

博士論文

リン原子修飾 α -糖 1-リン酸誘導体の立体選択的合成

野呂 美穂子

はじめに

本論文は、2011年4月から2014年3月の期間、東京大学大学院新領域創成科学研究科にて博士論文研究として行った研究をまとめたものである。

目次

序論	1
本論	
第一章 オキサザホスホリジンモノマーユニットの合成	10
第一節 α -選択的ホスフィチル化反応を経由する合成法	11
1-1 ヨウ化糖を用いた α -選択的ホスフィチル化反応	11
1-2 合成戦略	12
1-3 オキサザホスホリジン環を有するホスフィチル化剤を用いたモノマーユニットの合成	13
1-4 ホスホロジアミダイト誘導体を経由するモノマーユニットの合成	16
第二節 2-クロロオキサザホスホリジン誘導体を用いる合成法	23
2-1 糖誘導体のアノマー水酸基を求核種とするホスフィチル化反応	24
2-2 アノマー水酸基のホスフィチル化によるオキサザホスホリジンモノマーユニットの合成	25
第二章 リン原子修飾 2 量体アナログの液相合成	31
第一節 グリコシルボラノホスフェート 2 量体の合成	32
1-1 不斉補助基除去の条件検討	33
1-2 精製法の検討、各種 2 量体の収率及び立体化学的純度の評価	35
第二節 グリコシルホスホロチオエート 2 量体の合成	37
2-1 硫化条件の検討	37
2-2 各種 2 量体の収率及び立体化学的純度の評価	40
総括	41
実験の部	43
参考文献	62

原著論文 65

謝辭 66

略語表

Bn = benzyl

Bz = benzoyl

*i*Pr = isopropyl

DIPEA = *N, N*-diisopropylethylamine

CMPT = *N*-(cyanomethyl)pyrrolidinium trifluoromethanesulfonate

DCI = 4,5-dicyanoimidazole

DTD = dimethylthiuram disulfide

DBU = 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene

TEA = triethylamine

TEAB = triethylammonium bicarbonate

序論

1. 天然に存在する糖 1-リン酸誘導体

「糖 1-リン酸誘導体」とは、糖のアノマー位にリン酸エステル部位を有する誘導体である。このような誘導体は、様々な生体分子の構成成分として存在しており、具体的には、病原性細菌や寄生性原虫の細胞表面に露出し、分子認識や他の細胞との接着等に関与することから、細胞の感染性や免疫原性等の性質を決定づけるもの、あるいは、生体内で、糖及び糖 1-リン酸ユニットの供給源として、糖鎖及び糖リン酸鎖の生合成経路に深く関わるものの 2 つに大別される。

前者に関しては、多くの場合、糖部位とホスホジエステル部位が長鎖繰り返し構造を形成している¹。これらは、赤痢菌 (*Shigella boydii*) や大腸菌 (*Escherichia coli*) 等のグラム陰性細菌の細胞壁に存在するリポ多糖類 (LPS) や、リポオリゴ糖類 (LOS)、ブドウ球菌 (*Staphylococcus*) 等のグラム陽性細菌の細胞壁に存在するアニオン性糖鎖ポリマーに含有される。これらの繰り返し構造は、細胞同士の接着や親水性に深く関与する他、抗原性を有することが知られている (LPS 中の糖 1-リン酸繰り返しユニットのことを特に O 抗原と呼ぶ)。

また、一部の細菌は、細胞壁を覆うような粘液層 (莢膜) を有し、上述の抗原決定基を隠すことによって、宿主の免疫機構からの回避を行う。一方で、莢膜を構成する多糖類自体に由来する抗原性 (莢膜抗原 (K 抗原)) も存在し、大腸菌 (*Escherichia coli*) や髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*)、肺炎レンサ球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) をはじめとするの一部の細菌類の K 抗原には、糖 1-リン酸繰り返し構造が含まれることが知られている (Figure 1)¹⁻⁴。

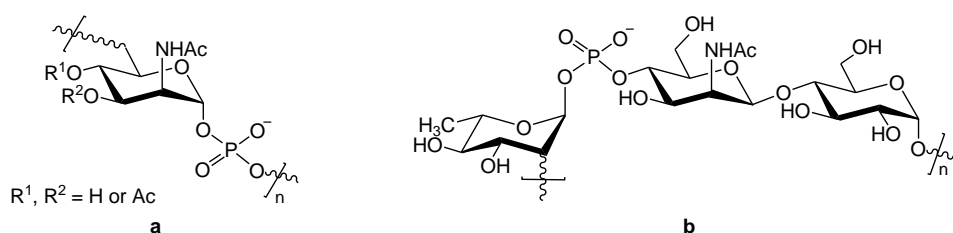


Figure 1 Capsular polysaccharides of *Neisseria meningitidis* (a) and *Streptococcus pneumoniae* (b).

また、糖 1-リン酸繰り返し構造を含む糖衣・分泌タンパクを有する寄生性原虫の例としては、*Leishmania* が挙げられる^{1, 5-8}。*Leishmania* は、脊椎動物の細胞内に寄生してリーシュマニア症という重篤な感染症を引き起こす寄生性原虫である。*Leishmania* の細胞表面は、リポホスホグリカン (LPG) から成る糖衣・分泌

タンパクに覆われており、それらは感染先の環境において、細胞内部を保護する機能を有する。そして、その LPG の部分構造として、ガラクトシルマンノシルホスフェート繰り返し構造が含まれることが知られている (Figure 2)。

他の寄生性原虫の中には、マラリア (*Plasmodium falciparum* etc.) やクルーズトリパノソーマ (*Trypanosoma*) のように、糖衣・分泌タンパク中に、グリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) と呼ばれる、糖鎖の一部にリン酸部位が結合した部分構造を有するものが複数存在する (Figure 3)^{9,10} が、糖 1-リン酸構造を繰り返しユニットとして含有することが広く知られているのは、*Leishmania* 属のみである。現在までに、この部分構造を標的としたワクチンの開発が試みられているが、未だ利用可能なものはない。

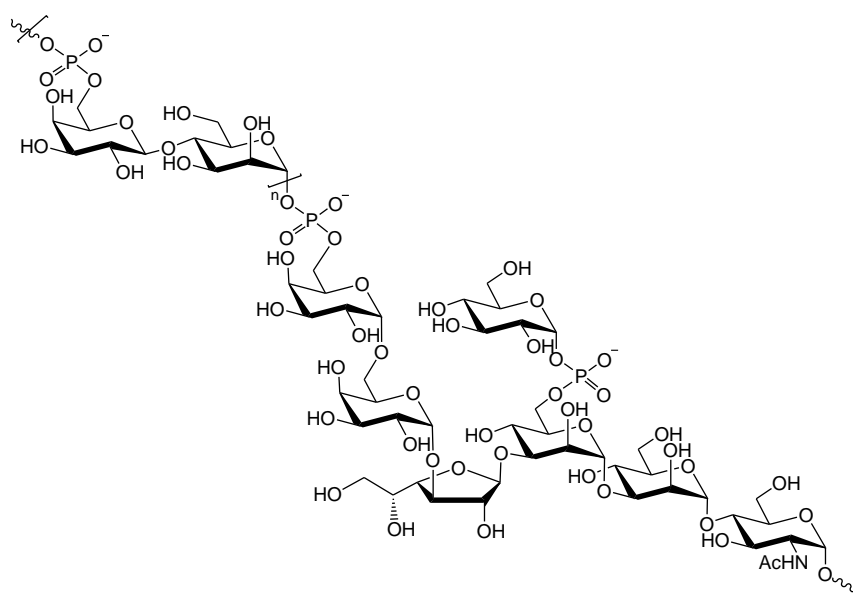


Figure 2 Partial structure in glycolyx of *Leishmania*.

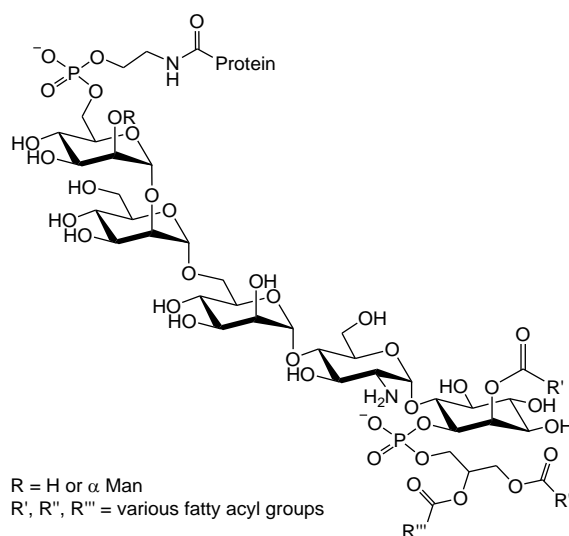


Figure 3 Glycosylphosphatidylinositol (GPI) of *P. falciparum*.

一方で、生体分子の生合成経路において大きな役割を担う糖 1-リン酸誘導体の例としては、糖とヌクレオシドがモノリン酸またはジリン酸を介して結合した、糖ヌクレオチドが挙げられる (Figure 4)¹¹。これらは糖転移酵素の基質となる活性な糖供与体であり、生体内において、上述の繰り返し構造を含む糖リン酸鎖・糖鎖の伸長反応に深く関わる誘導体である。

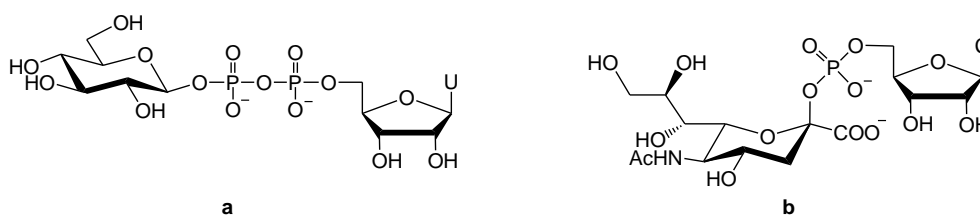


Figure 4 UDP-glucose (a) and CMP-sialic acid (b).

以上のように、糖 1-リン酸誘導体は、種々の重要な生命現象に関与することが知られている。しかし一方で、その作用機序には未だ解明されていない部分が多い。このため、糖 1-リン酸部位の関わる生体反応のバイオメカニズムの解明や、糖 1-リン酸誘導体を標的とした、ワクチン・酵素阻害剤をはじめとする医薬品開発への応用を目的とする研究が数多く行われている。

このような研究では、対象とする生体分子を効率的に入手することが 1 つの課題となる。一般に、生体分子を入手する手法には、生体から抽出する方法、酵素法、化学合成法等があるが、中でも化学合成法は、純度の高い目的物を大量スケールで入手することが可能であるという点で最も効率的な方法であるといえる¹。さらに、化学合成法は、天然型分子のみならず、一部に化学修飾を施した非天然型アナログの入手が可能であるという利点を有する。

2. 非天然型糖 1-リン酸アナログ

生体内に存在する糖 1-リン酸構造を対象とした研究では、これまでに、糖骨格や糖水酸基、環内酸素原子、リン酸部位等、天然型分子の様々な箇所に改変を加えた非天然型アナログが報告されている¹²⁻¹⁷。非天然型アナログは、その化学的、生物学的性質を天然型のものと比較することにより、元となる生体分子の生物学的機能や、生理活性発現の機構に関する情報を与える他、それ自体が、天然型には無い機能・性質を有する医薬品候補分子となり得る。以下にそれらの報告例の一部を示す。

まず、細胞表面に部分構造として含まれる糖 1-リン酸部位を模倣した非天然型

アナログの報告例としては、2000年に、Routierらが、寄生性原虫 *Leishmania* の糖衣に存在する糖 1-リン酸繰り返し構造の一部をターゲットとし、多種多様な非天然型アナログを用いて生理活性評価を行っている¹²。彼らの目的は、この糖リン酸鎖を伸長する酵素のアクセプターに対する基質特異性、即ち、アクセプターとなる鎖の末端を基質として認識するために必要な構造を解明することである (Figure 5)(背 12-3)。2007年には、Torres-Sanchezらが、髄膜炎菌の莢膜多糖に含まれる糖 1-リン酸繰り返し構造をターゲットとし、アノマー位の酸素原子をメチレン基に置換したアルキルホスフェートアナログを用い、そのポリクローナル抗体との親和性を評価している (Figure 6, b-d)¹⁸。これに加え、2009年には、Tomaらが、同様のターゲット構造の環内酸素原子をメチレン基に置換したカルバ糖アナログの合成を報告している (Figure 6, e)¹⁹。この他、2008年には、Greimelらが黄色ブドウ球菌の細胞表面に含まれるホスファチジルグリコシドの構造を模倣した複数のアナログを合成し、モノクローナル抗体との親和性を評価することにより、その抗原認識に必要とされる鍵構造の解明を行った例も報告されている (Figure 7)²⁰。

また、糖ヌクレオチドの非天然型アナログに関する報告例としては、1988年、Singhらが、UDP-glucose のリン酸部位に化学修飾を施した非天然型アナログを合成し、それに対する糖転移酵素の活性を評価することによって、その基質特異性に関する考察を行っている (Figure 8, a)¹³。また、Yuasaらは、UDP-galactose の環内酸素原子を硫黄原子やメチレン基で置換したチア糖アナログ、カルバ糖アナログを合成し、同様に糖転移酵素の基質としての生理活性、及び、酵素阻害剤としての有用性を評価している (Figure 8, b)²¹⁻²⁴。

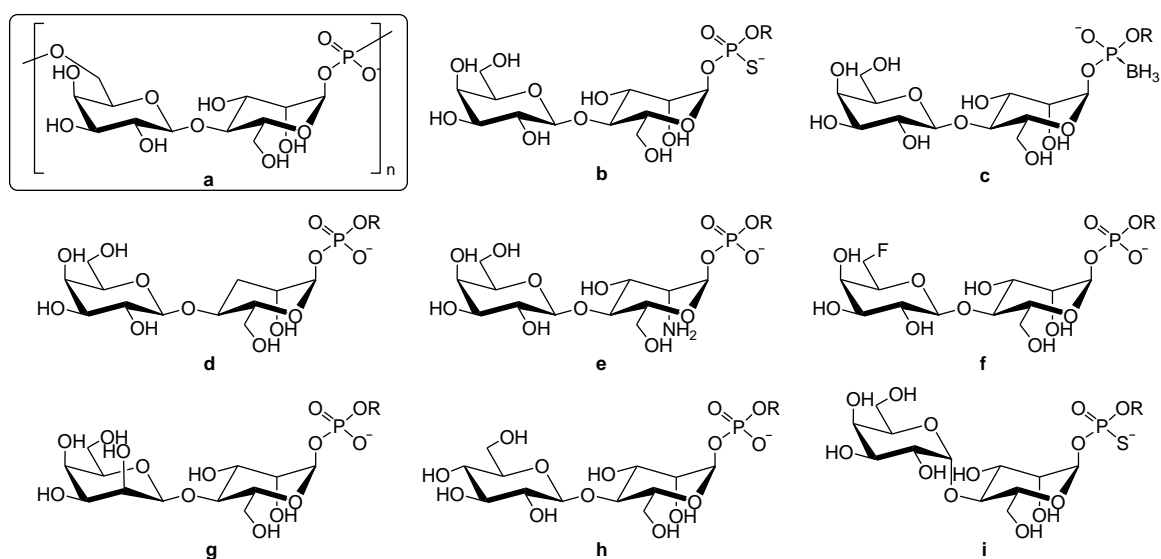


Figure 5 β-D-Gal-(1→4)-α-D-Man phosphosaccharide repeat structure of *Leishmania* (a) and a series of analogs (b-i).

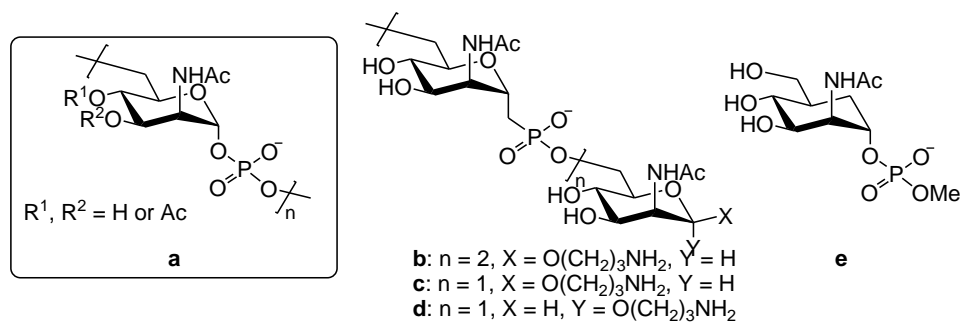


Figure 6 Repeating units of capsular polysaccharides (CPS) of *Neisseria meningitidis* (a) and a series of their analogs (b-e).

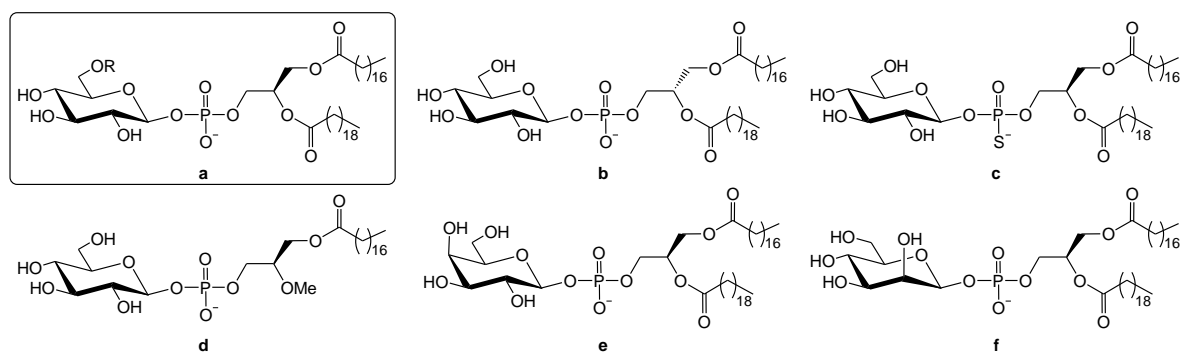


Figure 7 Phosphatidylglucosides in the lipid fraction of *Staphylococcus aureus* and a series of their analogs (b-f).

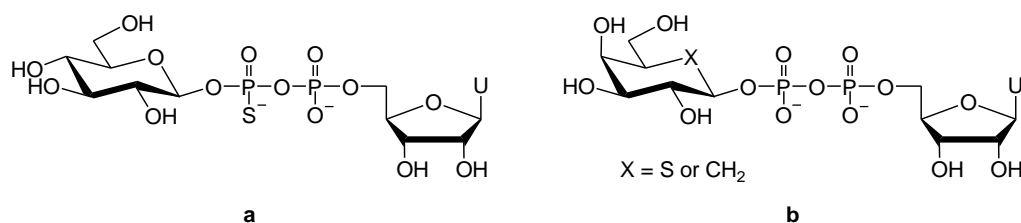


Figure 8 Analogs of UDP-glucose (a) and UDP-galactose (b).

