 g cartridge, *n*-hexane/33% EtOAc for 4.9 CV → *n*-hexane/50% EtOAc for 3.0 CV) で精製し、**3-35** (1.33 g, 31%) を淡黄色シロップとして得た。

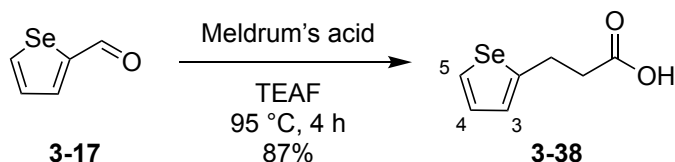
Route B: Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-36** (2.56 g, 11.9 mmol) を EtOH (79.0 mL) に溶かし、cobalt(II) chloride hexahydrate (283 mg, 1.19 mmol)、sodium borohydride (900 mg, 23.8 mmol) を室温にて加え、50 °C で 3 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣を Biotage Isolera One フラッシュ自動精製装置 (SNAP Ultra 100 g cartridge, *n*-hexane/25% EtOAc for 3 CV → *n*-hexane/33% EtOAc for 33 CV) で粗精製した。得られた混合物を THF/MeOH = 1/1 (94.0 mL) に溶かし、2 M lithium borohydride in THF (9.35 mL, 18.7 mmol) を加え、室温で 37 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 2/1) で確認後、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣を Biotage Isolera One フラッシュ自動精製装置 (SNAP Ultra 100 g cartridge, *n*-hexane/25% EtOAc for 3 CV → *n*-hexane/33% EtOAc for 1.2 CV) で精製し、**3-35** (1.53 g, 68%) を淡黄色シロップとして得た。

Route C: Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-38** (48.9 mg, 0.241 mmol) を THF (2.40 mL) に溶かし、0 °C にて 1 M borane tetrahydrofuran complex in THF (722 μL, 0.722 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、0 °C に冷却し、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/EtOAc = 3/1 → 2/1) で精製し、**3-35** (42.9 mg, 94%) を淡黄色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.81 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 1.3 Hz, *J*_{4,5} = 5.6 Hz, selenophene*H*-5), 7.14 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 3.6 Hz, , selenophene*H*-4), 6.98 (dd, 1 H, selenophene*H*-3), 3.73 (t, 2 H, *J* = 6.3 Hz, CH₂OH), 3.01 (near t, 2 H, selenopheneCH₂), 1.96 (near quin, 2 H, CH₂CH₂OH), 1.27 (br s, 1 H, OH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 152.1, 129.2, 128.4, 126.7, 61.9, 35.3, 28.8; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 604.8; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 212.9792, C₇H₁₀OSe calcd for [M+Na]⁺ 212.9789.



Compound 3-36

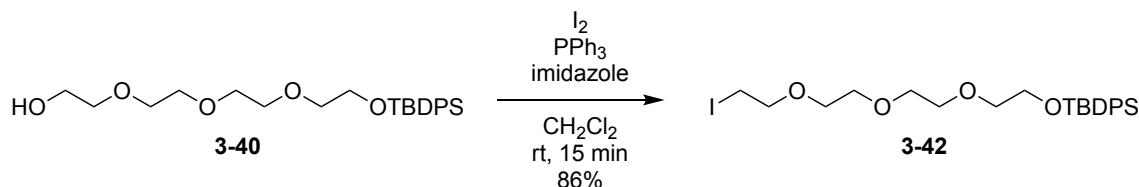
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-34** (3.51 g, 17.5 mmol) を MeOH (87.0 mL) に溶かし、*p*-toluenesulfonic acid monohydrate (333 mg, 1.75 mmol) を室温にて加え、還流条件下で 19 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 30/1) で確認後、室温に冷却し、溶媒留去を行なった。残渣を酢酸エチルで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣を Biotage Isolera One フラッシュ自動精製装置 (SNAP Ultra 100 g cartridge, *n*-hexane/9% EtOAc for 3.8 CV) で精製し、**3-36** (3.64 g, 97%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (d, 1 H, *J*_{4,5} = 5.5 Hz, selenophene*H*-5), 7.80 (d, 1 H, *J* = 15.5 Hz, selenopheneCH=CH), 7.43 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, selenophene*H*-3), 7.27 (dd, 1 H, selenophene*H*-4), 6.14 (d, 1 H, selenopheneCH=CH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 167.2, 145.4, 139.6, 134.2, 133.6, 130.5, 117.7, 51.7; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 595.5; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 238.9583, C₈H₈O₂Se calcd for [M+Na]⁺ 238.9582.



Compound 3-38

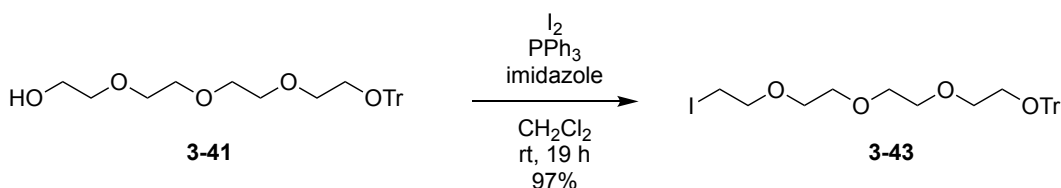
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-17** (50.0 mg, 0.314 mmol) を formic acid-triethylamine (5:2) azeotrope (3.10 mL) に溶かし、Meldrum's acid (54.4 mg, 0.377 mmol) を加え、95 °C で 4 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、0 °C に冷却し、水を加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃/MeOH = 100/1) 及び Biotage Selekt フラッシュ自動精製装置 (SNAP Ultra 10 g cartridge, CHCl₃/0% MeOH for 4.9 CV → CHCl₃/0–50% MeOH for 2 CV → CHCl₃/50% MeOH for 4.8 CV) で精製し、**3-38** (55.2 mg, 87%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9.78 (br s, 1 H, C(=O)OH), 7.83 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 1.0 Hz, *J*_{4,5} = 5.8 Hz, selenophene*H*-5), 7.14 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 3.8 Hz, selenophene*H*-4), 7.01 (dd, 1 H,

selenopheneH-3), 3.25 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OH}$), 2.76 (t, 2 H, $J = 7.8$ Hz, selenophene CH_2); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 178.0, 149.7, 129.2, 129.1, 127.2, 36.4, 27.4; ^{77}Se NMR (94 MHz, CDCl_3) δ 608.2; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}-\text{H}]^-$ 202.9617, $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2\text{Se}$ calcd for $[\text{M}-\text{H}]^-$ 202.9617.



Compound 3-42

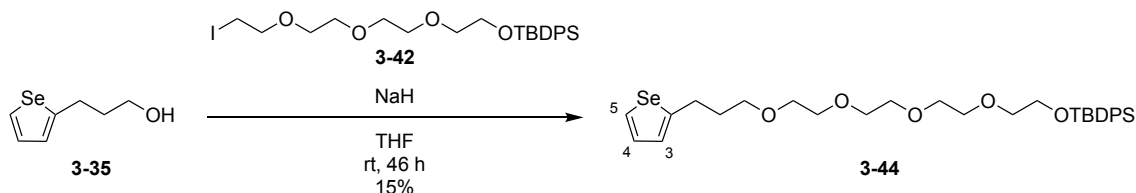
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-40** (975 mg, 2.25 mmol) を CH_2Cl_2 (23.0 mL) に溶かし、triphenylphosphine (708 mg, 2.70 mmol)、imidazole (246 mg, 3.61 mmol)、iodine (685 mg, 2.70 mmol) を 0°C にて加え、室温で 15 分間撹拌した。反応終了を TLC (n -hexane/EtOAc = 1/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣を Biotage Isolera One フラッシュ自動精製装置 (SNAP Ultra 25 g cartridge, n -hexane/20% EtOAc for 3.5 CV) で精製し、**3-42** (1.05 g, 86%) を無色シロップとして得た。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.69–7.67 (m, 4 H, Ph), 7.44–7.36 (m, 6 H, Ph), 3.81 (t, 2 H, $J = 5.4$ Hz, CH_2), 3.74 (t, 2 H, $J = 7.0$ Hz, CH_2), 3.67–3.62 (m, 8 H, 4 CH_2), 3.61 (t, 2 H, CH_2), 3.24 (t, 2 H, CH_2), 1.05 (s, 9 H, tBu); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 135.6, 133.7, 129.6, 127.6, 72.5, 72.0, 70.8, 70.7, 70.3, 63.5, 26.8, 19.2, 2.9; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 565.1242, $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{IO}_4\text{Si}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 565.1242.



