

学位論文 博士（工学）

位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応
の開発と病原菌抗原糖鎖合成への応用

2020 年度

慶應義塾大学大学院理工学研究科

西 信哉

目次

略語表.....	v
序論.....	1
緒言.....	2
第1章 1,2- <i>cis</i> - β -立体選択的グリコシル化反応	6
1.1 分子内アグリコン転移を利用した 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシル化反応.....	7
1.2 不溶性の銀塩及びハロゲン化糖を用いた 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシル化反応.....	8
1.3 架橋構造を有する糖供与体を用いた 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシル化反応.....	9
1.4 2位にスルホニル基を有する糖供与体を用いた 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシル化反応 ..	12
1.5 アノマー位アルキル化反応による 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシル化反応.....	13
1.6 金触媒を用いた 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシル化反応.....	14
1.7 ビスチオウレア触媒を用いた 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシル化反応.....	15
1.8 水素結合媒介アグリコン転移による 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシル化反応.....	16
第2章 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシド結合を有する病原菌抗原糖鎖の合成.....	18
2.1 間接的な手法を駆使した 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシド結合を有する病原菌抗原糖鎖の 合成	18

2.2 直接的な手法を駆使した 1,2- <i>cis</i> - β -グリコシド結合を有する病原菌抗原糖鎖の 合成	20
第 3 章 位置及び立体選択的グリコシル化反応	27
3.1 有機スズ化合物を用いた位置及び立体選択的グリコシル化反応	27
3.2 スクロース糖受容体を用いた位置及び立体選択的グリコシル化反応	29
3.3 有機ホウ素化合物を用いた位置及び 1,2- <i>trans</i> -立体選択的グリコシル化反応	30
第 4 章 ホウ素媒介アグリコン転移反応を利用した 1,2- <i>cis</i> -立体選択的グリコシル化 反応	33
4.1 ボリン酸触媒を用いた 1,2- <i>cis</i> -立体選択的グリコシル化反応	33
4.2 ボロン酸触媒を用いた位置及び 1,2- <i>cis</i> - α -立体選択的グリコシル化反応	35
第 5 章 本論文の概要	36
本論	40
第 1 章 ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的マンノシル化反応の開発と応 用	41
1.1 研究目的	41
1.2 反応条件の最適化	42

1.3 基質一般性の検討.....	48
1.4 大腸菌 O75 由来糖鎖合成への応用	51
1.5 結論.....	56
第2章 有機ホウ素化合物を用いた β -立体選択的ラムノシル化反応の開発と応用..	58
2.1 研究目的	58
2.2 ポリン酸触媒を用いた β -ラムノシル化反応の反応条件検討	59
2.3 反応機構解析	60
2.4 基質一般性の検討.....	64
2.5 ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的ラムノシル化反応の開発.....	67
2.6 肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通糖鎖抗原である三糖鎖誘導体合成への応用	69
2.7 結論.....	71
第3章 病原性大腸菌 O1 由来五糖鎖の合成と鳥類病原性大腸菌 O1 の抗原候補糖鎖 の解明.....	74
3.1 研究背景	74
3.2 研究目的	75

3.3 分子デザインと逆合成解析	76
3.4 APEC O1 抗原候補五糖鎖誘導体 266 の合成	77
3.5 APEC O1 抗原候補糖鎖誘導体 348 及び 349 の合成	81
3.6 APEC O1 抗原候補糖鎖-タンパク質複合体の合成	82
3.7 APEC O1 抗原候補糖鎖の解明	85
3.8 結論	90
結論	93
実験の部	97
参考文献	273
謝辞	279

略語表

Ac	acetyl
All	allyl
AIBN	azobis(isobutyronitrile)
Ar	aryl
aq.	aqua
Bn	benzyl
BMAD	boron mediated aglycon delivery
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
BSA	bovine serum albumin
BSP	1-benzenesulfinylpiperidine
Bu	butyl
Bz	benzoyl
CAN	ceric ammonium nitrate
Cbz	carbobenzoxy
CFU	colony forming unit
CPS	capsular polysaccharide
DBU	1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-ene
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano- <i>p</i> -benzoquinone
DFT	density functional theory
DMAP	dimethylaminopyridine
DMBPY	4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine
DMF	<i>N, N</i> -dimethylformamide
DMTST	dimethyl(methylthio)sulfonium trifluoromethanesulfonate
DMSO	dimethylsulfoxide
DTBMP	2,6-di- <i>tert</i> -butyl-4-methylpyridine
ELISA	enzyme-linked immune sorbent assay
Et	ethyl
HAD	hydrogen bond mediated aglycon delivery
HRMS	high resolution mass spectrometry
IAD	intramolecular aglycon delivery
IBO	isobutylene oxide
IRC	intrinsic reaction coordinate
KIE	kinetic isotope effect

LPS	lipopolysaccharide
MALDI	matrix assisted laser desorption ionization
Me	methyl
MeCN	acetonitrile
MS	molecular sieves
Ms	methanesulfonyl
NAP	naphthylmethyl
NBO	natural bond orbital
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
NMR	nuclear magnetic resonance
OD	optical density
OPD	<i>o</i> -phenylenediamine
PBS	phosphate-buffered saline
Ph	phenyl
Phth	phthaloyl
Pico	picoloyl
Piv	pivaloyl
PMB	<i>p</i> -methoxybenzyl
PMP	<i>p</i> -methoxyphenyl
Pr	propyl
RMSD	root mean square deviation
rt	room temperature
TBAB	tetra- <i>n</i> -butylammonium bromide
TBAI	tetra- <i>n</i> -butylammonium iodide
TBAN ₃	tetra- <i>n</i> -butylammonium azide
TBDPS	<i>tert</i> -butyldiphenylsilyl
TBS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
TCA	trichloroacetyl
Tf	trifluoromethanesulfonyl
TFA	trifluoroacetic acid
TMS	trimethylsilyl
Troc	2,2,2-trichloroethoxycarbonyl
Ts	<i>p</i> -toluenesulfonyl
TTBP	2,4,6-tri- <i>tert</i> -butylpyrimidine

序論

緒言

近年、糖鎖の生物学的機能が次々に解明され、糖鎖は、エネルギー貯蔵物質や単なる細胞構成成分といった印象を脱し、核酸、タンパク質に次ぐ「第3の生命鎖」として位置づけられるようになった。糖鎖は、グルコース、マンノース、ガラクトース及びラムノース等の単糖がグリコシド結合を介して結合した化合物であり、複数の単糖が連結するグリコシド結合の位置と立体化学によって、多様な分子構造を有している。糖鎖は、その構造多様性によって、細胞接着、タンパク質のフォールディング、及び免疫誘導など多様な生命現象において重要な役割を担っており、医薬品や化粧品の素材として注目されている¹。とりわけ、1917年に、Dochez や Avery らによって、肺炎球菌(*Streptococcus pneumoniae*, *S. pneumoniae*)の莢膜多糖(capsular polysaccharide, CPS)が単離されてから²、病原菌由来の特異的な糖鎖の免疫原性が注目を集め、病原菌由来糖鎖を抗原に利用したワクチン開発が盛んに行われている³(Figure 1)。実際、1946年に、肺炎球菌 CPS を用いた6価の肺炎球菌ワクチンが2種類、アメリカではじめて承認されている⁴。さらに、1977年及び1983年には、14価及び23価の肺炎球菌ワクチンがそれぞれ承認されている⁵。また、1929年に、Avery と Goebel らは、CPS の免疫原性が、CPS をキャリアタンパク質に結合させることで向上することを報告しており⁶、1987年に、インフルエンザ菌 b 型(*Haemophilus influenzae* type b, Hib)CPS とキャリアタンパク質とを結合させた複合糖質ワクチンが2歳以下の子供にも有効な Hib ワクチンとして、アメリカではじめて承認されている⁷。しかし、これまでに承認されている糖鎖を利用したワクチンの多くは、構造が不均一かつ、その他の分子との混合物として得られる病原菌から単離した抗原糖鎖を利用しており、複雑な精製工程や製造バッチ間の再現性などの課題が残されている。そこで、病原菌を使用しないことから安全性の向上や製造バッチ間の再現性の向上が期待できる、抗原糖鎖の化学合成による供給が近年注目されている²。

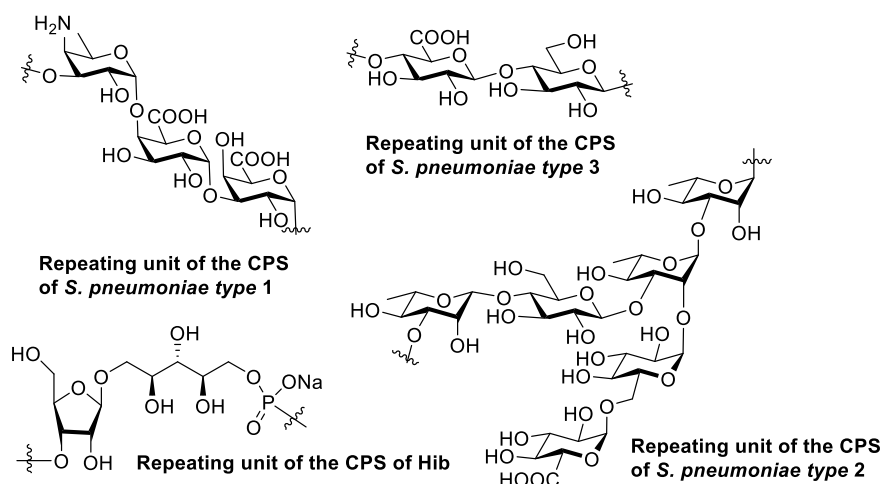


Figure 1 様々な病原菌の抗原糖鎖

実際に、化学合成した抗原糖鎖をキャリアタンパク質の一種である破傷風トキソイド (tetanus toxoid, TT) に複合化した Hib ワクチン⁸(Quimi-Hib[®], **Figure 2**)が 2010 年に、WHO の事前承認を経て、世界で実用化されている。また、細菌性赤痢の原因菌の 1 つであるフレクスナー赤痢菌 2a 型(*Shigella flexneri* type 2a, SF2a)の合成抗原糖鎖を用いたワクチン(SF2a-TT15, **Figure 3**)は、フェーズ 2 の臨床試験が行われている⁹。したがって、病原菌抗原糖鎖の効率的な化学合成法の開発は、安全性の高いワクチンの開発に大きく貢献することが期待される。

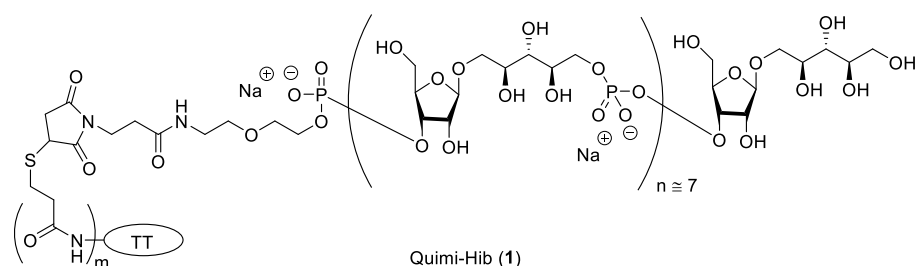


Figure 2 化学合成抗原糖鎖を用いた Hib ワクチン(Quimi-Hib[®])

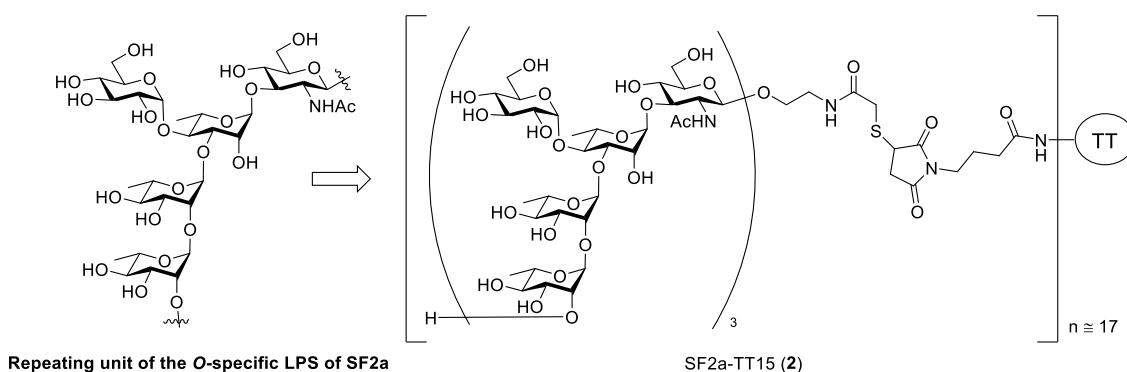


Figure 3 化学合成抗原糖鎖を用いた SF2a ワクチン(SF2a-TT15)

糖鎖を化学合成する上で、最も重要であるのが、糖と糖（または非糖）を連結するグリコシル化反応である。一般にグリコシル化反応は、アノマー位に脱離基を有する糖供与体と水酸基を有する糖受容体を用いた反応であり、糖供与体の脱離基を活性化した後生じるオキソニウムカチオン中間体に対し、糖受容体の水酸基が求核攻撃することで、反応が進行する(**Figure 4**)。この際、糖受容体の接近方向によって、1,2-*trans*-グリコシドと 1,2-*cis*-グリコシドの 2 種類の化合物が生成し得るため、立体化学の制御が重要であり、様々な手法が報告されている¹⁰。

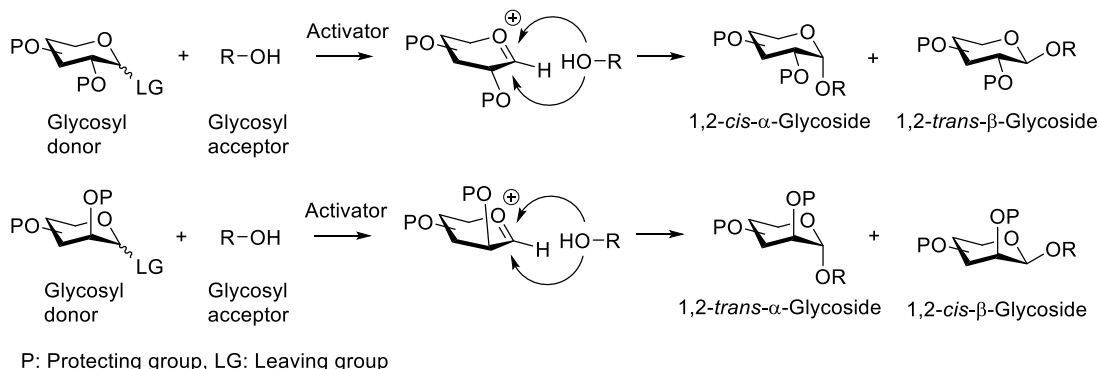


Figure 4 一般的なグリコシル化反応

しかし、β-マンノシドやβ-ラムノシドをはじめとする 1,2-*cis*-β-グリコシドは、後述するように 2 位アシル系保護基による隣接基関与やアノマー効果が利用できず、かつ 1 位と 2 位置換基間に立体障害が生じるため、その立体選択的合成は未だ困難である¹¹。1,2-*cis*-β-グリコシドは、大腸菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)や肺炎球菌をはじめとする様々な病原菌の抗原糖鎖中に存在している¹²(**Figure 5**)。したがって、合成糖鎖を用いた安全性の高いワクチン開発のために、1,2-*cis*-β-グリコシドを有する病原菌抗原糖鎖の効率合成法の確立は非常に重要であり、1,2-*cis*-β-グリコシドを立体選択的に合成する新手法の開発が急務である。

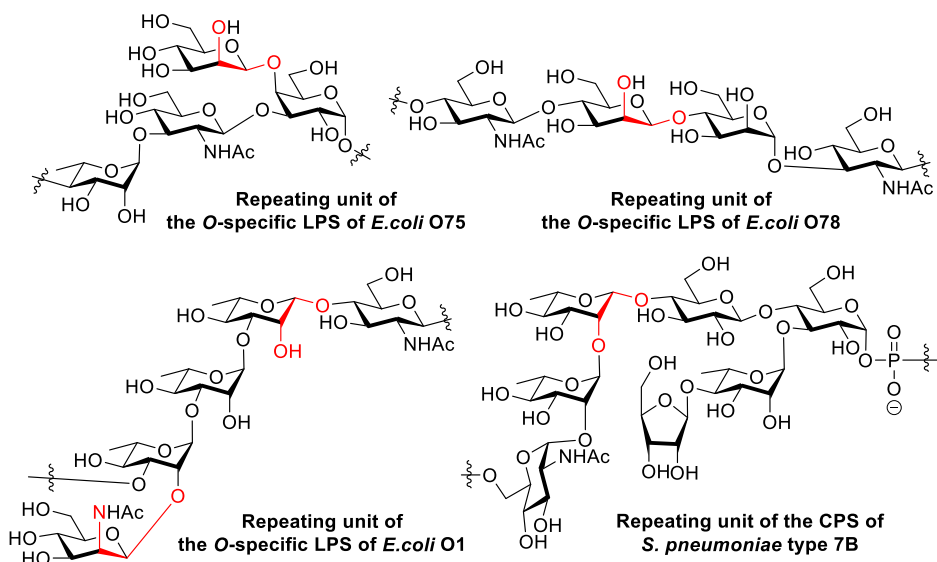


Figure 5 1,2-*cis*-β-グリコシド結合を有する病原菌抗原糖鎖

また、糖鎖は、多数の水酸基を有する単糖がグリコシド結合で連なった構造を有するため、望む糖鎖を合成する上で、グリコシド結合の立体化学の制御に加えて、多数の水酸基の中から、糖が結合する位置を制御することが重要である。一般的なグリコシル化反応では、反応させる水酸基以外に保護基を導入したモノオールを糖受容体に用いることで、糖の結合位

置を制御している (**Figure 6**)。しかし、モノオール糖受容体の合成は、多くの場合、多様な保護・脱保護反応を駆使する必要があるため、多数の工程が必要になる点が課題となっている。

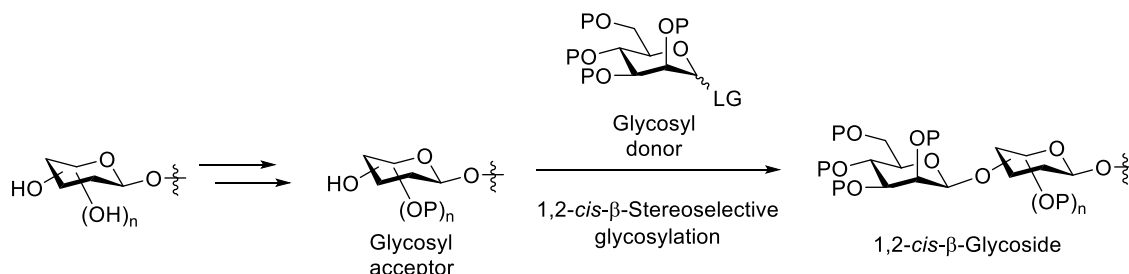


Figure 6 保護基を利用したグリコシル化反応の結合位置の制御

このような背景の中、近年、立体化学のみならず、結合する水酸基も同時に制御可能な、位置及び立体選択的グリコシル化反応が注目を集めている¹³。本反応は、容易に合成可能である、部分的に保護されたジオールまたはポリオールを糖受容体に用いることができるため、糖受容体合成における煩雑な保護・脱保護工程の簡略化が期待できる。しかし、現在までに報告されている位置及び立体選択的グリコシル化反応は、立体選択的合成が容易な 1,2-*trans*-グリコシド合成の手法が多く、1,2-*cis*-グリコシド合成の手法は当研究室の例を含めて数例しか報告されていない。したがって、1,2-*cis*-グリコシドの中でも、より合成が困難な 1,2-*cis*- β -グリコシドを含む病原菌抗原糖鎖の短工程での合成は非常に困難である。そこで、著者は、1,2-*cis*- β -グリコシドを効率的に合成する手法を開発すれば、糖鎖合成化学のみならずワクチンをはじめとする医薬品開発にも大きく貢献できると考え、位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応の開発と病原菌抗原糖鎖合成への応用を行った (**Figure 7**)。

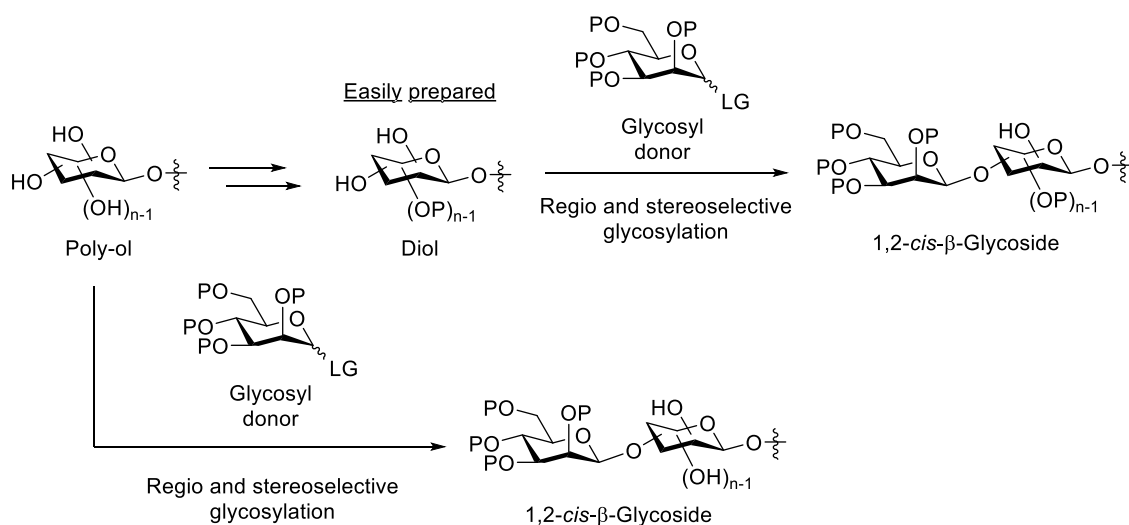


Figure 7 位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応

第 1 章 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応

グリコシド結合は、1位と2位の立体化学の関係により分類され、A) 1,2-*trans*- α -グリコシド結合、B) 1,2-*trans*- β -グリコシド結合、C) 1,2-*cis*- α -グリコシド結合、及びD) 1,2-*cis*- β -グリコシド結合の4つの結合様式がある(**Figure 1.1.1**)。そこで、望む結合様式のグリコシド結合を立体選択的に構築することが求められている。

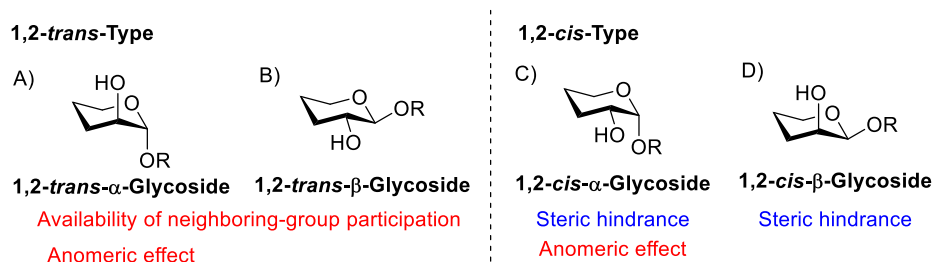


Figure 1.1.1 グリコシド結合の分類

一般に、1,2-*trans*型のグリコシド結合は、隣接基関与を利用したグリコシル化反応により、高い立体選択性で構築可能である。本手法では、2位にアシル系保護基を有する糖供与体を活性化させることで、2位置換基と同じ面が遮蔽されたアシルオキシニウムイオン中間体が生成する。そのため、2位置換基と逆の面からの糖受容体の求核攻撃が優先的に進行し、立体選択的に1,2-*trans*-グリコシドが得られることが見出されている(**Figure 1.1.2**)。

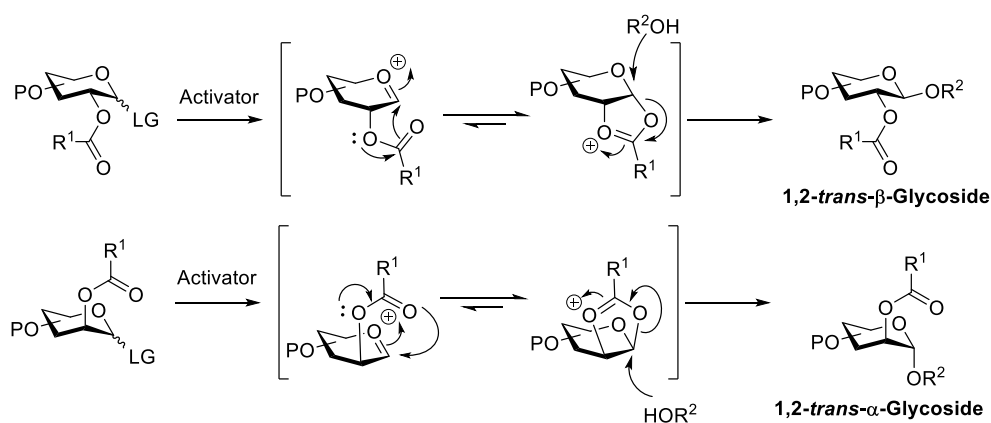


Figure 1.1.2 糖供与体2位アシル系保護基を利用した立体選択的グリコシル化反応

一方、1,2-*cis*型のグリコシド結合は、隣接基関与を駆使した立体選択的グリコシル化反応が利用できず、かつ1位と2位の置換基間に立体障害が生じることから、その立体選択的な構築が困難である。また、 β -グリコシド結合は、アノマー効果による安定化を受けられる

α -グリコシド結合と比較して構築が困難である。したがって、1,2-*cis*- β -グリコシド結合は4つの結合様式の中で、立体選択的な構築が最も困難である¹¹。現在までに、様々な手法が開発されているが、立体選択性や基質一般性等に課題を残しており、 β -マンノシドや β -ラムノシドをはじめとする1,2-*cis*- β -グリコシドを立体選択的かつ効率的に合成可能な新規反応の開発が強く求められている。以下に、これまで開発されてきた1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応について述べる。

1.1 分子内アグリコン転移を利用した1,2-*cis*- β -グリコシル化反応

1991年、Higds Gaulらは、分子内アグリコン転移(intramolecular aglycon delivery, IAD)を用いた β -マンノシドの立体選択的合成法を報告している¹⁴(Figure 1.1.3)。まず、糖供与体として2位にビニル基を有するチオ糖**3**を用い、糖受容体**4**存在下において、*p*-トルエンスルホン酸を作用させることで、糖供与体の2位に糖受容体**4**が結合したグリコシル化前駆体**5**が得られる。次に、脱離基を活性化させることで、2位置換基と同じ面から糖受容体がアノマー位に分子内で転移し、高立体選択的に β -マンノシド**6**が得られることが見出されている。これまでに、糖供与体と糖受容体を架橋するテザー分子が数多く開発され、多様な改良法が β -マンノシドや β -ラムノシドの立体選択的合成手法として利用されている¹⁵。

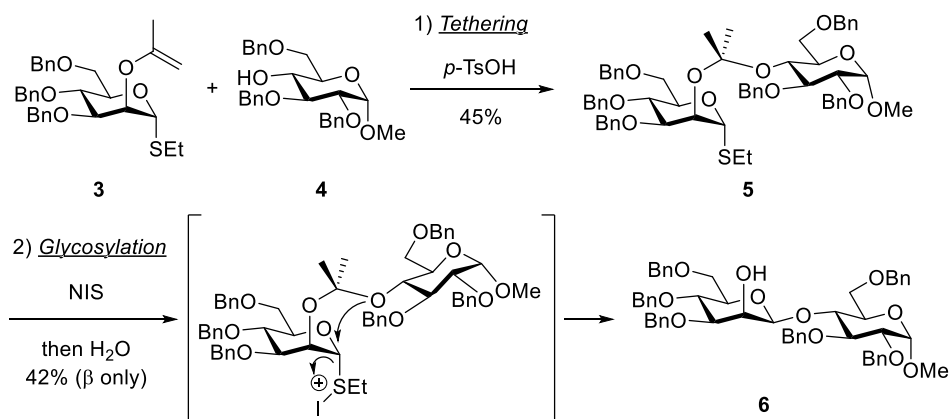


Figure 1.1.3 分子内アグリコン転移を利用した β -立体選択的マンノシル化反応

2008年、伊藤らは、ナフチルメチル(NAP)エーテルをテザー分子とした分子内アグリコン転移による β -立体選択的ラムノシル化反応を報告している¹⁶(Figure 1.1.4)。まず、糖供与体として2位にナフチルメチル基を有するチオ糖**7**を用い、糖受容体存在下において、DDQを作用させることで、糖供与体の2位に糖受容体**4**が結合したグリコシル化前駆体**8**が得られる。次に、脱離基を活性化させることで、2位置換基と同じ面から糖受容体がアノマー位に転移し、立体特異的に β -ラムノシド**9**が得られることが見出されている。本手法は、合成困難な β -マンノシドや β -ラムノシドを完全な立体選択性で合成可能であるため、非常に有

用であるが、テザーリングとグリコシル化の2段階の工程を必要とするため、工程数の増加が課題として挙げられる。

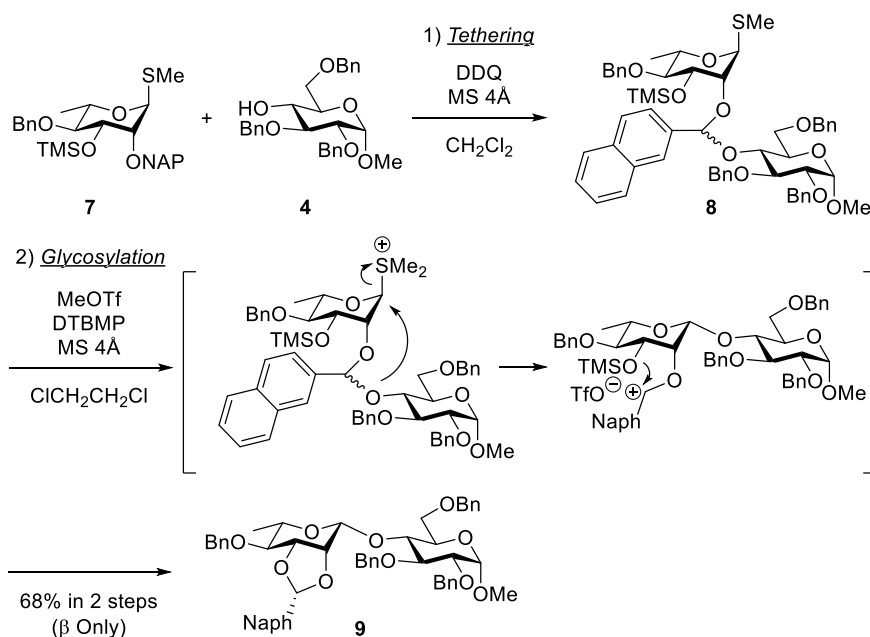


Figure 1.1.4 NAP エーテルをテザー分子にした IAD を利用した 1,2-*cis*-β-グリコシル化反応

1.2 不溶性の銀塩及びハロゲン化糖を用いた 1,2-*cis*-β-グリコシル化反応

1981年に、Paulsenらは、臭化糖及び不溶性の銀塩を用いた立体選択的β-マンノシル化反応を報告している¹⁷(Figure 1.1.5)。本手法は、銀触媒の固体表面に臭化糖が固定化され、続いて糖受容体が S_N2 的に求核攻撃することで、β-立体選択的に反応が進行すると提唱されている。本手法は、β-ラムノシド合成にも応用可能であることが報告されている¹⁸。しかし、立体障害の大きい糖受容体を用いた場合、立体選択性が逆転することが報告されており、糖受容体の基質一般性に課題を残している¹⁹(Figure 1.1.6)。

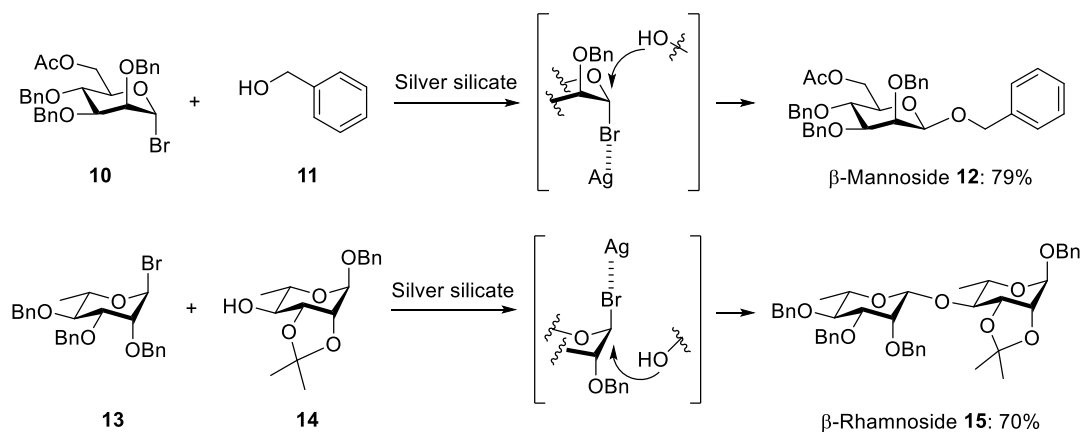


Figure 1.1.5 銀塩及び臭化糖を用いた 1,2-*cis*-β-グリコシル化反応

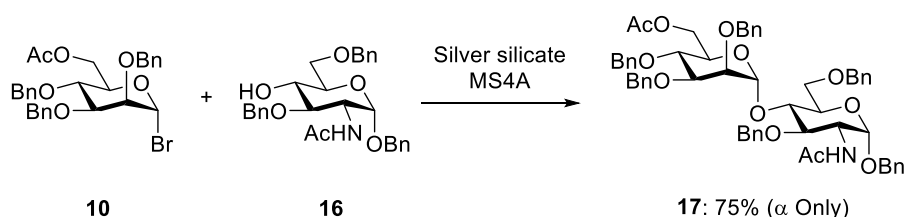


Figure 1.1.6 銀塩を用いた **10** と糖受容体 **16** とのマンノシル化反応

1.3 架橋構造を有する糖供与体を用いた 1,2-*cis*- β -グリコシル化反応

1.3.1 4,6-*O*-ベンジリデン基を有する糖供与体を用いた β -マンノシル化反応

1996年、Crichらは、4,6-*O*-ベンジリデン基を有する糖供与体を用いた立体選択的 β -マンノシル化反応を報告している²⁰(Figure 1.1.7)。糖供与体 **18** を TiF_2O で活性化した場合、4,6-*O*-ベンジリデン基のディスアームド効果によって、生じたオキソニウムカチオンが不安定化されるため、系中に存在するトリフラートアニオンが結合した α -トリフラート糖が生成する。生じた **19** に対して糖受容体 **20** が $\text{S}_{\text{N}}2$ 的に求核攻撃することで立体選択的に β -マンノシド **21** が得られると考えられている。実際に、Crichらは、速度論的同位体効果及びDFT計算を用いた反応機構解析により、本マンノシル化反応が $\text{S}_{\text{N}}2$ 反応であることを確認している²¹。本手法は、1工程かつ高立体選択的に β -マンノシドが合成可能であるため、効率的な手法である。しかし、糖供与体に4,6-*O*-ベンジリデン基を導入する必要があるため、6位がデオキシ化された構造を有する β -ラムノシド合成に直接的に応用することは困難である。

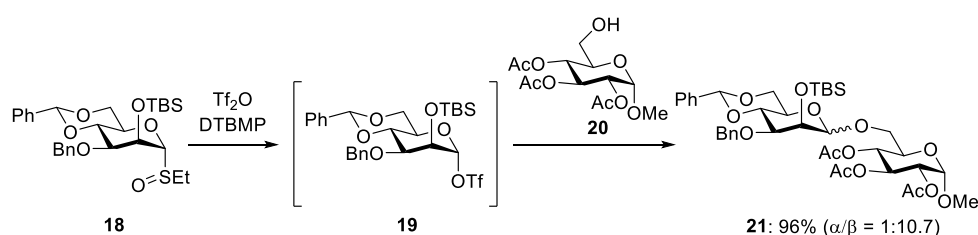


Figure 1.1.7 4,6-*O*-ベンジリデン基を有する糖供与体を用いた β -マンノシル化反応

1.3.2 4-*O*-6-*S*- α -シアノベンジリデン基を有する糖供与体を用いた β -ラムノシル化反応

2009年、Crichらは、4-*O*-6-*S*- α -シアノベンジリデン基を有する糖供与体を用いた立体選択的 β -ラムノシル化反応を報告している²²(Figure 1.1.8)。4,6-*O*-ベンジリデン基を有する糖供与体を用いた立体選択的 β -マンノシル化反応と同様の機構で、高立体選択的に1,2-*cis*- β -グリコシド結合を構築した後、脱硫操作を行うことで、 β -ラムノシドの合成を達成している。しかし、糖供与体 **23** の合成に多工程要する点、グリコシド結合構築後に脱硫操作を必要とする点が課題として挙げられる。

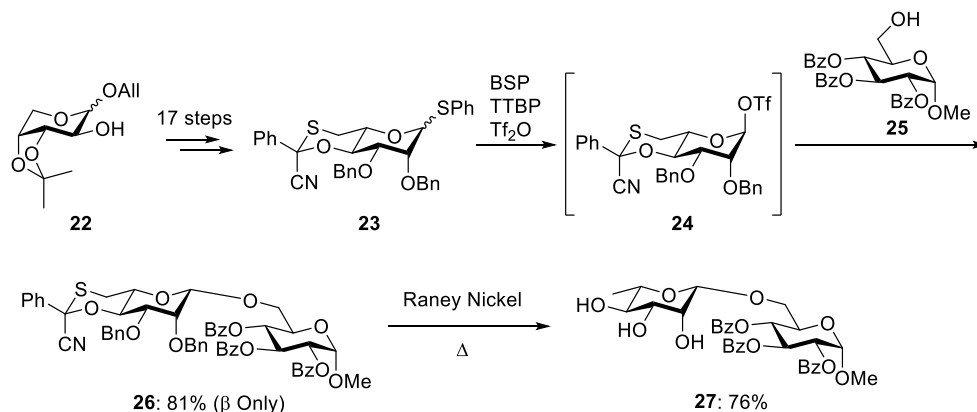


Figure 1.1.8 4-*O*-6-*S*- α -シアノベンジリデン基を有する糖供与体による β -ラムノシル化反応

1.3.3 3,6-ラクトン構造を有する糖供与体を用いた β -マンノシル化反応

2016年、Boltjeらは、3,6-ラクトン構造を有する糖供与体を用いた立体選択的 β -マンノシル化反応を報告している²³(Figure 1.1.9)。3,6-ラクトン構造を有する糖供与体 **28** と糖受容体 **25** とのグリコシル化反応は、 β -立体選択的に進行し、望む β -マンノシド **29** が良好な収率で得られることが見出されている。本反応は、1,4-アンヒドロ糖 **30** が副生成物として得られることから、糖供与体4位置換基による遠隔基関与により、 β -立体選択的に反応が進行していると提唱されている。さらに、糖供与体の4位保護基をAc基に変更することで、1,4-アンヒドロ糖の副生を抑制し、望む β -マンノシド **32** が高収率で得られることが見出されている²⁴。しかし、本合成手法は、糖供与体に3,6-ラクトン構造を必要とするため、6位がデオキシ化された構造を有する β -ラムノシド合成に直接的に応用することは困難である。

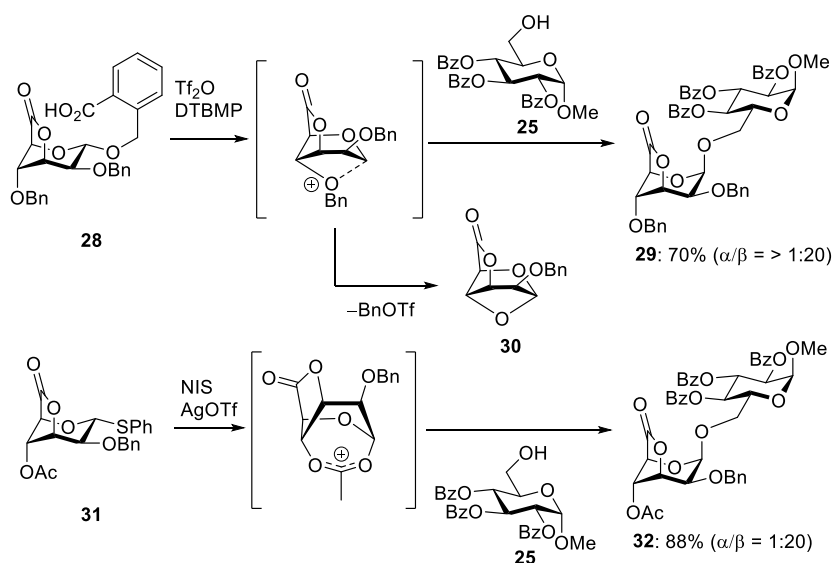


Figure 1.1.9 3,6-ラクトン構造を有する糖供与体を用いた β -マンノシル化反応

1.3.4 2,6-ラクトン構造を有する糖供与体を用いたβ-マンノシル化反応

2016年、佐々木らは、2,6-ラクトン構造を有する糖供与体を用いた立体選択的β-マンノシル化反応を報告している²⁵(Figure 1.1.10)。チオウレア **35**—AuCl₃ 共触媒下、α体のトリクロロアセトイミデート糖 **33** と糖受容体とのグリコシル化反応を行うことで、β-立体選択的に反応が進行し、β-マンノシド **36** が得られることが見出されている。本反応は、トリクロロアセトイミデート糖 **33** に対する S_N2 型の反応機構で進行することで、β-立体選択的に反応が進行すると提唱されている。しかし、糖供与体に 2,6-ラクトン架橋を必要とするため、6位がデオキシ化された構造を有するβ-ラムノシド合成に直接的に応用することは困難である。

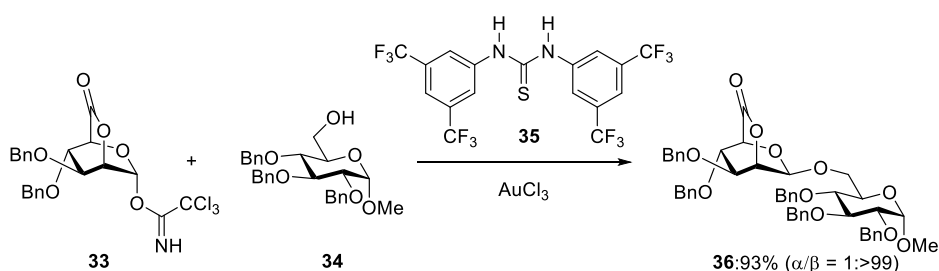


Figure 1.1.10 2,6-ラクトン構造を有する糖供与体 **33** を用いたβ-マンノシル化反応

また、2019年、Chai らは、4位アシル系保護基及び2,6-ラクトン構造を有する糖供与体を用いた立体選択的β-マンノシル化反応を報告している²⁶(Figure 1.1.11)。本反応は、2,6-ラクトン架橋によりアノマー位に近接した4位アシル系保護基による遠隔基関与により、β-立体選択的に反応が進行すると提唱されている。しかし、前述したチオウレア **35**—AuCl₃ 共触媒を用いたマンノシル化反応と同様に、糖供与体に 2,6-ラクトン架橋を必要とするため、6位がデオキシ化された構造を有するβ-ラムノシド合成に直接応用することは困難である。

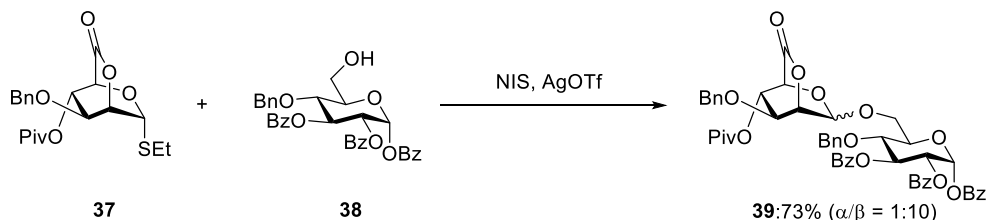


Figure 1.1.11 2,6-ラクトン構造を有する糖供与体 **37** を用いたβ-マンノシル化反応

1.4 2位にスルホニル基を有する糖供与体を用いた 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応

1981年、Schuerchらは、2位にメタンスルホニル基を有する糖供与体を用いた 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応を報告している²⁷(Figure 1.1.12)。マンノース **40** から誘導化した **41** に対し、シクロヘキサノール(**42**)を作用させることで、 β -立体選択的に **43** が得られることを見出している。本反応は、糖供与体2位の強い電子求引性基であるメタンスルホニル基により安定化された α -トシラート糖 **41** に対して、糖受容体 **42** が S_N2 的に求核攻撃することで、 β -立体選択的に進行すると考えられている。本方法論は、糖供与体に環状保護基を必要としないため、 β -ラムノシド合成にも応用可能であることが明らかになっている。すなわち、ラムノース **44** から誘導される **45** と **42** とのグリコシル化反応により、 β -立体選択的に **46** が得られることを見出している。その有用性から、2位にスルホネートエステル基を有する糖供与体を用いた 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応の開発が盛んに研究されている²⁸。

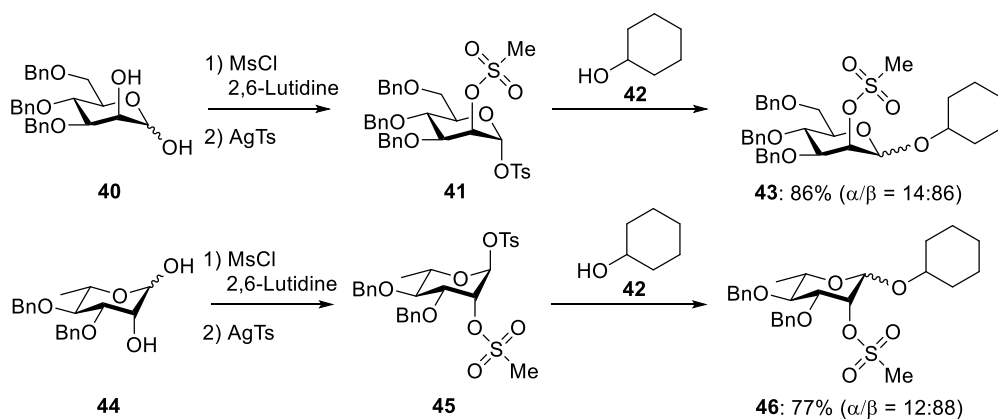


Figure 1.1.12 糖供与体 **41** 及び **45** を用いた 1,2-*cis*- β -グリコシル化反応

2003年、Crichらは、2位に*o*-トリフルオロメチルベンゼンスルホニル基を有する糖供与体を用いた β -立体選択的ラムノシル化反応を報告している²⁹(Figure 1.1.13)。**47** と **48** とのグリコシル化反応は β -立体選択的に進行し、かつ得られた **49** が有する *o*-トリフルオロメチルベンゼンスルホニル基はナトリウム水銀アマルガムによって容易に脱保護可能であることを見出している。しかし、本反応の β -立体選択性は中程度であり、改善の余地を残している。

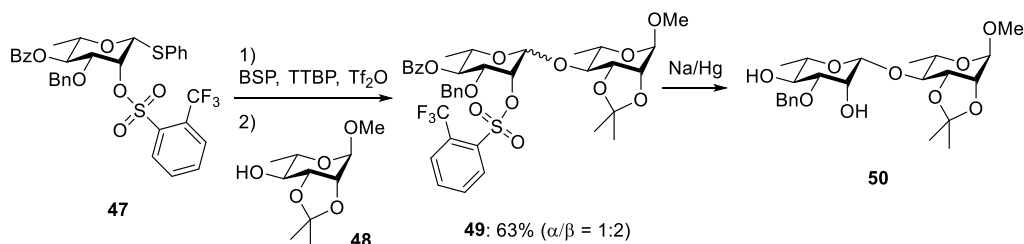


Figure 1.1.13 糖供与体 **47** を用いた β -ラムノシル化反応

1.5 アノマー位アルキル化反応による 1,2-*cis*- β -グリコシル化反応

1997年、Hodosiらは、1,2-スズアセタール糖供与体によるアノマー位アルキル化反応を駆使した 1,2-*cis*- β -グリコシドの立体選択的合成を報告している³⁰(Figure 1.1.14)。マンノースまたはラムノースから誘導化されるスズアセタール **51** 及び **54** を求核剤として、トリフラート **52** を用いたアルキル化反応を行った。その結果、アノマー位選択的かつ立体選択的に β -マンノシド **53** 及び β -ラムノシド **55** が得られることを見出している。マンノースまたはラムノースは 2 位水酸基がアキシアル位であるため、立体障害の少ないエクアトリアル位であるアノマー位水酸基が選択的に反応したと考えられる。本反応は、合成困難な 1,2-*cis*- β -グリコシドを最小限の保護基を有する糖供与体で合成可能であるため有用であるが、糖供与体を過剰量要する点が課題として挙げられる。

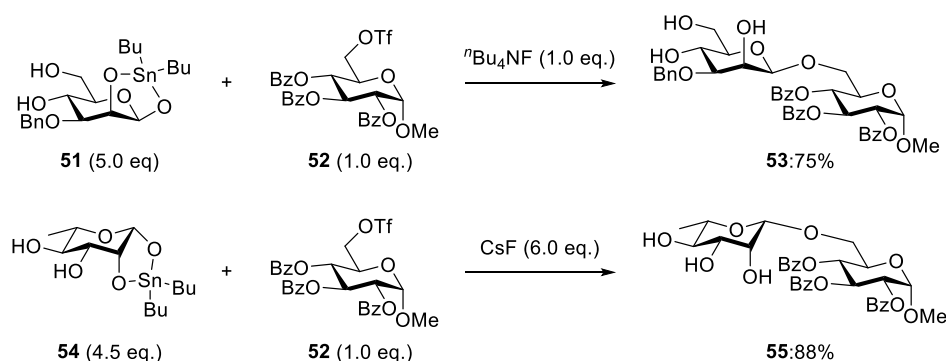


Figure 1.1.14 1,2-スズアセタールを用いた 1,2-*cis*- β -グリコシル化反応

また、2016年、Li 及び Zhu らは、 Cs_2CO_3 を用いたアノマー位アルキル化反応による β -マンノシドの立体選択的合成を報告している³¹(Figure 1.1.15)。1,2 位水酸基遊離のマンノース **40** に Cs_2CO_3 を作用させることで、Cs 原子がキレートした **57** が生成した後、トリフラート **56** によるアルキル化反応が進行することで、 β -マンノシド **58** が高収率で得られたと考えている。本反応は、スズアセタールを利用したアノマー位アルキル化反応とは異なり、スズアセタール化のような事前調製が不要であるため、より効率的に β -マンノシドが合成可能である。しかし、Cs 原子のキレートに、6 位酸素原子が関与しているため、6 位がデオキシ化された構造を有する β -ラムノシド合成への応用した場合、収率が大きく低下することが課題として挙げられる³²(Figure 1.1.16)。

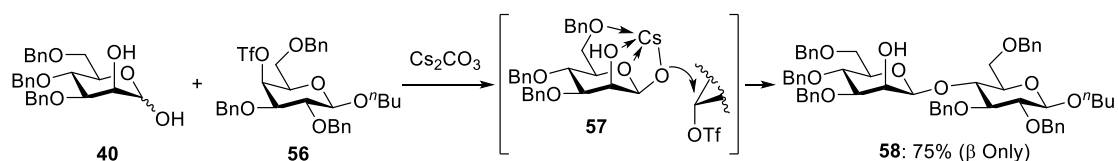


Figure 1.1.15 Cs_2CO_3 用いた β -マンノシル化反応

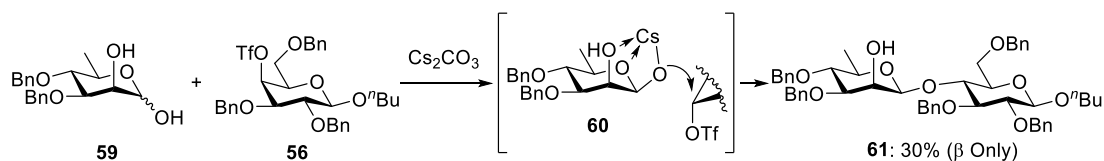


Figure 1.1.16 Cs₂CO₃ 用いたβ-ラムノシル化反応

2019年、竹本らは、ポリリン酸触媒を用いたアノマー位アルキル化反応によるβ-マンノシドの立体選択的合成法を報告している³³(Figure 1.1.17)。1,2位水酸基遊離のマンノース **40** にポリリン酸触媒 **63** を作用させることで生じたポリネートエステル **64** が、アノマー位の水酸基選択的にトリフラート **62** に求核攻撃することで、β-マンノシド **65** が高収率で得られることを見出している。本手法は、前述したアノマー位アルキル化反応とは異なり、触媒的に反応が進行するため、非常に有用であるが、β-ラムノシド合成への応用はまだ行われていない。

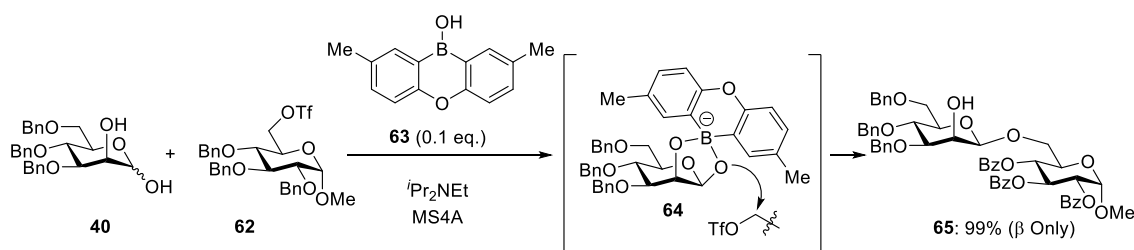


Figure 1.1.17 ポリリン酸触媒用いたβ-マンノシル化反応

1.6 金触媒を用いた 1,2-*cis*-β-グリコシル化反応

2016年、Yuらは、金触媒を用いたβ-立体選択的ラムノシル化反応を報告している³⁴(Figure 1.1.18)。糖供与体の脱離基及び保護基を精査した結果、糖供与体 **66** と糖受容体 **25** との金触媒を用いたグリコシル化反応がβ-立体選択的に進行することを見出している。本反応は、中間体 **67** に対して糖受容体が S_N2 型機構で求核攻撃することで、立体選択的にβ-ラムノシドが得られたと提唱されているが、その詳細な反応機構は明らかになっていない。本手法は、β-ラムノシドを直接的かつ立体選択的に合成可能であるため、非常に有用である。しかし、糖受容体の基質によって立体選択性が低下する点が課題として挙げられる。

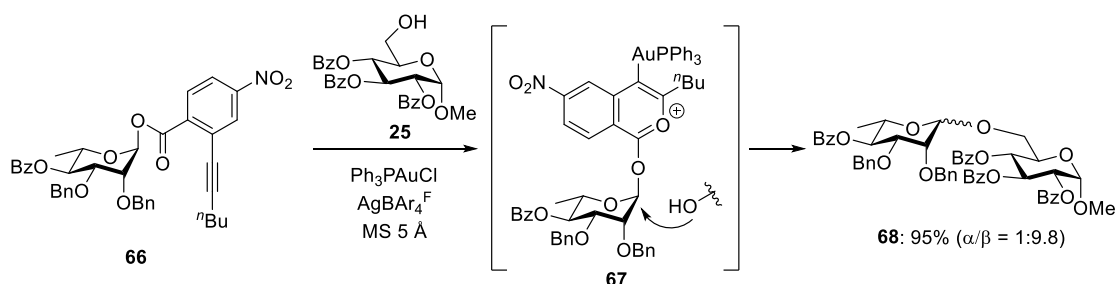


Figure 1.1.18 ビスチオウレア触媒用いた 1,2-*cis*-β-グリコシル化反応

1.7 ビスチオウレア触媒を用いた 1,2-*cis*- β -グリコシル化反応

2017年、Jacobsenらは、大環状ビスチオウレア触媒を用いた β -立体選択的グリコシル化反応を報告している³⁵(Figure 1.1.19)。(R,R)-71を触媒として利用し、 α -塩化糖 69 と 70 とのグリコシル化反応を行った結果、立体選択的に β -マンノシド 72 が得られることを見出している。また、触媒を(S,S)-71 とすることで、 β -ラムノシド合成にも応用可能であることを見出している。すなわち、(S,S)-71 及び IBO 存在下、 α -塩化糖 73 と 70 とのグリコシル化反応を行った結果、立体選択的に β -ラムノシド 74 が得られることを見出している。本反応は、DFT 計算及び速度論的同位体効果測定による反応機構解析により、高分離性の S_N2 型機構で進行することが提唱されている。しかし、立体異性体である 1,2-*trans*- α -グリコシドの副生が完全に抑制できないことが課題として挙げられる。

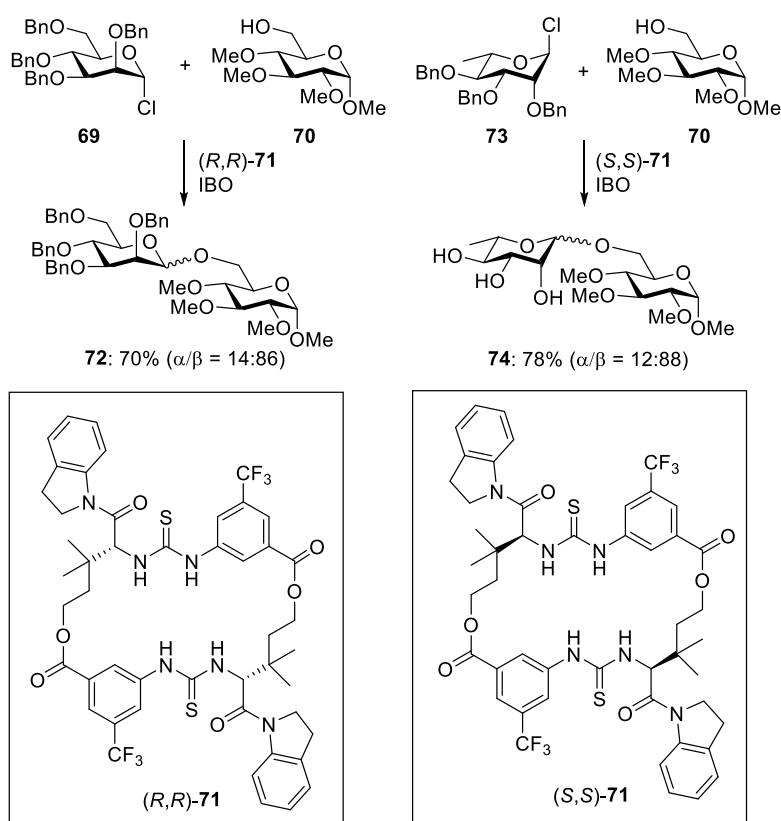


Figure 1.1.19 大環状ビスチオウレア触媒を用いた 1,2-*cis*- β -グリコシル化反応

また、2020年、Jacobsenらは、ビスチオウレア触媒 77 とリン酸糖を用いた 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応を報告している³⁶(Figure 1.1.20)。マンノースから短工程で合成可能な 75 を糖供与体として用い、ビスチオウレア触媒 77 存在下、糖受容体 76 とのグリコシル化反応を行った。その結果、高立体選択的に反応が進行し、望む β -マンノシド 78 が得られることを見出している。また、同様にラムノースから短工程で合成可能な 79 を糖供与体

に用い、ビスチオウレア触媒 *ent-77* 存在下、糖受容体 **76** とのグリコシル化反応を行った。その結果、 β -ラムノシド **80** が高収率かつ高立体選択的に得られることを見出している。しかし、立体障害の大きい糖受容体を用いた場合、立体選択性が低下することが報告されており、前述した大環状ビスチオウレア触媒を用いた立体選択的グリコシル化反応と同様に、立体異性体である 1,2-*trans*- α -グリコシドの副生が完全に抑制できないことが課題として挙げられる。

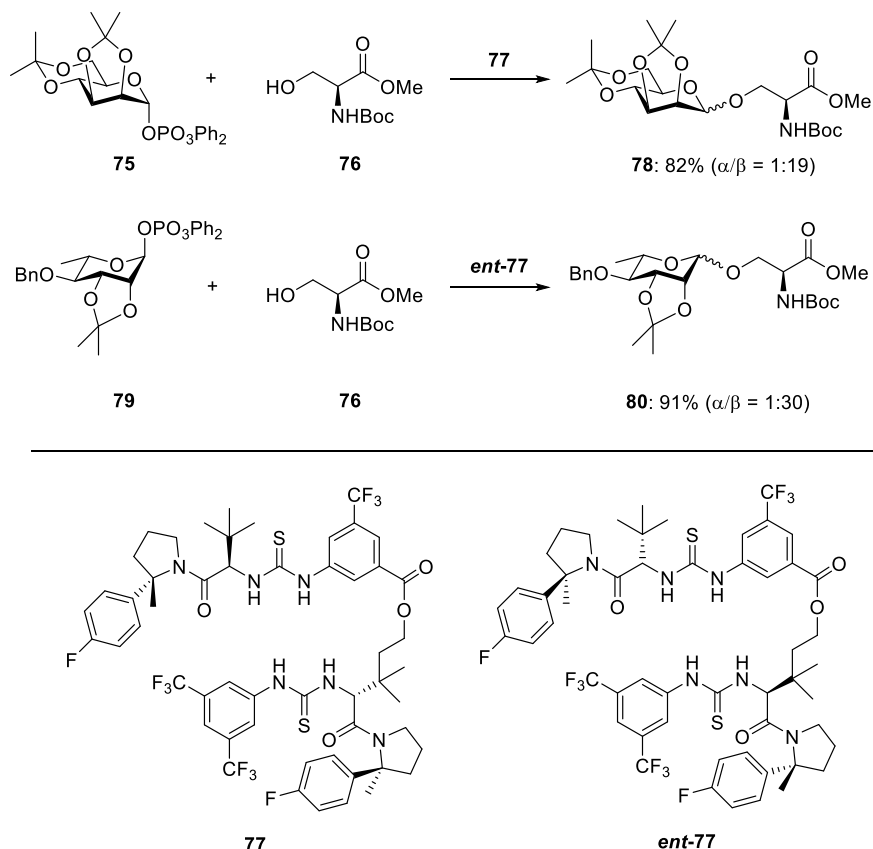


Figure 1.1.20 ビスチオウレア触媒用いた 1,2-*cis*- β -グリコシル化反応

1.8 水素結合媒介アグリコン転移による 1,2-*cis*- β -グリコシル化反応

2012年、Demchenkoらは、水素結合媒介アグリコン転移(hydrogen bond mediated aglycon delivery, HAD)による立体選択的グリコシル化反応を報告している³⁷(Figure 1.1.21)。3位水酸基をピコロイル(pico)基によって保護したラムノース型のチオ糖 **81** を用い、適切な活性剤を作用させることで、立体選択的に β -ラムノシド **82** が得られることを見出している。本反応は、糖受容体 **34** の水酸基がピコロイル基の窒素と水素結合し、ピコロイル基を有する置換基と同じ面から糖供与体アノマー位への求核攻撃が進行し、高立体選択的に β -ラムノシドが得られると考えられている。また、2014年に報告された改良法により、 β -マンノシド合成

にも応用可能であることを見出している³⁸(Figure 1.1.22)。本手法は、直接的かつ立体選択的に 1,2-*cis*- β -グリコシドが合成可能であることから、非常に有用であり、序論第 2 章 2.2.1 節で後述するように様々な病原菌抗原糖鎖合成に応用されている。しかし、糖受容体の基質によって立体選択性が低下することから、未だ改善の余地が残されている。

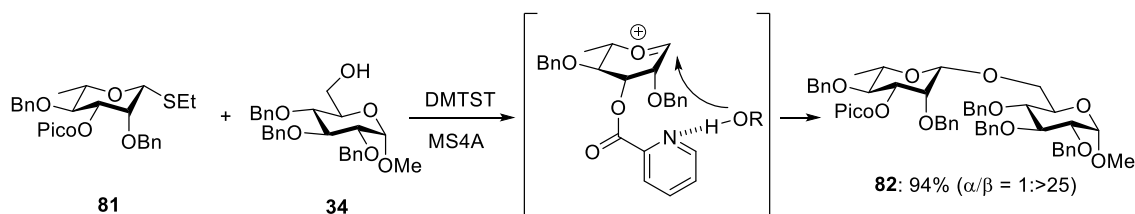


Figure 1.1.21 HAD 法を利用した β -ラムノシル化反応

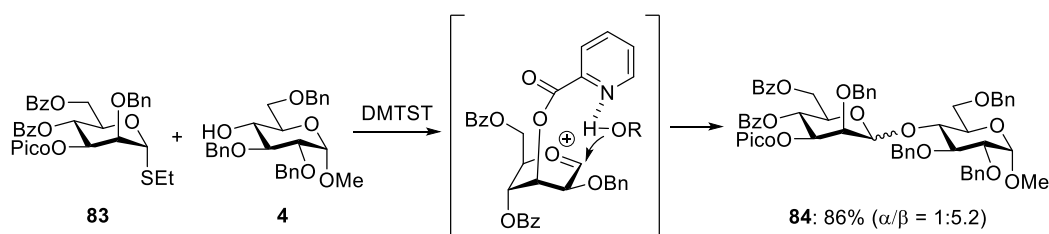


Figure 1.1.22 HAD 法を利用した β -マンノシル化反応

2019 年、Yang らは、3 位に 4-ニトロピコロイル基を有する糖供与体を用いた β -立体選択的ラムノシル化反応を報告している³⁹(Figure 1.1.23)。立体障害の大きい糖受容体 4 を用いた場合にも、本反応は高立体選択的に進行し、望む β -ラムノシド 86 が高収率で得られることが見出されている。しかし、保護基が異なる糖受容体 87 を用いた場合に立体選択性が大きく低下したことから、依然、糖受容体の基質一般性に課題を残している。

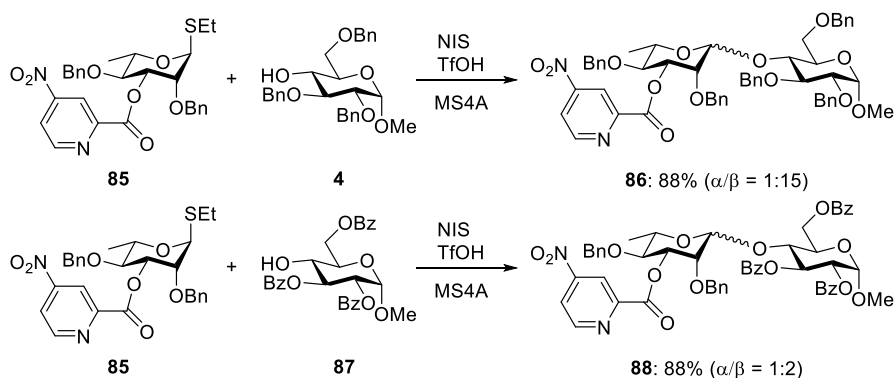


Figure 1.1.23 糖供与体 85 を用いた HAD 法による β -ラムノシル化反応

第 2 章 1,2-*cis*- β -グリコシド結合を有する病原菌抗原糖鎖の合成

病原菌抗原糖鎖の効率的な化学合成法の開発は、安全性の高いワクチン開発に大きく貢献し得るため、近年注目されている。特に 1,2-*cis*- β -グリコシドは、大腸菌や肺炎球菌をはじめとする様々な病原菌の抗原糖鎖に含まれていることから、1,2-*cis*- β -グリコシドを含む病原菌抗原糖鎖の効率合成法の開発が盛んに研究されている。しかし、現在実用化に至っている合成糖鎖を用いたワクチンは、合成が容易な 1,2-*trans*-グリコシドを主成分としており、合成した 1,2-*cis*- β -グリコシドを用いたワクチンは実用化に至っていないのが現状である。ここで、1,2-*cis*- β -グリコシド構造を構築する際に、グリコシル化反応のみならず誘導化を必要とする合成法を間接的な手法、グリコシル化反応の 1 工程で 1,2-*cis*- β -グリコシド構造を構築する合成法を直接的な手法とそれぞれ定義した。以下に、これまで研究されてきた 1,2-*cis*- β -グリコシドを含む病原菌抗原糖鎖の間接的または直接的合成法について述べる。

2.1 間接的な手法を駆使した 1,2-*cis*- β -グリコシド結合を有する病原菌抗原糖鎖の合成

2.1.1 IAD 法を用いた 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応を駆使した病原菌抗原糖鎖の合成

2016 年、Gu 及び Guo らは、伊藤らが開発した IAD を駆使した肺炎球菌 23F 型 CPS の繰り返し四糖鎖誘導体 **93** の合成を報告している⁴⁰(Figure 1.2.1)。まず、**89** と **90** に対し、DDQ を作用させることで、糖供与体 **89** の 2 位にアセタール構造を介して糖受容体 **90** が結合したグリコシル化前駆体 **91** を調製している。次に、糖供与体を活性化させることで、2 位置換基と同じ面から **90** の転移が進行し、続く TFA による脱ナフチルメチル化をすることで、望む β -ラムノシド **92** を立体選択的に合成している。得られた **92** に対し、2 回のグリコシル化反応を含む各種誘導化することで、肺炎球菌 23F 型 CPS の繰り返し四糖鎖誘導体 **93** の合成を達成している。しかし、 β -ラムノシド結合構築に、グリコシル化前駆体 **91** の調製を必要とするため、全体として工程数が多くなることが課題として挙げられる。

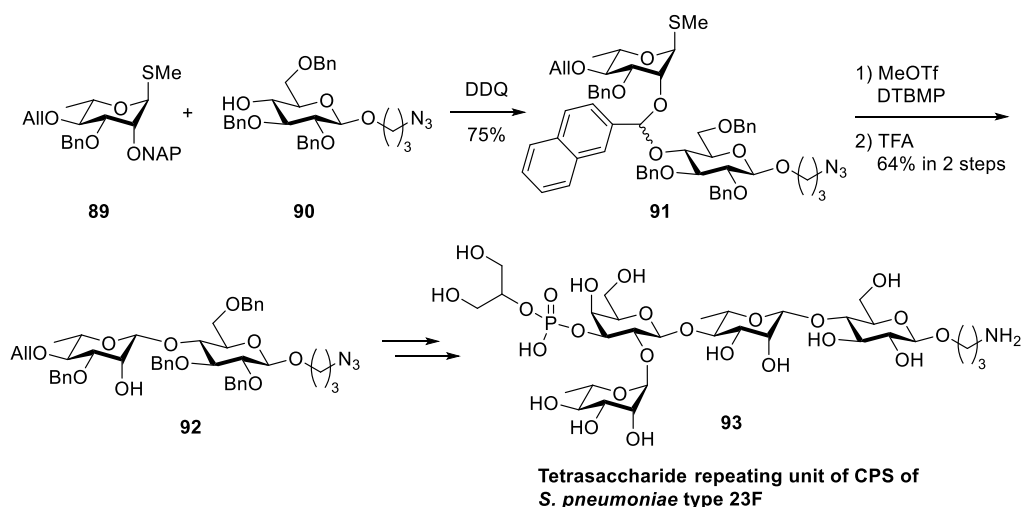


Figure 1.2.1 IAD 法を駆使した肺炎球菌 23F 型 CPS の繰り返し四糖鎖誘導体 **93** の合成

2.1.2 間接的な β -ラムノシル化反応を駆使した *Clostridium bolteae* CPS 繰り返し糖鎖誘導体の合成

2020 年、Yin らは、4,6-*O*-ベンジリデン基を有する糖供与体を駆使した *Clostridium bolteae* (*C. bolteae*) CPS の繰り返し六糖鎖誘導体の合成を報告している⁴¹(**Figure 1.2.2**)。4,6-*O*-ベンジリデン基を有する糖供与体 **94** に対し、糖受容体 **96** 及び **97** を作用させることで、 β -マンノシド **98** 及び **99** をそれぞれ立体選択的に合成し、6 位水酸基のデオキシ化を含む各種誘導化を行うことで、*C. bolteae* CPS 繰り返し六糖鎖誘導体 **111** の合成を達成している。また、Yin らは、1,2-*trans*- β -グリコシドの 2 位水酸基の立体反転を利用した *C. bolteae* CPS の二糖鎖から十六糖鎖誘導体の合成を報告している。まず、**104** または **97** と糖供与体 **103** との、糖供与体 2 位アシル系保護基による隣接基関与を利用した 1,2-*trans*- β -グリコシル化反応により、1,2-*trans*- β -グリコシド **105** 及び **106** を合成している。続いて、**105** 及び **106** に対し、i) 2 位アシル系保護基の脱保護、ii) 2 位水酸基の酸化、及び iii) 還元を行うことで、1,2-*cis*- β -グリコシドに変換し、各種誘導化を行うことで、糖供与体 **107** 及び糖受容体 **108** に変換している。糖受容体 **108** に対し、糖供与体 **107** を作用させることで、三糖鎖誘導体を合成し、ナフチルメチル基の脱保護及び糖供与体 **107** を用いたグリコシル化反応を繰り返し行うことで、十八糖鎖保護体を合成している。最後にすべての保護基を脱保護することで、*C. bolteae* CPS の十八糖鎖誘導体 **117** の合成を達成している。本研究では、さらに、二糖鎖 **107** を糖供与体として駆使することで、二糖鎖から十六糖鎖の類縁体を合成し、ウサギに *C. bolteae* を免疫して得られた抗血清と各種糖鎖誘導体を固定化したプレートを用いたマイクロアレイを行うことで、四糖鎖 **110** が *C. bolteae* に対するワクチンの抗原となり得る抗原候補糖鎖であることを明らかにしている。しかし、1,2-*cis*- β -グリコシド結合構築に他工程を要することが課題となっている。

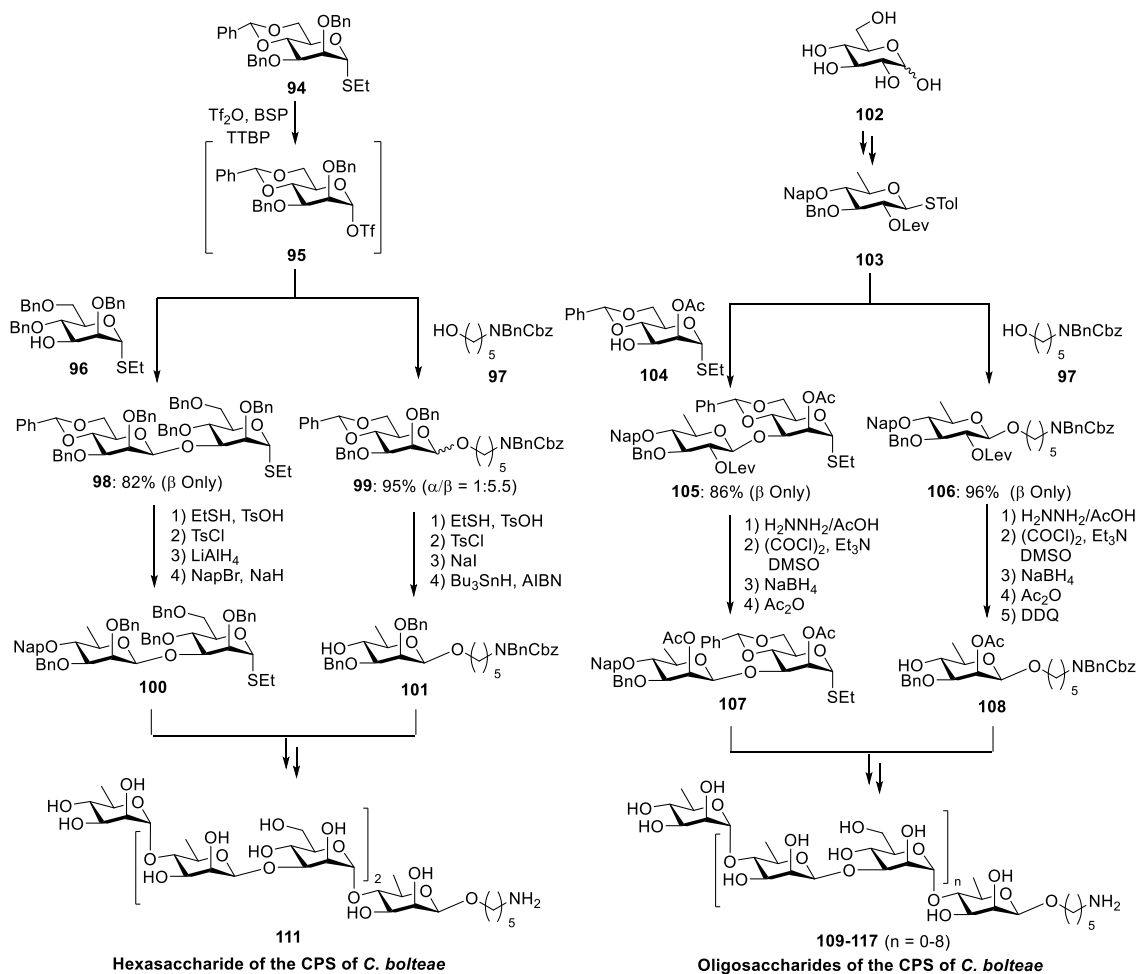


Figure 1.2.2 間接的な β -ラムノシル化反応を駆使した *C. bolteae* CPS の繰り返し糖鎖誘導体の合成

2.2 直接的な手法を駆使した 1,2-*cis*- β -グリコシド結合を有する病原菌抗原糖鎖の合成

2.2.1 臭化糖及び不溶性の銀塩を用いた 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応を駆使した病原菌抗原糖鎖の合成

1981年、Paulsenらは、臭化糖及び銀塩を用いた β -マンノシル化反応を駆使した、大腸菌 O75 LPS O-抗原の部分三糖鎖 **120** の合成を報告している¹⁷(**Figure 1.2.3**)。大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し糖鎖構造⁴²は、アキシアル水酸基であるガラクトースの4位に β -マンノシドが連結した構造を有しているため、合成が困難である。Paulsenらは、1,6-アンヒドロガラクトース **118** を糖受容体として用いることで、臭化糖及び銀塩を用いた β -マンノシル化反応が立体選択的に進行し、望む β -マンノシド **119** が高収率で得られることを見出している。最後に、グリコシル化反応を含む各種誘導化をすることで、大腸菌 O75 LPS O-抗原の部分三糖鎖 **120** の合成を達成している。

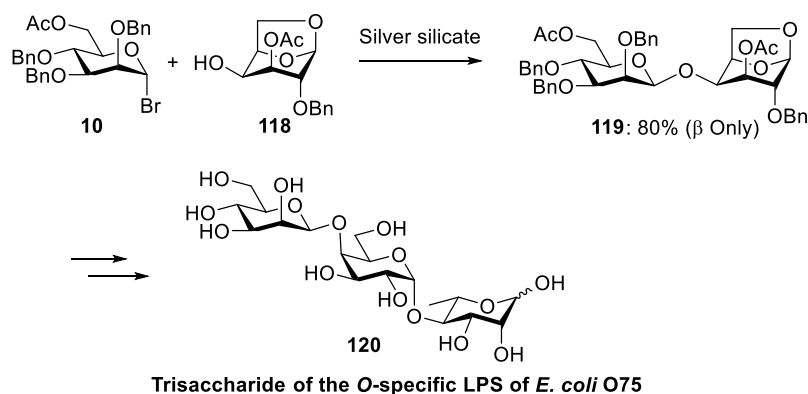


Figure 1.2.3 大腸菌 O75 LPS O-抗原の部分三糖鎖 **120** の合成

また、Paulsen らは、1983 年に、臭化糖及び銀塩を用いたβ-ラムノシル化反応を駆使した、*Shigella flexneri* (*S. flexneri*) type 6 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖 **125** の合成を報告している⁴³(**Figure 1.2.4**)。銀塩存在下、臭化糖 **121** と **14** とのグリコシル化反応を行うことで、β-ラムノシド **122** を 73% の収率で合成している。また、二糖鎖 **123** に対し、銀塩存在下、臭化糖 **13** を用いたグリコシル化反応を行うことで、三糖鎖 **124** を収率 72% で合成している。得られた **126** に対し、グリコシル化反応を含む各種誘導化を行うことで、*S. flexneri* type 6 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖 **125** の合成を達成している。

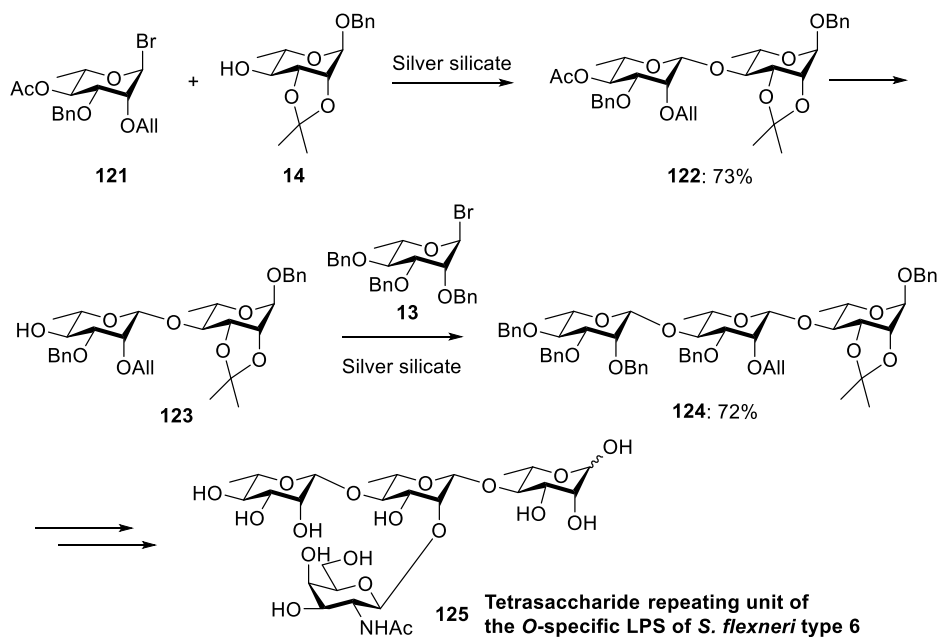


Figure 1.2.4 *S. flexneri* type 6 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖 **125** の合成

さらに、1992年、Kamerlingらは、臭化糖及び銀塩を利用した立体選択的 β -ラムノシル反応を応用した肺炎球菌(*S. pneumoniae*)2型、7F型、22F型及び23F型CPSの部分三糖鎖誘導体**130-133**の合成を報告している⁴⁴(Figure 1.2.5)。チオ糖**126**から誘導化した臭化糖**13**に対し、銀塩存在下、1,6-アンヒドログルコース誘導体**127**を作用させることで、肺炎球菌2型、7F型、22F型及び23F型CPSの共通合成中間体である**128**が中程度の収率で得られることを見出している。しかし、本合成では、立体異性体である α -ラムノシド**129**が多く副生しており、 β -ラムノシド結合構築の立体選択性に課題を残している。したがって、多様な病原菌抗原糖鎖合成に応用可能な、1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応の開発が求められている。

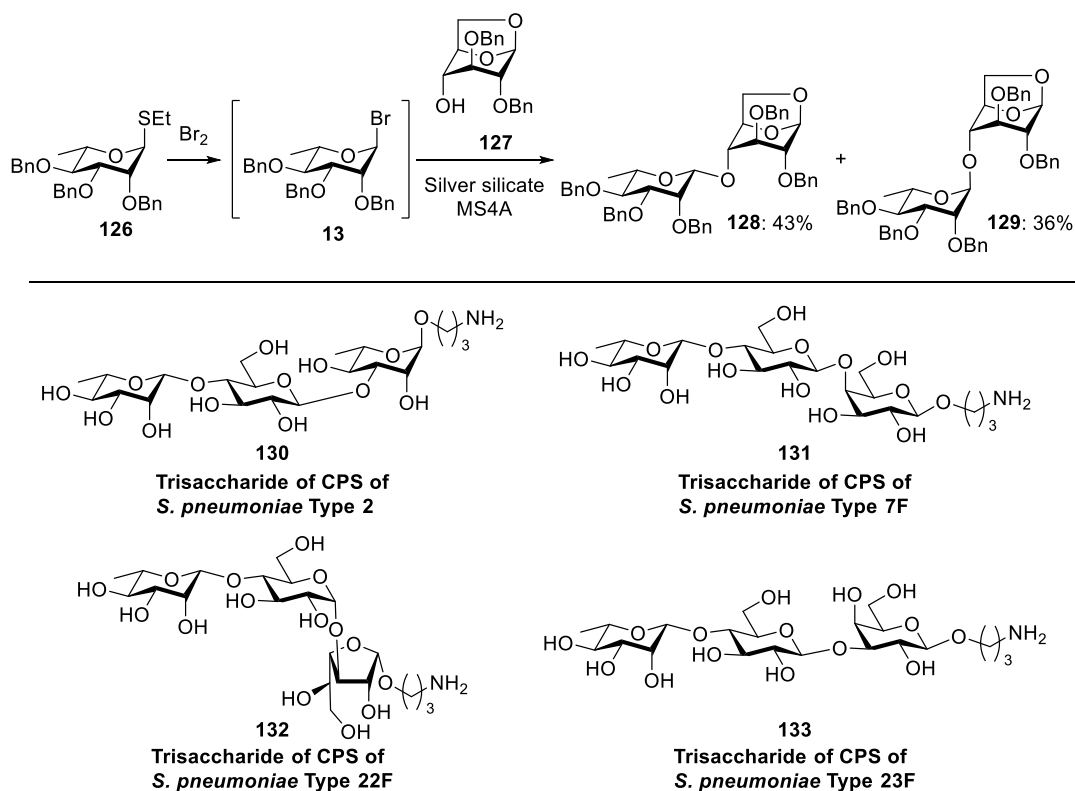


Figure 1.2.5 肺炎球菌 CPS の部分三糖鎖誘導体の合成

2.2.2 2-O-ベンジルスルホニル糖供与体を用いた 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応を駆使した病原菌抗原糖鎖の合成

2005年、Bediniらは、2位にベンジルスルホニル基を有する糖供与体を用いた *Xanthomonas campestris* (*X. campestris*) pv. *campestris* 8004 LPS O-抗原の繰り返し三糖鎖誘導体**137**の合成を報告している⁴⁵(Figure 1.2.6)。2位にベンジルスルホニル基を有する糖供与体**134**と**135**とのグリコシル化反応を行った結果、中程度の立体選択性で望む β -ラムノシド**136**が得られ

ることを見出している。続くグリコシル化反応を含む各種誘導化を行うことで、*X. campestris* pv. *campestris* 8004 LPS O-抗原の繰り返し三糖鎖誘導体 **137** の合成を達成している。本手法は、糖供与体が有するベンジルスルホニル基によるディスアームド効果により、反応系中に生じた α -トリフラート糖に対し、糖受容体が S_N2 機構で求核攻撃することで、構築困難な β -ラムノシド結合を構築している。しかし、立体異性体である α -ラムノシドが多く副生しており、 β -ラムノシド結合構築の立体選択性に課題を残している。

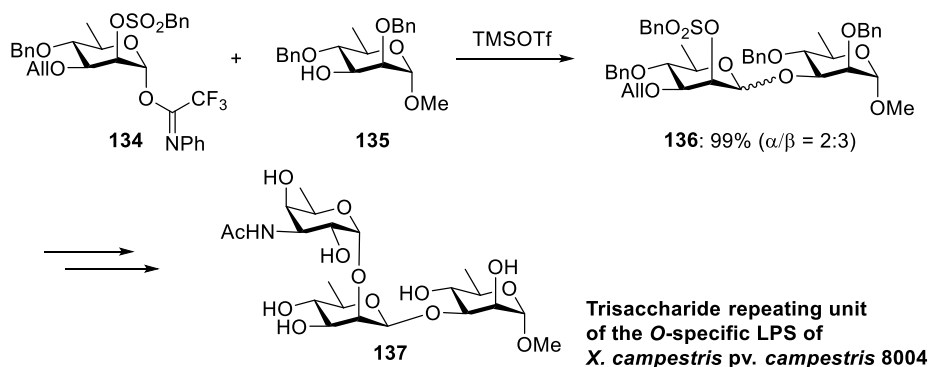


Figure 1.2.6 *X. campestris* pv. *campestris* 8004 LPS O-抗原の繰り返し三糖鎖誘導体 **137** の合成

2.2.3 HAD 法による 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応を駆使した病原菌抗原糖鎖の合成

2017年、Pareira 及び Seeberger らは、HAD 法を駆使した肺炎球菌 2 型 CPS の繰り返し六糖鎖誘導体 **142** の合成を報告している⁴⁶(**Figure 1.2.7**)。NIS 及び TfOH 存在下、三位水酸基にピコロイル基を導入した糖供与体 **138** と糖受容体 **139** とのグリコシル化反応を行った結果、中程度の収率で β -ラムノシド **140** が得られることを見出している。続いて、**140** から、ピコロイル基の脱保護を含む 4 工程で合成した二糖供与体 **141** に対し、グリコシル化反応を含む各種誘導化を行うことで、肺炎球菌 2 型 CPS 繰り返し六糖鎖誘導体 **142** の合成を達成している。また、**142** をキャリアタンパク質である CRM197 に複合化した複合糖質 **143** をマウスに投与した結果、肺炎球菌 2 型の菌種である NCTC7466 に対し、オプソニン作用を有する抗体が産出されることを見出し、**142** がワクチンの抗原として機能することを明らかにしている。しかし、 β -ラムノシド合成の収率及び立体選択性が中程度であることから、抗原糖鎖の合成に改善の余地を残している。

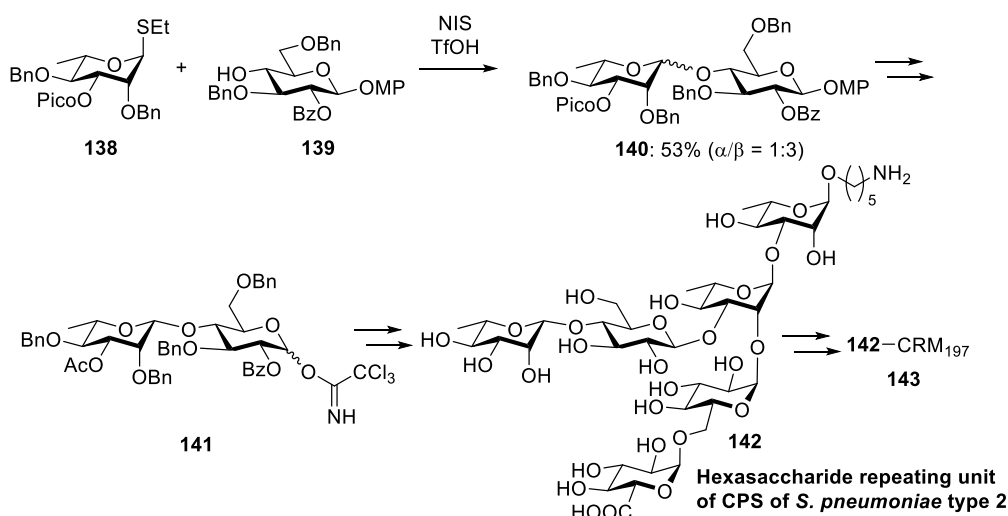


Figure 1.2.7 HAD 法を駆使した肺炎球菌 2 型 CPS の繰り返し六糖鎖誘導体 **142** の合成

2018 年、Kulkarni らは、HAD 法を駆使した *Pseudomonas fluorescens* (*P. fluorescens*) BIM B-582 LPS O-抗原の繰り返し三糖鎖誘導体 **148** の合成を報告している⁴⁷(**Figure 1.2.8**)。NIS 及び TfOH 存在下、三位水酸基にピコロイル基を導入した糖供与体 **144** と糖受容体 **145** とのグリコシル化反応を行った結果、高収率かつ立体選択的に β -ラムノシド **146** が得られることを見出している。続いて、**146** から、ピコロイル基の脱保護を含む 3 工程で合成した二糖鎖 **147** に対し、グリコシル化反応を含む各種誘導化を行うことで、*P. fluorescens* BIM B-582 LPS O-抗原の繰り返し三糖鎖誘導体 **148** の合成を達成している。前述した肺炎球菌 2 型 CPS 繰り返し糖鎖合成の例と比較して、 β -ラムノシル化反応の収率及び立体選択性ともに大きく改善されているが、その要因については明らかになっていない。

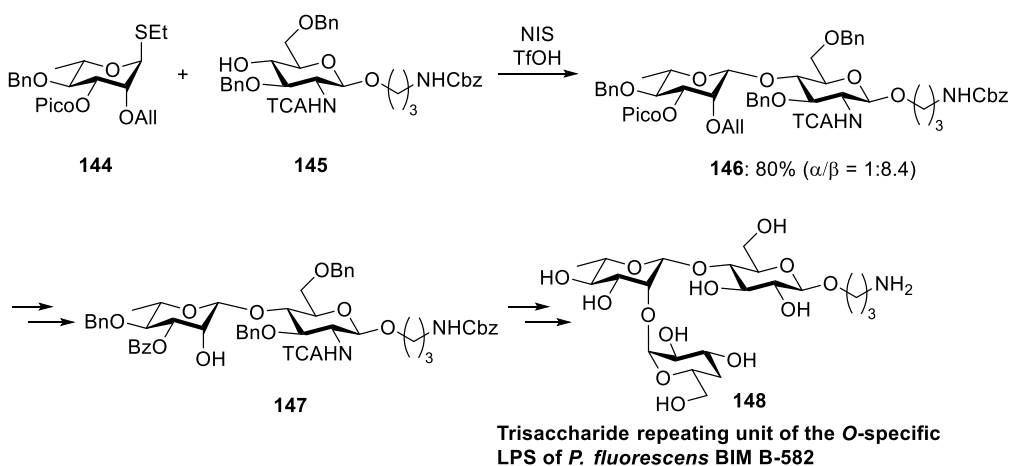


Figure 1.2.8 HAD 法を駆使した *P. fluorescens* BIM B-582 LPS O-抗原の繰り返し三糖鎖誘導体 **148** の合成

2019年、Misraらは、HAD法を駆使した *Shigella boydii* (*S. boydii*) type 18 LPS O-抗原の繰り返し五糖鎖誘導体 **155** の合成を報告している⁴⁸(Figure 1.2.9)。NIS、及び $\text{HClO}_4\text{-SiO}_2$ 存在下、四糖鎖 **153** と三位水酸基にピコロイル基を導入した糖供与体 **138** とのグリコシル化反応により、 β -ラムノシドを含む五糖鎖 **154** を立体選択的に合成している。また、本反応が、**154** のワンポット合成にも応用可能であることを見出しており、**149-152**、及び **138** から総収率 48% で五糖鎖 **154** の合成を達成している。最後に、すべての保護基を脱保護することで、*S. boydii* type 18 LPS O-抗原の繰り返し五糖鎖誘導体 **155** の合成を達成している。しかし、**140** と **155** とのグリコシル化反応の際、わずかに立体異性体が副生することから、 β -ラムノシド結合構築の立体選択性に、改善の余地を残している。

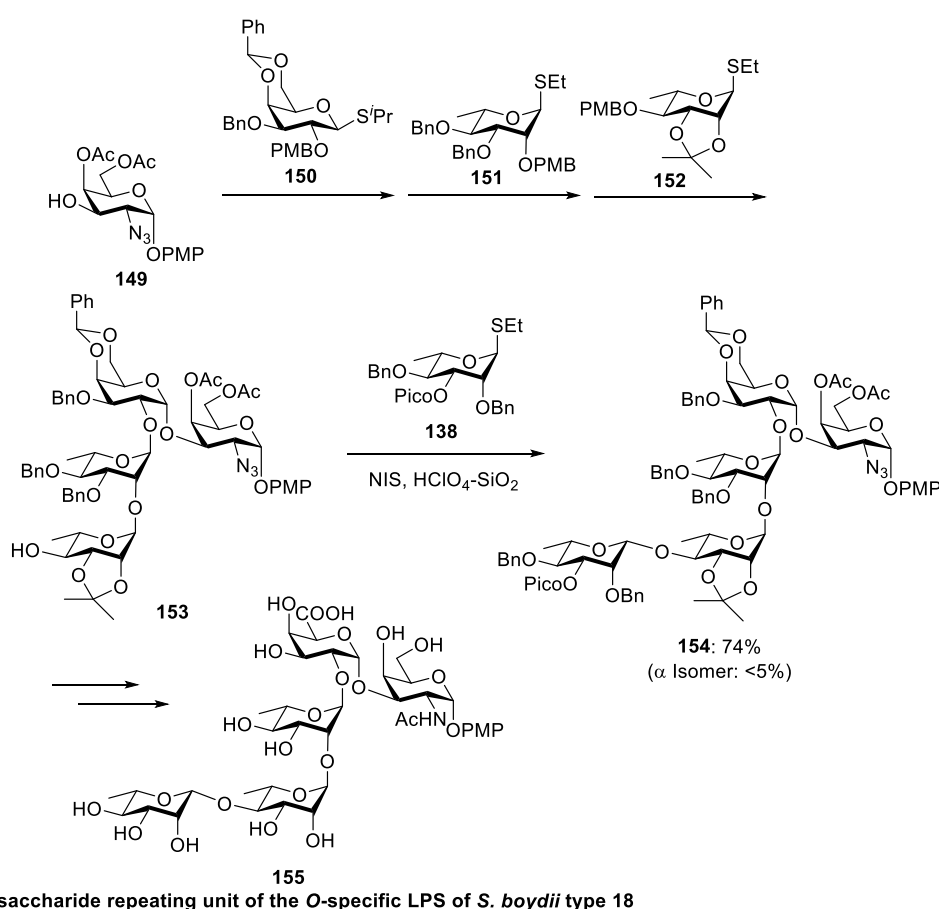


Figure 1.2.9 HAD法を駆使した *S. boydii* type 18 LPS O-抗原の繰り返し五糖鎖誘導体 **155** の合成

2020年、Misraらは、HAD法を駆使した大腸菌 O115 LPS O-抗原繰り返し五糖鎖誘導体 **162** の合成を報告している⁴⁹(Figure 1.2.10)。 $\text{HClO}_4\text{-SiO}_2$ 存在下、三位水酸基にピコロイル基を導入した糖供与体 **156** と糖受容体 **157** との化学選択的なグリコシル化反応を行うことで、 β -ラムノシドを有する二糖鎖 **158** を高収率かつ立体選択的に合成している。次に、二糖鎖

158 を糖供与体として用い、NIS、HClO₄-SiO₂ 存在下、三糖鎖 **160** とのグリコシル化反応を行った結果、目的の五糖鎖が得られないことを明らかにしている。これは **158** のピコロイル基による塩基性が原因であると考えられている。実際に、ピコロイル基をアセチル基に変換した **159** を糖供与体として、三糖鎖 **160** とのグリコシル化反応を行った結果、反応は速やかに進行し、目的の五糖鎖 **161** が高収率で得られることを見出している。最後にすべての保護基を脱保護することで、大腸菌 O115 LPS O-抗原の繰り返し五糖鎖誘導体 **162** の合成を達成している。したがって、HAD 法を駆使して合成したピコロイル基を有するβ-ラムノシドをグリコシル化反応の基質に用いる場合、ピコロイル基の脱保護及び遊離した水酸基の保護工程を必要とするため、全体の工程数の増加することが課題として挙げられる。

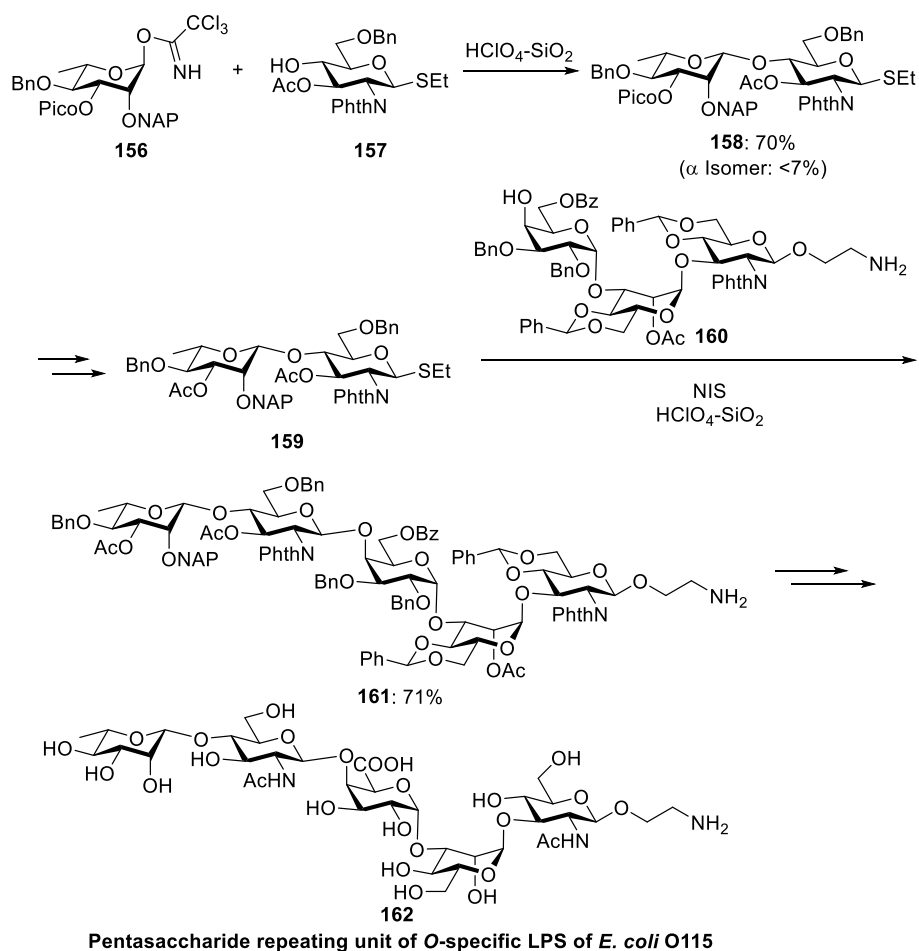


Figure 1.2.10 HAD 法を駆使した大腸菌 O115 LPS O-抗原の繰り返し五糖鎖誘導体 **162** の合成

第3章 位置及び立体選択的グリコシル化反応

これまでに開発されてきた立体選択的グリコシル化反応を利用することで、病原菌抗原糖鎖をはじめとする様々な複雑糖鎖が合成されてきた。しかし、ほとんどの手法において、糖供与体が結合する位置を制御するために、保護・脱保護反応を駆使して、望む1つの水酸基が遊離の糖受容体を調製していた。したがって、糖鎖合成においては、保護・脱保護工程による工程数の増加が問題となっていた。このような背景の中、複雑な保護・脱保護工程を簡略化し得る、立体選択性だけでなく、糖の結合位置も同時に制御可能である位置及び立体選択的グリコシル化反応の開発が注目を集めている¹³。以下に、これまで開発されてきた位置及び立体選択的グリコシル化反応の具体例について述べる。

3.1 有機スズ化合物を用いた位置及び立体選択的グリコシル化反応

1995年、Gareggらは、有機スズ化合物を用いた4つの水酸基が遊離のガラクトシド糖受容体 **163** に対する位置及び立体選択的グリコシル化反応を報告している⁵⁰(Figure 1.3.1)。まず、**163** に対し、有機スズ化合物を作用させることで、スズアセタール **164** を形成し、続いて2位にアシル系保護基を有する糖供与体 **165** を作用させることで、6位水酸基選択的かつ1,2-*trans*-立体選択的に **166** が得られることを見出している。本反応の位置選択性は、スズアセタール化により4,6位水酸基の求核性が向上する点、及び6位水酸基がより立体障害の少ない1級水酸基である点の2点により発現していると考えられている。実際に、有機スズ化合物を用いない条件で **163** と **165** とのグリコシル化反応を行った結果、過剰反応の生成物である三糖鎖 **167** が17%、四糖鎖 **168** 及び **169** がそれぞれ14%及び7%得られ、目的の二糖鎖はほとんど得られないことがわかっている。したがって、本反応の位置選択性の発現には、スズアセタールの形成が重要であることが明らかになっている。

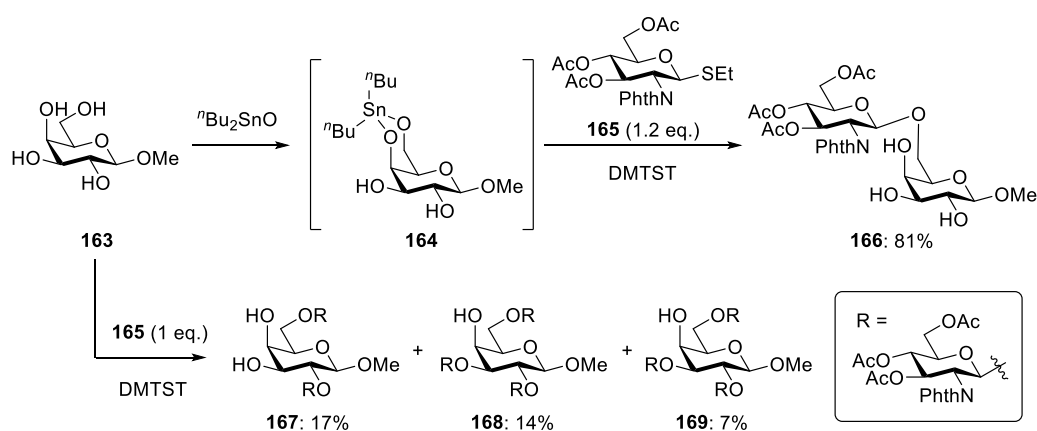


Figure 1.3.1 スズアセタールを利用した位置及び1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応

また、TBAI 存在下、臭化糖 **170** とスズアセタール **164** とのグリコシル化反応を行うことで、6 位水酸基選択的かつ 1,2-*cis*- α -立体選択的に **172** が得られることを見出している (Figure 1.3.2)。本反応は、TBAI により生じた反応性の高い **171** に対して、スズアセタール化により求核性が向上した 6 位水酸基が求核攻撃することで、位置及び 1,2-*cis*- α -立体選択的に **172** が得られたと考えられている。Madsen らは、本スズアセタールを用いた位置及び 1,2-*cis*- α -立体選択的グリコシル化反応に着目して、更なる検討を行っている⁵¹。しかし、位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応への応用は未だ達成されていない。

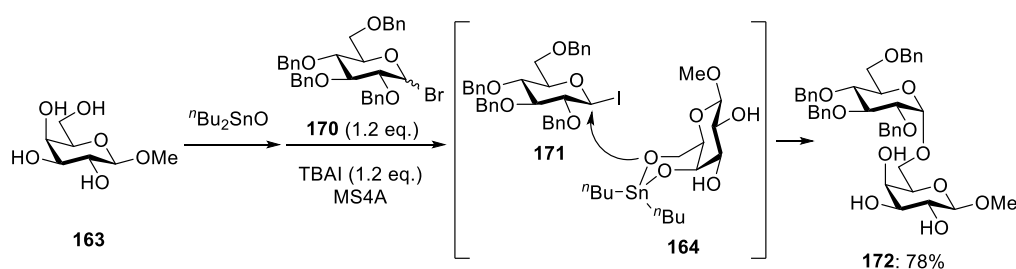


Figure 1.3.2 スズアセタールを利用した位置及び 1,2-*cis*-立体選択的グリコシル化反応

2000 年、梶らは、有機スズ化合物を用いた 2 級水酸基に対する位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応を報告している⁵²(Figure 1.3.3)。3 つの水酸基が遊離したラムノシド **173** に対し、有機スズ化合物を作用させることで、スズアセタール **174** を形成し、続いて 2 位にアシル系保護基を有する糖供与体 **175** を作用させることで、3 位水酸基選択的かつ 1,2-*trans*-立体選択的に **176** が得られることを見出している。有機スズ化合物の *cis*-1,2-ジオールの認識により、2,3 位水酸基を活性化し、続いて、より立体障害の少ないエクアトリアル位である 3 位水酸基が選択的に **176** に求核攻撃することで、位置及び 1,2-*trans*-立体選択的に反応が進行したと考えられる。

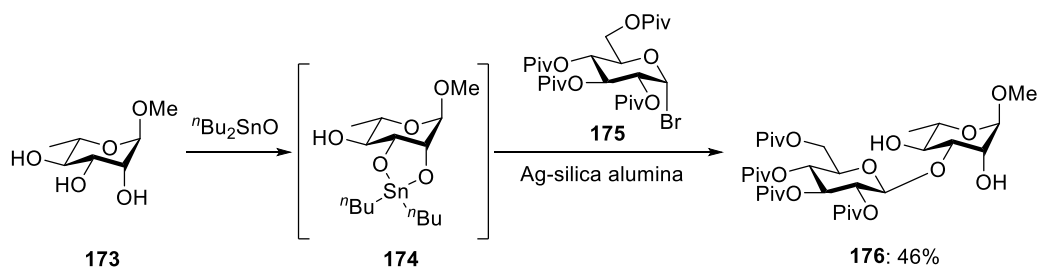


Figure 1.3.3 スズアセタールを利用した 2 級水酸基に対する位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応

また、2013 年、村松らは、有機スズ触媒を用いた位置及び立体選択的グリコシル化反応を報告している⁵³(Figure 1.3.4)。Ph₂SnCl₂ 及び 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridyl (DMBPY) 存在下、4 つの水酸基が遊離のマンノシド **177** と臭化糖 **178** とのグリコシル化反応を行った結果、位

置及び 1,2-*trans*-立体選択的に **180** が得られることを見出している。本反応の詳細な反応機構は明らかになっていないが、**177** の *cis*-1,2-ジオール構造を Ph_2SnCl_2 が認識して中間体 **179** が生成し、続いて、 Ag_2O により活性化された糖供与体 **178** に **179** の 3 位水酸基が求核攻撃することで、3 位水酸基選択的かつ 1,2-*trans*-立体選択的に反応が進行したと提唱されている。本反応は、触媒量の有機スズ化合物で反応が進行する点、及び多様な無保護糖受容体に応用可能である点から非常に有用である。しかし、本手法においても、位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応への応用は達成されていない。

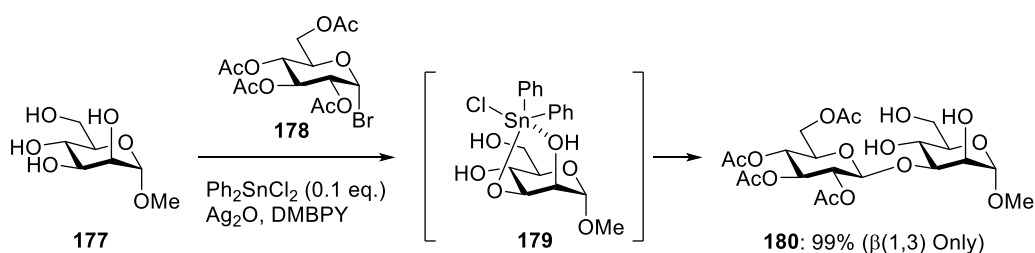


Figure 1.3.4 有機スズ触媒を用いた位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応

3.2 スクロース糖受容体を用いた位置及び立体選択的グリコシル化反応

2016 年、Miller らは、カルシウムとスクロースとのキレート錯体を利用した位置及び立体選択的グリコシル化反応を報告している⁵⁴(Figure 1.3.5)。 $\text{Ca}(\text{OTf})_2$ 存在下、**181** と **182** とのグリコシル化反応を検討した結果、位置及び立体選択的に β -グルコシド **183** が得られることを見出している。本反応は、スクロースにカルシウムイオンがキレートした錯体が **182** を活性化し、続いてスクロース 3'位水酸基が **182** に $\text{S}_{\text{N}}2$ 的に求核攻撃することで、位置及び立体選択的に反応が進行すると考えられている。しかし、本反応の詳細な反応機構や位置選択性の発現要因は明らかになっていない。本手法は、糖供与体及び糖受容体ともに保護基を必要とせず、かつ通常厳密な禁水条件で行われるグリコシル化反応を水存在下で行うことが可能であるため、非常に有用である。しかし、糖受容体としてスクロース誘導体しか使用できない点や 1,2-*cis*-グリコシド結合構築に応用させていない点など課題が多く残されている。

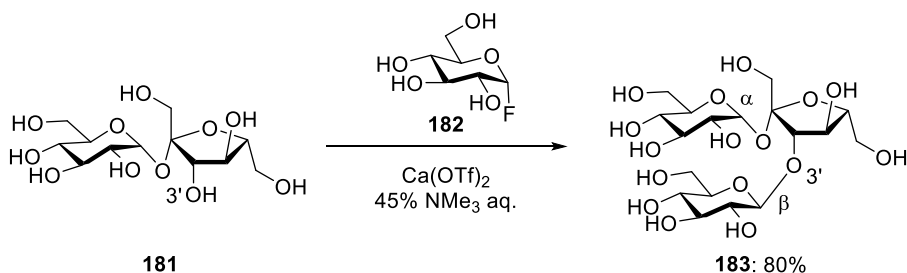


Figure 1.3.5 スクロース糖受容体を用いた位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応

3.3 有機ホウ素化合物を利用した位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応

1999年、青山らは、ボロン酸誘導体を用いた位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応を報告している⁵⁵(Figure 1.3.6)。3つの水酸基が遊離したフコシド **184** に対してボロン酸誘導体 **185** を作用させることで、**185** が **184** の *cis*-1,2-ジオールを認識し、4配位ボロネートエステル **186** が形成する。続いて、4配位ボロネートエステル化により、求核性が向上し、かつ立体障害の少ないエクアトリアル位の3位水酸基が選択的に糖供与体 **178** に求核攻撃することで、位置及び 1,2-*trans*-立体選択的にβ(1,3)グルコシド **187** が得られる。本反応の立体選択性は2位アシル系保護基を利用した隣接基関与により達成されている。

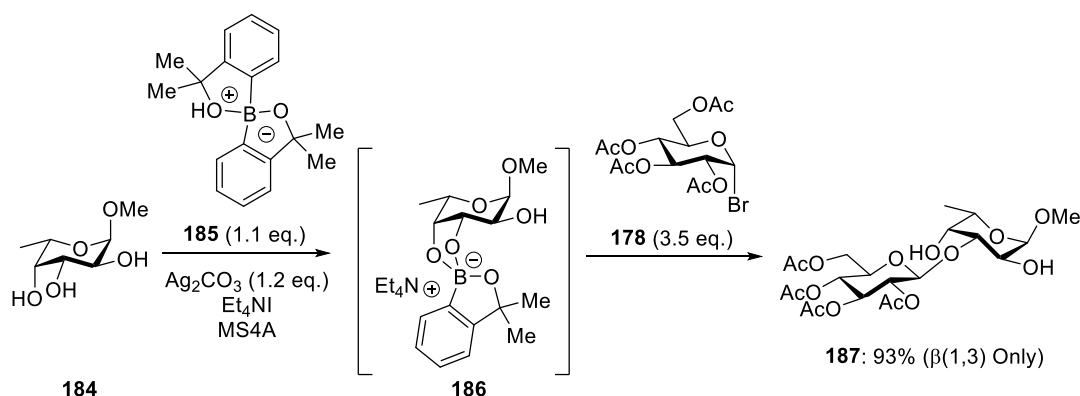


Figure 1.3.6 ボロン酸誘導体を用いた位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応

2010年、梶らは、ボロン酸を一時的な保護基(マスキンググループ)として利用した位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応を報告している⁵⁶(Figure 1.3.7)。まず、4つの水酸基が遊離したガラクトシド糖受容体 **163** に対して、ボロン酸 **188** を作用させることで、4,6位水酸基をボロン酸エステルでマスキングした **189** を合成した。続いて、NIS、TMSOTf存在下、糖供与体 **190** を作用させることで、3位水酸基選択的に反応が進行し、β(1,3)ガラクトシド **191** が位置及び立体選択的に得られた。本反応は、前述した青山らの位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応とは異なり、4配位ボロネートエステルではなく、3配位ボロン酸エステルを用いることで、エステル化した水酸基を保護している。したがって、遊離した、より立体障害の少ない3位水酸基選択的に反応が進行したと考えられている。また、本反応の立体選択性は2位アシル系保護基を利用した隣接基関与により達成されている。

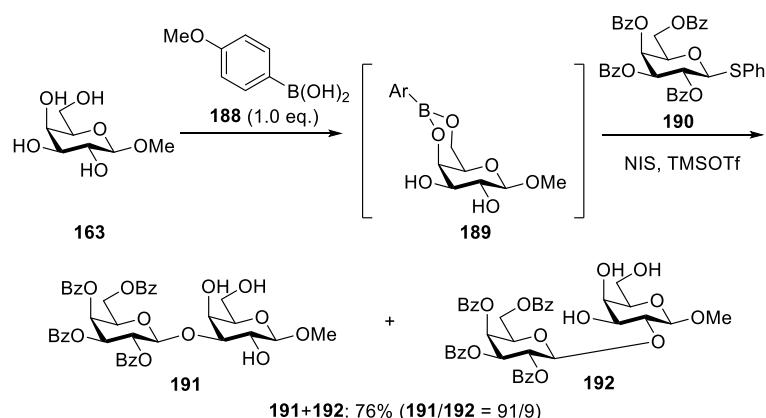


Figure 1.3.7 ボロン酸をマスキンググループとして利用した位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応

2011年、Taylorらは、ボリン酸触媒を用いた位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応を報告している⁵⁷(**Figure 1.3.8**)。ボリン酸誘導体 **194** を存在下、3つの水酸基が遊離のマンノシド **193** と臭化糖 **178** とのグリコシル化反応を行った結果、位置及び 1,2-*trans*-立体選択的にβ(1,3)グルコシド **196** が得られることを見出している。まず、マンノシド **193** に対してボリン酸誘導体 **194** を作用させることで、**194** が **193** の *cis*-1,2-ジオールを認識し、4配位ボリネートエステル **195** が形成する。続いて、求核性が向上した立体障害の少ない3位水酸基が臭化糖 **178** に対し、 S_N2 的に求核攻撃することで、位置及び 1,2-*trans*-立体選択的にβ(1,3)グルコシド **196** が得られたと考えられている。本反応は、触媒量のボリン酸誘導体で位置及び立体選択的に反応が進行するため、非常に有用である。

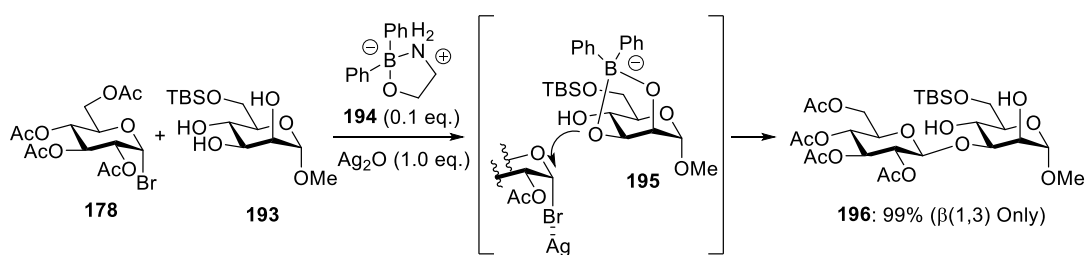


Figure 1.3.8 ボリン酸誘導体を用いた位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応

また、2016年、Taylorらは、メシラート糖を糖供与体として用いた位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応を報告している⁵⁸(**Figure 1.3.9**)。ラクツール **197** をメシル化して得られたメシラート糖 **198** に対して、ボリン酸触媒 **199** 存在下、**193** とのグリコシル化反応を行った結果、高収率かつ位置及び 1,2-*trans*-立体選択的にβ(1,3)グルコシド **200β** が得られることを見出している。本反応は、2位にアシル基を有さない **198** を糖供与体として用いて

いるにも関わらず、1,2-*trans*-立体選択的に反応が進行したことから、 α -メシラート糖 **198 α** に対して、立体障害の少ない **193** の 3 位水酸基が S_N2 的に求核攻撃していると考えられている(**Figure 1.3.10**)。また、 β -メシラート糖 **198 β** には、ポリネートエステルの立体障害により、ほとんど反応が進行しなかったため、1,2-*trans*- β -立体選択的に反応が進行したと考えられている。実際に、ポリリン酸触媒 **199** を用いない反応条件では、本反応は、立体選択性が逆転し、3 位水酸基選択的かつ 1,2-*cis*- α -立体選択的に進行することが明らかになっている。これは、ポリリン酸触媒 **199** 非存在下では、反応性の高い β -メシラート糖 **198 β** に対し、立体障害の少ない **193** の 3 位水酸基が S_N2 的に求核攻撃しているためであると考えられている。しかし、 β -マンノシドや β -ラムノシド合成をはじめとする 1,2-*cis*- β -グリコシル化反応への応用は達成されていない。

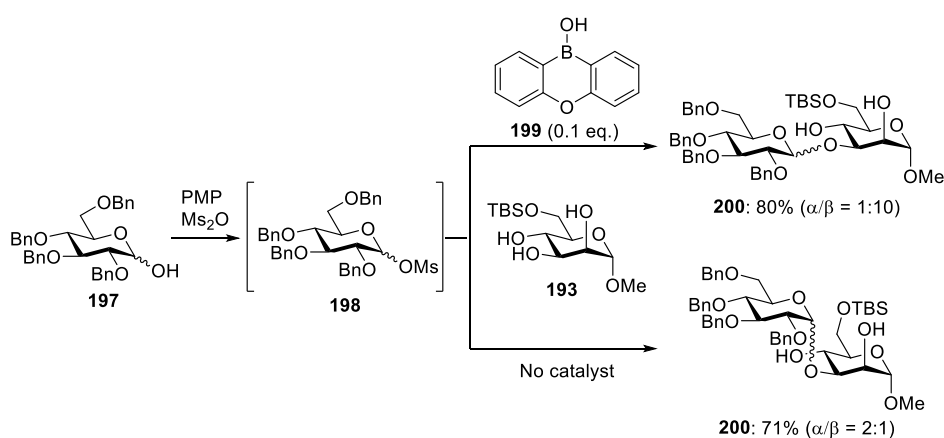


Figure 1.3.9 **198** と **193** との位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応

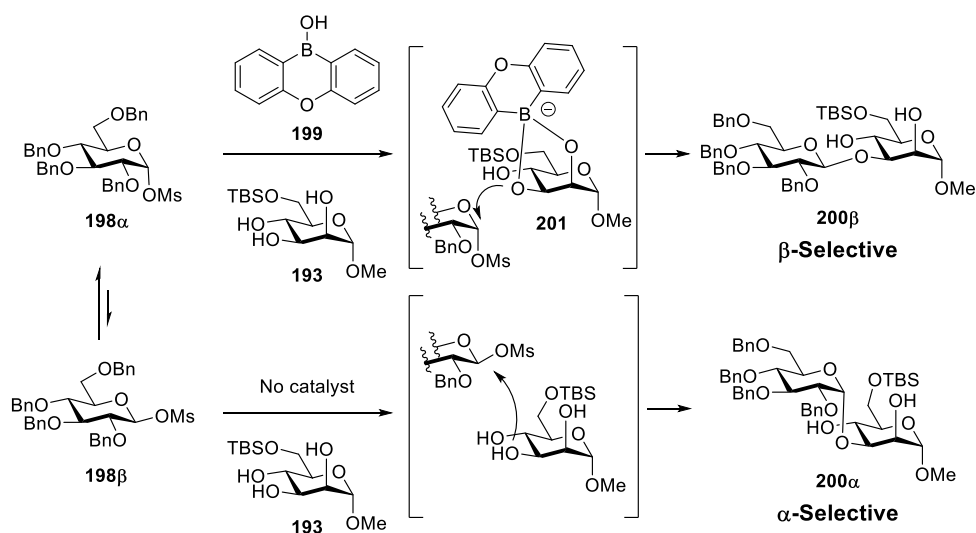


Figure 1.3.10 **198** と **193** との位置及び立体選択的グリコシル化反応の推定反応機構

第 4 章 ホウ素媒介アグリコン転移反応を利用した 1,2-*cis*-立体選択的グリコシル化反応

4.1 ポリン酸触媒を用いた 1,2-*cis*-立体選択的グリコシル化反応

当研究室では、2016 年に、ポリン酸触媒を用いたホウ素媒介アグリコン転移(boron mediated aglycon delivery, BMAD)反応による 1,2-*cis*- α -立体選択的グリコシル化反応を報告している⁵⁹(Figure 1.4.1)。ポリン酸触媒 **203** 存在下、1,2-アンヒドログルコース **204** とモノオール **202** とのグリコシル化反応を検討した結果、望む α -グルコシド **205** が高収率かつ完全な立体選択性で得られることを見出している。

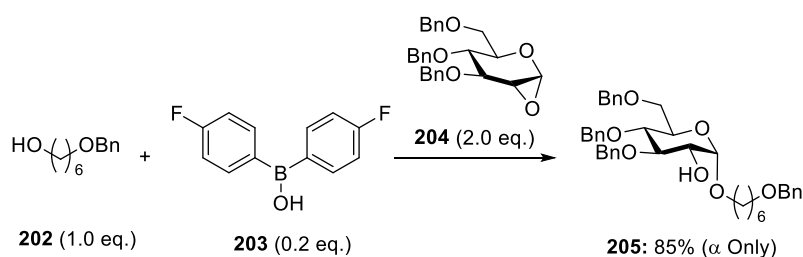


Figure 1.4.1 ポリン酸触媒を用いた 1,2-*cis*- α -立体選択的グリコシル化反応

本反応は、反応機構解析が行われていないため、詳細な反応機構は明らかになっていないが、Figure 1.4.2 に示すような推定反応機構が提唱されている。まず、モノオール **202** から誘導されるポリン酸-糖受容体エステル **206** が 1,2-アンヒドロ糖 **204** のエポキシ基を活性化することで、オキソニウムカチオンとボリネートエステルを有する中間体 **207** が生成する。続いて、求核性が向上したモノオールの水酸基が糖供与体のアノマー位に 2 位置換基と同じ面から転移することで、立体選択的に α -グルコシドが得られると考えられている。また、グリコシル化後に生じるポリン酸エステル **208** と未反応の糖受容体 **202** 間におけるエステル交換反応により、ポリン酸-糖受容体エステル **206** が再生するため、触媒量のポリン酸で反応が進行することが見出されている。さらに、本 BMAD 法は、糖供与体を 1,2-アンヒドロマンノース **209** に変更することで、 β -立体選択的マンノシル化反応にも適応可能であることが明らかになっている⁶⁰(Figure 1.4.3)。本反応は、直接的かつ完全な立体選択性で β -マンノシドを含む 1,2-*cis*-グリコシドが合成可能であり、非常に有用である。実際に、当研究室では、本手法を応用したアクレモマンノリピン A(**215**)の全合成、及びマンノシルエリスリトールリピッド類 **223-242** の系統的全合成を達成している^{60,61}(Figure 1.4.4-5)。しかし、本 BMAD 法が β -ラムノシドの合成にも応用可能かは明らかになっていない。

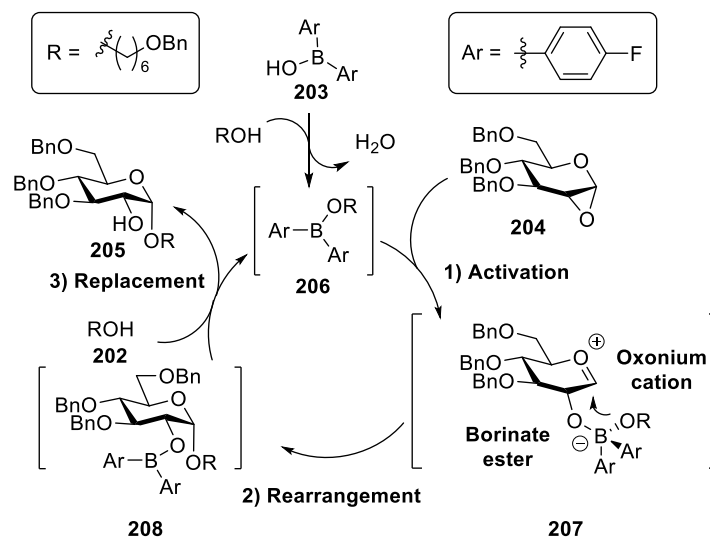


Figure 1.4.2 ボリン酸触媒を用いた 1,2-*cis*-立体選択的グリコシル化反応の推定反応機構

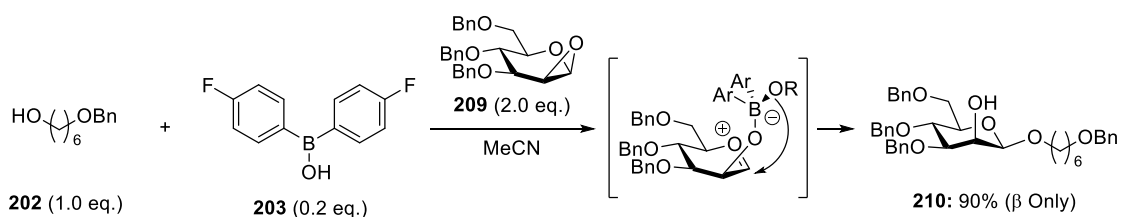


Figure 1.4.3 ボリン酸触媒を用いた β -立体選択的マンノシル化反応

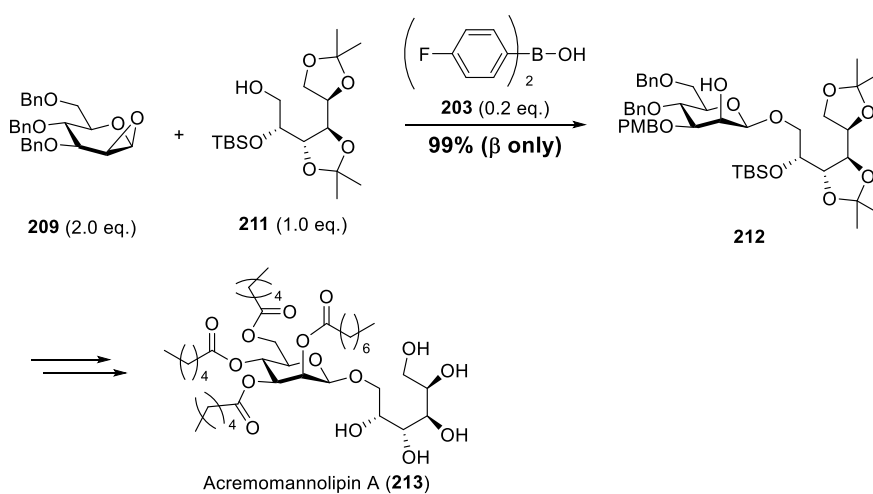


Figure 1.4.4 BMAD 法を駆使したアクレモマンノリピン A(213)の全合成

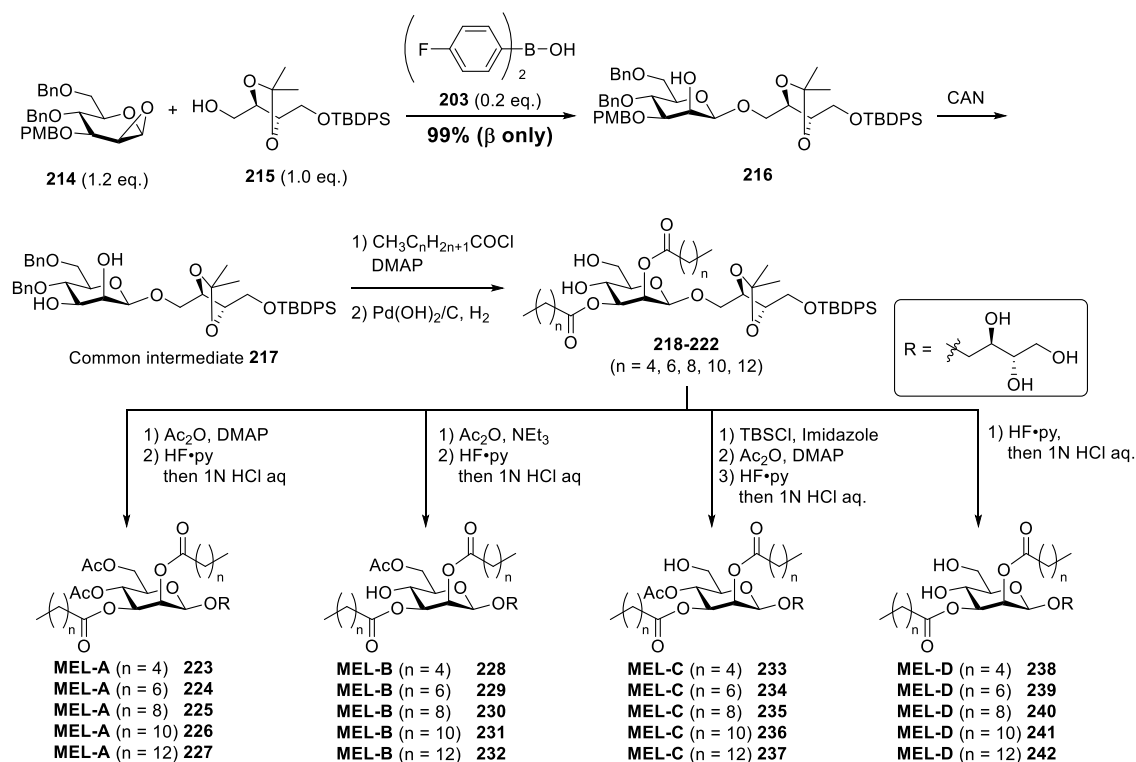


Figure 1.4.5 BMAD 法を駆使したマンノシルエリスリトールリピッド類の系統的全合成

4.2 ボロン酸触媒を用いた位置及び 1,2-*cis*- α -立体選択的グリコシル化反応

当研究室では、ボリン酸触媒をボロン酸触媒に変更することで、*cis*-1,2-または 1,3-ジオール糖受容体に対する位置及び 1,2-*cis*- α -立体選択的グリコシル化反応の開発に成功している⁶²(**Figure 1.4.6**)。すなわち、糖供与体として選択した 1,2-アンヒドログルコース **204** に対し、ボロン酸とジオール糖受容体とを脱水縮合したボロン酸-糖受容体エステル **243** を触媒量作用させることで、位置及び立体選択的に 1,2-*cis*- α -グリコシド **246** が得られることを見出している。本反応は、速度論的同位体効果測定及び DFT 計算を用いた反応機構解析により、高分離性の協奏的な S_Ni 型の反応機構で進行することが示唆されている⁶³。すなわち、ボロン酸-糖受容体エステル **243** が **204** のエポキシ基を活性化すると同時に、**204** のアノマー位に近接しやすい **243** の片方の酸素原子が、2 位置換基と同じ面から転移することで、位置及び立体選択的に 1,2-*cis*- α -グリコシド **246** が得られると考えられている。しかし、本 BMAD 法は、より合成が困難である 1,2-*cis*- β -グリコシドの位置及び立体選択的な合成には応用されていない。

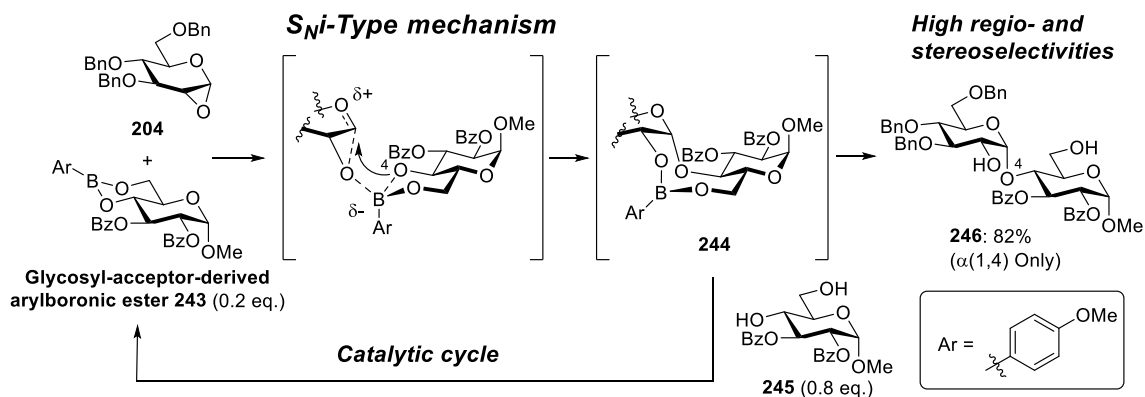


Figure 1.4.6 ボロン酸エステルを用いた位置及び 1,2-*cis*- α -立体選択的グリコシル化反応

第 5 章 本論文の概要

本論文では、位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応の開発と病原菌抗原糖鎖合成への応用について記載した。

本論第 1 章 ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的マンノシル化反応の開発と応用⁶⁴

本論第 1 章においては、ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的マンノシル化反応の開発と大腸菌 O75 LPS O-抗原繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の合成への応用について記述した。多様な糖ジオールに対して、触媒量の *p*-ニトロフェニルボロン酸(**247**)を用いて、1,2-アンヒドロマンノース **209** とのグリコシル化反応を検討した結果、対応する β -マンノシドが高収率かつ高い位置及び立体選択性で得られることを見出した(**Figure 1.5.1**)。

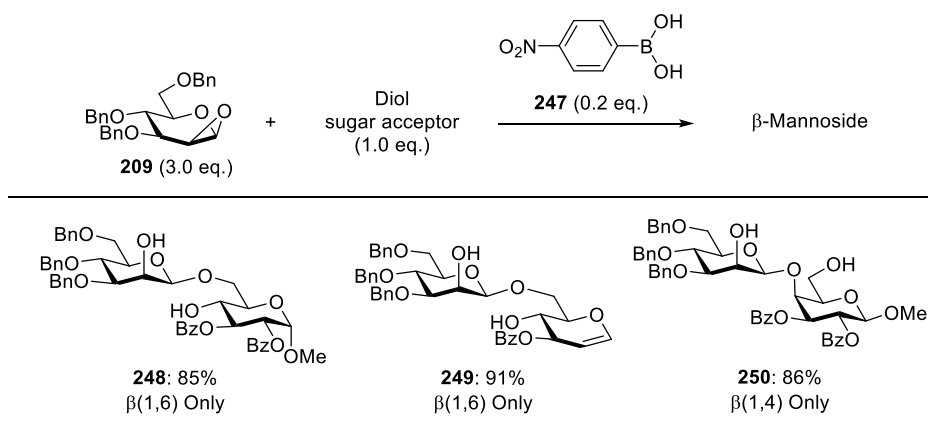


Figure 1.5.1 ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的マンノシル化反応

また、本反応を駆使した大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の効率的な合成法を確立した(**Figure 1.5.2**)。