このように、様々な生体機能を担う糖 1-リン酸誘導体に関する知見を深める上では、非天然型アナログは欠かすことのできないツールであり、その薬理活性が有望視される人工生体分子として広く研究が進められている。

3. リン原子修飾糖 1-リン酸誘導体

上述したような種々の非天然型糖 1-リン酸誘導体の中でも、特に本研究では、リン原子の非架橋酸素原子の1つを他の原子または官能基に置換した「リン原子修

飾アナログ」に着目した (Figure 9)。

糖 1-リン酸誘導体のリン酸部位は、他の生体分子からの認識等、生体反応の鍵となる役割を担うと考えられていることから、その部位に化学修飾を施したアナログは、それらを解明するためのプローブとして極めて有用である。また、糖 1-リン酸誘導体の合成化学上の問題点として、化学的安定性の低さが挙げられるが、非架橋酸素原子の 1 つを他の官能基に置換することによって、その化学的安定性が向上した例も報告されている。

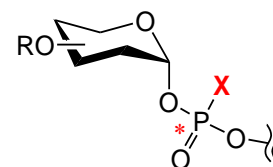
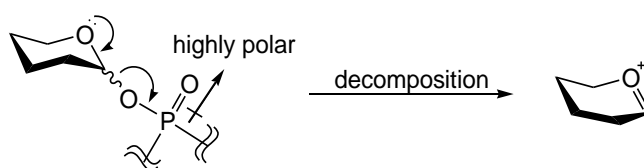


Figure 9 P-modified glycosyl phosphates.

一般に、糖 1-リン酸誘導体の化学的不安定性は、P=O 結合が大きく分極していることによる、リン酸部位の電子求引効果と、糖骨格の環内酸素原子の非共有電子対に由来する、アノマー位への電子供与効果 (アノマー効果) に起因するものであり、この結果、合成過程においてリンオキシグリコシド結合の開裂が容易に起こる (Scheme 1)。これが原因となり、従来、複雑なオリゴホスホグリカンの合成は困難であり、その効率的合成手法の確立は、糖 1-リン酸誘導体を扱う研究分野で大きな課題となっている。しかし、リン原子修飾アナログの 1 つとして知られる、リン酸部位の非架橋酸素原子の 1 つをホウ素に置換したグリコシルボラノホスフェート誘導体は、天然型の誘導体を上回る化学的安定性を有することが見出されている^{25, 26}。これは、P=O 結合が P→BH₃ 結合に置換されたことにより、リン酸部位の電子求引効果が緩和され²⁷、脱離反応が抑制されたためであると考えられている。この報告例のように、リン原子修飾アナログは、天然型には無い性質を付与されることによって、天然型を上回る機能を有する人工生体分子ともなり得る。

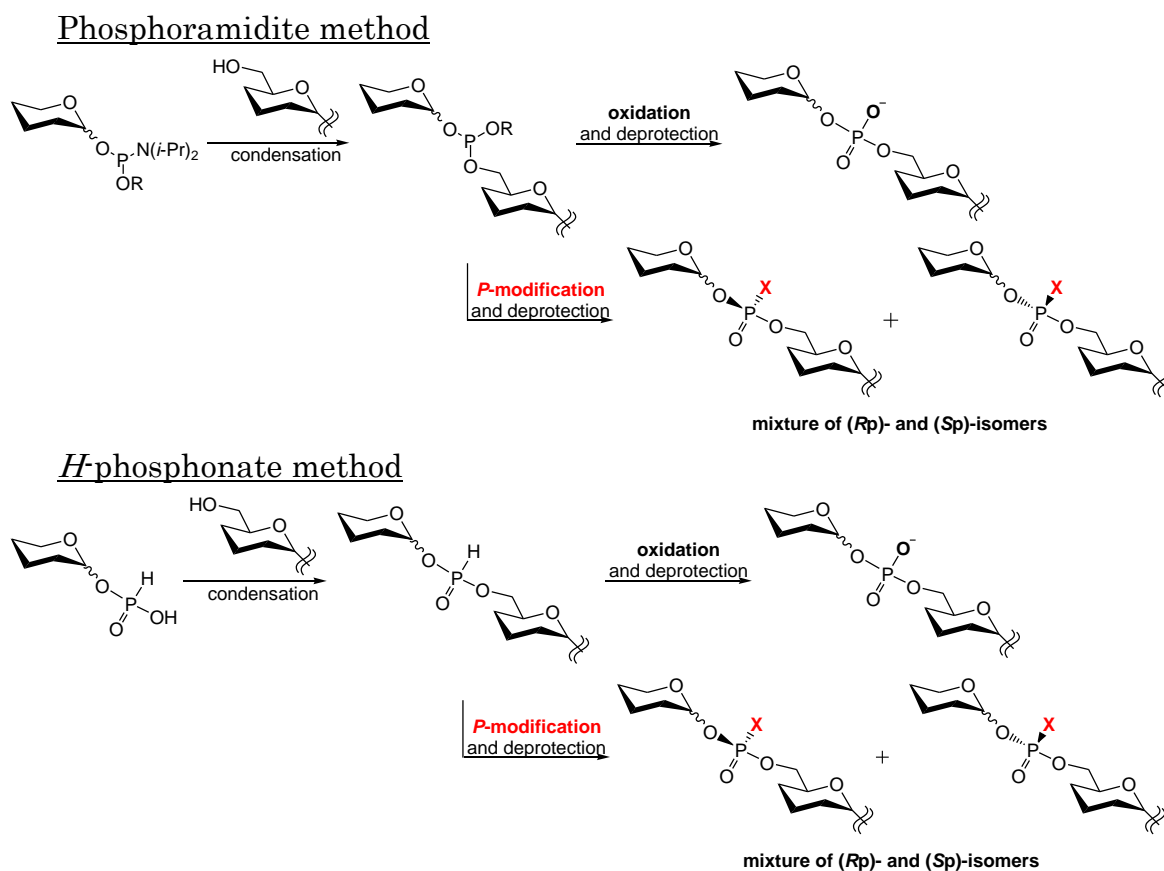
Scheme 1 Decomposition of glycosyl phosphatederivatives.



一方、リン原子修飾アナログは、そのリン原子が不斉点となることにより、合成の過程で 2 種類の立体異性体が生成し得る。一般に、立体異性体間では、類似の物理化学的性質を有する一方で、互いに大きく異なる生理活性を有する例が多い。生体反応の作用機序に関する詳細な考察には、他の生体分子との相互作用の様式や分子同士配置、複合体の立体構造等の知見が大きな意味を持つことから、リン原子の立体制御が新たな課題となる。また、医薬品候補分子としての糖 1-リン酸アナログの設計においても、リン原子の絶対立体配置に依存した薬理活性、細胞毒性の発現の差は十分に考えられる。以上の理由から、いずれの目的にせよ、立体化学的に純粋なリン原子修飾糖 1-リン酸アナログの入手が大きな課題となる。

リン原子に立体選択的化学修飾を施す試みは、核酸化学の分野では既に盛んに行なわれている^{28,29}。実際に、立体化学的に純粋なリン原子修飾型核酸は、核酸の様々な生体機能の解明に貢献し、また、天然型よりも高い酵素耐性や脂溶性、さらに新たな機能を付与する可能性を持つことから、医薬への応用研究が盛んに行なわれている。しかし一方で、糖 1-リン酸誘導体のリン原子の立体化学を化学合成法によって制御した例は報告されていない。これまでに報告されているリン原子修飾糖 1-リン酸誘導体の合成は、*H*-ホスホネート法やホスホロアミダイト法等の亜リン酸誘導体を用いる一般的な糖 1-リン酸誘導体の合成手法において、リン原子の酸化の工程を、化学修飾反応に置き換えることによって行なわれている (Scheme 2)。しかし、この手法では、リン原子の立体化学を制御することができず、これまでにそのような化学合成法によって得られた糖 1-リン酸アナログは、立体異性体混合物のまま検討に用いられている。また、酵素法によって得た片方の立体異性体のみを用い、生理活性評価を行った例も存在するが、系統だった知見は得られておらず、効率的とは言えない¹³。このため、リン原子の立体選択的化学修飾を施した糖 1-リン酸誘導体の合成法の開発が求められている。

Scheme 2 Synthesis of glycosyl phosphates and their *P*-modified analogs.

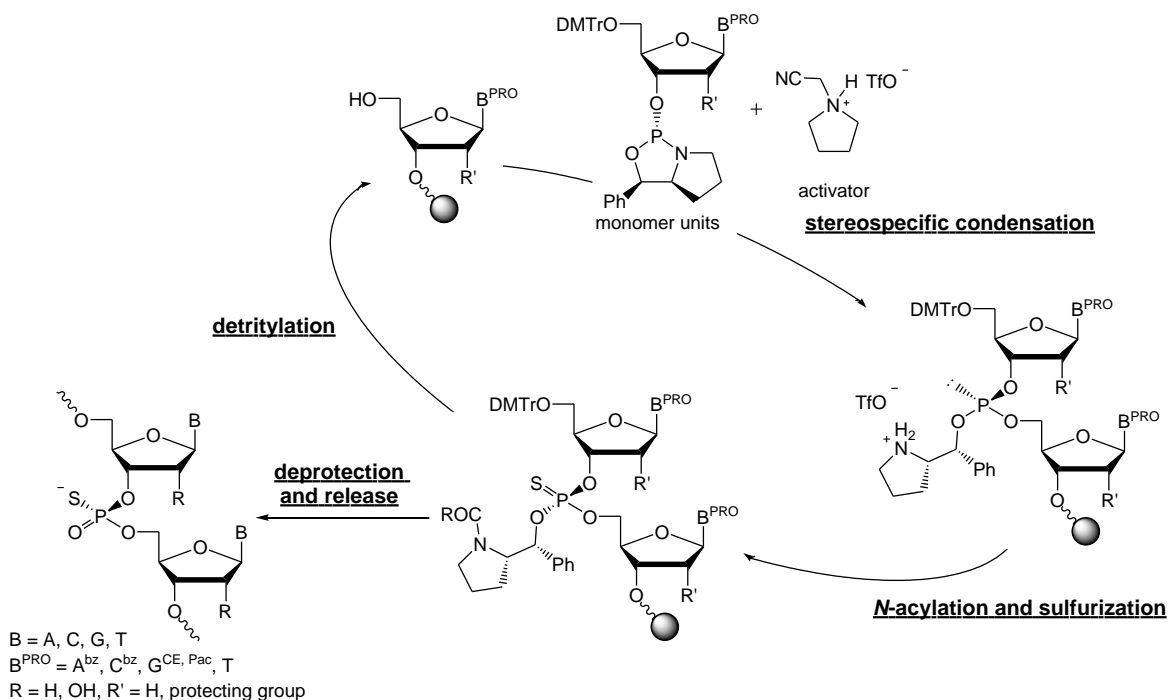


4. オキサザホスホリジン法

そこで、本研究では、糖 1-リン酸誘導体との構造上の類似性から、核酸の分野において既に確立されているリン原子修飾アナログの立体選択的合成手法である、「オキサザホスホリジン法」に着目した。

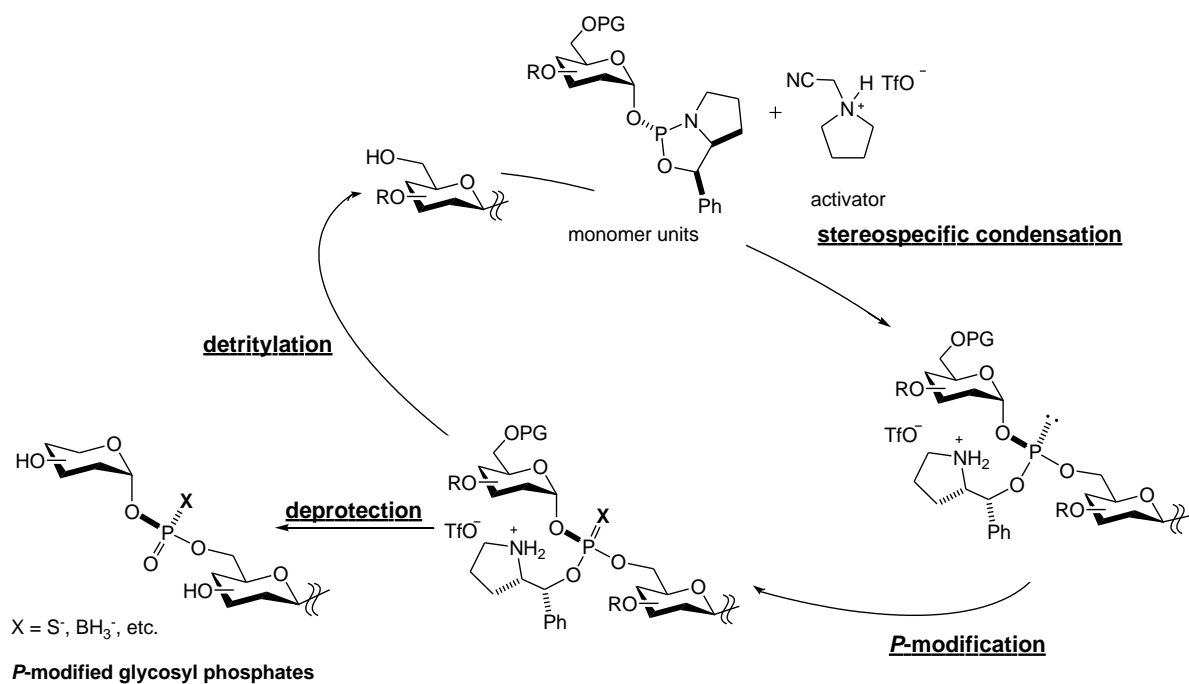
オキサザホスホリジン法とは、代表的な核酸合成手法の 1 つであるホスホロアミダイト法を応用した手法であり、立体化学的に純粋な環状オキサザホスホリジン部位を有するモノマーユニットを用い、酸性活性化剤存在下で縮合、鎖長伸長を行うことによって、オリゴマーを合成する手法である。この際、縮合反応中におけるエピメリ化を避けるために、求核性の低い酸性活性化剤を用いることにより、モノマーユニットのリン原子の立体化学的純度を損なうことなく、オリゴマーを入手することが可能となる (Scheme 3)。Wada らは本手法により、核酸医薬への応用を目的としたホスホロチオエート DNA、RNA、及び、ボラノホスフェート DNA の合成手法を確立している³⁰⁻³²。

Scheme 3



本研究では、この手法を糖化学の分野に応用し、リン原子に立体選択的修飾を施した α -糖 1-リン酸誘導体の新規合成法の開発を行うこととした (Scheme 4)。

Scheme 4



本論

第一章 オキサザホスホリジンモノマーユニットの合成

オキサザホスホリジン法においてまず必要とされるのは、立体化学的に純粋なモノマーユニットの入手である。

現在、核酸化学の分野において用いられるオキサザホスホリジンモノマーユニットは、3'位に遊離の水酸基を有する核酸誘導体を、2-クロロオキサザホスホリジン誘導体によりホスフィチル化することで合成される手法が最も一般的である。

これまでに、不斉補助基であるオキサザホスホリジン環上に様々な官能基を有する、多様な骨格のモノマーユニットが報告されているが、本研究では主に、Figure 10のように、不斉補助基が二環式構造を有するモノマーユニットの合成を目指すこととした。このような構造の不斉補助基を有するモノマーユニットは、縮合反応条件下でエピメリ化を伴わず、モノマーユニットの立体化学的純度を保持したまま、高効率的なオリゴマーの合成が可能であることが知られている。

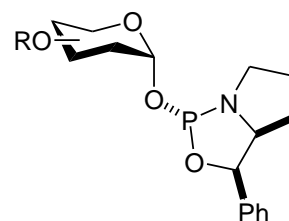


Figure 10 Design of oxazaphospholidine monomer unit.

また、オキサザホスホリジン法を糖 1-リン酸誘導体の合成法に応用する際に、新たに考慮すべき課題として、アノマー位の立体化学の制御が挙げられる。序論に示した例からもわかるように、生体内に存在する糖 1-リン酸誘導体は、その多くが α 体であるため、本研究でも α -糖 1-リン酸誘導体を合成標的とする。一般に、糖鎖合成化学の分野において、アノマー位の立体制御は最も困難を伴う課題である。特に、糖 1-リン酸誘導体の立体選択的合成法の報告例は数少なく、その適用範囲も限定されている。そこで本研究では、いかにアノマー位の立体化学が α に制御されたモノマーユニットを入手するかという点に焦点を当て、

- ① ハロゲン化糖の α -選択的ホスフィチル化反応を経由してモノマーユニットを合成する方法 (第一節)
- ② α 体優先的に晶出させた 1-ヒドロキシ体を前駆体とし、その絶対立体配置を保持してモノマーユニットを合成する方法 (第二節)

に大別される手法を試みた。

いう反応機構が提唱されている (Scheme 6)。

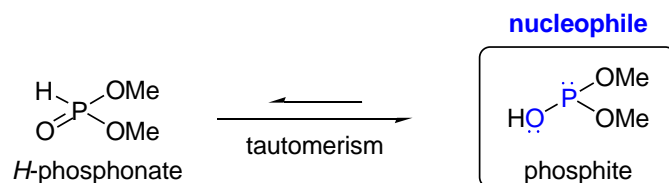
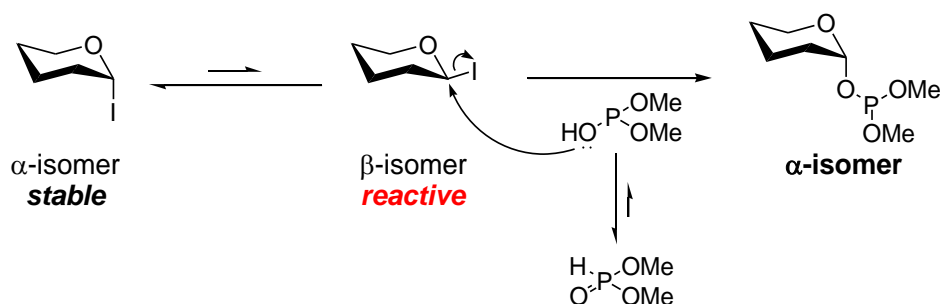


Figure 11 Tautomerism between *H*-phosphonates and phosphites.

Scheme 6 Plausible reaction mechanism of α -selective phosphitylation.



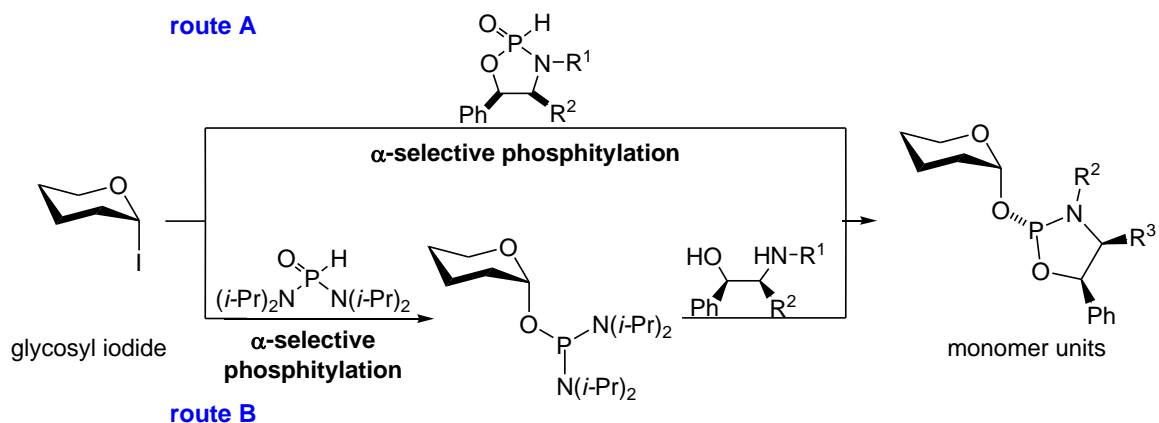
なお、本手法は、求核種にホスホンアミデート誘導体を用いた、 α -グリコシルホスホロアミダイト誘導体の合成においても、同様に高い収率、立体選択性を発揮することが報告されている。

1-2 合成戦略

上述の α -選択的ホスフィチル化反応を利用し、モノマーユニットのアノマー位の立体化学を制御するという戦略の下、以下の2通りの経路を設計した (Scheme 7)。

- ① 環構造を有するホスホンアミデート誘導体によって、糖のアノマー位にオキサザホスホリジン環を α -選択的に導入する経路 (route A)
- ② α -選択的に合成したホスホンジアミデート誘導体とアミノアルコールとを縮合し、オキサザホスホリジン環構造を形成する経路 (route B)

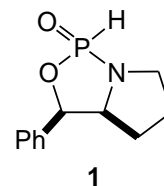
Scheme 7 Synthetic strategy of monomer units via α -selective phosphitylation.



