



Title	アルキン型リンカーを用いた糖鎖固相合成の研究―菌頭反応による高反応部位の選択―
Author(s)	泉, 実
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1782
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

アルキン型リンカーを用いた糖鎖固相合成の研究
－菌頭反応による高反応部位の選択－

2001 年

学位論文

泉 実

化学専攻

大阪大学大学院理学研究科

目 次

略号および略号表

第1章 序論	1
1-1 はじめに	1
1-2 糖鎖の固相合成	2
1-3 本研究の概略	10
参考文献	15
第2章 TMSCI を用いた簡便な Fischer グリコシド化とそのプロパルギルグリコシド合成への適用	17
2-1 TMSCI を用いた簡便な Fischer グリコシド化	18
2-2 新しいアノマー位の保護基としてのプロパルギルグリコシド	20
2-3 TMSCI を酸触媒として用いる種々の反応	23
2-4 まとめ	26
2-5 実験の部	27
参考文献	31
第3章 新しいアルキン型リンカーを利用した糖鎖固相合成：プロパルギルグリコシド型のリンカー	32
3-1 プロパルギルグリコシド型リンカーを用いた糖鎖固相合成（1）	37
3-1-1 アミド結合形成反応を用いた糖の固相への導入	37
3-1-2 プロパルギルグリコシド型リンカーの切断の検討	42
3-1-3 固相グリコシル化反応の検討	44
3-2 プロパルギルグリコシド型リンカーを用いた糖鎖固相合成（2）	48
3-2-1 菌頭カップリング反応を用いた糖の固相への導入	48
3-2-2 固相上でのグリコシル化反応	50
3-3 まとめ	52
3-4 実験の部	53
参考文献	61
第4章 新しいアルキンエステル型リンカーと天然糖鎖の固相合成への適用	62
4-1 アルキンエステルリンカー部を有する糖の合成	64
4-2 固相担体上での菌頭カップリング反応	67
4-3 アルキンエステル型リンカーを用いた固相グリコシル化	70

4-4	天然糖鎖・ルイス X ならびにシアロルイス X 糖鎖の固相合成の検討	73
4-4-1	ビルディングブロックの合成	76
4-4-2	アルキンエステルリンカーを利用したシアロルイス X 糖鎖の固相合成	78
4-5	まとめ	80
4-6	実験の部	81
	参考文献	97

略語および略語表

本論文に使用した略語を以下に示した。

略語	正式名
Ac	acetyl アセチル
Ac ₂ O	acetic anhydride 無水酢酸
AcOEt	ethyl acetate 酢酸エチル
AcOH	acetic acid 酢酸
Alloc	allyloxycarbonyl アリルオキシカルボニル
AllocCl	allyl chloroformate クロロギ酸アリル
Allyl	2-propenyl 2-プロペニル
AllylOH	allyl alcohol アリルアルコール
BF ₃ ·Et ₂ O	boron trifluoride·ether complex 三フッ化ボロン・エーテル錯体
Bn	benzyl ベンジル
BnBr	benzyl bromide 臭化ベンジル
Bz	benzoyl ベンゾイル
BzCl	benzoyl chloride 塩化ベンゾイル
CDCl ₃	chloroform-d 重クロロホルム
CHCl ₃	chloroform クロロホルム
CH ₂ Cl ₂	dichloromethane ジクロロメタン
(CH ₂ Cl) ₂	1,2-dichloroethane 1,2-ジクロロエタン
CH ₃ CN	acetonitrile アセトニトリル
CH ₃ ONa	sodium methoxide ナトリウムメチラート
CuI	copper iodide ヨウ化銅
DIC	diisopropylcarbodiimide ジイソプロピルカルボジイミド
d	doublet ダブルレット
dd	double doublet ダブルダブルレット
DMAP	4-dimethylaminopyridine 4-ジメチルアミノピリジン
DMF	N,N-dimethylformamide N,N-ジメチルホルムアミド
Et ₂ O	diethyl ether ジエチルエーテル
Et ₃ SiH	triethylsilane トリエチルシラン
Fmoc	9-fluorenylmethyl 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル
FmocCl	9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride クロロギ酸 9-フルオレニルメチル
HOBt	1-hydroxybenzotriazole 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール
m	multiplet マルチレット
Me	methyl メチル
MeOH	methanol メタノール
MgSO ₄	Magnesium sulfate 硫酸マグネシウム

MPM	<i>p</i> -methoxyphenylmethyl <i>p</i> -メトキシベンジル
MS4 Å	molecular sieves 4 Å モレキュラーシーブス 4 Å
NaBH ₄	sodium borohydride 水素化ホウ素ナトリウム
NaClO ₂	sodium chlorite 亜塩素酸ナトリウム
NaH	sodium hydride 水素化ナトリウム
NaHCO ₃	sodium hydrogencarbonate 炭酸水素ナトリウム
NaOH	sodium hydroxide 水酸化ナトリウム
Na ₂ S ₂ O ₃	sodium thiosulfate チオ硫酸ナトリウム
Na ₂ SO ₄	sodium sulfate 硫酸ナトリウム
NMR	nuclear magnetic resonance 核磁気共鳴
Pab	4-(pivaloylamino)benzyl 4-ピバロイルアミノベンジル
PabCl	4-(pivaloylamino)benzyl chloride 塩化 4-ピバロイルアミノベンジル
Pd(PPh ₃) ₄	tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0) テトラキストリフェニルフォスフィンパラジウム (0 価)
Ph	phenyl フェニル
PhCHO	benzaldehyde ベンズアルデヒド
PhIO	Iodosobenzene ヨードソベンゼン
PPh ₃	triphenylphosphine トリフェニルホスフィン
Proc	propargyloxycarbonyl プロパルギルオキシカルボニル
PropargylOH	propargyl alcohol プロパルギルアルコール
Pyr	pyridine ピリジン
s	singlet シングレット
t	triplet トリプレット
TEA	triethylamine トリエチルアミン
TFA	trifluoroacetic acid トリフルオロ酢酸
THF	tetrahydrofuran テトラヒドロフラン
TLC	thin layer chromatography 薄層クロマトグラフィー
TMS	trimethylsilane トリメチルシラン
TMSCl	chlorotrimethylsilane クロロトリメチルシラン
TMSOTf	trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル
Troc	2,2,2-trichloroethoxycarbonyl 2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル
TrocCl	2,2,2-trichloroethyl chloroformate クロロギ酸 2,2,2-トリクロロエチル
<i>p</i> -TsOH	<i>p</i> -toluenesulfonic acid <i>p</i> -トルエンスルホン酸

第1章 序論

1-1 はじめに

酵母やヒトなどの真核生物からバクテリアなどの原核生物にいたるまで、細胞表層は糖鎖によって覆われている。そのため外界との相互作用の中には糖鎖が関与するものが知られている。実際、糖鎖は細胞分化、神経機能、細胞接着、炎症、癌の転移などに関わっており、インフルエンザウイルス、コレラ毒素、ペロ毒素、大腸菌線毛のレセプターは糖あるいは糖鎖である。また細胞表面の硫酸化多糖プロテオグリカン¹⁾は細胞増殖因子や酵素などの様々な蛋白質と結合しその活性を制御していること、高等動物の免疫系を活性化する細菌表層複合糖質が存在することなど、生体内で極めて多様な役割を担っていることが明らかにされてきた²⁾。このようなことから糖関連化合物は抗炎症薬、抗感染薬、癌転移抑制あるいは免疫増強剤のリード化合物としても注目されている。ところが、生物学的に重要な機能を有する糖鎖は一般に天然には微量にしか存在せず、また多くの場合構造が不均一であるため、精密な機能解析が困難であることが多い。糖鎖合成は均一な構造を有する糖鎖を、研究するうえで必要十分な量を供給することができるため、糖鎖機能の解明に大きな役割を果たしてきた。

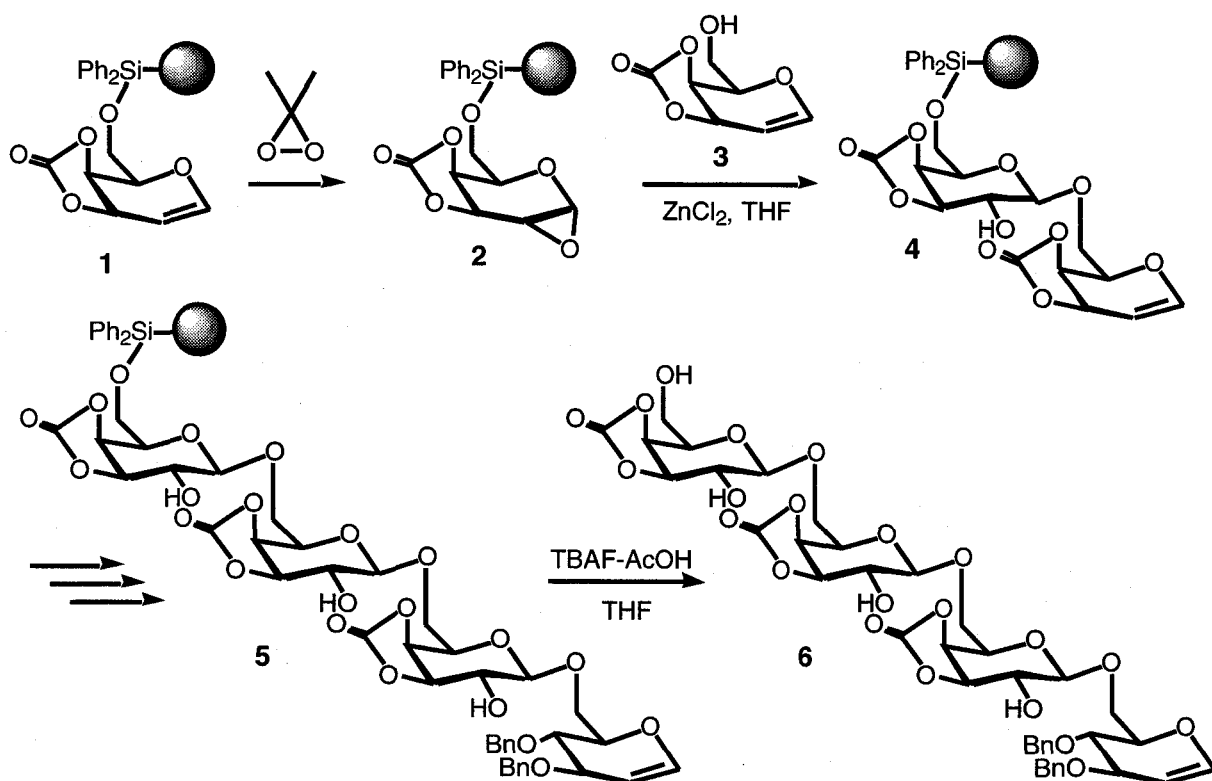
最近では糖鎖合成も大きな発展を遂げ、液相合成によれば相当複雑な化合物でも合成できるようになった。しかし、一般に糖鎖合成を行うには多数の水酸基の選択的保護、脱保護、立体選択的なグリコシル化を行う必要がある。また合成経路の設定、保護基の用い方、グリコシル化反応の選択など経験を要するものが多い。また、各反応段階で精製の必要があるなど合成を進めるうえでの労力も相当なものがあり、糖鎖合成はいまだに必ずしも容易なものとは言えない。ペプチドや核酸は固相合成法が確立されており、化合物供給が容易であるために機能研究も容易であるのに対して、糖鎖機能解明の研究はこれらに比べ遅れていた。筆者の所属する研究室でも効率的かつ汎用性のある糖鎖合成法を確立させることを目指して研究が行われ、糖鎖合成の基本をなす水酸基の保護ならびにグリコシル化反応についていくつかの新しい方法が見出されてきた。さらには糖鎖の固相合成、糖鎖の化学-酵素合成法についても研究が行われている。本研究は、糖鎖の効率的かつ汎用性のある固相合成法の実現を目指し、さらにはその方法を用いて実際に天然糖鎖を合成することを目的に展開したものである。

1-2 糖鎖の固相合成

メリフィールドによって開発された固相合成は、ペプチド、DNA、RNA 合成の標準的手段となり、医薬品開発を目指した低分子合成についても近年爆発的な進歩をとげた。固相合成法では、過剰な反応剤はろ過などの簡便な操作で容易に除去できるため、過剰の反応剤を使用して完全に反応を進行させることができる。さらに合成方法が決まれば反応させる成分の組み合わせを変えるだけで多種類の化合物を迅速に合成できるという利点を有している。しかしながら液相における反応に比べて固相に担持した基質は、その反応性が低下するので、固相合成と液相合成では反応時間などの種々の最適条件が異なる。液相の反応を固相合成に適用するためには、それらの条件を検討する必要がある、しかも固相合成では反応の進行のチェックが難しいため、合成方法が確立するまでには相当な時間と労力を要するという欠点も存在する。

糖鎖の固相合成は Fréchet、Schuerch により 1970 年代初頭にすでに報告されており、このときすでに合成の基本的な方法論は提唱されていた。しかしながら当時は、糖鎖合成の基本をなすグリコシル化反応として、現在見られるような有効なものは知られておらず、固相上でのグリコシル化反応の収率は十分なものではなかった。また使用できる保護基の数も限られており、糖鎖固相合成は実用的なものとはならなかった。近年の新しいグリコシル化反応ならびに保護基の開発をはじめとする糖鎖合成法の進展、HPLC などの分離技術、NMR、マススペクトロメトリーなどの分析技術の発展により、ようやく糖鎖の固相合成が実現可能になった。

実際に糖鎖固相合成が盛んに研究されるようになったのは Danishefsky がグリカールから導かれる 1,2-アンヒドロ糖を糖供与体に用いた糖鎖固相合成を 1993 年に発表してからである。Danishefsky はシリルリンカーを用いて糖供与体をポリスチレン樹脂に導入し、還元末端側に糖鎖を伸長させている²⁾ (Scheme 1-1)。



Scheme 1-1 1,2-アンヒドロ糖を糖供与体にした糖鎖固相合成

この手法を用いて血液型抗原糖鎖や *N*-結合型糖鎖を含むペプチドなど複雑な構造の合成に成功している³⁻⁷⁾。高橋らもシリルリンカーを用いた糖鎖固相合成を報告した^{8,9)}。Kahne はグルコシルスルホキシドを糖供与体にした糖鎖の固相合成に成功し、固相スプリット合成法を用いて、約 1300 化合物からなる二糖と三糖のライブラリーの合成を報告した。スプリット合成で調製したライブラリーにおいては、一粒の樹脂（ビーズ）には一種類の化合物のみが結合していることが特徴である。このライブラリーを用いて樹脂上でレクチンとの結合実験を行い、本来のリガンドよりも強く結合する人工糖鎖を見出している^{10,11)} (Fig. 1-1)。

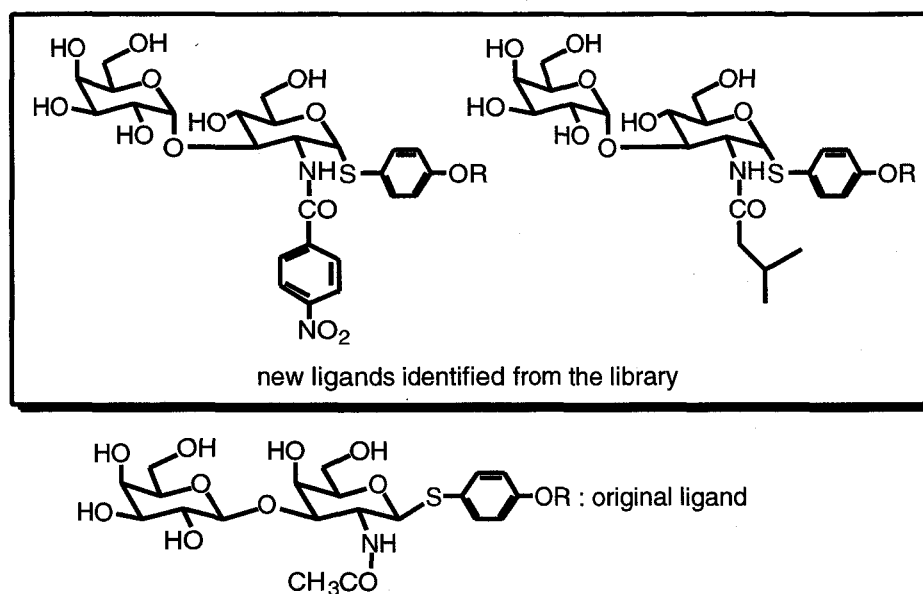
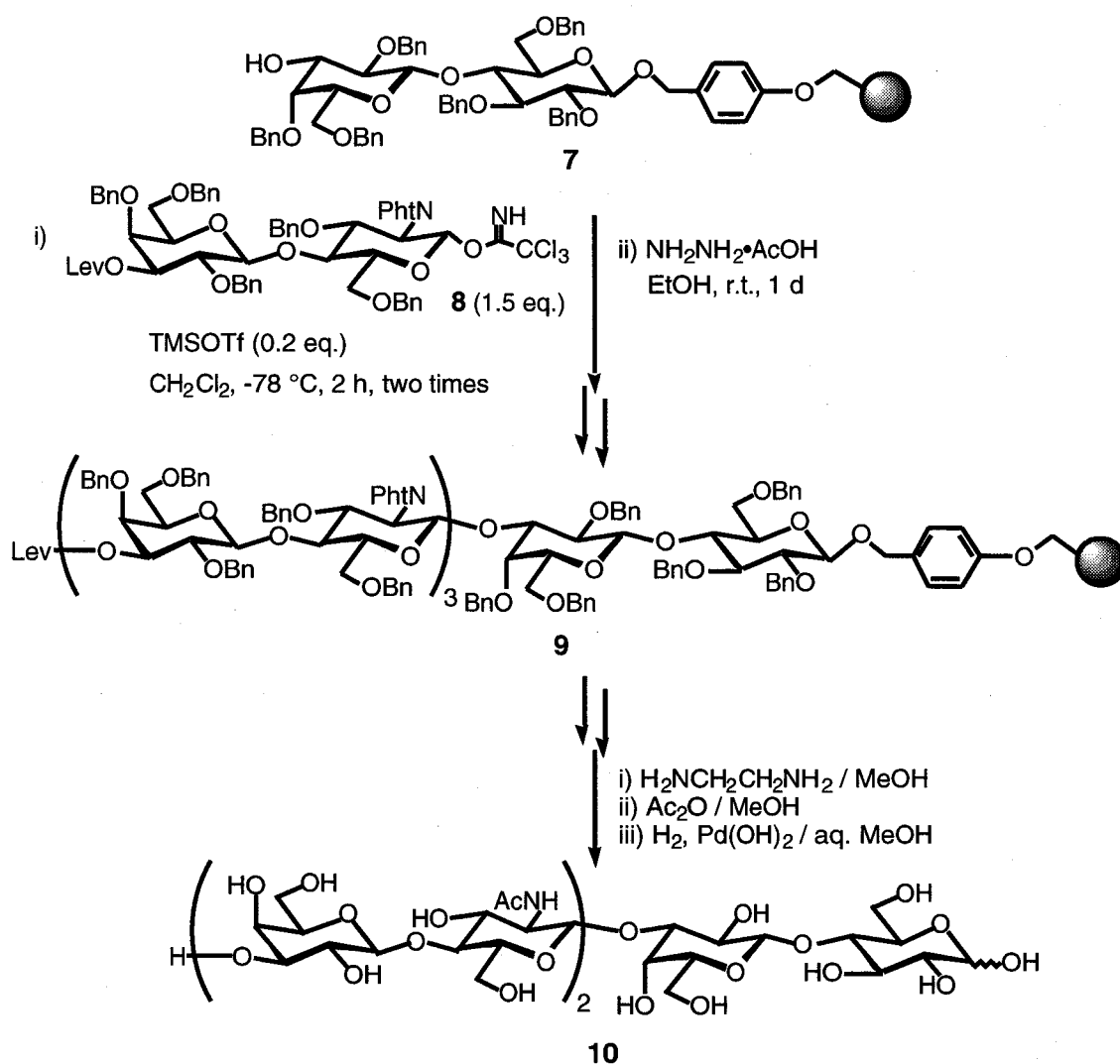


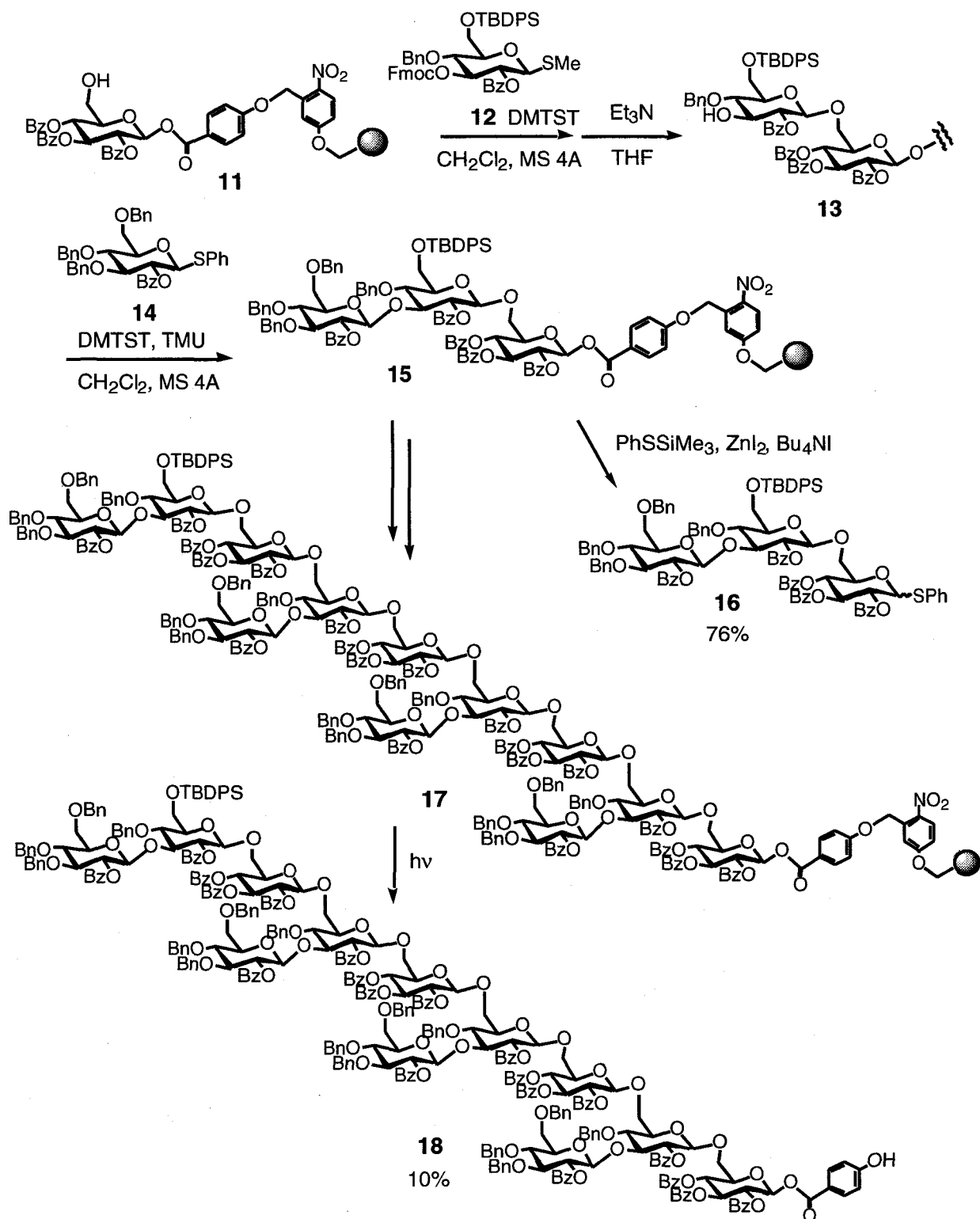
Fig. 1-1 Kahne のエンコード糖鎖ライブラリーから見出された *Bauhinia purpurea* レクチンの新リガンド

Schmidt はグリコシルトリクロロアセトイミデートを糖供与体を用いる固相合成を報告した¹²⁻¹⁴⁾。グリコシルトリクロロアセトイミデートはその他の糖鎖固相合成研究においても汎用されている有用な糖供与体である。伊藤、小川らもイミデート法を用いてポリラクトサミンの固相合成に成功した¹⁵⁾ (Scheme 1-2)。



Scheme 1-2 ポリラクトサミンの固相合成

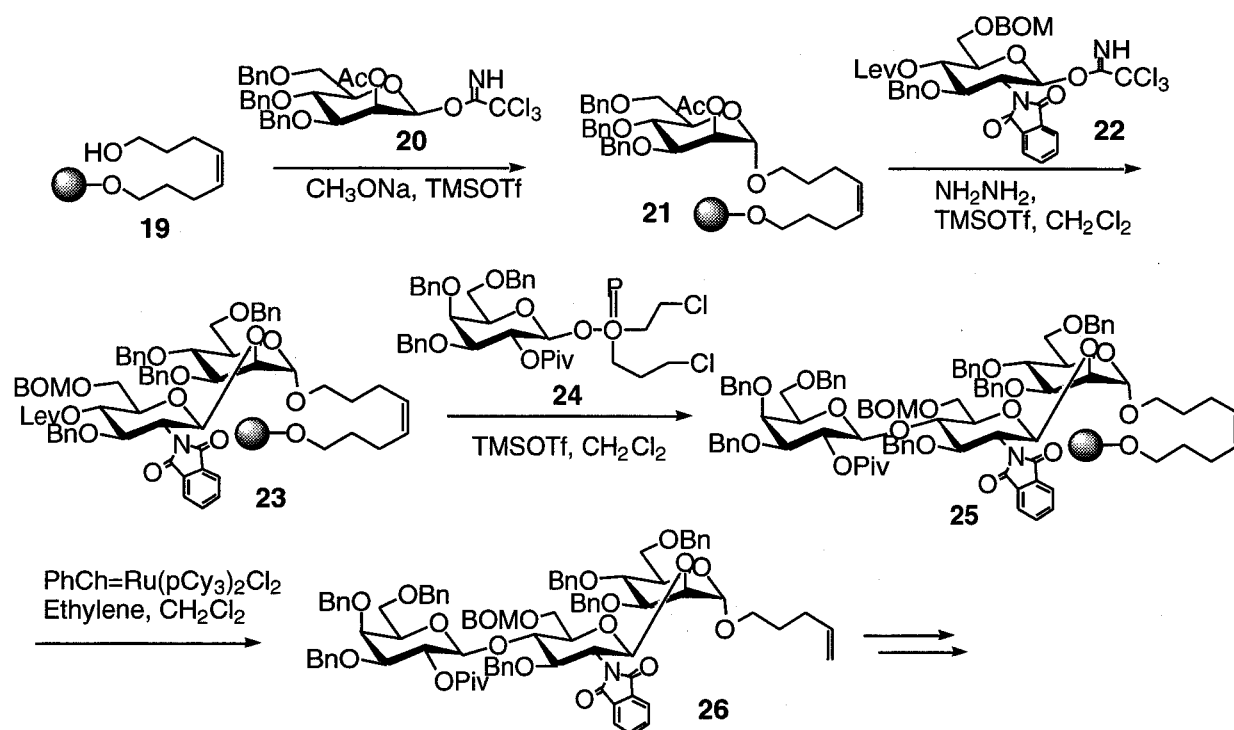
Fraser-Reid らはペンテニルグリコシドを糖供与体を用いる糖鎖固相合成について報告した¹⁶⁾。Nicolaou はチオグリコシドをジメチルチオスルホニウムトリフラート (DMTST) で活性化してグリコシル化反応を行った後、数種ある保護基を選択的に除去することによって分枝を有するエリシター糖鎖を合成した^{17,18)}。彼らの合成した 12 糖は固相合成で得た糖としては最大のものである (Scheme 1-3)。



Scheme 1-3 ペンテニルグリコシドを糖供与体を用いる糖鎖固相合成

Seeberger らは、トリクロロイミデートなど様々な糖供与体と保護基を組み合わせる糖鎖自動合成を報告した (Scheme 1-4)。一般にグリコシル化反応は無水条件下で行わねばならず、固相合成には樹脂を十分に乾燥させる必要がある。彼らは固相樹脂を脱水溶

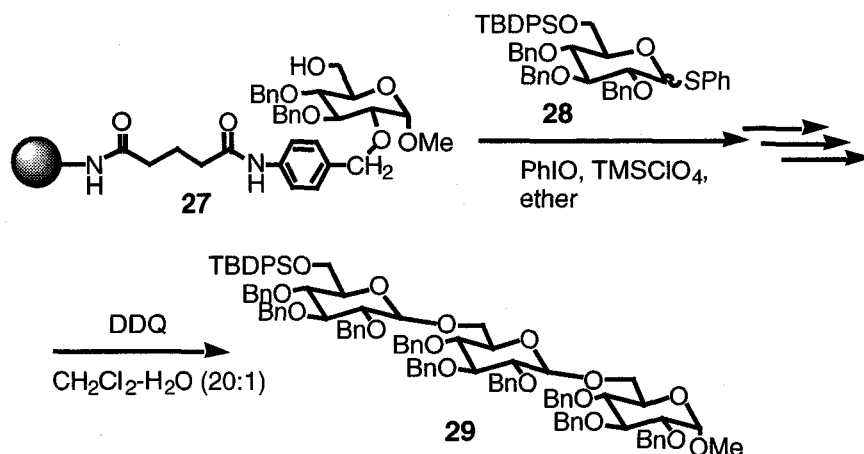
媒で洗浄するだけで樹脂を十分に乾燥できることを示した¹⁹⁾。



Scheme 1-4 Seeberger らの行った糖鎖自動合成

Wong らはポリエチレングリコール – ポリスチレン樹脂 (Tenta-gel) を担体に用いて、シアロリス X 四糖の合成を行ったが、保護基やリンカー部を部分 ^{13}C 標識した糖を原料に用いることによって ^{13}C -NMR による反応のモニタリングを行っている²⁰⁾。他にもいろいろな研究グループにより独自の方法が開発され、近年の多くの総説が報告されるに至っている²¹⁾。

以上に例を示したように糖鎖の固相合成は近年目覚ましい発展を遂げてはいるものの、 α -グルコシド等の立体制御が困難な糖鎖の固相合成はなされていないなど、まだまだ完成には到っているとは言えない。そこで筆者の所属する楠本研究室でも糖鎖の固相合成研究に着手した。糖鎖合成に限らず固相合成の問題点の一つとして、使用できる溶媒が限られるという点がある。例えば通常のポリスチレン樹脂はエーテルに膨潤しないため、エーテルを溶媒に用いることはできない。ArgoPore™ は多孔質ポリスチレンの内部空孔の表面に官能基が導入された担体で、ポリスチレンを膨潤させないエーテルやメタノールでも反応溶媒に用いることができる。中井らは多孔質ポリスチレンを担体として用いることによってエーテルの溶媒効果を利用する α -選択的なグリコシル化を達成した²²⁾ (Scheme 1-5)。



Scheme 1-5 アシルアミノベンジルリンカーを用いた糖鎖固相合成

糖鎖の固相合成を容易にするためには、ペプチド合成における Fmoc 基のように固相合成に適した保護基を開発しなければならないが、このような観点からの研究はあまり行われていない。楠本研究室では数年前から新しいエーテル型の保護基として *p* 位窒素置換ベンジル基について検討を続けており、*p*-ニトロベンジル基、*p*-アシルアミノベンジル基、*p*-アジドベンジル基 (Azb) の利用を提案してきた。*p*-アシルアミノベンジル基は *p*-メトキシベンジル (MPM) 基と同様に DDQ 酸化で切断され、しかも MPM 基よりもはるかに耐酸性に優れているため糖質合成に有用な保護基であり、固相合成にも適用可能である。Azb 基は糖鎖合成に適用するには耐酸性が十分ではなかったその点を改良した 4-アジド-3-クロロベンジル (ClAzb) 基を新たに提案した²³⁾。ClAzb 基は DDQ 酸化に対して安定であるが、 PPh_3 を作用させてイミノホスホラン中間体に変換した後に DDQ 酸化すると、固相上でも速やかにかつ定量的に除去される²⁴⁾ (Fig. 1-2)。

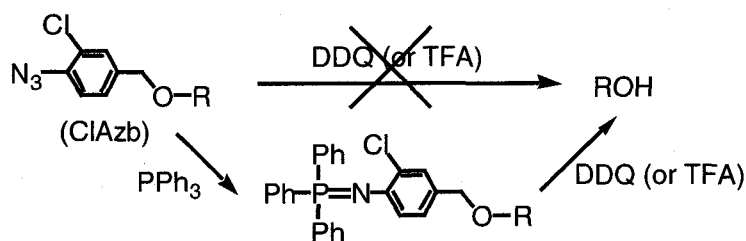


Fig. 1-2 4-アジド-3-クロロベンジル (ClAzb) 基の脱保護

また張らは、固相合成と液相合成の長所を採り入れ、液相で反応を行った後に、目的化合物を特異的に固相に吸着させ、不要の反応剤や副反応生成物を洗い流した後に、目的物

を溶出させるという方法を考案した (SAS = Synthesis based on Affinity Separation)。そしてその特異的な相互作用としてクラウンエーテルによるアンモニウムイオンの認識を選んで、トリペプチド合成、複素環合成に適用した²⁵⁾ (Fig. 1-3)。