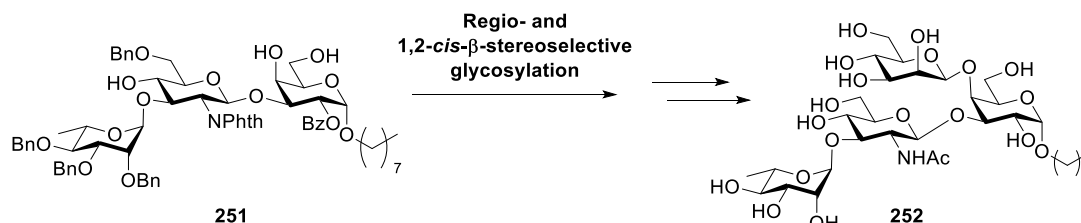


Figure 1.5.2 BMAD 法を用いた大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の合成

本論第 2 章 有機ホウ素化合物を用いたβ-立体選択的ラムノシル化反応の開発と応用⁶⁵

本論第 2 章においては、有機ホウ素化合物触媒を用いた BMAD 法によるβ-立体選択的ラムノシル化反応の開発と肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の合成への応用について記述した。より構築が困難なβ-ラムノシド結合の立体選択的構築への応用を志向し、多様なモノオールに対して、ボリン酸触媒 **203** を用いて、1,2-アンヒドロラムノース **253** とのグリコシル化反応を検討した結果、対応するβ-ラムノースが高収率かつ完全な立体選択性で得られることを見出した(**Figure 1.5.3**)。さらに、速度論的同位体効果測定及び DFT 計算を利用した反応機構解析の結果、本反応が高分離性の協奏的 S_Ni 型の反応機構で進行することが示唆された。

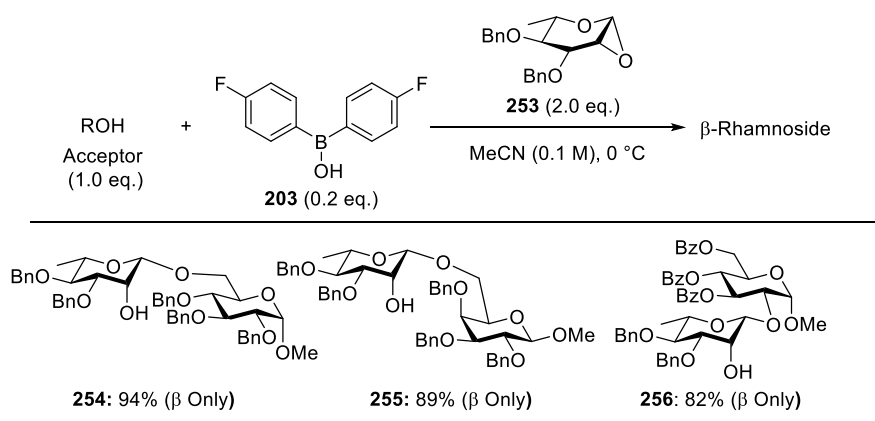


Figure 1.5.3 ボリン酸触媒を用いたβ-立体選択的ラムノシル化反応

また、β-ラムノシド結合の位置及び立体選択的構築への応用を志向し、多様な糖ジオールに対して、触媒量の *p*-ニトロフェニルボロン酸(**247**)を用いて、1,2-アンヒドロラムノース **253** とのグリコシル化反応を検討した結果、対応するβ-ラムノースが高収率かつ高い位置及び立体選択性で得られることを見出した(**Figure 1.5.4**)。

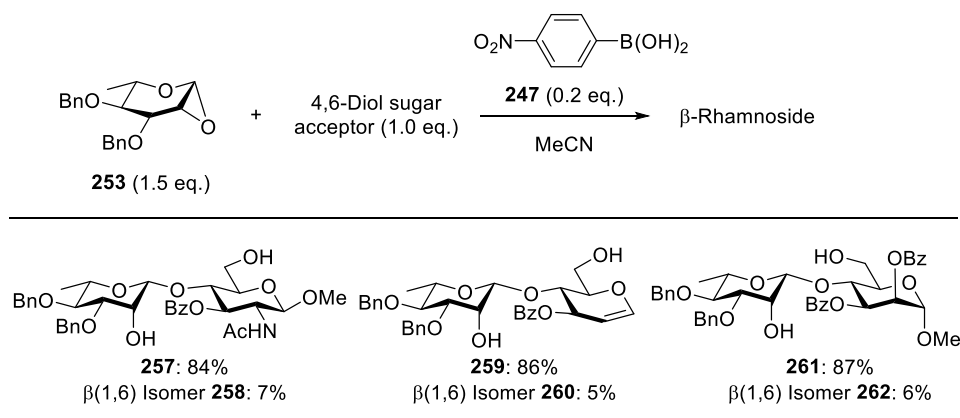


Figure 1.5.4 ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的ラムノシル化反応

最後に、本反応を駆使した肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の合成を達成した(**Figure 1.5.5**)。

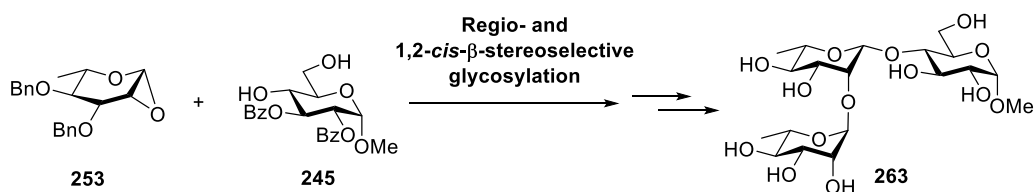


Figure 1.5.5 BMAD 法を用いた肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の合成

本論第 3 章 病原性大腸菌 O1 由来五糖鎖の合成と鳥類病原性大腸菌 O1 の抗原候補糖鎖の解明⁶⁶

本論第 3 章においては、本論第 2 章で開発した BMAD 法を駆使した病原性大腸菌 O1 由来糖鎖誘導体 **266** の合成と鳥類病原性大腸菌(APEC) O1 の抗原候補糖鎖解明研究について記載した。まず、本論第 2 章で開発したボロン酸触媒を用いた位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的ラムノシル化反応を適用することで、病原性大腸菌 O1 由来五糖鎖誘導体 **266** の初の合成を達成した(**Figure 1.5.6**)。

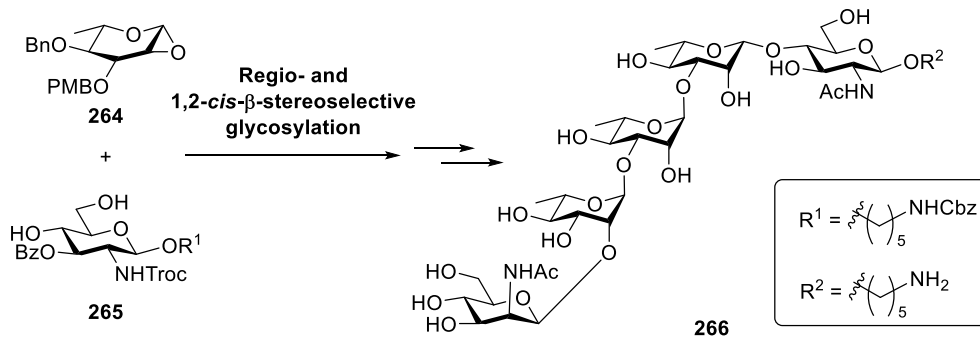


Figure 1.5.6 BMAD 法を用いた病原性大腸菌 O1 由来糖鎖誘導体 **266** の合成

さらに、APEC O1 株をニワトリに免疫することで調製した抗 APEC O1 血清と、合成した五糖鎖 **266** を複合化した複合糖質 **267** を用いて、抗 APEC O1 抗体と複合糖質との結合を評価した結果、病原性大腸菌 O1 由来五糖鎖が、APEC O1 に対するワクチン開発に有望な抗原候補糖鎖であることを明らかにした(**Figure 1.5.7**)。

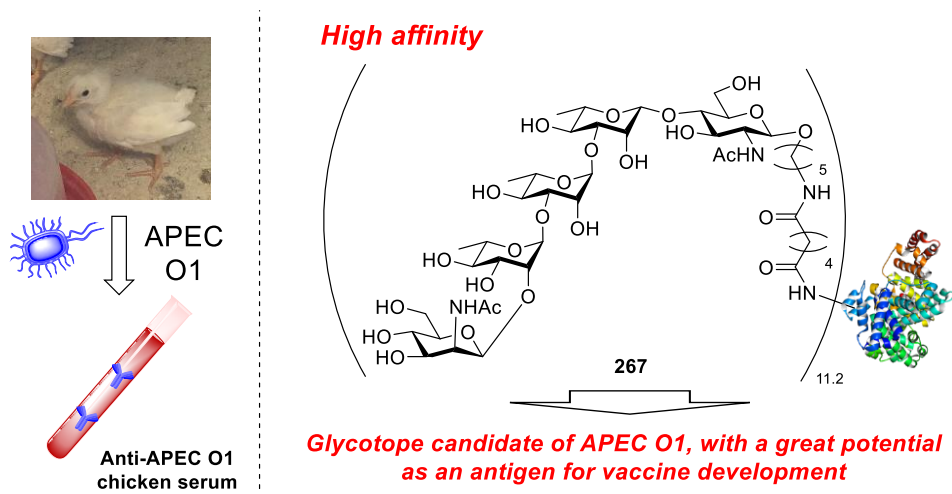


Figure 1.5.7 複合糖質 **267** を用いた APEC O1 抗原候補糖鎖の解明

本論

第 1 章 ボロン酸触媒を用いた位置及びβ-立体選択的マンノシル化

反応の開発と応用

1.1 研究目的

序論第 4 章で前述したボリン酸—糖受容体エステルを用いた BMAD 法による立体選択的 β-マンノシル化反応⁶⁰の開発により、多様なβ-マンノシドが立体選択的に合成可能になった。しかし、本手法やこれまで数多く報告されたβ-立体選択的マンノシル化反応によって、糖が結合する水酸基を制御する場合、糖受容体の調製に様々な保護基を利用した保護・脱保護工程を必要としていた。そのため、より短工程かつ効率的な糖鎖合成を行う上で、保護基の利用を最小限にする位置及びβ-立体選択的マンノシル化反応の開発が強く求められている。一方、当研究室では、序論第 4 章で前述したボロン酸触媒を用いた BMAD 法による位置及び 1,2-*cis*-α-立体選択的グリコシル化反応⁶²が開発されている。本反応は、1,2-アンヒドログルコース **204** に対して、2 位置換基と同じ面から **204** のアノマー位に接近しやすいジオール糖受容体の片方の水酸基が選択的に転移することで、1,2-*cis*-α-グリコシドが位置及び立体選択的に得られることが見出されている。そこで、本研究では、より合成が困難であるβ-マンノシドに応用することにした。すなわち、本グリコシル化反応において、糖供与体として 1,2-アンヒドログルコース **204** の代わりに 1,2-アンヒドロマンノース **209** を用いることで、同様の反応機構によって、位置及び立体選択的に反応が進行し、対応するβ-マンノシドが効率的に合成できるのではないかと考えた(Figure 2.1.1)。

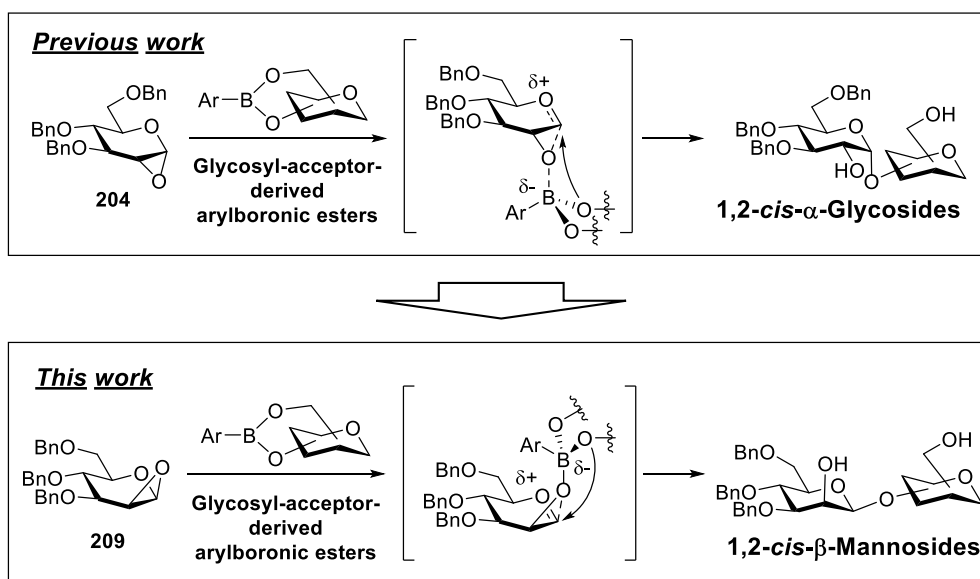


Figure 2.1.1 ボロン酸を用いた位置及び立体選択的グリコシル化反応

1.2 反応条件の最適化

糖供与体、糖受容体及びボロン酸として、1,2-アンヒドロマンノース **209**⁶⁷、グルコシド **245** 及び *p*-メトキシフェニルボロン酸(**188**)を選択した。まず、糖受容体 **245** に対して触媒量のボロン酸 **188** を添加し、トルエン溶媒下にて加熱還流させることでボロン酸エステル **243** を形成した。その後、アセトニトリル溶媒中、室温、6時間の条件下、糖供与体 **209** を加えることでグリコシル化反応を検討した(Figure 2.1.2)。その結果、1級である6位水酸基でグリコシル化反応が進行したマンノシド **248** が収率 43% ($\alpha/\beta=49/51$)で得られることがわかった。

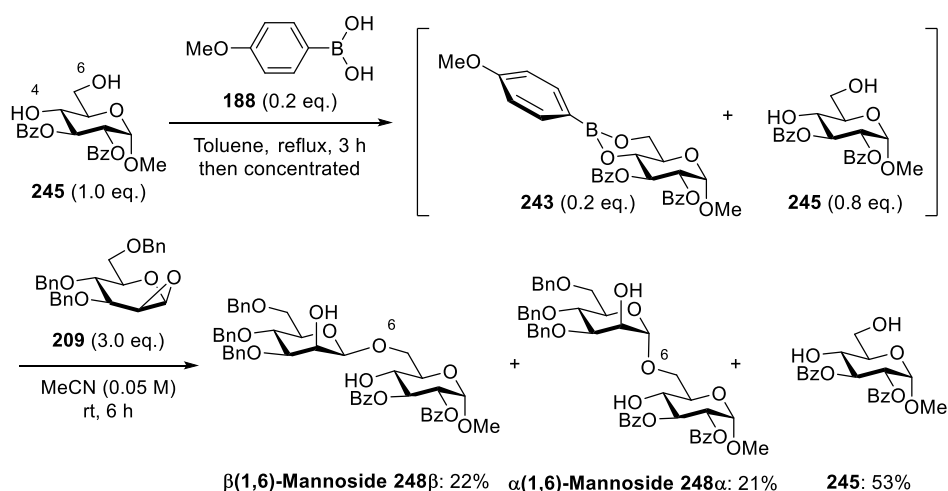


Figure 2.1.2 ボロン酸触媒 **188** を用いた **209** と **245** とのグリコシル化反応

得られたマンノシド **248** のアノマー位の立体化学は、アノマー位における C-H カップリング定数($^1J_{CH}$)の測定により決定した(Figure 2.1.3A)。一般に、 α -マンノシドの $^1J_{CH}$ は 170 Hz 程度、 β -マンノシドの $^1J_{CH}$ は 160 Hz 程度であることが知られている⁶⁸。本手法によって得られた2種類のマンノシドの $^1J_{CH}$ を測定した結果、168 Hz 及び 158 Hz の値を示したことから、それぞれが $\alpha(1,6)$ -マンノシド **248α**及び $\beta(1,6)$ -マンノシド **248β**であると決定した。また、 $\alpha(1,6)$ -マンノシド **248α**及び $\beta(1,6)$ -マンノシド **248β**の結合位置の決定は、Ac 化前後における $^1\text{H-NMR}$ の比較により行った(Figure 2.1.3B)。すなわち、**248α**及び **248β**におけるグルコース部位の4位メチンプロトンのケミカルシフトは、それぞれ 3.93 ppm 及び 3.84 ppm であるのに対し、アセチル化後に得られた **268** 及び **269** においては、それぞれ 5.26 ppm 及び 5.14 ppm であり、大きく低磁場シフトしていることから、**248α**及び **248β**が6位水酸基で配糖化された化合物であることを明らかにした。以上の結果により、先行研究で最適化されたボロン酸触媒 **188** では、位置選択的に反応が進行したが、立体選択性はほとんど発現しないことがわかった。そこで、立体選択性の向上を志向し、芳香環上に異なる置換基を有するボロン酸 **270**、**271**、**247** を用いて検討をした(Figure 2.1.4)。

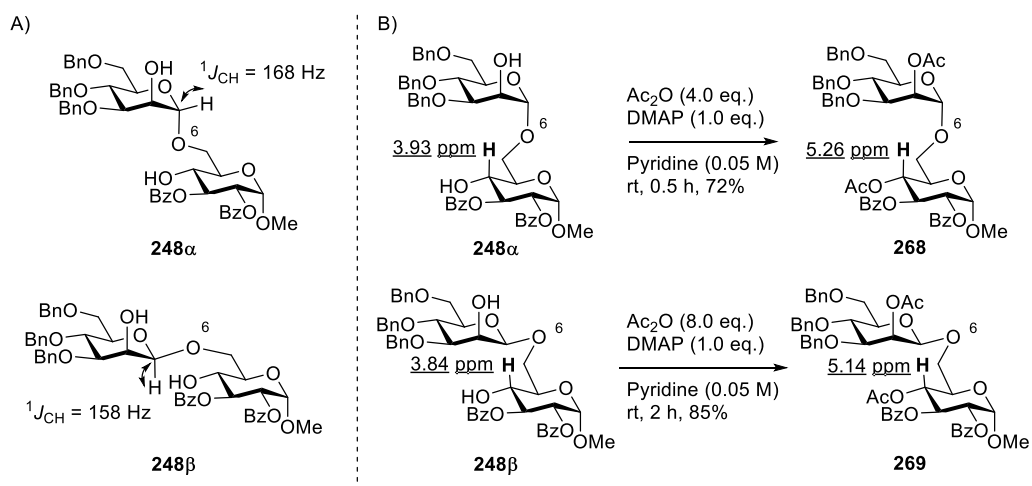


Figure 2.1.3 マンノシド **248** の構造決定

A) マンノシド **248** のアノマー位の立体化学の決定

B) マンノシド **248** の結合位置の決定

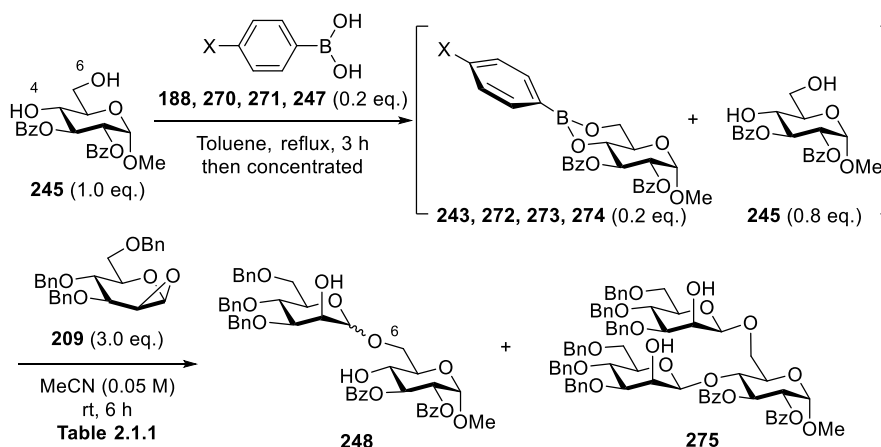


Table 2.1.1

Entry	Boronic acid	Yields		Recovery of 245
		248	275	
1	188 : X = OMe	43% ($\alpha/\beta=49/51$)	-	53%
2	270 : X = H	69% ($\alpha/\beta=17/83$)	-	13%
3	271 : X = F	72% ($\alpha/\beta=8/92$)	-	8%
4	247 : X = NO ₂	79% (β only)	10%	-

Figure 2.1.4 **209** と **245** とのグリコシル化反応におけるボロン酸触媒の検討

まず、電子供与性のメトキシ基を有する **188** から、置換基を有さないフェニルボロン酸 (**270**)に変更した結果、収率及び立体選択性ともに向上し、マンノシド **248** が収率 69% ($\alpha/\beta=17/83$)で得られた。また、電子求引性の置換基を有する *p*-フルオロフェニルボロン酸 (**271**)を用いた場合、さらに収率及び立体選択性が向上し、マンノシド **248** が 72% ($\alpha/\beta=8/92$)で得られた。これらの結果から、電子求引性の置換基を有するボロン酸が本反応には適していることが示された。ボロン酸触媒の芳香環上の置換基が、グリコシル化反応の立体選択性に与える影響について次のように考察した(**Figure 2.1.5**)。

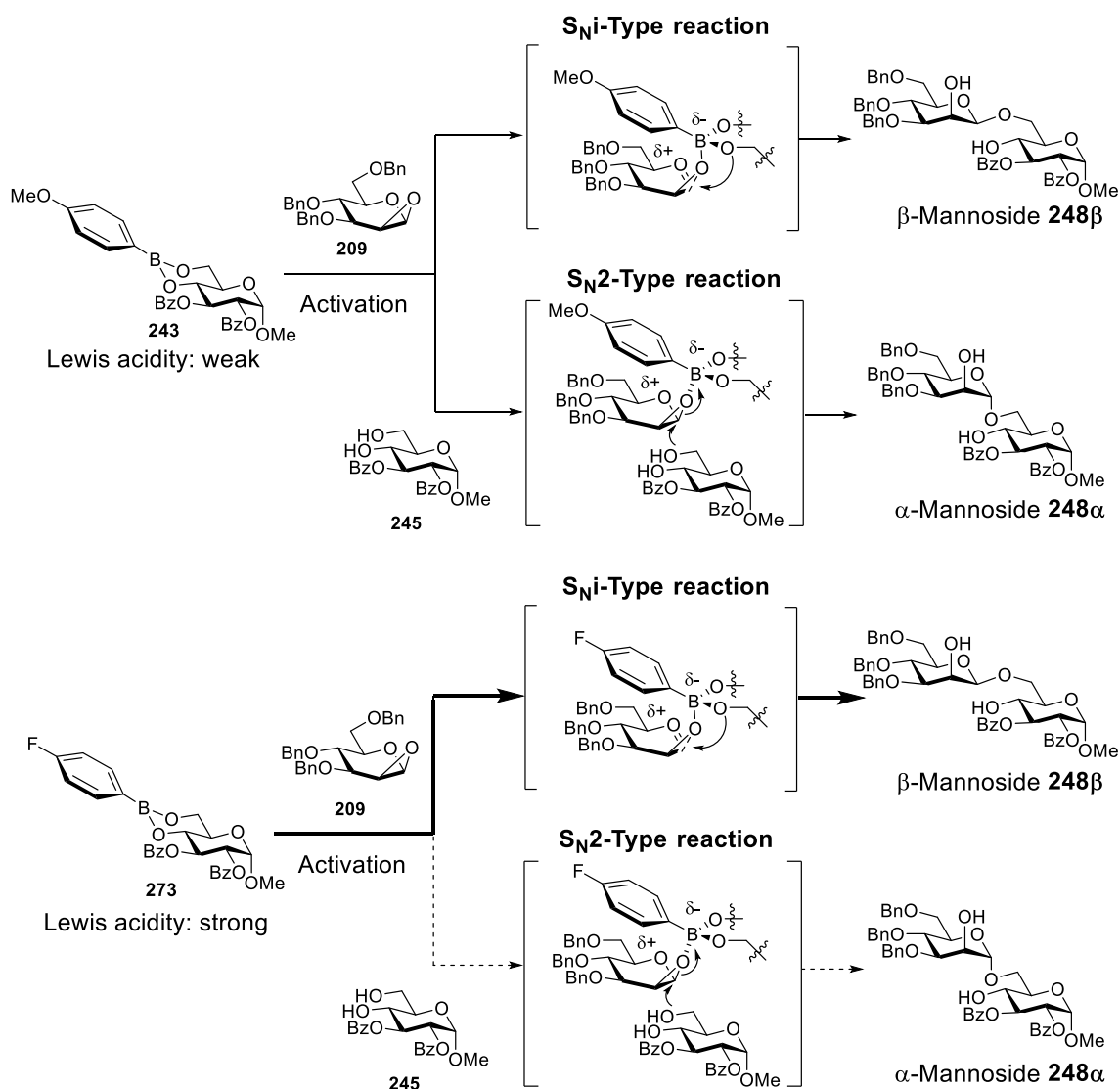


Figure 2.1.5 ボロン酸の芳香環上の置換基がグリコシル化反応に与える影響

電子供与性の置換基であるメトキシ基を有するボロン酸 **188** を用いた場合、対応するボロン酸—糖受容体エステル **243** のホウ素のルイス酸性が低いため、想定していた S_Ni 型の反応と競合して、糖受容体 **245** の有する一級水酸基が糖供与体 **209** のアノマー位に求核攻撃

したため、 $\alpha(1,6)$ -マンノシド **248 α** が多く副生したと考えた。一方、電子求引性の置換基であるフルオロ基を有するボロン酸 **271** を用いた場合、対応するボロン酸-糖受容体エステル **273** のホウ素のルイス酸性が高く、ボロン酸エステル単独で糖供与体 **209** が有するエポキシ基を強く活性化することで、ホウ素原子と結合した糖受容体 **245** の 6 位酸素原子が糖供与体 **209** の 2 位置換基と同じ面から優先的に転移し、 $\beta(1,6)$ -マンノシド **248 β** が立体選択的に得られたと考えた。そこで、より強い電子求引性の置換基であるニトロ基を有するボロン酸 **247** を用いて、グリコシル化反応を検討した。その結果、 $\alpha(1,6)$ -マンノシド **248 α** の副生を完全に抑制し、79%の収率かつ完全な立体選択性で $\beta(1,6)$ -マンノシド **248 β** が得られることを見出した。しかし、過剰反応による三糖鎖 **275** が 10%副生していることが分かった。

ここで、三糖鎖 **275** が生成する反応機構を考察した(**Figure 2.1.6**)。糖受容体 **245** 及びボロン酸 **247** から生成した 6 員環ボロン酸エステル **274** が糖供与体 **209** を活性化することで、一時的に 9 員環のボロン酸エステル **276** が形成される。これに対し、糖受容体 **245** がエステル交換反応をすることで、望む $\beta(1,6)$ -マンノシド **248 β** が生成し、6 員環ボロン酸エステル **274** が再生成される。この際、9 員環ボロン酸エステル **276** が、エステル交換反応より速く糖供与体 **209** を活性化した場合、同様の反応機構によって再びグリコシル化反応が進行し、三糖鎖 **275** が副生したと考えた。

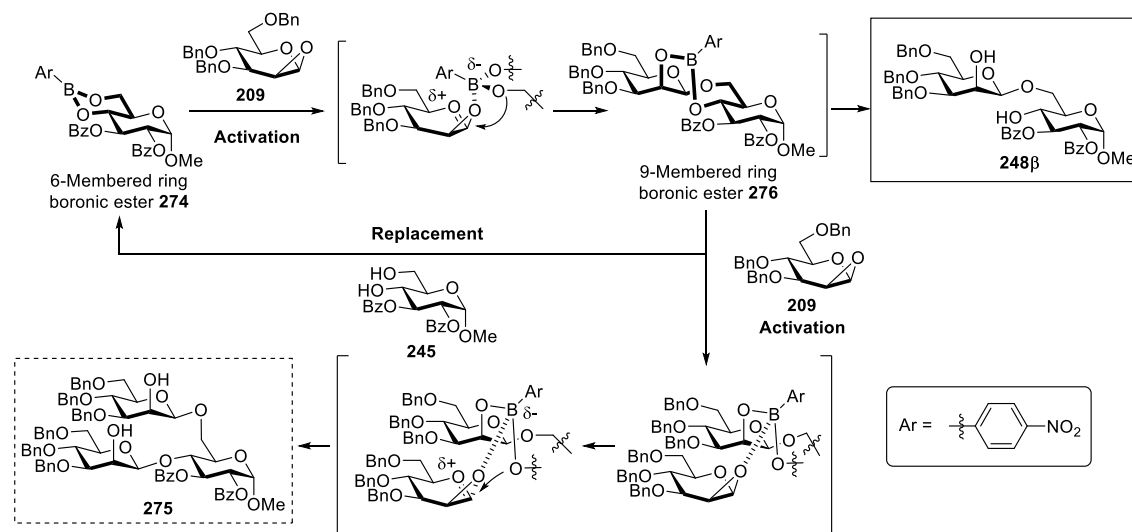


Figure 2.1.6 副生成物 **275** の推定生成機構

そこで、過剰反応抑制を志向し、本グリコシル化反応における反応温度を検討した(**Figure 2.1.7**)。その結果、低温条件下で反応を行うことで、三糖鎖 **275** の副生が抑制され、望む $\beta(1,6)$ -マンノシド **248 β** の収率が向上することを見出した。以上の結果より、9 員環ボロン酸エステル **276** による糖供与体 **209** の活性化は低温条件下では進行せず、エステル交換反応が優先することが示された。また 6 員環ボロン酸エステル **274** による糖供与体 **209** の活性化は

-20 °Cの低温条件下であっても速やかに進行し、望む **248β**が 90%の高収率で得られることを見出した。

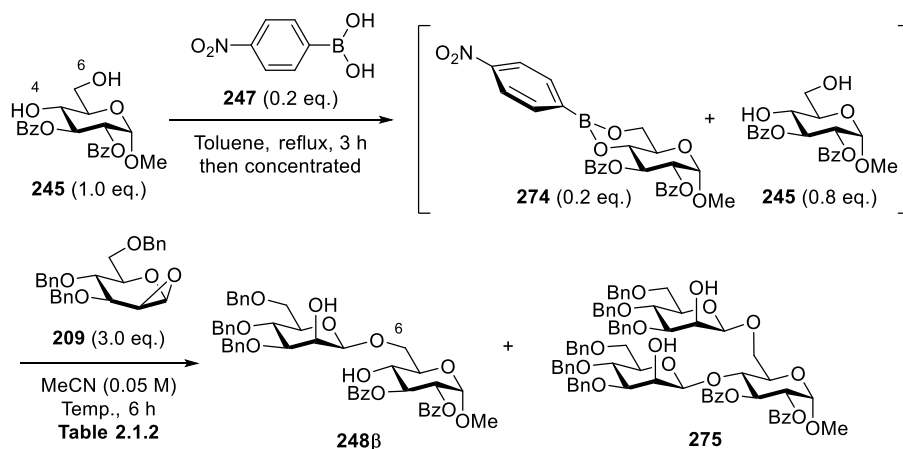


Table 2.1.2

Entry	Temp.	Yields		Recovery of 245
		248	275	
1	rt	79% (β only)	10%	-
2	0 °C	87% (β only)	trace	-
3	-20 °C	90% (β only)	0%	2%

Figure 2.1.7 **209** と **245** とのグリコシル化反応における反応温度の検討

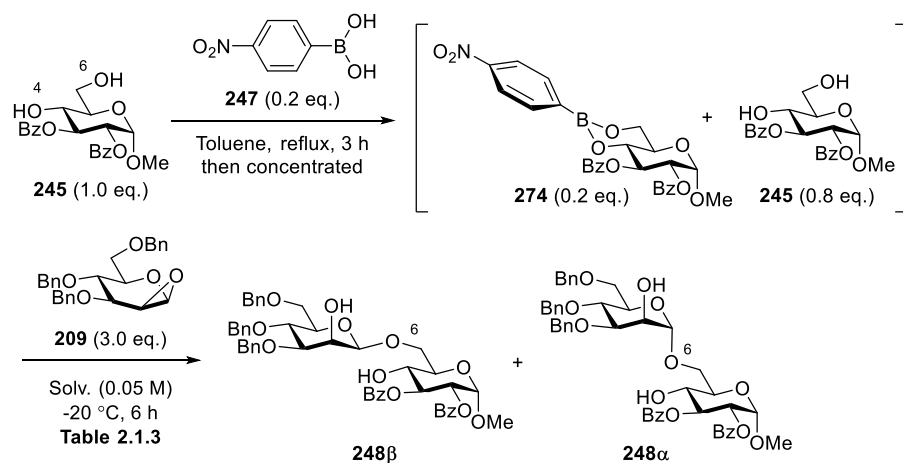


Table 2.1.3

Entry	Solv.	Yield of 248	α/β Ratio of 248	Recovery of 245
2	THF	81%	6/94	16%
3	Toluene	56%	48/52	31%
4	CH ₂ Cl ₂	46%	57/43	52%

Figure 2.1.8 **209** と **245** とのグリコシル化反応における反応溶媒の検討

次に、本反応における反応溶媒を検討した(**Figure 2.1.8**)。溶媒として配位性の高いテトラヒドロフランを用いた場合、アセトニトリル溶媒と同様に高位置及び立体選択的に反応が進行し、望む $\beta(1,6)$ -マンノシド **248 β** が高収率で得られることを見出した。一方、配位性の低い溶媒である塩化メチレン及びトルエンを用いた場合、収率及び立体選択性ともに著しく低下した。溶媒の配位性によって本反応の収率及び立体選択性が変化する理由について、次のように考察した(**Figure 2.1.9**)。高配位性溶媒を用いた場合、ボロン酸エステル **274** によって糖供与体 **209** が活性化することによって生じた正の部分電荷が、溶媒の配位によって安定化されるため、活性化エネルギーが低下し、望む $\beta(1,6)$ -マンノシド **248 β** が効率的に得られたと考えた。一方、低配位性溶媒を用いた場合、アノマー位に生じた正の部分電荷が溶媒により安定化されないため、 $\beta(1,6)$ -マンノシド **248 β** を生成する反応速度が低下することで S_N2 反応が競合し、立体選択性及び収率が低下したと考えた。なお、アセトニトリルを用いた場合、収率及び立体選択性が最も高かったことから、アセトニトリルを最適溶媒として以降の検討を行った。

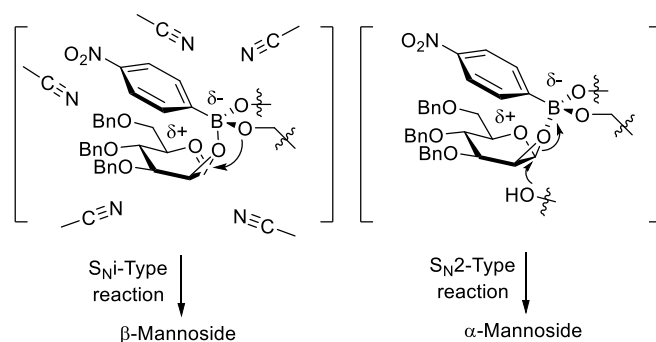


Figure 2.1.9 溶媒が立体選択性に与える影響

次に、本反応の実験操作の簡略化を志向し、本反応における前処理として行っていたトルエン溶媒下でのエステル形成反応を省略した反応条件で検討した(**Figure 2.1.10**)。その結果、前処理を省略した場合でも、前処理を行った条件とほぼ同等の結果が得られることを見出した。以上の結果より、ボロン酸エステル **274** の事前形成は必須ではないことが明らかになったため、以降の検討では、トルエン溶媒中、還流及び濃縮する操作を省略することとした。

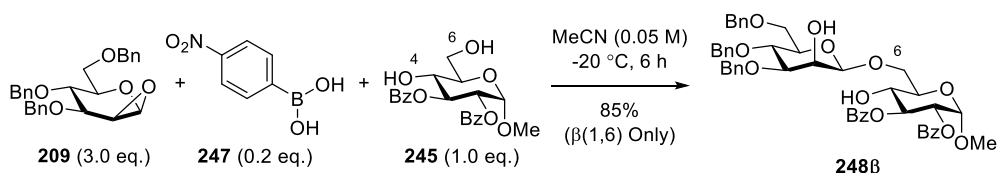


Figure 2.1.10 ボロン酸 **274** を用いた **209** と **245** とのグリコシル化反応

1.3 基質一般性の検討

次に、糖受容体の基質一般性を検討した(**Figure 2.1.11**)。1,3-ジオールを有するグルコサミニド **277**、グルカール **278** 及びマンノシド **279** を用いた本グリコシル化反応を検討した結果、どの糖受容体を用いた場合においても、位置及び立体選択的に反応が進行し、望む β (1,6)-マンノシド **281**、**249** 及び **283** がそれぞれ高収率で得られることを見出した。次に、ガラクトシド **280** を用いたグリコシル化反応を検討した。その結果、興味深いことに、1 級である 6 位水酸基ではなく、2 級である 4 位水酸基選択的に反応が進行し、対応する β (1,4)-マンノシド **250** が高収率かつ高位置及び立体選択的に得られることを見出した。

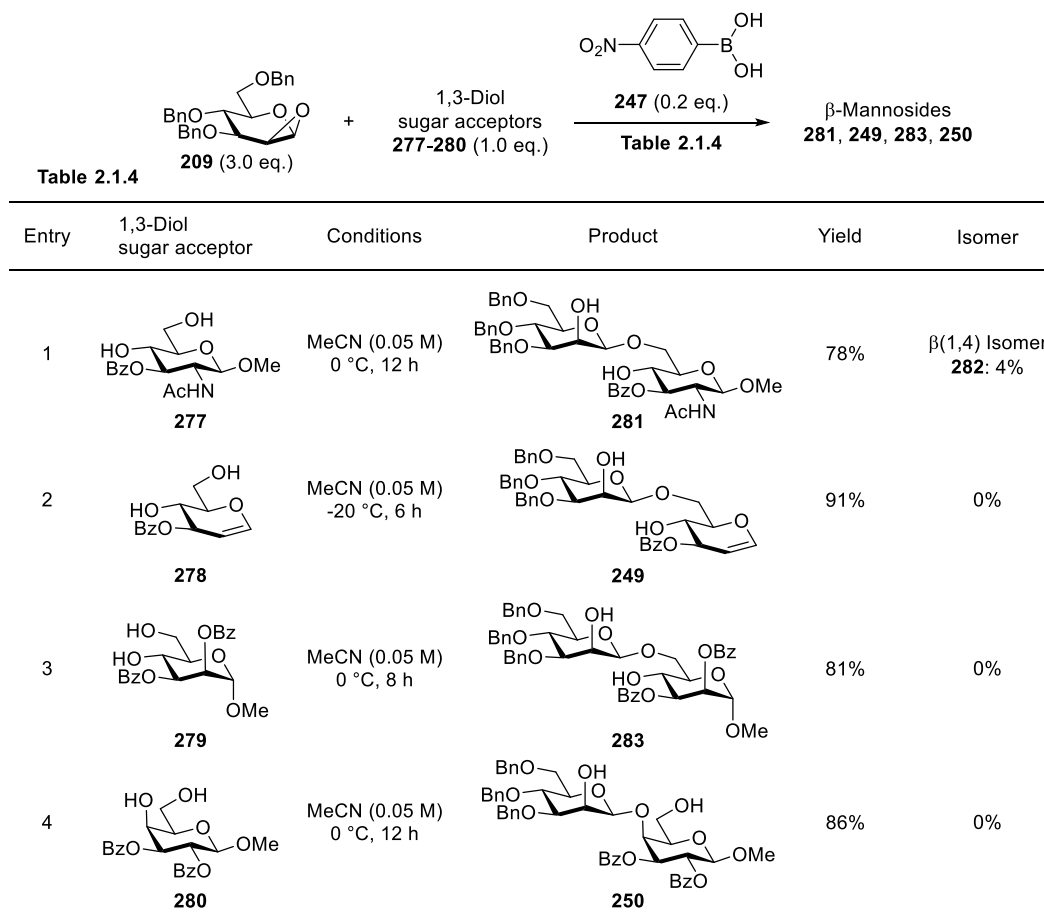


Figure 2.1.11 **209** と各種 1,3-ジオール糖受容体との位置及び β -立体選択的マンノシル化反応

以上の結果から、本反応の位置選択性について以下のように考察した(**Figure 2.1.12**)。アキシアル位に 4 位水酸基を有するガラクトシド **280** を用いた場合、ボロン酸エステルのホウ素を含む 6 員環のエクアトリアル方向から糖供与体 **209** が接近した 2 つの遷移状態モデルが推定されるが、6 位水酸基に対するグリコシル化反応の遷移状態では、糖供与体部位と糖受容体部位の環構造が重なっており、その立体障害により、4 位水酸基に対するグリコシ

ル化反応の遷移状態よりも不利であると考えた。したがって、グリコシル化反応が4位水酸基選択的に進行し、 $\beta(1,4)$ -マンノシド **250** が得られたと考えた(**Figure 2.1.12A**)。エクアトリアル位に4位水酸基を有する **245**、**277**、**278** 及び **279** を用いた場合の位置選択性についても、同様に糖供与体部位と糖受容体部位との重なりによる立体障害によって説明できる。すなわち、4位水酸基に対するグリコシル化反応の遷移状態において、糖供与体部位と糖受容体部位の重なりが生じるため、6位水酸基選択的に反応が進行し、対応する $\beta(1,6)$ -マンノシドが得られたと考えた(**Figure 2.1.12B**)。

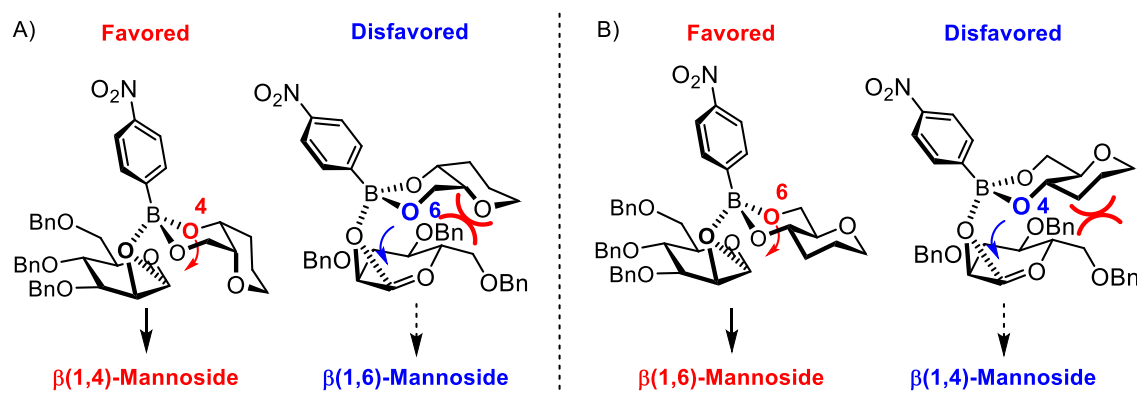


Figure 2.1.12 位置及び β -立体選択的マンノシル化反応における遷移状態モデル

A) ガラクトシド **280** を用いたマンノシル化反応における遷移状態モデル

B) **245**、**277**、**278** 及び **279** を用いたマンノシル化反応における遷移状態モデル

次に、*cis*-1,2-ジオールを有する糖受容体を用いて、グリコシル化反応を検討した(**Figure 2.1.13**)。3,4位水酸基遊離のガラクトシド **284** を用いてグリコシル化反応を行った結果、立体障害の小さいエクアトリアル位にある3位水酸基選択的に反応が進行し、良好な収率かつ位置選択性及び高い立体選択性で $\beta(1,3)$ -マンノシド **288 β** が得られることを見出した。また、2,3位水酸基遊離のマンノシド **287** を用いた場合も、立体障害の小さいエクアトリアル位の水酸基選択的に反応が進行し、高収率かつ高位置及び立体選択的に $\beta(1,3)$ -マンノシド **290** が得られることを見出した。これらの結果から、*cis*-1,2-ジオールにおいては、立体障害の少ない水酸基選択的に反応が進行することが示唆されたが、現時点において、これらの位置選択性の発現要因は、未だ明らかになっていない。

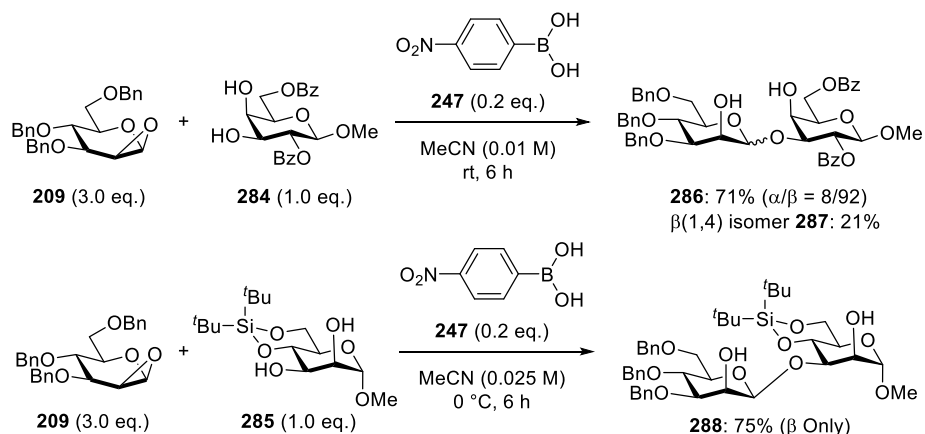
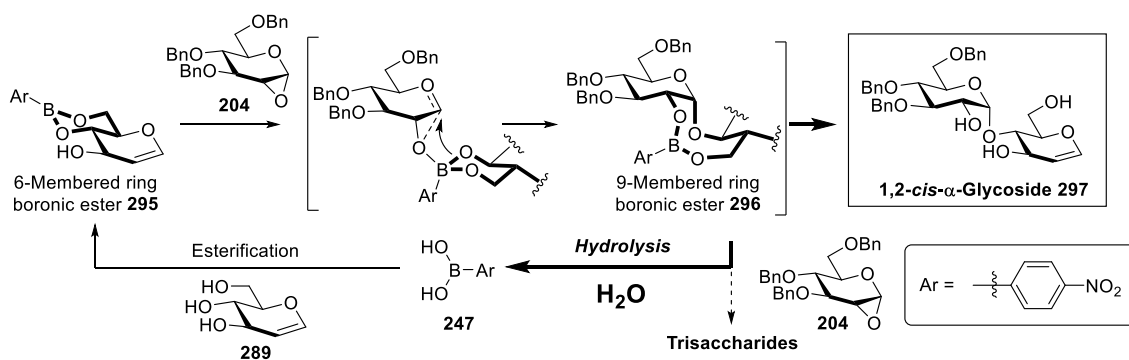


Figure 2.1.13 209 と *cis*-1,2-ジオール糖受容体との位置及び β -立体選択的マンノシル化反応

最後に、無保護糖受容体を用いたグリコシル化反応を検討した(**Figure 2.1.14**)。まず、無保護糖として3つの水酸基を有するD-グルカール(**289**)を選択し、本グリコシル化反応を検討した。すなわち、ボロン酸**247**及び水^a存在下、アセトニトリル溶媒中、0 °C、10時間の条件下、糖供与体**209**と**289**とのグリコシル化反応を検討した結果、81%の収率かつ高位置及び立体選択的に望む β (1,6)-マンノシド**291**が得られることを見出した。次に、グルコシド**290**を糖受容体に用いてグリコシル化反応を検討した。その結果、4つの遊離の水酸基を

^a 著者は、共同研究者とともに、無保護糖受容体に対する位置及び1,2-*cis*- α -立体選択的グリコシル化反応を開発している⁶³。**204**と**289**とのグリコシル化反応を検討した結果、本章1.2節、**Figure 2.1.6**に示した三糖鎖**275**の副生と同様の機構で得られる三糖鎖の副生を、5当量の水の添加によって抑制できることを見出している。水存在下で反応を行った場合、9員環のボロン酸エステル**296**が糖供与体**204**を活性化するよりも速く加水分解されるため、三糖鎖の副生が抑制されたと考えられている。そこで、無保護糖受容体に対する本マンノシル化反応においても、同様に5当量の水存在下で検討した。



有する **290** を糖受容体に用いた場合においても、本反応は高位置及び立体選択的に進行し、望む β (1,6)-マンノシド **293** が 70%の収率で得られることを見出した。

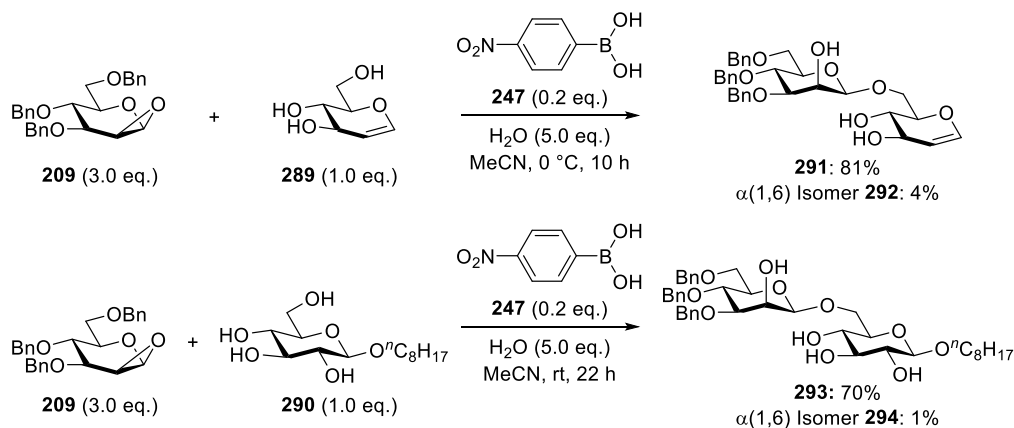


Figure 2.1.14 **209** と無保護糖受容体との位置及び β -立体選択的マンノシル化反応

1.4 大腸菌 O75 由来糖鎖合成への応用

1.4.1 大腸菌 O75 と O-抗原

大腸菌(*E. coli*)は、グラム陰性腸内細菌科に属する日和見病原性菌である。病原性大腸菌は、多くの腸外感染症の原因となることが知られており、尿路感染症や関連疾患を引き起こす多剤耐性大腸菌 O75 やその他の菌株の出現が近年問題視されている⁶⁹。一方、大腸菌が有するリポ多糖(LPS)の O-抗原は、宿主の免疫応答に重要な役割を果たすことから、LPS 及びその部分糖鎖は、様々な感染症に対するワクチンとなり得る複合糖質誘導体の調製に利用されている⁷⁰。したがって、大腸菌 O75 をはじめとする大腸菌の O-抗原を効率的に供給する手法の確立は、多剤耐性を有する大腸菌の感染症を予防するワクチンの開発に大きく貢献することが期待される。大腸菌 O75 の糖鎖抗原は、1975 年、Erbing らによって、尿路感染症患者から単離された大腸菌 O75 リポ多糖(LPS)により、構造決定がなされた^{42a}。その後、1978 年に、同著者らにより構造改訂がなされ、**Figure 2.1.15** に示した四糖鎖繰り返し構造が報告されている^{42b}。構造的特徴として、求核性の低いガラクトース 4 位のアキシアル水酸基に構築困難な 1,2-*cis*- β -グリコシド結合でマンノースが付加した β (1,4)-マンノシド構造を有しており、この四糖鎖を有するオリゴ糖や多糖の化学合成は、非常に困難である。過去に報告されている大腸菌 O75 の O-抗原繰り返し四糖鎖誘導体の合成研究について、以下に記述する。

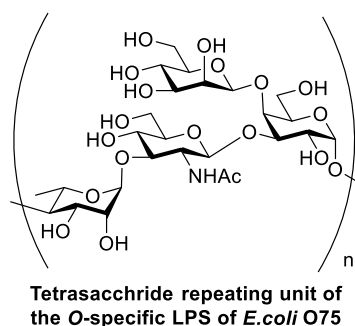
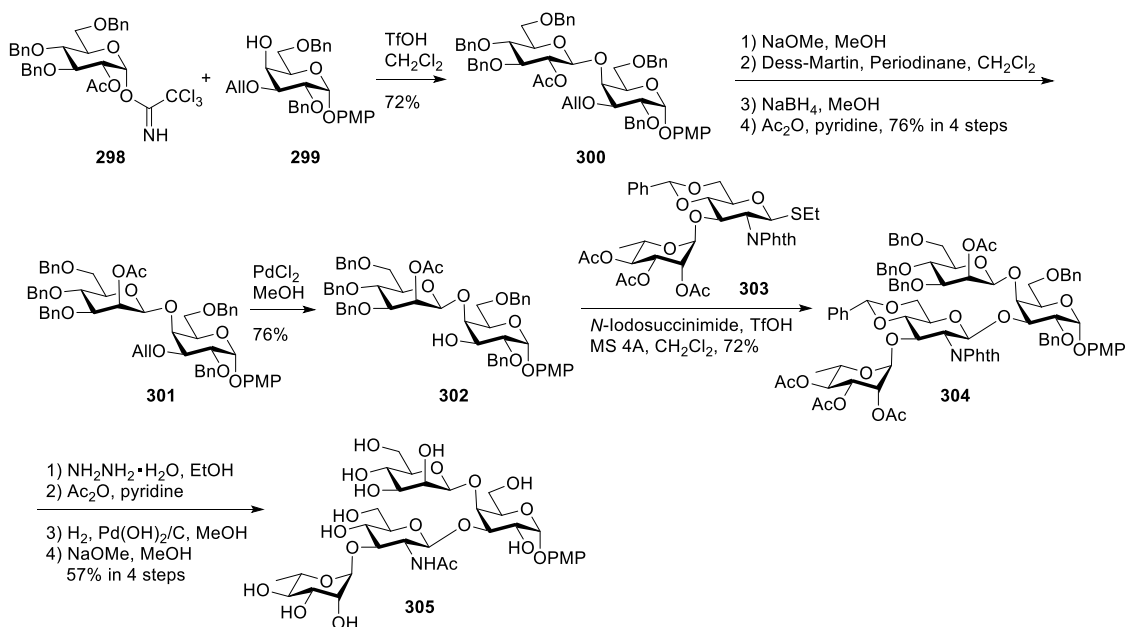


Figure 2.1.15 大腸菌 O75 の O-抗原四糖鎖繰り返し構造

1.4.2 大腸菌 O75 の O-抗原繰り返し四糖鎖誘導体の合成例

2012年、Misra らは、1,2-*trans*- β -グルコシドの2位立体反転による β -マンノシド合成を駆使した、大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 **305** の合成を報告している⁷¹(**Figure 2.1.16**)。本合成法は、隣接基関与を利用した1,2-*trans*- β -立体選択的グリコシル化反応により、72%の収率で1,2-*trans*- β -グルコシド **300** を合成し、続く、グルコース2位水酸基の脱保護、酸化、還元、及び2位水酸基の保護による4工程収率76%で、1,2-*cis*- β -マンノシド **301** の合成に成功している。しかし、 β -マンノシド結合の構築に、i) 1,2-*trans*- β -グリコシル化反応、ii) 2位水酸基の脱保護、iii) 2位水酸基の酸化及び iv) 還元の4工程を要しており、工程数が多い点が課題として挙げられる。



1.4.3 大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 252 の逆合成解析

本研究における、大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の逆合成を以下に示す(**Figure 2.1.17**)。 **252** が有する $\beta(1,4)$ -マンノシド結合は、ボロン酸触媒を用いた BMAD 法を駆使した三糖鎖 **251** に対する位置及び β -立体選択的マンノシル化反応により効率的に合成できると考えた。 **251** はトリオール **307** と二糖鎖 **306** とのボロン酸 **188** によるマスキングを利用した位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応⁵⁶により、効率的に合成できると考えた。また、**307** が有する 1,2-*cis*- α -ガラクトシド結合は、ボロン酸触媒 **203** を用いた BMAD 法⁶⁰により立体選択的に構築できると考えた。

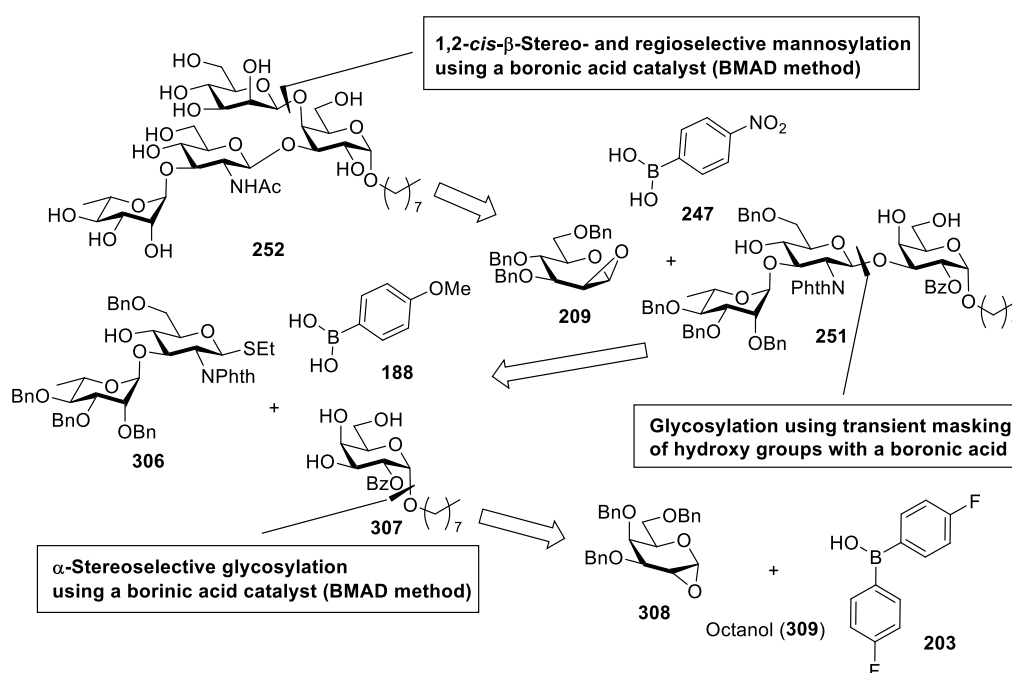


Figure 2.1.17 大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の逆合成解析

1.4.4 大腸菌 O75 の O-抗原繰り返し四糖鎖誘導体 252 の合成

1.4.4.1 二糖鎖 306 の合成

まず、二糖鎖 **306** の合成を行った(**Figure 2.1.18**)。すなわち、既知のラムノシド **126**⁷² とグルコサミニド **310**⁷³ との化学選択的なグリコシル化反応により、二糖鎖 **311** を収率 91% で合成し、続くベンジリデン保護基の還元により、二糖鎖糖供与体 **306** を 77% の収率で合成した。 **306** が有するラムノースのアノマー位の立体化学は、アノマー位における C-H カップリング定数($^1J_{\text{CH}}$)の測定により、その値が 167 Hz であることから、 α -ラムノシドであると決定した。

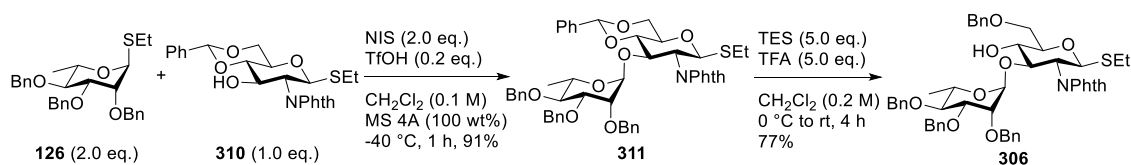


Figure 2.1.18 二糖鎖 **306** の合成

1.4.4.2 ポリン酸触媒を用いた立体選択的グリコシル化反応を駆使した **307** の合成

次に **307** の合成を行った(Figure 2.1.19)。ポリリン酸触媒 **203** 存在下、既知の 1,2-アンヒドロガラクトース **308**⁷⁴ とオクタノール(**309**)とのグリコシル化反応を検討した結果、望む 1,2-*cis*- α -ガラクトシド **312** が高収率かつ高い立体選択性で得られることを見出した。**312** の立体化学は、¹H NMR スペクトルにおいて 1 位水素と 2 位水素の結合定数が 4.0 Hz であることから、 α 体であると決定した。次に、**312** の 2 位水酸基のベンゾイル化、加水素分解によるベンジル基の脱保護により、トリオール **307** を合成した。

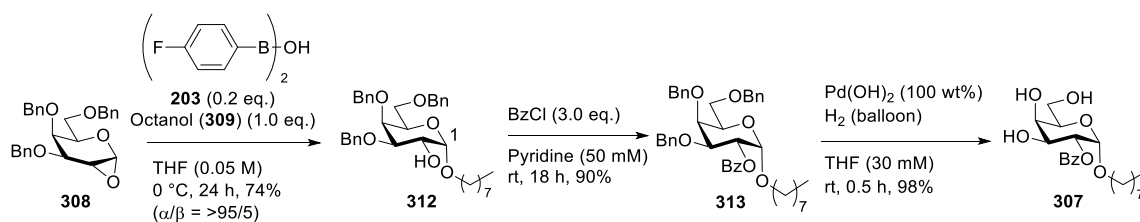


Figure 2.1.19 トリオール **307** の合成

1.4.4.3 ボロン酸をマスキングに利用した位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応による三糖鎖 **308** の合成

次に、ボロン酸 **188** をマスキングに用いたトリオール **307** に対する位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応を検討した(Figure 2.1.20)。まず、1 当量のトリオール **307** と 1.05 当量のボロン酸 **188** をアセトン溶媒下、2 時間還流させることで、4,6 位水酸基をボロン酸でマスキングした **314** を調製した。次に、NIS、TfOH 及びモレキュラーシーブ 4 A 存在下、トルエン/ジクロロエタン混合溶媒中、-30 °C、3 時間の反応条件下、**314** と二糖鎖 **306** とのグリコシル化反応を検討した。その結果、反応は速やかに進行し、位置及び 1,2-*trans*-立体選択的に三糖鎖 **251** が収率 96% で得られることを見出した。**251** の立体化学は、¹H NMR スペクトルにおいて 1' 位水素と 2' 位水素の結合定数が 8.5 Hz であることから、 β 体であると決定した。また、**251** の結合位置は、**251** をアセチル化した結果、¹H NMR スペクトルにおいて 4,6 位プロトンが低磁場シフトしたことから、3 位水酸基で反応が進行したと決定した。得られた **251** は、4,6 位水酸基遊離のガラクトシド部位を有しており、追加の保護・脱保護工程を経ることなく、直接的に本研究で開発した位置及び β -立体選択的マンノシル化反応の糖受容体として利用可能である。

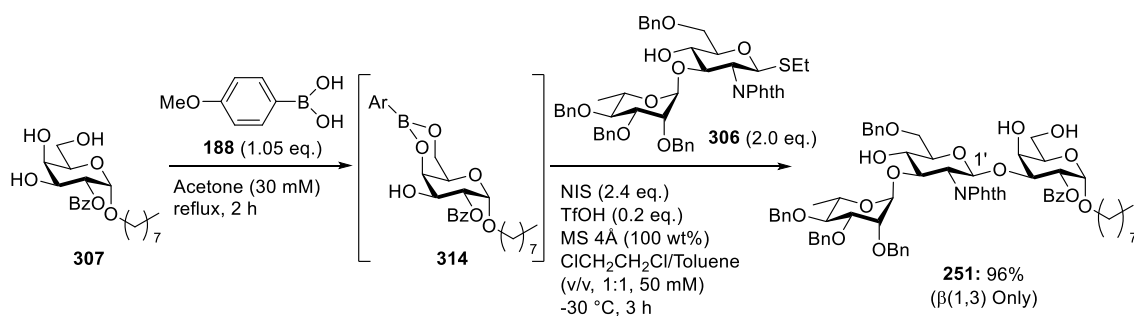


Figure 2.1.20 三糖鎖 251 の合成

1.4.4.4 ボロン酸触媒を用いたβ-立体選択的マンノシル化反応を駆使した大腸菌 O75 の O-抗原繰り返し四糖鎖誘導体 252 の合成

合成した三糖鎖 251 と 1,2-アンヒドロマンノース 209 とのボロン酸触媒 247 を用いた BMAD 反応を検討した(Figure 2.1.21)。その結果、反応は速やかに進行し、望むβ(1,4)-マンノシド 315 が91%の収率かつ完全な位置及び立体選択性で得られることを見出した。315 が有するマンノースの立体化学は、アノマー位における C-H カップリング定数($^1J_{CH}$)の測定により、その値が 161 Hz であることから、β-マンノシドであると決定した。また、315 の結合位置は、315 をアセチル化した結果、 1H NMR スペクトルにおいて 6 位プロトンが低磁場シフトしたことから、4 位水酸基で反応が進行したと決定した。次に、315 に対し、脱ベンゾイル化、脱フタロイル化及びアセチル化することで、316 を得た。最後に、加水素分解、続く脱アセチル化により、大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 252 の効率合成を達成した。

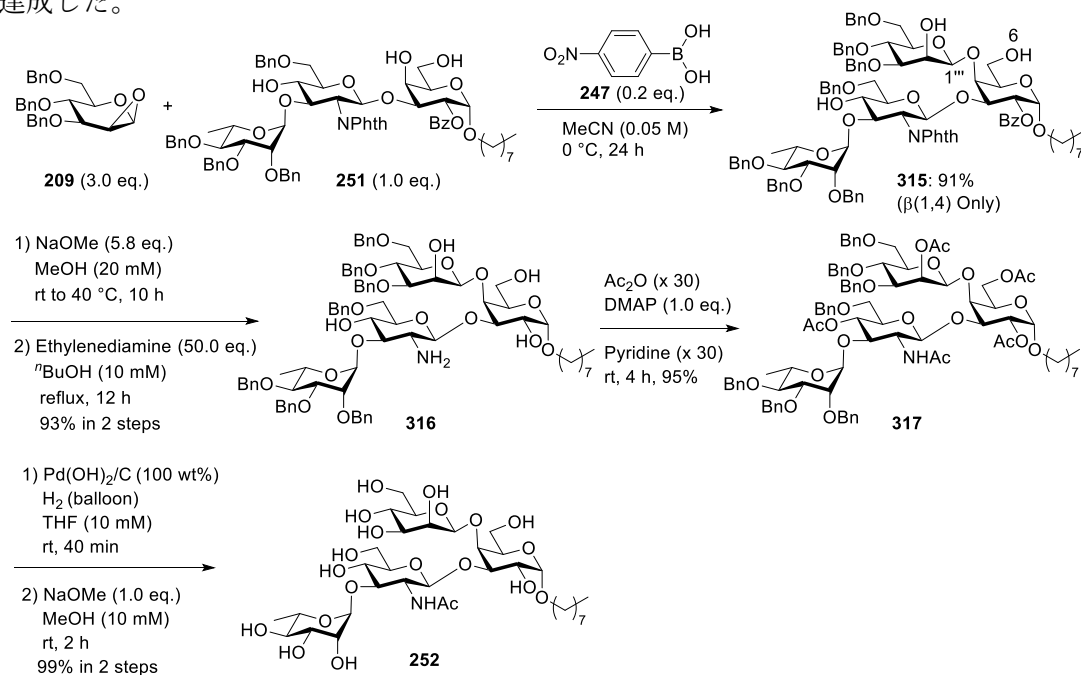


Figure 2.1.21 大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 252 の合成

1.5 結論

第1章では、ボロン酸触媒を用いた位置及び1,2-*cis*- β -立体選択的マンノシル化反応の開発と応用について述べた。まず、1,2-アンヒドロマンノース **209** を糖供与体、4,6位水酸基が遊離のグルコシド **245** を糖受容体として選択し、種々ボロン酸を用いてグリコシル化反応を検討した。その結果、アセトニトリル溶媒中、触媒量の *p*-ニトロフェニルボロン酸(**247**)を用いて反応を行うことで、対応する β (1,6)-マンノシド **248 β** が高収率かつ完全な位置及び立体選択性で得られることを見出した(**Figure 2.1.22**)。

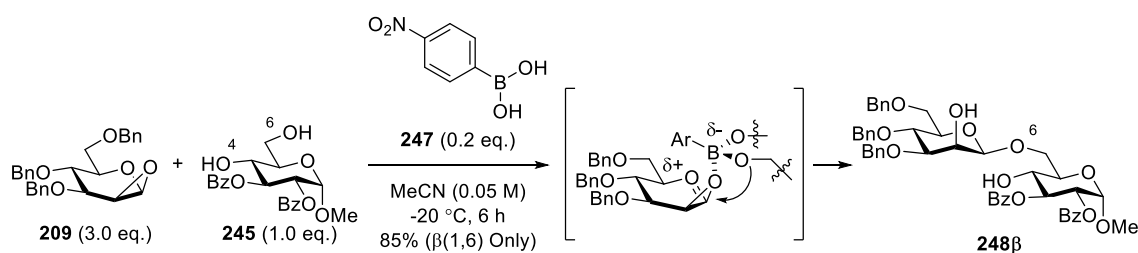


Figure 2.1.22 ボロン酸触媒 **247** を用いた位置及び β -立体選択的マンノシル化反応

さらに、本手法は多様なジオール糖受容体に応用した結果、高位置及び立体選択的に望む β -マンノシドが得られることを見出した(**Figure 2.1.23**)。

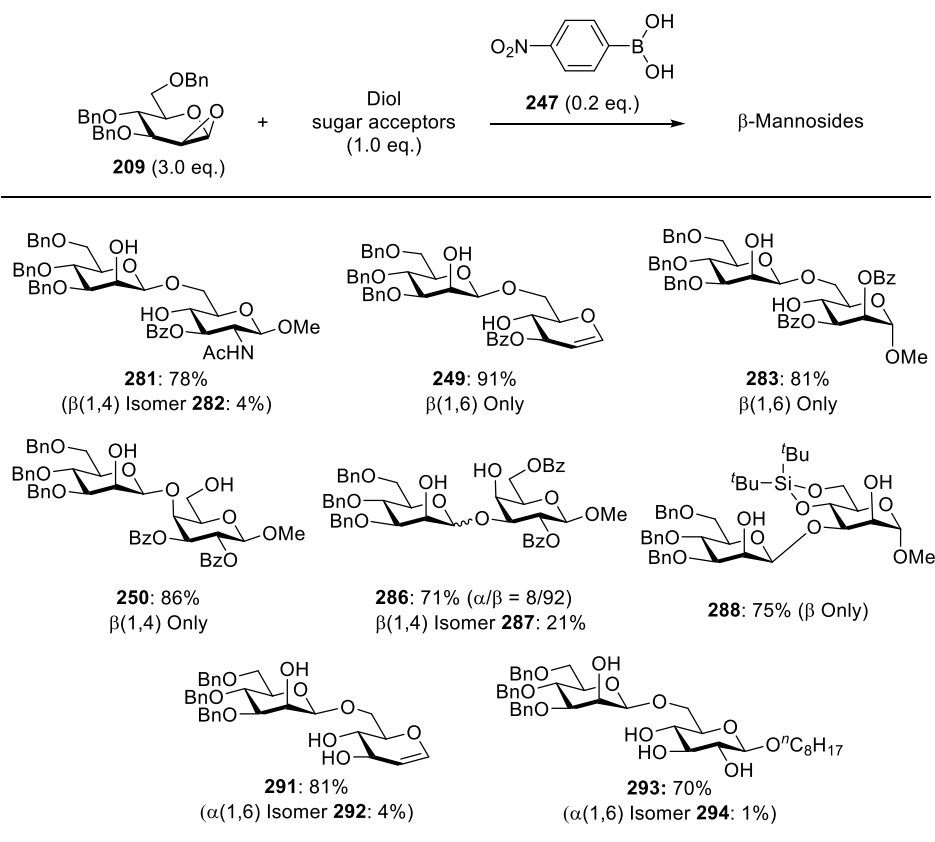


Figure 2.1.23 ボロン酸触媒 **247** を用いた位置及び β -立体選択的マンノシル化反応

最後に、本手法を大腸菌 O75 の O-抗原繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の合成に応用した。ボリン酸触媒を用いた 1,2-*cis*- α -立体選択的グリコシル化反応及びボロン酸をマスキングに利用した位置及び 1,2-*trans*-立体選択的グリコシル化反応を駆使して効率的に合成した **251** に対し、本手法を適応することで、高収率かつ完全な位置及び立体選択性で β (1,4)-マンノシド結合を構築し、大腸菌 O75 の O-抗原繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の効率的合成法を確立した (Figure 2.1.24)。

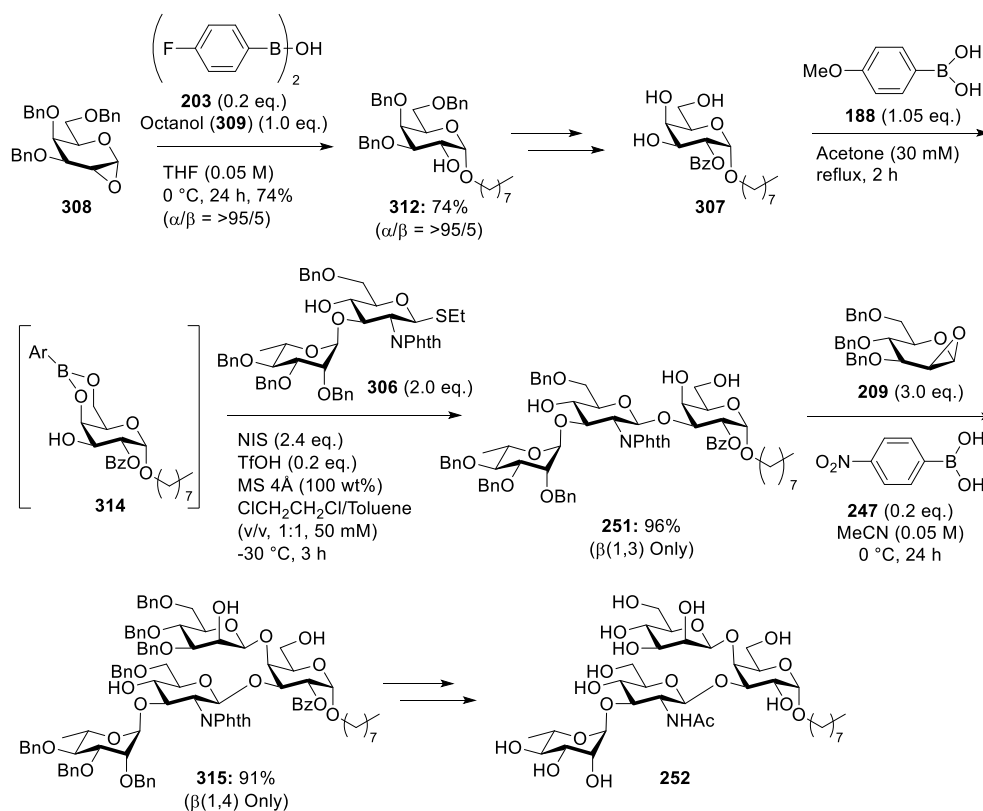


Figure 2.1.24 本手法を用いた大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の合成

第2章 有機ホウ素化合物を用いたβ-立体選択的ラムノシル化反応 の開発と応用

2.1 研究目的

序論第4章で前述したポリリン酸—糖受容体エステルを用いた BMAD 法による立体選択的β-マンノシル化反応⁶⁰、及び前章で開発したポリリン酸触媒を用いた BMAD 法による位置及びβ-立体選択的マンノシル化反応により、多様なβ-マンノシドが効率的かつ立体選択的に合成可能になった。そこで本手法を、より構築が困難であるβ-ラムノシド結合構築に応用することにした。序論第1章で前述したように、β-ラムノシド結合は、ラムノースの6位デオキシ構造により、β-マンノシド合成に有用であった様々な合成戦略が利用できないため、直接的かつ立体選択的な構築がより困難であることが知られている^{11b}(Figure 2.2.1)。

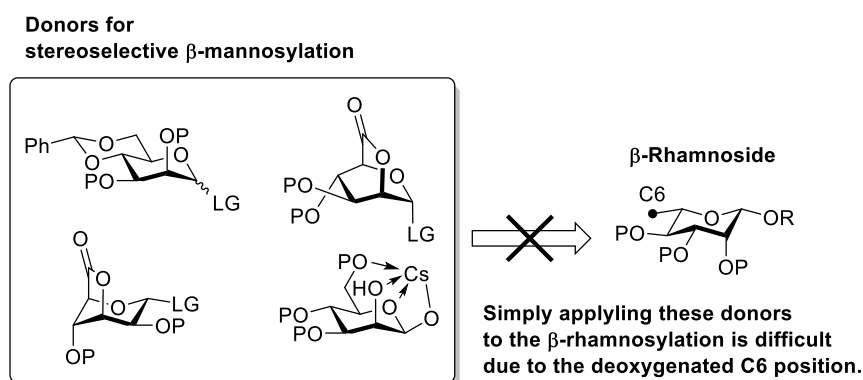


Figure 2.2.1 立体選択的β-マンノシル化反応のβ-ラムノシル化反応への応用の課題

一方、前述したポリリン酸を駆使した BMAD 法によるβ-立体選択的マンノシル化反応は、1,2-アンヒドロマンノース **209** に対して、糖受容体がホウ素原子を介して、2位置換基と同じ面から転移することで、立体選択的にβ-マンノシドが得られると提唱されており、6位酸素原子の影響は少ないと考えられる。したがって、糖供与体として、1,2-アンヒドロマンノース **209** の代わりに1,2-アンヒドロラムノース **253** を用いることで、対応するβ-ラムノシドが効率的に合成できると考えた。すなわち、モノオールから誘導されるポリリン酸—糖受容体エステルが、1,2-アンヒドロラムノース **253** のエポキシ基を活性化し、続いて求核性が向上したホウ素と結合した酸素原子が糖供与体2位置換基と同じ面から転移することで、β-ラムノシドが立体選択的に得られると考えた(Figure 2.2.2)。

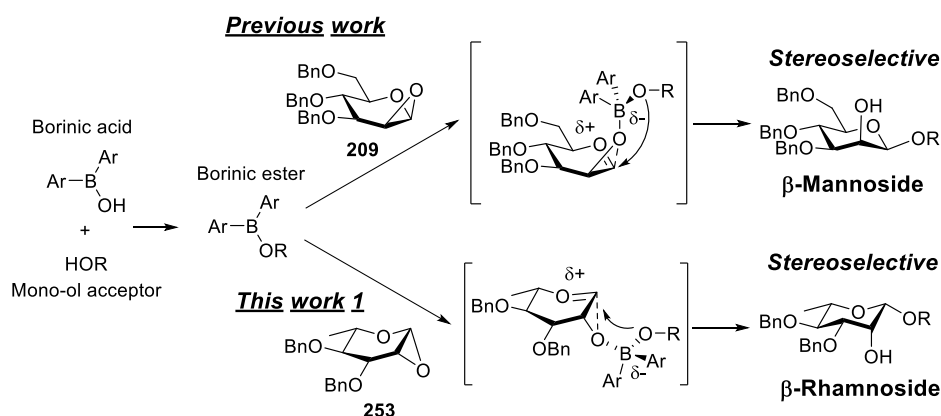


Figure 2.2.2 ボリン酸を用いた 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応

さらに、本論第 1 章で開発した方法論を β -ラムノシド合成に応用することで、立体化学だけでなく、糖の結合位置も同時に制御可能な位置及び β -立体選択的ラムノシル化反応が開発できると考えた。すなわち、ボロン酸触媒存在下、1,2-アンヒドロラムノース **253** とジオール糖受容体とのグリコシル化反応を行うことで、同様の反応機構によって、位置及び β -立体選択的に望む β -ラムノシドが得られると考えた(Figure 2.2.3)。

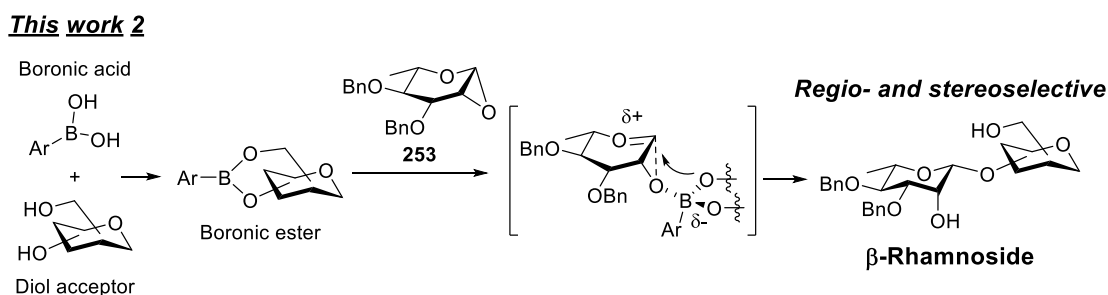


Figure 2.2.3 ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的ラムノシル化反応

2.2 ボリン酸触媒を用いた β -ラムノシル化反応の反応条件の検討

糖供与体として 1,2-アンヒドロラムノース **253**⁷⁵、及び糖受容体として 6-ベンジルオキシ-1-ヘキサノール(**202**)を選択し、置換基の異なる 3 種類のボリン酸触媒を用いてラムノシル化反応を検討した(Figure 2.2.4)。その結果、いずれのボリン酸触媒を用いた場合も立体選択的に反応が進行し、望む β -ラムノシド **318** が高収率で得られることを見出した。特にフルオロ基を芳香環上に有する **203** を触媒として用いた場合、収率 92%で望む β -ラムノシド **318** が得られることを見出した。得られた β -ラムノシド **318** のアノマー位の立体化学は、前章と同様に、アノマー位における C-H カップリング定数($^1J_{CH}$)の測定により、その値が 154 Hz で

あることから、 β -ラムノシドであると決定した。さらに、反応時間を精査した結果、1時間で反応は終了し、94%の収率で望む β -ラムノシド **318** が得られることを明らかにした。

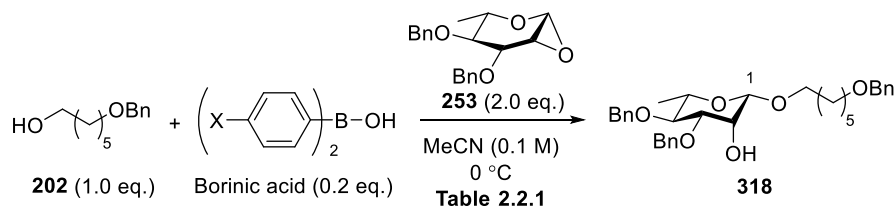


Table 2.2.1

Entry	Boronic acid	Time	Yield of 318	α/β Ratio
1	319 : X = OMe	24 h	82%	β Only
2	320 : X = H	24 h	87%	β Only
3	203 : X = F	24 h	92%	β Only
4	203 : X = F	1 h	94%	β Only

Figure 2.2.4 **253** と **202** とのグリコシル化反応の検討

2.3 反応機構解析

序論第4章で前述したようにボロン酸触媒を用いた位置及び立体選択的グリコシル化反応の反応機構は、 ^{13}C KIE 測定及び DFT 計算を用いた反応機構解析により、高分離性の協奏的な $\text{S}_{\text{N}}\text{i}$ 型の機構で進行することが示唆されている⁶³。しかし、ボリン酸触媒を用いた立体選択的グリコシル化反応においては詳細な反応機構解析が行われていなかった。そこで、本ラムノシル化反応における反応機構解析を行った。

2.3.1 速度論的同位体効果測定を利用した反応機構解析

速度論的同位体効果(kinetic isotope effect, KIE)とは、反応物の原子の1つを同位体で置き換えた場合に起こる反応速度の変化であり、相対質量が小さい同位体が有する結合より、相対質量が大きい同位体が有する結合が切断されにくいことに由来すると考えられている。炭素原子に着目すると、 $\text{S}_{\text{N}}2$ 反応のように反応の不可逆過程に、着目した炭素原子が持つ結合の切断が含まれる場合、結合が切断されにくい ^{13}C の割合が生成物で減少することが知られている。一方、 $\text{S}_{\text{N}}1$ 反応のように反応の不可逆過程に、着目した炭素原子が有する結合の切断が含まれない場合は、生成物の ^{13}C の割合は変化しないことが知られている。したがって、置換反応において、切断される結合を形成している炭素の原料及び生成物における $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ 比の変化を、定量 ^{13}C -NMR 測定することで、反応機構を解析することが可能である。本手法は、グリコシル化反応の反応機構解析にも汎用的に用いられており、(1)により算出される ^{13}C KIE の値により評価されている⁷⁶。

一般に、糖の加水分解やグリコシル化反応において、 $\text{S}_{\text{N}}2$ 機構で反応が進行する場合、 ^{13}C KIE は大きな値 (1.02-1.04)⁷⁷ となり、 $\text{S}_{\text{N}}1$ 機構で反応が進行する場合、 ^{13}C KIE は 1 に非常

に近い値(0.995-1.01)⁷⁶ となることが知られている。また、高分離性の遷移状態を経由する S_N2 機構または S_Ni 機構の場合も、その値が 1 に非常に近い値(0.99-1.02)をとることが報告されている^{35, 63, 78}(Figure 2.2.5)。

$$\text{KIE} = \frac{\ln(1-F)}{\ln\left(1-F \frac{R_p}{R_0}\right)} \quad \dots (1)$$

F : The fractional conversion of donor
R_p : The ratio of anomeric and internal standard carbon integrals in the product
R₀ : The ratio of anomeric and internal standard carbon integrals in the donor

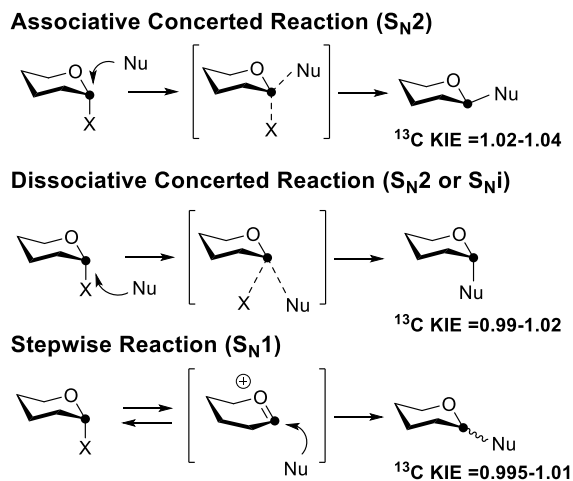


Figure 2.2.5 ¹³C KIE の計算式とグリコシル化反応における ¹³C KIE の値

そこで、本ラムノシル化反応における糖供与体のアノマー位の ¹³C KIE を定量 ¹³C NMR により測定した。具体的には、糖供与体 **253** と糖受容体 **202** とのグリコシル化反応において、反応点から十分に離れている糖供与体 4 位炭素原子を内部標準とし、糖供与体 **253** と生成物 **318** のアノマー位の ¹³C 存在比率(R₀及び R_p)を定量 ¹³C NMR によって測定し、反応の収率から求めた糖供与体の変換率 F とともに、Figure 2.2.5 (1) 式に代入することで、アノマー位における ¹³C KIE の値を算出した(Figure 2.2.6)。その結果、本反応の ¹³C KIE の値は 1.0034 であり、本反応は高分離性の協奏的な S_Ni 型機構、またはオキソニウムカチオン中間体を経由した S_N1 型機構で進行することが明らかになった(Figure 2.2.7)。

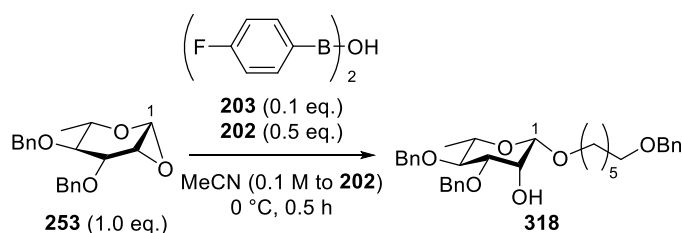


Table 2.2.2 C4 carbon was used as an internal standard

Run	F	R ₀	R _p	KIE
1	0.4515	1.0244(36)	1.0252(29)	0.9990
2	0.4770	1.0244(36)	1.0225(48)	1.0023
3	0.4790	1.0244(36)	1.0173(49)	1.0090

Average KIE 1.0034(51)

Figure 2.2.6 ¹³C KIE を用いた **253** と **202** とのグリコシル化反応の反応機構解析

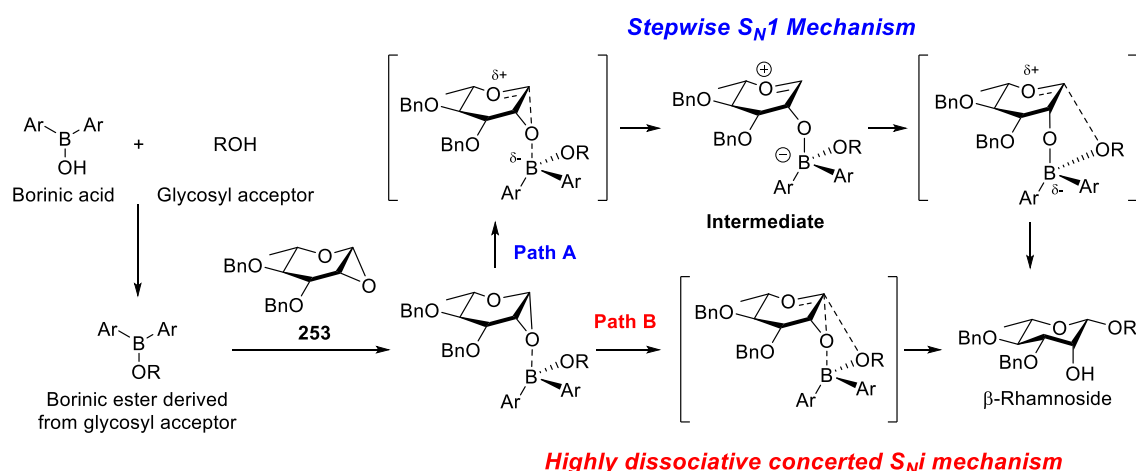


Figure 2.2.7 ボリン酸触媒を用いたグリコシル化反応の推定反応機構

2.3.2 DFT 計算を利用した反応機構解析

さらなる反応機構解析を行うため、DFT 計算により本グリコシル化反応の遷移状態の探索を行った。計算の簡略化のため、糖供与体 **253** 及び糖受容体 **202** をそれぞれ **319** 及び MeOH(**320**)に変更し、計算を行った(Figure 2.2.8)。なお、DFT 計算における汎関数及び基底関数は、本反応に類似しているボロン酸触媒を用いたグリコシル化反応の反応機構解析⁶³において、KIE の値が実測値とよい一致を示す計算値を与えた B3LYP 及び 6-31G*をそれぞれ選択した。また、エネルギーを計算する一点計算の基底関数は、より精度の高い 6-31+G**を選択した。まず、分子力場計算(OPLS3e)により、遷移状態構造の配座をサンプリングし、最もエネルギーの小さい配座異性体から 150 kJ/mol 以内に得られた 1058 個の配座配座異性体に対し、RMSD を指標に 50 個のクラスターに分類した。次に、50 個のクラスターから本グリコシル化反応が進行し得る 7 つのクラスターを選別し、各クラスターの配座異性体を初期構造に、DFT 計算による遷移状態探索を行った。その結果、 β -ラムノシド **323** を与えるグリコシル化反応の遷移状態 **TS1**(C1-O2=2.18 Å, C1-OMe=2.64 Å)を見出した。**TS1** が遷移状態であることは、振動解析及び固有反応座標(IRC)計算により確認した。**TS1** の IRC の結果から、**TS1** は、段階的な S_N1 型機構の遷移状態ではなく、協奏的な S_{Ni} 型機構の遷移状態であることが示唆された。

次に、遷移状態 **TS1** の IRC 計算の結果に対し、自然結合軌道 (NBO) 解析⁷⁹を行うことで、各反応における各原子間の結合次数を計算した(Figure 2.2.9)。その結果、アノマー位炭素とエポキシ酸素間の結合が完全に切断される前に、グリコシド結合の形成が始まっていることが示され、本反応は、協奏的な S_{Ni} 型機構で進行していることが支持された。また、**TS1** における振動解析の結果を利用し、QUIVER⁸⁰を用いて **TS1** を経由する反応における ¹³C KIE の値を計算した結果、1.004 となり、実験値と良い一致を示した。以上の結果から、本反応は、高分離性の協奏的な S_{Ni} 型機構で進行していることが示唆された(Figure 2.2.10)。

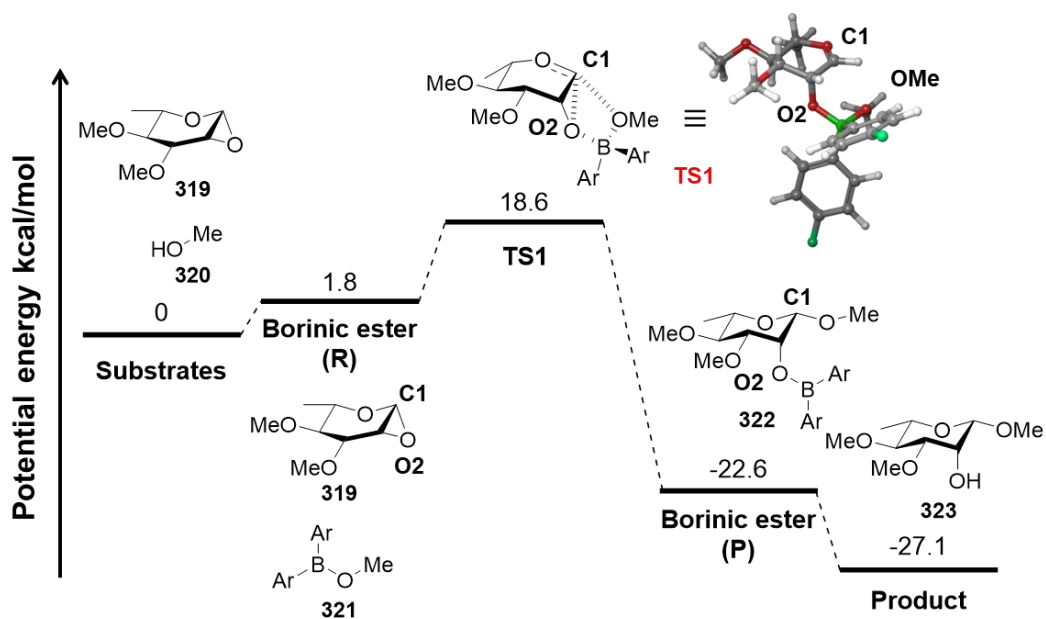


Figure 2.2.8 DFT 計算により算出した本ラムノシル化反応のエネルギーダイアグラム

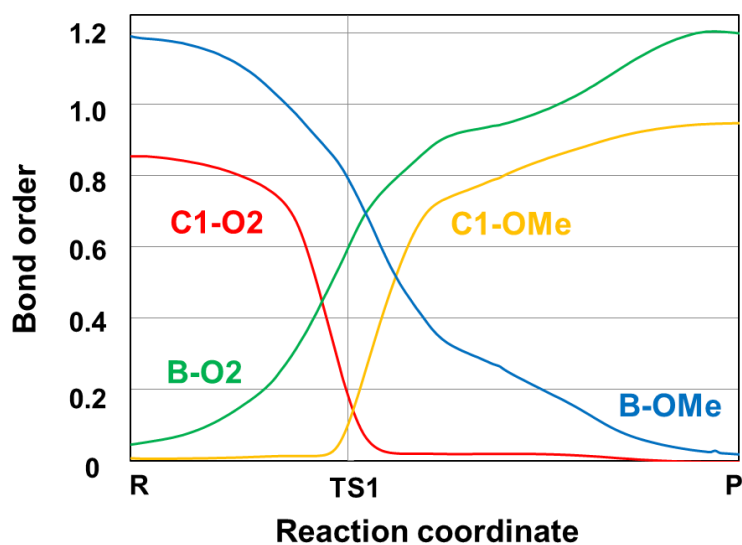


Figure 2.2.9 TS1 の NBO 解析

Highly dissociative concerted S_Ni -type mechanism

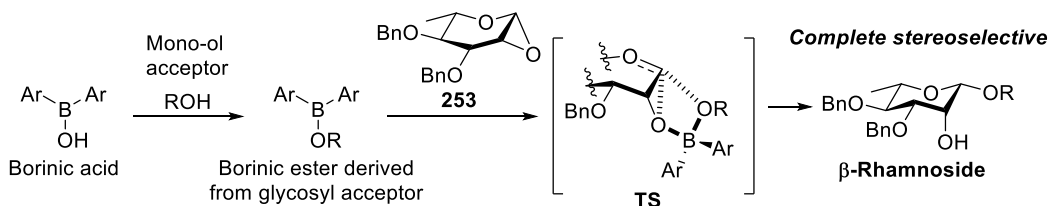


Figure 2.2.10 ボリン酸触媒を用いた β -立体特異的ラムノシル化反応における推定反応機構

2.4 基質一般性の検討

次に、糖受容体の基質一般性を検討した。1級水酸基を有する **34** 及び **324** を糖受容体に用いて本ラムノシル化反応を行った結果、高収率かつ完全な立体選択性で対応するβ-ラムノシド **254** 及び **255** が得られることを見出した。また、グリセロール誘導体 **325** 及び L-セリン誘導体 **326** を用いた場合においても、同様に高収率かつ完全な立体選択性で望むβ-ラムノシド **327** 及び **328** が得られることを見出した(**Figure 2.2.11**)。

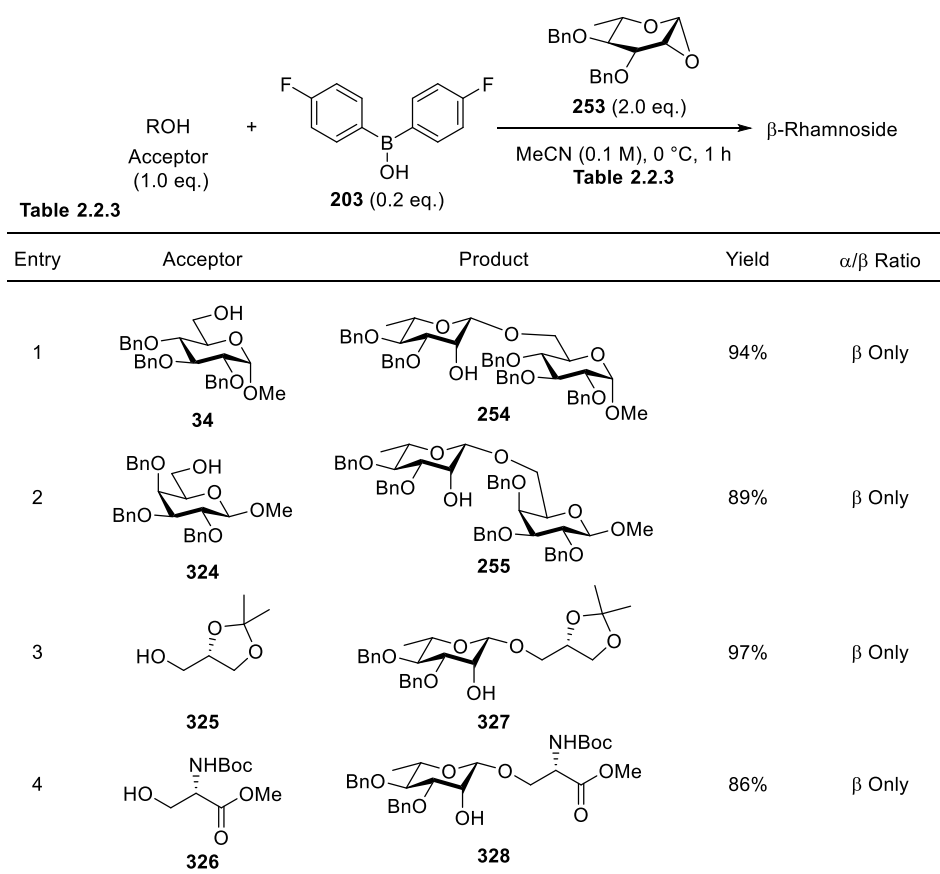


Figure 2.2.11 **253** と 1 級水酸基を有する糖受容体とのβ-立体特異的ラムノシル化反応

次に、2級水酸基を有する糖受容体 **329-332** を用いて、本ラムノシル化反応を検討した(**Figure 2.2.12**)。その結果、糖受容体 **329** を用いた場合において、高収率かつ立体選択的に望むβ-ラムノシド **256** が得られることを見出した。しかし、糖受容体 **330** 及び **331** を用いた場合、反応性が大きく低下し、望むβ-ラムノシド **333** 及び **334** がそれぞれ 31%及び 40%の収率で得られ、未反応の糖受容体が多く回収された。さらに、糖受容体 **332** を用いた場合は、望むβ-ラムノシド **335** は痕跡量しか確認されなかった。**330-332** を糖受容体に用いた場合に反応性が大きく低下した理由は、糖受容体の立体障害により、対応するポリン酸—糖受容体エステルが形成しにくいと考えた(**Figure 2.2.13**)。

Table 2.2.4

Entry	Acceptor	Time	Product	Yield	α/β Ratio	Recovery yield of acceptor
1		24 h		82%	β Only	8%
2		6 h		31%	β Only	64%
3		24 h		40%	β Only	44%
4		24 h		Trace	β Only	94%

Figure 2.2.12 253 と 2 級水酸基を有する糖受容体との β -立体特異的ラムノシル化反応

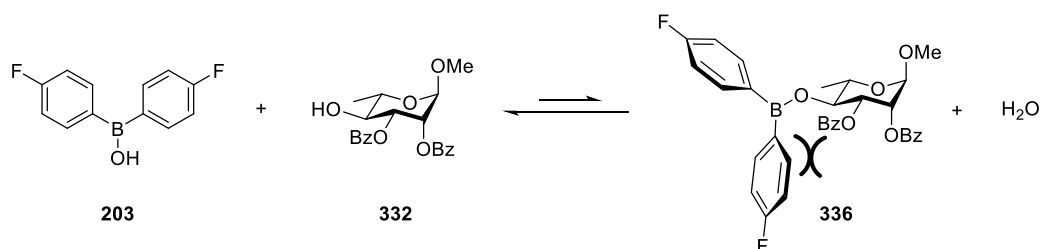


Figure 2.2.13 2 級水酸基を有する糖受容体 332 のポリン酸エステル形成

そこで、ポリン酸—糖受容体エステル形成の促進を志向し、化学量論量のポリン酸 **203** と糖受容体 **330** とをトルエン溶媒下 3 時間還流させた後、ラムノシル化反応を検討した(**Figure 2.2.14**)。その結果、収率が向上し、82%の収率かつ完全な立体選択性で望む β -ラムノシド **333** が得られることを見出した。次に、本反応条件下、2 級水酸基を有する糖受容体 **331**、**332**、

337 及び **4** を用いて検討を行った。その結果、糖受容体 **331**、**332**、及び **337** を用いた場合、中程度から良好な収率かつ完全な立体選択性で対応するβ-ラムノシド **334**、**335**、及び **338** が得られることを見出した。しかし、求核性の低い糖受容体である **4** を用いた場合、望むβ-ラムノシド **339** は得られず、糖受容体 **4** が 99% で回収されることが分かった。

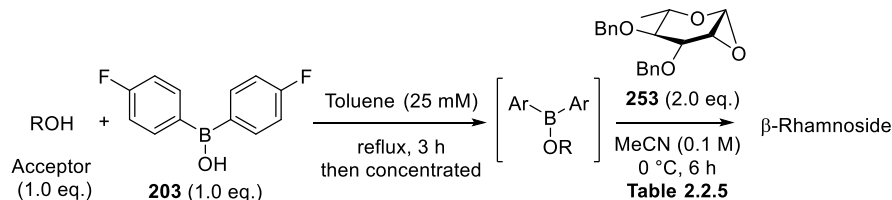


Table 2.2.5

Entry	Acceptor	Product	Yield	α/β Ratio	Recovery yield of acceptor
1			82%	β Only	15%
2			65%	β Only	31%
3			56%	β Only	58%
4			67%	β Only	31%
5			0%	β Only	99%

Figure 2.2.14 **253** と 2 級水酸基を有する糖受容体とのβ-立体特異的ラムノシル化反応

立体障害の大きい糖受容体 **4** を用いた場合、ポリン酸—糖受容体エステルのルイス酸性を示すホウ素原子周りの立体障害が大きくなるため、糖供与体 **253** が接近できず、反応が進

行しなかったと考えた。そこで、芳香族ボリン酸から芳香環置換基が1つ少ないことで立体障害の軽減が期待できるボリン酸に有機ホウ素化合物を変更し、ジオール糖受容体に対する位置及びβ-立体選択的ラムノシル化反応を検討することにした(**Figure 2.2.15**)。

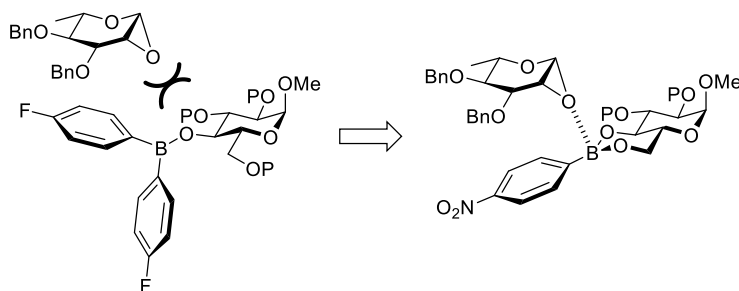


Figure 2.2.15 ボリン酸—糖受容体エステルを用いたグリコシル化反応の課題

2.5 ボリン酸触媒を用いた位置及びβ-立体選択的ラムノシル化反応の開発

2.5.1 ボリン酸触媒を用いた位置及びβ-立体選択的ラムノシル化反応の検討

糖供与体として1,2-アンヒドロラムノース **253**、糖受容体として4,6位水酸基遊離のグルコサミニド **277**、ボリン酸触媒として*p*-ニトロフェニルボリン酸(**247**)を用い、グリコシル化反応を検討した。その結果、興味深いことに、1級である6位水酸基ではなく、2級である4位水酸基選択的に反応が進行し、対応するβ(1,4)-ラムノシド **257**が高収率かつ高い位置及び立体選択性で得られることを見出した(**Figure 2.2.16**)。

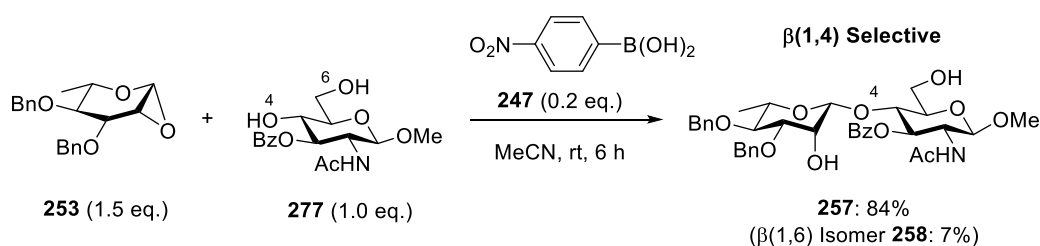


Figure 2.2.16 **253** と **277** との BMAD 法による位置及びβ-立体選択的ラムノシル化反応

2.5.2 DFT 計算を用いた反応機構解析

本ラムノシル化反応における位置選択性の発現要因を検証するために、DFT 計算による反応機構解析を行った。すなわち、簡略化のため、糖供与体 **253** 及び糖受容体 **277** をそれぞれ **319** 及び **340** に変更し、構造最適化は B3LYP/6-31G*、エネルギー計算は B3LYP/6-31+G**の条件で、遷移状態探索を行った(**Figure 2.2.17**)。その結果、4位水酸基で反応が進行する **TS2**(C1-O2=2.22 Å、C1-O4'=2.65 Å)と6位水酸基で反応が進行する **TS3**(C1-O2=2.17 Å、C1-O6'=2.63 Å)を見出した。**TS2** 及び **TS3** が遷移状態であることは振動解析及び固有反応座標(IRC)計算により確認した。**TS2** と **TS3** のエネルギーを比較すると、**TS2** のエネ

ルギーが低く、4位水酸基選択的に反応が進行することが計算によっても示唆された。また6位水酸基で反応が進行する **TS3** では、糖供与体部位とボロン酸由来の芳香環部位が近接することにより不安定化が起こるため、位置選択性が発現していることが示唆された。

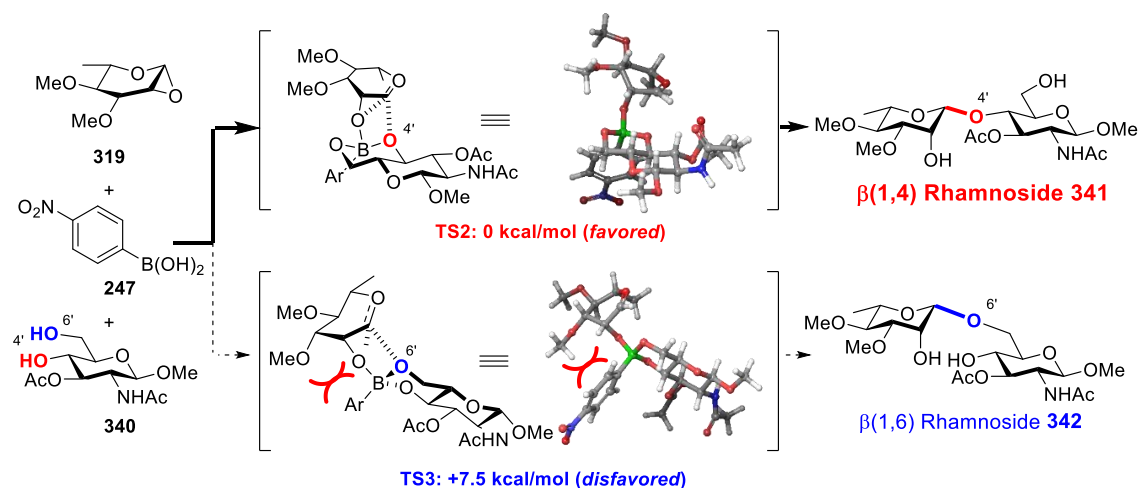


Figure 2.2.17 **319** と **340** とのグリコシル化反応における遷移状態

2.5.3 基質一般性の検討

次に、糖受容体の基質一般性を検討した(**Figure 2.2.18**)。4,6位水酸基が遊離のグルコシル **278** 及びマンノシド **279** を用いた本グリコシル化反応を行った結果、位置及び立体選択的に反応が進行し、対応する $\beta(1,4)$ -ラムノシド **259** 及び **261** がそれぞれ高収率で得られることを見出した。この場合の位置選択性については、グルコサミニド **277** の場合と同様の機構で、4位水酸基選択的に反応が進行したと考えた。

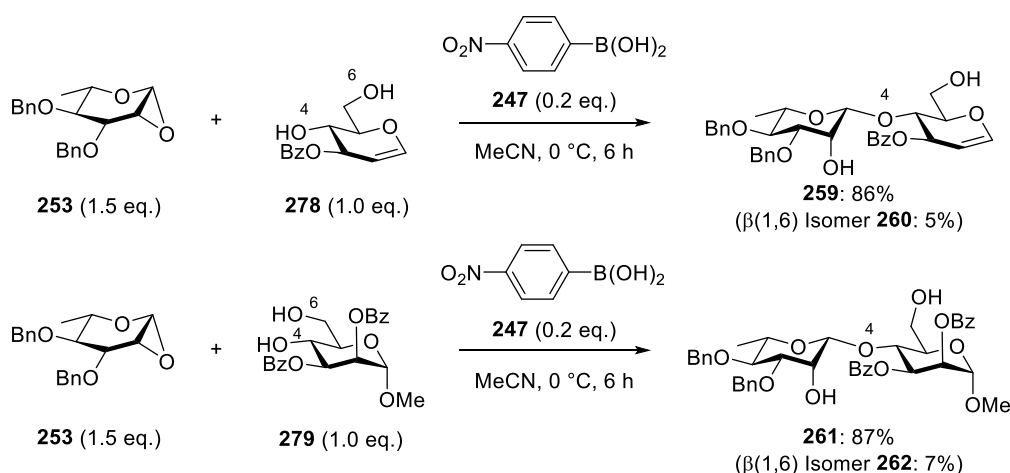


Figure 2.2.18 糖受容体 **278** 及び **279** を用いた位置及び β -立体選択的ラムノシル化反応

2.6 肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原である三糖鎖誘導体合成への応用

2.6.1 肺炎球菌 7B、7C、及び 7D と莢膜多糖

肺炎球菌は、肺炎、敗血症、及び髄膜炎等の侵襲性肺炎球菌感染症(invasive pneumococcal disease, IPD)の原因菌である。2015年に世界で5歳未満の子供が約583万人死亡したと推定されているが、そのうち、29万4千人の死因に肺炎球菌感染症が関与していると推定されている⁸¹。肺炎球菌は、莢膜多糖の抗原性をもとに、90種類以上の血清型が報告されており、約20の血清型が世界中のすべての年齢層で発生するIPDの主要な原因菌である⁸²。肺炎球菌結合型ワクチン(Pneumococcal conjugate vaccine, PCV)は、先進国でIPDに最も頻繁に関連する血清型の65-90%に対して免疫を誘導し、多くの幼児の生命を救っている。しかし、疾患を引き起こす血清型の分布は、地域や時間の経過とともに変化することが知られており、特に発展途上国で、非ワクチン血清型肺炎球菌が問題となっている⁸³。したがって、非ワクチン血清型肺炎球菌に適応可能なPCVの開発が求められている。

非ワクチン血清型肺炎球菌の1種である肺炎球菌7Bの莢膜多糖の構造⁸⁴は、1991年に、Janssonらによって、肺炎球菌7C及び7Dの莢膜多糖の構造⁸⁵は、2018年に、Duusらによって決定された七糖鎖繰り返し構造である(Figure 2.2.19)。構造的特徴として、構築困難な $\beta(1,4)$ -ラムノシド結合を含む共通構造を有する点が挙げられる。肺炎球菌7B、7C、及び7D莢膜多糖の共通糖鎖は、これら3つの血清種の感染を抑制するワクチンの抗原となり得るため、その効率合成法の開発は、新たなPCV開発への貢献が期待できる。そこで構築困難な $\beta(1,4)$ -ラムノシド結合を含む肺炎球菌7B、7C、及び7D莢膜多糖の共通三糖鎖に着目し、本ラムノシル化反応を応用した三糖鎖誘導体263の合成を検討した。

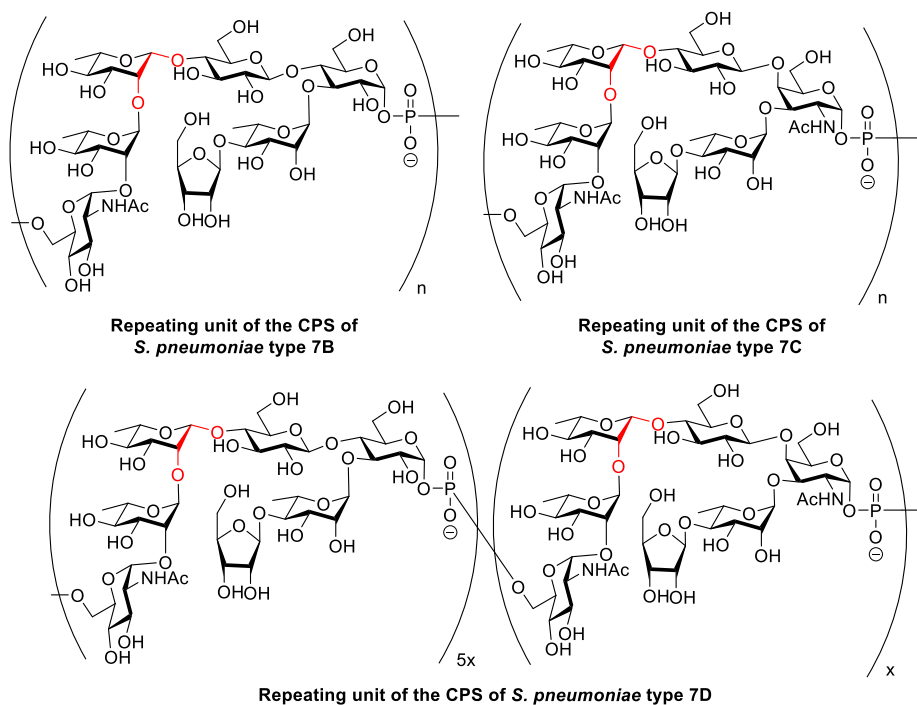


Figure 2.2.19 肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の莢膜多糖

2.6.2 逆合成解析

本研究における、肺炎球菌 7B、7C、及び 7D 莢膜多糖の共通三糖鎖誘導体 **263** の逆合成解析を以下に示す(**Figure 2.2.20**)。 **263** は、**343** と二糖鎖 **344** との隣接基関与を利用した立体選択的グリコシル化反応、続く脱保護により合成できると考えた。二糖鎖 **344** が有する $\beta(1,4)$ -ラムノシド結合は、ボロン酸触媒を用いた BMAD 法による位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的ラムノシル化反応により効率的に構築できると考えた。

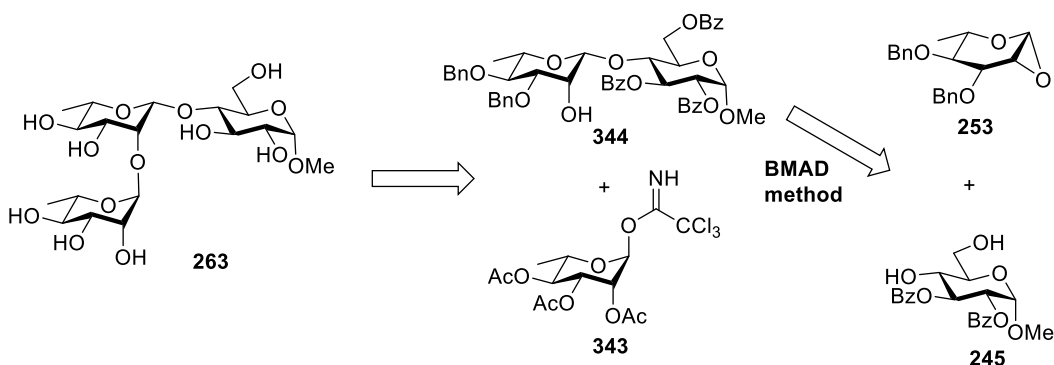


Figure 2.2.20 三糖鎖 **263** の逆合成解析

2.6.3 肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原である三糖鎖誘導体 **263** の合成

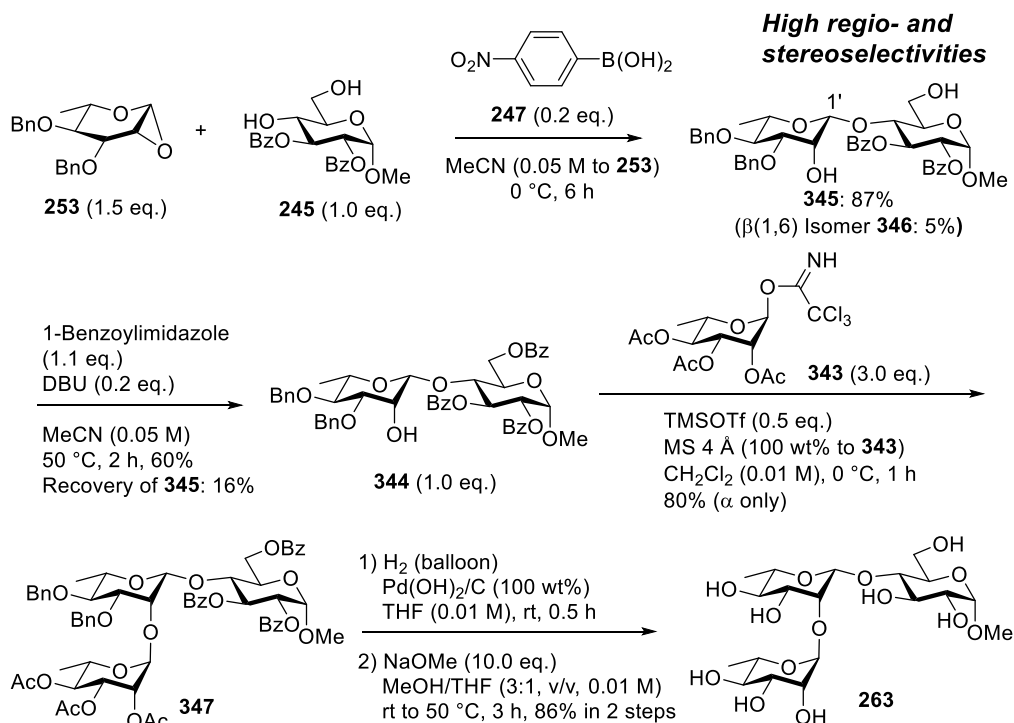


Figure 2.2.21 三糖鎖 **263** の合成

まず、糖供与体 **253** と糖受容体 **245** との、ボロン酸触媒 **247** を用いた位置及びβ-立体選択的ラムノシル化反応を検討した。その結果、反応は速やかに進行し、望むβ(1,4)-ラムノシド **345** が高収率かつ高位置及び立体選択的に得られることを見出した。**345** の立体化学は、**345** の 1'位炭素と 1'位水素との C-H カップリング定数の値が 156 Hz であることから、β体であることを確認した。また、**345** の結合位置は、**345** を 1 級水酸基選択的なベンゾイル化を行った結果、¹H NMR スペクトルにおいて 6 位プロトンが低磁場シフトしたことから、4 位水酸基で反応が進行したと決定した。次に、**344** と既知のラムノシド **343**⁸⁶ との隣接基関与を利用した立体選択的グリコシル化反応により、三糖鎖保護体 **347** を合成した。最後に、ベンジル基、アセチル基、及びベンゾイル基を脱保護することで、肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の合成を達成した(Figure 2.2.21)。

2.7 結論

第 2 章では、有機ホウ素化合物を用いた 1,2-*cis*-β-立体選択的ラムノシル化反応の開発と応用について述べた。まず、1,2-アンヒドロラムノース **253** を糖供与体、6-ベンジルオキシ-1-ヘキサノール(**202**)を糖受容体として選択し、種々ボリン酸を用いてグリコシル化反応を検討した。その結果、触媒量のボリン酸 **203** を用いて反応を行うことで、対応するβ-ラムノシド **318** が高収率かつ完全な立体選択性で得られることを見出した。また、速度論的同位体効果及び DFT 計算を用いた反応機構解析により、本反応は高分離性の協奏的な S_Ni 型機構で進行していることが示唆された(Figure 2.2.22)。

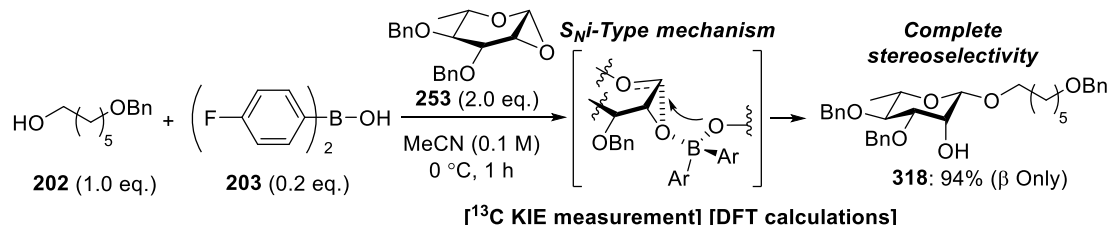


Figure 2.2.22 253 と 202 とのβ-立体特異的ラムノシル化反応

さらに、本手法は多様なモノオール糖受容体に応用した結果、完全な立体選択性で望むβ-ラムノシドが得られることを見出した(Figure 2.2.23)。2 級水酸基を有する糖受容体 **330-332** 及び **337** は、化学量論量のボリン酸 **203** を用いて、事前にボリン酸エステル化を行うことで、中程度から高収率かつ望む完全な立体選択性で望むβ-ラムノシド **333-335** 及び **338** が得られることを見出した(Figure 2.2.24)。

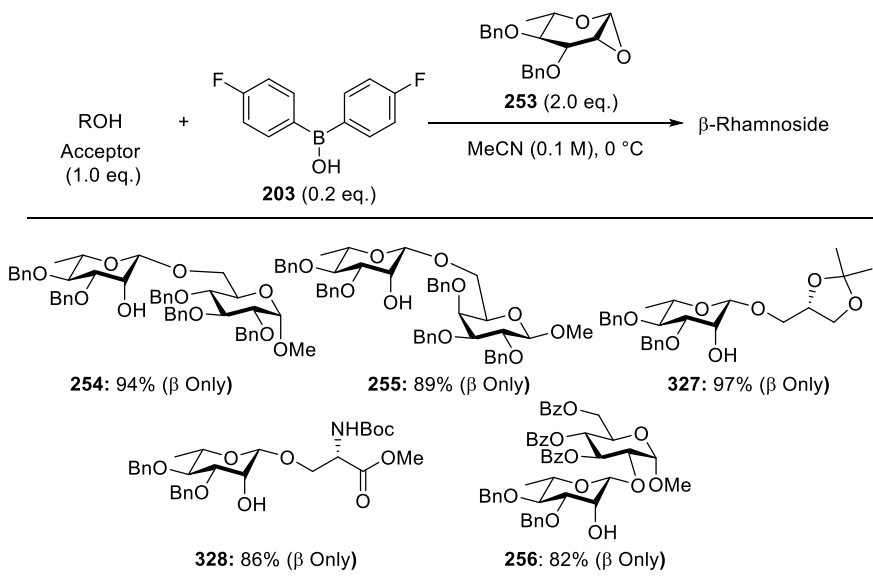


Figure 2.2.23 触媒量のボリン酸 **203** を用いた β -立体特異的ラムノシル化反応

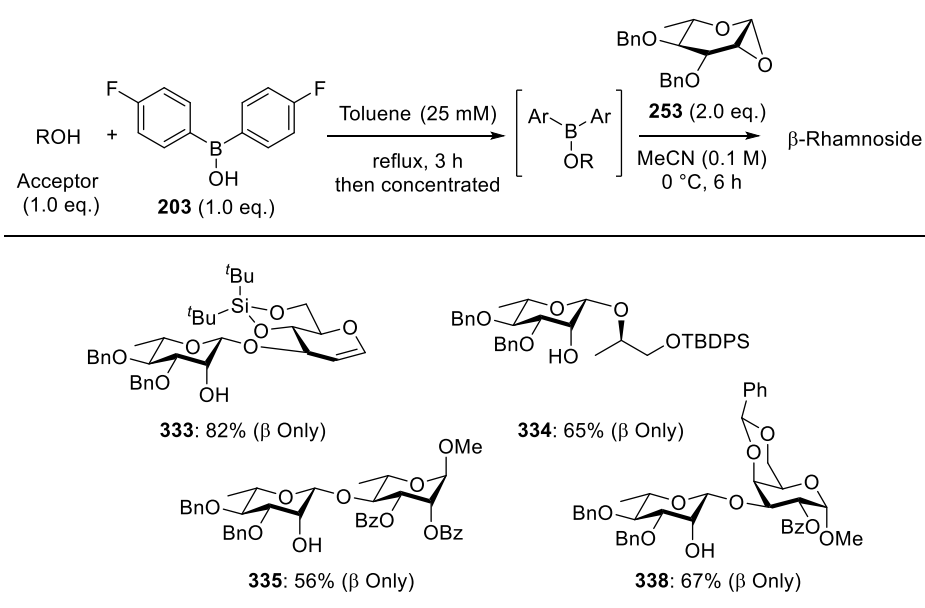


Figure 2.2.24 化学量論量のボリン酸 **203** を用いた β -立体特異的ラムノシル化反応

次に、有機ホウ素化合物をボロン酸に変更し、ジオール糖受容体に対する位置及び β -立体選択的ラムノシル化反応を検討した。その結果、触媒量の *p*-ニトロフェニルボロン酸(**247**)存在下、**253** と種々ジオール糖受容体とのグリコシル化反応を行うことで、対応する β (1,4)-ラムノシドが高収率かつ高位置及び立体選択性で得られることを見出した(**Figure 2.2.25**)。

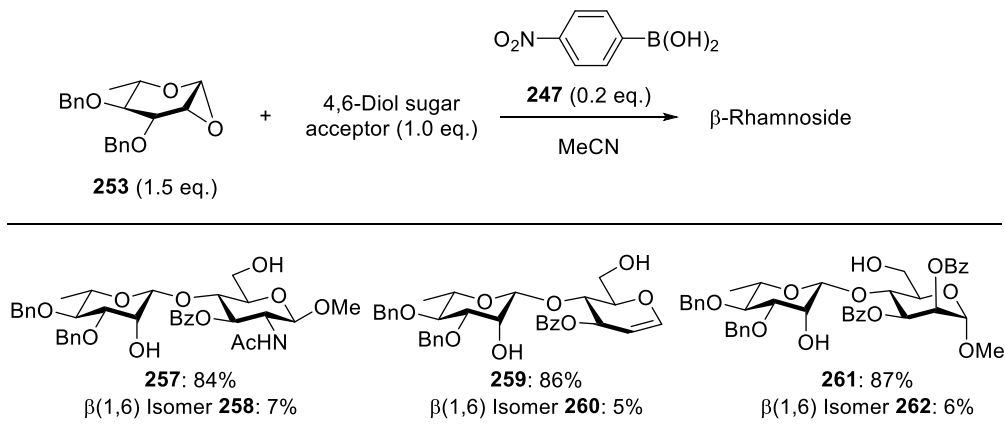


Figure 2.2.25 ボロン酸触媒 **247** を用いた位置及び β -立体選択的ラムノシル化反応

最後に、本手法を肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の合成に応用した。すなわち、**253** 及び **245** に対し、本手法を適応することで、高収率かつ高位置及び立体選択性で $\beta(1,4)$ -ラムノシド結合を構築し、続く各種誘導化により、肺炎球菌 7B、7C 及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の効率的な合成を達成した(**Figure 2.2.26**)。

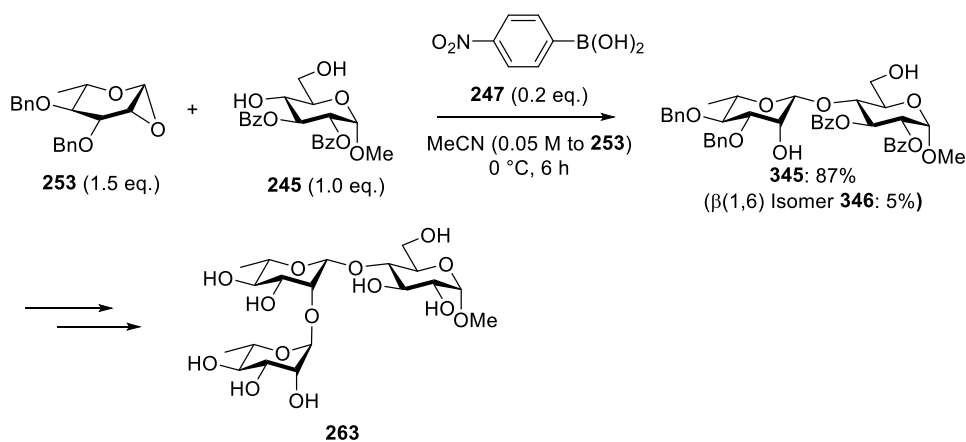


Figure 2.2.26 肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の合成

第3章 病原性大腸菌 O1 由来五糖鎖の合成と鳥類病原性大腸菌 O1

の抗原候補糖鎖の解明

3.1 研究背景

3.1.1 鳥類病原性大腸菌(APEC)O1

鳥類病原性大腸菌(APEC)は、ニワトリなどの鳥類に病原性を示す主要な病原菌の一種であり、大腸菌症や気嚢炎を含む様々な感染症の原因菌である⁸⁸。APEC が引き起こす感染症は、家禽の死亡、封じ込め、及び死骸の処分の費用により、世界中の養鶏産業において、多大な経済損失をもたらしている。APEC 感染を防ぐ伝統的かつ効率的な手法として、養鶏産業では、抗生物質が使用されてきた。しかし、抗生物質の頻繁な投与は、複数の薬剤に耐性を有する APEC 株を生み出す結果となり、多剤耐性 APEC 株が、近年問題視されている⁸⁹。世界中の APEC 感染症の主要な原因菌として、O1、O2 及び O78 が報告されており、特に O1 はヒトの病原性大腸菌とゲノムが類似していることから、人獣共通感染症が懸念されている⁹⁰。したがって、APEC O1 に対するワクチン開発が求められている。

3.1.2 先行研究：遺伝子組み換えサルモネラ菌株を利用した APEC O1 ワクチン

Kong らは、遺伝子組み換えサルモネラ菌株を利用した APEC O1 ワクチンを報告している⁹¹。すなわち、サルモネラ菌に大腸菌 O1 LPS の O-抗原を発現させるプラスミド (pSS27) を開発し、弱毒化 *Salmonella* Typhimurium (S740) に導入することで、APEC O1 の O-抗原を表層上に有する遺伝子組み換えサルモネラ菌の調製を達成した。さらに、調製したサルモネラ菌をニワトリに投与した結果、APEC O1 感染による死亡率を顕著に低下させることを見出している。したがって、O-抗原は、APEC O1 に対するワクチンの抗原として有用であり、緒言で示したように化学合成抗原糖鎖を用いた安全性の高いワクチン開発への応用が期待されている。しかし、本研究は、遺伝子組み換えサルモネラ菌に発現した糖鎖を利用しているため、APEC O1 に対するワクチンの抗原に有用な糖鎖の詳細な構造は明らかになっていない。

3.1.3 APEC O1 抗原候補糖鎖の構造

大腸菌 O1 糖鎖抗原は、Jann らによって、3つの繰り返し糖鎖構造が提唱されている(Figure 2.3.1)。すなわち、病原性が報告されている大腸菌 O1 株 (*E. coli* 21450) から O1A 抗原繰り返し五糖鎖構造⁹²を、病原性が報告されていない大腸菌 O1 株 (A197 及び A47) から O1B 及び O1C 抗原繰り返し五糖鎖構造⁹³をそれぞれ報告している。 β -マンノサミニド構造を共通構造に、O1A 抗原繰り返し五糖鎖は β -ラムノシド構造を、O1B 及び O1C 抗原繰り返し五糖鎖は α -ガラクトシド構造をそれぞれ有している。APEC O1 は、大腸菌 O1 の一種であるた

め、これら3つの糖鎖構造が APEC O1 の抗原候補糖鎖であると考えられる。

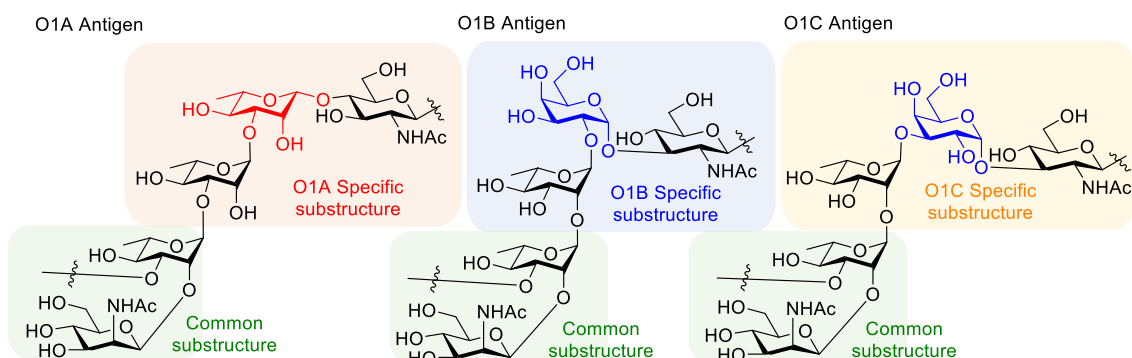


Figure 2.3.1 大腸菌 O1 LPS O-抗原繰り返し五糖鎖

3.2 研究目的

前述した通り、鳥類病原性大腸菌(APEC)は、養鶏産業に多大な経済損失をもたらし、かつ多剤耐性菌が出現していることから近年問題視されている。特に、APEC の主要な血清種の 1 種である APEC O1 は、人獣共通感染症が懸念されていることから、APEC O1 に対するワクチン開発が求められている。このような背景の中、APEC O1 LPS の O-抗原が APEC O1 に対するワクチンの抗原として有用であることが明らかになり、化学合成による O-抗原誘導体を用いた安全性の高いワクチン開発が期待されている。しかし、ワクチンの抗原に有用な糖鎖の詳細な構造は未解明である。一方、大腸菌 O1 LPS O-抗原の糖鎖構造は、3 種類報告されており、O1A 抗原は病原性を示す大腸菌 O1 株から、O1B 及び O1C 抗原は病原性を示さない大腸菌 O1 株から、それぞれ単離・構造決定されている。したがって、O1A 抗原の繰り返し五糖鎖が、APEC O1 に対するワクチンの抗原として機能するのではないかと考えた(Figure 2.3.2)。そこで、本研究では、大腸菌 O1A 抗原の繰り返し五糖鎖誘導体 266 の合成、及び 266-タンパク質複合体と APEC O1 免疫ニワトリ血清を用いた ELISA アッセイによる APEC O1 抗原候補糖鎖の解明を行った。

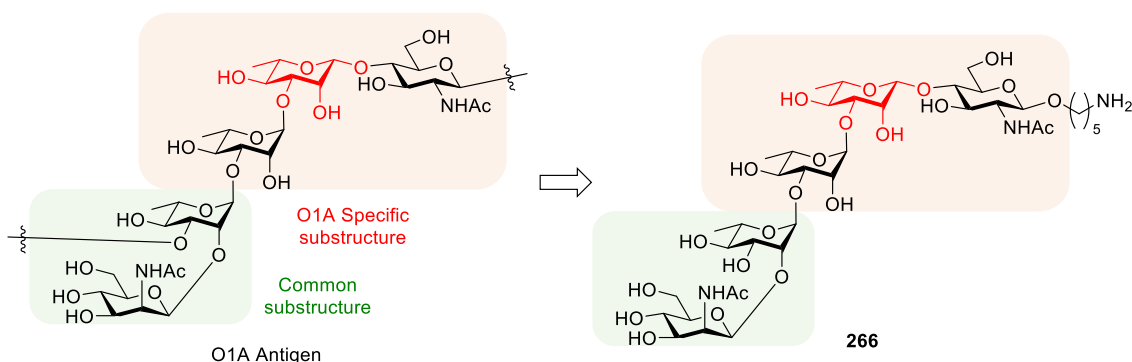


Figure 2.3.2 APEC O1 抗原候補糖鎖誘導体 266

3.3 分子デザインと逆合成解析

キャリアタンパク質との複合化及び ELISA プレートへの固定化のため、還元末端にアミノペンタノールを導入した五糖鎖誘導体 **266** をデザインした。また、最小の糖鎖抗原構造の解明、及び O1A 抗原の特異的な構造や O1A-C 抗原の共通構造が与える影響を確認するために、部分三糖鎖を有する **348** 及び部分二糖鎖を有する **349** をデザインした。**266**、**348**、及び **349** の逆合成解析を以下に示す (Figure 2.3.3)。