1-3 オキサザホスホリジン環を有するホスフィチル化剤を用いたモノマーユニットの合成

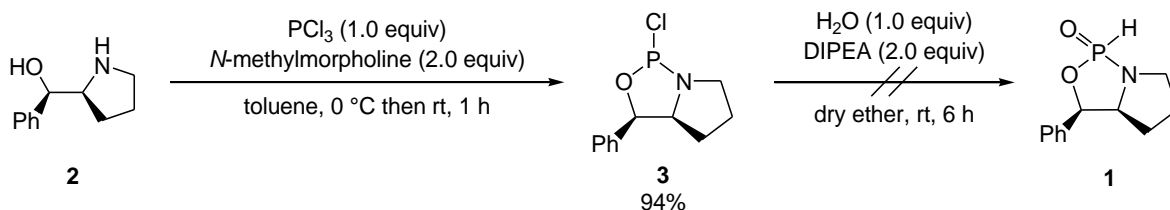
1-3-1 環状ホスフィチル化剤の合成

Scheme 7-route A による、二環式のオキサザホスホリジン骨格を有するモノマーユニットの合成を目的とし、右図のようなホスフィチル化剤 **1** を設計した。



まず、三塩化リンとアミノアルコール **2** から合成した 2-クロロオキサザホスホリジン **3** を加水分解することによって、目的とするホスホンアミデート誘導体 **1** を得る手法を試みた (Scheme 8)。

Scheme 8



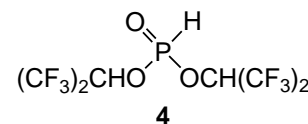
しかし、2-クロロオキサザホスホリジン **3** の加水分解反応では、**3** の消失は確認されたものの、目的物 **1** の生成を確認することはできず、加水分解体及び同定できない副生成物の生成が観測された。副生成物の単離を試みたが、分解し、同定には至らなかった。

上記の合成法では、**3** の加水分解を行なうために反応に水を用いたが、検討の結果、目的物である **1** 自体が加水分解されやすい不安定な化合物である可能性が示唆

された。そこで、反応系中や後処理の操作に水を用いない手法として、脱離基を有する *H*-ホスホネート誘導体とアミノアルコールとを縮合することによってオキサザホスホリジン環を形成させ、目的とするホスフィチル化剤を得る経路を考えた。

前駆体となる *H*-ホスホネート誘導体の脱離基には、ヘキサフルオロイソプロピルオキシ基を選択し、右図 4 のような化合物を設計した。

ヘキサフルオロイソプロピルオキシ基を用いる利点は、末端に極めて強い電子求引性基を有することから高い脱離能を有する点、また、脱離後に生成する 2-ヘキサフルオロイソプロパノールの沸点が 59 °C であるため、容易に減圧溜去可能であるという点である。これにより、抽出操作やシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製操作等、目的物の加水分解が懸念される操作を経ることなく、高純度のホスフィチル化剤を入手できると考えた。



また、目的とするホスフィチル化剤の構造としては、既述のホスホンアミデート誘導体 1 の他、これに類似する構造を有し、5 位にフェニル基を有さない *H*-ホスホネート誘導体 5、6 を設計した (Figure 12)。5 では、5 位のフェニル基を無くすることによってフェニル基が有する電子的な効果が失われるため、立体選択性は 1 に劣ると考えられるが、ここでは、アミノアルコールの立体的な嵩高さを低減することで 3 との縮合反応が起こり易くなることを期待した。また、クロライドの加水分解によるホスフィチル化剤 1 の合成検討で、系中に目的物の生成が一切確認されなかったことから、立体的な歪み等が原因となって 2 環式骨格を有する *H*-ホスホネート誘導体 1 の構造が形成し得ないという可能性を考慮し、単環式骨格を有する *H*-ホスホネート誘導体 6 を設計した。

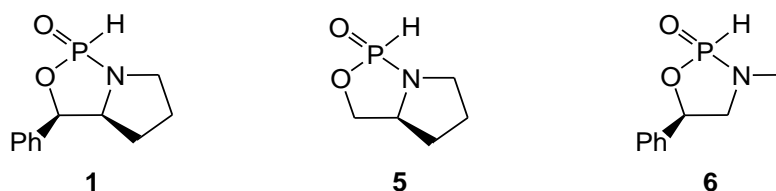


Figure 12 Design of phosphitylating agents.

文献既知の手法により、ホスホンアミデート誘導体 1、5、6 の前駆体 4 を合成し、これを 1 当量のアミノアルコールと反応させることによって環状ホスフィチル化剤の合成を試みた (Table 1)。

この結果、2 環式骨格を有する *H*-ホスホネート誘導体 1、5 (entry 1-3) は系中での生成を観測することができなかった。一方、単環式骨格を有する 6 は定量的に得ることができたが、濃縮操作中に分解することがわかった (entry 4)。これらの結果から、このようなオキサザホスホリジン環を有するホスホンアミデート誘導体は構造的に極めて不安定な化合物であり、反応系中では定量的な生成が確認できた 6 に関しても、共存する脱離基由来のアルコール誘導体の吸湿等によって僅かに共

存する水分子により、濃縮の過程で加水分解するものと考えられる。

Table 1 Synthesis of phosphitylating agents.

entry	amino alcohol	reaction conditions	target compound	yield ^a (diastereo ratio ^a)
1		CH ₂ Cl ₂ , rt, 30 min		—
2	2	—, 70 °C, 40 h•	1	—
3		CH ₂ Cl ₂ , rt, 30 min		—
4		CH ₂ Cl ₂ , rt, 30 min		quant (52:48)

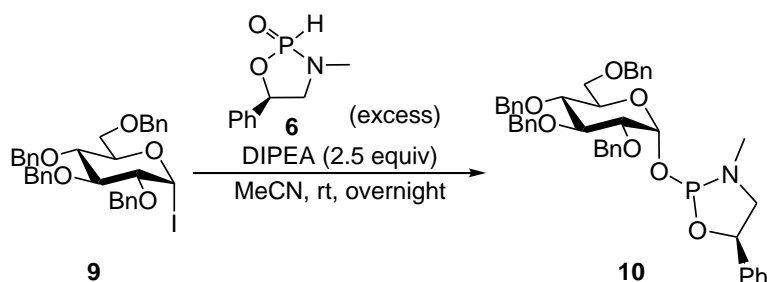
^aEstimated by ³¹P NMR.

そこで反応後、反応溶液を濃縮しないよう、次段階に溶媒として用いるアセトニトリルを加えつつ、生成物中に含まれるアルコール残渣の減圧溜去を試みたところ、**6**の分解は大幅に抑制されたため、溶液状態で次段階の反応に用いることとした。

1-3-2 オキサザホスホリジンモノマーユニットの合成

文献既知の方法でヨウ化糖 **9** を合成した。この際、糖骨格及び糖水酸基の保護基の組み合わせとしては、既知の上述の α -選択的ホスフィチル化反応において、特に高い収率、立体選択性の発現が示されている、**Bn** 保護グルコースを選択した。**9**の化学的不安定性を考慮し、反応試薬の残渣のみ減圧溜去して得た粗生成物に溶媒、塩基、及び、ホスフィチル化剤 **6** を加えることによって、モノマーユニットの合成を試みた (Scheme 9)。

Scheme 9



生成物の ^{31}P NMR スペクトルより、目的とするオキサザホスホリジン誘導体由来と思われる位置に単一のシグナルが観測された。絶対立体配置の特定は行なっていないが、ホスフィチル化剤 **6** がほぼ 1 : 1 のジアステレオ混合物であるにも関わらず、**10** の他にその立体異性体と考えられるシグナルは存在しなかったことから、反応は、糖のアノマー位、不斉リン原子のいずれに関しても、ジアステレオ選択的に進行したものと考えられる。

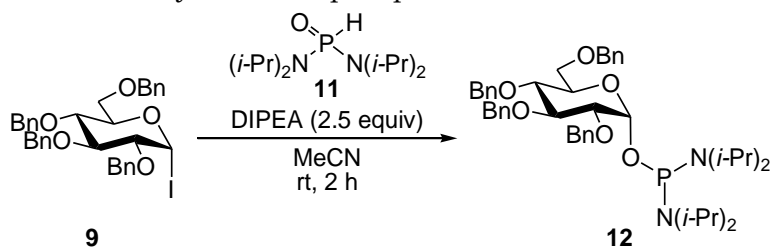
しかし、ここで得られたモノマーユニット **10** は、残存する **6** の残渣との分離が困難であり、単離には至らなかった。上述のように化学的安定性の低い **6** は取り扱いが困難であり、厳密な当量条件の検討を行うことができない。こうした問題点が妨げとなり、本経路でこれ以上の反応条件最適化は困難であると考え、環状ホスホンアミデート型ホスフィチル化剤を用いることのない合成経路の設計を行うこととした。

1-4 ホスホロジアミダイト誘導体を経由するモノマーユニットの合成

1-4-1 ホスホロジアミダイト誘導体の合成

本経路は、予め α -選択的に合成したグリコシルホスホロジアミダイト誘導体をアミノアルコールと縮合することにより、最終段階で糖のアノマー位にオキサザホスホリジン環を形成するものである (Scheme 7-route B)。

前駆体となるホスホロジアミダイト誘導体 **12** の α -選択的合成を目的とし、ホスホンジアミデート誘導体 **11** を用いてヨウ化糖 **9** のホスフィチル化を行なった (Table 2)。なお、Table 2 に示す yield は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製後の収率であるが、反応系中は ^{31}P NMR による追跡を行っている。

Table 2 Synthesis of phosphorodiamidite derivative.

entry	equiv of 11	yield
1	10	29% (crude)
2	5.0	23%
3	2.0	-
4	1.2	-

まず、既報で確立されている反応条件に従い、**11** を 10 当量用いて反応を行った (entry 1)。

この結果、 ^{31}P NMR による反応追跡からは、反応の定量的かつ立体選択的な進行が観測されたが、その後のシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製段階で、ホスホロジアミダイト **12** が加水分解や酸化を受けることや、残存する過剰量の **11** との分離が困難であること等の知見が得られた。

このため、精製操作の簡易化を目的として、ホスフィチル化剤 **11** の当量条件の検討を行なった (entry 2-4)。

この結果、**11** を 5 当量用いた場合にも、entry 1 同様、反応は α -選択的に進行し、さらに、entry 1 と比較して残存する未反応の **11** が減少したことによって、低収率ながら純粋な目的物 **12** を入手することができた (entry 2)。一方、**11** の当量をさらに減少させた entry 3、entry 4 では、**12** の生成が極めて遅く、また、反応継続に伴い、系中で生成した **12** が消失する様子が観測された。このことから、**11** はヨウ化糖 **9** をホスフィチル化する役割に加え、競争反応である **12** の加水分解を阻害する役割を担っていることが示唆された。以上の検討から、精製段階での収率の低下は克服されていないが、純粋なホスホロジアミダイト誘導体 **12** を入手できる合成条件として、entry 2 のものを採用することとした。

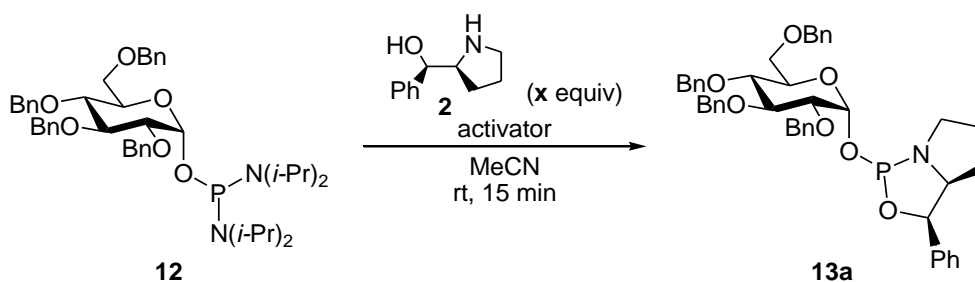
1-4-2 オキサザホスホリジンモノマーユニットの合成

合成したホスホロジアミダイト誘導体 **12** とアミノアルコールを縮合することによって、2 環式構造を有するオキサザホスホリジンモノマーユニット **13a** の合成を試みた (Table 3)。

但し、**13a** は、アノマー位に由来する立体化学 (α/β)、不斉リン原子に由来する立体化学 (*trans/cis*) を考慮すると Figure 13 に示す 4 種類の異性体が考えられ、

このうち、目的とするモノマーユニットは、 α -*trans*-**13a** である。別経路で合成した **13a** (Table 4) を標準サンプルとし、 α -*trans*-**13a**、及び、そのアノマー異性体である β -*trans*-**13a** に関しては、 ^{31}P NMR におけるケミカルシフトの特定を行ったが、*cis* 体に関しては同定が困難であったため、Table 3 には、粗生成物の ^{31}P NMR チャートにおける、目的物 α -*trans*-**13a** の存在比のみ記載している。

Table 3 Synthesis of oxazaphospholidine monomer unit **13a**.

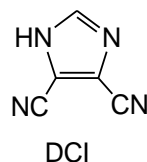
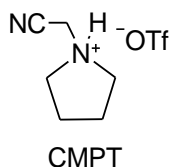


entry	x equiv	activator	concentration	procedure	α - <i>trans</i> - 13a ^a
1	2.0	1 <i>H</i> -tetrazole (4.0 equiv)	0.10 M	A	18%
2	2.0	CMPT (4.0 equiv)	0.10 M	A	trace
3	1.0	1 <i>H</i> -tetrazole (4.0 equiv)	0.10 M	A	trace
4	1.0	1 <i>H</i> -tetrazole (4.0 equiv)	0.20 M	A	28%
5	1.0	CMPT (4.0 equiv)	0.10 M	A	0%
6	1.0	CMPT (4.0 equiv)	0.20 M	A	trace
7	1.0	DCI (4.0 equiv)	0.10 M	A	trace
8	1.0	DCI (4.0 equiv)	0.20 M	A	16%
9	1.0	1 <i>H</i> -tetrazole (2.4 equiv)	0.17 M	A	9%
10	1.0	1 <i>H</i> -tetrazole (2.4 equiv)	0.17 M	B	60%

procedure A : Mixed solution of aminoalcohol and activator was added to the phosphorodiamidite.

procedure B : Activator was added to the phosphorodiamidite, followed by addition of aminoalcohol.

^a Identified with an authentic sample and determined by ^1H and ^{31}P NMR.



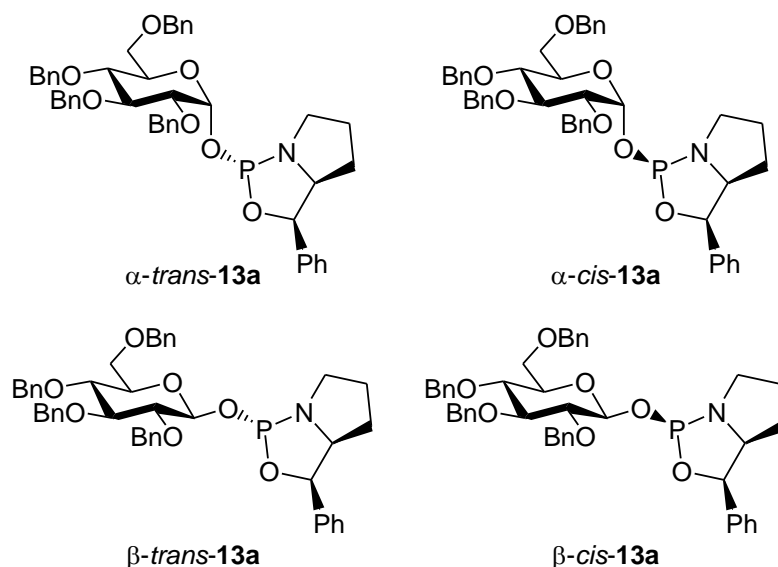


Figure 13 Diastereo isomers of **13a**.

まず、一般に糖 1-リン酸誘導体の合成手法の 1 つとしても知られるホスホロアミダイト法の反応条件に倣い、**1H**-tetrazole を酸性活性化剤とした縮合を試みた (entry 1)。

その結果、反応系中においてホスホロジアミダイト **12** は速やかに消費されている様子が観測され、**13a** と思われる誘導体の生成が確認されたが、抽出操作、及び、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる単離精製操作の過程において、その顕著な分解が観測された。これは、残存する酸性成分がカラム内で触媒的にはたらき、加水分解を促進しているためであると考えられる。単離精製後のモノマーユニットは、比較的高い化学的安定性を有するという実験結果も、上述の仮説を支持する。

また、粗生成物の ^{31}P NMR チャートから、目的とする α -*trans*-**13a** の他に、異性体由来と思われるシグナルが観測された。 β -*trans*-**13a** とは異なるケミカルシフトであること、及び、 ^1H NMR からアノマー位の立体化学は α であると考えられることから、ここで生成した異性体は、 α -*cis*-**13a** である可能性が示唆される。

この結果を受け、まず **13a** の加水分解を極力避けるため、合成後は最低限の抽出操作のみを行ない、精製操作を行わずに次の段階へ進む方法を検討することとした。このとき、過剰に残存するアミノアルコールが、次段階の縮合反応を競争的に阻害することを避けるため、アミノアルコールの当量を 1 当量に固定し、その条件下で得られる α -*trans*-**13a** の収率、及び、立体化学的純度が最も高い条件の検討を行なった (entry 3-9)。

まず、entry 1 の反応条件から、アミノアルコールを 1 当量に変更した系では、加水分解体が大幅に増加し、**13a** の収率が著しく低下した (entry 3)。

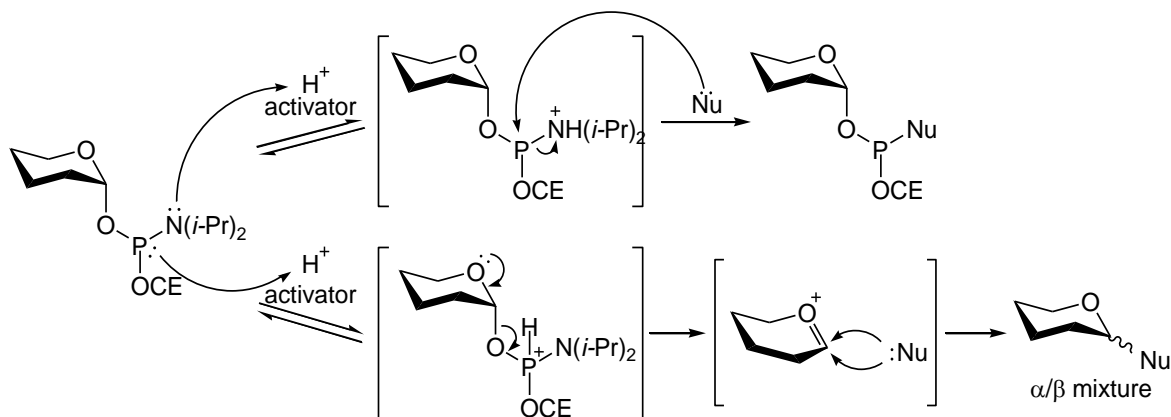
この結果は、系中における加水分解反応体の生成が、活性化されたホスホロジアミダイト誘導体に対する求核種としてのアミノアルコールと水との競争反応によ

るものであることを示唆しており、entry 3 では、アミノアルコールの濃度低下に伴い、加水分解体が増加したものと考えられる。

これを考慮し、系全体の濃度を上昇させることによって同様の反応を試みた結果、収率の改善が見られた (entry 4)。

また、酸性活性化剤の検討を行った。**1*H*-tetrazole** は、ホスホロアミダイト法において *N*-プロトン化を行うために従来用いられる酸性活性化剤である。一般に、ホスホロアミダイト誘導体に対する酸性活性化剤として過度に強い酸を用いた場合、*N*-プロトン化よりも *P*-プロトン化が優先し^{34, 35}、*P*-*N* 結合を不活性化するのみならず、オキソカルベニウムカチオンの生成に伴うアノマー化や加水分解等の副反応の原因ともなることが知られている (Scheme 10)。このため、効率良く *N*-選択的にプロトン化を行う適度な強さの酸性度を有する活性化剤が必要とされる。

Scheme 10 Mechanism of *N*-protonation and *P*-protonation.