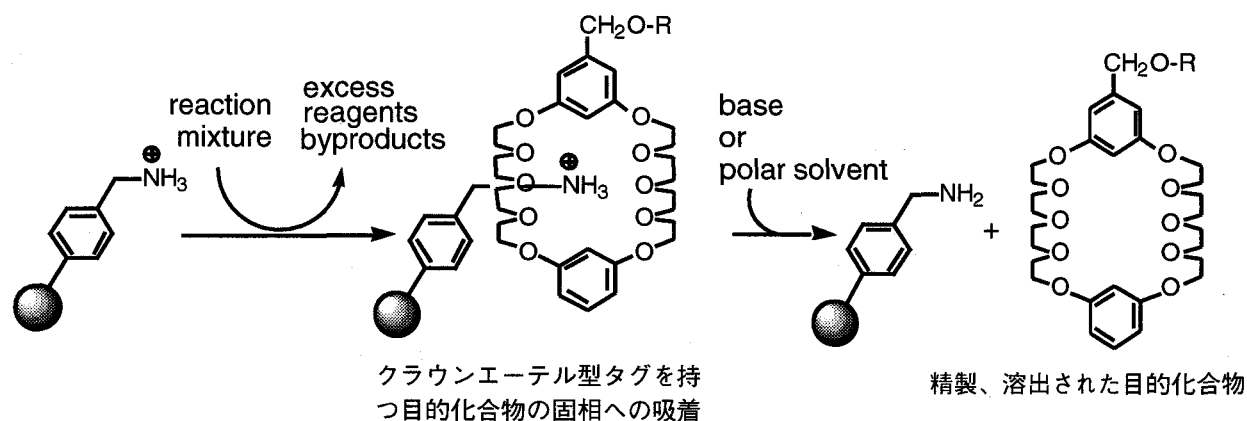


Fig. 1-3 クラウンエーテルとアンモニウムイオンの相互作用を利用した合成中間体の迅速精製法

この方法によると、クラウンエーテルを有する化合物のみを迅速かつ高純度で単離できる。通常のカラム精製と異なって、単離は迅速でかつ回収率は極めてよい。固相合成の問題点の一つとして反応の追跡が困難であることが挙げられるが、この手法では反応を溶液中で行うことができるため、TLC などによる反応の追跡が容易である。また任意の時点で他の様々な手法による精製を併用することも可能である。上記のクラウンエーテルとは別に多点間水素結合相互作用を利用した方法もすでに報告しており、これらの手法が糖鎖合成に適用できることを見出している²⁶⁾。

1-3 本研究の概略

すでに述べたように楠本研究室において、多孔質ポリスチレンを担体として用いる糖鎖固相合成についての基本的な方法論がある程度検討されていた。しかしながら固相上の細孔の表面に存在する官能基の反応性は、官能基が存在する場所によって大きく異なるという問題が認識されていた。

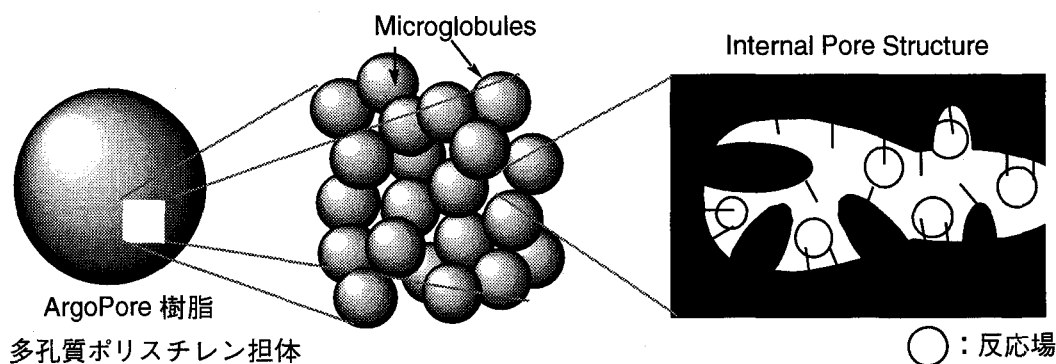
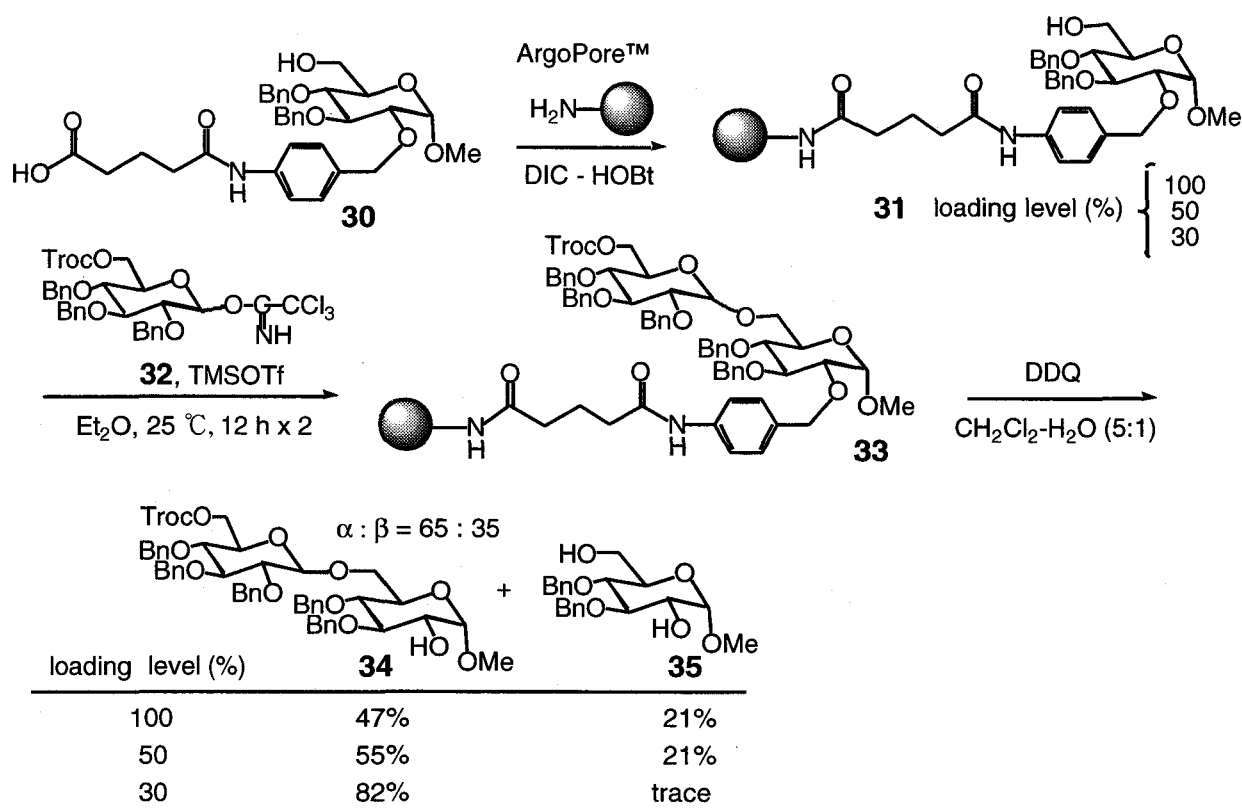


Fig. 1-4 多孔質ポリスチレン担体 Apropore™

反応場の不均一性は多孔質担体だけでなく、通常のポリスチレン樹脂やポリエチレングリコール - ポリスチレン樹脂にも共通する問題であり、分子サイズの大きい反応剤、イオン対を形成する反応中間体、クラスターを形成する反応剤などの場合には、反応性の低い部位（固相担体による立体障害の大きい部位、運動性の低い部位など）で反応を完全に進行させるのは難しい。これらの反応剤の特性はいずれもグリコシル化反応にも共通するものである。すなわち糖鎖固相合成においては、ポリマーの不均一性のためにポリマー担体に結合した糖成分の反応性がばらつくことが大きな問題である。そこで、中井らは糖受容体を固相担体に導入する際に、その糖受容体の導入量を減らすことによって、固相担体上の反応性の高い反応場を選択する方法を検討した。Scheme 1-6 に示す反応では、受容体の導入率が 100%の時のグリコシル化反応の収率が 42%で、未反応の単糖が 21%得られたのに対して、導入率を 30%に抑えると、二糖の収率は 82%に向上し、未反応の単糖が残ることはなかった²⁷⁾。



Scheme 1-6 導入率を低下させることによる糖鎖固相合成の効率化

しかしながら、チオグリコシドを糖供与体に用い、NBS-LiNO₃のように温和な活性化剤を用いてグリコシル化を行うと、グリコシル化は完全には進行せずに未反応の固相上の受容体成分が残存した。中井の用いた方法では固相に導入する際に、糖受容体にあらかじめ結合させておいたカルボキシル基と固相担体上のアミノ基との間でアミド化反応を行うが、アミド化反応は中間にイオン対を形成せず反応性の低い部位においても容易に進行するため、受容体成分の量を制限するだけでは本当に反応性の高い場を選択することが十分にはできていなかったことになる。

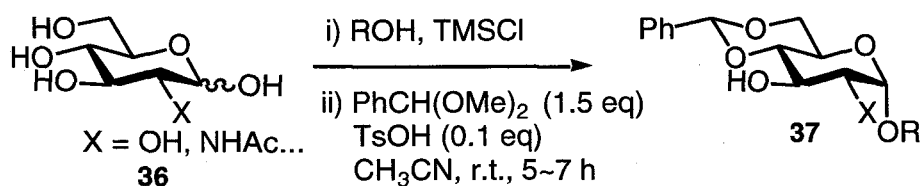
本研究では、より効率的な糖鎖の固相合成を目指し、固相上の反応性の高い場を選択するための新しい方法論について検討することにした。

深瀬らは水酸基ならびにアミノ基の新しい保護基としてプロパルギルオキシカルボニル (Proc) 基を、カルボン酸の保護基としてプロパルギルエステルを報告した²⁸⁾。これらの保護基はトリフルオロ酢酸 (TFA) に対して安定であるが、Co₂(CO)₈と TFA を作用させるとアルキン - コバルト錯体を経て容易に切断される。筆者はプロパルギル基の末端アセチレンと固相上のハロゲン化アリールの間で菌頭カップリング反応を行うことにより、ア

ルキン型リンカーを介して糖を固相に導入できるものと考えた。

菌頭カップリング反応は塩基性条件下で行うため、リンカーとしては Proc 型は適当でないで、プロパルギル基を用いること、その導入位置としてはグリコシド位を選ぶことにした。そのためにはプロパルギルグリコシドが必要となるが、これまでプロパルギルグリコシドが糖鎖合成に用いられた例は多くなかった。そこでまず新しいグリコシドの保護基としてのプロパルギルグリコシドの使用について検討することにした。

それに先立ってプロパルギルグリコシドの効率的な調製法について検討する必要があった。Fischer 法はアルコール還流下に酸を作用させて一段階でグリコシドを形成する古典的方法で、最も簡便なグリコシド結合形成法である。しかしこの方法ではプロパルギルアルコールの重合などのために、収率よくプロパルギルグリコシドを合成することはできない。本研究ではアルコール中でトリメチルシリルクロリド (TMSCl) を酸として作用させることで、室温でもグリコシル化が進行することを見出した (第2章)。N-Troc-グルコサミンおよびグルコースを用い、アルコール中で過剰の TMSCl を室温で作用させたところ、対応するグリコシドが高収率で得られた。この反応では TMSCl は脱水剤としても働いているものと考えられる (Scheme 1-7)。温和なこの方法によるとプロパルギルグリコシドも容易に合成することができた。プロパルギル基は Proc 基と同様に $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキンコバルト錯体を形成させた後に TFA を作用させることで切断された。



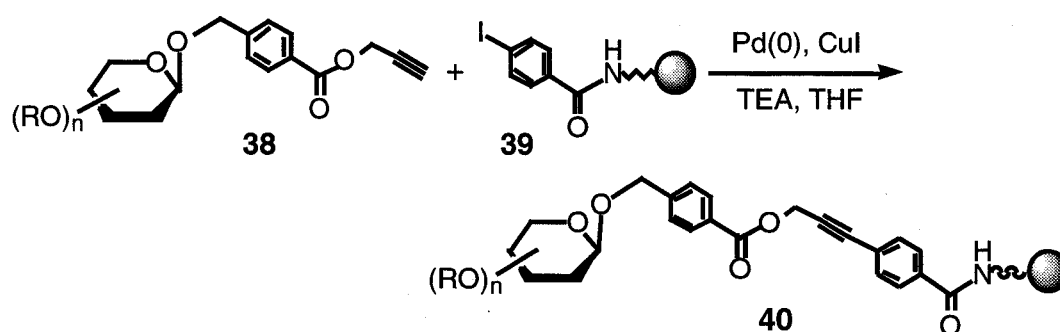
Scheme 1-7 TMSCl を用いた Fischer グリコシド化とそれに続く 4,6 位の保護

得られたプロパルギルグリコシドを用いて、固相上のハロゲン化アリールとの菌頭カップリング反応を行ったところ、固相上の反応性の高い部位にのみカップリング反応が進行することが明らかになった。導入された糖を糖受容体に用いて固相上でグリコシル化反応を行ったところ、定量的にグリコシル化反応が進行した。この結果から菌頭反応によって、固相上での反応性の高い場を選択することができることがわかった (第3章)。

この固相への基質導入法は糖鎖だけでなく全ての化合物の固相合成に応用できる。固相上では一般に液相の反応に比べ反応速度が遅いことが欠点の一つに挙げられるが、この間

題点も本法によって解決できる。なおこのリンカー部も $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン-コバルト錯体に導いた後に TFA を作用させることによって容易に切断された。

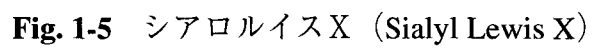
このプロパルギルグリコシド型リンカーを切断した後に得られるのは 1 位が遊離の糖であるために、生成物は α 体と β 体の混合物となる。単純な構造の糖鎖の合成の場合にはこれは問題ではないが、複雑な糖鎖の場合は、アノマーの存在が精製を困難にするおそれがある。そこで筆者は新しいアルキンエステル型のリンカーを考案した (Scheme 1-8)。このリンカーは糖のベンジルグリコシドにエステル結合でプロパルギル基を結合させた構造を有する。この場合も、プロパルギルエステルを有する単糖 **38** と固相担持ヨードベンゼン **39** との菌頭反応によって、固相上の反応性の高い部位にのみ糖を導入することが可能であった。



Scheme 1-8 菌頭反応を用いたアルキン型リンカーの構築

このリンカーは $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン-コバルト錯体を形成させた後に TFA を作用させるか、あるいはアルカリ加水分解によって切断することができる。このリンカーの有用性を調べるために種々の糖供与体を用いて固相上でのグリコシル化を行い、二糖へと導いた。アルカリ条件下で処理して切断したところ、それぞれ目的の二糖が高収率で得られた。同様にして三糖も効率良く合成することができた。続いてこのリンカーを用いた様々な天然糖鎖合成への展開を計画し、複雑な構造を有する糖鎖として、まず白血球表層の糖鎖であるシアロリス X の糖鎖部分の固相合成について検討を行った。

以下にこれらの研究の詳細について述べる。



参考文献

- 1) <http://www.glycoforum.gr.jp> 糖質化合物に関して多くの説明がなされている。
- 2) S.J. Danishefsky, K.F. McClure, J.T. Randolph, and R.B. Ruggeri, *Science*, **260**, 1307 (1993).
- 3) J.T. Randolph, K.F. McClure, and S.J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 5712 (1995).
- 4) J.T. Randolph and S.J. Danishefsky, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **33**, 1470 (1994).
- 5) C. Zheng, P.H. Seeberger, and S.J. Danishefsky, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **37**, 786 (1998).
- 6) J.Y. Roberge, X. Beebe, and S.J. Danishefsky, *Science*, **269**, 202 (1995).
- 7) J.Y. Roberge, X. Beebe, and S.J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 3915 (1998).
- 8) T. Doi, M. Sugiki, H. Yamada, T. Takahashi, and J.A. Porco Jr., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 2141 (1999).
- 9) H. Yamada, The 77th National Meeting of the Chemical Society of Japan. Sapporo, Japan (1999).
- 10) L. Yan, C.M. Taylor, R. Goodnow Jr., and D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 6953 (1994).
- 11) R. Liang, L. Yan, J. Loebach, M. Ge, Y. Uozumi, K. Sekanina, N. Horan, J. Gildersleeve, C. Thompson, A. Smith, K. Biswas, W.C. Still, and D. Kahne, *Science*, **274**, 1520 (1996).
- 12) J. Rademann and R.R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 3989 (1996).
- 13) J. Rademann and R.R. Schmidt, *J. Org. Chem.*, **62**, 3650 (1997).
- 14) J. Rademann, A. Geyer, and R.R. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**, 1241 (1998).
- 15) H. Shimizu, Y. Ito, O. Kanie, and T. Ogawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **6**, 2841 (1996).
- 16) R. Rodebaugh, S. Joshi, B. Fraser-Reid, and H.M. Geysen, *J. Org. Chem.*, **62**, 5660 (1997).
- 17) K.C. Nicolaou, N. Winssinger, J. Pastor, and F. Deroose, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 449 (1997).
- 18) K.C. Nicolaou, N. Watanabe, J. Li, J. Pastor, and N. Winssinger, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**, 1559 (1998).
- 19) O.J. Plante, E.R. Palmacci, and P.H. Seeberger, *Science*, **291**, 1523 (2001).
- 20) T. Kanemitsu, O. Kanie, and C.-H. Wong, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**, 3415 (1998).
- 21) (a) P. H. Seeberger and W.-C. Haase, *Chem. Rev.*, **100**, 4349 (2000). (b) L. G. Melean, W.-C. Haase and P. H. Seeberger, *Tetrahedron Lett.*, **41**, 4329 (2000). (c) Polymer-supported Synthesis of Oligosaccharides, In *Carbohydrate: The Sweet Molecules of Life*, pp185.
- 22) K. Fukase, Y. Nakai, K. Egusa, J.A. Porco Jr., and S. Kusumoto, *Synlett*, **1999**, 1074.
- 23) K. Egusa, K. Fukase, and S. Kusumoto, *Synlett*, **1997**, 675.
- 24) K. Egusa, K. Fukase, Y. Nakai, and S. Kusumoto, *Synlett*, **2000**, 27.

- 25) S.-Q. Zhang, K. Fukase, and S. Kusumoto, *Tetrahedron Lett.*, **40**, 7479 (1999).
- 26) S.-Q. Zhang, K. Fukase, M. Izumi, Y. Fukase, and S. Kusumoto, *Synlett*, **2001**, 590.
- 27) K. Fukase, Y. Nakai, K. Egusa, J.A. Porco, and S. Kusumoto, *Synlett*, **1999**, 1074.
- 28) Y. Fukase, K. Fukase, and S. Kusumoto, *Tetrahedron Lett.*, **40**, 1169 (1999).

第2章 TMSCl を用いた簡便な Fischer グリコシド化とそのプロパルギルグリコシド合成への適用

糖鎖合成ではまずアノマー位をアシル基やトリメチルシリルエチル基などのグリコシドによって保護した後、他の水酸基の保護を行い、続いて他の糖を結合させるのが一般的である。そのためアノマー位を保護するためのグリコシド化は、できるだけ簡便かつ高収率で目的のグリコシドを与えることが望まれる。Fischer 法はアルコール中、酸を作用させて一段階でグリコシドを形成する古典的方法で、グリコシド合成に汎用されてきた^{1,2)}。しかしながら従来の Fischer 法では反応を進行させるために通常加熱を行うが、この加熱によって副反応が起るため、収率が低くなることがある。本研究ではアルコール中でトリメチルシリルクロリド (TMSCl) を酸として作用させる簡便な Fischer グリコシド化法を見出した³⁾。この反応において TMSCl は酸として働くだけでなく、脱水剤としても働いているものと考えられる (Fig. 2-1)。そのためにこの方法では室温でも反応が進行し、加熱による副反応を伴うことなく対応する α -グリコシドが高収率で得られた。以下このグリコシル化法の詳細について述べる。

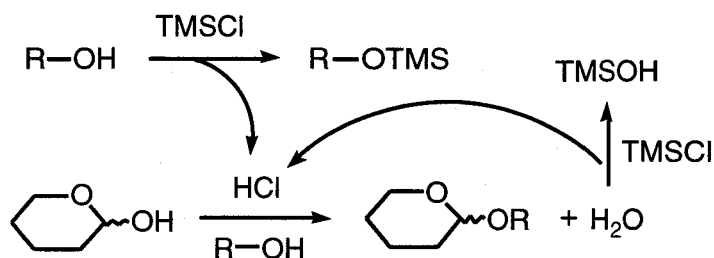
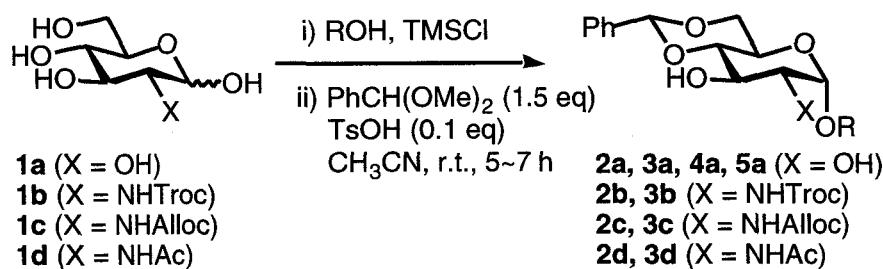


Fig. 2-1 TMSCl を用いた Fischer グリコシド化の推定反応機構

2-1 TMSCl を用いた簡便な Fischer グリコシド化

グリコシル化反応は単糖をアルコールに懸濁させた後、TMSCl を加えて、室温で攪拌することによって行った。反応終了後に反応溶液を減圧濃縮すれば、目的のグリコシドが得られる。ここでは実用性を考慮し、4,6-*O*-ベンジリデン体に通じて結晶化により精製を行い、得られた結晶について収率を求めた。また、アノマー位の α 体と β 体の生成比は NMR によって決定した (Scheme 2-1)。



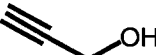
Scheme 2-1 TMSCl を用いた簡便な Fischer グリコシド化

まず、*N*-トリクロロエトキシカルボニル (Troc) グルコサミン (1b) を用いて種々条件を検討した。室温で円滑に反応を進行させるためには TMSCl は 10 当量必要であった。終夜反応させることによってグリコシド化は完結して高収率で対応するグリコシドが得られたが、 α 体と β 体の生成比は約 1 : 1 であった。反応は 2-*N*-Troc 基の隣接基関与によりまず β 体が優先的に生成し、その後 α 体に異性化していく様子が TLC 上で観測された。そこで室温で 72 時間反応させたところアノマー位の平衡化が十分に進行し、ベンジリデン体を結晶として単離することで、 α 体のみを 76% という高収率で得た (Table 2-1, Entry 2)。アリルアルコールを 3 当量、溶媒として THF やジオキサンを用いた時には、グリコシド化は進行しなかった。対照実験として、Dowex 50x2 を酸触媒として用いて、アリルアルコール中加熱還流下に反応を行ったところ、TMSCl を用いた場合に比べて多くの副生成物を与え、ベンジリデン体の単離収率は 60% であった。次にこの方法をグルコース (1a)、*N*-アリルオキシカルボニル (Alloc) グルコサミン (1c)、および *N*-アセチルグルコサミン (1d) に適用したところ、いずれも対応するアリルグリコシドを高収率で与えた。*N*-アセチルグルコサミンについては室温では β 体から α 体への異性化速度が遅く 72 時間後でも α 体と β 体の比率は約 1 : 1 であった (Table 2-1, Entry 1-4)。

混合物を 60 °C に加温すると反応はより速やかに進行し、TMSCl を 5 当量にまで減らす

ことが可能になって、5 時間反応させることで α 体を選択的に得ることができた (Table 2-1、Entry 9-12)。室温ではエピマー化が完全には進行しなかった *N*-アセチルグルコサミンの場合も、60 °C に加温して 5 時間反応させることによって α 体を選択的に得ることができた。

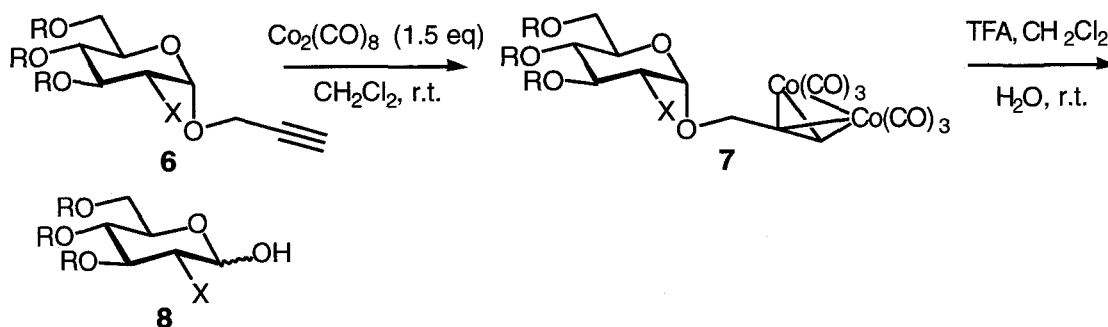
Table 2-1 TMSCl を用いた Fischer グリコシド化

entry	Compound	TMSCl	ROH	Temp.	Time	Product	Yield (%) (α : β) ¹⁾
1	1a					2a	64 (1:0)
2	1b	10 eq		r.t.	3 d	2b	76 (1:0)
3	1c					2c	66 (1:0)
4	1d					2d	66 (1:1)
5	1a					3a	70 (9:1)
6	1b	10 eq		r.t.	3 d	3b	88 (1:0)
7	1c					3c	70 (9:1)
8	1d					3d	84 (5:1)
9	1a					2a	70 (1:0)
10	1b	5 eq		60 °C	5 h	2b	76 (1:0)
11	1c					2c	66 (1:0)
12	1d					2d	65 (1:0)
13	1a	5 eq	MeOH	60 °C	5 h	4a	61 (1:0)
14	1a	5 eq	BnOH	60 °C	5 h	5a	61 (1:0)

1) アノマーの生成比は NMR を用いて決定

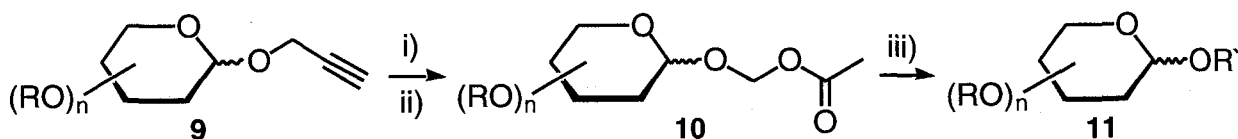
2-2 新しいアノマー位の保護基としてのプロパルギルグリコシド

糖鎖合成ではアノマー位の保護が重要であることは言うまでもないが、選択的除去が可能な実用的な保護基となると、アリル基、トリメチルシリルエチル基、メトキシフェニル基、トリクロロエチル基、ペンテニル基、アルキルまたはアリールチオ基などごく限られており、原料アルコールの価格を考慮すると大量合成に使用が可能なものはさらに少ない。深瀬らは、最近プロパルギルオキシカルボニル基に $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ と TFA を作用させるとアルキン-コバルト錯体を経て、速やかに切断されることを見出した⁴⁾。そこでプロパルギルグリコシドも同様な条件で切断することができるものと考えた (Scheme 2-2)。



Scheme 2-2 プロパルギル基の切断

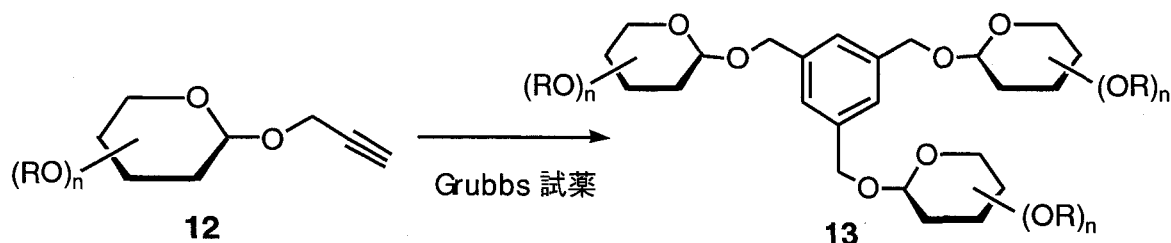
プロパルギルグリコシドが用いられた研究例は意外に少ない。Mereyla らはプロパルギル基をアノマー位の保護基として用いる方法として、プロパルギル基を Lindlar 触媒を用いて還元してアリル基に変換した後、常法に従ってアリル基の切断を行っている⁵⁾。また、オキシマーキュレーション、引き続き Baeyer-Villiger 酸化を行ってアセトキシメチルグリコシドへの変換を行い、グリコシル化反応の活性基として用いる方法を報告している⁶⁾ (Scheme 2-3)。



Scheme 2-3 プロパルギルグリコシドの糖供与体への変換とのグリコシル化反応：

i) $\text{Hg}(\text{OCOCF}_3)_2$, Acetone, ii) *m*-CPBA, CH_2Cl_2 , iii) $\text{R}'\text{OH}$, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, CH_2Cl_2 , MS4 Å.