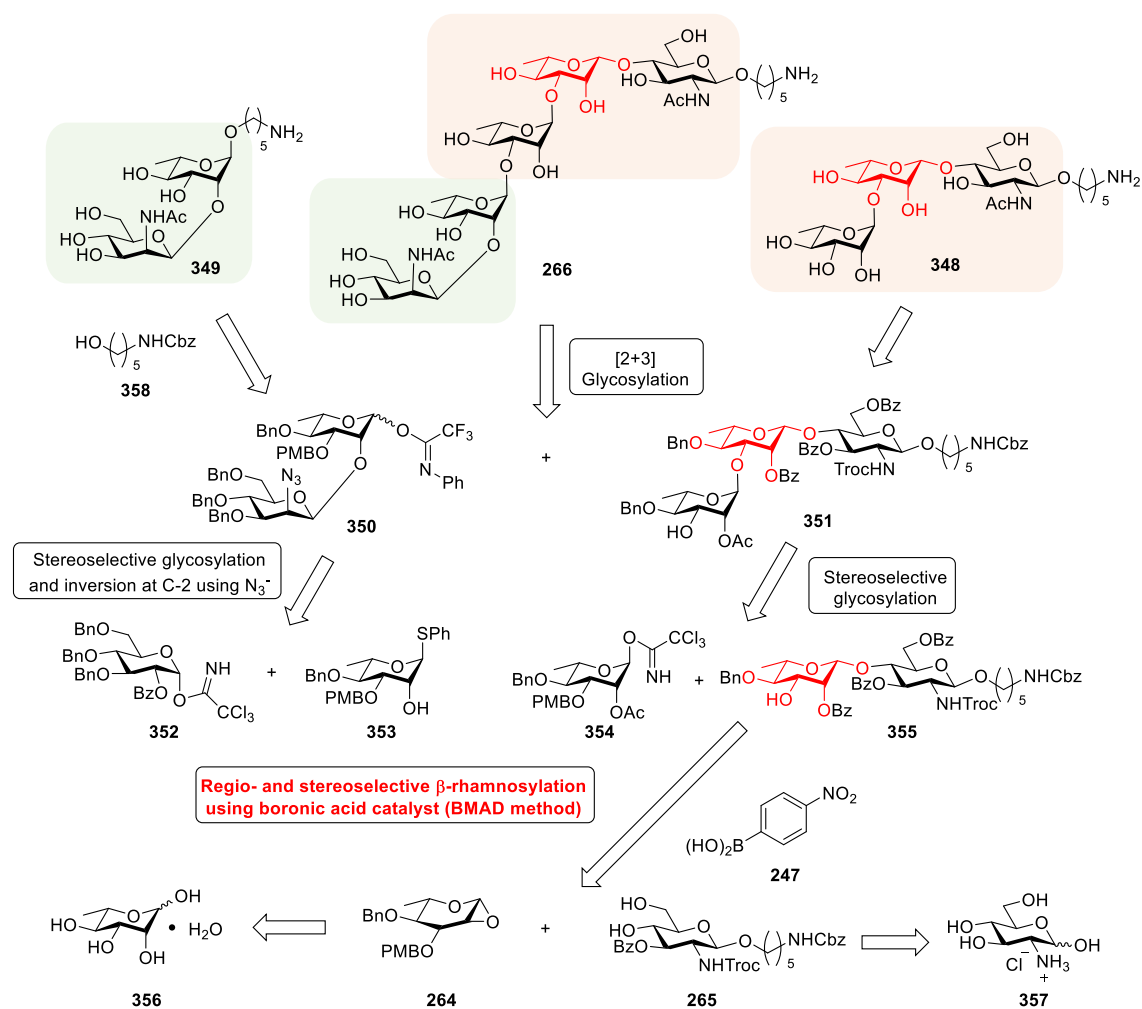


Figure 2.3.3 APEC O1 抗原候補糖鎖誘導体 **266**、**348**、及び **349** の逆合成解析

五糖鎖誘導体 **266** は、二糖鎖 **350** と三糖鎖 **351** とのグリコシル化反応、続く脱保護により、得られると考えた。二糖鎖 **350** は、糖供与体 **352** と糖受容体 **353** との隣接基関与を利用した立体選択的グリコシル化反応、続くグルコース部位の 2 位におけるアジドの求核置換反応を含む各種誘導化により合成できると考えた。三糖鎖 **351** は、糖供与体 **354** と二糖鎖 **355** との隣接基関与を利用した立体選択的グリコシル化反応、続く PMB 基の脱保護により、

得られると考えた。二糖鎖 **355** が有する構築困難な $\beta(1,4)$ -ラムノシド結合は、第 2 章で開発したボロン酸触媒を用いた BMAD 法による位置及び β -立体選択的ラムノシル化反応を用いることで、効率的に構築できると考えた。三糖鎖誘導体 **348** は、五糖鎖誘導体 **266** の合成中間体である三糖鎖 **351** の脱保護により得られると考えた。また、二糖鎖誘導体 **349** は、五糖鎖誘導体 **266** の合成中間体である二糖鎖 **350** とアミノペンタノール誘導体 **358** とのグリコシル化反応、続く脱保護により合成できると考えた。

3.4 APEC O1 抗原候補五糖鎖誘導体 **266** の合成

3.4.1 二糖鎖 **350** の合成

まず、二糖鎖 **350** の合成を行った(Figure 2.3.4)。糖供与体 **352**⁹⁴ と糖受容体 **353**⁹⁵ との隣接基関与を利用した立体選択的グリコシル化反応、続くグルコース部位の 2 位ベンゾイル基の脱保護により、二糖鎖 **360** を 2 工程収率 86% で合成した。**360** の立体化学は、¹H NMR スペクトルにおいて 1' 位水素と 2' 位水素の結合定数が 8.0 Hz であることから、 β 体であると決定した。次に、トリフルオロメタンスルホン酸無水物による **360** のグルコース部位の 2 位水酸基のトリフラート化、続くテトラブチルアンモニウムアジド (TBAN₃) による求核置換反応により、マンノサミン誘導体 **361** を 2 工程収率 87% で合成した。**361** の ¹H NMR スペクトルにおいて、1' 位水素と 2' 位水素の結合定数が 0.8 Hz、かつ 1' 位炭素と 1' 位水素との C-H カップリング定数の値が 159 Hz であることから、**361** がマンノサミン構造を有していることを確認した。最後に、NBS により **361** を加水分解し、得られたラクツールに対し、*N*-フェニルトリフルオロアセトイミドイルクロリドを作用させることで、**350** を合成した。

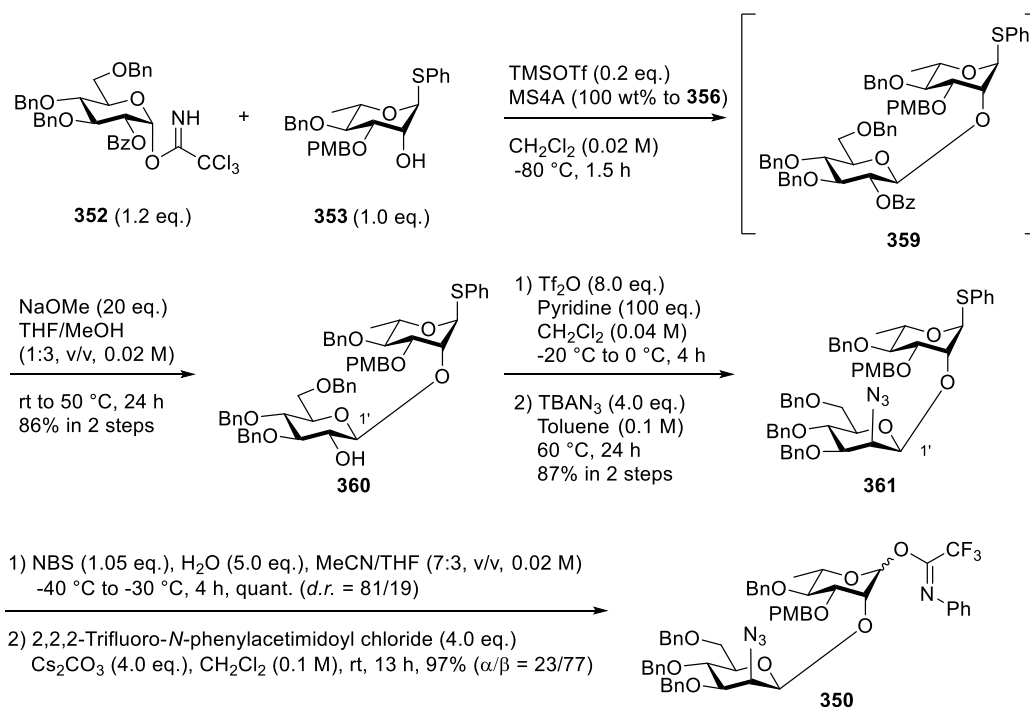


Figure 2.3.4 二糖鎖 **350** の合成

3.4.2 三糖鎖 355 の合成

1,2-アンヒドロラムノース **264** の合成を行った(**Figure 2.3.5**)。ラムノース一水和物(**356**)から4工程で誘導化したオルトエステル **362**⁹⁶ に対し、3,4-スズアセタールを用いた3位水酸基選択的な PMB 化を行うことで、**363** を収率 90% で合成した。次に、BnBr を用いた4位水酸基のベンジル化により、**364** を合成した。最後に、TMSCl によるオルトエステルの開環を伴ったアノマー位のクロロ化、続く ^tBuOK による立体選択的なエポキシ化により、1,2-アンヒドロラムノース **264** を2工程収率 90% で合成した。

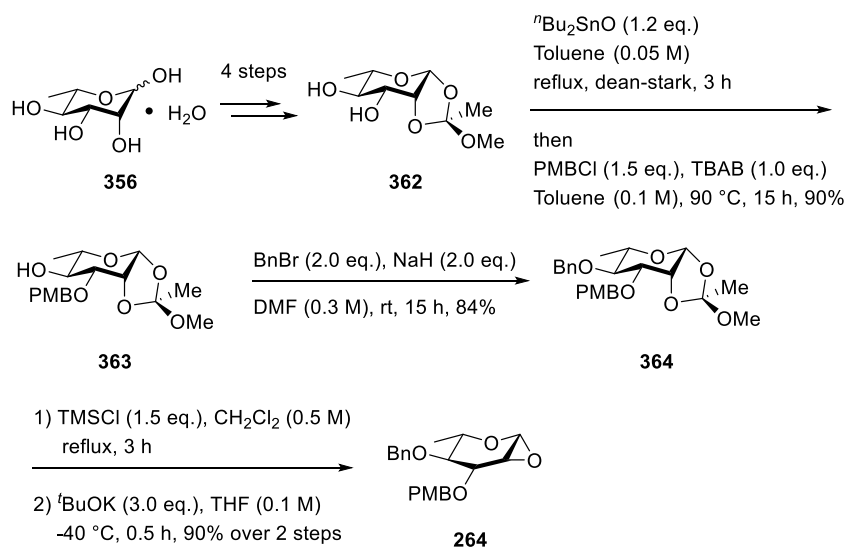


Figure 2.3.5 1,2-アンヒドロラムノース **264** の合成

次に、糖受容体 **265** の合成を行った(**Figure 2.3.6**)。グルコサミン塩酸塩(**357**)から5工程で誘導化したグルコサミン誘導体 **365**⁹⁷ に対し、脱アセチル化及び4,6位水酸基のベンジリデン保護を行うことで、**366** を合成した。得られた **366** の3位水酸基のベンゾイル化、続くベンジリデン基の脱保護を行うことで、ジオール糖受容体 **265** を合成した。

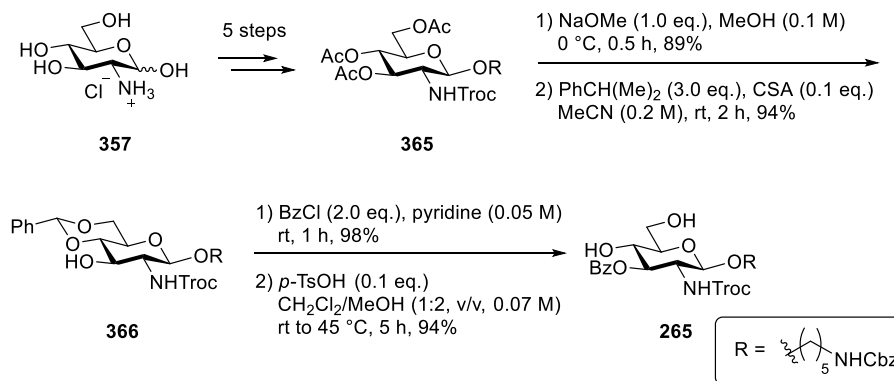


Figure 2.3.6 糖受容体 **265** の合成

合成した **264** と **265** との、ボロン酸触媒 **247** を用いた BMAD 法による位置及びβ-立体選択的ラムノシル化反応を検討した。その結果、反応は速やかに進行し、望むβ(1,4)-ラムノシド **367** が 92%の収率かつ完全な位置及び立体選択性で得られることを見出した。**367** の立体化学は、**367** の 1'位炭素と 1'位水素との C-H カップリング定数の値が 156 Hz であることから、β体であることを確認した。また、**367** の結合位置は、**367** をベンゾイル化した結果、¹H NMR スペクトルにおいて 6 位プロトンが低磁場シフトしたことから、4 位水酸基で反応が進行したと決定した。ベンゾイル化により得られた **368** に対し、HFIP/CH₂Cl₂ 混合溶媒中、塩酸を作用させることで、PMB 基が脱保護された二糖鎖 **355** を合成した。次に既知のラムノシド **354**⁹⁸ と二糖鎖 **355** との隣接基関与を利用した立体選択的グリコシル化反応を検討した。すなわち、TfOH 及びモレキュラーシーブ 4A 存在下、**355** に対し 1.5 当量の **354** を作用させることで、望む三糖鎖 **369** を収率 77%かつ完全なα-立体選択性で得られることを見出した。**369** の立体化学は、**369** の 1''位炭素と 1''位水素との C-H カップリング定数の値が 170 Hz であることから、α体であると決定した。次に、HFIP/CH₂Cl₂ 混合溶媒中、塩酸を作用させることで、PMB 基が脱保護された三糖鎖 **351** を合成した(Figure 2.3.7)。

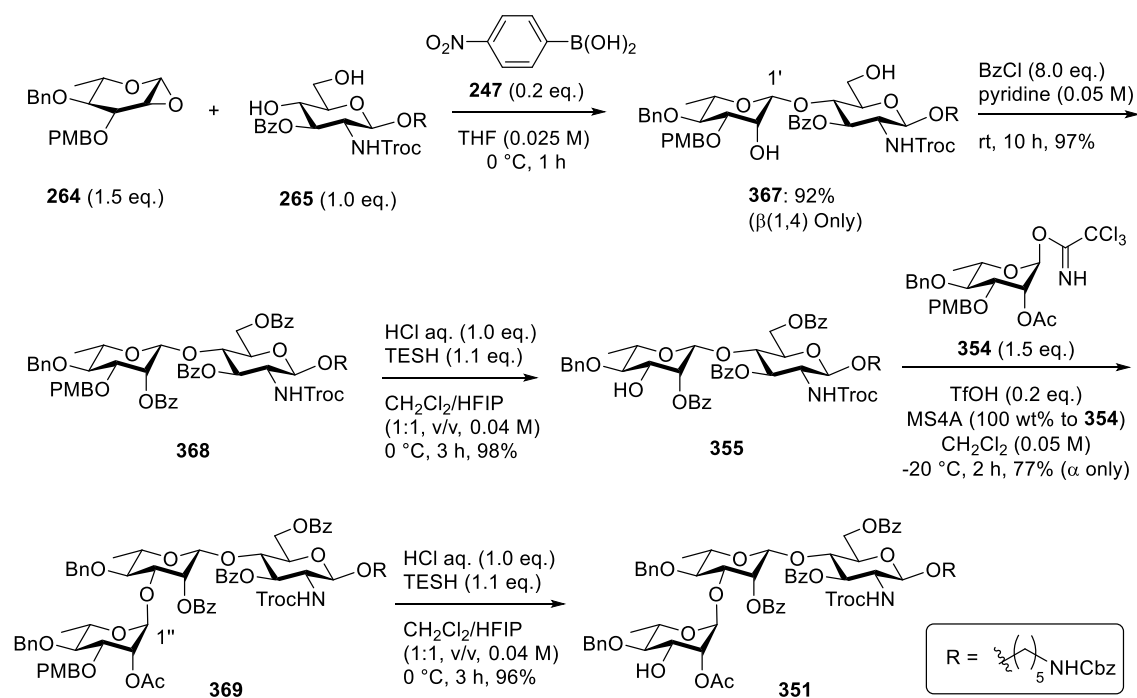


Figure 2.3.7 三糖鎖 **351** の合成

3.4.3 五糖鎖 266 の合成

合成した二糖鎖 **350β** と三糖鎖 **351** との[2+3]グリコシル化反応を検討した。すなわち、TfOH 及びモレキュラーシーブ 4A 存在下、**351** に対し 1.5 当量の **350β** を作用させることで、望む五糖鎖 **370** を収率 80% で合成した。**370** の立体化学は、**370** の 1''' 位炭素と 1''' 位水素との C-H カップリング定数の値が 174 Hz であることから、α 体であると決定した。次に、Staudinger 反応によるアジド基の還元、続く無水酢酸によるアセチル化を行うことで、**371** を 2 工程収率 87% で合成した。得られた **371** に対し、無水酢酸存在下、亜鉛-銅カップルを作用させることで、トロック基の脱保護及び生じたアミンのアセチル化を一挙に行い、**372** を収率 80% で合成した。最後に、NaOMe によるベンゾイル基及びアセチル基の脱保護、続く、Pd(OH)₂/C 存在下、高压条件下(7 atm)での加水素分解を行うことで、病原性大腸菌 O1 LPS 繰り返し五糖鎖誘導体 **266** の初の合成を達成した(Figure 2.3.8)。

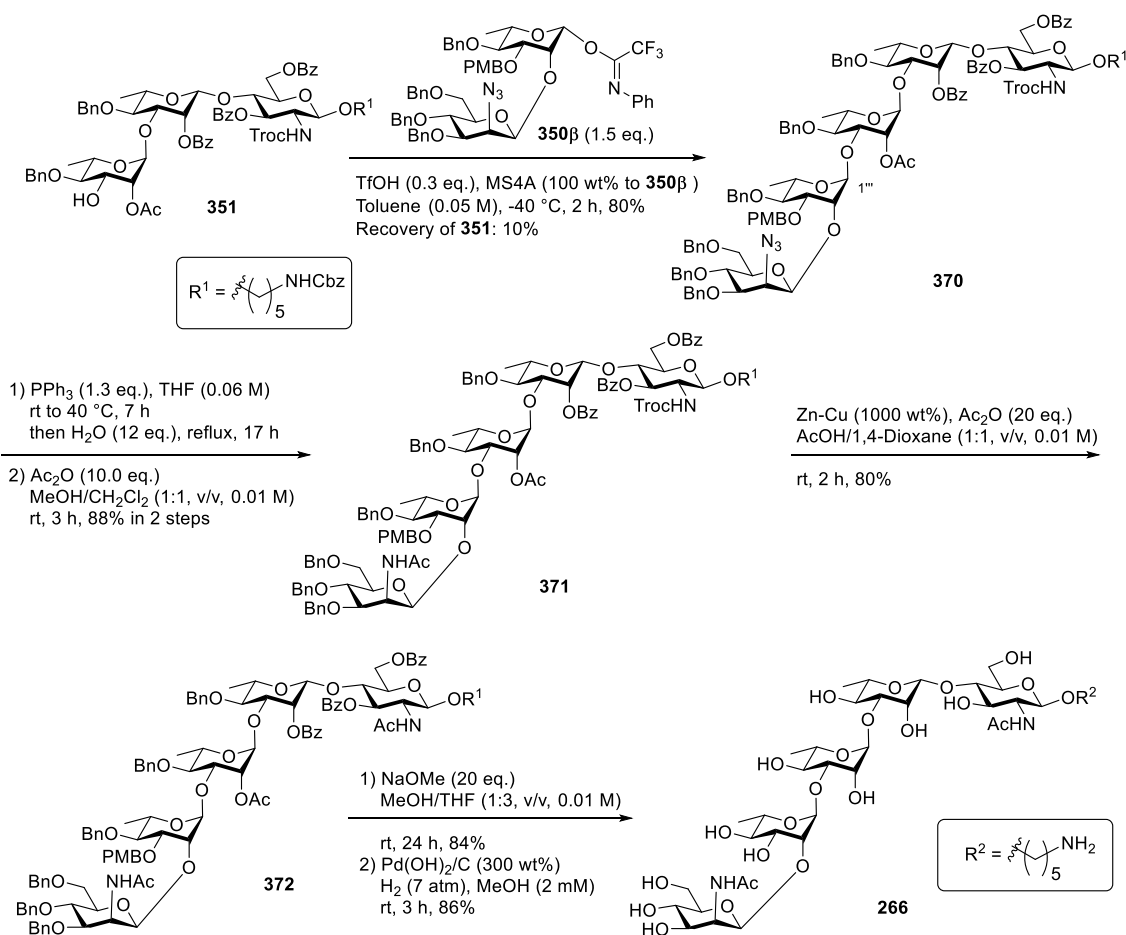


Figure 2.3.8 病原性大腸菌 O1 LPS 繰り返し五糖鎖誘導体 **266** の合成

3.5 APEC O1 抗原候補糖鎖誘導体 348 及び 349 の合成

3.5.1 APEC O1 抗原候補三糖鎖 348 の合成

APEC O1 抗原候補三糖鎖誘導体 **348** の合成を行った(**Figure 2.3.9**)。まず、**266** の合成中間体である **351** に対し、無水酢酸存在下、亜鉛-銅カップルを作用させることで、トロック基の脱保護及び生じたアミンのアセチル化を一挙に行った。続いて、NaOMe を作用させることで、ベンゾイル基及びアセチル基が脱保護された **373** を 2 工程収率 69% で合成した。最後に、Pd(OH)₂/C 存在下、THF 溶媒中、高压条件下(7 atm)での加水素分解を行うことで、APEC O1 抗原候補糖鎖誘導体 **348** を収率 59% で合成した。

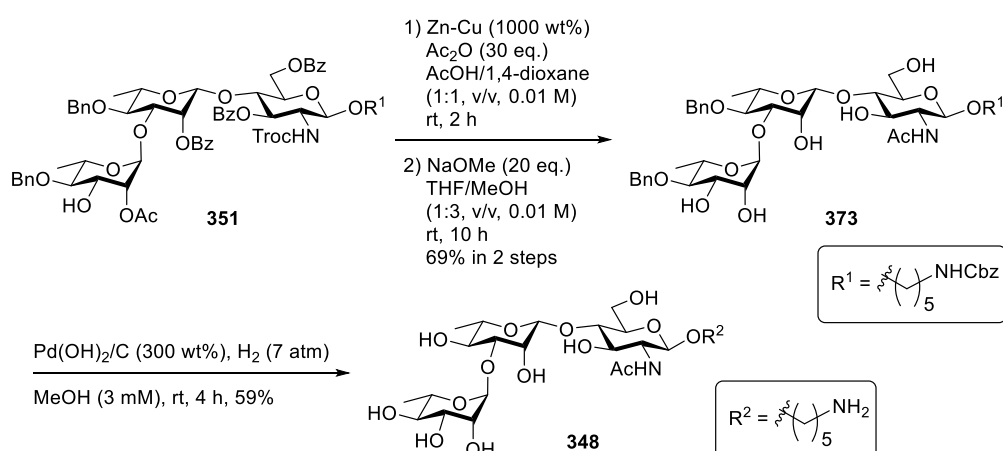


Figure 2.3.9 APEC O1 抗原候補三糖鎖誘導体 **348** の合成

3.5.2 APEC O1 抗原候補二糖鎖 349 の合成

APEC O1 抗原候補二糖鎖誘導体 **349** の合成を行った(**Figure 2.3.10**)。まず、**266** の合成中間体である **350β** とアミノペンタノール誘導体 **358** とのグリコシル化反応により、二糖鎖 **374** を合成した。**374** の立体化学は、**374** の 1 位炭素と 1 位水素との C-H カップリング定数の値が 171 Hz であることから、α 体であると決定した。合成した **374** に対し、Staudinger 反応によるアジド基の還元、続く無水酢酸によるアセチル化を行うことで、**375** を 2 工程収率 85% で合成した。最後に、Pd(OH)₂/C 存在下、THF/MeOH 混合溶媒中、高压条件下(7 atm)での加水素分解を行うことで、APEC O1 抗原候補糖鎖誘導体 **349** を収率 90% で合成した。

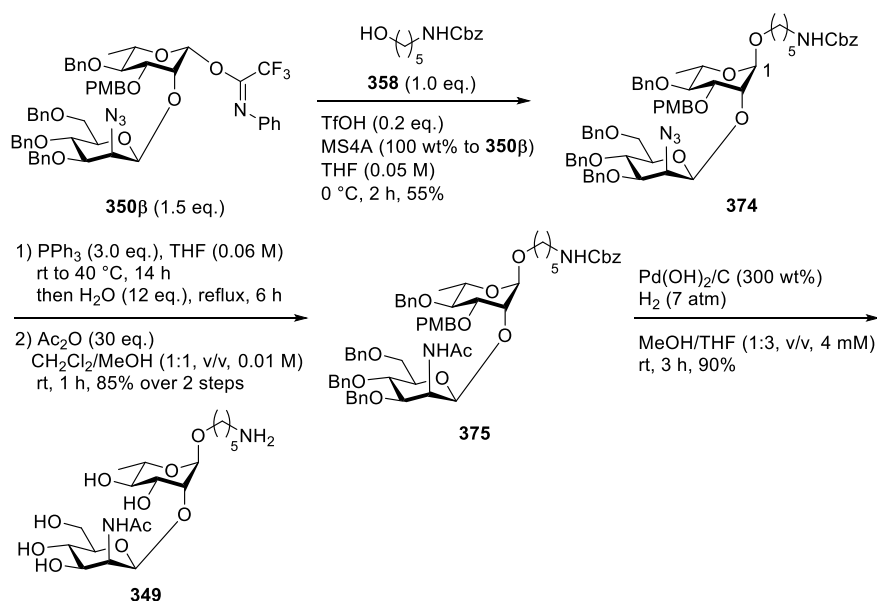


Figure 2.3.10 APEC O1 抗原候補二糖鎖誘導体 **349** の合成

3.6 APEC O1 抗原候補糖鎖—タンパク質複合体の合成

キャリアタンパク質として、ELISA プレートへの固定化に汎用的に使用されているウシ血清アルブミン(BSA)を選択し、APEC O1 抗原候補糖鎖 **266**、**348**、及び **349** と BSA との複合化を *p*-ニトロフェノール活性化法⁹⁹を用いて行った。まず、**266** に対し、DMF 溶媒中、トリエチルアミン存在下、7 当量の **376** を作用させることで、還元末端に活性エステルを導入した **377** を調製した。ゲルろ過クロマトグラフィーにより、残存した **376** を除去した後、PBS バッファー中、BSA と混合することで、**266**—BSA 複合体 **267** を合成した(Figure 2.3.11)。

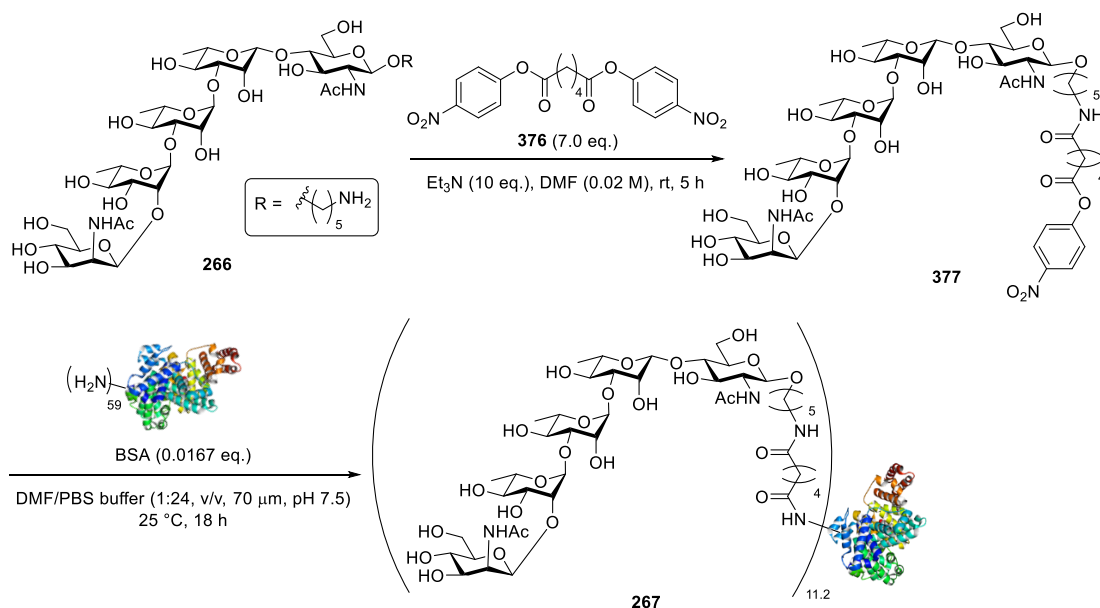


Figure 2.3.11 APEC O1 抗原候補糖鎖 **266**—BSA 複合体 **267** の合成

なお、BSA の混合量は、BSA が有するアミノ基の数を考慮し、**377** と BSA の比が 60:1 になるように、**377** に対し 0.0167 当量を選択した。同様の手法により、**348** 及び **349** と BSA を複合化し、**348**—BSA 複合体 **379** 及び **349**—BSA 複合体 **381** を合成した(Figure 2.3.12)。

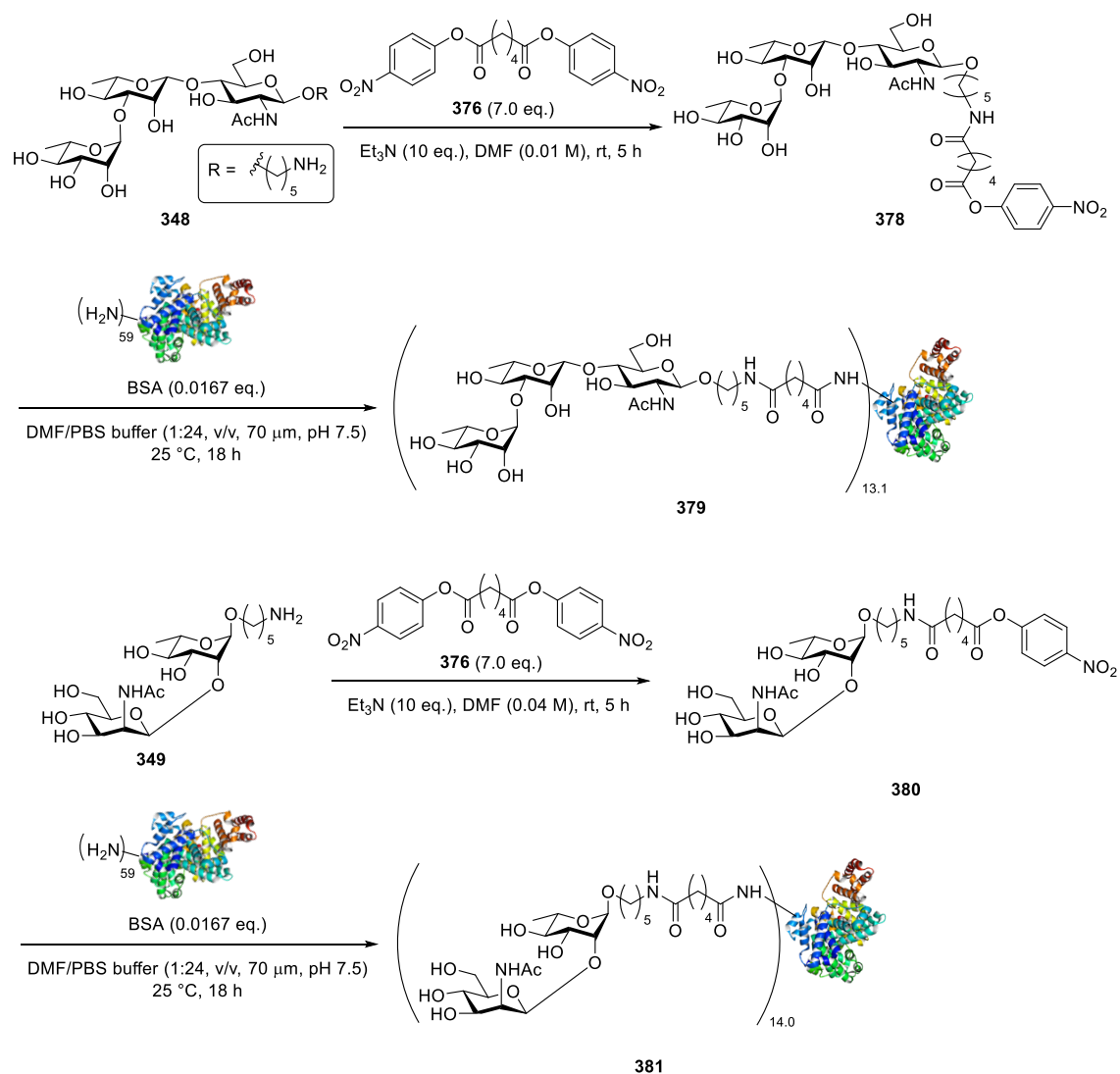


Figure 2.3.12 APEC O1 抗原候補糖鎖—BSA 複合体 **379** 及び **381** の合成

次に MALDI—TOFMS により、各複合糖質の糖鎖含有量の測定を行った。その結果、**267** は **266** が平均 11.2 個、**379** は **348** が平均 13.1 個、**381** は **349** が平均 14 個結合していることを明らかにした(Figure 2.3.13)。

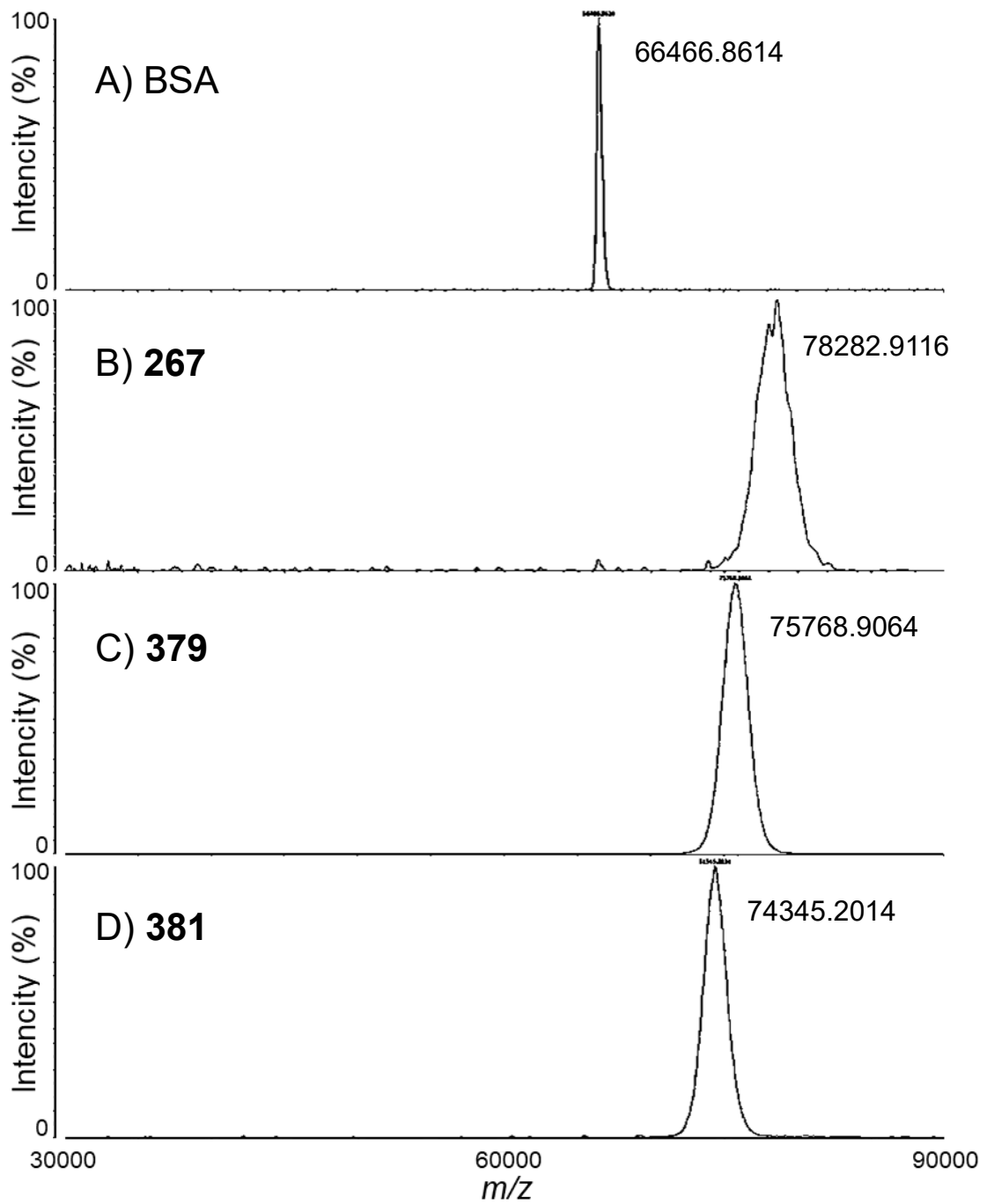


Figure 2.3.13 MALDI-TOF MS スペクトル A) BSA, B) 267, C) 379, D) 381

3.7 APEC O1 抗原候補糖鎖の解明

3.7.1 APEC O1 免疫ニワトリ血清の調製^b

APEC O1 の抗原性を示す糖鎖を明らかにするために、APEC O1 免疫ニワトリ血清を調製した(Figure 2.3.14)。まず、APEC O1 の菌種として ATCC11775¹⁰⁰ を選択し、LB 培地^c中、37 °C の条件下、一晚培養することで、 10^9 CFU/mL の ATCC11775 菌液を調製した。次に、LB 培地で 10^6 CFU/mL に希釈した菌液を 1 mL、生後 10 日のニワトリ(Specific-pathogen-free (SPF) chicken^d)に経口投与し、アイソレーター^e中、14 日間飼育した。ATCC11775 菌液(10^6 CFU/mL、1 mL)を経口投与し、さらに 14 日間飼育した後、全採血及び血清分離することで、APEC O1 免疫血清を調製した。次に、非特異的な免疫反応を評価するために、APEC O1 非免疫の対照ニワトリ血清を調製した。すなわち、アイソレーター中、計 38 日間飼育したニワトリ(SPF chicken)に対し、全採血及び血清分離することで、対照ニワトリ血清を調製した。

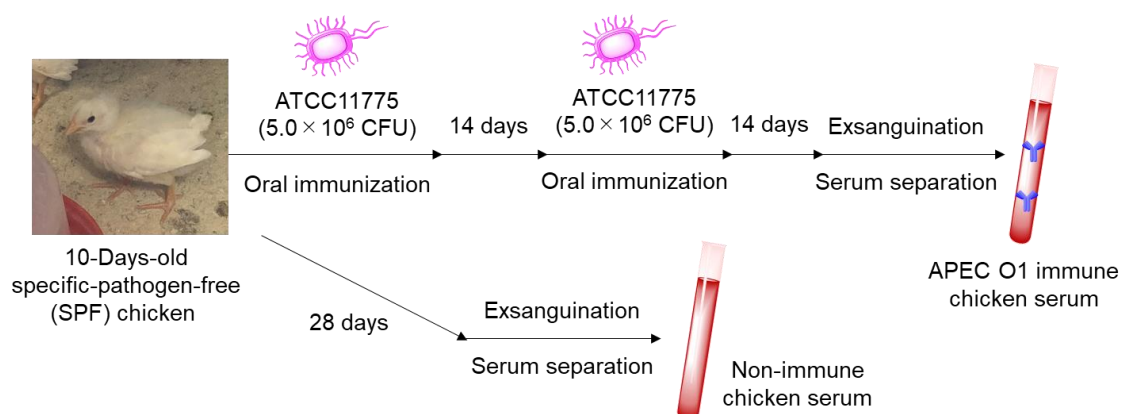


Figure 2.3.14 APEC O1 免疫ニワトリ血清及び対照ニワトリ血清の調製

3.7.2 APEC O1 LPS の調製

次に、調製したニワトリ血清の評価に用いる ATCC11775 LPS の抽出をホットフェノール法¹⁰¹により行った。以下にホットフェノール法のプロトコルを示す(Figure 2.3.15)。

① 5 mL の LB 培地に、寒天培地で培養した ATCC11775 を 1 CFU 加え、37 °C の条件下、18 時間培養した。

^b 食環境衛生研究所動物実験委員会の承認の下、実験を行った。(承認番号: AW20Jan005H)

^c SIGMA-ALDRICH 社の LB Broth (L3022)を用いた。

^d VALO BioMedia GmbH 社から購入した SPF 卵を食環境衛生研究所でふ化させたニワトリを実験に用いた。

^e 環境及びヒトの直接介入から物理的に完全に隔離された無菌操作区域を有する装置。

- ② ATCC11775 菌液を遠心分離し、上澄みの溶液を取り除いた。
- ③ Tris-HCl バッファー(pH 6.8, 0.1 M)を 2 mL 加え再懸濁した後、菌液を湯浴で 15 分間煮沸した。
- ④ 得られた菌液に対し、DNase I (50 units)と RNase A (0.5 mg)を室温で加え、37 °Cで 30 分間インキュベートした。
- ⑤ 得られた混合液に、Proteinase K (1.0 mg)を加え、59 °Cで一晩インキュベートした。
- ⑥ 混合液に tris-saturated phenol を加え、10 秒間ボルテックスした後に、65 °Cで 15 分間インキュベートした。
- ⑦ 室温まで冷やした混合液に Et₂O (50 mL) を加え、10 秒間ボルテックスした。
- ⑧ 同様の工程を 2 回繰り返した。
- ⑨ 得られた水層を透析、凍結乾燥させることで、APEC O1 (ATCC11775) LPS を得た。
- ⑩ 得られた LPS を SDS PAGE で評価した。

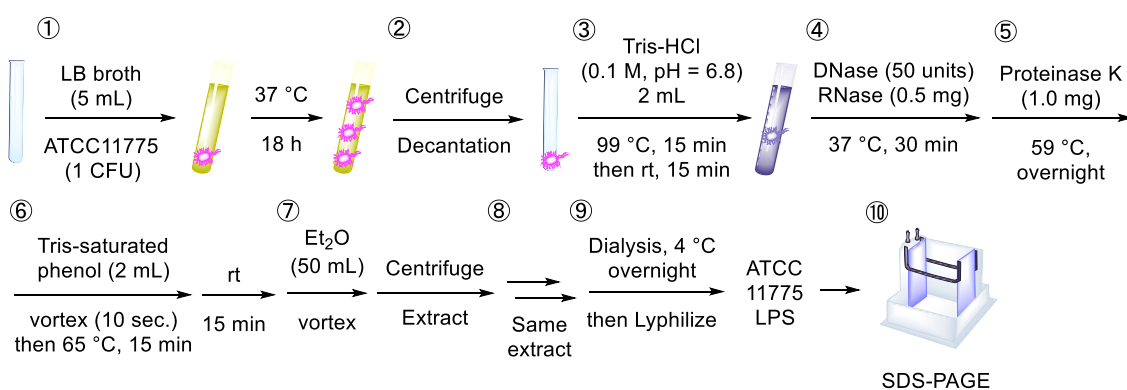


Figure 2.3.15 ホットフェノール法による ATCC11775(APEC O1) LPS の抽出

得られた LPS の SDS PAGE を **Figure 2.3.16** に示す。12%のポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行い、銀染色で呈色した。レーン 1 には、分子量マーカー、レーン 2 は得られた LPS の PBS 溶液(2.0 mg/mL)のレーンである。レーン 2 より、45000-66000 程度の分子量のバンドが確認できたことから、O-抗原を含めた LPS を抽出できていることを確認した。

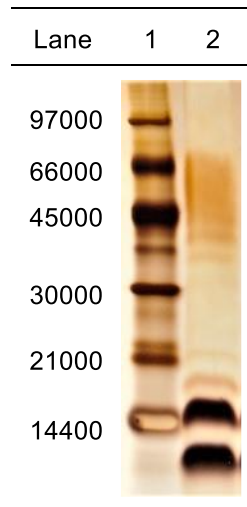


Figure 2.3.16 ATCC11775(APEC O1)から抽出した LPS の SDS-PAGE 解析. レーン 1 は、分子量マーカー、レーン 2 は得られた LPS の PBS 溶液(2.0 mg/mL)。2%のポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行い、銀染色で呈色した。

3.7.3 APEC O1 抗原候補糖鎖—タンパク質複合体の評価

合成した APEC O1 抗原候補糖鎖—BSA 複合体 **267**、**379** 及び **381** と抗 APEC O1 血清との親和性を ELISA 法にて評価した。なお、ポジティブコントロールとして、前項で抽出した APEC O1 LPS を用い、ネガティブコントロールとして BSA を用いた。ELISA 法のプロトコルを以下に示す(**Figure 2.3.17**)。

- ① 96-well plate に **267**、**379**、**381**、APEC O1 LPS、及び BSA の PBS 溶液(10 µg/mL)をそれぞれ 100 µL 加え、37 °C で 1 時間インキュベートすることで固定化した。
- ② 溶媒を除去した後、各ウェルにブロッキングバッファー(5% glucose and 2.5% defatted milk-containing 10 mM PBS buffer)を 200 µL 加え、37 °C で 1 時間インキュベートした。その後、PBS-T(0.05% Tween-20-containing 10 mM PBS buffer)で 3 回洗浄した。
- ③ 各ウェルにバッファー(1% BSA-containing 10 mM PBS buffer)で 2000 倍に希釈した APEC O1 免疫血清または対照血清を 100 µL 加え、4 °C で一晩インキュベートした。
- ④ 溶媒を除去した後、PBS-T 及び PBS で各 3 回洗浄した。
- ⑤ 各ウェルにバッファー(1% BSA-containing 10 mM PBS buffer)で 5000 倍に希釈した 2 次抗体(HRP-linked goat anti-chicken IgY antibody^f)を 100 µL 加え、37 °C で 1 時間インキュベートした。
- ⑥ 溶媒を除去した後、PBS-T 及び PBS で各 3 回洗浄した。

^f Southern Biotech. Associates 社から購入した HRP 標識のニワトリ二次抗体を使用した。

- ⑦ 各ウェルに OPD 溶液(0.4 mg/mL in 0.1% H₂O₂-containing citrate-phosphate buffer)を 100 μL 加え、室温で 30 分間インキュベートした。
- ⑧ 各ウェルに 5 N 硫酸を 100 μL 加えた後、490 nm における吸光度をプレートリーダーにて測定した。

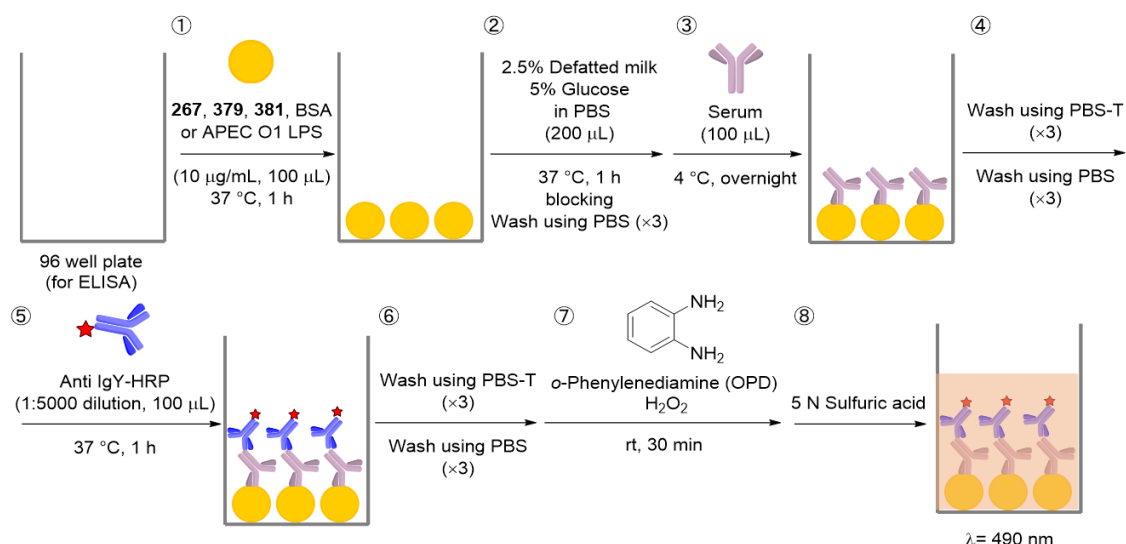
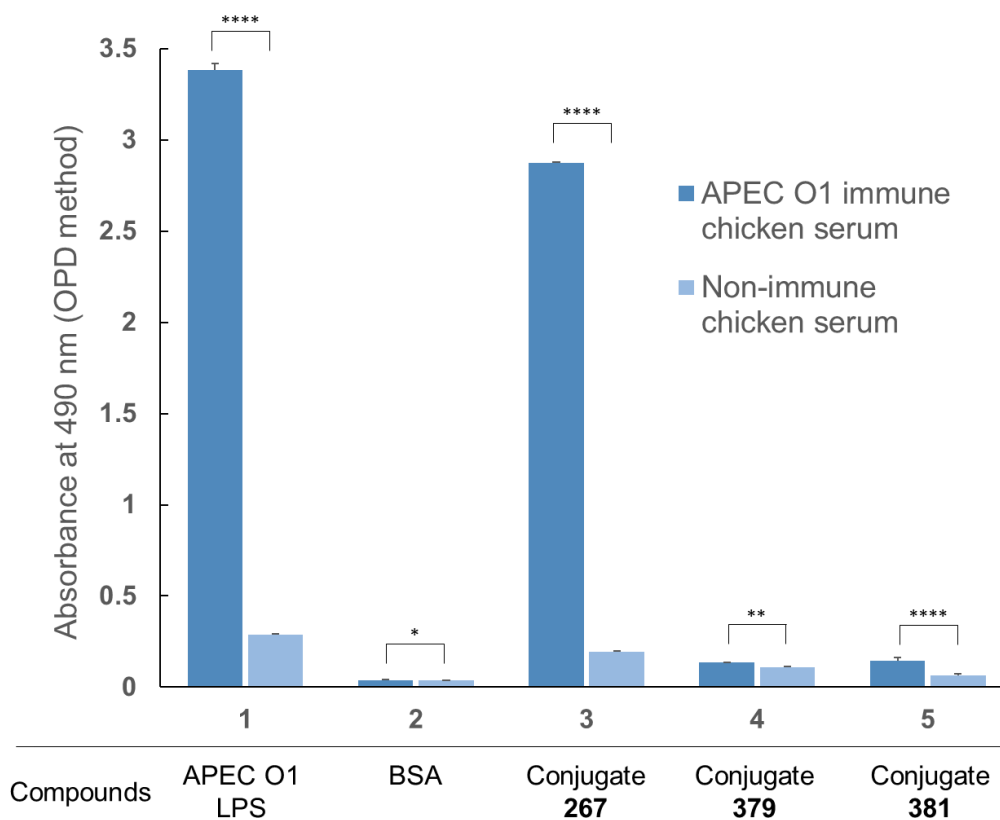


Figure 2.3.17 ELISA 法による各種複合糖質の評価

本 ELISA アッセイの結果を **Figure 2.3.18** に示す。各レーンの青で示した左のバーは APEC O1 免疫ニワトリ血清を用いた結果を示しており、水色で示した右のバーは、APEC O1 非免疫の対照ニワトリ血清の結果を示した。また、レーン 1 はポジティブコントロールである APEC O1 LPS、レーン 2 はネガティブコントロールである BSA、レーン 3 は **267**、レーン 4 は **379**、及びレーン 5 は **381** の結果を示した。まず、レーン 1 の結果により、APEC O1 LPS は、対照ニワトリ血清と比較して、APEC O1 免疫ニワトリ血清に強い親和性を示すことを見出した。したがって、APEC O1 をニワトリに免疫することで、血清中に APEC O1 LPS に特異的に結合する抗体(抗 APEC O1 LPS 抗体)が産生したことを確認した。また、レーン 2 の結果により、APEC O1 免疫ニワトリ血清及び対照ニワトリ血清ともに BSA に親和性を示さないことを確認した。次に、大腸菌 O1 の O1A 抗原繰り返し五糖鎖誘導体を有する複合糖質 **267** を評価した。その結果、レーン 3 に示すように、複合糖質 **267** は、対照ニワトリ血清と比較して、APEC O1 免疫ニワトリ血清に強い親和性を示すことを見出した。APEC O1 免疫ニワトリ血清は、BSA には親和性を示さなかったことから、APEC O1 免疫ニワトリ血清中の抗体は O1A-抗原の繰り返し五糖鎖に結合することを見出した。さらに、興味深いことに、レーン 4-5 の結果から、APEC O1 免疫ニワトリ血清及び対照ニワトリ血清ともに、複合糖質 **379**、及び **381** には、ほとんど親和性を示さないことが見出された。APEC O1 免疫ニワトリ血清中の抗体が、O1A 抗原の特異的な三糖鎖や O1A-C 抗原の共通構造である二糖

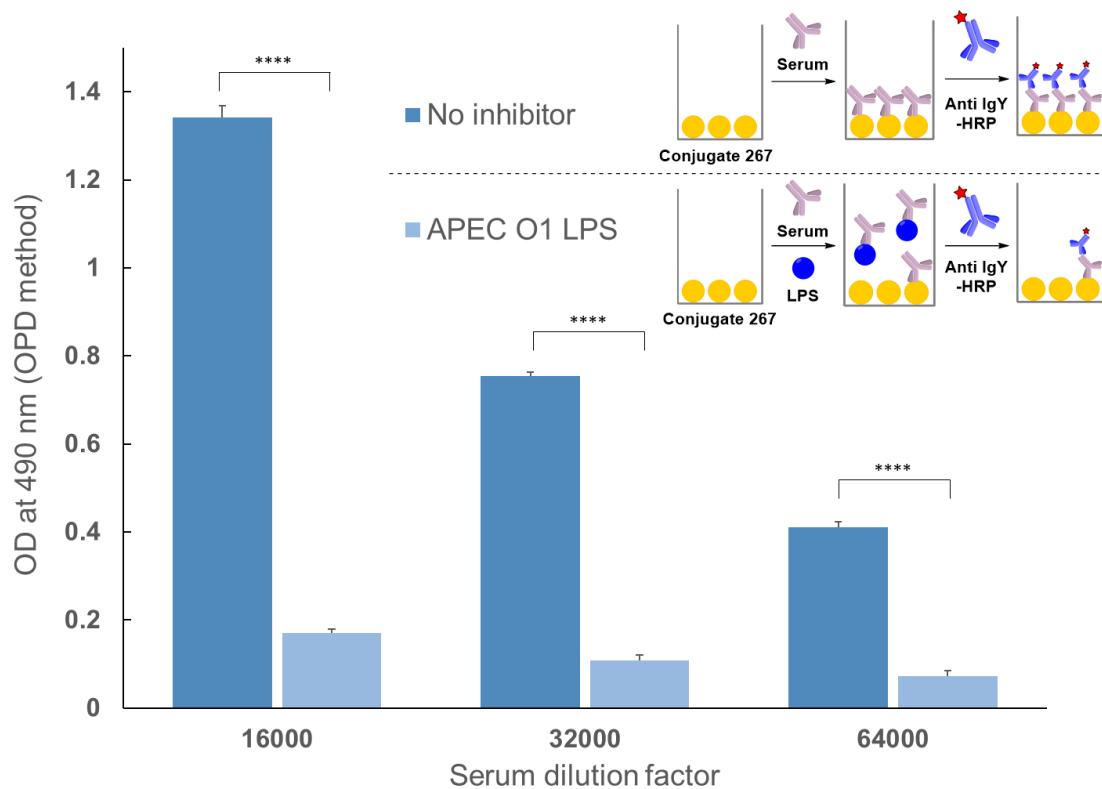
鎖にはほとんど結合しなかったことから、抗 APEC O1 抗体の抗原認識には、O1A 抗原繰り返し五糖鎖構造全体が重要であることを明らかにした。



Average values with standard error means are represented. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$.

Figure 2.3.18 ELISA 法による APEC O1 免疫ニワトリ血清を用いた各複合糖質の評価。

次に、O1A 抗原繰り返し五糖鎖が抗 APEC O1 LPS 抗体に結合しているかを明らかにするために、ELISA 法による APEC O1 LPS を用いた競合阻害試験を行った。ELISA 法のプロトコルは、**Figure 2.3.17** に従い、APEC O1 LPS は、バッファー(1% BSA-containing 10 mM PBS buffer)で 16000-64000 倍に希釈した APEC O1 免疫ニワトリ血清に 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度になるように事前に混合したものをを用いた。また、ネガティブコントロールである BSA の 490 nm における吸光度の結果を同条件の **267** の吸光度の結果から差し引くことで、OD₄₉₀ 値を算出した。その結果を **Figure 2.3.19** に示す。16000-64000 倍希釈のすべての血清において、APEC O1 LPS の添加により、OD₄₉₀ 値が顕著に低下したことから、複合糖質 **267** に結合する APEC O1 免疫ニワトリ血清中の抗体は、APEC O1 LPS にも競合的に結合することを明らかにした。以上の結果から、抗 APEC O1 LPS 抗体が、大腸菌 O1A 抗原繰り返し五糖鎖に結合することを明らかにし、大腸菌 O1A 抗原の繰り返し五糖鎖が APEC O1 ワクチンの抗原となり得る抗原候補糖鎖であることを見出した。



Average values with standard error means are represented. **** $p < 0.0001$.

Figure 2.3.19 抽出した APEC O1 LPS による APEC O1 免疫ニワトリ血清中の抗体と複合糖質 267 との結合阻害実験. ELISA 法のプロトコルは、**Figure 2.3.17** に従い、APEC O1 LPS は、バッファー(1% BSA-containing 10 mM PBS buffer)で 16000-64000 倍に希釈した APEC O1 免疫ニワトリ血清に 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度になるように事前に混合したものをを用いた。

3.8 結論

第 3 章では、病原性大腸菌 O1 糖鎖抗原繰返し五糖鎖誘導体 **266** の初の合成と APEC O1 抗原候補糖鎖の解明について述べた。まず、二糖鎖 **350** を、糖供与体 **352** と糖受容体 **353** との隣接基関与を利用した立体選択的グリコシル化反応、続くグルコース部位 2 位におけるアジドの求核置換反応を含む各種誘導化により合成した(**Figure 2.3.20**)。

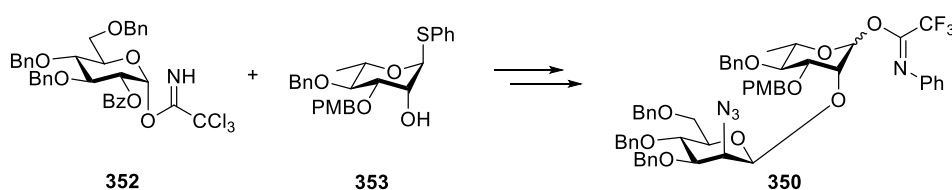


Figure 2.3.20 二糖鎖 **350** の合成

次に、第2章で開発した位置及びβ-立体選択的ラムノシル化反応を駆使することで、大腸菌 O1A 抗原繰返し五糖鎖 **266** の初の合成を達成した(**Figure 2.3.21**)。

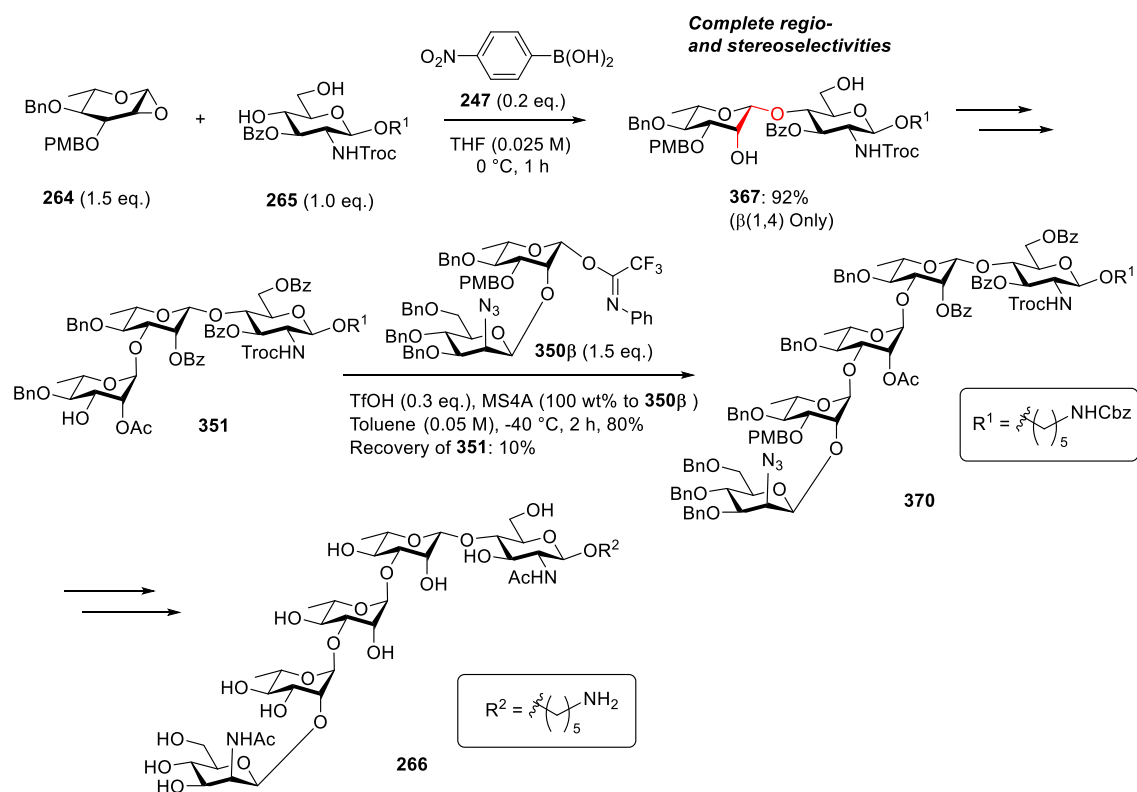


Figure 2.3.21 病原性大腸菌 O1 LPS O-抗原繰返し五糖鎖誘導体 **266** の合成

266 の合成中間体 **351** 及び **350β** から、それぞれ APEC O1 抗原候補糖鎖 **348** 及び **349** を合成した(**Figure 2.3.22**)。

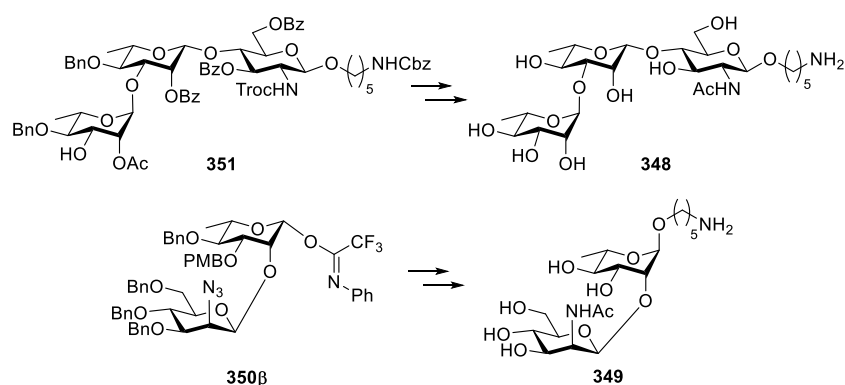


Figure 2.3.22 APEC O1 抗原候補糖鎖誘導体 **348** 及び **349** の合成

p-ニトロフェノール活性化法により、APEC O1 抗原候補糖鎖 **266**、**348**、及び **349** より、複合糖質 **267**、**379**、及び **381** を合成した(**Figure 2.3.23**)。

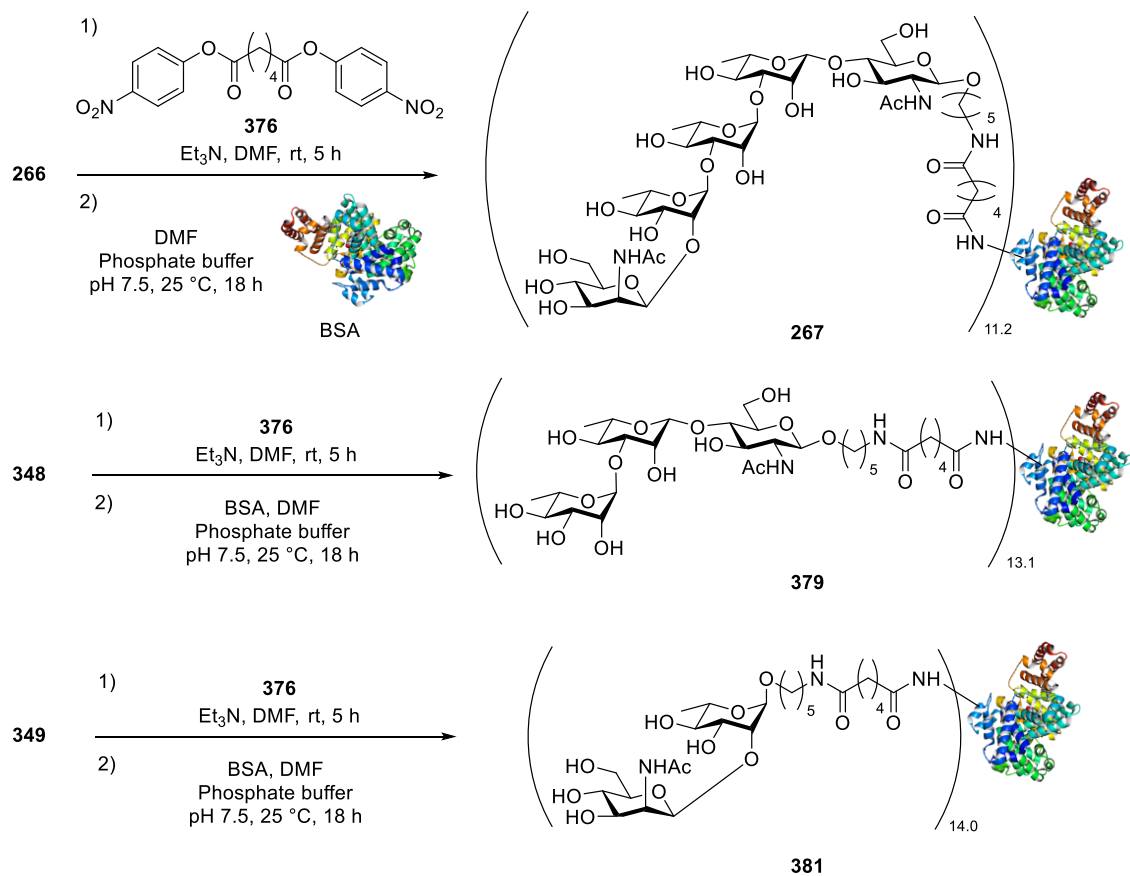


Figure 2.3.23 複合糖質 **267**、**379**、及び **381** の合成

最後に、APEC O1 株をニワトリに免疫することで調製した抗 APEC O1 血清と、合成した複合糖質を用いて、抗 APEC O1 抗体と複合糖質との結合を評価した。その結果、大腸菌 O1A 抗原繰り返し五糖鎖が APEC O1 ワクチンの抗原となり得る抗原候補糖鎖であることを見出した(**Figure 2.3.24**)。

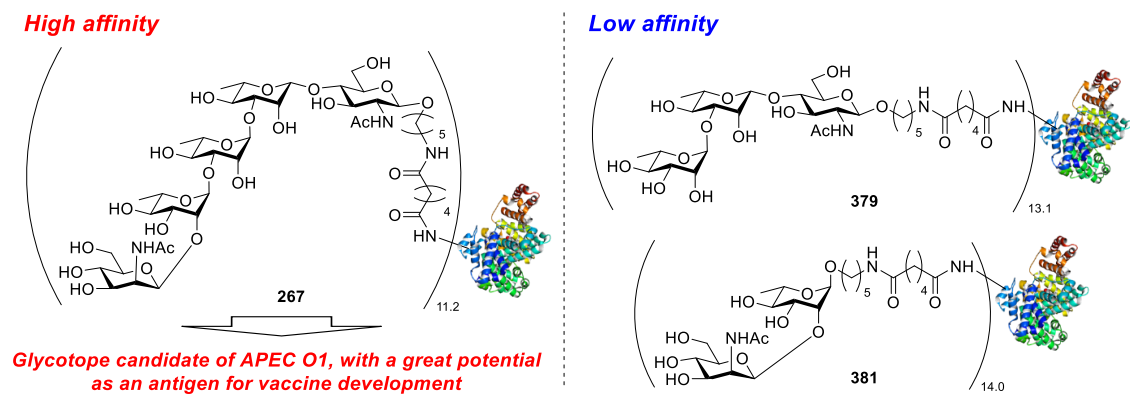


Figure 2.3.24 APEC O1 抗原糖鎖の解明研究

結論

本研究では、BMAD 法を駆使した位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的グリコシル化反応の開発と病原菌抗原糖鎖合成への応用を行った。まず、ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的マンノシル化反応の開発を行い、大腸菌 O75 LPS O-抗原繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の合成に応用した。続いて、ボリン酸触媒を用いた β -立体選択的ラムノシル化反応及びボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的ラムノシル化反応の開発を行い、肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の合成に応用した。最後に、開発した BMAD 法を駆使した病原性大腸菌 O1 糖鎖抗原繰り返し五糖鎖誘導体 **266** の初の合成を行い、**266** が APEC O1 ワクチンの抗原となり得る抗原候補糖鎖であることを見出した。

ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的マンノシル化反応の開発と応用

ボロン酸触媒を用いた BMAD 法による位置及び β -立体選択的マンノシル化反応の開発を目的とした研究を行った。多様な糖ジオールまたはポリオールに対して、触媒量の *p*-ニトロフェニルボロン酸(**247**)を用いて、1,2-アンヒドロマンノース **209** とのグリコシル化反応を検討した結果、対応する β -マンノシドが高収率かつ高い位置及び立体選択性で得られることを見出した(**Figure 2.4.1**)。さらに、本 BMAD 法を駆使した大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の効率的な合成法を確立した(**Figure 2.4.2**)。

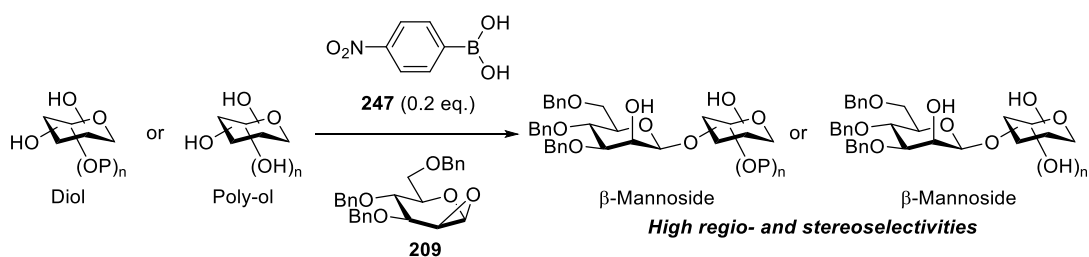


Figure 2.4.1 ボロン酸触媒を用いた位置及び β -立体選択的マンノシル化反応

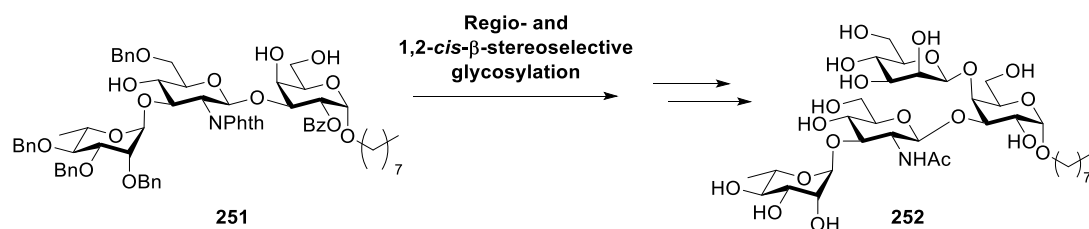


Figure 2.4.2 BMAD 法を用いた大腸菌 O75 LPS O-抗原の繰り返し四糖鎖誘導体 **252** の合成

有機ホウ素化合物を用いたβ-立体選択的ラムノシル化反応の開発と

応用

より構築が困難なβ-ラムノシド結合構築への応用を志向し、有機ホウ素化合物触媒を用いた BMAD 法によるβ-立体選択的ラムノシル化反応の開発を目的とした研究を行った。まず、有機ホウ素化合物としてボリン酸 **203** を選択し、多様なモノオールに対して、1,2-アンヒドロラムノース **253** とのグリコシル化反応を検討した結果、対応するβ-ラムノシドが高収率かつ完全な立体選択性で得られることを見出した(**Figure 2.4.3**)。さらに、速度論的同位体効果測定及び DFT 計算を利用した反応機構解析を行った結果、本反応が高分離性の協奏的 S_Ni 型の反応機構で進行することが示唆された。

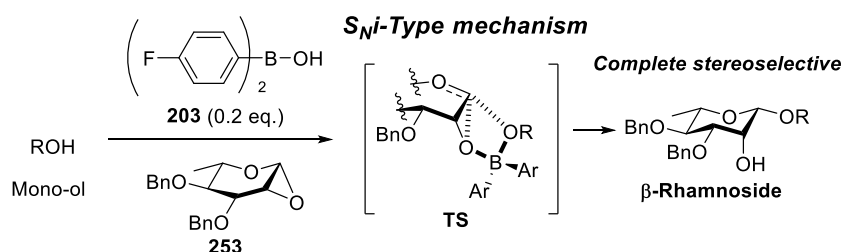


Figure 2.4.3 ボリン酸触媒を用いたβ-立体選択的ラムノシル化反応

次に、有機ホウ素化合物としてボロン酸 **247** を選択し、多様なジオールに対して、1,2-アンヒドロラムノース **253** とのグリコシル化反応を検討した結果、対応するβ-ラムノシドが高収率かつ高い位置及び立体選択性で得られることを見出した(**Figure 2.4.4**)。

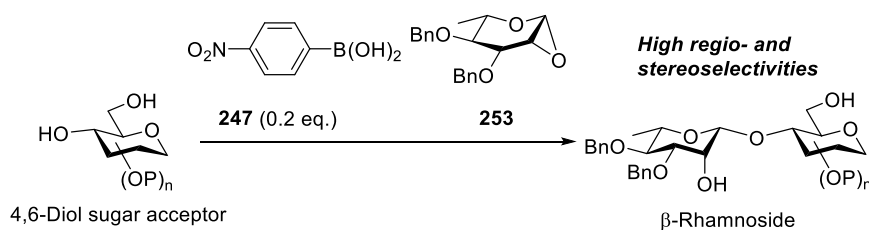


Figure 2.4.4 ボロン酸触媒を用いた位置及びβ-立体選択的ラムノシル化反応

さらに、本 BMAD 法を駆使した肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の合成を達成した(**Figure 2.4.5**)。

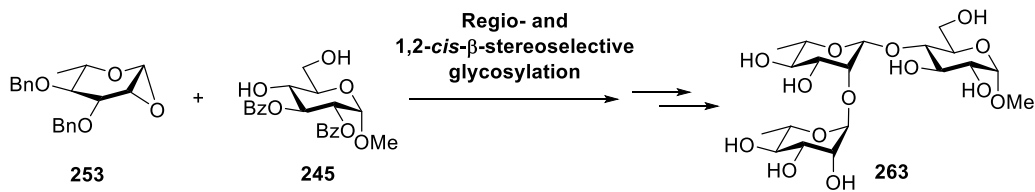


Figure 2.4.5 BMAD 法を用いた肺炎球菌 7B、7C、及び 7D の共通抗原三糖鎖誘導体 **263** の合成

病原性大腸菌 O1 由来五糖鎖の合成と鳥類病原性大腸菌 O1 の抗原候補糖鎖の解明

化学合成抗原糖鎖を用いたワクチン開発を志向し、BMAD 法を駆使した病原性大腸菌 O1 由来糖鎖誘導体 **266** の合成と鳥類病原性大腸菌 O1 の抗原候補糖鎖解明を目的とした研究を行った。まず、本研究で開発した BMAD 法による位置及び 1,2-*cis*- β -立体選択的ラムノシル化反応を適応することで、病原性大腸菌 O1 由来五糖鎖誘導体 **266** の初の合成を達成した(**Figure 2.4.6**)。

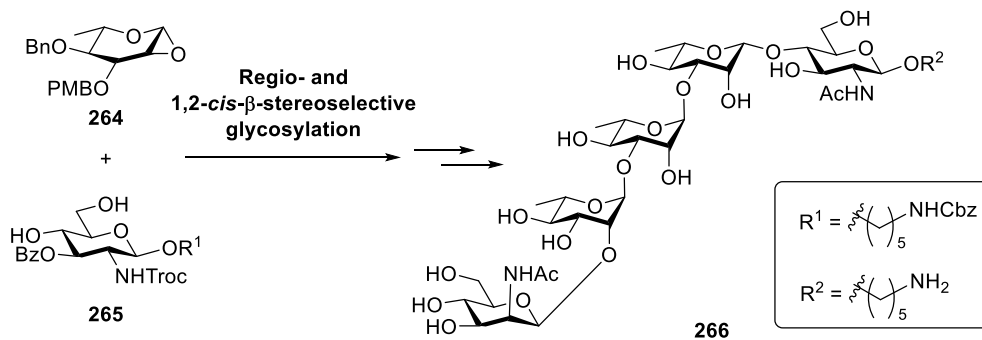


Figure 2.4.6 BMAD 法を用いた病原性大腸菌 O1 由来糖鎖誘導体 **266** の合成

さらに、APEC O1 株をニワトリに免疫することで調製した抗 APEC O1 血清と、合成した五糖鎖 **266** を複合化した複合糖質 **267** を用いて、抗 APEC O1 抗体と複合糖質との結合を評価した。その結果、病原性大腸菌 O1 由来五糖鎖 **266** が、APEC O1 に対するワクチン開発に有望な抗原候補糖鎖であることを明らかにした(**Figure 2.4.7**)。今後、五糖鎖 **266** を抗原に用いた APEC O1 のワクチン開発が期待される。

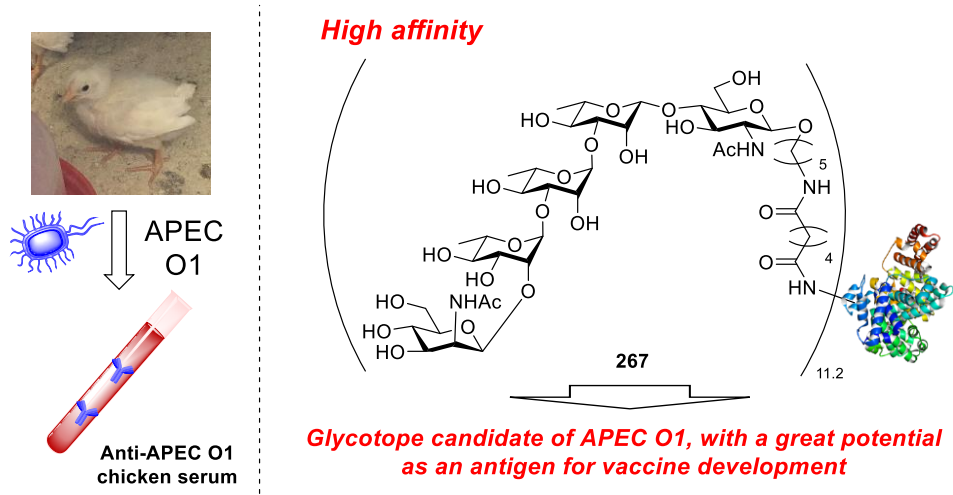


Figure 2.4.7 複合糖質 267 を用いた APEC O1 抗原候補糖鎖の解明

以上、本研究で得られた知見は、1,2-*cis*- β -グリコシド結合を有する病原菌抗原糖鎖をはじめとする生物活性分子の効率的合成及びワクチンをはじめとする医薬品開発に大きく貢献することが期待される。

実験の部

Table of Contents

General methods for chemical synthesis	p. 99
Experimental Procedure and Characterization Data for Chapter 1	p. 99
NMR Spectral Charts of Compounds in Chapter 1	p. 130
Experimental Procedure and Characterization Data for Chapter 2	p. 175
¹³ C KIE measurements	p. 188
DFT calculation data	p. 188
NMR Spectral Charts of Compounds in Chapter 2	p. 200
Experimental Procedure and Characterization Data for Chapter 3	p. 222
Materials and experimental methods for biochemical assays	p. 244
NMR Spectral Charts of Compounds in Chapter 3	p. 245

General methods for chemical synthesis

NMR spectra were recorded on a JEOL ECA-500 (500 MHz for ^1H , 125 MHz for ^{13}C) spectrometer, JEOL ECA-400 (400 MHz for ^1H , 100 MHz for ^{13}C) spectrometer, or a JEOL ECZ-400S (400 MHz for ^1H , 100 MHz for ^{13}C) spectrometer. ^1H -NMR data are reported as follows; chemical shift in parts per million (ppm) downfield or upfield from CDCl_3 (δ 7.26), CD_3OD (3.31), D_2O (δ 4.79) or tetramethyl silane (δ 0.00) integration, multiplicity (br = broad, s = singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, and m = multiplet), and coupling constants (Hz). ^{13}C -NMR chemical shifts are reported in ppm downfield or upfield from CDCl_3 (δ 77.0) or CD_3OD (δ 49.0). Using D_2O as an NMR solvent, ^{13}C -NMR chemical shifts are reported in ppm downfield or upfield from acetone (δ 29.8) as an external reference. ESI-TOF MS spectra and MALDI-TOF MS spectra were measured on a Waters LCT premier XE and MALDI-7090 (Shimadzu Co.), respectively. Melting points were determined on a micro hot-stage (Yanako MP-S3) and were uncorrected. Optical rotations were measured on a JASCO P-2200 polarimeter. Silica gel TLC was performed on a Merck TLC 60F-254 (0.25 mm) or a Merck PLC 60F-254 (0.5 mm). Column chromatography separation was performed on a Silica Gel 60N (spherical, neutral, 63-210 μm or 40-50 μm) (Kanto Chemical Co., Inc.). Reverse phase column chromatography separation was performed on a Wakosil 25C18 (Wako pure chemical industries, Ltd.) or Sep-Pak C18 reversed-phase cartridge (Waters). Size exclusion column chromatography separation was performed using a SephadexTM LH-20 (GE Healthcare). Air- and/or moisture-sensitive reactions were carried out under an argon atmosphere using oven-dried glassware. Autoclave was performed using TVS-1-50 (Taiatsu Techno. Co.). UV-Vis spectra were measured using SpectraMax i3 (Molecular Devices) micro plate reader.

Experimental Procedure and Characterization Data for Chapter 1

General procedure A for glycosylation of 209 and 245 using glycosyl acceptor-derived boronic ester catalysts 243, 272-274

To a solution of glucoside **245**¹⁰² (0.01-0.04 mmol, 1.0 equiv.) in dry toluene (0.3 M to glycosyl acceptor) was added boronic acid **188**, **270**, **271**, or **247** (2-8 μmol , 0.2 equiv.) at room temperature under Ar atmosphere. After stirring under reflux conditions for 3 h, the reaction mixture was concentrated in *vacuo*. The residue was diluted with dry solvent under Ar atmosphere, and then the resulting mixture was cooled to the temperature indicated. To the mixture was slowly added a solution of **209** (0.03-0.16 mmol, 3.0 equiv.) in dry solvent (50 mM final conc. of **209**). After the reaction mixture was stirred for the reaction time indicated, the reaction was quenched by addition of 50 mM NaBO_3 aq. (4.4-17.6 μmol , 2.2 equiv.). The resultant mixture was added

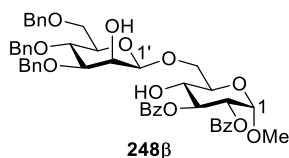
sat. NH₄Cl aq. (2 mL) and extracted with EtOAc (3 mL×3), and then the extracts were washed with brine (6 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC or column chromatography gave the corresponding glycosides.

General procedure B for glycosylation of **209** and glycosyl acceptors using boronic acid catalyst **247**

To a solution of 4-nitrophenylboronic acid (**247**) (2-8 μmol, 0.2 equiv.) and glycosyl acceptor (0.01-0.04 mmol, 1.0 equiv.) in dry MeCN was added a solution of **209** (0.03-0.12 mmol, 3.0 equiv.) in dry MeCN (10-50 mM final conc. of **209**) at 25 °C, 0 °C or -20 °C under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for reaction time indicated, the reaction was quenched by addition of 50 mM NaBO₃ aq. (4.4-17.6 μmol, 2.2 equiv.). The resultant mixture was added sat. NH₄Cl aq. (2 mL) and extracted with EtOAc (3 mL×3), and then the extracts were washed with brine (6 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC gave the corresponding glycosides.

Synthesis of 1,2-*cis*-β-glycosides **248-250**, **281-283**, **286-288**, **291**, and **293**

Compound **248β**

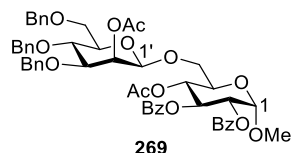


Compound **248β** was synthesized in 90% yield according to the general procedure A from glucoside **245**, **209** (0.05 M final conc.), and **247**.

Data for **248β**: White solid; *R_f* 0.60 (2/1 toluene/acetone); [α]²⁶_D +68.1° (*c* 1.0, CHCl₃); mp 65.0-67.0 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.99-7.96 (4H, m, Ar-H), 7.51-7.46 (2H, m, Ar-H), 7.37-7.24 (17H, m, Ar-H), 7.20-7.18 (2H, m, Ar-H), 5.75 (1H, dd, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, *J*_{3,4} = 11.5 Hz, H-3), 5.23 (1H, dd, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, H-2), 5.09 (1H, d, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, H-1), 4.86 and 4.52 (2H, ABq, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.75 and 4.65 (2H, ABq, *J* = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.59 and 4.35 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.54 (1H, br-s, H-1'), 4.24 (1H, dd, *J*_{5,6a} = 3.5 Hz, *J*_{6a,6b} = 11.0 Hz, H-6a), 4.15 (1H, d, *J*_{2',3'} = 3.0 Hz, H-2'), 4.02 (1H, m, H-5), 3.92 (1H, dd, *J*_{5,6b} = 5.5 Hz, *J*_{6a,6b} = 11.0 Hz, H-6b), 3.88-3.82 (2H, m, H-4, 4'), 3.75 (1H, dd, *J*_{5',6'a} = 2.0 Hz, *J*_{6'a,6'b} = 11.0 Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd, *J*_{5',6'b} = 6.0 Hz, *J*_{6'a,6'b} = 11.0 Hz, H-6'b), 3.57 (1H, dd, *J*_{2',3'} = 3.0 Hz, *J*_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 3.46 (1H, m, H-5'), 3.40 (3H, s, OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 167.2, 165.9, 138.1, 138.0, 133.3, 129.8×2, 129.3, 129.1, 128.3×2, 128.4, 128.0, 127.7, 127.6, 100.1 (¹*J*_{CH} =

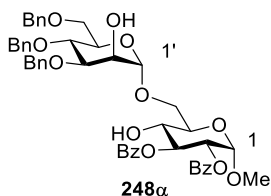
158 Hz), 96.9, 81.3, 75.2, 75.1, 74.1, 74.0, 73.4, 71.4, 70.6, 70.5, 69.1, 68.9, 68.0, 55.3; HRMS (ESI-TOF) m/z 835.3342 (835.3330 calcd for $C_{48}H_{51}O_{13}$ $[M+H]^+$).

Compound **269**



To a solution of **248 β** (6.6 mg, 7.90 μ mol) in pyridine (0.158 mL) were added Ac_2O (6.1 μ L, 0.0632 mmol) and DMAP (1.0 mg, 7.90 μ mol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (2/1 *n*-hexane/EtOAc) to give **269** (6.4 mg, 6.97 μ mol, 85% yield). Data for **269**: Colorless syrup; R_f 0.26 (10/1 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{26} +44.8^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.98-7.93 (4H, m, Ar-H), 7.53-7.48 (2H, m, Ar-H), 7.42-7.23 (17H, m, Ar-H), 7.18-7.14 (2H, m, Ar-H), 5.95 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 5.71 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 5.19-5.12 (3H, m, H-1, 2, 4), 4.87 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.76 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.65 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.58 (1H, br-s, H-1'), 4.53-4.48 (3H, m, ArCH₂), 4.11 (1H, m, H-5), 4.03 (1H, dd, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6a), 3.83-3.78 (3H, m, H-4', 6'a, 6'b), 3.69-3.66 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.61 (1H, dd, $J_{5,6b} = 7.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6b), 3.48 (1H, m, H-5'), 3.41 (3H, s, OCH_3), 2.20 (3H, s, $OC(O)CH_3$), 1.91 (3H, s, $OC(O)CH_3$); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 170.4, 169.9, 165.8, 165.7, 133.3, 138.2, 138.1, 137.5, 133.2, 129.9, 129.7, 129.2, 129.0, 128.4 \times 2, 128.3, 128.2, 127.9 \times 2, 127.7, 127.6, 99.5, 96.5, 80.2, 75.5, 75.2, 74.2, 73.5, 72.0, 71.5, 70.6, 69.1, 69.0, 68.9, 68.5, 67.8, 55.1, 21.1, 20.6; HRMS (ESI-TOF) m/z 957.3116 (957.3100 calcd for $C_{52}H_{54}O_{15}K$ $[M+K]^+$).

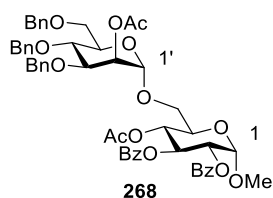
Compound **248 α**



Data for isomer **248 α** : Colorless syrup ; R_f 0.59 (2/1 toluene/acetone) $[\alpha]_D^{25} +114.4^\circ$ (c 0.99, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.03-7.96 (4H, m, Ar-H), 7.53-7.48 (2H, m, Ar-H), 7.39-7.19 (17H, m, Ar-H), 7.14-7.10 (2H, m, Ar-H), 5.75 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3),

5.23 (1H, dd, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2), 5.13 (1H, d, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.97 (1H, br-s, H-1'), 4.75 and 4.72 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.52 and 4.49 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, ArCH₂), 4.79 and 4.46 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.20-4.16 (2H, m, H-2', 6'a), 3.97-3.85 (4H, m, H-3', 4, 5, 5'), 3.82 (1H, dd, $J_{5',6'b} = 2.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 11.0$ Hz, H-6'b), 3.75 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.69 (1H, m, H-6a), 3.60 (1H, dd, $J_{5,6b} = 6.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.5$ Hz, H-6b), 3.40 (3H, s, OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 167.0, 166.0, 137.9, 137.8, 137.5, 133.3, 133.2, 129.9 \times 2, 129.5, 129.2, 128.6, 128.4 \times 2, 128.3 \times 2, 128.1, 128.0, 127.8, 127.7, 99.5 (¹J_{CH} = 168 Hz), 97.2, 80.2, 75.2, 74.4, 73.8, 73.3, 72.2, 71.5, 70.6, 68.7, 68.6, 68.4, 65.6, 55.4; HRMS (ESI-TOF) m/z 857.3135 (857.3149 calcd for C₄₈H₅₀O₁₃Na [M+Na]⁺).

Compound **268**

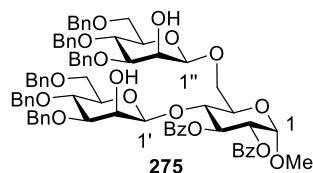


To a solution of **248 α** (20.8 mg, 24.9 μ mol) in pyridine (0.498 mL) were added Ac₂O (9.6 μ L, 0.0996 mmol) and DMAP (3.0 mg, 24.9 μ mol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 0.5 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (1/1 *n*-hexane/EtOAc) to give **268** (16.5 mg, 17.9 μ mol, 72% yield).

Data for **268**: Colorless syrup ; R_f 0.64 (1/1 *n*-hexane/EtOAc) [α]_D²⁵ +111.3° (*c* 0.81, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.98-7.93 (4H, m, Ar-H), 7.53-7.47 (2H, m, Ar-H), 7.40-7.25 (17H, m, Ar-H), 7.18-7.16 (2H, m, Ar-H), 5.93 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.39 (1H, dd, $J_{1',2'} = 2.0$ Hz, $J_{2',3'} = 3.5$ Hz, H-2'), 5.26 (1H, dd, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 5.17 (1H, dd, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 5.13 (1H, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.91 (1H, d, $J_{1',2'} = 2.0$ Hz, H-1'), 4.87 and 4.49 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, ArCH₂), 4.73 and 4.58 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.67 and 4.51 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, ArCH₂), 4.05 (1H, m, H-5), 3.99 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.90 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.84-3.76 (3H, m, H-5', 6'a, 6'b), 3.69 (1H, br-d, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6a), 3.58 (1H, dd, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6b), 3.35 (3H, s, OCH₃), 2.16 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.92 (3H, s, OC(O)CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.4, 169.5, 165.8 \times 2, 138.5, 138.2, 137.9, 133.3, 133.2, 129.9, 129.7, 129.2, 129.1, 128.3 \times 2, 128.1, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 97.7, 96.7, 77.7, 75.0, 74.1, 73.4, 71.9, 71.8,

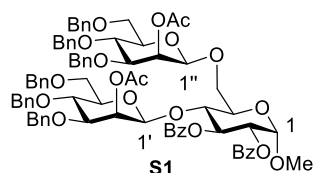
71.6, 70.7, 68.9, 68.8, 68.7, 68.0, 65.9, 55.4, 21.1, 20.6; HRMS (ESI-TOF) m/z 941.3353 (941.3360 calcd for $C_{52}H_{54}O_{15}Na [M+Na]^+$).

Compound **275**



Data for **275**: Colorless syrup; R_f 0.65 (2/1 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{26} +43.0^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.99-7.95 (4H, m, Ar-H), 7.52-7.43 (2H, m, Ar-H), 7.38-7.22 (30H, m, Ar-H), 7.19-7.16 (2H, m, Ar-H), 7.11-7.09 (2H, m, Ar-H), 5.90 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, $J_{3,4} = 8.5$ Hz, H-3), 5.25 (1H, dd, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2), 5.07 (1H, d, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, H-1), 4.85 and 4.49 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.80 and 4.35 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.74 and 4.59 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.60 and 4.51 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, ArCH₂), 4.48 (1H, br-s, H-1'), 4.47 (1H, br-s, H-1''), 4.25 and 4.18 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.18-4.05 (5H, m, H-2', 2'', 4, 6a, 6b), 3.83 (1H, dd, $J_{3'',4''} = 9.0$ Hz, $J_{4'',5''} = 9.0$ Hz, H-4''), 3.78-3.73 (2H, m, H-5, 6''a), 3.70 (1H, dd, $J_{5'',6''b} = 5.0$ Hz, $J_{6''a,6''b} = 11.0$ Hz, H-6''b), 3.54 (1H, dd, $J_{2'',3''} = 3.0$ Hz, $J_{3'',4''} = 9.0$ Hz, H-3''), 3.50-3.41 (3H, m, H-3', 4', 5'), 3.36 (3H, s, OCH₃), 3.31 (1H, dd, $J_{5',6'a} = 2.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.5$ Hz, H-6'a), 3.23 (1H, m, H-5'), 2.80 (1H, br-s, OH), 2.73 (1H, dd, $J_{5',6'b} = 6.5$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.5$ Hz, H-6'b), 2.52 (1H, br-s, OH); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 167.0, 165.9, 138.4, 138.2, 138.1, 138.0, 137.7, 133.3, 132.9, 130.3, 129.9, 129.8, 129.2, 128.5, 128.4 \times 2, 128.3, 128.2, 128.0, 127.9 \times 2, 127.8, 127.7 \times 2, 127.6, 127.5, 100.2 ($^1J_{CH} = 160$ Hz), 98.3 ($^1J_{CH} = 159$ Hz), 96.7, 81.6, 81.3, 75.5, 75.4, 75.1 \times 2, 74.8, 74.3, 74.1, 73.4, 73.0, 71.4 \times 2, 71.2, 71.0, 69.3, 69.1, 68.3, 68.1, 67.9, 55.3; HRMS (ESI-TOF) m/z 1284.5527 (1284.5532 calcd for $C_{75}H_{82}NO_{18} [M+NH_4]^+$).

Compound **S1**

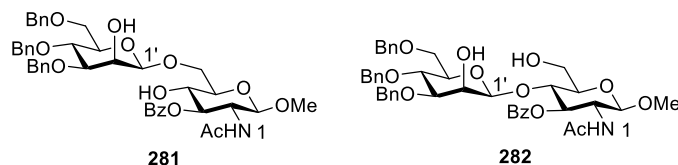


To a solution of **275** (4.9 mg, 3.87 μ mol) in pyridine (0.077 mL) were added Ac₂O (3.0 μ L, 0.0310 mmol) and DMAP (0.5 mg, 3.87 μ mol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2

mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (2/1 *n*-hexane/EtOAc) to give **S1** (4.9 mg, 3.64 μmol, 94% yield).

Data for **S1**: Colorless syrup; R_f 0.60 (8/1 toluene/acetone); [α]²⁷_D +23.1° (*c* 0.48, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00-7.94 (4H, m, Ar-H), 7.51-7.42 (2H, m, Ar-H), 7.38-7.15 (30H, m, Ar-H), 7.13-7.02 (4H, m, Ar-H), 6.03 (1H, dd, *J*_{2,3} = 9.6 Hz, *J*_{3,4} = 9.6 Hz, H-3), 5.82 (1H, d, *J*_{2',3'} = 2.0 Hz, H-2'), 5.71 (1H, br-s, H-2'), 5.11 (1H, d, *J*_{1,2} = 3.6 Hz, H-1), 5.03 (1H, m, H-2), 4.85 and 4.52 (2H, ABq, *J* = 11.2 Hz, ArCH₂), 4.76 and 4.48 (2H, ABq, *J* = 10.8 Hz, ArCH₂), 4.72 (1H, br-s, H-1''), 4.68 and 4.38 (2H, ABq, *J* = 10.8 Hz, ArCH₂), 4.67 (1H, br-s, H-1'), 4.61 (2H, s, ArCH₂), 4.57 and 4.37 (2H, ABq, *J* = 11.2 Hz, ArCH₂), 4.53 and 4.25 (2H, ABq, *J* = 12.4 Hz, ArCH₂), 4.13 (1H, br-d, *J*_{6a,6b} = 10.0 Hz, H-6a), 4.06 (1H, dd, *J*_{3,4} = 10.0 Hz, *J*_{4,5} = 10.0 Hz, H-4), 3.98 (1H, m, H-5), 3.88-3.71 (7H, m, H-3', 3'', 4'', 6b, 6'a, 6''a, 6''b), 3.59 (1H, m, H-5''), 3.36 (3H, s, OCH₃), 3.24 (1H, dd, *J*_{5',6'b} = 3.2 Hz, *J*_{6'a,6'b} = 11.2 Hz, H-6'b), 2.92-2.89 (2H, m, H-4', H-5'), 2.27 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.14 (3H, s, OC(O)CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.2, 171.1, 166.0, 164.9, 138.5, 138.4, 138.3, 138.1, 137.6, 137.4, 133.2, 133.0, 129.9, 129.6, 129.1, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9×2, 127.8, 127.7×2, 127.6×2, 127.5, 127.3, 100.4, 98.5, 96.8, 80.5, 76.1, 75.7, 75.6, 75.1, 75.0, 74.5, 73.6, 73.5, 73.3, 72.4, 71.8, 71.7, 71.4, 69.5, 68.6, 68.4, 68.1, 67.9, 67.7, 55.2, 21.3, 21.1; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 695.2557 (695.2552 calcd for C₇₅H₈₂O₁₈K [M+H+K]²⁺).

Compound **281** and **282**



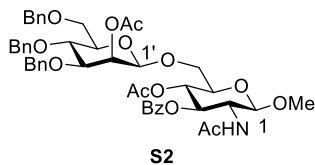
Compound **281** was synthesized in 78% yield according to the general procedure B from glucosaminide **277**¹⁰³ and **209** (0.05 M final conc.), and along with **282** in 4% yield.

Data for **281**: Colorless syrup; R_f 0.64 (1/2 toluene/acetone); [α]²⁷_D -17.3° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.01 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 7.55 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.41 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.36-7.22 (13H, m, Ar-H), 7.17-7.16 (2H, m, Ar-H), 5.64 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, NH), 5.28 (1H, dd, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, *J*_{3,4} = 10.5 Hz, H-3), 4.83 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.72 and 4.64 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.57-4.45 (5H, m, H-1, 1', ArCH₂), 4.22 (1H, dd, *J*_{5,6a} = 2.0 Hz, *J*_{6a,6b} = 11.5 Hz, H-6a), 4.10-4.17 (2H, m, H-2, 2'), 3.93 (1H, dd, *J*_{5,6b} = 5.5 Hz, *J*_{6a,6b} = 11.5 Hz, H-6b), 3.81 (1H, dd, *J*_{3',4'} = 9.0 Hz, *J*_{4',5'} = 9.0 Hz, H-4'), 3.78-3.64 (4H, m, H-4, 5, 6'a, 6'b), 3.54 (1H, dd, *J*_{2',3'} = 3.0 Hz, *J*_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 3.50-3.42 (5H, m, H-5', OH, OCH₃), 1.85 (3H, s, NHC(O)CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.3, 167.6, 138.1, 138.0, 137.7, 133.5, 129.9, 129.2, 128.5×2, 128.4, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 101.9, 100.2 (¹*J*_{CH} = 159

Hz), 81.2, 76.4, 75.1, 75.0, 74.7, 74.1, 73.4, 71.5, 71.2, 69.8, 69.0, 68.0, 56.6, 53.8, 23.3; HRMS (ESI-TOF) m/z 772.3337 (772.3333 calcd for $C_{43}H_{50}NO_{12}$ $[M+H]^+$).

Data for **282**: Colorless syrup; R_f 0.51 (1/2 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{26}$ -6.85° (c 0.44, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.02 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.52 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 7.22-7.39 (15H, m, Ar-H), 7.12-7.08 (2H, m, Ar-H), 5.67 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, NH), 5.46 (1H, dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 10.5$ Hz, H-3), 4.77 and 4.39 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.70 and 4.60 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.55 (1H, br-s, H-1'), 4.50 (1H, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1), 4.30 and 4.24 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.21-4.12 (2H, m, H-2, 4), 4.02 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 3.92 (1H, dd, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a), 3.78 (1H, dd, $J_{5,6b} = 4.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6b), 3.65 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.60 (1H, m, H-5), 3.51 (3H, s, OCH₃), 3.46 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.24-3.18 (2H, m, H-5', 6'a), 3.10 (1H, dd, $J_{5',6'b} = 5.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.5$ Hz, H-6'b), 1.86 (3H, s, NHC(O)CH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 170.3, 167.1, 138.1, 137.8, 133.3, 129.9, 129.7, 128.5, 128.4, 128.3 \times 2, 127.9, 127.8, 127.8, 127.7, 127.5, 102.1, 99.5 ($^1J_{CH} = 160$ Hz), 81.5, 75.2, 75.1, 75.0, 74.8, 74.0, 73.9, 73.0, 71.4, 68.7, 68.2, 61.7, 56.8, 53.8, 23.3; HRMS (ESI-TOF) m/z 772.3364 (772.3333 calcd for $C_{43}H_{50}NO_{12}$ $[M+H]^+$).

Compound **S2**

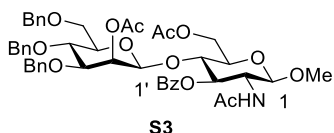


To a solution of **281** (6.3 mg, 8.16 μ mol) in pyridine (0.163 mL) were added Ac₂O (6.2 μ L, 0.0656 mmol) and DMAP (1.0 mg, 8.16 μ mol) at 0 $^\circ$ C. After the reaction mixture was stirred for 4 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to preparative TLC (2/1 *n*-hexane/acetone) to give **S2** (7.0 mg, 8.18 μ mol, quant.).

Data for **S2**: Colorless syrup; R_f 0.84 (1/2 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{27}$ -33.5° (c 0.62, $CHCl_3$); 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.97 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.57 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, Ar-H), 7.43 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 7.35-7.26 (13H, m, Ar-H), 7.16-7.14 (2H, m, Ar-H), 5.65 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 5.49 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, NH), 5.41 (1H, dd, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 5.06 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 4.85 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, ArCH₂), 4.74 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.66 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.59 (1H, br-s, H-1'), 4.55-4.47 (4H, m, H-1, ArCH₂), 4.05 (1H, m, H-2), 3.96 (1H, dd, $J_{5',6'a} = 2.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 11.5$ Hz, H-6'a), 3.81-3.74 (4H, m, H-4', 5, 6a, 6'b), 3.68-3.62 (2H, m, H-3', 6b), 3.50 (3H, s, OCH₃), 3.46 (1H, m, H-5'),

2.20 (3H, s, NHC(O)CH₃), 1.88 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.86 (3H, s, OC(O)CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 170.2, 169.7, 166.7, 138.2, 137.5, 133.6, 129.9, 128.8, 128.6, 128.4, 128.3, 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 101.8, 99.7, 80.3, 75.4, 75.2, 74.2, 73.6, 73.5, 73.1, 71.5, 69.2×2, 69.0, 67.9, 56.8, 54.6, 23.4, 21.2, 20.6; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 856.3529 (856.3544 calcd for C₄₇H₅₄NO₁₄ [M+H]⁺).

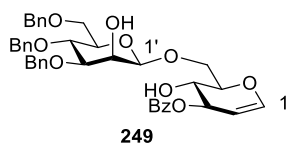
Compound **S3**



To a solution of **282** (7.4 mg, 9.59 μmol) in pyridine (0.192 mL) were added Ac₂O (7.2 μL, 0.0767 mmol) and DMAP (1.2 mg, 9.59 μmol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 7 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of sat. NaHCO₃ aq. (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL×3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to preparative TLC (2/1 toluene/acetone) to give **S3** (6.8 mg, 7.94 μmol, 83% yield).

Data for **S3**: Colorless syrup; *R_f* 0.38 (2/1 toluene/acetone); [α]_D²⁷ -40.2° (*c* 0.62, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.04 (2H, m, Ar-H), 7.52 (1H, m, Ar-H), 7.38-7.26 (15H, m, Ar-H), 7.14-7.11 (2H, m, Ar-H), 5.61 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, -NH), 5.53 (1H, d, *J*_{2',3'} = 2.5 Hz, H-2'), 5.39 (1H, dd, *J* = 9.0 Hz, *J* = 10.0 Hz, H-3), 4.78 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.68 (1H, d, *J* = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.55 (1H, br-s, H-1'), 4.52 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.45-4.34 (5H, m, H-1, 6a, 6b, ArCH₂), 4.18-4.09 (2H, m, H-2, 4), 3.73 (1H, m, H-5), 3.65 (1H, dd, *J*_{3',4'} = 9.5 Hz, *J*_{4',5'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.57 (1H, dd, *J*_{2',3'} = 3.5 Hz, *J*_{3',4'} = 9.5 Hz, H-3'), 3.48 (3H, s, OCH₃), 3.44 (1H, dd, *J*_{5',6'a} = 4.5 Hz, *J*_{6'a,6'b} = 10.5 Hz, H-6'a), 3.33 (1H, br-d, *J*_{6'a,6'b} = 10.5 Hz, H-6'b), 3.19 (1H, m, H-5'), 2.09 (3H, s, NHC(O)CH₃), 1.98 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.85 (3H, s, OC(O)CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.7, 170.2, 166.6, 138.3, 138.1, 137.4, 133.4, 130.0, 129.4, 128.4×2, 128.4, 128.3, 128.1, 127.9×2, 127.7, 127.6, 102.0, 98.1, 80.1, 75.5, 75.1, 74.1, 73.9, 73.3, 73.0, 72.7, 71.5, 68.5, 67.8, 62.6, 56.7, 53.8, 23.3, 20.9, 20.7; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 878.3386 (878.3364 calcd for C₄₇H₅₃NO₁₄Na [M+Na]⁺).

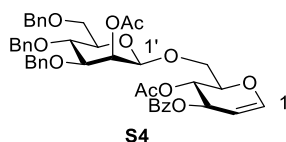
Compound **249**



Compound **249** was synthesized in 91% yield according to the general procedure B from glucal **278**¹⁰⁴ and **209** (0.05 M final conc.).

Data for **249**: White solid; R_f 0.60 (2/1 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{26} -43.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); mp 39.0-41.0 °C; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.58 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.47 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.37-7.24 (13H, m, Ar-H), 7.20-7.19 (2H, m, Ar-H), 6.50 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, $J_{1,3} = 2.0$ Hz, H-1), 5.71 (1H, m, H-3), 4.87 and 4.53 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.83 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, $J_{2,3} = 2.0$ Hz, H-2), 4.75 and 4.66 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.60 and 4.55 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.54 (1H, br-s, H-1'), 4.32 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6a), 4.18 (1H, d, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 4.11 (1H, m, H-5), 4.05 (1H, dd, $J_{3,4} = 6.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.96 (1H, dd, $J_{5,6b} = 5.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6b), 3.45 (1H, m, H-5'), 3.86 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.76 (1H, dd, $J_{5',6'a} = 2.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.5$ Hz, H-6'a), 3.58 (1H, dd, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.69 (1H, dd, $J_{5',6'b} = 5.5$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.5$ Hz, H-6'b); $^{13}\text{C NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 167.9, 146.4, 138.1, 137.7, 138.0, 133.4, 129.8, 129.6, 128.5, 128.4, 128.4, 128.1, 127.9 \times 2, 127.7, 127.6, 100.1 ($^1J_{\text{CH}} = 157$ Hz), 99.0, 81.4, 77.5, 75.3, 75.1, 74.1, 74.0, 73.5, 71.4, 69.1, 68.2, 68.0; HRMS (ESI-TOF) m/z 700.3143 (700.3122 calcd for $\text{C}_{40}\text{H}_{46}\text{NO}_{10}$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$).

Compound **S4**

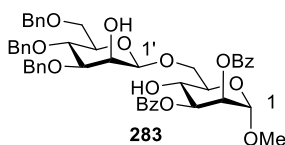


To a solution of **249** (13.1 mg, 19.2 μmol) in pyridine (0.384 mL) were added Ac_2O (14.4 μL , 0.154 mmol) and DMAP (2.34 mg, 19.2 μmol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to preparative TLC (2/1 *n*-hexane/acetone) to give **S4** (10.1 mg, 13.2 μmol , 69% yield).

Data for **S4**: Colorless syrup; R_f 0.45 (2/1 *n*-hexane/acetone); $[\alpha]_D^{27} -88.5^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.01 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, Ar-H), 7.52 (1H, m, Ar-H), 7.41 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.34-7.22 (13H, m, Ar-H), 7.20-7.19 (2H, m, Ar-H), 6.49 (1H, d, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, H-1), 5.70 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 5.46 (1H, m, H-3), 5.33 (1H, dd, $J = 6.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, H-4), 5.00 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.5$ Hz, $J_{2,3} = 4.0$ Hz, H-2), 4.88 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.77 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, ArCH₂), 4.62 (1H, d, $J = 13.5$ Hz, ArCH₂), 4.61 (1H, br-s, H-1'), 4.52-4.48 (3H, m, ArCH₂), 4.38 (1H, m, H-5), 4.11 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz, H-6a), 3.87 (1H, dd, $J_{5,6b} = 7.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz, H-6b), 3.80 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.77-3.73

(2H, m, H-6'a, 6'b), 3.67 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.46 (1H, m, H-5'), 2.14 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.06 (3H, s, OC(O)CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 169.6, 165.8, 145.7, 138.2, 138.1, 137.5, 133.2, 129.8, 129.6, 128.4 \times 2, 128.3 \times 2, 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 99.3, 98.4, 80.3, 75.6, 75.1 \times 2, 74.1, 73.5, 71.5, 69.0, 67.7, 67.6, 67.4, 67.2, 21.1, 20.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 789.2896 (789.2887 calcd for C₄₄H₄₆O₁₂ Na[M+Na]⁺).

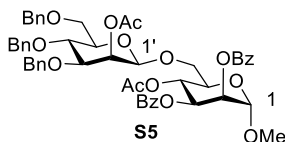
Compound **283**



Compound **283** was synthesized in 81% yield according to the general procedure B from mannoside **279**¹⁰⁵ and **209** (0.05 M final conc.).

Data for **283**: Colorless syrup; R_f 0.55 (1/1 *n*-hexane/acetone); $[\alpha]_D^{26} -38.8^\circ$ (*c* 0.73, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, Ar-H), 7.89 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, Ar-H), 7.57 (1H, m, Ar-H), 7.52-7.43 (3H, m, Ar-H), 7.36-7.24 (15H, m, Ar-H), 7.19-7.18 (2H, m, Ar-H), 5.56-5.53 (2H, m, H-2, 3), 4.87-4.85 (2H, m, H-1, ArCH₂), 4.74 and 4.65 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.60-4.50 (4H, m, H-1', ArCH₂), 4.31 (1H, dd, $J_{5,6a} = 2.8$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.8$ Hz, H-6a), 4.19-4.13 (2H, m, H-2', 4), 4.00 (1H, m, H-5), 3.93 (1H, dd, $J_{5,6b} = 5.6$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.8$ Hz, H-6b), 3.68 (1H, dd, $J_{5',6'a} = 5.6$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.8$ Hz, H-6'a), 3.84 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, $J_{4',5'} = 9.2$ Hz, H-4'), 3.75 (1H, dd, $J_{5',6'b} = 2.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.8$ Hz, H-6'b), 3.55 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.2$ Hz, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, H-3'), 3.48-3.43 (4H, m, H-5', OCH₃), 2.97 (1H, d, $J = 4.4$ Hz, OH), 2.46 (1H, br-s, OH); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.8, 165.4, 138.1 \times 2, 137.8, 133.4, 133.3, 129.9, 129.8, 129.5, 129.4, 128.6, 128.5, 128.4 \times 2, 128.3, 128.1, 127.9 \times 2, 127.8 \times 2, 127.6, 100.1 (¹ $J_{CH} = 157$ Hz), 98.5, 81.4, 75.3, 75.1, 74.2, 73.5, 72.9, 71.6, 71.5, 70.5, 69.3, 69.2, 68.2, 67.8, 55.2; HRMS (ESI-TOF) m/z 835.3326 (835.3330 calcd for C₄₈H₅₁O₁₃ [M+H]⁺).

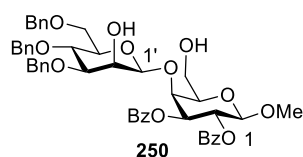
Compound **S5**



To a solution of **283** (15.4 mg, 18.4 μ mol) in pyridine (0.368 mL) were added Ac₂O (13.9 μ L, 0.147 mmol) and DMAP (2.3 mg, 18.8 μ mol) at 0 $^\circ$ C. After the reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2

mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (11/1 toluene/acetone) to give **S5** (15.4 mg, 16.7 μmol, 91% yield). Data for **S5**: Colorless syrup; R_f 0.72 (4/1 toluene/acetone); [α]_D²⁷ -76.3° (*c* 0.65, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.04 (2H, d, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.93 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, Ar-H), 7.60 (1H, t, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.51-7.46 (3H, m, Ar-H), 7.35-7.26 (15H, m, Ar-H), 7.16-7.14 (2H, m, Ar-H), 5.71 (1H, br-d, *J*_{2',3'} = 3.0 Hz, H-2'), 5.66 (1H, dd, *J*_{2,3} = 3.5 Hz, *J*_{3,4} = 10.5 Hz, H-3), 5.59 (1H, dd, *J*_{1,2} = 2.0 Hz, *J*_{2,3} = 3.5 Hz, H-2), 5.44 (1H, dd, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, *J*_{3,4} = 10.5 Hz, H-4), 4.89 (1H, d, *J*_{1,2} = 2.0 Hz, H-1), 4.86 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.75 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.64 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.59 (1H, br-s, H-1'), 4.53-4.47 (3H, m, ArCH₂), 4.13-4.07 (2H, m, H-4', 5), 3.80-3.74 (3H, m, H-6a, 6'a, 6'b), 3.70-3.65 (2H, m, H-3', 6b), 3.49-3.45 (4H, m, H-5', OCH₃), 2.16 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.92 (3H, s, OC(O)CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.3, 170.1, 165.5, 165.3, 138.1, 137.5, 133.4, 133.2, 129.9, 129.7, 129.3, 129.2, 128.6, 128.4, 128.4, 128.3, 128.2, 127.9, 127.7, 127.6, 99.6, 98.2, 80.2, 75.5, 75.2, 74.2, 73.5, 71.5, 70.4, 70.0, 69.5, 69.2, 69.1, 67.8, 66.8, 55.1, 21.0, 20.7; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 936.3810 (936.3806 calcd for C₅₂H₅₈NO₁₅ [M+NH₄]⁺).

Compound **250**

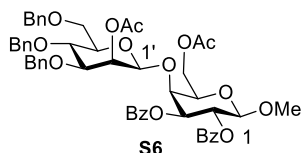


Compound **250** was synthesized in 86% yield according to the general procedure B from galactoside **280**¹⁰⁶ and **209** (0.05 M final conc.).

Data for **250**: White solid; R_f 0.59 (2/1 toluene/acetone); [α]_D²⁶ +26.5° (*c* 1.0, CHCl₃); mp 153.0-155.0 °C; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.98 (2H, d, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.87 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, Ar-H), 7.50 (2H, m, Ar-H), 7.40-7.24 (17H, m, Ar-H), 7.09-7.05 (2H, m, Ar-H), 5.69 (1H, dd, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, H-2), 5.41 (1H, dd, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-3), 4.80 (1H, d, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.72 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.60 (1H, d, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1), 4.55 (1H, d, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 3.24 (1H, dd, *J*_{2',3'} = 3.0 Hz, *J*_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 4.50 (1H, br-d, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-4), 4.45-4.39 (3H, m, ArCH₂), 4.29 (1H, br-s, H-1'), 4.27 (1H, br-d, *J*_{2',3'} = 3.0 Hz, H-2'), 4.03 (1H, dd, *J*_{5,6a} = 10.5 Hz, *J*_{6a,6b} = 10.5 Hz, H-6a), 3.77 (1H, m, H-6b), 3.72 (1H, dd, *J*_{5,6a} = 10.5 Hz, *J*_{5,6b} = 5.0 Hz, H-5), 3.61-3.59 (2H, m, H-4', 6'a), 3.53 (3H, s, OCH₃), 3.44 (1H, dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 10.0 Hz, H-6'b), 3.29 (1H, m, H-5'); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 165.5, 165.4, 137.7, 137.5, 137.3, 133.7, 133.2, 129.8, 129.6, 129.5, 128.8, 128.6, 128.5, 128.4×2, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9×2, 102.3, 100.8 (¹*J*_{CH} = 157 Hz), 80.9, 75.2, 74.2, 74.1, 73.8, 73.5, 73.3, 70.8, 70.0,

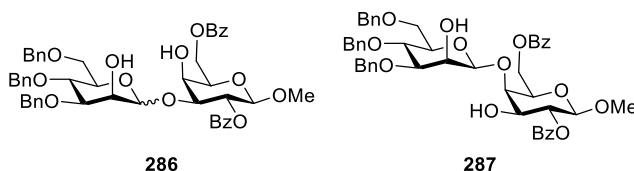
69.1, 67.6, 59.0, 57.2; HRMS (ESI-TOF) m/z 857.3147 (857.3149 calcd for $C_{48}H_{50}O_{13}Na$ $[M+Na]^+$).

Compound **S6**



To a solution of **280** (17.5 mg, 21.0 μ mol) in pyridine (0.420 mL) were added Ac_2O (15.7 μ L, 0.166 mmol) and DMAP (2.6 mg, 21.3 μ mol) at 0 $^{\circ}C$. After the reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (11/1 toluene/acetone) to give **250** (17.9 mg, 19.5 μ mol, 93% yield). Data for **250**: White solid; R_f 0.42 (10/1 toluene/acetone); $[\alpha]^{26}_D +30.2^{\circ}$ (c 0.92, $CHCl_3$); mp 53.0-55.0 $^{\circ}C$; 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.01-7.97 (4H, m, Ar-H), 7.50 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.24-7.38 (17H, m, Ar-H), 7.13-7.11 (2H, m, Ar-H), 5.72-5.69 (2H, m, H-2, 2'), 5.41 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-3), 4.64 and 4.51 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.67 and 4.26 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.60 (1H, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1), 4.52 (1H, br-s, H-1'), 4.43 (1H, br-d, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4), 4.38-4.36 (2H, m, H-6a, 6b), 3.91 (1H, dd, $J = 5.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, H-5), 3.75-3.69 (2H, m, H-4', 6'b), 3.62 (1H, br-d, $J = 11.0$ Hz, H-6'a), 3.52 (3H, s, OCH₃), 3.32 (1H, dd, $J_{2,3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.12 (1H, dd, $J = 4.5$ Hz, $J = 10.0$ Hz, H-5'), 2.23 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.05 (3H, s, OC(O)CH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 170.6, 170.2, 165.7, 165.1, 138.5, 138.1, 137.5, 133.8, 133.0, 129.8, 129.7, 129.6, 128.8, 128.6, 128.4, 128.3 \times 2, 128.2, 128.0, 127.9, 127.7, 127.5 \times 2, 101.7, 99.0, 80.2, 75.7, 75.2, 74.0, 73.9, 73.5, 73.1, 72.2, 71.2, 69.2, 69.0, 67.5, 63.6, 56.2, 21.0, 20.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 941.3359 (941.3360 calcd for $C_{52}H_{54}O_{15}Na$ $[M+Na]^+$).

Compound **286** and **287**

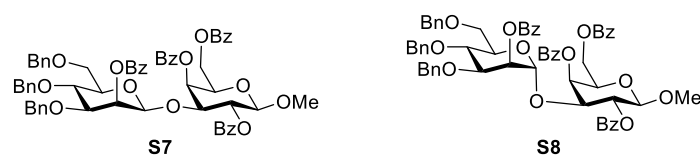


Compound **286** and **287** were synthesized in 71% yield ($\beta/\alpha = 92/8$) (The β/α ratio was determined by 1H NMR analysis.) and 21% yield, respectively, according to the general procedure B from galactoside **284**¹⁰⁷ and **209** (10 mM final conc.).

Data for **286** (β anomer is only shown): Colorless syrup; R_f 0.45 (2/1 toluene/acetone); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.06-8.01 (4H, m, Ar-H), 7.62-7.54 (2H, m, Ar-H), 7.48-7.40 (4H, m, Ar-H), 7.34-7.22 (13H, m, Ar-H), 7.18-7.14 (2H, m, Ar-H), 5.54 (1H, dd, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 4.81 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.68-4.59 (2H, m, H-6a, 6b), 4.56-4.45 (6H, m, 1, 1', ArCH₂), 4.39 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.26 (1H, br-s, H-4), 3.95 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-3), 3.92-3.87 (2H, m, H-2', 5), 3.76 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.70-3.62 (2H, m, H-6'a, 6'b), 3.46 (3H, s, OCH₃), 3.41 (1H, m, H-5'), 3.32 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 166.4, 165.3, 138.0, 137.9, 137.5, 133.2, 133.1, 130.0, 129.9, 129.7, 128.5, 128.4 \times 2, 128.1, 127.8 \times 2, 127.7, 101.8, 100.8, 80.8, 80.4, 75.2, 75.1, 73.8, 73.4, 72.3, 71.5, 71.1, 69.2, 68.6, 67.7, 63.7, 56.4.

Data for **287**: Colorless syrup; R_f 0.63 (2/1 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{26} -23.4^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.08-8.04 (4H, m, Ar-H), 7.62-7.54 (2H, m, Ar-H), 7.49-7.38 (6H, m, Ar-H), 7.35-7.18 (13H, m, Ar-H), 5.23 (1H, dd, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 4.87 and 4.55 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.82 (1H, br-s, H-1'), 4.81 and 4.66 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.78 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a), 4.59 (1H, dd, $J_{5,6b} = 7.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6b), 4.55 and 4.47 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.51 (1H, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1), 4.31 (1H, m, H-2'), 4.29 (1H, br-d, $J = 3.0$ Hz, H-4), 3.92-3.86 (3H, m, H-3, 4', 5), 3.74-3.68 (2H, m, H-6'a, 6'b), 3.58 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.51 (3H, s, OCH₃), 3.47 (1H, m, H-5'), 3.21 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, OH), 2.54 (1H, br-d, $J = 2.0$ Hz, OH); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 167.4, 166.3, 138.2, 137.9, 133.5, 133.1, 130.1, 130.0, 129.6, 129.4, 128.5 \times 2, 128.4, 128.3, 128.1, 127.9, 127.8, 127.7, 127.4, 101.7, 100.4 ($^1J_{\text{CH}} = 161$ Hz), 81.2, 75.3 \times 2, 75.1, 74.2, 74.1, 73.4 \times 2, 72.4, 71.3, 69.6, 67.9, 64.2, 56.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 857.3123 (857.3149 calcd for $\text{C}_{48}\text{H}_{50}\text{O}_{13}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Compound **S7** and **S8**

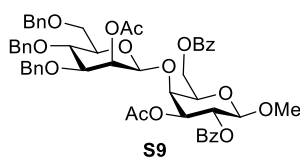


To a solution of **286** (11.2 mg, 0.0134 mmol) in pyridine (268 μL) was added BzCl (6.2 μL , 0.0536 mmol) at 0 $^\circ\text{C}$. After the reaction mixture was stirred for 1 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in vacuo. The residue was subjected to preparative TLC (9/1 toluene/acetone) to give **S7** (12.0 mg, 0.0115 mmol, 86% yield) and **S8** (1.1 mg, 1.05 μmol , 8% yield).

Data for **S7**: colorless syrup; R_f 0.58 (8/1 toluene/acetone); $[\alpha]^{23}_D +34.4^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.10-8.09 (2H, m, Ar-H), 8.01-8.00 (2H, m, Ar-H), 7.69-7.68 (4H, m, Ar-H), 7.62-7.59 (1H, m, Ar-H), 7.53-7.47 (3H, m, Ar-H), 7.41-7.40 (2H, m, Ar-H), 7.36-7.33 (6H, m, Ar-H), 7.29-7.24 (4H, m, Ar-H), 7.17-7.06 (11H, m, Ar-H), 5.83 (1H, br-d, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4), 5.57 (1H, dd, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 11.0$ Hz, H-2), 5.45 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 4.84 and 4.61 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.73 and 4.47 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, ArCH₂), 4.66 (1H, br-s, H-1'), 4.56 (1H, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1), 4.55 and 4.17 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.46-4.41 (2H, m, H-6a, 6b), 4.25 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-3), 4.07 (1H, br-t, $J = 6.5$ Hz, H-5), 3.89 (1H, dd, $J_{5',6'a} = 5.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 11.5$ Hz, H-6'a), 3.82-3.76 (2H, m, H-4', 6'b), 3.49 (3H, s, OCH₃), 3.46 (1H, m, H-5'), 3.40 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 166.1, 165.4, 165.0, 164.8, 138.8, 138.1, 137.4, 133.3, 133.1, 132.7, 132.3, 129.8, 129.7 \times 2, 129.4, 129.0, 128.9, 128.6, 128.3 \times 2, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.7, 127.6, 127.3, 127.2, 102.1, 99.6 ($^1J_{\text{CH}} = 155$ Hz), 80.0, 76.1, 75.3, 73.9, 73.6, 71.9, 71.8, 70.9, 70.2, 69.3, 67.5, 62.9, 56.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 1065.3689 (1065.3673 calcd for $\text{C}_{62}\text{H}_{58}\text{O}_{15}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Data for **S8**: colorless syrup; R_f 0.70 (8/1 toluene/acetone); $[\alpha]^{23}_D +50.3^\circ$ (c 0.65, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.26-8.25 (2H, m, Ar-H), 8.03-7.96 (6H, m, Ar-H), 7.64-7.61 (1H, m, Ar-H), 7.57-7.49 (4H, m, Ar-H), 7.44-7.39 (3H, m, Ar-H), 7.32-7.22 (9H, m, Ar-H), 7.20-7.15 (2H, m, Ar-H), 7.14-7.09 (3H, m, Ar-H), 7.05-7.03 (2H, m, Ar-H), 6.80-6.78 (2H, m, Ar-H), 5.85 (1H, br-d, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-4), 5.53 (1H, dd, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 5.42 (1H, dd, $J_{1',2'} = 2.0$ Hz, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 5.31 (1H, d, $J_{1',2'} = 2.0$ Hz, H-1'), 4.70 (1H, dd, $J_{5,6a} = 6.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6a), 4.61-4.57 (2H, m, H-1, ArCH₂), 4.54 and 4.20 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.49 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, ArCH₂), 4.41-4.36 (2H, m, H-6b, ArCH₂), 4.28 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 3.5$ Hz, H-3), 4.13-4.11 (2H, m, H-5, ArCH₂), 3.78 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.66-3.60 (2H, m, H-3', 5'), 3.56 (3H, s, OCH₃), 3.38-3.43 (2H, m, H-6'a, 6'b); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 166.1, 165.8, 165.0 \times 2, 138.7, 138.5, 137.8, 133.6, 133.3, 133.1, 132.9, 130.2, 130.0 \times 2, 129.8, 129.5, 129.4, 129.2, 128.7, 128.5, 128.3, 128.2, 128.1 \times 2, 127.9, 127.4, 127.3, 127.2, 127.0, 102.4, 95.5 ($^1J_{\text{CH}} = 170$ Hz), 77.8, 74.2, 73.8, 73.5, 73.3, 72.0, 71.3, 71.0, 70.4, 68.8, 68.2, 66.3, 62.1, 57.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 1065.3708 (1065.3673 calcd for $\text{C}_{62}\text{H}_{58}\text{O}_{15}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

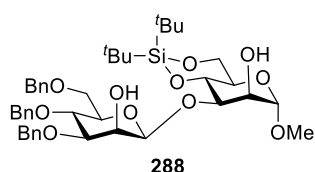
Compound **S9**



To a solution of **287** (6.5 mg, 7.79 μmol) in pyridine (0.156 mL, 50 mM) were added Ac_2O (6.0 μL , 0.062 mmol) and DMAP (0.95 mg, 7.79 μmol) at 0 $^\circ\text{C}$. After the reaction mixture was stirred for 0.5 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (9/1 toluene/acetone) to give **S9** (7.0 mg, 7.62 μmol , 98% yield).

Data for **S9**: colorless syrup; R_f 0.53 (8/1 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{24} -11.2^\circ$ (c 0.95, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.08-8.00 (4H, m, Ar-H), 7.60-7.54 (2H, m, Ar-H), 7.47-7.41 (4H, m, Ar-H), 7.37-7.35 (2H, m, Ar-H), 7.33-7.23 (11H, m, Ar-H), 7.20-7.16 (2H, m, Ar-H), 5.76 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 5.52 (1H, dd, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 5.28 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-3), 4.87 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.82 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.73 (1H, br-s, H-1'), 4.61 (1H, dd, $J = 5.0$ Hz, $J = 7.0$ Hz, H-6a), 4.57-4.50 (5H, m, H-1, 6b, ArCH₂), 4.43 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.39 (1H, br-d, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4), 4.00 (1H, m, H-5), 3.73 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.71-3.69 (2H, m, H-6'a, 6'b), 3.64 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.48 (3H, s, OCH₃), 3.39 (1H, ddd, $J = 2.5$ Hz, $J = 4.5$ Hz, $J = 9.5$ Hz, H-5'), 2.24 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.93 (3H, s, OC(O)CH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 170.2, 170.0, 166.2, 165.2, 138.3, 138.1, 137.5, 133.2, 133.1, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 128.4 \times 3, 128.3 \times 2, 128.0, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 101.8, 98.3, 80.2, 75.9, 75.3, 74.3, 73.4, 73.0, 72.5, 72.0, 71.4, 69.5, 69.4, 67.5, 64.0, 56.1, 21.0, 20.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 941.3395 (941.3360 calcd for $\text{C}_{52}\text{H}_{54}\text{O}_{15}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Compound **288**

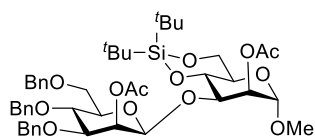


Compound **288** was synthesized in 75% yield according to the general procedure B from mannoside **285**¹⁰⁸ and **209** (25 mM final conc.).

Data for **288**: Colorless syrup; R_f 0.43 (4/1 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{24} +14.2^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.26 (13H, m, Ar-H), 7.19 (2H, m, Ar-H), 4.87 and 4.52 (2H, ABq, $J = 10.0$ Hz, ArCH₂), 4.84 (1H, br-s, H-1'), 4.74 and 4.66 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.66 (1H, d, $J_{1,2} = 1.0$ Hz, H-1), 4.60 and 4.52 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.36 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 4.25 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 4.16 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 4.11 (1H, dd, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.0$ Hz, H-6a), 4.03 (1H, br-s, H-2), 3.99 (1H, dd, $J_{5,6b} = 10.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.0$ Hz, H-6b), 3.87 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'),

3.76-3.64 (4H, m, H-5, 6'a, 6'b, -OH), 3.55 (1H, dd, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.49 (1H, ddd, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, $J_{5',6'a} = 2.5$ Hz, $J_{5',6'b} = 6.0$ Hz, H-5'), 3.36 (3H, s, OCH₃), 2.90 (1H, br-s, OH), 1.01 (9H, s, ^tBu), 1.00 (9H, s, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.0, 137.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 127.9 \times 2, 127.6, 101.4, 95.9 ($^1J_{CH} = 160.0$ Hz), 81.5, 77.1, 75.3, 73.9, 73.5, 71.5, 71.4, 70.5, 68.9, 68.6, 67.8, 66.7, 55.2, 27.5, 27.0, 22.6, 19.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 789.3621 (789.3646 calcd for C₄₂H₅₈O₁₁NaSi [M+Na]⁺).

Compound S10

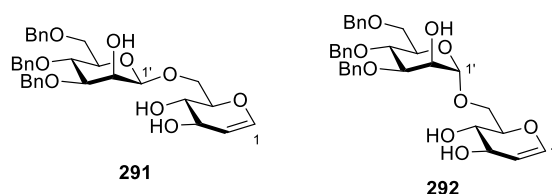


S10

To a solution of **288** (16.2 mg, 21.1 μ mol) in pyridine (0.156 mL, 50 mM) were added Ac₂O (16.0 μ L, 169 mmol) and DMAP (2.6 mg, 21.1 μ mol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 0.5 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (10/1 toluene/acetone) to give **S10** (18.0 mg, 21.1 μ mol, quant.).

Data for **S10**: Colorless syrup; R_f 0.68 (8/1 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{24} -30.5^\circ$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.36-7.14 (15H, m, Ar-H), 5.50 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 5.27 (1H, dd, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-2), 4.85 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.73 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.72 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.67 (1H, br-s, H-1'), 4.60 (1H, d, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, H-1), 4.57-4.50 (3H, m, ArCH₂), 4.11 (1H, dd, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.0$ Hz, H-6a), 4.05-4.01 (2H, m, H-3, 6b), 3.96 (1H, dd, $J_{3,4} = 10.5$ Hz, $J_{4,5} = 10.5$ Hz, H-4), 3.86 (1H, dd, $J_{5',6'a} = 4.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 11.5$ Hz, H-6'a), 3.85 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 10.0$ Hz, H-4'), 3.79 (1H, dd, $J_{5',6'b} = 2.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 11.5$ Hz, H-6'b), 3.72 (1H, m, H-5), 3.68 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.45 (1H, ddd, $J_{4',5'} = 10.0$ Hz, $J_{5',6'a} = 4.0$ Hz, $J_{5',6'b} = 2.0$ Hz, H-5'), 3.37 (3H, s, OCH₃), 2.17 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.12 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.02 (9H, s, ^tBu), 0.95 (9H, s, ^tBu); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.7, 170.5, 138.6, 138.4, 137.7, 128.4, 128.3, 128.2 \times 2, 128.0, 127.8 \times 2, 127.6, 127.4, 99.5, 96.0, 80.2, 76.2, 75.2, 74.3, 73.9 \times 2, 72.9, 71.4, 69.4, 68.4, 67.6, 67.4, 66.7, 55.2, 27.4, 27.0, 22.6, 21.0, 20.9, 19.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 873.3892 (873.3857 calcd for C₄₆H₆₂O₁₃NaSi [M+Na]⁺).