そこで、MeCN に対する溶解性も考慮し、**1*H*-tetrazole** よりもやや強い酸性度を有する活性化剤として **CMPT** (*N*-(cyanomethyl)pyrrolidinium trifluoromethanesulfonate) を、また、**1*H*-tetrazole** と同程度の酸性度を有し、吸湿性の低い活性化剤として **DCI** (4,5-dicyanoimidazole) を選択し、検討を行った。しかし、いずれの場合も加水分解体が生生成物として得られる結果となった。(entry 2, 5-8)。これらの検討から、酸性活性化剤としては **1*H*-tetrazole** を採用することとした。

そこで、さらなる加水分解の抑制を目的として、**1*H*-tetrazole** の当量を小過剰量に変更した結果、それまでの検討では見られなかった β -**13a** の生成が確認され、結果として α -*trans*-**13a** の生成率が低下した (entry 9)。

ここで、想定される反応機構から、この現象の考察を行う。本反応で期待する反応機構は、従来のホスホロアミダイト法に準ずるものである。即ち、**1*H*-tetrazole** により *N*-プロトン化を受けて活性化されたホスホロアミダイト **12** が活性な反応中間体であるテトラゾリドを経由して、求核種であるアミノアルコールと縮合し、

P-O 結合及び P-N 結合が形成されるというものである。

しかし、entry 9 でβ体の生成が観測されていることから、**12** が *P*-プロトン化を受けていることが示唆される。リン原子にジイソプロピルアミノ基が 2 つ結合するホスホロジアミダイト誘導体は、1 つ結合するホスホロアミダイト誘導体と比較して、窒素の孤立電子対からの電子供与効果が大きく、リン原子上の電子密度は大きいと考えられる。即ち、ホスホロジアミダイト誘導体は、リン原子の孤立電子対の求核性がモノアミダイト体と比較して高いため、*P*-プロトン化は起こりやすいと予想される。しかし、ホスホロアミダイト法を用いた糖 1-リン酸誘導体合成例における類似の反応系のみならず、同様の反応条件でジアミダイト誘導体の活性化を行っている例においても、*P*-プロトン化の進行は報告されていない。

但し、本反応系の特徴として、求核種であるアミノアルコールが **1H-tetrazole** との間で、溶媒である MeCN に対して難溶性の塩を形成するという点が挙げられる。そこで、このことが想定外の *P*-プロトン化に繋がっている可能性を考慮し、操作手順の見直しを行った。具体的には、**12** に対して予め **1H-tetrazole** を加え、系中で確実にテトラゾリドを形成させた後に、アミノアルコールを加えて反応を行なった。その結果、β体の生成は完全に抑制され、効率的に目的とする *α-trans-13a* を得ることができた (entry 10)。

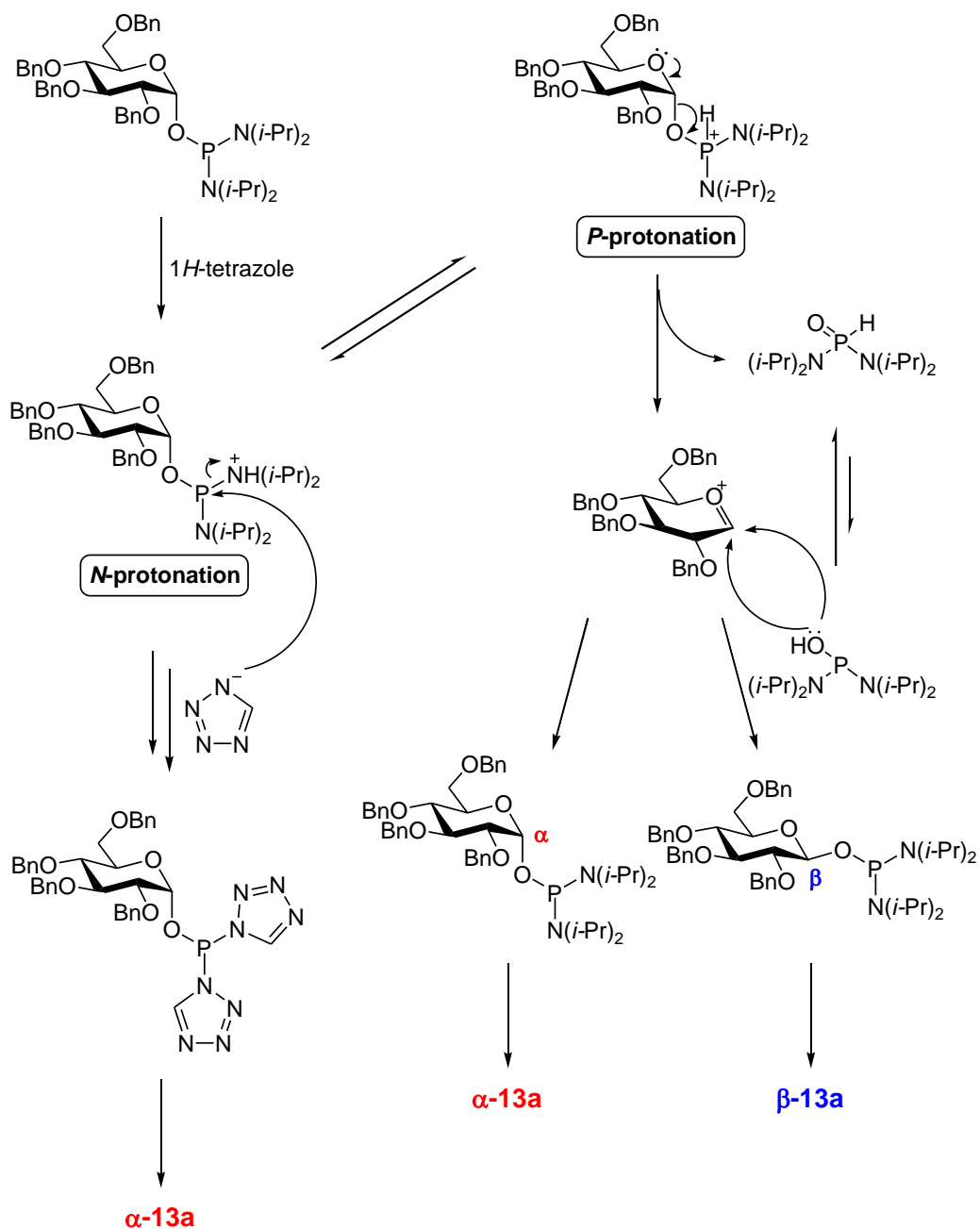
これらの結果から、以下のことが考察される。アミン塩となった **1H-tetrazole** は、本来 **1H-tetrazole** が有するよりも弱い求核力を有することが知られている。**1H-tetrazole** とアミノアルコールが一部塩を形成した状態でホスホロジアミダイトと反応した際、系中ではホスホロジアミダイトの *N*-プロトン化体と *P*-プロトン化体とが平衡状態にある。ここで十分な求核力を有する **1H-tetrazole** が不足していた場合、テトラゾリド形成前に糖の環内酸素原子からの電子供与効果によってリン酸部位が脱離し、オキソカルベニウムカチオンが生成する。そのアノマー炭素を、脱離して再生したホスホロジアミダイト誘導体が求核攻撃してホスフィチル化が進行し、*α-12*、*β-12* がアノマー混合物として生成したために、最終生成物のアノマー異性化が起こったと考えられる。一方で、**12** に予め **1H-tetrazole** を加えた場合、活性なテトラゾリド中間体が速やかに生成する。リン原子に結合した **tetrazole** は強い電子求引性を有するため、これによって **tetrazole** の付加したリン原子上の孤立電子対の電子密度は低下し、リン原子の求核力が低下する。そのため、*P*-プロトン化が抑制され、オキソカルベニウムカチオンを経由するアノマー化の進行が阻害されたと考えられる (Scheme 11, Figure 14)。

以上の検討より、entry 10 に示す反応条件、及び、操作手順により、最も分解物やβ体の生成を抑制することができた。

しかし一方で、いずれの反応系においても、*cis* 体と思われる異性体の生成を抑制することはできなかった。このことから、本経路のように、ホスホロジアミダイト誘導体に対してアミノアルコールを反応させることでオキサザホスホリジン環

を形成する手法では、*trans* 体、*cis* 体のそれぞれが生成する過程の活性化エネルギーに十分な差が無く、一方を選択的に合成することは困難であることが示唆された。

Scheme 11 Plausible reaction mechanism (anomerization).



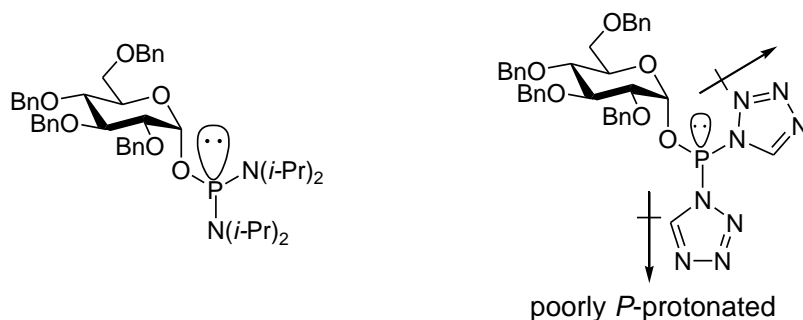


Figure 14 Decrease of electron density at the phosphorus atom.

第二節 2-クロロオキサザホスホリジン誘導体を用いる合成法

前節の検討から、モノマーユニットの不斉リン原子の立体化学に関しては、合成の過程で、不斉補助基の構造に依存する立体選択性を発現させるために、予めオキサザホスホリジン環を有する誘導体を糖のアノマー位に導入する必要があると考えられる。また、目的とするモノマーユニットは比較的高い化学的安定性を有するにもかかわらず、反応後に残存する酸性成分の加水分解への寄与が、収率の低下を引き起こすと考えられることから、塩基性条件下でホスフィチル化を行う手法がより望ましい。そこで、以上のような条件を満たす合成戦略として、アノマー位に遊離の水酸基を有する糖誘導体を、2-クロロオキサザホスホリジン誘導体により、塩基性条件下ホスフィチル化する手法を試みることにした。本章の冒頭でも述べたとおり、この手法は、核酸分野のオキサザホスホリジン法において、モノマーユニットの立体選択的合成法として知られる経路である。

本手法におけるホスフィチル化剤である、2-クロロオキサザホスホリジン誘導体は不斉リン原子を有する。即ちこの誘導体は、溶液中で塩化物イオンがリン原子に対して求核攻撃と脱離を繰り返すことにより、極めて速い平衡状態にある立体異性体の混合物となる。しかし、オキサザホスホリジン部位を不斉源として誘起される立体電子効果から、これらの異性体間には、目的とするホスフィチル化反応の活性化エネルギーに差が生じる。その結果、本反応によって得られるオキサザホスホリジン誘導体のリン原子の立体化学は、その不斉補助基に依存した速度論的制御が可能であることが報告されている。

中でも特に、二環式構造の不斉補助基を有するモノマーユニットは、上述の合成過程において特に高立体選択的なホスフィチル化反応の進行が報告されている。このため、二環式構造の不斉補助基を有するモノマーユニットの合成を目指す本研究においても、リン原子の立体化学を制御したオキサザホスホリジン誘導体の生成が期待できる。

2-1 糖誘導体のアノマー水酸基を求核種とするホスフィチル化反応

上述の手法を糖アノマー位のホスフィチル化法に適用する上で課題となるのは、いかにアノマー位の立体化学を制御するかという点である。アノマー位に遊離の水酸基を有する糖誘導体は、酸性条件下、塩基性条件下のいずれの場合にも異性化が進行し、最終的に熱力学的に安定な平衡混合物に収束する。このことから、アノマー位に遊離の水酸基を有する糖誘導体を基質とした立体選択的反応は、一般に困難である。

しかし、 α 型のアノマー水酸基を求核種としたホスフィチル化反応によって、 α -糖 1-リン酸誘導体を優先的に合成した例も僅かながら存在する³⁶⁻³⁹。その一例として、アノマー位に遊離の水酸基を有する α -マンノース誘導体を立体保持でホスフィチル化し、 α -マンノシルホスホロジアミダイト誘導体を得ている報告がある (Scheme 12)³⁷。本報告例で、アノマー位の立体化学が α 体に保持されている理由の一つとして、基質がマンノース骨格であることの効果と考えられる。一般にマンノース誘導体は、アノマー効果に加え、2位水酸基がアキシアル方向にあることによる立体電子効果から、アノマー異性体間での平衡状態において、 α 体比率が高いことが知られている (Figure 15)。

Scheme 12

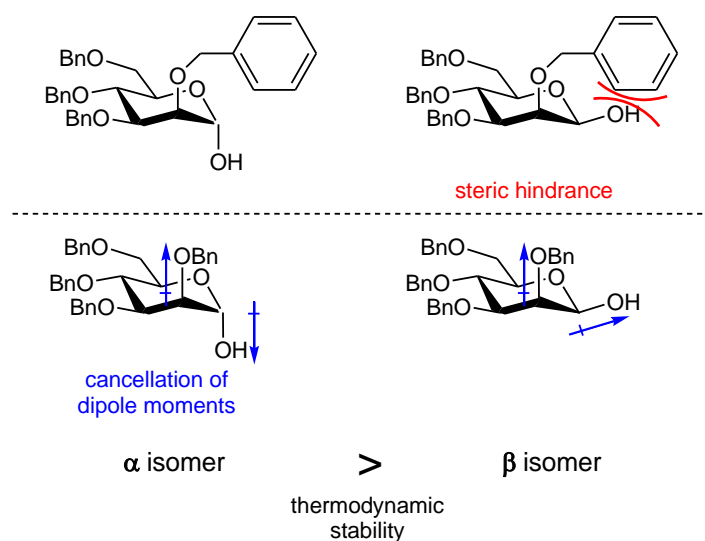
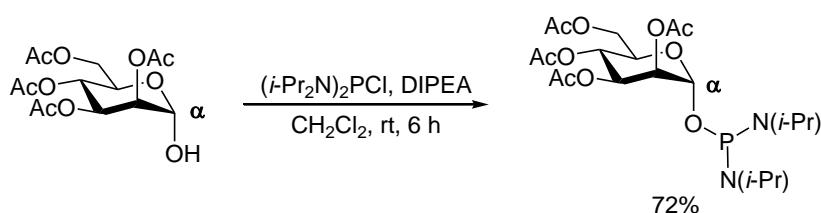
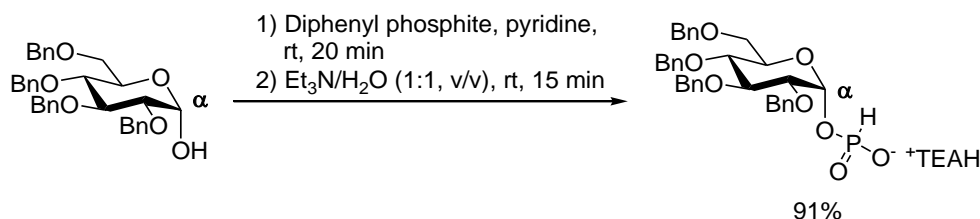


Figure 15 Two isomers of 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-mannopyranose.

他方で、 α -グルコース骨格を有する糖誘導体に対するホスフィチル化が立体保持で進行する例も報告されている (Scheme 13)³⁹。ここではマンノース誘導体で見られるような立体電子効果は期待できないが、ホスフィチル化の速度がアノマー異性化の速度を大きく上回る場合に、出発物質のアノマー位の立体化学を保持した反応の進行が可能であると考えられている。

Scheme 13



以上の知見から、出発物質として、立体化学的純度の高い α 体の糖誘導体を用いたホスフィチル化反応を行うことにより、 α -選択的の反応を経由せずとも α -優先的に目的とするオキサザホスホリジン誘導体へと変換することが可能であると期待し、以下の検討を行った。

2-2 アノマー水酸基のホスフィチル化によるオキサザホスホリジンモノマーユニットの合成

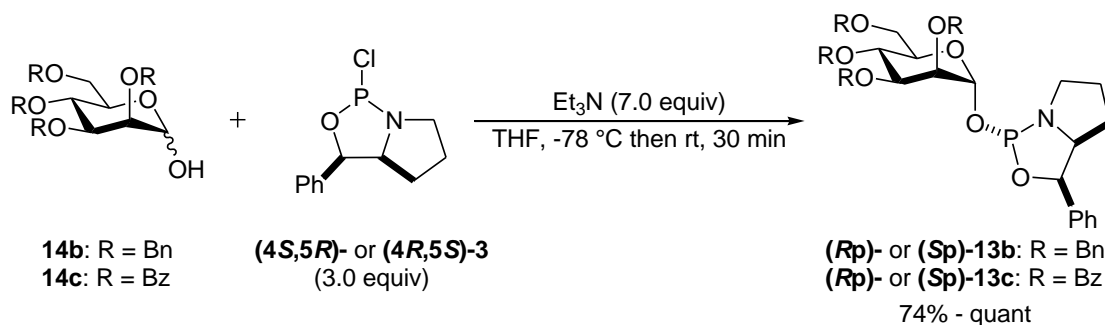
2-2-1 マンノース誘導体、グルコース誘導体のホスフィチル化

まず、マンノース誘導体のホスフィチル化を試みた。上述のように、マンノース誘導体は、骨格に依存する立体電子効果から、 α 体を得やすいという性質を有する。

また、糖水酸基の保護基には、前節までの検討で用いていた Bn 基に加え、Bz 基を選択した。一般に、電子求引性である Bz 基は、オキシカルベニウムカチオンを不安定化する性質を有する。即ち、糖 1-リン酸誘導体の環内酸素原子からの電子供与によるリンオキシンググリコシド結合の開裂を抑制する効果を有することから、目的とする糖 1-リン酸誘導体の化学的安定性の向上が期待できる。

合成は、以下のような経路に従って行った (Scheme 14)。

Scheme 14 Synthesis of monomer units (*Rp*)- and (*Sp*)-13b-c.