Compound 3-43

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-41** (2.83 g, 6.48 mmol) を CH_2Cl_2 (32.0 mL) に溶かし、triphenylphosphine (2.04 g, 7.78 mmol)、imidazole (844 mg, 12.4 mmol)、iodine (1.97 g, 7.78 mmol) を 0°C にて加え、室温で 19 時間撹拌した。反応終了を TLC (n -hexane/EtOAc = 1/1) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和チオ硫酸ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (n -hexane/EtOAc = 5/1)

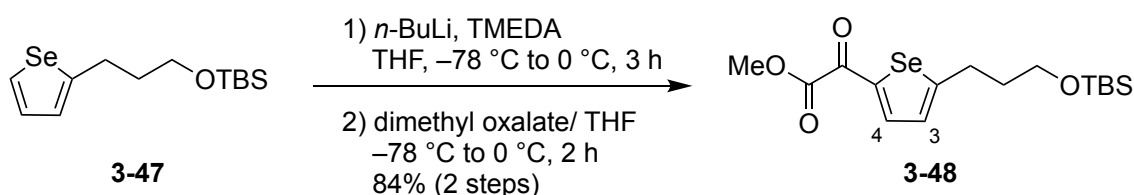
で精製し、**3-43** (3.45 g, 97%) を無色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.47–7.46 (m, 6 H, Ph), 7.30–7.21 (m, 9 H, Ph), 3.73 (t, 2 H, *J* = 7.0 Hz, CH₂), 3.69–3.64 (m, 10 H, 5 CH₂), 3.24 (t, 2 H, *J* = 5.3 Hz, CH₂), 3.22 (t, 2 H, CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 144.1, 128.7, 127.8, 126.9, 86.5, 72.0, 70.8, 70.7, 70.3, 63.3, 2.94; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 569.1159, C₂₇H₃₁IO₄ calcd for [M+Na]⁺ 569.1159.



Compound 3-44

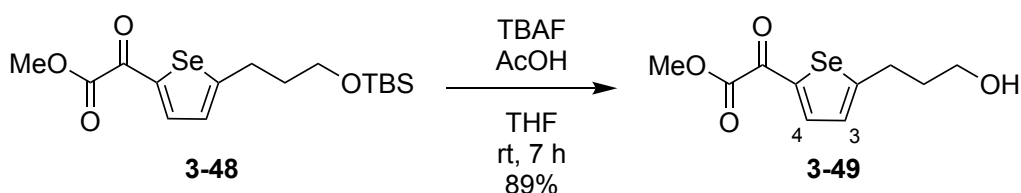
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-35** (210 mg, 1.11 mmol) を THF (2.00 mL) に溶かし、sodium hydride (53.2 mg, 1.33 mmol) を 0 °C にて加え、30 分間攪拌した後、**3-42** (904 mg, 1.67 mmol) を THF (3.6 mL) に溶かした溶液を加え、室温で 46 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 3/1) で確認後、水を加えて反応を停止した。反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣を Biotage Isolera One フラッシュ自動精製装置 (1st: SNAP Ultra 10 g cartridge, *n*-hexane/9% EtOAc for 4.0 CV → *n*-hexane/15% EtOAc for 4.0 CV → *n*-hexane/20% EtOAc for 4.0 CV → *n*-hexane/25% EtOAc for 4.0 CV → *n*-hexane/25–43% EtOAc for 0.7 CV → *n*-hexane/43% EtOAc for 0.4 CV → *n*-hexane/43–53% EtOAc for 0.3 CV → *n*-hexane/53% EtOAc for 3.0 CV, 2nd: SNAP Ultra 10 g cartridge, *n*-hexane/12% EtOAc for 6.4 CV → *n*-hexane/17% EtOAc for 3.0 CV)、Bio-Beads S-X8 (toluene/EtOAc = 3/1) で精製し、**3-44** (97.3 mg, 15%) を淡黄色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 1.0 Hz, *J*_{4,5} = 5.5 Hz, selenopheneH-5), 7.69–7.67 (m, 4 H, Ph), 7.43–7.36 (m, 6 H, Ph), 7.12 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 3.5 Hz, selenopheneH-4), 6.95 (dd, 1 H, selenopheneH-3), 3.80 (t, 2 H, *J* = 5.5 Hz, OCH₂), 3.68–3.57 (m, 14 H, 7 OCH₂), 3.51 (t, 2 H, *J* = 6.5 Hz, selenopheneCH₂CH₂CH₂), 2.97 (near t, 2 H, *J* = 7.5 Hz, selenopheneCH₂), 1.95 (near quin, 2 H, selenopheneCH₂CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 152.3, 135.6, 133.7, 129.6, 129.1, 128.2, 127.6, 126.6, 72.5, 70.8, 70.7, 70.7, 70.7, 70.6, 70.2, 70.1, 63.5, 32.4, 29.2, 26.8, 19.2; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 605.2; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 627.2014, C₃₁H₄₄O₅SeSi calcd for [M+Na]⁺ 627.2015.

Isolera One フラッシュ自動精製装置 (SNAP Ultra 100 g cartridge, *n*-hexane/10% toluene for 2.4 CV → *n*-hexane/20% toluene for 4.3 CV) で精製し、**3-47** (3.41 g, 98%) を淡黄色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (dd, 1 H, *J*_{3,5} = 1.0 Hz, *J*_{4,5} = 5.6 Hz, selenophene*H*-5), 7.13 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 3.6 Hz, selenophene*H*-4), 6.96 (dd, 1 H, selenophene*H*-3), 3.68 (t, 2 H, *J* = 6.3 Hz, CH₂O), 2.97 (t, 2 H, *J* = 7.5 Hz, selenopheneCH₂), 1.89 (near quin, 2 H, CH₂CH₂O), 0.90 (s, 9 H, ^tBu), 0.05 (s, 6 H, 2 Me); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 152.7, 129.1, 128.1, 126.5, 62.0, 35.5, 28.8, 26.0, 18.3, −5.3; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 604.5; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 327.0652, C₁₃H₂₄OSeSi calcd for [M+Na]⁺ 327.0654.



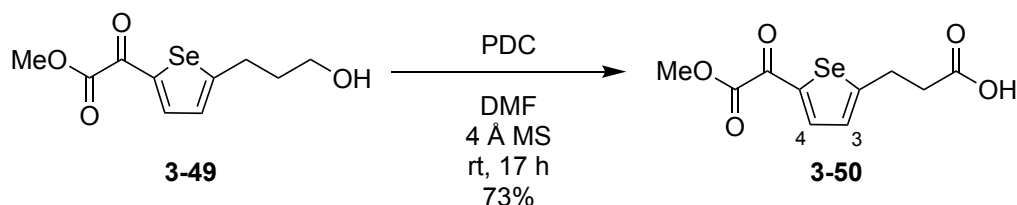
Compound 3-48

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-47** (915 mg, 3.02 mmol) を THF (15.0 mL) に溶かし、*N,N,N',N'*-tetramethylethylenediamine (495 μL, 3.32 mmol)、1.6 M *n*-butyllithium in *n*-hexane (2.08 mL, 3.32 mmol) を −78 °C にて滴下して加え、1 時間攪拌した後、0 °C に昇温し、更に 2 時間攪拌した。得られた反応溶液を、−78 °C にて dimethyl oxalate (1.07 g, 9.05 mmol) を THF (15.0 mL) に溶かした溶液へ滴下して加え、1 時間攪拌した後、0 °C に昇温し、更に 1 時間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 10/1) で確認後、飽和塩化アンモニウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (1st: *n*-hexane/EtOAc = 20/1 → 10/1, 2nd: *n*-hexane/EtOAc = 15/1) で精製し、**3-48** (988 mg, 84%) を淡黄色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.23 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.0 Hz, selenophene*H*-4), 7.11 (d, 1 H, selenophene*H*-3), 3.95 (s, 3 H, OMe), 3.68 (t, 2 H, *J* = 6.0 Hz, CH₂O), 3.02 (t, 2 H, *J* = 7.5 Hz, selenopheneCH₂), 1.92 (near quin, 2 H, CH₂CH₂O), 0.91 (s, 9 H, ^tBu), 0.06 (s, 6 H, OSi(^tBu)Me₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 176.5, 168.8, 162.2, 141.6, 140.6, 129.3, 61.5, 53.1, 34.9, 29.8, 25.9, 18.3, −5.3; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 658.0; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 413.0658, C₁₆H₂₆O₄SeSi calcd for [M+Na]⁺ 413.0658.