また Das らは Grubbs 試薬を用い、プロパルギル基の三量化によるベンゼン環形成反応を利用した糖集合体の合成を報告した⁷⁾ (Scheme 2-4)。

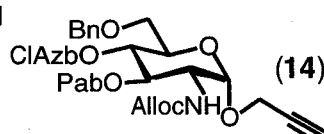
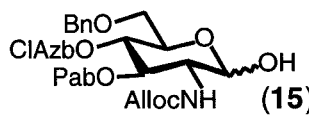
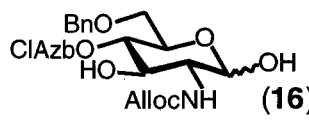


Scheme 2-4 Grubbs 試薬を用いた糖誘導体の三量化

これまでプロパルギルグリコシドは完全アセチル化された単糖にプロパルギルアルコール中で $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を作用させてグリコシル反応を行うことによって調製されてきた。しかし、この方法では隣接基関与のために β 体を得ることは可能であるが、効率良く α 体のプロパルギルグリコシドを得ることはできない。そこで、先に示した TMSCl を用いる方法を検討した。溶媒としてプロパルギルアルコールを用い、酸触媒として Dowex 50x2 などを用いる通常の方法では、加熱によってプロパルギルアルコールの重合などの多くの副反応が起こるため、目的のプロパルギルグリコシドを高収率かつ高純度で得ることはできなかった。しかしながら TMSCl を用いる方法では、室温で反応が進行するために副反応を伴うことなく対応するプロパルギルグリコシドが高収率で得られた (Table 2-1, Entry 5-8)。

プロパルギル基は TFA などの酸性条件や水素化ナトリウムを用いるベンジル化などの条件下では安定であったが、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン - コバルト錯体へと導いた後、50% TFA / CH_2Cl_2 - H_2O (10:1) で処理することによって容易に切断できた (Table 2-2, Entry 3-6)。しかしながら過剰の $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ が反応系中に存在する状態では、アルキン - コバルト錯体の形成は TLC で確認できるものの、TFA を作用させてもプロパルギル基の切断はほとんど進行しなかった。また溶媒に水を加えない場合には切断の再現性は非常に低く、切断されないこともあった。以上の事実から、プロパルギルグリコシドの切断には反応系中から過剰の $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を除くとともに、溶媒に水を加えることが必須であると考えた。

Table 2-2 プロパルギル基の脱保護

entry	Compound	TFA ¹⁾ (%)	H ₂ O ¹⁾ (%)	Time	Product	Yield
1	 (14)	10	10	2 h	 (15)	90%
2		25	10	2 h	 (16)	quant
3	3a	50	5	1 h	1a	quant
4	3b	50	5	1 h	1b	quant
5	3c	50	5	1 h	1c	quant
6	3d	50	5	1 h	1d	quant

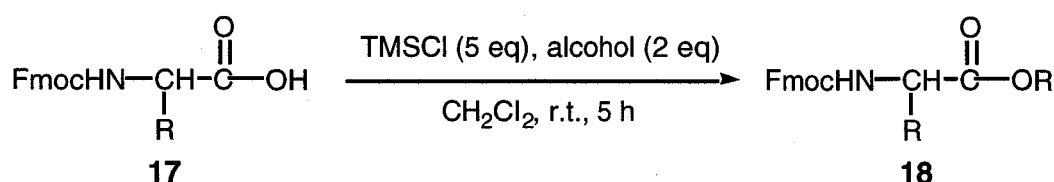
1) 溶媒である CH₂Cl₂ に対する比率

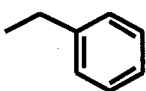
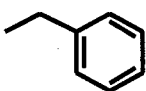
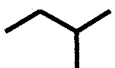
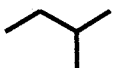
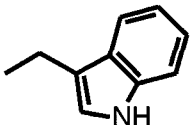
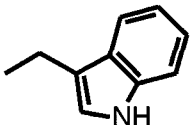
シアロロイス X 合成の鍵中間体となるグルコサミン誘導体の合成に適応したところ、10% TFA / CH₂Cl₂-H₂O (10 : 1) 中で Co₂(CO)₈ を作用させることによって、共存する *p*-ピバロイルアミノベンジル (Pab) 基⁸⁾ および 4-アジド-3-クロロベンジル (ClAzb) 基⁹⁾ を損なうことなく、プロパルギルグリコシドを選択的に切断することができた (Table 2-2、Entry 1)。TFA の濃度を 25% に上げると、Pab 基とプロパルギルグリコシドが共に切断された化合物が定量的に得られた (Table 2-2、Entry 2)。

2-3 TMSCl を酸触媒として用いる種々の反応

TMSCl を酸触媒として用いる他の反応について検討を行った。すでにエステル化反応において、TMSCl を酸として作用させる方法が Brook らによって報告されていた^{10,11)}。この場合も、TMSCl がアルコールあるいはカルボン酸と反応して、塩化水素 (HCl) が生成し、それが酸触媒として働くと考えられる。その際に化学量論量以上に用いた TMSCl が、エステル化によって生成する水の脱水剤としても働き、反応を促進する。Brook らの論文では、室温または加熱条件下で反応を行っており、アルコールを溶媒に用いる場合と THF を溶媒として用いる場合があるなど、最適の反応条件がはっきりと示されていなかった。そこで、より汎用性の高い反応条件を求めるために、Fmoc-アミノ酸を用いて種々検討を行った結果、ジクロロメタンを溶媒として、アルコールを 2 当量、TMSCl を 5 当量用いたときに、エステル化が定量的に進行することを見出した (Table 2-3)。

Table 2-3 TMSCl を酸触媒として用いる Fmoc-アミノ酸のエステル化



entry	17 (R=)	Alcohol	Yield (%)
1		MeOH	quant
2	—H	BnOH	quant ¹⁾
3		MeOH	quant
4		BnOH	quant ¹⁾
5		MeOH	quant
6		BnOH	quant ¹⁾
7		MeOH	quant
8		BnOH	quant ¹⁾

1) シリカゲルカラムを用いて精製

還元的ベンジル化は多くの研究グループによって研究されているが、深瀬らはベンズアルデヒド、TMSOTf、TMS₂O、Et₃SiH を用いる水酸基の一段階の還元的ベンジル化法^{12,13)}

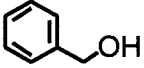
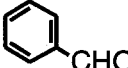
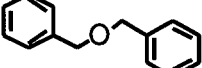
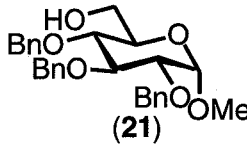
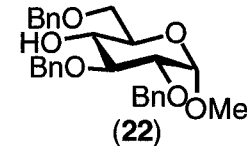
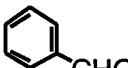
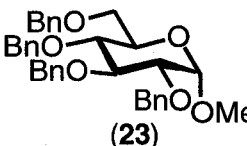
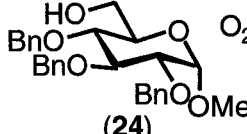
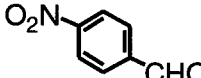
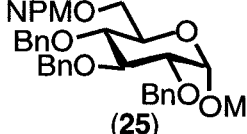
を報告していた。しかしながら、この反応で β -ヒドロキシ脂肪酸エステルのベンジル化は定量的に進行するものの、糖誘導体のベンジル化では、すでに存在する他のベンジル基の還元的切断を伴うため、目的物を高収率で得ることができなかった。そこで、TMSCl を酸として作用させるという、より温和な条件での還元的ベンジル化についても検討を行った。

ベンジルアルコールを基質として用いて検討を行った結果、TMSCl を 10 当量、Et₃SiH を 2 当量用いた時に、高収率で目的のベンジルエーテルが得られた (Table 2-4, Entry 1-3)。この条件をもとにして、種々の糖誘導体に対して還元的ベンジル化を行ったところ、いずれの場合も対応するベンジルエーテルを高収率で得ることができた (Table 2-4)。

4-ニトロベンジル (NPM) 基は水酸基の保護基として有用なものであるが、NaH などの強塩基には不安定であり、臭化 4-ニトロベンジル (NPMBr) と酸化銀、NPMBr と銀トリフラートなどの限られた条件でのみ水酸基への導入が可能であった。西澤らはトリメチルシリルエーテル (ROTMS) に *O*-ニトロベンズアルデヒド、TMSOTf、Et₃SiH を作用させることによって、水酸基の *O*-ニトロベンジル化に成功しているが^{12a)}、この条件ではトリエチルシリルエーテルが脱離すると、生じた水酸基のベンジル化は進行しない。今回見出した上記の反応条件によるとニトロベンジル化はまずまずの収率で進行した。

1-ナフチルアルデヒド、アントラルアルデヒドを用いた還元的アルキル化についても検討したが、これらについては 2 分子のアルデヒドから対称エーテルが生成するのみで、糖水酸基のアルキル化は進行しなかった。一方この方法では、MPM 基や Pab 基など酸性に弱い保護基は、還元的に切断が進行することが観測された。ここでは、これ以上の検討は行っていないが、TMSCl、Et₃SiH は MPM 基や Pab 基の新しい切断法として有望である。

Table 2-4 還元的ベンジル化

$\text{R-OH} \xrightarrow[\text{Et}_3\text{SiH (2 eq), CH}_2\text{Cl}_2]{\text{PhCHO (1 eq), TMSCl}} \text{R-OBn}$					
entry	R-OH	PhCHO	TMSCl	R-OBn	Yield(%)
1			1 eq		8
2			5 eq		83
3	(19)		10 eq	(20)	quant
4			10 eq		81%
5			10 eq		77%
6			10 eq		70%

酸触媒として TMSCl を用いる種々の反応について述べてきた。 TMSCl は酸として働くだけでなく、脱水剤としても働いているため、いずれの反応においても効率良く反応を進行させることができることが確認できた。 TMSCl の利点としては、市販されている試薬の中でも安価であるため、原料合成など大きいスケールでの反応にも非常に都合のよい試薬であり、さらに反応後には減圧濃縮することで容易に除去でき、反応操作を単純化できる点をあげることができる。この TMSCl を用いた簡便な Fischer グリコシド化反応は、従来の方法に比べて非常に簡便な操作によって円滑に進行するものであり、この方法を用いて合成したプロパルギルグリコシドは従来よく用いられているアリル、トリメチルシリルエチルグリコシドなどの代わりとなるもので、このグリコシド化法によって糖鎖合成に有用な新しい手法を一つ見つけ出すことができた。プロパルギル基の実際の糖鎖合成への応用については以下の章で詳しく述べる。

旋光度の測定には、Perkin Elmer model 241 polarimeter を用いた。¹H-NMR スペクトル測定には、JEOL-Lambda-600 NMR spectrometer を用いた。化学シフトは、CDCl₃ の場合テトラメチルシランを基準物質として δ 値で表した。CD₃OD は残存する溶媒のプロトンの化学シフトを基準に δ 値で表した。質量分析は JEOL JMX SX-102 mass spectrometer を用いた。元素分析は本研究科元素分析室に依頼して測定した。中圧カラムシリカゲルクロマトグラフィーは Kieselgel 60 Art. 9385 (Merck) を、薄層シリカゲルクロマトグラフィーは Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) を使用した。反応溶媒として用いた脱水溶媒は、それぞれ関東化学株式会社製のものを購入し使用した。それ以外の試薬および溶媒は、基本的に特級のものを使用した。モレキュラーシーブス 4Å は、減圧下 250 °C で 3 時間加熱乾燥したものを使用した。

TMSCl を用いた Fischer グリコシド化の一般的な実験法 (室温、TMSCl 10 当量の場合)

グルコース **1a** (1.80 g, 10 mmol) をアリルアルコール (29.1 ml, 500 mmol) に懸濁させ、クロロトリメチルシラン (TMSCl) (12.6 ml, 100 mmol) を加えた。室温で 72 時間撹拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。トルエンを加えて共沸留去する操作を 3 回繰り返し、アリアルアルコールを完全に留去した。得られた濃縮残渣をアセトニトリル (25 ml) に懸濁させた。ベンズアルデヒドジメチルアセタール (2.25 ml, 15 mmol) と *p*-トルエンスルホン酸 (0.19 g, 1 mmol) を順次加え室温で 5 時間撹拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (50 ml) を加えると褐色の固体が析出してきた。得られた固体をエーテル、ヘキサンの混合溶液でよく洗浄して、**2a** (1.97 g, 64%) を白色固体として得た。

Allyl 4,6-O-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (2a): ¹H NMR (CDCl₃) δ = 7.48-7.35 (5H, m, PhCH), 5.89 (1H, m, OCH₂-CH=CH₂), 5.54 (1H, s, PhCH), 5.34-5.29 (2H, m, OCH₂-CH=CH₂), 5.05 (1H, d, *J* = 3.0 Hz, H-1), 4.51 (1H, t, *J* = 9.0 Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, *J* = 10.4, 5.2 Hz, H-6a), 4.15-3.92 (2H, m, OCH₂-CH=CH₂), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.62 (1H, d, *J* = 5.2 Hz, H-6b), 3.60-3.59 (2H, m, H-2 and H-4), 2.61 (1H, s, 3-OH).

グルコース (**1a**)、*N*-Troc-グルコサミン (**1b**)、*N*-Alloc-グルコサミン (**1c**) および *N*-Ac-グルコサミン (**1d**) に上記と同様の条件でアリルアルコールまたはプロパルギルアル

コール中 TMSCl を作用させて、以下のグリコシドを得た。

Allyl 4,6-*O*-Benzylidene-2-deoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)- α -D-glucopyranoside (2b): ^1H NMR (CDCl_3) δ = 7.50-7.35 (5H, m, PhCH), 5.90 (1H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 5.56 (1H, s, PhCH), 5.33-5.29 (3H, m, NH and $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 4.93 (1H, d, $J=3.2$ Hz, H-1), 4.82 (1H, d, $J=11.9$ Hz, $\text{CCl}_3\text{CH}_2\text{OCO}$), 4.79 (1H, d, $J=11.9$ Hz, $\text{CCl}_3\text{CH}_2\text{OCO}$), 4.28 (1H, dd, $J=10.1$, 4.8 Hz, H-6a), 4.15 (1H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 4.04-3.92 (3H, m, H-2, H-3 and $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 3.85 (1H, ddd, $J=10.1$, 9.2, 4.8 Hz, H-5), 3.76 (1H, dd, $J=10.1$, 10.1 Hz, H-6b), 3.57 (1H, dd, $J=9.2$, 9.1 Hz, H-4), 2.61 (1H, s, 3-OH).

Allyl 4,6-*O*-Benzylidene-2-deoxy-2-(allyloxycarbonylamino)- α -D-glucopyranoside (2c):

^1H NMR (CDCl_3) δ = 7.49-7.35 (5H, m, PhCH), 5.93-5.83 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2 \times 2$), 5.58 (1H, s, PhCH), 5.34-5.20 (4H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2 \times 2$), 4.93 (1H, d, $J=3.2$ Hz, H-1), 4.84 (1H, s, NH), 4.84-4.62 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 4.27-4.25 (1H, m, H-6a), 4.15 (1H, m, H-5), 3.99 (1H, m, H-4), 3.97-3.76 (2H, m, $\text{C(=O)OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 3.84-3.68 (3H, m, H-2, H-3 and H-6b).

Allyl 4,6-*O*-Benzylidene-2-deoxy-2-acethyl- α -D-glucopyranoside (2d): ^1H NMR (CDCl_3) δ = 7.50-7.35 (5H, m, PhCH), 5.56 (1H, s, PhCH), 5.03 (1H, d, $J=3.9$ Hz, H-1 α), 4.39-4.31 (3H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$, H-6a), 4.27 (1H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 3.92-3.76 (3H, m, H-2, H-3 and H-5), 3.63-2.99 (2H, m, H-4 and H-6b), 2.06 (3H, s, AcNH).

Propargyl 4,6-*O*-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (3a): ^1H NMR (CDCl_3) δ = 7.48-7.35 (5H, m, PhCH), 5.54 (1H, s, PhCH), 5.05 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-1), 4.51 (1H, t, $J=9.0$ Hz, H-3), 4.30 (2H, d, $J=3.0$ Hz, $\text{OCH}_2\text{-CCH}$), 4.26 (1H, dd, $J=10.4$, 5.2 Hz, H-6a), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.62 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-6b), 3.60-3.59 (2H, m, H-2 and H-4), 2.47 (1H, t, $J=3.0$ Hz, $\text{OCH}_2\text{-CCH}$); Found: C, 61.24; H, 5.98%. Calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$: C, 60.95; H, 6.07%.

Propargyl 4,6-*O*-Benzylidene-2-deoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)- α -D-sglucopyranoside (3b): ^1H NMR (CDCl_3) δ = 7.50-7.35 (5H, m, PhCH), 5.56 (1H, s, PhCH), 4.93 (1H, d, $J=3.4$ Hz, H-1), 4.82-4.79 (2H, m, $\text{CCl}_3\text{CH}_2\text{OCO}$), 4.28 (1H, dd, $J=10.1$, 4.8 Hz, H-6a), 4.16 (2H, d, $J=3.0$ Hz, $\text{OCH}_2\text{-CCH}$), 4.04-3.99 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 3.98-3.85 (3H, m, H-2, H-3 and H-5), 3.76 (1H, m, H-6b), 3.57 (1H, m, H-4), 2.43 (1H, t, $J=3.0$ Hz, $\text{OCH}_2\text{-CCH}$);

Found: C, 47.54; H, 4.08; N, 2.95%. Calcd. for $C_{19}H_{20}O_7NCl_3$: C, 47.47; H, 4.19; N, 2.91%.

Propargyl 4,6-*O*-Benzylidene-2-deoxy-2-(allyloxycarbonylamino)- α -D-glucopyranoside (3c):

1H NMR ($CDCl_3$) δ = 7.50-7.34 (5H, m, PhCH), 5.92-5.86 (1H, m, $OCH_2-\underline{CH=CH_2}$), 5.55 (1H, s, PhCH), 5.25-5.06 (2H, m, $OCH_2-\underline{CH=CH_2}$), 4.98 (1H, d, $J=3.7$ Hz, H-1), 4.48 (1H, s, NH), 4.45-4.44 (1H, m, H-2), 4.25 (2H, d, $J=3.0$ Hz, OCH_2-CCH), 3.84-3.81 (2H, m, $OCH_2-\underline{CH=CH_2}$), 3.78-3.68 (4H, m, H-4, H-5 and H-6), 3.52 (t, 1H, $J=10.9$ Hz, H-3), 2.42 (1H, t, $J=3.0$ Hz, OCH_2-CCH); Found: C, 59.45; H, 5.89; N, 3.48%. Calcd. for $C_{20}H_{23}O_7N \cdot 2/3H_2O$: C, 59.84; H, 6.11; N, 3.49%.

Propargyl 4,6-*O*-Benzylidene-2-deoxy-2-acethyl- α -D-glucopyranoside (3d): 1H NMR

($CDCl_3$) δ = 7.50-7.35 (5H, m, PhCH), 5.56 (1H, s, PhCH), 5.03 (1H, d, $J=4.0$ Hz, H-1), 4.39-4.17 (4H, m, OCH_2-CCH , H-4 and H-6a), 3.95-3.73 (3H, m, H-2, H-3 and H-5), 3.63-3.48 (2H, m, H-4 and H-6b), 2.49 (1H, t, $J=3.0$ Hz, OCH_2-CCH), 2.06 (3H, s, AcNH); Found: C, 60.54; H, 6.09; N, 3.87%. Calcd. for $C_{18}H_{21}O_6N \cdot 1/2H_2O$: C, 60.67; H, 6.22; N, 3.93%.

Methyl 4,6-*O*-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (4a): 1H NMR ($CDCl_3$) δ = 7.48-7.35 (5H, m, PhCH), 5.54 (1H, s, PhCH), 4.75 (1H, d, $J=3.6$ Hz, H-1), 4.34 (1H, t, $J=9.1$ Hz, H-5), 4.23 (1H, dd, $J=9.1, 5.2$ Hz, H-3), 3.88-3.86 (1H, m, H-6a), 3.62-3.55 (3H, m, H-2, H-4 and H-6b), 3.30 (3H, s, OCH_3), 2.66 (1H, s, 3-OH).

Benzyl 4,6-*O*-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (5a): 1H NMR ($CDCl_3$) δ = 7.50-7.26 (10H, m, PhCH₂- and PhCH), 5.56 (1H, s, PhCH), 5.01 (1H, d, $J=4.0$ Hz, H-1), 4.46 (2H, d, $J=8.9$ Hz, PhCH₂-), 4.26 (1H, dd, $J=10.4, 5.2$ Hz, H-6a), 4.10-3.86 (2H, m, H-3 and H-5), 3.62 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-6b), 3.60-3.59 (2H, m, H-2 and H-4), 2.67 (1H, s, 3-OH).

TMSCl を用いた Fischer グリコシド化の一般的な実験法 (60 °C、TMSCl 5 当量の場合)

グルコース **1a** (1.80 g, 10 mmol) をアリルアルコール (29.1 ml, 500 mmol) に懸濁させ、TMSCl (6.3 ml, 50 mmol) を加えた。60 °C で 5 時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。トルエン加えて共沸留去する操作を 3 回繰り返して、アリルアルコールを完全に留去した。得られた濃縮残渣をアセトニトリル (25 ml) に懸濁させた。ベンズアルデヒドジメ

チルアセタール (2.25 ml, 15 mmol) と *p*-トルエンスルホン酸 (0.19 g, 1.0 mmol) を順次加え室温で 5 時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (50 ml) を加えて析出した褐色の固体をエーテル、ヘキサンの混合溶液でよく洗浄することによって、**2a** (2.16 g, 70%) を白色固体として得た。

TMSCl を用いたエステル化の一般的な実験法

Fmoc-Gly **17** (297 mg, 1.0 mmol) を CH_2Cl_2 (5.0 ml) に溶解し、MeOH (3.0 mmol) および TMSCl (632 μl , 5.0 mmol) を順次加えた。室温で 3 時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。濃縮残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル、30 g、クロロホルム：メタノール=10：1) で精製してメチルエステル体 **18** (413 mg, quant) を白色固体として得た。

TMSCl を用いた還元的ベンジル化の一般的な実験法

Methyl 2,3,4-*O*-Tribenzyl- α -D-glucopyranoside **21** (232 mg, 0.5 mmol) を CH_2Cl_2 (2.0 ml) に溶解し、ベンズアルデヒド (102 μl , 1.0 mmol)、トリエチルシラン (160 μl , 1.0 mmol) および TMSCl (632 μl , 5.0 mmol) を順次加えた。室温で 3 時間攪拌した後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 50 g、クロロホルム：メタノール=10：1) で精製して **23** (224 mg, 81%) を白色固体として得た。

Allyl 2,3,4,6-*O*-Tetrabenzyl- α -D-glucopyranoside (23**):** $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ = 7.37-7.12 (20H, m, PhCH_2 - x4), 4.62 (1H, d, J =3.6 Hz, H-1), 4.98-4.45 (8H, m, PhCH_2 - x4), 3.97 (1H, dd, J =9.5, 9.2 Hz, H-3), 3.75-3.69 (2H, m, H-6), 3.64-3.60 (2H, m, H-4 and H-5), 3.55 (1H, dd, J =9.5, 3.6 Hz, H-2), 3.37 (3H, s, OCH_3).

参考文献

- 1) E. Fischer, *Chem. Ber.*, 2400 (1893).
- 2) K. Toshima and K. Tatsuta, *Chem. Rev.*, **93**, 1503 (1993), およびその引用文献.
- 3) M. Izumi, K. Fukase, and S. Kusumoto, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, in press.
- 4) Y. Fukase, K. Fukase, and S. Kusumoto, *Tetrahedron Lett.*, **40**, 1169 (1999).
- 5) H. B. Mereyla and S. R. Gurralla, *Carbohydr. Res.*, **307**, 351 (1998).
- 6) H. B. Mereyla and S. R. Gurralla, *Chem. Lett.*, **1998**, 863.
- 7) S. K. Das and R. Roy, *Tetrahedron Lett.*, **40**, 4015 (1999).
- 8) K. Fukase, T. Yoshimura, M. Hashida, and S. Kusumoto, *Tetrahedron Lett.*, **32**, 4019 (1991).
- 9) K. Egusa, K. Fukase, and S. Kusumoto, *Synlett*, **1999**, 675.
- 10) M. A. Brook and T. H. Chan, *Synthesis*, **1983**, 201.
- 11) T. H. Chan and M. A. Brook, T. Chaly, *Synthesis*, **1983**, 203.
- 12) 還元的ベンジル化の文献 : (a) S. Hatakeyama, H. Mori, K. Kitano, H. Yamada, and M. Nishizawa, *Tetrahedron Lett.*, **35**, 4367 (1994), (b) 和田らは BiCl_3 と Et_3SiH を用いた還元的アルキル化について報告している : S. Nagayama, M. Morimoto, H. Hicks, N. Miyoshi, and M. Wada, 7th Asian Chemical Congress, Hiroshima (Japan), May 1996, Abstr. No. E8P20, (c) T. Suzuki, K. Ohashi, and T. Oriyama, *Synthesis*, **1999**, 1561.
- 13) K. Fukase, Y. Fukase, M. Oikawa, W.-C. Liu, Y. Suda, and S. Kusumoto, *Tetrahedron*, **54**, 4019 (1998).

第3章 新しいアルキン型リンカーを利用した糖鎖固相合成：プロパルギルグリコシド型のリンカー

固相合成を行うためには、化合物を固相に結合させるリンカーが必要である。そのため固相合成においてはリンカーの適切な選択が成否の鍵を握っている。固相合成法の確立しているペプチドや核酸においては、完全に脱保護した生成物の HPLC などによる精製が容易であるので、全ての保護基を除去すると同時にリンカー部の切断を行い、無保護の目的化合物を得るのが一般的である。

一方、糖鎖は親水性が高いために、無保護の状態での精製は難しい。そこで糖鎖固相合成の場合は、保護基がまだ結合したままの状態ですべて固相から切り出すのが一般的な手法である。そこで糖鎖固相合成のためには、糖部分を容易に固相に導入でき、さらにはグリコシドならびに半永久的保護基に影響を与えることなく固相から切り出すことができるリンカーが必要とされる。また糖には多数の水酸基が存在するため、糖鎖合成においてはお互いに選択的に保護ならびに脱保護できる多種類の保護基が必要とされるが、リンカー部は多くのこれらの保護基の脱保護条件に安定でなければならない。さらには糖鎖を伸張するためのグリコシル化反応の条件に安定であることも当然要求される。

第1章でも述べたように、国内外を問わず、様々な研究グループによって独自のリンカーが開発されている。筆者の所属する研究室でもリンカーの検討が行われてきた。中井らはアシルアミノベンジル型のリンカーを見出している¹⁾。これはすでに見出していたパラ位置換型フェニルおよびベンジル型保護基²⁾を発展させ、それらの保護基にスペーサーを結合させることによってリンカーとして利用したものである。

これまでにすでに多くのリンカーが見出されてきたが、温和な条件下で選択的に除去できるリンカーの開発は糖鎖合成のみならず一般的な有機化合物の固相合成にとってもいまだ重要な課題である。そこで、本研究では固相合成に適用できる新しいリンカーの開発とそれを利用した糖鎖固相合成について検討を行った。

プロパルギルグリコシドがアノマー位の保護基として有用であることはすでに第2章で述べた。筆者はプロパルギル基が様々な保護基の存在下にも選択的に切断できること、ならびに後に述べるプロパルギル基に特有の反応性に着目し、固相合成のためのリンカーとして利用することを考えた。プロパルギル基には菌頭カップリング反応により固相に結合するための官能基を任意の段階で導入することが可能であるので、この官能基を利用して糖部分を固相に導入できる (Fig. 3-1)。固相からの切り出しはコバルトアルキン錯体に導

いた後、酸で処理することによって行えるものと考えられる。またプロパルギル基を切断する条件では他の半永久的な保護基（ベンジル、ベンゾイル基など）は切断されない。このようにプロパルギルグリコシド型のリンカーは、これを糖鎖固相合成に用いるための条件を十分に満たしているものと考えた。

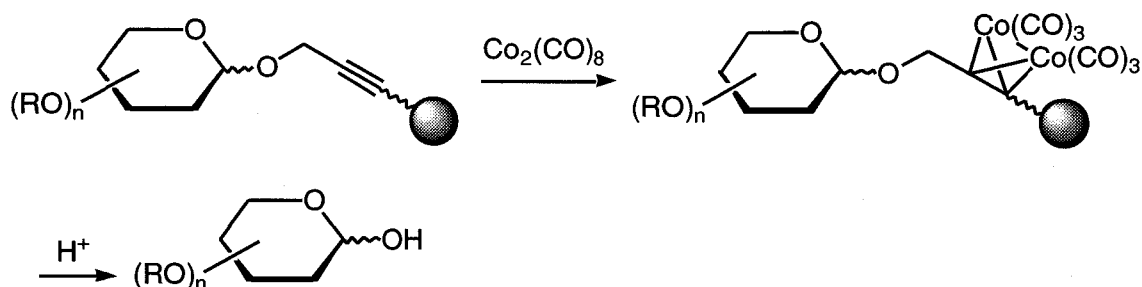


Fig. 3-1 新しいアルキン型リンカー

プロパルギルグリコシドの固相への導入法としては次の2種類が考えられる。第一に、プロパルギルグリコシドにまずヨード安息香酸メチルエステルを菌頭反応によって結合させた後、エステル部分を切断して遊離のカルボキシル基とし、アミド結合形成反応によって糖を固相に導入する方法である (Fig. 3-2, Route 1)。

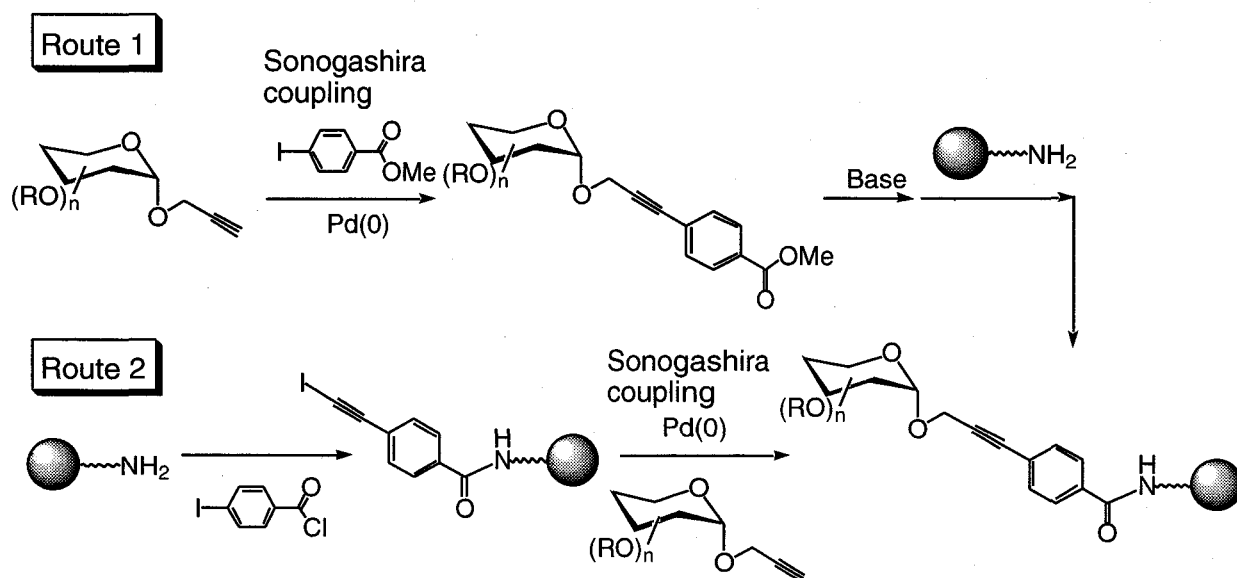
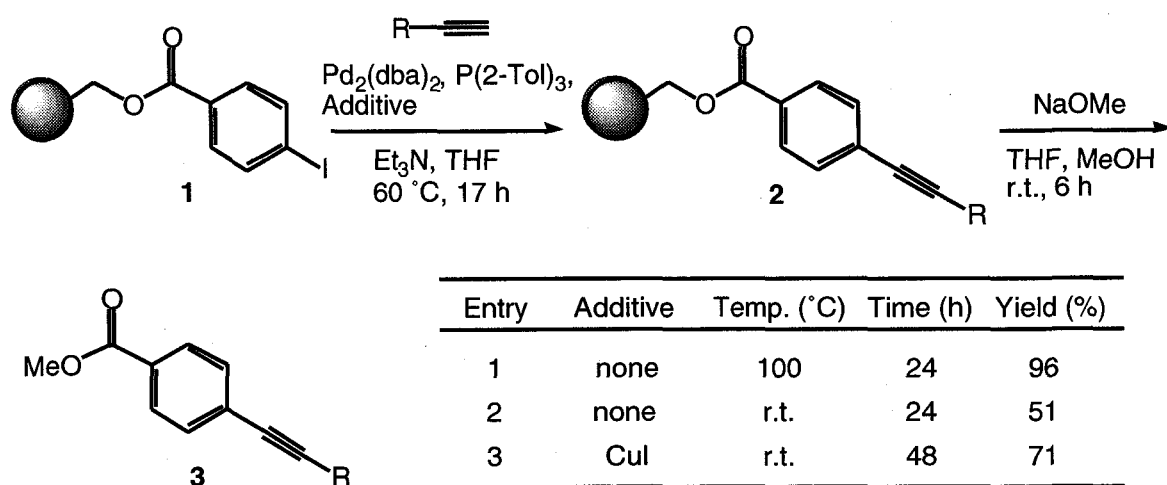


Fig. 3-2 プロパルギルグリコシドの固相への導入法

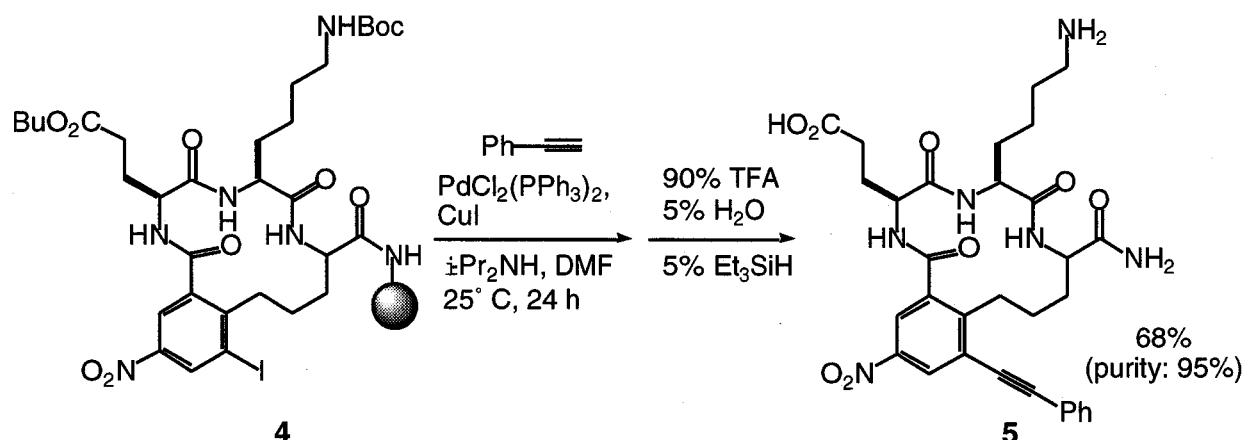
すでに述べたようにアミド結合形成反応を用いて糖を固相に結合させる場合、固相上の反応性の高い部位に選択的に糖を導入することは難しい。実際この方法で導入した糖に対

してグリコシル化を行っても、高収率では目的の糖鎖は得られなかった（3-1-3）。第二の方法においては、あらかじめ4-ヨード安息香酸を固相担体へ導入しておき、その後固相上で菌頭カップリング反応を行って糖受容体を導入する（Fig. 3-2, Route 2）。固相上での菌頭反応は根東らによって報告されており³⁾、後述の SynPhase™ Crown を担体に用いた場合 80~90% 程度の収率で反応が進行する。その時、反応温度を室温にすること、あるいは CuI を試薬として加えると収率が低下することが報告されている（Scheme 3-1）。