既知の方法によって合成した **14b**、**14c** は、多くの場合において 90%以上が α 体であった。それに加え、多くの系で、ホスフィチル化反応後に生成したモノマーユニットの α 体比率が前駆体 **14** よりも向上するという結果が得られた。**14** のホスフィチル化反応は定量的に進行しているため、これは、triethylamine (TEA) によるアノマー化が反応に関与していることを意味する。 α 体の比率が向上した原因としては、THF 中 TEA 存在下という条件での平衡状態において、前駆体 **14** の α 体の比率がより向上した可能性、または、アキシアル方向に存在する 2 位の Bz 基の立体障害により、嵩高いオキサザホスホリジン部位が β 方向に付加した化合物の生成が抑制され、 α 体の求核攻撃が優先的に進行した可能性等が考えられる。また、リン原子の立体化学に関しては、核酸誘導体同様、反応が立体選択的に進行し、この結果、目的とする絶対立体配置を有するモノマーユニットを高純度で得ることができた。

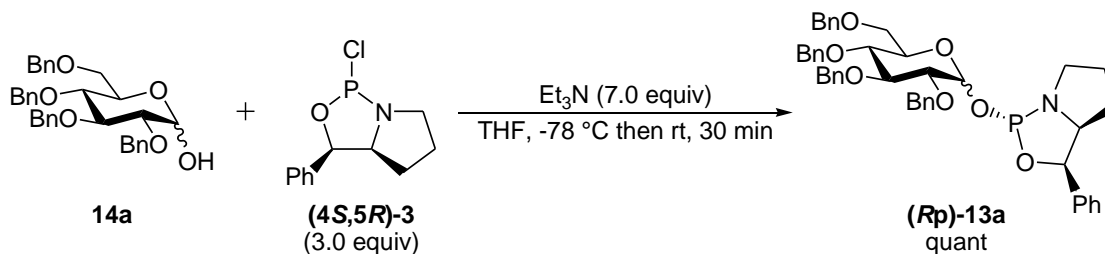
また、前節では、精製操作の過程で、粗生成物中に含まれる酸性成分が原因と考えられるモノマーユニットの分解が観測されたのに対し、Scheme 14 のように、塩基性条件下で合成したモノマーユニットに関しては、期待したとおり、精製過程での分解が大幅に抑制された。さらに、ごく少量 β 体が生成した系に関しても、その分離に成功し、高収率で立体化学的に純粋なモノマーユニット(*Rp/Sp*)-13b、(*Rp/Sp*)-13c を入手することができた。

次に、グルコース骨格を有するモノマーユニットの合成を行った。ここでは、いかにアノマー位の立体化学を α 型に制御するかという点が課題となる。

まず、Bn 保護体を用い、ホスフィチル化反応前後におけるアノマー異性体比の変化を観察した (Table 4)。既知反応により合成した、 $\alpha:\beta = 79:21$ の **14a** を前駆体とし、(4*S*,5*R*)-**3** によるホスフィチル化反応を行った結果、**14a** のアノマー異性体比をほぼ維持した $\alpha:\beta = 80:20$ の(*Rp*)-**13a** が得られた。そこで、再結晶法により、異性体混合物である **14a** から、 α 体を優先的に晶出させることにより、**14a** の立体化学的純度を向上させることとした。具体的には、AcOEt から繰り返し再結晶を行い、 $\alpha:\beta = 96:4$ の **14a** を得た時点でこれをホスフィチル化反応に用いた。その結果、TEA 存在下というアノマー位の異性化の進行が懸念される条件にもかかわらず

ず、反応は **14a** の立体化学的純度をほぼ維持して進行し、 $\alpha:\beta = 94:6$ の (*Rp*)-**13a** が生成した。

Table 4 Anomeric ratio of glucose derivatives before and after phosphorylation.



entry	diastereo ratio ^a ($\alpha:\beta$)	
	14a	(<i>Rp</i>)- 13a
1	79:21	80:20
2	96:4	94:6

^aEstimated by ¹H NMR.

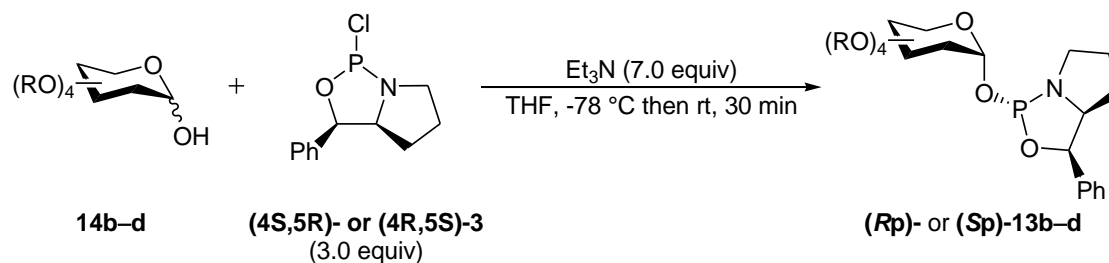
この結果から、本系におけるホスフィチル化は、アノマー位の異性化と比較して十分な反応速度を有しており、前駆体 **14** のアノマー異性体比が、生成するオキサザホスホリジン誘導体 **13** のアノマー異性体比にほぼ反映されることが示唆された。

この検討結果を受け、改めて、グルコース骨格を有するモノマーユニットとして、糖水酸基の保護基に **Bz** 基を用いたオキサザホスホリジン誘導体の合成を行った (Scheme 15)。なお、**Bz** 保護糖を選択した理由は、マンノース誘導体を用いた検討を通し、**Bn** 保護糖と比較して **Bz** 保護糖の方が安定性、結晶性が高く、取扱いが容易であるため、また、後に合成する 2 量体の糖水酸基を最終的に脱保護することを視野に入れた上で、**Bz** 基の方が適していると考えたためである。但し、**Bn** 保護糖とは異なり、**Bz** 保護糖の再結晶には、AcOEt よりも Hexane/CH₂Cl₂ 混合溶媒の方が適していた。

また、マンノース誘導体の場合には、TEA によるアノマー化が α 体優先的なホスフィチル化に有利であったのに対し、本系では前駆体とする **14** のアノマー異性体比を反応前後で保持させることが、 α 体の比率の高いモノマーユニットを得る上で重要であるため、**14** の THF 溶液を -78 °C に降温した後に TEA を加えるという手順を採用した。その結果、ホスフィチル化反応は定量的かつ速やかに進行し、反応前後でアノマー異性体比はほぼ保持された。また、マンノース骨格を有するモノマーユニット同様、少量生成した β 体の大部分は精製操作の過程で分離することができ、良好な収率で立体化学的純粋の高いモノマーユニット (*Rp/Sp*)-**13d** を入手することができた。

マンノース骨格、及び、グルコース骨格を有するモノマーユニット合成の結果を以下の Table 5 に示す。

Table 5 Synthesis of oxazaphospholidine monomer units.



entry	3	product	R	Man / Glc	yield (%)	diastereo ratio ^a	
						<i>trans</i> : <i>cis</i>	α : β ^b
1	(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)	(<i>Rp</i>)- 13b	Bn	Man	quant	>99:1	>99:1
2	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)	(<i>Sp</i>)- 13b	Bn	Man	74	>99:1	>99:1
3	(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)	(<i>Rp</i>)- 13c	Bz	Man	90	>99:1	>99:1
4	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)	(<i>Sp</i>)- 13c	Bz	Man	83	>99:1	>99:1
5	(4 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)	(<i>Rp</i>)- 13d	Bz	Glc	67	>99:1	97:3
6	(4 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)	(<i>Sp</i>)- 13d	Bz	Glc	65	>99:1	>99:1

^aEstimated by ³¹P NMR. ^bFor isolated product.

以上の検討より、マンノース骨格を有するモノマーユニットの合成に関しては、前駆体 **14** の α 体比率の高さに加え、TEA 存在下におけるアノマー化が、 α 体優先的な反応の進行に有利にはたらいたことにより、極めて α 体比率の高いモノマーユニットを生成させることに成功した。一方で、グルコース骨格を有するモノマーユニットの合成に関しては、ホスフィチル化に先立ち、再結晶法によって優先的に晶出させた α 体比率の高い前駆体 **14** を、低温条件下、立体保持でホスフィチル化することによって、 α 体比率の高い目的物の合成を達成した。また、いずれのモノマーユニットも、不斉リン原子に関しては、立体選択的反応を経て単一の絶対立体配置を有している。

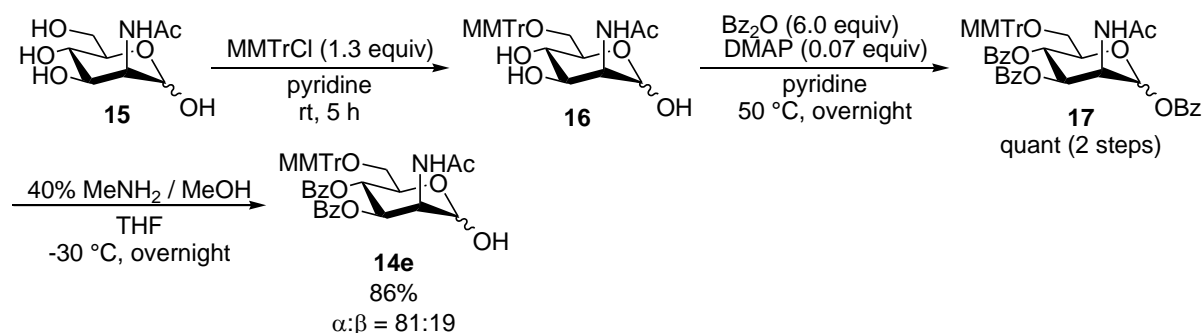
前節の手法における問題点の1つであった精製過程における目的物の加水分解は、塩基性の反応条件を採用したことにより抑制され、さらに、多くの場合にはその過程で、反応系中で少量生じた β 体を除去することができた。これにより、最終的に Table 5 に示すような、ほぼ立体化学的に純粋なモノマーユニットが、良好な収率で得られるプロトコルを、確立することができた。

2-2-2 *N*-acetyl-D-mannosamine 誘導体のホスフィチル化

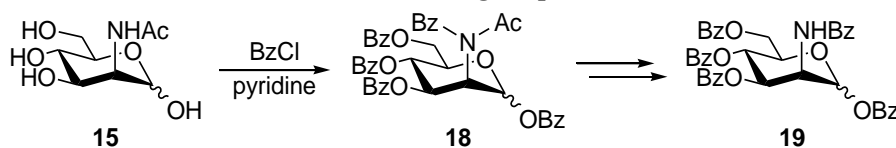
マンノース骨格を有するモノマーユニットの合成において、アキシアル方向に位置する 2 位水酸基の立体電子効果は、アノマー位の立体化学を制御する上で重要な役割を果たした。この結果を受け、髄膜炎菌の莢膜多糖に含まれる抗原決定基として知られる糖 1-リン酸繰り返し構造の骨格である *N*-acetyl-D-mannosamine 誘導体を用いたモノマーユニットの合成にも適用可能であるか検証することとした。

まず、前駆体の合成法を以下に示す (Scheme 15)。なお、ここでは後に糖リン酸鎖の伸長を行う場合を考慮に入れ、6 位水酸基を、選択的に脱保護可能な MMTTr 基によって保護している。また、2 段階目の Bz 化では、一般に糖水酸基の Bz 化に用いられる BzCl を用いた条件において、2 位の NHAc 基が速やかに Bz 化したジアシル体が生成し、後の処理の過程で Ac 基が選択的に脱離して 2-NHBz 体が得られるというアミド交換反応の進行が観測された (Scheme 16)。そこで、無水安息香酸を用いた、より穏和な条件で反応を行い、効率的に遊離の水酸基選択的な Bz 化が進行する条件を確立した。

Scheme 15 Synthesis of 2-deoxy-2-acetamido-3,4-di-*O*-benzoyl-6-*O*-MMTTr-D-mannopyranose.

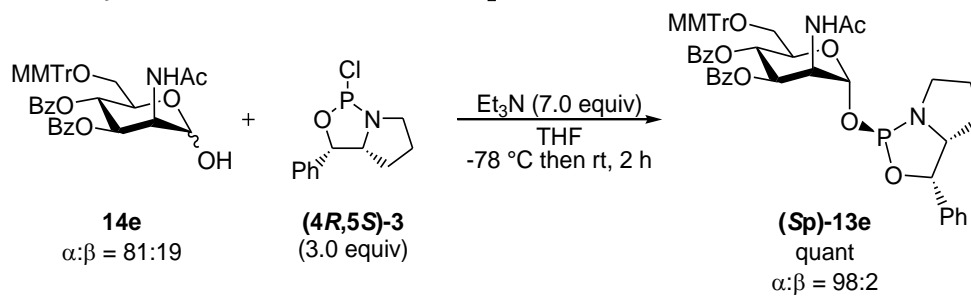


Scheme 16 Transamidation of 2-acetamide group.



得られた $\alpha:\beta=81:19$ の 14e を前駆体とし、(4*R*,5*S*)-3 をホスフィチル化剤としてモノマーユニットの合成を行った (Scheme 17)。その結果、アノマー位の立体化学は既述のマンノース誘導体の例と同様、ホスフィチル化の過程でより α 体比率が向上し、 $\alpha:\beta = 98:2$ のモノマーユニットが定量的に得られた。また、不斉リン原子の立体化学に関しても、反応は立体選択的に進行し、目的とする絶対立体配置を有するモノマーユニット(*Sp*)-13e が高収率かつ高立体選択的に得られた。

Scheme 17 Synthesis of monomer unit (**Sp**)-13e.



第二章 リン原子修飾 2 量体アナログの液相合成

得られた立体化学的純度の高いモノマーユニットを用い、リン原子修飾糖 1-リン酸誘導体の 2 量体の合成を試みた。

リン原子に導入する化学修飾種には、硫黄、ホウ素を含む官能基を選択した。これらは、核酸、糖 1-リン酸のいずれのリン原子修飾型類縁体としても報告例の多い、代表的な化学修飾種である。これらを選択する理由として、まず、合成過程における導入操作が簡便であることが挙げられる。これは、天然型合成におけるリン原子の酸化の工程を、硫化、またはボラノ化に変更することによって非天然型アナログが得られるという合成化学上の利点であり、オキサザホスホリジン法のみならず、その原型であるホスホロアミダイト法、*H*-ホスホネート法など、従来リン原子修飾アナログを合成する手法として知られるいずれの方法においても言えることである。また、もう 1 つの理由として、それらの化学修飾種の電子的な性質が挙げられる。硫黄は、酸素の同族元素であり、電子的に類似する性質を有する。また、ホウ素はリン原子との間に配位結合を形成し、それ故に $P \rightarrow BH_3$ 間には分極が生じる。このため、酸素原子の代わりに、リン原子に硫黄やホウ素を導入した誘導体は、天然型の電子的等価体であると言える。さらに序論でも述べたとおり、ホウ素を化学修飾種としてリン原子に導入した糖 1-リン酸アナログに関しては、天然型と比較して高い化学的安定性を有することも既に知られている。

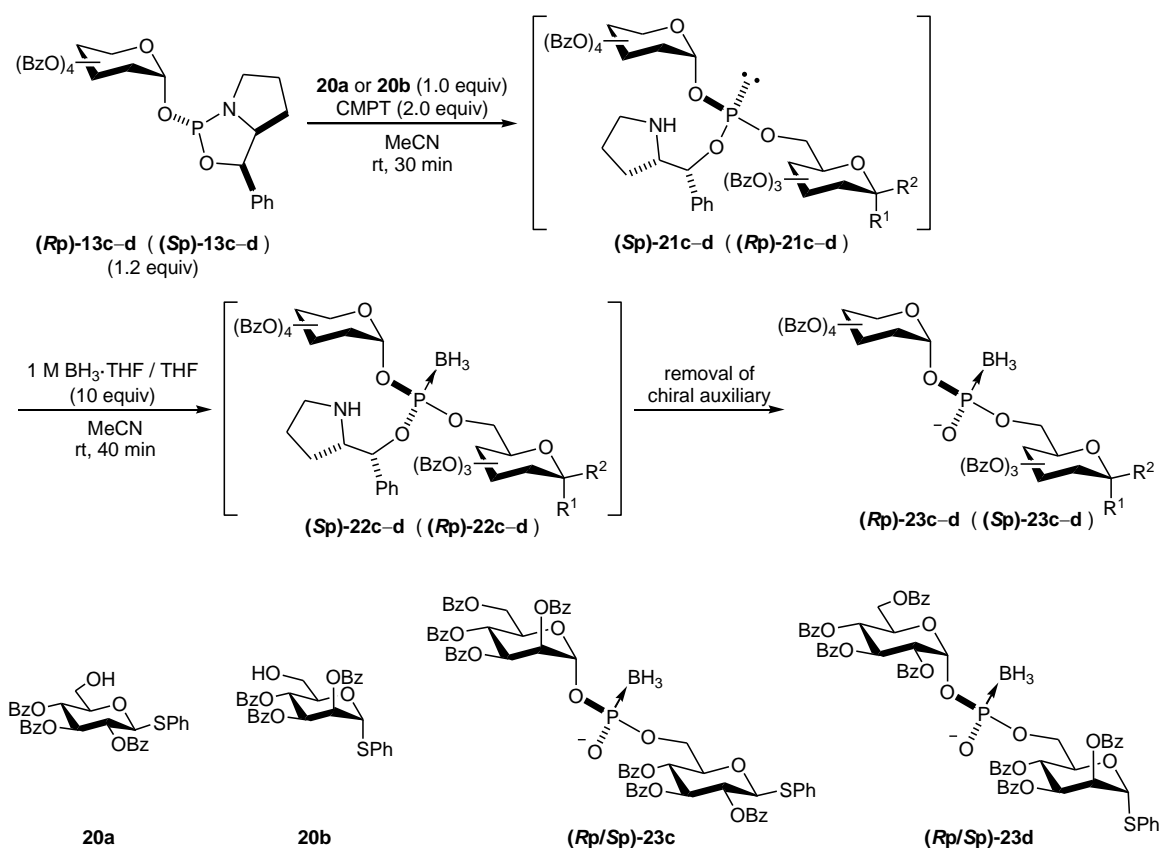
以上の理由から、リン原子の立体化学が制御されたグリコシルホスホロチオエート誘導体、グリコシルボラノホスフェート誘導体を合成標的とした。

第一節 グリコシルボラノホスフェート 2 量体の合成

グリコシルボラノホスフェート 2 量体の合成は、以下の経路に従い、① モノマーユニットと他の糖誘導体との縮合、② ボラノ化、③ 不斉補助基の除去の 3 段階を経て行った (Scheme 18)。

糖水酸基の保護基には Bz 基を選択した。これは、Bn 基の脱保護条件である Pd/C を触媒とした水素添加の反応条件において、ボラノホスフェート誘導体が部分的に脱ボラノ化されることが懸念されたためである。このため、Scheme 18 では、(Rp/Sp)-13c、(Rp/Sp)-13d をモノマーユニットとしている。

Scheme 18 Synthesis of glycosyl boranophosphates.