Compound 3-49

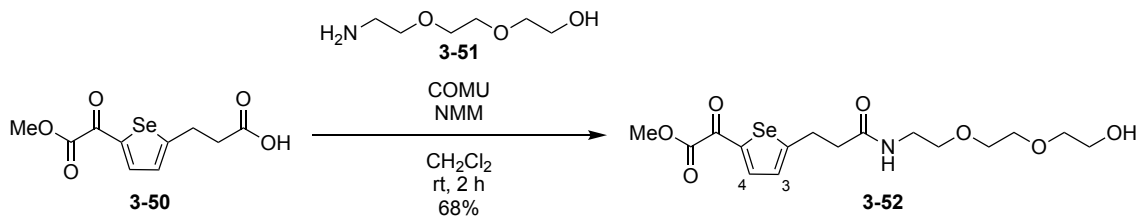
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-48** (3.19 g, 8.19 mmol) を THF (273 mL) に溶かし、acetic acid (2.81 mL, 49.1 mmol)、1 M tetra-*n*-butylammonium fluoride in THF (24.6 mL, 24.6 mmol) を加え、室温にて 7 時間撹拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/EtOAc = 1/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣を Biotage Isolera One フラッシュ自動精製装置 (SNAP Ultra 100 g cartridge, *n*-hexane/30% EtOAc for 1 CV → *n*-hexane/50% EtOAc for 3.8 CV → *n*-hexane/60% EtOAc for 1.8 CV) で精製し、**3-49** (2.01 g, 89%) を淡黄色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.24 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.3 Hz, selenophene-*H*-4), 7.13 (d, 1 H, selenophene-*H*-3), 3.95 (s, 3 H, OMe), 3.74 (near q, 2 H, CH₂OH), 3.06 (t, 2 H, *J* = 7.8 Hz, selenophene-CH₂), 1.99 (near quin, 2 H, CH₂CH₂O), 1.32 (t, 1 H, *J*_{CH,OH} = 5.0 Hz, OH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 176.5, 168.1, 162.2, 141.7, 140.6, 129.3, 61.5, 53.2, 34.7, 29.8; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 657.7; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 298.9792, C₁₀H₁₂O₄Se calcd for [M+Na]⁺ 298.9793.



Compound 3-50

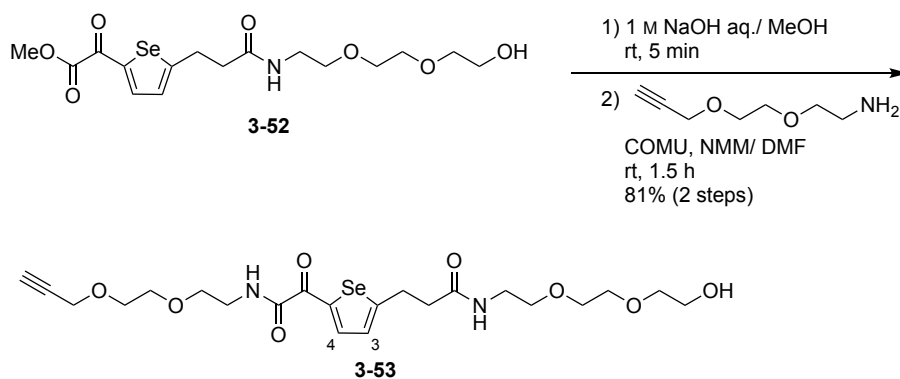
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-49** (346 mg, 1.26 mmol) を DMF (13.0 mL) に溶かし、活性化させたモレキュラーシーブス 4 Å (3.50 g)、pyridinium dichromate (2.84 g, 7.54 mmol) を加え、室温にて 17 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、反応溶液をジエチルエーテルで希釈し、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄、濾液の溶媒留去、トルエン共沸を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃/MeOH = 150/1 → 20/1) で精製し、**3-50** (266 mg, 73%) を淡黄色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.24 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.3 Hz, selenophene-*H*-4), 7.17 (d, 1 H, selenophene-*H*-3), 3.96 (s, 3 H, OMe), 3.28 (t, 2 H, *J* = 7.3 Hz, selenophene-CH₂), 2.79 (t, 2 H, CH₂C(=O)OH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 176.5, 176.2, 165.2, 162.1, 142.3, 140.4, 129.8, 53.2, 35.4, 28.2; ⁷⁷Se

NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 660.8; HRMS (ESI) m/z : found [M-H]⁻ 288.9621, C₁₀H₁₀O₅Se calcd for [M-H]⁻ 288.9620.



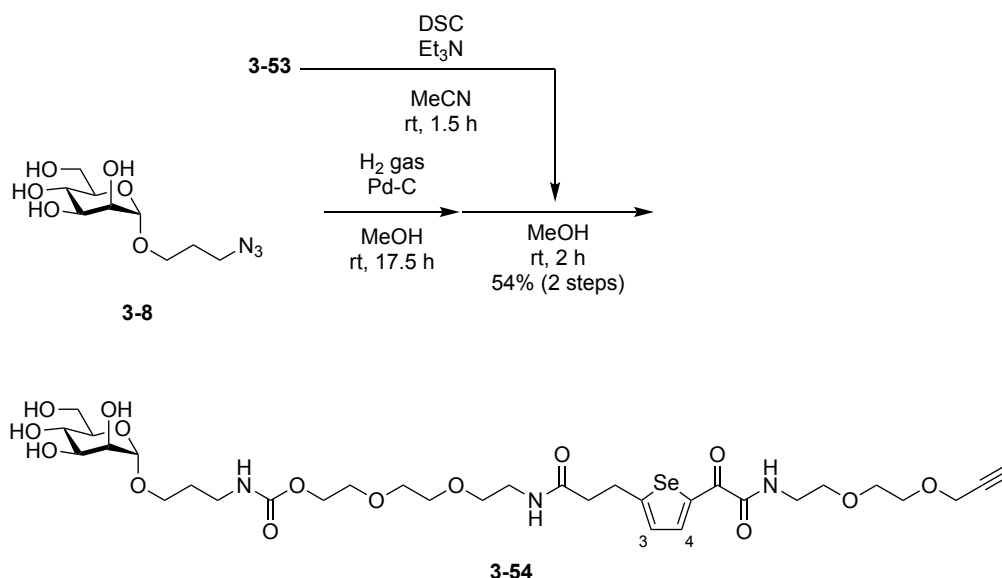
Compound 3-52

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-50** (224 mg, 0.775 mmol) を CH₂Cl₂ (7.80 mL) に溶かし、*N*-methylmorpholine (170 μ L, 1.55 mmol)、**3-51** (231 mg, 1.55 mmol)、(1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminooxy)dimethylaminomorpholinocarbenium hexafluorophosphate (398 mg, 0.930 mmol) を加え、室温にて 1.5 時間攪拌した。反応の進行を TLC (CHCl₃/MeOH = 10/1) で確認後、(1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminooxy)dimethylaminomorpholinocarbenium hexafluorophosphate (398 mg, 0.930 mmol) を追加し、更に 15 分間攪拌した。反応終了を TLC で確認後、水を加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を水、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃/MeOH = 100/1 \rightarrow 50/1) で精製し、**3-52** (220 mg, 68%) を淡黄色シロップとして得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.21 (d, 1 H, $J_{3,4}$ = 4.3 Hz, selenopheneH-4), 7.15 (d, 1 H, selenopheneH-3), 6.42 (br s, 1 H, NH), 3.95 (s, 3 H, OMe), 3.74–3.45 (m, 12 H, 6 OCH₂), 3.29 (t, 2 H, J = 7.1 Hz, selenopheneCH₂), 2.58 (t, 2 H, selenopheneCH₂CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 176.7, 170.9, 166.7, 162.2, 142.2, 140.5, 129.8, 72.5, 70.3, 69.9, 61.7, 53.1, 39.3, 38.0, 29.1; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CDCl₃) δ 659.7; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 444.0532, C₁₆H₂₃NO₇Se calcd for [M+Na]⁺ 444.0532.