Scheme 3-1 根東らによる固相菌頭カップリング反応の検討

固相上の金属錯体触媒を用いたカップリング反応としては、鈴木－宮浦反応⁴⁾、Stille 反応⁵⁾、Heck 反応⁶⁾などが報告されており、いずれも高収率で進行することから、最近のコンビナトリアルケミストリーにおける複素環状化合物のライブラリーの合成に汎用されている。これら 0 価パラジウムを触媒に用いるカップリング反応に比べて、報告を見る限りにおいては上記の菌頭カップリング反応は収率が低い傾向にある⁷⁾。例えば、Burgess らはペプチドミミックの固相合成に菌頭反応を用い、68%の収率で目的化合物を得ているものの、他の報告も含めていずれの場合も収率はそれほど高くない。



Scheme 3-2 Burgess によるペプチドミミックの固相合成

菌頭反応の推定反応機構を Fig. 3-3 に示す⁸⁾。ヨウ化銅 (CuI) を反応系に加えた場合、反応中間体はアルキニル銅錯体を経由するものと考えられる。一般にこのようなイオン性を帯びた反応剤はポリスチレン鎖のような疎水性の高い反応場には浸透しにくいだけでなく、反応剤によってはクラスターを形成するため、立体障害の大きい部位には接近しにくいものと考えられる。そのため、固相の細孔中のような立体的な要因によって反応性の低い部位においては、反応が進行しないために、収率が低くなる傾向にある。しかし本研究での目的は単に反応の収率を向上させるのではなく、むしろこの性質を利用して固相上の反応性の高い場を選択することにある。すなわち筆者は、菌頭カップリング反応は嵩高い反応剤でも近づきやすい部位でのみ起こり、これによって反応性の高い場を選択できるのではないかと考えた。結果としては期待通り菌頭カップリング反応を行ってプロパルギルグリコシドを固相に導入することにより、固相上での反応性の高い場を選択できることを見出した (3-4)。最初の段階で反応性の高い場を選択しておくことにより、その後の段階の固相上でのグリコシル化を定量的に行うことに成功した。このようにして固相上における効率的なグリコシル化反応を達成し、糖鎖固相合成における最も基本的な問題を解決した。以下にその詳細について述べる。

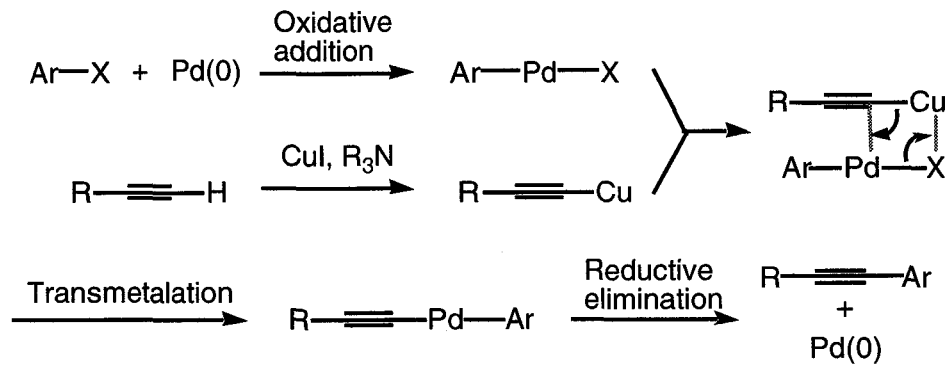
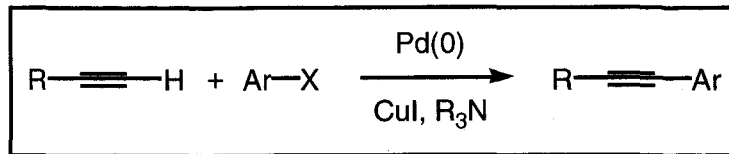
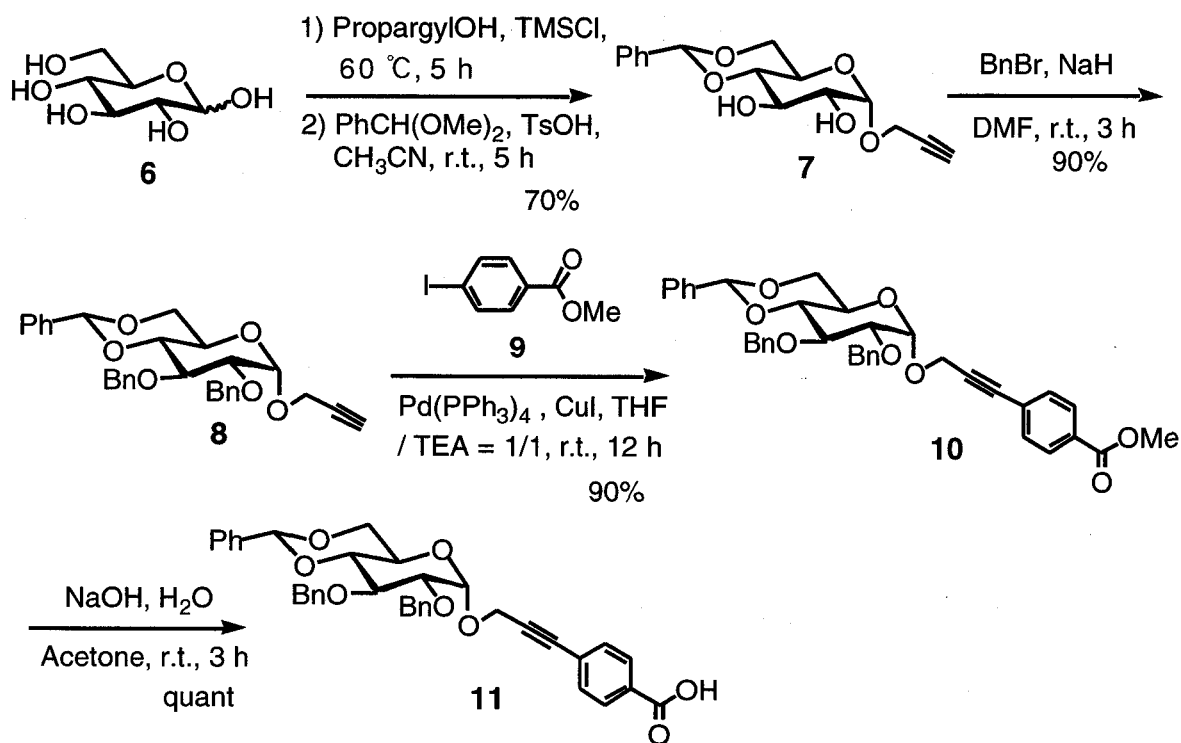


Fig. 3-3 菌頭反応の推定反応機構

3-1 プロパルギルグリコシド型リンカーを用いた糖鎖固相合成 (1)

3-1-1 アミド結合形成反応を用いた糖の固相への導入

リンカー部を有する糖は、以下のようにして合成した。まず第2章で述べた方法によって、グルコース **6** にプロパルギルアルコール、TMSCl を作用させて1位のプロパルギル化を行った後、4,6位のベンジリデン化を行ってベンジリデン体 **7** へと導いた。続いて2位、3位の水酸基のベンジル化を行って **8** へと導いた。つぎに4-ヨード安息香酸メチルエステルとの間で菌頭カップリング反応を行い、リンカー部を有するグリコシド **10** を90%の収率で得た。一般に菌頭反応ではアルキニル基を有する化合物同士が結合する副反応が生じるが、**8** を数回に分けて反応溶液に加えることで、この副反応を防ぐことができた。最後にエステル部分をケン化してカルボキシル基を有するグリコシド **11** を合成した。



Scheme 3-2 リンカー部を有する糖受容体の合成

続いて得られた **11** の固相担体への導入について検討した。ここでは固相担体の樹脂として ArgoPore™-NH₂ (多孔質ポリスチレン担体、アルゴノート社製) および SynPhase™ Lanterns-NH₂ (表面加工ポリスチレン、ミモトープス社製) を用いて検討した。

序論でも述べたように、ArgoPore™ 樹脂は Argonaut (アルゴノート) 社により開発された多孔質ポリスチレン樹脂 (Fig. 1-3 参照) で、メリフィールド樹脂に代表される通常のポリスチレン (ゲル状ポリスチレン) と同様にスチレンとジビニルベンゼンのコポリマーであるが、メリフィールド樹脂がジビニルベンゼン 1~2% であるのに対して約 20% ジビニルベンゼン架橋となっている。

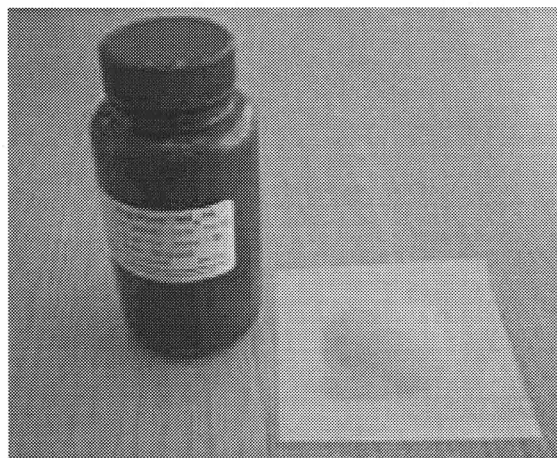


Fig. 3-4 ArgoPore™

そのため、ジクロロメタンにもそれほど膨潤しない。そのかわり、樹脂の表面には平均 90 Å の孔 (乾燥状態) が存在する。この孔の内部には有機溶媒だけでなく、水も容易に浸透する。そのため、原理的には固相反応に使用できる溶媒には制限がない。また通常のポリスチレン樹脂では樹脂中での溶質の拡散速度が反応の律速となるのに対し、ArgoPore™ 樹脂では基質が速やかに反応点に到達できる。このような理由から筆者の所属する研究室でこれまでこの ArgoPore™ 樹脂が主として糖鎖固相合成研究に用いられてきた。固相へのアミノ基の導入率が低く抑えられた ArgoPore™-NH₂-LL (アミノ基の導入量: 0.28 mmol/g、LL は low load の略) ならびに固相へのアミノ基の導入率が高い ArgoPore™-NH₂-HL (アミノ基の導入量: 1.16 mmol/g、HL は high load の略) の両者が市販されている。

SynPhase™ Lanterns は、一般的によく用いられているミモトープ社の担体 SynPhase™ Crown (クラウン) の改良版である。クラウンは Geysen の開発したマルチピン合成の担体として開発された。マルチピン法とは、ビーズの替わりに多数のピン上で固相合成を行うもので、パラレル合成を迅速に行うために開発された。ピンの頭の部分に様々なサイズのクラウンを装着できる。クラウンの構造はポリスチレンのベースポリマーに接ぎ木をす

るような形で官能基を有するポリスチレン鎖が結合しており、この表面加工されたポリスチレン樹脂上で反応を行う。基礎骨格を形成しているポリスチレンを溶媒で膨潤させる必要はなく、表面に接ぎ木されているポリスチレンのみを膨潤させて反応を行えばよく、溶媒の使用量を少なくすることができる。なお表面ポリマーについてはポリスチレンだけでなく様々な材質のものが市販されている。

SynPhase™ Lanterns はクラウンと比較して単位重量あたりの官能基のローディング量が多い。高さ 12.5 mm、直径 5 mm の円筒形の構造をしており、表面積を増すために筒には多数の穴が存在しており、溶媒になじみやすい（表面積 3.6 cm²）。円筒形なのでピンセットで容易につまむことができるため、扱いが簡単で洗浄などの操作が一般的に用いられているビーズ状樹脂に比べ非常に容易である。固相反応においては、反応剤を固相に担持した基質に対して大過剰用いるのが一般的であるが、当量よりもむしろ反応剤の濃度が重要であり、特に SynPhase™ Lanterns においてはできるだけ高濃度で反応を行うことが望ましいとされている。

本研究では、これら二種類の樹脂を用いて、糖鎖固相合成の検討を行った。

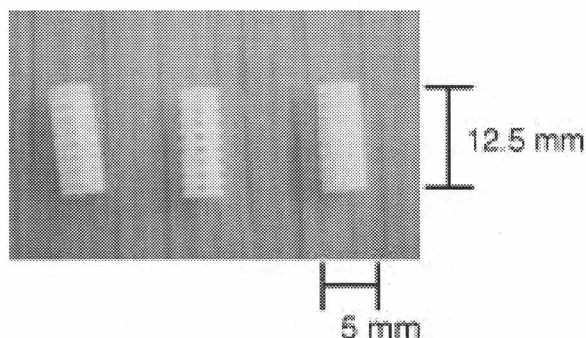
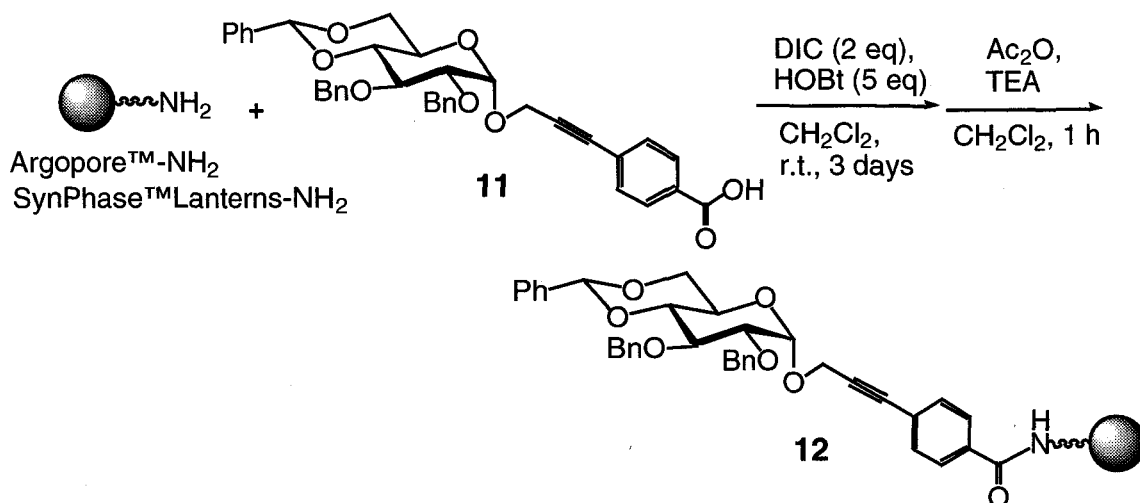


Fig. 3-5 SynPhase™ Lanterns



Scheme 3-3 固相への導入

2 当量の **11** を用い、 CH_2Cl_2 中、DIC、HOBt を作用させて 3 日間、アミド結合形成反応を行って、Argopore™- NH_2 および SynPhase™ Lanterns へ **11** を導入した。極少量の BPB (ブロモフェノールブルー) を共存させると、未反応のアミノ基を有する樹脂は青く染まるので、その染まり具合によってアミノ基のアシル化反応の追跡が可能である。BPB テストの結果は完全にはアミド化が進行しなかったことを示していたので、ペプチドの固相合成に用いられる Gisin 法を用いて、未反応のアミノ基の定量を行うことにした。Gisin 法とは、アミノ基が存在する樹脂にピクリン酸を作用させてピクリン酸塩の形にした後、過剰のピクリン酸を除去する。ついで塩基でピクリン酸を樹脂から遊離させて溶液とし、358 nm で比色定量することによって、アミノ基の定量を行う方法である。その結果を Table 3-1 に示す。アシル化されなかったアミノ基は固相担体自身の立体障害あるいは運動性が抑制されているために他の部位に比べて反応性が低く、糖が導入された部位は未反応の部位よりは反応性が高いものと考えられた。芳香環に直接結合しているカルボキシル基は一般的に反応性が低いために、このような選択が可能になったものと考えられる。続いて未反応のアミノ基をアセチル基でキャッピングした。

Table 3-1 Gisin 法を用いて決定した糖 **11** の固相担体への導入量

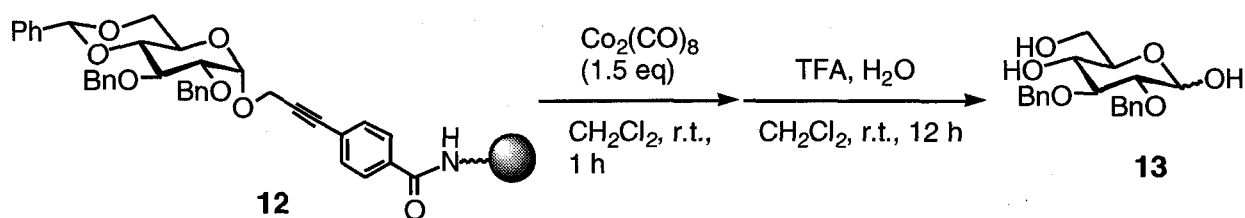
Entry	Resin	Weight	Loading Yield
1	ArgoPore™-NH ₂ -LL (0.28 mmol / g)	100 mg	83%
2	SynPhase™Lanterns-NH ₂ (35 μmol / tube)		70%

Argopore™-NH₂：多孔質ポリスチレンビーズ, SynPhase™Lanterns-
NH₂：表面加工ポリスチレン

ArgoPore™-NH₂-HL を用いた実験も同様に行った。この樹脂では固相へのアミノ基の導入率が高いが、先にも述べたように筆者の所属する研究室における糖鎖固相合成の検討の結果から導入量はあらかじめ低くしておくほうがよいことが解ってきた。そこで、ArgoPore™-NH₂-HL をそのまま用いるのでは導入量が多すぎると考え、糖 **11** の導入量を 0.5 mmol/g（導入率 54%）に制限しておくことにした。

3-1-2 プロパルギルグリコシド型リンカーの切断の検討

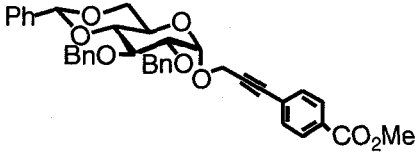
続いてリンカー部の切り出しについての検討を行った。第2章で述べたようにプロパルギルグリコシドを切断する際に過剰の $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ が存在すると、副反応が起こるだけでなく、切断の収率が低下する。固相合成では過剰の反応剤は濾過によって簡単に除去できる。そこでここでは固相合成の利点を活かして、 CH_2Cl_2 中であらかじめ過剰の $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン-コバルト錯体へと変換しておき、ついで樹脂を洗浄して過剰の $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を除去後、10% H_2O 、10% TFA を含む CH_2Cl_2 を作用させるという方法で切断反応を行った。



Scheme 3-4 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を用いた固相担体からの切り出し

この反応条件を用いて、樹脂 **12** から単糖の切り出しを行ったところ、目的とする単糖 **13** を 70~80%の収率で得た。ちなみに先に述べた Gisin 法により導入量（導入率）はすでに見積もっており、**13** の収率はその導入率から換算したものである（Table 3-2、entry 1-3）。同条件下では、液相反応では定量的に目的化合物が得られた（Table 3-2、entry 4）。固相からの切断が定量的に進行しなかった理由としては、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン-コバルト錯体を形成させるとき、立体的に込み入った場所にあるアルキンリンカーには $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ が作用せず、錯体を形成しなかったためであると考えられる。

Table 3-2 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を用いた固相担体からの切り出し

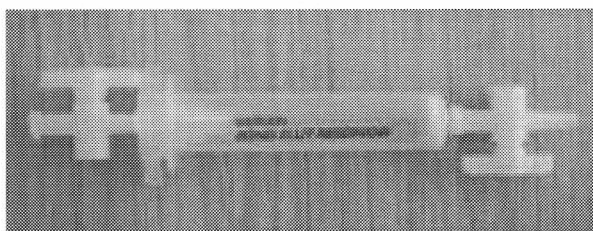
Entry	Resin	Weight	Loading amount	Yield : 13 ¹⁾
1	ArgoPore™-NH ₂ -LL (0.28 mmol / g)	100 mg	23 μmol	75%
2	ArgoPore™-NH ₂ -HL (1.16 mmol / g)	100 mg	50 μmol	70%
3	SynPhase™ Lanterns-NH ₂ (35 μmol / tube)		25 μmol	79%
4				quant.

1) 薄層クロマトグラフィーを用いて単離精製後に定量後に定量

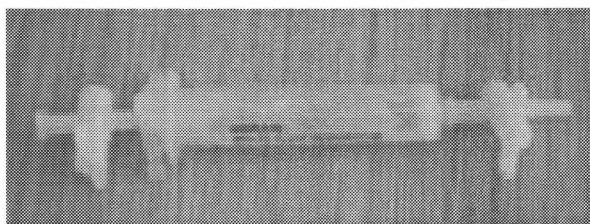
3-1-3 固相グリコシル化反応の検討

続いてアルキンリンカーを糖鎖固相合成に用いることができるかどうかについて調べるために、このリンカーを有する糖成分を結合させた樹脂 **12** を用いて実際に固相上でグリコシル化を行った (Scheme 3-5)。

ここで実際の実験操作について簡単に述べる。固相反応は注射器型の固相用反応容器 (VARIAN 社、ポリプロピレン製注射器型容器、Fig 3-6) を用いて行った。両端をテフロンコックで閉じておくと溶媒や樹脂が外に漏れることはない。また容器の片方にはフィルターがついており、このフィルターを介して濾過することができる。反応剤や溶媒はフィルターのついていない側から加え、反応終了後、フィルターのついている側から溶媒、反応剤および副生成物を取り出すことができる。反応容器にジクロロメタンを加えた後、コックを閉めて震盪することで樹脂を洗浄することができる。続いて洗浄液を濾過で除く。その時、反対側のコックから窒素風船などで圧力をかけるとより効率的である。



コックを開けた状態



コック閉じた状態

Fig. 3-6 VARIAN 社、ポリプロピレン製注射器型容器

11 を導入した樹脂 **12** (100mg, 28.0 μmol) を注射器型の固相用反応容器に取る。樹脂上で **12** の 4,6 位のベンジリデン基を TFA を用いて切断してグリコシル化反応の糖受容体を調製した。グリコシル化はトリクロロアセトイミデート **14** を糖供与体に用い、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル (TMSOTf) を活性化剤に用いて行うことにした。グリコシル化反応は通常は無水条件下で行うため、容器内を窒素に置き換える必

要がある。両方のコックを開けておき、フィルターのない側のコックから窒素を吹き込むことによって、窒素置換することができる。その後、ジクロロメタン、TMSOTf の順に加える。反応装置にもよるが反応溶媒はできるだけ少ない（＝高濃度で反応を行う）ほうが反応効率は良いことが知られている。固相用反応装置（TAITEC ROTATOR RT-50）で3時間振盪してグリコシル化反応を行った。

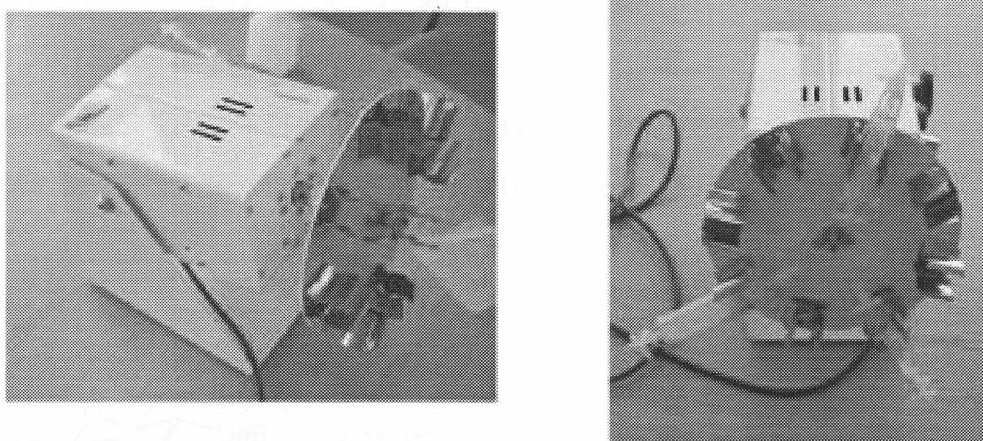


Fig. 3-7 固相用反応装置（TAITEC ROTATOR RT-50）

注射器型の反応容器を図に示しているように設置する（Fig. 3-7 右図）。この装置は回転運動を行うことによって、注射器の内容物を攪拌するものである。反応収量後に反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタンで2回ずつ洗浄して樹脂 **15** を得た。

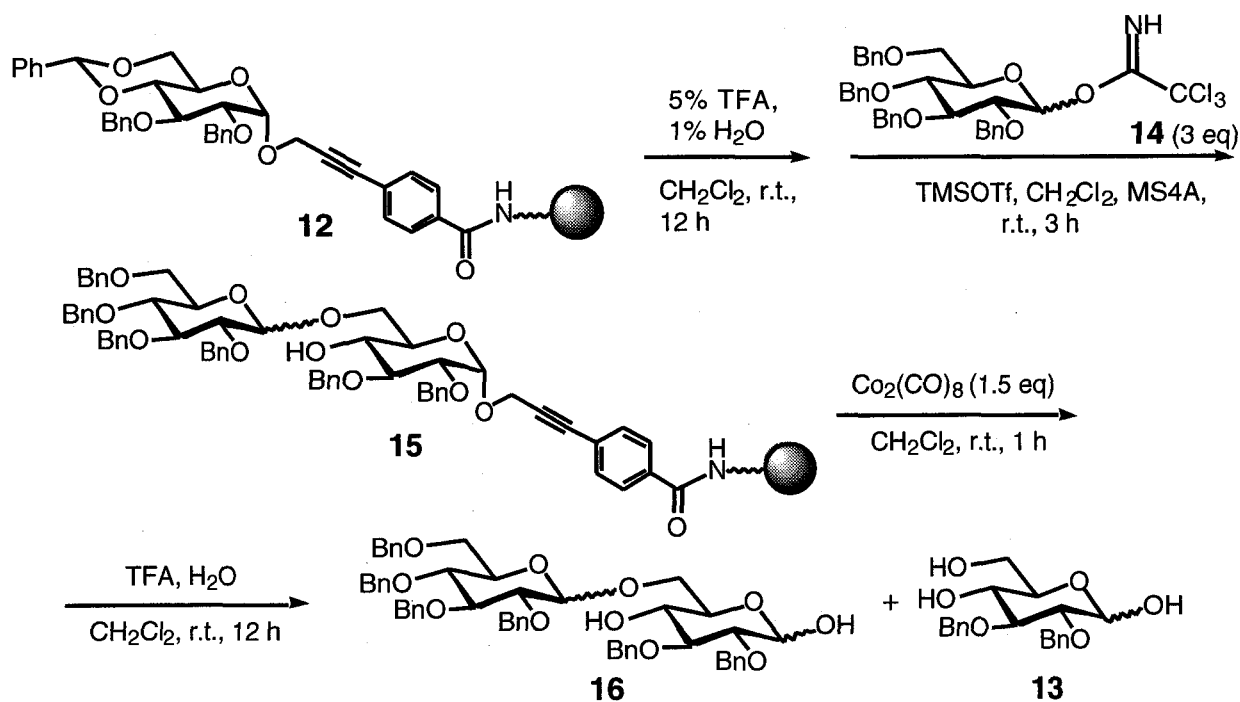
得られた樹脂 **15** に $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン－コバルト錯体へとした後、TFA を作用させて樹脂から二糖 **16** を切断した。その結果を Table 3-3 に示す。グリコシル化には ArgoPoreTM-NH₂-LL については糖受容体の導入量が 0.13 mmol/g のものを、ArgoPoreTM-NH₂-HL については 0.31 mmol/g のものを用いた。いずれも糖の導入率はかなり低く抑えてある。SynPhaseTM Lanterns-NH₂ においても、もともと導入されていたアミノ基に対して 54%の導入率のものを用いた。

ArgoPoreTM を用いた場合は、目的の二糖 **16** の収率は低く、未反応の単糖成分が多く得られた（Table 3-3, entry 1, 2）。この結果は先にも述べたようにアミド結合形成反応を用いて糖受容体を固相に導入したので、糖の導入量をかなり抑制したにもかかわらず反応性の低い部位にも糖が導入され、そのような部位においてはグリコシル化反応が進行しなかったことを示している。ArgoPoreTM-NH₂-LL と ArgoPoreTM-NH₂-HL を比較すると前者を用いた方が二糖 **16** の収率、単糖 **13** に対するの生成比ともにより結果を与えた。このこ

とは、導入率が低く抑えられている ArgoPore™-NH₂-LL においては反応性が高い部位の比率が ArgoPore™-NH₂-HL のそれよりも高いことを示している。以上の結果から少なくともグリコシル化反応に関しては、ArgoPore™ 樹脂上には反応性の高い場は多くはないものと考えられる。

SynPhase™ Lanterns-NH₂ においては二糖の収率はそれ程高くないが、残存した単糖の量はわずかであった (Table 3-3, entry 3)。このことから SynPhase™ Lanterns-NH₂ 上には ArgoPore™-NH₂ よりも反応性の高い部位が多いものと考えられる。

以上のようにアルキンリンカーはグリコシド化の条件に十分安定であり、切断の収率もかなり良好であることから、糖鎖の固相合成に十分使用が可能であることが示された。一方アミド結合形成反応を利用して糖を固相に結合させた場合、導入率をかなり低く制限しても、反応性の低い部位に糖受容体が導入されるのを防ぐことはできないことがわかった。



Scheme 3-5 アルキンリンカーを用いた固相グリコシル化反応

Table 3-3 固相グリコシル化反応の収率

Entry	Resin	Weight	Loading amount ¹⁾	Yield : 16 ²⁾	Yield : 13 ²⁾
1	ArgoPore™-NH ₂ -LL (0.28 mmol / g)	100 mg	13 µmol	29%	44%
2	ArgoPore™-NH ₂ -HL (1.16 mmol / g)	100 mg	31 µmol	14%	30%
3	SynPhase™ Lanterns-NH ₂ (35 µmol / tube)		19 µmol	51%	trace

1) 実際に樹脂 **12** から切り出して得た **13** の収量から換算した導入率

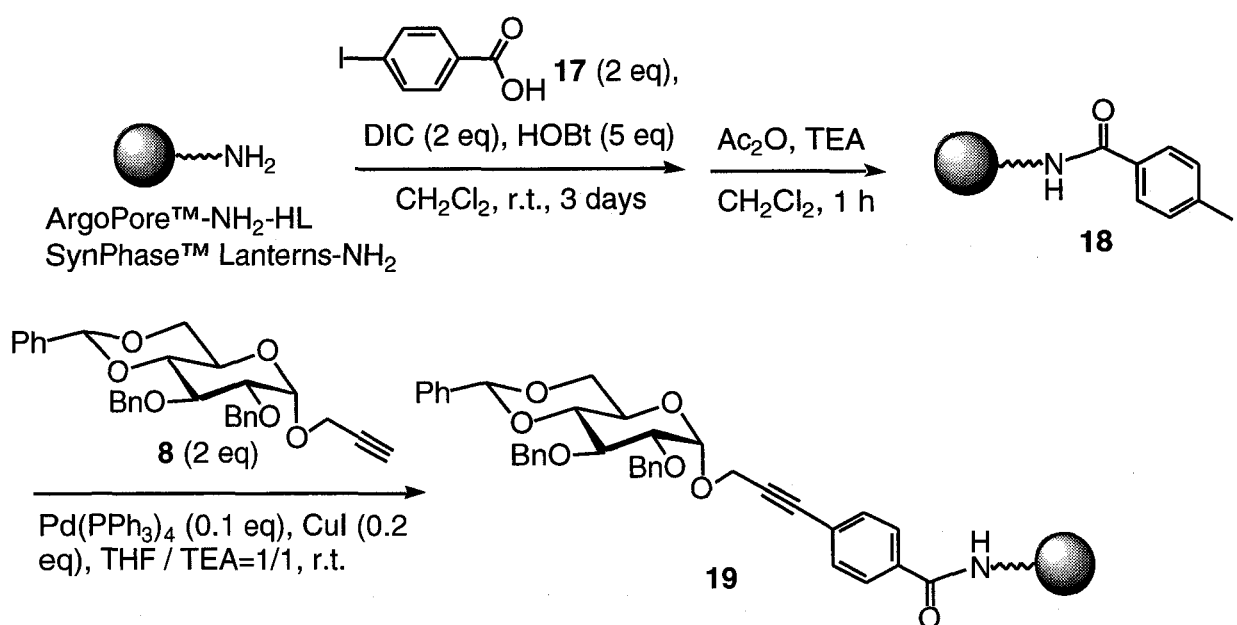
2) 薄層クロマトグラフィーを用いて単離精製後に定量

3-2 プロパルギルグリコシド型リンカーを用いた糖鎖固相合成 (2)

3-2-1 菌頭カップリング反応を用いた糖の固相への導入

続いて、あらかじめ4-ヨウ化安息香酸を固相担体へ導入しておき、その後に固相上で菌頭カップリング反応を行って糖受容体を導入する経路について検討することにした (Scheme 3-6)。すでに述べた考察に基づき、この方法によると固相上での反応性の高い場を選択できるのではないかと期待した。樹脂としては前節と同様に ArgoPore™-NH₂ および SynPhase™ Lanterns-NH₂ を用いることにした。

まず DIC を用いてアミド結合形成反応を行って 4-ヨウ化安息香酸を固相に担持し、ハロゲン化アリール **18** を得た。プロパルギルグリコシド **8** を用いて、固相上のハロゲン化アリール **18** とカップリング反応を行い、リンカーを介して糖成分を結合させた樹脂 **19** を得た (同じ化学構造ではあるが、アミド形成反応によって調製した **12** と区別をつけるために化合物番号は変えておく)。