Compound **291** and **292**

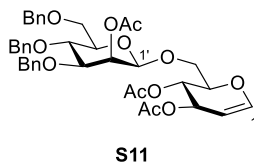


To a solution of *p*-nitrophenylboronic acid (**247**) (1.69 mg, 10.1 μmol), **289** (7.4 mg, 50.6 μmol) and H_2O (4.6 μL , 0.256 mmol) in dry MeCN (1.42 mL) was added a solution of **209** (65.7 mg, 0.152 mmol) in dry MeCN (1.42 mL) at 0 $^\circ\text{C}$ under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 10 h, the reaction was quenched by addition of 0.05 M NaBO_3 aq. (0.444 mL, 22.2 μmol). The resultant mixture was added sat. NH_4Cl aq. (5 mL) and extracted with EtOAc (5 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (5 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (2/1 PhMe/acetone) gave **291** (23.6 mg, 40.8 μmol , 81% yield) and **292** (1.2 mg, 2.07 μmol , 4% yield). Data for **291**: Colorless syrup; R_f 0.46 (1/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{26} -3.4^\circ$ (*c* 1.0, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.27 (13H, m, Ar-H), 7.21-7.19 (2H, m, Ar-H), 6.29 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{1,3} = 1.5$ Hz, H-1), 4.87 and 4.52 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, Ar CH_2), 4.75 and 4.66 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, Ar CH_2), 4.71 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{2,3} = 2.0$ Hz, H-2), 4.59 and 4.53 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, Ar CH_2), 4.52 (1H, d, $J_{1',2'} = 1.0$ Hz, H-1'), 4.21 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.5$ Hz, H-6a), 4.18-4.14 (2H, m, H-3, 2'), 4.00-3.92 (2H, m, H-5, 6b), 3.83 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.91 (1H, dd, $J_{5',6'a} = 2.5$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.5$ Hz, H-6'a), 3.71-3.65 (2H, m, H-4, 6'b), 3.57 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.46 (1H, m, H-5'), 3.26 (1H, br-s, OH), 2.70 (1H, br-s, OH), 2.30 (1H, br-s, OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 143.9, 138.1, 137.8, 128.5, 128.4, 128.3, 128.0 \times 2, 127.8, 127.7, 103.0, 100.3 ($^1J_{\text{CH}} = 157$ Hz), 81.3, 76.9, 75.1, 75.0, 74.0, 73.4, 71.2, 70.7, 69.6, 69.0, 68.8, 67.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 601.2392 (601.2414 calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{O}_9\text{Na}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$).

Data for **292**: Colorless syrup; R_f 0.51 (1/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{24} +78.7^\circ$ (*c* 0.15, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.35-7.26 (13H, m, Ar-H), 7.17-7.16 (2H, m, Ar-H), 6.32 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{1,3} = 1.5$ Hz, H-1), 4.93 (1H, d, $J_{1',2'} = 1.5$ Hz, H-1') 4.81 and 4.48 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, Ar CH_2), 4.71 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{2,3} = 2.0$ Hz, H-2), 4.70 and 4.68 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, Ar CH_2), 4.59 and 4.56 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, Ar CH_2), 4.19 (1H, m, H-3), 4.14 (1H, m, H-2'), 4.12 (1H, dd, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6a), 3.91-3.88 (3H, m, H-6b, 3', 5'), 3.81 (1H, m, H-5), 3.76-3.71 (3H, m, H-4, 6'b, 4-OH), 3.67 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.60 (1H, dd, $J_{5',6'b} = 7.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10$ Hz, H-6'b), 2.51 (1H, d, $J_{2',2'-\text{OH}} = 2.0$ Hz, 2'-OH), 1.93 (1H, d, $J_{3,3-\text{OH}} = 5.0$ Hz, 3-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 144.2, 137.8, 137.7, 137.5, 128.6, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9 \times 2, 127.8, 102.8, 99.8 ($^1J_{\text{CH}} = 169$ Hz), 80.2, 77.1, 75.2, 74.4,

73.5, 72.2, 71.7, 70.1, 69.2, 69.1, 68.3, 66.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 601.2439 (601.2414 calcd for C₃₃H₂₈O₉Na [M+Na]⁺).

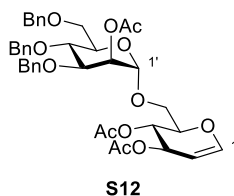
Compound S11



To a solution of **291** (12.5 mg, 21.6 μ mol) in pyridine (0.432 mL) were added Ac₂O (16.6 μ L, 0.173 mmol) and DMAP (2.64 mg, 21.6 μ mol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (3/1 *n*-hexane/acetone) to give **S11** (14.0 mg, 21.6 μ mol, quant.).

Data for **S11**: Colorless syrup; R_f 0.66 (4/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{26}$ -45.5° (c 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.35-7.26 (13H, m, Ar-H), 7.18-7.16 (2H, m, Ar-H), 6.46 (1H, dd, $J_{1,2}$ = 6.5 Hz, $J_{1,3}$ = 1.0 Hz, H-1), 5.66 (1H, br-d, $J_{2',3'}$ = 3.5 Hz, H-2'), 5.25 (1H, m, H-3), 5.13 (1H, dd, $J_{3,4}$ = 5.0 Hz, $J_{4,5}$ = 7.0 Hz, H-4), 4.86 and 4.49 (2H, ABq, J = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.83 (1H, dd, $J_{1,2}$ = 6.5 Hz, $J_{2,3}$ = 3.5 Hz, H-2), 4.77 and 4.49 (2H, ABq, J = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.63 and 4.52 (2H, ABq, J = 12.5 Hz, ArCH₂), 4.57 (1H, br-s, H-1'), 4.28 (1H, ddd, $J_{4,5}$ = 7.0 Hz, $J_{5,6a}$ = 3.5 Hz, $J_{5,6b}$ = 7.0 Hz, H-5), 4.01 (1H, dd, $J_{5,6a}$ = 3.5 Hz, $J_{6a,6b}$ = 11.5 Hz, H-6a), 3.79-3.72 (4H, m, H-6b, 4', 6'a, 6'b), 3.65 (1H, dd, $J_{2',3'}$ = 3.5 Hz, $J_{3',4'}$ = 9.0 Hz, H-3'), 3.46 (1H, m, H-5'), 2.19 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.05 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.00 (3H, s, OC(O)CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 170.4, 169.6, 145.7, 138.2, 137.5, 128.4, 128.3, 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 99.1, 98.3, 80.3, 75.6, 75.2, 74.2, 73.5, 71.5, 69.1, 67.7, 67.6, 67.3, 66.6, 21.1, 21.0, 20.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 722.3202 (722.3177 calcd for C₃₉H₄₈NO₁₂ [M+NH₄]⁺).

Compound S12

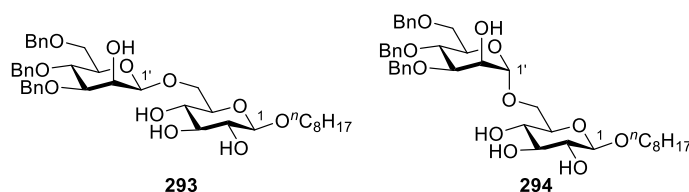


To a solution of **292** (12.5 mg, 21.6 μ mol) in pyridine (0.432 mL) were added Ac₂O (16.6 μ L, 0.173 mmol) and DMAP (2.64 mg, 21.6 μ mol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant

mixture was extracted with EtOAc (2 mL×3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (3/1 *n*-hexane/acetone) to give **S12** (14.0 mg, 21.6 μmol, quant.).

Data for **S12**: Colorless syrup; R_f 0.66 (4/1 PhMe/acetone); [α]²⁶_D -45.5° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.35-7.26 (13H, m, Ar-H), 7.17-7.15 (2H, m, Ar-H), 6.44 (1H, dd, *J*_{1,2} = 6.5 Hz, *J*_{1,3} = 1.5 Hz, H-1), 5.35 (1H, dd, *J*_{1',2'} = 2.0 Hz, *J*_{2',3'} = 3.0 Hz, H-2'), 5.31 (1H, m, H-3), 5.20 (1H, dd, *J*_{3,4} = 5.5 Hz, *J*_{4,5} = 7.5 Hz, H-4), 4.87 (1H, d, *J*_{1',2'} = 2.0 Hz, H-1'), 4.85 and 4.47 (2H, ABq, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.81 (1H, dd, *J*_{1,2} = 6.5 Hz, *J*_{2,3} = 3.5 Hz, H-2), 4.70 and 4.56 (2H, ABq, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.66 and 4.51 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.22 (1H, m, H-5), 3.99 (1H, dd, *J*_{2',3'} = 3.0 Hz, *J*_{3',4'} = 9.0 Hz, H-3'), 3.91-3.84 (2H, m, H-6a, 4'), 3.80-3.76 (2H, m, H-5', 6'a), 3.69 (1H, m, H-6'b), 3.63 (1H, dd, *J*_{5,6b} = 3.5 Hz, *J*_{6a,6b} = 11.5 Hz, H-6b), 2.14 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.06 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.03 (3H, s, OC(O)CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.4×2, 169.5, 145.7, 138.4, 138.1, 137.9, 128.4, 128.3×2, 128.1, 127.9, 127.7, 127.6, 98.6, 97.9, 78.1, 75.1, 74.6, 74.2, 73.4, 72.0, 68.8, 68.7, 67.7, 67.3, 65.4, 21.1, 21.0, 20.9; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 722.3202 (722.3177 calcd for C₃₉H₄₈NO₁₂ [M+NH₄]⁺).

Compound **293** and **294**



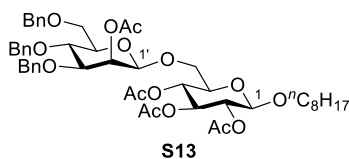
To a solution of *p*-nitrophenylboronic acid (**247**) (1.77 mg, 10.6 μmol), **290** (15.5 mg, 53.0 μmol) and H₂O (4.8 μL, 0.267 mmol) in dry MeCN (1.59 mL) was added a solution of **209** (65.7 mg, 0.152 mmol) in dry MeCN (1.59 mL) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 22 h, the reaction was quenched by addition of 0.05 M NaBO₃ aq. (0.466 mL, 23.3 μmol). The resultant mixture was added sat. NH₄Cl aq. (5 mL) and extracted with EtOAc (5 mL×3), and then the extracts were washed with brine (5 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (1/1 CHCl₃/acetone) gave **293** (26.8 mg, 37.0 μmol, 70% yield) and **294** (0.4 mg, 5.52 μmol, 1% yield).

Data for **293**: White solid; R_f 0.35 (1/1 CHCl₃/acetone); [α]²⁶_D -28.6° (*c* 1.0, CHCl₃); mp 146-147 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.24 (13H, m, Ar-H), 7.19-7.15 (2H, m, Ar-H), 4.85 and 4.49 (2H, ABq, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.74 and 4.63 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.59 and 4.52 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.49 (1H, br-s, H-1'), 4.26 (1H, d, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1), 4.16 (1H, dd, *J*_{5,6a} = 2.5 Hz, *J*_{6a,6b} = 11.0 Hz, H-6a), 4.13 (1H, br-d, *J*_{2',3'} = 3.0 Hz, H-2'), 3.85 (1H,

dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.86-3.79 (2H, m, H-6b, $\text{OCH}_2\text{C}_7\text{H}_{15}$), 3.73 (1H, dd, $J_{5',6'a} = 2.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.5$ Hz, H-6'a), 3.70 (1H, dd, $J_{5',6'b} = 5.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.5$ Hz, H-6'b), 3.56-3.40 (6H, m, H-3, 4, 5, 3', 5', $\text{OCH}_2\text{C}_7\text{H}_{15}$), 3.35 (1H, dd, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 8.5$ Hz, H-2), 1.63-1.56 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_{13}$), 1.24 (10H, m, $\text{OC}_2\text{H}_4\text{C}_5\text{H}_{10}\text{CH}_3$), 0.86 (3H, t, $J = 6.0$ Hz, $\text{OC}_7\text{H}_{14}\text{CH}_3$); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 138.1, 137.8, 137.7, 128.5, 128.4 \times 2, 128.0 \times 2, 127.9, 127.8, 102.5, 100.3 ($^1J_{\text{CH}} = 160$ Hz), 81.4, 76.3, 75.1, 75.0, 74.5, 74.0, 73.5 \times 2, 71.7, 71.4, 70.2, 69.7, 68.9, 68.0, 31.8, 29.6, 29.4, 29.2, 26.0, 22.6, 14.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 747.3688 (747.3720 calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{O}_{11}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Data for **294**: Colorless syrup; R_f 0.41 (1/1 $\text{CHCl}_3/\text{acetone}$); $[\alpha]_D^{26} +3.4^\circ$ (c 0.98, CHCl_3); ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.26 (13H, m, Ar-H), 7.19-7.15 (2H, m, Ar-H), 4.91 (1H, d, $J_{1',2'} = 1.5$ Hz, H-1'), 4.80 and 4.48 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH_2), 4.70 and 4.67 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH_2), 4.59 and 4.53 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH_2), 4.22 (1H, d, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1), 4.12 (1H, br-s, H-2'), 4.01 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6a), 3.91-3.83 (3H, m, H-3', 5', $\text{OCH}_2\text{C}_7\text{H}_{15}$), 3.79 (1H, dd, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6b), 3.73-3.69 (2H, m, H-6'a, OH), 3.73 (1H, dd, $J_{5',6'a} = 6.0$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.0$ Hz, H-6'a), 3.57 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.50-3.43 (3H, m, H-3, 4', $\text{OCH}_2\text{C}_7\text{H}_{15}$), 3.39-3.31 (1H, m, H-2, 5), 2.69 (1H, br-s, OH), 2.52 (1H, br-s, OH), 2.45 (1H, br-s, OH), 1.64-1.54 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_{13}$), 1.34-1.20 (10H, m, $\text{OC}_2\text{H}_4\text{C}_5\text{H}_{10}\text{CH}_3$), 0.87 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, $\text{OC}_7\text{H}_{14}\text{CH}_3$); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 138.0, 137.8, 137.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 102.7, 99.4 ($^1J_{\text{CH}} = 168$ Hz), 80.2, 76.4, 75.1, 74.7, 74.3, 73.6, 73.4, 72.1, 71.3, 70.3, 69.6, 69.0, 68.2, 66.2, 31.8, 29.5, 29.4, 29.2, 25.9, 22.6, 14.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 763.3475 (763.3460 calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{O}_{11}\text{K}$ $[\text{M}+\text{K}]^+$).

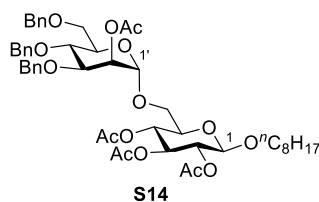
Compound **S13**



To a solution of **293** (13.3 mg, 18.3 μmol) in pyridine (0.366 mL) were added Ac_2O (14.0 μL , 0.146 mmol) and DMAP (2.23 mg, 18.3 μmol) at 0°C . After the reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated *in vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (3/1 *n*-hexane/acetone) to give **S13** (12.9 mg, 15.2 μmol , 83% yield). Data for **S13**: Colorless syrup; R_f 0.71 (4/1 $\text{PhMe}/\text{acetone}$); $[\alpha]_D^{26} -31.6^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.24 (13H, m, Ar-H), 7.16-7.13 (2H, m, Ar-H), 5.63 (1H, br-d, $J_{2',3'} =$

3.0 Hz, H-2'), 5.19 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 4.93 (1H, dd, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, H-2), 4.87 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 4.84 and 4.48 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.74 and 4.47 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.65 and 4.51 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.56 (1H, br-s, H-1'), 4.47 (1H, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1), 3.91 (1H, dd, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6a), 4.13 (1H, dt, $J = 6.5$ Hz, $J = 10.0$ Hz, OCH₂C₇H₁₅), 3.79 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.77-3.74 (2H, m, H-6'a, 6'b), 3.68 (1H, ddd, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, $J_{5,6b} = 7.5$ Hz, H-5), 3.64-3.59 (2H, m, H-6b, 3'), 3.48 (1H, dt, $J = 6.5$ Hz, $J = 10.0$ Hz, OCH₂C₇H₁₅), 3.45-3.42 (1H, m, H-5'), 2.19 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.03 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.00 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.99 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.60-1.49 (2H, m, OCH₂CH₂C₆H₁₃), 1.34-1.18 (10H, m, OC₂H₄C₅H₁₀CH₃), 0.86 (3H, t, $J = 6.0$ Hz, OC₇H₁₄CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.4, 170.3, 169.7, 169.3, 138.2, 138.1, 137.5, 128.4, 128.3, 128.5, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 100.5, 99.7, 80.4, 75.4, 75.2, 74.1, 73.5, 73.4, 72.9, 71.5 \times 2, 70.2, 69.3, 69.1, 68.9, 67.8, 31.8, 29.4, 29.3 \times 2, 25.9, 22.6, 21.1, 20.6, 14.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 931.3873 (931.3882 calcd for C₄₉H₆₄O₁₅K [M+K]⁺).

Compound S14



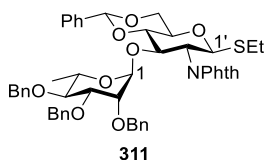
To a solution of **294** (12.5 mg, 17.2 μ mol) in pyridine (0.344 mL) were added Ac₂O (13.1 μ L, 0.138 mmol) and DMAP (2.07 mg, 17.2 μ mol) at 0 °C. After the reaction mixture was stirred for 0.5 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of water (2 mL). The resultant mixture was extracted with EtOAc (2 mL \times 3), and then the extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. The residue was subjected to silica gel column chromatography (3/1 *n*-hexane/acetone) to give **S14** (13.6 mg, 16.0 μ mol, 93% yield).

Data for **S14**: Colorless syrup; Colorless syrup; R_f 0.22 (3/1 *n*-hexane/acetone); $[\alpha]_D^{24} +21.9^\circ$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.35-7.26 (13H, m, Ar-H), 7.15-7.13 (2H, m, Ar-H), 5.36 (1H, dd, $J_{1',2'} = 1.5$ Hz, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 5.19 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 4.98 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 4.96 (1H, dd, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, H-2), 4.85 (1H, d, $J_{1',2'} = 1.5$ Hz, H-1'), 4.85 and 4.47 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.71 and 4.44 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.66 and 4.49 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, ArCH₂), 4.43 (1H, d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, H-1), 3.94 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.86 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.82-3.74 (4H, m, H-6a, 5', 6'a, OCH₂C₇H₁₅), 3.69-3.62 (2H, m, H-5, 6'b), 3.54

(1H, dd, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.0$ Hz, H-6b), 3.37 (1H, dt, $J = 6.5$ Hz, $J = 9.5$ Hz, $\text{OCH}_2\text{C}_7\text{H}_{15}$), 2.14 (3H, s, OC(O)CH_3), 2.03 (3H, s, OC(O)CH_3), 2.00 (6H, s, OC(O)CH_3), 1.50-1.40 (2H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_{13}$), 1.30-1.22 (10H, m, $\text{OC}_2\text{H}_4\text{C}_5\text{H}_{10}\text{CH}_3$), 0.87 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, $\text{OC}_7\text{H}_{14}\text{CH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 170.4, 170.3, 169.4, 169.3, 138.5, 138.1, 137.9, 128.3 \times 2, 128.2, 128.1, 127.7 \times 2, 127.6, 127.5, 127.4, 127.3, 100.6, 97.5, 78.0, 74.9, 74.0, 73.3, 72.9, 72.5, 71.8, 71.4, 70.0, 69.2, 68.7, 68.5, 66.0, 31.8, 29.3, 29.2, 25.8, 22.6, 21.1, 20.6, 14.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 931.3926 (931.3882 calcd for $\text{C}_{49}\text{H}_{64}\text{O}_{15}\text{K} [\text{M}+\text{K}]^+$).

Synthesis of the tetrasaccharide **252**

Compound **311**

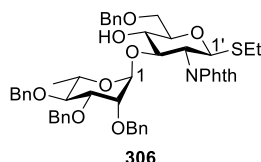


To a solution of compound **126** (1115 mg, 2.33 mmol) and **310** (515 mg, 1.17 mmol) in dry CH_2Cl_2 (11.7 mL) was added MS 4 Å and the reaction mixture was stirred under Ar at room temperature for 30 min. The reaction mixture was cooled to -40 °C and NIS (524 mg, 2.33 mmol) and TfOH (23.3 μL , 0.23 mmol) were added to it. After stirring at same temperature for 1 h, NEt_3 (5.0 mL) was added to the reaction mixture. The resultant mixture was added 10% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ aq. (15 mL), sat. NaHCO_3 aq. (15 mL) and extracted with CHCl_3 (30 mL), and then the extracts were washed with brine (30 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by column chromatography (4/1 to 2/1 *n*-hexane/EtOAc) gave **311** (920 mg, 1.07 mmol, 92% yield).

Data for **311**: Foam; R_f 0.54 (2/1 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]^{25}_D -5.3^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.86 (2H, br-t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.78-7.72 (2H, m, Ar-H), 7.52-7.46 (2H, m, Ar-H), 7.32-7.24 (12H, m, Ar-H), 7.21-7.11 (4H, m, Ar-H), 6.94-6.89 (2H, m, Ar-H), 5.54 (1H, s, CHPh), 5.42 (1H, d, $J_{1,2'} = 10.5$ Hz, H-1'), 4.48 and 4.79 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH_2), 4.68-4.62 (2H, m, H-1, 3'), 4.49 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, ArCH_2), 4.45-4.38 (2H, m, H-6'a, ArCH_2) 4.35 (1H, dd, $J_{1,2'} = 10.5$ Hz, $J_{2',3'} = 10.0$ Hz, H-2'), 3.98 and 3.94 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH_2), 3.88 (1H, m, H-5), 3.80 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-6'b), 3.77-3.72 (2H, m, H-3, 5'), 3.64 (1H, dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 9.5$ Hz, H-4'), 3.44 (1H, dd, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-2), 3.37 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 2.68 (2H, m, CH_2), 1.20 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_3), 0.81 (3H, d, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 167.8, 167.1, 138.6, 138.4, 137.7, 136.8, 134.5, 134.4, 131.1, 128.9, 128.1, 128.0, 127.9 \times 2, 127.6, 127.3, 127.2 \times 2, 127.0, 126.2, 123.6, 101.6, 98.1, 81.6,

80.3, 80.0, 79.4, 77.2, 76.0, 74.8×2, 72.2, 71.6, 70.7, 68.4, 68.1, 55.5, 24.1, 17.2, 14.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 858.3345 (858.3312 calcd for $C_{50}H_{52}NO_{10}S$ $[M+H]^+$).

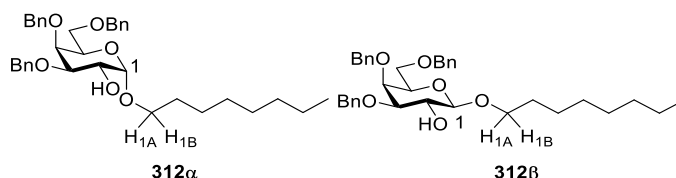
Compound **306**



To a solution of compound **311** (302 mg, 0.35 mmol) in dry CH_2Cl_2 (1.8 mL) was added TES (281.1 μ L) and TFA (135 μ L) at 0 °C. The reaction mixture was stirred under Ar at room temperature for 4 h and then quenched by sat. $NaHCO_3$ aq. (5 mL). The reaction mixture was diluted with EtOAc = (10 mL), washed with brine, dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by column chromatography (20/1 to 10/1 toluene/acetone) of the residue gave **306** (234 mg, 77%).

Data for **306**: Foam; R_f 0.48 (2/1 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]^{25}_D +23.5^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.80-7.78 (2H, m, Ar-H), 7.75-7.68 (2H, m, Ar-H), 7.37-7.22 (14H, m, Ar-H), 7.20-7.12 (4H, m, Ar-H), 7.02 (2H, br-d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 5.27 (1H, d, $J_{1',2'} = 9.5$ Hz, H-1'), 4.79 and 4.52 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, Ar CH_2), 4.73 (1H, d, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, H-1), 4.65 and 4.61 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, Ar CH_2), 4.32 and 4.19 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, Ar CH_2), 4.31-4.20 (4H, m, H-2', 3', Ar CH_2), 3.93-3.86 (2H, m, H-5, 6'a), 3.76 (1H, dd, $J_{5',6'b} = 5.5$ Hz, $J_{6'a,6'b} = 10.5$ Hz, H-6'b), 3.68 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, $J_{3,4} = 8.0$ Hz, H-3), 3.65 (1H, m, H-5'), 3.57 (1H, dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 9.5$ Hz, H-4'), 3.51 (1H, dd, $J_{3,4} = 8.0$ Hz, $J_{4,5} = 8.0$ Hz, H-4), 3.23 (1H, br-s, H-2), 2.68 (2H, m, CH_2), 1.30 (3H, d, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H-6), 1.22 (3H, t, $J = 5.0$ Hz, CH_3); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 167.9, 167.2, 138.3, 138.2, 138.1, 137.5, 134.2, 131.4, 131.3, 128.2, 128.2, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4×2, 123.4, 99.9, 83.8, 80.9, 79.6, 79.4, 78.9, 74.9, 74.8, 73.4, 72.4, 71.8, 70.6, 69.6×2, 54.1, 24.0, 18.0, 14.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 882.3292 (882.3288 calcd for $C_{50}H_{53}NO_{10}NaS$ $[M+Na]^+$).

Compound **312 α** and **312 β**



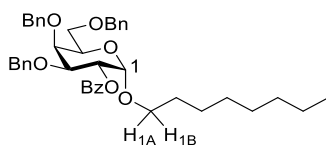
To a solution of a borinic acid **203** (2.76 mg, 13.6 μ mol) and **309** (10.0 μ L, 63.2 μ mol) in dry THF (42 mM to glycosyl acceptor) was added a solution of **308** (126 μ mol) in dry THF (62.1 mM) at 0 °C under Ar atmosphere. After stirring at same temperature for 24 h, the reaction was

quenched by addition of 0.05 M NaBO₃ aq. (29.9 μmol). The resultant mixture was added sat. NH₄Cl aq. (2 mL) and extracted with EtOAc (3 mL×3), and then the extracts were washed with brine (6 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (0.25 mm silica gel plate) gave **312** (26.5 mg, 47.1 μmol, α/β = >95/5, 74% yield).

Data for **312α**: White solid; R_f 0.61 (8/1 toluene/acetone); [α]²⁵_D +95.7° (*c* 1.0, CHCl₃); mp 69-70 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.22 (15H, m, Ar-H), 4.93 (1H, d, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, H-1), 4.90 and 4.57 (2H, ABq, *J* = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.74 (2H, s, ArCH₂), 4.51 and 4.43 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.15 (1H, ddd, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, *J*_{2,3} = 12.5 Hz, *J*_{2,OH} = 8.5 Hz, H-2), 3.99 (1H, d, *J*_{3,4} = 2.0 Hz, H-4), 3.93 (1H, dd, *J* = 6.5 Hz, *J* = 7.0 Hz, H-5), 3.68 (1H, dd, *J*_{2,3} = 12.5 Hz, *J*_{3,4} = 2.0 Hz, H-3), 3.68 (1H, dt, *J* = 4.0 Hz, *J* = 10.0 Hz, H-1A), 3.60 (1H, dd, *J*_{5,6a} = 7.0 Hz, *J*_{6a,6b} = 9.5 Hz, H-6a), 3.55 (1H, dd, *J*_{5,6b} = 6.5 Hz, *J*_{6a,6b} = 9.5 Hz, H-6b), 3.45 (1H, dt, *J* = 6.5 Hz, *J* = 10.0 Hz, H-1B), 2.09 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, OH), 1.60 (2H, m, CH₂), 1.35-1.22 (10H, m, CH₂), 0.88 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.4, 138.2, 137.8, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.6×2, 127.5, 127.4, 98.5, 79.7, 74.5, 74.0, 73.3, 72.3, 69.5, 69.0, 68.8, 68.2, 31.7, 29.3, 29.2, 29.1, 26.0, 22.5, 14.0; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 585.3212 (585.3192 calcd for C₃₅H₄₆O₆Na [M+Na]⁺).

Data for **312β**: White solid; R_f 0.68 (8/1 toluene/acetone); [α]²⁰_D -10.0° (*c* 1.0, CHCl₃); mp 81-82 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.39-7.22 (15H, m, Ar-H), 4.89 and 4.60 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.73 and 4.68 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.47 and 4.43 (2H, ABq, *J* = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.22 (1H, d, *J*_{1,2} = 7.5 Hz, H-1), 3.95 (1H, m, H-2), 3.92 (1H, br-d, *J*_{3,4} = 2.5 Hz, H-4), 3.87 (1H, dt, *J* = 7.0 Hz, *J* = 9.5 Hz, H-1A), 3.65-3.55 (3H, m, H-5, 6a, 6b), 3.47 (1H, dt, *J* = 7.0 Hz, *J* = 9.5 Hz, H-1B), 3.43 (1H, dd, *J*_{2,3} = 9.5 Hz, *J*_{3,4} = 2.5 Hz, H-3), 2.35 (1H, br-s, OH), 1.64-1.56 (2H, m, CH₂), 1.34-1.22 (10H, m, CH₂), 0.87 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.5, 138.1, 137.9, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 103.2, 81.9, 74.5, 73.7, 73.5, 72.9, 72.4, 71.4, 70.0, 68.7, 31.8, 29.5, 29.4, 29.2, 25.9, 22.6, 14.1; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 585.3217 (585.3192 calcd for C₃₅H₄₆O₆Na [M+Na]⁺).

Compound **313**



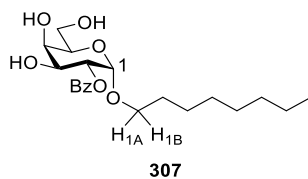
313

To a solution of **312α** (23.9 mg, 42.5 μmol) in dry pyridine (850 μL) was added BzCl (14.9 μL, 128 μmol) at 0 °C under Ar atmosphere. The reaction mixture was stirred for 18 h at room temperature, then quenched by addition of H₂O (3 mL). The resultant mixture was extracted with

EtOAc (5 mL×3), washed with brine (5 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by column chromatography (6/1 *n*-hexane/EtOAc) gave **313** (25.4 mg, 38.1 μmol, 90% yield).

Data for **313**: White solid; *R_f* 0.61 (6/1 *n*-hexane/EtOAc); [α]²⁴_D +104.6° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.05 (2H, m, Ar-H), 7.56 (1H, br-t, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.43 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.37-7.24 (15H, m, Ar-H), 5.53 (1H, dd, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, H-2), 5.19 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-1), 4.96 and 4.60 (2H, ABq, *J* = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.71 (2H, s, ArCH₂), 4.43 and 4.51 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.11 (1H, dd, *J*_{2,3} = 10.5 Hz, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-3), 4.06 (1H, br-s, H-4), 4.03 (1H, dd, *J* = 6.5 Hz, *J* = 7.0 Hz, H-6a), 3.68-3.55 (3H, m, H-5, 6b, 1A), 3.36 (1H, dt, *J* = 6.5 Hz, *J* = 10.0 Hz, H-1B), 1.49 (2H, m, CH₂), 1.28-1.09 (10H, m, CH₂), 0.84 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.0, 138.4, 138.2, 137.9, 132.9, 130.1, 129.7, 128.3, 128.2×4, 127.7×2, 127.5×2, 127.4, 96.3, 76.8, 74.7, 74.5, 73.4, 72.5, 71.8, 69.2, 68.8, 68.2, 31.7, 29.3, 29.2, 29.1, 26.0, 22.6, 14.0; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 689.3459 (689.3454 calcd for C₄₂H₅₀O₇Na [M+Na]⁺).

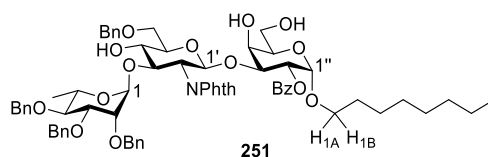
Compound **307**



To a solution of **313** (25.4 mg, 38.1 μmol) in anhydrous THF (1.27 mL) was added 100% Pd/(OH)₂/C (25.4 mg) under H₂ atmosphere (balloon) at room temperature. After stirring for 30 min, the reaction mixture was filtrated through celite pad, and the filtrate was concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (1/1 toluene/acetone) gave **307** (14.8 mg, 38.1 μmol, 98% yield).

Data for **307**: colorless syrop; *R_f* 0.55 (1/1 toluene/acetone); [α]²⁵_D +194.7° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, acetone-*d*₆) δ 8.08-8.05 (2H, m, Ar-H), 7.65 (1H, tt, *J* = 1.5 Hz, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 7.52 (2H, m, Ar-H), 5.21 (1H, dd, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, H-2), 5.08 (1H, d, *J*_{1,2} = 4.0 Hz, H-1), 4.25 (1H, br-s, OH), 4.16 (1H, dd, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, *J*_{3,4} = 3.0 Hz, H-3), 4.10 (1H, br-s, H-4), 4.02 (1H, br-s, OH), 3.91 (1H, dd, *J* = 5.0 Hz, *J* = 5.5 Hz, H-6a), 3.79 (3H, m, H-5, 6b, OH), 3.72 (1H, dt, *J* = 6.5 Hz, *J* = 10.0 Hz, H-1A), 3.37 (1H, dt, *J* = 6.5 Hz, *J* = 10.0 Hz, H-1B), 1.53 (1H, m, CH₂), 1.36-1.13 (10H, m, CH₂), 0.84 (3H, t, *J* = 7.5 Hz, CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, acetone-*d*₆) δ 166.8, 133.8, 131.2, 130.3, 129.2, 97.0, 73.4, 71.7, 70.8, 68.6, 68.2, 62.4, 32.4, 30.1, 30.0, 29.9, 26.8, 23.2, 14.3; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 419.2051 (419.2046 calcd for C₂₁H₃₂O₇Na [M+Na]⁺).

Compound 251

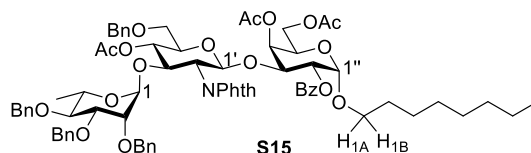


To a solution of **307** (42.2 mg, 106 μmol) in dry acetone (1.0 mL) was added boronic acid **188** (17.8 mg, 117 μmol) at room temperature under Ar atmosphere. After stirring under reflux condition for 3 h, the reaction mixture was concentrated in *vacuo*. To a solution of the reaction mixture and MS 4Å (100 wt% to glycosyl acceptor) in dry toluene (50 mM to glycosyl acceptor) was added a solution of **306** (213 μmol) in dry 1,2-dichloroethane (101 mM to glycosyl acceptor) at room temperature for 30 min under Ar atmosphere. Then the reaction mixture was cooled to $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ and NIS (57.5 mg, 256 μmol) and TfOH (2.11 μL , 21.3 μmol) were added to it. After stirring at same temperature for 3 h, NEt_3 (5 mL) was added to the reaction mixture. The resultant mixture was added 10% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ aq. (3 mL), sat. NaHCO_3 aq. (3 mL) and extracted with EtOAc (15 mL), washed with brine (15 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in *vacuo*. Then the resultant mixture was added MeCN (1 mL) and 0.05 M NaBO_3 aq (1 mL) and stirred for 30 min at room temperature. The reaction mixture was extracted with EtOAc (3 mL \times 3), washed with brine (3 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by flash silica gel column chromatography (10/1 to 4/1 toluene/acetone) gave **251** (122.7 mg, 103 μmol , 96% yield).

Data for **251**: Foam; R_f 0.29 (4/1 toluene/acetone); $[\alpha]^{24}_{\text{D}} +70.0^{\circ}$ (c 1.0, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.64 (2H, dd, $J = 1.5\text{ Hz}$, $J = 8.0\text{ Hz}$, Ar-H), 7.46-7.35 (8H, m, Ar-H), 7.34-7.08 (17H, m, Ar-H), 6.97 (2H, br-d, $J = 7.0\text{ Hz}$, Ar-H), 5.33 (1H, br-d, $J_{1,2'} = 8.5\text{ Hz}$, H-1'), 5.28 (1H, dd, $J_{1',2''} = 4.0\text{ Hz}$, $J_{2'',3''} = 10.0\text{ Hz}$, H-2''), 5.00 (1H, d, $J_{1',2''} = 4.0\text{ Hz}$, H-1''), 4.75 and 4.48 (2H, ABq, $J = 10.5\text{ Hz}$, Ar CH_2), 4.64 (1H, d, $J_{1,2} = 2.5\text{ Hz}$, H-1), 4.62 and 4.58 (2H, ABq, $J = 12.0\text{ Hz}$, Ar CH_2), 4.31 (2H, m, H-4''), OH), 4.24-4.15 (4H, m, H-2', 3', Ar CH_2), 4.21 and 4.07 (2H, ABq, $J = 11.5\text{ Hz}$, Ar CH_2), 4.14 (1H, dd, $J_{2'',3''} = 10.0\text{ Hz}$, $J_{3'',4''} = 3.5\text{ Hz}$, H-3''), 3.93-3.84 (3H, m, H-6'a, 5'', 6''a), 3.82 (1H, dd, $J = 7.0\text{ Hz}$, $J = 9.0\text{ Hz}$, H-5), 3.75-3.74 (3H, m, H-5', 6'b, 6''b), 3.62 (1H, dt, $J = 7.0\text{ Hz}$, $J = 10.5\text{ Hz}$, H-1A), 3.57 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.5\text{ Hz}$, $J_{3,4} = 9.0\text{ Hz}$, H-3), 3.50 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.0\text{ Hz}$, $J_{4,5} = 9.0\text{ Hz}$, H-4), 3.50 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0\text{ Hz}$, $J_{4',5'} = 9.0\text{ Hz}$, H-4'), 3.28 (1H, dt, $J = 7.0\text{ Hz}$, $J = 10.5\text{ Hz}$, H-1B), 3.11 (1H, dd, $J_{1,2} = 2.5\text{ Hz}$, $J_{2,3} = 2.5\text{ Hz}$, H-2), 2.95 (1H, br-s, OH), 2.32 (1H, br-d, $J = 9.5\text{ Hz}$, OH), 1.45 (2H, m, CH_2), 1.27 (3H, t, $J_{5,6} = 7.0\text{ Hz}$, H-6), 1.24-1.03 (10H, m, CH_2), 0.83 (3H, t, $J = 7.0\text{ Hz}$, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 165.2, 138.2, 138.0 \times 2, 137.5, 133.8, 132.6, 129.5, 129.2, 128.5, 128.3 \times 2, 128.2, 128.0, 127.8, 127.6 \times 2, 127.4, 100.1, 99.0, 96.1, 82.6, 79.5, 78.6, 77.7, 75.2, 74.9, 74.8, 73.5, 72.5, 71.7, 70.8,

70.2, 69.8, 69.7, 69.5, 68.6, 68.2, 63.0, 54.7, 31.7, 29.2, 29.1, 26.0, 22.6, 18.0, 14.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 1216.5206 (1216.5246 calcd for $C_{69}H_{79}NO_{17}Na$ $[M+Na]^+$).

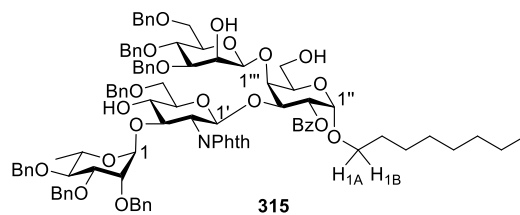
Compound **S15**



To a solution of **251** (8.3 mg, 6.95 μ mol) in dry pyridine (400 μ L, 17 mM) was added Ac_2O (400 μ L, 4.23 mmol) and DMAP (2.0 mg, 1.64 μ mol) at 0 $^{\circ}C$. The reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature and then H_2O (1.0 mL) was added at 0 $^{\circ}C$. The layers were separated and the organic phase was diluted with EtOAc (2.0 mL), washed with brine (2.0 mL), and then dried over anhydrous Na_2SO_4 . Concentration under reduced pressure followed by column chromatography (2/1 *n*-hexane/EtOAc) of the residue afforded **S15** (9.0 mg, 98%).

Data for **S15**: Colorless syrup; R_f 0.30 (2/1 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]^{24}_D +82.2^{\circ}$ (c 0.90, $CHCl_3$); 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.72 (2H, m, Ar-H), 7.58 (1H, m, Ar-H), 7.40-7.35 (6H, m, Ar-H), 7.31-7.12 (16H, m, Ar-H), 7.05 (2H, m, Ar-H), 6.99 (2H, m, Ar-H), 5.56 (1H, d, $J_{3'',4''} = 3.5$ Hz, H-4''), 5.30 (1H, d, $J_{1',2'} = 8.5$ Hz, H-1'), 5.11 (1H, dd, $J_{1'',2''} = 3.5$ Hz, $J_{2'',3''} = 10.0$ Hz, H-2''), 4.99 (1H, d, $J_{1',2'} = 3.5$ Hz, H-1'), 4.96 (1H, dd, $J_{3',4'} = 10.0$ Hz, $J_{4',5'} = 10.0$ Hz, H-4'), 4.77 and 4.49 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.65 and 4.59 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.58 (1H, br-s, H-1), 4.48 (1H, dd, $J_{2',3'} = 10.0$ Hz, $J_{3',4'} = 10.0$ Hz, H-3'), 4.29 (1H, dd, $J_{2'',3''} = 10.0$ Hz, $J_{3'',4''} = 3.5$ Hz, H-3''), 4.22 and 4.16 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, ArCH₂), 4.14-4.06 (3H, m, H-2', 5'', 6''a), 4.00 (1H, m, H-6''b), 4.11 and 3.88 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 3.76 (1H, ddd, $J_{4',5'} = 10.0$ Hz, $J_{5',6'a} = 3.5$ Hz, $J_{5',6'b} = 6.5$ Hz, H-5'), 3.70-3.55 (4H, m, H-1A, 5, 6'a, 6'b), 3.52 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.35 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.29 (1H, dt, $J = 6.5$ Hz, $J = 10.0$ Hz, H-1B), 3.10 (1H, t, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, H-2), 2.17 (3H, s, OC(O)CH₃), 2.00 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.97 (3H, s, OC(O)CH₃), 1.50-1.41 (2H, m, CH₂), 1.28-1.05 (10H, m, CH₂), 1.15 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-6), 0.84 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 170.4, 170.1, 169.8, 165.3, 138.7, 138.2, 138.1, 137.9, 133.8, 133.0, 129.8, 129.0, 128.4, 128.2 \times 2, 127.6 \times 2, 127.4, 127.3, 127.2, 99.9, 98.7, 95.9, 79.8, 79.7, 75.3, 74.8, 73.7, 73.6, 73.3, 72.3, 71.6, 71.5, 70.5, 70.3, 70.1, 69.2, 68.4, 66.8, 62.9, 55.8, 31.7, 29.7, 29.2 \times 2, 29.1, 26.0, 22.6, 21.2, 20.7, 17.7, 14.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 1342.5618 (1342.5563 calcd for $C_{75}H_{85}NO_{20}Na$ $[M+Na]^+$).

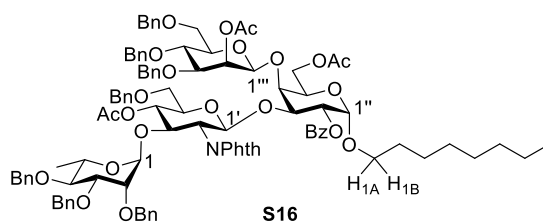
Compound **315**



Compound **315** was synthesized in 91% yield according to the general procedure B from glycoside **251** and **209** (0.05 M final conc.).

Data for **315**: Foam; R_f 0.38 (4/1 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{25} +36.8^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.78-7.75 (2H, m, Ar-H), 7.62-7.57 (2H, m, Ar-H), 7.53 (1H, br-t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.49 (2H, br-d, $J = 7.0$ Hz, Ar-H), 7.42-7.37 (3H, m, Ar-H), 7.33-7.24 (17H, m, Ar-H), 7.22-7.18 (4H, m, Ar-H), 7.16-7.06 (8H, m, Ar-H), 7.02-6.96 (4H, m, Ar-H), 6.89 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, Ar-H), 5.26 (1H, d, $J_{1',2'} = 8.5$ Hz, H-1'), 5.12 (1H, dd, $J_{1'',2''} = 3.5$ Hz, $J_{2'',3''} = 10.5$ Hz, H-2''), 5.01 and 4.84 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.92 (1H, br-s, H-1'''), 4.92 (1H, d, $J_{1'',2''} = 3.5$ Hz, H-1''), 4.88 and 4.45 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.75 and 4.46 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.69 (1H, d, $J_{1,2} = 3.0$ Hz, H-1), 4.57 and 4.54 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.48 and 4.43 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, ArCH₂), 4.50-4.44 (2H, m, H-4'', 2'''), 4.34-4.29 (2H, m, H-3', 3''), 4.24 and 4.20 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, ArCH₂), 4.15 and 4.06 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 3.98 (1H, dd, $J_{1',2'} = 8.5$ Hz, $J_{2',3'} = 11.0$ Hz, H-2'), 3.93-3.86 (4H, m, H-5, 6'a, 5'', 6''a), 3.80 (1H, dd, $J_{2'',3''} = 3.0$ Hz, $J_{3'',4''} = 9.0$ Hz, H-3'''), 3.77-3.68 (3H, m, H-5', 6''b, 4'''), 3.65-3.52 (7H, m, H-1A, 3, 4', 6''b, 5''', 6''b, OH), 3.51-3.44 (2H, m, H-4, 6''b), 3.25 (1H, dt, $J = 6.5$ Hz, $J = 10.0$ Hz, H-1B), 3.16 (1H, dd, $J_{1,2} = 3.0$ Hz, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, H-2), 2.30 (1H, br-s, OH), 1.43 (2H, m, CH₂), 1.30 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6), 1.26-1.02 (10H, m, CH₂), 0.84 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, CH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 167.5, 167.2, 165.3, 138.2 \times 2, 138.1, 137.4, 137.6, 133.8, 133.7, 132.9, 130.8, 130.6, 129.7, 129.2, 128.9, 128.3 \times 2, 128.2, 128.1, 128.0, 127.7, 127.6, 127.5, 127.4, 123.0, 122.8, 100.8 ($^1J_{\text{CH}} = 161$ Hz), 99.8 ($^1J_{\text{CH}} = 169$ Hz), 99.1 ($^1J_{\text{CH}} = 164$ Hz), 95.9 ($^1J_{\text{CH}} = 169$ Hz), 81.8, 81.6, 79.6, 78.5, 75.9, 75.3, 75.0 \times 2, 74.8, 74.7, 74.2 \times 2, 73.5, 73.2, 72.3, 71.7, 70.8, 70.5, 69.6, 69.3, 69.2, 68.8, 68.2, 67.2, 59.4, 55.2, 31.7, 29.2, 29.0, 25.9, 22.5, 17.9, 14.0; HRMS (ESI-TOF) m/z 832.8460 (832.8495 calcd for $\text{C}_{96}\text{H}_{108}\text{NO}_{22}\text{K}$ [$\text{M}+\text{H}+\text{K}$] $^{2+}$).

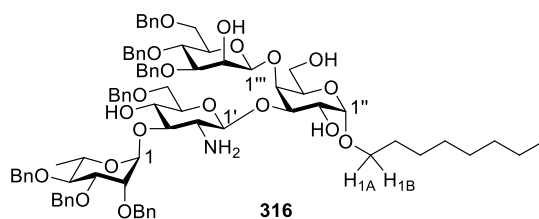
Compound **S16**



To a solution of **315** (14.8 mg, 9.10 μmol) in dry pyridine (400 μL , 23 mM) was added Ac_2O (400 μL , 4.23 mmol) and DMAP (2.0 mg, 1.64 μmol) at 0 $^\circ\text{C}$. The reaction mixture was stirred for 3 h at room temperature and then H_2O (1.0 mL) was added at 0 $^\circ\text{C}$. The layers were separated and the organic phase was diluted with EtOAc (2.0 mL), washed with brine (2.0 mL), and then dried over anhydrous Na_2SO_4 . Concentration under reduced pressure followed by column chromatography (2/1 *n*-hexane/EtOAc) of the residue afforded **S16** (15.5 mg, 97%).

Data for **S16**: Colorless syrup; R_f 0.30 (2/1 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{24} +42.3^\circ$ (c 0.96, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.79 (2H, br-d, $J = 7.5$ Hz, Ar-H), 7.65-7.61 (2H, m, Ar-H), 7.52-7.40 (5H, m, Ar-H), 7.37-7.09 (30H, m, Ar-H), 7.00-6.95 (4H, m, Ar-H), 6.79 (1H, m, Ar-H), 5.74 (1H, d, $J_{2'',3''} = 3.0$ Hz, H-2''), 5.26 (1H, d, $J_{1',2'} = 8.5$ Hz, H-1'), 5.05 (1H, dd, $J_{1',2'} = 3.5$ Hz, $J_{2'',3''} = 10.0$ Hz, H-2''), 5.01 and 4.76 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, ArCH_2), 5.02-4.98 (2H, m, H-1''', 4'), 4.98 (1H, d, $J_{1',2'} = 3.5$ Hz, H-1''), 4.90 and 4.57 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH_2), 4.78 and 4.49 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, ArCH_2), 4.69 and 4.54 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH_2), 4.64 (1H, br-s, H-1), 4.61 (1H, dd, $J_{2',3'} = 11.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 4.52 and 4.47 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH_2), 4.33 (1H, dd, $J = 3.5$ Hz, $J = 12.0$ Hz, H-6''a), 4.29-4.25 (2H, m, H-3'', 4''), 4.21 (1H, m, H-6''b), 4.19 and 4.22 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH_2), 4.07 (1H, dd, $J_{1',2'} = 8.5$ Hz, $J_{2',3'} = 11.0$ Hz, H-2'), 4.05 and 3.85 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH_2), 4.03 (1H, m, H-3'''), 3.99 (1H, dd, $J = 3.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, H-5''), 3.84-3.71 (4H, m, H-5', 6'a, 4'', 6''a), 3.70-3.51 (6H, m, H-1A, 3, 5, 6'b, 5'', 6''b), 3.37 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.28 (1H, dt, $J = 7.0$ Hz, $J = 10.0$ Hz, H-1B), 3.16 (1H, dd, $J_{1,2} = 2.5$ Hz, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, H-2), 2.12 (3H, s, OC(O)CH_3), 2.01 (3H, s, OC(O)CH_3), 1.97 (3H, s, OC(O)CH_3), 1.44 (2H, m, CH_2), 1.17 (3H, d, $J_{5,6} = 6.0$ Hz, H-6), 1.02-1.28 (10H, m, CH_2), 0.84 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 170.6, 170.3, 169.8, 167.6, 167.1, 165.0, 138.7 \times 2, 138.6, 138.3, 138.1, 137.9, 137.8, 134.1, 133.9, 132.9, 130.9, 130.5, 129.9, 129.4, 99.9, 98.9, 98.6, 95.8, 80.7, 79.7, 76.3, 75.6, 75.2, 75.0 \times 2, 74.9 \times 2, 74.5, 73.6, 73.5, 73.4, 72.3, 71.6 \times 2, 71.4, 70.7, 69.9, 69.7, 69.2, 68.1, 68.0, 67.9, 64.6, 56.1, 31.7, 29.7, 29.2 \times 2, 29.1, 26.0, 22.6, 21.2, 21.0, 20.8, 17.7, 14.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 895.8638 (895.8653 calcd for $\text{C}_{102}\text{H}_{114}\text{NO}_{25}\text{K}$ $[\text{M}+\text{H}+\text{K}]^{2+}$).

Compound **316**

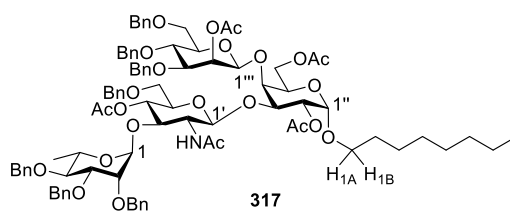


To a solution of **315** (20.2 mg, 12.0 μmol) in dry MeOH (600 μL , 20 mM) was added 28% NaOMe in MeOH (14.5 μL , 69.6 μmol) at 0 $^\circ\text{C}$. The reaction mixture was stirred for 4 h at room

temperature and then the reaction temperature was raised to 40 °C and stirred for 6 h. Then the reaction mixture was neutralized with Dowex 50W-4X, filtered, and concentrated in *vacuo*. Concentration under reduced pressure gave colorless syrup. Then, resultant mixture was dissolved in *n*-BuOH (1.24 mL, 10 mM) and added ethylene diamine (60 μL, 0.60 mmol). After stirring under reflux condition for 12 h, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. Purification of the residue by column chromatography (20/1 CHCl₃/MeOH) of the residue afforded **316** (16.1 mg, 93%).

Data for **316**: Colorless syrup; *R_f* 0.75 (20/1 CHCl₃/MeOH); [α]²³_D +10.9° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.35-7.12 (35H, m, Ar-H), 4.92 (1H, br-s, H-1'''), 4.90 and 4.63 (2H, ABq, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.87 (1H, d, *J*_{1'',2''} = 3.5 Hz, H-1''), 4.86 (1H, br-s, H-1), 4.84 and 4.46 (2H, ABq, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.73 and 4.67 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.72 and 4.57 (2H, ABq, *J* = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.60 and 4.48 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.48 and 4.42 (2H, ABq, *J* = 12.5 Hz, ArCH₂), 4.47 and 4.20 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.38-4.36 (2H, br-s, H-4''), OH), 4.34 (1H, d, *J*_{1',2'} = 8.0 Hz, H-1'), 4.19 (1H, br-d, *J*_{2'',3''} = 2.5 Hz, H-2'''), 3.94-3.86 (3H, m, H-5, 6'a, 2''), 3.84-3.62 (9H, m, H-1B, 2, 3, 4, 6'b, 3'', 6''a, 4'''), OH), 3.62-3.50 (4H, m, H-5', 6''b, 3''', 6''a), 3.50-3.34 (5H, m, H-1A, 4', 5'', 5''', 6''b), 3.16 (1H, dd, *J*_{2',3'} = 8.0 Hz, *J*_{3',4'} = 9.5 Hz, H-3'), 2.67 (1H, dd, *J*_{1',2'} = 8.0 Hz, *J*_{2',3'} = 8.0 Hz, H-2'), 2.31 (1H, br-s, OH), 1.58 (2H, m, CH₂), 1.35 (3H, d, *J*_{5,6} = 6.0 Hz, H-6), 1.24-1.34 (10H, m, CH₂), 0.89 (3H, t, *J* = 7.0 Hz, CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.2, 138.1×2, 137.9, 137.7, 137.5, 128.4, 128.3×4, 128.2, 128.0×2, 127.9, 127.8×2, 127.7, 127.6×3, 127.4×2, 105.8, 100.3, 100.1, 98.5, 89.2, 81.8, 81.5, 80.0, 78.4, 75.5, 75.3, 75.1, 74.9, 74.5, 74.0, 73.2, 72.8, 72.6, 71.1, 69.7, 69.4, 69.3, 69.1, 68.8, 68.4×2, 67.8, 62.4, 59.4, 56.2, 34.8, 31.7, 29.4, 29.3, 29.1, 26.1, 22.6, 18.8, 17.9, 14.0, 13.8; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 707.8462 (707.8466 calcd for C₈₁H₁₀₂NO₁₉Na [M+H+Na]²⁺).

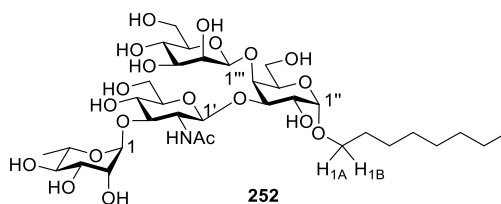
Compound **317**



To a solution of **316** (16.1 mg, 11.6 μmol) in dry pyridine (480 μL, 24 mM) was added Ac₂O (480 μL, 5.08 mmol) and DMAP (1.4 mg, 11.6 μmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 4 h at room temperature and then H₂O (1.0 mL) was added at 0 °C. The layers were separated and the organic phase was diluted with EtOAc (2.0 mL), washed with brine (2.0 mL), and then dried over anhydrous Na₂SO₄. Concentration under reduced pressure followed by column chromatography (8/1 toluene/acetone) of the residue afforded **317** (17.5 mg, 95%).

Data for **317**: Foam; R_f 0.55 (4/1 toluene/acetone); $[\alpha]_D^{25} +14.0^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.35-7.17 (35H, m, Ar-H), 6.20 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, NH), 5.65 (1H, br-s, H-2''), 5.02 (1H, dd, $J_{1'',2''} = 4.0$ Hz, $J_{2'',3''} = 10.0$ Hz, H-2''), 4.98 (1H, br-d, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, H-1), 4.96 (1H, d, $J_{1'',2''} = 4.0$ Hz, H-1''), 4.95 (1H, d, $J_{1',2'} = 7.5$ Hz, H-1'), 4.92 (1H, dd, $J_{3'',4''} = 10.0$ Hz, $J_{4'',5''} = 10.0$ Hz, H-4'), 4.87 and 4.58 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH_2), 4.85 and 4.52 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH_2), 4.77 and 4.56 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH_2), 4.68 and 4.64 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH_2), 4.64 (1H, br-s, H-1'''), 4.63 and 4.50 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH_2), 4.59 (1H, m, H-3'), 4.47 (2H, s, ArCH_2), 4.43 and 4.38 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH_2), 4.36 (1H, dd, $J_{5'',6''a} = 6.0$ Hz, $J_{6''a,6''b} = 11.5$ Hz, H-6''a), 4.27 (1H, dd, $J_{5'',6''b} = 6.0$ Hz, $J_{6''a,6''b} = 11.5$ Hz, H-6''b), 4.13 (1H, dd, $J_{2'',3''} = 10.0$ Hz, $J_{3'',4''} = 3.0$ Hz, H-3''), 4.08 (1H, d, $J_{3'',4''} = 3.0$ Hz, H-4''), 3.94 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-5''), 3.75-3.67 (6H, m, H-3, 5, 3''', 5''', 6''a, 6''b), 3.65 (1H, dd, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, $J_{2,3} = 2.0$ Hz, H-2), 3.62-3.58 (2H, m, H-1B, 5'), 3.57-3.48 (3H, m, H-6'a, 6'b, 4'''), 3.42-3.35 (2H, m, H-1A, 4), 3.14 (1H, m, H-2'), 2.22 (3H, s, OC(O)CH_3), 2.12 (3H, s, NHC(O)CH_3), 1.99 (3H, s, OC(O)CH_3), 1.95 (3H, s, OC(O)CH_3), 1.79 (3H, s, OC(O)CH_3), 1.58-1.52 (2H, m, CH_2), 1.31-1.22 (13H, m, CH_2 , H-6), 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 171.2, 170.9, 170.4, 169.9, 138.8, 138.5 \times 2, 138.4, 138.3, 137.7 \times 2, 128.5, 128.4, 128.3 \times 2, 128.2 \times 2, 128.1, 127.8 \times 2, 127.7 \times 2, 127.6 \times 2, 127.5, 127.4 \times 2, 127.3, 100.8, 99.2, 99.0, 95.8, 80.1, 79.7, 76.2, 75.5, 75.4, 75.0, 74.9, 74.2, 73.5, 73.4, 72.9, 72.5, 72.1, 71.6, 71.0, 70.9, 69.5, 69.4, 68.9, 68.5, 68.3, 67.6, 63.7, 60.4, 58.8, 31.8, 29.3 \times 2, 29.2, 26.1, 23.4, 22.6, 21.2, 21.1, 20.8, 17.9, 14.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 820.8563 (820.8600 calcd for $\text{C}_{91}\text{H}_{112}\text{NO}_{24}\text{K} [\text{M}+\text{H}+\text{K}]^{2+}$).

Compound **252**

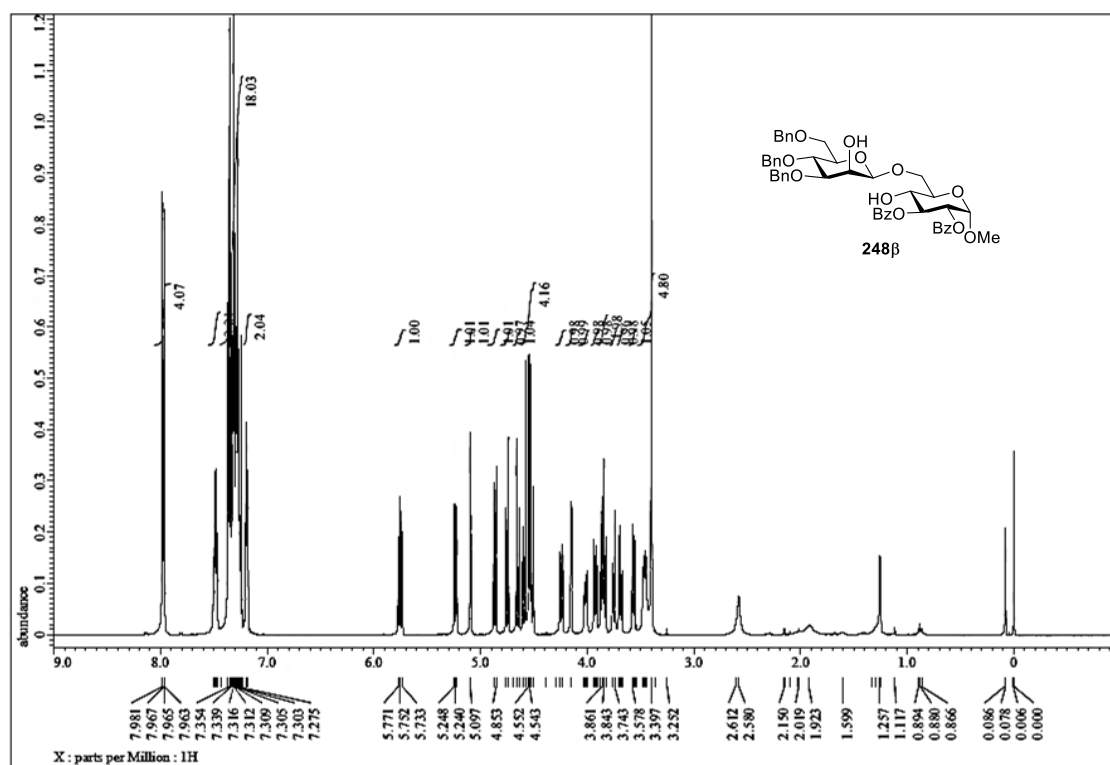


To a solution of **317** (17.5 mg, 10.9 μmol) in dry THF (1.09 mL, 10 mM) was added 10% $\text{Pd}/(\text{OH})_2/\text{C}$ (17.5 mg) under H_2 atmosphere (balloon) at room temperature. After stirring for 40 min, the reaction was filtrated through celite pad, and the filtrate was concentrated under reduced pressure.

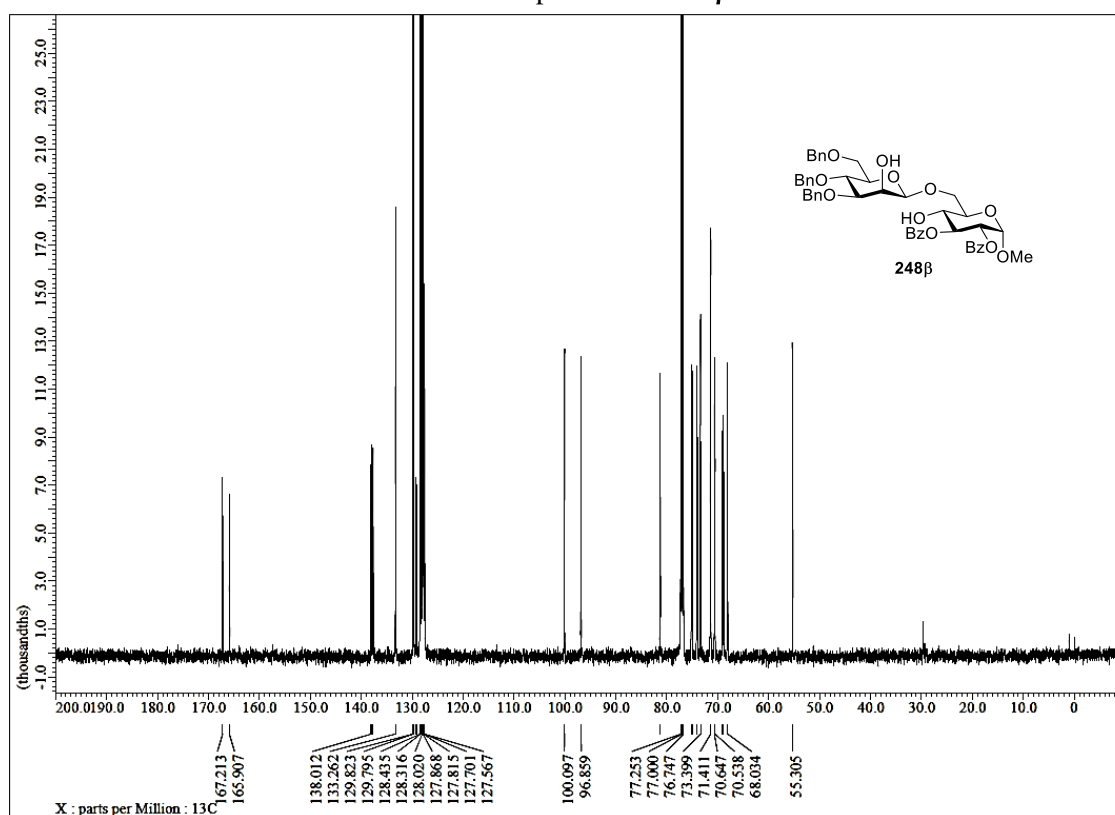
To a solution of resultant mixture in dry MeOH (1.09 mL, 10 mM) was added 28% NaOMe in MeOH (2.0 μL , 10.9 μmol) at 0 $^\circ\text{C}$. The reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature. Then the reaction mixture was neutralized with Dowex 50W-4X, filtered, and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography eluted with 30% MeOH/ H_2O to give **252** (8.7 mg, 10.8 μmol , 99% yield).

Data for **8**: White solid; R_f 0.20 (1/1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); $[\alpha]_D^{23} +8.04^\circ$ (c 1.0, H_2O); mp 154-155 $^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, D_2O) δ 5.02 (1H, br-s, H-1'''), 4.97 (1H, d, $J_{1'',2''} = 4.0$ Hz, H-1''), 4.93 (1H, br-s, H-1), 4.88 (1H, d, $J_{1',2'} = 9.0$ Hz, H-1'), 4.42 (1H, br-s, H-4''), 4.12 (1H, dd, $J_{2'',3''} = 10.5$ Hz, $J_{3'',4''} = 2.5$ Hz, H-3''), 4.08 (1H, d, $J_{2''',3'''} = 3.0$ Hz, H-2'''), 4.01-3.97 (5H, m, H-5, 6'a, 2'', 6''a, 6'''a), 3.91-3.74 (8H, m, H-1B, 2, 3, 2', 6'b, 5'', 6''b, 6'''b), 3.70 (1H, dd, $J_{2''',3'''} = 3.0$ Hz, $J_{3''',4'''} = 10.0$ Hz, H-3'''), 3.67 (1H, dd, $J_{2',3'} = 10.0$ Hz, $J_{3',4'} = 10.0$ Hz, H-3'), 3.63-3.52 (4H, m, H-1A, 4', 5', 4'''), 3.49 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.42 (1H, m, H-5'''), 2.13 (3H, s, NHC(O)CH_3), 1.69 (2H, m, CH_2), 1.48-1.32 (10H, m, CH_2), 1.30 (3H, d, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H-6), 0.93 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, D_2O) δ 174.9, 102.0, 100.9, 99.3, 82.0, 78.1, 76.7, 76.6, 73.6, 72.5, 71.4, 71.2, 70.8 \times 2, 69.5, 69.3, 69.2, 68.8, 67.7, 61.8, 61.5, 61.3, 56.5, 31.8, 29.3, 29.2, 29.1, 26.1, 22.8, 22.7, 17.1, 14.1; HRMS (ESI-TOF) m/z 826.3647 (826.3685 calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{61}\text{NO}_{20}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

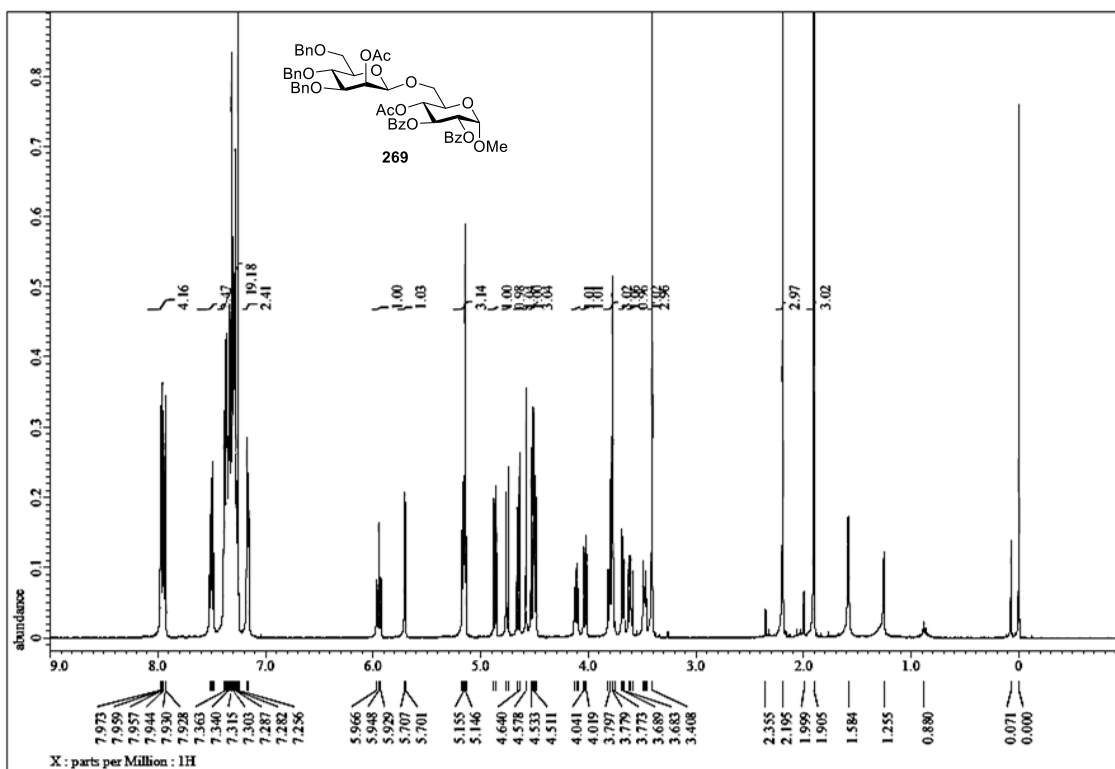
NMR Spectral Charts of Compounds in Chapter 1



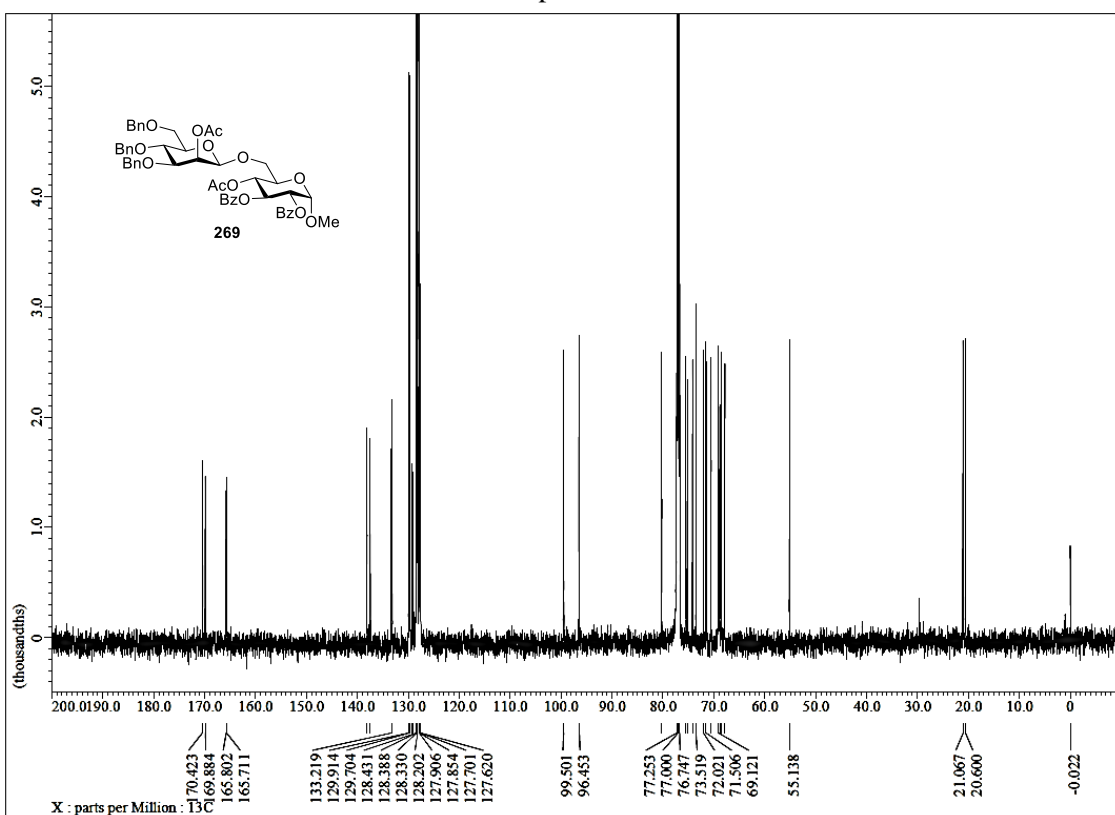
$^1\text{H-NMR}$ spectrum of 248 β



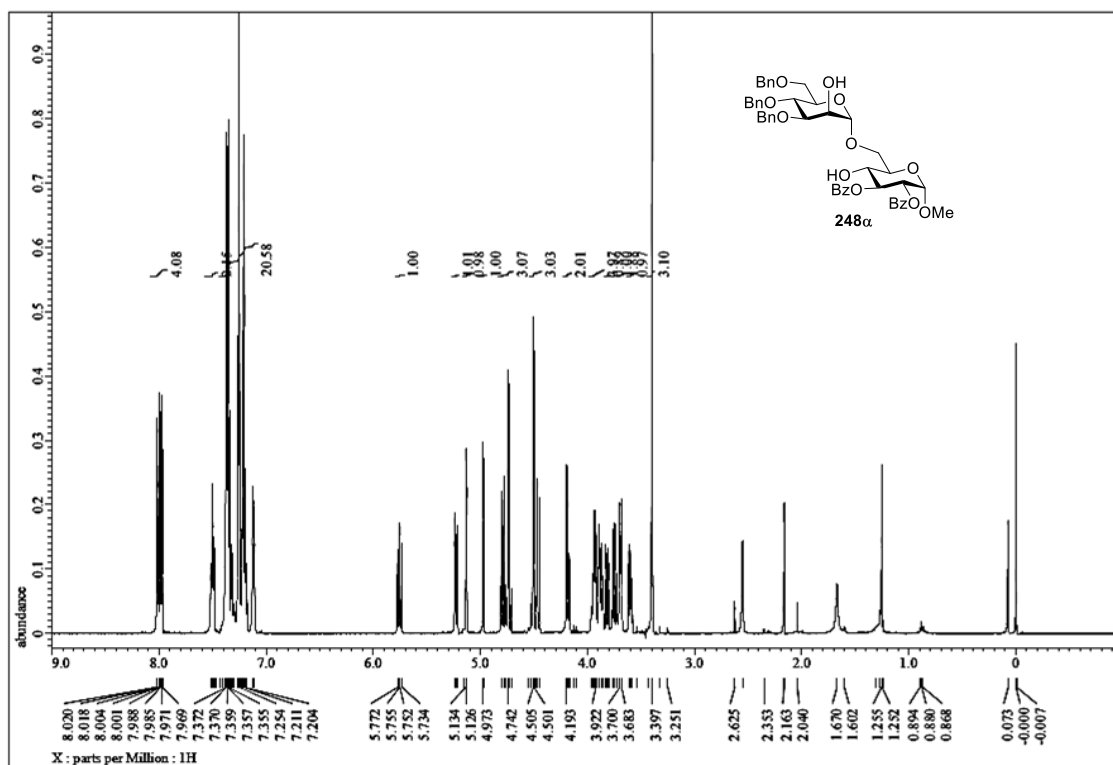
$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of 248 β



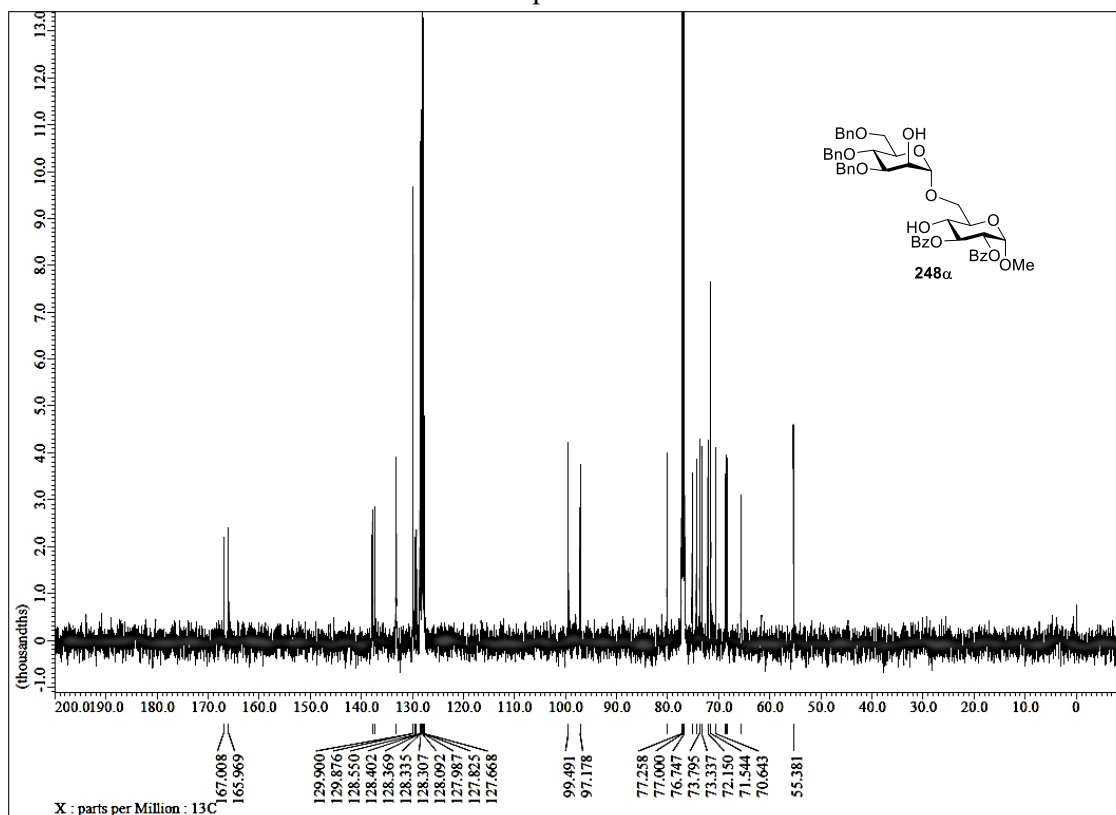
¹H-NMR spectrum of **269**



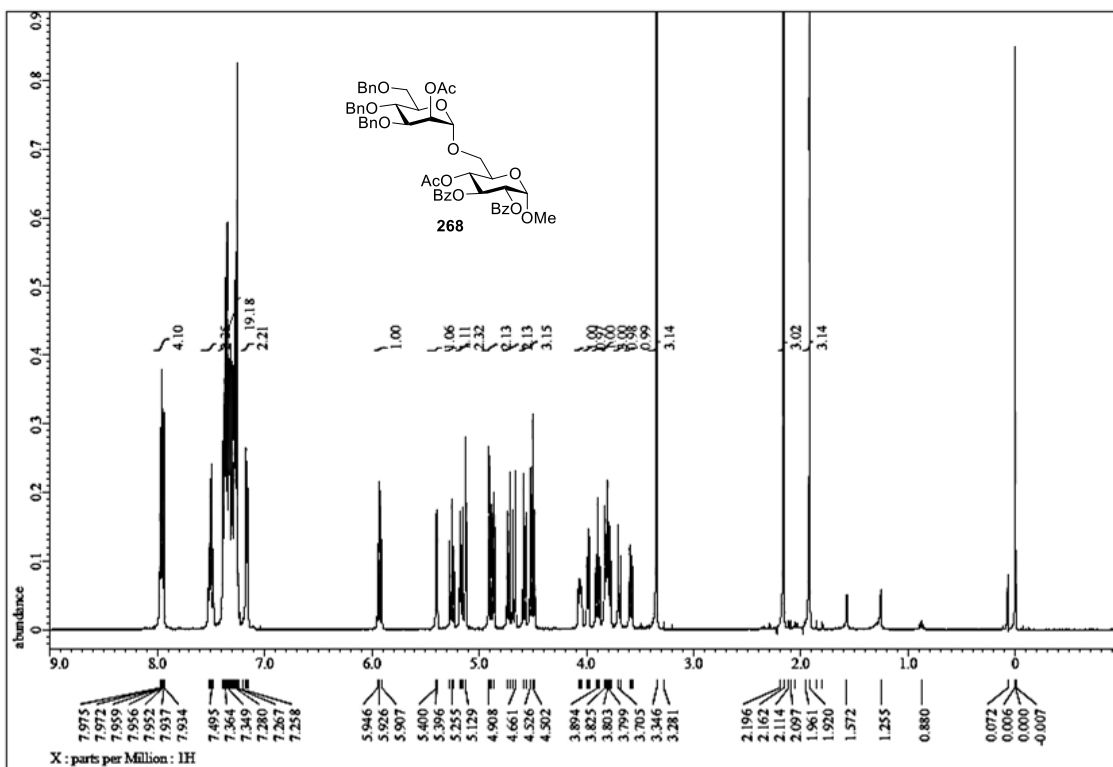
¹³C-NMR spectrum of **269**



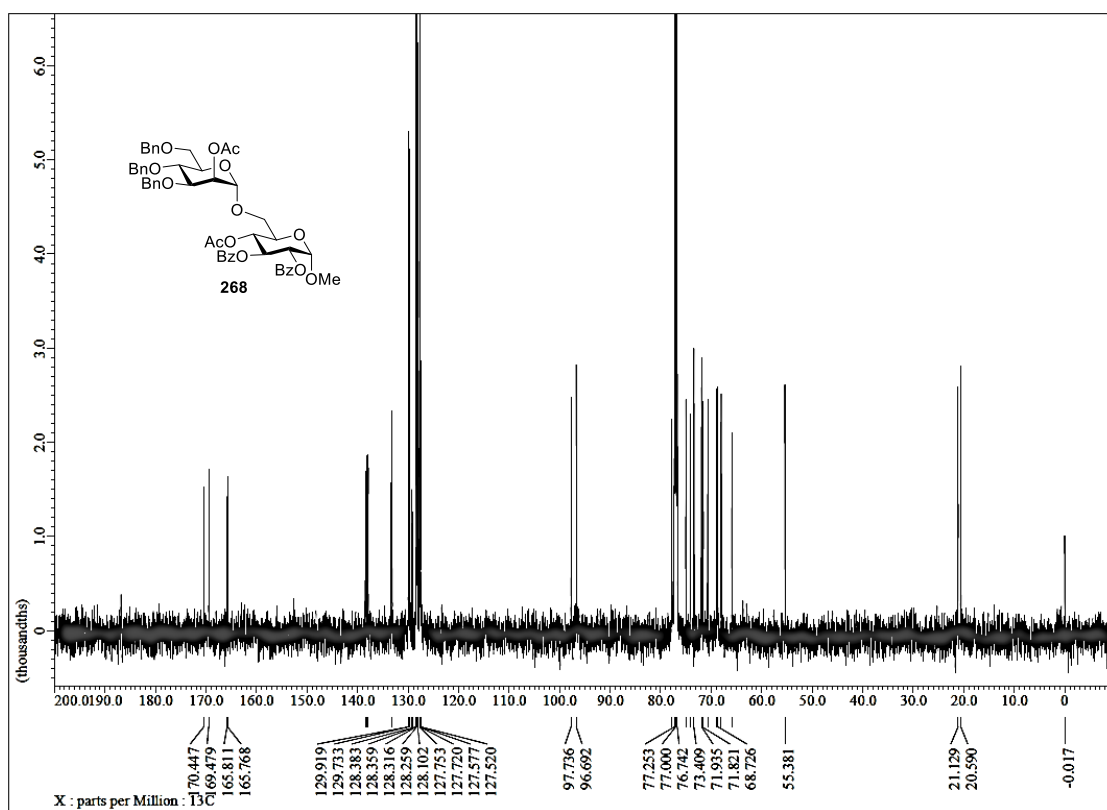
¹H-NMR spectrum of **248 α**



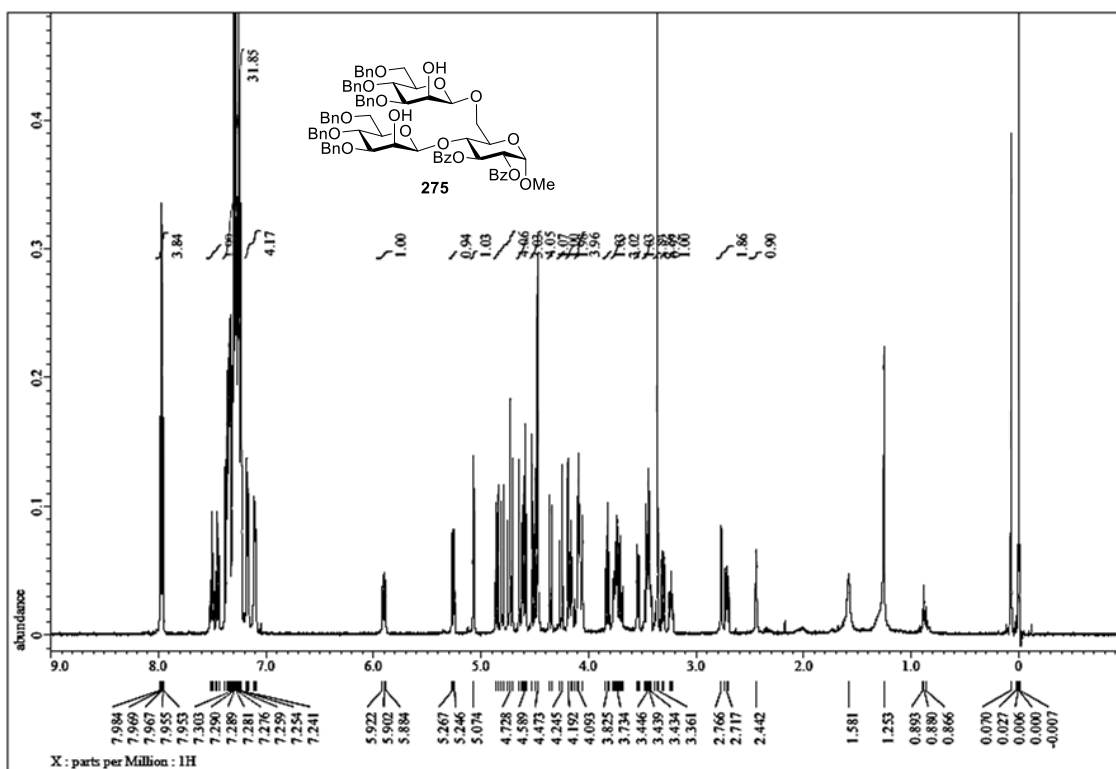
¹³C-NMR spectrum of **248 α**



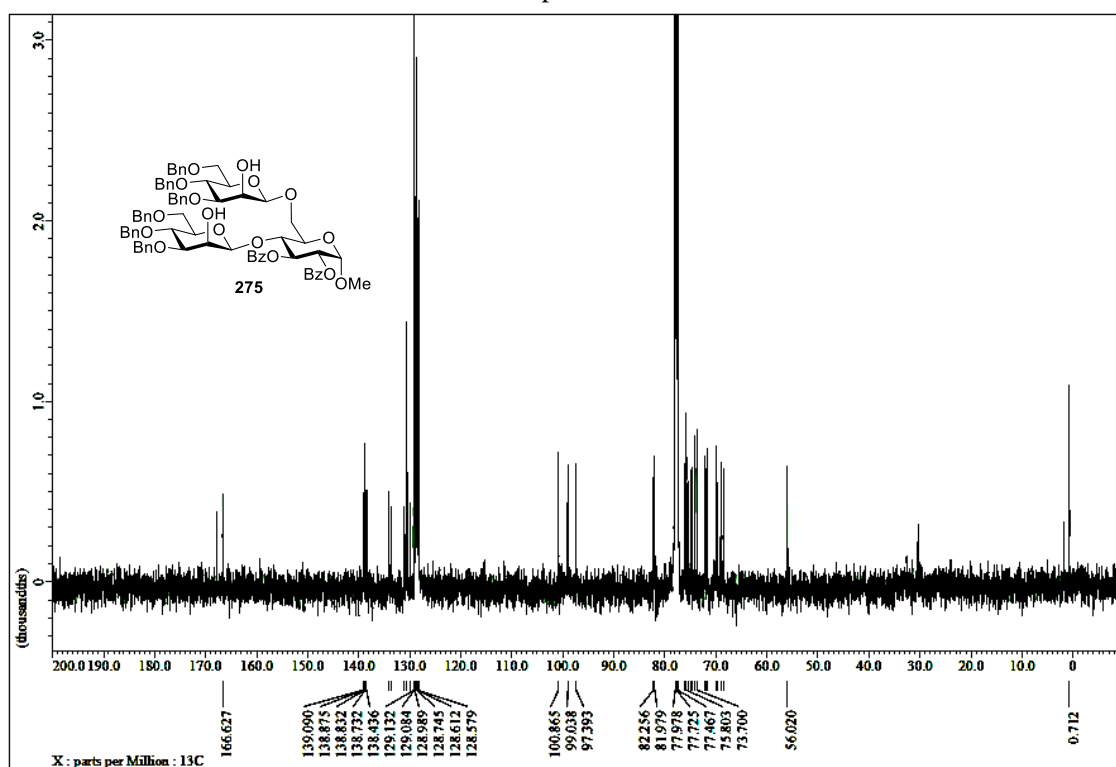
¹H-NMR spectrum of 268



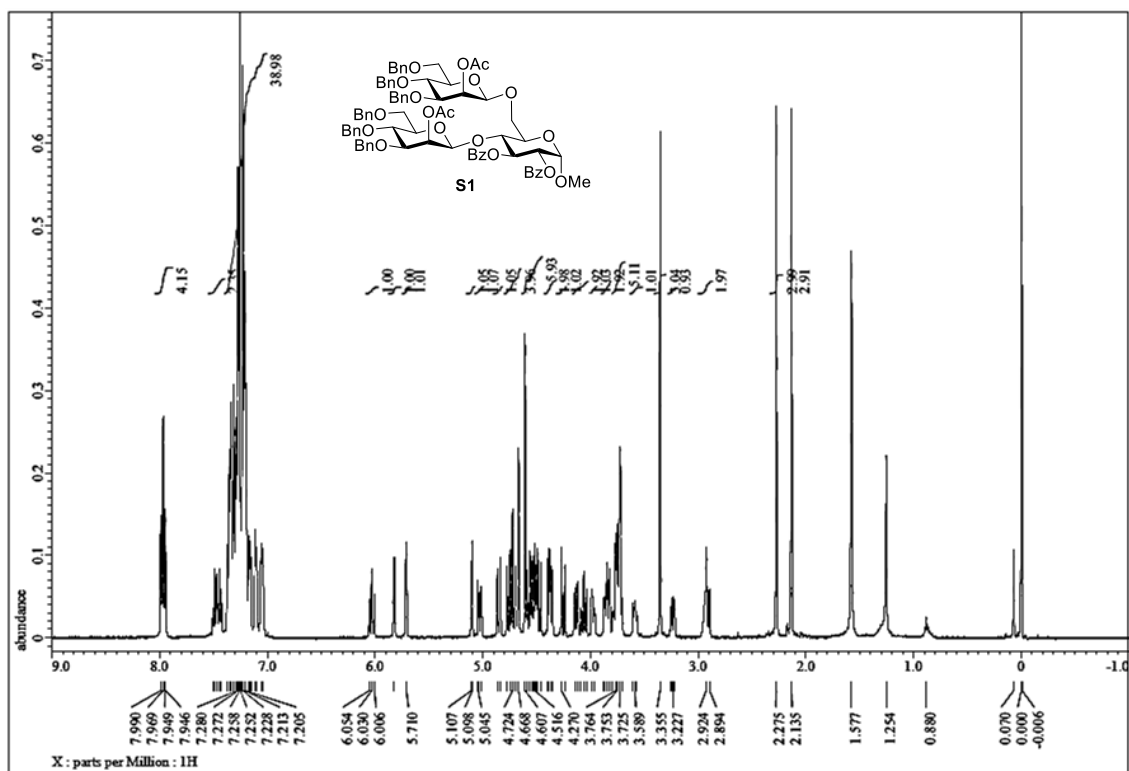
¹³C-NMR spectrum of 268



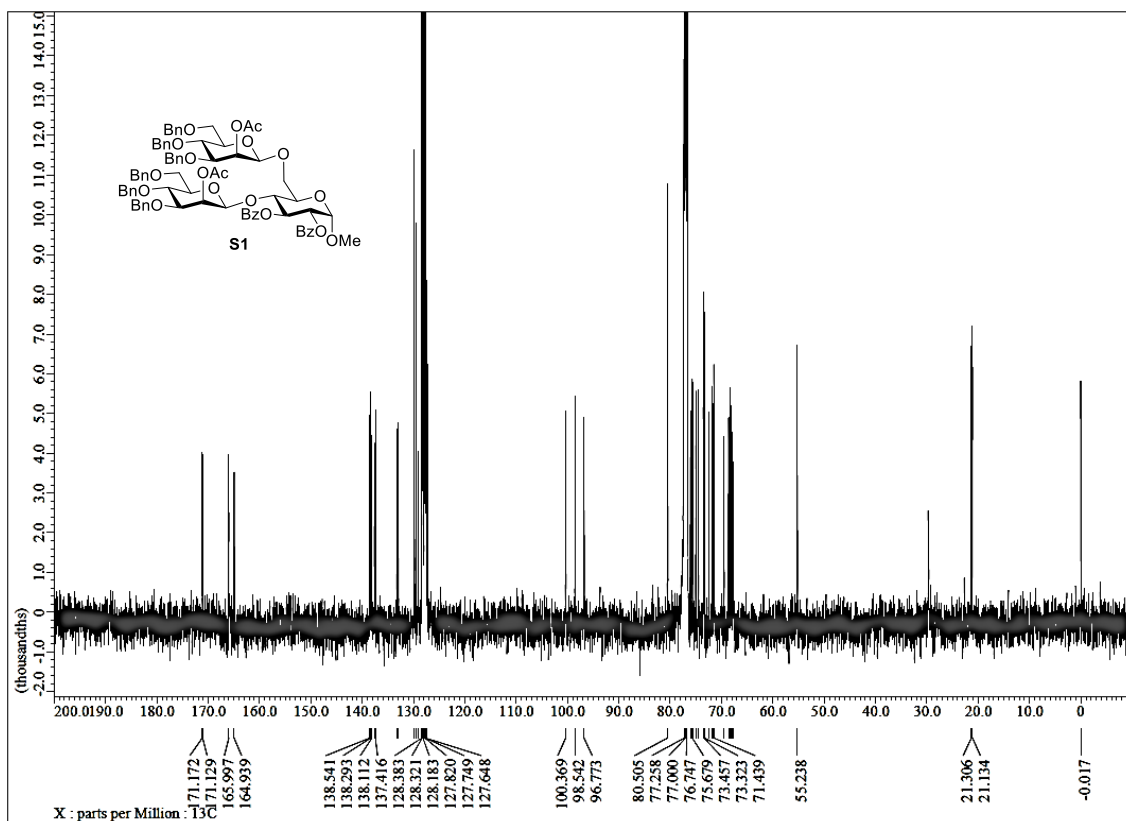
¹H-NMR spectrum of 275



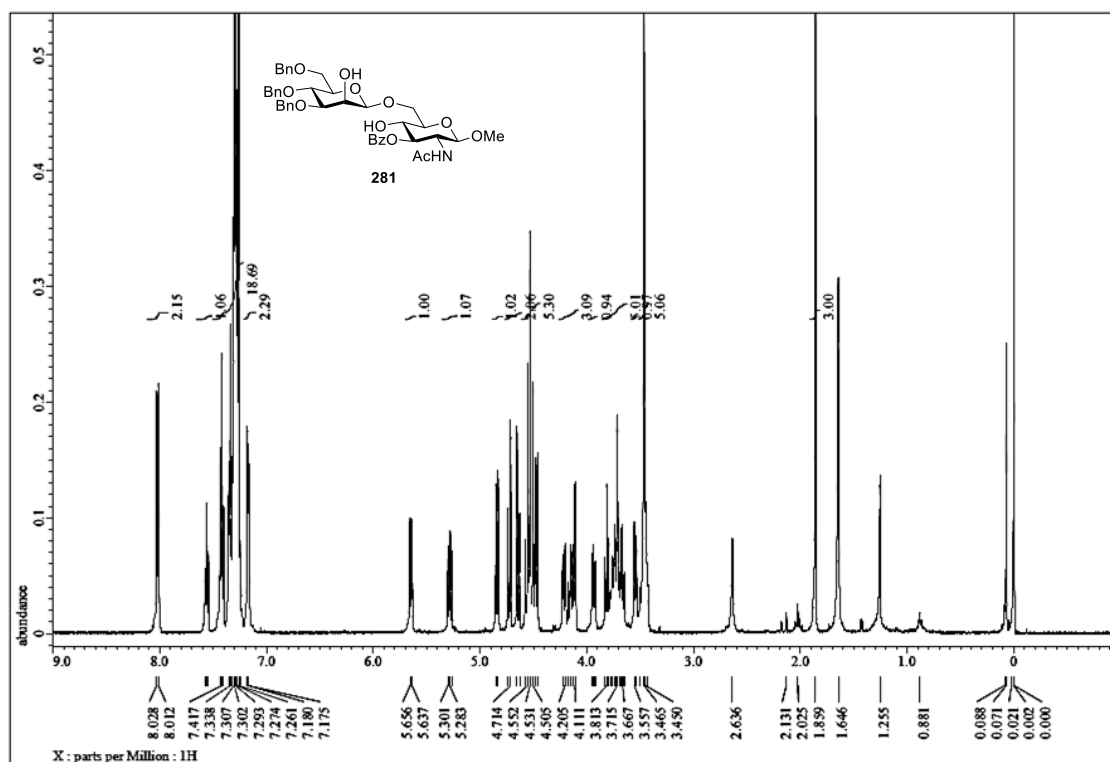
¹³C-NMR spectrum of 275



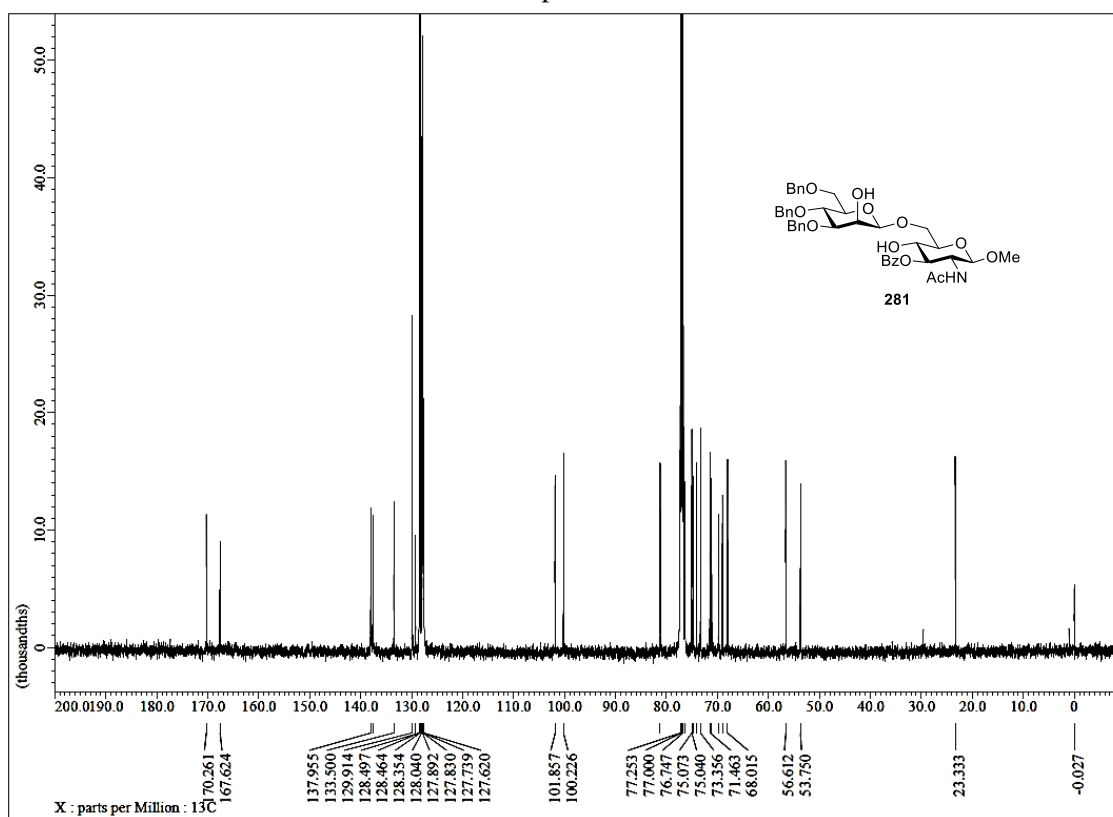
¹H-NMR spectrum of S1



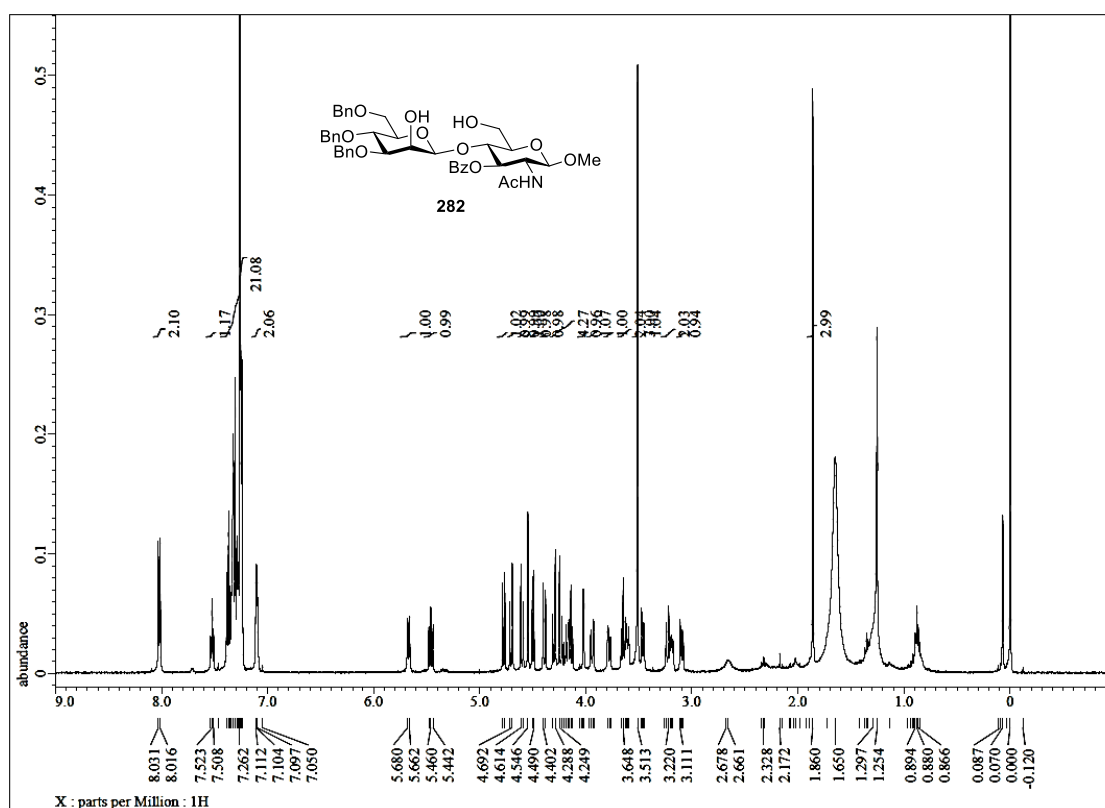
¹³C-NMR spectrum of S1



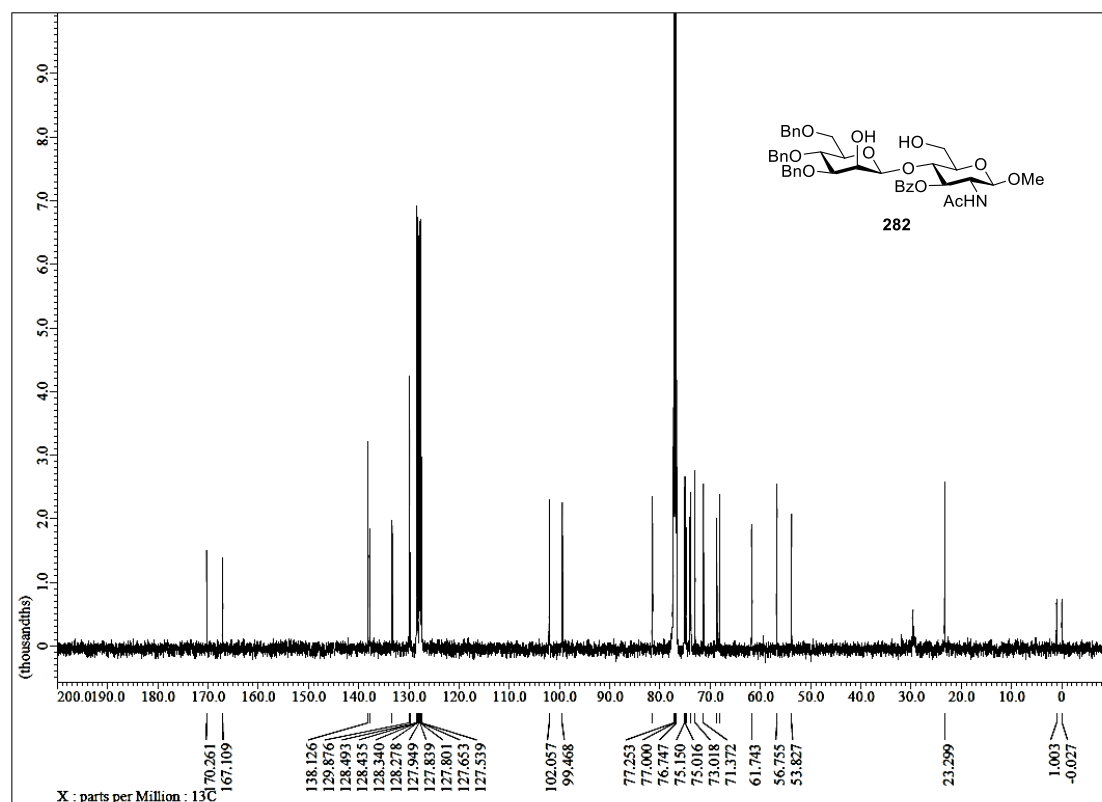
¹H-NMR spectrum of **281**



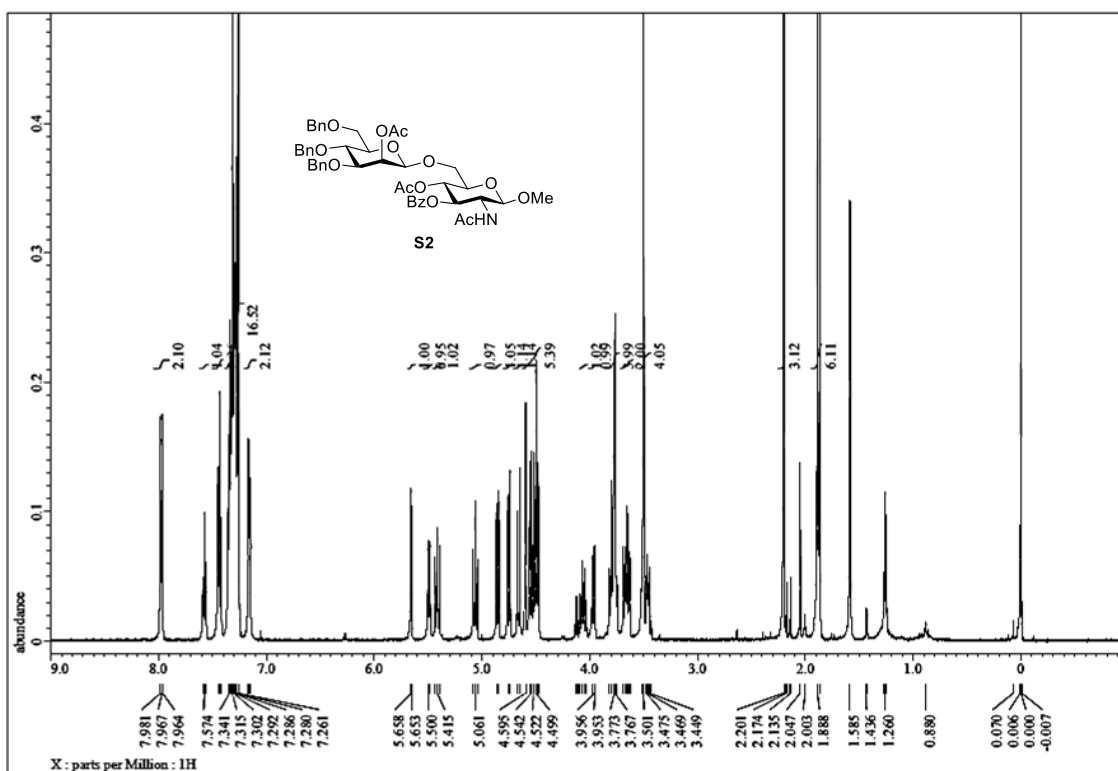
¹³C-NMR spectrum of **281**



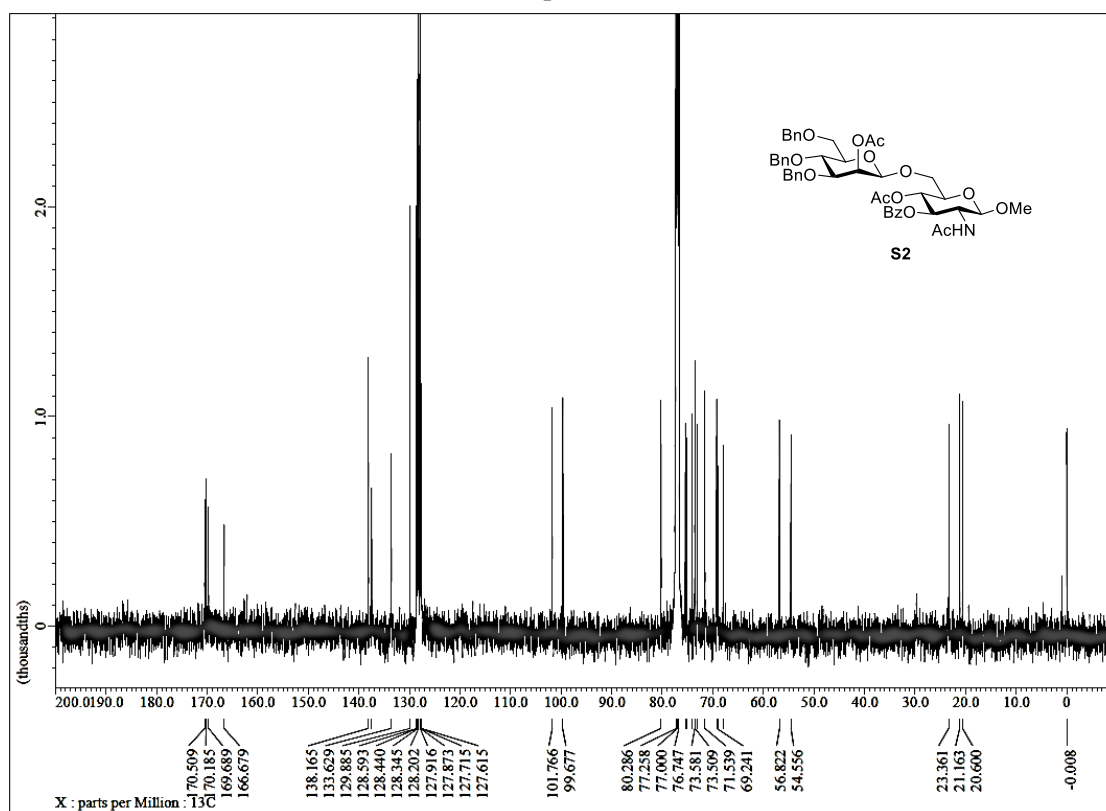
¹H-NMR spectrum of **282**



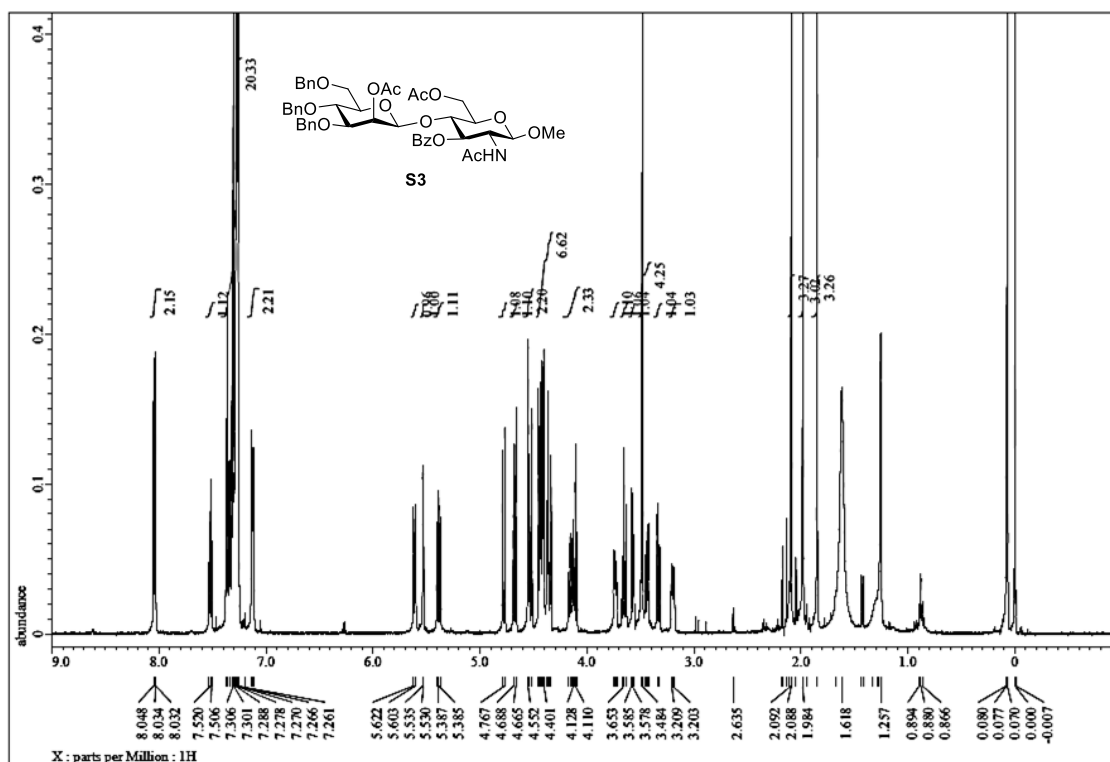
¹³C-NMR spectrum of **282**



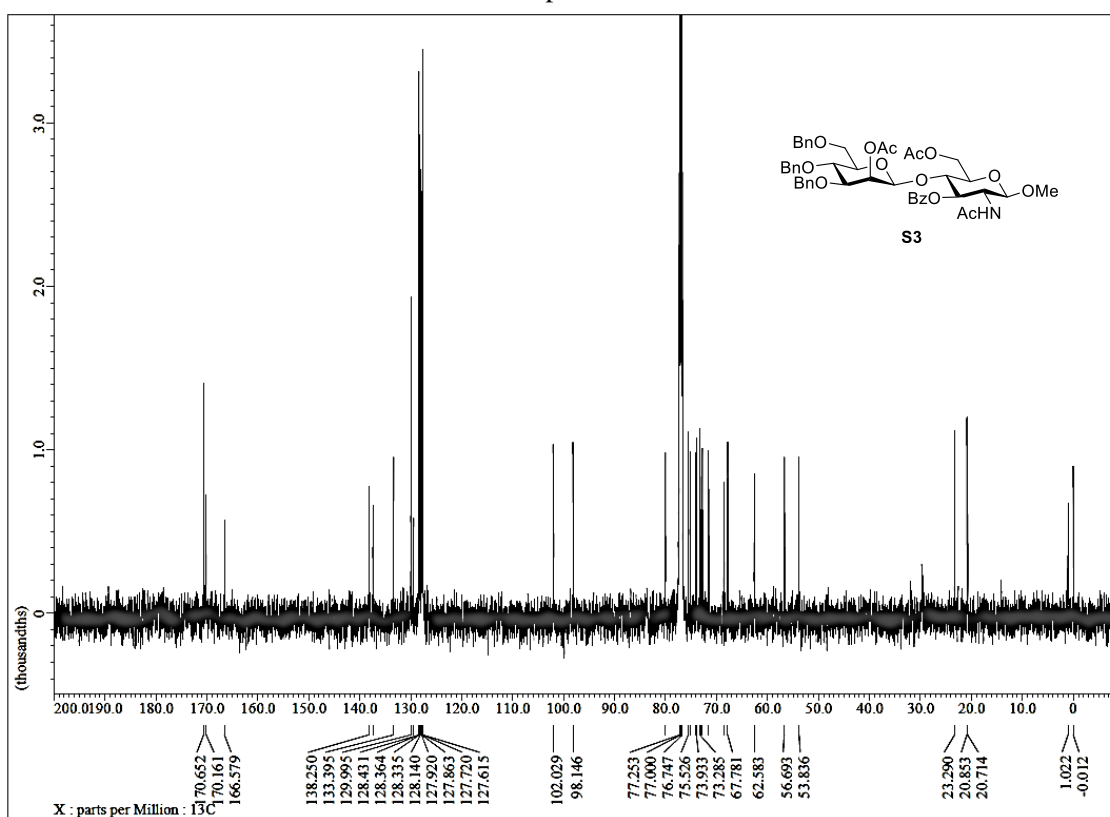
¹H-NMR spectrum of S2



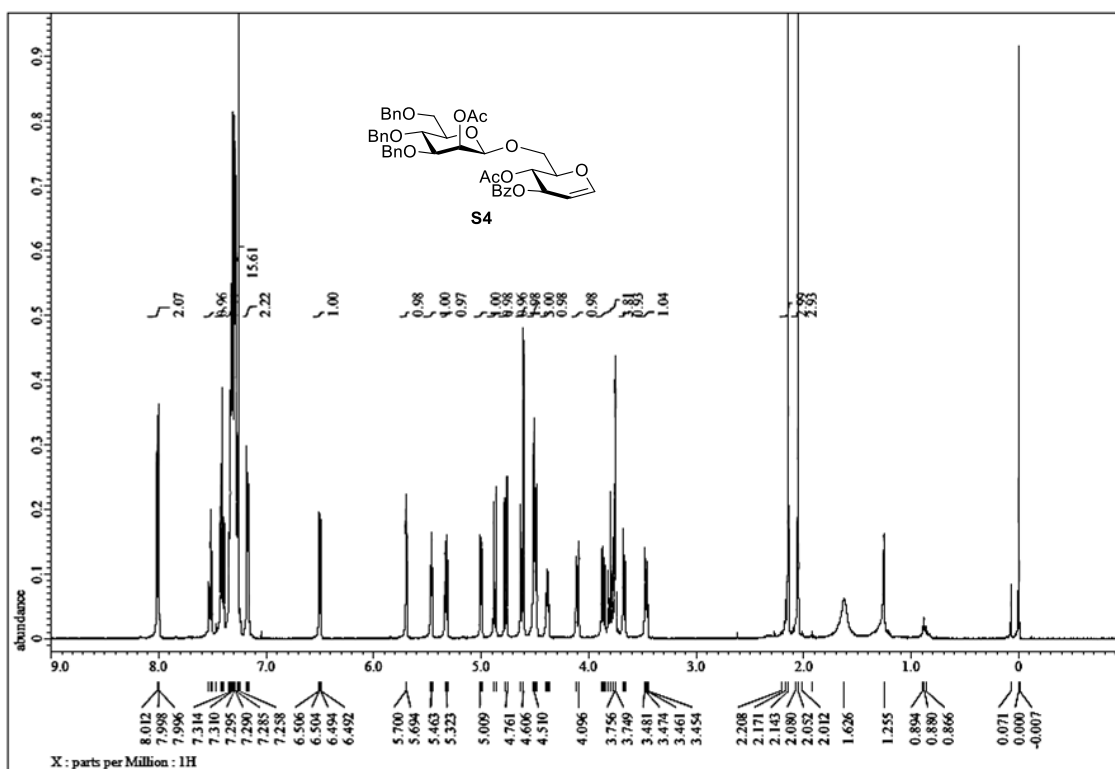
¹³C-NMR spectrum of S2



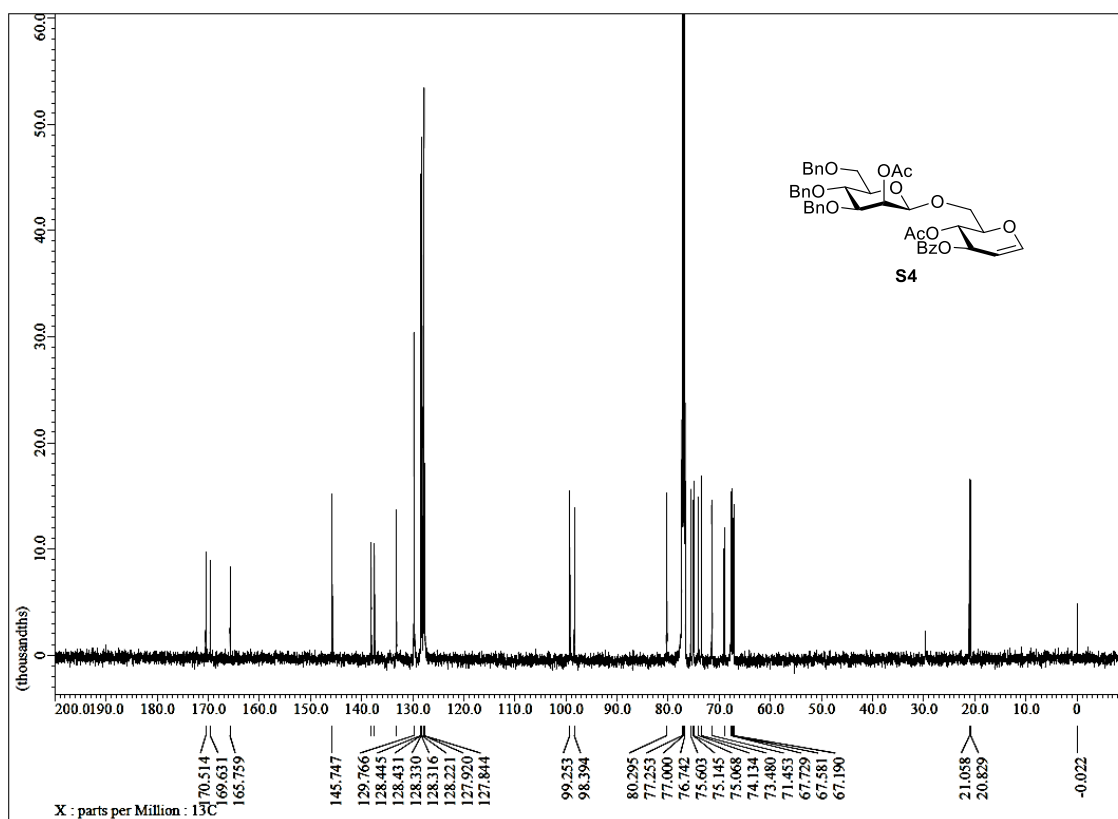
¹H-NMR spectrum of S3



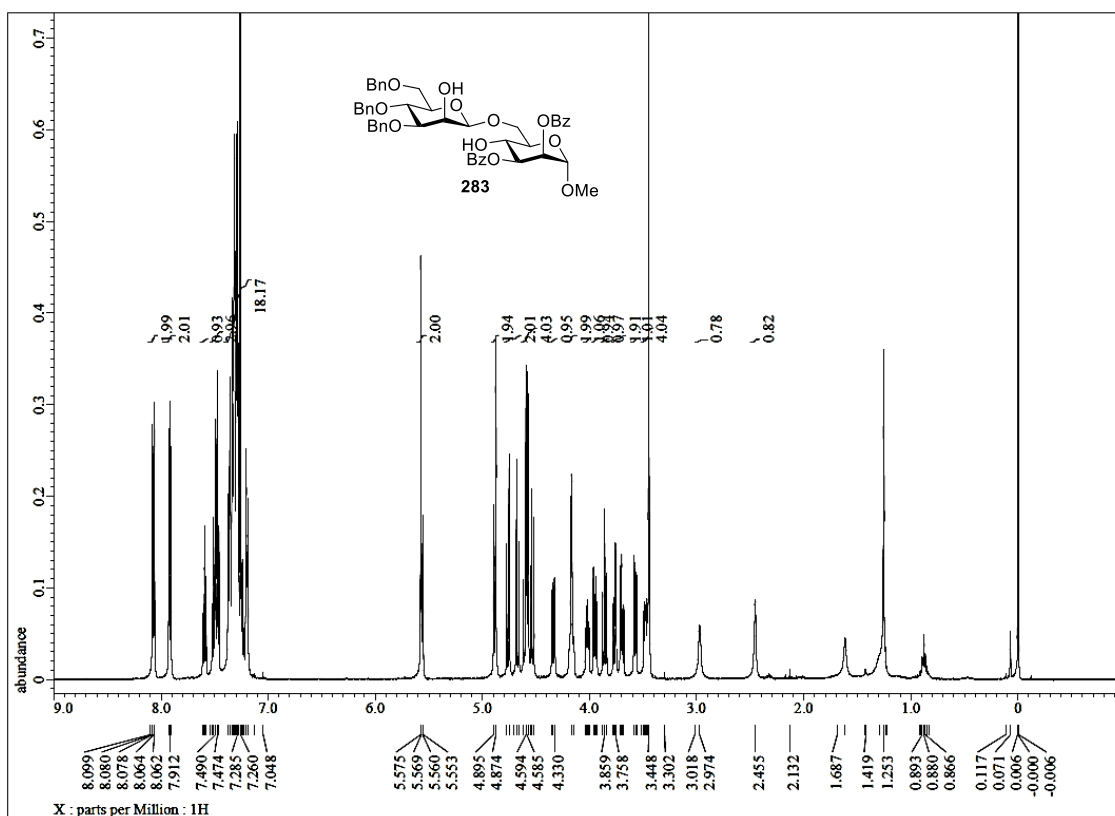
¹³C-NMR spectrum of S3



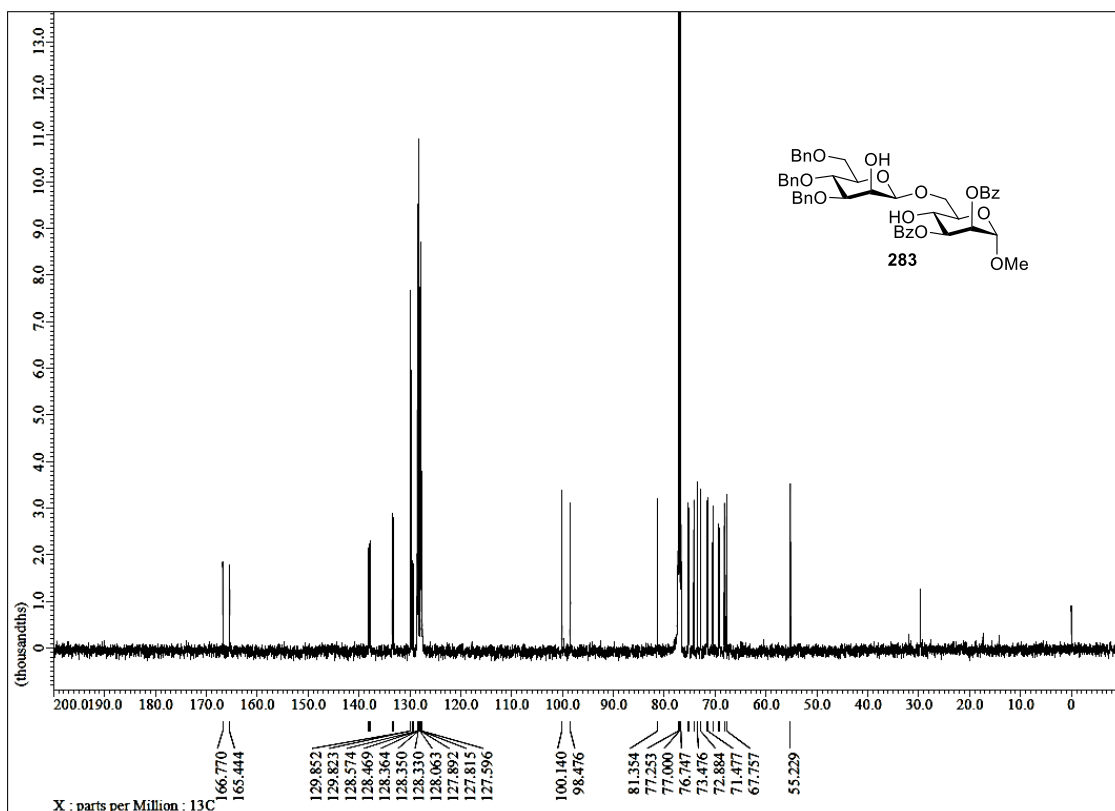
¹H-NMR spectrum of S4



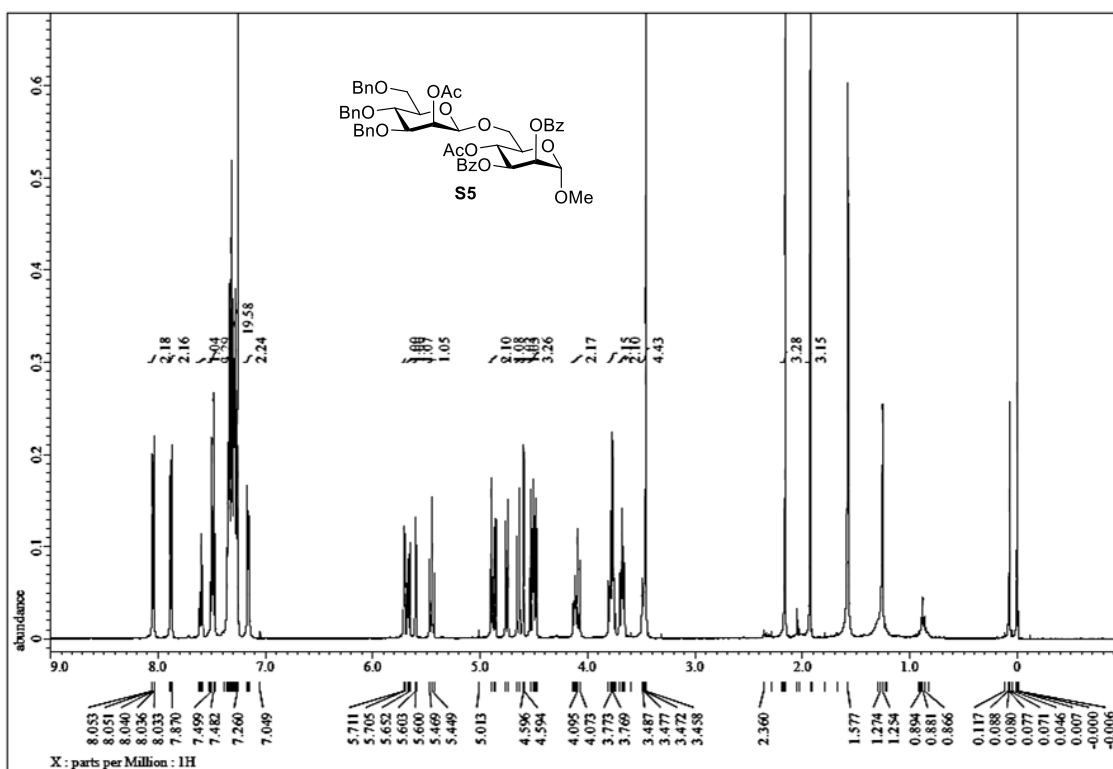
¹³C-NMR spectrum of S4



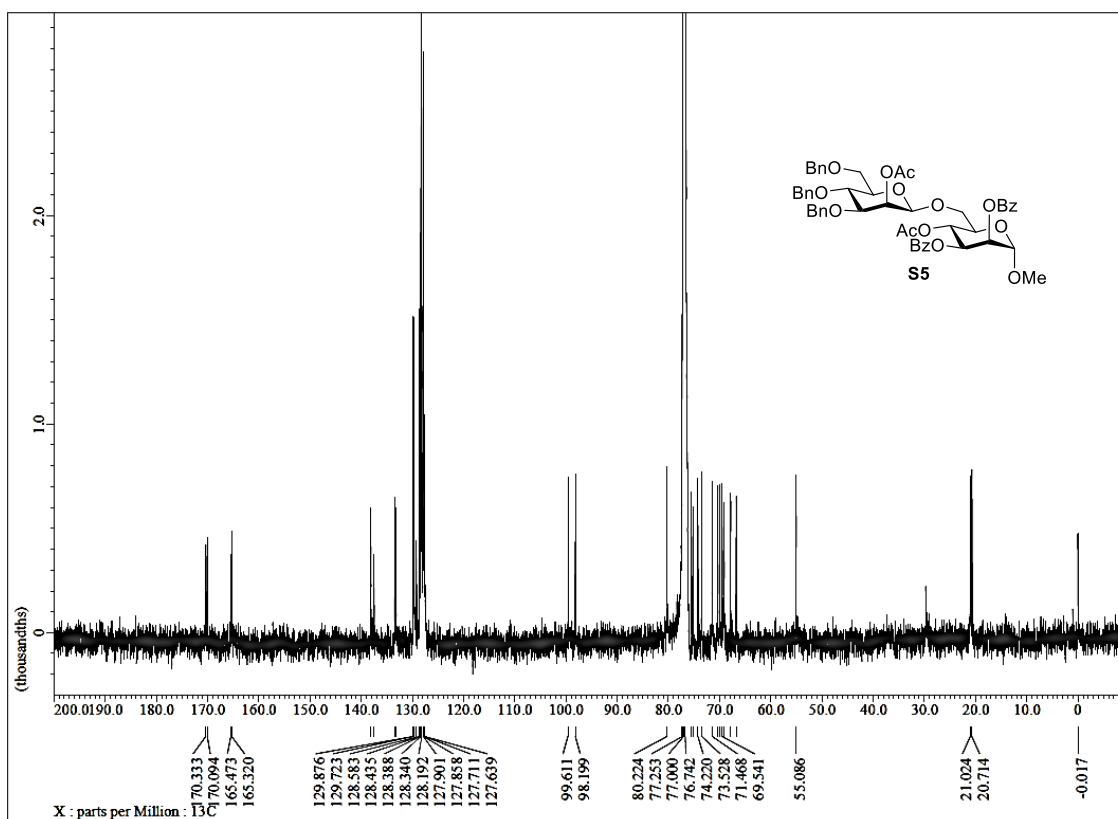
¹H-NMR spectrum of 283



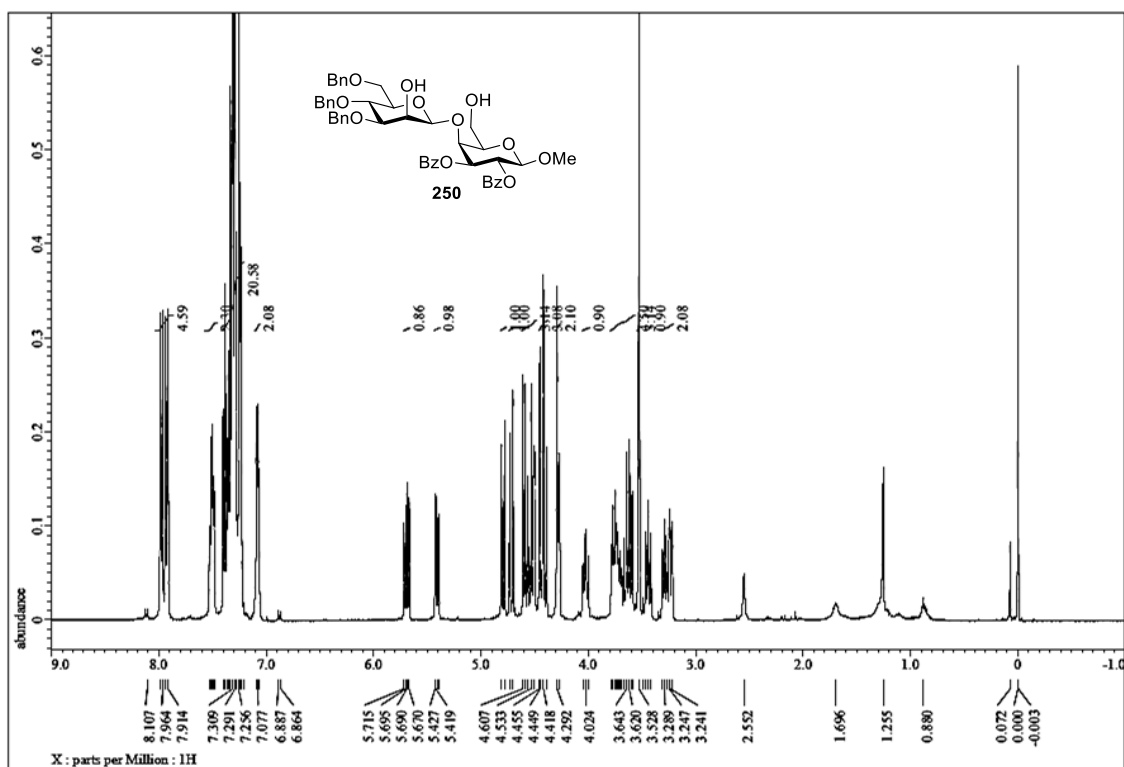
¹³C-NMR spectrum of 283



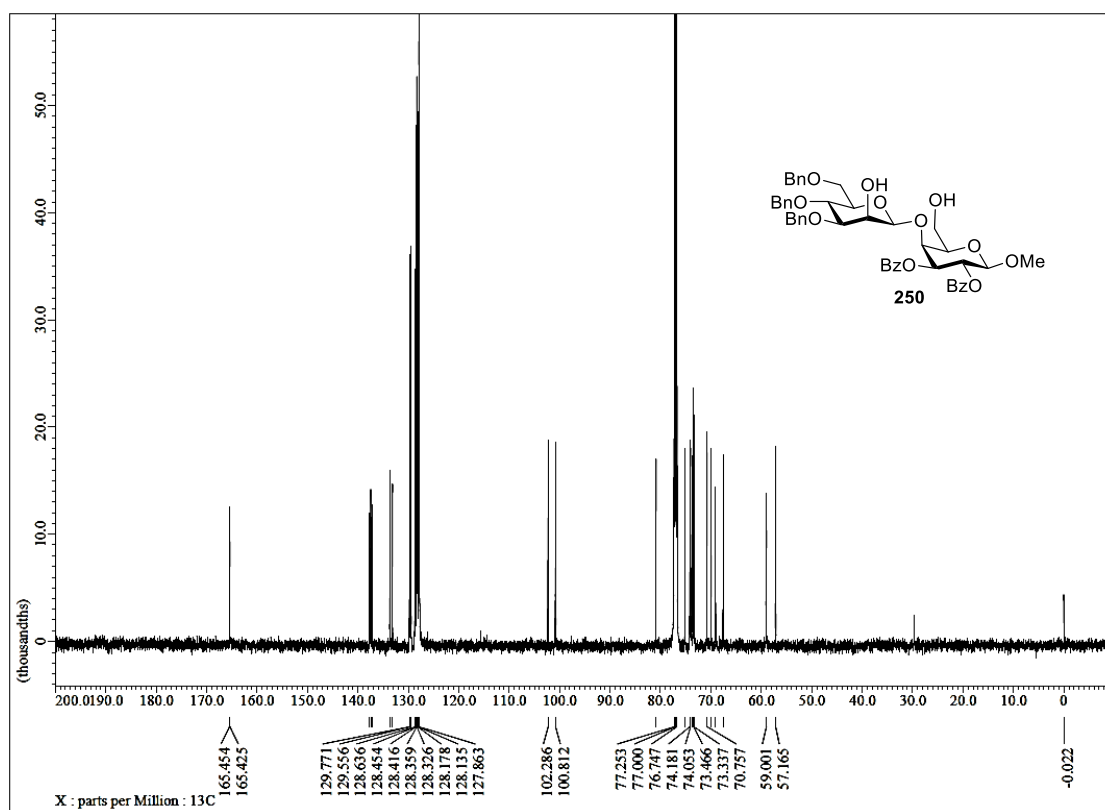
$^1\text{H-NMR}$ spectrum of **S5**



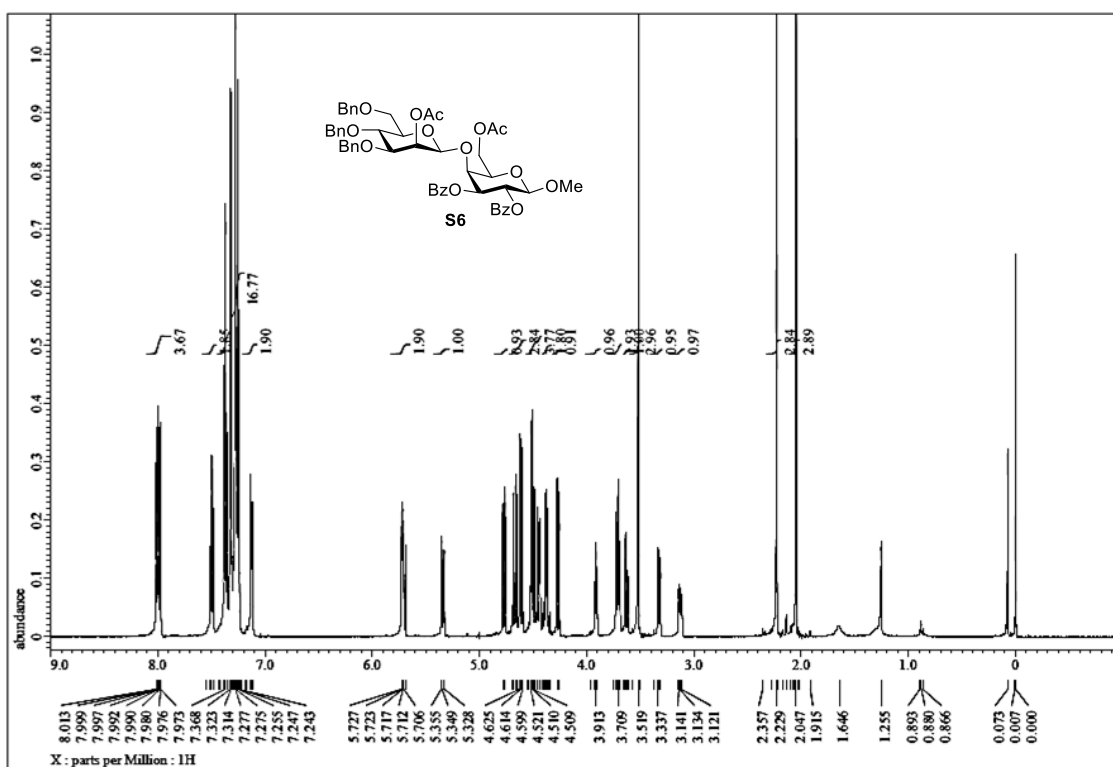
$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of **S5**