モノマーユニットと縮合する糖誘導体には、最も立体障害が小さく高い反応性を有する 6 位に遊離の水酸基を有する 20a、20b を選択し、酸性活性化剤には、核酸分野のオキサザホスホリジン法の知見において最適化されている

N-(cyanomethyl) pyrrolidinium triflate (CMPT) を選択した^{40, 41}。CMPT は、アゾール系酸性活性化剤とは異なり、求核性が低く、かつ、高い酸性度を有する酸性活性化剤として開発されたものであり、これを用いることによって、モノマーユニットの立体化学的純度が損なわれることなく、縮合反応が進行することが知られている。

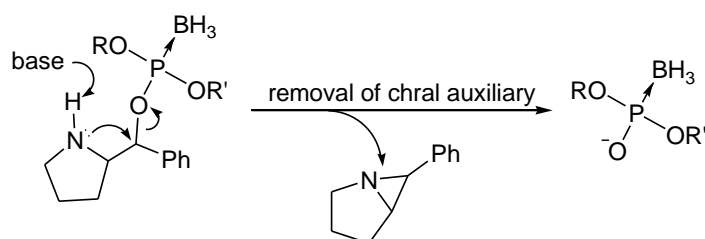
反応の追跡は、 ^{31}P NMR によって行った。その結果、1 段階目の縮合反応の時点で、モノマーユニットの高い立体化学的純度は保たれ、定量的に目的とする絶対立体配置を有するホスファイト誘導体が生成していることが観測された。また、2 段階目の $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ によるボラノ化の過程に関しても、反応は速やかに進行し、ホスファイト誘導体の消費、及び、ボラノホスフェートトリエステル体の定量的な生成が確認された。

1-1 不斉補助基除去の条件検討

3 段階目の不斉補助基除去の過程は、オキサザホスホリジン法によるボラノホスフェート DNA の液相 2 量体合成における条件として報告されている条件に倣い、無水塩基性下で行った³²。

塩基による不斉補助基の除去は、不斉補助基のピロリジン環状の窒素原子がベンジル位の炭素を求核攻撃し、アジリジン環を形成しつつ脱離するという機構が提唱されている (Scheme 19)。

Scheme 19 Plausible reaction mechanism.



上述の報告例では、強塩基である 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) を用いて不斉補助基の除去を行っているが、改めて最適な塩基の検討を行うこととした。その過程で、一部の塩基を使用した場合にボラノ基の脱離が観測された。このことから、求核性の高い塩基を使用した場合、塩基がホウ素を求核攻撃することによる脱ボラノ化反応が進行する可能性が示唆された。そこで、塩基性、求核性の異なる種々の塩基を使用し、最も効率良く不斉補助基が脱離し、かつ、脱ボラノ化の進行が抑制される条件の検討を行った (Table 6)。

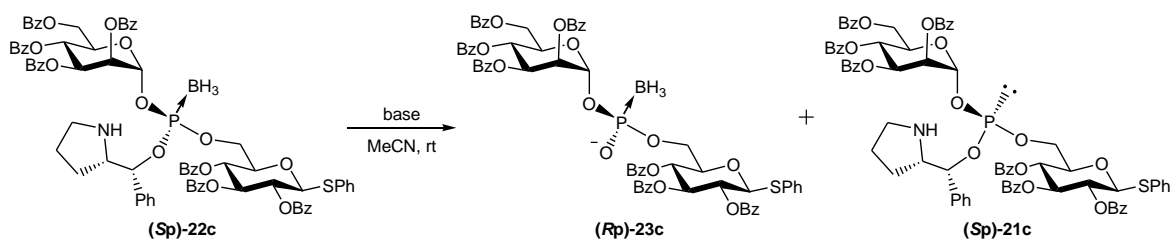
なお、entry 1 を除いた全ての検討は、 ^{31}P NMR によって反応の経時変化を追跡しており、いずれも反応が定常状態に至ったことを確認した後に、生成物の比を算出している。また、出発物質としては、上記 Scheme 18 に従って合成した **22c** を精製せずに one-pot で用いているが、いずれの検討においても、**22c** の定量的な生成は確認している。

塩基として pyridine を用いた反応では、粗生成物の ^{31}P NMR スペクトルより、

40%を超えるホスファイト誘導体が生成が観測され (entry 1)、pyridine の求核攻撃による脱ボラノ化の進行が示唆されたため、より求核性の低い 2,6-lutidine を用いて同様の反応を行ったが、系中では不斉補助基の脱離は観測されず、脱ボラノ化の進行のみが確認された (entry 2)。

次に、求核性が低く、かつ pyridine や 2,6-lutidine と比較して塩基性の高い TEA、*N,N*-diisopropylethylamine (DIPEA) を用いた反応を試みた (entry 3, 4)。TEA を用いた反応では、不斉補助基の脱離、脱ボラノ化が共に進行する様子が観測された (entry 3)。また、DIPEA を用いた反応では、脱ボラノ化の進行は観測されなかったが、反応が 70%程度で定常状態となった (entry 4)。

Table 6 Reaction conditions for the removal of chiral auxiliaries.



entry	reaction conditions			22:23:21 ^a
	base	equiv	time	
1	pyridine	10	overnight	— ^b
2	2,6-lutidine	20	overnight	85:0:15
3	TEA	30	overnight	8:77:15
4	DIPEA	10	overnight	29:71:0
5	DBU	10	1 h	0:100:0

^aEstimated by ³¹P NMR. ^bNot monitored.

以上の結果に対し、DBU を用いた反応では、目的とする不斉補助基の脱離が反応開始後 5 分の時点で速やかに完結し、脱ボラノ化は観測されなかった。他の検討で、一般に求核性が低い塩基として知られる試薬を用いた場合にも、反応の進行に伴い、少なからず脱ボラノ化が観測されたことを考え併せると、この結果は、DBU の求核力の低さに加え、目的とする反応を速やかに完結させる塩基性の高さも重要であると考えられる。

以上の検討から、不斉補助基の除去に用いる塩基は DBU が最適であることがわかった。

1-2 精製法の検討、各種 2 量体の収率及び立体化学的純度の評価

最終生成物の生成は、中性シリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィーによって行った。当初、反応溶液の抽出操作では見られない目的物の分解が、その後の濃縮、及び、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製の過程で見られるという問題が生じ、分液抽出後に残存する化合物が目的物の分解に寄与していることが示唆された。ここで考えられる原因化合物としては、不斉補助基の残渣等が挙げられる。

そこで、精製前の濃縮を避け、さらに、目的物であるボラノホスフェート誘導体のような極性の高い化合物のみをシリカゲルに吸着させた状態で、先に、中性成分である種々の残渣の溶出を行った。その結果、精製過程における目的物の分解は抑制された。また、上記の精製操作の後も、目的物との分離が困難な不純物として、ボラノ化試薬である $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ の残存が確認された。本来、 $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ は減圧溜去可能な化合物であることから、本系では $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ と目的物の親和性が高く、分離が困難であったことが示唆される。

そこで、通常、解離性化合物の精製を行う際には用いることの無い、側鎖にアミノ基を有する NH-シリカゲルを中性シリカゲルの上に少量充填し、 $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ を吸着させることにより、純粋なボラノホスフェート 2 量体を得ることに成功した。なお、中性シリカゲルは、DBU 由来の残渣を除去するために必要であることから、この方法を精製段階における最適なプロトコルとした。

以上のように最適化を行った手法により、 $\alpha\text{-D-Man-(1-P6)-D-Glc}$ 、 $\alpha\text{-D-Glc-(1-P6)-D-Man}$ 構造を有する (*Rp/Sp*)-**23c**、(*Rp/Sp*)-**23d** の合成を行った。また、生成物の立体化学的純度の評価は、 $^1\text{H NMR}$ のプロファイルを異性体間で比較し、互いに重なり合わないシグナルを抽出することによって行った (Figure 16)。それぞれの単離収率、及び、立体化学的純度を以下の Table 7 に示す。なお、**23d** の元となる $\alpha\text{-D-Glc-(1-P6)-D-Man}$ の構造は、寄生性原虫 *Leishmania* の糖衣・分泌タンパク中に含まれる部分構造である。このように、いずれのグリコシルボラノホスフェート誘導体に関しても、高収率かつ高立体選択的な 2 量体アナログの合成が達成された。

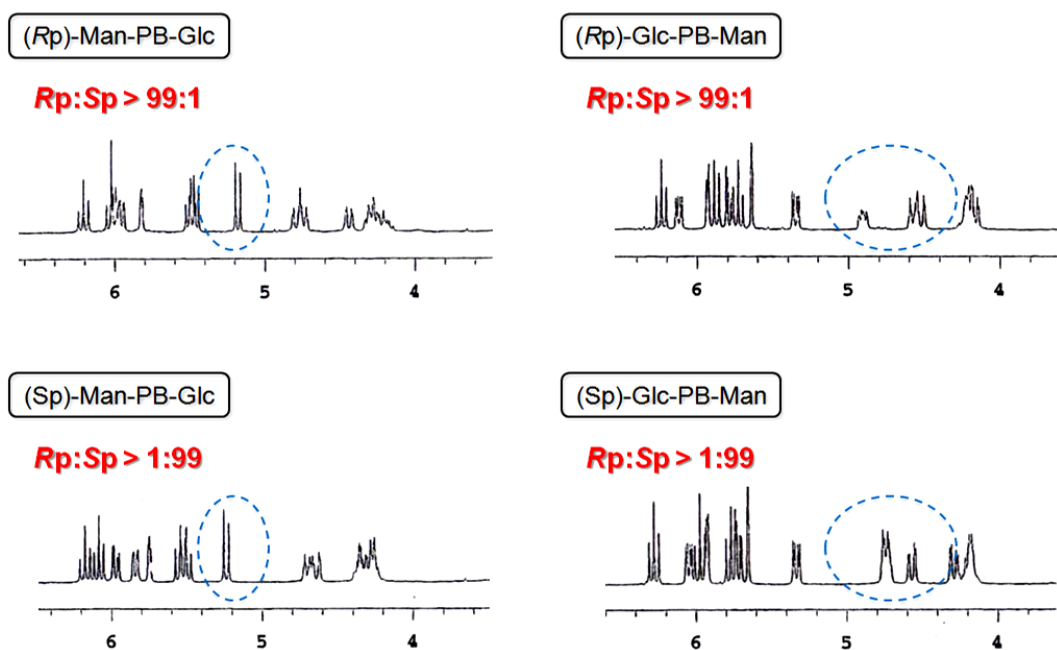


Figure 16 ^1H NMR analysis of diastereo purity of (*Rp*)- and (*Sp*)-23c-d.

Table 7 Isolated yields and diastereo purity of dimers of glycosyl borano- phosphates.

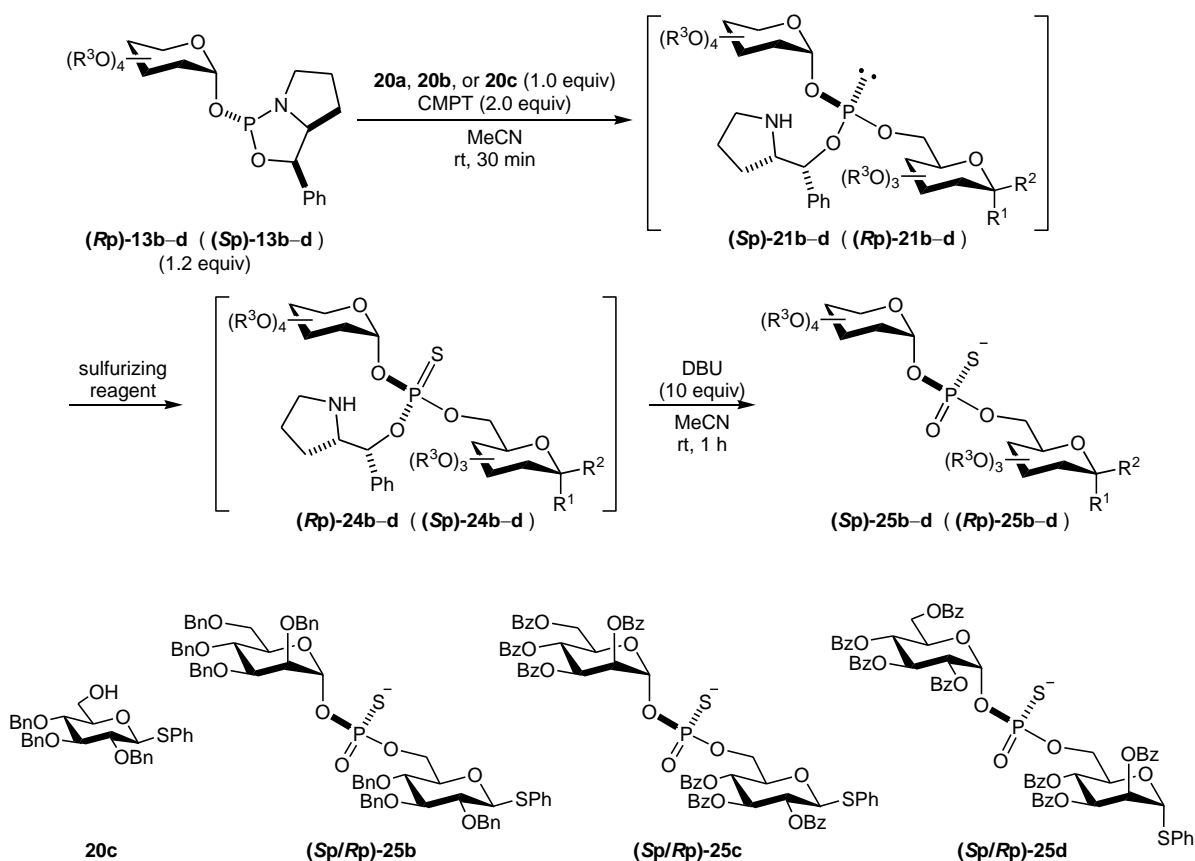
entry	target compounds	yield	diastereo ratio ^a (<i>Rp</i> : <i>Sp</i>)
1	(<i>Rp</i>)-Man-PB-Glc (<i>Rp</i>)-23c	79%	>99:1
2	(<i>Sp</i>)-Man-PB-Glc (<i>Sp</i>)-23c	76%	>1:99
3	(<i>Rp</i>)-Glc-PB-Man (<i>Rp</i>)-23d	77%	>99:1
4	(<i>Sp</i>)-Glc-PB-Man (<i>Sp</i>)-23d	96%	>1:99

^aEstimated by ^1H NMR.

第二節 グリコシルホスホロチオエート 2 量体の合成

グリコシルボラノホスフェート 2 量体の合成は、ボラノホスフェート 2 量体とほぼ同様の以下の経路に従い、① モノマーユニットと他の糖誘導体との縮合、② 硫化、③ 不斉補助基の除去の 3 段階を経て行った (Scheme 20)。

Scheme 20 Synthesis of Glycosyl Phosphorothioates.



まず、モノマーユニットとして Bn 保護、硫化試薬に *N,N'*-dimethylthiuram disulfide (DTD)⁴² を使用し、**25b** の合成を試みたが、³¹P NMR による反応追跡の結果、硫化段階において複数の副生成物が生成し、収率低下の原因となっていることがわかった。

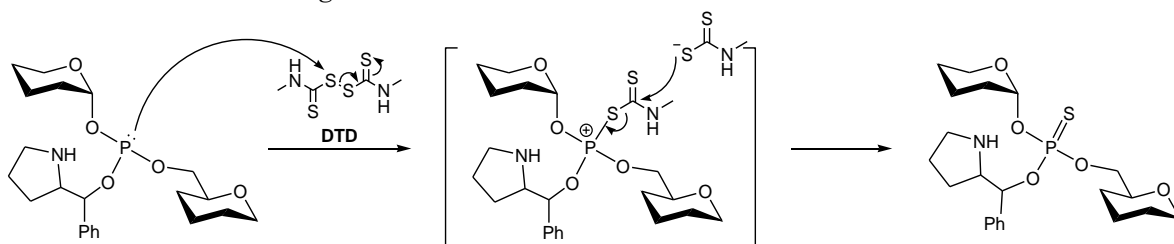
2-1 硫化条件の検討

DTD を硫化剤とするリン原子の硫化反応の機構は、リン原子の孤立電子対の求核攻撃による DTD のジスルフィド結合の開裂、それにより生成した活性なホスホニウム中間体に対する DTD 由来のアニオン種の求核攻撃を経て進行すると考えら

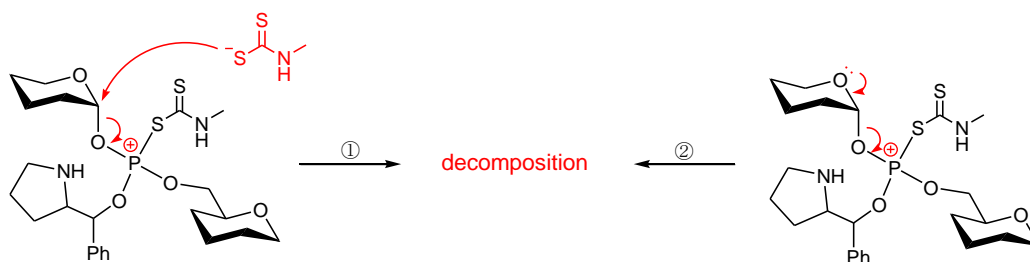
れている (Scheme 21)。DTD をホスホロチオエート核酸の合成過程で用いた報告例は数多く存在し、硫化の過程における副反応の進行は報告されていない。このことから、本系で観測されている現象は、糖 1-リン酸誘導体特有のものである可能性があり、以下の 2 通りの副反応機構が考えられる (Scheme 22)。

- ① 非還元末端側の糖のアノマー炭素に対するアニオン種の求核攻撃
- ② オキソカルベニウムカチオンの生成に伴うリンオキシグリコシド結合の開裂

Scheme 21 Sulfurizing mechanism of DTD.



Scheme 22 Plausible mechanism of side reaction.