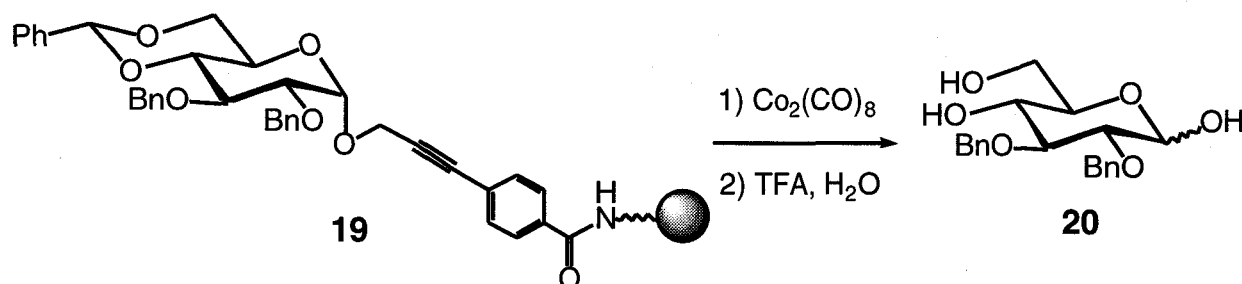


Scheme 3-6 菌頭カップリング反応を用いたアルキンリンカーの構築

続いて得られた **19** を用いて単糖の固相からの切り出しを行い、得られた単糖の量を菌頭カップリング反応の収率 (導入率) として見積もることにした (Scheme 3-4)。その結果、ArgoPore™ を用いた場合では導入率は低く、24 時間、カップリングを行った際の収率はわずか 4% であった。次にカップリング反応を繰り返し行ったところ、導入率は 8%

となった。この結果は予想したように固相上での反応性の高い部位にのみ菌頭反応が進行したことを示している。また ArgoPore™ 樹脂では、樹脂上のアミノ基の内約 10% が反応性の高い部位であるということを示している。SynPhase™ 樹脂を用いた場合は 24 時間の反応で導入後、切り出し反応によって、71% の収率で目的の単糖を得た。リンカー部と糖の結合についても述べたように、固相菌頭カップリング反応でも反応剤の加え方によって収率が大きく影響される。触媒の $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ を反応容器に加える前にプロパルギルグリコシドを系中にいれておくと反応は進行しなかった。これは固相上でカップリング反応が進行するよりも、プロパルギルグリコシド同士の結合が優先的に起こってしまったためであると考えられる。そのため、固相菌頭反応では他の反応剤をまず加え、その後にプロパルギルグリコシドを加えることにした。

Table 3-4 菌頭カップリング反応を用いたアルキンリンカーの切り出し



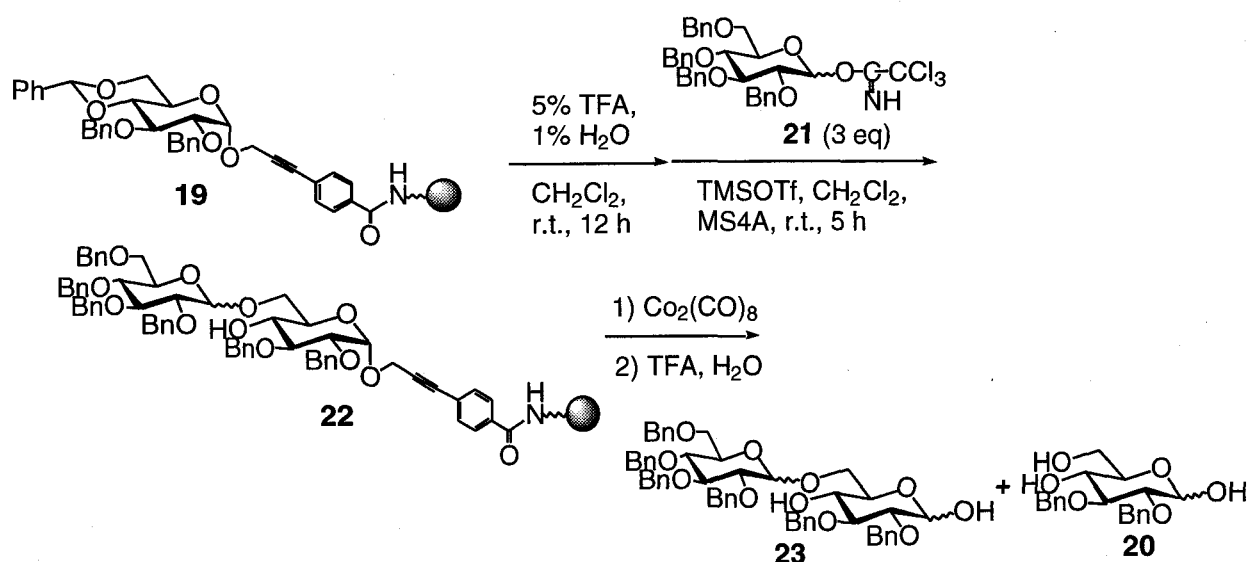
Entry	Resin	Loading	Time(h)	Yield ¹⁾
1	ArgoPore™-NH ₂ -HL	116 μmol	24	4%
2	ArgoPore™-NH ₂ -HL	116 μmol	24*2	8%
3	SynPhase™ Lanterns-NH ₂	35 μmol	24	71%

1) 導入率（収率）は樹脂の官能基の導入量から換算
薄層クロマトグラフィーを用いて単離精製後に定量

3-2-2 固相上でのグリコシル化反応

糖成分を結合させた樹脂 **19** を用いて固相上でグリコシル化反応を行った (Table 3-5)。3-1-3 の場合と同様にして、まず樹脂 **19** の 4,6 位のベンジリデン基を TFA を用いて切断してグリコシル化反応の糖受容体を調製した後、トリクロロアセトイミデート **21** を 3 当量用いて固相上でグリコシル化を行って、二糖成分を結合させた樹脂 **22** を得た。実際の実験操作は、3-1-3 に述べたように注射器型の反応容器および固相用反応装置を用いた。

Table 3-5 菌頭カップリング反応を用いて調製した樹脂を用いた固相グリコシル化



Entry	Resin	Loading ¹⁾	23 : Yield ²⁾	20 : Yield ²⁾
1	ArgoPore™-NH ₂ -HL	8.6 μmol	72%	trace
2	SynPhase™ Lanterns- NH ₂	7.1 μmol	quant	trace

1) 導入率は実際に切り出して得られた単糖の収量から算出した

2) 薄層クロマトグラフィーを用いて単離精製後に定量

樹脂 **22** に $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン - コバルト錯体にした後、TFA、水を作
用させて固相からの切り出しを行った。その結果、SynPhase™ を用いた場合、単糖の切
り出しにより求めた導入率から換算して定量的に目的の二糖 **23** を得ることができた
(Table 3-5)。この結果は固相上でのグリコシル化反応が完全に進行したことを意味して

いる。さらにここで注目すべきことは、樹脂上の反応性の高い場が少ないと考えた ArgoPore™ の場合でも、定量的収率で **23** を得ることはできなかったものの、従来の方法で見られてきた未反応の単糖は見られなかったことである。このことは、菌頭カップリング反応によって、固相上の反応性の高い場を選択することが可能であり、引き続き行うグリコシル化反応も効率的に進行することを意味していると考えている。

3-3 まとめ

これまで固相合成の問題点であった反応性のばらつきに対する解決法として、菌頭カップリング反応を鍵反応とする新しいアルキンリンカーについて述べてきた。従来の方法でグリコシル化反応の段階においてグリコシル化が完全には進行し難いために、未反応の糖受容体が蓄積することが問題であったが、菌頭反応を用いて糖を固相に導入することにより固相上でも高収率でグリコシル化を行えることを示した。

旋光度の測定には、Perkin Elmer model 241 polarimeter を用いた。¹H-NMR スペクトル測定には、JEOL-Lambda-600 NMR spectrometer を用いた。化学シフトは、CDCl₃ の場合はテトラメチルシランを基準物質として δ 値で表した。CD₃OD は残存する溶媒のプロトンの化学シフトを基準に δ 値で表した。質量分析は JEOL JMX SX-102 mass spectrometer と PerSeptive Biosystems, Mariner™ を用いた。元素分析は本研究科元素分析室に依頼して測定した。中圧カラムシリカゲルクロマトグラフィーは Kieselgel 60 Art. 9385 (Merck) を、薄層シリカゲルクロマトグラフィーは Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) を文中に示した溶媒系を用いて使用した。反応溶媒として用いた脱水溶媒は、それぞれ関東化学株式会社製のものを購入し使用した。それ以外の試薬および溶媒は、基本的に特級のものを使用した。モレキュラーシーブス 4Å は、減圧下 250 °C で 3 時間加熱乾燥したものを使用した。特にことわらない限り、反応は窒素雰囲気下で行った。

固相合成には、固相用反応容器として VARIAN 社のポリプロピレン製注射器型容器を、固相用反応装置として TAITEC ROTATOR RT-50 を用いた。また、樹脂は ArgoPore™-NH₂ (多孔質ポリスチレン担体、アルゴノート社製) および SynPhase™ Lanterns-NH₂ (表面加工ポリスチレン、ミモトープス社製) を購入して使用した。

Propargyl 4,6-*O*-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (7)

グルコース **6** (18.0 g, 0.10 mol) をアリルアルコール (291 ml, 5.0 mol) に懸濁させ、クロロトリメチルシラン (126 ml, 1.0 mol) を加えた。室温で 72 時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。トルエンを加えて共沸留去する操作を 3 回繰り返す、アリルアルコールを完全に留去した。得られた濃縮残渣をアセトニトリル (200 ml) に懸濁させた。ベンズアルデヒドジメチルアセタール (22.5 ml, 0.15 mol) と *p*-トルエンスルホン酸 (1.90 g, 0.01 mol) を順次加え室温で 5 時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (300 ml) を加えると褐色の固体が析出してきた。得られた固体をエーテル、ヘキサンの混合溶液でよく洗浄して、**7** (21.5 g, 70%) を白色固体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 329.1 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 7.48-7.35 (5H, m, PhCH), 5.54 (1H, s, PhCH), 5.05 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-1), 4.51 (1H, t, $J=9.0$ Hz, H-3), 4.30 (2H, d, $J=3.0$ Hz, OCH₂-CCH), 4.26 (1H, dd, $J=10.4, 5.2$ Hz, H-6a), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.62 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-6b), 3.60-3.59 (2H, m, H-2 and H-4), 2.47 (1H, t, $J=3.0$ Hz, OCH₂-CCH); Found: C, 61.24; H,

5.98%. Calcd. for $C_{16}H_{18}O_6 \cdot 1/2H_2O$: C, 60.95; H, 6.07%.

Propargyl 2,3-Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene- α -D-glucopyranoside (**8**)

Propargyl 4,6-*O*-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (**7**) (1.53 g, 5.0 mmol) を DMF (20 ml) に溶解して、水素化ナトリウム (1.0 g, 25.0 mmol) と臭化ベンジル (1.78 ml, 15.0 mmol) を加えて、室温で 3 時間攪拌した。飽和クエン酸水溶液と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、クロロホルム) で精製して **8** (2.18 g, 90%) を白色固体として得た。

m.p.: 98 °C; $[\alpha]_D^{22} = +13$ (c 1.10, $CHCl_3$); ESI-Mass (positive) m/z 509.3 $[(M+Na)^+]$; 1H NMR ($CDCl_3$) δ = 7.48-7.24 (15H, m, $\underline{PhCH}$ x 3), 5.54 (1H, s, $\underline{PhCH}$), 5.05 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-1), 4.93-4.73 (4H, m, $\underline{PhCH_2}$ x 2), 4.51 (1H, t, $J=9.0$ Hz, H-3), 4.30 (2H, d, $J=3.0$ Hz, $\underline{OCH_2-CCH}$), 4.26 (1H, dd, $J=10.4, 5.2$ Hz, H-6a), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.75-3.72 (2H, m, H-2 and H-4), 3.62 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-6b), 2.47 (1H, t, $J=3.0$ Hz, $\underline{OCH_2-CCH}$); Found: C, 73.79; H, 6.11%. Calcd. for $C_{30}H_{30}O_6$: C, 74.06; H, 6.21%.

[4-(Methyloxycarbonyl)Benzyl]propargyl 2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (**10**)

4-ヨウ化安息香酸メチルエステル **9** (262 mg, 1.0 mmol) を窒素雰囲気下 THF (2.5 ml)、TEA (2.5 ml) の混合溶液に溶解し、テトラキストリフェニルホスフィンパラジウム ($Pd(PPh_3)_4$) (11.6 mg, 0.01 mmol) およびヨウ化銅 (CuI) (3.80 mg, 0.02 mmol) を順次加えた。しばらく攪拌した後、ベンジリデン体 **8** (487 mg, 1.0 mmol) を数回に分けて加えた。12 時間攪拌した後、0.1N 塩酸水と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣をエーテル、ヘキサンの混合溶液を用いて結晶化を行って淡黄色の固体を得た。ヘキサンで良く洗浄して **10** (224 mg, 90%) を白色固体として得た。

m.p.: 162 °C; $[\alpha]_D^{22} = +37$ (c 1.00, $CHCl_3$); ESI-Mass (positive) m/z 629.3 $[(M+Na)^+]$; 1H NMR ($CDCl_3$) δ = 8.00 (2H, m, $\underline{CC_6H_4CO_2Me}$), 7.50-7.21 (17H, m, $\underline{PhCH}$ x 3 + $\underline{CC_6H_4CO_2Me}$), 5.56 (1H, s, $\underline{PhCH}$), 5.10 (1H, d, $J=3.6$ Hz, H-1), 4.93-4.73 (4H, m, $\underline{PhCH_2}$ x 2), 4.54 (2H, d, $J=3.0$ Hz, $\underline{OCH_2-CCH}$), 4.26 (1H, dd, $J=10.3, 4.9$ Hz, H-6a), 4.09 (1H, t, $J=9.1$ Hz, H-3), 3.95-3.92 (1H, m, H-5), 3.92 (3H, s, $\underline{CC_6H_4CO_2Me}$), 3.71 (1H, d, $J=10.3$ Hz, H-6b), 3.65-3.61 (2H, m, H-2 and H-4);

Found: C, 72.92; H, 5.75%. Calcd. for $C_{38}H_{36}O_8 \cdot 1/2H_2O$: C, 72.48; H, 5.92%.

[4-(Hydroxycarbonyl)Benzyl]propargyl 2,3-di-*O*-benzyl-4,6-*O*-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (11)

カップリング体 **10** (1.48 g, 2.38 mmol) をアセトン (5.0 ml) に溶解し、0.1 N 水酸化ナトリウム水溶液 (5.0 ml) を加えた。3 時間攪拌した後、減圧濃縮した。水を加えた後、0.1N 塩酸水で中和すると固体を得た。固体を冷却したエーテルで洗浄して **11** (1.52 g, quant) を白色固体として得た。

ESI-Mass (negative) m/z 605.2 [(M-H)⁻]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 8.00 (2H, m, $CC_6H_4CO_2H$), 7.50-7.21 (17H, m, $\underline{PhCH} \times 3 + CC_6H_4CO_2H$), 5.56 (1H, s, $\underline{PhCH}$), 5.10 (1H, d, $J=3.6$ Hz, H-1), 4.93-4.73 (4H, m, $\underline{PhCH_2} \times 2$), 4.54 (2H, d, $J=3.0$ Hz, OCH_2-CCH), 4.26 (1H, dd, $J=10.3, 4.9$ Hz, H-6a), 4.09 (1H, t, $J=9.1$ Hz, H-3), 3.95-3.92 (1H, m, H-5), 3.71 (1H, d, $J=10.3$ Hz, H-6b), 3.65-3.61 (2H, m, H-2 and H-4); Found: C, 72.24; H, 5.78%. Calcd. for $C_{37}H_{34}O_8 \cdot 1/2H_2O$: C, 72.18; H, 5.73%.

11 の多孔質ポリスチレン樹脂 ArgoPore™-NH₂ への導入の標準的な操作およびリンカー部分の切断

アミノメチル化多孔質ポリスチレン樹脂 (NH₂-LL: 0.28 mmol/g) (100mg, 28.0 μ mol) を固相用反応容器 (VARIAN 社、ポリプロピレン製注射器型容器、以下、固相用反応容器と略す) にとり、5% DIEA - ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を用いて洗浄した後、ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。カルボキシル体 **11** (38.9 mg, 56.0 μ mol)、HOBt (18.9 mg, 140 μ mol)、DIC (8.8 μ l, 56.0 μ mol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置 (TAITEC ROTATOR RT-50、以下、固相用反応装置と略す) で3日間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で2回ずつ洗浄した。未反応のアミノ基に対し、無水酢酸 (1.0 ml)、TEA (1.0 ml) を加えて振盪した後、反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、MeOH、ジクロロメタン (5.0 ml) で2回ずつ洗浄した。

続いて、樹脂 **12** を固相用反応容器にとりコバルトオクタカルボニル ($Co_2(CO)_8$) (14.4 mg, 42.0 μ mol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置で1時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で2回ずつ洗浄した。ジクロロメタン (4.0 ml)、TFA (0.5 ml)、水 (0.5 ml) を加えて、固相用反応装置で12時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集

めた溶液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて分配し、酢酸エチルに抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝5：1）で精製して **13**（5.1 mg, 51%, 導入力 23 μ mol/g から換算して 75%）を白色固体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 383.1 $[(M+Na)^+]$; 1H NMR ($CDCl_3$) δ = 7.35-7.24 (10H, m, $PhCH$ x 2), 5.24 (1H, d, J =3.63 Hz, H-1), 4.93-4.63 (4H, m, $PhCH_2$ x 2), 4.26 (1H, dd, J =10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.84-3.73 (2H, m, H-6b), 3.71-3.62 (1H, m, H-5), 3.57-3.52 (2H, m, H-2 and H-4), 2.19 (2H, d, J =8.3 Hz, OH x 2).

11 のポリスチレン樹脂 SynPhase™ Lanterns-NH₂ への導入の標準的な操作およびリンカー部分の切断

アミノメチル化ポリスチレン樹脂 (NH₂: 35.0 μ mol) (35.0 μ mol) を固相用反応容器にとり、5% DIEA - ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を用いて洗浄した後、ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。カルボキシル体 **11** (42.5 mg, 70.0 μ mol)、HOBt (23.6 mg, 175 μ mol)、DIC (11.0 μ l, 70.0 μ mol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置で3日間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で2回ずつ洗浄した。未反応のアミノ基に対し、無水酢酸 (1.0 ml)、TEA (1.0 ml) を加えて振盪した後、反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、MeOH、ジクロロメタン (5.0 ml) で2回ずつ洗浄した。

続いて、樹脂 **12** を固相用反応容器にとり Co₂(CO)₈ (18.0 mg, 52.5 μ mol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置で1時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で2回ずつ洗浄した。ジクロロメタン (4.0 ml)、TFA (0.5 ml)、水 (0.5 ml) を加えて、固相用反応装置で12時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて酢酸エチルに抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝5：1）で精製して **13** (6.3 mg, 62%, 導入力 25 μ mol から換算して 79%) を白色固体として得た。

Gisin 法によるアミノ基の定量

樹脂をジクロロメタンで十分洗った後、5% DIEA - ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を用いて洗浄した後、ジクロロメタン (3.0 ml) で十分に洗浄した。0.1 M ピクリン酸-ジク

クロロメタン溶液 (3.0 ml) を加えて 3 分間攪拌した。樹脂をジクロロメタンで良く洗浄して過剰のピクリン酸を除く。次いで樹脂を 5% DIEA-ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) で処理してピクリン酸を溶出させ、さらに樹脂をジクロロメタンで良く洗う。同じ操作をもう一度繰り返す。溶出液と洗浄液を合わせて 95% エタノールで希釈し 350 nm で比色定量する。ピクリン酸塩の分子吸光係数は $\epsilon_{358}=14500$ として計算する。

ArgoPore™-NH₂ 樹脂を用いたグリコシル化反応の標準的な操作

11 を導入した樹脂 (**12**) (100mg, 28.0 μmol) を固相用反応容器にとり、脱水ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。(2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-glucosyl) trichloroacetoimidate (**14**) (38.9 mg, 56.0 μmol)、脱水ジクロロメタン (3.0 ml)、TMSOTf (8.8 μl , 56.0 μmol) の順に加え、固相用反応装置で 3 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄した。続いて、**15** に $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ (14.4 mg, 42.0 μmol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置で 1 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄した。ジクロロメタン (4.0 ml)、TFA (0.5 ml)、水 (0.5 ml) を加えて、固相用反応装置で 12 時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めた溶液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて分配し、酢酸エチルに抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー (クロロホルム：メタノール = 5 : 1) で精製して **16** (5.1 mg, 51%) を無色油状物として得た。

16: ESI-Mass (positive) m/z 905.4 [$(\text{M}+\text{Na})^+$]; ^1H NMR (CDCl_3) δ = 7.34-7.21 (30H, m, PhCH x 6), 5.01 (1/2H, d, $J=3.2$ Hz, H-1 α), 4.93-4.43 (14H, m, PhCH_2 x 6, H-1' α , H-1' β , H-1 β), 3.84-3.73 (4H, m, H-2, H-3, H-3', and H-4'), 3.76-3.62 (4H, m, H-4, H-5, H-2', and H-5'), 3.57-3.37 (4H, m, H-6, and H-6'), 2.50 (2H, s, OH x 2).

SynPhase™ Lanterns-NH₂ 樹脂を用いたグリコシル化反応の標準的な操作

11 を導入した樹脂 (**12**) (35.0 μmol) を固相用反応容器にとり、脱水ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。(2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-glucosyl) trichloroacetoimidate (**14**) (38.9 mg, 56.0 μmol)、脱水ジクロロメタン (3.0 ml)、TMSOTf (8.8 μl , 56.0 μmol) の順に加え、固相用反応装置で 3 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄した。続いて、**15** に $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ (18.0 mg, 52.5 μmol)、ジクロロメタン (3

ml) を加え、固相用反応装置で 1 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄した。ジクロロメタン (4.0 ml)、TFA (0.5 ml)、水 (0.5 ml) を加えて、固相用反応装置で 12 時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めた溶液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて分配し、酢酸エチルに抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー (クロロホルム：メタノール = 5 : 1) で精製して **16** (5.1 mg, 51%) を無色油状物として得た。

17 の多孔質ポリスチレン樹脂 ArgoPore™-NH₂-HL への導入

アミノメチル化多孔質ポリスチレン樹脂 (NH₂-HL: 1.16 mmol/g) (100mg, 116 μmol) を固相用反応容器にとり、5% DIEA - ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を用いて洗浄した後、ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。4-ヨウ化安息香酸 **17** (57.5 mg, 232 μmol)、HOBt (78.4 mg, 580 μmol)、DIC (36.6 μl, 232 μmol)、ジクロロメタン (3 ml) を加え、固相用反応装置で 3 日間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄した。未反応のアミノ基に対し、無水酢酸 (1.0 ml)、TEA (1.0 ml) を加えて振盪した後、反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、MeOH、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄して、**18** を得た。

17 のポリスチレン樹脂 SynPhase™ Lanterns-NH₂ への導入

アミノメチル化ポリスチレン樹脂 (NH₂: 35.0 μmol) (35.0 μmol) を固相用反応容器にとり、5% DIEA - ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を用いて洗浄した後、ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。4-ヨウ化安息香酸 **17** (17.4 mg, 70.0 μmol)、HOBt (23.6 mg, 175 μmol)、DIC (11.0 μl, 70.0 μmol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置で 3 日間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄した。未反応のアミノ基に対し、無水酢酸 (1.0 ml)、TEA (1.0 ml) を加えて振盪した後、反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、MeOH、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄して、**18** を得た。

4-ヨウ化安息香酸を担持した樹脂 **18** を用いた固相菌頭カップリング反応の標準的な操作およびリンカー部分の切断

4-ヨウ化安息香酸を固相に担持した樹脂 **18** (SynPhase™ Lanterns-NH₂: 35.0 μmol/g) (35.0 μmol) を固相用反応容器にとり、THF (3.0 ml) を用いて洗浄した。ヨウ化銅 (2.6 mg, 14.0 μmol)、Pd(PPh₃)₄ (8.1 mg, 7.0 μmol)、THF (2.5 ml) および TEA (2.5 ml) を加えてしばらく振盪した。ついでプロパルギルグリコシド **8** (34.1 mg, 70.0 μmol) を加えて、固相用反応装置で 24 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、MeOH、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄して、糖成分を結合させた樹脂 **19** を得た。

続いて、樹脂 **19** を固相用反応容器にとり Co₂(CO)₈ (18.0 mg, 52.5 μmol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置で 1 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄した。ジクロロメタン (4.0 ml)、TFA (0.5 ml)、水 (0.5 ml) を加えて、固相用反応装置で 12 時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて酢酸エチルに抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー (クロロホルム：メタノール = 5 : 1) で精製して **20** (2.6 mg, 20%) (導入量 7.1 μmol) を白色固体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 383.1 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 7.35-7.24 (10H, m, PhCH x 2), 5.24 (1H, d, J=3.63 Hz, H-1), 4.93-4.63 (4H, m, PhCH₂ x 2), 4.26 (1H, dd, J=10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.84-3.73 (2H, m, H-6b), 3.71-3.62 (1H, m, H-5), 3.57-3.52 (2H, m, H-2 and H-4), 2.19 (2H, d, J=8.3 Hz, OH x 2).

糖成分を結合させた樹脂 **19** を用いた固相グリコシル化反応の標準的な操作およびリンカー部分の切断

糖成分を結合させた樹脂 **19** (SynPhase™ Lanterns-NH₂: 35.0 μmol/g) (35.0 μmol) を固相用反応容器にとり、脱水ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。(2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-glucosyl) trichloroacetoimidate (**21**) (38.9 mg, 56.0 μmol)、脱水ジクロロメタン (3.0 ml)、TMSOTf (8.8 μl, 56.0 μmol) の順に加え、固相用反応装置で 3 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄した。

続いて、**22** に Co₂(CO)₈ (18.0 mg, 52.5 μmol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置で 1 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml)

で2回ずつ洗浄した。ジクロロメタン (4.0 ml)、TFA (0.5 ml)、水 (0.5 ml) を加えて、固相用反応装置で 12 時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めた溶液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて分配し、酢酸エチルに抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー (クロロホルム：メタノール = 5 : 1) で精製して **23** (7.2 mg, 導用量 7.1 μmol から換算して quant) を無色油状物として得た。

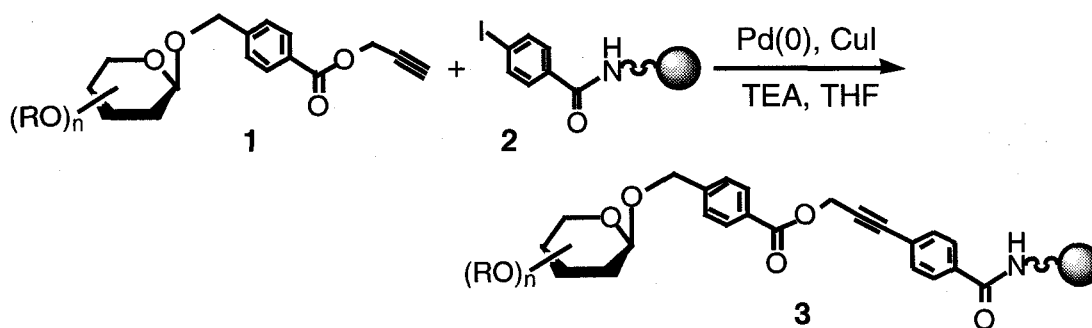
ESI-Mass (positive) m/z 905.4 $[(M+Na)^+]$; ^1H NMR (CDCl_3) δ = 7.34-7.21 (30H, m, PhCH x 6), 5.01 (1/2H, d, $J=3.2$ Hz, H-1 α), 4.93-4.43 (14H, m, PhCH_2 x 6, H-1 α , H-1' β H-1 β), 3.84-3.73 (4H, m, H-2, H-3, H-3', and H-4'), 3.76-3.62 (4H, m, H-4, H-5, H-2', and H-5'), 3.57-3.37 (4H, m, H-6, and H-6'), 2.50 (2H, s, OH x 2).

参考文献

- 1) K. Fukase, Y. Nakai, K. Egusa, J.A. Porco Jr., and S. Kusumoto, *Synlett*, **1999**, 1074.
- 2) K. Fukase, T. Yoshimura, M. Hashida, and S. Kusumoto, *Tetrahedron Lett.*, **32**, 4019 (1991).
- 3) Y. Kondo, T. Imahori, and T. Sakamoto, 第25回反応と合成の進歩シンポジウム, 富山, 2P-18 P-228 (1999).
- 4) (a) C. Pourbaix, F. Carreaux, and B. Carboni, *Org. Lett.*, **3**, 803 (2001), (b) S. Yoo, Y.D. Gong, and M.Y. Choi, *Tetrahedron Lett.*, **41**, 6415 (2000), (c) G. Hum, J. Grzyb, and S.D. Taylor, *J. Comb. Chem.*, **2**, 234 (2000), (d) M. Gravel, C.D. Berube, and D.G. Hall, *J Comb. Chem.*, **2**, 228 (2000), (e) T. Kirschbaum, C.A. Briehn, P. Bauerle, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.*, **18**, 1211 (2000), およびその引用文献.
- 5) (a) W.Y. Yun, S.M. Li, and B.B. Wang, *Tetrahedron Lett.*, **42**, 175 (2001), (b) R.F.W. Jackson, L.J. Oates, and M.H. Block, *Chem. Comm.*, **2000**, 1401, (c) J. Kraxner, M. Arlt, and P. Gmeiner, *Synlett*, **2000**, 125, およびその引用文献.
- 6) (a) F. SanchezSancho, E. Mann, and B. Herradon, *Advanced Synthesis & Catalysis*, **343**, 360 (2001), (b) C.A. Parrish and S.L. Buchwald, *J. Org. Chem.*, **66**, 3820 (2001), (c) D. Villemin and F. Caillot, *Tetrahedron Lett.*, **42**, 639 (2001), およびその引用文献.
- 7) (a) C. Park and K. Burgess, *J. Comb. Chem.*, **3**, 257 (2001), (b) U. Grether and H. Waldmann, *Chemistry (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, **7**, 959 (2001), (c) A.B. Dyatkin and R.A. Rivero, *Tetrahedron Lett.*, **39**, 3647 (1998), (d) K.-L. Yu, M.S. Deshpande, D.M. Vyas, *Tetrahedron Lett.*, **35**, 8919 (1994).
- 8) K. Sonogashira, Y. Tohda, and N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.*, **50**, 4467 (1975).