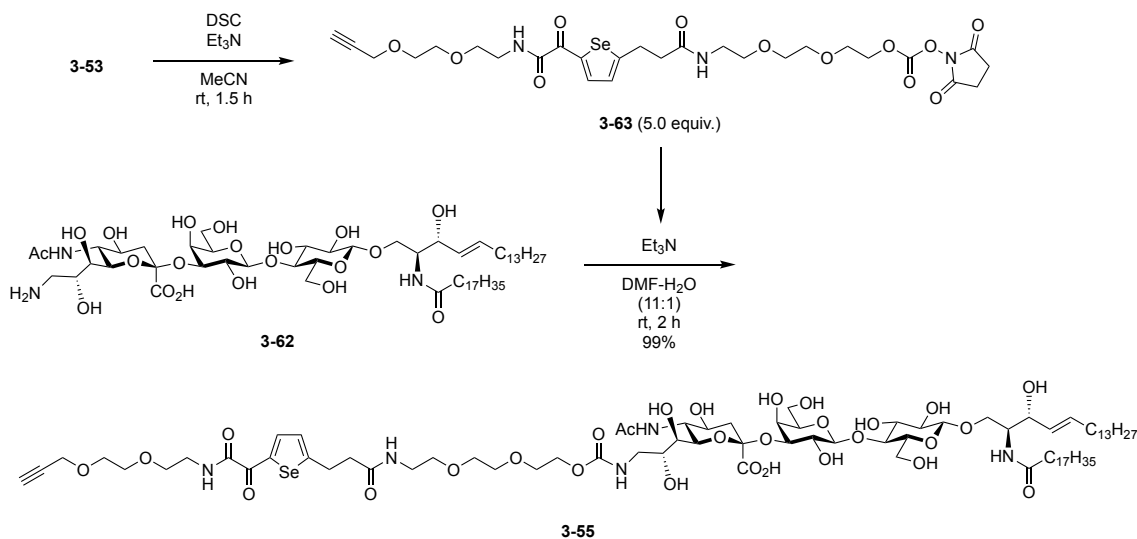
Compound 3-53

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-52** (1.12 g, 2.66 mmol) を MeOH (266 mL) に溶かし、1 M aq. sodium hydroxyde (4.00 mL, 4.00 mmol) を加え、室温にて 15 分間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 2/1$) で確認後、Muromac (H^+) を加えて反応溶液を中和し、樹脂の濾別、メタノールによる洗浄を行なった。濾液の溶媒留去、エタノール共沸、クロロホルム共沸を行い、真空乾燥した。残渣を DMF (27.0 mL) に溶かし、*N*-methyilmorpholine (586 μL , 5.33 mmol)、2-[2-(2-propynyloxy)ethoxy]ethylamine (756 mg, 5.33 mmol)、(1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminooxy)dimethylaminomorpholinocarbenium hexafluorophosphate (1.71 mg, 4.00 mmol) を加え、室温にて 1 時間攪拌した。反応の進行を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 2/1$) で確認後、(1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidenaminooxy)dimethylaminomorpholinocarbenium hexafluorophosphate (1.14 g, 2.66 mmol) を追加し、更に 30 分間攪拌した。反応終了を TLC で確認後、水を加えて反応を停止し、溶媒留去、トルエン共沸を行なった。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 (1st: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 100/1 \rightarrow 50/1$, 2nd: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 50/1$) で精製し、**3-53** (1.14 g, 81%) を淡黄色シロップとして得た。 ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.42 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.3$ Hz, selenopheneH-4), 7.75 (br t, 1 H, selenopheneC(=O)C(=O)NH), 7.14 (d, 1 H, selenopheneH-3), 6.16 (br t, 1 H, selenopheneCH₂CH₂C(=O)NH), 4.23 (d, 2 H, $J = 2.5$ Hz, CH₂C \equiv CH), 3.75–3.45 (m, 20 H, 10 CH₂), 3.30 (t, 2 H, $J = 7.3$ Hz, selenopheneCH₂), 2.58 (t, 2 H, selenopheneCH₂CH₂), 2.48 (t, 1 H, $J_{\text{CH}_2\text{OH}} = 6.0$ Hz, OH), 2.45 (t, 1 H, $J = 2.3$ Hz, C \equiv CH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 178.4, 171.0, 168.3, 161.3, 140.6, 137.9, 129.1, 79.5, 74.7, 72.5, 70.3, 70.2, 69.9, 69.4, 69.0, 61.7, 58.5, 39.4, 39.3, 38.2, 29.0; ^{77}Se NMR (94 MHz, CDCl_3) δ 672.3; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 555.1217, $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_8\text{Se}$ calcd for $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 555.1216. [NMR spectrum for **3-53** in D_2O] ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8.29 (d, 1 H, $J_{3,4} = 4.0$ Hz, selenopheneH-4), 7.23 (d, 1 H, selenopheneH-3), 4.22 (d, 1 H, $J = 2.3$ Hz, CH₂C \equiv CH), 3.75–3.70 (m, 8 H, 4 CH₂), 3.61–3.51 (m, 10 H, 5 CH₂), 3.36–3.34 (m, 2 H, CH₂), 3.27 (t, 2 H, selenopheneCH₂), 2.86 (t, 1 H, C \equiv CH), 2.67 (t, 2 H, selenopheneCH₂CH₂); ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O) δ 179.8, 174.5, 168.7, 163.2, 141.6, 138.0, 130.2, 79.4, 76.0, 71.7, 69.5, 69.4, 69.0, 68.7, 68.5, 60.4, 57.9, 39.1, 39.0, 37.3, 28.7.



Compound 3-54

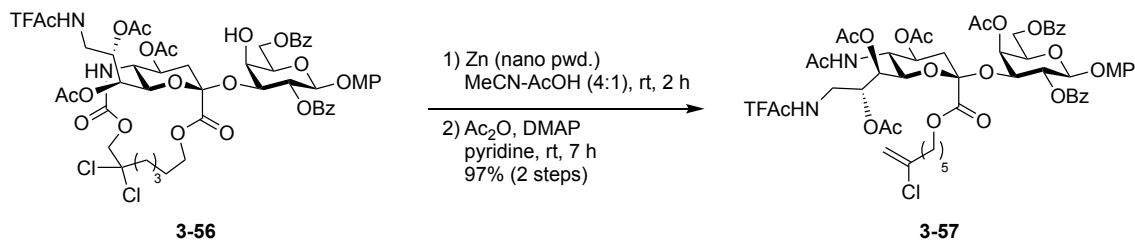
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-8** (29.9 mg, 0.114 mmol) を MeOH (2.30 mL) に溶かし、palladium (12.1 mg, 10% on carbon) を加え、H₂ 気流下にて室温で 17.5 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 2/1) で確認後、セライト濾過、メタノールによるセライト層の洗浄、濾液の溶媒留去を行い、真空乾燥した。残渣を MeOH (1.10 mL) に溶かし、**3-53** (90.9 mg, 0.171 mmol)、*N,N'*-disuccinimidyl carbonate (59.6 mg, 0.228 mmol)、triethylamine (159 μ L, 1.14 mmol) を MeCN (1.10 mL) に溶かし 1.5 時間撹拌して調製した混合溶液を加え、室温で 2 時間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 2/1) で確認後、溶媒留去を行なった。残渣をゲル濾過クロマトグラフィー (LH20; CHCl₃/MeOH = 1/1)、フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃/MeOH = 50/1 \rightarrow 10/1) で精製し、**3-54** (49.1 mg, 54%) を淡黄色シロップとして得た。[α]_D +10.4° (c 0.9, MeOH); ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8.32 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 4.3 Hz, selenophene*H*-4), 7.20 (d, 1 H, selenophene*H*-3), 4.73 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 1.5 Hz, H-1^{Man}), 4.19 (d, 2 H, *J* = 2.5 Hz, CH₂C \equiv CH), 4.14 (t, 2 H, *J* = 4.8 Hz, NHC(=O)OCH₂), 3.83 (dd, 1 H, *J*_{2,3} = 2.3 Hz, *J*_{3,4} = 11.8 Hz, H-3^{Man}), 3.79–3.75 (m, 2 H, H-2^{Man}, OCH₂CH₂CH₂NH), 3.71–3.49 (m, 20 H, H-4^{Man}, H-5^{Man}, H-6a^{Man}, H-6b^{Man}, 8 CH₂), 3.44 (m, 1 H, OCH₂CH₂CH₂NH), 3.35 (t, 2 H, *J* = 5.5 Hz, CH₂), 3.26 (t, 2 H, *J* = 7.1 Hz, selenopheneCH₂CH₂), 3.23–3.15 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂NH), 2.84 (t, 1 H, C \equiv CH), 2.60 (t, 2 H, selenopheneCH₂), 1.79–1.74 (m, 2 H, OCH₂CH₂CH₂NH); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 180.5, 174.2, 168.8, 163.8, 159.0, 141.2, 140.1, 130.4, 101.7, 80.6, 76.1, 74.8, 72.7, 72.2, 71.6, 71.3, 71.1, 70.7, 70.2, 70.2, 68.7, 66.1, 65.0, 64.4, 63.0, 59.2, 40.6, 40.4, 39.1, 38.7, 30.8, 30.0; ⁷⁷Se NMR (94 MHz, CD₃OD) δ 665.6; HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 818.2221, C₃₂H₄₉N₃O₁₅Se calcd for [M+Na]⁺ 818.2221.