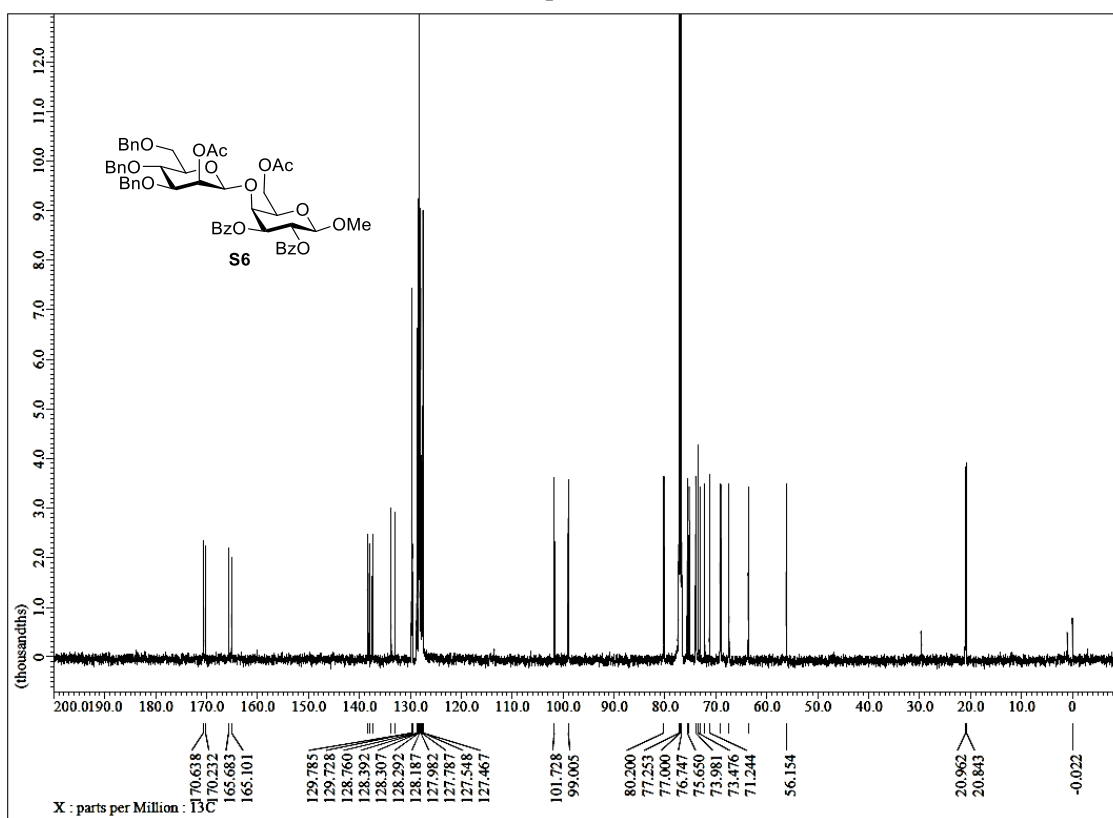
¹H-NMR spectrum of 250



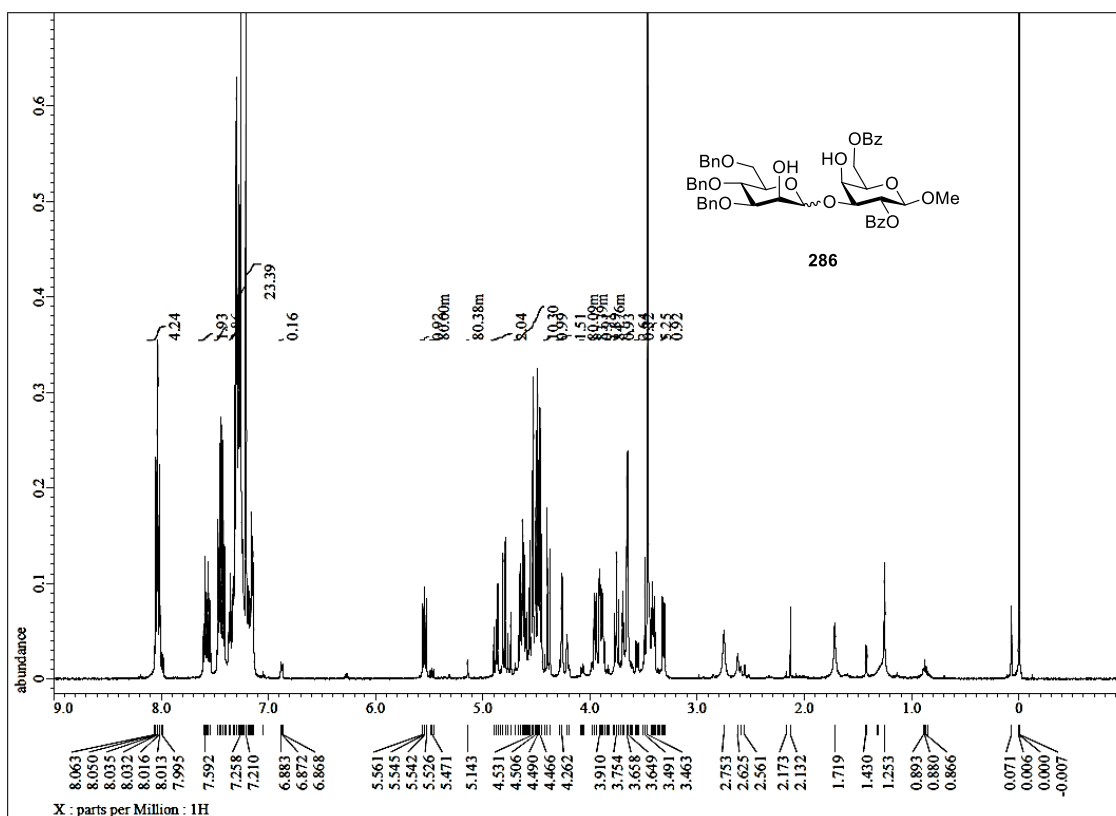
¹³C-NMR spectrum of 250



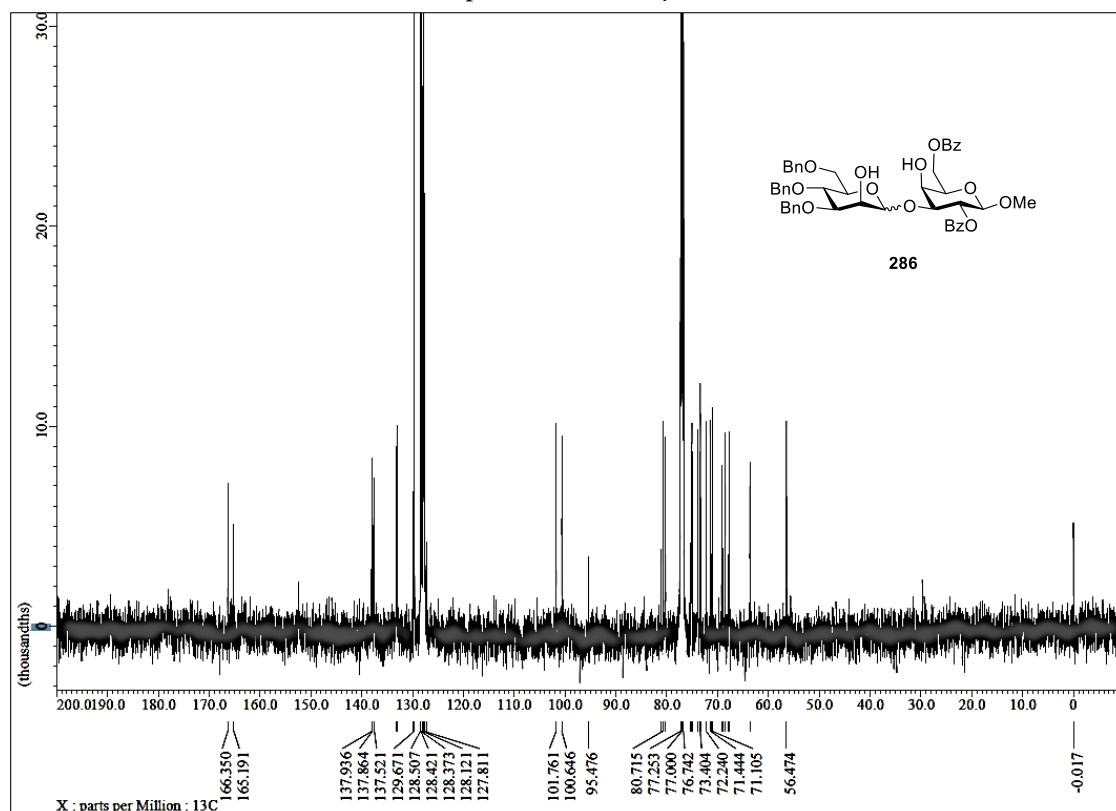
¹H-NMR spectrum of S6



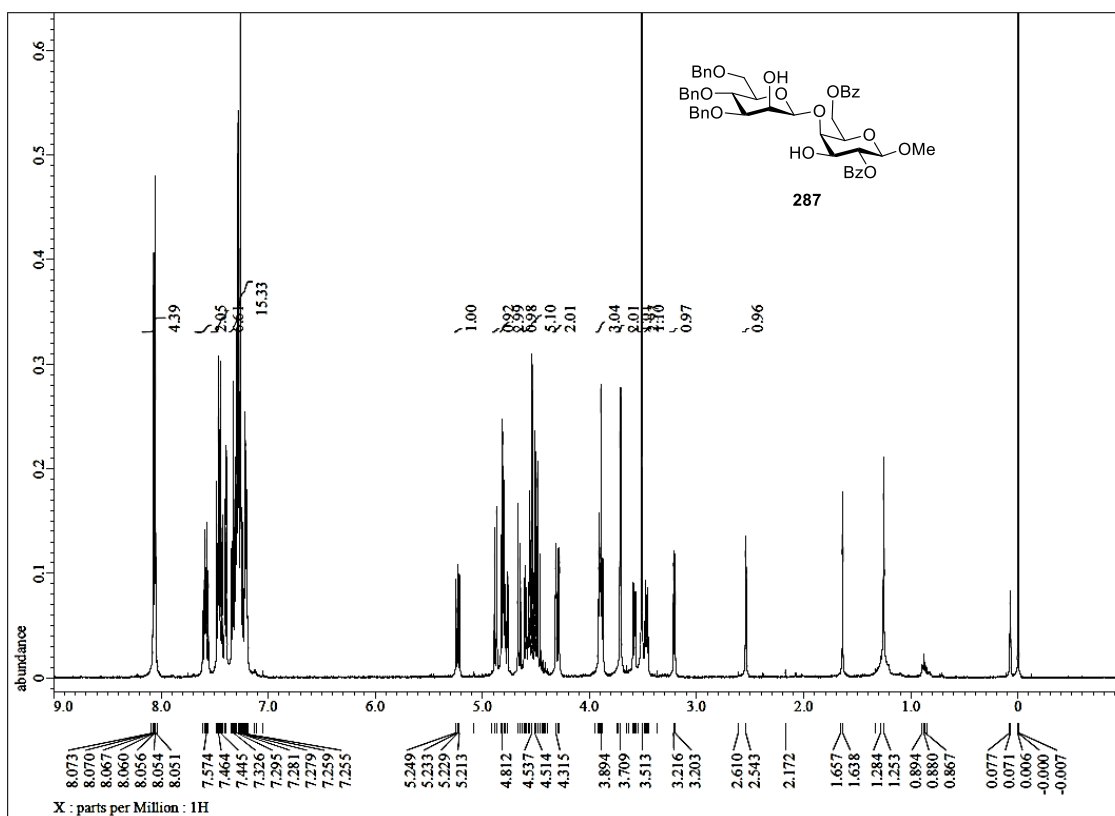
¹³C-NMR spectrum of S6



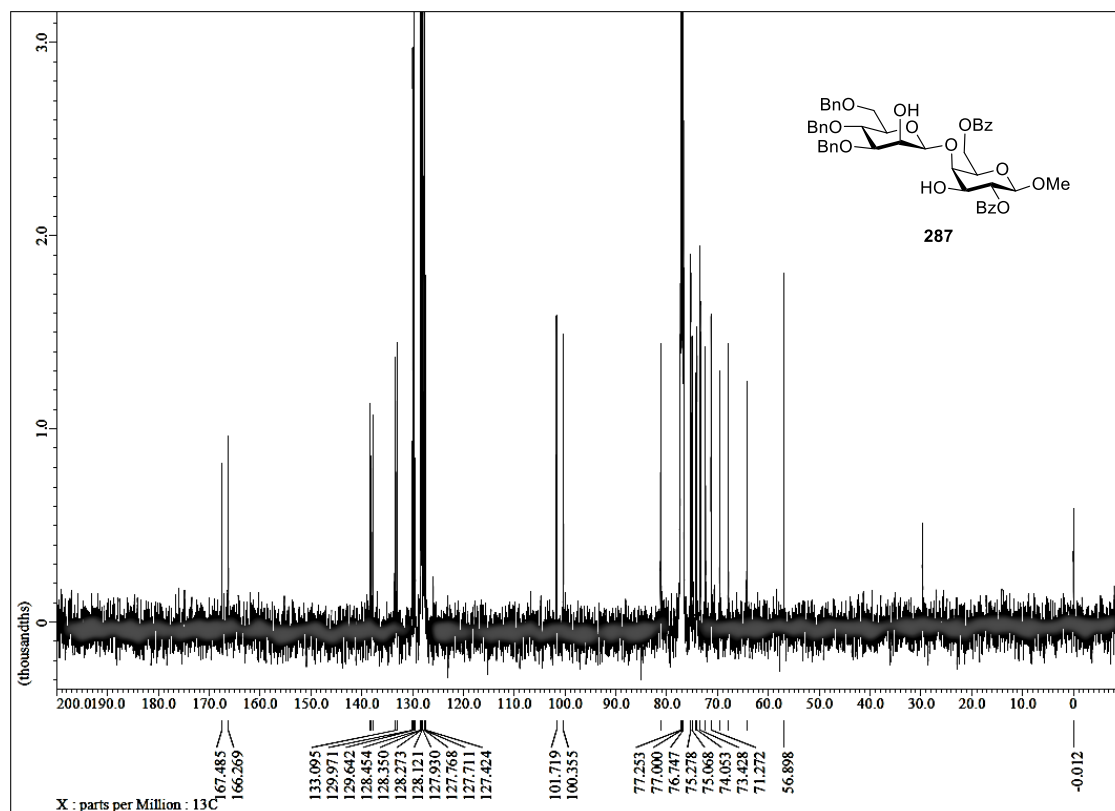
¹H-NMR spectrum of **286** ($\beta/\alpha = 92/8$)



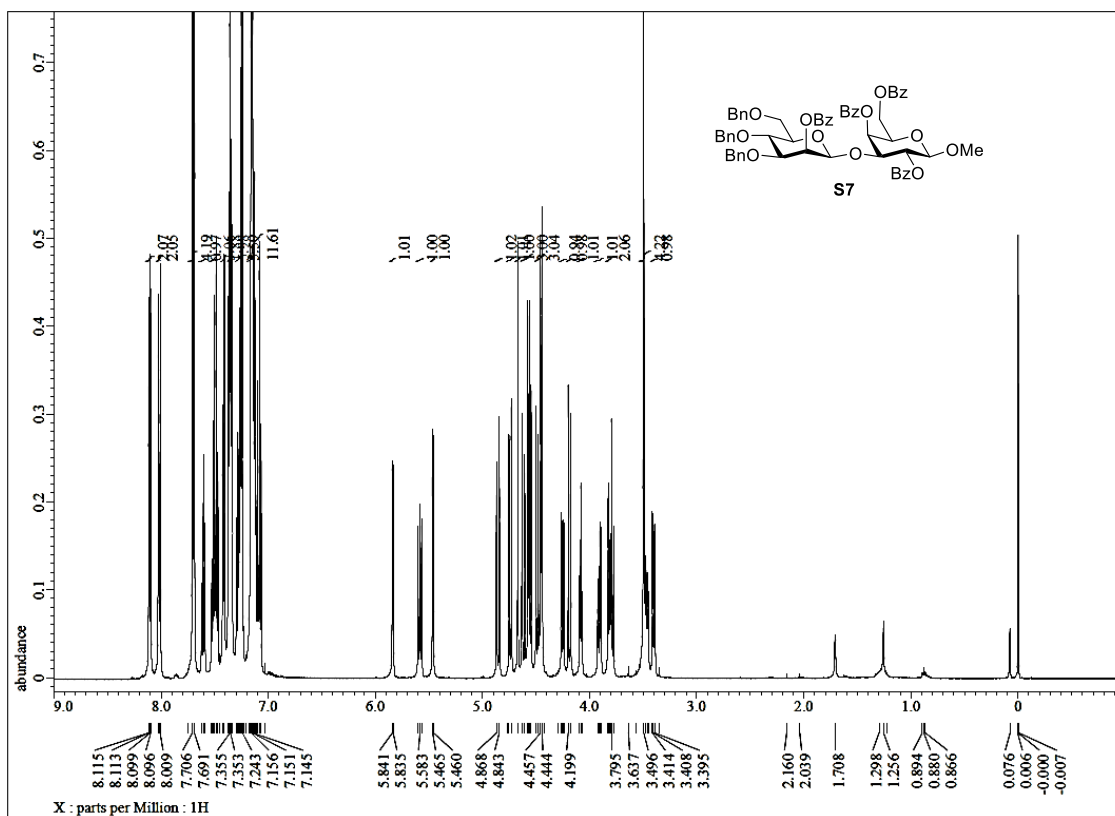
¹³C-NMR spectrum of **286** ($\beta/\alpha = 92/8$)



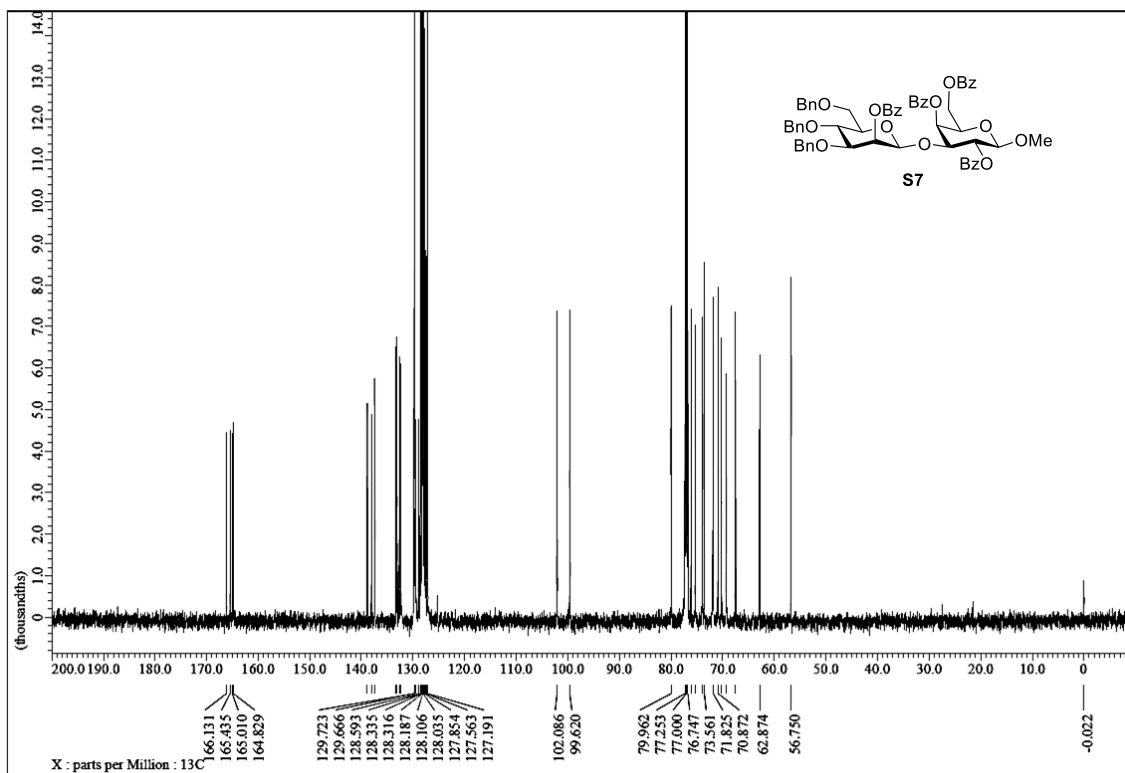
¹H-NMR spectrum of **287**



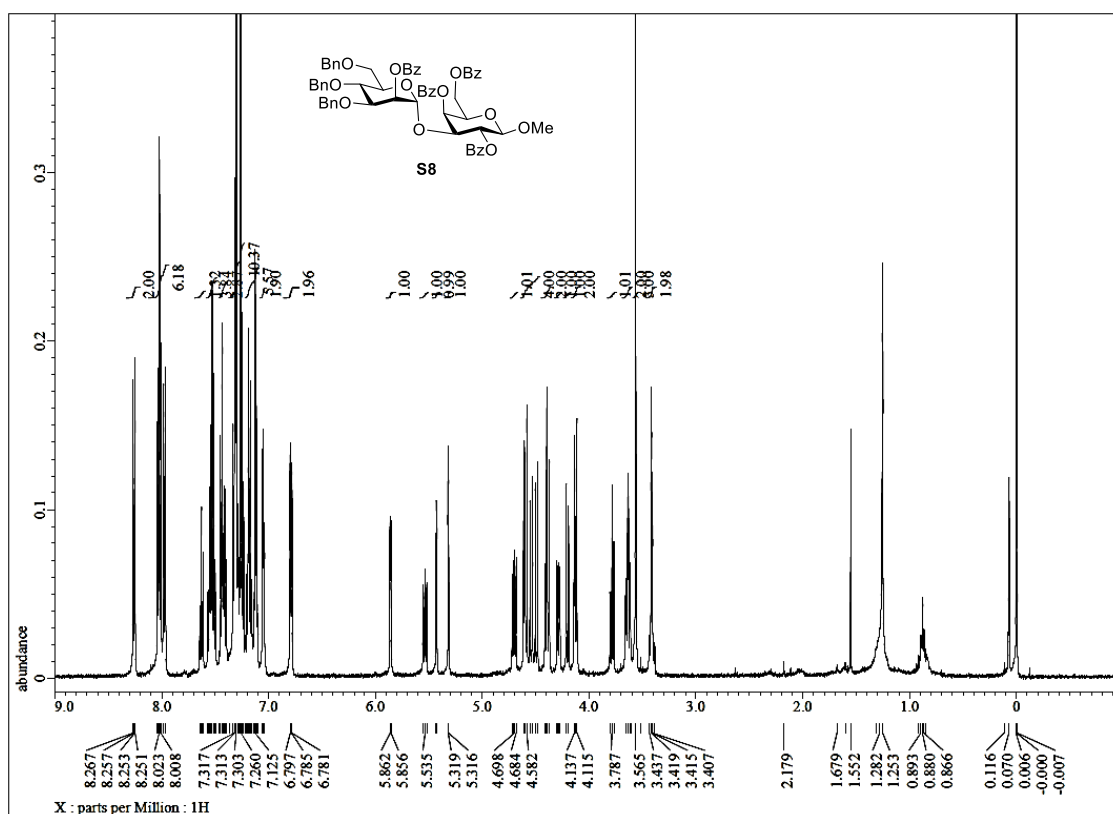
¹³C-NMR spectrum of **287**



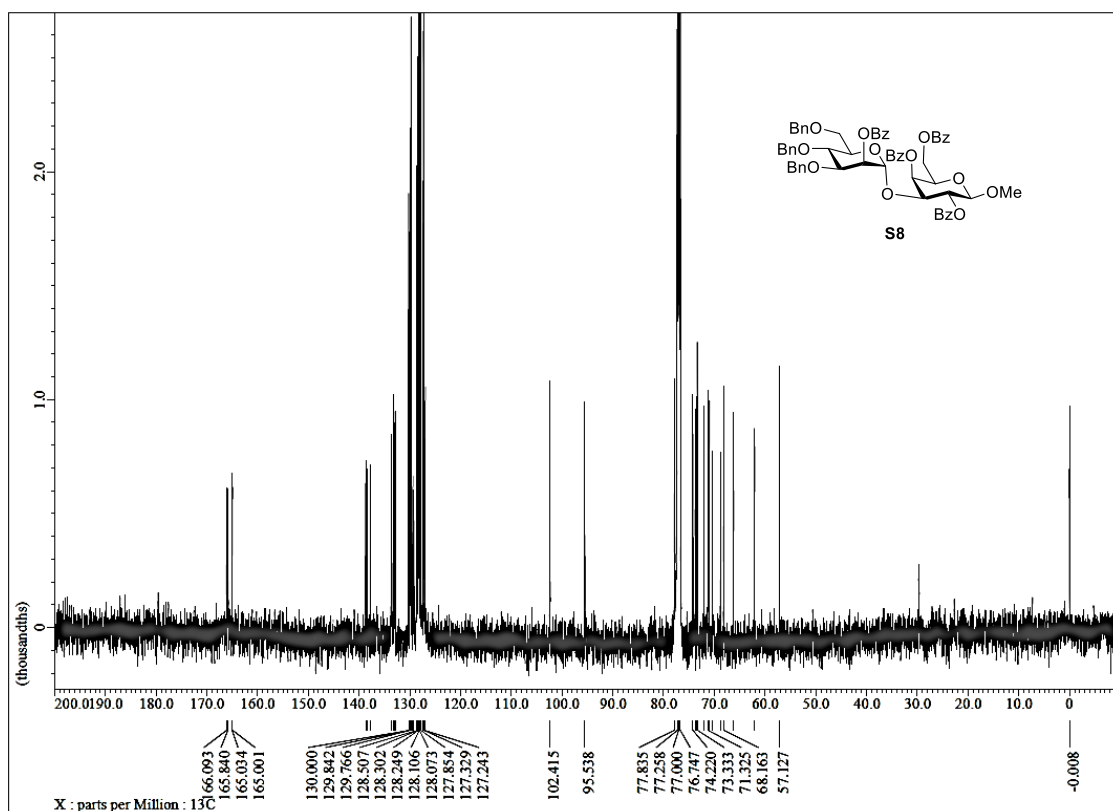
¹H-NMR spectrum of **S7**



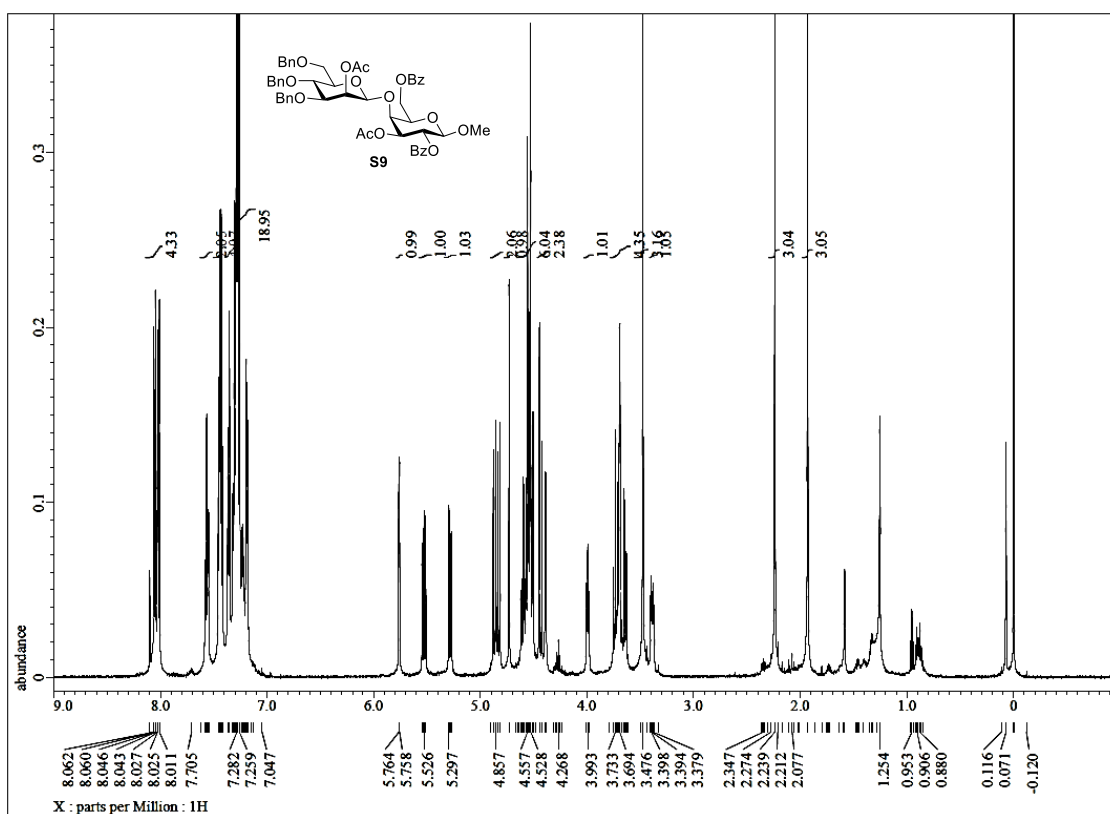
¹³C-NMR spectrum of **S7**



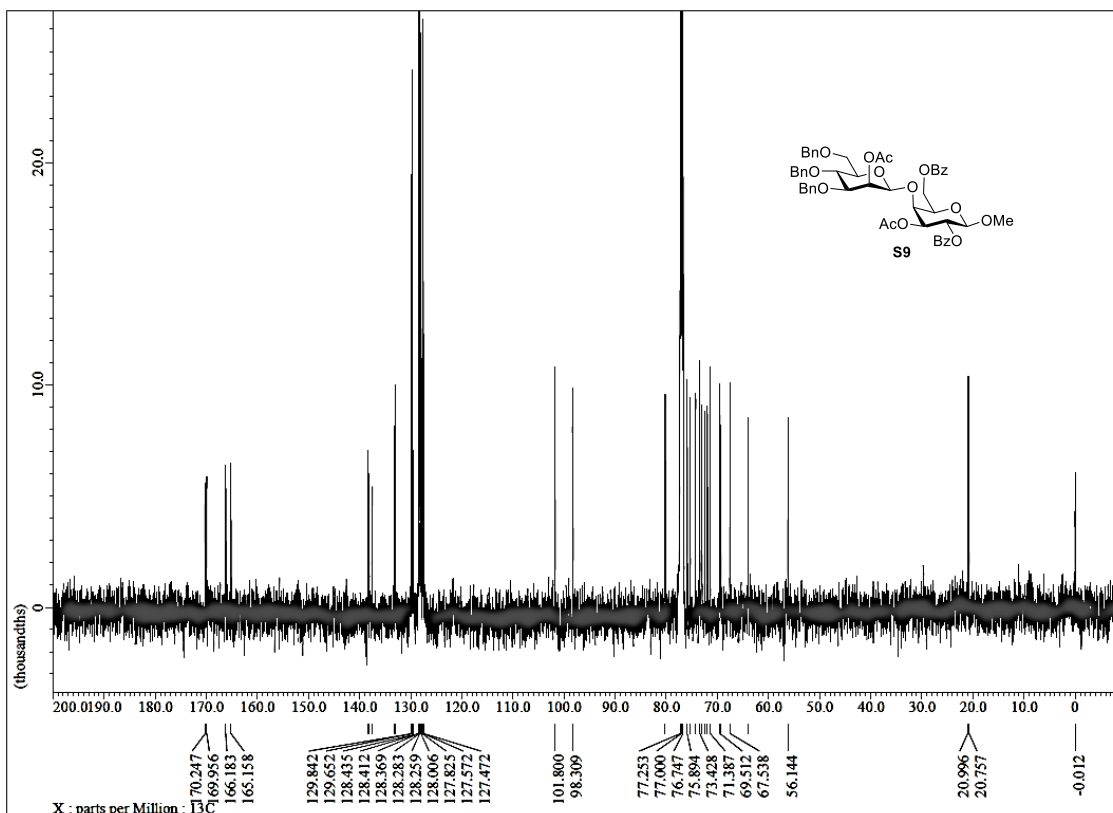
¹H-NMR spectrum of S8



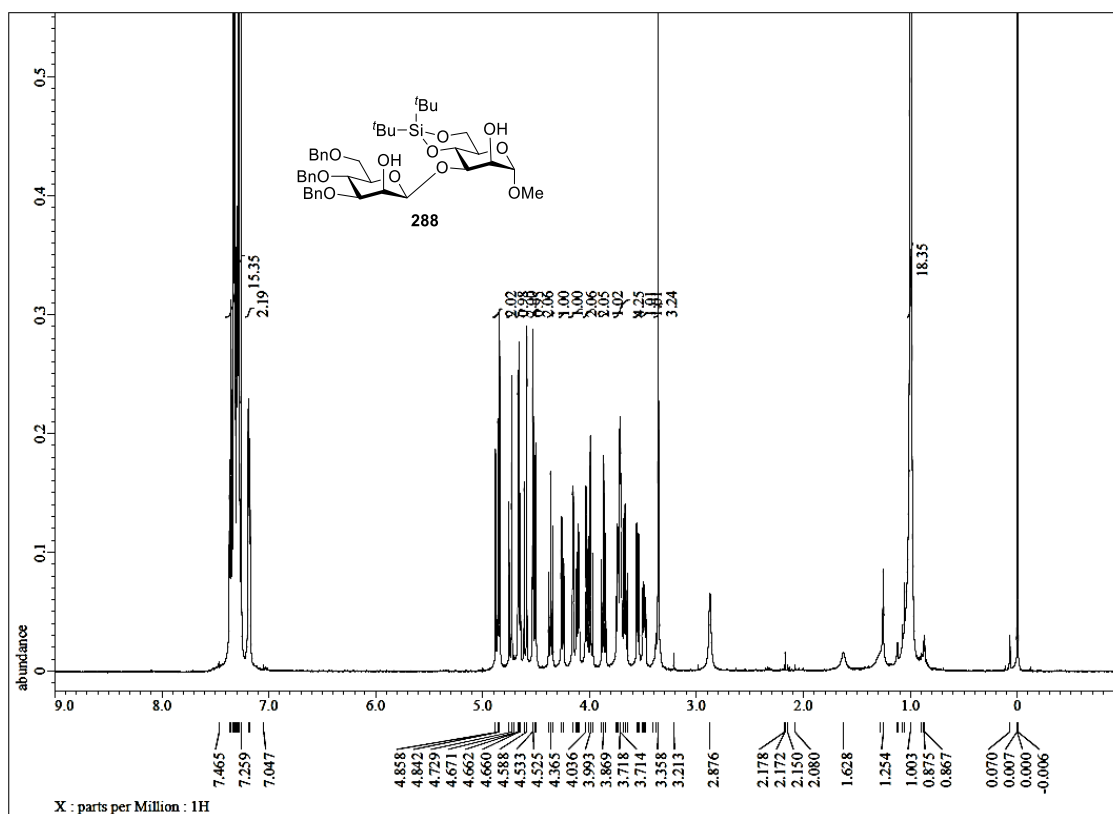
¹³C-NMR spectrum of S8



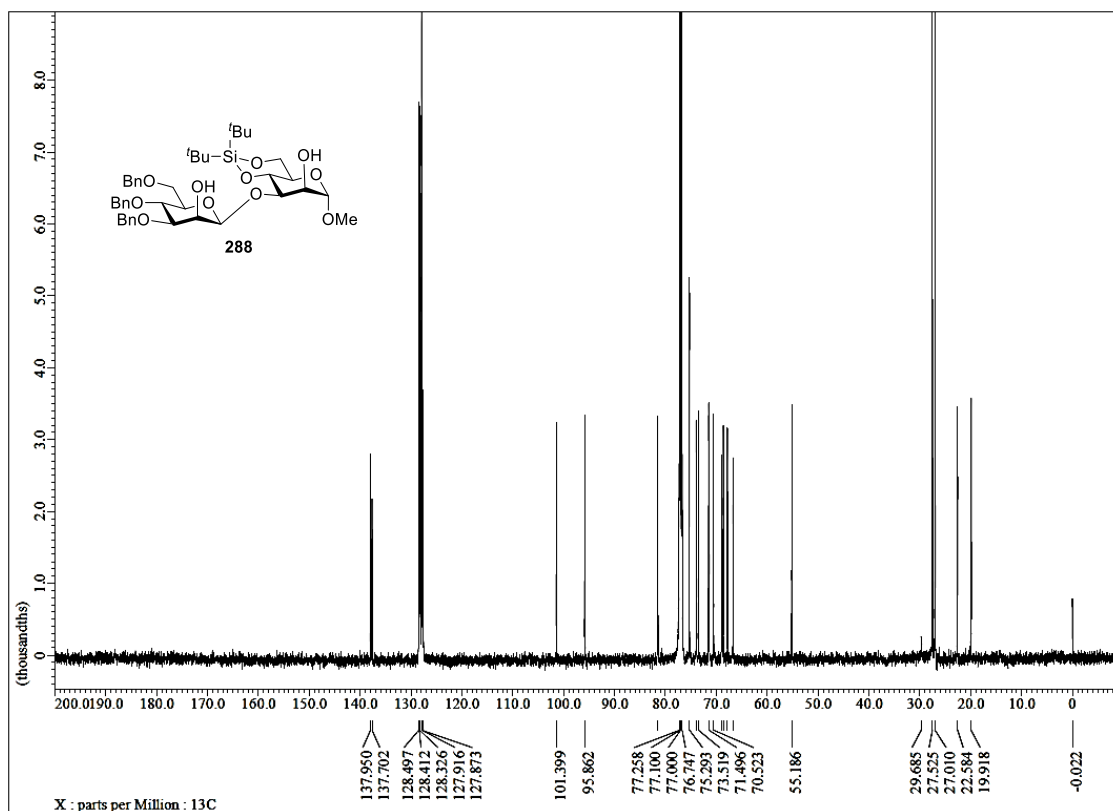
¹H-NMR spectrum of S9



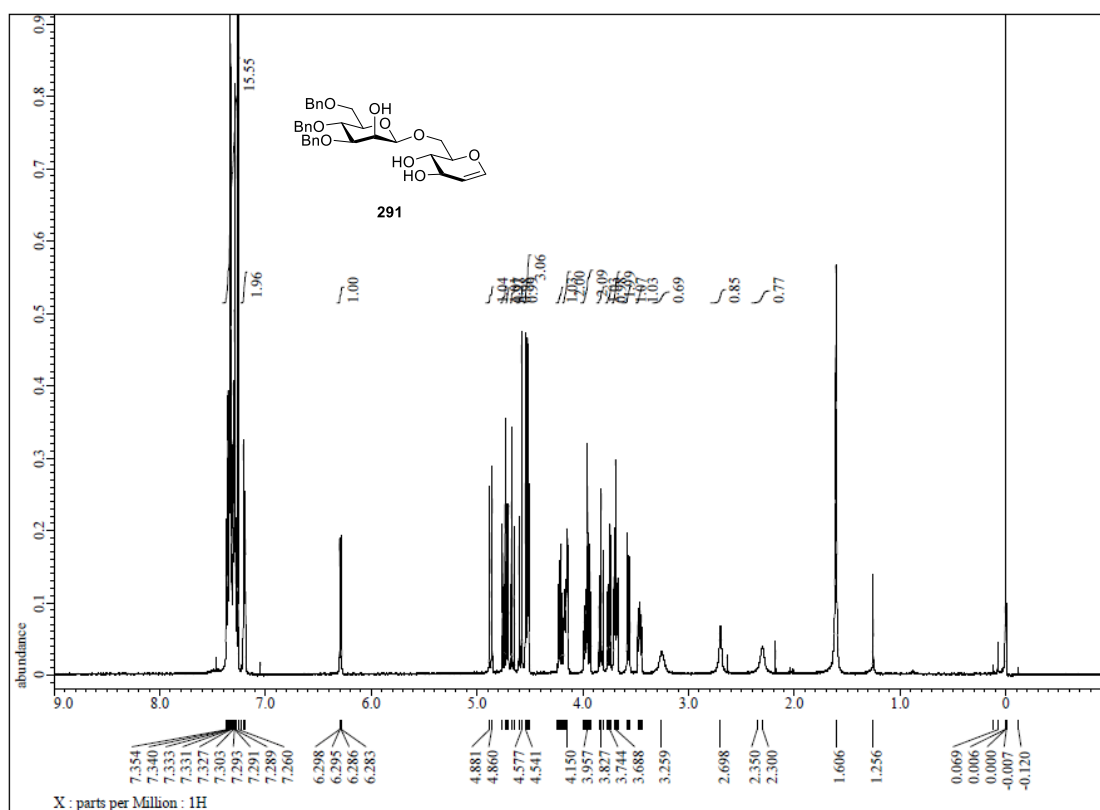
¹³C-NMR spectrum of S9



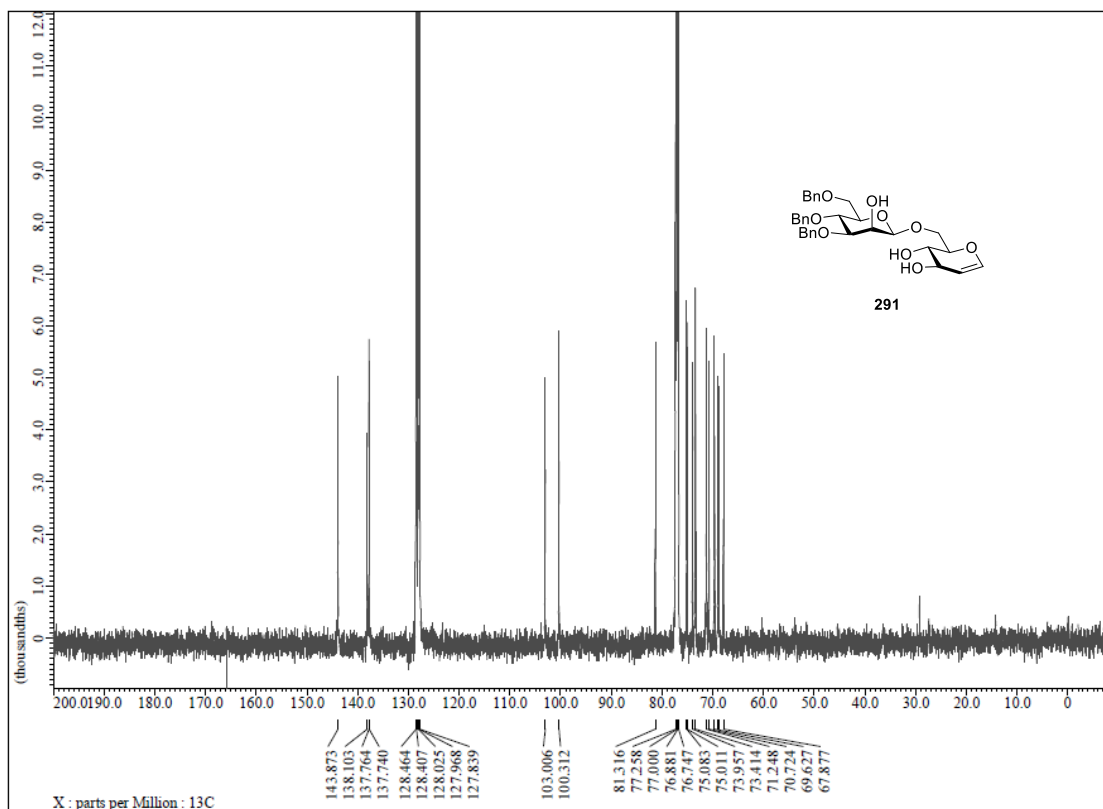
¹H-NMR spectrum of 288



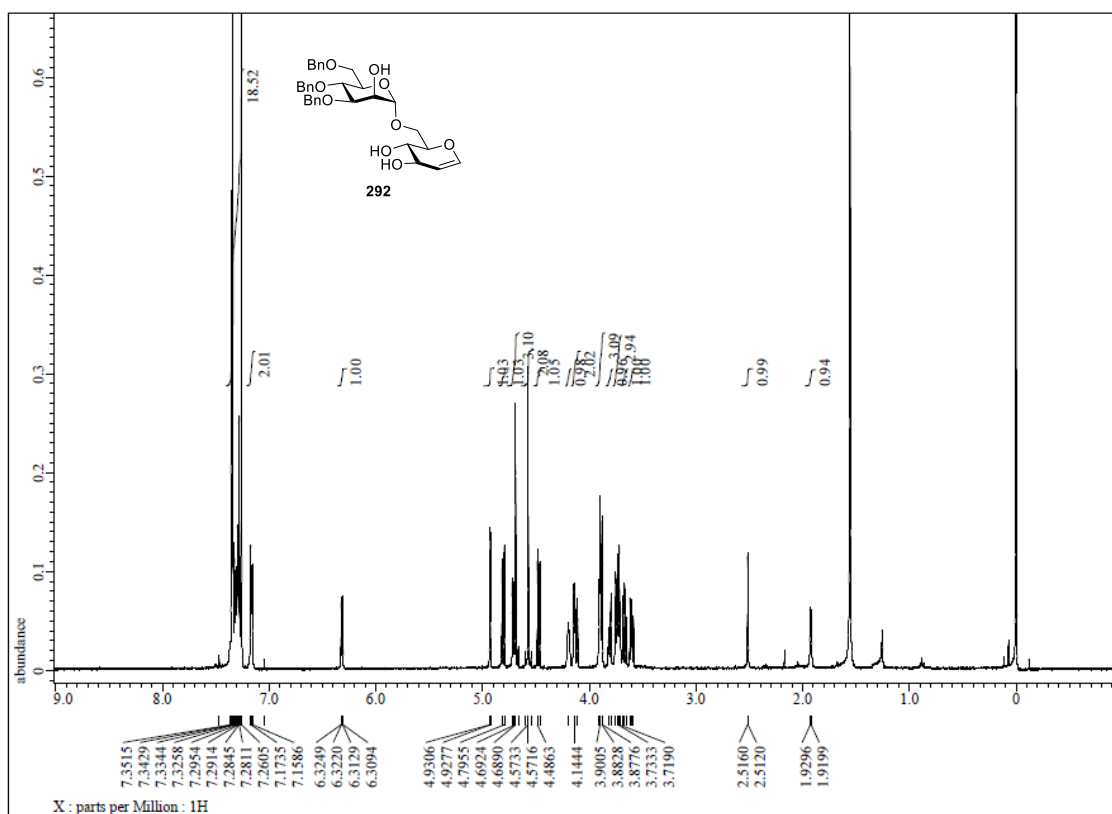
¹³C-NMR spectrum of 288



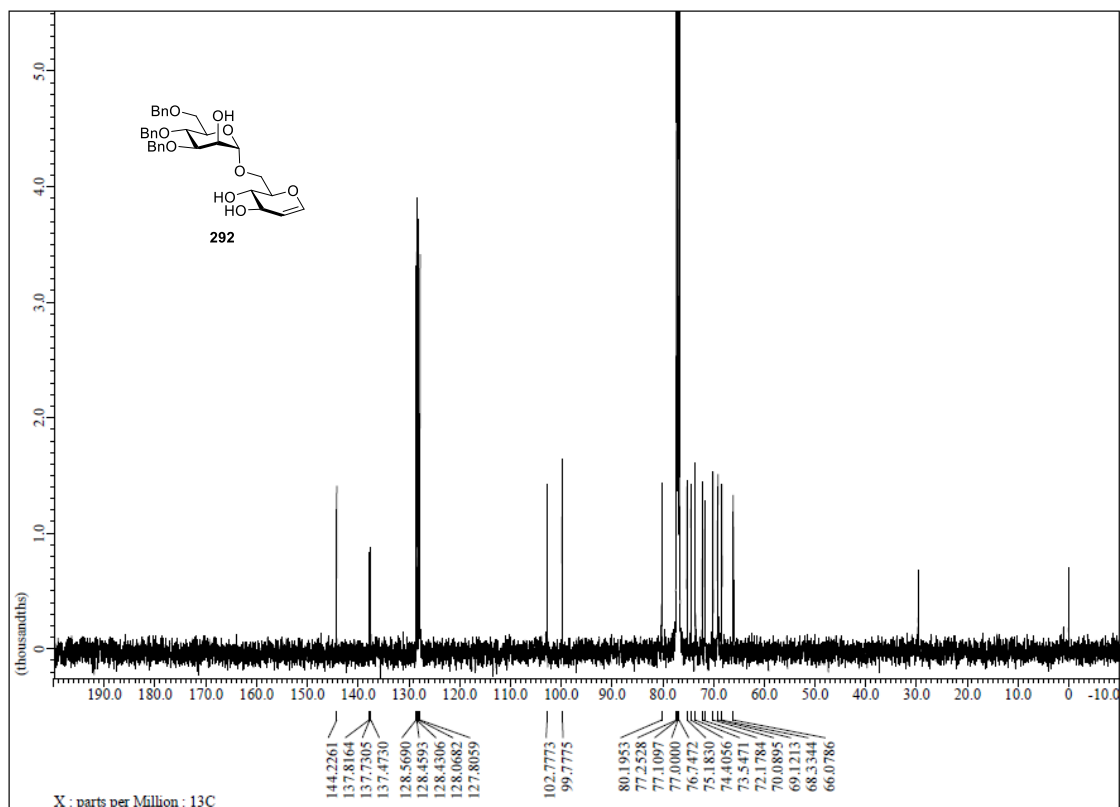
¹H-NMR spectrum of 291



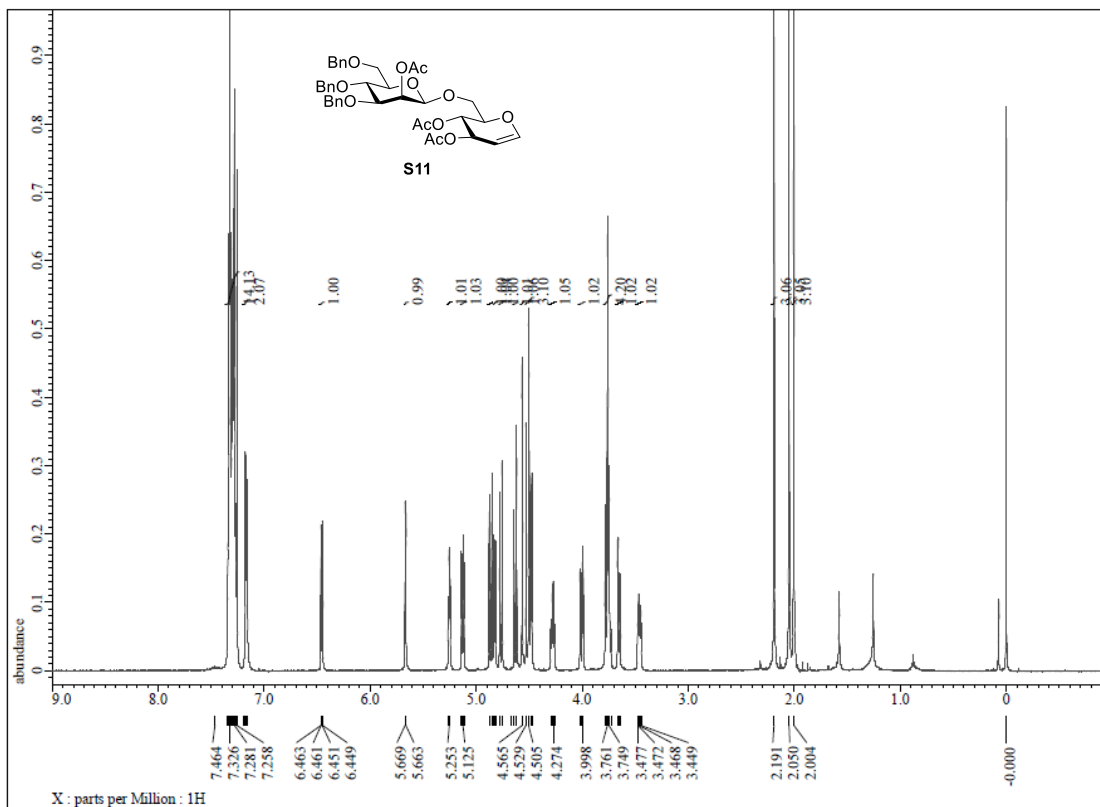
¹³C-NMR spectrum of 291



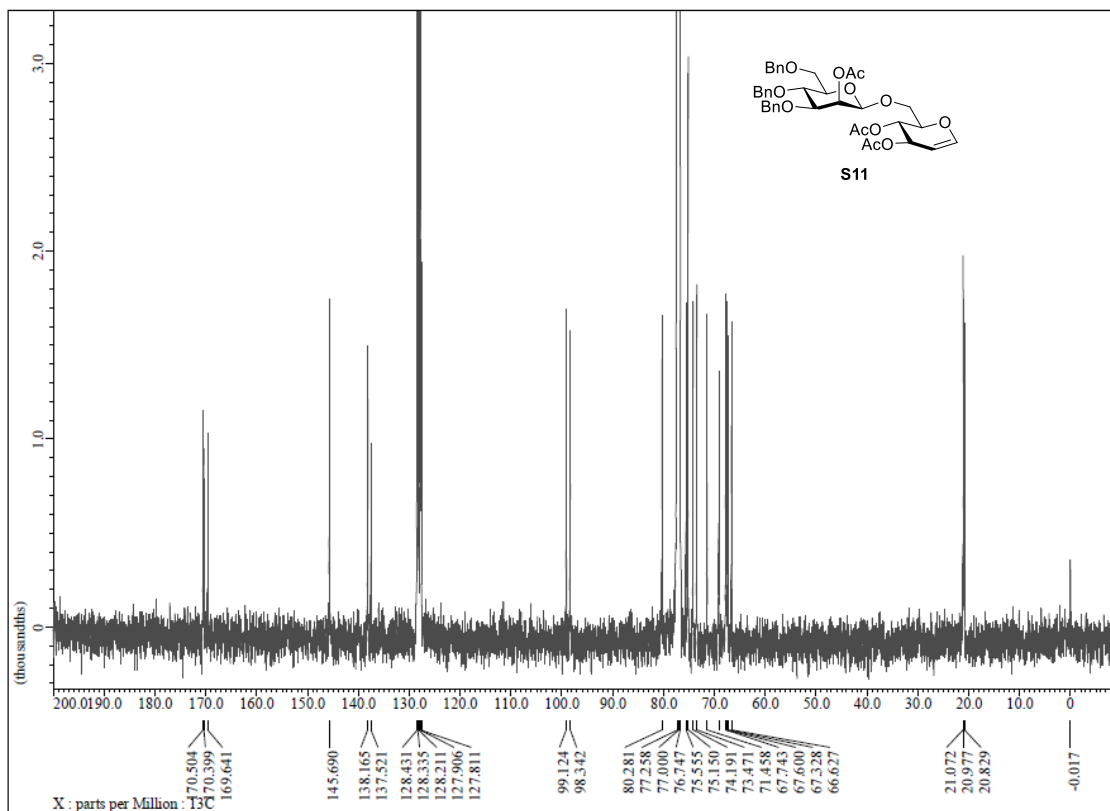
¹H-NMR spectrum of 292



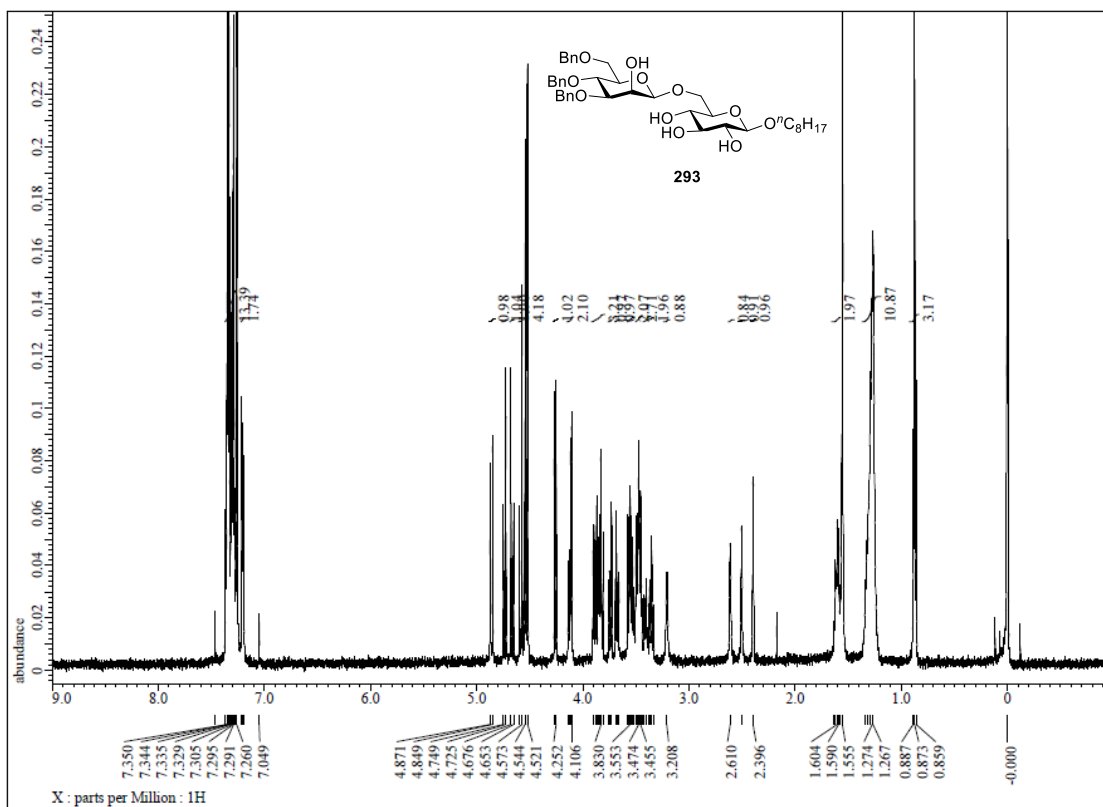
¹³C-NMR spectrum of 292



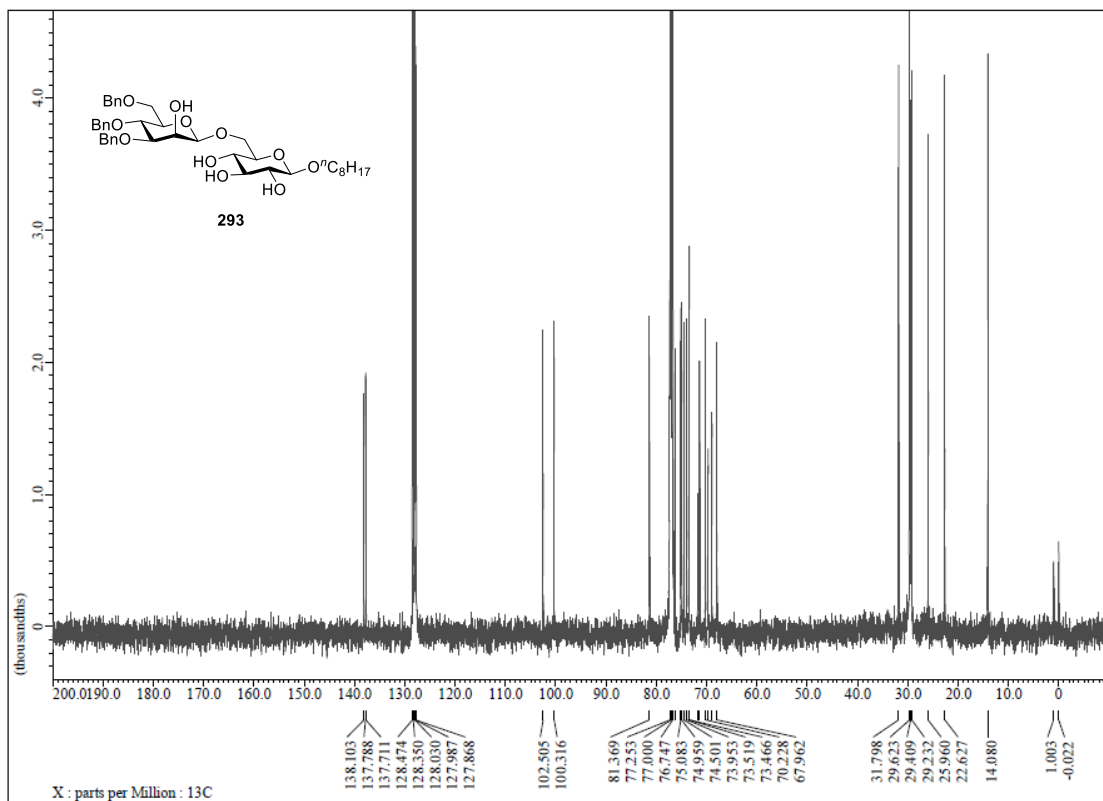
¹H-NMR spectrum of S11



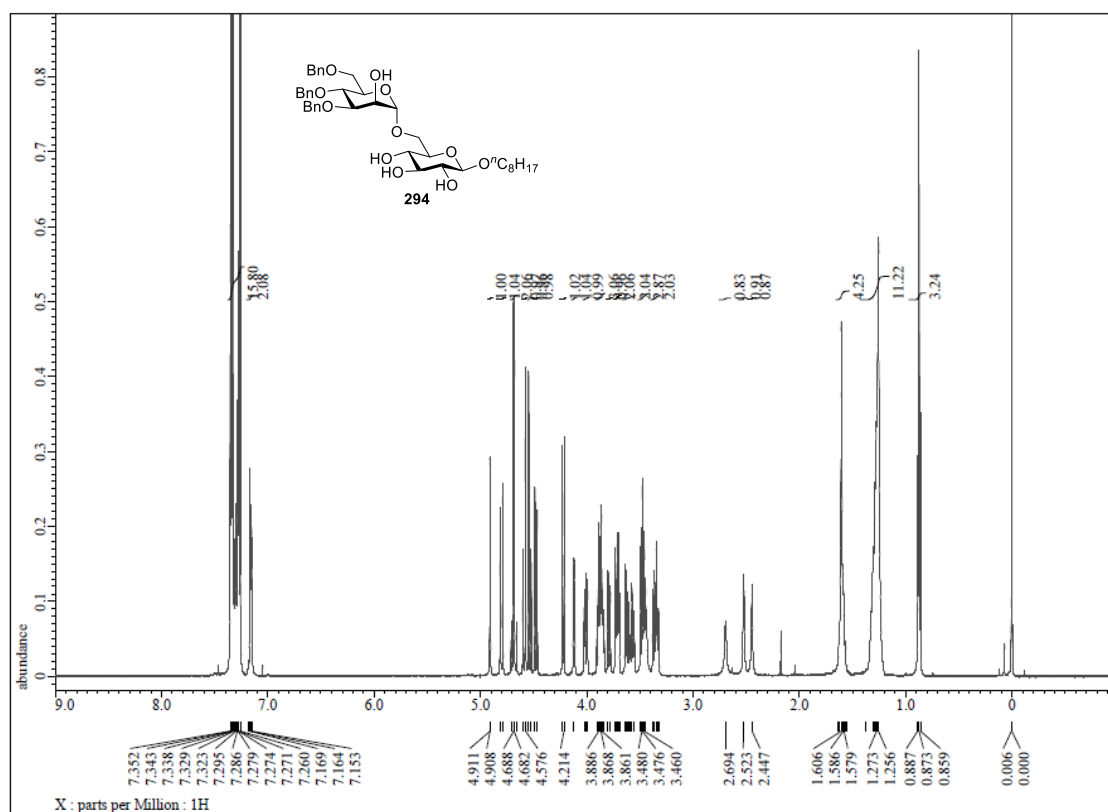
¹³C-NMR spectrum of S11



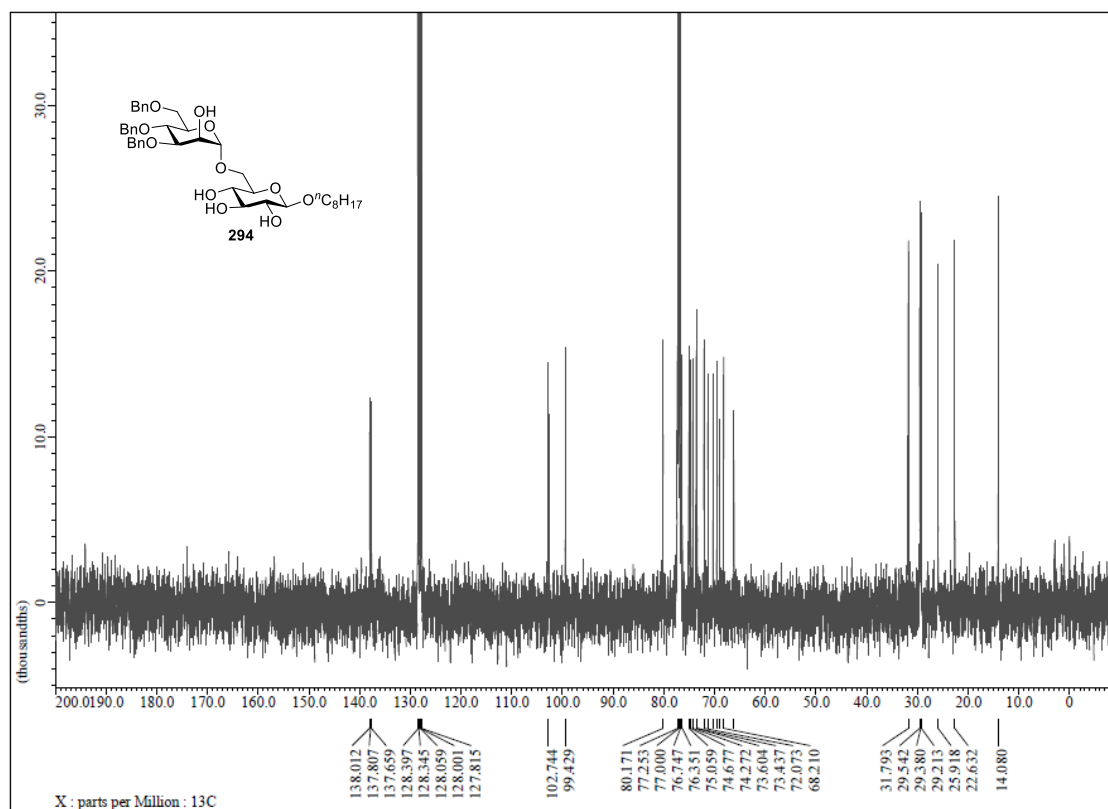
¹H-NMR spectrum of 293



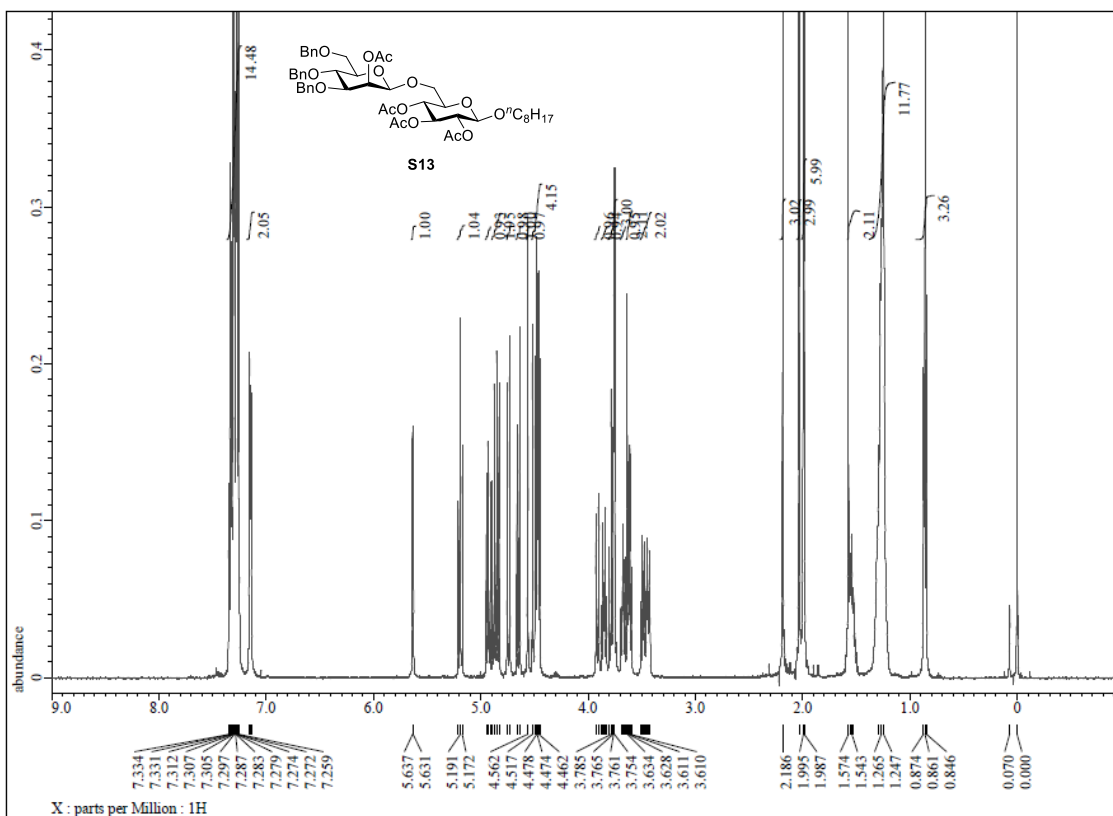
¹³C-NMR spectrum of 293



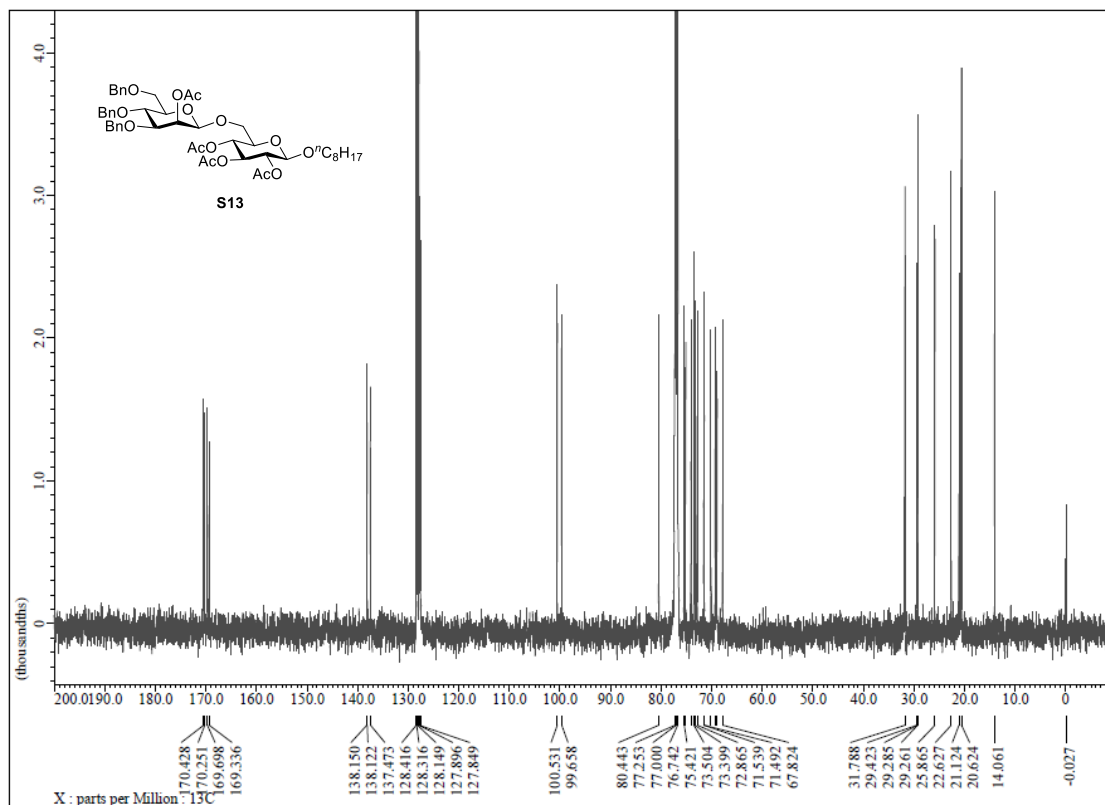
¹H-NMR spectrum of 294



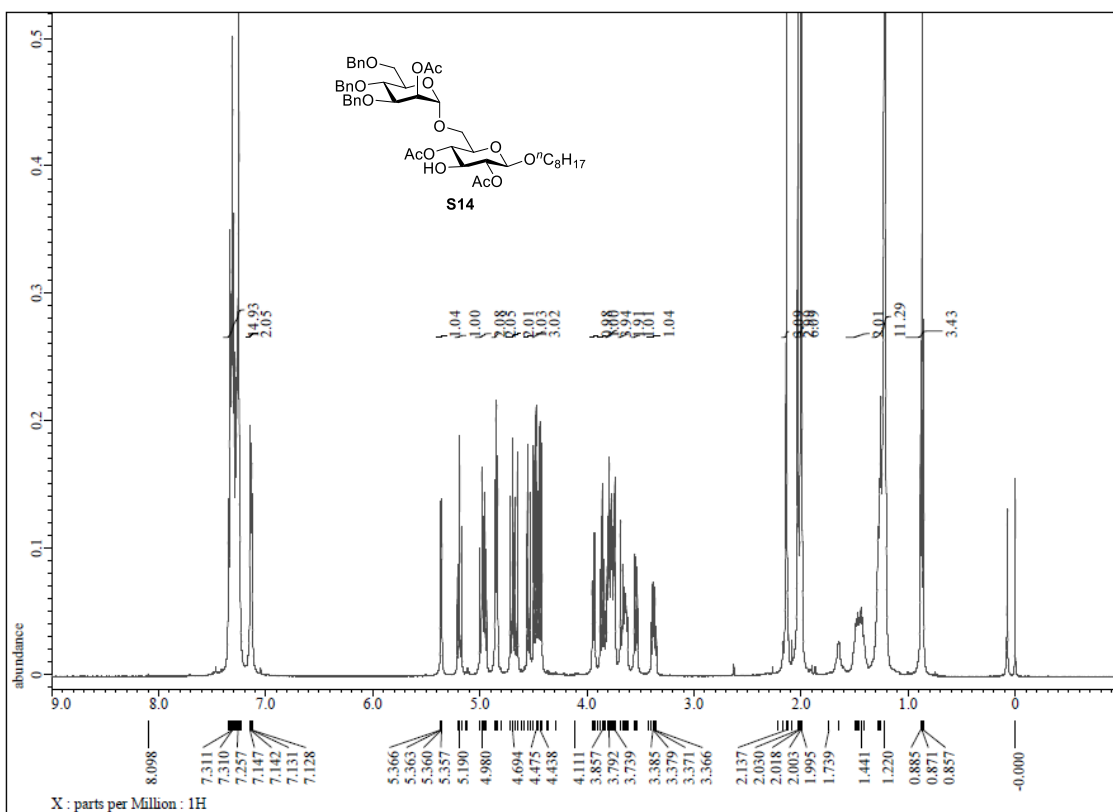
¹³C-NMR spectrum of 294



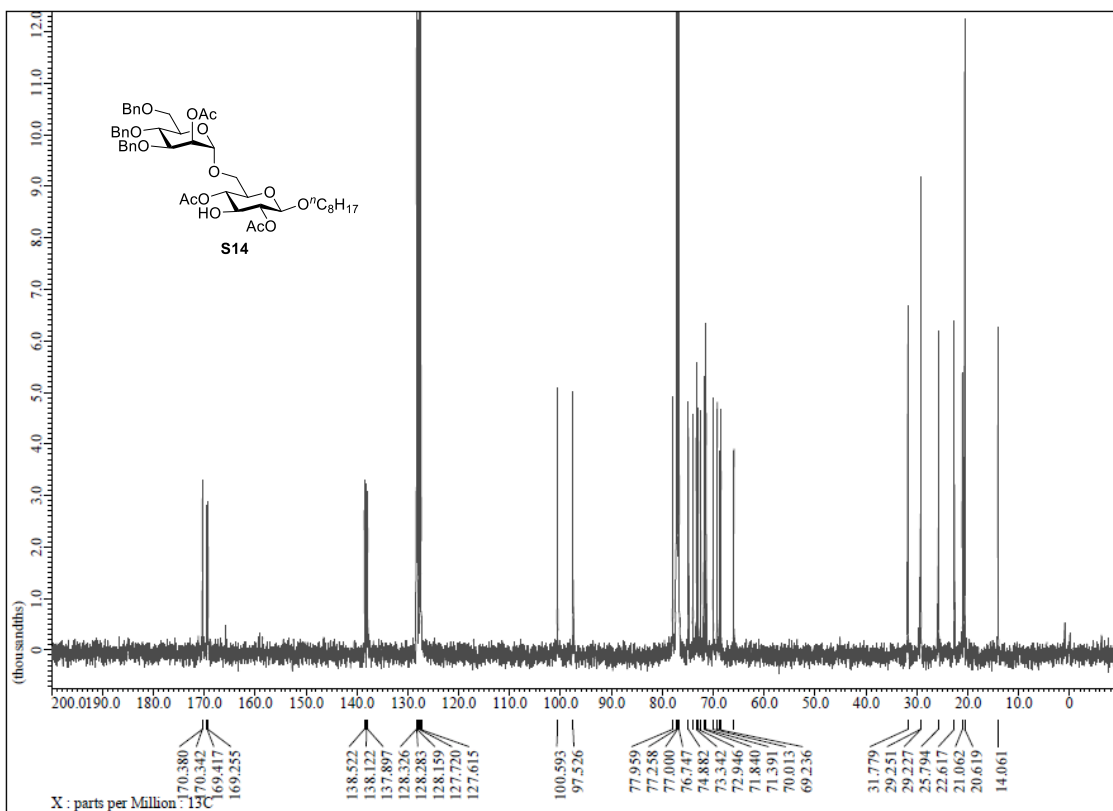
¹H-NMR spectrum of S13



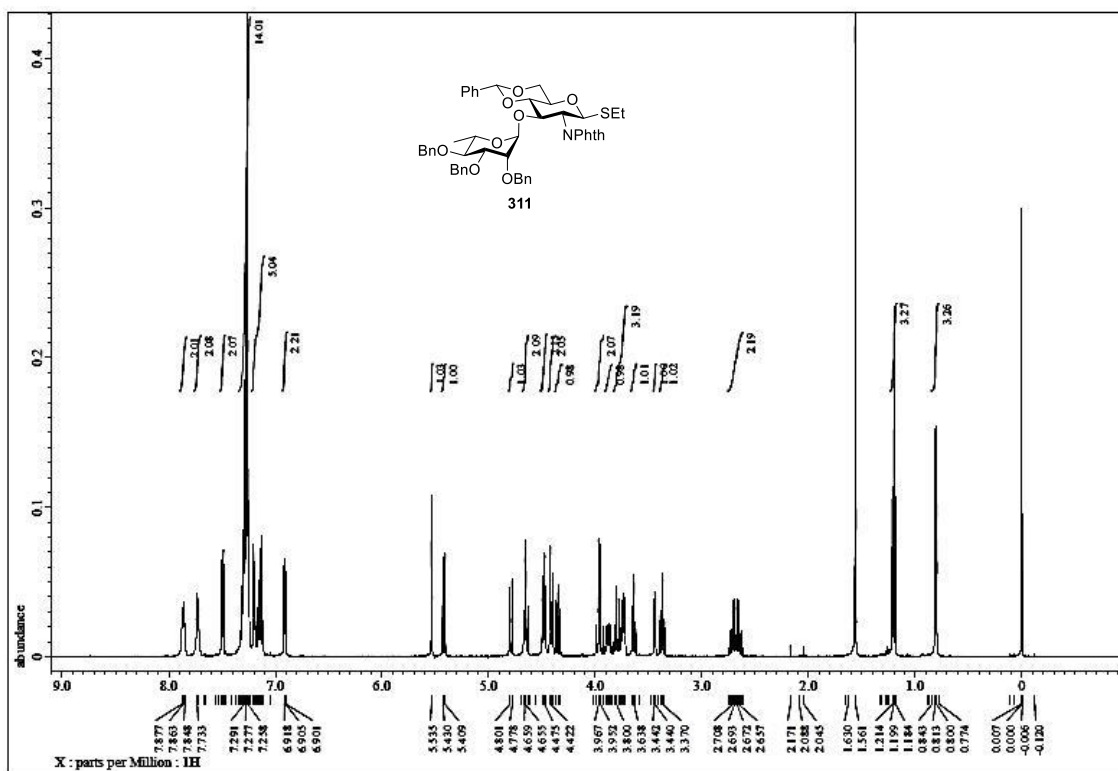
¹³C-NMR spectrum of S13



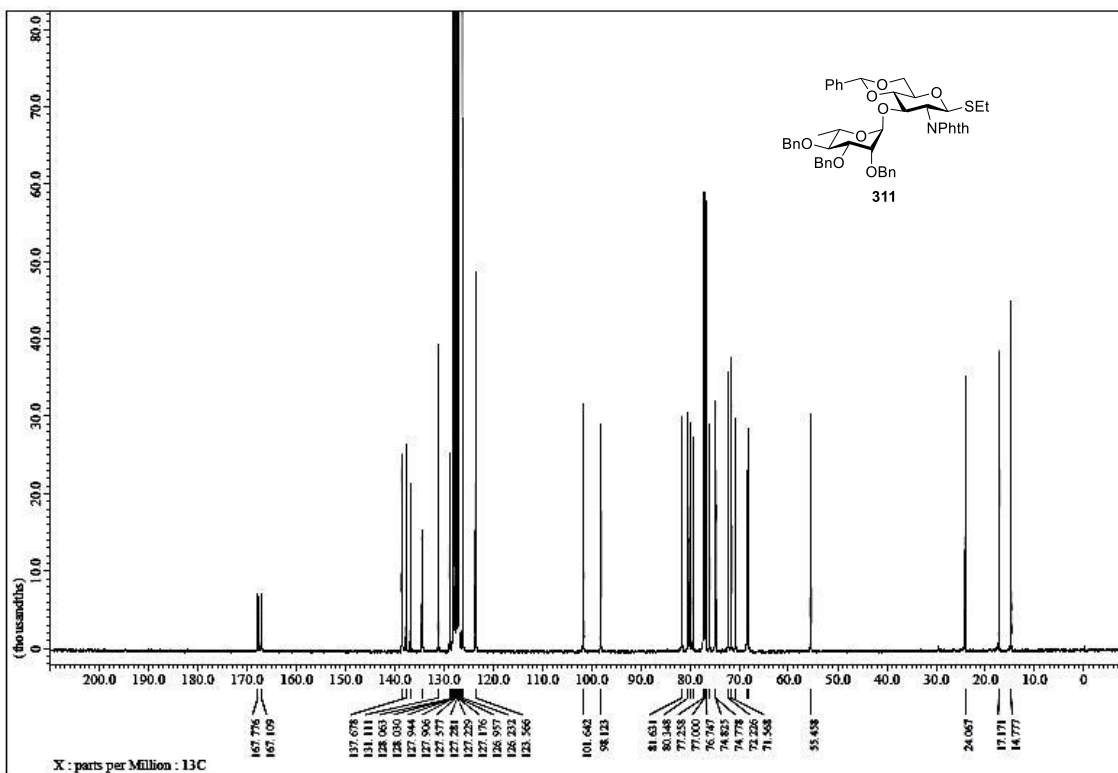
¹H-NMR spectrum of S14



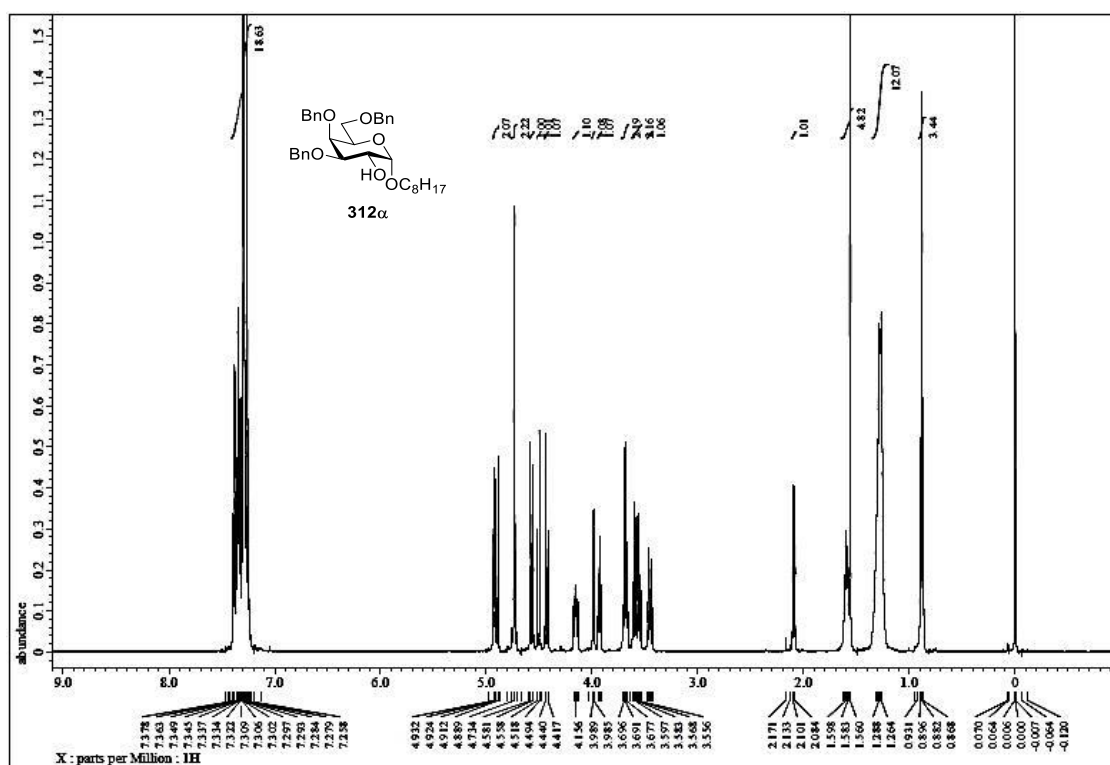
¹³C-NMR spectrum of S14



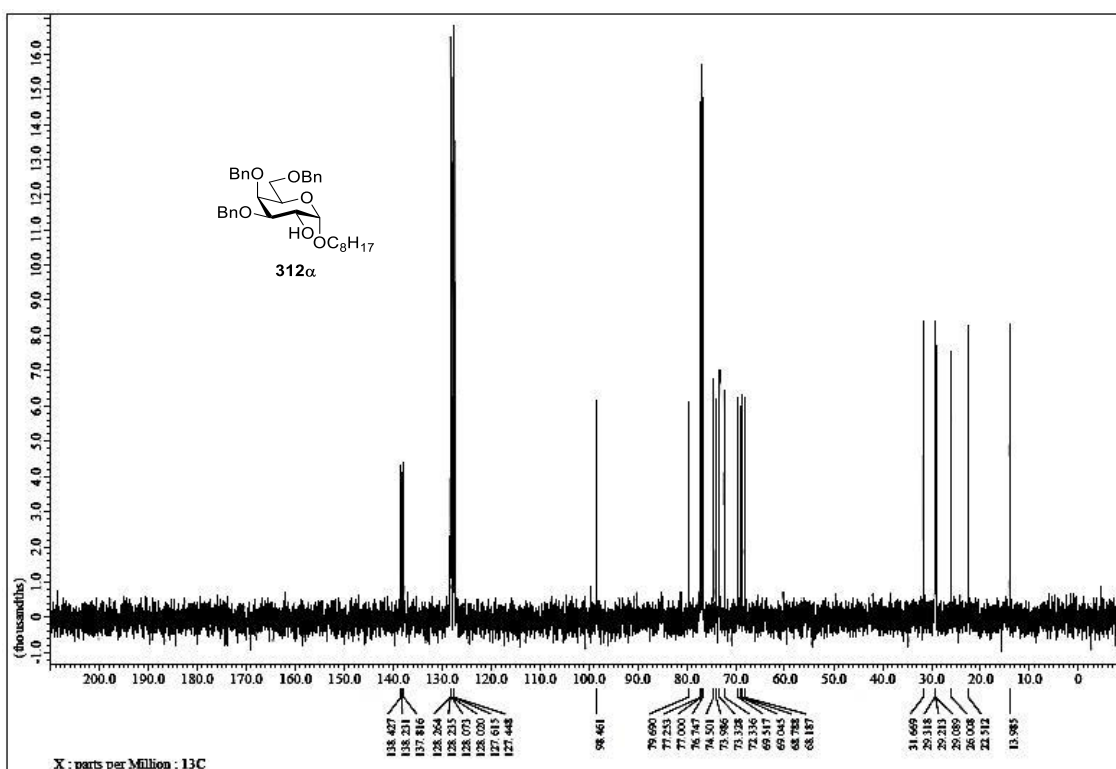
$^1\text{H-NMR}$ spectrum of 311



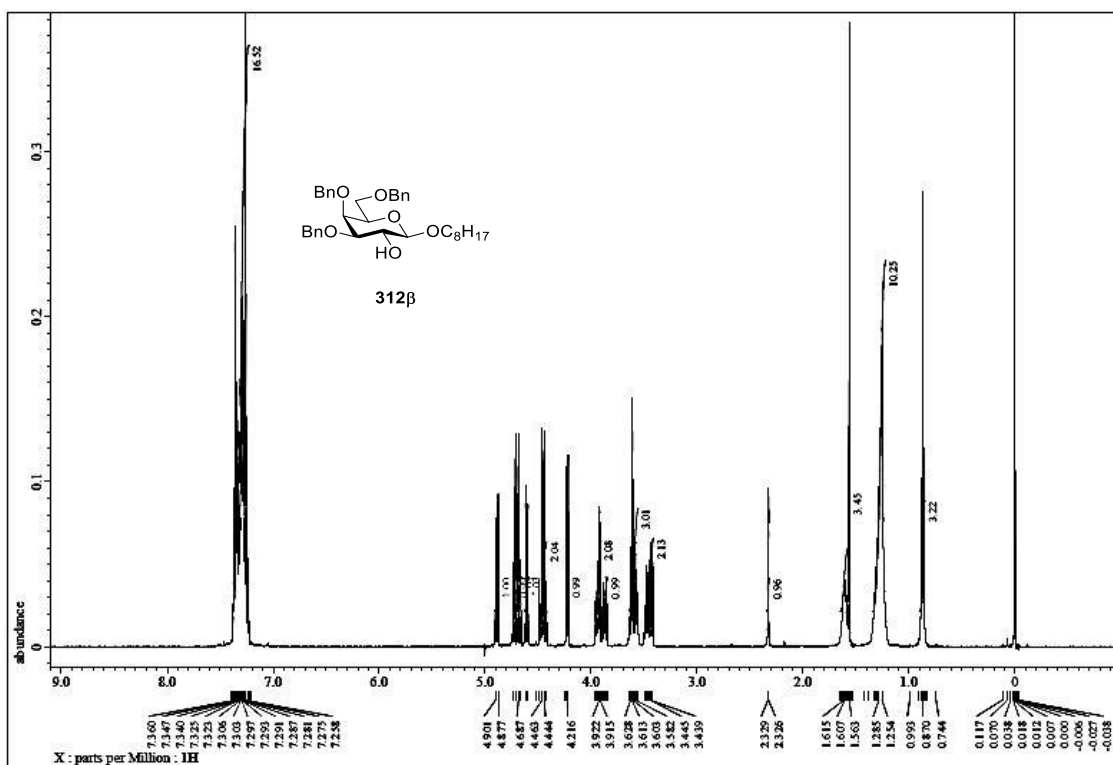
$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of 311



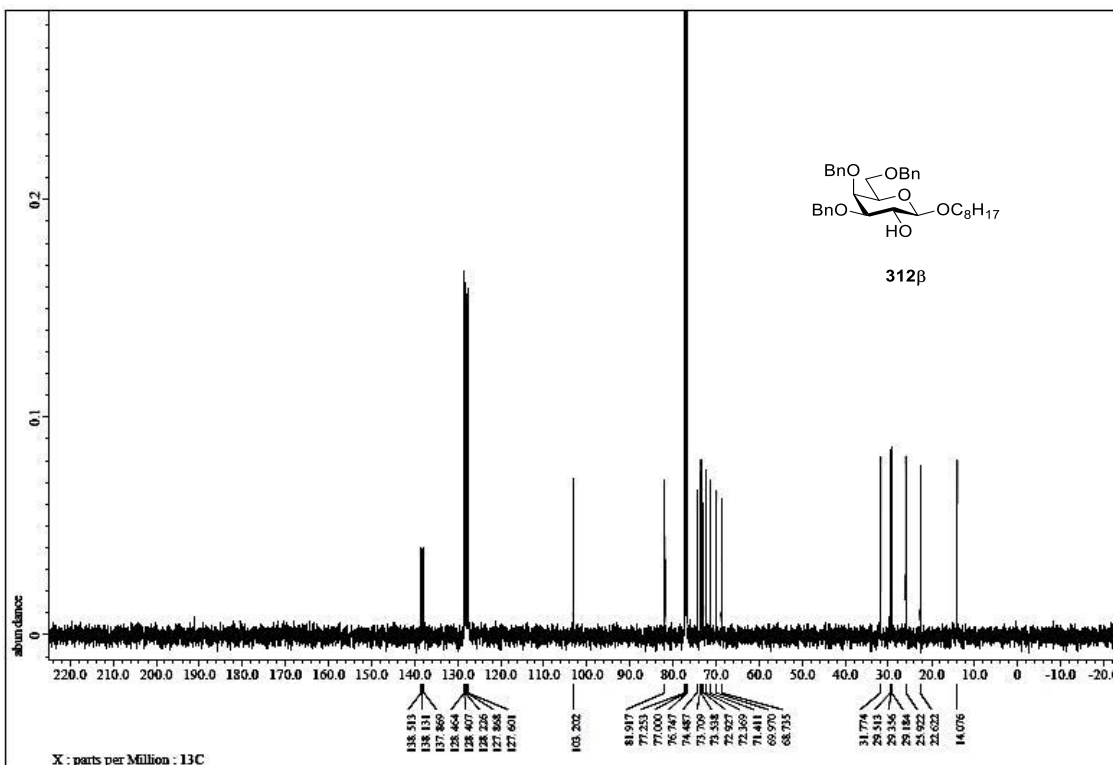
¹H-NMR spectrum of **312α**



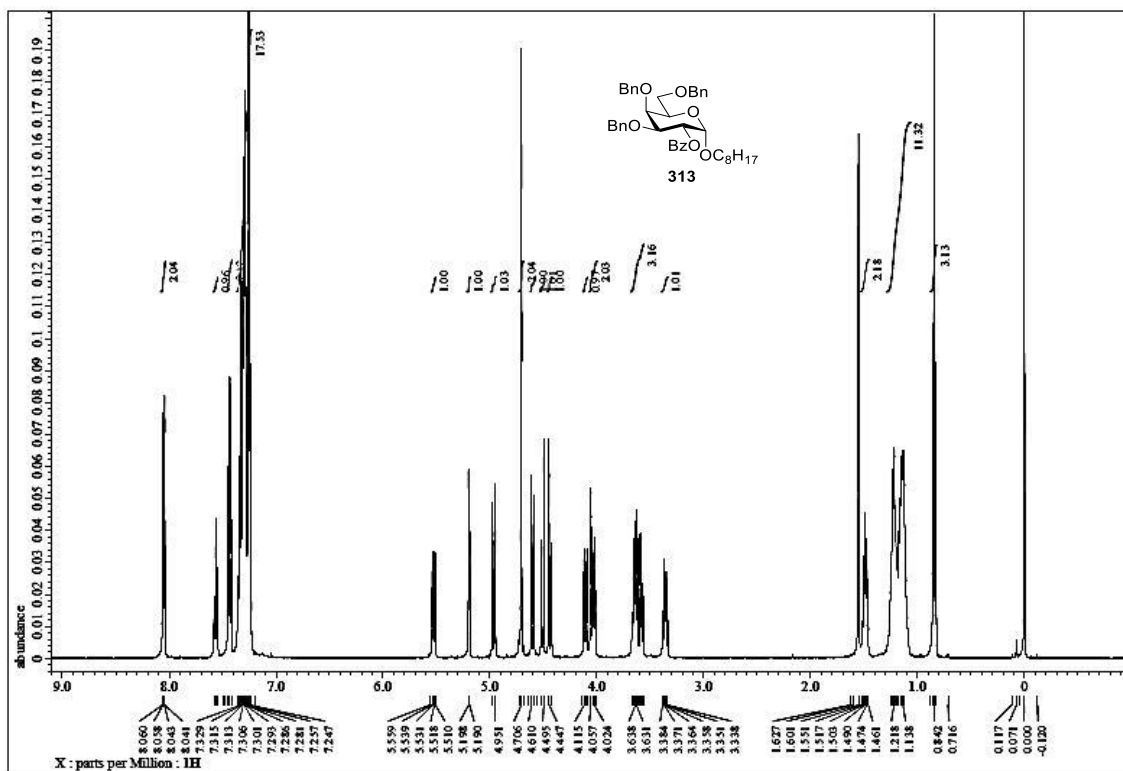
¹³C-NMR spectrum of **312α**



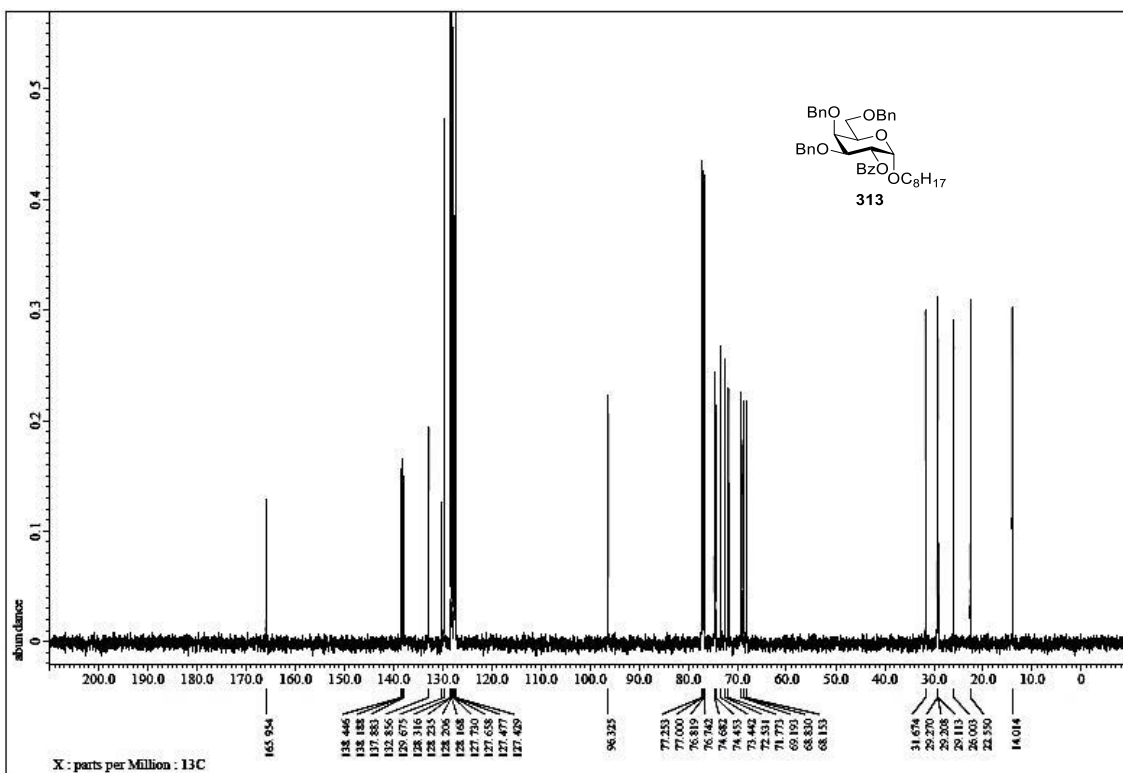
¹H-NMR spectrum of **312β**



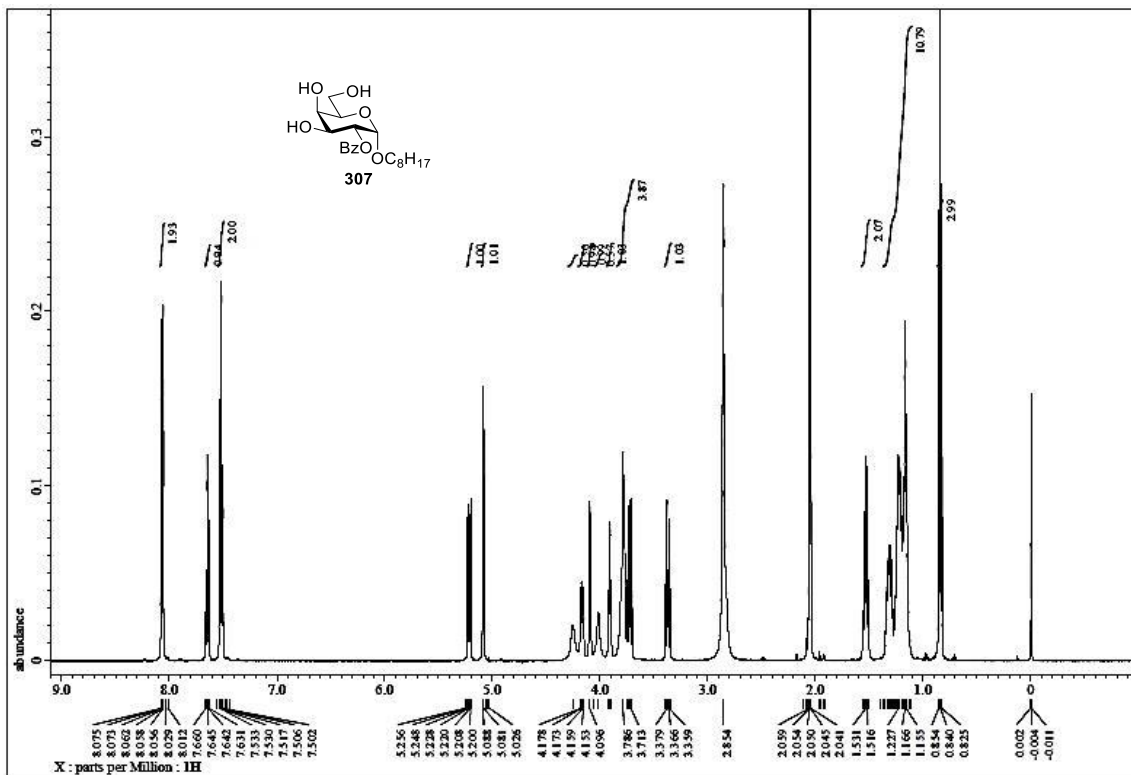
¹³C-NMR spectrum of **312β**



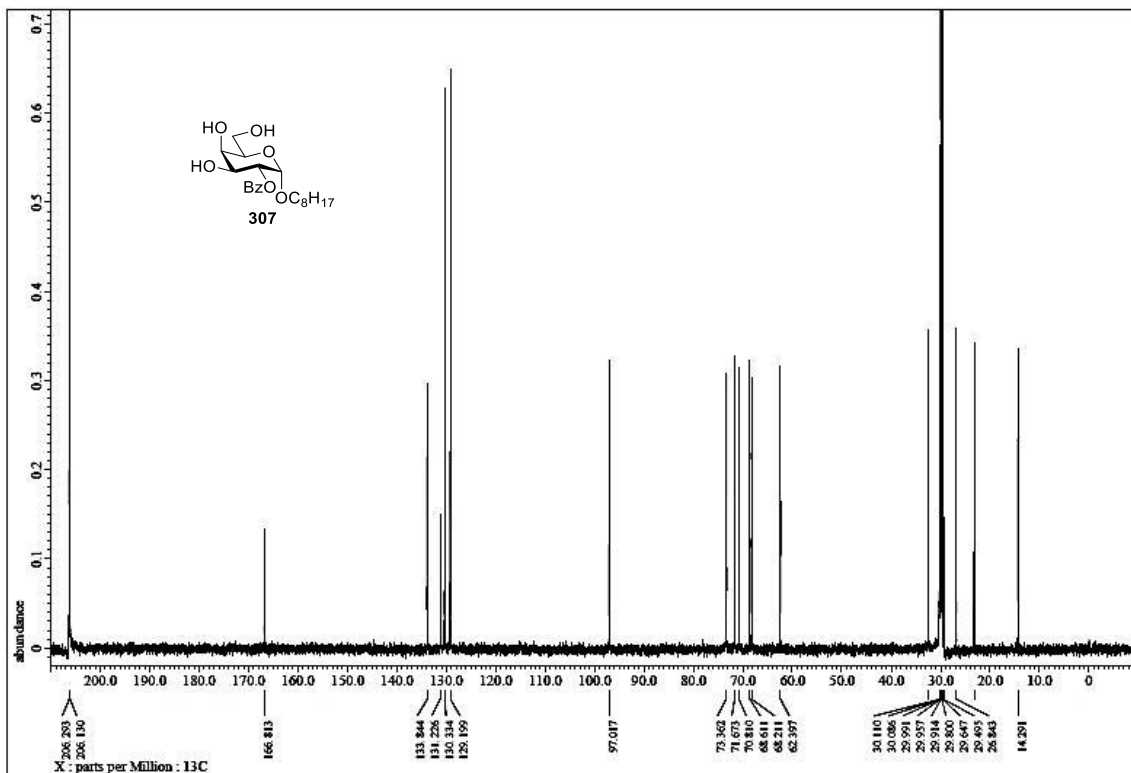
¹H-NMR spectrum of 313



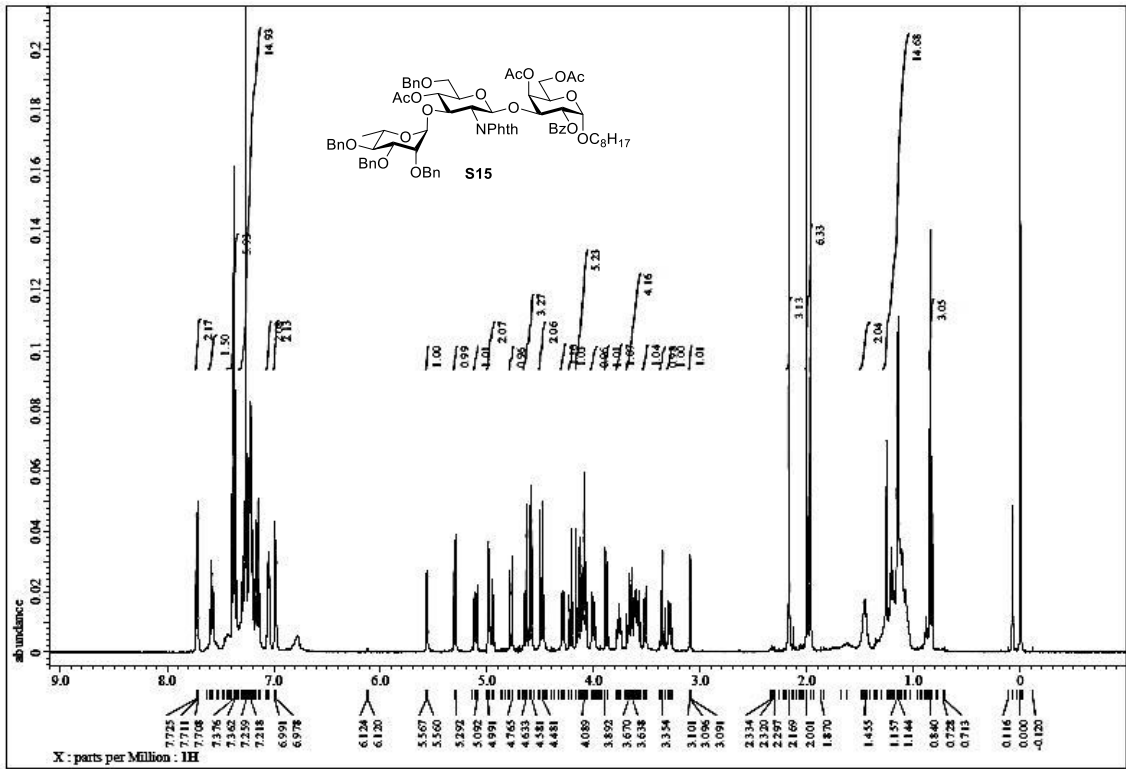
¹³C-NMR spectrum of 313



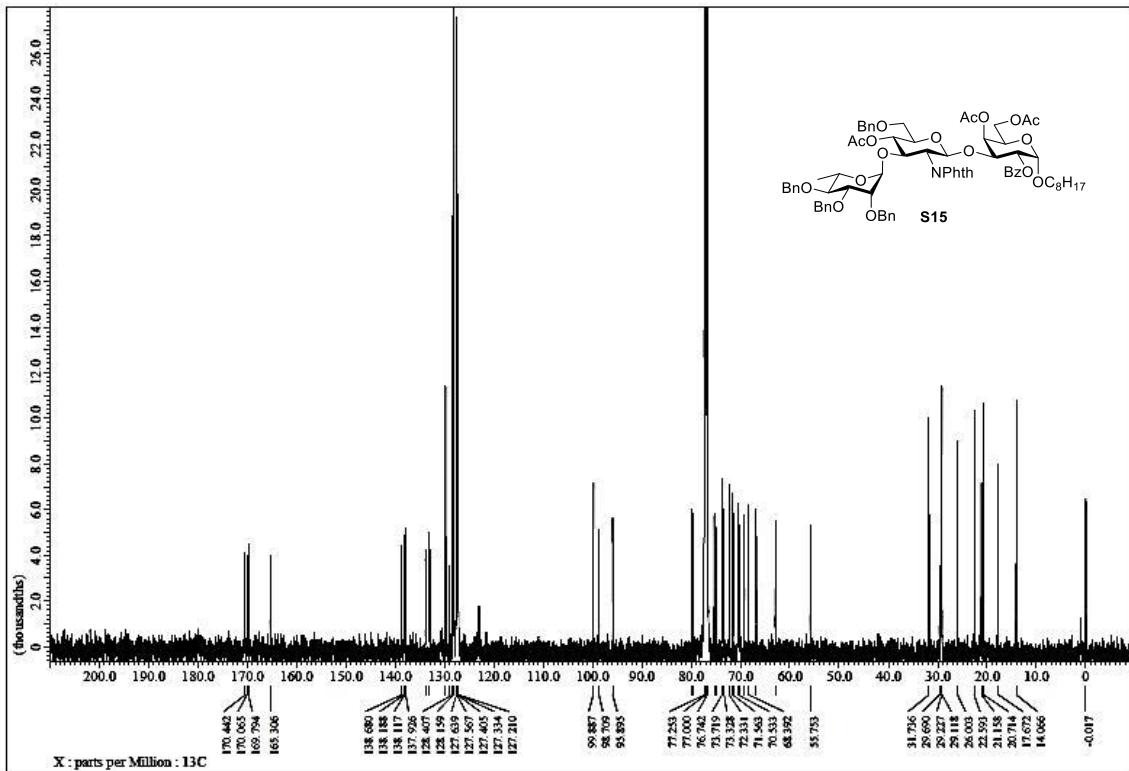
¹H-NMR spectrum of **307**



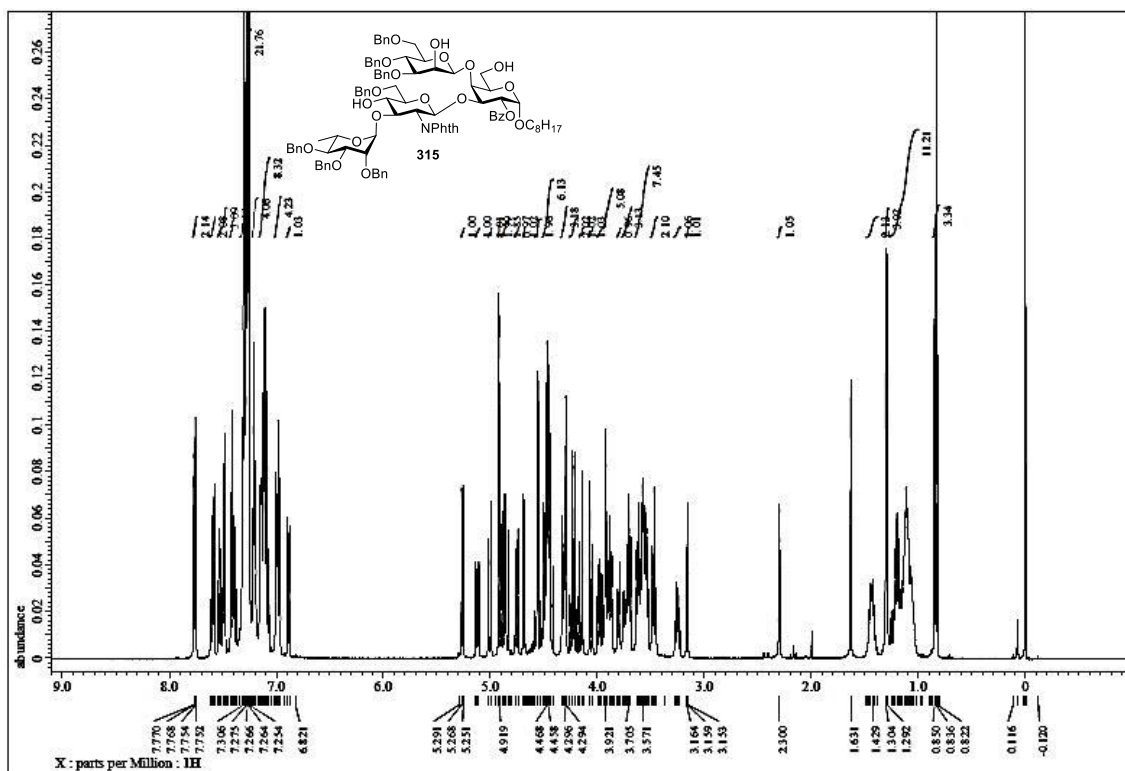
¹³C-NMR spectrum of **307**



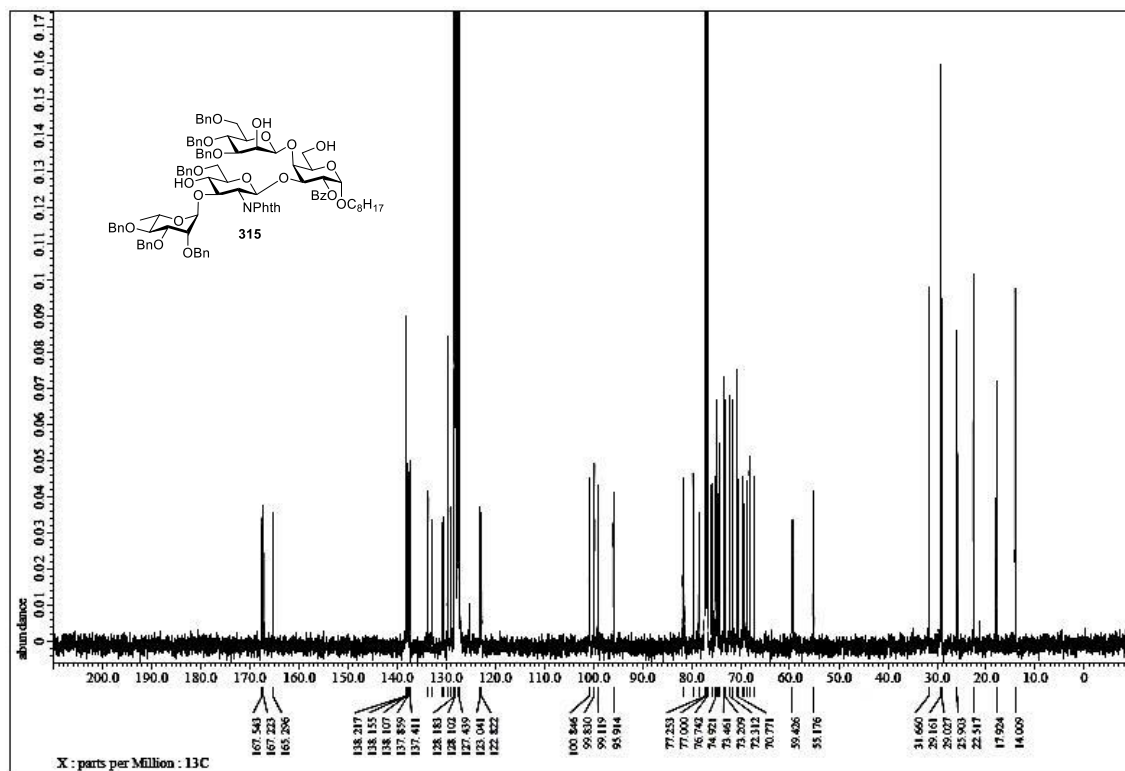
¹H-NMR spectrum of S15



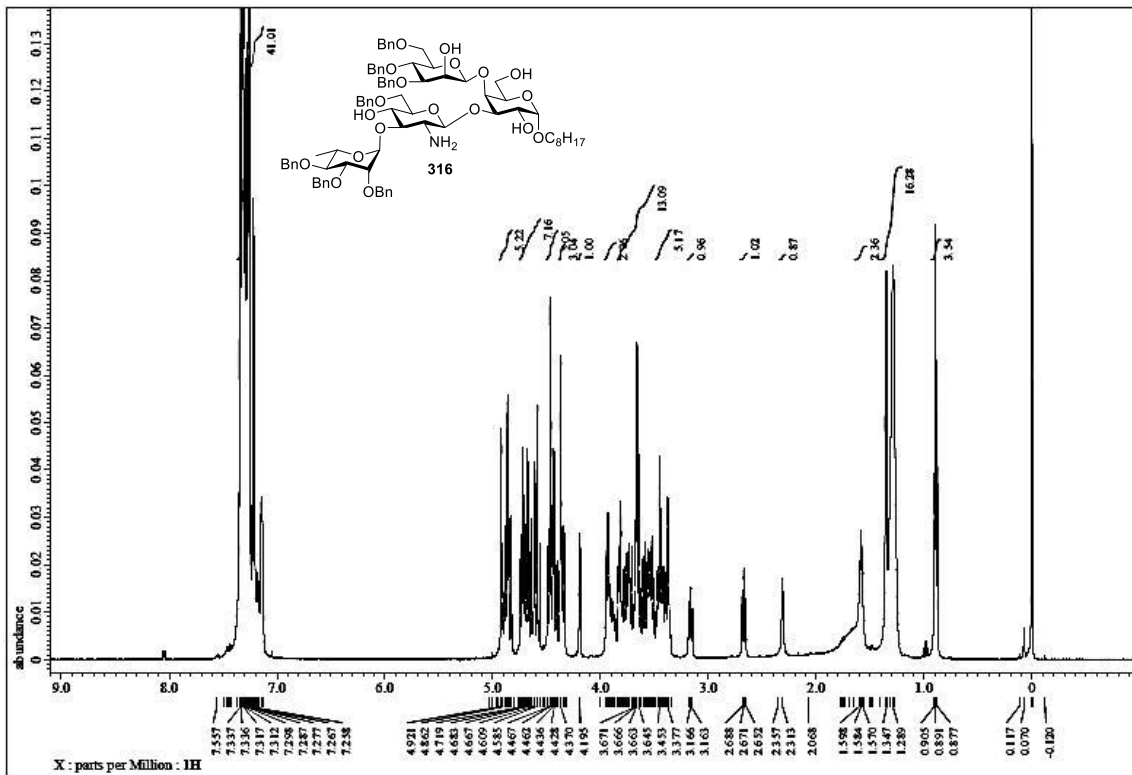
¹³C-NMR spectrum of S15



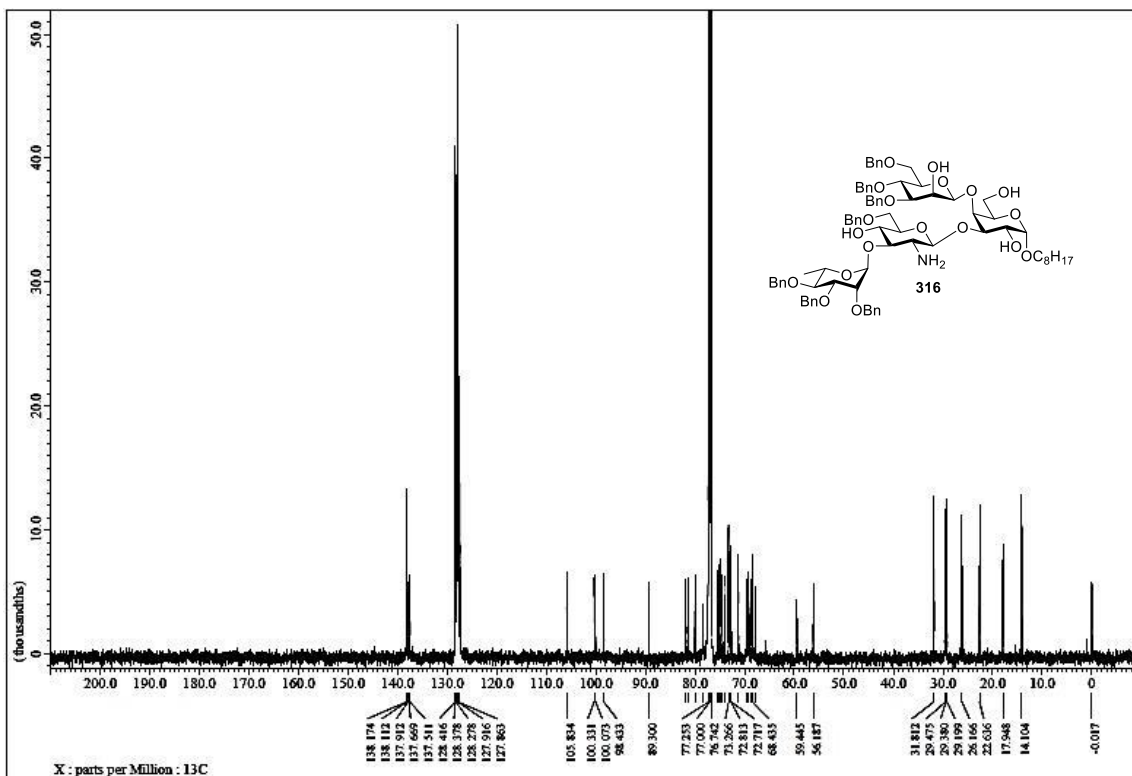
¹H-NMR spectrum of 315



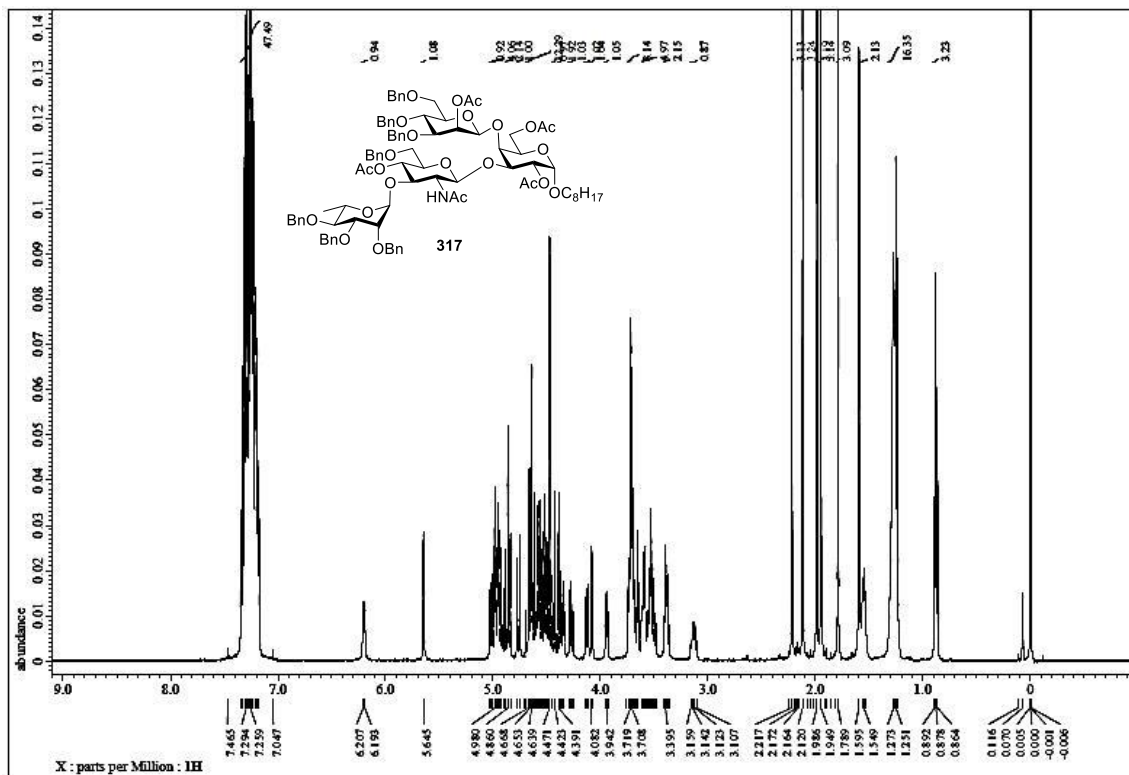
¹³C-NMR spectrum of 315



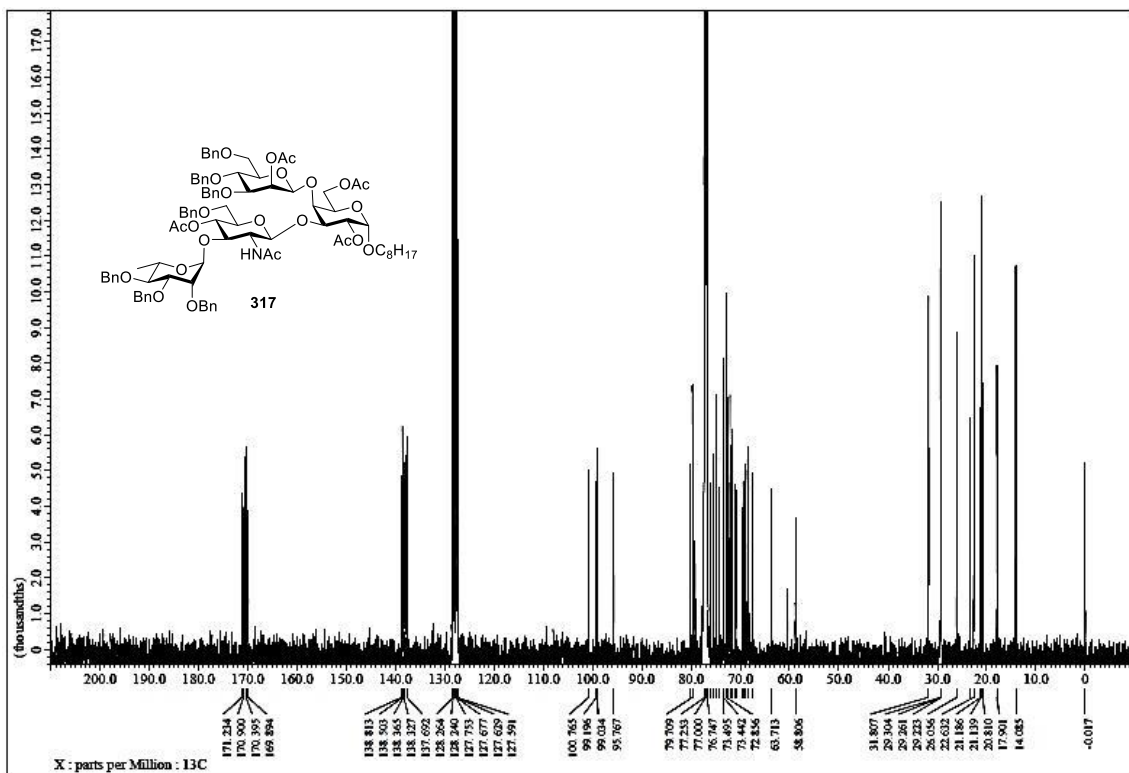
¹H-NMR spectrum of 316



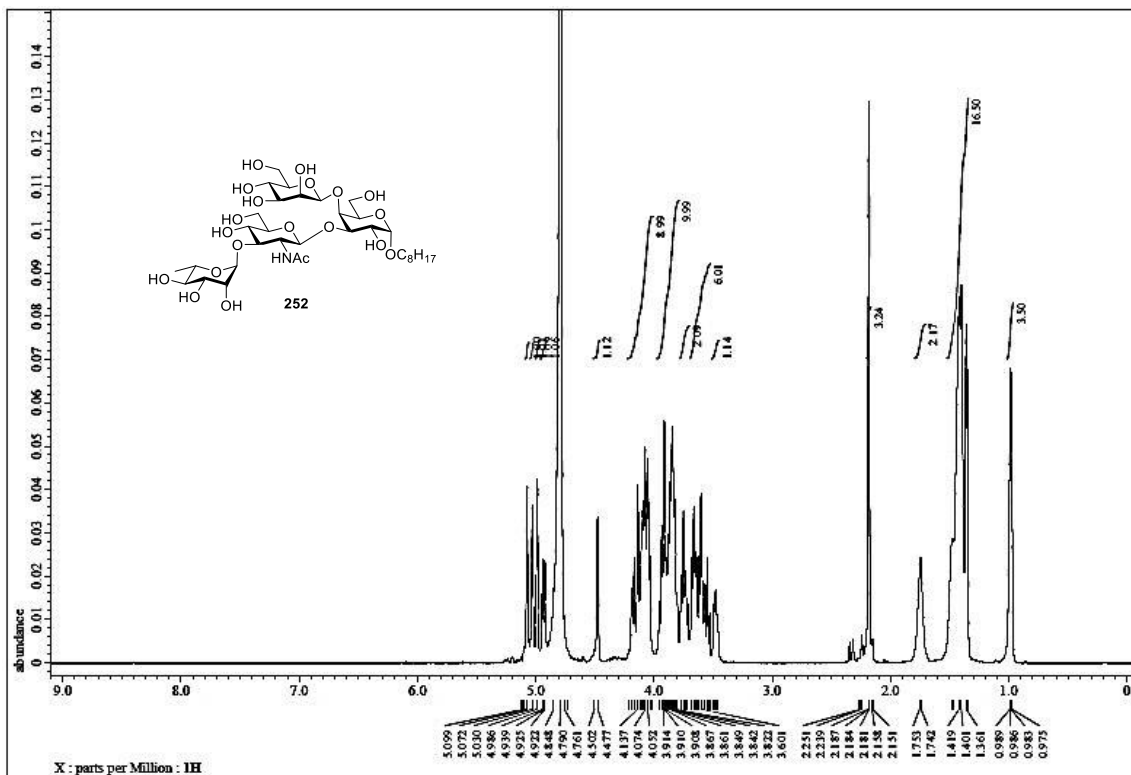
¹³C-NMR spectrum of 316



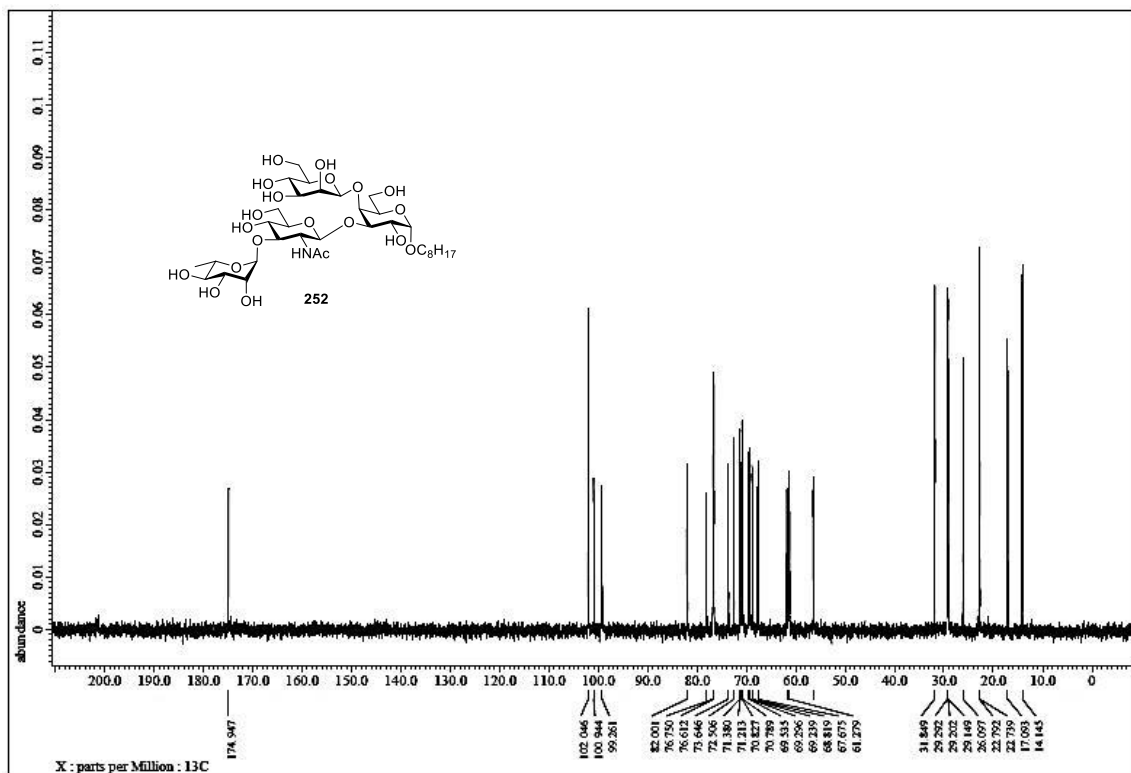
¹H-NMR spectrum of 317



¹³C-NMR spectrum of 317



¹H-NMR spectrum of 252



¹³C-NMR spectrum of 252

Experimental Procedure and Characterization Data for Chapter 2

General procedure A for glycosylations of 1,2-anhydrorhamnose **253 and glycosyl acceptors using a catalytic amount of borinic acid **203****

Glycosyl acceptor (25-55 μmol , 1.0 equiv.) and di(4-fluoro)phenylborinic acid (**203**) (5-11 μmol , 0.2 equiv.) were diluted with dry MeCN under Ar atmosphere, and then the resulting mixture was cooled to 0 °C. To the mixture was slowly added a solution of 1,2-anhydro-3,4-di-*O*-benzyl- β -L-rhamnose (**253**) (50-110 μmol , 2.0 equiv.) in dry MeCN (0.1 M final conc. for glycosyl acceptor). After the reaction mixture was stirred for the reaction time indicated, the reaction was quenched by addition of 0.05 M NaBO₃ aq. (110-242 μL , 1.1 equiv. to **203**). To the resultant mixture was added sat. NH₄Cl aq. (3 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (4 mL \times 3), and then the combined extracts were washed with brine (4 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography or preparative TLC (0.25 mm silica gel plate) gave the corresponding glycosides.