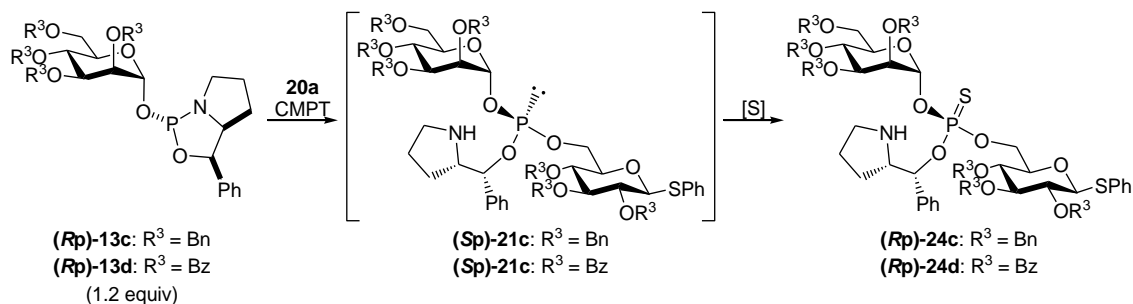
そこで、硫化剤、及び、糖水酸基の保護基の検討を行った。硫化剤には、DTD と比較して、より反応が速やかに進行することが期待できる POS⁴³、S₈ を選択した。また、糖水酸基の保護基には、ピラノース環上の電子的な環境を変化させることを目的として、電子供与性基である Bn 基に代わり、電子求引性基である Bz 基を用いた検討を行った。結果を以下の Table 8 に示す。

硫化剤に関しては、DTD < POS < S₈ の順に反応系の改善が見られ、特に Bn 保護糖に対して S₈ を使用した系 (entry 3)、及び、Bz 保護糖に対して POS または S₈ を使用した系 (entry 5, 6) では、副反応の進行は完全に抑制され、定量的な目的物の生成が確認された。このことから、ホスホニウム中間体生成後の反応がより速く、速やかに目的物へと誘導される硫化試薬が適していることがわかった。

また、entry 1-2、entry 4-5 をそれぞれ比較することにより、糖水酸基を Bz 基とした entry 4-5 の方が副反応の進行が抑制されていることがわかった。この実験結果から以下のことがわかる。Bz 保護糖は、Bz 基の電子求引性から、Bn 保護糖よりもアノマー炭素の電子密度が低く、求電子性が高い。即ち、副反応が Scheme

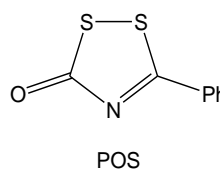
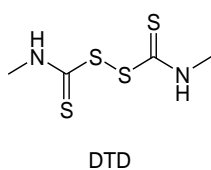
22-①の機構で進行している場合、Bz 保護糖は Bn 保護糖と比較して、より分解が加速する結果となることが予想される。一方で、副反応が Scheme 22-②のように、オキソカルベニウムカチオンの生成に伴う機構で進行している場合、Bn 保護糖と Bz 保護糖とを比較すると、よりオキソカルベニウムカチオンが不安定化される Bz 保護糖を用いた系で、反応系は改善されることが予想される。これらと上記の実験結果を考え併せると、副反応の機構は、Scheme 22-②であることが示唆される。

Table 8 Reaction Conditions for Sulfurization.



entry	R ³	sulfurizing reagents	product ratio of 24c-d ^a	diastereo ratio ^a
1	Bn	DTD	46%	— ^b
2	Bn	POS	80%	— ^b
3	Bn	S ₈	quant	>99:1
4	Bz	DTD	87%	— ^c
5	Bz	POS	quant	>99:1
6	Bz	S ₈	quant	>99:1

^aEstimated by ³¹P NMR. ^bNot determined.



以上の検討結果に加え、精製過程における POS の残渣と目的物との分離が困難であることを考慮し、糖水酸基の保護基に Bz 基を、硫化試薬に S₈を用いる条件が最適であると結論付けた。

2-2 各種 2 量体の収率及び立体化学的純度の評価

以上のように最適化を行った手法により、前節同様、 α -D-Man-(1-*P*-6)-D-Glc、 α -D-Glc-(1-*P*-6)-D-Man 構造を有する (*Rp/Sp*)-**25c**、(*Rp/Sp*)-**25d** の合成を行った。立体選択性の評価は、 ^{31}P NMR のプロファイルを異性体間で比較することによって行った (Figure 17)。それぞれの単離収率、及び、立体化学的純度を以下の Table 9 に示す。このように、グリコシルホスホロチオエート誘導体に関して、いずれも高収率かつ高立体選択的な 2 量体アナログの合成が達成された。

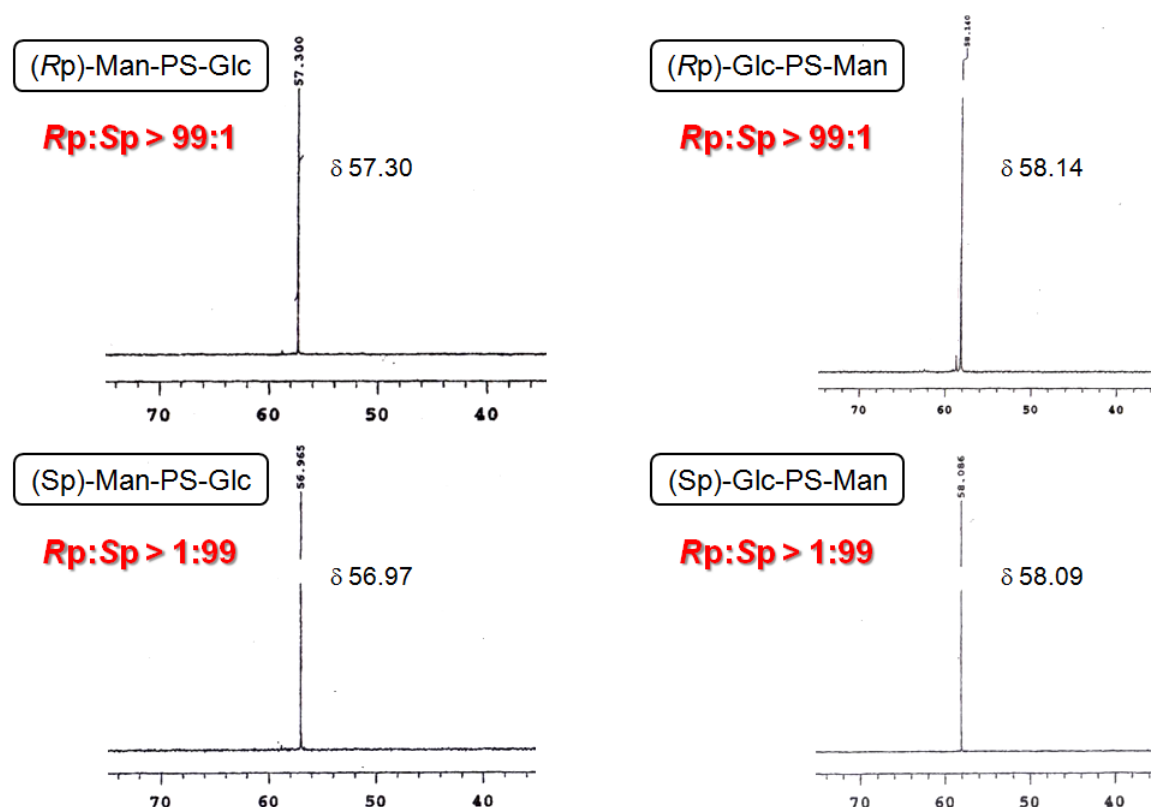


Figure 17 ^{31}P NMR analysis of diastereo purity of (*Rp*)- and (*Sp*)-**25c-d**.

Table 9 Isolated yield and diastereo purity of dimers of glycosyl phosphorothioates.

entry	target compounds	yield	diastereo ratio ^a (<i>Rp</i> : <i>Sp</i>)
1	(<i>Rp</i>)-Man-PS-Glc (Rp)- 25c	82%	>99:1
2	(<i>Sp</i>)-Man-PS-Glc (Sp)- 25c	80%	>1:99
3	(<i>Rp</i>)-Glc-PS-Man (Rp)- 25d	77%	>99:1
4	(<i>Sp</i>)-Glc-PS-Man (Sp)- 25d	73%	>1:99

^aEstimated by ^{31}P NMR.

総括

本研究では、オキサザホスホリジン法を応用した、リン原子修飾 α -糖 1-リン酸誘導体の新規立体選択的合成手法の開発を目的とし、まず、オキサザホスホリジンモノマーユニットの合成法の確立、そして、それを用いた種々のリン原子修飾アナログの合成を行った。

(第一章)

モノマーユニットの合成における課題は、糖のアノマー炭素、及び不斉リン原子の立体化学がいずれも制御された、立体化学的に純粋なオキサザホスホリジン誘導体を得ることであった。

これを克服するため、まず1つ目の戦略として、糖のアノマー位の立体制御に焦点を当て、ヨウ化糖の α 選択的ホスフィチル化反応を経由する2通りの合成法を試みた。その結果、いずれの手法も、中間体の化学的不安定性や、ホスフィチル化剤由来の分離困難な残渣の生成、精製過程での目的物の加水分解等、様々な合成上の難点を抱えていることがわかり、効率的なオキサザホスホリジンモノマーユニットの入手には至らなかった。

そこで、これらの検討から得られた、中間体およびホスフィチル化剤の構造、反応条件等に関する知見を活かした2つ目の戦略として、アノマー位に遊離の水酸基を有する糖誘導体を2-クロロオキサザホスホリジン誘導体によってホスフィチル化する手法を試みた。本手法では、既存の知見から、生成物の不斉リン原子の立体化学は制御されることが期待されるが、一方で、糖のアノマー位の立体制御が課題であった。まず、マンノース骨格を有する誘導体に関しては、アキシャル方向に存在する2位水酸基の立体電子効果により、立体化学的純度の高い α 体のオキサザホスホリジンモノマーユニットが得られた。また、グルコース骨格を有する誘導体に関しては、本手法のホスフィチル化反応の速度が、反応系中におけるアノマー位の異性化の速度と比較して十分に大きいことを利用し、再結晶法によって、予め α 体優先的に晶出させた誘導体を前駆体として用いることにより、アノマー位の異性化を殆ど伴わずに高い立体化学的純度のオキサザホスホリジンモノマーユニットを得ることができた。また、1つ目の戦略で問題となっていた精製段階での目的物の加水分解は、反応系を塩基性に変更したことにより抑制され、さらにその精製の過程で、僅かに存在する β 体を除去し、立体化学的純度をより向上させることが可能であることがわかった。以上のような手法を採用することにより、高い立体化学的純度のオキサザホスホリジンモノマーユニットの効率的合成手法が確立された。

(第二章)

合成したオキサザホスホリジンモノマーユニットを用い、オキサザホスホリジン法による糖 1-リン酸 2 量体アナログの合成を行った。リン原子に導入する置換基には、硫黄、ホウ素を含む官能基を選択し、グリコシルボラノホスフェート 2 量体、グリコシルホスホロチオエート 2 量体の合成を試みた。その結果、モノマーユニットと他の糖誘導体との縮合反応は、モノマーユニットの立体化学を保持して進行し、目的とする絶対立体配置を有するホスファイト誘導体の生成が確認された。また、その後の段階に関しても、グリコシルボラノホスフェート誘導体の合成では、ボラノ基の脱離を伴うことなく効率的に不斉補助基を除去することのできる塩基の検討を、グリコシルホスホロチオエート誘導体の合成では、リンオキシグリコシド結合の開裂を伴うことなく硫化反応が進行する硫化試薬、及び、糖水酸基の保護基の検討を行い、いずれも最適な条件を確立した。さらに、各々の反応後の粗生成物中に含まれる分離困難な試薬の残渣を効率的に除去する単離精製法も併せて確立した。

確立されたプロトコルに従い、 α -D-Man-(1-*P*6)-D-Glc、 α -D-Glc-(1-*P*6)-D-Man 構造を有する計 8 種類の 2 量体アナログを合成し、それぞれ ^{31}P NMR、または ^1H NMR を用いた立体化学的純度の評価を行った結果、いずれの 2 量体に関しても、高収率かつ高立体選択的なアナログの合成が達成されたことがわかった。この結果から、本手法が、糖骨格の種類や、リン原子に導入する化学修飾種の種類に依存せず、汎用性の高いものであることが示唆された。

本研究で確立された手法により、まず、髄膜炎菌の莢膜多糖や寄生性原虫の糖衣・分泌タンパク中等に含まれる抗原決定基として知られる繰り返し構造の一部を模倣したリン原子修飾アナログ分子の立体選択的合成が可能となる。これらのアナログは、元となる生体内の糖 1-リン酸誘導体の生理活性発現に関する情報を与える他、ワクチン候補分子や、あるいは糖リン酸鎖伸長酵素の阻害剤等としての利用も期待できる。また、本研究で合成を達成しているような 2 量体程度の鎖長のアナログでも、抗体や酵素との親和性を評価する研究が可能となる。また、本手法が基盤としているオキサザホスホリジン法は、核酸化学の分野で既に固相法への応用も為されていることから、同様の戦略を用いて、本手法を固相法へ展開することにより、様々な鎖長を有するオリゴマーの合成が可能となると期待できる。このように、本研究の成果は、より効率的な医薬品候補分子の探索に貢献するものと期待される。

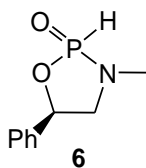
実験の部

General information

All NMR spectra were recorded on a Varian Mercury 300. ^1H NMR spectra were obtained at 300 MHz with tetramethylsilane (TMS) (δ 0.0) as an internal standard in CDCl_3 and CD_3CN . ^{13}C NMR spectra were obtained at 75.5 MHz with CDCl_3 as an internal standard (δ 77.0) in CDCl_3 , or with CD_3CN (δ 118.0) as an internal standard in CD_3CN . ^{31}P NMR spectra were obtained at 121.5 MHz with 85% H_3PO_4 (δ 0.0) as an external standard. ESI mass spectra were recorded on an LTQ ORBITRAP XL. All the reactions were conducted under an inert atmosphere. Silica gel column chromatography was carried out using Kanto silica gel 60 N (spherical neutral 63–210 μm or 40–50 μm) unless otherwise noted. Analytical TLC was performed on Merck Kieselgel 60-F₂₅₄ plates. Dry organic solvents were prepared by appropriate procedures prior to use. The other organic solvents were reagent grade and used as received.

Experimental procedures

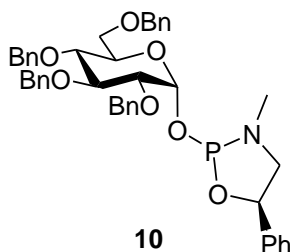
2-Oxo-3-methyl-5-phenyl-1,3,2-oxazaphospholane [6].



1,2-amino alcohol **8** (15.2 mg, 0.100 mmol) was dried by repeated coevaporations with dry pyridine and dry toluene, and then dissolved in dry CH_2Cl_2 (1.0 mL) under argon atmosphere. Bis(fluoroalkyl)phosphite **4**⁴⁵ (39.7 mg, 0.10 mmol) was added dropwise, and the mixture was stirred for 30 min at rt. Then CH_3CN (1.0 mL) was added, and the residue was repeatedly coevaporated with CH_3CN to remove generated hexafluoro isopropanol. In this step, The residue was concentrated to about 0.50 - 1.0 mL each time but solvent

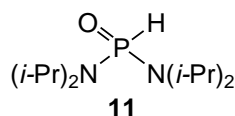
must not be removed completely except the last concentration, otherwise the degradation of **6** was observed. After concentration, crude **6** was obtained. This material was used without further purification. ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.79 (d, $J_{\text{H-H}}=10.5$ Hz, 1.5H), 2.85 (d, $J_{\text{H-H}}=9.9$ Hz, 1.5H), 3.28-3.38 (m, 2H), 3.54-3.72 (m, 2H), 5.46-5.51 (m, 0.5H), 5.61-5.65 (m, 0.5H), 7.441 (d, $J_{\text{P-H}}=664$ Hz, 0.5H), 7.442 (d, $J_{\text{P-H}}=668$ Hz, 0.5H), ^{31}P NMR δ 20.6, 22.5

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-1-*O*-[(5*R*)-3-methyl-5-phenyl-1,3,2-oxazaphospholidine-2-yl]- α -D-glucose [**10**].



Mixture of **6** (1.0 mmol) and *N,N*-diisopropylethylamine (DIPEA) (87.1 μl , 0.500 mmol) in dry CH_3CN (1.0 mL) was added dropwise to **9**⁴⁶ (0.200 mmol) at rt under argon atmosphere and stirred for 12 h. The mixture was then diluted with CHCl_3 (1.0 mL), and washed with a saturated NaHCO_3 aqueous solutions (3×5 mL). The washings were combined and extracted with CHCl_3 (1×5 mL). The organic layers were combined, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was then purified by silica gel column chromatography [NH silica gel (Fuji Silysia Chemical, Inc. DM1020 100–200 mesh), hexane-ethyl acetate-triethylamine (81:16:3, v/v/v)] to afford **10** (impure). ^{31}P NMR δ 140.1

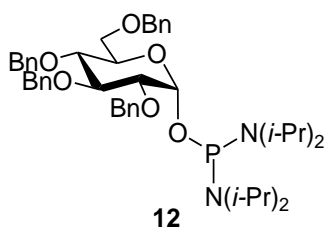
Bis(*N,N*-diisopropylamino)phosphine oxide [**11**].



Commercially available bis(*N,N*-diisopropylamino)phosphine chloride

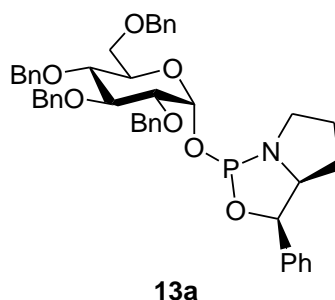
(5.34 g, 20.0 mmol) was suspended in freshly distilled diethyl ether (80 ml). The mixture was added dropwise DIPEA (6.97 ml, 40 mmol) and water (0.360 ml, 20 mmol), and stirred for 2 h at rt. Then the reaction mixture was filtered to remove insoluble salts and washed with brine. The washings were combined and extracted with CHCl₃. The organic layers were combined, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to afford **11** quantitatively. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.25 (dd, *J*_{H-H}= 21.3, 6.9 Hz, 24H), 3.48-3.62 (m, 4H), 7.19 (d, *J*_{P-H}=549 Hz, 1H). ³¹P NMR δ 7.47

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α -D-mannose-1-yl bis(*N,N*-diisopropylamino) phosphoramidite [**12**].



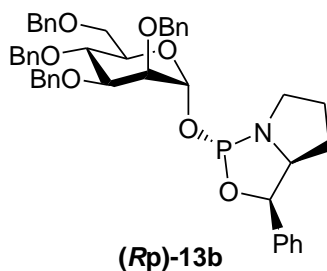
Mixture of **11** and DIPEA (1.60 ml, 9.17 mmol) in dry CH₃CN (36.8 ml), which was dried over MS 3A for 12 h, was added dropwise to **9** (3.67 mmol) at rt under argon atmosphere and stirred for 2 h. The mixture was then diluted with CHCl₃ (10 mL), filtered, and washed with a saturated NaHCO₃ aqueous solutions (3 × 20 mL). The washings were combined and extracted with CHCl₃ (1 × 20 mL). The organic layers were combined, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was then purified by silica gel column chromatography [NH silica gel, hexane-triethylamine (98:2, v/v)] to afford **12**. ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.12-1.23 (m, 24H), 3.52-3.62 (m, 3H), 3.70-3.79 (m, 2H), 3.97-4.03 (m, 2H), 4.44-4.94 (m, 8H), 5.37 (dd, *J*_{H-H}= 10.4, 3.0 Hz, 1H). ³¹P NMR δ 117.4

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranoside-1-*O*-oxazaphospholidine Monomer [13a (Table 3, entry10)].