Photoaffinity GM3 (3-55)

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-53** (34.6 mg, 65.1 μmol) を MeCN (0.65 mL) に溶かし、*N,N'*-disuccinimidyl carbonate (25.0 mg, 97.7 μmol)、triethylamine (27.2 μL , 0.195 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 20/1$) で確認後、反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、真空乾燥し、**3-63** の混合物を得た。化合物 **3-62** (15.4 mg, 13.0 μmol)、混合物 **3-63** を DMF/ $\text{H}_2\text{O} = 11/1$ に溶かし、triethylamine (36.0 μL , 0.260 mmol) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/5\% \text{ CaCl}_2 \text{ aq.} = 5/4/1$) で確認後、ゲル濾過クロマトグラフィー (LH20; $\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 1/1$)、フラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 5/2/0 \rightarrow 5/2/0.1 \rightarrow 5/3/0.1$)、PTLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 5/3/0.5$) で精製し、**3-55** (22.4 mg, 99%) を淡黄色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +2.3^\circ$ (c 1.0, MeOH); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.33 (d, 1 H, selenopheneH), 7.21 (d, 1 H, selenopheneH), 5.68 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} = 15.5$ Hz, H-5^{Cer}), 5.44 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, H-4^{Cer}), 4.43 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1^{Gal}), 4.30 (d, 1 H, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1^{Glc}), 4.19–4.15 (m, 5 H, H-1a^{Cer}, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, $\text{NHC}(=\text{O})\text{OCH}_2$), 4.07 (t, 1 H, $J_{2,3} = 8.1$ Hz, H-3^{Cer}), 4.03 (dd, 1 H, $J_{8,9a} = 3.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.0$ Hz, H-9a^{Neu}), 3.97 (near quin, 1 H, H-2^{Cer}), 3.93–3.15 (m, 41 H, H-2^{Glc}, H-3^{Glc}, H-4^{Glc}, H-5^{Glc}, H-6a^{Glc}, H-6b^{Glc}, H-2^{Gal}, H-3^{Gal}, H-4^{Gal}, H-5^{Gal}, H-6a^{Gal}, H-6b^{Gal}, H-4^{Neu}, H-5^{Neu}, H-6^{Neu}, H-7^{Neu}, H-8^{Neu}, H-9b^{Neu}, H-1b^{Cer}, 8 OCH_2 , 2 NHCH_2 , selenophene CH_2), 2.85–2.83 (m, 2 H, H-3eq^{Neu}, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2.61 (t, 2 H, selenophene CH_2CH_2), 2.17 (t, 2 H, $\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2$), 2.04–2.01 (m, 5 H, NHAc , H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.73 (t, 1 H, $J_{\text{gem}} = J_{3ax,4} = 11.8$ Hz, H-3ax^{Neu}), 1.58–1.57 (m, 2 H, $\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2$), 1.37–1.28 (m, 50 H, 25 CH_2^{Cer}), 0.91–0.88 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 180.5, 176.0, 175.5, 175.0, 174.2, 168.8, 163.8, 159.1, 141.3, 140.1, 135.1, 131.5, 130.4, 105.2, 104.6, 101.2, 81.1, 80.6, 77.7, 77.0, 76.5, 76.3, 76.1, 74.9,

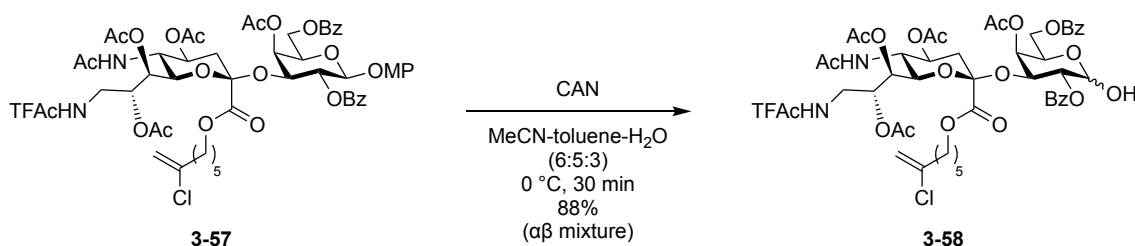
73.0, 71.8, 71.6, 71.4, 71.3, 71.1, 70.9, 70.7, 70.7, 70.2, 70.2, 70.1, 69.4, 69.1, 65.2, 62.8, 62.0, 59.2, 54.8, 54.0, 50.2, 49.7, 49.7, 49.5, 49.3, 47.9, 45.2, 42.0, 40.6, 40.4, 38.7, 37.4, 33.5, 33.1, 33.1, 30.9, 30.9, 30.8, 30.8, 30.7, 30.7, 30.5, 30.5, 30.5, 30.0, 27.2, 23.8, 22.7, 14.5, 14.5; ^{77}Se NMR (94 MHz, CD_3OD) δ 666.3; HRMS (ESI) m/z : found $[\text{M}]^-$ 1737.8721, $\text{C}_{82}\text{H}_{139}\text{N}_5\text{O}_{29}\text{Se}$ calcd for $[\text{M}]^-$ 1737.8721.



Compound 3-57

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-56** (97.2 mg, 82.8 μmol) を $\text{MeCN}/\text{AcOH} = 4/1$ (8.30 mL) に溶かし、zinc powder (97.2 mg, <50 nm particle size) を加え、室温で 2 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 30/1$, developed twice) で確認後、セライト濾過、クロロホルムによるセライト層の洗浄を行なった。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行い、真空乾燥した。残渣を pyridine (0.83 mL) に溶かし、acetic acid (31.3 μL , 0.331 mmol)、4-dimethylaminopyridine (1.0 mg, 8.28 μmol) を加え、室温で 7 時間攪拌した。反応終了を TLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 30/1$, developed twice; n -hexane/acetone = 1/1) で確認後、 0°C に冷却し、メタノールを加えて反応を停止した。反応溶液をトルエン共沸した後、残渣をクロロホルムで希釈し、有機相を 2 M 塩酸、水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (n -hexane/acetone = 3/2) で精製し、**3-57** (95.2 mg, 97%) を白色固体として得た。 $[\alpha]_{\text{D}} +62.3^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.11–6.65 (m, 14 H, 3 Ar, $\text{CF}_3\text{C}(=\text{O})\text{NH}$), 5.53 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2^{Gal}), 5.38 (dt, 1 H, $J_{8,9a} = J_{8,9b} = 2.5$ Hz, $J_{7,8} = 10.3$ Hz, H-8^{Neu}), 5.25 (d, 1 H, H-1^{Gal}), 5.16 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4^{Gal}), 5.14–5.13 (m, 2 H, $\text{C}(\text{=CH}_2)\text{Cl}$), 4.99 (d, 1 H, $J_{5,\text{NH}} = 10.5$ Hz, NH-5^{Neu}), 4.85 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 2.6$ Hz, H-7^{Neu}), 4.83 (m, 1 H, H-4^{Neu}), 4.77 (dd, 1 H, H-3^{Gal}), 4.45 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 7.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.1$ Hz, H-6a^{Gal}), 4.37 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, H-6b^{Gal}), 4.30 (m, 1 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2$), 4.16–4.10 (m, 2 H, H-5^{Gal}, H-9a^{Neu}), 4.05 (m, 1 H, $\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2$), 4.00 (q, 1 H, $J_{5,6} = 10.5$ Hz, H-5^{Neu}), 3.72 (s, 3 H, OMe), 3.49 (dd, 1 H, H-6^{Neu}), 2.58 (dd, 1 H, $J_{3eq,4} = 4.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.3$ Hz, H-3eq^{Neu}), 2.56 (m, 1 H, H-9b^{Neu}), 2.35 (t, 2 H, $\text{C}(\text{=CH}_2)\text{ClCH}_2$), 2.19 (s, 3 H, Ac), 2.11 (s, 3 H, Ac), 2.00 (s, 3

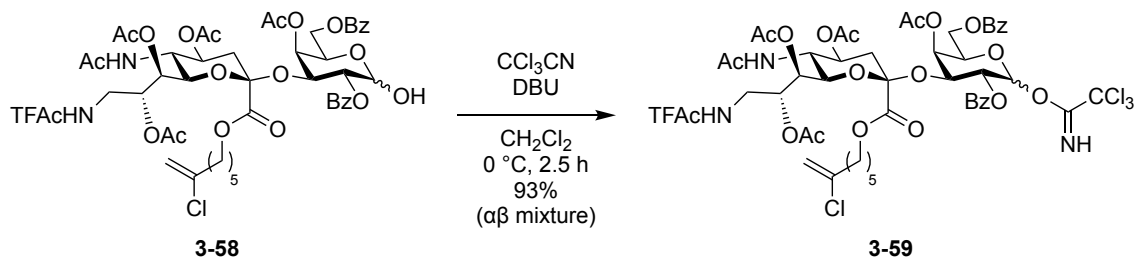
H, Ac), 1.82 (s, 3 H, Ac), 1.80 (t, 1 H, $J_{3ax,4} = 12.3$ Hz, H-3 ax^{Neu}), 1.75–1.65 (m, 2 H, C(=O)OCH₂CH₂), 1.62–1.56 (m, 2 H, C(=CH₂)ClCH₂CH₂), 1.54 (s, 3 H, Ac), 1.42–1.29 (m, 2 H, C(=O)OCH₂CH₂CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 170.7, 170.6, 170.2, 170.2, 167.4, 165.8, 165.2, 158.1, 157.8, 155.5, 151.3, 142.7, 133.3, 133.1, 130.4, 130.1, 129.8, 129.7, 128.4, 118.7, 117.0, 114.7, 114.4, 112.2, 101.0, 96.9, 71.7, 71.5, 71.2, 71.0, 69.3, 67.7, 67.1, 66.8, 66.7, 62.2, 55.6, 48.8, 38.8, 38.3, 37.3, 29.7, 27.9, 26.7, 24.8, 23.1, 21.2, 20.8, 20.8, 20.5; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 1201.3378, C₅₅H₆₂ClF₃N₂O₂₁ calcd for [M+Na]⁺ 1201.3378.