General procedure B for glycosylations of 1,2-anhydrorhamnose **253 and glycosyl acceptors using a stoichiometric amount of borinic acid **203****

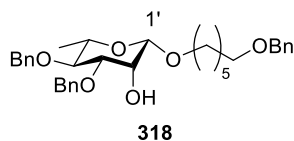
To a solution of glycosyl acceptor (40-60 μmol , 1.0 equiv.) in dry PhMe (1.6-2.4 mL, 25 mM for glycosyl acceptor) was added di(4-fluoro)phenylborinic acid (**203**) (40-60 μmol , 1.0 equiv.) at room temperature under Ar atmosphere. After stirring under reflux conditions for 3 h, the reaction mixture was concentrated in *vacuo*. The residue was diluted with dry MeCN under Ar atmosphere, and then the resulting mixture was cooled to 0 °C. To the mixture was slowly added a solution of 1,2-anhydro-3,4-di-*O*-benzyl- β -L-rhamnose (**253**) (80-120 μmol , 2.0 equiv.) in dry MeCN (0.1 M final conc. for glycosyl acceptor). After the reaction mixture was stirred for 6 h, the reaction was quenched by addition of 0.05 M NaBO₃ aq. (880-1320 μL , 1.1 equiv. to **203**). To the resultant mixture was added sat. NH₄Cl aq. (2 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 mL \times 3), and then the combined extracts were washed with brine (6 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography gave the corresponding glycosides.

General procedure C for glycosylations of 1,2-anhydrorhamnose **253 and glycosyl acceptors using a catalytic amount of boronic acid **247****

Glycosyl acceptor (0.01-0.04 mmol, 1.0 equiv.) and 4-nitrophenylboronic acid (**247**) (2-8 μmol , 0.2 equiv.) were diluted with dry MeCN under Ar atmosphere, and then the resulting mixture was cooled to 0 °C. To the mixture was added a solution of 1,2-anhydro-3,4-di-*O*-benzyl- β -L-rhamnose (**253**) (0.015-0.06 mmol, 1.5 equiv.) in dry MeCN (0.05 M final conc. of **253**). After the reaction mixture was stirred for 6 h, the reaction was quenched by addition of 0.05 M NaBO₃ aq. (88-352 μL , 2.2 equiv. to **247**). To the resultant mixture was added sat. NH₄Cl aq. (2 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (3 mL \times 3), and then the combined extracts were washed with brine (3 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC or silica gel column chromatography gave the corresponding glycosides.

Synthesis of β -L-rhamnosides **318**, **254-256**, **333-335**, **338**, **257**, **259**, **261**, and **345**

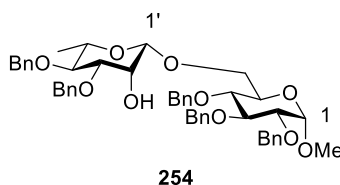
Compound **318**



Compound **318** was synthesized in 94% yield according to the general procedure A from **202**¹⁰⁹ and **253**.

Data for **318**: Colorless syrup; R_f 0.54 (3/2 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{26} +25.4^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.25 (15H, m, Ar-H), 4.94 and 4.64 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, PhCH₂), 4.77 and 4.67 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, PhCH₂), 4.49 (2H, s, PhCH₂), 4.36 (1H, d, $J_{1',2'} = 0.5$ Hz, H-1'), 4.09 (1H, br-s, H-2'), 3.89 (1H, dt, $J = 6.5$ Hz, $J = 9.5$ Hz, H-1a), 3.55-3.50 (2H, m, H-3', 4'), 3.50-3.42 (3H, m, H-1b, 6a, 6b), 3.31 (1H, m, H-5'), 2.40 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, OH), 1.70-1.53 (4H, m, H-2, 5), 1.43-1.35 (4H, m, H-3, 4), 1.34 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.5$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.4, 138.2, 137.7, 128.2, 128.1 \times 2, 127.9, 127.6 \times 2, 127.5, 127.3, 127.2, 99.3 ($^1J_{\text{CH}} = 156$ Hz), 81.2, 79.4, 75.2, 72.6, 71.2, 71.0, 70.1, 69.4, 68.2, 29.4, 29.2, 25.8, 25.6, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 535.3035 (535.3060 calcd for C₃₃H₄₃O₆ [M+H]⁺).

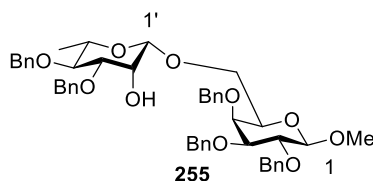
Compound **254**



Compound **254** was synthesized in 94% yield according to the general procedure A from **34**¹¹⁰ and **253**. Spectroscopic data were in agreement with previously reported data.¹¹¹

Data for **254**: Colorless syrup; R_f 0.60 (1/1 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{28} +30.3^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.55-7.24 (25H, m, Ar-H), 4.98 and 4.85 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.94 and 4.62 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.85 and 4.73 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.80 and 4.67 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, PhCH₂), 4.75 and 4.64 (2H, ABq, $J = 13.0$ Hz, PhCH₂), 4.59 (1H, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.42 (1H, br-s, H-1'), 4.21 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz, H-6a), 4.11 (1H, br-s, H-2'), 3.98 (1H, dd, $J_{2,3} = 9.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 3.79-3.77 (2H, m, H-5, 6b), 3.62 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 3.56-3.45 (3H, m, H-2, 3', 4'), 3.35 (3H, s, OCH₃), 3.30 (1H, m, H-5'), 2.24 (1H, br-s, OH), 1.30 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.7, 138.3 \times 2, 138.1, 137.9, 128.4, 128.4, 128.3, 128.1 \times 2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 99.3 ($^1J_{CH} = 157$ Hz), 98.2, 82.0, 81.1, 79.7, 79.6, 75.7, 75.5, 75.1, 73.4, 71.5, 71.1, 69.8, 68.3, 67.0, 55.2, 17.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 813.3637 (813.3615 calcd for C₄₈H₅₄O₁₀Na [M+Na]⁺).

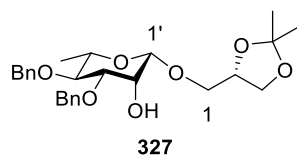
Compound **255**



Compound **255** was synthesized in 89% yield according to the general procedure A from **324**¹¹² and **253**.

Data for **255**: Colorless syrup; R_f 0.48 (1/1 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{28} -16.5^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.60-7.12 (25H, m, Ar-H), 4.98 and 4.64 (2H, ABq, $J = 12.5$ Hz, PhCH₂), 4.91 and 4.63 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.90 and 4.75 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.80 and 4.77 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, PhCH₂), 4.74 and 4.69 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, PhCH₂), 4.26 (1H, d, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, H-1), 3.94 (1H, br-d, $J_{3,4} = 2.5$ Hz, H-4), 3.85 (1H, dd, $J_{5,6a} = 4.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 8.5$ Hz, H-6a), 3.82 (1H, d, $J_{1',2'} = 1.0$ Hz, H-1'), 3.82 (1H, dd, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, $J_{2,3} = 9.0$ Hz, H-2), 3.71 (1H, br-s, H-2'), 3.66-3.49 (6H, m, H-3, 5, 6b, OCH₃), 3.48-3.35 (2H, m, H-3', 4'), 3.22 (1H, m, H-5'), 2.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, OH), 1.30 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.8, 138.7, 138.4, 138.2, 137.8, 128.7, 128.6, 128.4 \times 2, 128.3, 128.2, 128.1 \times 3, 128.0, 127.6, 127.5 \times 2, 105.1, 99.5 ($^1J_{CH} = 155$ Hz), 82.4, 81.0, 79.7, 79.6, 75.5, 75.2, 74.0, 73.2, 72.3, 72.0, 71.5, 71.4, 68.3, 66.8, 57.0, 17.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 813.3599 (813.3615 calcd for C₄₈H₅₄O₁₀Na [M+Na]⁺).

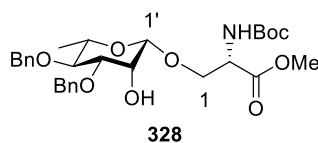
Compound 327



Compound **327** was synthesized in 97% yield according to the general procedure A from **325** and **253**.

Data for **327**: White solid; R_f 0.63 (1/1 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{26} +29.3^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃); mp 108-109 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.39-7.27 (10H, m, Ar-H), 4.94 and 4.65 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.76 and 4.67 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, PhCH₂), 4.34 (1H, br-s, H-1'), 4.33 (1H, m, H-2), 4.16 (1H, br-s, H-2'), 4.07 (1H, dd, $J = 6.5$ Hz, $J = 8.5$ Hz, H-1a), 3.87 (1H, dd, $J = 5.0$ Hz, $J = 10.5$ Hz, H-3a), 3.69 (1H, dd, $J = 6.5$ Hz, $J = 8.5$ Hz, H-1b), 3.61 (1H, dd, $J = 7.0$ Hz, 10.5 Hz, H-3b), 3.56-3.50 (2H, m, H-3', 4'), 3.32 (1H, m, H-5'), 2.40 (1H, br-s, OH), 1.41 (3H, s, CH₃), 1.36 (3H, s, CH₃), 1.34 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.3, 137.8, 128.5, 128.4, 128.1, 127.9 \times 2, 127.8, 109.6, 99.6 ($^1J_{CH} = 156$ Hz), 81.2, 79.5, 75.5, 74.8, 71.5, 71.3, 70.6, 68.2, 66.7, 26.8, 25.3, 17.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 481.2184 (481.2202 calcd for C₂₆H₃₄O₇Na [M+Na]⁺).

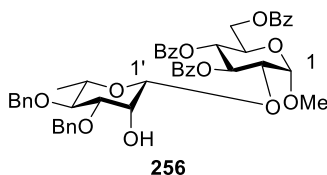
Compound 328



Compound **328** was synthesized in 94% yield according to the general procedure A from **326** and **253**.

Data for **328**: Colorless syrup; R_f 0.55 (2/1 *n*-hexane/acetone); $[\alpha]_D^{28} +19.1^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.44-7.26 (10H, m, Ar-H), 5.72 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, NH), 4.93 and 4.64 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, PhCH₂), 4.75 and 4.66 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, PhCH₂), 4.44 (1H, ddd, $J = 3.0$ Hz, $J = 3.0$ Hz, $J = 9.0$ Hz, H-2), 4.34 (1H, d, $J_{1',2'} = 0.5$ Hz, H-1'), 4.11 (1H, dd, $J = 10.5$ Hz, $J = 3.0$ Hz, H-1a), 4.05 (1H, br-s, H-2'), 4.02 (1H, dd, $J = 10.5$ Hz, $J = 3.0$ Hz, H-1b), 3.75 (3H, s, OCH₃), 3.59-3.44 (2H, m, H-3', 4'), 3.33 (1H, m, H-5'), 2.35 (1H, br-s, OH), 1.44 (9H, s, C(CH₃)₃), 1.36 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.5$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.9, 155.5, 138.2, 137.7, 128.5, 128.4, 128.1, 127.9, 127.8, 100.0 ($^1J_{CH} = 157$ Hz), 81.1, 79.9, 79.3, 75.5, 71.7, 71.4, 70.3, 68.2, 53.9, 52.5, 28.3, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 546.2723 (546.2703 calcd for C₂₉H₄₀NO₉ [M+H]⁺).

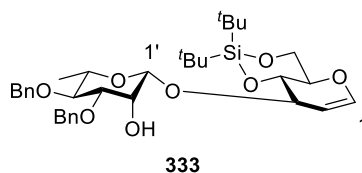
Compound 256



Compound **256** was synthesized in 82% yield according to the general procedure A from **329**¹¹³ and **253**.

Data for **256**: White solid; R_f 0.46 (1/1 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]_D^{23} +42.1^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃); mp 147-148 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06-8.01 (2H, m, Ar-H), 8.00-7.92 (4H, m, Ar-H), 7.57-7.22 (19H, m, Ar-H), 5.83 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.62 (1H, dd, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 4.93 (1H, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.86 and 4.47 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.75 and 4.61 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, PhCH₂), 4.59 (1H, dd, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, H-6a), 4.50-4.43 (2H, m, H-1', 6b), 4.33 (1H, ddd, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, $J_{5,6b} = 5.5$ Hz, H-5), 4.22 (1H, dd, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 4.09 (1H, br-s, H-2'), 3.52 (3H, s, OCH₃), 3.41 (1H, dd, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.28 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.15 (1H, m, H-5'), 2.53 (1H, br-s, OH), 0.86 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.8, 166.1, 165.3, 138.3, 138.0, 133.4, 133.1, 132.8, 130.0, 129.9, 129.8, 129.7, 128.9, 128.4, 128.4, 128.3, 128.1 \times 2, 127.8, 127.7, 127.6, 97.6, 97.0 ($^1J_{CH} = 156$ Hz), 80.9, 79.3, 75.4, 74.7, 71.5, 71.4, 69.1, 68.0, 67.5, 63.1, 55.5, 17.2; HRMS (ESI-TOF) m/z 855.3009 (855.2993 calcd for C₄₈H₄₈O₁₃Na [M+Na]⁺).

Compound 333

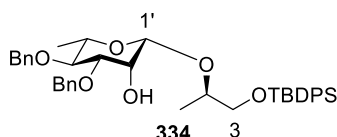


Compound **333** was synthesized in 82% yield (96% BRSM) according to the general procedure B from **330**¹¹⁴ and **253**.

Data for **333**: Colorless syrup; R_f 0.40 (3/1 *n*-hexane/acetone); $[\alpha]_D^{29} +0.32^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.43-7.17 (10H, m, Ar-H), 6.27 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{1,3} = 1.5$ Hz, H-1), 5.00 (1H, d, $J_{1,2'} = 1.0$ Hz, H-1'), 4.93 and 4.68 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.81 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{2,3} = 2.0$ Hz, H-2), 4.76 and 4.64 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, PhCH₂), 4.50 (1H, ddd, $J_{1,3} = 1.5$ Hz, $J_{2,3} = 2.0$ Hz, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H-3), 4.18-4.10 (3H, m, H-2', 4, 6a), 3.96 (1H, dd, $J_{5,6b} = 10.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.5$ Hz, H-6b), 3.85 (1H, ddd, $J = 5.0$ Hz, $J = 10.5$ Hz, $J = 10.5$ Hz, H-5), 3.55 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 8.5$ Hz, H-4'), 3.48 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.28 (1H, m, H-5'), 2.45 (1H, br-s, OH), 1.36 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.5$ Hz, H-6'), 1.04 (9H, s,

$C(CH_3)_3$), 0.97 (9H, s, $C(CH_3)_3$); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 144.1, 138.2, 137.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.0, 127.9, 127.8, 102.2, 99.3 ($^1J_{CH} = 160$ Hz), 81.6, 79.5, 76.9, 75.6, 75.2, 72.3, 71.6, 71.5, 68.7, 65.8, 27.4, 26.9, 22.6, 19.8, 17.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 635.3010 (635.3016 calcd for $C_{34}H_{48}O_8NaSi [M+Na]^+$).

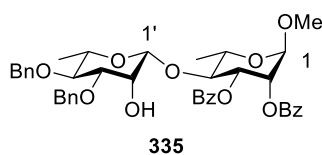
Compound 334



Compound **334** was synthesized in 65% yield (94% BRSM) according to the general procedure B from **331**¹¹⁵ and **253**.

Data for **334**: Colorless syrup; R_f 0.41 (2/3 *n*-hexane/ Et_2O); $[\alpha]^{25}_D +25.6^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.69-7.61 (4H, m, Ar-H), 7.46-7.20 (16H, m, Ar-H), 4.93 and 4.63 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, $PhCH_2$), 4.72 and 4.62 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, $PhCH_2$), 4.65 (1H, br-s, H-1'), 4.07 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 3.99 (1H, m, H-2), 3.65 (1H, dd, $J = 7.0$ Hz, $J = 11.0$ Hz, H-3a), 3.57 (1H, dd, $J = 4.0$ Hz, $J = 11.0$ Hz, H-3b), 3.52 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.43 (1H, dd, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.23 (1H, m, H-5'), 2.38 (1H, br-s, OH), 1.33 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.5$ Hz, H-6'), 1.17 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-1), 1.02 (9H, s, $C(CH_3)_3$); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 138.3, 137.9, 135.5, 133.3, 133.2, 129.8, 128.5, 128.4, 128.2, 127.9, 127.8 \times 2, 127.7, 99.4 ($^1J_{CH} = 157$ Hz), 81.4, 79.6, 75.6, 75.5, 71.3 \times 2, 68.6, 68.1, 26.8, 19.1, 18.0, 17.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 663.3087 (663.3118 calcd for $C_{39}H_{48}O_6NaSi [M+Na]^+$).

Compound 335

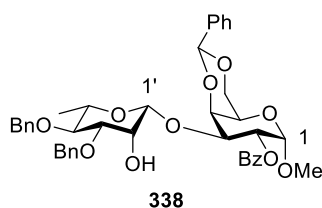


Compound **335** was synthesized in 56% yield (90% BRSM) according to the general procedure B from **332**¹¹⁶ and **253**.

Data for **335**: Colorless syrup; R_f 0.24 (2/1 *n*-hexane/ $EtOAc$); $[\alpha]^{28}_D +57.4^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.10 (2H, dd, $J = 1.5$ Hz, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 7.90 (2H, dd, $J = 1.5$ Hz, 8.5 Hz, Ar-H), 7.62 (1H, m, Ar-H), 7.52-7.43 (3H, m, Ar-H), 7.40-7.20 (12H, m, Ar-H), 5.70 (1H, dd, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-3), 5.53 (1H, dd, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-2), 4.83 (1H, d, $J_{1,2} = 1.5$ Hz, H-1), 4.83 and 4.43 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, $PhCH_2$), 4.76 and 4.63 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, $PhCH_2$), 4.44 (1H, br-s, H-1'), 4.05 (1H, br-s, H-2'), 4.02-3.96 (2H, m, H-4, 5), 3.44

(3H, s, OCH₃), 3.38 (1H, dd, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.23 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.06 (1H, m, H-5'), 2.63 (1H, br-s, OH), 1.38 (3H, d, $J_{5,6} = 6.0$ Hz, H-6), 0.64 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.3, 165.6, 138.3, 138.0, 133.4, 132.8, 130.3, 129.9, 129.8, 128.5, 128.4, 128.3, 128.0, 127.8, 127.7, 99.2 (¹J_{CH} = 157 Hz), 98.3, 81.4, 79.2, 78.1, 75.3, 71.5, 71.4, 71.1, 69.9, 68.3, 67.1, 55.1, 17.9, 17.0; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 735.2810 (735.2781 calcd for C₄₁H₄₄O₁₁Na [M+Na]⁺).

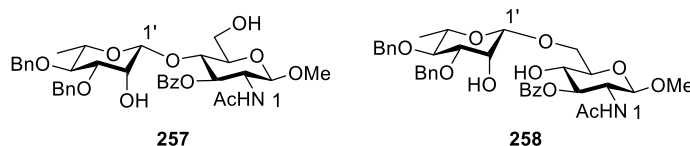
Compound 338



Compound **338** was synthesized in 67% yield (98% BRSM) according to the general procedure B from **337**¹¹⁷ and **253**.

Data for **338**: Colorless syrup; *R_f* 0.34 (1/1 *n*-hexane/EtOAc); [α]_D²⁷ +123.9° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.16-8.07 (2H, m, Ar-H), 7.60-7.48 (3H, m, Ar-H), 7.46-7.05 (15H, m, Ar-H), 5.57 (1H, s, PhCH), 5.51 (1H, dd, $J_{1,2} = 3.0$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 5.20 (1H, d, $J_{1,2} = 3.0$ Hz, H-1), 4.92 and 4.57 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, PhCH₂), 4.73 and 4.59 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, PhCH₂), 4.60 (1H, br-s, H-1'), 4.59 (1H, m, H-3), 4.37 (1H, br-d, $J_{3,4} = 3.0$ Hz, H-4), 4.32 (1H, br-d, $J = 12.5$ Hz, H-6a), 4.11 (1H, br-d, $J = 12.5$ Hz, H-6b), 4.05 (1H, br-s, H-2'), 3.75 (1H, br-s, H-5), 3.53-3.45 (2H, m, H-3', 4'), 3.43 (3H, s, OCH₃), 3.28 (1H, m, H-5'), 2.39 (1H, br-s, OH), 1.24 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.4, 138.4, 138.0, 137.5, 133.0, 130.0×2, 129.0, 128.3×2, 128.2, 128.1, 127.7×2, 127.6, 126.2, 125.3, 100.9, 98.3, 95.8 (¹J_{CH} = 156 Hz), 81.0, 79.5, 75.4, 73.4, 71.6, 70.8×2, 69.4, 69.3, 68.2, 62.3, 55.7, 17.9; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 735.2768 (735.2781 calcd for C₄₁H₄₄O₁₁Na [M+Na]⁺).

Compound 257 and 258



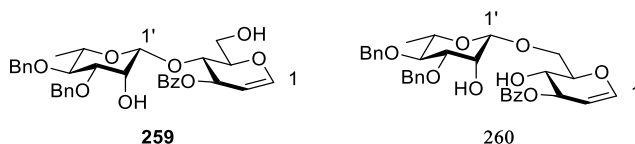
Glucosaminide **277** (13.0 mg, 38.3 μmol) and 4-nitrophenylboronic acid (**247**) (1.28 mg, 7.7 μmol) were diluted with dry MeCN under Ar atmosphere. To the mixture was added a solution of 1,2-anhydro-3,4-di-*O*-benzyl-β-L-rhamnose (**253**) (20.8 mg, 63.7 μmol) in dry MeCN (0.025 M final conc. of **253**). After the reaction mixture was stirred for 6 h, the reaction was quenched by

addition of 0.05 M NaBO₃ aq. (337 μL). To the resultant mixture was added sat. NH₄Cl aq. (3 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (4 mL×3), and then the combined extracts were washed with brine (4 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (4/1 PhMe/acetone) gave **257** (21.3 mg, 32.0 μmol, 84% yield) and **258** (1.7 mg, 2.55 μmol, 7% yield).

Data for **257**: White solid; R_f 0.63 (1/2 PhMe/acetone); [α]_D²⁶ -7.4° (c 1.49, CHCl₃); mp 93-94 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.04-8.01 (2H, m, Ar-H), 7.59 (1H, m, Ar-H), 7.45 (2H, t, J = 8.0 Hz, Ar-H), 7.32-7.18 (8H, m, Ar-H), 7.16-7.12 (2H, m, Ar-H), 5.67 (1H, d, J = 9.0 Hz, NH), 5.45 (1H, dd, J_{2,3} = 10.5 Hz, J_{3,4} = 9.5 Hz, H-3), 4.82 and 4.54 (2H, ABq, J = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.57 (1H, d, J_{1,2} = 8.5 Hz, H-1), 4.48 (1H, br-s, H-1'), 4.38 and 4.21 (2H, ABq, J = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.16 (1H, m, H-2), 4.08 (1H, dd, J_{3,4} = 9.5 Hz, J_{4,5} = 9.5 Hz, H-4), 4.02-3.88 (2H, m, H-6a, 6b), 3.73 (1H, br-d, J_{2',3'} = 1.5 Hz, H-2'), 3.61 (1H, m, H-5), 3.51 (3H, s, OCH₃), 3.42 (1H, dd, J_{3',4'} = 9.5 Hz, J_{4',5'} = 9.5 Hz, H-4'), 3.30 (1H, m, H-5'), 3.12 (1H, dd, J_{2',3'} = 1.5 Hz, J_{3',4'} = 9.5 Hz, H-3'), 3.04 (1H, t, J = 7.5 Hz, OH), 2.34 (1H, br-s, OH), 1.86 (3H, s, NHC(O)CH₃), 1.33 (3H, d, J_{5',6'} = 6.0 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.3, 166.4, 138.0, 133.8, 129.6, 129.0, 128.8, 128.4×2, 128.1, 127.8×2, 127.6, 101.9, 100.7 (¹J_{CH} = 154 Hz), 81.2, 78.8, 76.5, 75.6, 75.5, 74.4, 71.9, 71.0, 67.9, 62.3, 56.6, 54.0, 23.2, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 688.2723 (688.2734 calcd for C₃₆H₄₃NO₁₁Na [M+Na]⁺).

Data for **258**: White solid; R_f 0.23 (2/1 PhMe/acetone); [α]_D²⁷ +5.8° (c 0.70, CHCl₃); mp 97-98 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06-8.02 (2H, m, Ar-H), 7.56 (1H, m, Ar-H), 7.45-7.28 (12H, m, Ar-H), 5.67 (1H, d, J = 9.0 Hz, NH), 5.31 (1H, dd, J = 9.5 Hz, J = 10.5 Hz, H-3), 4.92 and 4.61 (2H, ABq, J = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.79 and 4.68 (2H, ABq, J = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.48 (1H, br-s, H-1'), 4.47 (1H, d, J_{1,2} = 9.0 Hz, H-1), 4.21-4.03 (4H, m, H-2, 2', 4, 6a), 3.91 (1H, br-d, J = 11.0 Hz, H-6b), 3.54-3.47 (7H, m, H-3', 4', 5, OH, OCH₃), 3.33 (1H, m, H-5'), 2.65 (1H, br-s, OH), 1.86 (3H, s, NHC(O)CH₃), 1.26 (3H, d, J_{5',6'} = 6.0 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.4, 167.4, 138.2, 137.8, 133.4, 129.9, 129.4, 128.5×2, 128.4, 128.1, 127.9, 127.8, 102.3, 99.9 (¹J_{CH} = 158 Hz), 81.0, 79.4, 75.5, 75.3, 75.1, 71.7, 71.3, 68.2, 68.1, 67.3, 56.6, 54.0, 23.4, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 666.2905 (666.2914 calcd for C₃₆H₄₄NO₁₁ [M+H]⁺).

Compound **259** and **260**

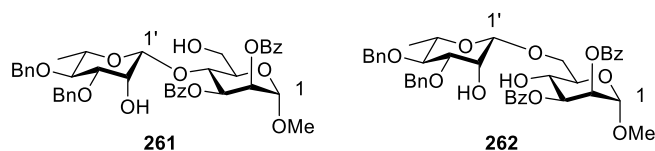


Compound **259** was synthesized in 86% yield according to the general procedure C from glucal **278** and **253**, and along with **260** in 5% yield.

Data for **259**: Colorless syrup; R_f 0.60 (2/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{24} -52.0^\circ$ (c 0.83, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.00 (2H, dd, $J = 1.5$ Hz, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 7.61 (1H, m, Ar-H), 7.46 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 7.35-7.21 (10H, m, Ar-H), 6.45 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{1,3} = 1.5$ Hz, H-1), 5.80 (1H, ddd, $J_{1,3} = 1.5$ Hz, $J_{2,3} = 1.5$ Hz, $J_{3,4} = 8.5$ Hz, H-3), 4.87 and 4.60 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.82 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{2,3} = 1.5$ Hz, H-2), 4.65 (1H, d, $J_{1',2'} = 0.5$ Hz, H-1'), 4.57 and 4.48 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.38 (1H, dd, $J_{3,4} = 8.5$ Hz, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 4.10 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 13.5$ Hz, H-6a), 4.00 (1H, ddd, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, $J_{5,6a} = 3.0$ Hz, $J_{5,6b} = 3.0$ Hz, H-5), 3.96 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 3.87 (1H, m, H-6b), 3.48 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.37 (1H, m, H-5'), 3.32 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 2.31 (1H, br-s, OH), 1.39 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 166.0, 146.4, 138.0, 137.4, 133.4, 129.8, 129.4, 128.7, 128.5 \times 2, 128.2, 128.0, 127.9, 127.8, 100.4 ($^1J_{\text{CH}} = 157$ Hz), 99.3, 81.2, 78.9, 77.8, 75.6, 73.3, 73.2, 72.0, 71.5, 68.2, 61.2, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 599.2244 (599.2257 calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{O}_9\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Data for **260**: Colorless syrup; R_f 0.66 (2/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{25} -29.1^\circ$ (c 0.31, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.09-8.06 (2H, m, Ar-H), 7.60-7.55 (1H, m, Ar-H), 7.48-7.42 (2H, m, Ar-H), 7.39-7.28 (10H, m, Ar-H), 6.46 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{1,3} = 1.5$ Hz, H-1), 5.60 (1H, ddd, $J_{1,3} = 1.5$ Hz, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, $J_{3,4} = 7.0$ Hz, H-3), 4.93 and 4.63 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.85 (1H, dd, $J_{1,2} = 6.0$ Hz, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, H-2), 4.75 and 4.67 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.47 (1H, d, $J_{1',2'} = 0.5$ Hz, H-1'), 4.28-4.20 (2H, m, H-4, 6a), 4.14 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 4.02 (1H, dd, $J_{5,6b} = 2.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz, H-6b), 3.98 (1H, m, H-5), 3.73 (1H, br-s, OH), 3.55 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.51 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.36 (1H, m, H-5'), 2.46 (1H, br-s, OH), 1.35 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.5$ Hz, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 167.2, 146.2, 138.2, 137.7, 133.2, 130.0, 129.8, 128.5, 128.4 \times 2, 128.1, 127.9 \times 2, 127.8, 99.9, 99.7 ($^1J_{\text{CH}} = 155$ Hz), 81.2, 79.3, 77.9, 75.5, 73.0, 71.8, 71.5, 68.3, 67.1, 66.6, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 599.2252 (599.2257 calcd for $\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{O}_9\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Compound **261** and **262**



Compound **261** was synthesized in 87% yield according to the general procedure C from mannoside **279** and **253**, and along with **262** in 6% yield.

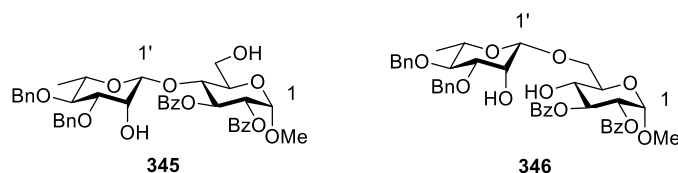
Data for **261**: Colorless syrup; R_f 0.55 (2/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{28} -24.1^\circ$ (c 1.05, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.05 (2H, dd, $J = 1.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 7.87 (2H, dd, $J = 1.0$ Hz, $J = 8.5$ Hz, Ar-H), 7.61 (1H, m, Ar-H), 7.54 (1H, m, Ar-H), 7.48 (2H, br-t, $J = 7.5$ Hz, Ar-H),

7.39-7.17 (10H, m, Ar-H), 7.15-7.12 (2H, m, Ar-H), 5.75 (1H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.60 (1H, dd, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-2), 4.88 (1H, d, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, H-1), 4.86 and 4.58 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.53 (1H, br-s, H-1'), 4.42 and 4.28 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.38 (1H, dd, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 4.09 (1H, m, H-6a), 3.95-3.85 (2H, m, H-5, 6b), 3.80 (1H, d, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 3.47 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.45 (3H, s, OCH₃), 3.36 (1H, m, H-5'), 3.19 (1H, dd, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 2.97 (1H, br-t, $J = 7.0$ Hz, OH), 2.30 (1H, br-s, OH), 1.38 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 165.4, 165.0, 138.0, 137.3, 133.4 \times 2, 129.8, 129.4 \times 3, 128.6, 128.5, 128.4, 128.1, 127.8, 127.7, 127.6, 100.8 (¹J_{CH} = 160 Hz), 98.8, 81.1, 78.8, 75.5, 73.5, 72.2, 71.8, 71.1, 71.0, 70.7, 67.9, 62.1, 55.2, 17.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 751.2714 (751.2730 calcd for C₄₁H₄₄O₁₂Na [M+Na]⁺).

Data for **262**: Colorless syrup; R_f 0.67 (2/1 PhMe/acetone); $[\alpha]^{27}_D -9.0^\circ$ (c 0.91, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (2H, dd, $J = 1.0$ Hz, 7.5 Hz, Ar-H), 7.93 (2H, dd, $J = 1.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 7.57 (1H, m, Ar-H), 7.52-7.45 (3H, m, Ar-H), 7.36-7.27 (12H, m, Ar-H), 5.61 (1H, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.56 (1H, dd, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, $J_{2,3} = 3.5$ Hz, H-2), 4.93 and 4.64 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.90 (1H, d, $J_{1,2} = 2.0$ Hz, H-1), 4.69 and 4.60 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.53 (1H, d, $J_{1',2'} = 1.0$ Hz, H-1'), 4.48 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 4.28 (1H, dd, $J_{5,6a} = 3.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz, H-6a), 4.18 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, H-2'), 3.94 (1H, dd, $J_{5,6b} = 2.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 11.5$ Hz, H-6b), 3.89 (1H, m, H-5), 3.57 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.51 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 3.45 (3H, s, OCH₃), 3.36 (1H, m, H-5'), 3.04 (1H, br-s, OH), 2.43 (1H, br-s, OH), 1.35 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.3, 165.5, 138.2, 137.8, 133.4, 133.1, 129.9, 129.8, 129.6, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.1, 127.9, 127.8, 99.9 (¹J_{CH} = 155 Hz), 98.7, 81.2, 79.4, 75.5, 72.1, 71.9, 71.7, 71.3, 70.7, 68.4, 67.7, 65.8, 55.3, 17.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 751.2719 (751.2730 calcd for C₄₁H₄₄O₁₂Na [M+Na]⁺).

Synthesis of the trisaccharide **263**

Compound **345** and **346**



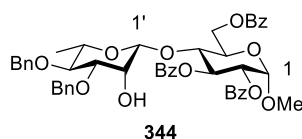
Compound **345** was synthesized in 87% yield according to the general procedure C from glucoside **245** and **253**, and along with **346** in 5% yield.

Data for **345**: Colorless syrup; R_f 0.57 (2/1 PhMe/acetone); $[\alpha]^{26}_D +97.8^\circ$ (c 1.32, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (4H, br-d, $J = 7.0$ Hz, Ar-H), 7.56-7.48 (2H, m, Ar-H), 7.43-7.35

(4H, m, Ar-H), 7.34-7.20 (8H, m, Ar-H), 7.18-7.14 (2H, m, Ar-H), 6.03 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.18 (1H, dd, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 5.14 (1H, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.83 and 4.56 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.49 (1H, br-s, H-1'), 4.41 and 4.24 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.14 (1H, dd, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, $J_{5,6} = 10.0$ Hz, H-4), 4.07 (1H, m, H-6a), 3.91 (1H, dt, $J = 3.5$ Hz, $J = 10.0$ Hz, H-5), 3.84 (1H, m, H-6b), 3.78 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 3.44 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.41 (3H, s, OCH₃), 3.30 (1H, m, H-5'), 3.08 (1H, dd, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 3.06 (1H, br-s, OH), 2.31 (1H, br-s, OH), 1.36 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 165.9, 165.3, 137.9, 137.4, 133.5, 133.3, 129.9, 129.4, 129.3, 129.1, 128.7, 128.4 \times 2, 128.1, 127.9, 127.8, 100.8 (¹J_{CH} = 159 Hz), 97.1, 81.1, 78.7, 75.8, 75.6, 72.7, 71.9 \times 2, 71.1, 70.0, 67.9, 61.6, 55.4, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 751.2720 (751.2730 calcd for C₄₁H₄₄O₁₂Na [M+Na]⁺).

Data for **346**: Colorless syrup; R_f 0.65 (2/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{25} +108.9^\circ$ (c 0.43, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.02-7.96 (4H, m, ArH), 7.53-7.48 (2H, m, Ar-H), 7.40-7.28 (14H, m, Ar-H), 5.80 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.21 (1H, dd, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 5.12 (1H, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.93 and 4.63 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH₂), 4.78 and 4.70 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.50 (1H, br-s, H-1'), 4.23 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.0$ Hz, $J_{3',4'} = 7.0$ Hz, H-3'), 4.18 (1H, br-s, H-2'), 4.08 (1H, dd, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4), 3.93-3.86 (2H, m, H-5, 6a), 3.57-3.52 (2H, m, H-4', 6b), 3.34 (3H, s, OCH₃), 3.36 (1H, m, H-5'), 3.30 (1H, br-s, OH), 2.47 (1H, br-s, OH), 1.33 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.5$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.8, 166.0, 138.2, 137.8, 133.3, 133.1, 129.9 \times 2, 129.6, 129.2, 128.5, 128.4 \times 2, 128.3, 128.1, 127.9, 127.8, 99.7 (¹J_{CH} = 155 Hz), 97.2, 81.2, 79.4, 75.5, 73.1, 71.8, 71.8, 71.5, 70.7, 68.7, 68.3, 67.4, 55.4, 17.8; HRMS (ESI-TOF) m/z 751.2706 (751.2730 calcd for C₄₁H₄₄O₁₂Na [M+Na]⁺).

Compound **344**

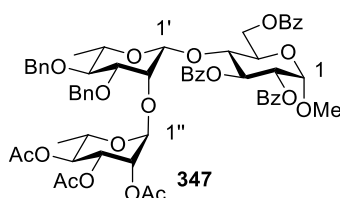


To a solution of **345** (65.5 mg, 89.9 μ mol) in dry MeCN (1.0 mL) was added DBU (2.2 μ L, 18.0 μ mol), and the mixture was allowed to stir at 50 $^\circ$ C for 10 min. 1-Benzoylimidazole (17.0 mg, 98.7 μ mol) in dry MeCN (0.8 mL) was added to the reaction mixture and it was allowed to stir at 50 $^\circ$ C for 2 h. MeCN was removed under reduced pressure and the resulting mixture was purified by silica gel column chromatography (12/1 PhMe/acetone) to afford **344** (44.6 mg, 53.5 μ mol, 60% yield).

Data for **344**: Colorless syrup; R_f 0.57 (4/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{23} +118.9^\circ$ (c 0.94, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.10-8.06 (2H, m, Ar-H), 8.04-7.96 (4H, m, Ar-H), 7.61-7.35 (9H,

m, Ar-H), 7.31-7.20 (8H, m, Ar-H), 7.18-7.13 (2H, m, Ar-H), 6.06 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 5.21 (1H, dd, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2), 5.14 (1H, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.81 and 4.52 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, ArCH₂), 4.73 (1H, dd, $J_{5,6a} = 2.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a), 4.70 (1H, dd, $J_{5,6b} = 4.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6b), 4.43 (1H, br-s, H-1'), 4.40 and 4.21 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.23 (1H, m, H-5), 4.12 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 3.78 (1H, br-s, H-2'), 3.43 (3H, s, OCH₃), 3.38 (1H, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, $J_{4',5'} = 9.0$ Hz, H-4'), 3.10 (1H, m, H-5'), 3.05 (1H, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.0$ Hz, H-3'), 2.32 (1H, br-s, OH), 1.17 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.5$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.2, 165.9, 165.4, 138.1, 137.6, 133.5, 133.4, 133.0, 130.2, 129.9, 129.6, 129.5, 129.3, 129.0, 128.7, 128.4 \times 2, 128.1, 127.8, 127.7, 100.8, 96.9, 81.3, 79.0, 76.0, 75.5, 72.7, 71.8, 71.6, 70.9, 68.5, 68.1, 63.3, 55.4, 17.5; HRMS (ESI-TOF) m/z 855.2993 (855.2993 calcd for C₄₈H₄₈O₁₃Na [M+Na]⁺).

Compound **347**

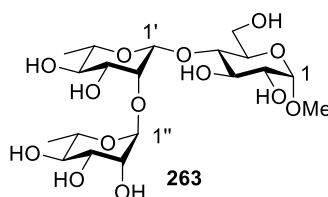


To a solution of compound **344** (14.8 mg, 17.8 μ mol) and **343** (23.2 mg, 53.4 μ mol) in dry CH₂Cl₂ (1.78 mL) was added MS 4Å (23.2 mg) and the reaction mixture was stirred under Ar at room temperature for 1 h. The reaction mixture was cooled to 0 °C and TMSOTf (1.6 μ L, 8.9 μ mol) were added to it. After stirring at same temperature for 1 h, NEt₃ (2.5 μ L) was added to the reaction mixture. The resultant mixture was filtrated through celite pad, and then added sat. NaHCO₃ aq. (2.0 mL). The layers were separated and the organic phase was diluted with EtOAc (2.0 mL), washed with brine (2.0 mL), and then dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (12/1 PhMe/acetone) and preparative TLC (15/1 CHCl₃/acetone) gave **347** (15.8 mg, 14.3 μ mol, 80% yield).

Data for **347**: Colorless syrup; R_f 0.49 (8/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{27} +64.0^\circ$ (c 0.68, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.12-8.07 (2H, m, Ar-H), 8.01-7.96 (4H, m, Ar-H), 7.59-7.35 (9H, m, Ar-H), 7.30-7.17 (8H, m, Ar-H), 7.13-7.08 (2H, m, Ar-H), 5.99 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, $J_{3,4} = 8.5$ Hz, H-3), 5.41-5.37 (2H, m, H-1'', 3''), 5.21 (1H, dd, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, H-2), 5.14 (1H, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 5.07 (1H, dd, $J = 9.5$ Hz, $J = 10.0$ Hz, H-4''), 5.01 (1H, br-s, H-2''), 4.77 (1H, dd, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6a), 4.76 and 4.54 (2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, ArCH₂), 4.72 (1H, dd, $J_{5,6b} = 4.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6b), 4.45 (1H, br-s, H-1'), 4.33 (1H, m, H-5''), 4.32 and 4.24 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH₂), 4.18-4.09 (2H, m, H-4, 5), 3.83 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, H-2'), 3.42 (3H, s, OCH₃), 3.40 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, $J_{4',5'} = 9.5$ Hz, H-4'), 3.11 (1H,

m, H-5'), 3.00 (1H, dd, $J_{2',3'} = 2.5$ Hz, $J_{3',4'} = 9.5$ Hz, H-3'), 2.09 (3H, s, C(O)CH₃), 2.05 (3H, s, C(O)CH₃), 1.92 (3H, s, C(O)CH₃), 1.36 (3H, d, $J_{5'',6''} = 6.5$ Hz, H-6''), 1.17 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.2, 169.9, 169.7, 166.0, 165.9, 165.2, 138.1, 137.5, 133.5, 133.4, 132.8, 130.5, 129.9, 129.6, 129.5, 129.3, 129.0, 128.7, 128.4×2, 128.3×2, 128.2, 127.7, 127.5, 127.3, 99.8 (¹J_{C1'H1'} = 156 Hz), 97.6 (¹J_{C1'H1'} = 174 Hz), 97.0 (¹J_{C1''H1''} = 169 Hz), 82.2, 79.4, 75.6, 74.9, 72.8, 72.1, 71.6, 71.5×2, 71.4, 69.8, 69.2, 68.6, 66.6, 63.2, 55.4, 20.9, 20.7, 20.6, 17.4, 17.3; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 1143.3667 (1143.3628 calcd for C₆₀H₆₄O₂₀K [M+K]⁺).

Compound **263**



A mixture of **347** (15.8 mg, 14.3 μmol) and 20% Pd/(OH)₂/C (15.8 mg) in dry THF (1.43 mL) was stirred under an atmosphere of H₂ at rt for 30 min, after which the reaction mixture was filtered through celite pad, and concentrated under reduced pressure.

To a solution of resultant mixture in MeOH/THF (3:1) (1.43 mL) was added 28% NaOMe in MeOH (28.6 μL, 143 μmol) at 0 °C. The reaction mixture was stirred for 1.5 h at room temperature and then the reaction temperature was raised to 50 °C and stirred for 1.5 h. Then the reaction mixture was neutralized with Dowex 50W-4X, filtered, and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by reverse-phase column chromatography eluted with 14% MeOH/H₂O to give **263** (6.0 mg, 12.3 μmol, 86% yield).

Data for **263**: Colorless syrup; *R_f* 0.41 (1/1 CHCl₃/MeOH); [α]_D²⁶ +82.2° (*c* 0.60, MeOH); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 4.96 (1H, br-s, H-1''), 4.78 (1H, br-s, H-1'), 4.57 (1H, d, $J_{1,2} = 3.5$ Hz, H-1), 4.04 (1H, m, H-5''), 3.98 (1H, br-d, $J_{2',3'} = 2.0$ Hz, H-2'), 3.89 (1H, dd, $J = 2.0$ Hz, $J = 3.0$ Hz, H-2''), 3.82 (1H, dd, $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.5$ Hz, H-6a), 3.69 (1H, dd, $J = 9.0$ Hz, $J = 9.5$ Hz, H-3), 3.63-3.55 (2H, m, H-3'',6b), 3.49 (1H, m, H-5), 3.41-3.18 (8H, m, H-2, 4, 3', 4', 4'', OCH₃), 3.14 (1H, m, H-5'), 1.22 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'), 1.14 (3H, d, $J_{5'',6''} = 6.5$ Hz, H-6''); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 102.9, 101.7, 101.1, 77.9, 77.7, 75.5, 75.3, 74.0×2, 73.6, 72.4×2, 72.2, 69.6, 63.3, 55.5, 18.0, 17.7; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 509.1837 (509.1846 calcd for C₁₉H₃₄O₁₄Na [M+Na]⁺).

¹³C KIE measurements

The measurement of ¹³C KIE was performed according to a modified reported procedure.²¹ Reaction was carried with **253** (1.0 equiv.), **202** (0.5 equiv.), and **203** (0.1 equiv.) in MeCN (0.2 M) at 0 °C for 0.5 h under Ar atmosphere. The experimental detail of the glycosylation was shown below. The experimental KIEs were calculated by equation (1). F, the fractional conversion of **253**, was determined by HPLC/UV. R₀ and R_p, which are the ratio of the anomeric and C4 carbon integrals in the substrate and product, respectively, were measured by the quantitative ¹³C-NMR technique. NMR spectra were recorded on a Bruker AVANCE III (500 MHz) spectrometer, equipped with a 5 mm CPDCH cryoprobe. Also, in the NMR experiments, C₆D₆ (0.5 M for **253**) and CDCl₃ (0.5 M for **318**) were used because of the resolution of integrated peaks (C1, and C4). The inversion-recovery technique was used for the measurement of T1 relaxation times of C1, and C4 in **253** and **318**, which were found 0.2-0.7 s. The relaxation delay was set to 30 s. Typically 5 spectra with 100 ppm sweep width were acquired with 64 scans.

To a solution of di(4-fluoro)phenylborinic acid (**203**) (0.1 equiv.) and **202** (0.5 equiv.) in dry MeCN (0.2 M for **202**) was added a solution of **253** (1.0 equiv.) in dry MeCN (0.4 M for **253**) at 0 °C under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 20 h, the reaction was quenched by addition of 0.05 M NaBO₃ aq. (0.11 equiv.). To the resultant mixture was added sat. NH₄Cl aq. (5 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (5 mL×3), and then the combined extracts were washed with brine (5 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography gave **318**.

DFT calculation data

All geometries were fully optimized using the B3LYP functional and the 6-31G* level of theory. All optimized geometries were verified by frequency calculations as minima (zero imaginary frequencies) or a transition structure (a single imaginary frequency). Single-point energy calculations on the optimized geometries were then evaluated using B3LYP and the 6-31+G** basis set. The transition state structure was located using a standard eigenvector following method by using vibrational analysis. Intrinsic reaction coordinate (IRC) calculations were carried out in order to ensure that the TS indeed connected the appropriate a reactant and a product. Conformational searches were performed with Macromodel version 11.1¹¹⁸ and the OPLS-3 force field. All quantum chemical calculations were performed using Jaguar version 9.1.¹¹⁹ NBO analysis was performed using NBO program 6.0.⁷⁹

Geometry of TS1

C1	-3.43890000000000	4.03600000000000	1.76580000000000
C2	-3.83140000000000	2.25500000000000	0.14870000000000
C3	-5.09430000000000	1.86250000000000	0.93550000000000
C4	-5.75560000000000	3.07640000000000	1.59600000000000
C5	-4.71730000000000	3.78520000000000	2.48210000000000
H6	-4.14740000000000	2.73370000000000	-0.78270000000000
H7	-4.83670000000000	1.14850000000000	1.72700000000000
H8	-6.09700000000000	3.77230000000000	0.80820000000000
H9	-5.10150000000000	4.71540000000000	2.91740000000000
O10	-3.00420000000000	3.31420000000000	0.80510000000000
O11	-4.21730000000000	2.89780000000000	3.45170000000000
B12	-3.30000000000000	3.45920000000000	4.57760000000000
O13	-6.85470000000000	2.60230000000000	2.33840000000000
O14	-5.91320000000000	1.26370000000000	-0.05350000000000
C15	-2.88630000000000	1.10210000000000	-0.12590000000000
H16	-2.03770000000000	1.42650000000000	-0.73470000000000
H17	-2.51130000000000	0.67600000000000	0.80990000000000
H18	-3.43640000000000	0.33080000000000	-0.67200000000000
C19	-6.73050000000000	0.18690000000000	0.40280000000000
H20	-6.12020000000000	-0.61180000000000	0.84890000000000
H21	-7.46730000000000	0.52850000000000	1.13490000000000
H22	-7.23790000000000	-0.20400000000000	-0.48270000000000
C23	-7.73380000000000	3.61000000000000	2.82220000000000
H24	-7.26550000000000	4.23020000000000	3.59700000000000
H25	-8.08740000000000	4.25650000000000	2.00470000000000
H26	-8.58790000000000	3.08760000000000	3.25900000000000
C27	-3.20120000000000	0.39340000000000	7.77490000000000
C28	-2.34220000000000	1.48340000000000	7.83530000000000
C29	-2.39080000000000	2.42460000000000	6.80700000000000
C30	-3.26980000000000	2.30190000000000	5.71490000000000
C31	-4.11670000000000	1.18150000000000	5.70760000000000
C32	-4.09390000000000	0.22510000000000	6.72690000000000
F33	-3.16860000000000	-0.52800000000000	8.77010000000000
H34	-1.66200000000000	1.58430000000000	8.67610000000000
H35	-1.72960000000000	3.28770000000000	6.86000000000000

H36	-4.8199000000000	1.0556000000000	4.8884000000000
H37	-4.7546000000000	-0.6374000000000	6.7196000000000
C38	-4.9969000000000	7.2553000000000	6.1387000000000
C39	-3.7275000000000	7.2713000000000	5.5791000000000
C40	-3.1989000000000	6.0745000000000	5.0851000000000
C41	-3.9074000000000	4.8626000000000	5.1392000000000
C42	-5.1864000000000	4.9053000000000	5.7282000000000
C43	-5.7424000000000	6.0854000000000	6.2246000000000
F44	-5.5228000000000	8.4081000000000	6.6201000000000
H45	-3.1708000000000	8.2035000000000	5.5424000000000
H46	-2.1984000000000	6.0755000000000	4.6598000000000
H47	-5.7550000000000	3.9815000000000	5.8222000000000
H48	-6.7254000000000	6.1092000000000	6.6867000000000
H49	-2.7303000000000	4.7836000000000	2.1062000000000
O50	-1.9854000000000	3.7501000000000	3.9508000000000
C51	-1.0992000000000	2.6877000000000	3.6810000000000
H52	-0.2573000000000	3.0782000000000	3.0949000000000
H53	-0.7035000000000	2.2435000000000	4.6037000000000
H54	-1.5783000000000	1.8775000000000	3.1069000000000

Geometry of 1,2-anhydrorhamnose **319**

C1	-3.2429150000	3.36827200000	2.2820180000
C2	4.21513000000	2.31146800000	0.3482160000
C3	-5.4166960000	1.91525800000	1.2284870000
C4	-5.8015130000	3.08087700000	2.1511060000
C5	-4.5757960000	3.66442800000	2.8273750000
H6	-4.4951630000	3.21419100000	-0.2179360000
H7	-5.1404950000	1.04976000000	1.8458740000
H8	-6.2580710000	3.86353500000	1.5205430000
H9	-4.7251040000	4.57781900000	3.4062260000
O10	-3.0523570000	2.61970100000	1.1433610000
O11	-3.6987290000	2.70151100000	3.4561770000
O13	-6.7609480000	2.60472000000	3.0876540000
O14	-6.4862050000	1.59929100000	0.3500770000
C15	-3.7970830000	1.21507900000	-0.6182280000
H16	-2.9331040000	1.54274000000	-1.2045390000

H17	-3.5160330000	0.30986300000	-0.0688820000
H18	-4.6211520000	0.97959600000	-1.2953230000
C19	-7.3453440000	0.55784000000	0.7941310000
H20	-8.0794580000	0.40356300000	-0.0017190000
H21	-6.7892390000	-0.37905600000	0.9506140000
H22	-7.8587870000	0.82548100000	1.7233850000
C23	-7.5231580000	3.61851900000	3.7162890000
H24	-6.9121760000	4.26174300000	4.3661770000
H25	-8.0380420000	4.25310400000	2.9777710000
H26	-8.2701430000	3.11339500000	4.3338180000
H49	2.40043300000	4.03848000000	2.4452950000

Geometry of MeOH (**320**)

C1	-0.9125570000	1.60390800000	1.9220020000
H2	-0.9007060000	1.41861900000	0.8364390000
H3	-1.9540840000	1.60306900000	2.2550610000
H4	-0.4950470000	2.60586800000	2.1079610000
O5	-0.2486660000	0.58903200000	2.6579120000
H6	0.67757300000	0.57841500000	2.3743880000

Geometry of borinic acid **247**

C1	-3.3870740000	1.10542000000	3.3316880000
C2	-3.8956550000	2.38733400000	3.1360820000
C3	-3.8654930000	2.95748900000	1.8674300000
C4	-3.3304580000	2.25764000000	0.7906880000
C5	-2.8213550000	0.97533200000	0.9822510000
C6	-2.8490220000	0.39535900000	2.2544660000
H7	-3.4128620000	0.66577500000	4.3192520000
H8	-4.3143420000	2.94683000000	3.9590580000
F9	-4.3593280000	4.20055900000	1.6798030000
H10	-3.3107840000	2.71925800000	-0.1850870000
H11	-2.3950590000	0.43908200000	0.1455110000
B12	-2.2772080000	-1.05969400000	2.4780820000
C13	1.87753700000	-1.50537100000	3.8019580000
C14	1.16853700000	-0.35548900000	4.1306850000
C15	-0.1517340000	-0.21151300000	3.7104860000

C16	-0.7691480000	-1.2181900000	2.9573120000
C17	-0.0419080000	-2.3708190000	2.6340860000
C18	1.27800800000	-2.5134860000	3.0556640000
F19	3.15786800000	-1.6437110000	4.2104360000
H20	1.65050200000	0.41811200000	4.7087910000
H21	-0.6869010000	0.69040500000	3.9694930000
H22	-0.5001060000	-3.1604340000	2.0552110000
H23	1.84220300000	-3.3999410000	2.8092180000
O24	-2.8404170000	-2.0424850000	1.7251490000
H25	-3.6631060000	-1.7318240000	1.3428410000

Geometry of **H₂O**

O5	-0.0657550000	-0.0127500000	0.0000000000
H6	0.66662100000	-0.6465320000	0.0000000000
H3	0.37696200000	0.84887600000	0.0000000000

Geometry of borinic ester **321**

C1	-4.1987390000	0.26739800000	2.1209370000
C2	-5.1611730000	1.24451000000	1.8680180000
C3	-4.7357040000	2.53520900000	1.5810400000
C4	-3.3883620000	2.87179300000	1.5323410000
C5	-2.4450210000	1.87255000000	1.7667800000
C6	-2.8196480000	0.54870700000	2.0694890000
H7	-4.5305240000	-0.7402330000	2.3587130000
H8	-6.2236180000	1.02349600000	1.8965520000
F9	-5.6578350000	3.49170700000	1.3441250000
H10	-3.0984600000	3.89426700000	1.3111300000
H11	-1.3911680000	2.13862600000	1.7258790000
B12	-1.7491100000	-0.5769540000	2.3531340000
C13	-1.8798740000	-3.1705870000	5.8630140000
C14	-1.0195530000	-3.4848060000	4.8159020000
C15	-0.9937070000	-2.6460680000	3.7061010000
C16	-1.8155490000	-1.5038770000	3.6171240000
C17	-2.6642060000	-1.2311360000	4.7069320000
C18	-2.7043530000	-2.0530380000	5.8318970000
F19	-1.9121010000	-3.9763570000	6.9449750000

H20	-0.3915890000	-4.3676290000	4.8858130000
H21	-0.3225450000	-2.8735410000	2.8830770000
H22	-3.3015930000	-0.3520270000	4.6816080000
H23	-3.3547610000	-1.8422100000	6.6750680000
O24	-0.6971970000	-0.8188610000	1.5170960000
C25	-0.4773540000	-0.2314580000	0.2423450000
H26	0.31770800000	0.51953200000	0.3147910000
H27	-0.1471310000	-1.0213230000	-0.4397850000
H28	-1.3804190000	0.23994100000	-0.1566840000

Geometry of Borinic ester **322**

C1	-2.9106350000	3.5816300000	1.2327050000
C2	-3.3856060000	1.3508340000	0.5734260000
C3	-4.4550890000	1.1809280000	1.6746050000
C4	-5.0200520000	2.5480350000	2.0904460000
C5	-3.8916310000	3.5514100000	2.4122640000
H6	-3.8996480000	1.7293230000	-0.3278350000
H7	-3.9957840000	0.7036680000	2.5512590000
H8	-5.5887790000	2.9410690000	1.2299250000
H9	-4.3067740000	4.5550460000	2.5526130000
O10	-3.2114490000	3.1232430000	3.5786970000
B11	-3.0365220000	3.8329300000	4.7330440000
O12	-5.8942180000	2.3560070000	3.1893980000
O13	-5.4735430000	0.3575270000	1.1239810000
C14	-2.6708440000	0.0507850000	0.2408200000
H15	-1.9548690000	0.2092880000	-0.5716190000
H16	-2.1217290000	-0.3143910000	1.1156900000
H17	-3.3974690000	-0.7054630000	-0.0668980000
C18	-6.1017120000	-0.5271460000	2.0409340000
H19	-5.3708560000	-1.2096220000	2.5018860000
H20	-6.6289370000	0.0157310000	2.8320080000
H21	-6.8162440000	-1.1175590000	1.4601930000
C22	-6.8312750000	3.4013050000	3.3925470000
H23	-6.3519490000	4.3378510000	3.7096390000
H24	-7.4209370000	3.5935340000	2.4829030000
H25	-7.5032780000	3.0680890000	4.1875990000

C26	-4.3420270000	7.9790850000	5.2970630000
C27	-3.5269570000	7.6790590000	4.2130300000
C28	-3.1249960000	6.3570030000	4.0232120000
C29	-3.5097160000	5.3309040000	4.9098250000
C30	-4.3247790000	5.6932070000	6.0007740000
C31	-4.7556710000	7.0053810000	6.1969940000
F32	-4.7425000000	9.2554790000	5.4831130000
H33	-3.2212330000	8.4721050000	3.5372600000
H34	-2.4930260000	6.1172980000	3.1724580000
H35	-4.6328860000	4.9331190000	6.7147490000
H36	-5.3907910000	7.2816610000	7.0330440000
C37	-1.0637740000	1.6175900000	7.9385240000
C38	-1.2310230000	2.9888730000	8.0816200000
C39	-1.8683470000	3.6889350000	7.0585930000
C40	-2.3376840000	3.0457690000	5.8971080000
C41	-2.1322570000	1.6545470000	5.8008990000
C42	-1.5040520000	0.9325920000	6.8108820000
F43	-0.4514720000	0.9275360000	8.9239500000
H44	-0.8646900000	3.4840680000	8.9755800000
H45	-1.9942500000	4.7628990000	7.1633180000
H46	-2.4736000000	1.1351010000	4.9105180000
H47	-1.3482240000	-0.1396480000	6.7415360000
C48	-0.9365300000	4.6384060000	0.4770830000
H49	-1.4412590000	5.0177830000	-0.4243720000
H50	-0.2189530000	5.3828750000	0.8280310000
H51	-0.4153490000	3.7077870000	0.2334660000
O52	-1.8667200000	4.4459110000	1.5390410000
H53	-3.4495550000	3.9342240000	0.3277720000
O54	-2.3892120000	2.2915100000	0.9801400000

Geometry of β -L-rhamnoside **323**

C1	-2.7745280000	3.5512790000	1.1304290000
C2	-2.9219630000	1.3304590000	0.3031820000
C3	-4.0933500000	0.9874860000	1.2472790000
C4	-4.8650580000	2.2582200000	1.6352210000
C5	-3.9125450000	3.3550070000	2.1412710000

H6	-3.3541460000	1.7090370000	-0.6398590000
H7	-3.6946990000	0.5289030000	2.1622760000
H8	-5.3650750000	2.6376840000	0.7249300000
H9	-4.4508750000	4.3148060000	2.2164100000
O10	-3.3994420000	2.9684410000	3.4017300000
O11	-5.8429010000	1.8879640000	2.5913490000
O12	-4.9233910000	0.0775780000	0.5381020000
C13	-2.0334690000	0.1323790000	0.0084220000
H14	-1.2387430000	0.4113440000	-0.6906160000
H15	-1.5681930000	-0.2298530000	0.9318500000
H16	-2.6286780000	-0.6723560000	-0.4299990000
C17	-5.5730250000	-0.9018580000	1.3358130000
H18	-4.8446620000	-1.5019250000	1.9031180000
H19	-6.2817660000	-0.4490410000	2.0361590000
H20	-6.1070580000	-1.5591280000	0.6432370000
C21	-6.7416310000	2.9165430000	2.9593880000
H22	-7.5221500000	2.4474900000	3.5641050000
H23	-7.2084870000	3.3837570000	2.0773280000
H24	-6.2536880000	3.6959300000	3.5602620000
C25	-0.7632860000	4.7937000000	0.8982680000
H26	-1.0924570000	5.2102980000	-0.0649030000
H27	-0.2029910000	5.5546670000	1.4459160000
H28	-0.1271010000	3.9225760000	0.7150910000
O29	-1.8836740000	4.4564480000	1.7113570000
H30	-3.1692020000	3.9538160000	0.1755930000
O31	-2.0906000000	2.3412780000	0.8809480000
H32	-2.5773580000	3.4760090000	3.5174390000

Geometry of **TS2**

C1	-2.2889370000000	5.2988140000000	5.5380090000000
C2	-3.4854440000000	7.3753300000000	5.1205640000000
C3	-4.6588910000000	6.9049390000000	6.0108470000000
C4	-4.3605340000000	5.6641970000000	6.8681200000000
C5	-3.5415490000000	4.6710560000000	6.0410560000000
H7	-3.0902680000000	8.2998480000000	5.5431590000000
H8	-5.4942690000000	6.6165300000000	5.3598540000000

H9	-3.7707310000000	5.9655910000000	7.7527920000000
H10	-3.3107860000000	3.7551690000000	6.5909970000000
O11	-2.2687630000000	6.4999850000000	5.1284970000000
O13	-4.1886170000000	4.4094000000000	4.8113400000000
B14	-3.8725010000000	3.0643460000000	4.2363590000000
O15	-5.6160010000000	5.1510100000000	7.2557510000000
O16	-4.9894780000000	8.0502710000000	6.7774470000000
C17	-3.8525030000000	7.5268720000000	3.6549740000000
H18	-3.0042040000000	7.8987440000000	3.0735510000000
H19	-4.1788870000000	6.5621240000000	3.2561580000000
H20	-4.6742990000000	8.2459590000000	3.5770580000000
C21	-6.3362510000000	8.0962980000000	7.2442330000000
H22	-7.0467510000000	7.9866860000000	6.4115150000000
H23	-6.5381600000000	7.3119680000000	7.9802230000000
H24	-6.4651130000000	9.0809060000000	7.7005500000000
C25	-5.5879450000000	3.9006570000000	7.9416810000000
H26	-6.5957330000000	3.7516220000000	8.3366680000000
H27	-5.3395370000000	3.0775920000000	7.2606680000000
H28	-4.8767360000000	3.9188490000000	8.7824560000000
C27	-5.7528370000000	2.9188560000000	0.2406300000000
C28	-6.4532340000000	2.4167880000000	1.3378170000000
C29	-5.8460330000000	2.4576070000000	2.5901390000000
C30	-4.5590220000000	2.9884780000000	2.7701860000000
C31	-3.8864920000000	3.4711990000000	1.6350040000000
C32	-4.4680350000000	3.4470050000000	0.3708540000000
H33	-7.4470020000000	2.0088790000000	1.1941130000000
H34	-6.3743920000000	2.0685950000000	3.4567170000000
H35	-2.8796290000000	3.8643750000000	1.7553930000000
H36	-3.9538990000000	3.8195240000000	-0.5075610000000
H37	-1.3468120000000	4.7725340000000	5.3884130000000
N38	-6.3813640000000	2.8898950000000	-1.0854010000000
O39	-7.5120880000000	2.4065920000000	-1.1798630000000
O40	-5.7467000000000	3.3527890000000	-2.0368700000000
C41	-3.8534660000000	0.7535300000000	5.0192510000000
C42	-1.7927610000000	1.7742000000000	4.0446820000000
C43	-2.3315450000000	0.8171220000000	5.1179770000000

H44	-4.1305210000000	0.3165000000000	4.0450390000000
H45	-4.2588080000000	0.1051760000000	5.8050050000000
H46	-2.0052800000000	1.3238750000000	3.0594210000000
H47	-2.0653220000000	1.2121150000000	6.1135320000000
O48	-2.3831240000000	3.0421450000000	4.1477130000000
C49	-0.2872650000000	1.8934230000000	4.2177750000000
H50	-0.0643710000000	2.4352580000000	5.1361850000000
C51	-0.3588080000000	-0.4608210000000	5.1858160000000
C52	0.3789560000000	0.5134620000000	4.2388990000000
H53	0.3011320000000	0.0805090000000	3.2372300000000
H54	-0.1932820000000	-0.1623680000000	6.2341800000000
O55	-1.7572970000000	-0.4710090000000	4.9219140000000
O56	0.2721480000000	2.6170500000000	3.0947410000000
O57	0.1594610000000	-1.7250830000000	4.9346370000000
C58	-0.2853930000000	-2.7168380000000	5.8551140000000
H59	0.2235070000000	-3.6443020000000	5.5828060000000
H60	-0.0171530000000	-2.4453850000000	6.8873870000000
H61	-1.3698960000000	-2.8590280000000	5.7921940000000
O62	-4.3755270000000	2.0548320000000	5.1777100000000
C65	2.2774020000000	1.0918300000000	5.7461070000000
O66	1.5487530000000	1.5652820000000	6.6141810000000
C67	3.7914310000000	1.0663830000000	5.8985310000000
H68	4.1890170000000	2.0578340000000	5.6526490000000
H69	4.0311610000000	0.8599550000000	6.9439070000000
H70	4.2851500000000	0.3278340000000	5.2583660000000
N75	1.8004740000000	0.6059810000000	4.5589960000000
H76	2.4349250000000	0.0970710000000	3.9627330000000
C71	0.5167780000000	3.9317080000000	3.2412080000000
O72	0.3824200000000	4.5602910000000	4.2738690000000
C73	0.9856540000000	4.5257500000000	1.9349130000000
H74	1.7942660000000	3.9242140000000	1.5090990000000
H75	0.1570350000000	4.5151250000000	1.2179780000000
H77	1.3179800000000	5.5517640000000	2.0966980000000

Geometry of **TS3**

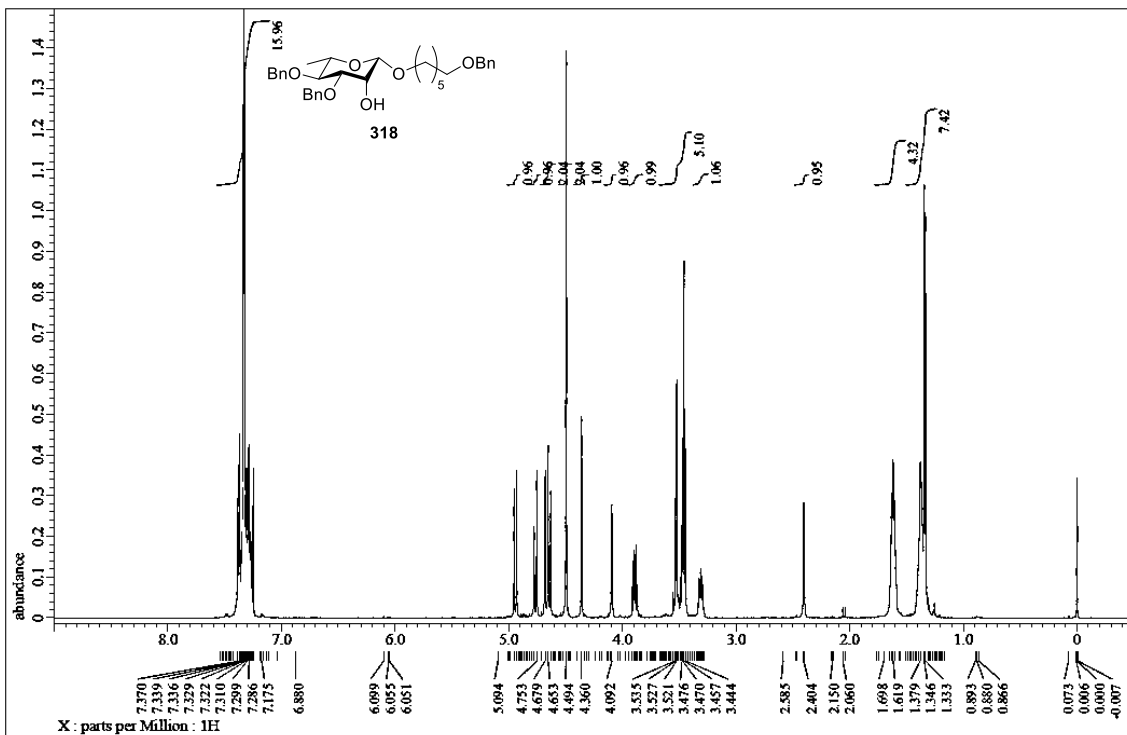
C1	-4.4804080000000	4.0734940000000	7.3153410000000
----	------------------	-----------------	-----------------

C2	-3.3372390000000	6.1615130000000	7.7900230000000
C3	-4.1481600000000	6.8859220000000	6.6894130000000
C4	-5.2987460000000	6.0697130000000	6.0700040000000
C5	-4.9104770000000	4.5918700000000	5.9900210000000
H7	-3.5073740000000	6.6842290000000	8.7313940000000
H8	-3.4666570000000	7.1109820000000	5.8580640000000
H9	-6.1895080000000	6.1661900000000	6.7164480000000
H10	-5.7135410000000	3.9754300000000	5.5717670000000
O11	-3.8031580000000	4.7735610000000	8.1307800000000
O13	-3.6862500000000	4.4384090000000	5.3241010000000
B14	-3.4122100000000	3.0894860000000	4.7077290000000
O15	-5.5332910000000	6.6361870000000	4.8007970000000
O16	-4.5948580000000	8.0783370000000	7.3106150000000
C17	-1.8582290000000	6.0106420000000	7.4755640000000
H18	-1.3317770000000	5.5268670000000	8.3031190000000
H19	-1.7285550000000	5.4246900000000	6.5614870000000
H20	-1.4346700000000	7.0097000000000	7.3296850000000
C21	-4.9206900000000	9.1403420000000	6.4160820000000
H22	-4.0808290000000	9.3600480000000	5.7410890000000
H23	-5.8014490000000	8.9078050000000	5.8090070000000
H24	-5.1198150000000	10.0128960000000	7.0426460000000
C25	-6.5998720000000	6.0589110000000	4.0517200000000
H26	-6.7879290000000	6.7384710000000	3.2178240000000
H27	-6.3293680000000	5.0749610000000	3.6511150000000
H28	-7.5157490000000	5.9716890000000	4.6564230000000
C27	-6.0723180000000	2.7821600000000	1.1775590000000
C28	-6.4645040000000	2.1620280000000	2.3625570000000
C29	-5.6094190000000	2.2315330000000	3.4614230000000
C30	-4.3803840000000	2.9105370000000	3.4052120000000
C31	-4.0197760000000	3.5040020000000	2.1824100000000
C32	-4.8504260000000	3.4489720000000	1.0681310000000
H33	-7.4132310000000	1.6394900000000	2.4029020000000
H34	-5.8922760000000	1.7371060000000	4.3881330000000
H35	-3.0583440000000	4.0063660000000	2.1142440000000
H36	-4.5759900000000	3.9053870000000	0.1242950000000
H37	-4.6249650000000	3.0400880000000	7.6156090000000

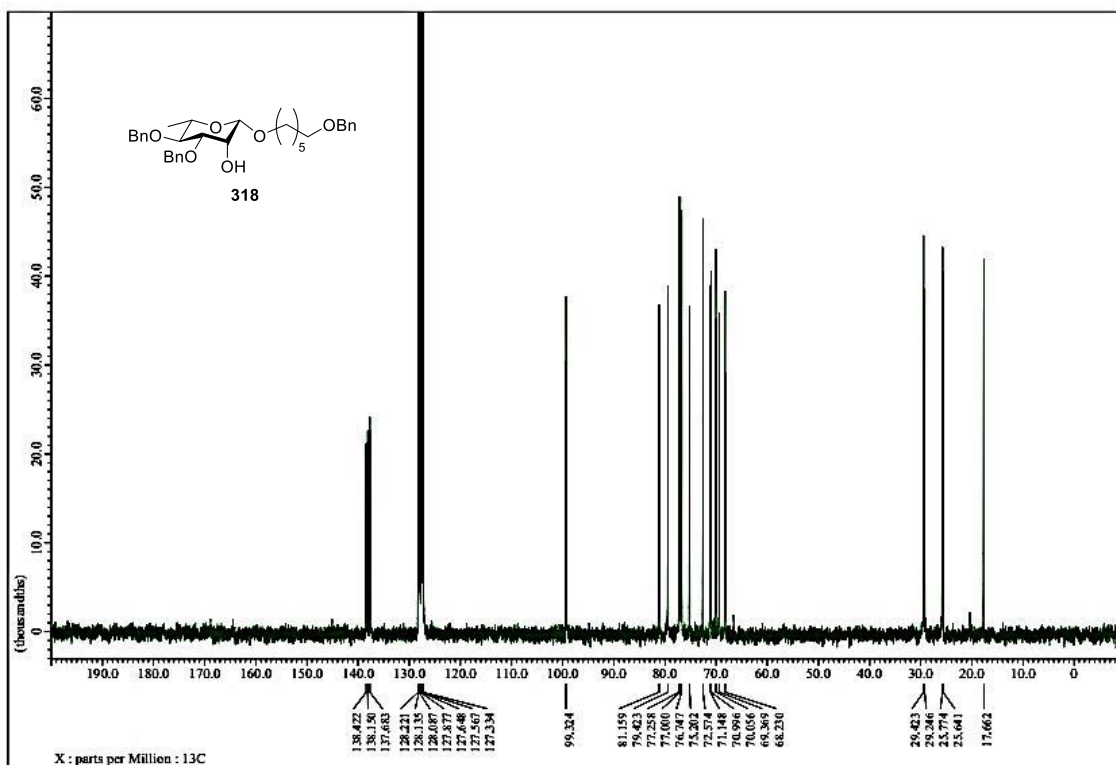
N38	-6.9676480000000	2.7308240000000	0.0141460000000
O39	-8.0407340000000	2.1352960000000	0.1378670000000
O40	-6.6015960000000	3.2905860000000	-1.0209900000000
C41	-3.1764940000000	0.8014750000000	5.5663830000000
C42	-1.5088950000000	1.8597440000000	4.0365120000000
C43	-1.6872690000000	0.9151690000000	5.2355210000000
H44	-3.6774950000000	0.2765610000000	4.7367910000000
H45	-3.3212450000000	0.2057640000000	6.4756290000000
H46	-2.0516120000000	1.4250330000000	3.1790300000000
H47	-1.1609140000000	1.3555800000000	6.1004190000000
O48	-2.0040650000000	3.1319040000000	4.3657320000000
C49	-0.0394770000000	1.9325710000000	3.6704960000000
H50	0.5041830000000	2.4762930000000	4.4507390000000
C51	0.2226050000000	-0.3674850000000	4.6857060000000
C52	0.5485040000000	0.5212040000000	3.4717040000000
H53	0.0899230000000	0.0636340000000	2.5922240000000
H54	0.7363580000000	0.0235100000000	5.5914280000000
O55	-1.1803310000000	-0.3789210000000	4.9407200000000
O56	0.0753900000000	2.6576450000000	2.4317270000000
O57	0.6381440000000	-1.6551510000000	4.4044030000000
C58	0.5398560000000	-2.5480330000000	5.5072810000000
H59	0.9507820000000	-3.5019690000000	5.1698870000000
H60	1.1283420000000	-2.1843380000000	6.3646060000000
H61	-0.5011410000000	-2.6842860000000	5.8213510000000
O62	-3.7303830000000	2.0892290000000	5.7636340000000
C65	2.4946410000000	0.5413220000000	1.9490640000000
O66	1.8316670000000	0.2462560000000	0.9634620000000
C67	3.9617740000000	0.9358990000000	1.8701650000000
H68	4.3443420000000	0.6818960000000	0.8805940000000
H69	4.0478420000000	2.0181960000000	2.0272290000000
H70	4.5608760000000	0.4329160000000	2.6374570000000
N75	1.9767420000000	0.5759090000000	3.2241600000000
H76	2.5262710000000	1.0793810000000	3.9095540000000
C71	1.1834050000000	3.4007110000000	2.2247220000000
O72	2.0550060000000	3.5847390000000	3.0522840000000
C73	1.2080360000000	3.9063200000000	0.8053420000000

H74	1.419442000000	3.051006000000	0.152674000000
H75	0.233592000000	4.310672000000	0.518053000000
H77	1.987958000000	4.660696000000	0.694053000000

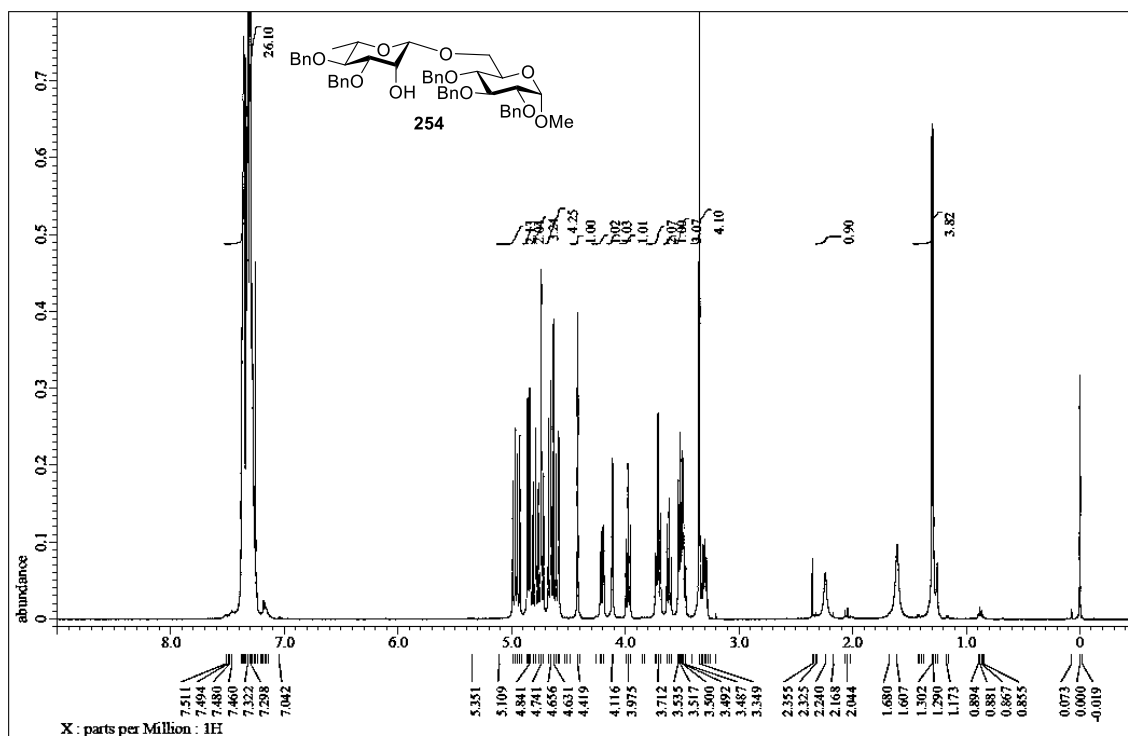
NMR Spectral Charts of Compounds in Chapter 2



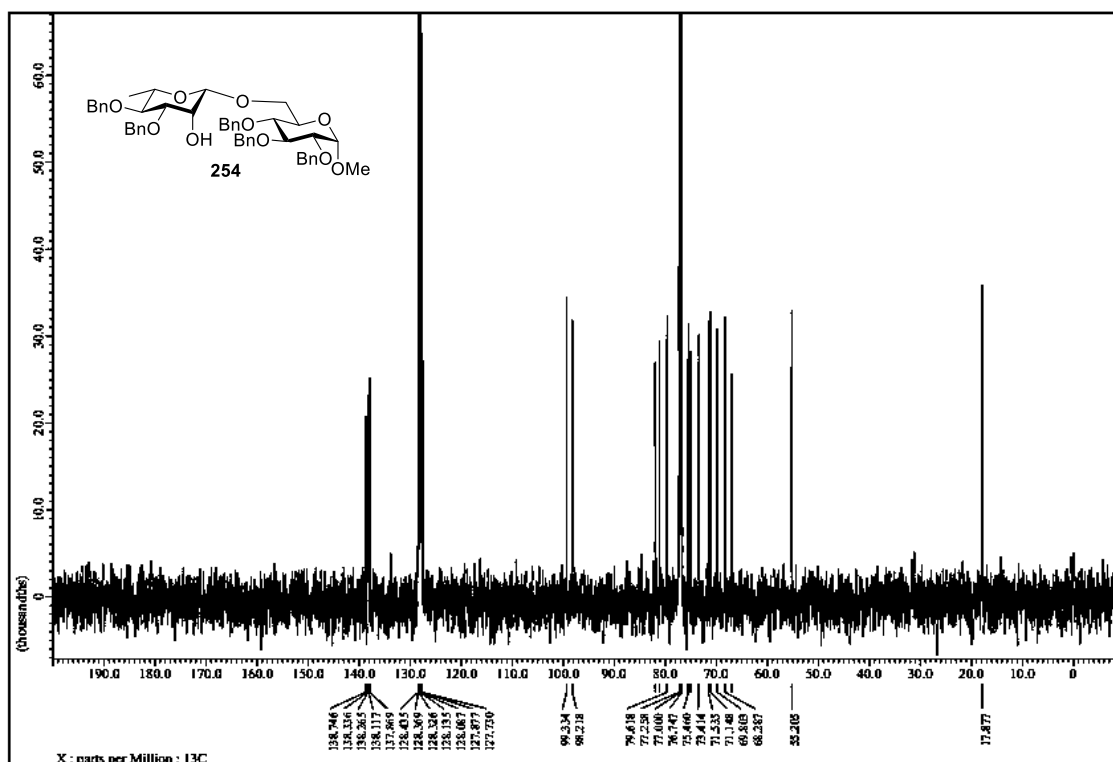
¹H-NMR spectrum of **318**



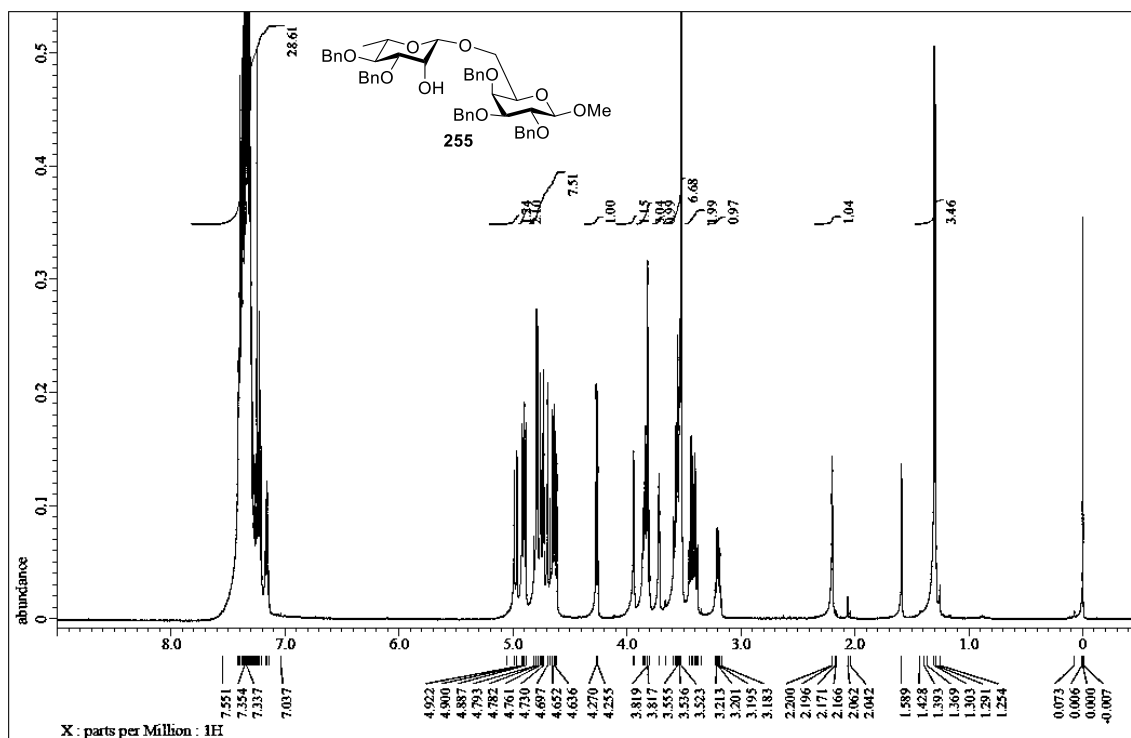
¹³C-NMR spectrum of **318**



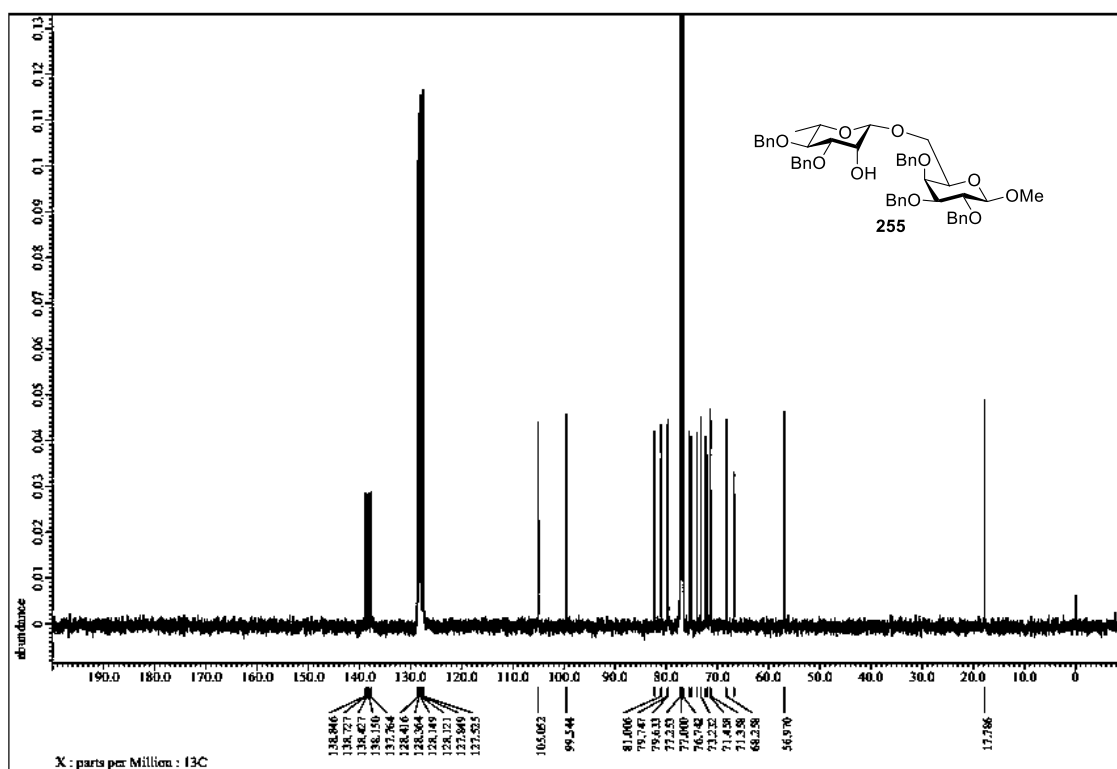
$^1\text{H-NMR}$ spectrum of 254



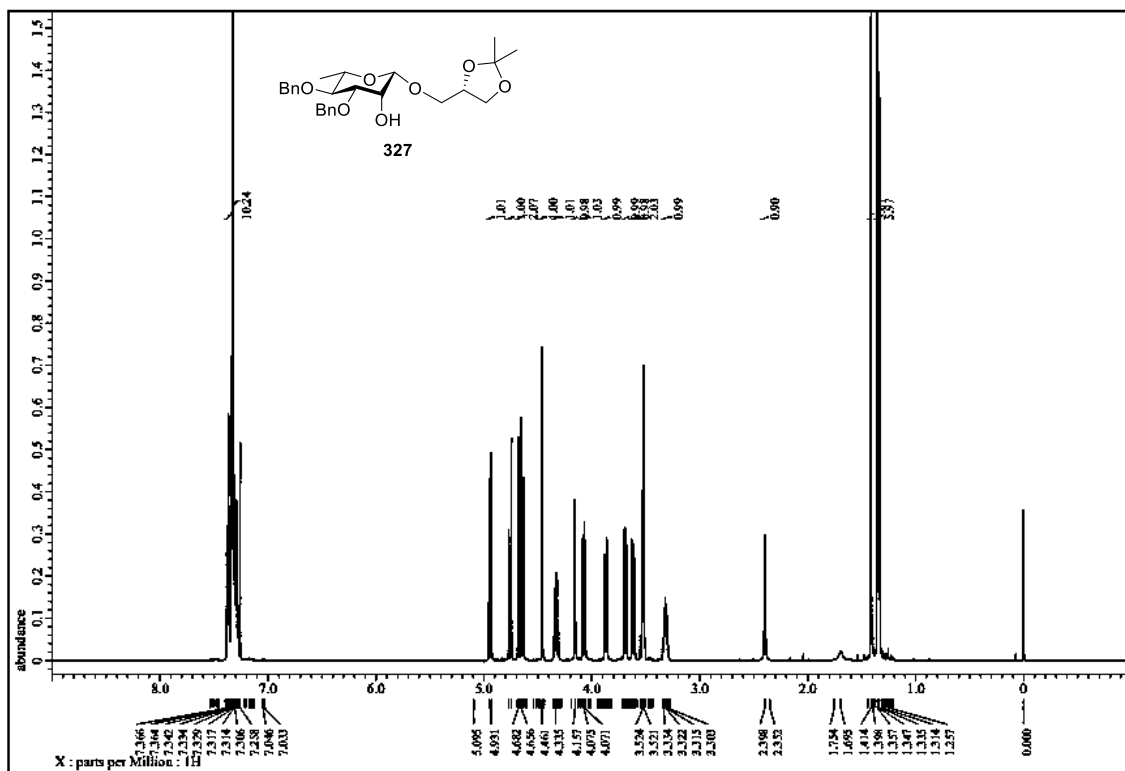
$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of 254



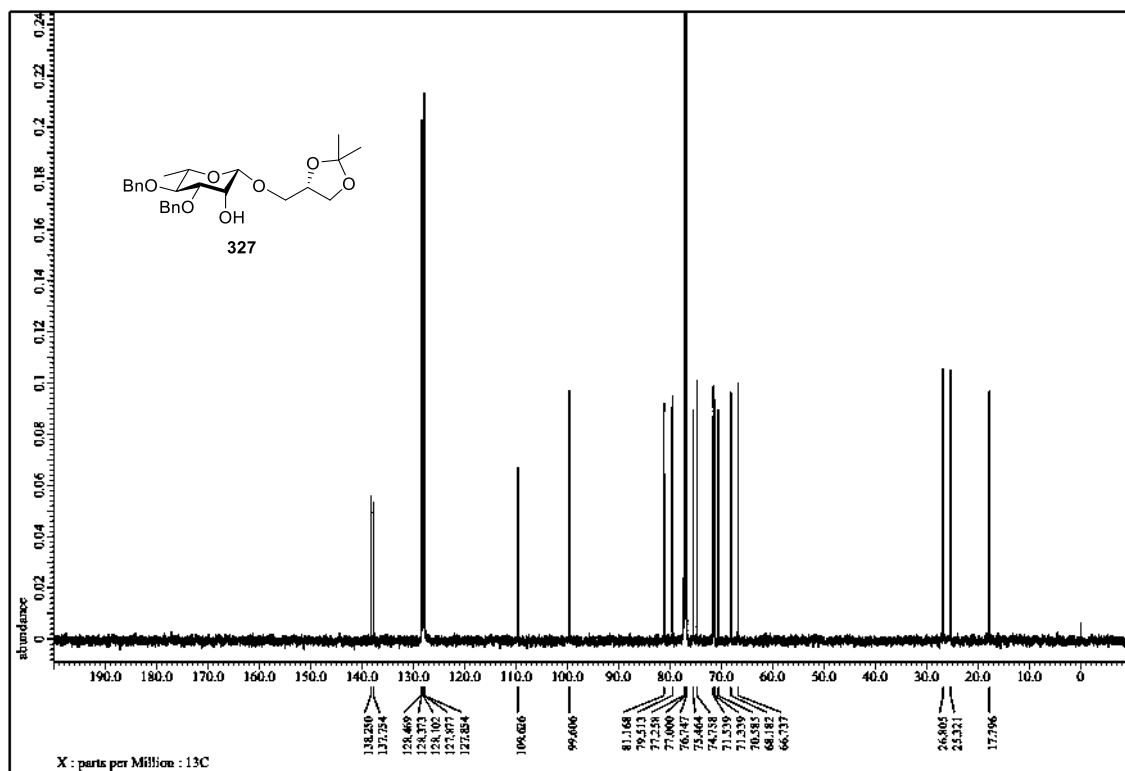
¹H-NMR spectrum of **255**



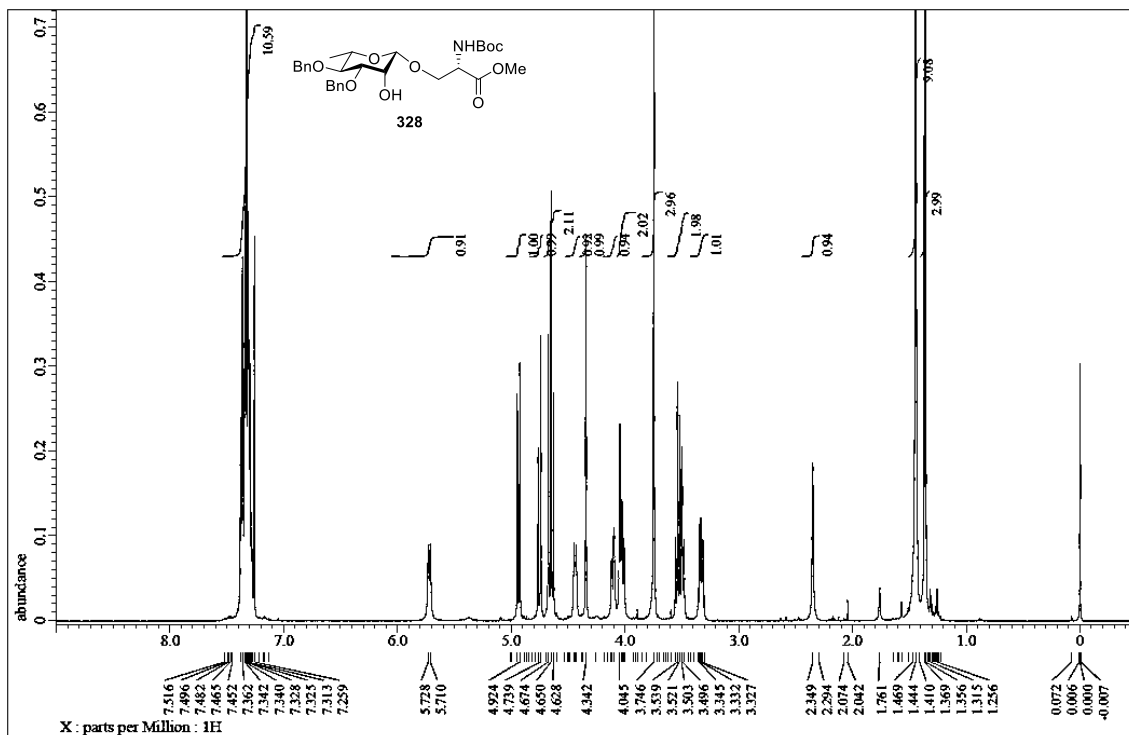
¹³C-NMR spectrum of **255**



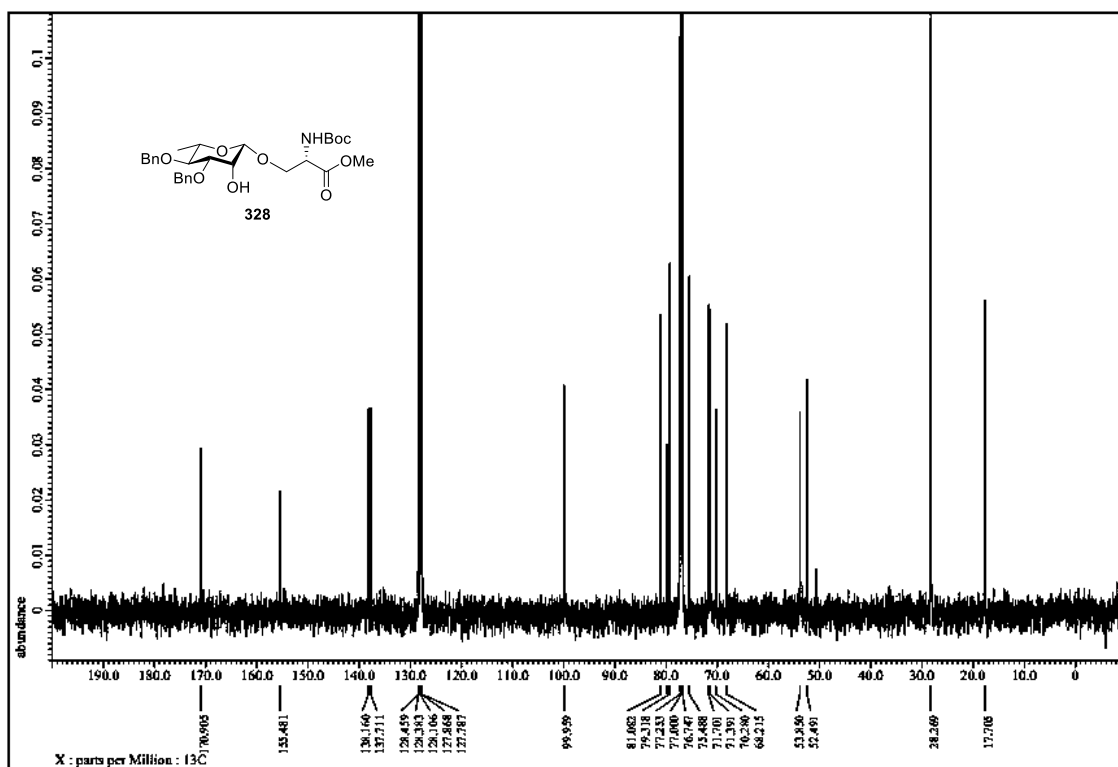
¹H-NMR spectrum of 327



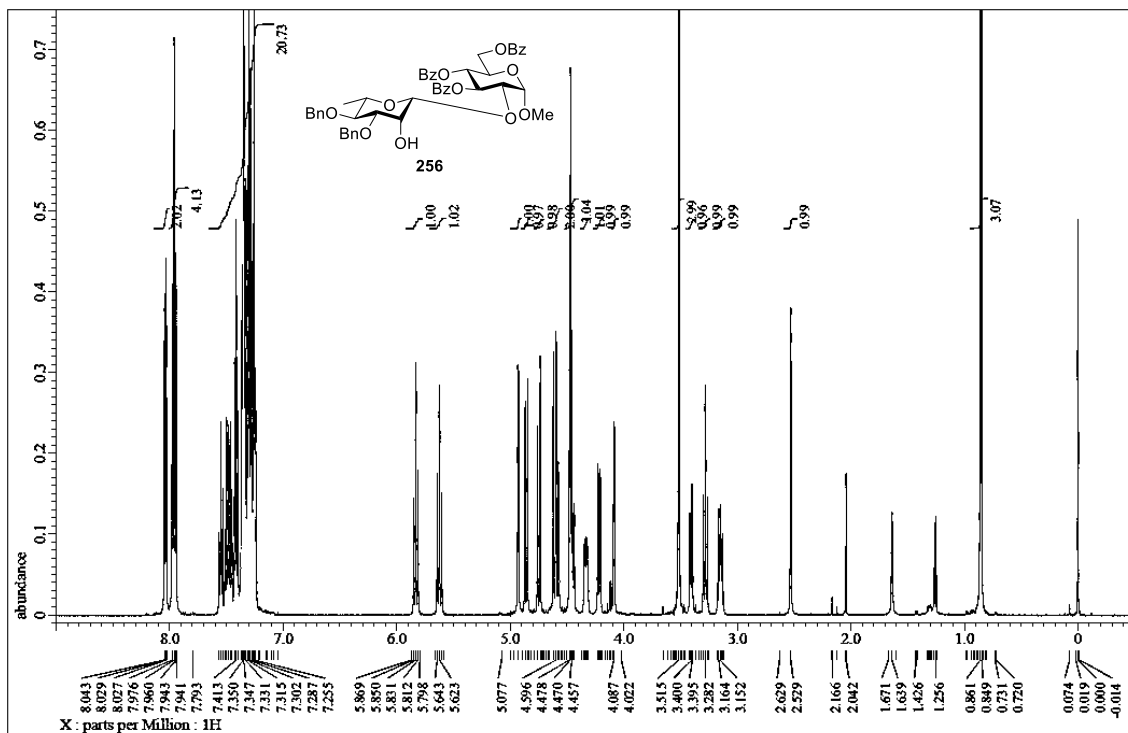
¹³C-NMR spectrum of 327



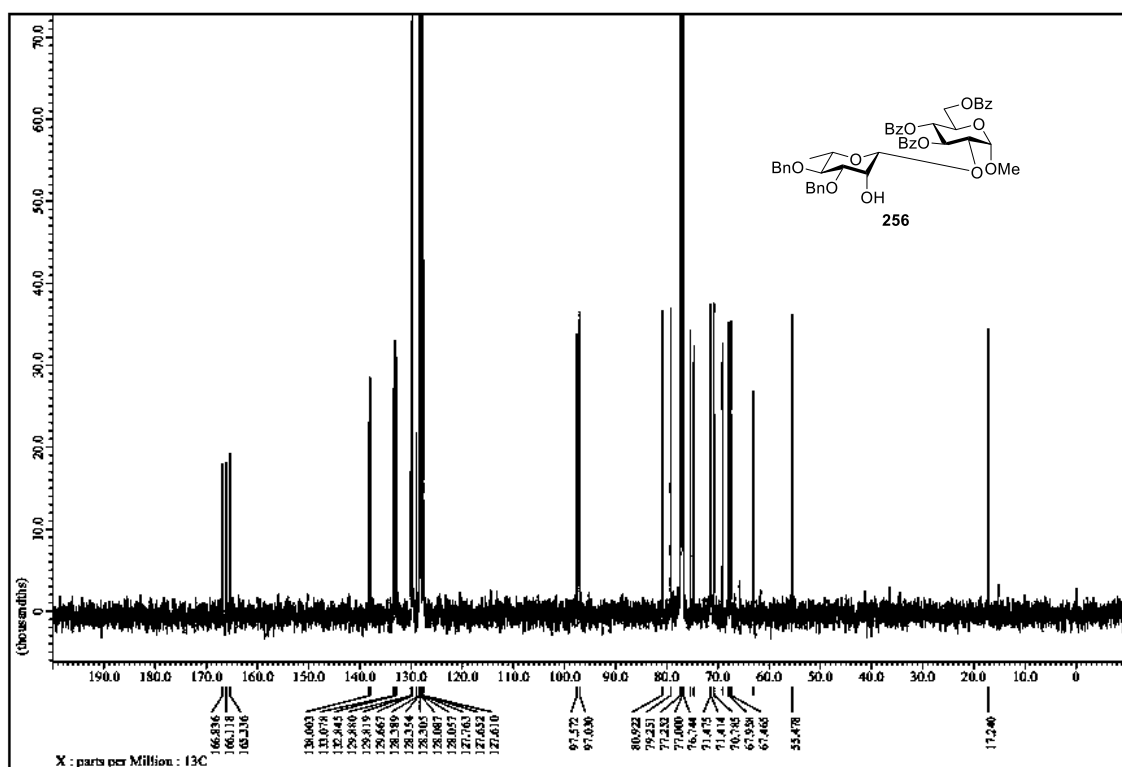
¹H-NMR spectrum of 328



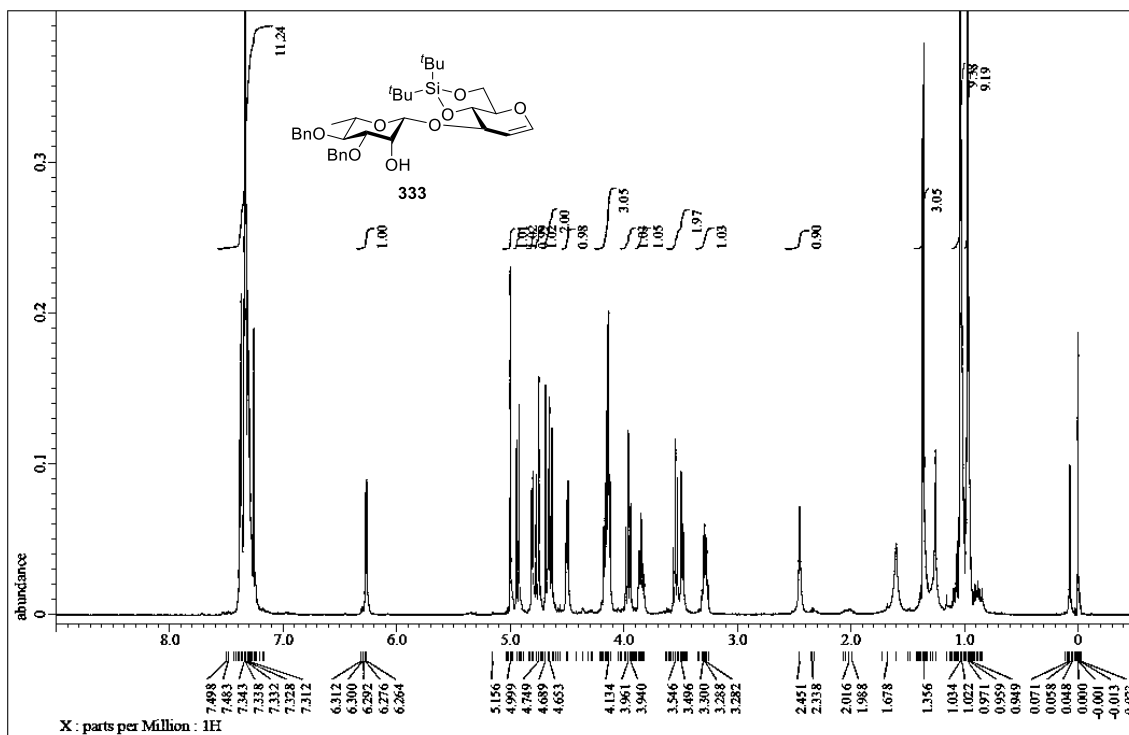
¹³C-NMR spectrum of 328



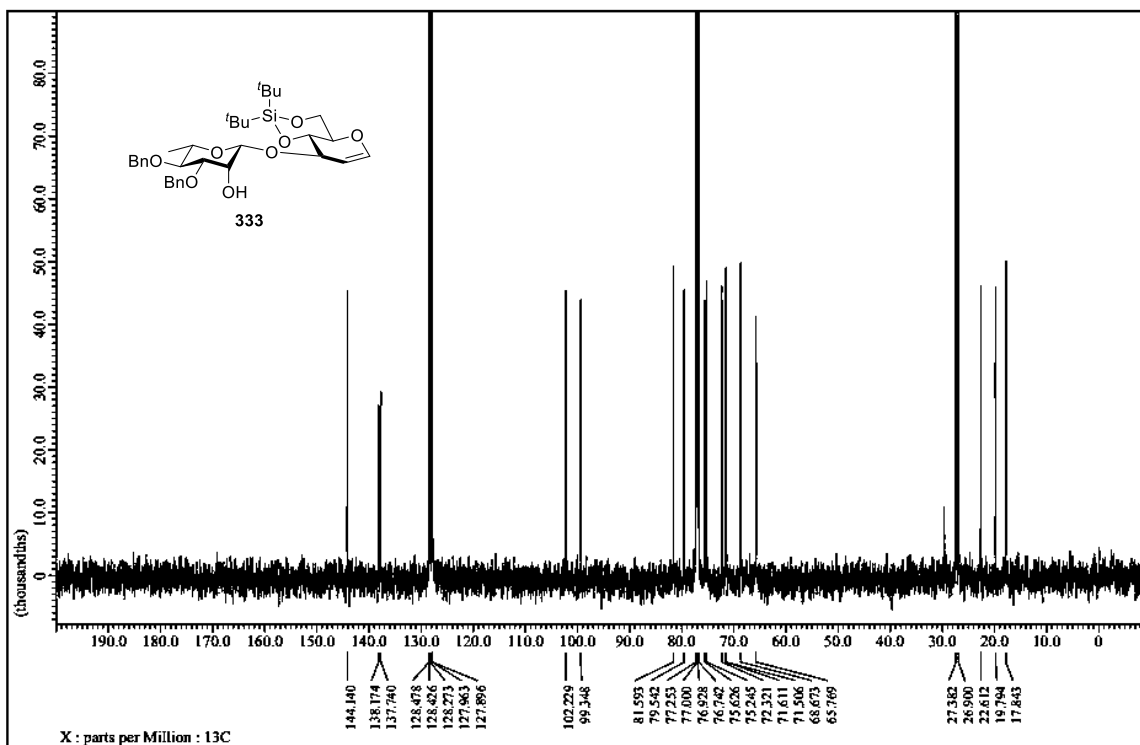
¹H-NMR spectrum of 256



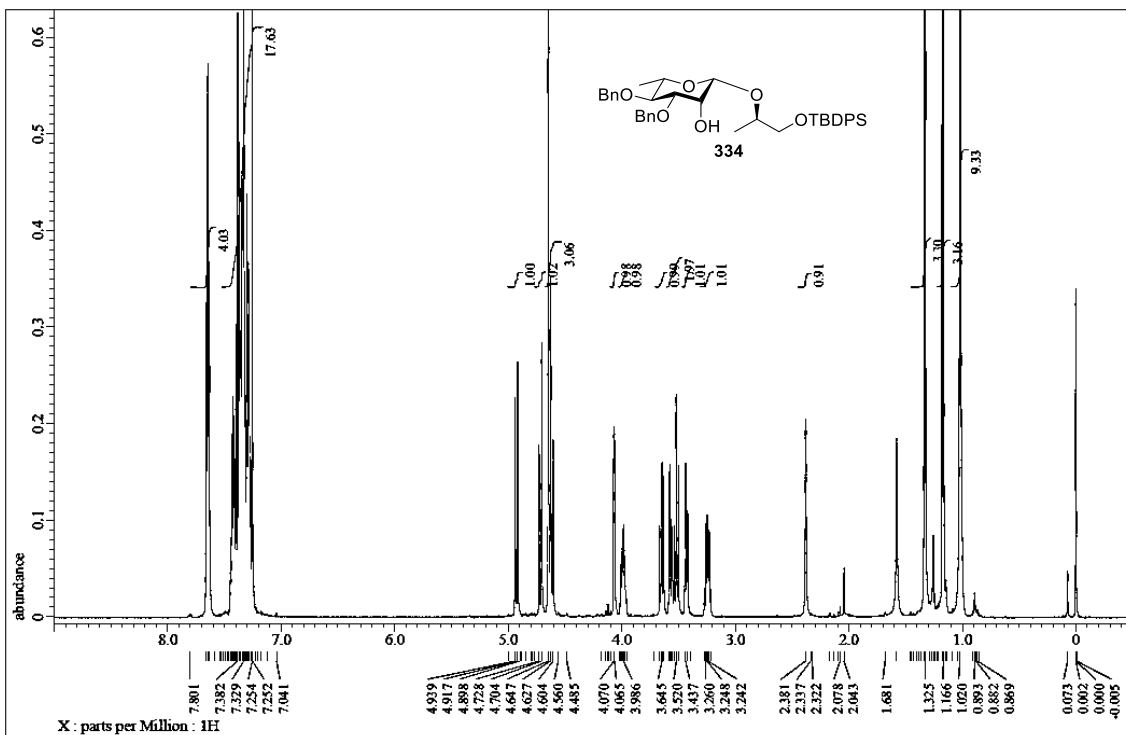
¹³C-NMR spectrum of 256



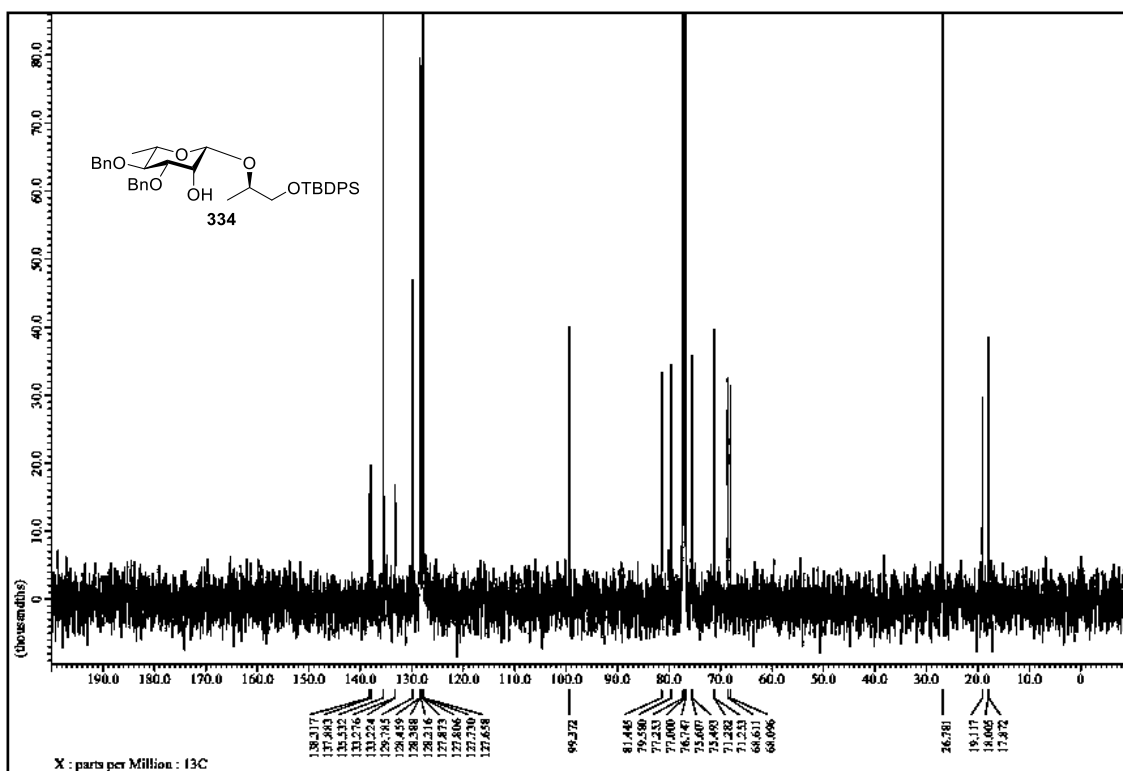
$^1\text{H-NMR}$ spectrum of **333**



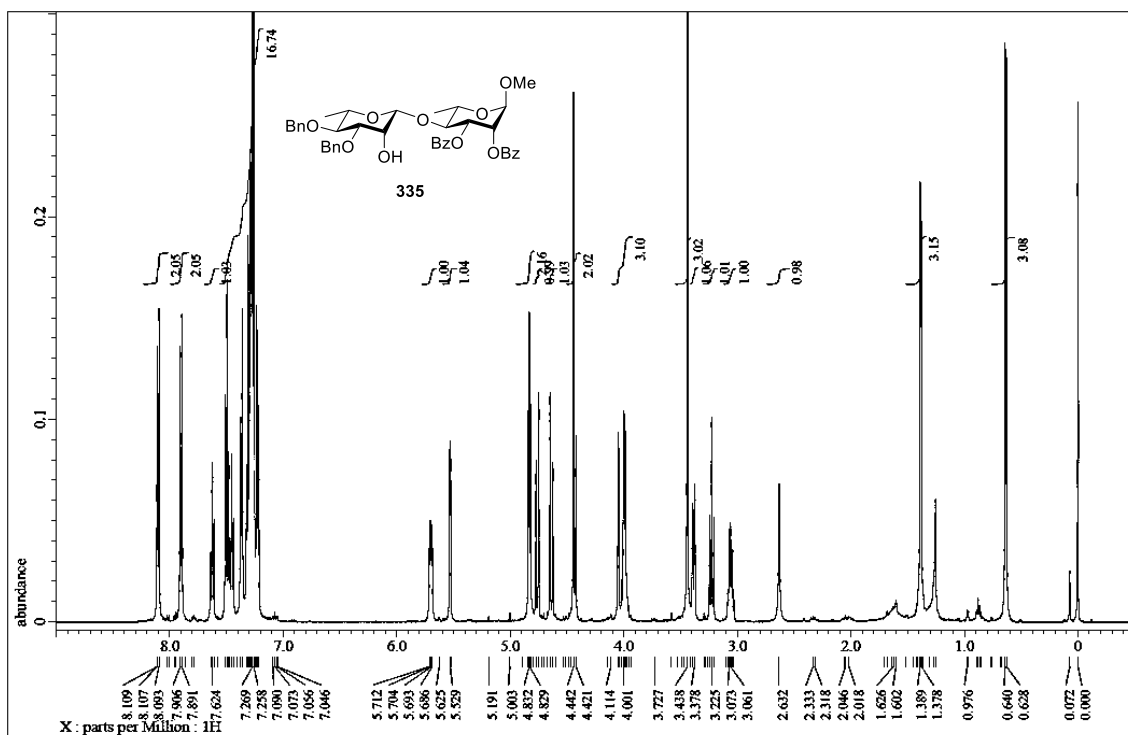
$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of **333**



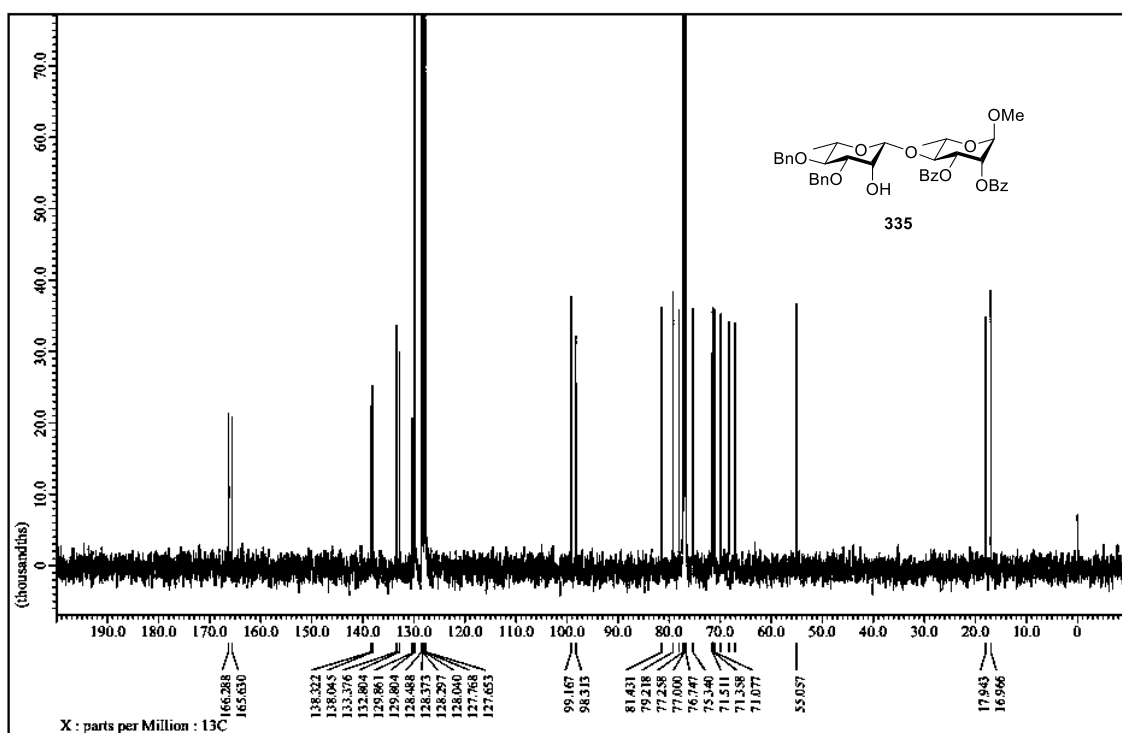
¹H-NMR spectrum of 334



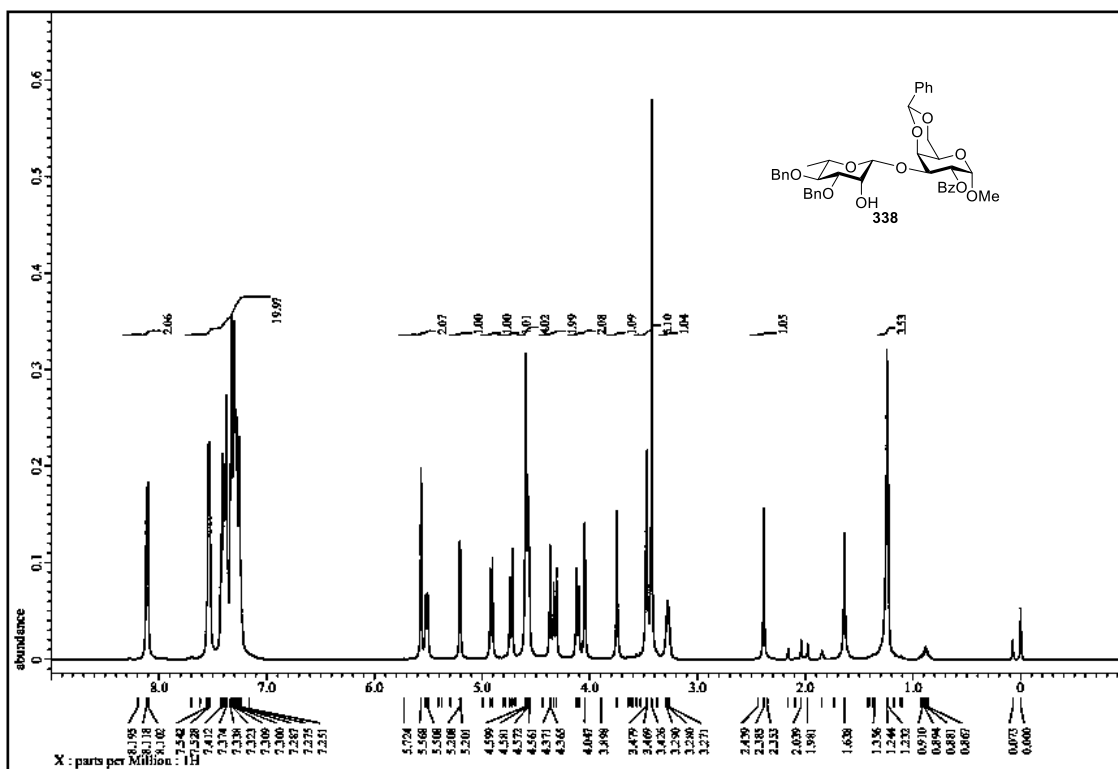
¹³C-NMR spectrum of 334



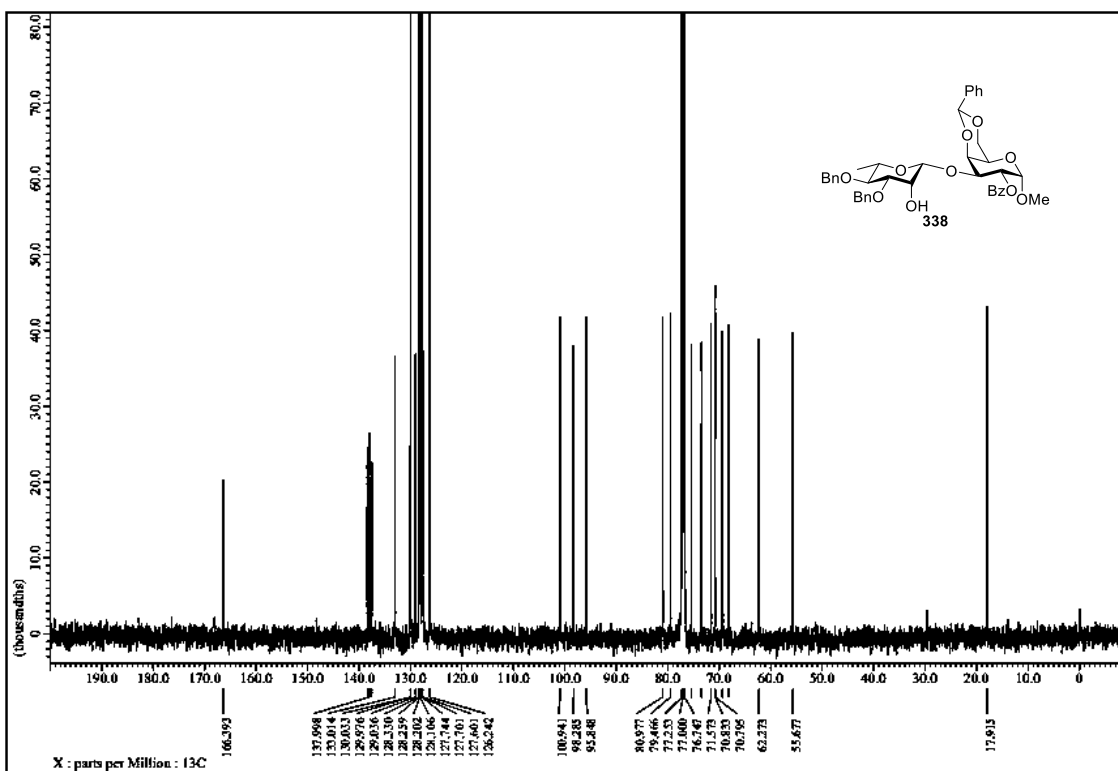
¹H-NMR spectrum of 335



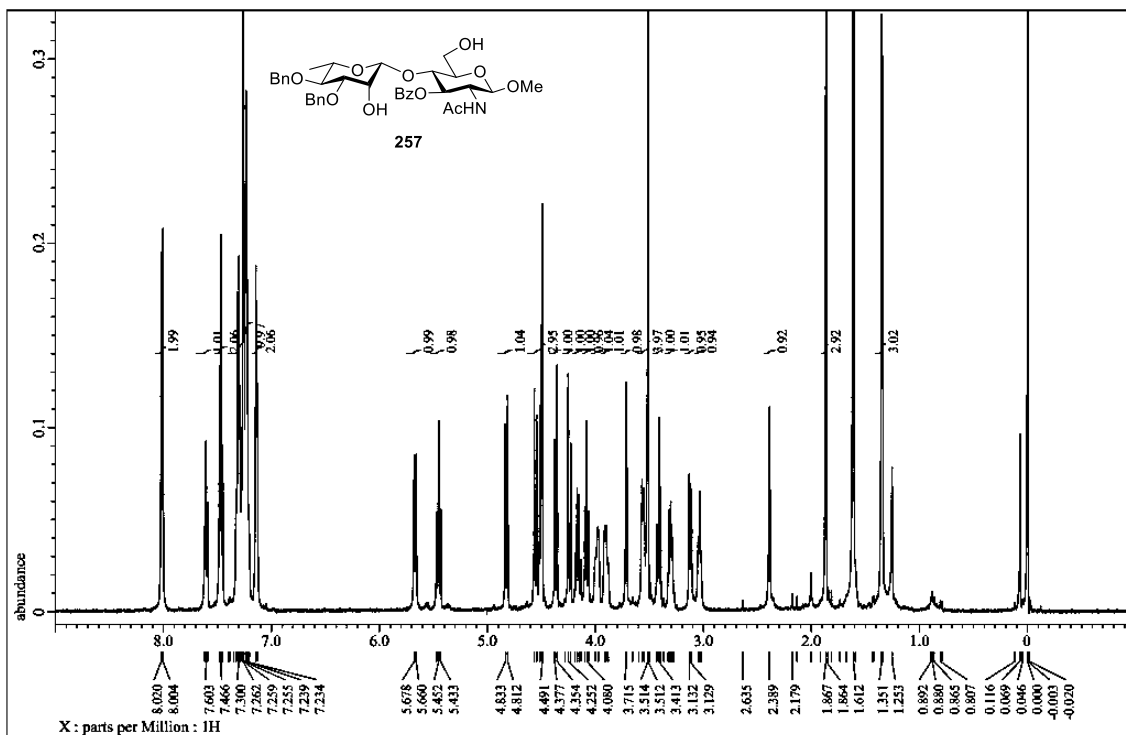
¹³C-NMR spectrum of 335



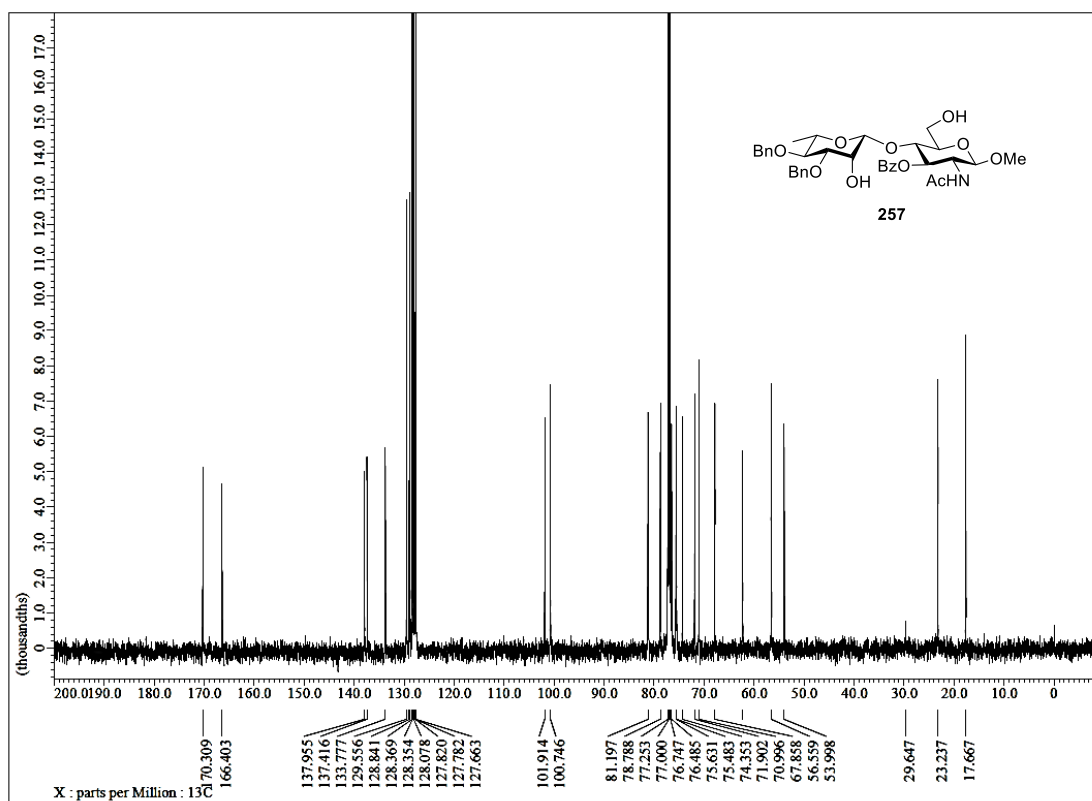
¹H-NMR spectrum of 338



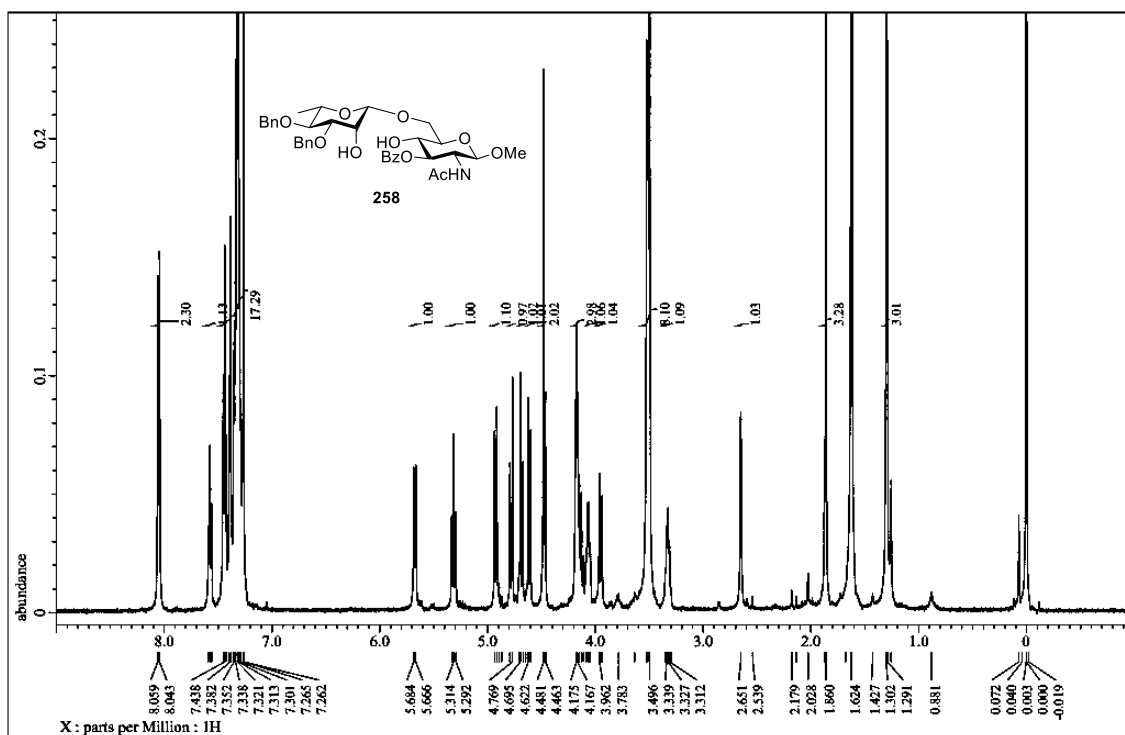
¹³C-NMR spectrum of 338



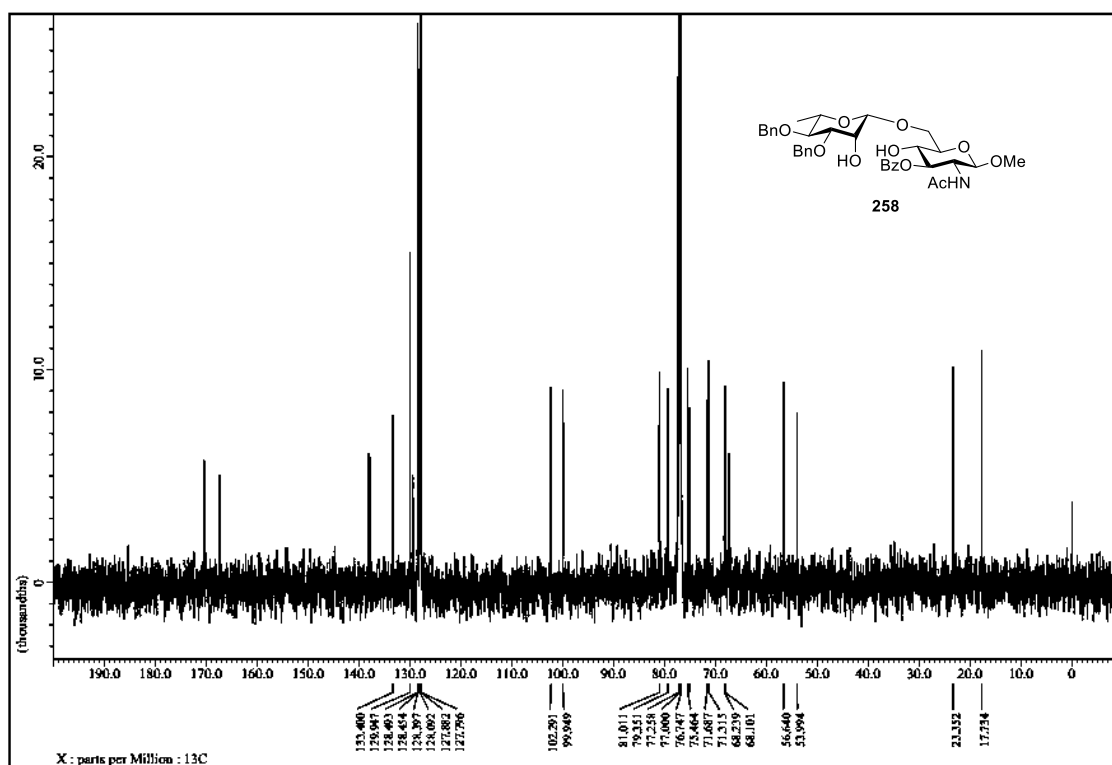
$^1\text{H-NMR}$ spectrum of **257**



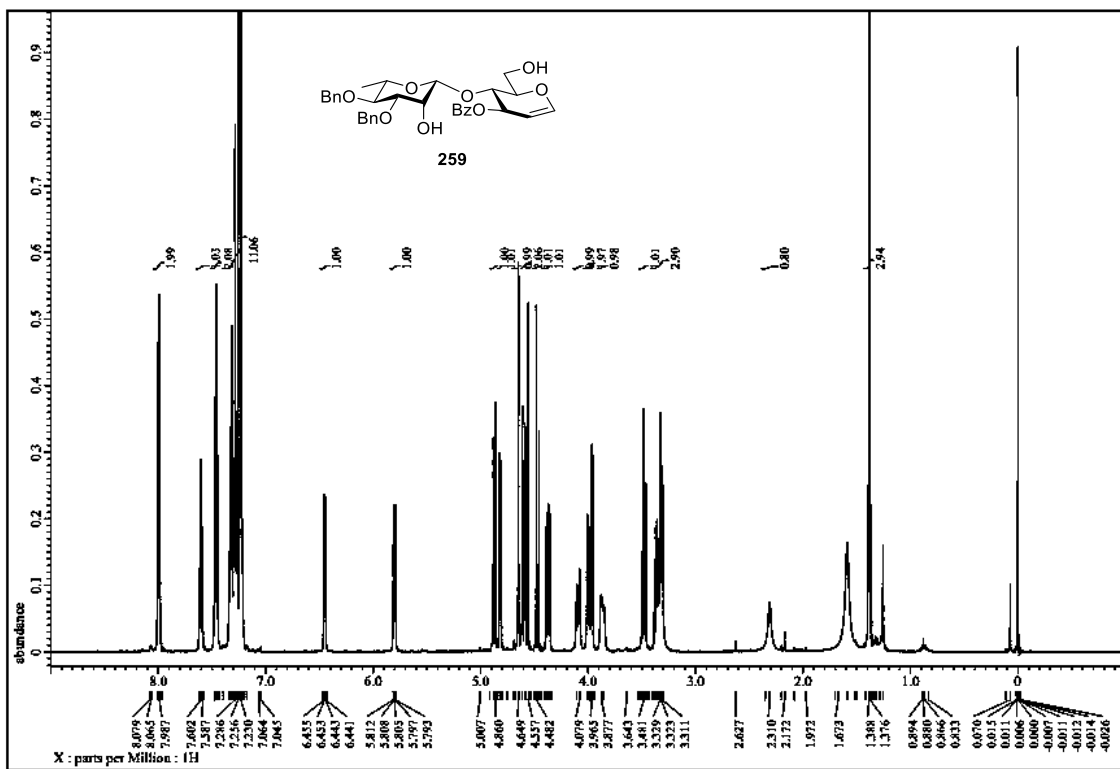
$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of **257**