第4章 新しいアルキンエステル型リンカーと天然糖鎖の固相合成への適用

第3章では、プロパルギルグリコシドを用いて菌頭カップリング反応を行うことにより新しいアルキン型リンカーを構築できること、このアルキン型リンカーが糖鎖固相合成に使用できることを示した。さらに固相上で菌頭カップリング反応を行うことにより固相担体上の反応性の高い場を選択できること、これによってその後の固相上でのグリコシル化が定量的に進行することを見出した。しかしながら、リンカーをグリコシド位に直接結合させておくと、糖鎖を固相から切り出した生成物は1位が遊離の糖であり、それゆえアノマーの混合物が得られる。簡単な構造の糖鎖の合成には支障はないが、複雑な糖鎖の合成においては生成物の分離、精製ならびに構造解析が難しくなるおそれがある。そこで筆者はこの問題を解決するために新しいアルキンエステル型のリンカーを設計した (Scheme 4-1)。このリンカーはプロパルギルエステルと糖の間にスペーサーとしてベンジルグリコシドを挿入したものである。この場合においてもプロパルギルエステルを有する単糖 **1** と固相担持ヨウ化ベンゼン **2** との菌頭反応により、固相担体の反応性の高い部位に糖を導入することができるものと期待される。



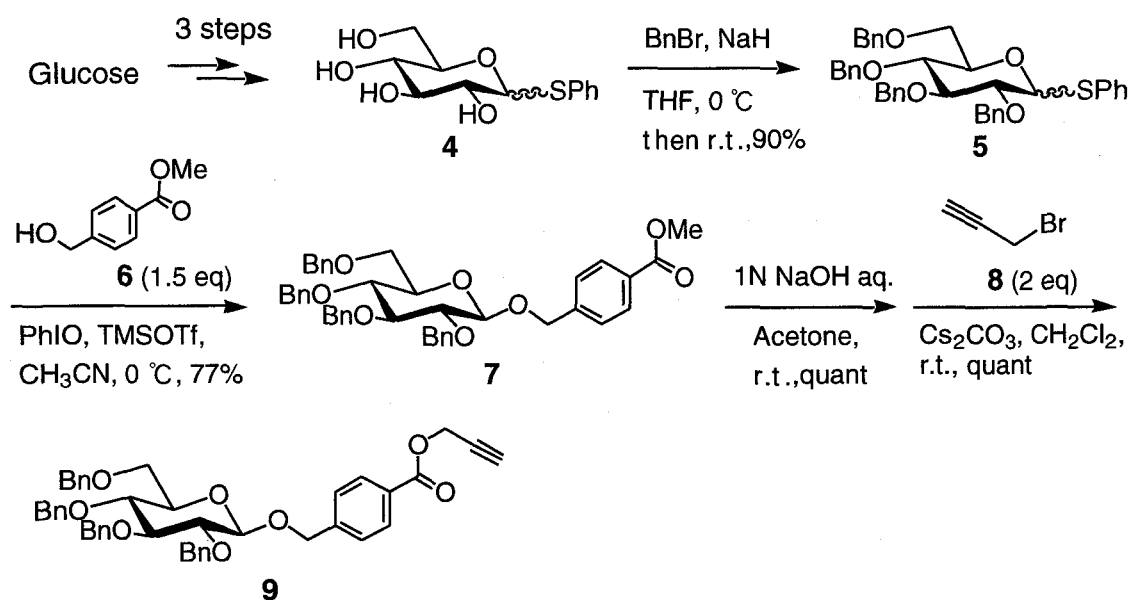
Scheme 4-1 菌頭反応を用いたアルキン型リンカーの構築

このリンカーは $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン - コバルト錯体を形成させた後に TFA を作用させるか、あるいはアルカリ加水分解によって切断することができた。固相にこのリンカーで結合させた受容体単糖に種々の糖供与体を用いてグリコシル化を行い、二糖へと導いた。アルカリ条件下で処理してリンカーを切断すると、目的の二糖が高収率で得られた。同様にして三糖も効率よく合成することができた。この結果に基づいてこのリンカーを用いた様々な天然糖鎖合成への展開を計画し、複雑な構造を有する糖鎖として、まず白血球表層の糖鎖であるシアロロイス X の糖鎖部分の固相合成について様々な検討

を行った。以下にその詳細について述べる。

4-1 アルキンエステルリンカー部を有する糖の合成

アルキンリンカーを発展させたアルキンエステルリンカーはプロパルギルエステルと糖成分の間にスペーサーとしてベンジルグリコシドを挿入してある。このようにしておけば、固相から切り出しを行ったときも、1位アノマーの混合物の存在が得られた糖鎖の精製に支障を来すことはない。固相への導入に用いたプロパルギルエステルを有する糖の合成を以下に示す。

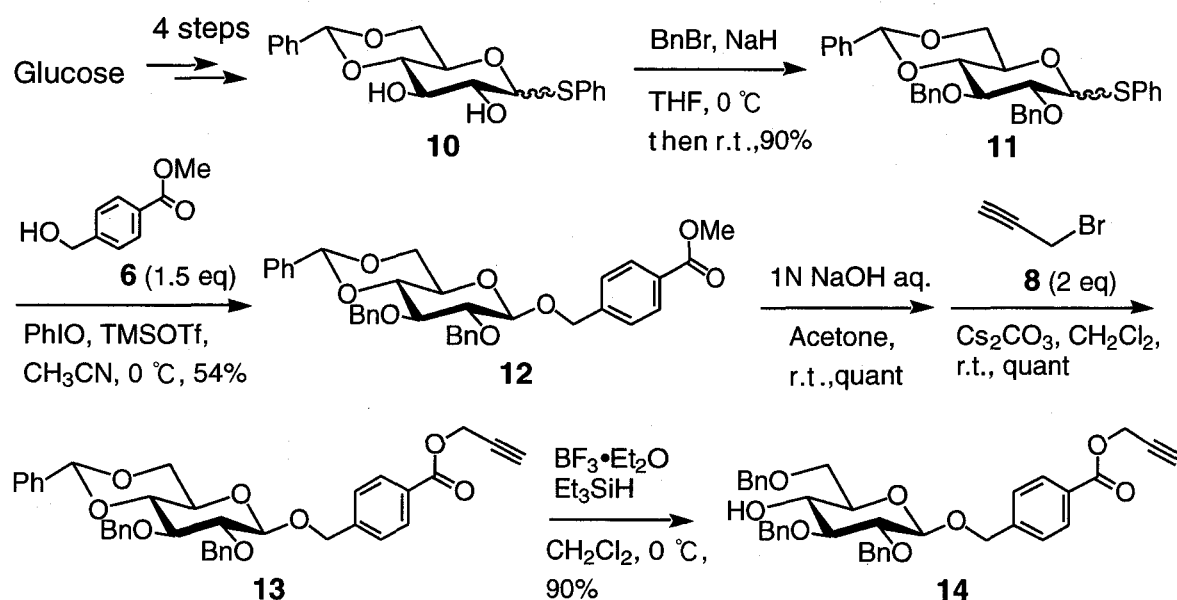


Scheme 4-2 プロパルギルエステルを有する糖の合成 (1)

グルコースから三段階で調製される **4** を出発化合物に用い、 THF 中、臭化ベンジル (BnBr)、水素化ナトリウム (NaH) を作用させてベンジル化を行って **5** を得た。 **5** とベンジルアルコール体 **6** との間でグリコシル化反応を行って **7** を得た。チオグリコシドを用いるグリコシル化反応においてはヨードソベンゼン (PhIO) とルイス酸の組み合わせや N -ブロモコハク酸イミド (NBS) を活性化剤として用いる^{1,2)} が、プロパルギル基はこれらの活性化剤で酸化されてしまうためプロパルギルエステルを糖受容体に用いることはできなかった。 **7** のメチルエステルをケン化してカルボキシル基へとした後、炭酸セシウム (Cs_2CO_3) 存在下、臭化プロパルギル **8** を作用させてプロパルギルエステル体 **9** を得た (Scheme 4-2)。

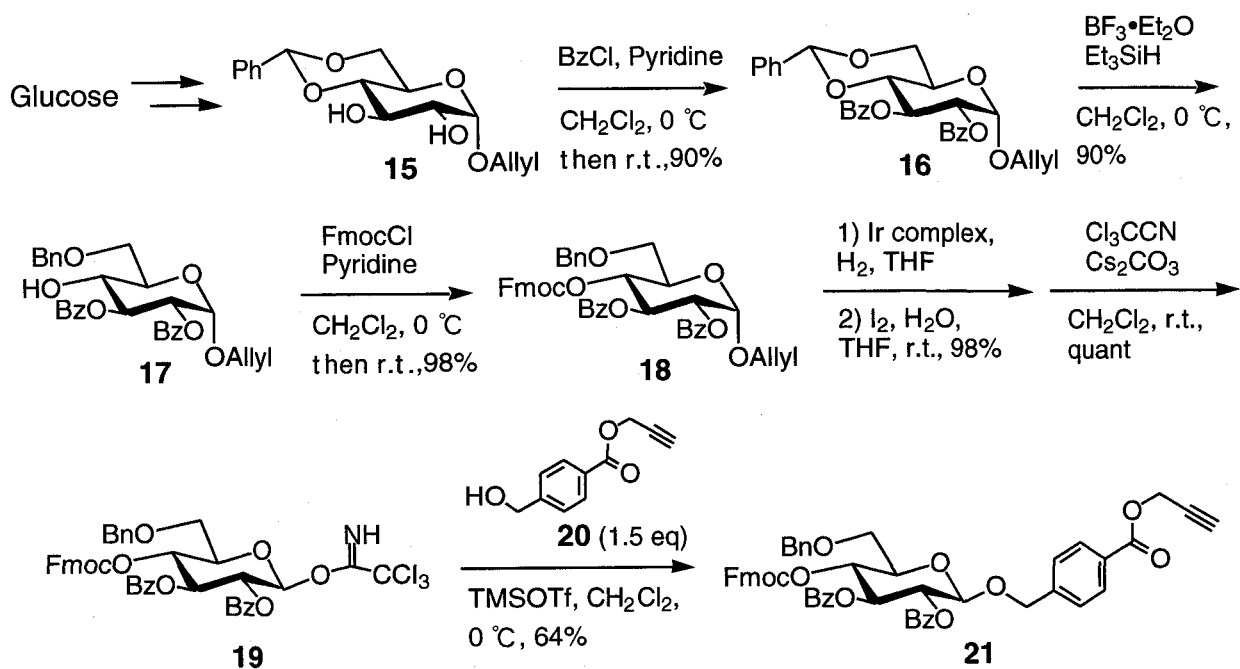
グルコースから四段階で調製される **10** を出発化合物に用い、 THF 中、 BnBr 、 NaH を作用させてベンジル化を行って **11** を得た。ベンジルアルコール体 **6** との間でグリコ

シル化反応を行って **12** を得た。**12** のメチルエステルをケン化してカルボキシル基へとした後、炭酸セシウム (Cs_2CO_3) 存在下、臭化プロパルギル **8** を作用させてプロパルギルエステル体 **13** を得た。最後にトリエチルシラン (Et_3SiH)、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) を用いて4,6位のベンジリデン基の選択的開環反応を行って **14** を得た (Scheme 4-3)。



Scheme 4-3 プロパルギルエステルを有する糖の合成 (2)

また、第2章で述べた方法を用いて合成したベンジリデン体 **15** にジクロロメタン中、塩化ベンゾイル (BzCl) を作用させて2,3位のベンゾイル (Bz) 化を行って **16** を得た。 Et_3SiH 、 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を用いて4,6位のベンジリデン基の選択的開環反応を行って **17** へと導いた²⁾。つぎにジクロロメタン中、クロロギ酸 9-フルオレニルメチル (FmocCl) を作用させて4位の Fmoc 化を行って **18** を得た。常法に従い、1位のアリル基を脱保護した後、トリクロロアセトニトリルを作用させてトリクロロアセトイミデート体 **19** を得た。プロパルギルエステルを有するベンジルアルコール **20** との間でグリコシル化を行って、リンカー部を有するグリコシド **21** を64%の収率で得た (Scheme 4-4)。



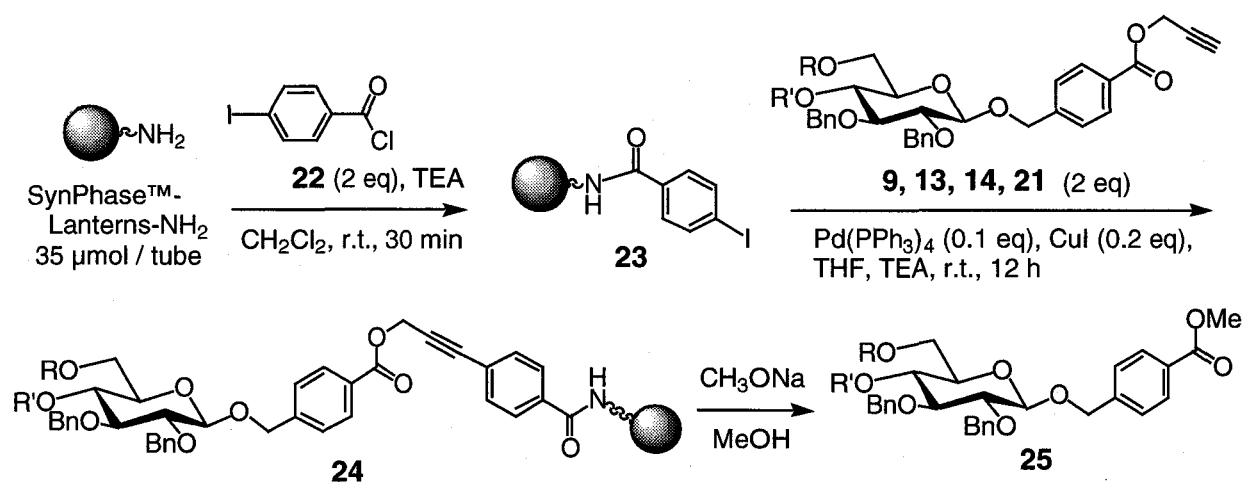
Scheme 4-4 プロパルギルエステルを有する糖の合成 (3)

以上、合成した四種類のプロパルギルエステルを有する糖 (**9**, **13**, **14**, **21**) を用いて固相菌頭カップリング反応について検討した。

4-2 固相担体上での菌頭カップリング反応

本章では SynPhase™ Lanterns-NH₂ を用いて、得られたプロパルギルエステルを有する糖 (9, 13, 14, 21) の固相への導入およびリンカー部の切断を試みた。

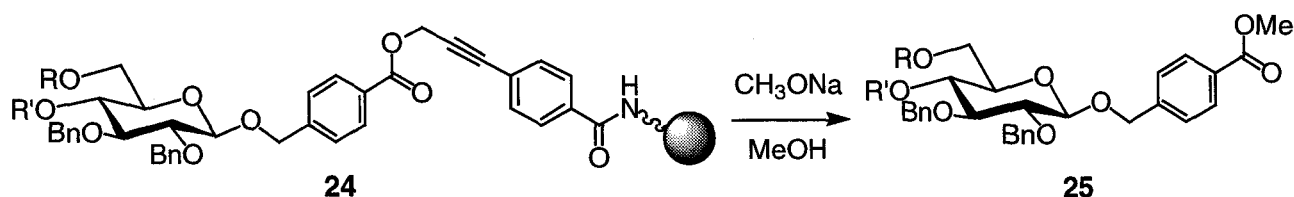
4-ヨード安息香酸をあらかじめ塩化オキザリル ((COCl)₂) を用いて酸塩化物 **22** にしておくことで、より効率的にアミド結合形成反応を行って、ハロベンゼンを有する樹脂 **23** を得た。上記のプロパルギルエステルを有する糖を用いて、固相上のハロゲン化アリール **23** との間で菌頭カップリング反応を行い、リンカーを介して糖成分を結合させた樹脂 **24** を得た (Scheme 4-5)。



Scheme 4-5 菌頭カップリング反応を用いたアルキンリンカーの構築

得られた **24** を用い、メタノール中で CH₃ONa を作用させて固相からの切り出しを行い、その時に得た単糖 **25** の量を菌頭カップリング反応の収率 (導入率) とすることにした (Table 4-1)。その結果、いずれの化合物の場合においても、約 20% の収率で対応する単糖を得た。これらの結果からここでも固相上で菌頭反応を行うことにより効率的に反応性の高い場を選択できたものと考えた。なお、固相グリコシル化反応の検討には糖 **21** を導入した樹脂を用いて検討することとし、切り出しによって得た単糖の収量から導入率を 7.7 μmol/tube と決定した。

Table 4-1 菌頭カップリング反応および固相からの切り出し

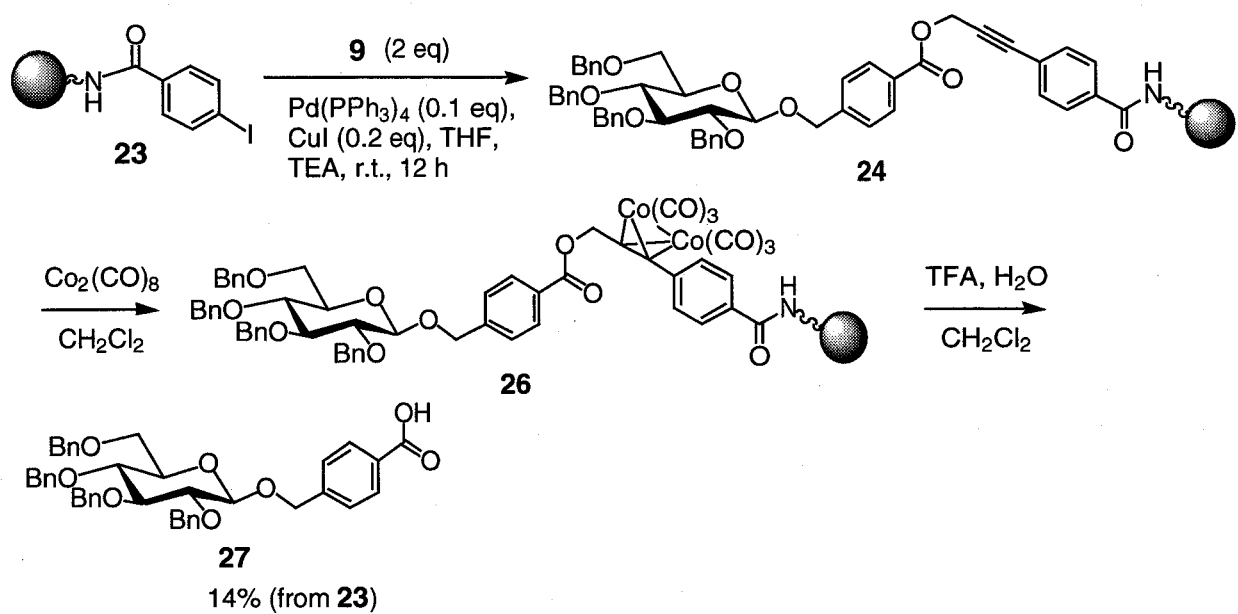


Entry	Compound	Product : Loading yield
1	(9)	21%
2	(13)	17%
3	(14)	19%
4	(21)	20%

収率（導入率）は樹脂の総導入量 35 μmol を 100% として計算

また第3章でも述べたように、このアルキンエステル型リンカーも $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキンコバルト錯体へと導いた後、TFA を作用させる事で固相からの切り出しが可能である。ヨウ化アリールを導入した樹脂 **23** とアルキンエステルを有する糖 **9** との間で菌頭カップリング反応を行って得た **24** に、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキンコバルト錯体 **26** へと導いた後、TFA、水を用いて固相からの切り出しを行って対応する単糖 **27** を収率 14% で得た (Scheme 4-6)。アルカリ条件下で処理したときに比べて収率が低い理由としては、プロパルギルグリコシド型リンカーの場合と同様に、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン - コバルト錯体を形成させるとき、立体的に込み入った場所にあるアルキンには $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ が作用せず、錯体を形成しなかったためであると考えられる。

以上のようにこのアルキンエステル型リンカーは当初の予想通り、 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させてアルキン - コバルト錯体を形成させた後に TFA を作用させるか、あるいはアルカリ加水分解によって切断することができる。



Scheme 4-6 $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を用いたアルキンエステルリンカーの切断

4-3 アルキンエステル型リンカーを用いた固相グリコシル化

糖受容体 **21** を導入した樹脂 **28** を用いて固相グリコシル化を検討した。糖供与体にはトリクロロアセトイミデート **19** を用いることにした。隣接基関与を利用した β -選択的グリコシル化を行うために、**19** の 2 位水酸基の保護にはベンゾイル基で、4 位水酸基は Fmoc 基で保護してある。固相上で二糖を形成した後は Fmoc 基を切断し、次の段階のグリコシル化に用いるためである。Fmoc 基は、ペプチド合成にもよく用いられる保護基であり、ピペリジンを用いて脱保護した後、反応溶液を 308 nm で比色定量することによって反応の進行を追跡することができる。

またここでは本研究の主題であるアルキンリンカーを用いて反応性の高い部位を選択する手法の有効性を評価するために、反応性の低いグルコースの 4 位水酸基へのグリコシル化を繰り返すことにした。糖受容体の 2 位と 3 位はベンゾイル基で保護されているが、このため 4 位水酸基の反応性はかなり低いものとなっている。6 位までもベンゾイル基で保護すると 4 位水酸基のグリコシル化は極めて困難になるので、6 位の保護には隣接した水酸基の反応性を低下させないベンジル基を用いた。

固相グリコシル化反応は第 3 章で示した手順に従って行うが、反応操作の簡便化を図るために樹脂をサンプル管に入れて反応を行い、反応終了後に樹脂をピンセットでつまみ出し、記載した溶媒で洗浄した (Fig. 4-1)。

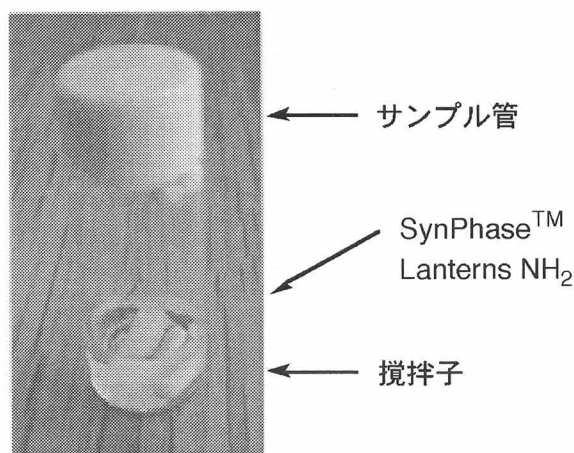
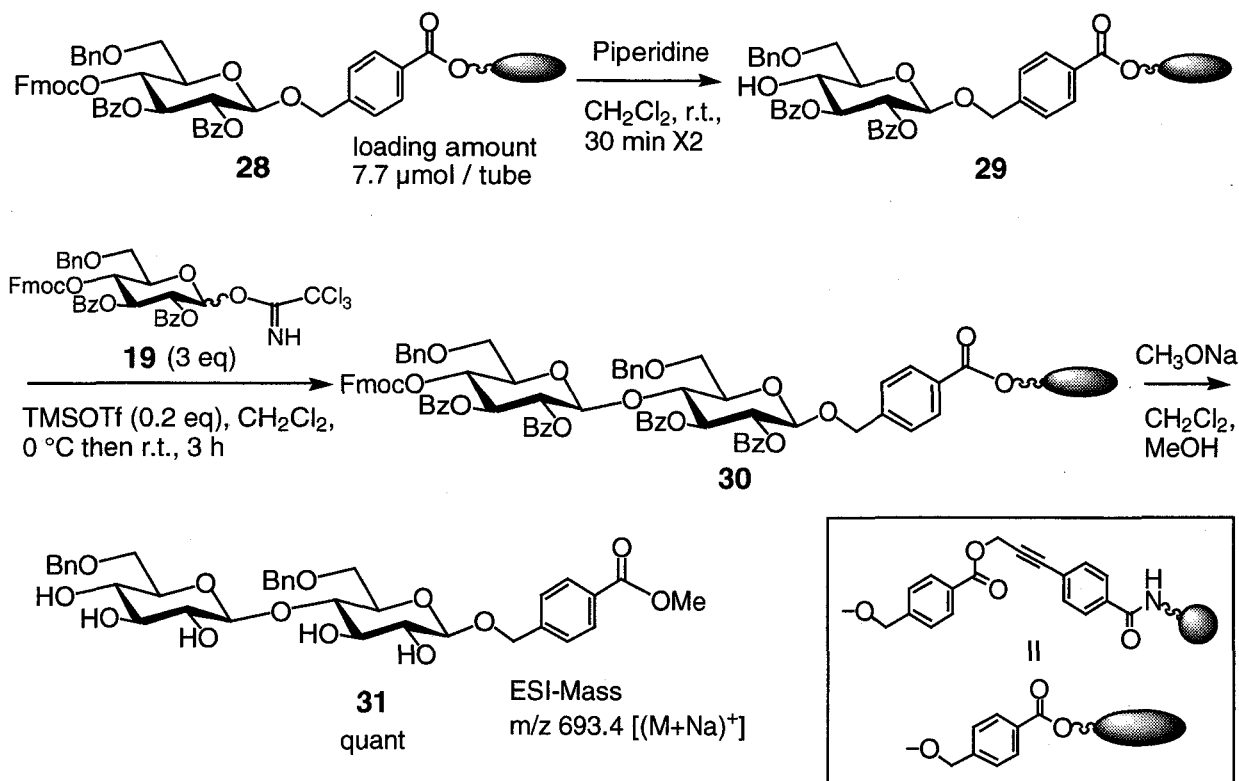


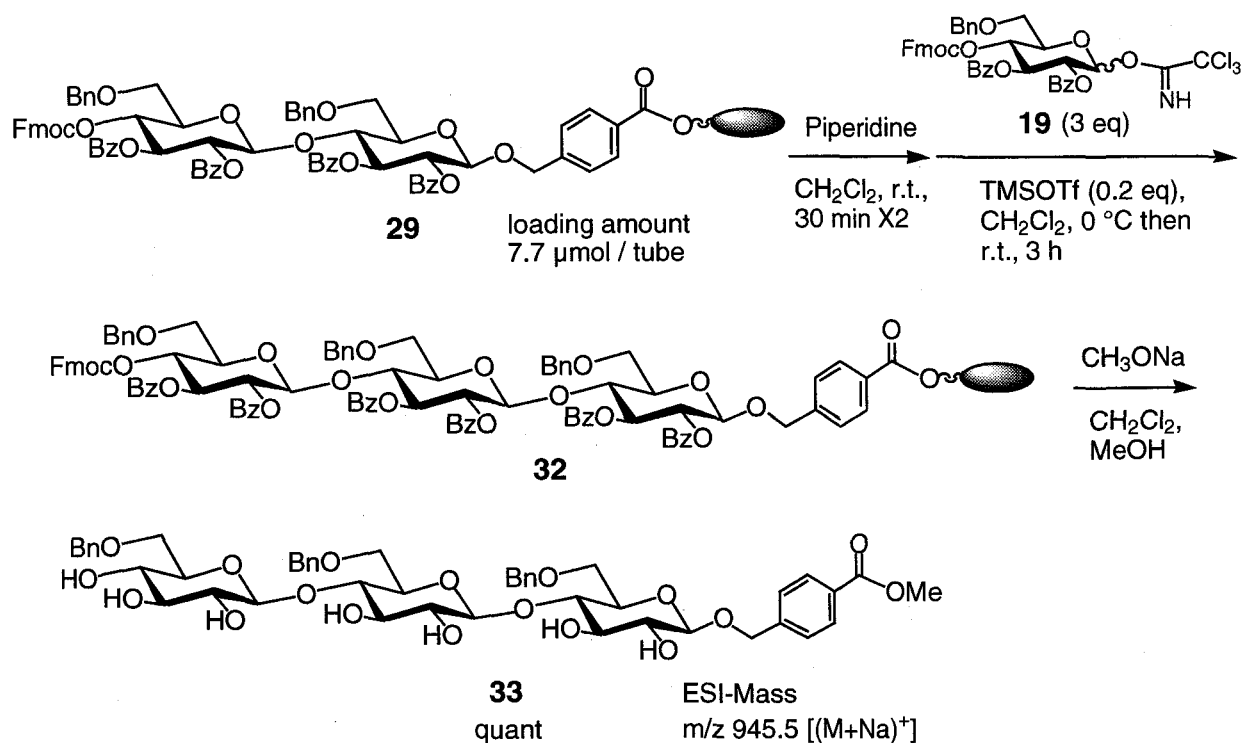
Fig. 4-1 固相グリコシル化反応の実験に用いた反応容器



Scheme 4-7 アルキンエステルリンカーを用いたグリコシル化反応

二糖までの合成経路を Scheme 4-7 に示す（なおリンカー部分は図のように省略して示した）。受容体を導入した樹脂 **28** の Fmoc 基をピペリジンを用いて除去した後、トリクロロアセトイミデート **19** と TMSOTf を用いてグリコシル化を行い、二糖が結合した **30** を得た。続いて CH_2Cl_2 -MeOH（1:1）中で CH_3ONa を作用させることで、エステル交換を行って固相担体からの切り出しを行ったところ、目的とする二糖 **31** が定量的に得られた。この結果は先にも述べた通り、菌頭カップリング反応によって固相担体の反応性の高い場が選択されていたために効率的にグリコシル化反応が進行したことを示している。

つづいて得られた二糖 **30** を用いて、三糖合成を行った（Scheme 4-8）。二糖合成の場合と同様にして、Fmoc 基の脱保護、グリコシル化反応を行って三糖が結合した樹脂 **32** を得た。最後に固相担体からの切り出しを行って、目的とする三糖 **33** を得た。この三糖も定量的に得ることができた。



Scheme 4-8 アルキンエステルリンカーを用いたグリコシル化反応

以上述べてきたように、筆者は菌頭カップリング反応を用いてアルキンエステルリンカーを構築することによって、固相担体上の反応性の高い場を選択することができること、得られた樹脂を用いて糖鎖伸張反応を高収率で行えることを見出した。

4-4 天然糖鎖・ルイス X ならびにシアロルイス X 糖鎖の固相合成の検討

前節までに述べたように、固相担体上での糖鎖伸長反応を定量的に行うことに成功した。これによって糖鎖固相合成を行うための最も基本的でかつ重要な問題を解決したことになる。そこでこの方法を様々な天然糖鎖の固相合成へ展開することとし、まずルイス X ならびにシアロルイス X 糖鎖を合成標的に選んで検討を行った。

細胞表面は多様な構造の複合糖質で覆われている。複合糖質は糖脂質と糖蛋白質に分類され、その糖鎖が種々の生物活性を担っている。その中の一つであるルイス式血液型糖鎖抗原はルイス A (Le^a)、ルイス B (Le^b) に分類される。 Le^a 抗原にシアル酸が結合したシアロ Le^a 抗原は広く膵癌・胆のう胆管癌・大腸癌などで異常発現を起こすことが知られている。血液型物質ではないがルイス抗原に関連した糖鎖抗原としてルイス X (Le^x) とルイス Y (Le^y) がある。 Le^x 抗原にシアル酸がついたシアロ Le^x 抗原 ($\text{NeuAc} \alpha 2\text{-3Gal} \beta 1\text{-4}(\text{Fuc} \alpha 1\text{-3})\text{GlcNAc} \beta 1\text{-3Gal} \beta 1\text{-4Glc}$ (6 糖)) は白血球表層の糖蛋白質に発現しており、創傷部位の血管内皮細胞に発現する E-セレクトインのリガンドとして働くことが知られ³⁾、白血球の炎症部位へのホーミングに関与することがわかっている⁴⁾。マウスの 8 細胞期後期になると割球間の接着が強まり割球と割球の境目が判然としなくなる。このコンパクションといわれる現象に、 Le^x 抗原が関与している。

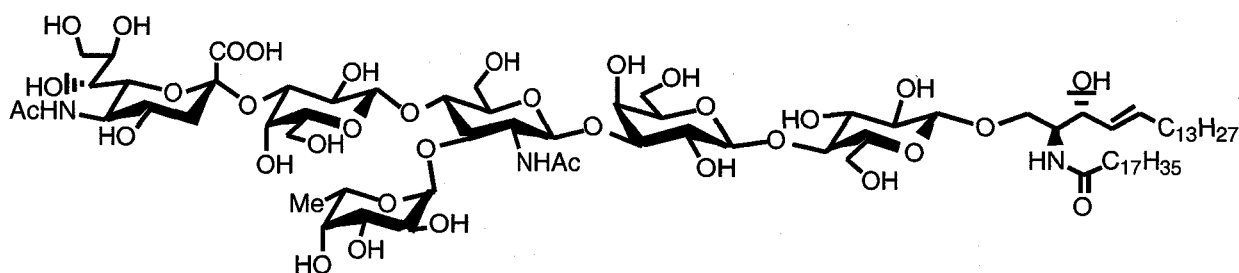


Fig. 4-2 シアロルイス X 糖脂質の構造

Le^x やシアロ Le^x のような複雑な構造を有する糖鎖の固相合成を行うことができれば、その他の様々な天然糖鎖の固相合成が可能となるものと考えられる。液相でのシアロルイス X の合成研究は木曾、長谷川ら⁵⁾、Wong ら⁶⁾ など多くのグループによって以前から検討されているので、本研究では彼らの方法を参考して、その知見を筆者が見出したアルキンエステル型リンカーを用いた固相合成に適用することにした。

木曾、長谷川らの合成法はガングリオシドに広く用いることができる一般的なもの、

糖鎖構築完了後に脂質を導入する点と、シアリルガラクトースやシアリルラクトースを合成ユニットに用いる点に特長がある (Fig. 4-3)。セラミドをあらかじめ導入したグルコースやラクトースを糖受容体に用いて順次糖鎖の伸長を行う経路では、セラミドによる立体障害のため糖受容体としての反応性が低下して糖鎖延長が困難になる。そこで糖鎖構築後、脂質と縮合することになっている。この時、すべての糖受容体の 2 位は、 β -グリコシドを得るために隣接基効果が期待できる保護基 (アセチル基、ベンゾイル基、ピバロイル基などのアシル系保護基) で保護している。また、脂質としてセラミドを用いた場合、比較的長い糖鎖との縮合では収率が低下することが多く、セラミドの合成前駆体であるアジドスフィンゴシンを用いることで収率の向上が図られている。

シアル酸は C-1 位にカルボキシル基を持ち、C-3 位がデオキシ化されているという特異な構造を有する糖であり、そのため C-2,3 位に二重結合を有するデヒドロ体 (グリカル) が反応副生成物として生じ易く、それがグリコシル化反応の収率を低下させる主因となっている。この問題を克服するためには、反応性の高い受容体を用いる必要があり、例えば 6 位のみを保護したガラクトシドを用いて反応の収率向上が達成されている。すなわち長い糖鎖との縮合では著しく収率が低いことが多く、他の糖鎖骨格部分を構築した後にシアル酸を導入する経路は避けた方がよい。また、シアル酸のアノマー位の立体化学の決定は、従来、H-3_{ax}, H-3_{eq}, H-4 の NMR の化学シフト値になどによる経験則的な方法が主であり、新規なシアロシドのアノマーの決定は、厳密さを欠く恐れがあった。この問題も、立体化学が既に決定されているシアリルガラクトースやシアリルラクトースを合成ユニットとして用いることで解決している。