Compound 3-58

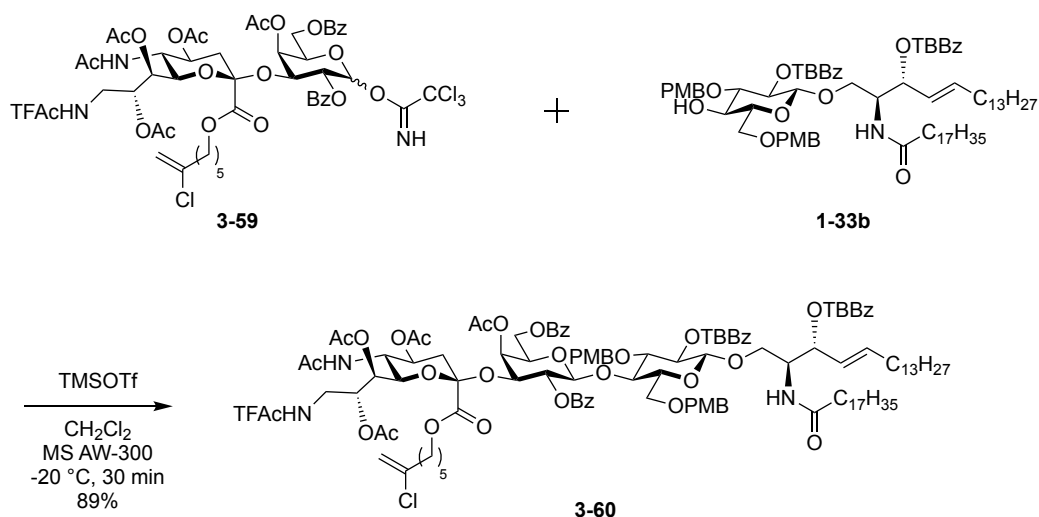
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-57** (77.7 mg, 65.9 μ mol) を MeCN/toluene/H₂O = 6/5/3 (1.30 mL) に溶かし、cerium (IV) ammonium nitrate (361 mg, 0.659 mmol) を 0 °C にて加え、30 分間撹拌した。反応終了を TLC (CHCl₃/MeOH = 30/1) で確認後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (CHCl₃/MeOH = 80/1 \rightarrow 60/1)、ゲル濾過クロマトグラフィー (LH20; CHCl₃/MeOH = 1/1) で精製し、**3-58** (61.9 mg, 88%, α : β = 1:0.8) を白色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.18–7.41 (m, 20 H, 2 Ph $\alpha\beta$), 7.22–7.16 (m, 2 H, CF₃C(=O)NH $\alpha\beta^{Neu}$), 5.52 (near t, 1 H, H-1 α^{Gal}), 5.43–5.37 (m, 3 H, H-2 α^{Gal} , H-8 $\alpha\beta^{Neu}$), 5.27 (d, 1 H, $J_{3,4} = 3.1$ Hz, H-4 α^{Gal}), 5.22–5.16 (m, 4 H, H-2 β^{Gal} , H-4 β^{Gal} , NH-5 $\alpha\beta^{Neu}$), 5.13–5.12 (m, 4 H, C(=CH₂)Cl $\alpha\beta$), 5.06 (t, 1 H, $J_{1,2} = J_{1,OH} = 8.0$ Hz, H-1 β^{Gal}), 5.02 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 2.6$ Hz, $J_{7,8} = 9.3$ Hz, H-7 α^{Neu}), 4.98 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 2.8$ Hz, $J_{7,8} = 10.5$ Hz, H-7 β^{Neu}), 4.92 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.8$ Hz, H-3 α^{Gal}), 4.90–4.83 (m, 2 H, H-4 $\alpha\beta^{Neu}$), 4.79 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-3 β^{Gal}), 4.52 (t, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 6.8$ Hz, H-5 α^{Gal}), 4.42 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 6.5$ Hz, $J_{gem} = 11.5$ Hz, H-6 β^{Gal}), 4.39 (dd, 1 H, $J_{gem} = 11.0$ Hz, H-6 α^{Gal}), 4.33 (d, 1 H, $J_{1,OH} = 6.5$ Hz, OH-1 α^{Gal}), 4.29–4.22 (m, 4 H, H-6b $\alpha\beta^{Gal}$, C(=O)OCH₂ $\alpha\beta$), 4.18–3.99 (m, 8 H, H-5 β^{Gal} , OH-1 β^{Gal} , H-5 $\alpha\beta^{Neu}$, H-9a $\alpha\beta^{Neu}$, C(=O)OCH₂ $\alpha\beta$), 3.59 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 10.5$ Hz, H-6 α^{Neu}), 3.55 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 10.8$ Hz, H-6 β^{Neu}), 2.80 (dt, 1 H, $J_{8,9b} = J_{9b,NH} = 4.0$ Hz, $J_{gem} = 14.8$ Hz, H-9b α^{Neu}), 2.73 (dt, 1 H, $J_{8,9b} = J_{9b,NH} = 3.3$ Hz, H-9b β^{Neu}), 2.32 (t, 4 H, C(=CH₂)ClCH₂ $\alpha\beta$), 2.14 (s, 3 H, Ac α), 2.13 (s, 3 H, Ac β), 2.12 (s, 3 H, Ac α), 2.09 (s, 3 H, Ac β), 2.00

(s, 3 H, Ac α), 1.99 (s, 3 H, Ac β), 1.86–1.80 (m, 10 H, H-3ax α^{Neu} , 2 Ac α , Ac β), 1.78–1.73 (m, 4 H, H-3ax β^{Neu} , Ac β), 1.71–1.61 (m, 4 H, C(=O)OCH₂CH₂ $\alpha\beta$), 1.60–1.53 (m, 4 H, C(=CH₂)ClCH₂CH₂ $\alpha\beta$), 1.38–1.26 (m, 4 H, C(=O)OCH₂CH₂CH₂ $\alpha\beta$); HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 1095.2957, C₄₈H₅₆ClF₃N₂O₂₀ calcd for [M+Na]⁺ 1095.2959.