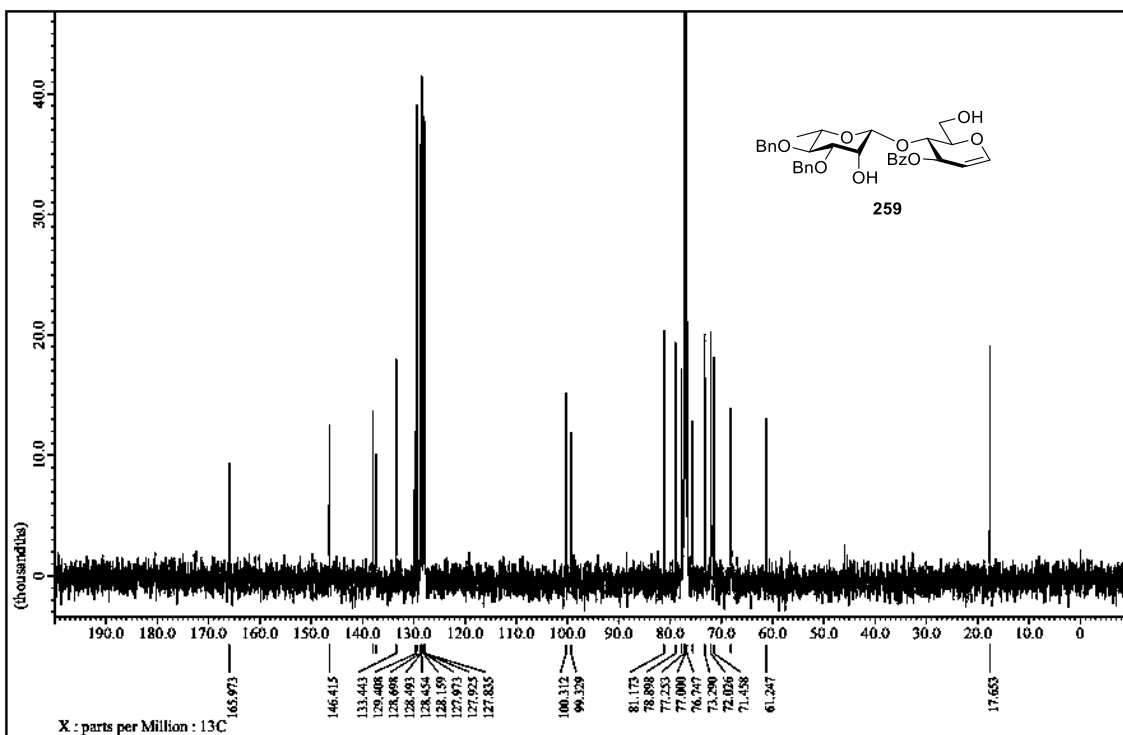
¹H-NMR spectrum of **258**



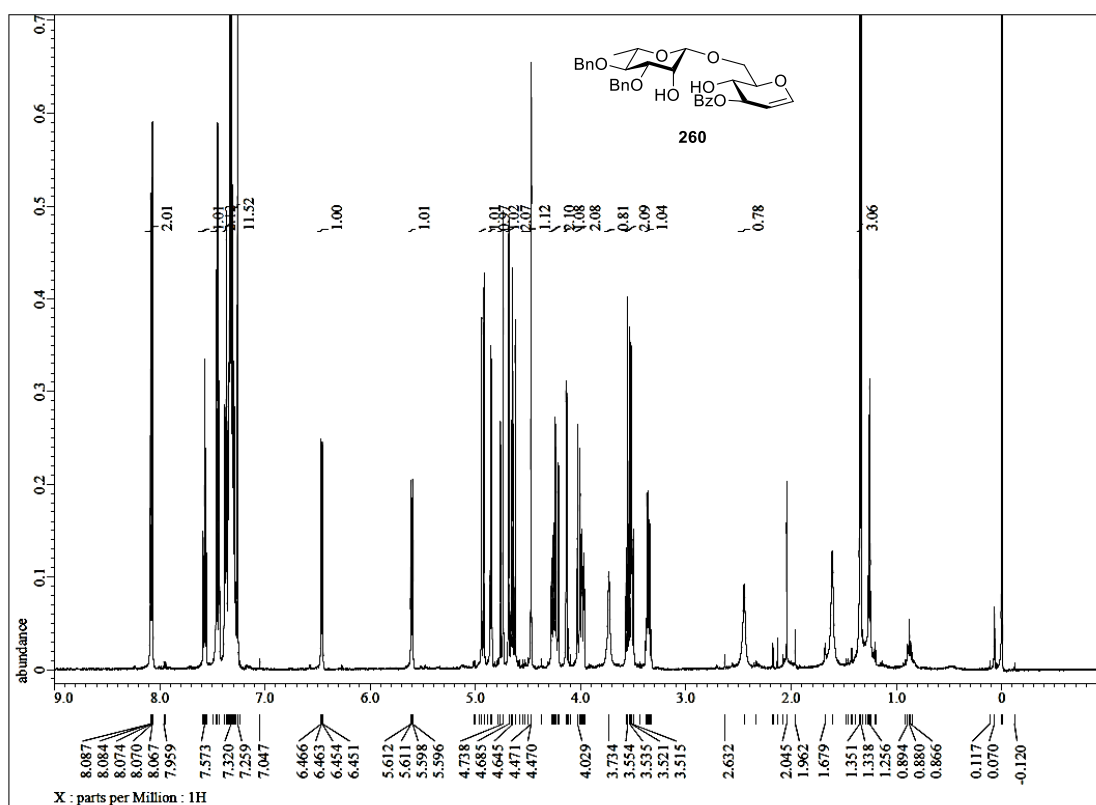
¹³C-NMR spectrum of **258**



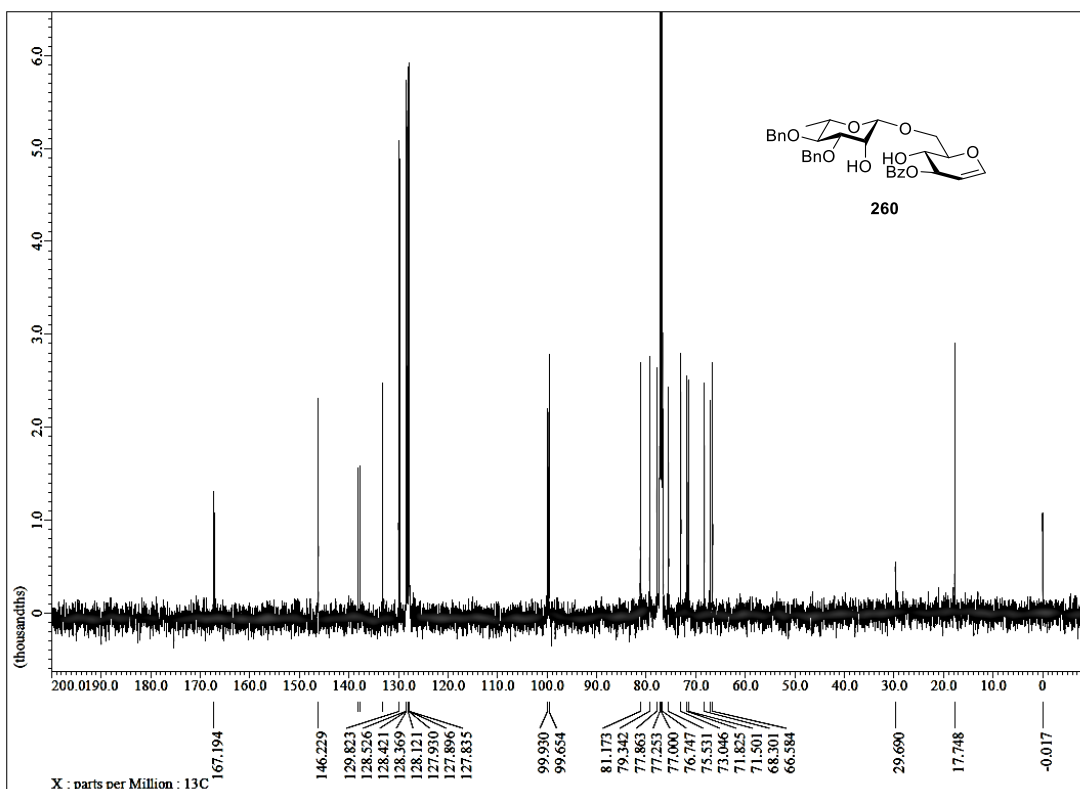
¹H-NMR spectrum of 259



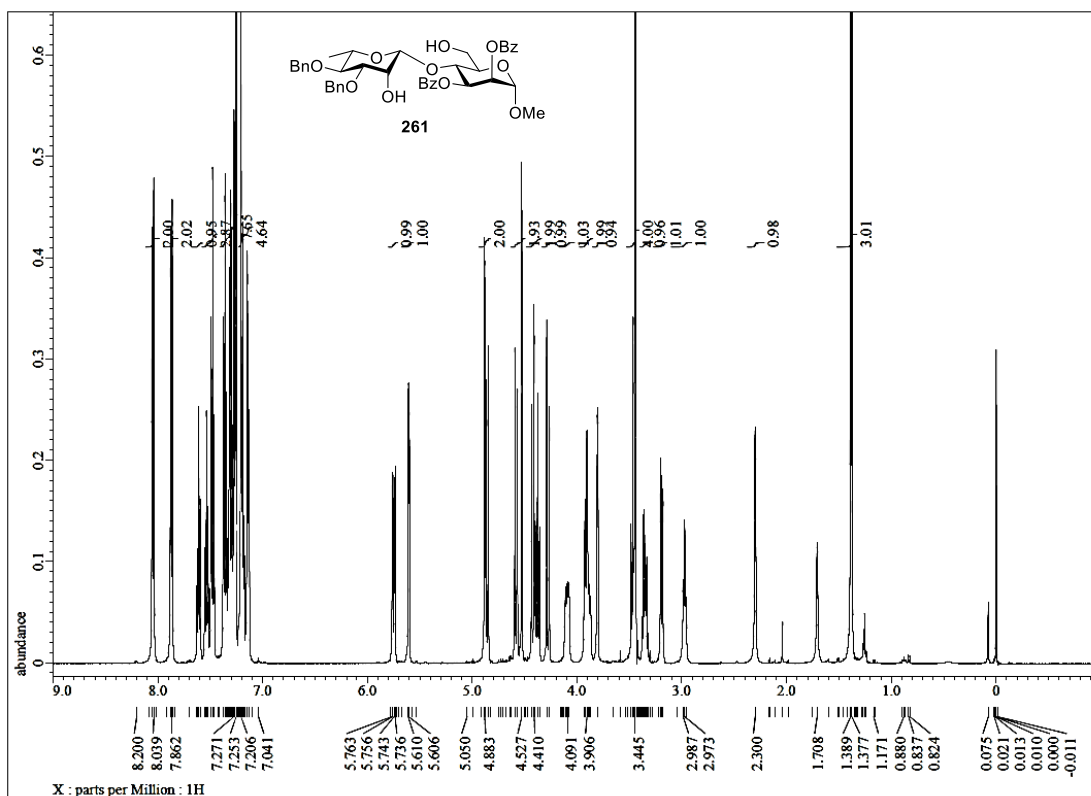
¹³C-NMR spectrum of 259



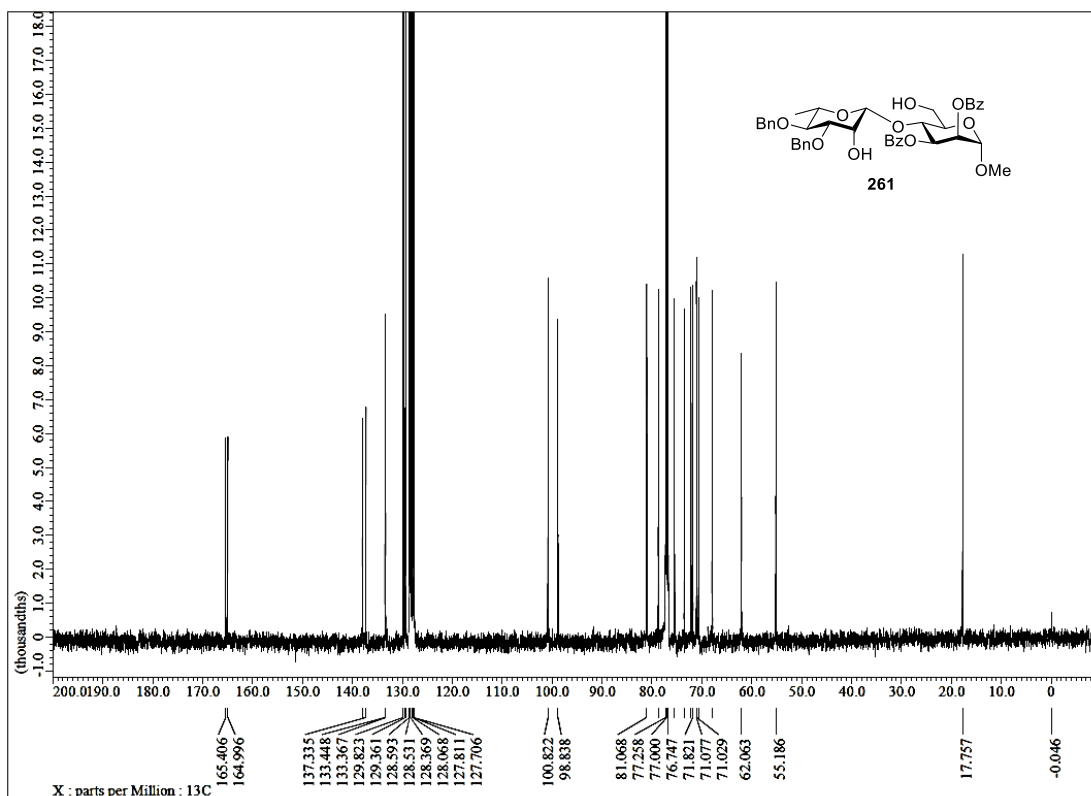
¹H-NMR spectrum of 260



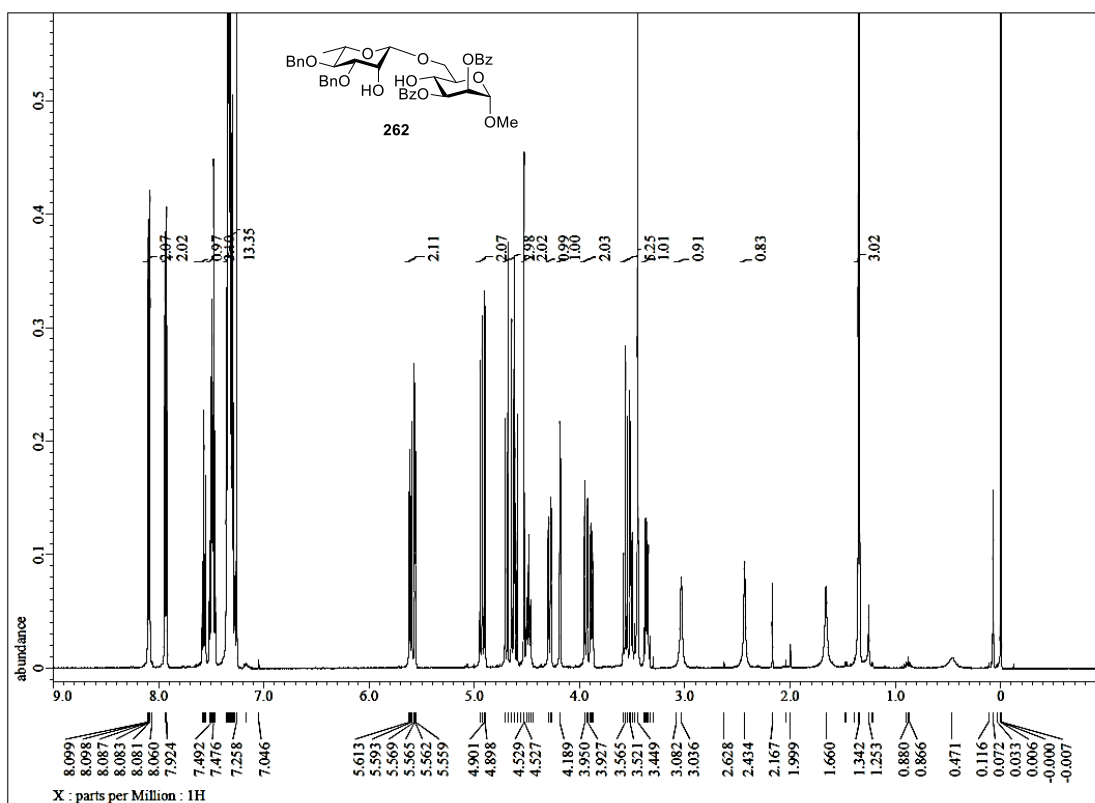
¹³C-NMR spectrum of 260



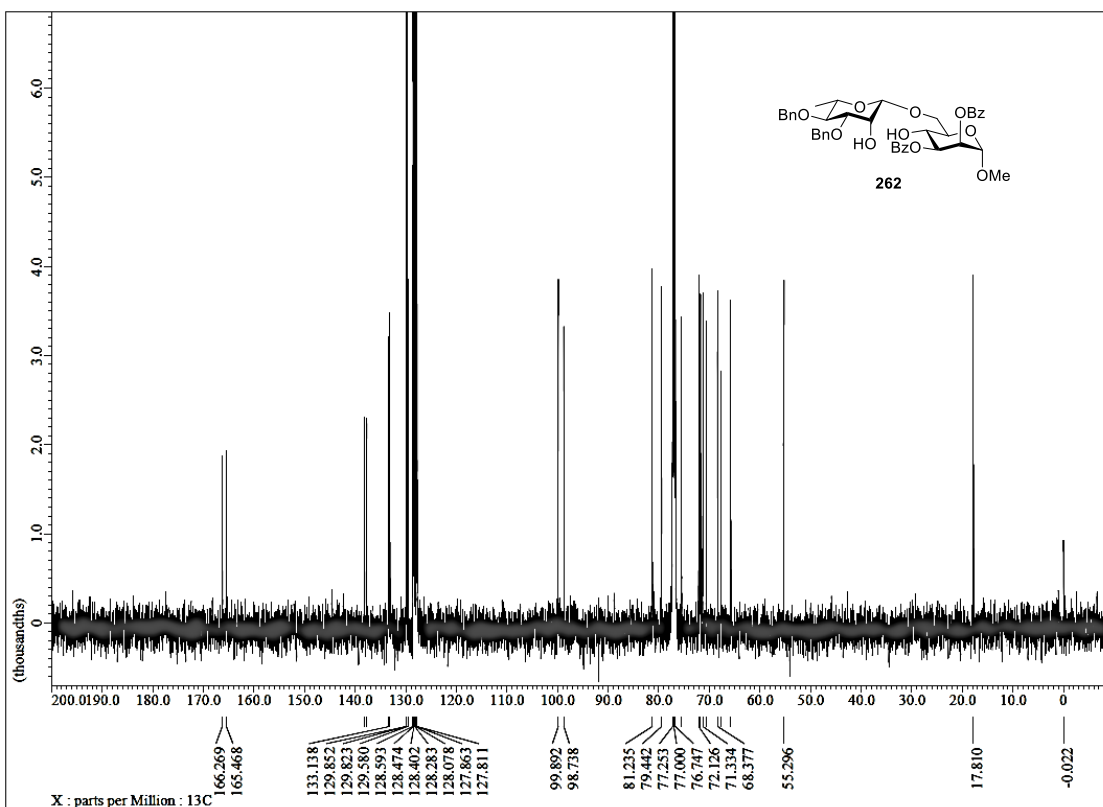
¹H-NMR spectrum of 261



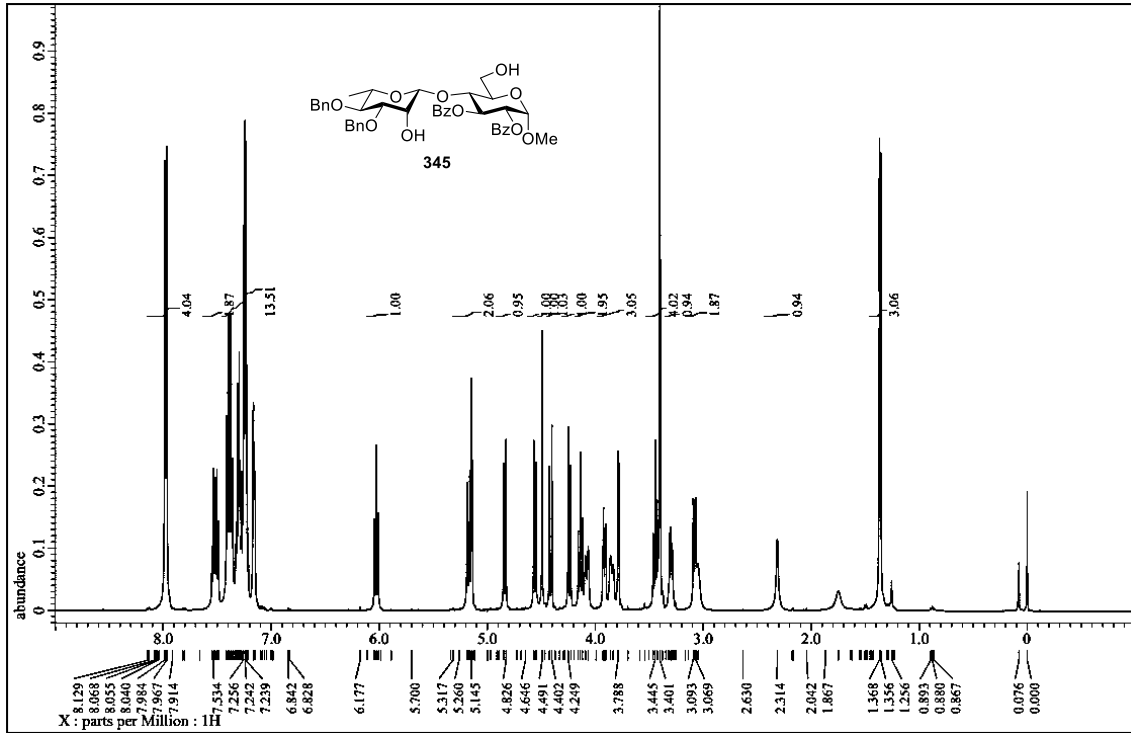
¹³C-NMR spectrum of 261



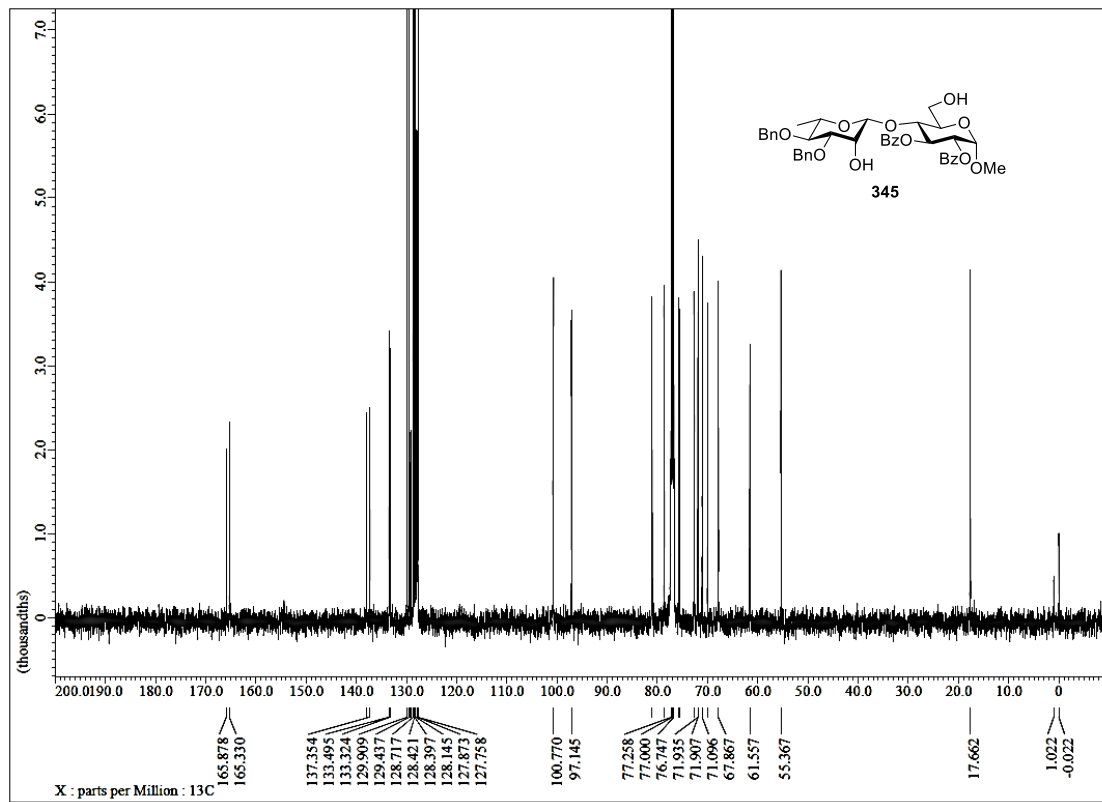
¹H-NMR spectrum of 262



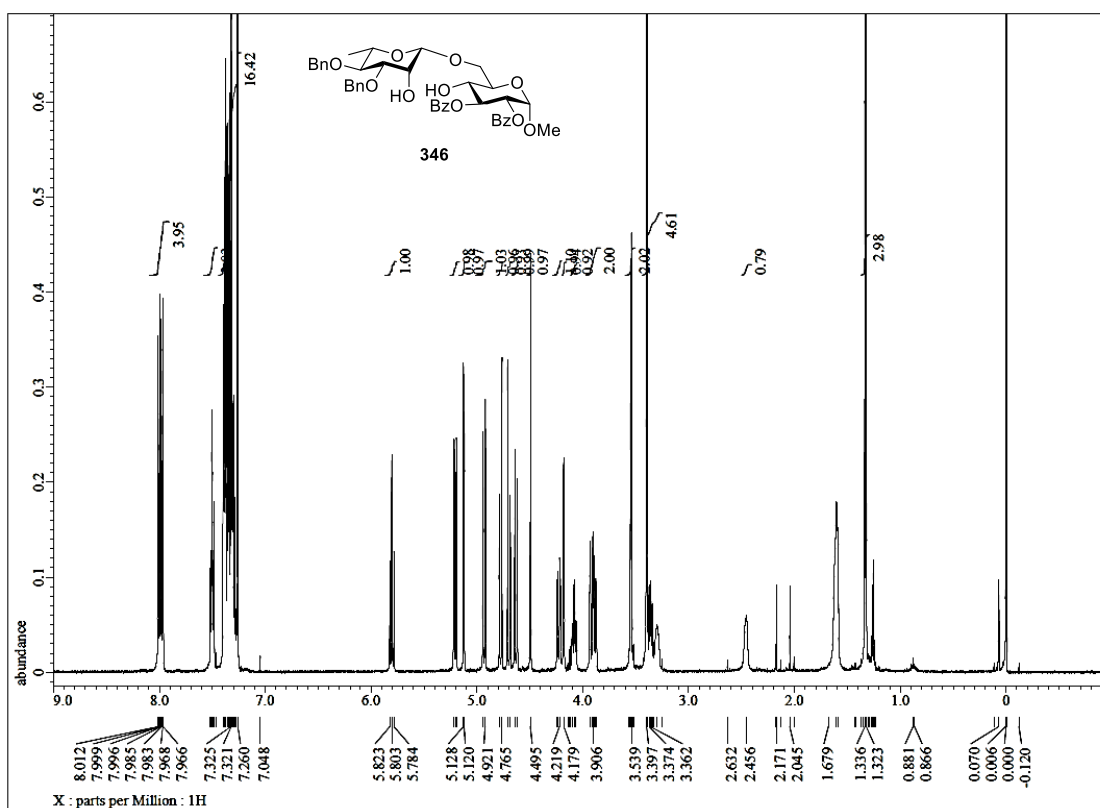
¹³C-NMR spectrum of 262



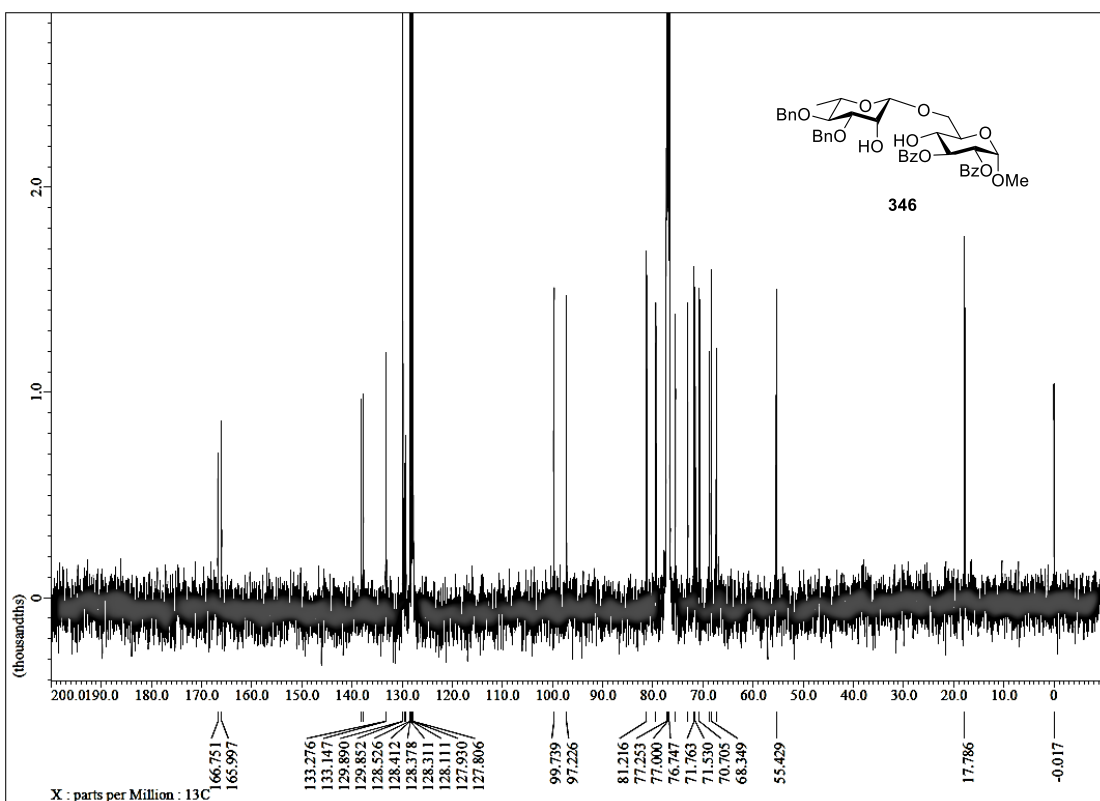
¹H-NMR spectrum of 345



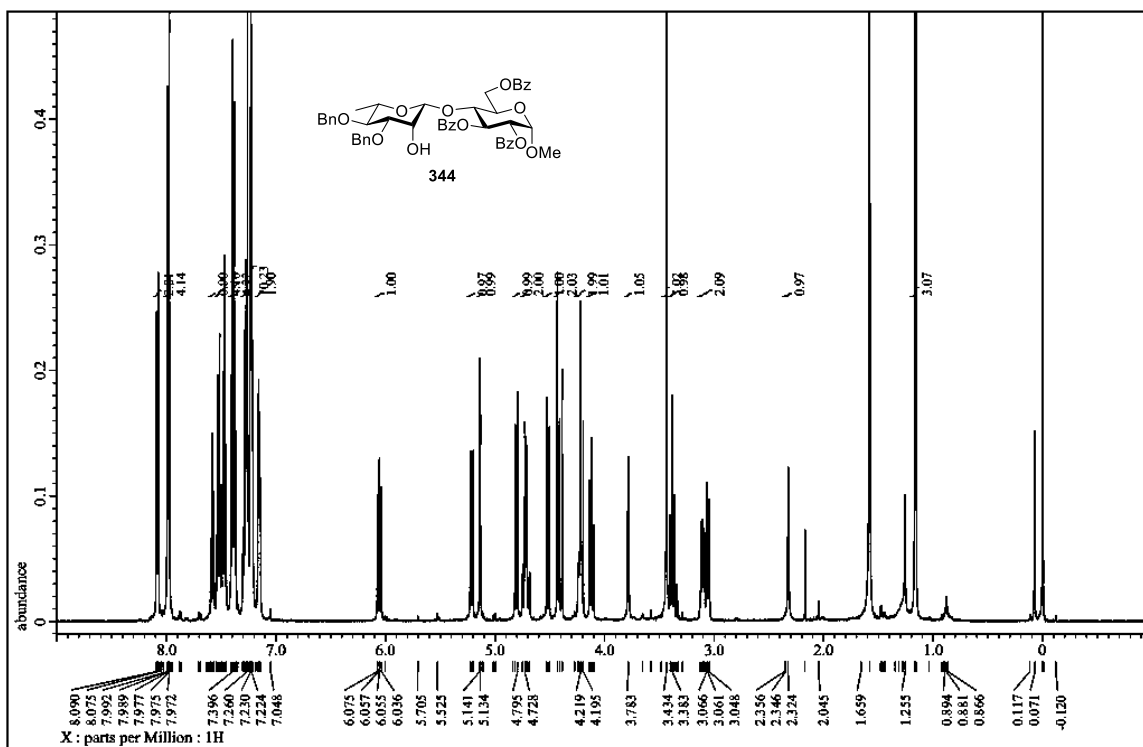
¹³C-NMR spectrum of 345



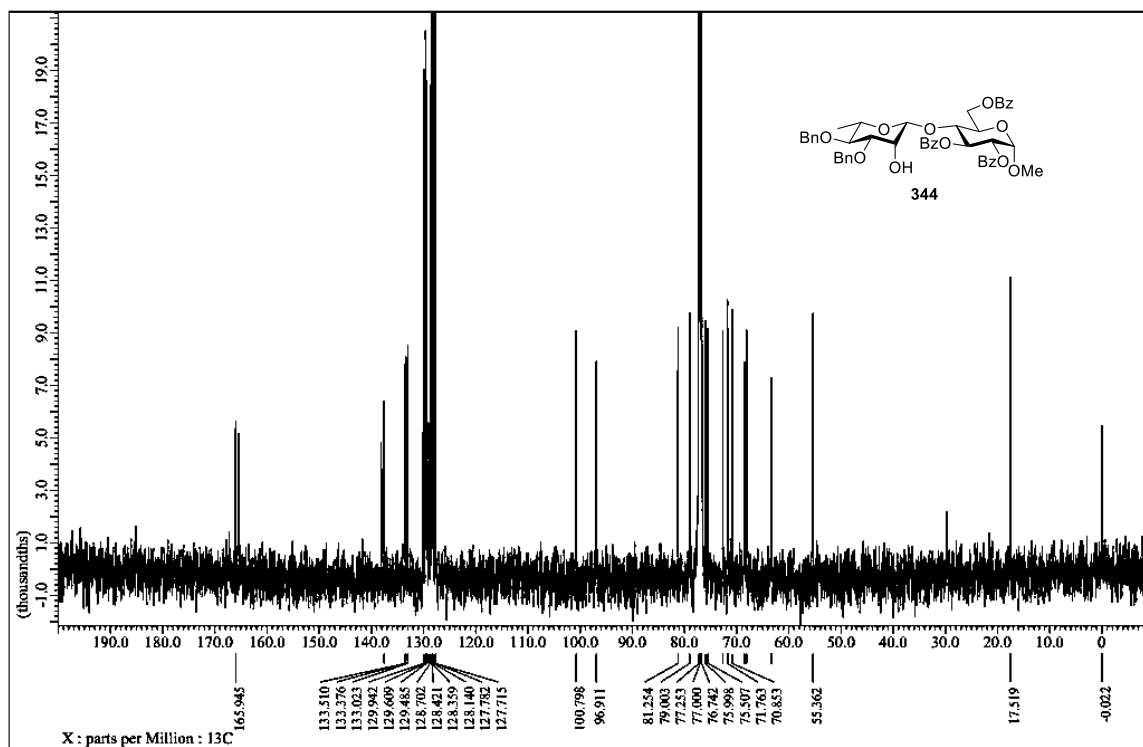
¹H-NMR spectrum of 346



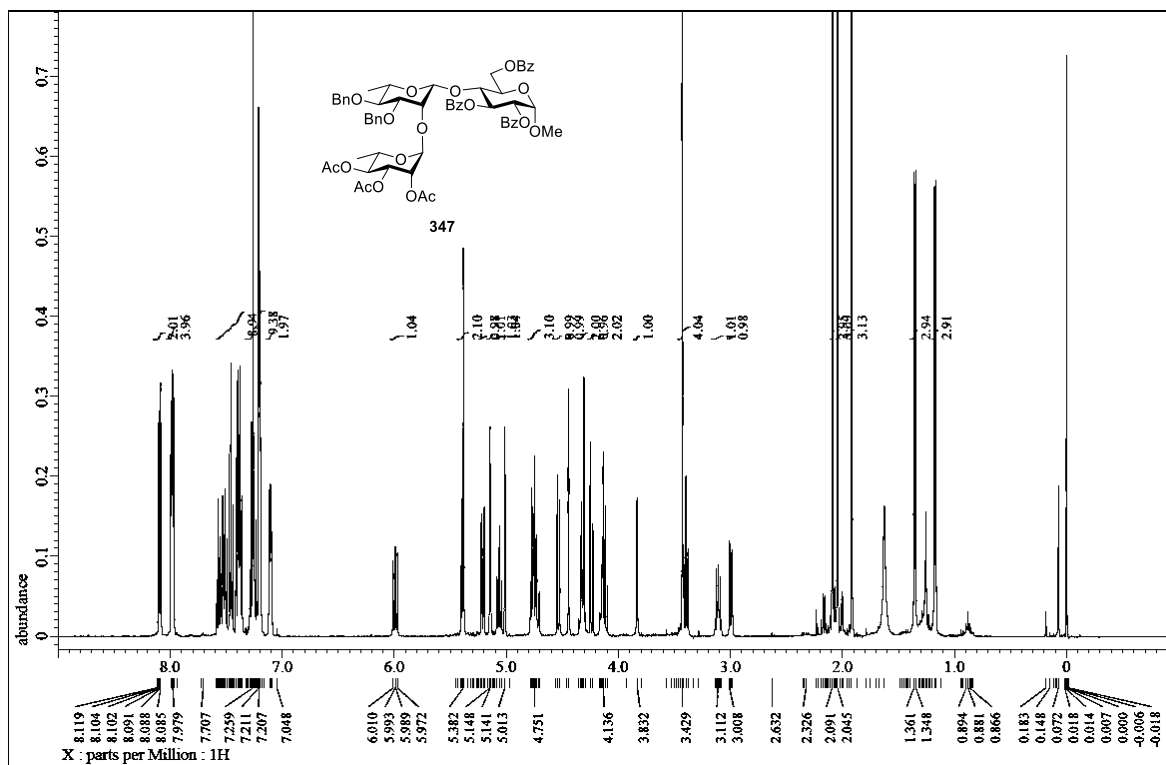
¹³C-NMR spectrum of 346



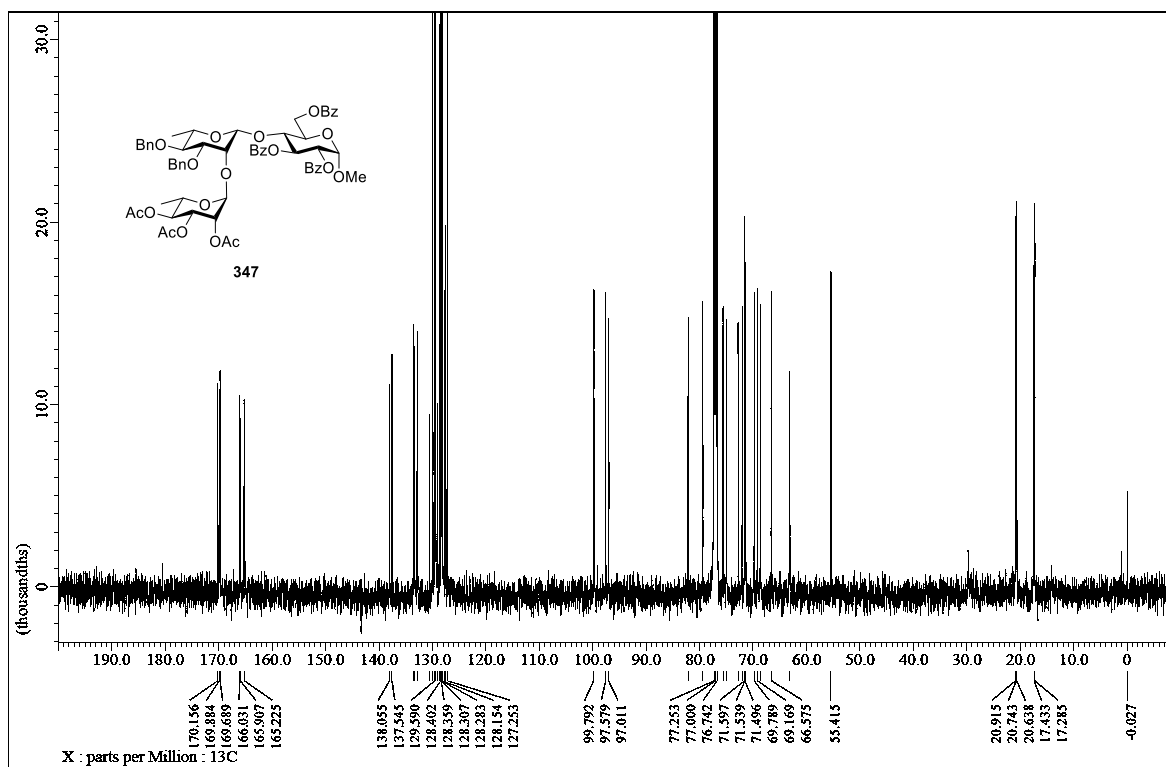
¹H-NMR spectrum of 344



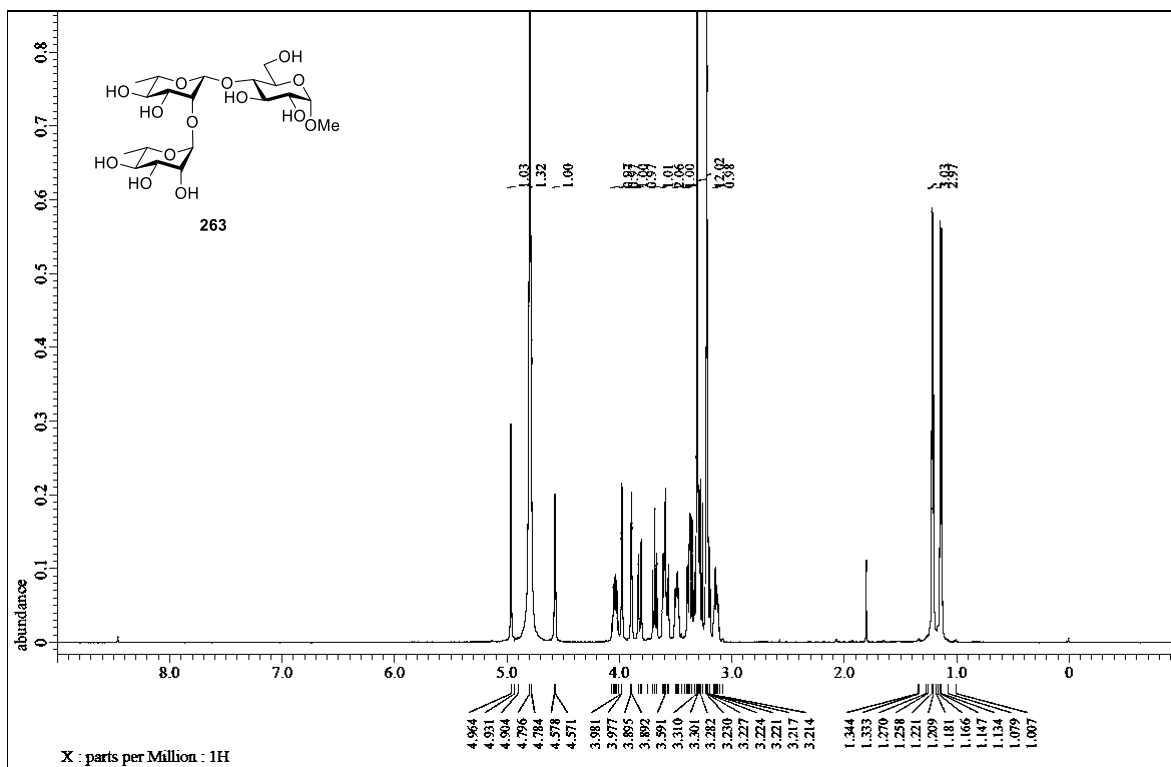
¹³C-NMR spectrum of 344



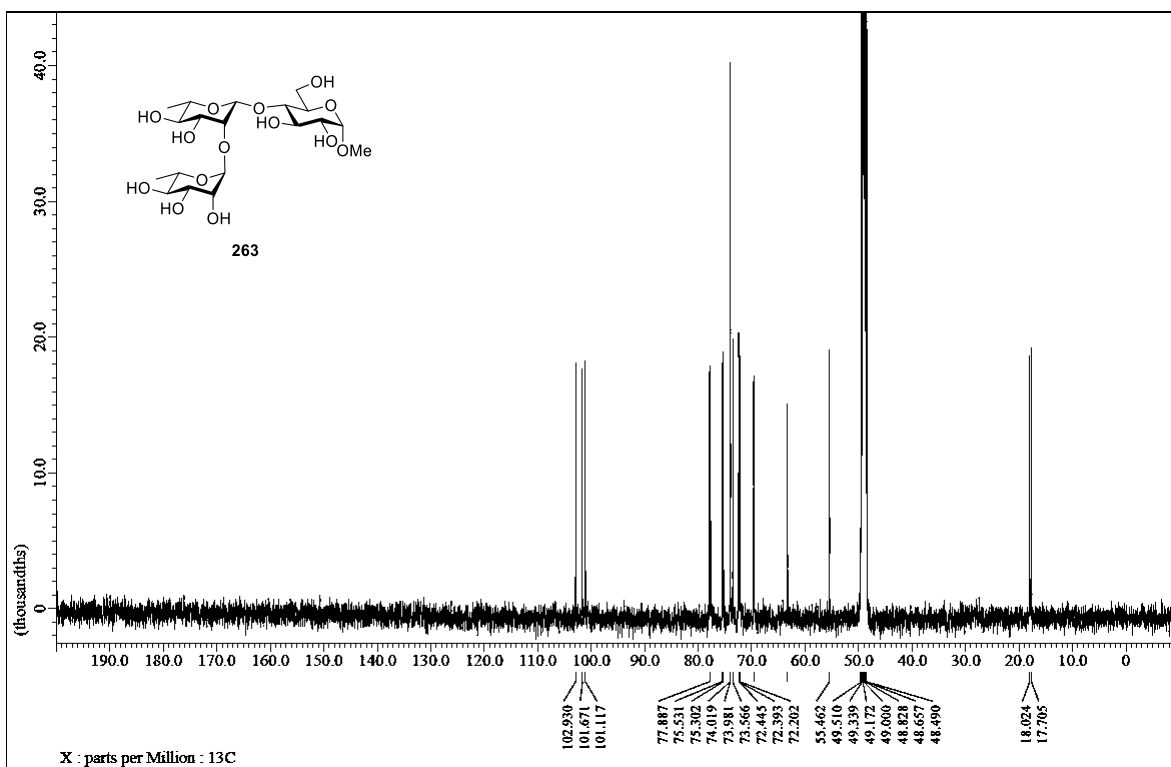
¹H-NMR spectrum of 347



¹³C-NMR spectrum of 347



¹H-NMR spectrum of 263

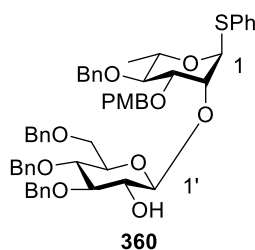


¹³C-NMR spectrum of 263

Experimental Procedure and Characterization Data for Chapter 3

Synthesis of disaccharide donor **350**

Compound **360**



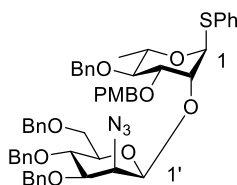
To a solution of **353** (1.51 g, 3.24 mmol) and **352** (2.70 g, 3.87 mmol) in dry CH_2Cl_2 (64.6 mL) was added MS4A (2.70 g) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred vigorously for 1 h, TfOH (127 μL , 0.646 mmol) was added to the reaction mixture at -80°C . After the reaction mixture was stirred for 1.5 h at the same temperature, the reaction mixture was neutralized with Et_3N . The resulting mixture was filtered through celite pad, and the filtrate was concentrated in *vacuo*. The residue was diluted with CHCl_3 (30 mL) and sat. NaHCO_3 aq. (30 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with CHCl_3 (30 mL \times 2). The combined extracts were washed with brine (30 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated in *vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

The above residue was diluted with THF/MeOH (1/3, v/v, 161 mL), and then to the resulting mixture was added 28% NaOMe solution in MeOH (12.9 mL, 64.5 mmol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 24 h at 50°C , the reaction mixture was neutralized with 1 N HCl aq. The aqueous layer was extracted with EtOAc (40 mL \times 3), and then the combined extracts were washed with sat. NaHCO_3 aq. (40 mL) and brine (40 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (5/1 *n*-hexane/EtOAc) gave **360** (2.51 g, 2.79 mmol, 86% yield in 2 steps).

Data of **360**: Colorless syrup; R_f 0.39 (4/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{29} = -57.6^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.43-7.15 (27H, m, Ar-H), 6.90-6.85 (2H, m, Ar-H), 5.64 (1H, d, $J_{1,2} = 0.8$ Hz, H-1), 5.02 and 4.81 (2H, ABq, $J = 11.6$ Hz, Ar CH_2), 4.89 and 4.65 (2H, ABq, $J = 10.8$ Hz, Ar CH_2), 4.84 and 4.51 (2H, ABq, $J = 11.2$ Hz, Ar CH_2), 4.71 and 4.62 (2H, ABq, $J = 11.2$ Hz, Ar CH_2), 4.48 and 4.44 (2H, ABq, $J = 12.4$ Hz, Ar CH_2), 4.25 (1H, d, $J_{1',2'} = 8.0$ Hz, H-1'), 4.14 (1H, m, H-5), 4.00 (1H, dd, $J_{1,2} = 0.8$ Hz, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-2), 3.86 (1H, dd, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, $J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3), 3.79 (3H, s, OCH_3), 3.68-3.47 (6H, m, H-4, H-2', H-3', H-4', H-6'a, H-6'b), 3.43-3.37 (2H, m, H-5', OH), 1.32 (3H, d, $J_{5,6} = 5.6$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) (125 MHz,

CDCl₃) δ 159.6, 138.8, 138.2, 138.1, 138.0, 134.2, 130.9, 130.1, 129.4, 128.9, 128.4, 128.3 \times 2, 128.0, 127.7 \times 2, 127.6, 127.5, 127.0, 113.9, 105.8, 87.0, 84.6, 80.7, 80.4, 79.4, 76.9, 75.5, 75.4, 75.0, 74.8, 73.3, 72.8, 69.2, 68.8, 55.2, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 921.3665 (921.3648 calcd for C₅₄H₅₈O₁₀NaS [M+Na]⁺).

Compound **361**



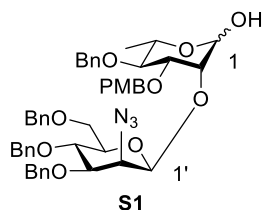
361

To a solution of **360** (347 mg, 386 μ mol) and pyridine (3.12 mL, 38.7 mmol) in CH₂Cl₂ (9.65 mL) was added Tf₂O (3.09 mL, 3.09 mmol, 1.0 M in CH₂Cl₂) at -20 °C under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 4 h at 0 °C, the reaction mixture was poured into H₂O (10 mL). The aqueous layer was extracted with CHCl₃ (10 mL \times 3), and then the combined extracts were washed with brine (10 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

The above residue was diluted with PhMe (3.86 mL), and then to the resulting mixture was added tetrabutylammonium azide (439 mg, 1.54 mmol) at room temperature under Ar atmosphere. The reaction mixture was warmed to 60 °C and stirred for 24 h. The reaction mixture was directly subjected to silica gel column chromatography (100/0 to 30/1 PhMe/EtOAc) to give **361** (311 mg, 337 μ mol, 87% yield in 2 steps).

Data for **361**: Colorless syrup; R_f 0.48 (3/1 PhMe/EtOAc); [α]_D²⁹ -84.7° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.42-7.15 (27H, m, Ar-H), 6.86-6.81 (2H, m, Ar-H), 5.70 (1H, d, *J*_{1,2}=1.2 Hz, H-1), 4.92 and 4.66 (2H, ABq, *J* = 10.8 Hz, ArCH₂), 4.82 and 4.49 (2H, ABq, *J* = 10.8 Hz, ArCH₂), 4.70 and 4.54 (2H, ABq, *J* = 11.2 Hz, ArCH₂), 4.69 and 4.59 (2H, ABq, *J* = 11.6 Hz, ArCH₂), 4.52 (1H, d, *J* = 0.8 Hz, H-1'), 4.48 and 4.41 (2H, ABq, *J* = 11.6 Hz, ArCH₂), 4.19 (1H, dd, *J*_{1,2} = 1.2 Hz, *J*_{2,3} = 2.8 Hz, H-2), 4.14 (1H, m, H-5), 4.09 (1H, dd, *J*_{1',2'} = 0.8 Hz, *J*_{2',3'} = 3.6 Hz, H-2'), 3.83 (1H, dd, *J*_{2,3} = 2.8 Hz, *J*_{3,4} = 9.2 Hz, H-3), 3.75 (3H, s, OCH₃), 3.64 (1H, dd, *J*_{3',4'} = 9.2 Hz, *J*_{4',5'} = 9.2 Hz, H-4'), 3.63-3.58 (2H, m, H-6'a, H-6'b), 3.57 (1H, dd, *J*_{3,4} = 9.2 Hz, *J*_{4,5} = 9.2 Hz, H-4), 3.46 (1H, dd, *J*_{2',3'} = 3.6 Hz, *J*_{3',4'} = 9.2 Hz, H-3'), 3.27 (1H, m, H-5'), 1.32 (3H, d, *J*_{5,6} = 6.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 159.4, 138.4, 138.1, 137.9, 137.5, 134.5, 131.0, 130.2, 129.5, 128.9, 128.5, 128.4 \times 2, 128.3, 128.1, 127.9 \times 2, 127.8, 127.7, 127.5, 127.0, 114.0, 101.2 (*J*_{CH} = 159 Hz), 87.2 (*J*_{CH} = 170 Hz), 80.3 \times 2, 80.0, 78.1, 75.8, 75.5, 75.2, 74.1, 73.5, 72.5, 71.8, 69.2, 69.0, 61.4, 55.2, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 946.3680 (946.3713 calcd for C₅₄H₅₇N₃O₉NaS [M+Na]⁺).

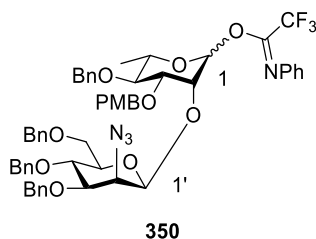
Compound **S17**



To a solution of **361** (47.5 mg, 51.4 μmol) in MeCN/THF (7/3, v/v, 2.37 mL) were added NBS (9.6 mg, 53.9 mmol) and H₂O (4.6 μL , 257 μmol) at $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ under Ar atmosphere. After the reaction mixture stirred for 4 h at $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, the reaction was quenched by sat. Na₂S₂O₃ aq. (5 mL). To the resultant mixture was added sat. NaHCO₃ aq. (5 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (10 mL \times 3). The combined extracts were washed with brine (10 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (2/1 *n*-hexane/EtOAc) gave **S17** (42.8 mg, 51.4 μmol , quantitative yield, *d.r.* = 81/19).

Data for **S17**: Colorless syrup; *R_f* 0.21 (5/1 *n*-hexane/EtOAc); $[\alpha]_{\text{D}}^{29} -21.3^{\circ}$ (*c* 1.0, CHCl₃); mp 152-154 $^{\circ}\text{C}$; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) (major diastereomer) δ 7.39-7.12 (22H, m, Ar-H), 6.84-6.78 (2H, m, Ar-H), 5.31 (1H, br-s, H-1), 4.90 and 4.63 (2H, ABq, *J* = 11.2 Hz, ArCH₂), 4.81 and 4.47 (2H, ABq, *J* = 10.4 Hz, ArCH₂), 4.67 and 4.55 (2H, ABq, *J* = 10.8 Hz, ArCH₂), 4.65 and 4.52 (2H, ABq, *J* = 11.6 Hz, ArCH₂), 4.57 and 4.54 (2H, ABq, *J* = 10.8 Hz, ArCH₂), 4.56 (1H, br-s, H-1'), 4.12-4.06 (2H, m, H-2, H-2'), 3.96-3.88 (2H, m, H-3, H-5), 3.72 (3H, s, OCH₃), 3.71 (1H, m, H-6'a), 3.64-3.47 (2H, m, H-4', H-6'b), 3.48 (1H, dd, *J*_{3,4} = 9.6 Hz, *J*_{4,5} = 9.6 Hz, H-4), 3.43 (1H, dd, *J*_{2,3'} = 4.0 Hz, *J*_{3',4'} = 9.2 Hz, H-3'), 3.29 (1H, m, H-5'), 3.05 (1H, d, *J* = 2.8 Hz, OH), 1.28 (3H, d, *J*_{5,6} = 6.4 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) (major diastereomer) δ 159.2, 138.5, 138.0, 137.9, 137.5, 130.5, 129.3, 128.5, 128.3, 128.1, 127.9, 127.8 \times 2, 127.6 \times 2, 113.9, 101.0, 93.8, 80.6, 80.3, 79.3, 75.5, 75.3, 75.2, 74.1, 73.3, 72.4, 71.8, 69.0, 67.9, 61.5, 55.2, 18.0; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 854.3586 (854.3629 calcd for C₄₈H₅₃N₃O₁₀Na [M+Na]⁺).

Compound **350**



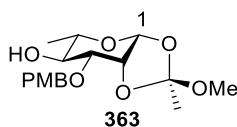
To a solution of **S17** (387 mg, 0.465 mmol) in CH₂Cl₂ (4.65 mL) were added 2,2,2-trifluoro-*N*-phenylacetimidoylchloride (293 μL, 1.86 mmol) and Cs₂CO₃ (606 mg, 1.86 mmol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 13 h at room temperature, the reaction mixture was filtered through celite pad, and the filtrate was concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (40/8/1 PhMe/EtOAc/NEt₃) gave **350** (452 mg, 0.451 mmol, 97% yield, α/β = 23/77).

Data for **350α**: Colorless syrup; R_f 0.73 (74/24/2 *n*-hexane/EtOAc/NEt₃); [α]²⁹_D -41.1° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (400 MHz, 233 K, CDCl₃) δ 7.46-7.07 (25H, m, Ar-H), 6.85 (2H, br-d, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 6.64 (2H, br-d, *J* = 7.2 Hz, Ar-H), 6.42 (1H, d, *J*_{1,2} = 2.0 Hz, H-1), 4.96 and 4.68 (2H, ABq, *J* = 10.0 Hz, ArCH₂), 4.85 and 4.60 (2H, ABq, *J* = 11.2 Hz, ArCH₂), 4.85 and 4.45 (2H, ABq, *J* = 10.4 Hz, ArCH₂), 4.80 and 4.68 (2H, ABq, *J* = 10.8 Hz, ArCH₂), 4.61 (1H, br-s, H-1'), 4.53 and 4.22 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.32 (1H, br-d, *J* = 3.2 Hz, H-2'), 3.99-3.86 (2H, m, H-3, H-5), 3.82-3.73 (5H, m, H-2, H-4', OCH₃), 3.65-3.56 (3H, m, H-4, H-3', H-6'a), 3.48 (1H, br-d, *J* = 10.0 Hz, H-6'b), 3.25 (1H, m, H-5'), 1.42 (3H, d, *J*_{5,6} = 6.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, 233 K, CDCl₃) δ 159.1, 143.3, 137.5, 137.4, 137.1, 137.0, 129.9, 129.4, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 127.9, 127.7, 127.6, 123.9, 118.9, 113.6, 100.8, 95.4, 79.1, 79.0, 77.8, 75.9, 75.3, 75.2, 74.6, 73.2, 73.0, 71.3, 70.6, 67.3, 60.5, 55.1, 17.8; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 1041.3618 (1041.3664 calcd for C₅₆H₅₇N₄O₁₀F₃K [M+K]⁺).

Data for **350β**: Colorless syrup; R_f 0.67 (74/24/2 *n*-hexane/EtOAc/NEt₃); [α]²⁹_D -59.4° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (400 MHz, 233 K, CDCl₃) δ 7.45-7.06 (25H, m, Ar-H), 6.87-6.79 (4H, m, Ar-H), 5.75 (1H, br-s, H-1), 4.96 and 4.68 (2H, ABq, *J* = 10.4 Hz, ArCH₂), 4.82 and 4.44 (2H, ABq, *J* = 10.4 Hz, ArCH₂), 4.73 and 4.57 (2H, ABq, *J* = 11.6 Hz, ArCH₂), 4.70 (1H, br-s, H-1'), 4.68 and 4.57 (2H, ABq, *J* = 11.2 Hz, ArCH₂), 4.51 and 4.49 (2H, ABq, *J* = 12.4 Hz, ArCH₂), 4.50 (1H, br-s, H-2), 4.19 (1H, br-s, H-2'), 3.79-3.68 (8H, m, H-3, H-4, H-4', H-6'a, H-6'b, OCH₃), 3.57-3.47 (2H, m, H-3', H-5), 3.38 (1H, m, H-5'), 1.46 (3H, d, *J*_{5,6} = 4.8 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 159.4, 143.6, 138.3, 138.0×2, 137.7, 129.7, 129.3, 128.6, 128.4×2, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.4, 124.2, 119.5, 114.0, 100.5, 94.6, 81.6, 80.9, 79.4, 76.0, 75.4, 75.3, 74.2, 73.4, 73.3, 72.7, 71.7, 69.3, 61.5, 55.1, 17.8; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 1041.3633 (1041.3664 calcd for C₅₆H₅₇N₄O₁₀F₃K [M+K]⁺).

Synthesis of trisaccharide acceptor **351**

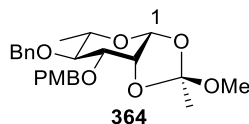
Compound **363**



To a solution of **362** (452 mg, 2.05 mmol) in dry PhMe (41.1 mL) was added ⁿBu₂SnO (614 mg, 2.46 mmol) at reflux with the dean-stark trap under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 3 h, the reaction mixture was concentrated to half its initial volume. Then, to the reaction mixture were added PMBCl (416 μL, 3.08 mmol) and TBAB (662 mg, 2.05 mmol). After the reaction mixture was stirred for 15 h at 90 °C, the reaction mixture was poured into MeCN (160 mL). The resultant mixture was washed with *n*-hexane (160 mL). After separation, the *n*-hexane layer was extracted with MeCN (160 mL), and the combined extracts were concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (100/250/7 *n*-hexane/EtOAc/NEt₃) gave **S2** (625 mg, 1.84 mmol, 90% yield).

Data for **S2**: White solid; R_f 0.32 (2/1 *n*-hexane/acetone); [α]²¹_D +59.8° (*c* 1.0, CHCl₃); mp 80-81 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.32 (2H, br-d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 6.90 (2H, br-d, *J* = 8.0 Hz, Ar-H), 5.34 (1H, d, *J*_{1,2} = 2.0 Hz, H-1), 4.75 and 4.59 (2H, ABq, *J* = 11.5 Hz, ArCH₂), 4.42 (1H, m, H-2), 3.81 (3H, s, OCH₃), 3.56 (1H, m, H-4), 3.46 (1H, dd, *J*_{2,3} = 3.5 Hz, *J*_{3,4} = 9.0 Hz, H-3), 3.33-3.26 (4H, m, H-5, OCH₃), 1.70 (3H, s, CH₃), 1.31 (3H, d, *J*_{5,6} = 6.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 159.6, 129.7, 129.5, 124.0, 114.1, 97.5, 78.5, 76.2, 71.3, 70.9, 70.4, 55.3, 49.7, 24.4, 17.7; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 363.1418 (363.1420 calcd for C₁₇H₂₄O₇Na [M+Na]⁺).

Compound **364**

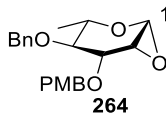


To a solution of **363** (1.47 g, 4.32 mmol) in dry DMF (14.4 mL) was added 60% NaH (0.35 g, 8.64 mmol, dispersion in paraffin liquid) at 0 °C under Ar atmosphere, followed by BnBr (1.03 mL, 8.64 mmol). After the reaction mixture was stirred for 15 h at room temperature, the reaction was quenched by addition of H₂O (10 mL). The aqueous layer was extracted with *n*-hexane/EtOAc (1/1, v/v, 20 mL×3), and then the combined extracts were washed with brine (20 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (2/1 *n*-hexane/EtOAc) gave **364** (1.57 g, 3.65 mmol, 84% yield).

Data for **364**: White solid; R_f 0.40 (2/1 *n*-hexane/EtOAc); [α]²²_D -1.74° (*c* 1.0, CHCl₃); mp 96-97 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.26 (7H, m, Ar-H), 6.86 (2H, br-d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 5.28 (1H, d, *J*_{1,2} = 2.5 Hz, H-1), 4.95 and 4.66 (2H, ABq, *J* = 11.0 Hz, ArCH₂), 4.71 (2H, s, ArCH₂), 4.35 (1H, dd, *J*_{1,2} = 2.5 Hz, *J*_{2,3} = 4.0 Hz, H-2), 3.80 (3H, s, OCH₃), 3.66 (1H, dd, *J*_{2,3} = 4.0 Hz, *J*_{3,4} = 9.0 Hz, H-3), 3.46 (1H, dd, *J*_{3,4} = 9.0 Hz, *J*_{4,5} = 9.0 Hz, H-4), 3.32 (1H, m, H-5), 3.29 (3H, s, OCH₃), 1.72 (3H, s, CH₃), 1.31 (3H, d, *J*_{5,6} = 6.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 159.4, 138.3, 129.8, 129.7, 128.4, 128.0, 127.8, 123.8, 113.9, 97.3, 79.4, 78.5, 75.5,

71.8, 70.2, 55.2, 49.8, 24.4, 17.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 453.1868 (453.1889 calcd for $C_{24}H_{30}O_7Na$ $[M+Na]^+$).

Compound **264**

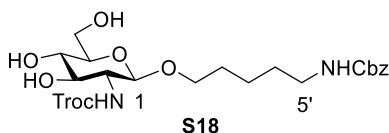


To a solution of **364** (2.14 g, 4.97 mmol) in dry CH_2Cl_2 (9.94 mL) was added TMSCl (945.9 μ L, 7.45 mmol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was refluxed for 3 h, the reaction mixture was concentrated in *vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the above residue in dry THF (49.7 mL) was added t BuOK (1.10 g, 14.9 mmol) at -40 °C. After the reaction mixture was stirred for 30 min at the same temperature, the reaction mixture was poured into a solution of CH_2Cl_2 /brine (2/1, v/v, 500 mL). The organic layer was washed with brine (150 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered through celite pad, and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by recrystallization (*n*-hexane/ Et_2O) gave **264** (1.59 g, 4.47 mmol, 90% yield).

Data for **264**: White solid; $[\alpha]_D^{25} +25.1^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$); mp 66-67 °C; 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.37-7.25 (7H, m, Ar-H), 6.87 (2H, br-d, $J = 9.0$ Hz, Ar-H), 4.88 (1H, d, $J_{1,2} = 2.5$ Hz, H-1), 4.86 and 4.64 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, Ar CH_2), 4.76 and 4.73 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, Ar CH_2), 3.88 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.0$ Hz, $J_{3,4} = 8.0$ Hz, H-3), 3.80 (3H, s, OCH $_3$), 3.66 (1H, m, H-5), 3.53 (1H, dd, $J_{3,4} = 8.0$ Hz, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 3.30 (1H, dd, $J_{1,2} = 2.5$ Hz, $J_{2,3} = 2.0$ Hz, H-2), 1.26 (3H, d, $J_{5,6} = 6.5$ Hz, H-6); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.4, 138.1, 130.1, 129.5, 128.4, 128.0 \times 2, 113.9, 80.8, 79.0, 78.7, 75.4, 75.1, 71.7, 55.2, 54.7, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 357.1709 (357.1702 calcd for $C_{21}H_{25}O_5$ $[M+H]^+$).

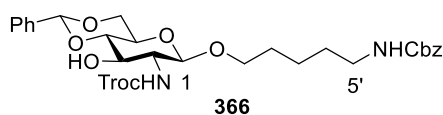
Compound **S18**



To a solution of **365** (3.00 g, 4.29 mmol) in MeOH (42.9 mL) was added 28% NaOMe solution in MeOH (857 μ L, 4.29 mmol) at 0 °C under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 30 min at the same temperature, the reaction mixture was neutralized with amberlite, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (12/1 $CHCl_3$ /MeOH) gave **S18** (2.19 g, 3.82 mmol, 89% yield).

Data for **S18**: White solid; R_f 0.39 (8/1 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$); $[\alpha]_D^{29} -15.6^\circ$ (c 1.0, MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 9/1 $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 7.41-7.28 (5H, m, Ar-H), 5.51 (1H, br-s, NH), 5.09 (2H, s, Ar CH_2), 4.76 and 4.70 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, OCH_2CCl_3), 4.41 (1H, d, $J_{1,2} = 7.6$ Hz, H-1), 3.90-3.81 (2H, m, H-6a, H-1'a), 3.77 (1H, dd, $J_{5,6b} = 4.4$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.0$ Hz, H-6b), 3.51-3.40 (3H, m, H-3, H-4, H-1'b), 3.40-3.31 (2H, m, H-2, NH), 3.28 (1H, m, H-5), 3.15 (2H, m, H-5'a, H-5'b), 1.64-1.30 (6H, m, H-2', H-3', H-4'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, 9/1 $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ 156.7, 155.2, 136.3, 128.3, 127.9, 127.8, 127.6, 101.1, 95.5, 75.5, 74.3, 73.8, 70.2, 69.5, 66.4, 61.3, 57.5, 40.6, 29.2, 28.7, 22.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 595.0988 (595.0993 calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_9\text{NaCl}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

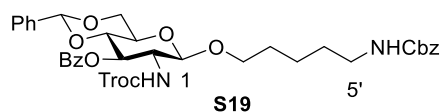
Compound **366**



To a solution of **S18** (440 mg, 0.767 mmol) in MeCN (3.84 mL) were added benzaldehyde dimethyl acetal (34.3 μL , 2.30 mmol) and 10-camphorsulfonic acid (17.8 mg, 76.7 μmol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 2 h at the same temperature, the reaction mixture was neutralized with Et_3N , and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (7/1 $\text{CHCl}_3/\text{acetone}$) gave **366** (475 mg, 0.718 mmol, 94% yield).

Data for **366**: White solid; R_f 0.73 (1/1 $\text{PhMe}/\text{acetone}$); $[\alpha]_D^{29} -29.6^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); mp 165-167 $^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, 323 K, CDCl_3) δ 7.52-7.45 (2H, m, Ar-H), 7.40-7.24 (8H, m, Ar-H), 5.58-5.48 (2H, m, PhCH, NH), 5.11 (2H, s, Ar CH_2), 4.83 (1H, br-s, NH), 4.74 and 4.71 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, OCH_2CCl_3), 4.59 (1H, d, $J_{1,2} = 7.6$ Hz, H-1), 4.31 (1H, dd, $J_{5,6a} = 5.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.0$ Hz, H-6a), 4.04 (1H, m, H-3), 3.84 (1H, m, H-1'a), 3.77 (1H, dd, $J_{5,6b} = 10.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 10.0$ Hz, H-6b), 3.51 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, H-4), 3.48-3.34 (3H, m, H-2, H-5, H-1'b), 3.22-3.10 (2H, m, H-6'a, H-6'b), 2.98 (1H, br-s, OH), 1.62-1.33 (6H, m, H-2', H-3', H-4'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, 323 K, CDCl_3) δ 156.5, 154.6, 137.2, 136.7, 129.2, 128.5, 128.3, 128.0 \times 2, 126.3, 101.8, 101.2, 95.6, 81.6, 74.7, 70.9, 69.8, 68.7, 66.7, 66.2, 59.0, 41.0, 29.4, 28.9, 23.0; HRMS (ESI-TOF) m/z 661.1510 (661.1486 calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_9\text{Cl}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$).

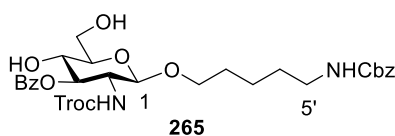
Compound **S19**



To a solution of **366** (423 mg, 0.639 mmol) in pyridine (12.8 mL) was added benzoyl chloride (149 μ L, 1.28 mmol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 1 h at the same temperature, the reaction was quenched by addition of H₂O (20 mL). To the resultant mixture was added EtOAc (20 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with EtOAc (20 mL \times 2), and then the combined extracts were washed brine (20 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (14/1 CHCl₃/acetone) gave **S19** (475 mg, 0.620 mmol, 97% yield).

Data for **S19**: White solid; *R_f* 0.67 (10/1 CHCl₃/acetone); $[\alpha]_D^{29} -43.2^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.04 (2H, br-d, *J* = 7.0 Hz, Ar-H), 7.56 (1H, m, Ar-H), 7.45-7.28 (12H, m, Ar-H), 5.69 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, NH), 5.63 (1H, dd, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, *J*_{3,4} = 10.0 Hz, H-3), 5.52 (1H, s, PhCH), 5.13 and 5.09 (2H, ABq, *J* = 12.5 Hz, ArCH₂), 4.82 (1H, br-s, NH), 4.69 and 4.56 (2H, ABq, *J* = 12.5 Hz, OCH₂CCl₃), 4.56 (1H, d, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, H-1), 4.37 (1H, dd, *J*_{5,6a} = 10.0 Hz, *J*_{6a,6b} = 4.5 Hz, H-6a), 3.93 (1H, dd, *J*_{1,2} = 8.0 Hz, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, H-2), 3.88-3.79 (3H, m, H-1'a, H-4, H-6b), 3.61 (1H, m, H-5), 3.44 (1H, m, H-1'b), 3.22-3.13 (2H, m, H-5'), 1.63-1.43 (4H, m, H-2', H-4'), 1.37 (2H, m, H-3'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 166.6, 156.4, 154.6, 136.9, 136.6, 133.5, 130.0, 129.1, 128.9, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1 \times 2, 125.9, 102.1, 101.2, 95.5, 79.1, 74.3, 72.2, 69.9, 68.6, 66.6, 66.1, 56.6, 40.8, 29.4, 28.8, 23.0; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 765.1714 (765.1749 calcd for C₃₆H₄₀N₂O₁₀Cl₃ [M+H]⁺).

Compound **265**

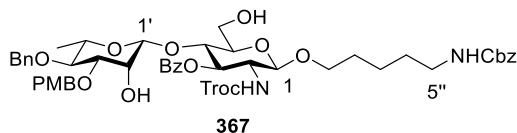


To a solution of **S19** (471 mg, 0.614 mmol) in dry CH₂Cl₂/MeOH (1/2, v/v, 8.78 mL) was added *p*-TsOH (11.7 mg, 61.4 μ mol) at room temperature under Ar atmosphere. After stirring for 5 h at reflux, the reaction mixture was neutralized with Et₃N, and then concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (2/1 PhMe/acetone) gave **265** (390 mg, 0.575 mmol, 94% yield).

Data for **265**: White solid; *R_f* 0.36 (2/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{29} +8.0^\circ$ (*c* 1.0, CHCl₃); mp 60-62 $^\circ$ C; ¹H-NMR (500 MHz, 323 K, CDCl₃) δ 8.06-8.02 (2H, m, Ar-H), 7.54 (1H, m, Ar-H), 7.41-7.37 (2H, m, Ar-H), 7.35-7.26 (5H, m, Ar-H), 5.71 (1H, d, *J* = 1.0 Hz, NH), 5.36 (1H, dd, *J*_{2,3} = 10.0 Hz, *J*_{3,4} = 10.0 Hz, H-3), 5.08 (2H, s, ArCH₂), 4.87 (1H, br-s, NH), 4.64 and 4.56 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, OCH₂CCl₃), 4.58 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1), 3.97-3.78 (5H, m, H-2, H-4, H-5, H-6a, H-1'a), 3.55-3.48 (2H, m, H-6b, H-1'b), 3.43 (1H, br-s, OH), 3.15-3.09 (2H, m, H-5'), 2.55 (1H, br-s, OH), 1.66-1.34 (6H, m, H-2', H-3', H-4'); ¹³C-NMR (100 MHz, 323 K, CDCl₃) δ 167.4, 156.7,

154.6, 136.7, 133.5, 130.0, 129.3, 128.5×2, 128.0×2, 101.3, 95.5, 76.4, 75.7, 74.5, 69.9, 69.7, 66.7, 62.3, 56.3, 41.0, 29.4, 28.8, 23.0; HRMS (ESI-TOF) m/z 699.1271 (699.1255 calcd for $C_{29}H_{35}N_2O_{10}NaCl_3 [M+Na]^+$).

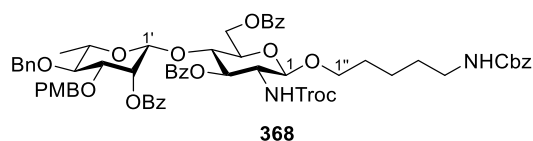
Compound **367**



To a solution of **265** (19.2 mg, 25.1 μ mol) and *p*-nitrophenylboronic acid (**247**) (0.83 mg, 4.97 μ mol) in dry THF (500 μ L) was added a solution of 1,2-anhydro donor **264** (13.4 mg, 37.6 μ mol) in dry THF (500 μ L) at 0 °C under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 1 h at the same temperature, the reaction was quenched by addition of 0.05 M $NaBO_3$ aq. (109 μ L). To the resultant mixture was added sat. NH_4Cl aq. (2 mL). The aqueous layer was extracted with EtOAc (2 mL×5), and then the combined extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (3/2 *n*-hexane/acetone) gave **367** (23.8 mg, 23.0 μ mol, 92% yield).

Data for **367**: Colorless syrup; R_f 0.52 (2/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{29} +11.6^\circ$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.02 (2H, br-d, $J = 7.2$ Hz, Ar-H), 7.62 (1H, m, Ar-H), 7.50-7.44 (2H, m, Ar-H), 7.38-7.22 (10H, m, Ar-H), 7.05-7.01 (2H, m, Ar-H), 6.76-6.71 (2H, m, Ar-H), 5.50 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.4$ Hz, $J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 5.43 (1H, br-d, $J = 10.0$ Hz, NH), 5.11 and 5.09 (2H, ABq, $J = 12.4$ Hz, $ArCH_2$), 4.87 (1H, br-s, NH), 4.81 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, $ArCH_2$), 4.69 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, OCH_2CCl_3), 4.58-4.51 (3H, m, H-1, $PhCH_2$, OCH_2CCl_3), 4.48 (1H, br-s, H-1'), 4.31 and 4.17 (2H, ABq, $J = 11.6$ Hz, $ArCH_2$), 4.06 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.6$ Hz, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 3.98 (1H, m, H-6a), 3.93-3.80 (3H, m, H-2, H-6b, H-1''a), 3.78 (3H, s, OCH_3), 3.72 (1H, br-d, $J_{2,3} = 3.2$ Hz, H-2'), 3.55-3.46 (2H, m, H-5, H-1''b), 3.38 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, $J_{4',5'} = 9.2$ Hz, H-4'), 3.27 (1H, m, H-5'), 3.22-3.14 (2H, m, H-5''), 3.10 (1H, dd, $J_{2',3'} = 3.2$ Hz, $J_{3',4'} = 9.2$ Hz, H-3'), 3.07 (1H, br-s, OH), 2.28 (1H, br-s, OH), 1.65-1.33 (6H, m, H-2'', H-3'', H-4''), 1.33 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.0$ Hz, H-6'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 165.9, 159.3, 156.5, 154.3, 137.9, 136.6, 133.8, 129.6, 129.4, 129.0, 128.8, 128.5, 128.4, 128.1, 128.0, 127.9, 113.8, 101.1 ($J_{CH} = 157$ Hz), 100.6 ($J_{CH} = 156$ Hz), 95.4, 80.8, 78.7, 76.1, 75.5, 74.9, 74.5, 74.2, 71.9, 70.7, 69.4, 67.8, 66.5, 62.0, 56.3, 55.2, 40.9, 29.4, 28.7, 23.0, 17.6; HRMS (ESI-TOF) m/z 1055.2899 (1055.2879 calcd for $C_{50}H_{59}N_2O_{15}NaCl_3 [M+Na]^+$).

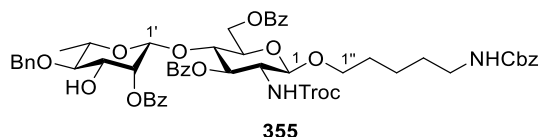
Compound **368**



To a solution of **367** (16.9 mg, 16.3 μmol) in pyridine (326 μL) was added benzoyl chloride (15.1 μL , 130 μmol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 10 h at the same temperature, the reaction was quenched by addition of H_2O (1 mL). To the resultant mixture was added EtOAc (1 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with EtOAc (1 mL \times 2), and then the combined extracts were washed brine (1 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (2/1 PhMe/acetone) gave **368** (19.6 mg, 15.8 μmol , 97% yield).

Data for **368**: White solid; R_f 0.44 (2/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{29} +41.8^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); mp 61-63 $^\circ\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8.10-8.01 (6H, m, Ar-H), 7.63-7.15 (19H, m, Ar-H), 7.04 (2H, br-d, $J = 8.8$ Hz, Ar-H), 6.70 (2H, br-d, $J = 8.8$ Hz, Ar-H), 5.54-5.43 (2H, m, H-2', NH), 5.40 (1H, dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, H-3), 5.13 and 5.08 (2H, ABq, $J = 12.4$ Hz, Ar CH_2), 4.83 (1H, br-s, NH), 4.76 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, Ar CH_2), 4.67 (1H, d, $J = 12.4$ Hz, OCH_2CCl_3), 4.65 (1H, br-s, H-1'), 4.59-4.50 (3H, m, H-6a, H-6b, OCH_2CCl_3), 4.49-4.40 (3H, m, H-1, Ar CH_2), 4.17 (1H, dd, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, H-4), 4.05 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, Ar CH_2), 3.90 (1H, m, H-2), 3.80 (1H, m, H-1''a), 3.74 (3H, s, OCH_3), 3.61 (1H, m, H-5), 3.45 (1H, m, H-1''b), 3.35-3.33 (2H, m, H-3', H-4'), 3.21 (1H, m, H-5'), 3.13 (2H, m, H-5''), 1.64-1.28 (6H, m, H-2'', H-3'', H-4''), 1.19 (3H, d, $J_{5',6'} = 5.6$ Hz, H-6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ 166.1, 165.9, 165.6, 159.1, 156.5, 154.5, 138.0, 133.7, 133.5, 133.0, 130.2, 130.1, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.5, 129.0, 128.8, 128.5, 128.4, 128.3, 128.1, 128.0, 127.8, 113.6, 101.2, 98.8, 95.4, 79.8, 79.4, 75.4, 75.1, 74.3, 73.7, 72.7, 71.9, 70.6, 69.4, 68.4, 66.5, 63.1, 56.2, 55.2, 40.9, 29.3, 28.7, 22.9, 17.7; HRMS (ESI-TOF) m/z 1263.3358 (1263.3403 calcd for $\text{C}_{64}\text{H}_{67}\text{N}_2\text{O}_{17}\text{NaCl}_3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Compound **355**

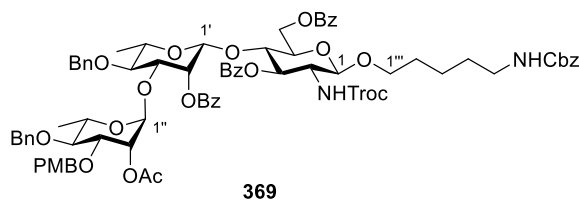


To a solution of **368** (25.4 mg, 20.4 μmol) in dry CH_2Cl_2 /HFIP (1/1, v/v, 510 μL) were added TESH (3.6 μL , 22.6 μmol) and 0.2 M HCl aq. in HFIP (102 μL , 20.4 μmol) at 0 $^\circ\text{C}$ under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 3 h at the same temperature, the reaction was quenched by addition of sat. NaHCO_3 aq. (1 mL). To the resultant mixture were added CH_2Cl_2

(2 mL) and H₂O (1 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (2 mL×2), and then the combined extracts were washed with brine (2 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (3/2 *n*-hexane/EtOAc) gave **355** (22.4 mg, 20.0 μmol, 98% yield).

Data for **355**: White solid; R_f 0.39 (1/1 *n*-hexane/EtOAc); [α]_D²⁹ +38.2° (*c* 1.0, CHCl₃); mp 75-77 °C; ¹H-NMR (400 MHz, 323 K, CDCl₃) δ 8.08-7.99 (6H, m, Ar-H), 7.61-7.13 (19H, m, Ar-H), 5.42-5.33 (2H, m, H-3, NH), 5.31 (1H, br-s, H-2), 5.11 and 5.07 (2H, ABq, *J* = 12.0 Hz, ArCH₂), 4.77-4.70 (2H, m, H-1', ArCH₂), 4.67-4.48 (5H, m, H-6a, H-6b, ArCH₂, OCH₂CCl₃), 4.46 (1H, d, *J*_{1,2} = 7.5 Hz, H-1), 4.16 (1H, dd, *J*_{3,4} = 9.0 Hz, *J*_{4,5} = 9.0 Hz, H-4), 3.87 (1H, m, H-2), 3.78 (1H, m, H-1''a), 3.63 (1H, m, H-5), 3.58 (1H, m, H-3'), 3.44 (1H, m, H-1''b), 3.32-3.21 (2H, m, H-4', 5'), 3.14-3.07 (2H, m, H-5''), 2.15 (1H, br-s, OH), 1.59-1.48 (2H, m, H-2''), 1.47-1.39 (2H, m, H-4''), 1.34-1.28 (2H, m, H-3''), 1.25 (3H, d, *J*_{5',6'} = 6.0 Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, 323 K, CDCl₃) δ 166.7, 166.1, 156.5, 154.5, 138.1, 136.9, 133.7, 133.2, 132.9, 130.4, 130.0, 129.8, 129.7×2, 129.2, 128.7, 128.5×2, 128.3, 128.0×2, 127.9, 101.2, 98.2, 95.5, 81.3, 75.3, 74.5, 73.4, 73.1, 73.0, 72.6, 72.0, 69.4, 66.6, 63.4, 56.5, 41.0, 29.4, 28.8, 23.0, 17.8; HRMS (ESI-TOF) *m/z* 1159.2512 (1159.2567 calcd for C₅₆H₅₉N₂O₁₆Cl₃K [M+K]⁺).

Compound **369**



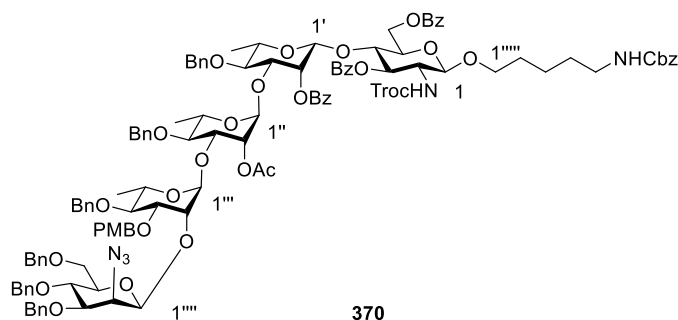
To a solution of **355** (10.2 mg, 18.2 μmol) and **354** (13.6 mg, 12.1 μmol) in dry CH₂Cl₂ (242 μL) was added MS4A (10.2 mg) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred vigorously for 1 h, TfOH (0.21 μL, 2.37 μmol) was added to the reaction mixture at -20 °C. After the reaction mixture was stirred for 2 h at the same temperature, the reaction mixture was filtered through celite pad, and the filtrate was concentrated in *vacuo*. The residue was diluted with CHCl₃ (1 mL), and then the solution was washed with sat. NaHCO₃ aq. (1 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with CHCl₃ (1 mL×2). The combined extracts were washed with brine (1 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (8/1 PhMe/acetone) gave **369** (14.1 mg, 9.27 μmol, 77% yield).

Data for **369**: Colorless syrup; R_f 0.45 (8/1 PhMe/acetone); [α]_D²⁹ +35.0° (*c* 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.16-7.98, (6H, m, Ar-H), 7.62-7.20 (24H, m, Ar-H), 7.08-7.02 (2H, br-d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 6.72-6.66 (2H, br-d, *J* = 8.5 Hz, Ar-H), 5.63 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, NH),

H-4''), 3.17-3.08 (2H, m, H-5'''), 2.03 (3H, s, C(O)CH₃), 1.91 (1H, d, $J = 4.4$ Hz, OH), 1.56-1.48 (2H, m, H-2'''), 1.47-1.37 (2H, m, H-4'''), 1.35-1.25 (2H, m, H-3'''), 1.20 (3H, d, $J_{5',6'} = 6.4$ Hz, H-6'), 1.09 (3H, d, $J_{5'',6''} = 6.4$ Hz, H-6''); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.2, 166.0, 165.9, 165.3, 156.4, 154.4, 138.5, 137.6, 136.9, 133.6, 133.0, 132.9, 130.3, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 129.2, 128.7, 128.4 \times 2, 128.3, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.6, 101.1, 99.3, 98.3, 95.4, 81.0, 80.6, 78.1, 75.6, 75.0, 74.5, 73.3, 73.1, 73.0, 72.5, 72.0, 71.5, 69.3, 69.0, 68.0, 66.5, 63.3, 56.4, 41.0, 29.3, 28.8, 23.0, 20.7, 17.7, 17.6; HRMS (ESI-TOF) m/z 1421.3936 (1421.3982 calcd for C₇₁H₇₇N₂O₂₁NaCl₃ [M+Na]⁺).

Synthesis of pentasaccharide **266**

Compound **370**

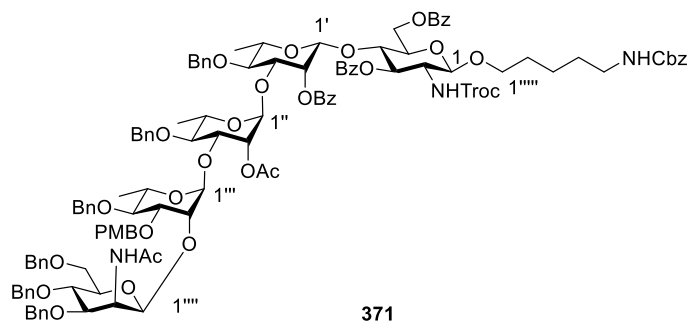


To a solution of **350 β** (19.7 mg, 19.6 μ mol) and **351** (18.4 mg, 13.1 μ mol) in dry PhMe (262 μ L) was added MS4A (19.7 mg) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred vigorously for 1 h, TfOH (0.35 μ L, 3.96 μ mol) was added to the reaction mixture at -40 °C. After the reaction mixture was stirred for 2 h at the same temperature, the reaction mixture was filtered through celite pad, and the filtrate was concentrated in *vacuo*. The residue was diluted with EtOAc (1 mL) and then the solution was washed with sat. NaHCO₃ aq. (1 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with EtOAc (1 mL \times 2). The combined extracts were washed brine (3 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (8/1 PhMe/acetone) gave **370** (23.3 mg, 10.5 μ mol, 80% yield).

Data for **370**: Colorless syrup; R_f 0.52 (8/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{29} -3.6^\circ$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.07-7.97 (6H, m, ArH), 7.60-7.05 (46H, m, Ar-H), 6.79-6.72 (2H, br-d, $J = 8.8$ Hz, Ar-H), 5.48-5.33 (3H, m, NH, H-2', H-3), 5.14-5.04 (3H, m, H-2'', ArCH₂), 4.99 (1H, br-s, H-1'''), 4.85-4.74 (5H, m, H-1'', ArCH₂, NH), 4.70-4.40 (14H, m, H-1', H-1'''''), H-6a, H-6b, ArCH₂, OCH₂CCl₃), 4.37 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1), 4.34 and 4.21 (2H, ABq, $J = 11.6$ Hz, ArCH₂), 4.28 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, ArCH₂), 4.17 (1H, dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 8.8$ Hz, H-4), 4.00-3.94 (2H, m, H-2''''', H-3'''), 3.91 (1H, br-s, H-2'''), 3.87 (1H, m, H-2), 3.80-3.62 (7H, m, H-3''', H-4''''', H-5'',

H-1''''a, OCH_3), 3.60-3.46 (4H, m, H-3', H-5, H-5''', H-6''''a), 3.45-3.26 (6H, m, H-3''''', H-4', H-4'', H-4''', H-6''''b, H-1''''b), 3.20 (1H, m, H-5'), 3.16-3.07 (3H, m, H-5''''', H-5''''a, H-5''''b), 2.02 (3H, s, $C(O)CH_3$), 1.56-1.46 (2H, m, H-2''''a, H-2''''b), 1.44-1.40 (2H, m, H-4''''a, H-4''''b), 1.35-1.26 (2H, m, H-3''''a, H-3''''b), 1.18 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6'), 1.02 (6H, m, H-6'', H-6'''); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 169.8, 165.9 $\times 2$, 165.5, 159.1, 156.4, 154.4, 138.4 $\times 2$, 138.0, 137.5 $\times 2$, 136.6, 133.7, 133.0, 132.9, 130.3, 130.1, 129.8, 129.7, 129.5, 129.0, 128.9, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3 $\times 2$, 128.2 $\times 2$, 128.0, 127.9, 127.8 $\times 2$, 127.7, 127.5 $\times 2$, 127.4 $\times 2$, 113.8, 101.0 $\times 2$ ($J_{CH} = 174$ Hz, $J_{CH} = 161$ Hz), 100.7 ($J_{CH} = 161$ Hz), 98.9 ($J_{CH} = 174$ Hz), 98.0 ($J_{CH} = 161$ Hz), 95.3, 80.4, 80.1, 80.0, 79.5, 79.4, 78.9, 75.8, 75.7, 75.4, 75.1, 75.0, 74.9, 74.2, 74.0, 73.1, 72.7, 72.4, 72.4, 72.2, 71.7, 71.4, 69.3, 68.6, 68.4, 66.4, 63.0, 61.4, 56.1, 55.0, 40.8, 29.2, 28.6, 22.8, 20.9, 17.6, 17.5; HRMS (ESI-TOF) m/z 2250.7346 (2250.7341 calcd for $C_{119}H_{128}N_5O_{30}Cl_3K$ $[M+K]^+$).

Compound **371**



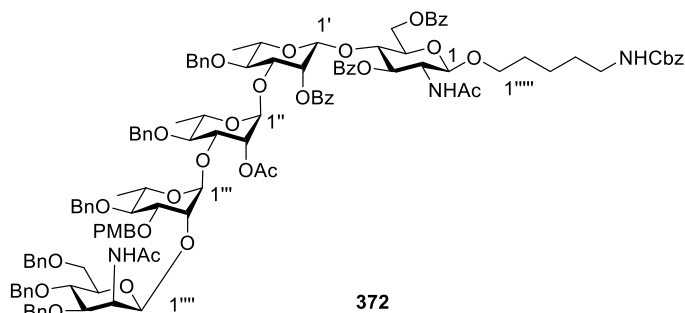
To a solution of **370** (21.7 mg, 9.80 μ mol) in THF (163 μ L) was added PPh_3 (3.3 mg, 12.6 μ mol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 8 h at 40 $^{\circ}C$, H_2O (2.1 μ L, 11.7 μ mol) was added to the reaction mixture. After the reaction mixture was refluxed for 9 h, the reaction mixture was concentrated in *vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the above residue in $CH_2Cl_2/MeOH$ (1/1, v/v, 980 μ L) was added Ac_2O (9.3 μ L, 98.4 μ mol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 2 h at the same temperature, the reaction was quenched by addition of $NaHCO_3$ aq. (1 mL). To the resultant mixture was added $CHCl_3$ (1 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with $CHCl_3$ (1 mL $\times 2$), and then the combined extracts were washed with brine (1 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (6/1 PhMe/acetone) gave **371** (19.2 mg, 8.61 μ mol, 88% yield).

Data for **371**: Colorless syrup; R_f 0.55 (5/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{29} +7.20^{\circ}$ (c 1.0, $CHCl_3$); 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.10-7.96 (6H, m, Ar-H), 7.60-7.08 (46H, m, Ar-H), 6.73 (2H, br-d, $J = 8.0$ Hz, Ar-H), 5.68 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, NH), 5.48-5.30 (3H, m, H-2', H-3, NH), 5.18-5.02 (3H,

m, H-2'', ArCH₂), 4.90 (1H, br-s, H-1'''), 4.87-4.27 (23H, m, H-1, H-6a, H-6b, H-1', H-1'', H-1''', H-2'''), NH, ArCH₂, OCH₂CCl₃), 4.23-4.12 (2H, m, H-4, ArCH₂), 3.95 (1H, m, H-3''), 3.87 (1H, m, H-2), 3.82 (1H, br-s, H-2'''), 3.79-3.70 (2H, m, H-5'', H-1''''a), 3.69-3.34 (14H, m, H-5, H-3', H-4', H-3''', H-4''', H-5''', H-3''''a, H-5''''a, H-6''''a, H-6''''b, H-1''''b, OCH₃), 3.31 (1H, dd, *J* = 9.6 Hz, *J* = 9.6 Hz, H-4''), 3.26-3.15 (2H, m, H-4''', H-5'), 3.15-3.05 (2H, m, H-5''''a, H-5''''b), 2.03 (3H, s, C(O)CH₃), 1.83 (3H, s, C(O)CH₃), 1.58-1.47 (2H, m, H-2''''a, H-2''''b), 1.47-1.36 (2H, m, H-4''''a, H-4''''b), 1.35-1.23 (2H, m, H-3''''a, H-3''''b), 1.17 (3H, d, *J* = 5.6 Hz, H-6'), 1.03 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-6''), 0.98 (3H, d, *J* = 5.6 Hz, H-6'''); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.7, 169.8, 166.0, 165.9, 165.4, 159.1, 156.4, 154.4, 138.7, 138.6, 138.2, 137.9×2, 137.5, 136.7, 133.7, 133.0, 132.9, 130.3, 130.1, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.0, 128.9, 128.7, 128.5, 128.3×2, 128.2, 128.0×2, 127.9, 127.8, 127.6, 127.5, 127.4, 127.3, 113.8, 101.0, 100.9, 99.9, 99.0, 98.1, 95.3, 80.2, 80.1, 80.0, 79.7, 79.5, 78.9, 77.2, 76.0, 75.7, 75.2, 74.9, 74.6, 74.2, 74.1, 73.6, 73.2, 72.8, 72.4×2, 72.3, 71.8, 71.5, 71.4, 69.4, 68.9, 68.6, 68.4, 66.5, 63.1, 56.2, 55.1, 49.3, 40.8, 29.3, 28.6, 23.4, 22.9, 20.9, 17.7, 17.6, 17.5, HRMS (ESI-TOF) *m/z* 2250.7803 (2250.7803 calcd for C₁₂₁H₁₃₂N₃O₃₁NaCl₃ [M+Na]⁺).

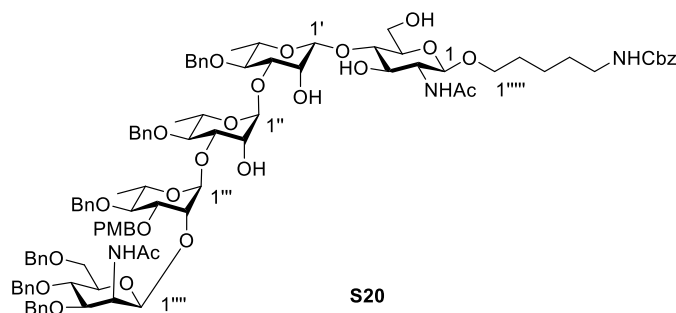
Compound **372**



To a solution of **371** (24.1 mg, 10.8 μmol) in AcOH/1,4-dioxane (1/1, v/v, 1.08 mL) were added Ac₂O (20.4 μL, 216 μmol) and Zn-Cu (241 mg) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 2 h at the same temperature, the reaction mixture was filtered through celite pad, and to the filtrate was added NaHCO₃ aq. (2 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with EtOAc (2 mL×2), and then the combined extracts were washed with brine (2 mL) dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (6/1 PhMe/acetone) gave **29** (18.2 mg, 8.68 μmol, 80% yield). Data for **372**: Colorless syrup; R_f 0.55 (8/1 PhMe/acetone); [α]_D²⁹ +8.8° (*c* 1.1, CHCl₃); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08-7.96 (6H, m, Ar-H), 7.59-7.08 (46H, m, Ar-H), 6.73 (2H, br-d, *J* = 8.8 Hz, Ar-H), 5.99 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, NH), 5.69 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, NH), 5.41 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 5.35 (1H, dd, *J* = 8.0 Hz, *J* = 8.0 Hz, H-3), 5.13 (1H, br-s, H-2''), 5.08 (2H, s, ArCH₂), 4.94 (1H, m, NH), 4.90 (1H, br-s, H-1'''), 4.87-4.70 (7H, m, H-1', H-1'', H-2'''), ArCH₂), 4.66

(1H, d, $J = 11.6$ Hz, ArCH₂), 4.60-4.52 (3H, m, H-1''''', ArCH₂), 4.52-4.28 (9H, m, H-1, H-6a, H-6b, ArCH₂, OCH₂CCl₃), 4.28-4.18 (2H, m, H-2, ArCH₂), 4.16 (1H, dd, $J = 8.0$ Hz, $J = 8.0$ Hz, H-4), 3.95 (1H, dd, $J = 3.2$ Hz, $J = 9.2$ Hz, H-3''), 3.81 (1H, br-s, H-2'''), 3.80-3.17 (19H, m, H-5, H-3', H-4', H-5', H-4'', H-5'', H-3''', H-4''', H-5''', H-3''''', H-4''''', H-5''''', H-6''''a, H-6''''b, H-1''''a, H-1''''b, OCH₃), 3.16-3.03 (2H, m, H-5'''''), 2.04 (3H, s, C(O)CH₃), 1.90 (3H, s, C(O)CH₃), 1.82 (3H, s, C(O)CH₃), 1.56-1.47 (2H, m, H-2'''''), 1.46-1.38 (2H, m, H-4'''''), 1.35-1.27 (2H, m, H-3'''''), 1.17 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6'), 1.04 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6''), 1.00 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6'''); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 170.9, 170.2, 169.8, 166.1, 166.0, 165.8, 159.1, 156.4, 138.7, 138.5, 138.2, 137.9 \times 2, 137.4, 136.7, 133.7, 133.1, 132.9, 130.3, 130.0, 129.9, 129.8, 129.6 \times 2, 129.0, 128.9, 128.7, 128.5, 128.4 \times 2, 128.3 \times 3, 128.2, 127.9 \times 2, 127.8 \times 2, 127.6, 127.5, 127.4, 127.3, 113.8, 101.0, 99.9, 99.2, 98.1, 80.1, 80.0, 79.7, 79.5, 79.4, 76.1, 75.7, 75.2, 74.9, 74.6, 74.3, 74.2, 73.5, 73.2, 73.0, 72.4, 72.3, 72.1, 71.8, 71.7, 71.4, 69.0 \times 2, 68.7, 68.5, 66.4, 63.3, 55.1, 52.8, 49.3, 40.9, 29.3, 28.7, 23.4, 23.1 \times 2, 20.9, 17.7, 17.6 \times 2; HRMS (ESI-TOF) m/z 2096.9031 (2096.9047 calcd for C₁₂₀H₁₃₄N₃O₃₀Na [M+H]⁺).

Compound **S20**

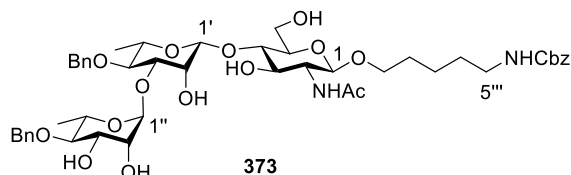


To a solution of **372** (26.3 mg, 12.5 μ mol) in THF/MeOH (1/3, v/v, 1.25 mL) was added 28% NaOMe solution in MeOH (50 μ L, 250 μ mol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 24 h at the same temperature, the reaction mixture was neutralized with 1 N HCl aq. To the resultant mixture were added EtOAc (2 mL) and H₂O (2 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with EtOAc (2 mL \times 4), and then the combined extracts were washed brine (2 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (1/1 PhMe/acetone) gave **S20** (18.4 mg, 10.6 μ mol, 84% yield).

Data for **S20**: Colorless syrup; R_f 0.58 (1/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{29} -29.5^\circ$ (c 1.0, CHCl₃); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.14 (37H, m, Ar-H), 6.77-6.74 (2H, m, Ar-H), 6.18 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, NH), 6.03 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, NH), 5.21-5.13 (2H, m, H-1''', OH), 5.07 (2H, s, ArCH₂), 5.01 (1H, br-s, H-1''), 4.97 (1H, m, NH), 4.91-4.83 (3H, m, H-1', H-2'''), ArCH₂), 4.83-4.58 (6H, m, ArCH₂), 4.57-4.51 (3H, m, H-1''''', ArCH₂), 4.47-4.31 (6H, m, H-1, ArCH₂), 4.14 (1H, br-s,

Synthesis of trisaccharide **348** and disaccharide **349**

Compound **373**



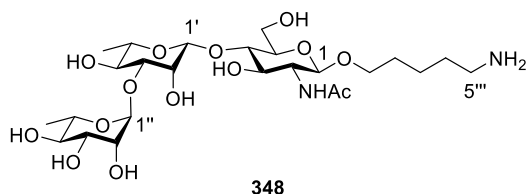
To a solution of **351** (37.4 mg, 26.7 μmol) in AcOH/1,4-dioxane (1/1, v/v, 2.68 mL) were added Ac₂O (75.7 μL , 0.801 mmol) and Zn-Cu (374 mg) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 2 h at the same temperature, the reaction mixture was filtered through celite pad, and to the filtrate was added sat. NaHCO₃ aq. (5 mL). To the resultant mixture was added EtOAc (5 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with EtOAc (5 mL \times 2), and then the combined extracts were washed with brine (5 mL) dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

The above residue was diluted with THF/MeOH (1/3, v/v, 2.67 mL), and then to the resulting mixture was added 28% NaOMe solution in MeOH (107 μL , 0.535 mmol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 24 h at the same temperature, the reaction mixture was neutralized with 1 N HCl aq. To the resulting mixture were added EtOAc (5 mL) and H₂O (5 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with EtOAc (5 mL \times 2), and then the combined extracts were washed with sat. NaHCO₃ aq. (5 mL) and brine (5 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by silica gel column chromatography (15/1 CHCl₃/MeOH) gave **373** (16.8 mg, 18.4 μmol , 69% yield in 2 steps).

Data for **373**: Colorless syrup; R_f 0.52 (6/1 CHCl₃/MeOH); $[\alpha]_D^{26} -17.9^\circ$ (c 0.76, MeOH); ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.40-7.23 (15H, m, Ar-H), 5.05 (2H, s, PhCH₂), 4.94 (1H, br-s, H-1''), 4.89 and 4.63 (2H, ABq, $J = 10.8$ Hz, ArCH₂), 4.81 (1H, br-s, H-1'), 4.79 and 4.60 (2H, ABq, $J = 11.2$ Hz, ArCH₂), 4.37 (1H, m, H-2), 4.06 (1H, br-d, $J = 2.8$ Hz, H-2'), 4.01-3.82 (5H, m, H-6a, H-2'', H-3'', H-5'', H-1'''a), 3.72 (1H, dd, $J = 5.2$ Hz, $J = 12.4$ Hz, H-6b), 3.65-3.57 (3H, m, H-1, H-3, H-3'), 3.54-3.30 (6H, m, H-4, H-5, H-4', H-5', H-4'', H-1'''b), 3.09 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-5'''), 1.95 (3H, s, C(O)CH₃), 1.60-1.43 (4H, m, H-2''', H-4'''), 1.40-1.32 (2H, m, H-3'''), 1.27 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6''), 1.23 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 173.7, 158.9, 140.2, 139.6, 138.5, 129.4, 129.2 \times 3, 128.9, 128.8 \times 2, 128.6, 104.3, 102.6, 101.8, 83.4, 82.5, 80.8, 78.4, 76.5, 76.4, 76.0, 75.7, 73.1, 72.8, 72.7, 72.2, 70.4, 69.3, 67.3, 63.2, 57.8, 41.8, 30.5,

30.2, 24.3, 23.0, 18.3, 18.2; HRMS (ESI-TOF) m/z 913.4364 (913.4334 calcd for $C_{47}H_{65}N_2O_{16}$ $[M+H]^+$).

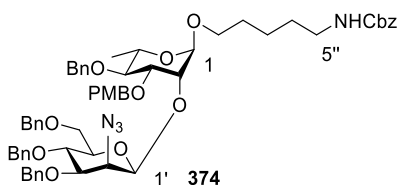
Compound **348**



A solution of **373** (8.23 mg, 9.01 μ mol) in dry MeOH (3.0 mL) was stirred under H_2 atmosphere (7 atm) in the presence of 20% $Pd(OH)_2/C$ (24.7 mg) in the autoclave at room temperature for 4 h. After restoring the atmospheric pressure to normal pressure, the resultant mixture was filtered through a disposable membrane filter (DISMIC-13cp), and then the filtrate was concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by reverse phase silica gel column chromatography (H_2O) gave **348** (3.18 mg, 5.31 μ mol, 59% yield).

Data for **348**: Colorless syrup; R_f 0.62 (1/1/2 *n*-butanol/MeOH/25% NH_3 aq.); $[\alpha]_D^{26} -41.0^\circ$ (c 0.20, H_2O); 1H -NMR (400 MHz, D_2O) δ 4.87 (1H, br-s, H-1''), 4.73 (1H, br-s, H-1'), 4.34 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-1), 3.98 (1H, br-s, H-2'), 3.90 (1H, br-s, H-2''), 3.81-3.64 (5H, m), 3.55-3.39 (5H, m), 3.38-3.22 (4H, m), 2.84-2.76 (2H, m), 1.87 (3H, s, C(O)CH₃), 1.55-1.38 (4H, m), 1.28-1.19 (2H, m), 1.16 (3H, d, $J = 5.6$ Hz, H-6''), 1.12 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, D_2O) δ 174.9, 102.7, 101.5, 100.8, 80.7, 77.1, 74.9, 74.0, 72.4, 72.3, 71.6, 70.9, 70.4 \times 2, 69.4, 61.1, 56.0, 39.7, 28.4, 27.0, 22.5, 17.0, 16.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 599.3019 (599.3022 calcd for $C_{25}H_{47}N_2O_{14}$ $[M+H]^+$).

Compound **374**

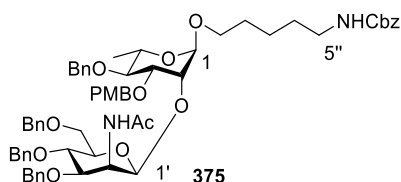


To a solution of **350 β** (42.5 mg, 42.4 μ mol) and **358** (6.70 mg, 28.2 μ mol) in dry THF (565 μ L) was added MS4A (42.5 mg) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred vigorously for 1 h, TfOH (1.27 μ L, 8.47 μ mol) was added to the reaction mixture at 0 $^\circ$ C. After the reaction mixture was stirred for 2 h at the same temperature, the reaction was quenched by addition of $NaHCO_3$ aq. (5 mL). To the resultant mixture was added EtOAc (5 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with EtOAc (5 mL \times 2), and then the combined extracts were washed brine (5 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and

concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (8/1 PhMe/acetone) gave **374** (16.3 mg, 15.5 μmol , 55% yield).

Data for **374**: Colorless syrup; R_f 0.48 (8/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{29} -35.0^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.16 (27H, m, Ar-H), 6.84-6.80 (2H, m, Ar-H), 5.08 (2H, s, ArCH₂), 4.90 and 4.65 (2H, ABq, $J = 10.4$ Hz, ArCH₂), 4.88 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-1'), 4.83 and 4.50 (2H, ABq, $J = 10.8$ Hz, ArCH₂), 4.74 (1H, br-s, NH), 4.67 and 4.52 (2H, ABq, $J = 11.6$ Hz, ArCH₂), 4.65 and 4.55 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.59 (1H, br-s, H-1), 4.58 and 4.53 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, ArCH₂), 4.09 (1H, br-d, $J = 2.8$ Hz, H-2), 4.00 (1H, br-s, H-2'), 3.84 (1H, dd, $J_{2,3'} = 3.2$ Hz, $J_{3',4'} = 9.6$ Hz, H-3'), 3.73 (3H, s, OCH₃), 3.72-3.55 (5H, m, H-4, H-5, H-5', H-6'a, H-1''a), 3.48 (1H, dd, $J_{3',4'} = 9.6$ Hz, $J_{4',5'} = 9.6$ Hz, H-4'), 3.43 (1H, dd, $J_{2,3} = 2.8$ Hz, $J_{3,4} = 9.2$ Hz, H-3), 3.35-3.26 (2H, m, H-6'b, H-1''b), 3.20-3.10 (2H, m, H-5''), 1.55-1.42 (4H, m, H-2'', H-4''), 1.34-1.25 (2H, m, H-3''), 1.30 (3H, d, $J_{5,6} = 6.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 159.3, 156.3, 138.5, 138.2, 138.0, 137.6, 136.6, 130.6, 129.3, 128.5 \times 2, 128.4 \times 2, 128.3, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8 \times 2, 127.7, 127.6, 113.9, 101.0 ($J_{\text{CH}} = 159$ Hz), 99.0 ($J_{\text{CH}} = 171$ Hz), 80.6, 80.4, 79.8, 76.4, 75.7, 75.5, 75.2, 74.2, 73.5, 72.4, 71.8, 69.3, 67.9, 67.1, 66.6, 61.4, 55.2, 40.9, 29.7, 29.1, 23.4, 17.9; HRMS (ESI-TOF) m/z 1073.4846 (1073.4888 calcd for $\text{C}_{61}\text{H}_{70}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Compound **375**

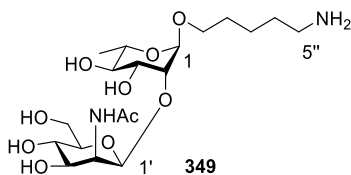


To a solution of **374** (58.2 mg, 55.4 μmol) in THF (923 μL) was added PPh_3 (43.6 mg, 166 μmol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 2 h at 40 $^\circ\text{C}$, H_2O (12.0 μL , 664 μmol) was added. After the reaction mixture was refluxed for 2 h, the reaction mixture was concentrated in *vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (1/1, v/v, 5.54 mL) was added Ac_2O (157 μL , 1.66 mmol) at room temperature under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 2 h at the same temperature, the reaction was quenched by addition of sat. NaHCO_3 aq. (10 mL). To the resultant mixture was added CHCl_3 (10 mL). After separation, the aqueous layer was extracted with CHCl_3 (10 mL \times 2), and then the combined extracts were washed with brine (10 mL) dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered and concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by preparative TLC (4/1 PhMe/acetone) gave **375** (48.1 mg, 45.1 μmol , 81% yield).

Data for **375**: Colorless syrup; R_f 0.38 (1/1 PhMe/acetone); $[\alpha]_D^{29} -20.0^\circ$ (c 1.0, CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.38-7.18 (27H, m, Ar-H), 6.82-6.79 (2H, m, Ar-H), 6.02 (1H, $J = 9.0$ Hz, NH), 5.08 (2H, s, ArCH_2), 4.89 and 4.61 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH_2), 4.86 (1H, dd, $J_{1,2'} = 1.5$ Hz, $J_{2,3'} = 4.0$ Hz, H-2'), 4.83 and 4.46 (2H, ABq, $J = 11.5$ Hz, ArCH_2), 4.80 (1H, br-s, H-1), 4.78 and 4.40 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH_2), 4.78 (1H, br-s, NH), 4.68 and 4.52 (2H, ABq, $J = 11.0$ Hz, ArCH_2), 4.61 (1H, d, $J_{1,2'} = 1.5$ Hz, H-1'), 4.53 and 4.49 (2H, ABq, $J = 12.0$ Hz, PhCH_2), 3.89 (1H, br-s, H-2), 3.80 (1H, dd, $J_{2,3} = 3.0$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 3.76-3.69 (2H, m, H-6'a, H-6'b), 3.70 (3H, s, OCH_3), 3.65-3.53 (4H, m, H-5, H-3', H-4', H-1''a), 3.45 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.5$ Hz, H-4), 3.42 (1H, m, H-5'), 3.27 (1H, m, H-1''b), 3.20-3.12 (2H, m, H-5''), 1.55-1.44 (4H, m, H-2'', H-4''), 1.36-1.27 (2H, m, H-3''), 1.25 (3H, d, $J_{5,6} = 6.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 170.8, 159.2, 156.3, 138.6, 138.2, 138.0 \times 2, 136.6, 130.5, 129.2, 128.5, 128.3 \times 2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.7, 127.6, 113.9, 100.4, 98.9, 80.3, 79.9, 79.8, 75.5, 74.9, 74.5, 73.8, 73.3, 72.5, 71.5, 69.2, 68.0, 67.1, 66.6, 55.2, 49.4, 40.9, 29.7, 29.1, 23.4 \times 2, 18.0; HRMS (ESI-TOF) m/z 1089.5095 (1089.5089 calcd for $\text{C}_{63}\text{H}_{74}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Compound **349**



A solution of **375** (7.90 mg, 7.40 μmol) in THF/MeOH (1/3, v/v, 1.85 mL) was stirred under H_2 atmosphere (7 atm) in the presence of 20% $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (23.7 mg) in the autoclave at room temperature for 3 h. After restoring the atmospheric pressure to normal pressure, the resultant mixture was filtered through a disposable membrane filter (DISMIC-13cp), and then the filtrate was concentrated in *vacuo*. Purification of the residue by reverse phase silica gel column chromatography (H_2O) gave **349** (3.00 mg, 6.63 μmol , 90% yield).

Data for **349**: Colorless syrup; R_f 0.61 (16/16/23 *n*-butanol/MeOH/25% NH_3 aq.); $[\alpha]_D^{29} -34.5^\circ$ (c 0.40, H_2O); $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, 333 K, D_2O) δ 5.20 (1H, br-s, H-1), 5.10 (1H, br-s, H-1'), 4.79 (1H, br-s, H-2'), 4.20 (1H, m, H-2), 4.11 (1H, dd, $J_{2,3'} = 2.8$ Hz, $J_{3,4'} = 12.0$ Hz, H-6'a), 4.08-4.00 (2H, m, H-3', H-6'b), 3.98 (1H, dd, $J_{2,3} = 4.0$ Hz, $J_{3,4} = 9.6$ Hz, H-3), 3.95-3.83 (2H, m, H-5', H-1''a), 3.82-3.74 (2H, m, H-4', H-1''b), 3.61 (1H, m, H-5), 3.55 (1H, dd, $J_{3,4} = 9.6$ Hz, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, H-4), 3.24 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5''), 1.98-1.82 (4H, m, H-2'', H-4''), 1.72-1.63 (2H, m, H-3''), 1.48 (3H, d, $J_{5,6} = 9.6$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, 333 K, D_2O) δ 176.4, 101.5, 99.6, 79.7, 77.0, 73.1, 72.5, 70.9, 69.4, 68.4, 67.6, 61.4, 54.0, 40.3, 28.8, 27.6, 23.2, 22.9, 17.5; HRMS (ESI-TOF) m/z 453.2454 (453.2448 calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_{10}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$).

Synthesis of glycoconjugates 267, 379, 381

Synthesis of glycoconjugate 267

To a solution of free amine **266** (3.3 mg, 3.5 μmol) in dry DMF (174 μL) were added linker **376**⁹⁹ (9.5 mg, 24 μmol) and Et₃N (4.9 μL , 35 μmol) under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 5 h when TLC indicated almost complete conversion of the free amine **266**, the reaction mixture was purified by a size exclusion chromatography (MeOH) to afford corresponding crude **377** (3.8 mg). The crude **377** were used for the next reaction without further purification.

To a solution of the crude **377** (3.8 mg) in DMF (30 μL) was added a solution of BSA in phosphate buffer (pH 7.5, 70 μM , 728 μL). After the reaction mixture was incubated for 18 h at 25 °C, the reaction mixture was diluted with deionized water and dialysed against 5 changes of deionized water (300 mL). Lyophilization of the solution gave white solid **267** (3.9 mg).

Synthesis of glycoconjugate 379

To a solution of free amine **348** (1.6 mg, 2.7 μmol) in dry DMF (267 μL) were added linker **376** (7.3 mg, 19 μmol) and Et₃N (3.7 μL , 27 μmol) under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 5 h when TLC indicated almost complete conversion of the free amine **348**, the reaction mixture was purified by a size exclusion chromatography (MeOH) to afford corresponding crude **378** (1.9 mg). The crude **378** were used for the next reaction without further purification.

To a solution of the crude **378** (1.9 mg) in DMF (21 μL) was added a solution of BSA in phosphate buffer (pH 7.5, 70 μM , 535 μL). After the reaction mixture was incubated for 18 h at 25 °C, the reaction mixture was diluted with deionized water and dialysed against 5 changes of deionized water (300 mL). Lyophilization of the solution gave white solid **379** (2.8 mg).

Synthesis of glycoconjugate 381

To a solution of free amine **349** (4.0 mg, 8.8 μmol) in dry DMF (220 μL) were added linker **376** (24 mg, 62 μmol) and Et₃N (12 μL , 86 μmol) under Ar atmosphere. After the reaction mixture was stirred for 5 h when TLC indicated almost complete conversion of the free amine **349**, the reaction mixture was purified by a size exclusion chromatography (MeOH) to afford corresponding crude **380** (3.9 mg). The crude **380** were used for the next reaction without further purification.

To a solution of the crude **380** (1.7 mg) in DMF (22 μL) was added a solution of BSA in phosphate buffer (pH 7.5, 70 μM , 560 μL). After the reaction mixture was incubated for 18 h at

25 °C, the reaction mixture was diluted with deionized water and dialysed against 5 changes of deionized water (300 mL). Lyophilization of the solution gave white solid **381** (2.4 mg).

MALDI-TOF MS analysis

The sample (1.0 µL) was mixed with a matrix solution (1.0 µL) of sinapinic acid (15 mg/mL in 50:50 H₂O/MeCN containing 0.1% TFA). Analyses by MALDI-TOF MS were performed in the positive ion mode.

Materials and experimental methods for biochemical assays

Bacteria culture and LPS extraction

Escherichia coli (*E. coli*) ATCC®11775TM was purchased from the American type culture collection (ATCC). *E. coli* LPS was extracted with hot phenol-water method. *E. coli* ATCC®11775TM was grown in Luria Broth (LB) medium (5 mL) at 37 °C for 18 h. After centrifugation, the supernatant was removed. The resulting pellet was resuspended in Tris-HCl buffer (pH 6.8, 0.1 M, 2 mL), and then suspended bacteria was boiled in a water bath for 15 min. To the resulting bacteria suspension were added DNase I (50 units) and RNase A (0.5 mg) at room temperature, and then the resulting mixture was incubated at 37 °C for 30 min. Next, to the suspension was added proteinase K (1.0 mg), and then the resulting mixture was incubated at 59 °C overnight. To the resulting mixture was added ice-cold tris-saturated phenol (2 mL), and the resulting mixture was vortexed for 10 seconds. And then, the mixture was incubated at 65 °C for 15 min. After incubating cool to room temperature, Et₂O (50 mL) was added to the resulting mixture, and the mixture was vortexed for 10 sec. After centrifugation, the sample was extracted again under the same conditions. After centrifugation, the aqueous phase was collected and dialyzed against 3 changes of deionized water (1 L) and lyophilized to get the purified LPS.

Preparation of APEC O1 immune chicken serum and non-immune chicken serum

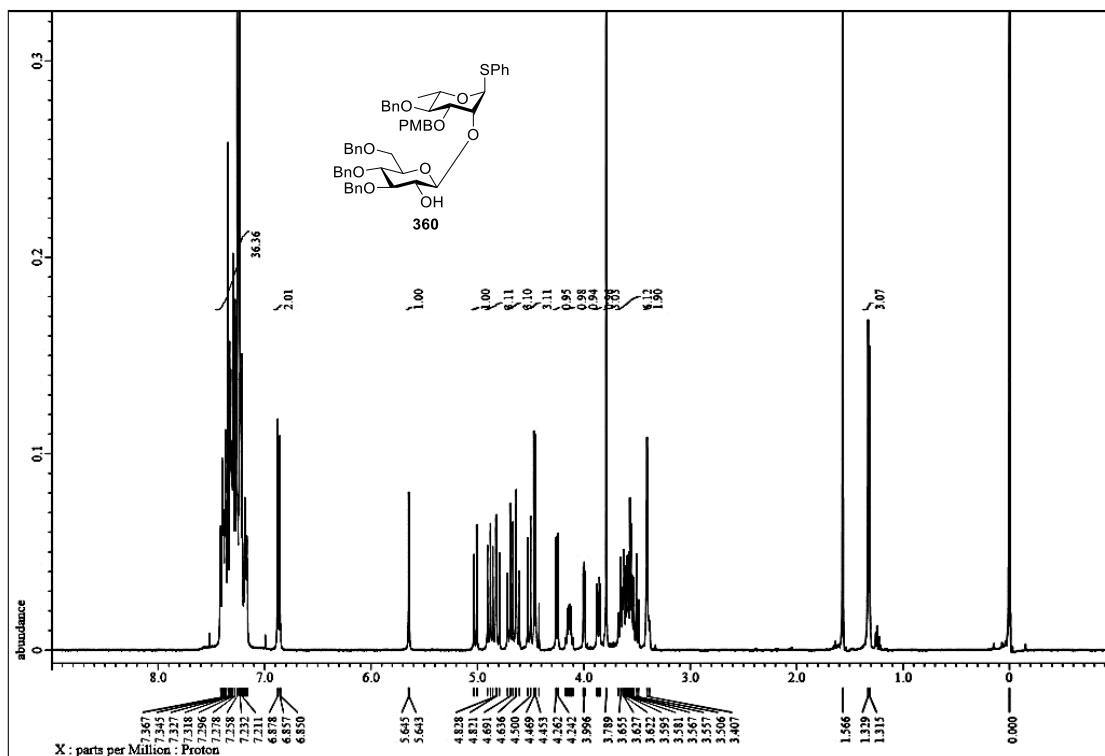
Animal experiments were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of Shokukanken Inc. (Approval Number: AW20Jan005H). Specific-pathogen-free (SPF) chicken eggs were purchased from VALO BioMedia GmbH, and the eggs were hatched. A 10-day-old SPF chicken was orally immunized with 10⁶ CFU of APEC O1 strain (ATCC®11775TM). The chicken was boosted using the same strain with same dose on 14 days after the initial immunization. The serum was collected on 28 days after the initial immunization, and serum IgY antibodies were tested with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Non-immune chicken serum was prepared by a 38-day-old SPF chicken, which was not immunized with APEC O1 strain.

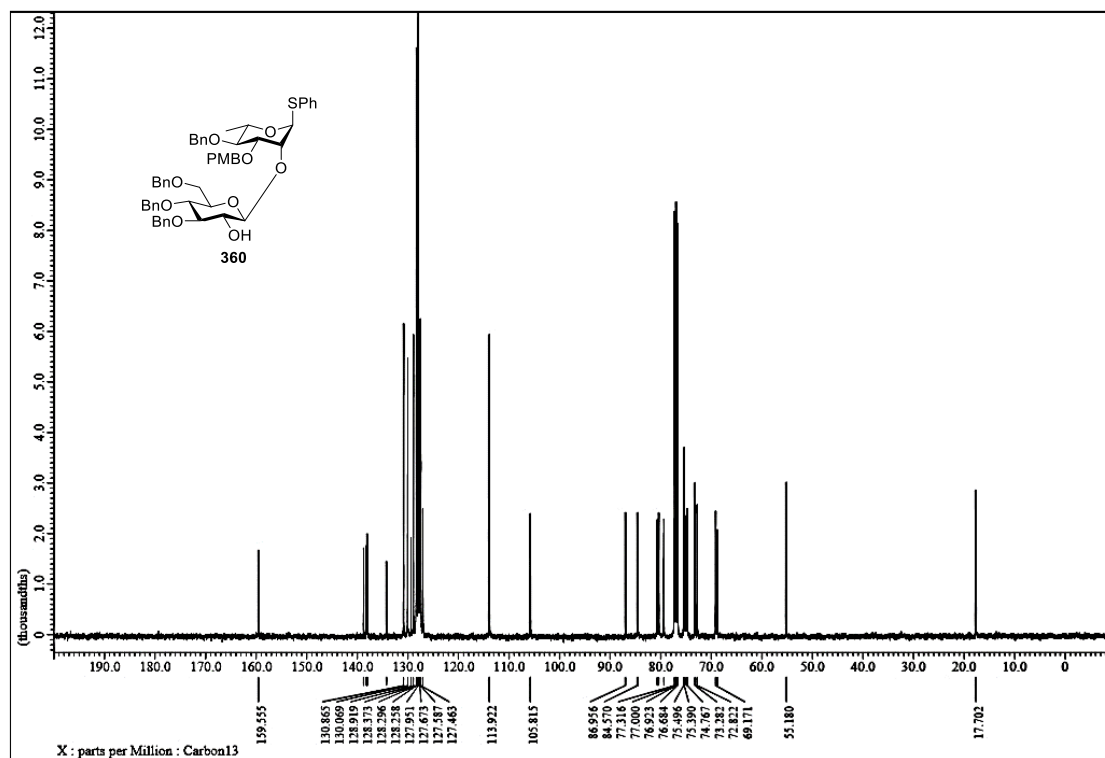
ELISA experiments

ELISA plates were treated with a solution of each glycoconjugate **267**, **379**, **381**, BSA and APEC O1 LPS (100 μL /well, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) in phosphate-buffered saline (PBS) buffer (pH 7.4, 10 mM) at 37 $^{\circ}\text{C}$ for 1 h. After coating, the wells were emptied and filled with 200 μL of PBS-containing 5% glucose and 2.5% defatted milk, and the plates were incubated at 37 $^{\circ}\text{C}$ for 1 h. And then, the wells were washed with PBS buffer that contained 0.05% Tween-20 (PBST) three times. Each chicken serum with serial dilutions from 1:2000 to 1:32000 in PBS-containing 1% BSA (100 μL /well) was added to the coated plates, which were incubated at 4 $^{\circ}\text{C}$ overnight. After being washed with PBST ($\times 3$) and PBS ($\times 3$), the plates were incubated at 37 $^{\circ}\text{C}$ for 1 h with a 1:5000 diluted solution of horseradish peroxidase (HRP)-linked goat anti-chicken IgY antibody (Southern Biotech. Associates). Again, the plates were washed six times and developed with *o*-phenylene diamine solution (0.4 mg/mL in 0.1% H_2O_2 -containing citrate-phosphate buffer, 100 μL) for 30 min at room temperature. After quenching with 5 N sulfuric acid (100 μL), the absorbance at 490 nm was determined by a microplate reader. The optical density (OD) values were absorbance of wells coated with glycoconjugate **267** deducting the background absorbance, which was obtained with wells coated with BSA.