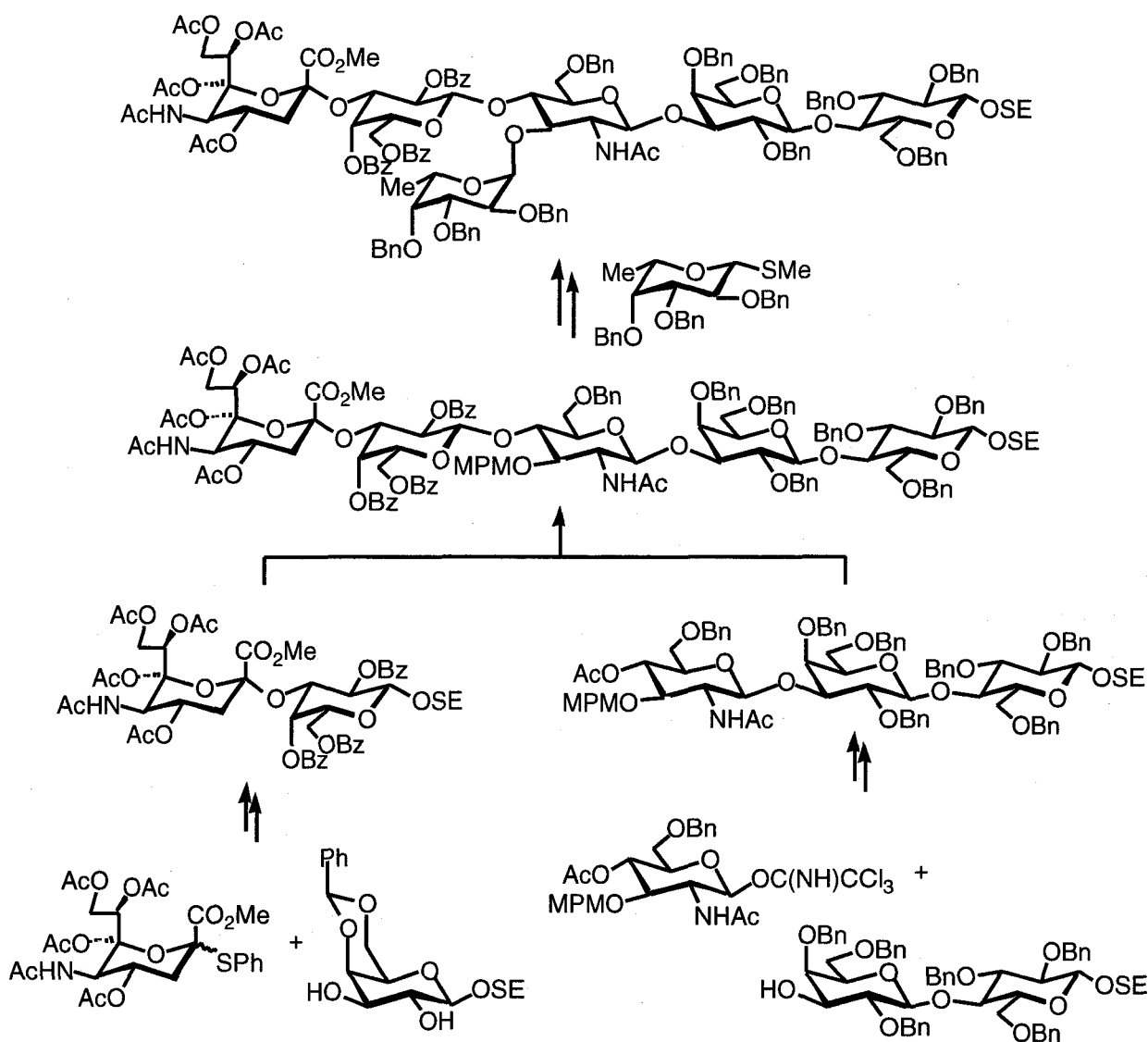
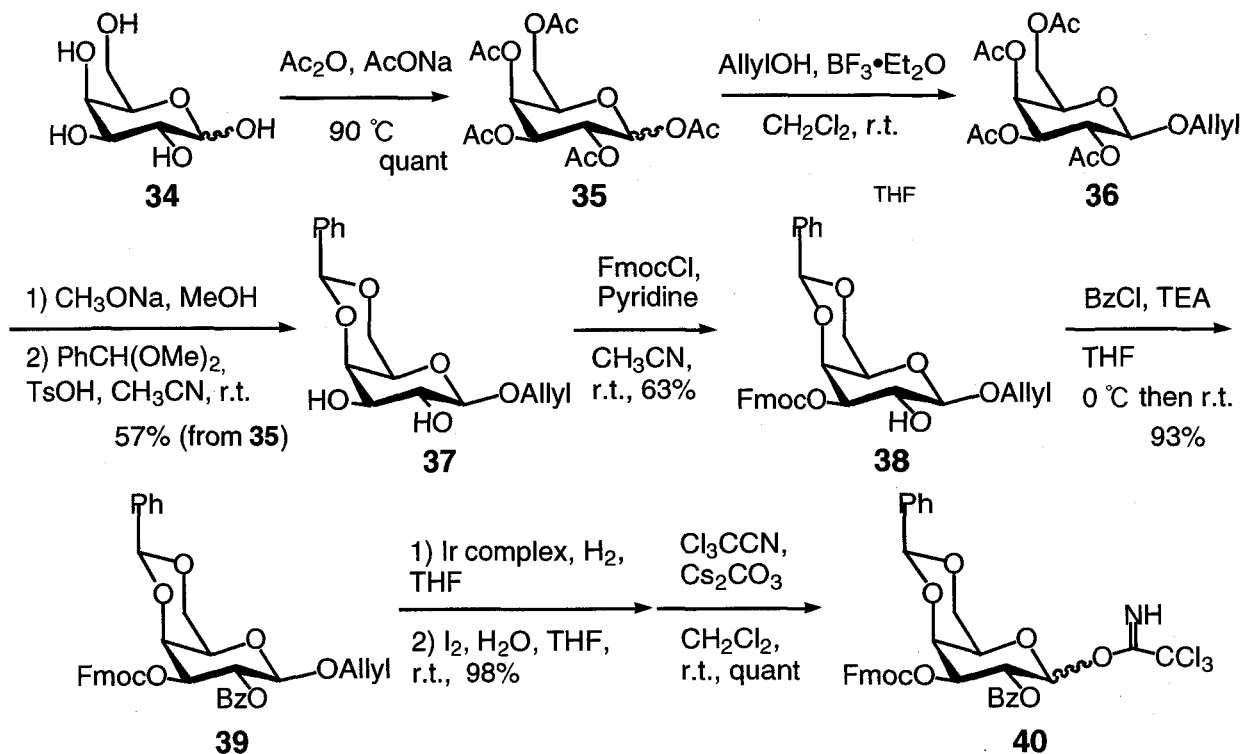


Fig. 4-3 木曾、長谷川らのシアロルイス X 糖鎖の合成経路

以上のことから、本研究でも固相上でのシアル酸供与体によるグリコシル化は避けることにした。また糖鎖合成を行ううえでライブラリーの構築への展開を考え、各ユニット（ビルディングブロック）は単糖単位で合成していくことにした。以下にその方針で検討を行った経過について述べる。

4-4-1 ビルディングブロックの合成

固相担体に糖受容体として導入するグルコースユニットには上記の **19** を用いた。ガラクトースユニットは Schmidt らの方法⁷⁾を参考にして、以下の方法で合成した(Scheme 4-9)。

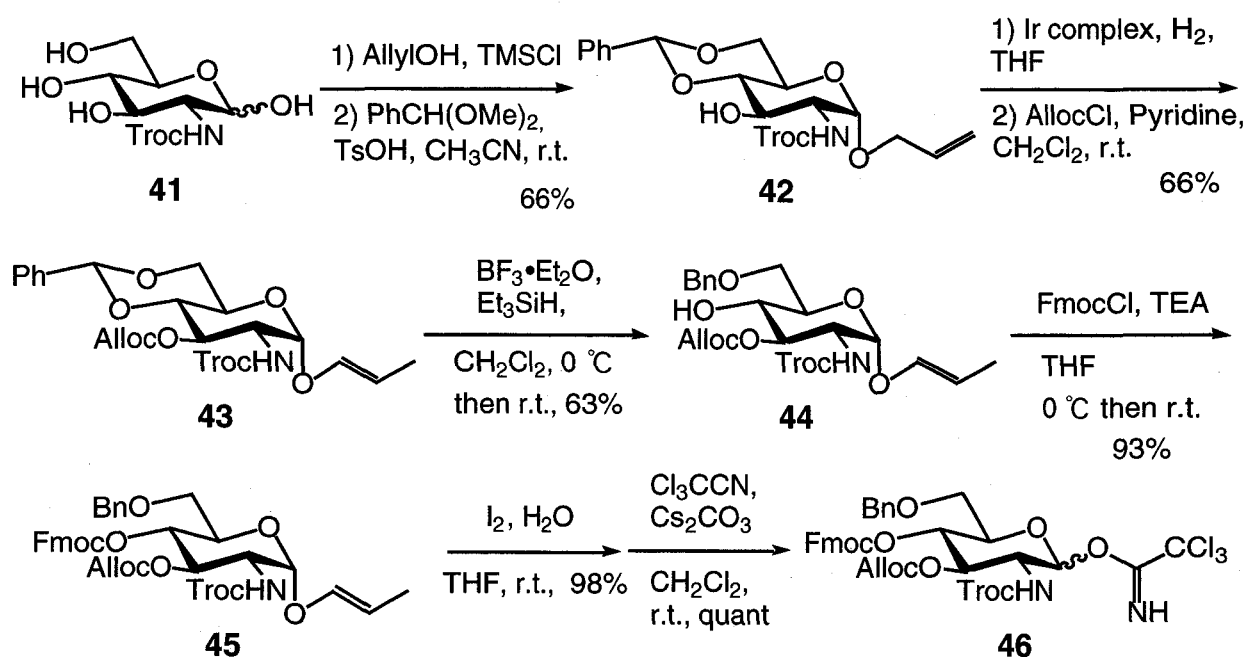


Scheme 4-9 ガラクトースユニットの合成

ガラクトースに無水酢酸を作用させて合成した完全アセチル化体 **35** に、ジクロロエタン中アリルアルコールと $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ を作用させてグリコシル化反応を行い、 β 体のアリルガラクトシド **36** を得た。脱アセチル化を行った後、ベンジリデン化を行って 4,6-ベンジリデン体 **37** を得た。つづいてアセトニトリル中ピリジン存在下に FmocCl を作用させて選択的な Fmoc 化を行って、3位 Fmoc 体 **38** を得た。同じ反応を DMF 中で行った場合は位置選択性が低下した。興味あることに、これに対して α -アリルガラクトシドを用いた場合は、選択的に3位を Fmoc 化することはできなかった。2位を Bz 基で保護して **39** を得た後、常法にしたがってアリル基を切断後、トリクロロアセトニトリルを作用させて、ガラクトースユニットのトリクロロアセトイミデート **40** を得た。

グルコサミンユニットは、リピド A の合成法を参考にして、以下のように調製した⁸⁾

(Scheme 4-10)。



Scheme 4-10 グルコサミンユニットの合成

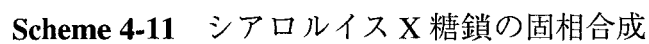
N-Troc グルコサミン **41** を出発化合物に用い、第2章で述べた方法に従ってアリル化およびベンジリデン化を行って、ベンジリデン体 **42** を得た。Ir 錯体 ([Ir(cod)(MePh₂P₂)]PF₆) を用いて 1 位アリル基のプロペニル基への異性化を行い、続いてクロロギ酸アリル (AllocCl) とピリジンとを作用させて 3 位水酸基に Alloc 基を導入して化合物 **43** を得た。次に BF₃·Et₂O、Et₃SiH による 4,6-O-ベンジリデン基の位置選択的な開裂反応を利用することにより、63 %の収率で 6-O-ベンジル体 **44** に導いた⁸⁾。当研究室で見出されたボランジメチルアミン錯体 (Me₂NH·BH₃)、BF₃·OEt₂ による 4,6-O-ベンジリデン基の位置選択的な開裂反応⁹⁾ では反応スケールを大きくした場合に高い収率で **44** を得ることはできなかった。**44** の 4 位水酸基に FmocCl とピリジンとを作用させて 3 位水酸基に Fmoc 基を導入して化合物 **45** を得た。最後に **45** のグリコシド位のプロペニル基を THF 中、ヨウ素と水を用いて切断し、トリクロロアセトニトリルおよび炭酸セシウムでイミデート化して糖供与体 **46** を得た。

他の糖供与体に関しては様々な論文を参考にして合成を行った。

4-4-2 アルキンエステルリンカーを利用したシアロルイス X 糖鎖の固相合成

固相合成は先に 4-3 で述べたモデル三糖の合成の時と同様に行った (Scheme 4-11)。先にも述べたように、**28** は切り出しにより得た単糖の収量から導入率を 7.7 μmol と決定している。ピペリジンを用いて Fmoc 基の脱保護を行った後、3 当量のガラクトースユニット **40** を用いてグリコシル化反応を行って、二糖が結合した樹脂 **47** を得た。**47** の Fmoc 基を脱保護して **48** へと導いた後、3 当量のグルコサミンユニット **46** を用いてグリコシル化反応を行って三糖が結合した樹脂 **49** を得た。最後に、メタノール中で CH_3ONa を作用させて固相からの切り出しを行った後、ジクロロエタン中で水酸化バリウムを作用させてアミノ基の脱保護を行って三糖 **50** を単糖から定量的に得た。

現在、引き続き、残りの糖ユニットの脱保護、グリコシル化反応ならびに固相担体からの切り出しの検討を行っており、シアロルイス X の糖鎖固相合成の達成を目ざしている。



4-5 まとめ

アルキンエステルリンカーを用いた糖鎖固相合成について述べてきた。アルキンリンカーでは固相担体からの切り出しの時、アノマーの混合物が得られる事が問題であったが、アルキンエステルリンカーを用いることによって、この問題を解決でき効率良く糖鎖を固相合成することができた。シアロルイス X 糖鎖の固相合成は現在も検討を続けているものの、基本骨格である三糖の合成を定量的に行えた。まだ保護基の組合わせ、糖鎖伸長の順序、その他のグリコシル化反応の適用など課題は残っているが、この研究により固相上で糖のグリコシル化反応を定量的に行うという糖鎖固相合成における最も基本的な問題を解決することができ、一般的な糖鎖固相合成法の確立に向けて、基礎を築くことができたと考えている。

旋光度の測定には、Perkin Elmer model 241 polarimeter を用いた。¹H-NMR スペクトル測定には、JEOL-Lambda-600 NMR spectrometer を用いた。化学シフトは、CDCl₃ の場合はテトラメチルシランを基準物質として δ 値で表した。CD₃OD は残存する溶媒のプロトンの化学シフトを基準に δ 値で表した。質量分析は JEOL JMX SX-102 mass spectrometer と PerSeptive Biosystems, MarinerTM を用いた。元素分析は本研究科元素分析室に依頼して測定した。中圧カラムシリカゲルクロマトグラフィーは Kieselgel 60 Art. 9385 (Merck) を、薄層シリカゲルクロマトグラフィーは Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) を文中に示した溶媒系を用いて使用した。反応溶媒として用いた脱水溶媒は、それぞれ関東化学株式会社製のものを購入し使用した。それ以外の試薬および溶媒は、基本的に特級のものを使用した。モレキュラーシーブス 4Å は、減圧下 250 °C で 3 時間加熱乾燥したものを使用した。特にことわらない限り、反応は窒素雰囲気下で行った。

固相合成には、固相用反応容器として VARIAN 社のポリプロピレン製注射器型容器を、固相用反応装置として TAITEC ROTATOR RT-50 を用いた。また、樹脂は SynPhaseTM Lanterns-NH₂ (表面加工ポリスチレン、ミモトープス社製) を購入して使用した。

Phenyl 2,3,4,6-*O*-Tetra-benzyl-thio-D-glucopyranoside (5)

チオグリコシド **4** (2.72 g, 10.0 mmol) を THF (100 ml) に懸濁させ、0 °C で水素化ナトリウム (NaH) (1.44 g, 60.0 mmol) を加えしばらく攪拌した後、臭化ベンジル (BnBr) (6.53 ml, 60.0 mmol) を加え、室温で 12 時間攪拌した。飽和クエン酸水溶液と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、クロロホルム) で精製して **5** (5.69 g, 90%) を白色個体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 655.2 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ for the α anomer = 7.55-7.21 (25H, m, PhCH₂ x 4 and PhS), 5.04 (1H, d, J =3.63 Hz, H-1), 4.93-4.63 (8H, m, PhCH₂ x 4), 4.51 (1H, t, J =9.0 Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, J =10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.84-3.73 (2H, m, H-6b), 3.71-3.62 (1H, m, H-5), 3.57-3.52 (2H, m, H-2 and H-4).

4-(Methoxycarbonyl)benzyl 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranoside (**7**)

チオグリコシド **5** (3.16 g, 5.0 mmol) と 4-(Methoxycarbonyl)benzyl alcohol **6** (1.00 g, 6.0 mmol) の脱水アセトニトリル (100 ml) 溶液に活性化した MS4 Å (約 300 mg)、PhIO (1.32 g, 6.0 mmol)、TMSOTf (0.46 ml, 3.0 mmol) を加え窒素雰囲気下、3 時間攪拌した。Na₂S₂O₃ 水溶液と酢酸エチルを反応溶液に加えてから MS4 Å を濾過して除き、酢酸エチルで抽出した。水層をさらに酢酸エチルで抽出し有機層を合わせた。硫酸マグネシウムで乾燥した後、乾燥剤をろ去し、ろ液を減圧濃縮した。残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、クロロホルム：メタノール=10：1) で精製して、**7** (2.65 g, 77%) を白色固体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 711.3 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ for the β anomer = 7.85 (2H, m, OCH₂C₆H₄CO₂Me), 7.48-7.25 (22H, m, PhCH₂ x 4 and OCH₂C₆H₄CO₂Me), 4.75 (1H, d, J =7.9 Hz, H-1), 4.88-4.55 (10H, m, PhCH₂ x 4 and OCH₂C₆H₄CO₂Me), 4.51 (1H, t, J =9.0 Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, J =10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.90 (3H, s, OCH₂C₆H₄CO₂Me), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.62 (1H, d, J =5.2 Hz, H-6b), 3.60-3.55 (2H, m, H-2 and H-4).

4-(Propargyloxycarbonyl)benzyl 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- β -D-glucopyranoside (**9**)

メチルエステル体 **7** (2.06 g, 3.0 mmol) をアセトン (50 ml) に溶解し、0.1 N 水酸化ナトリウム水溶液 (50 ml) を加えた。3 時間攪拌した後、減圧濃縮した。水を加えた後、0.1N 塩酸水で中和すると固体を得た。固体を冷却したエーテルで洗浄してカルボキシル体 (2.02 g, quant) を白色固体として得た。

ついで、カルボキシル体 (2.02 g, 3.0 mmol) をジクロロメタン (50 ml) に溶解し、プロパルギルブロマイド **8** (0.71 g, 6.0 mmol)、炭酸セシウム (0.97 g, 3.0 mmol) を加えた。室温で 3 時間攪拌した後、減圧濃縮した。残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 100 g、クロロホルム：メタノール=10：1) で精製して、**7** (2.13 g, quant) を白色固体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 735.3 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 8.01 (2H, m, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 7.48-7.25 (22H, m, PhCH₂ x 4 and OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 4.76 (1H, d, J =8.4 Hz, H-1), 4.88-4.45 (10H, m, PhCH₂ x 4 and OCH₂C₆H₄CO₂H), 4.51 (1H, t, J =9.0 Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, J =10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.91 (2H, d, J =3.0 Hz, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.72 (1H, d, J =10.3 Hz, H-6b), 3.65-3.57 (2H, m, H-2 and H-4), 2.47 (1H, t, J =3.0 Hz, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH).

Phenyl 2,3-Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-thio-D-glucopyranoside (**11**)

Phenyl 4,6-*O*-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (**10**) (1.80 g, 5.0 mmol) を THF (100 ml) に溶解して、0 °C で水素化ナトリウム (0.72 g, 30.0 mmol) を加えしばらく攪拌下後、臭化ベンジル (3.26 ml, 30.0 mmol) を加え、室加え、室温で 12 時間攪拌した。飽和クエン酸水溶液と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、クロロホルム) で精製して **11** (2.43 g, 90%) を白色個体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 563.2 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ for the α anomer = 7.58-7.22 (20H, m, PhCH₂ x 2, PhS, and PhCH), 5.54 (1H, s, PhCH), 4.70 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-1), 4.93-4.63 (4H, m, PhCH₂ x 2), 4.23 (1H, t, $J=9.3$ Hz, H-3), 4.30 (2H, d, $J=3.0$ Hz, OCH₂-CCH), 4.26 (1H, dd, $J=10.4, 5.2$ Hz, H-6a), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.75 (1H, d, $J=9.3$, H-2), 3.72 (1H, d, $J=9.3$, H-4), 3.62 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-6b), 2.47 (1H, t, $J=3.0$ Hz, OCH₂-CCH).

4-(Methoxycarbonyl)benzyl 2,3-Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene-D-glucopyranoside (**12**)

チオグリコシド **11** (1.08 g, 2.0 mol) と 4-(Methoxycarbonyl)benzyl alcohol **6** (0.40 g, 2.4 mol) の脱水アセトニトリル (100 ml) 溶液に活性化した MS4 Å (約 300 mg)、PhIO (0.66 g, 3.0 mmol)、TMSOTf (0.23 ml, 1.5 mmol) を加え窒素雰囲気下、3 時間攪拌した。Na₂S₂O₃ 水溶液と酢酸エチルを反応溶液に加えてから MS4 Å を濾過して除き、酢酸エチルで抽出した。水層をさらに酢酸エチルで抽出し有機層を合わせた。硫酸マグネシウムで乾燥した後、乾燥剤をろ去し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 100 g、クロロホルム：メタノール=10：1) で精製して、**12** (0.64 g, 54%) を白色固体として得た。

m.p.: 148 °C; [α]_D²⁴ = -191 (c 1.00, CHCl₃); ESI-Mass (positive) m/z 619.2 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ for the β anomer = 7.85 (2H, m, OCH₂C₆H₄CO₂Me), 7.48-7.25 (17H, m, PhCH₂ x 2, PhCH, and OCH₂C₆H₄CO₂Me), 5.54 (1H, s, PhCH), 4.75 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-1), 4.88-4.55 (10H, m, PhCH₂ x 4 and OCH₂C₆H₄CO₂Me), 4.51 (1H, t, $J=9.0$ Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, $J=10.4, 5.2$ Hz, H-6a), 3.90 (3H, s, OCH₂C₆H₄CO₂Me), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.62 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-6b), 3.60-3.55 (2H, m, H-2 and H-4).

4-(Propargyloxycarbonyl)benzyl 2,3-Di-*O*-benzyl-4,6-*O*-benzylidene- β -D-glucopyranoside

(13)

メチルエステル体 **12** (1.19 g, 2.0 mmol) をアセトン (50 ml) に溶解し、0.1 N 水酸化ナトリウム水溶液 (50 ml) を加えた。室温で 3 時間攪拌した後、減圧濃縮した。水を加えた後、0.1N 塩酸水で中和すると固体を得た。固体を冷却したエーテルで洗浄してカルボキシル体 (1.16 g, quant) を白色固体として得た。

ついで、カルボキシル体 (1.16 g, 2.0 mmol) をジクロロメタン (50 ml) に溶解し、プロパルギルブロマイド **8** (0.47 g, 4.0 mmol)、炭酸セシウム (0.64 g, 2.0 mmol) を加えた。室温で 3 時間攪拌した後、減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 100 g、クロロホルム：メタノール=10：1) で精製して、**13** (1.24 g, quant) を白色固体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 643.2 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 8.01 (2H, m, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 7.48-7.25 (17H, m, PhCH₂ x 2, PhCH, and OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 5.56 (1H, s, PhCH), 4.71 (1H, d, J =8.0 Hz, H-1), 4.88-4.45 (6H, m, PhCH₂ x 2 and OCH₂C₆H₄CO₂H), 4.51 (1H, t, J =9.1 Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, J =10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.91 (2H, d, J =3.0 Hz, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.72 (1H, d, J =10.3 Hz, H-6b), 3.65-3.57 (2H, m, H-2 and H-4), 2.47 (1H, t, J =3.0 Hz, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH); Found: C, 73.33; H, 5.98%. Calcd. for C₃₈H₃₆O₈·1/2H₂O: C, 73.53; H, 5.85%.

4-(Propargyloxycarbonyl)benzyl 2,3,6-Tri-*O*-benzyl- β -D-glucopyranoside (14)

プロパルギルエステル体 **13** (0.62 g, 1.0 mmol) をジクロロメタン (20 ml) に溶解し、氷冷下、Et₃SiH (1.60 ml, 10.0 mmol)、BF₃·Et₂O (0.25 ml, 2.0 mmol) を加えた。室温で 3 時間攪拌した後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣をカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 50 g、クロロホルム) で精製して **14** (0.56 g, 90%) を白色個体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 645.2 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 8.01 (2H, m, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 7.48-7.25 (17H, m, PhCH₂ x 3, and OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 4.71 (1H, d, J =8.0 Hz, H-1), 4.88-4.45 (8H, m, PhCH₂ x 3 and OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 4.51 (1H, t, J =9.1 Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, J =10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.91 (2H, d, J =3.0 Hz, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.72 (1H, d, J =10.3 Hz, H-6b), 3.65-3.57 (2H, m, H-2 and H-4), 2.47 (1H, t, J =3.0 Hz,

OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH); Found: C, 71.68; H, 5.91%. Calcd. for C₃₈H₃₈O₈·2/3H₂O: C, 71.91; H, 6.25%.

Allyl 2,3-Di-*O*-benzoyl-4,6-*O*-benzylidene- α -D-glucopyranoside (**16**)

Allyl 4,6-*O*-Benzylidene- α -D-glucopyranoside (**15**) (15.4 g, 50.0 mmol) をジクロロメタン (150 ml) に溶解して、ピリジン (150 mmol) と BzCl (17.4 ml, 150.0 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。飽和クエン酸水溶液と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 500 g、クロロホルム：メタノール=20：1) で精製して **16** (23.2 g, 90%) を白色個体として得た。

ESI-Mass (positive) *m/z* 539.1 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 7.48-7.24 (15H, m, PhCO x 2 and PhCH), 5.94-5.88 (1H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.75 (1H, d, *J*=9.6 Hz, H-2), 5.54 (1H, s, PhCH), 5.37-5.26 (2H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.54 (1H, s, PhCH), 5.24 (1H, t, *J*=9.6 Hz, H-3), 5.05 (1H, d, *J*=3.6 Hz, H-1), 4.93-4.73 (2H, m, OCH₂CH=CH₂), 4.26 (1H, dd, *J*=10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.75-3.72 (1H, m, H-4), 3.62 (1H, d, *J*=5.2 Hz, H-6b).

Allyl 2,3-Di-*O*-benzoyl-6-*O*-benzyl- α -D-glucopyranoside (**17**)

ベンジリデン体 **16** (5.16 g, 10.0 mmol) をジクロロメタン (100 ml) に溶解し、氷冷下、Et₃SiH (16.1 ml, 100.0 mmol)、BF₃·Et₂O (2.53 ml, 20.0 mmol) を加えた。室温で 3 時間攪拌した後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 300 g、クロロホルム：メタノール=20：1) で精製して **17** (4.67 g, 90%) を白色個体として得た。

ESI-Mass (positive) *m/z* 541.1 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 7.48-7.24 (15H, m, PhCO x 2 and PhCH₂), 5.94-5.88 (1H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.75 (1H, d, *J*=9.6 Hz, H-2), 5.37-5.26 (2H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.24 (1H, t, *J*=9.6 Hz, H-3), 5.05 (1H, d, *J*=3.6 Hz, H-1), 4.93-4.73 (4H, m, PhCH₂ and OCH₂CH=CH₂), 4.26 (1H, dd, *J*=10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.75-3.72 (1H, m, H-4), 3.62 (1H, d, *J*=5.2 Hz, H-6b).

Allyl 2,3-Di-*O*-benzoyl-6-*O*-benzyl-4-*O*-(9-fluolenylmethyloxycarbonyl)- α -D-glucopyranoside (18)

4-OH 体 **17** (5.18 g, 10.0 mmol) を窒素雰囲気下で無水ジクロロメタン (100 ml) -ピリジン (100 ml) の混合溶媒に溶かした。反応液を氷冷しながら FmocCl (5.17 g, 20.0 mmol) を少量ずつ加え室温で 5 時間攪拌した。ジクロロメタンを濃縮した後、酢酸エチル、0.1N 塩酸水溶液を加えて分配し、水層を酢酸エチルで 3 回抽出した。飽和食塩水で一回洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、クロロホルム：メタノール=10：1) 精製して **18** (7.25 g, 98%) を白色固体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 763.2 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 8.00-7.24 (24H, m, PhCO x 2, PhCH₂, and C₁₃H₉-CH₂-OCO(Fmoc)), 5.94-5.88 (1H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.75 (1H, d, J =9.6 Hz, H-2), 5.56 (1H, dd, J =9.6, 7.9 Hz, H-4), 5.37-5.26 (2H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.24 (1H, t, J =9.6 Hz, H-3), 5.05 (1H, d, J =3.6 Hz, H-1), 4.93-4.73 (4H, m, PhCH₂ and OCH₂CH=CH₂), 4.26 (1H, dd, J =10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.94 (1H, d, J =10.3 Hz, C₁₃H₉-CH₂-OCO(Fmoc)), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.75-3.72 (1H, m, H-4), 3.62 (1H, d, J =5.2 Hz, H-6b).

2,3-Di-*O*-benzoyl-6-*O*-benzyl-4-*O*-(9-fluolenylmethyloxycarbonyl)-D-glucopyranosyl trichloroacetoimidate (19)

Allyl 体 **18** (2.22 g, 3.0 mmol) を無水テトラヒドロフラン (100 ml) に溶解し窒素置換を行い、イリジウム錯体 [Ir(cyclooctadienyl)(PMe₂Ph)₂]₂PF₆ (50.8 mg, 0.06 mmol) を加えた。水素置換して錯体を活性化させて 1 分間攪拌、ついで脱気して窒素置換するという操作を 3 回繰り返した後、室温で 1 時間攪拌した。TLC で反応の終了を確認した後、反応溶液に水 (100 ml)、ヨウ素 (0.76 g, 3.0 mmol) を加えた。室温で 1 時間攪拌した後、酢酸エチル、Na₂S₂O₃ 水溶液を加えて分配し、水層を酢酸エチルで 3 回抽出した。飽和食塩水で一回洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、減圧濃縮した。濃縮残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル、200 g、クロロホルム：メタノール=10：1) で精製して、白色固体として得た。ついで、ジクロロメタン (100 ml) に溶解し、トリクロロアセトニトリル (1.50 ml, 15.0 mmol)、炭酸セシウム (0.48 g, 1.5 mmol) を加えて、室温で 3 時間攪拌した。酢酸エチルを加えた後、濾過、濾液を濃縮し、濃縮残渣をベンゼンで凍結乾燥を行って **19** (2.55 g, quant) を黄色固体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 865.1 [(M+Na)⁺].

4-(Propargyloxycarbonyl)benzyl 2,3-Di-*O*-benzoyl-6-*O*-benzyl-4-*O*-(9-fluolenylmethoxy-carbonyl)- β -D-glucopyranoside (**21**)

トリクロロアセトイミデート体 **19** (0.84 g, 1.0 mmol) と 4-(Propargyloxycarbonyl)-benzyl alcohol **20** (0.28 g, 1.5 mol) の脱水アセトニトリル (50 ml) 溶液に活性化した MS4 Å (約 300 mg)、TMSOTf (15.6 μ l, 0.1 mmol) を加え窒素雰囲気下、3 時間攪拌した。飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と酢酸エチルを反応溶液に加えてから MS4 Å を濾過して除き、酢酸エチルで抽出した。水層をさらに酢酸エチルで抽出し有機層を合わせた。硫酸マグネシウムで乾燥した後、乾燥剤をろ去し、ろ液を減圧濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (シリカゲル 50 g、クロロホルム：メタノール=10：1) で精製して、**21** (21.5 g, 54%) を白色固体として得た。

m.p.: 144 °C; $[\alpha]_D^{24} = +134$ (c 1.00, CHCl₃); ESI-Mass (positive) m/z 895.2 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 8.01 (2H, m, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 7.48-7.25 (17H, m, PhCH₂ x 3, and OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 4.71 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-1), 4.88-4.45 (8H, m, PhCH₂ x 3 and OCH₂C₆H₄CO₂H), 4.51 (1H, t, J = 9.1 Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, J = 10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.91 (2H, d, J = 3.0 Hz, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.72 (1H, d, J = 10.3 Hz, H-6b), 3.65-3.57 (2H, m, H-2 and H-4), 2.47 (1H, t, J = 3.0 Hz, OCH₂C₆H₄CO₂CH₂-CCH).