Compound 3-59

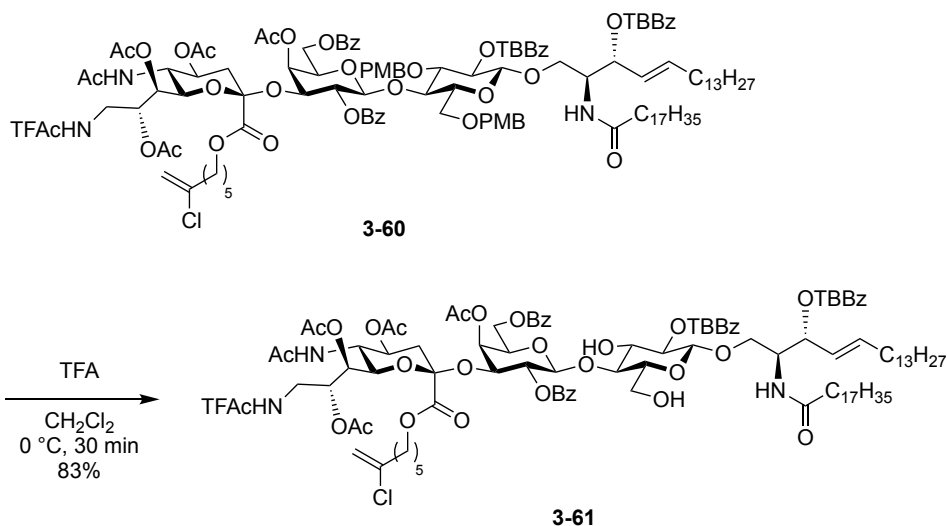
Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-58** (56.7 mg, 52.8 μ mol) を CH₂Cl₂ (1.10 mL) に溶かし、trichloroacetonitrile (106 μ L, 1.06 mmol)、1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (1.6 μ L, 10.6 μ mol) を 0 °C にて加え、2.5 時間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 2/1) で確認後、溶媒留去を行なった。残渣をフラッシュシリカゲルカラムクロマトグラフィー (1st: toluene/acetone = 8/1 \rightarrow 6/1 \rightarrow 5/1 \rightarrow 4/1; 2nd: CHCl₃/MeOH = 100/1) で精製し、**3-59** (59.6 mg, 93%, α : β = 1:0.8) を白色固体として得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.70 (s, 1 H, C(=NH)CCl₃ β), 8.59 (s, 1 H, C(=NH)CCl₃ α), 8.18–7.39 (m, 20 H, 2 Ph $\alpha\beta$), 7.26 (m, 1 H, CF₃C(=O)NH β^{Neu}), 7.18–7.14 (m, 1 H, CF₃C(=O)NH α^{Neu}), 6.77 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 3.8 Hz, H-1 α^{Gal}), 6.20 (d, 1 H, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1 β^{Gal}), 5.56 (dd, 1 H, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, H-2 β^{Gal}), 5.52–5.49 (m, 2 H, H-2 α^{Gal} , H-4 α^{Gal}), 5.45–5.40 (m, 2 H, H-8 $\alpha\beta^{Neu}$), 5.34 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, H-3 α^{Gal}), 5.23 (d, 1 H, *J*_{5,NH} = 10.0 Hz, NH-5 α^{Neu}), 5.21 (d, 1 H, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-4 β^{Gal}), 5.13–5.12 (m, 4 H, C(=CH₂)Cl $\alpha\beta$), 5.06 (dd, 1 H, *J*_{6,7} = 2.3 Hz, *J*_{7,8} = 10.3 Hz, H-7 α^{Neu}), 5.02 (d, 1 H, *J*_{5,NH} = 8.0 Hz, NH-5 β^{Neu}), 4.89–4.81 (m, 4 H, H-3 β^{Gal} , H-4 $\alpha\beta^{Neu}$, H-7 β^{Neu}), 4.71 (t, 1 H, *J*_{5,6a} = *J*_{5,6b} = 6.5 Hz, H-5 α^{Gal}), 4.47 (dd, 1 H, *J*_{5,6a} = 6.5 Hz, *J*_{gem} = 11.0 Hz, H-6a β^{Gal}), 4.44 (dd, 1 H, *J*_{gem} = 11.0 Hz, H-6a α^{Gal}), 4.34–4.08 (m, 9 H, H-5 β^{Gal} , H-6b $\alpha\beta^{Gal}$, H-5 α^{Neu} , H-9a $\alpha\beta^{Neu}$, 2 C(=O)OCH₂ α , C(=O)OCH₂ β), 4.03–3.96 (m, 2 H, H-5 β^{Neu} , C(=O)OCH₂ β), 3.70 (dd, 1 H, *J*_{5,6} = 10.8 Hz, H-6 α^{Neu}), 3.50 (dd, 1 H, *J*_{6,7} = 2.8 Hz, *J*_{5,6} = 10.8 Hz, H-6 β^{Neu}), 2.87 (m, 1 H, H-9b α^{Neu}), 2.63–2.53 (m, 4 H, H-3eq $\alpha\beta^{Neu}$, H-9b β^{Neu}), 2.35–2.32 (m, 4 H, C(=CH₂)ClCH₂ $\alpha\beta$), 2.18 (s, 3 H, Ac β), 2.13 (s, 6 H, Ac $\alpha\beta$), 2.06 (s, 3 H, Ac α), 1.99 (s, 3 H, Ac β), 1.98 (s, 3 H, Ac α), 1.97 (s, 3 H, Ac α), 1.91 (s, 3 H, Ac α), 1.82–1.77 (m, 4 H, H-3ax β^{Neu} , Ac β), 1.71–1.59 (m, 5 H, H-3ax α^{Neu} , C(=O)OCH₂CH₂ $\alpha\beta$), 1.61–1.54 (m, 4 H, C(=CH₂)ClCH₂CH₂ $\alpha\beta$), 1.39–1.29 (m, 4 H, C(=O)OCH₂CH₂CH₂ $\alpha\beta$); HRMS (ESI) *m/z*: found [M+Na]⁺ 1238.2056, C₅₀H₅₆Cl₄F₃N₃O₂₀ calcd for [M+Na]⁺ 1238.2056.



Compound 3-60

Ar 雰囲気下にて、供与体 **3-59** (26.4 mg, 21.7 μ mol)、受容体 **1-33b** (41.9 mg, 32.5 μ mol) を CH₂Cl₂ (1.10 mL) に溶かし、活性化したモレキュラーシーブス AW-300 (100 mg) を加え、室温で 1 時間攪拌した後、-20 °C に冷却し、trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (0.39 μ L, 2.17 μ mol) を加え、30 分間攪拌した。反応終了を TLC (*n*-hexane/acetone = 2/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて反応を停止した。反応溶液をセライト濾過し、セライト層をクロロホルムで洗浄した。濾液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (*n*-hexane/acetone = 3/1 \rightarrow 1/1) で精製し、**3-60** (45.2 mg, 89%) を白色固体として得た。[α]_D +32.8° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.15–6.62 (m, 27 H, 6 Ar, CF₃C(=O)NH), 5.77 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 2.0$ Hz, $J_{4,5} = 15.0$ Hz, H-5^{Cer}), 5.72 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.0$ Hz, NH-2^{Cer}), 5.48 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 7.0$ Hz, H-3^{Cer}), 5.43–5.38 (m, 2 H, H-8^{Neu}, H-4^{Cer}), 5.32 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, H-2^{Gal}), 5.14 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 8.9$ Hz, H-2^{Glc}), 5.12–5.08 (m, 4 H, H-1^{Gal}, H-4^{Gal}, C(=CH₂)Cl), 5.04 (d, 1 H, $J_{5,NH} = 10.5$ Hz, NH-5^{Neu}), 4.87 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 2.6$ Hz, $J_{7,8} = 10.3$ Hz, H-7^{Neu}), 4.85 (m, 2 H, H-4^{Neu}, ArCH₂), 4.65 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-3^{Gal}), 4.61 (d, 1 H, $J_{gem} = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.37–4.31 (m, 4 H, H-1^{Glc}, H-2^{Cer}, ArCH₂), 4.25–4.17 (m, 2 H, H-6a^{Gal}, C(=O)OCH₂), 4.13–4.07 (m, 3 H, H-4^{Glc}, H-6b^{Gal}, H-9a^{Neu}), 4.02–3.91 (m, 3 H, H-5^{Neu}, H-1a^{Cer}, C(=O)OCH₂), 3.84 (t, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 7.3$ Hz, H-5^{Gal}), 3.76 (t, 1 H, $J_{3,4} = 8.9$ Hz, H-3^{Glc}), 3.72 (s, 3 H, OMe), 3.66–3.64 (m, 4 H, H-6a^{Glc}, OMe), 3.57 (dd, 1 H, $J_{5,6b} = 4.8$ Hz, $J_{gem} = 11.3$ Hz, H-6b^{Glc}), 3.48 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 10.5$ Hz, H-6^{Neu}), 3.45 (dd, 1 H, $J_{1b,2} = 4.0$ Hz, $J_{gem} = 10.0$ Hz, H-1b^{Cer}), 3.34 (m, 1 H, H-5^{Glc}), 2.60 (m, 1 H, H-9b^{Neu}), 2.51 (dd, 1 H, $J_{3eq,4} = 4.5$ Hz, $J_{gem} = 12.5$ Hz, H-3eq^{Neu}), 2.31 (t, 2 H, C(=CH₂)ClCH₂), 2.10 (s, 3 H, Ac), 2.08 (s, 3 H, Ac), 1.98 (s, 3 H, Ac), 1.94 (q, 2 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}), 1.82 (s, 3 H, Ac), 1.75 (t, 1 H, $J_{3ax,4} = 12.5$ Hz, H-

3 α -^{Neu}), 1.74 (s, 3 H, Ac), 1.71–1.59 (m, 10 H, C(=O)OCH₂CH₂, NHC(=O)CH₂, 2 Ac), 1.57–1.51 (m, 2 H, C(=CH₂)ClCH₂CH₂), 1.36–1.07 (m, 72 H, C(=O)OCH₂CH₂CH₂, 26 CH₂^{Cer}, 2 ^tBu), 0.89–0.86 (m, 2 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 172.6, 170.7, 170.3, 170.3, 169.9, 167.3, 165.6, 165.3, 165.2, 165.0, 159.0, 158.9, 158.3, 158.0, 157.7, 156.9, 156.4, 142.7, 136.8, 133.2, 133.1, 130.6, 130.5, 130.2, 130.1, 129.8, 129.7, 129.6, 129.6, 129.2, 128.9, 128.5, 128.3, 127.6, 126.9, 125.4, 125.3, 124.9, 119.3, 117.0, 114.8, 113.6, 113.5, 112.1, 101.0, 100.2, 97.1, 79.9, 77.6, 76.1, 75.3, 74.3, 73.8, 73.5, 72.9, 72.1, 71.8, 71.7, 70.5, 69.4, 68.4, 67.6, 67.2, 66.8, 66.6, 61.3, 55.2, 55.1, 53.8, 50.5, 48.8, 38.8, 38.3, 37.3, 36.4, 35.1, 35.0, 32.3, 31.9, 31.7, 31.1, 31.1, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.0, 27.8, 26.6, 25.6, 24.7, 23.1, 22.7, 21.1, 20.7, 20.7, 20.6, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 2365.1742, C₁₂₈H₁₇₅ClF₃N₃O₃₁ calcd for [M+Na]⁺ 2365.1742.