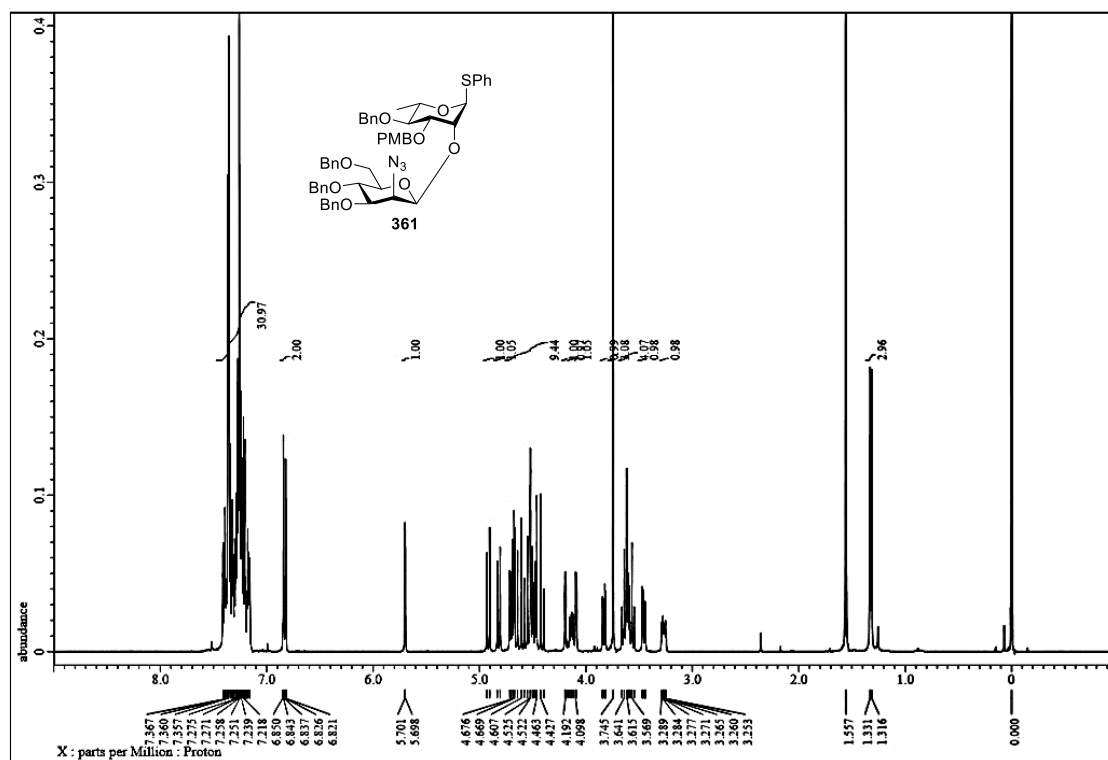
NMR Spectral Charts of Compounds in Chapter 3



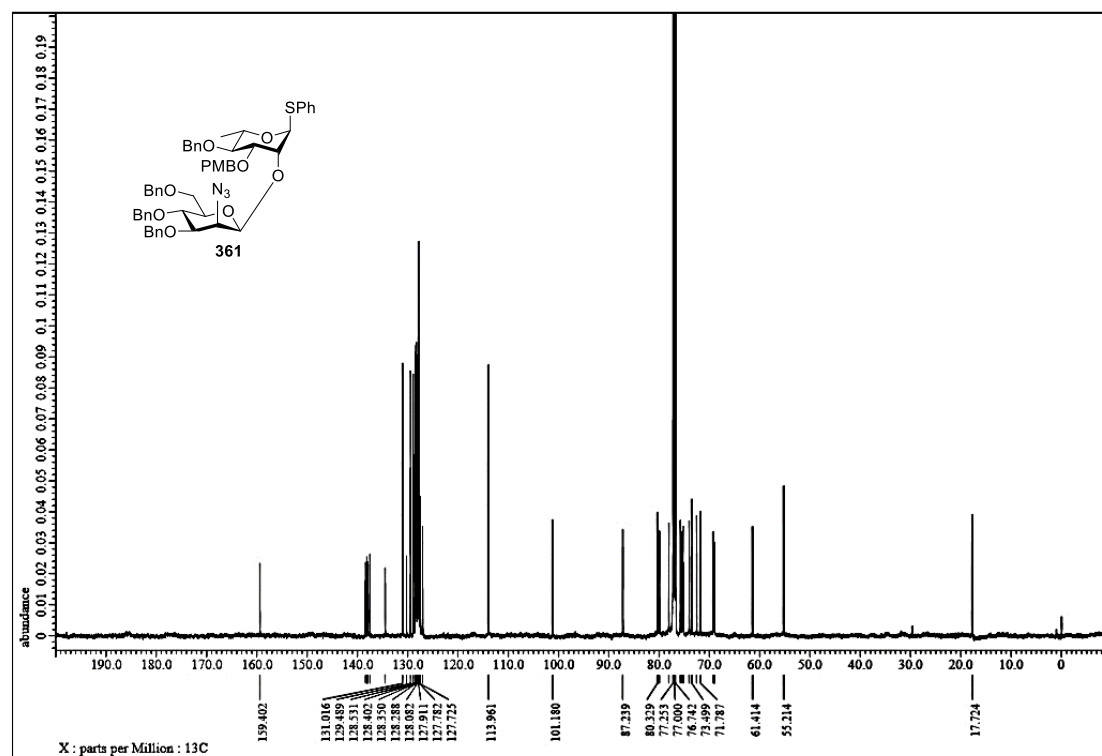
$^1\text{H-NMR}$ spectrum of **360**



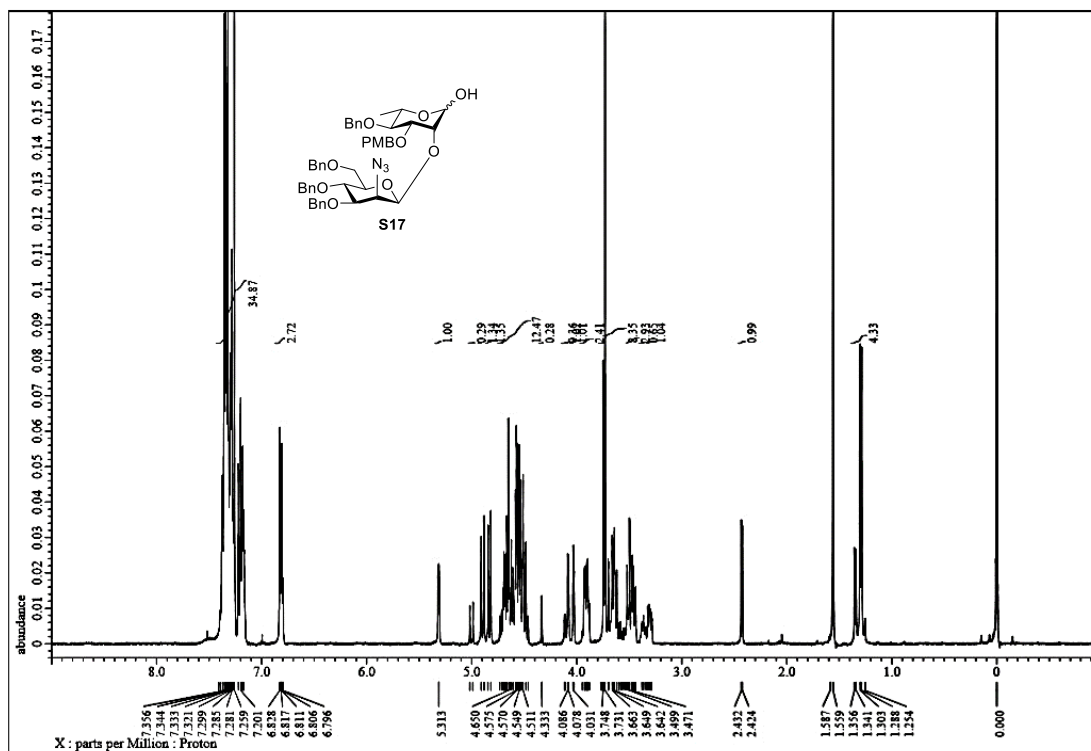
$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of **360**



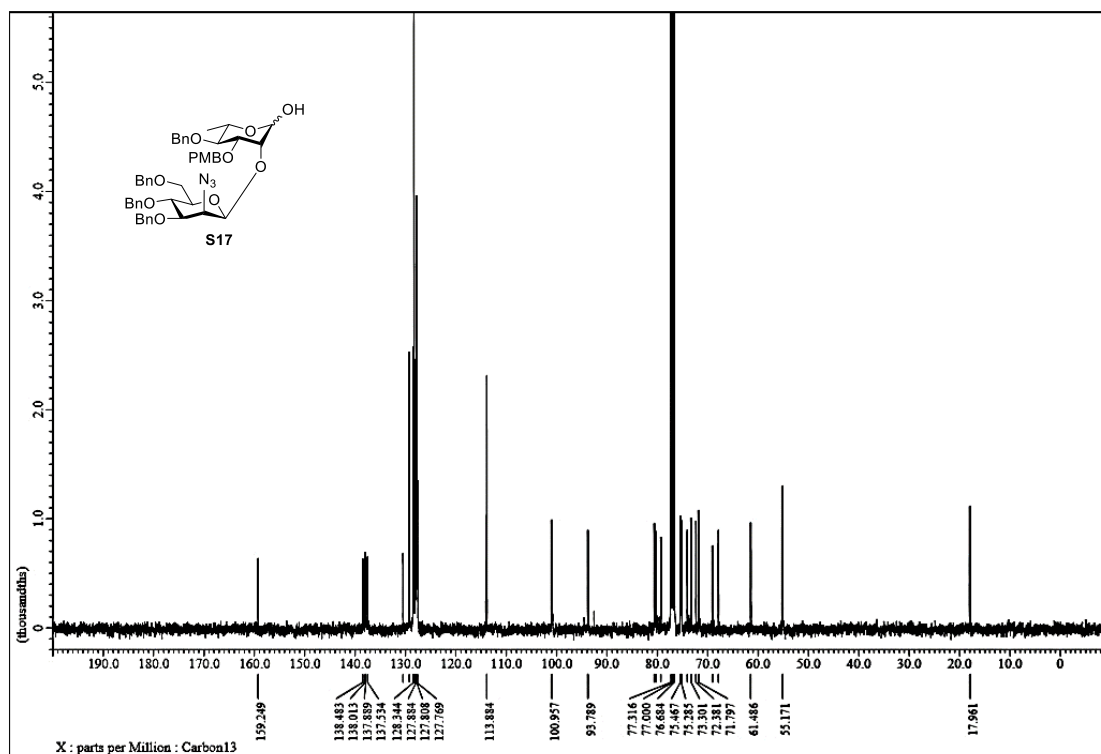
¹H-NMR spectrum of 361



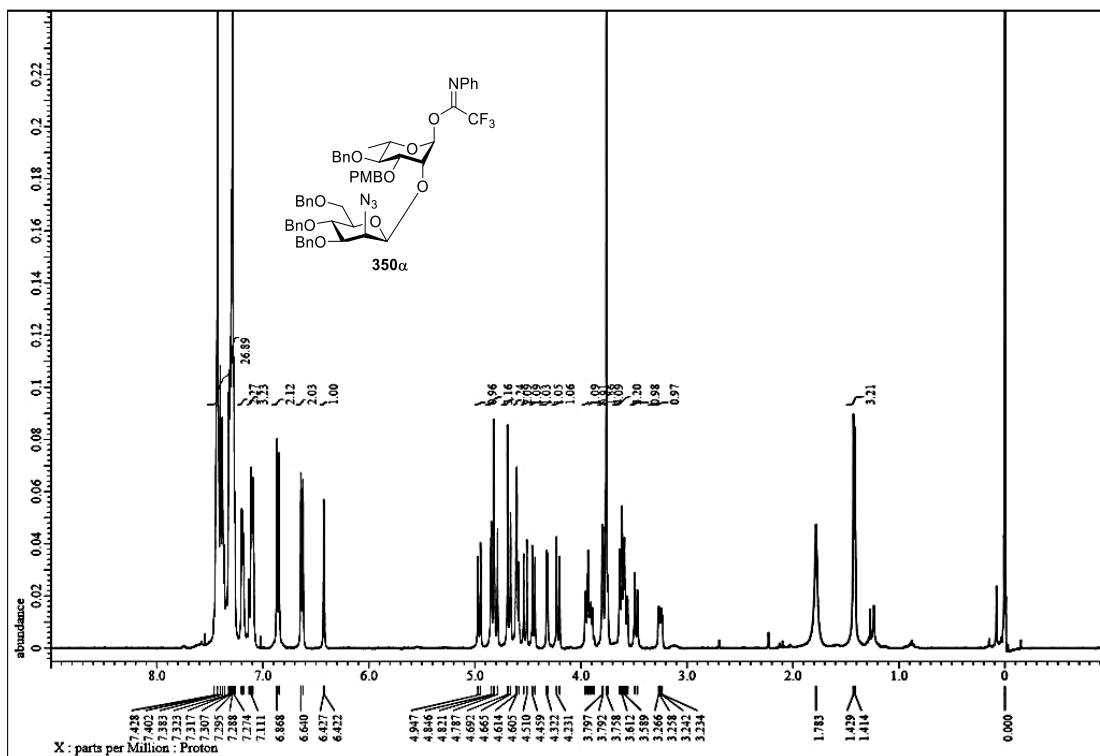
¹³C-NMR spectrum of 361



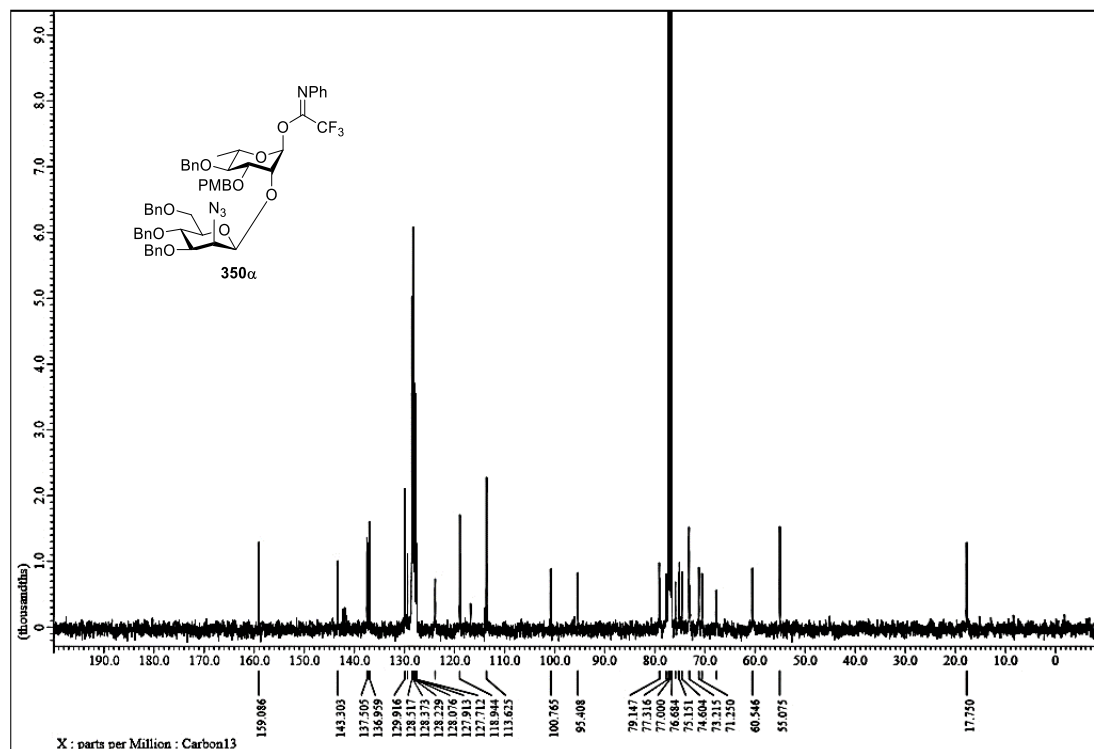
¹H-NMR spectrum of S17



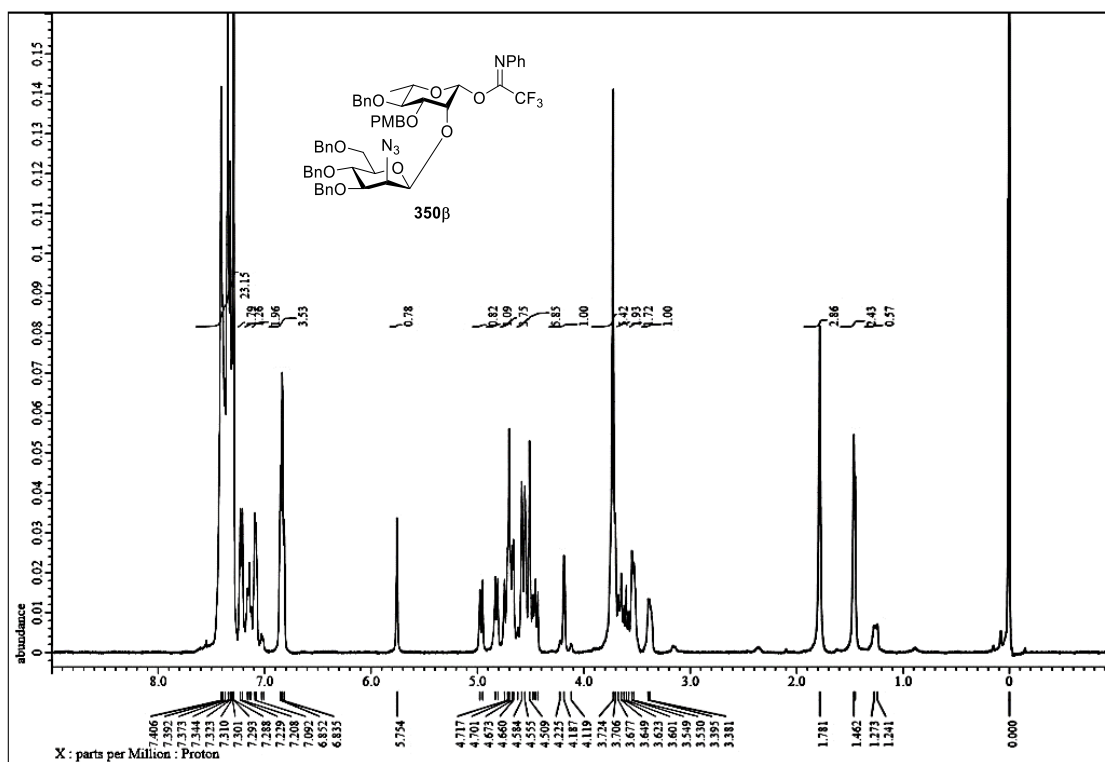
¹³C-NMR spectrum of S17



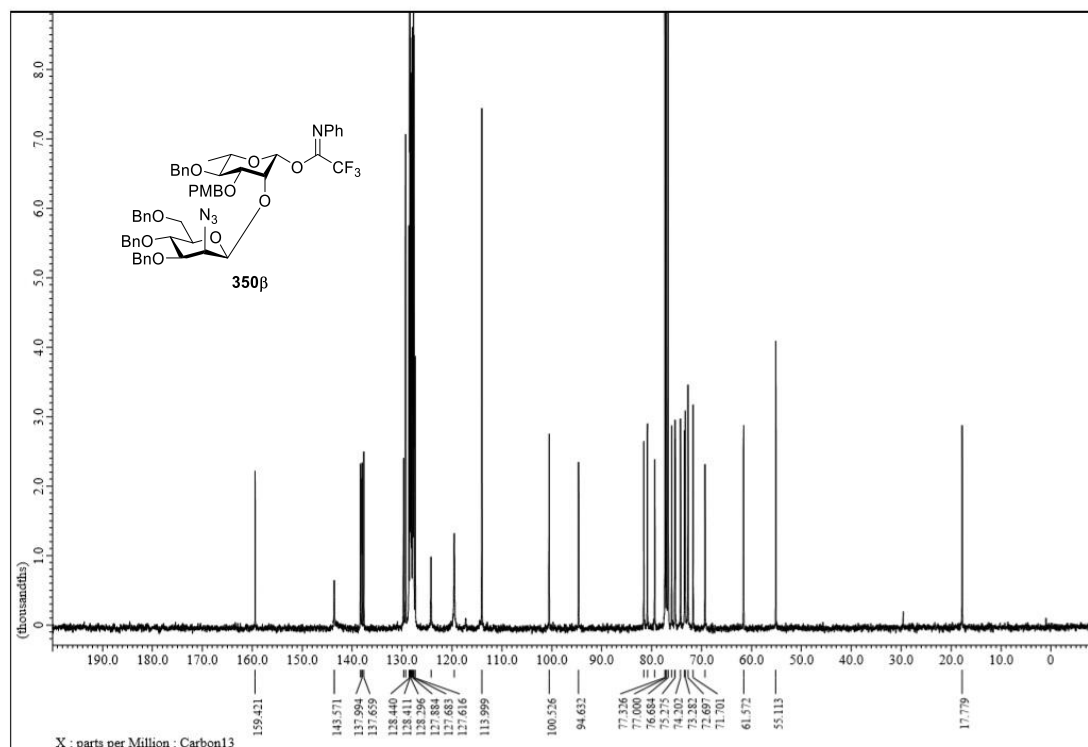
¹H-NMR spectrum of **350 α**



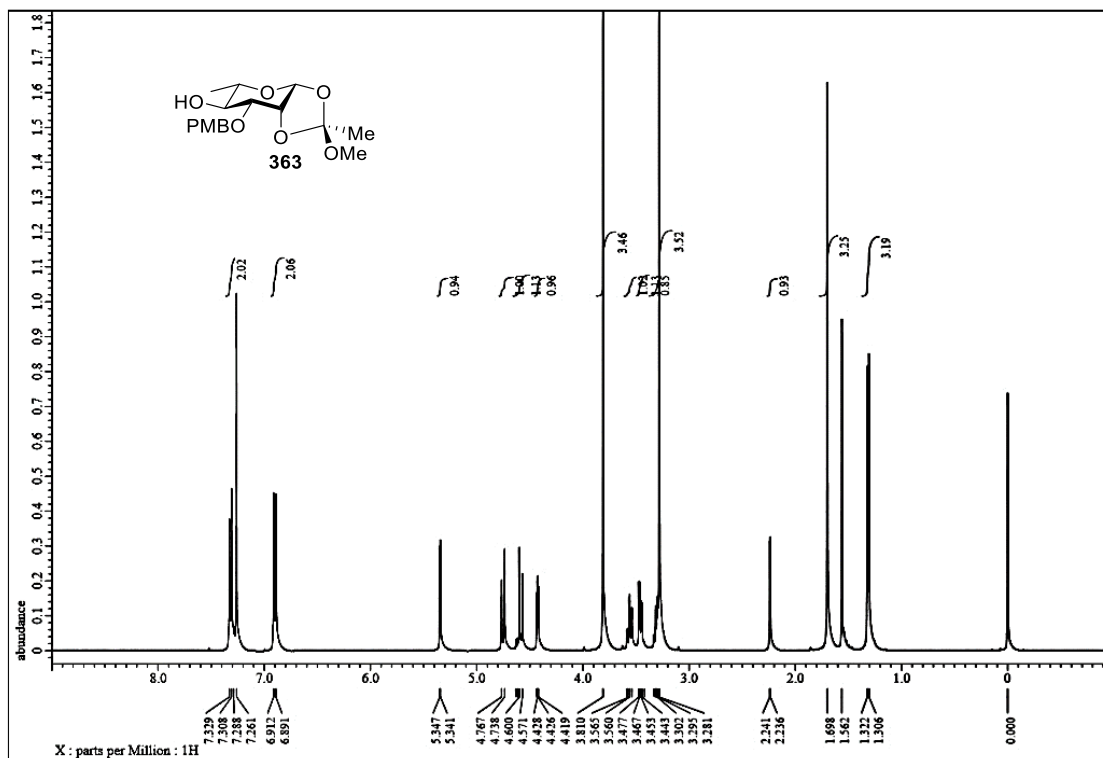
¹³C-NMR spectrum of **350 α**



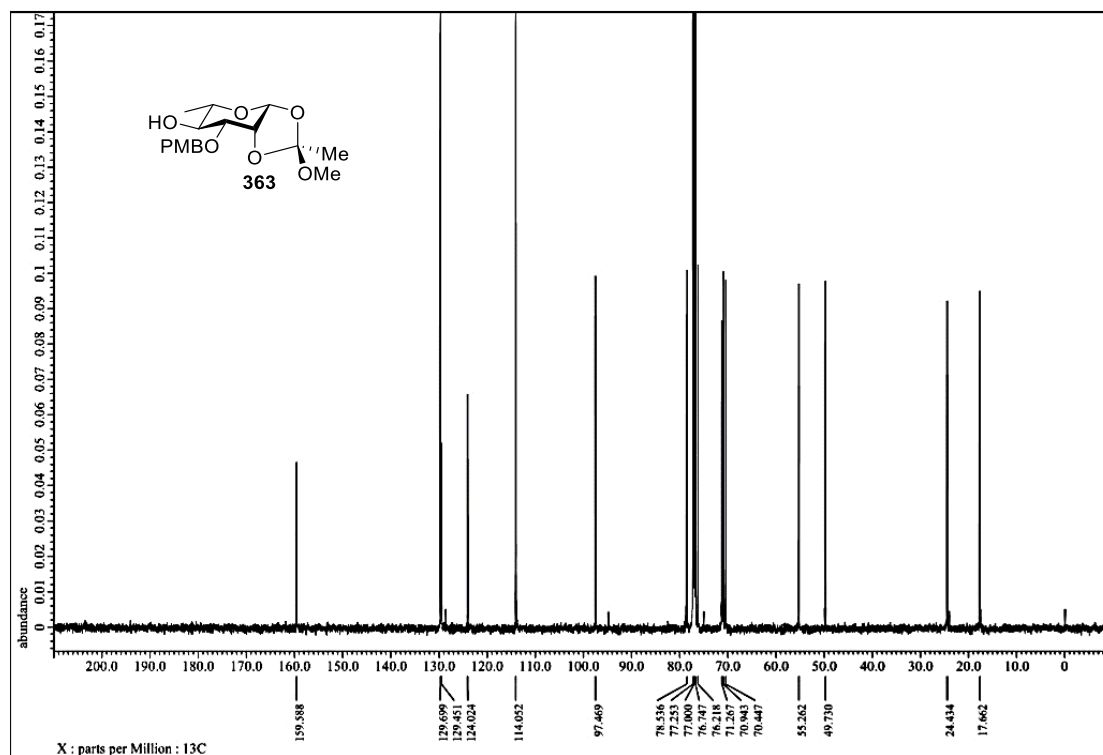
¹H-NMR spectrum of **350β**



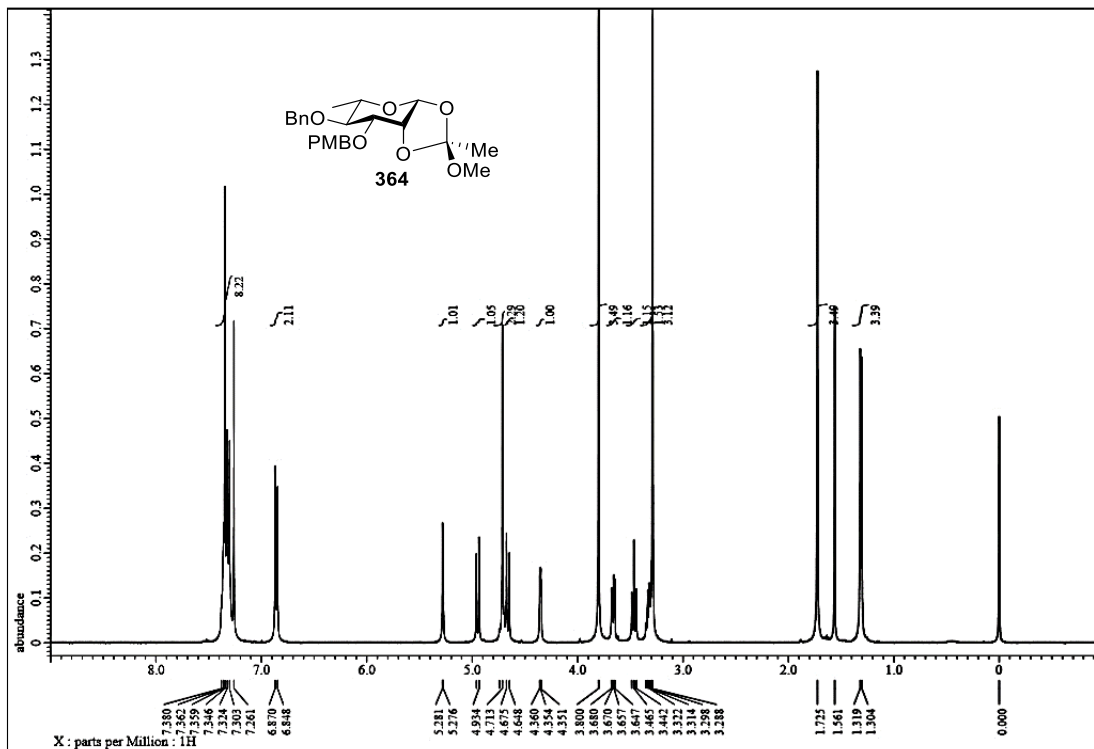
¹³C-NMR spectrum of **350β**

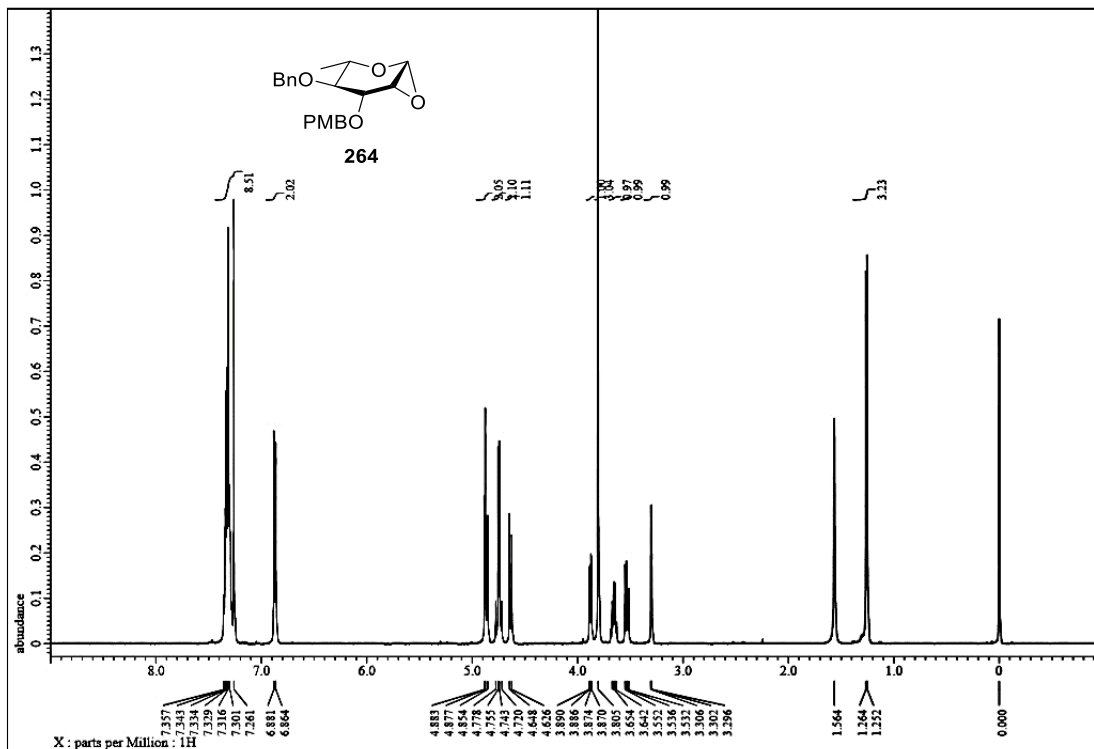


¹H-NMR spectrum of **363**

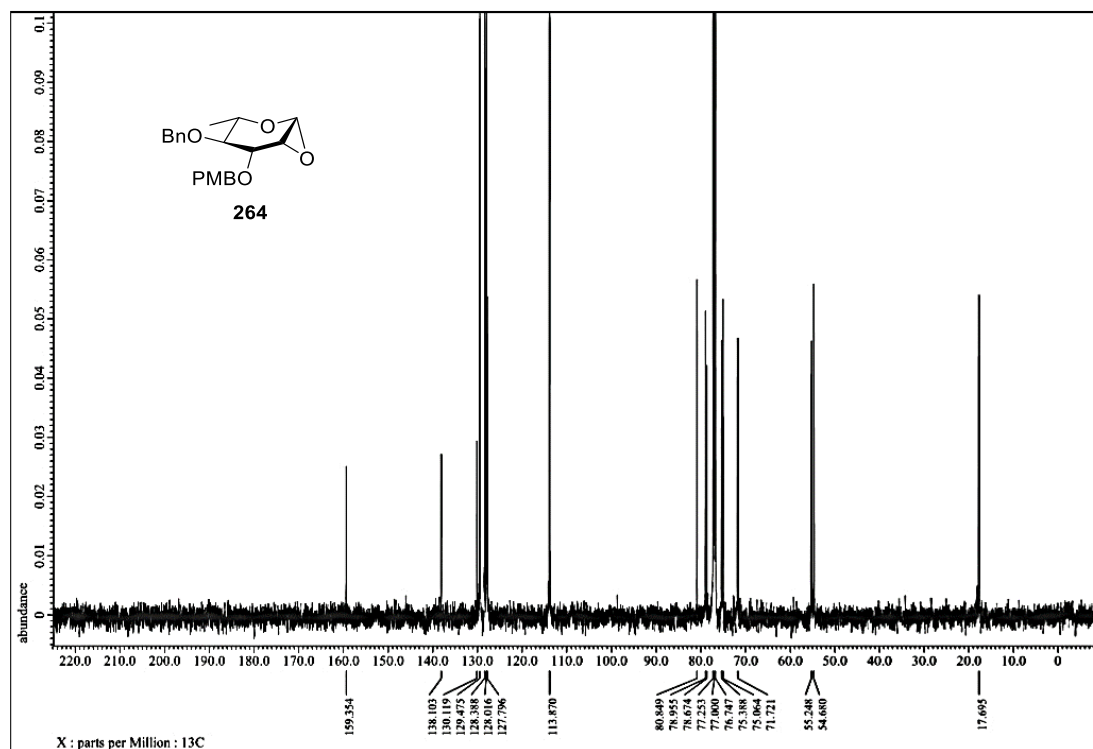


¹³C-NMR spectrum of **363**

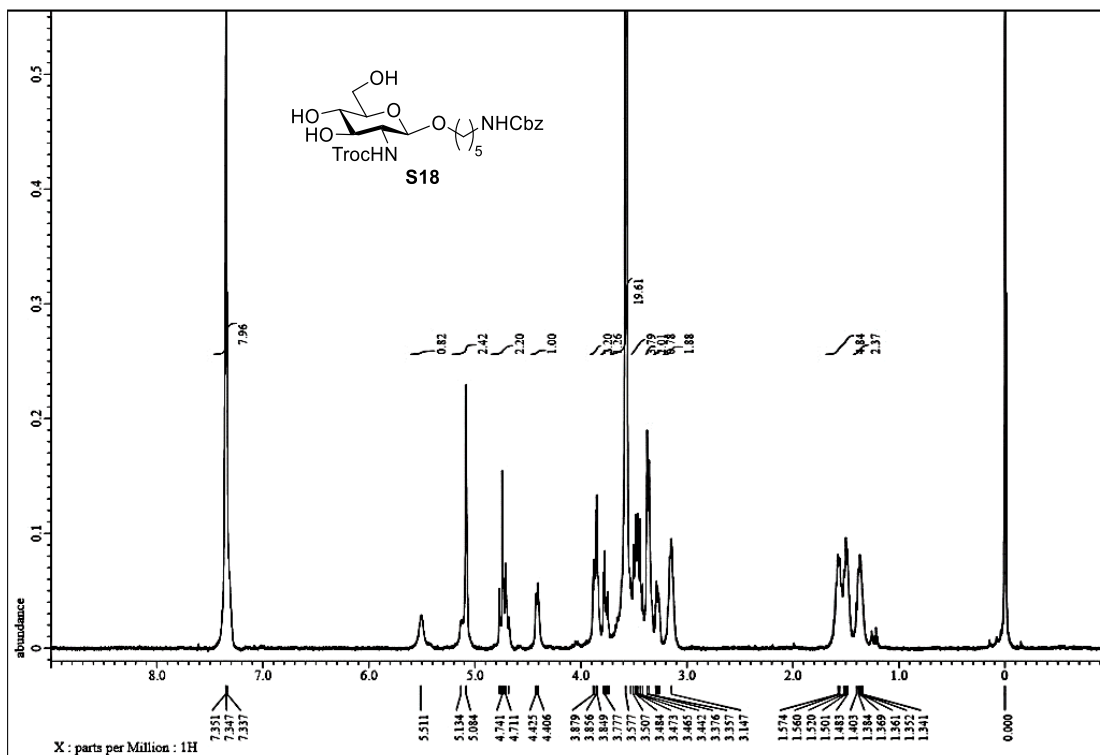




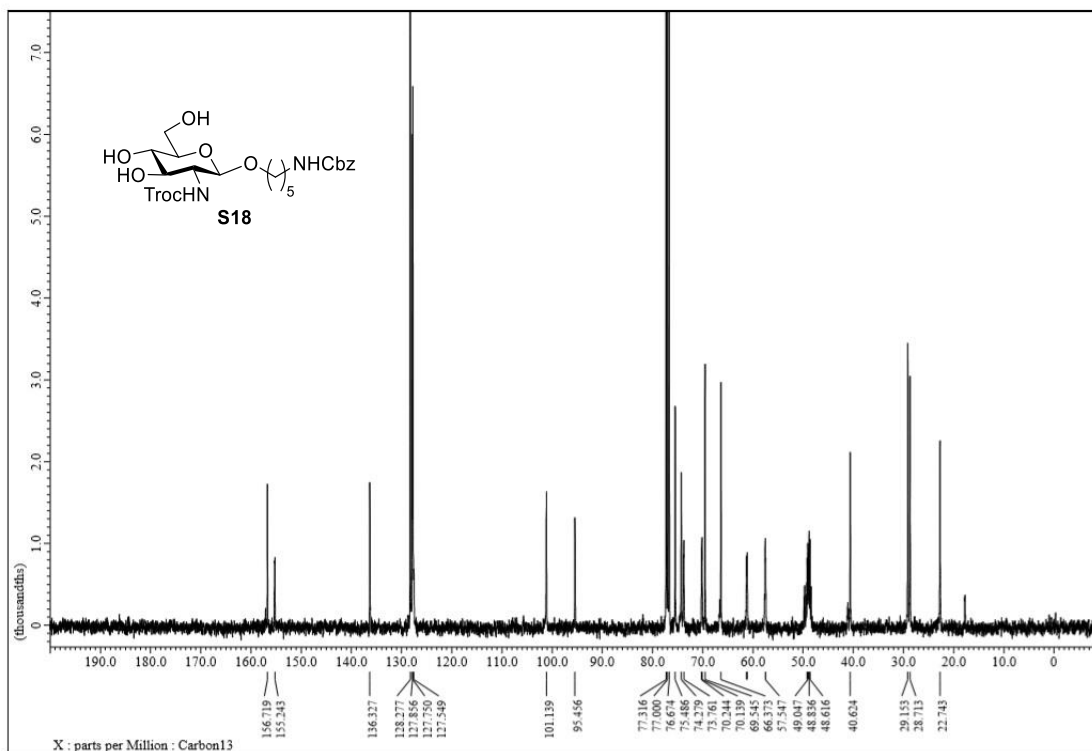
¹H-NMR spectrum of 264



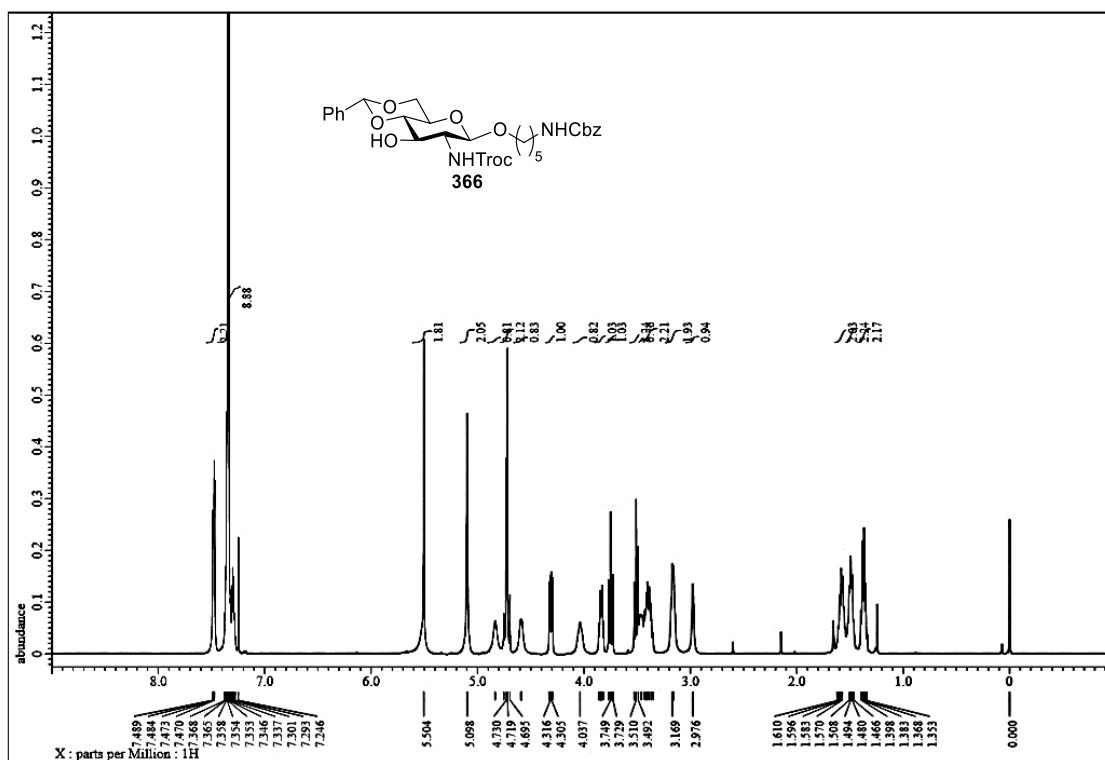
¹³C-NMR spectrum of 264



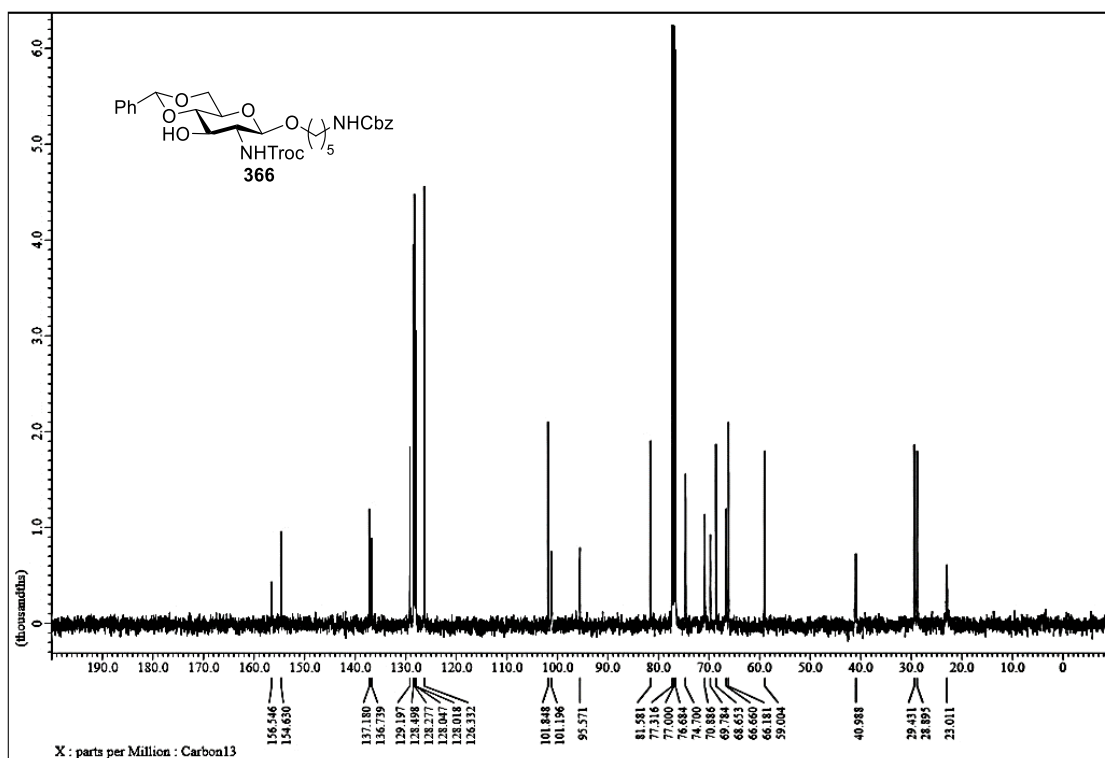
¹H-NMR spectrum of S18



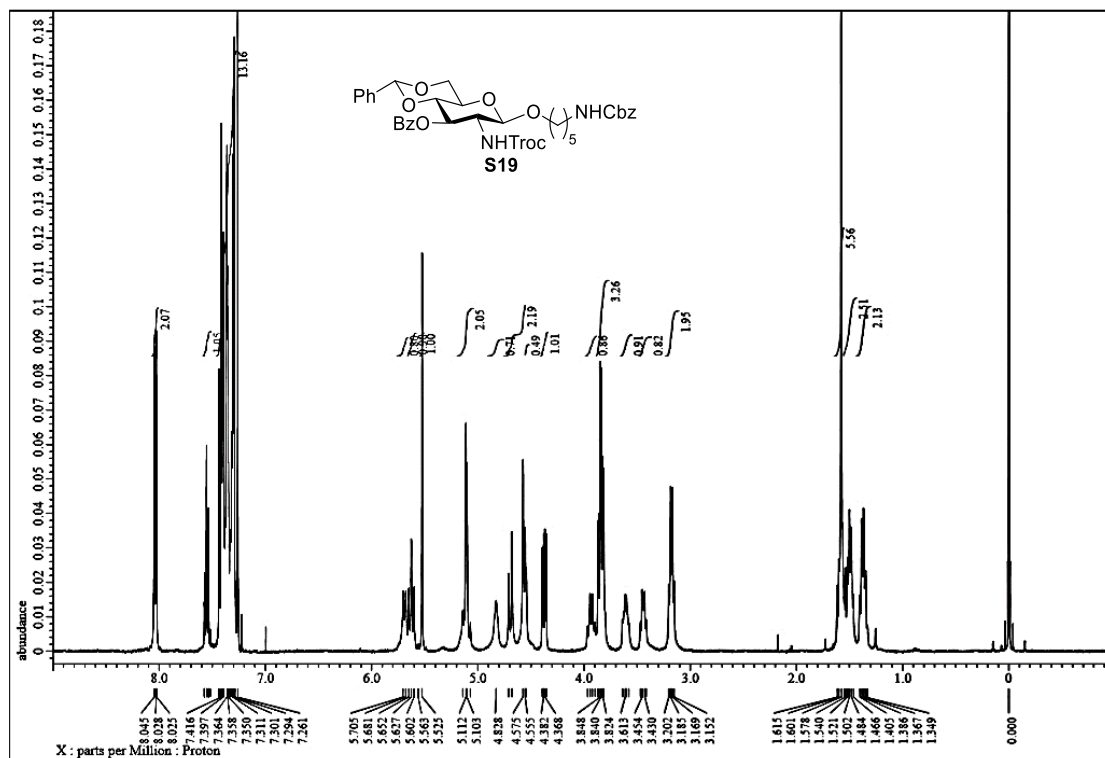
¹³C-NMR spectrum of S18



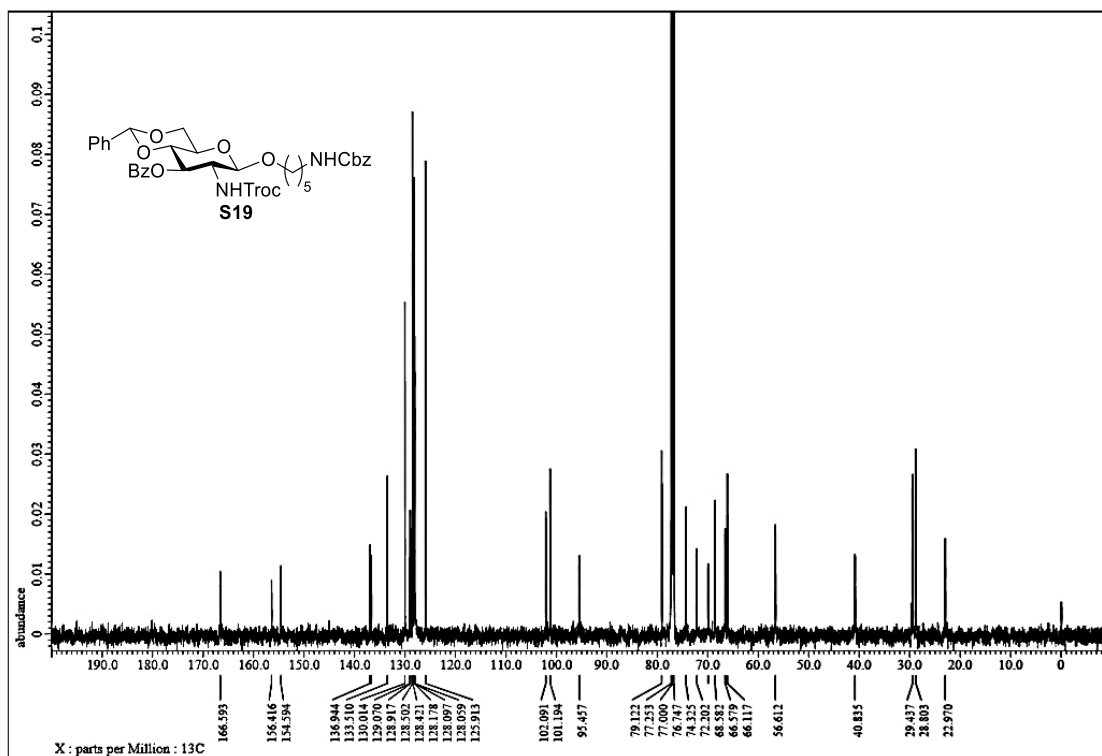
¹H-NMR spectrum of **366**



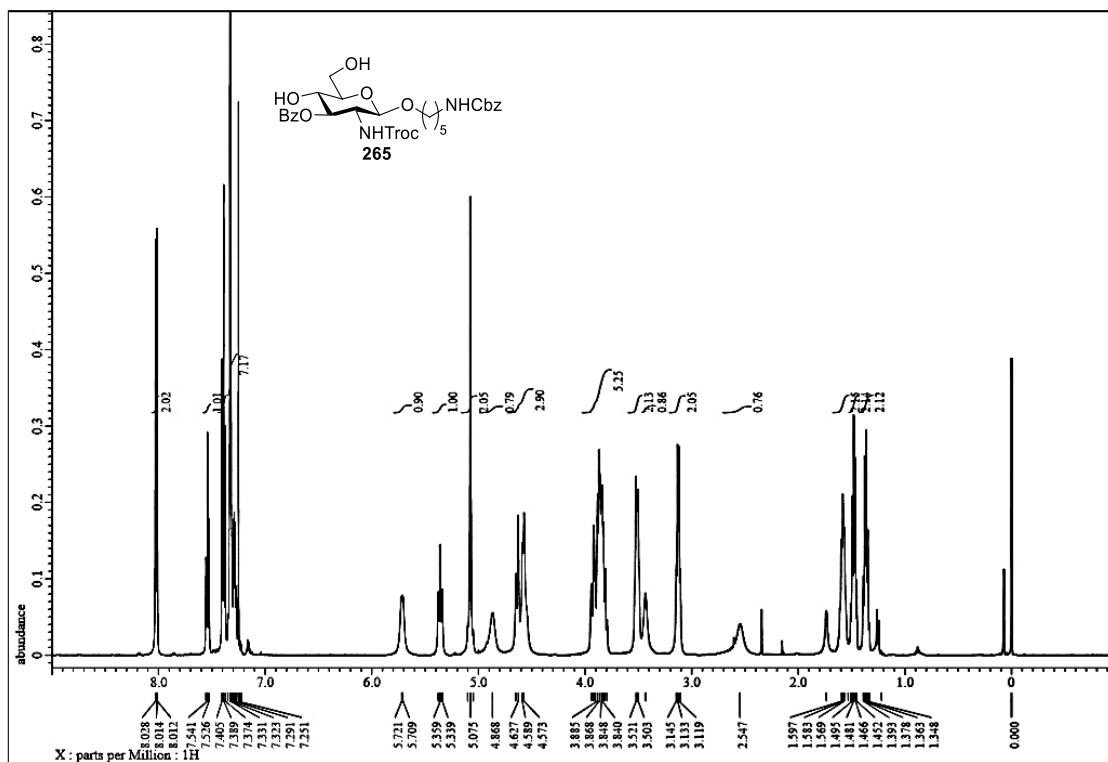
¹³C-NMR spectrum of **366**



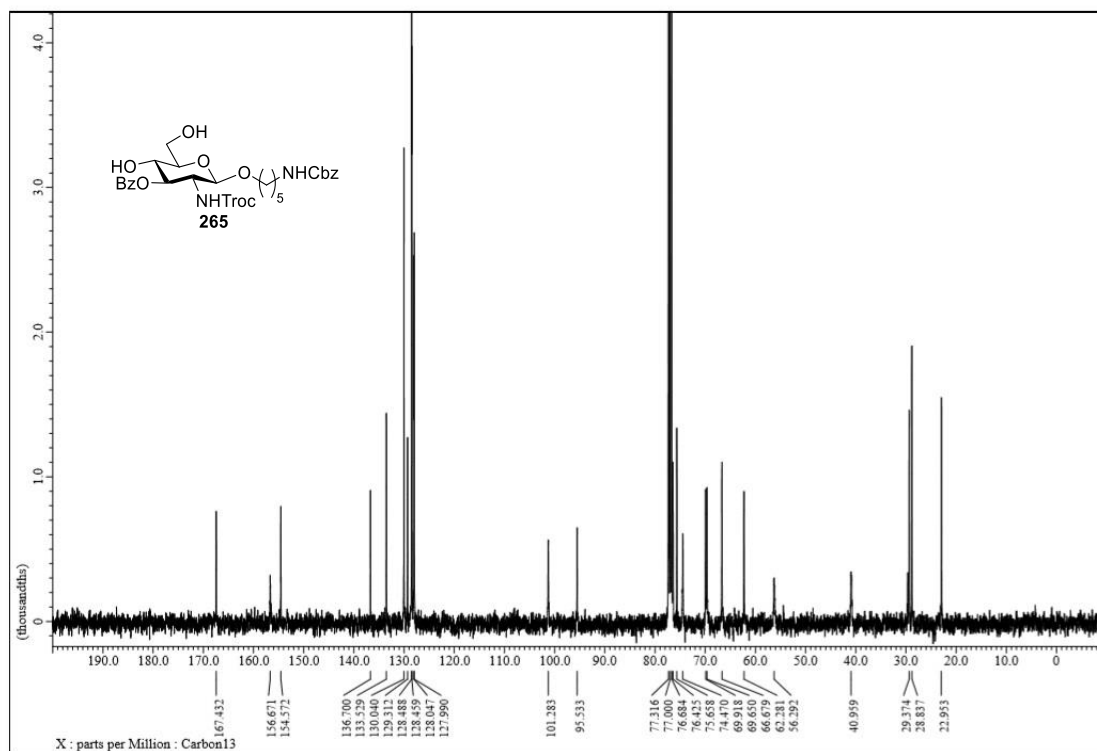
¹H-NMR spectrum of S19



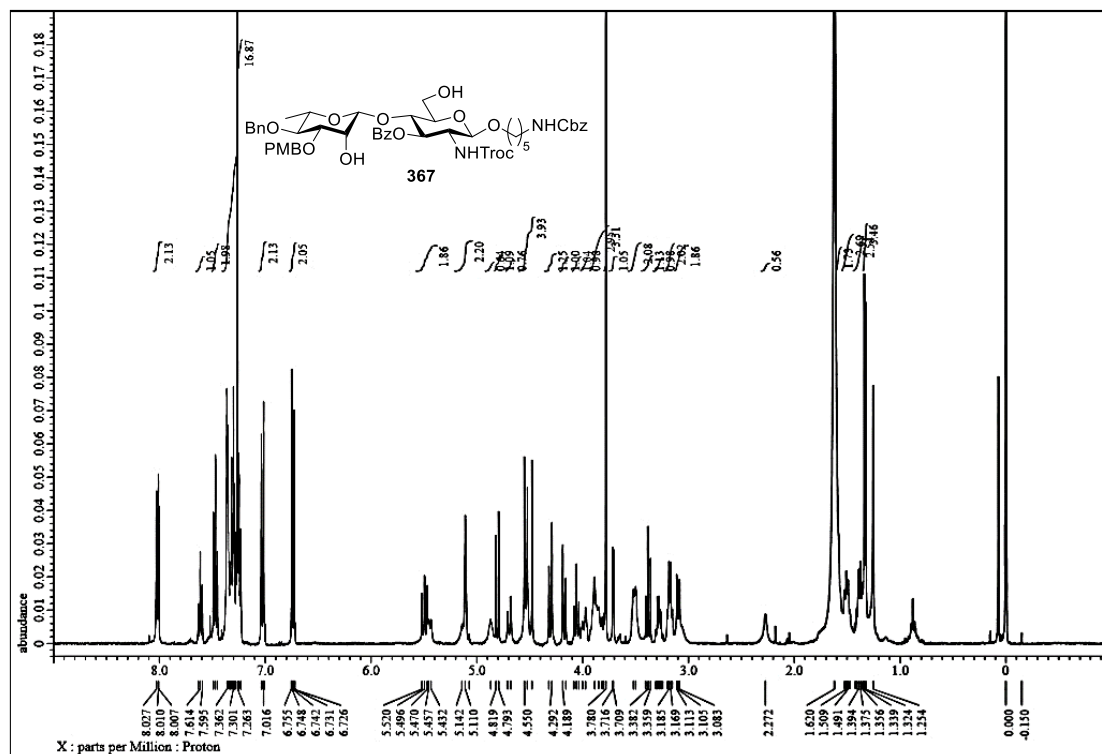
¹³C-NMR spectrum of S19



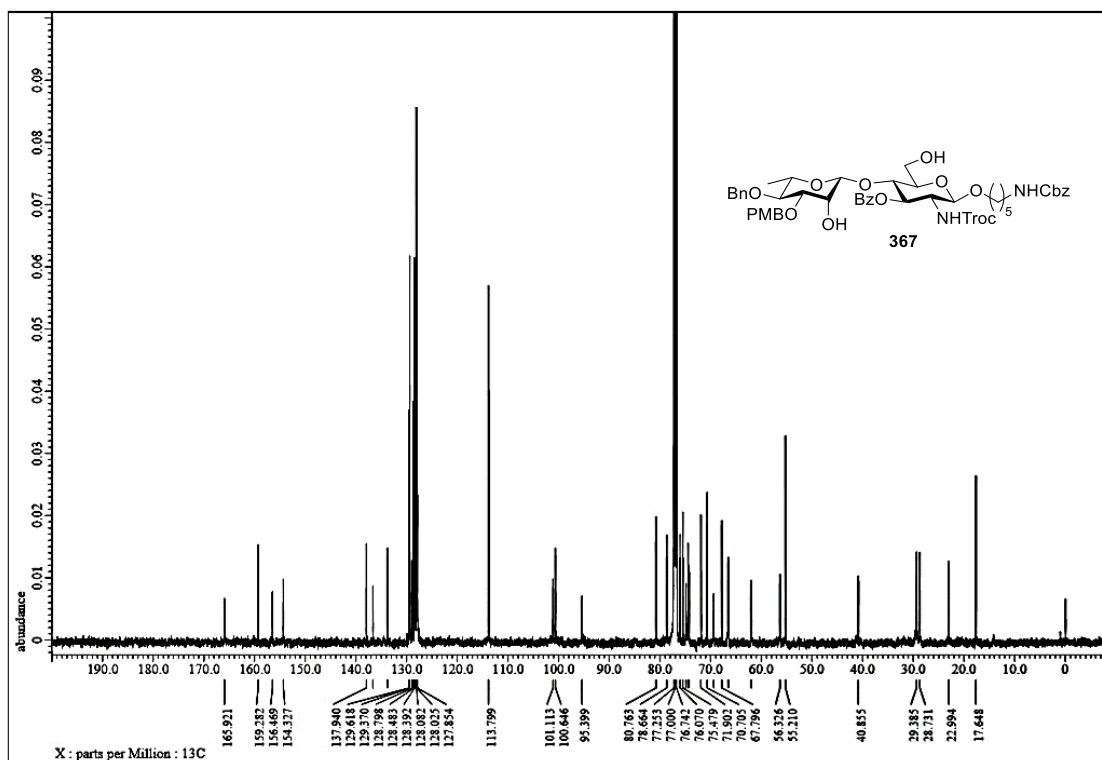
¹H-NMR spectrum of **265**



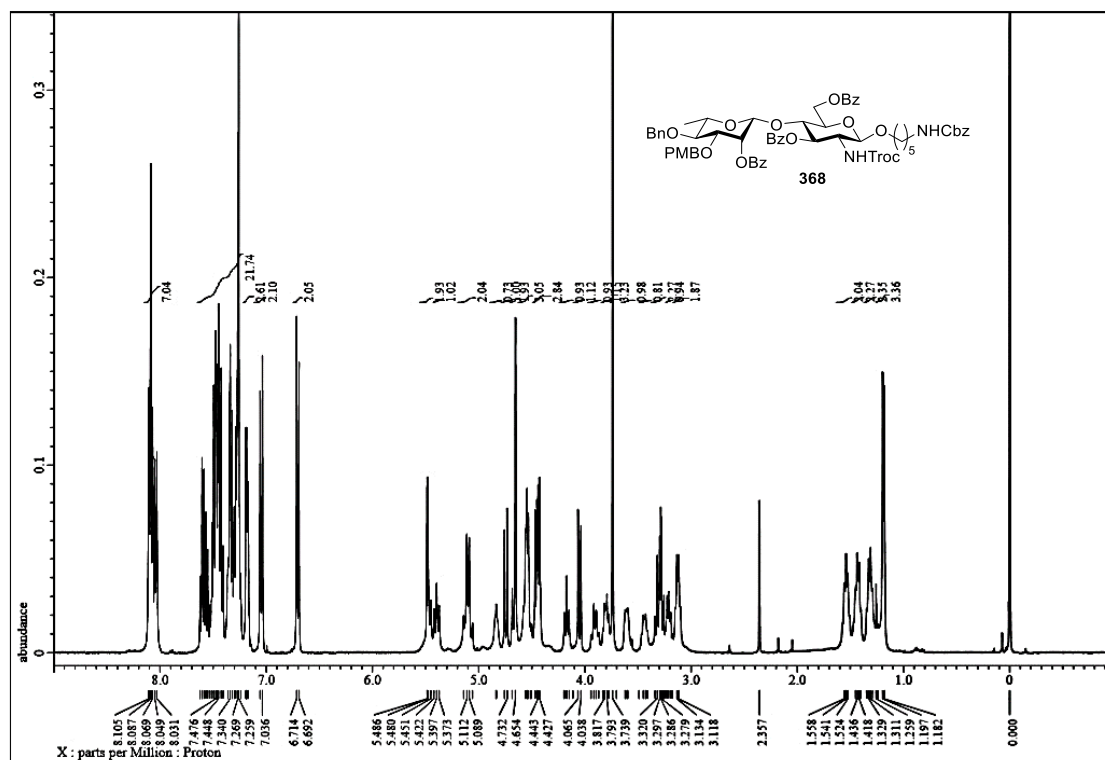
¹³C-NMR spectrum of **265**



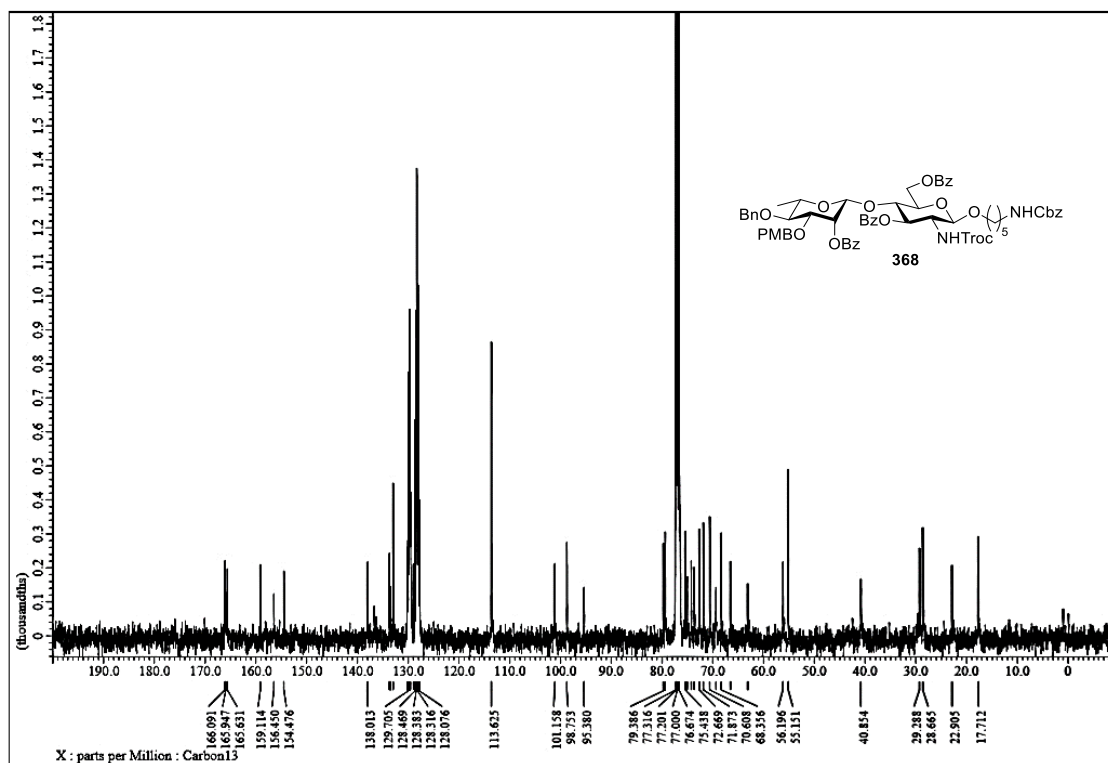
$^1\text{H-NMR}$ spectrum of **367**



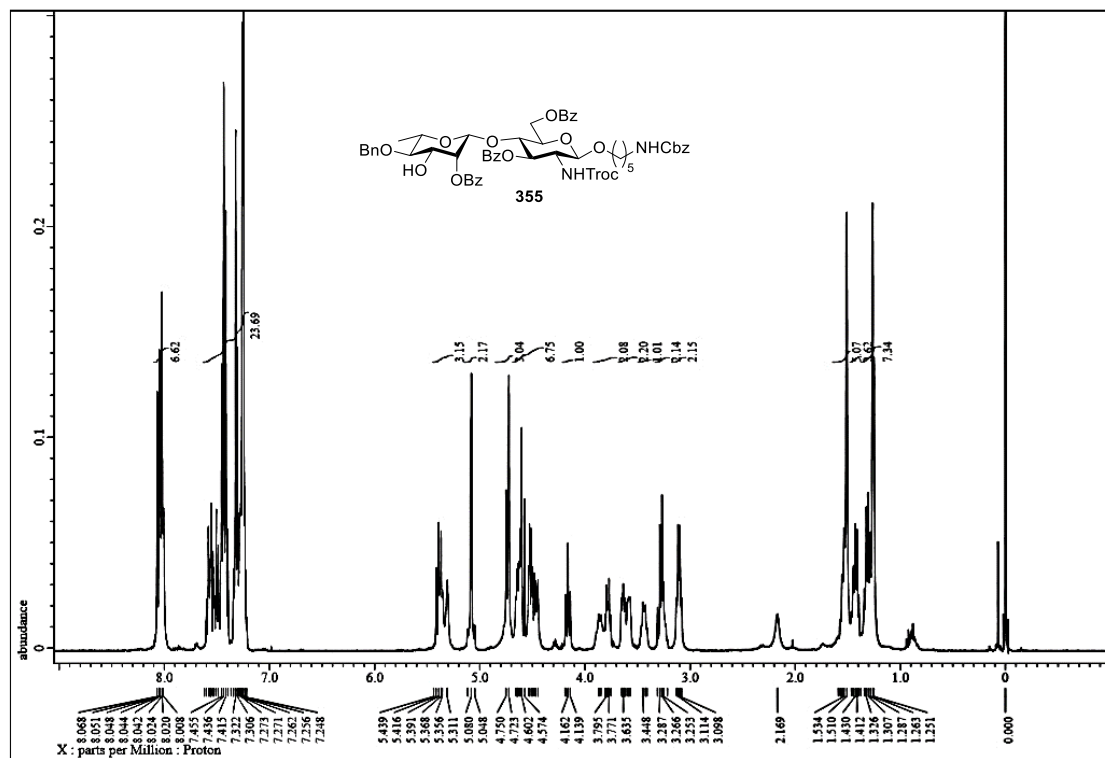
$^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of **367**



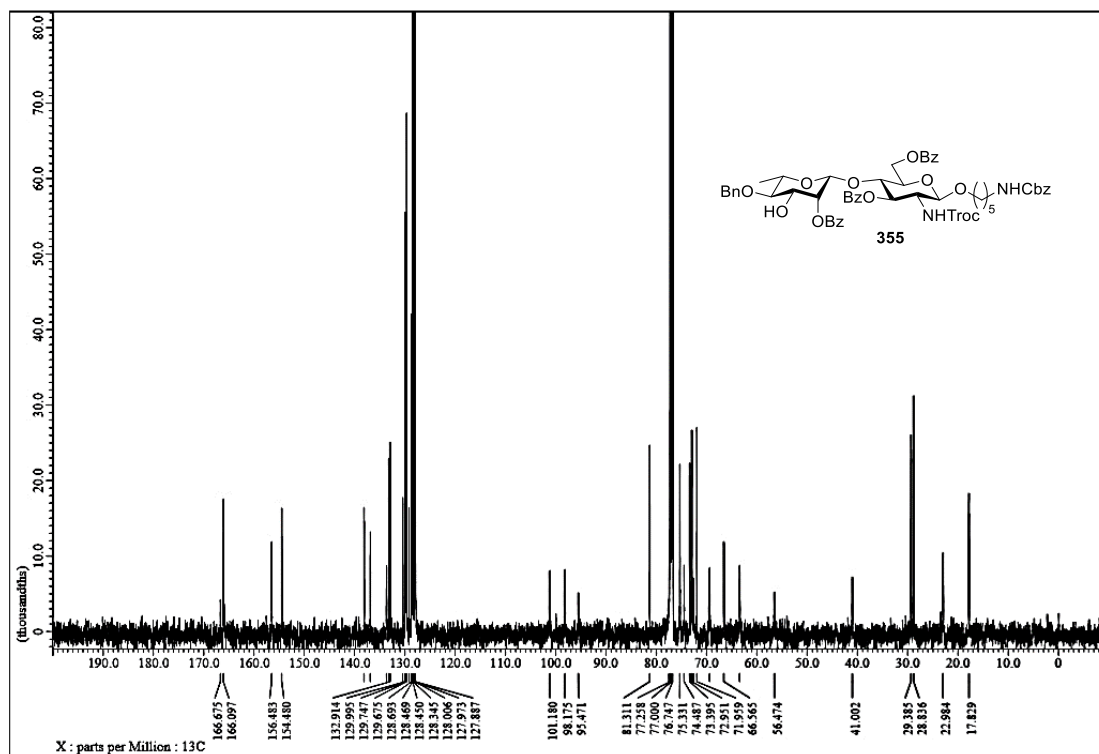
¹H-NMR spectrum of **368**



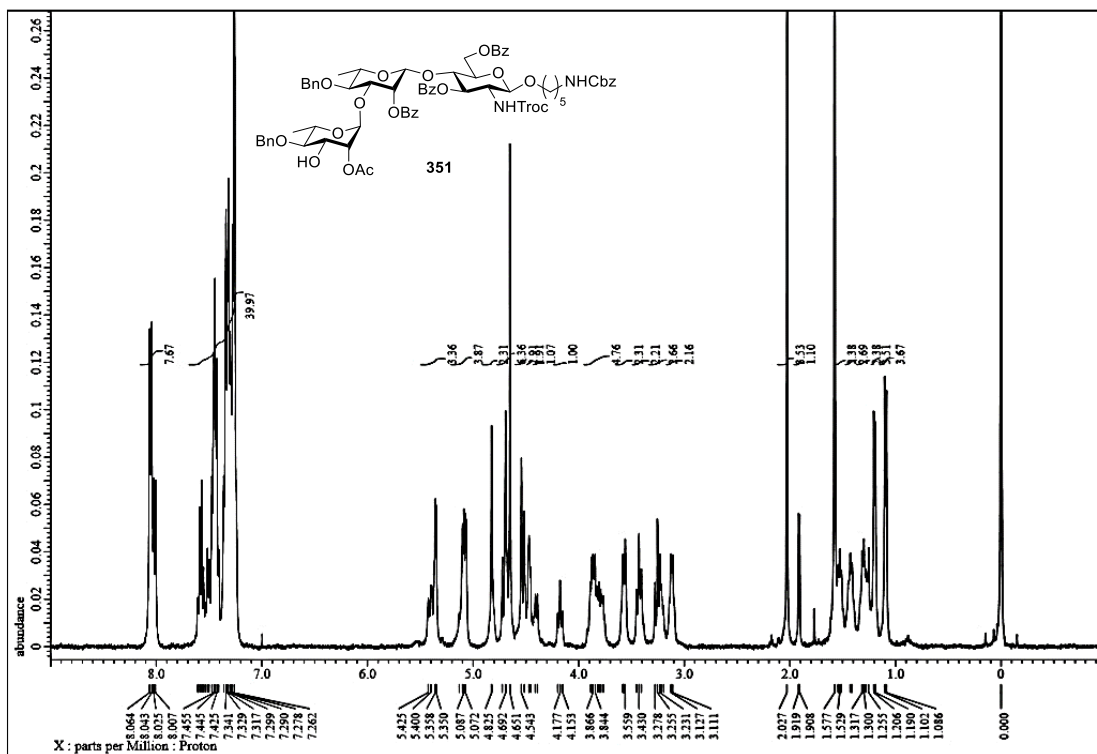
¹³C-NMR spectrum of **368**



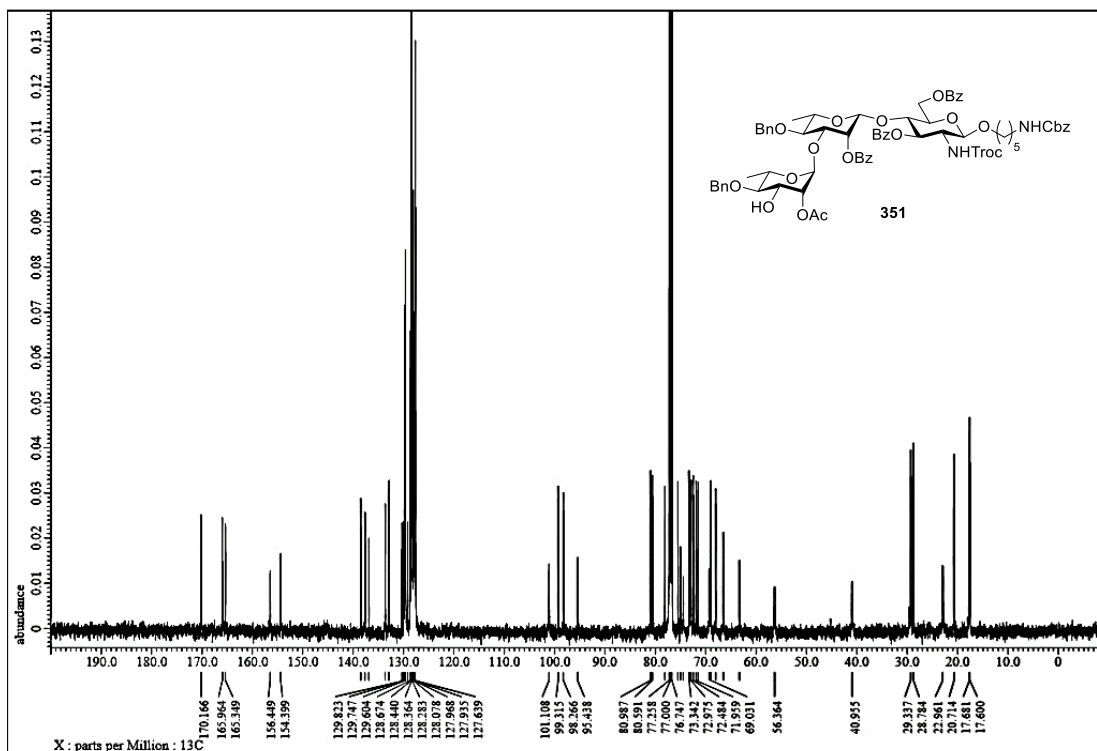
¹H-NMR spectrum of 355



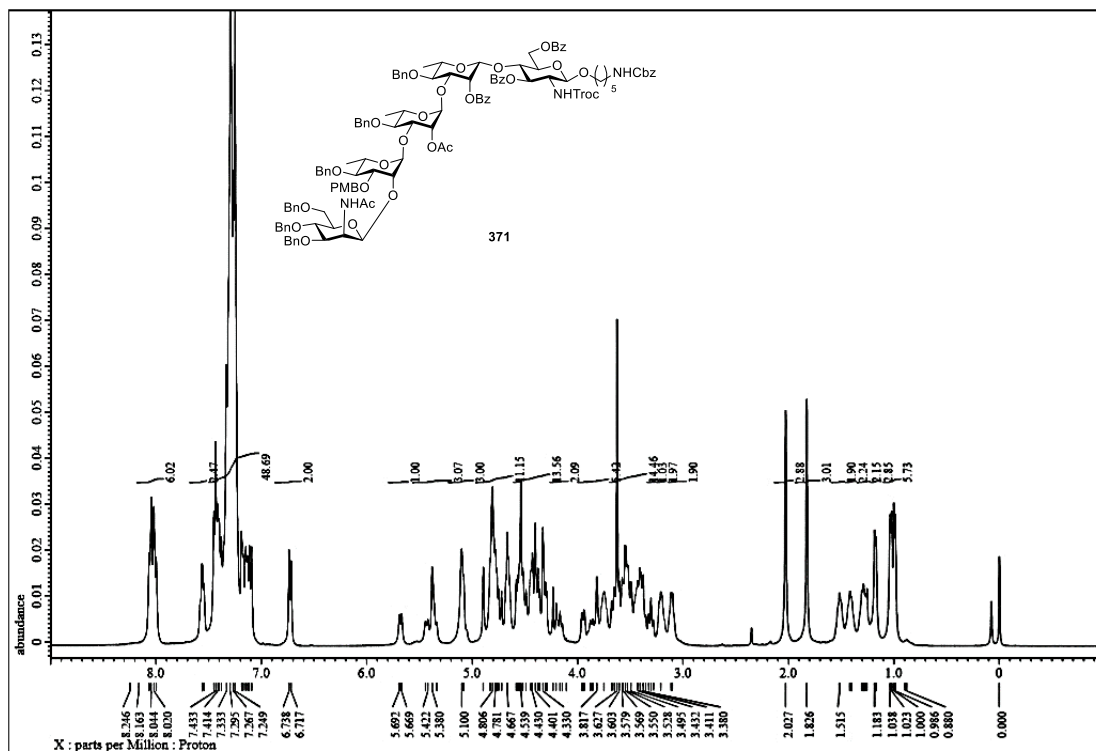
¹³C-NMR spectrum of 355



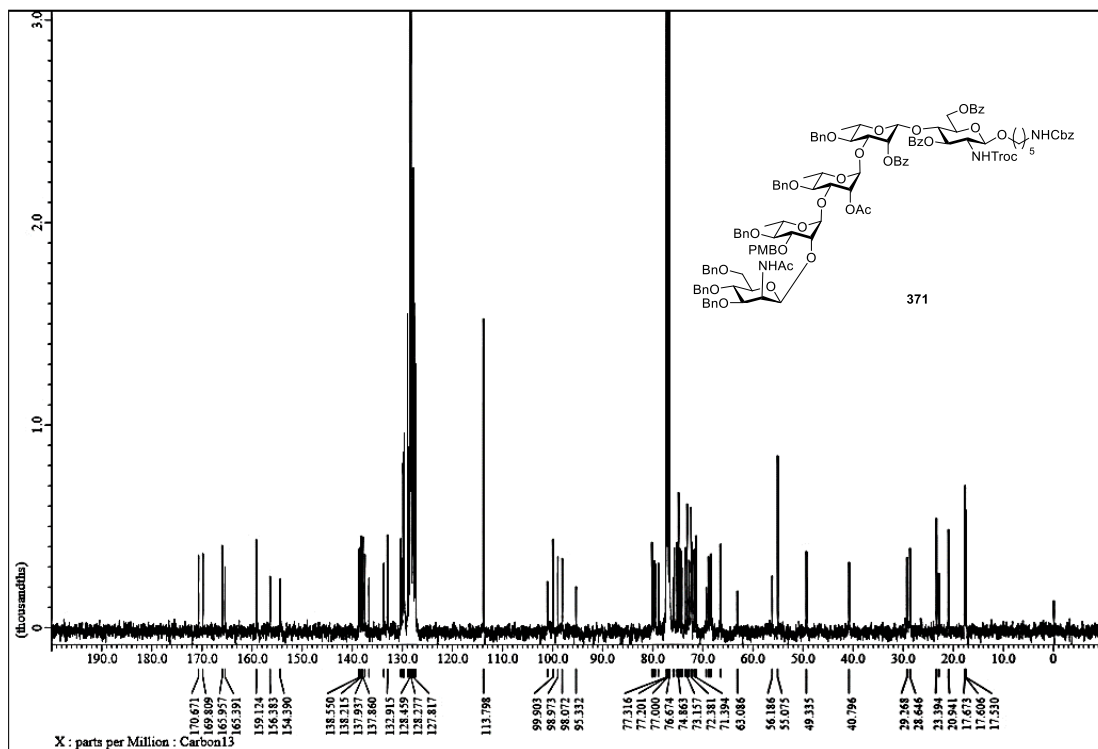
¹H-NMR spectrum of **351**



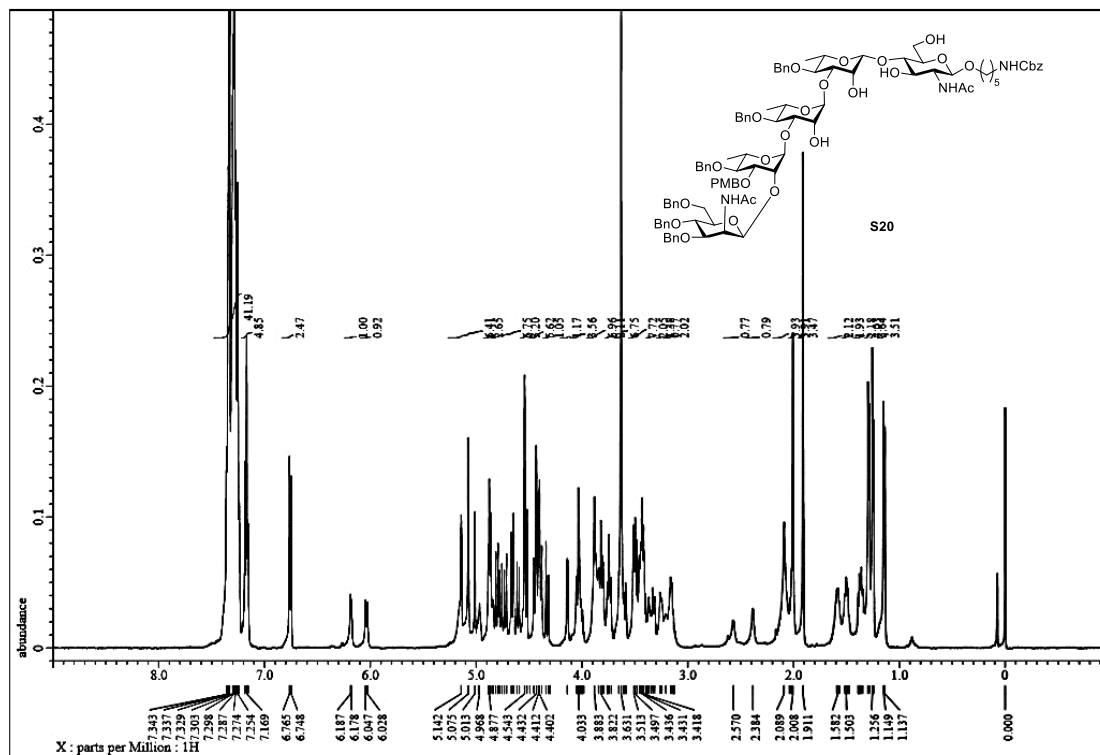
¹³C-NMR spectrum of **351**



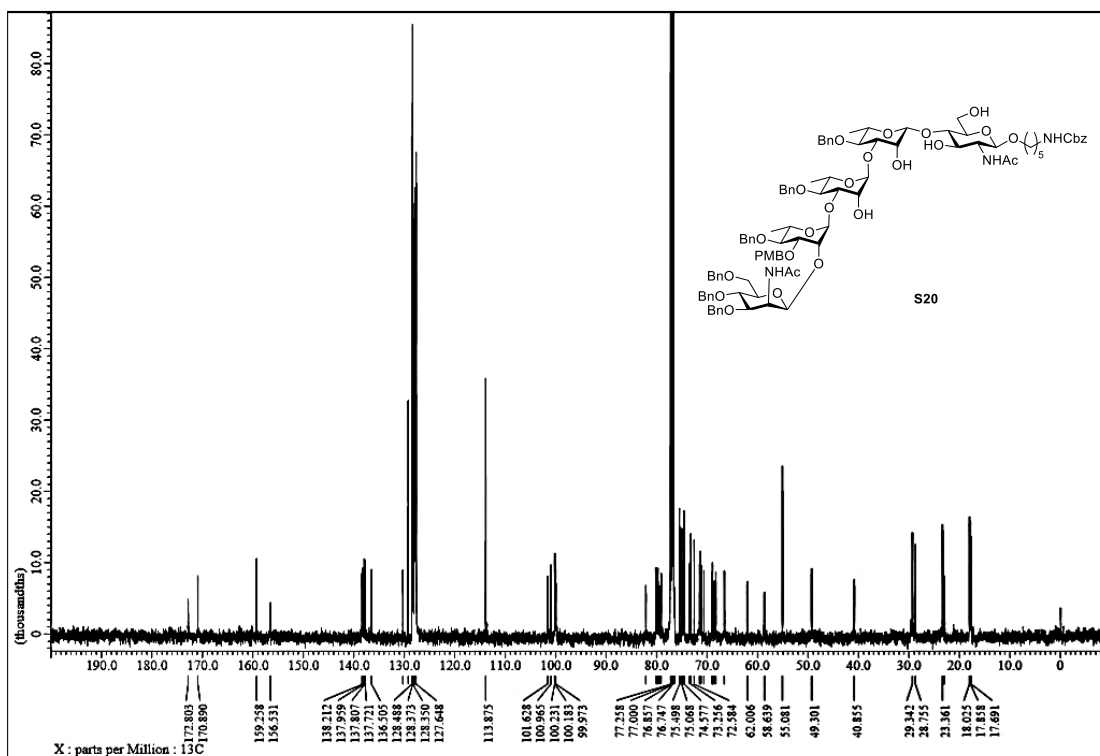
¹H-NMR spectrum of 371



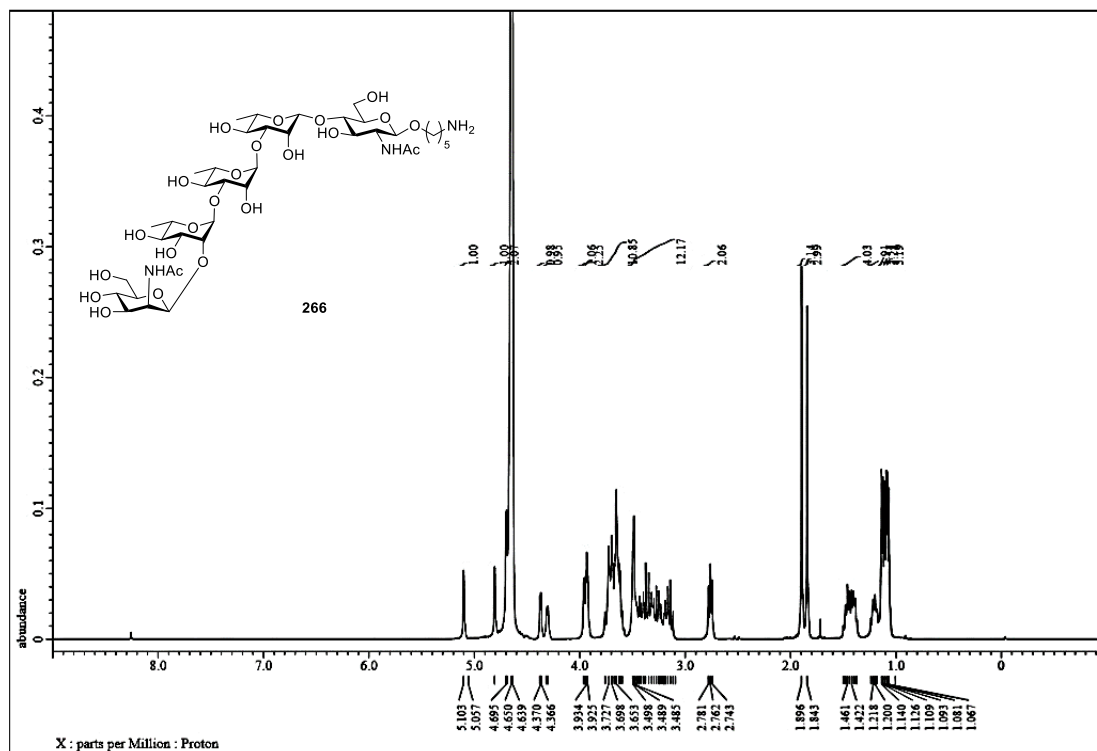
¹³C-NMR spectrum of 371



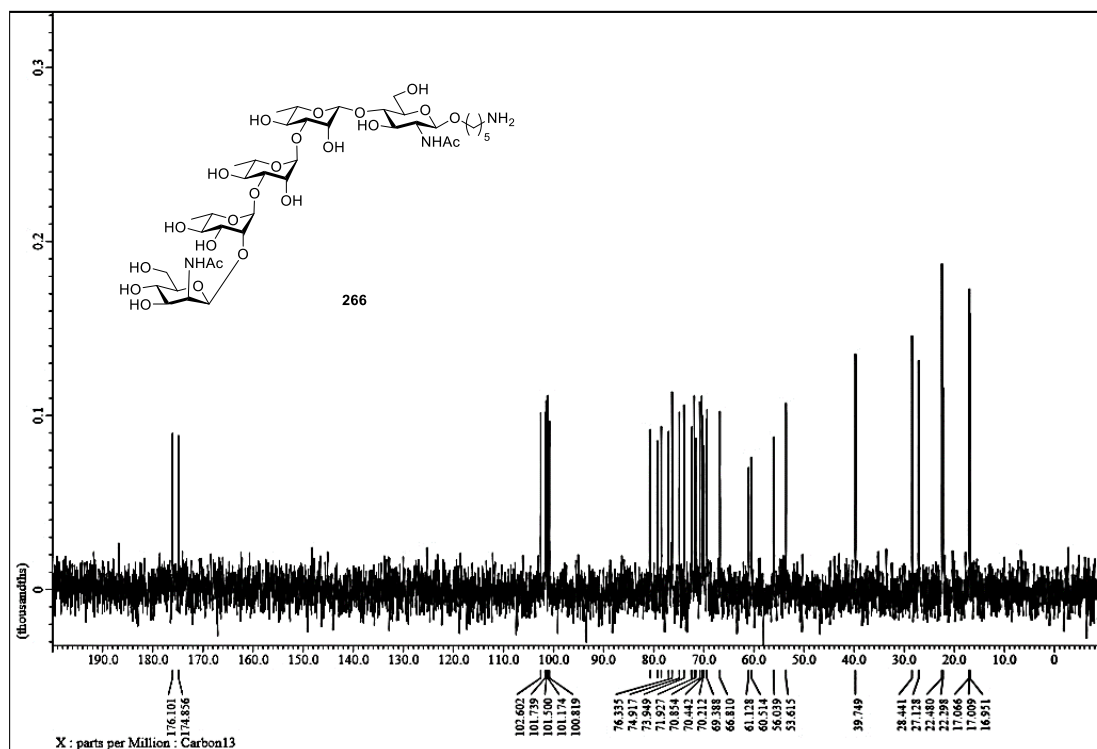
¹H-NMR spectrum of S20



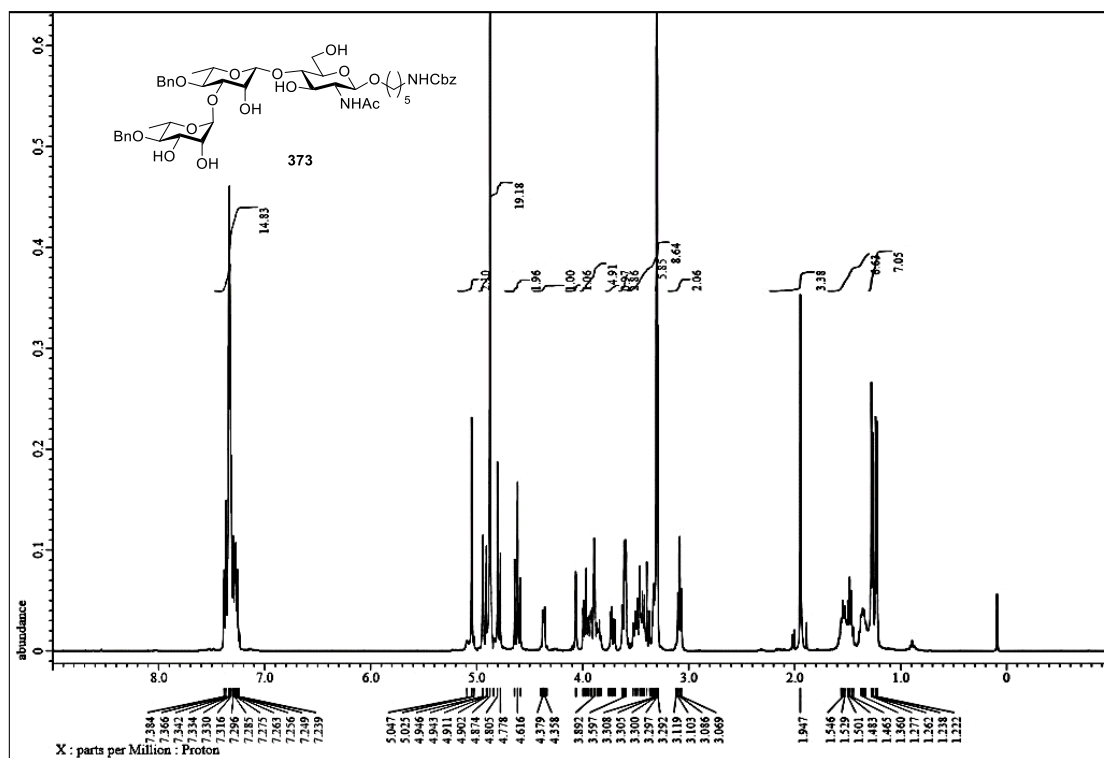
¹³C-NMR spectrum of S20



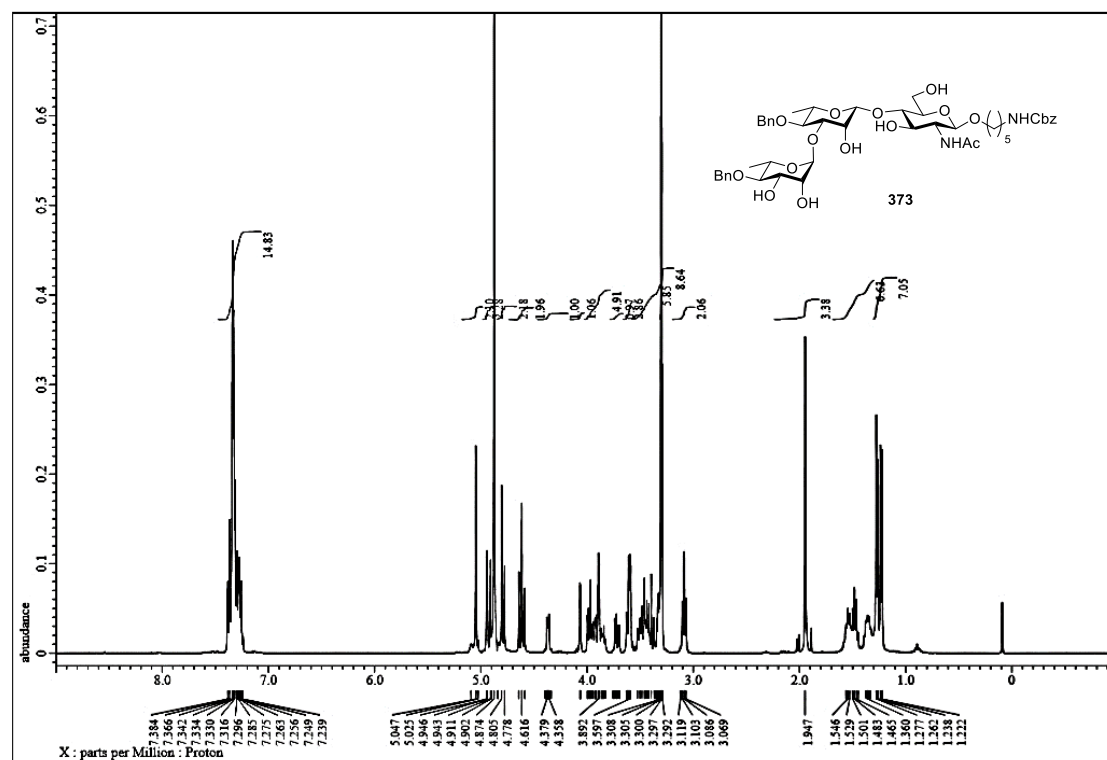
¹H-NMR spectrum of 266



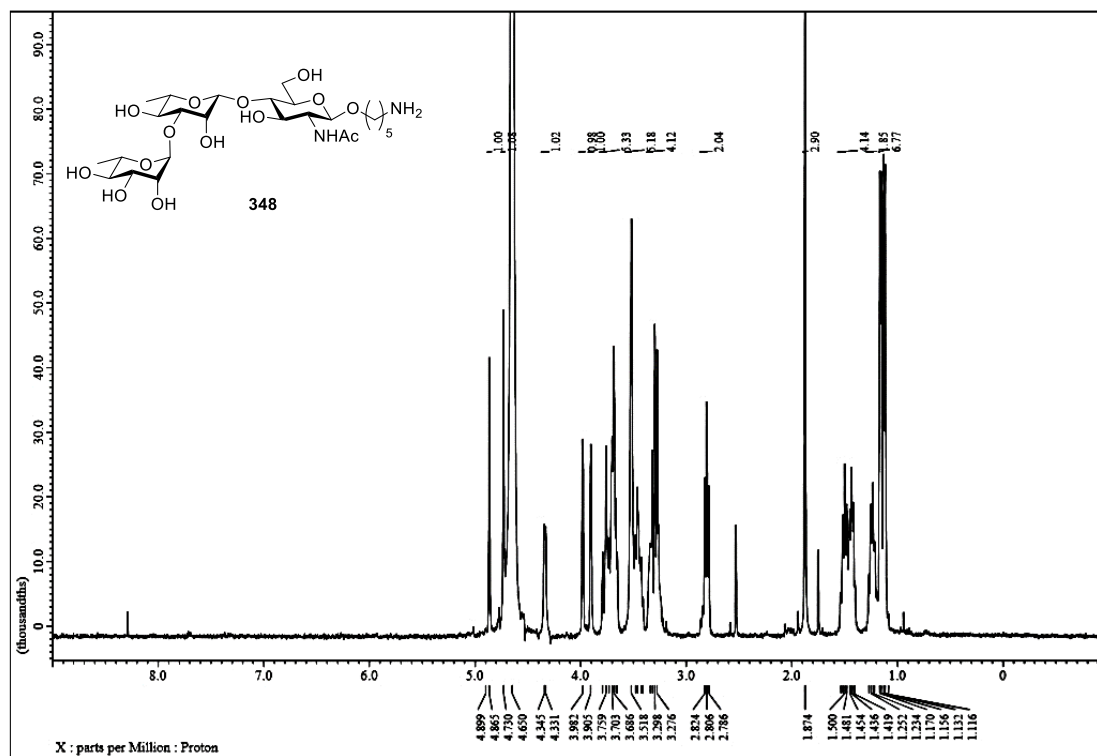
¹³C-NMR spectrum of 266



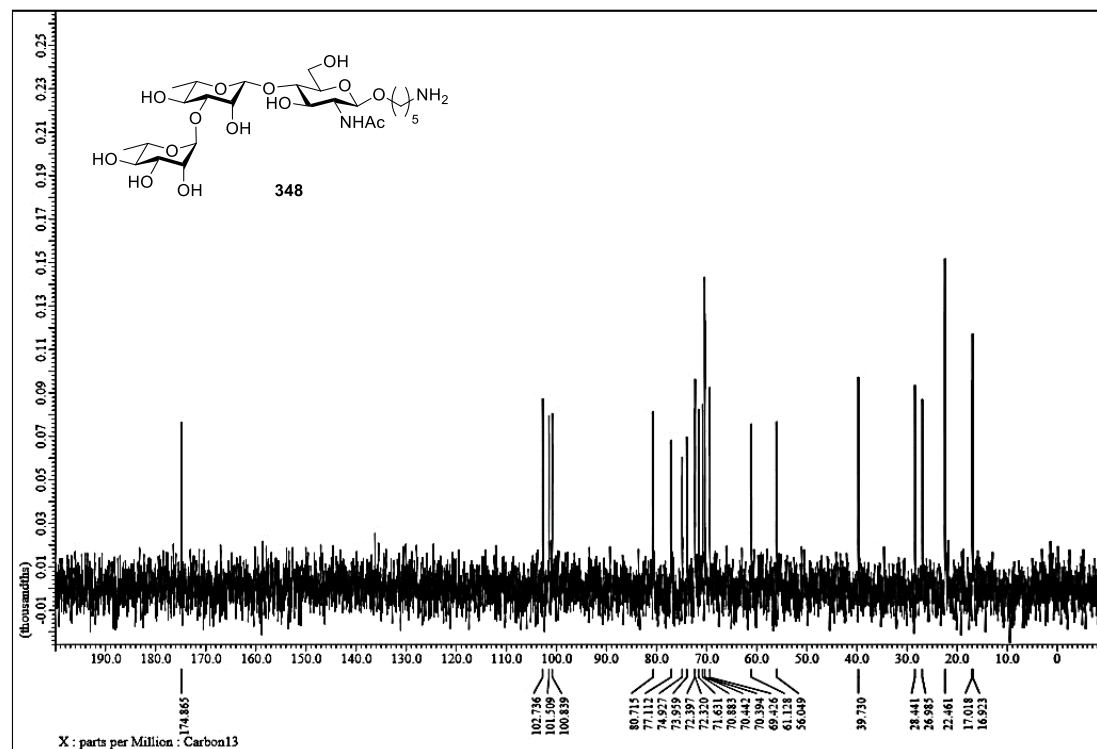
¹H-NMR spectrum of 373



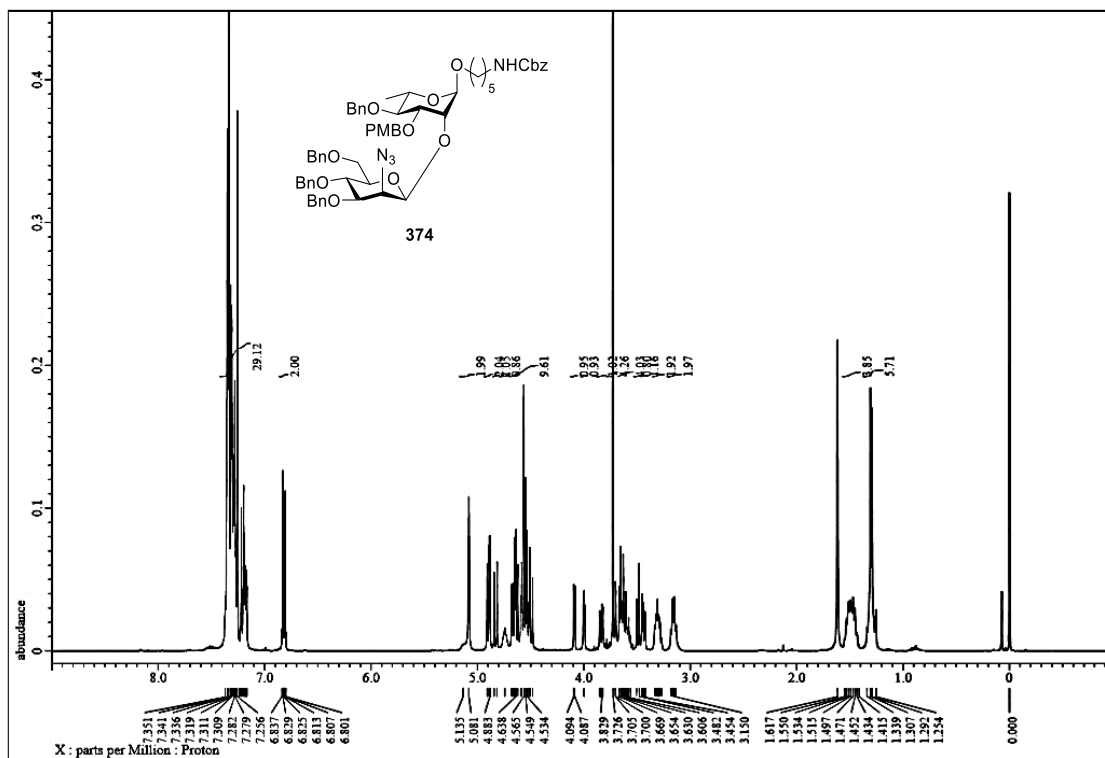
¹³C-NMR spectrum of 373



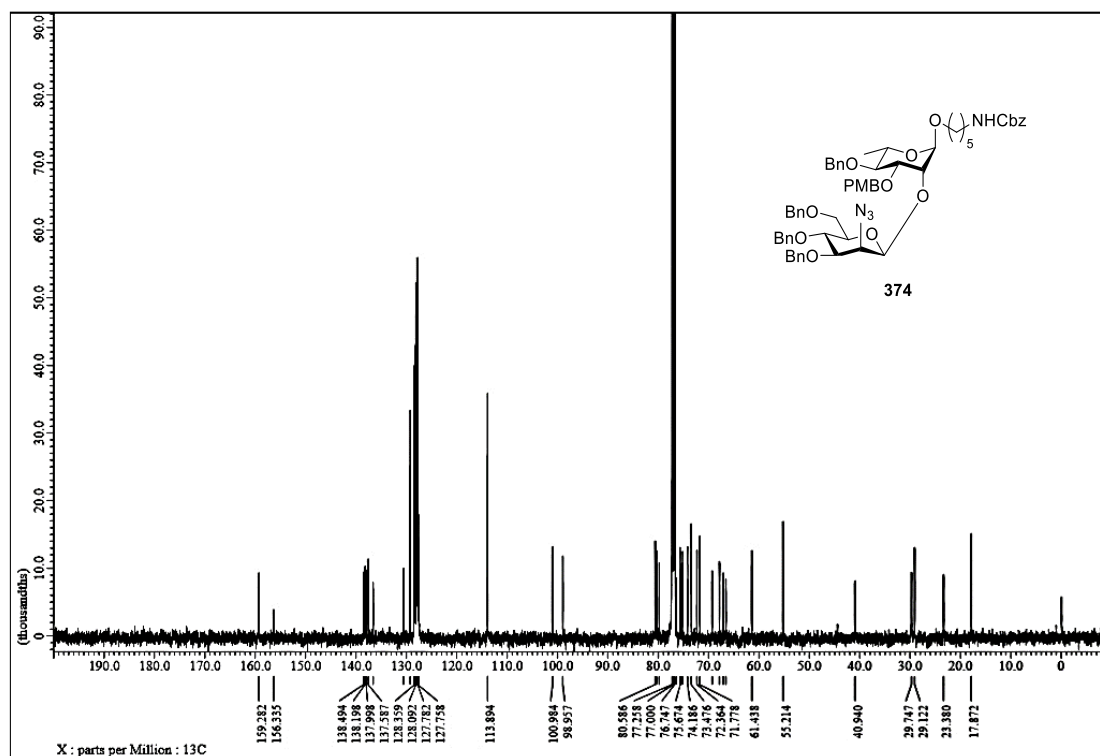
¹H-NMR spectrum of 348



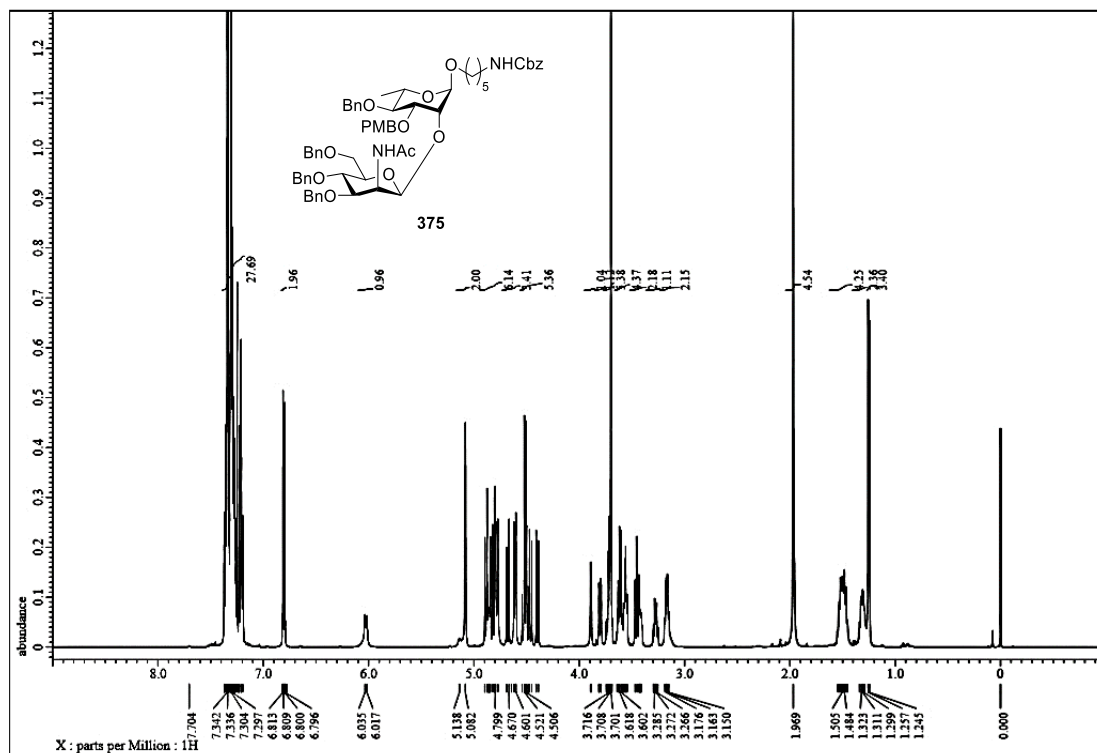
¹³C-NMR spectrum of 348



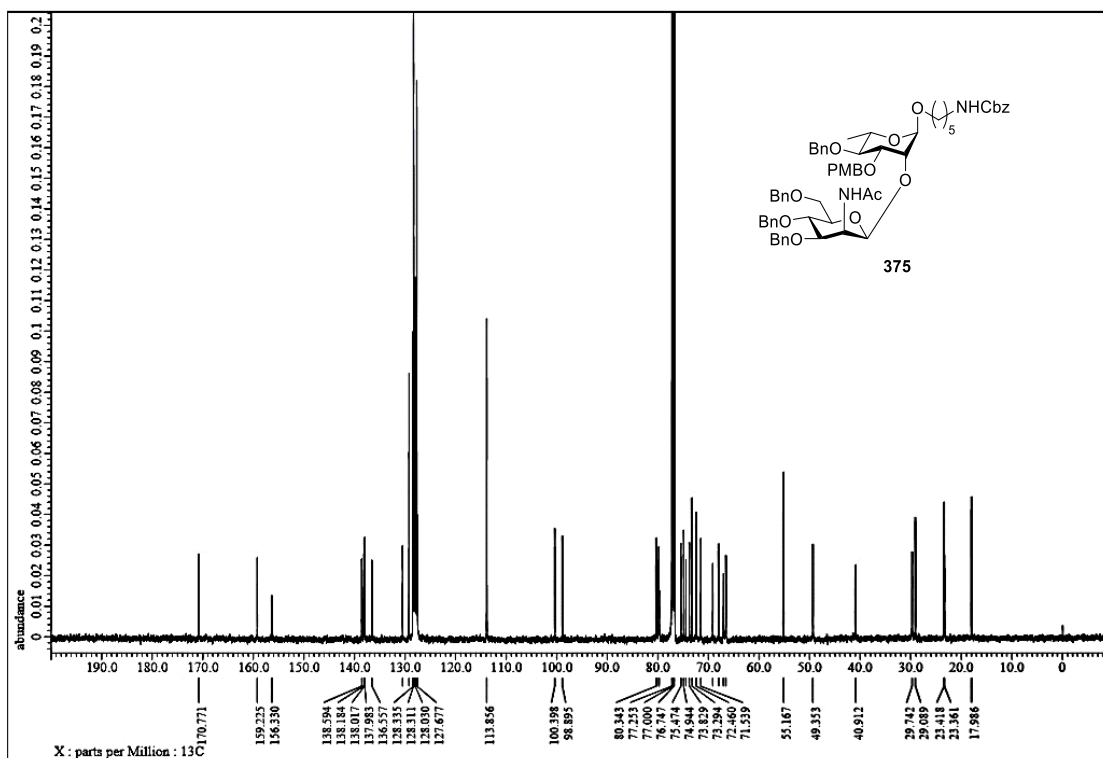
¹H-NMR spectrum of 374



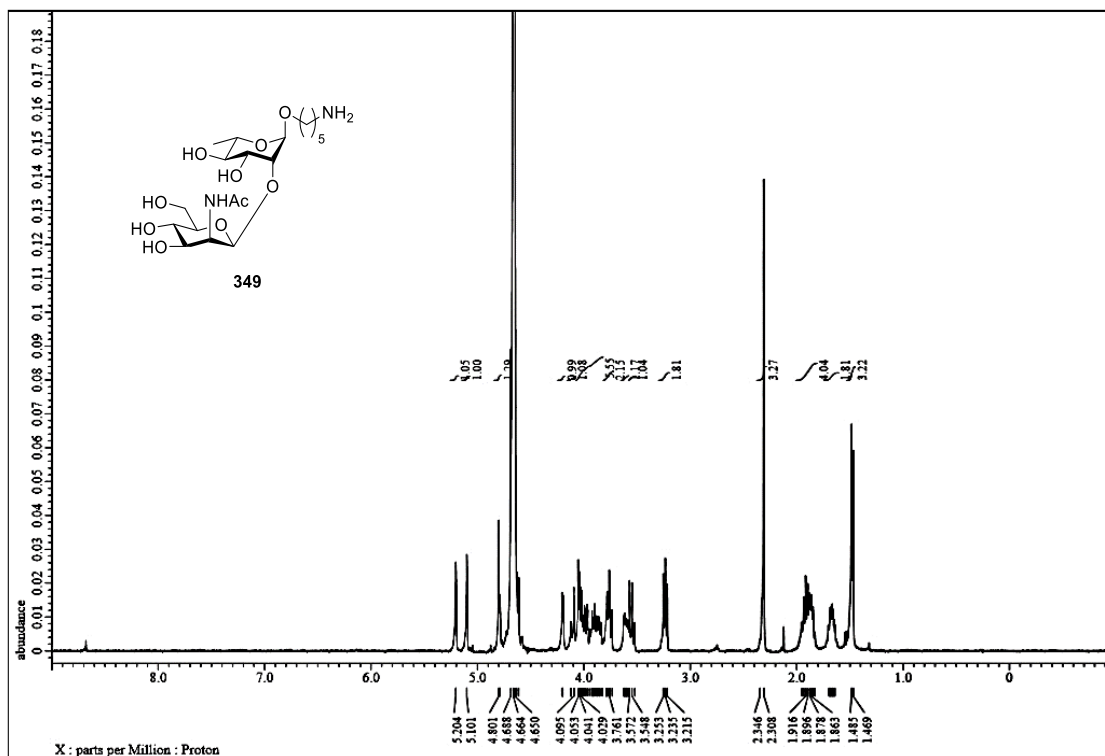
¹³C-NMR spectrum of 374



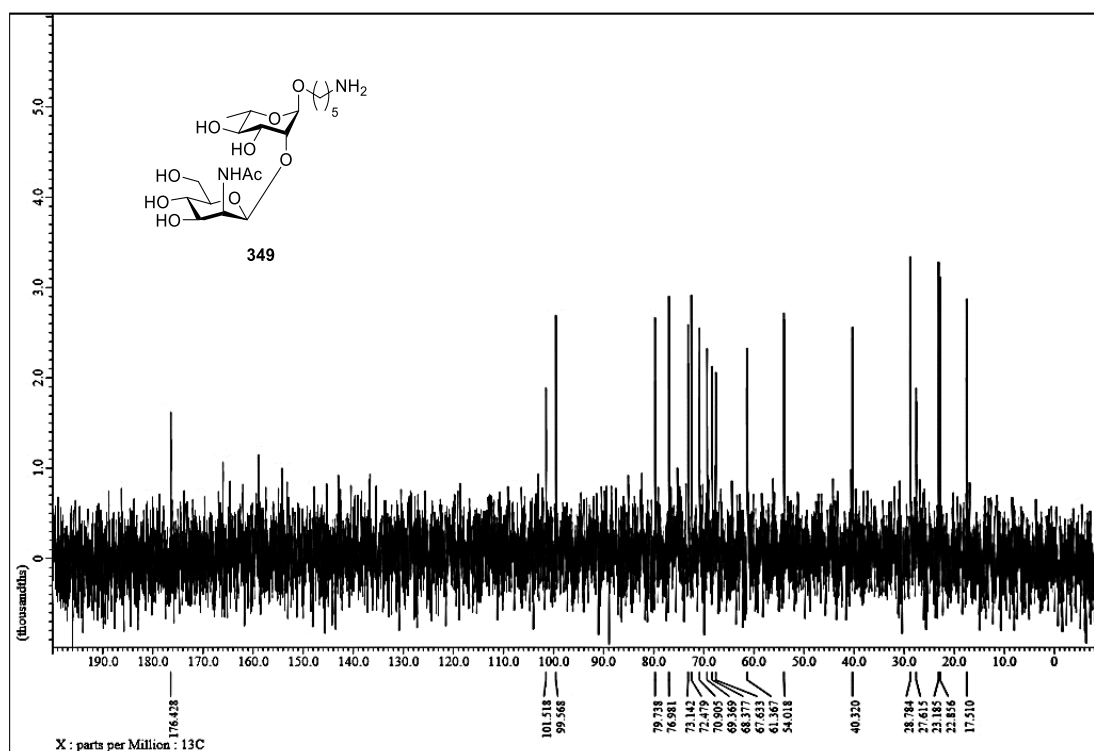
¹H-NMR spectrum of 375



¹³C-NMR spectrum of 375



¹H-NMR spectrum of 349



¹³C-NMR spectrum of 349

参考文献

- 1) *Carbohydrates in Chemistry and Biology*; Ernst, B., Hart, G. W., Sinaý, P., Eds; Wiley-VCH: Weinheim, 2000; Vols. 1-4.
- 2) Avery, O. T. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1917**, *14*, 126-127.
- 3) For selected reviews, see: a) Mettu, R.; Chen, C.-Y.; Wu, C.-Y. *J. Biomed. Sci.* **2020**, *27*, 9.; b) Micoli, F.; Bino, L. D.; Alfini, R.; Carboni, F.; Romano, M. R.; Adamo, R. *Expert Rev. Vaccines* **2019**, *18*, 881-895.
- 4) Heidelberger, M.; Mac, L. C.; Di Lapi, M. M. *J. Exp. Med.* **1948**, *88*, 829-832.
- 5) a) Austrian, R. *Rev. Infect. Dis.* **1989**, *11*, S598-S602.; b) Hilleman, M. R. *Vaccine* **2000**, *18*, 1436-1437.
- 6) Avery, O. T. *J. Exp. Med.* **1929**, *50*, 533-550.
- 7) Robbins, J. B.; Schneerson, R. *J. Infect. Dis.* **1990**, *161*, 821-832.
- 8) Verez-Bencomo, V.; Fernández-Santana, V.; Hardy, E.; Toledo, M. E.; Rodríguez, M. C., Heynngnezz, L.; Rodríguez, A.; Baly, A.; Herrera, L.; Izquierdo, M.; Villar, A.; Valdés, Y.; Cosme, K.; Deler, M. L.; Montane, M.; Garcia, E.; Ramos, A.; Aguilar, A.; Medina, E.; Toraño, G.; Sosa, I.; Hernandez, I.; Martínez, R.; Muzachio, A.; Carmenates, A.; Costa, L.; Cardose, F.; Campa, C. Diaz, M.; Roy, R. *Science* **2004**, *305*, 522-525.
- 9) van der Put, R. M.; Kim, T. H.; Guerreiro, C.; Thouron, F.; Hoogerhout, P.; Sansonetti, P. J.; Westdijk, J.; Stork, M.; Phalipon, A.; Mulard, L. A. *Bioconjug. Chem.* **2016**, *27*, 883-892.
- 10) *Handbook of Chemical Glycosylation: Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance*; Demchenko, A. V., Eds; Wiley-VCH: Weinheim, 2008.
- 11) For selected reviews, see: a) Sasaki, K.; Tohda, K. *Tetrahedron Lett.* **2018**, *59*, 496-503; b) Rai, D.; Kulkarni, S. S. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 3216-3228.
- 12) a) *Bacterial Lipopolysaccharides, Structure, Chemical Synthesis, Biogenesis and Interaction with Host Cells*; Knirel, Y. A., Valvano M. A., Eds; Springer, Wien, 2011; b) Stenutz, R.; Weintraub, A.; Widmalm, G. *FEMS Microbiol. Rev.* **2006**, *30*, 382-403.
- 13) Bati, G.; He, J.-X.; Pal, K. B.; Liu, X.-W. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*, 4006-2018.
- 14) Barresi, F.; Hindsgaul, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9376-9377.
- 15) a) Ishiwata, A.; Lee, Y. J.; Ito, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 3596-3608; b) Jia, X. G.; Demchenko, A. V. *Beilstein J. Org. Chem.* **2017**, *13*, 2028-2048.
- 16) Lee, Y. J.; Ishiwata, A.; Ito, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6330-6331.
- 17) Paulsen, H.; Lockhoff, O. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 3102-3114.
- 18) Paulsen, H.; Kutschker, W.; Lockhoff, O. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 3233-3241.
- 19) Paulsen, H.; Lebuhn, R. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 1047-1072.
- 20) a) Crich, D.; Sun, S. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4506-4507; b) Crich, D. Sun, S. *J. Org. Chem.*

- 1997, 62, 1198-1199.
- 21) Huang, M.; Garrett, G. E.; Birlirakis, N.; Bohé, L.; Pratt, D. A.; Crich, D. *Nat. Chem.* **2012**, 4, 663-667.
 - 22) Crich, D.; Li, L. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 773-781.
 - 23) Elferink, H.; Mensik, R. A.; White, P. B.; Boltje, T. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, 55, 11217-11220.
 - 24) Elferink, H.; Mensik, R. A.; Castelijns, W. W. A.; Jansen, O.; Bruekers, J. P. J.; Martens, J.; Oomens, J.; Rijs, A. M.; Boltje, T. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2019**, 58, 8746-8751.
 - 25) Hashimoto, Y.; Tanikawa, S.; Saito, R.; Sasaki, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, 138, 14840-14843.
 - 26) Wu, H.; Chen, L.; Zhang, Q.; Feng, Y.; Zu, Y.; Chai, Y. *Chem. Asian J.* **2019**, 14, 1424-1428.
 - 27) Srivastava, V. K.; Schuerch, C. *J. Org. Chem.* **1981**, 46, 1121-1126.
 - 28) a) Abdel-Rahman, A. A.-H.; Jonke, S.; Ei Ashry, E. S. H.; Schmidt, R. R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, 41, 2972-2974; b) Crich, D.; Hutton, T. K.; Banerjee, A.; Jayalath, P.; Picione, J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, 16, 105-119.
 - 29) Crich, D.; Picione, J. *J. Org. Chem.* **2003**, 5, 781-784.
 - 30) Hodosi, G.; Kovač, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 2335-2336.
 - 31) Nguyen, H.; Zhu, D.; Li, X.; Zhu, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, 55, 4767-4771.
 - 32) Meng, S.; Bhetuwal, B. R.; Nguyen, H.; Qi, X.; Fang, C.; Saybolt, K.; Li, X.; Liu, P.; Zhu, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 2291-2301.
 - 33) Izumi, S.; Kobayashi, Y.; Takemoto, Y. *Org. Lett.* **2019**, 21, 665-670.
 - 34) Zhu, Y.; Shen, Z.; Li, W.; Yu, B. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 14, 1536-1539.
 - 35) Park, Y.; Harper, K. C.; Kuhl, N.; Kwan, E. E.; Liu, R. Y.; Jacobsen, E. N. *Science* **2017**, 355, 162-166.
 - 36) Li, Q.; Levi, S. M.; Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, 142, 11865-11872.
 - 37) Yasomanee, J. P.; Demchenko, A. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 20097-20102.
 - 38) Pistorio, S. G.; Yasomanee, J. P.; Demchenko, A. V. *Org. Lett.* **2014**, 16, 716-719.
 - 39) Lei, J.-C.; Ruan, Y.-X.; Luo, S.; Yang, J.-S. *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 6377-6382.
 - 40) Yu, K.; Qiao, Y.; Gu, G.; Gao, J.; Cai, S.; Long, Z.; Guo, Z. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 14, 11462-11472.
 - 41) Cai, J.; Hu, J.; Qin, C.; Li, L.; Shen, D.; Tian, G.; Zou, X.; Seeberger, P. H.; Yin, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2020**, 59, 20529-20537.
 - 42) a) Erbing, C.; Svensson, S. *Carbohydr. Res.* **1975**, 44, 259-265; b) Erbing, C.; Kenne, L.; Lindberg, B. *Carbohydr. Res.* **1978**, 60, 400-403.
 - 43) Paulsen, H.; Kutschker, W. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 557-569.
 - 44) Van Steijn, A. M. P.; Kamerling, J. P.; Vliegthart, J. F. G. *J. Carbohydr. Chem.* **1992**, 11,

665-689.

- 45) Bedini, E.; Carabellese, A.; Barone, G.; Parrilli, M. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8064-8070.
- 46) Emmadi, M.; Khan, N.; Lykke, L.; Reppe, K.; Parameswarappa, S. G.; Lisboa, M. P.; Wienhold, S.-M.; Witzentrath, M.; Pereira, C. L.; Seeberger, P. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 14783-14791.
- 47) Behera, A.; Rai, D.; Kushwaha, D.; Kulkarni, S. S. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 5956-5959.
- 48) Shit, P.; Gucchait, A.; Misra, A. K. *Tetrahedron* **2019**, *75*, 130697.
- 49) Kundu, M.; Gucchait, A.; Misra, A. K. *Tetrahedron* **2020**, *76*, 130952.
- 50) Garegg, P. J.; Maloisel, J.-L.; Oscarson, S. *Synthesis*, **1995**, 409-414.
- 51) Niedbal, D. A.; Madsen, R. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 415-419.
- 52) Kaji, E.; Harita, N. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 53-56.
- 53) Muramatsu, W.; Yoshimatsu, H. *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 2518-2524.
- 54) Pelletier, G.; Zwicker, A.; Allen, C. L.; Schepartz, A.; Miller, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 3175-3182.
- 55) Oshima, K.; Aoyama, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2315-2316.
- 56) Kaji, E.; Nishino, T.; Ishige, K.; Ohya, Y.; Shirai, Y. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1570-1573.
- 57) Gouliaras, C.; Lee, D.; Chan, L.; Taylor, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13926-13929.
- 58) D'Angelo, K. A.; Taylor, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 11058-11066.
- 59) Tanaka, M.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5030-5033.
- 60) Tanaka, M.; Nashida, J.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 2288-2291.
- 61) Nashida, J.; Nishi, N.; Takahashi, Y.; Igarashi, M.; Hayashi, C.; Takahashi, D.; Toshima, K. *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 7281-7289.
- 62) Nakagawa, A.; Tanaka, M.; Hanamura, S.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2015**, *54*, 10935-10939; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 11085-11089.
- 63) Tanaka, M.; Nakagawa, A.; Nishi, N.; Iijima, K.; Sawa, R.; Takahashi, D.; Toshima, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 3644-3651.
- 64) Nishi, N.; Nashida, J.; Kaji, E.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 3018-3021.
- 65) Nishi, N.; Sueoka, K.; Iijima, K.; Sawa, R.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2018**, *57*, 13858-13862; *Angew. Chem.* **2018**, *57*, 14054-14058.
- 66) Nishi, N.; Seki, K.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2021**, *60*, 1789-1796.
- 67) Manabe, S.; Marui, Y.; Ito, Y. *Chem.-Eur. J.* **2003**, *9*, 1435-1447.
- 68) Bock, K.; Pedersen, C. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **1974**, *2*, 293-297.
- 69) Stenutz, R.; Weintraub, A.; Widmalm, G. *FEMS Microbiol. Rev.* **2006**, *30*, 382-403.
- 70) Nagy, G.; Pal, T. *Biol. Chem.* **2008**, *389*, 513-520.
- 71) Sau, A.; Misra, A. K. *PLoS One* **2012**, *7*, e37291.

- 72) Grayson, E. J.; Bernerdes, G. J. L.; Chalker, J. M.; Boutureira, O.; Koeppe, J. R.; Davis, B. *G. Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 4127-4132.
- 73) Lönn, H. *Carbohydr. Res.* **1985**, *139*, 105-113.
- 74) Alberch, L.; Cheng, G.; Seo, S.-K.; Li, X.; Boulineau, F. P.; Wei, A. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2532-2547.
- 75) Chen, Q.; Kong, F.; Cao, L. *Carbohydr. Res.* **1993**, *240*, 107-117.
- 76) Berti, P. J.; McCann, J. A. B. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 506-555.
- 77) a) Zhang, Y.; Bommuswamy, J.; Sinnott, M. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7557-7563; b) Speciale, G.; Farren-Dai, M.; Shidmoosavee, F. S.; Williams, S. J. Bennet, A. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 14012-14019; c) Lee, J. K.; Bain, A. D.; Berti, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3769-3776.
- 78) a) Lee, S.S.; Hong, S. Y.; Errey, J. C.; Izumi, A.; Davies, G. J.; Davis, B. G. *Nat. Chem. Biol.* **2011**, *7*, 631-638; b) Ardévol, A.; Rovira, C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 10897-10901.
- 79) Glendening, E. D.; Landis, C. R.; Weinhold, F. *J. Comput. Chem.* **2013**, *34*, 1429-1437.
- 80) Saunders, M.; Laidig, K. E.; Wolfsberg, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8989-8994.
- 81) Wahl, B.; O'Brien, K. L.; Greenbaum, A.; Majumder, A.; Liu, L.; Chu, Y.; Lukšić, I.; Nair, H.; McAllister, D. A.; Campbell, H.; Rudon, I.; Black, R.; Knoll, M. D. *Lancet Glob. Health* **2018**, *6*, e744-e757.
- 82) Johnson, H. L.; Deloria-Knoll, M.; Levine, O. S.; Stoszek, S. K.; Freimanis Hance, L.; Reithinger, R.; Muenz, L. R.; O'Brien, K. L. *PLoS Med.* **2010**, *7*, e1000348.
- 83) a) McIntosh, E. D.; Reinert, R. R. *Expert Rev. Vaccines* **2011**, *10*, 109-129; b) Vila-Corcoles, A.; Ochoa-Gondar, O.; Guzman, J. A.; Rodriguez-Blanco, T.; Salsench, E.; Fuentes, C. M. *BMC Infect. Dis.* **2010**, *10*, 73.
- 84) Jansson, P. E.; Lindberg, J.; Swarna Wimalasiri, K. M.; Henrichsen, J. *Carbohydr. Res.* **1991**, *217*, 171-180.
- 85) Kjeldsen, C.; Slott, S.; Elverdal, P. L.; Sheppard, C. L.; Kapatai, G.; Fry, N. K.; Skovsted, I. C.; Duus, J. Ø. *Carbohydr. Res.* **2018**, *463*, 24-31.
- 86) Lu, Y.; Hou, C.; Ren, J.; Xin, X.; Xu, H.; Pei, Y.; Dong, H.; Pei, Z. *Molecules* **2016**, *21*, 641/1-641/9.
- 87) Basu, N.; Mukherjee, M. M.; Ghosh, R. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 54084-54090.
- 88) For selected reviews, see: a) Guabiraba, R.; Schouler, C. *FEMS Microbiol. Lett.* **2015**, *362*, fiv118; b) Dho-Moulin, M.; Fairbrother, J. M. *Vet. Res.* **1999**, *30*, 299-316.
- 89) For selected reviews, see: a) Mellata, M. *Foodborne Pathog. Dis.* **2013**, *10*, 916-932; b) Nhung, N. T.; Chansiripornchai, N. Carrique-Mas, J. J. *Front. Vet. Sci.* **2017**, *4*, 1-17.
- 90) a) Johnson, T. J.; Kariyawasam, S.; Wannemuehler, Y.; Mangiamale, P.; Johnson, S. J.; Doetkott, C.; Skyberg, J. A.; Lynne, A. M.; Johnson, J. R.; Nolan, L. K.; *J. Bacteriol.* **2007**,

- 189, 3228-3236; b) Moulin-Schouleur, M.; Répérant, M.; Laurent, S.; Brée, A.; Mignon-Grasteau, S.; Germon, P.; Rasschaert, D.; Schouler, C. *J. Clin. Microbiol.* **2007**, *45*, 3366-3376.
- 91) a) Han, Y.; Liu, Q.; Yi, J.; Liang, K.; Wei, Y.; Kong, Q. *Pathog. Dis.* **2017**, *75*, ftx102; b) Han, Y.; Liu, Q.; Willias, S.; Liang, K.; Li, P.; Cheng, A.; Kong, Q. *Vaccine* **2018**, *36*, 1038-1046.
- 92) Jann, B.; Shashkov, A. S.; Gupta, D. S.; Panasencko, S. M.; Jann, K. *Carbohydr. Polym.* **1992**, *18*, 51-57.
- 93) Gupta, D. S.; Shashkov, A. S.; Jann, B.; Jann, K. *J. Bacteriol.* **1992**, *174*, 7963-7970.
- 94) Okada, Y.; Nagata, O.; Taira, M.; Yamada, H. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2755-2758.
- 95) Crich, D.; Vinogradova, O. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 3581-3584.
- 96) Bundle, D. R.; Josephson, S. *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 662-668.
- 97) Ziegler, T. *Carbohydr. Res.* **1994**, *262*, 195-212.
- 98) Hargreaves, J. M.; Guen, Y. L.; Guerreiro, C.; Descroix, K.; Mulard, L. A. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 7728-7749.
- 99) Wu, X.; Ling, C.-C.; Bundle, D. R. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4407-4410.
- 100) *Microbiologically Safe Foods*; E. Stein Eds: ED-Tech Press: Essex, 2018.
- 101) Davis, M. R.; Goldber, J. B. *J. Vis. Exp.* **2012**, *63*, e3916.
- 102) Cicero, D.; Varela, O.; De Lederkremer, R. M. *Tetrahedron*, **1990**, *46*, 1131-1144.
- 103) Umezawa, S.; Tsuchiya, T.; Tatsuta, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1966**, *39*, 1235-1243.
- 104) Kjøberg, O.; Neumann, K. *Acta Chem. Scand.* **1993**, *47*, 843-845.
- 105) Ziegler, T.; Vollmer, M.; Oberhoffner, S.; Eckhardt, E. *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 255-260.
- 106) Kihlberg, J.; Frejd, T.; Jansson, K.; Sundin, A.; Magnusson, G. *Carbohydr. Res.* **1988**, *176*, 271-286.
- 107) Ogawa, T.; Nukada, T.; Matsui, M. *Carbohydr. Res.* **1982**, *101*, 263-270.
- 108) Cramer, D. L.; Bera, S.; Studer, A. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 7403-7407.
- 109) Yadav, J. S.; Subba Reddy, U. V.; Subba Reddy, B. V. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 5984-5986.
- 110) Boonyarattanakalin, S.; Liu, X.; Michieletti, M.; Lepenies, B.; Seeberger, P. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16791-16799.
- 111) Cumpstey, I.; Fairbanks, J.; Redgrave, A. J. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 9061-9074.
- 112) Gorin, P. A. J. *Carbohydr. Res.* **1982**, *104*, 13-20.
- 113) Ágoston, K.; Kröger, L.; Dékány, G.; Thiem, J. *J. Carbohydr. Chem.* **2007**, *26*, 513-525.
- 114) Bucher, C.; Gilmour, R. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 8724-8728.
- 115) Lim, S. M.; Hill, N.; Myers, A. G. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5763-5765.
- 116) Richardson, A. C.; Williams, J. M. *Tetrahedron* **1967**, *23*, 1641-1646.
- 117) Wang, H.; She, J.; Zhang, L.-H.; Ye, X.-S. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5774-5777.
- 118) Schrödinger Release 2017-4: MacroModel, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2017.

119)(a) Schrödinger Release 2017-4: Jaguar, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2017. (b) Bochevarov, A. D.; Harder, E.; Hughes, T. F.; Greenwood, J. R.; Braden, D. A.; Philipp, D. M.; Rinaldo, D.; Halls, M. D.; Zhang, J.; Friesner, R. A. *Int. J. Quantum. Chem.* **2013**, *113*, 2110-2142.

謝辞

本研究の遂行及び本論文の作成に当たり、多大なご指導、ご鞭撻を賜りました、慶應義塾大学理工学部 戸嶋一敦教授に心より感謝するとともに、厚く御礼申し上げます。

本研究の遂行、本論文の作成、及び研究室生活について、多大なご指導、ご鞭撻を賜りました、慶應義塾大学理工学部 高橋大介准教授に深く感謝するとともに、厚く御礼申し上げます。

本論文の作成に当たり、貴重なご助言、ご指導を賜りました、慶應義塾大学理工学部 千田憲孝教授、末永聖武教授、藤本ゆかり教授に深く感謝致します。

本研究の遂行に当たり、貴重なご助言を賜りました、慶應義塾大学理工学部 梶英輔教授に深く感謝致します。

速度論的同位体効果の測定に当たり、多くのご助言を賜りました、微生物化学研究所 澤竜一博士、飯島季昌子博士、ブルカージャパン株式会社 堤遊博士に深く感謝致します。

DFT 計算を行うに当たり、数多くのご助言を賜りました、シュレーディンガー株式会社 吉留大輔氏に深く感謝致します。

鳥類病原性大腸菌 O1 の抗血清を作製するに当たり、数多くのご助言を賜りました、株式会社食環境衛生研究所 鈴木達也氏に深く感謝致します。

本研究は、本論第一章の共同研究者である梨子田淳希氏、本論第二章の共同研究者である末岡和博氏、本論第三章の共同研究者である関克典氏とともに行いました。心より感謝するとともに、厚く御礼申し上げます。

本研究を行うに当たり、多大なご指導、ご鞭撻を賜りました、田中将道博士、中川彰氏に深く感謝致します。

本研究の一部は、日本学術振興会特別研究員奨励費、笹川科学研究助成、慶應義塾大学博士課程学生研究支援プログラム、及び KLL 後期博士課程研究助成金のご支援によって行われました。深く感謝致します。

研究活動を行うに当たり、研究生生活を支えてくださった諸先輩方、同輩方、及び後輩方に深く感謝致します。

最後に、長い学生生活を支えてくださった家族に深く感謝致します。