22 のポリスチレン樹脂 SynPhase™ Lanterns-NH₂ への導入

アミノメチル化ポリスチレン樹脂 (NH₂: 35.0 μ mol) (35.0 μ mol) を固相用反応容器にとり、5% DIEA - ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を用いて洗浄した後、ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。4-ヨウ化安息香酸クロライド **22** (17.4 mg, 70.0 μ mol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置で 3 日間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄して、**23** を得た。

4-ヨウ化安息香酸を担持した樹脂 **23** を用いた固相菌頭カップリング反応の標準的な操作およびリンカー部分の切断

4-ヨウ化安息香酸を固相に担持した樹脂 **23** (SynPhase™ Lanterns-NH₂: 35.0 μ mol/g) (35.0 μ mol) を固相用反応容器にとり、THF (3.0 ml) を用いて洗浄した。ヨウ化銅 (2.6 mg, 14.0 μ mol)、Pd(PPh₃)₄ (8.1 mg, 7.0 μ mol)、THF (2.5 ml) および TEA (2.5 ml) を加えてしばらく振盪した。ついでプロパルギルグリコシド **21** (34.1 mg, 70.0 μ mol) を加えて、固相用反応装置で 24 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、MeOH、ジ

クロロメタン (5.0 ml) で2回ずつ洗浄して、糖成分を結合させた樹脂 **24** を得た。

続いて、樹脂 **24** を固相用反応容器にとり、ジクロロメタン (2.0 ml)、メタノール (1.0 ml)、28%ナトリウムメチラート – メタノール溶液 (1.0 ml) を加えた。固相用反応装置で 12 時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めて減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー (クロロホルム：メタノール=5：1) で精製して **25** (6.9 mg, 55%) を白色個体として得た。

25: ESI-Mass (positive) m/z 619.2 $[(M+Na)^+]$; 1H NMR ($CDCl_3$) δ = 7.85 (2H, m, $OCH_2C_6H_4CO_2Me$), 7.48-7.25 (17H, m, $\underline{PhCH_2} \times 2$, $\underline{PhCH}$, and $OCH_2C_6H_4CO_2Me$), 5.54 (1H, s, $\underline{PhCH}$), 4.75 (1H, d, $J=8.9$ Hz, H-1), 4.88-4.55 (10H, m, $\underline{PhCH_2} \times 4$ and $OCH_2C_6H_4CO_2Me$), 4.51 (1H, t, $J=9.0$ Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, $J=10.4, 5.2$ Hz, H-6a), 3.90 (3H, s, $OCH_2C_6H_4CO_2Me$), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.62 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-6b), 3.60-3.55 (2H, m, H-2 and H-4).

Fmoc 基によるアミノ基の定量

樹脂をジクロロメタンで十分洗った後、50% ピペリジン – ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を加えて 30 分間攪拌した。反応溶液を濾過し、樹脂をジクロロメタン、DMF およびイソプロパノールで良く洗浄する。同じ操作をもう一度繰り返す。すべての濾過液と洗浄液を合わせてジクロロメタンで希釈し 308 nm で比色定量する。アミノ基の含量は、吸光度 $\times 10^4/8700$ より計算する。

4-ヨウ化安息香酸を担持した樹脂 **23** を用いた固相菌頭カップリング反応の標準的な操作および $Co_2(CO)_8$ を用いたリンカー部分の切断

4-ヨウ化安息香酸を固相に担持した樹脂 **23** (SynPhase™ Lanterns-NH₂: 35.0 μ mol/g) (35.0 μ mol) を固相用反応容器にとり、THF (3.0 ml) を用いて洗浄した。ヨウ化銅 (2.6 mg, 14.0 μ mol)、 $Pd(PPh_3)_4$ (8.1 mg, 7.0 μ mol)、THF (2.5 ml) および TEA (2.5 ml) を加えてしばらく振盪した。ついでプロパルギルグリコシド **9** (34.1 mg, 70.0 μ mol) を加えて、固相用反応装置で 24 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、MeOH、ジクロロメタン (5.0 ml) で2回ずつ洗浄して、糖成分を結合させた樹脂 **24** を得た。

続いて、樹脂 **24** を固相用反応容器にとり $Co_2(CO)_8$ (18.0 mg, 52.5 μ mol)、ジクロロメタン (3.0 ml) を加え、固相用反応装置で 1 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で2回ずつ洗浄した。ジクロロメタン (4.0 ml)、TFA (0.5 ml)、水 (0.5 ml) を加えて、固相用反応装置で 12 時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹

脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めて飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて酢酸エチルに抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール=5：1）で精製して **27**（3.3 mg, 14%）を白色個体として得た。

ESI-Mass (negative) m/z 673.7 [(M-H)⁻]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 7.85 (2H, m, OCH₂C₆H₄CO₂H), 7.48-7.25 (22H, m, PhCH₂ x 4 and OCH₂C₆H₄CO₂H), 4.75 (1H, d, J =7.9 Hz, H-1), 4.88-4.55 (10H, m, PhCH₂ x 4 and OCH₂C₆H₄CO₂H), 4.51 (1H, t, J =9.0 Hz, H-3), 4.26 (1H, dd, J =10.4, 5.2 Hz, H-6a), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.62 (1H, d, J =5.2 Hz, H-6b), 3.60-3.55 (2H, m, H-2 and H-4).

糖成分を結合させた樹脂 **28** を用いた固相グリコシル化反応の標準的な操作およびリンカー部分の切断（二糖合成）

糖成分を結合させた樹脂 **28**（SynPhase™ Lanterns-NH₂: 35.0 μ mol/g）（7.7 μ mol）を固相反応容器にとり、脱水ジクロロメタン（3.0 ml）で洗浄した後、25% ピペリジン - ジクロロメタン溶液（3.0 ml）を加えて 30 分間攪拌した。反応溶液を濾過し、樹脂をジクロロメタン、DMF およびメタノール（3.0 ml）で良く洗浄して **29** を得た。

ついで 5% TMSOTf - 脱水ジクロロメタン溶液および脱水ジクロロメタン（3.0 ml）で洗浄した後、(2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-glucosyl) trichloroacetoimide (**19**)（19.5 mg, 23.1 μ mol）、脱水ジクロロメタン（3.0 ml）、TMSOTf（0.3 μ l, 1.5 μ mol）の順に加え、固相反応装置で 3 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン（5.0 ml）で 2 回ずつ洗浄して樹脂 **30** を得た。

続いて、樹脂 **30** を固相反応容器にとり、ジクロロメタン（2.0 ml）、メタノール（1.0 ml）、28% ナトリウムメチラート - メタノール溶液（1.0 ml）を加えた。固相反応装置で 12 時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めて減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール=5：1）で精製して **31**（5.4 mg, quant）を白色個体として得た。ESI-Mass (positive) m/z 693.4 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 7.84-7.21 (14H, m, PhCH₂ x 2 and OCH₂C₆H₄CO₂Me), 4.83-4.43 (8H, m, PhCH₂ x 2, OCH₂C₆H₄CO₂Me, H-1 β and H-1' β), 3.93 (3H, s, OCH₂C₆H₄CO₂Me), 3.84-3.73 (4H, m, H-2, H-3, H-3', and H-4'), 3.76-3.62 (4H, m, H-4, H-5, H-2', and H-5'), 3.57-3.37 (4H, m, H-6, and H-6'), 2.50 (4H, s, OH x 4).

二糖成分を結合させた樹脂 **30** を用いた固相グリコシル化反応の標準的な操作およびリンカー部分の切断（三糖合成）

糖成分を結合させた樹脂 **30** (SynPhase™ Lanterns-NH₂; 35.0 μmol/g) (7.7 μmol) を固相反応容器にとり、脱水ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した後、25% ピペリジン – ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を加えて 30 分間攪拌した。反応溶液を濾過し、樹脂をジクロロメタン、DMF およびメタノール (3.0 ml) で良く洗浄した。ついで、5% TMSOTf – 脱水ジクロロメタン溶液および脱水ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。(2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-glucosyl) trichloroacetoimidate (**19**) (19.5 mg, 23.1 μmol)、脱水ジクロロメタン (3.0 ml)、TMSOTf (0.3 μl, 1.5 μmol) の順に加え、固相反応装置で 3 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄して樹脂 **32** を得た。

続いて、樹脂 **32** を固相反応容器にとり、ジクロロメタン (2.0 ml)、メタノール (1.0 ml)、28% ナトリウムメチラート–メタノール溶液 (1.0 ml) を加えた。固相反応装置で 12 時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めて減圧濃縮した。濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー（クロロホルム：メタノール＝5：1）で精製して **33** (7.2 mg, quant) を無色油状物として得た。ESI-Mass (positive) *m/z* 945.5 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 7.84-7.21 (19H, m, PhCH₂ x 3 and OCH₂C₆H₄CO₂Me), 4.83-4.43 (10H, m, PhCH₂ x 3, OCH₂C₆H₄CO₂Me, H-1β, H-1'β and H-1''β), 3.93 (3H, s, OCH₂C₆H₄CO₂Me), 3.84-3.60 (12H, m, H-2, H-3, H-4, H-5, H-2', H-3', H-4', H-5', H-2'', H-3'', H-4'' and H-5''), 3.57-3.37 (4H, m, H-6, H-6', and H-6''), 2.50 (4H, s, OH x 7).

ガラクトースユニットの合成

Allyl 2,3,4,6-Penta-*O*-acethyl-β-D-glucopyranoside (**36**)

ガラクトース **34** (18.0 g, 0.10 mol) を無水酢酸 (300 ml) に懸濁させ、酢酸ナトリウム (4.1 g, 0.05 mol) を加えた。90 °C で 5 時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。トルエンを加えて共沸留去する操作を 3 回繰り返す、無水酢酸を完全に留去した。得られた濃縮残渣に酢酸エチルと飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて酢酸エチルに抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮して完全アセチル化体 (40.1 g, quant) を得た。完全アセチル化体 (19.5 g, 0.05 mol) のジクロロメタン (200 ml) 溶液に、アリルアルコール (17.5 ml, 0.15 mol)、BF₃·Et₂O (19.0 ml, 0.15 mmol) を順次加えた。室温で 12 時間攪拌した後、濃縮してジクロロメタンを留去した。

濃縮残渣に酢酸エチルと飽和炭酸水素ナトリウム水溶液を加えて酢酸エチルに抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣をエーテルとヘキサンの混合溶媒で洗浄してアリルガラクトシド **36** (19.5 g, quant) を得た。濃縮残渣は精製せずに次の反応に用いた。

Allyl 4,6-*O*-Benzylidene- β -D-galactopyranoside (**37**)

アリルガラクトシド **36** (19.5 g, 0.05 mol) をメタノール (200 ml) に溶解し、ナトリウムメチラート-メタノール溶液 (10.0 ml) を加えた。5 時間攪拌した後、溶液に 1N 塩酸を加えて中和して反応溶液を減圧濃縮した。トルエンを用いて共沸を 3 回繰り返す、水を完全に留去した。得られた濃縮残渣をアセトニトリル (250 ml) に懸濁させ、ベンズアルデヒドジメチルアセタール (15.0 ml, 0.10 mol) と *p*-トルエンスルホン酸 (1.9 g, 0.01 mol) を順次加え室温で 5 時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (200 ml) を加えると褐色の個体が析出してきた。得られた個体を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、クロロホルム：メタノール=10：1) で精製して **37** (17.5 g, 57% (**35** から二段階の収率)) を白色個体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 331.1 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 7.50-7.35 (5H, m, PhCH), 5.90 (1H, m, OCH₂-CH=CH₂), 5.56 (1H, s, PhCH), 4.73 (1H, d, J =7.9 Hz, H-1), 4.28 (1H, dd, J =10.1, 4.8 Hz, H-6a), 4.15 (1H, m, OCH₂-CH=CH₂), 4.04-3.92 (3H, m, H-2, H-3 and OCH₂-CH=CH₂), 3.85 (1H, dd, J =10.1, 4.8 Hz, H-5), 3.76 (1H, d, J =10.1 Hz, H-6b), 3.57 (1H, dd, J =9.2, 4.8 Hz, H-4), 2.61 (2H, s, 2,3-OH).

Allyl 4,6-*O*-Benzylidene-3-*O*-(9-fluorenylmethyloxycarbonyl)- β -D-galactopyranoside (**38**)

ベンジリデン体 **37** (1.54 g, 5.0 mmol) をアセトニトリル (50 ml) に溶解して、ピリジン (50 ml) と FmocCl (2.58 g, 10.0 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。飽和クエン酸水溶液と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、クロロホルム：メタノール=20：1) で精製して **38** (1.67 g, 63%) を白色個体として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 553.1 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 8.01-7.24 (9H, m, C₁₃H₉-CH₂-OCO(Fmoc)), 5.94-5.88 (1H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.37-5.26 (2H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.54 (1H, s, PhCH), 4.74 (1H, dd, J =10.2, 3.6 Hz, H-3), 4.50 (1H, d, J =7.9 Hz, H-1), 4.93-4.73 (2H, m,

OCH₂CH=CH₂), 4.41 (1H, dd, $J=10.2, 7.9$ Hz, H-2), 4.26 (1H, dd, $J=10.4, 5.2$ Hz, H-6a), 3.94 (2H, s, C₁₃H₉-CH₂-OCO(Fmoc)), 3.88-3.86 (1H, m, H-5), 3.75-3.72 (1H, m, H-4), 3.62 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-6b).

Allyl 2-*O*-Benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(9-fluolenylmethyloxycarbonyl)- β -D-galactopyranoside (39)

2-OH 体 **38** (1.59 g, 3.0 mmol) をジクロロメタン (50 ml) に溶解して、ピリジン (50 ml) と BzCl (0.70 ml, 6.0 mmol) を加え、室温で 3 時間攪拌した。飽和クエン酸水溶液と酢酸エチルを加えて分配し、水層を酢酸エチルで 2 回抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄、ついで硫酸マグネシウムで乾燥した後、減圧濃縮した。濃縮残渣を中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、クロロホルム：メタノール = 20 : 1) で精製して **39** (1.77 g, 93%) を黄色油状物として得た。

$[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -98$ (c 1.10, CHCl₃); ESI-Mass (positive) m/z 657.2 [(M+Na)⁺]; ¹H NMR (CDCl₃) δ = 8.00-7.24 (14H, m, PhCO and C₁₃H₉-CH₂-OCO(Fmoc)), 5.94-5.88 (1H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.74 (1H, dd, $J=10.4, 7.8$ Hz, H-2), 5.57 (1H, s, PhCH), 5.37-5.26 (2H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.03 (1H, dd, $J=10.4, 3.6$ Hz, H-3), 4.70 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1), 4.93-4.73 (2H, m, OCH₂CH=CH₂), 4.27 (2H, s, C₁₃H₉-CH₂-OCO(Fmoc)), 4.15-4.10 (1H, m, H-6a), 4.09-4.03 (1H, m, H-5), 3.62-3.55 (2H, m, H-4 and H-6b).

2-*O*-Benzoyl-4,6-*O*-benzylidene-3-*O*-(9-fluolenylmethyloxycarbonyl)-D-galactopyranosyl trichloroacetimidate (40)

アリル体 **39** (1.26 g, 2.0 mmol) を無水テトラヒドロフラン (50 ml) に溶解し窒素置換を行い、イリジウム錯体 [Ir(cyclooctadienyl)(PMe₂Ph₂)₂](PF₃) (25.4 mg, 0.03 mmol) を加えた。水素置換して錯体を活性化させて 1 分間攪拌、ついで脱気して窒素置換するという操作を 3 回繰り返した。室温で 1 時間攪拌した後、水 (50 ml)、ヨウ素 (0.51 g, 2.0 mmol) を加え室温で 1 時間攪拌した。5% チオ硫酸ナトリウム水溶液を加え酢酸エチルで抽出し、5% チオ硫酸ナトリウム水溶液及び飽和 NaCl 水溶液で 1 回ずつ洗浄し Mg₂SO₄ で乾燥した。乾燥剤を除去して減圧濃縮し、中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、クロロホルム：アセトン = 10 : 1) で精製して白色固体 (1.16 g, 98%) を得た。

脱プロペニル体 (1.16 g, 1.96 mmol) にモレキュラーシーブス 4 Å を加えたものを窒素雰囲気下で無水ジクロロメタン (40 ml) に溶かしトリクロロアセトニトリル (1.0 ml, 10.0

mmol)、炭酸セシウム (0.33 g, 2.0 mmol) を順次加えた。2 時間攪拌した後、反応液に水と酢酸エチルを加えて分配し、水層を 2 回抽出した。飽和 NaCl 水溶液で 1 回洗浄し無水 Mg_2SO_4 で乾燥した後、減圧濃縮した。ベンゼンに溶解させて凍結乾燥を行い淡黄色の固体 **40** を得た。**40** は精製せずにそのまま次の反応に用いた。

グルコサミンユニットの合成

Allyl 4,6-O-Benzylidene-2-deoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)- α -D-glucopyranoside (**42**)

N-アセチルグルコサミン **41** (18.0 g, 0.10 mol) をアリルアルコール (291 ml, 0.50 mol) に懸濁させ、クロロトリメチルシラン (63.0 ml, 0.50 mol) を加えた。60 °C で 5 時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。トルエンを加えて共沸留去する操作を 3 回繰り返し、アリルアルコールを完全に留去した。得られた濃縮残渣をアセトニトリル (250 ml) に懸濁させた。ベンズアルデヒドジメチルアセタール (22.5 ml, 0.15 mmol) と *p*-トルエンスルホン酸 (1.9 g, 0.01 mol) を順次加え室温で 5 時間攪拌した。反応液に飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (200 ml) を加えると褐色の個体が析出してきた。得られた個体をエーテル、ヘキサンの混合溶液でよく洗浄して、**42** (33.7 g, 70%) を白色固体として得た。

^1H NMR (CDCl_3) δ = 7.50-7.35 (5H, m, PhCH), 5.90 (1H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 5.56 (1H, s, PhCH), 5.33-5.29 (3H, m, NH and $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 4.93 (1H, d, $J=3.2$ Hz, H-1), 4.82 (1H, d, $J=11.9$ Hz, $\text{CCl}_3\text{CH}_2\text{OCO}$), 4.79 (1H, d, $J=11.9$ Hz, $\text{CCl}_3\text{CH}_2\text{OCO}$), 4.28 (1H, dd, $J=10.1, 4.8$ Hz, H-6a), 4.15 (1H, m, $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 4.04-3.92 (3H, m, H-2, H-3 and $\text{OCH}_2\text{-CH=CH}_2$), 3.85 (1H, ddd, $J=10.1, 9.2, 4.8$ Hz, H-5), 3.76 (1H, dd, $J=10.1, 10.1$ Hz, H-6b), 3.57 (1H, dd, $J=9.2, 9.1$ Hz, H-4), 2.61 (1H, s, 3-OH).

1-Propenyl 4,6-O-Benzylidene-2-deoxy-2-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)- α -D-glucopyranoside (**43**)

4,6-ベンジリデン体 **42** (19.0 g, 39.3 mmol) を無水テトラヒドロフラン (200 ml) に溶解し窒素置換を行い、イリジウム錯体 $[\text{Ir}(\text{cyclooctadienyl})(\text{PMe}_2\text{Ph}_2)_2]\text{PF}_6$ (0.50 g, 0.59 mmol) を加えた。水素置換して錯体を活性化させて 1 分間攪拌、ついで脱気して窒素置換するという操作を 3 回繰り返した。室温で 1 時間攪拌した後、反応溶液を減圧濃縮した。得られたプロペニル体を窒素雰囲気下で無水ジクロロメタン (100 ml) -ピリジン (100 ml) の混合溶媒に溶かした。反応液を氷冷しながらクロロギ酸アリル (8.36 ml, 78.8 mmol) を

少量ずつ加え室温で 5 時間攪拌した。ジクロロメタンを濃縮した後、酢酸エチル、0.1N 塩酸水溶液を加えて分配し、水層を酢酸エチルで 3 回抽出した。飽和食塩水で一回洗浄後、MgSO₄で乾燥し、中圧カラムクロマトグラフィー（シリカゲル 500 g、トルエン：酢酸エチル=30:1）で精製して **43**（14.7 g, 66%）を白色固体として得た。

m.p.: 96-98 °C; [α]_D²⁴ = +65.9 (c 1.00, CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃) δ = 7.45-7.35 (5H, m, PhCH), 6.15-6.07 (1H, m, OCH=CHCH₃), 5.92-5.84 (1H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.54 (1H, s, PhCH), 5.40 (1H, d, *J* = 24.4 Hz, NH), 5.32 (2H, dd, *J* = 17.3, 6.3 Hz, OCH₂CH=CH₂), 5.27-5.19 (2H, m, H-3 and OCH=CHCH₃), 5.11 (1H, d, *J* = 3.4 Hz, H-1), 4.82 (1H, d, *J* = 12.2 Hz, CH₂ of Troc), 4.71-4.60 (m, 3 H, CH₂ of Troc and OCH₂CH=CH₂), 4.29 (1H, dd, *J* = 10.3, 4.4 Hz, H-6a), 4.17-4.13 (1H, m, H-2), 3.92 (1H, td, *J* = 9.7, 4.7 Hz, H-6b), 3.80-3.75 (2H, m, H-4 and H-5), 1.68-1.56 (3H, m, OCH=CHCH₃); Found: C, 48.79; H, 4.53; N, 2.49%, Calcd. for C₂₃H₂₆Cl₃NO₉: C, 48.74; H, 4.62; N, 2.47%.

Propenyl 3-*O*-Allyloxycarbonyl-6-*O*-benzyl-2-deoxy-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)-α-D-glucopyranoside (44**)**

Alloc 体 **43**（11.3 g, 20.0 mmol）を窒素雰囲気下でジクロロメタン（200 ml）に溶解し、氷冷下 Et₃SiH（23.2 g, 200 mmol）、BF₃·Et₂O（5.2 ml, 40.0 mmol）を順次加えた。2 時間攪拌した後氷冷した飽和 NaHCO₃ 水溶液と酢酸エチルを加え分配し、水層を酢酸エチルで 3 回抽出した。飽和食塩水で一回洗浄後、MgSO₄で乾燥し、中圧カラムクロマトグラフィー（シリカゲル 500 g、トルエン：酢酸エチル=5:1）で精製して **44**（7.2 g, 63%）を無色油状物として得た。

[α]_D²⁴ = +58.7 (c 1.01, CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃) δ = 7.45-7.35 (5H, m, PhCH₂), 6.16-6.05 (1H, m, OCH=CHCH₃), 5.94-5.88 (1H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.37-5.26 (3H, m, NH and OCH₂CH=CH₂), 5.21-5.17 (1H, m, OCH=CHCH₃), 5.09 (1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-3), 4.84 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH₂ of Troc), 4.64-4.53 (5H, m, CH₂ of Troc, PhCH₂ and OCH₂CH=CH₂), 4.07-4.06 (1H, m, H-2), 3.91-3.79 (3H, m, H-4, H-5, and H-6a), 3.70-3.68 (1H, m, H-6b), 1.68-1.56 (3H, m, OCH=CHCH₃); Found: C, 48.28; H, 4.83; N, 2.47%, Calcd. for C₂₃H₂₈Cl₃NO₉: C, 48.56; H, 4.96; N, 2.46%

Propenyl 3-*O*-Allyloxycarbonyl-6-*O*-benzyl-2-deoxy-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)-4-*O*-(9-fluolenylmethyloxycarbonyl)-α-D-glucopyranoside (45**)**

4-OH 体 **44**（5.68 g, 10.0 mmol）を窒素雰囲気下で無水ジクロロメタン（100 ml）-

ピリジン (100 ml) の混合溶媒に溶かした。反応液を氷冷しながら FmocCl (5.18 g, 20.0 mmol) を加え室温で 5 時間攪拌した。ジクロロメタンを濃縮した後、酢酸エチル、0.1N 塩酸水溶液を加えて分配し、水層を酢酸エチルで 3 回抽出した。飽和食塩水で一回洗浄後、MgSO₄ で乾燥し、中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、トルエン：酢酸エチル=7:1 (1,1,1,2,2,2-ヘキサフルオロイソプロパノールを 0.2% 含む)) で精製して **45** (7.35 g, 93%) を黄色油状物として得た。

$[\alpha]_D^{22} = +137$ (c 1.01, CHCl₃); ESI-Mass (positive) m/z 812.1 [(M+Na)⁺]; ¹H-NMR (CDCl₃) δ = 7.93-7.50 (9H, m, C₁₃H₉-CH₂-OCO(Fmoc)), 7.45-7.35 (5H, m, Ph-CH₂), 6.16-6.05 (1H, m, OCH=CHCH₃), 5.94-5.88 (1H, m, OCH₂CH=CH₂), 5.37-5.26 (3H, m, NH and OCH₂CH=CH₂), 5.21-5.17 (1H, m, OCH=CHCH₃), 5.09 (1H, d, *J* = 10.0 Hz, H-3), 4.84 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, CH₂ of Troc), 4.64-4.53 (5H, m, CH₂ of Troc, Ph-CH₂ and OCH₂CH=CH₂), 4.07-4.06 (1H, m, H-2), 3.91-3.79 (3H, m, H-4, H-5, and H-6a), 3.95 (2H, s, C₁₃H₉-CH₂-OCO(Fmoc)), 3.70-3.68 (1H, m, H-6b), 1.68-1.56 (3H, m, OCH=CHCH₃).

3-*O*-Allyloxycarbonyl-6-*O*-benzyl-2-deoxy-(2,2,2-trichloroethoxycarbonylamino)-4-*O*-(9-fluolenylmethyloxycarbonyl)-D-glucopyranosyl trichloroacetoimidate (**46**)

1-プロペニル体 **45** (3.96 g, 50.0 mmol) を無水テトラヒドロフラン (50.0 ml)、水 (50.0 ml) の混合溶媒に溶かし、ヨウ素 (1.26 g, 50.0 mmol) を加え室温で 1 時間攪拌した。5% チオ硫酸ナトリウム水溶液を加え酢酸エチルで抽出し、5% チオ硫酸ナトリウム水溶液及び飽和 NaCl 水溶液で 1 回ずつ洗浄し Mg₂SO₄ で乾燥した。乾燥剤を除去して減圧濃縮し、中圧カラムクロマトグラフィー (シリカゲル 200 g、トルエン：酢酸エチル=4:1) で精製して白色固体 (3.67 g, 98%) を得た。

脱プロペニル体 (3.67 g, 48.9 mmol) にモレキュラーシーブス 4 Å を加えたものを窒素雰囲気下で無水ジクロロメタン (100 ml) に溶かしトリクロロアセトニトリル (24.5 ml, 245 mmol)、炭酸セシウム (3.98 g, 24.5 mmol) を順次加えた。2 時間攪拌した後、反応液に水と酢酸エチルを加えて分配し、水層を 2 回抽出した。飽和食塩水で 1 回洗浄し無水 Mg₂SO₄ で乾燥した後、減圧濃縮した。ベンゼンを用いて凍結乾燥を行って淡黄色の固体 **46** (4.3 g, quant) を得た。**46** は精製せずにそのまま次の反応に用いた。

糖成分を結合させた樹脂 **28** を用いた固相グリコシル化反応の標準的な操作

糖成分を結合させた樹脂 **28** (SynPhaseTM Lanterns-NH₂; 35.0 μmol/g) (7.7 μmol) を固

相用反応容器にとり、脱水ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した後、25% ピペリジーン-ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を加えて 30 分間攪拌した。反応溶液を濾過し、樹脂をジクロロメタン、DMF およびメタノール (3.0 ml) で良く洗浄して **29** を得た。

ついで 5% TMSOTf - 脱水ジクロロメタン溶液および脱水ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した後、4,6-*O*-Benzylidene-2-*O*-benzoyl-3-*O*-(9-fluorenyl)methyloxycarbonyl-D-galactopyranosyl trichloroacetimidate (**40**) (17.1 mg, 23.1 μ mol)、脱水ジクロロメタン (3.0 ml)、TMSOTf (0.3 μ l, 1.5 μ mol) の順に加え、固相用反応装置で 3 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄して樹脂 **47** を得た。

二糖成分を結合させた樹脂 **47** を用いた固相グリコシル化反応の標準的な操作およびリンカー部分の切断

糖成分を結合させた樹脂 **47** (SynPhaseTM Lanterns-NH₂: 35.0 μ mol/g) (7.7 μ mol) を固相用反応容器にとり、脱水ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した後、25% ピペリジーン-ジクロロメタン溶液 (3.0 ml) を加えて 30 分間攪拌した。反応溶液を濾過し、樹脂をジクロロメタン、DMF およびメタノール (3.0 ml) で良く洗浄して **48** を得た。ついで、5% TMSOTf - 脱水ジクロロメタン溶液および脱水ジクロロメタン (3.0 ml) で洗浄した。グルコサミンユニット (**46**) (2.9 mg, 23.1 μ mol)、脱水ジクロロメタン (3.0 ml)、TMSOTf (0.3 μ l, 1.5 μ mol) の順に加え、固相用反応装置で 3 時間振盪した。反応溶液をろ去し、樹脂を DMF、ジクロロメタン (5.0 ml) で 2 回ずつ洗浄して樹脂 **49** を得た。

続いて、樹脂 **49** を固相用反応容器にとり、ジクロロメタン (2.0 ml)、メタノール (1.0 ml)、28% ナトリウムメチラート - メタノール溶液 (1.0 ml) を加えた。固相用反応装置で 12 時間振盪した後、反応溶液をろ過した。樹脂を酢酸エチルでよく洗浄した後、洗浄液とろ過液を集めて減圧濃縮した。

濃縮残渣をメタノール (2.0 ml)、ジクロロエタン (2.0 ml) に溶解し、水酸化バリウム (171 mg, 1.0 mmol) を加えて、60°C で 5 時間攪拌した。反応溶液を減圧濃縮し、得られた濃縮残渣を分取薄層カラムクロマトグラフィー (クロロホルム：メタノール = 5 : 1) で精製して **50** (7.2 mg, 導入量 7.7 μ mol から換算して quant) を無色油状物として得た。

ESI-Mass (positive) m/z 942.3 [(M+Na)⁺].

参考文献

- 1) K. Fukase, I. Kinoshita, T. Kanoh, Y. Nakai, A. Hasuoka, and S. Kusumoto, *Tetrahedron*, **52**, 3897 (1996).
- 2) (a) M.P. DeNinno, J.B. Etienne, and K.C. Duplantier, *Tetrahedron Lett.*, **36**, 669 (1995),
(b) A Arasappan and B. Fraser-Reid, *J. Org. Chem.*, **61**, 2401 (1996).
- 3) Y. Imai, M.S. Singer, C. Fennie, L.A. Lasky, and S.D. Rosen, *J. Cell Biol.*, **113**, 1213 (1991),
(b) Y. Imai, L.A. Lasky, and S.D. Rosen, *Nature*, **361**, 555 (1993).
- 4) M.B. Lawrence, T.A. Springer, *Cell*, **65**, 859 (1991).
- 5) (a) K. Baba, N. Iwata, H. Hamajima, T. Ikami, H. Ishida, A. Hasegawa, and M. Kiso, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 590 (1998), (b) H. Ito, K. Ishida, M. Kiso, and A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.*, **304**, 187 (1997), (c) Y. Makimura, H. Ishida, M. Kiso, and A. Hasegawa, *J. Carbohydr. Chem.*, **15**, 1097 (1996), およびその引用文献.
- 6) (a) K.M. Koeller, M.E.B. Smith, R.F. Huang, and C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 4241 (2000), (b) S.P. Vincent, A. Schleyer, and C.-H. Wong, *J. Org. Chem.*, **65**, 4440 (2000), (c) K. Witte, O. Seitz, and C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 1979 (1998), およびその引用文献.
- 7) F. Roussel, L. Knerr, M. Grathwohl, and R.R. Schmidt, *Org. Lett.*, **2**, 3043 (2000).
- 8) Y. Fukase, S.-Q. Zhang, K. Iseki, M. Oikawa, K. Fukase, and S. Kusumoto, *Synlett*, in press.
- 9) M. Oikawa, W-C Liu, Y. Nakai, S. Koshida, K. Fukase and S. Kusumoto, *Synlett*, **1996**, 1179.

謝辞

本研究は大阪大学大学院理学研究科化学専攻・楠本研究室で行われたものであり、終始暖かい御指導、御助言をいただきました楠本正一教授に心から篤くお礼申し上げます。また学位論文執筆に際し、御指導、御助言をいただきました大阪大学蛋白質研究所 相本三郎教授に心からお礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、公私に互り御指導、御助言をいただきました深瀬浩一助教授に篤くお礼申し上げます。また、隅田泰生助教授、及川雅人助手および卒業生をはじめとする楠本研究室の皆様に深く感謝いたします。

各種の機器分析をしていただいた大阪大学理学部機器分析測定室の皆様に感謝いたします。また NMR の測定に際し、御便宜を図っていただきました大阪大学産業科学研究所 笹井宏明教授にお礼申し上げます。

最後に著者の研究生活を支えてくれた両親に深く感謝いたします。