Compound 3-61

Ar 雰囲気下にて、化合物 **3-60** (81.3 mg, 34.7 μ mol) を CH₂Cl₂ (2.30 mL) に溶かし、0 °C にて trifluoroacetic acid (1.2 mL) を加え、30 分間攪拌した。反応終了を TLC (toluene/acetone = 3/1) で確認後、飽和炭酸水素ナトリウムを加えて反応を停止した。反応溶液をクロロホルムで希釈し、有機相を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水で洗浄した。得られた有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥後、それを濾別し、溶媒留去を行なった。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 (1st: toluene/acetone = 6/1 \rightarrow 5/1; 2nd: toluene/acetone = 6/1 \rightarrow 5/1) で精製し、**3-61** (60.7 mg, 83%) を白色固体として得た。[α]_D+27.0° (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.20–7.31 (m, 19 H, 4 Ar, CF₃C(=O)NH), 5.87 (near quin, 1 H, $J_{5,6a} = J_{5,6b} = 7.0$ Hz, $J_{4,5} = 15.1$ Hz, H-5^{Cer}), 5.78 (d, 1 H, $J_{2,NH} = 9.5$ Hz, NH-2^{Cer}), 5.55 (t, 1 H, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8.4$ Hz, H-3^{Cer}), 5.48 (dt, 1 H, $J_{8,9a} = J_{8,9b} = 3.5$ Hz, $J_{7,8} = 10.1$ Hz, H-8^{Neu}), 5.42 (dd, 1 H, H-4^{Cer}), 5.34 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2^{Gal}), 5.15–5.10 (m, 4 H, H-2^{Glc}, H-4^{Gal}, C(=CH₂)Cl), 5.04

(d, 1 H, $J_{5,\text{NH}} = 10.5$ Hz, NH-5^{Neu}), 5.00 (d, 1 H, H-1^{Gal}), 4.97 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 2.8$ Hz, H-7^{Neu}), 4.82 (m, 1 H, H-4^{Neu}), 4.76 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-3^{Gal}), 4.52 (dd, 1 H, $J_{5,6a} = 4.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, H-6a^{Gal}), 4.50 (s, 1 H, H-5^{Glc}), 4.40–4.36 (m, 2 H, H-1^{Glc}, H-2^{Cer}), 4.30 (m, 1 H, C(=O)OCH₂), 4.18–4.02 (m, 4 H, H-5^{Gal}, H-6b^{Gal}, H-9a^{Neu}, C(=O)OCH₂), 3.95 (q, 1 H, $J_{5,6} = 10.5$ Hz, H-5^{Neu}), 3.91–3.87 (m, 2 H, H-3^{Glc}, H-4^{Glc}), 3.84 (m, 1 H, H-1a^{Cer}), 3.53 (dd, 1 H, H-6^{Neu}), 3.50 (dd, 1 H, $J_{1b,2} = 3.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 9.5$ Hz, H-1b^{Cer}), 3.25 (br d, 1 H, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, H-6a^{Glc}), 3.10 (m, 1 H, OH-3^{Glc}), 3.01–2.95 (m, 2 H, H-6b^{Glc}, H-9b^{Neu}), 2.84 (br s, 1 H, OH-6^{Glc}), 2.53 (dd, 1 H, $J_{3eq,4} = 4.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.3$ Hz, H-3eq^{Neu}), 2.34 (t, 2 H, C(=CH₂)ClCH₂), 2.14 (s, 3 H, Ac), 2.13 (s, 3 H, Ac), 1.98–1.93 (m, 7 H, H-6a^{Cer}, H-6b^{Cer}, NHC(=O)CH₂, Ac), 1.83 (s, 3 H, Ac), 1.73–1.65 (m, 3 H, H-3ax^{Neu}, C(=O)OCH₂CH₂), 1.64 (s, 3 H, Ac), 1.61–1.55 (m, 2 H, C(=CH₂)ClCH₂CH₂), 1.46–1.41 (m, 2 H, H-7a^{Cer}, H-7b^{Cer}), 1.39–1.20 (m, 70 H, C(=O)OCH₂CH₂CH₂, 25 CH₂^{Cer}, 2 ^tBu), 0.89–0.85 (m, 6 H, 2 Me^{Cer}); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.7, 172.2, 170.7, 170.6, 170.3, 170.0, 167.3, 166.2, 165.8, 165.7, 165.0, 158.4, 158.1, 157.8, 157.5, 156.8, 142.7, 138.4, 133.3, 133.2, 130.4, 130.0, 129.8, 129.6, 129.5, 129.2, 129.0, 128.6, 128.3, 127.3, 127.2, 125.4, 124.9, 119.4, 117.1, 114.8, 112.5, 112.2, 101.9, 99.9, 97.0, 80.8, 79.2, 74.1, 73.7, 73.6, 72.7, 71.8, 71.5, 71.4, 70.9, 69.4, 67.8, 67.4, 66.9, 66.8, 66.3, 62.5, 59.8, 50.4, 48.7, 39.0, 38.8, 37.3, 36.7, 35.1, 32.3, 31.9, 31.4, 31.1, 30.0, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 29.3, 28.9, 27.9, 26.7, 25.6, 24.8, 23.1, 22.7, 21.3, 20.7, 20.7, 20.7, 14.1; HRMS (ESI) m/z : found [M+Na]⁺ 2125.0590, C₁₁₂H₁₅₉ClF₃N₃O₂₉ calcd for [M+Na]⁺ 2125.0592.

謝辞

本研究の遂行から論文作成に至るまで、多大なる御指導、御鞭撻を賜りました、主指導教員の安藤弘宗教授を始め、木曾眞名誉教授、石田秀治教授、今村彰宏准教授、田中秀則助教に深く御礼申し上げます。

シアル酸の合成に関して御助言頂きました河村奈緒子特任助教を始め、学部四年生の時より研究生活全般にわたり数々の御指導、御助言を賜りました玉井秀樹博士、小西美紅氏、島袋隼平博士、八神奈帆子博士、卒業生の先輩方に心より御礼申し上げます。

気弱な私に国際感覚や多くの刺激を与えてくださいました、Chandrababunaidu Kona 博士、Amol M. Vibhute 博士、Pratiksha A. Vibhute 氏に深く感謝申し上げます。

DLS 測定に関して御指導頂き、有益な御助言を賜りました食品物性工学研究室 岩本悟志教授に深く感謝申し上げます。

L-LacCer 蛍光プローブの合成を行うにあたり、化合物の合成に御尽力頂きサンプルを提供下さいました菅原湧斗氏に深く感謝申し上げます。

グロボ系列 GSL 蛍光プローブの設計及び合成を行うにあたり、数々の知見を残して下さいました Pal Rita 博士に深く感謝申し上げます。

蛍光プローブの機能評価実験の御指導並びに一分子追跡実験等を行なって頂きました細胞生物物理学研究室 鈴木健一教授に深く感謝申し上げます。

二週間に渡る受入を御快諾頂き、光反応性置換基の性質評価及び光親和性標識実験に関して数々の御指導、御助言を賜りました九州大学大学院薬学研究院 薬物分子設計学分野 平井剛教授、水上大輝氏に深く感謝申し上げます。

イメージスキャナーの使用に関して御指導を賜り、光親和性標識実験に関して数々の御助言を賜りました細胞生物物理学研究室 梅林美和特任助教に深く感謝申し上げます。

光親和性 GM3 プローブを用いた光架橋実験及びプロテオミクス解析を行なって頂きました名古屋市立大学薬学研究科生命分子構造学分野 矢木宏和講師に深く感謝申し上げます。

実験機器の借用に関して御快諾頂きました細胞生物物理学研究室の皆様、糖鎖生化学研究室の皆様、生物有機化学研究室の皆様に深く感謝申し上げます。

最後に、研究生生活を一層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、そして、研究生生活への御理解を頂き支えてくださった家族、友人に感謝申し上げ、謝辞とさせていただきます。

令和3年1月 浅野 早知