11 (102 mg, 0.132 mmol) was dried by repeated coevaporations with dry pyridine and dry toluene. 1*H*-tetrazole (18.5 mg, 0.264 mmol) in CH₃CN (0.55 mL) was added to **11**, and then the mixture was added dropwise to 1,2-amino alcohol **2** (23.4 mg, 0.132 mmol), which was dried by repeated coevaporations with dry pyridine and dry toluene, at rt. The flask of **11** was washed with CH₃CN (0.10 mL) and the washing was also added to the reaction mixture. After stirring for 15 min at rt, The mixture was then diluted with CHCl₃ (5 mL) and washed with a saturated NaHCO₃ aqueous solutions (3 × 10 mL) and brine (1 × 10 mL). The washings were combined and extracted with CHCl₃ (1 × 10 mL). The organic layers were combined, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude **13a**. This material was used without further purification. ³¹P NMR δ 149.3

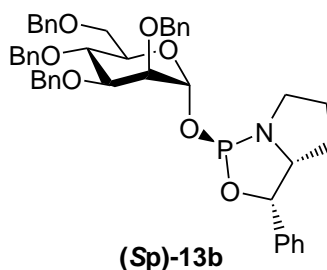
(*Rp*)-2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside-1-*O*-oxazaphospholidine monomer [(*Rp*)-13b]. A typical procedure for the synthesis of (*Rp*)- and (*Sp*)-13b–d (Table 5).



2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside **14b** (108 mg, 0.20 mmol) was dried by repeated coevaporations with dry pyridine and dry toluene, and

then dissolved in freshly distilled THF (1.0 mL) under argon atmosphere. Triethylamine (0.19 mL, 1.4 mmol) was added, and the mixture was cooled to -78°C . A 0.67 M solution of the (4*R*, 5*S*)-2-chloro-1,3,2-oxazaphospholidine derivative (**(4*S*,5*R*)-3**)^{30, 44} in freshly distilled THF (0.90 mL, 0.60 mmol) was successively added to the solution, and then the mixture was stirred for 30 min at rt. The mixture was then diluted with CHCl_3 (10 mL) and washed with a saturated NaHCO_3 aqueous solutions (3×20 mL) and brine (1×20 mL). The washings were combined and extracted with CHCl_3 (1×20 mL). The organic layers were combined, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was then purified by silica gel column chromatography [4.4 g of NH silica gel, hexane-ethyl acetate-triethylamine (80:16:4, v/v/v)] to afford (*Rp*)-**13b** (166 mg, 0.22 mmol, quant) as a colorless oil. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.39-7.14 (m, 25H), 5.80 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 5.63 (dd, $J = 7.5, 1.8$ Hz, 1H), 4.89 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.80-4.70 (m, 2H), 4.64-4.44 (m, 5H), 4.10-3.96 (m, 3H), 3.88-3.75 (m, 3H), 3.66 (dd, $J = 5.4, 1.2$ Hz, 1H), 3.61-3.51 (m, 1H), 3.16-3.03 (m, 1H), 1.66-1.56 (m, 1H), 1.19-1.03 (m, 2H), 0.96-0.83 (m, 1H). ^{31}P NMR δ 150.3. ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 138.5, 138.3, 138.2, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9, 127.9, 127.8, 127.7, 127.5, 127.4, 127.3, 126.6, 126.0, 125.2, 92.3, 92.2, 82.6, 82.4, 79.6, 75.2, 75.1, 74.8, 73.4, 73.3, 73.2, 72.5, 72.2, 72.0, 69.0, 67.5, 53.1, 50.7, 47.2, 46.8, 29.7, 28.1, 26.6, 25.9, 20.6. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{49}\text{NO}_7\text{P}^+$ [$\text{M}+\text{H}^+$] 746.3241, found 746.3244.

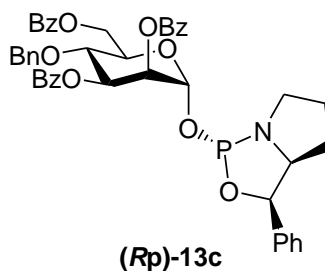
(*Sp*)-2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside-1-*O*-oxazaphospholidine monomer [(*Sp*)-**13b**].



Crude (*Sp*)-**13b** was synthesized from 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside **14b** (162 mg, 0.30 mmol) and (**(4*R*,5*S*)-3**) following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [6 g of NH silica gel, hexane-ethyl acetate-triethylamine (80:16:4, v/v/v)] to afford (*Sp*)-**13b** as a colorless oil (166

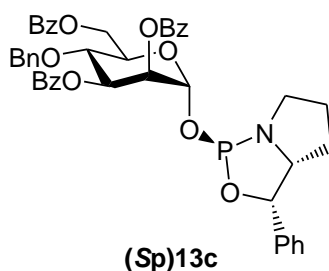
mg, 0.22 mmol, 74%). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.40-7.12 (m, 25H), 5.73 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 5.59 (dd, J = 6.9, 1.8 Hz, 1H), 4.88-4.44 (m, 8H), 4.09-3.76 (m, 6H), 3.70-3.67 (m, 1H), 3.62-3.49 (m, 1H), 3.23-3.12 (m, 1H), 1.65-1.55 (m, 2H), 1.22-1.12 (m, 1H), 0.98-0.85 (m, 1H). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 156.0. ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 138.6, 138.5, 138.4, 138.3, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.5, 127.4, 127.3, 126.6, 126.0, 125.7, 125.6, 125.5, 80.0, 77.2, 75.2, 75.1, 75.0, 74.9, 74.6, 73.3, 73.2, 73.1, 73.0, 72.9, 72.5, 72.2, 72.0, 69.3, 68.9, 53.1, 50.6, 28.0, 26.5, 26.1, 26.0, 20.6. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{49}\text{NO}_7\text{P}^+$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 746.3241, found 746.3246.

(Rp)-2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside-1-*O*-oxazaphospholidine monomer [*(Rp)*-13c].



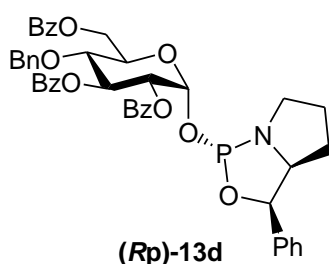
Crude **(Rp)-13c** was synthesized from 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside **14c** (299 g, 0.50 mmol) and **(4*S*,5*R*)-3** following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [12 g of NH silica gel, hexane-ethyl acetate-triethylamine (80:16:4, v/v/v)] to afford **(Rp)-13c** as a white form (363 mg, 0.45 mmol, 90%). ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.09-8.03 (m, 4H), 7.96 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 7.83 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 7.61-7.24 (m, 17H), 6.19 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 6.05-6.01 (m, 2H), 5.82 (dd, J = 7.7, 1.8 Hz, 1H), 5.69-5.67 (m, 1H), 4.73-4.63 (m, 2H), 4.41 (dd, J = 12, 3.0 Hz, 1H), 4.07-3.98 (m, 1H), 3.72-3.60 (m, 1H), 3.29-3.17 (m, 1H), 1.72-1.62 (m, 2H), 1.28-1.19 (m, 1H), 1.08-0.96 (m, 1H). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 148.4. ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 166.1, 165.4, 165.3, 138.2, 133.4, 133.1, 132.9, 129.9, 129.8, 129.7, 129.3, 129.1, 129.0, 128.5, 128.4, 128.2, 127.5, 125.5, 91.4, 83.5, 83.3, 71.2, 70.0, 69.6, 67.7, 67.6, 66.6, 62.5, 53.1, 47.3, 46.8, 46.0, 29.7, 28.2, 26.6, 26.0, 20.6. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{41}\text{NO}_{11}\text{P}^+$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 802.2412, found 802.2416.

(Sp)-2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside-1-*O*-oxazaphospholidine monomer [(Sp)-13c].



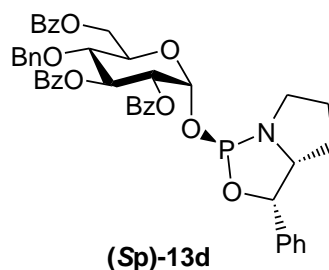
Crude **(Sp)-13c** was synthesized from 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside **14c** (130 mg, 0.22 mmol) and **(4*R*,5*S*)-3** following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [5.4 g of NH silica gel, hexane-ethyl acetate-triethylamine (80:16:4, v/v/v)] to afford **(Sp)-13c** as a white form (147 mg, 0.18 mmol, 83%). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 8.09 (d, $J = 7.5$ Hz, 4H), 7.94 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.85 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.62-7.23 (m, 17H), 6.20-6.13 (m, 1H), 6.05-6.01 (m, 2H), 5.79-5.75 (m, 2H), 4.70-4.59 (m, 2H), 4.49-4.45 (m, 1H), 4.13-4.05 (m, 1H), 3.70-3.58 (m, 1H), 3.32-3.21 (m, 1H), 1.71-1.60 (m, 2H), 1.31-1.21 (m, 1H), 1.06-0.93 (m, 1H). $^{31}\text{P NMR}$ (CDCl_3) δ 155.5. $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3) δ 166.0, 165.3, 165.3, 138.0, 138.0, 133.3, 133.2, 133.0, 132.8, 129.7, 129.6, 129.5, 129.3, 129.2, 128.9, 128.8, 128.4, 128.2, 128.1, 127.4, 126.5, 125.9, 125.4, 92.5, 92.3, 82.8, 82.7, 77.2, 71.2, 71.1, 69.7, 69.4, 67.0, 66.7, 62.6, 53.0, 50.5, 47.1, 46.6, 39.4, 28.0, 26.4, 25.9, 20.5. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{41}\text{NO}_{11}\text{P}^+$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 802.2412, found 802.2412.

(Rp)-2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranoside-1-*O*-oxazaphospholidine monomer [(Rp)-13d].



Crude (**Rp**)-**13d** was synthesized from 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl-D-glucopyranoside **14d** (597 mg, 1.0 mmol, $\alpha:\beta = 93:7$) and (**4*S*,5*R***)-**3** following the typical procedure described above except that the reaction mixture was cooled to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ before triethylamine was added in order to avoid anomerization. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [21 g of NH silica gel, hexane-ethyl acetate-triethylamine (86:12:2, v/v/v)] to afford (**Rp**)-**13d** as a white form (658 mg, 0.82 mmol, 82%, $\alpha:\beta = 95:5$). ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.06-7.87 (m, 8H), 7.53-7.08 (m, 17H), 6.27 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H), 6.09 (dd, $J = 9.3, 3.6$ Hz, 1H), 5.89 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 5.78 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H), 5.36 (dd, $J = 10.2, 3.6$ Hz, 1H), 4.74-4.62 (m, 2H), 4.45 (dd, $J = 12.3, 4.5$ Hz, 1H), 3.99-3.90 (m, 1H), 3.55-3.42 (m, 1H), 3.08-2.97 (m, 1H), 1.64-1.54 (m, 2H), 1.15-1.06 (m, 1H), 0.92-0.79 (m, 1H). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 152.6. ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 166.1, 165.7, 165.1, 137.9, 133.3, 133.1, 133.0, 132.9, 129.7, 129.6, 129.1, 128.8, 128.7, 128.5, 128.2, 128.1, 128.0, 127.1, 126.6, 125.9, 125.2, 90.4, 90.3, 82.2, 82.1, 72.0, 71.9, 70.4, 69.1, 68.7, 67.6, 67.5, 62.6, 53.0, 50.5, 47.2, 46.7, 39.5, 28.0, 26.5, 25.9, 25.8, 20.6. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{41}\text{NO}_{11}\text{P}^+$ [$\text{M}+\text{H}^+$] 802.2412, found 802.2413.

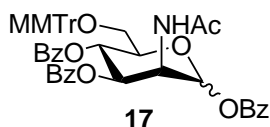
(Sp)-2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranoside-1-*O*-oxazaphospholidine monomer [(**Sp**)-**13d**].



Crude (**Sp**)-**13d** was synthesized from 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl-D-glucopyranoside **14d** (485 mg, 0.81 mmol, $\alpha:\beta = 94:6$) and (**4*R*,5*S***)-**3** following the typical procedure described above except that the reaction mixture was cooled to $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ before triethylamine was added in order to avoid anomerization. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [NH silica gel, hexane-ethyl acetate-triethylamine (80:16:4, v/v/v)] to afford (**Sp**)-**13d** as a white form (424 mg, 0.53 mmol, 65%, α only). ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.05-7.89 (m, 8H), 7.52-7.15 (m, 17H), 6.27 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H), 6.03 (dd, $J = 9.6, 3.6$ Hz, 1H), 5.87 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.76 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H),

5.38 (dd, $J= 10.1, 3.3$ Hz, 1H), 4.70-4.58 (m, 2H), 4.48 (dd, $J= 12.3, 5.1$ Hz, 1H), 3.77-3.68 (m, 1H), 3.51-3.38 (m, 1H), 3.05-2.94 (m, 1H), 1.52-1.27 (m, 2H), 1.06-0.98 (m, 1H), 0.91-0.78 (m, 1H). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 156.2. ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 166.1, 165.7, 165.6, 165.1, 138.0, 137.9, 133.3, 133.0, 132.9, 129.7, 129.6, 129.0, 128.9, 128.7, 128.3, 128.2, 128.0, 127.3, 126.5, 125.9, 125.3, 90.3, 90.2, 82.5, 82.4, 77.2, 72.1, 70.4, 69.2, 68.5, 66.9, 62.8, 53.0, 50.6, 46.7, 46.3, 27.8, 26.5, 25.8, 20.5. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{45}\text{H}_{41}\text{NO}_{11}\text{P}^+$ $[\text{M}+\text{H}^+]$ 802.2412, found 802.2411.

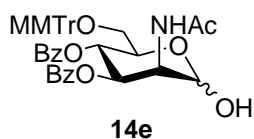
2-Deoxy-2-acetamido-1,3,4-tri-*O*-benzoyl-6-*O*-MMTr-D-mannopyranose [17].



2-Deoxy-2-acetamido-D-mannopyranoside **15** (0.573 g, 2.4 mmol) was dried by repeated coevaporations with dry pyridine, and then dissolved in dry pyridine (24 mL) under argon atmosphere. 4-Methoxytrityl chloride (1.04 g, 3.4 mmol) was added, and the mixture was stirred for 16 h at rt. The mixture was then cooled to 0 °C, added MeOH (5 mL), and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in CHCl_3 (50 mL), washed with a saturated NaHCO_3 aqueous solutions (3 \times 30 mL) and brine (1 \times 30 mL). The washings were combined and extracted with CHCl_3 (1 \times 30 mL). The organic layers were combined, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude 2-deoxy-2-acetamido-6-*O*-MMTr-D-mannopyranose **16**. Crude **16** was dried by repeated coevaporations with dry pyridine, and then dissolved in dry pyridine (12 mL) under argon atmosphere. Benzoic anhydride (3.25 g, 14 mmol) in dry pyridine (12 mL) and *N,N*-dimethyl-4-aminopyridine (20.4 mg, 0.17 mmol) was added at rt, and then the mixture was stirred for 17 h at 64 °C. The mixture was then cooled to rt, diluted with CHCl_3 (10 mL) and washed with a saturated NaHCO_3 aqueous solutions (3 \times 30 mL) and brine (1 \times 30 mL). The washings were combined and extracted with CHCl_3 (1 \times 30 mL). The organic layers were combined, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was then purified by silica gel column chromatography [60 g of silica gel, hexane-ethyl acetate (3/1, v/v)] to afford **17** (2.00 g, quant) as a white form. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.17-6.62 (m, 58H, Ar), 6.46 (d, $J= 2.1$ Hz, 1H, $\alpha\text{H-1}$), 6.28 (d,

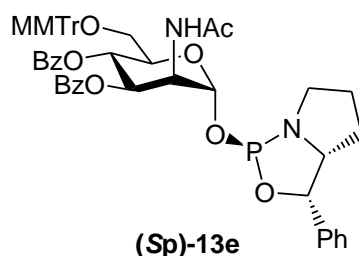
$J = 1.8$ Hz, 1H, β H-1), 6.25 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H, α NH), 6.16 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, β NH), 5.93-5.78 (m, 3H, α H-3, α H-4, β H-4), 5.51 (dd, $J = 9.5, 4.2$ Hz, 1H, β H-3), 5.19-5.15 (m, 1H, β H-2), 5.09-5.05 (m, 1H, α H-2), 4.25-4.20 (m, 1H, α H-5), 4.05-3.99 (m, 1H, β H-5), 3.53 (dd, $J = 11, 3.3$ Hz, 1H, β H-6), 3.43 (dd, $J = 11, 2.4$ Hz, 1H, α H-6), 3.26 (dd, $J = 10, 2.1$ Hz, 1H, β H-6'), 3.20 (dd, $J = 11, 3.9$ Hz, 1H, α H-6').

2-Deoxy-2-acetamido-3,4-di-*O*-benzoyl-6-*O*-MMTr-D-mannopyranose [14e].



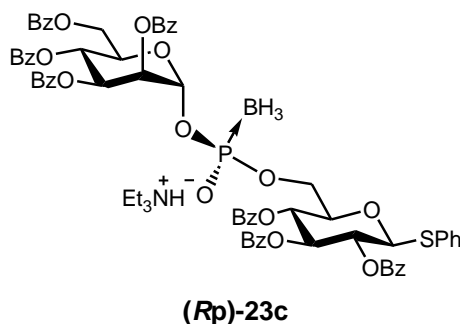
17 was dissolved in freshly distilled THF (15 mL) under argon atmosphere. A mixture of 40% methylamine solution in MeOH (2.9 mL) and freshly distilled THF (15 mL) was added at -30 ° C, and then the mixture was stirred for 12 h at -30 ° C. The reaction temperature was turned up to -20 ° C, and after another 8 h the mixture was diluted with cooled toluene (20 mL) and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography [80 g of silica gel, hexane-ethyl acetate (2/1, v/v)] to afford **17** (1.48 g, 2.1 mmol, 86%) as a white form. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.08-6.65 (m, 24H, Ar), 6.33-6.30 (m, 1H, β NH), 6.19 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, α NH), 5.81-5.75 (m, 1H, α H-3), 5.65 (t, $J = 10.2$ Hz, 1H, β H-4), 5.36 (dd, $J = 10, 4.2$ Hz, 1H, β H-3), 5.25 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, α H-1), 5.06 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, β H-1), 4.96-4.82 (m, 2H, α H-2, β H-2), 4.44-4.41 (m, 1H, α H-4), 3.82-3.72 (m, 2H, β H-5, β H-6), 3.47-3.15 (m, 4H, β H-6', α H-5, α H-6, α H-6').

(*Sp*)-2-Deoxy-2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranoside-1-*O*-oxazaphospholidine monomer [(*Sp*)-13e].



Crude (**Sp**)-**13e** was synthesized from **14e** (0.943 g, 1.3 mmol) and (**4R,5S**)-**3** following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [25 g of NH silica gel, dichloromethane-hexane-triethylamine (66:33:1, v/v/v)] to afford (**Sp**)-**13b** as a white form (166 mg, 0.22 mmol, 74%). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.90-6.61 (m, 29H, Ar), 6.13 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 5.98 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 5.75-5.72 (m, 2H), 4.88-4.85 (m, 1H), 4.36-4.31 (m, 1H), 4.07-3.98 (m, 1H), 3.69-3.57 (m, 1H), 3.38-3.11 (m, 3H), 1.75-1.61 (m, 2H), 1.29-1.19 (m, 1H), 1.05-0.92 (m, 1H). ³¹P NMR δ 155.1.

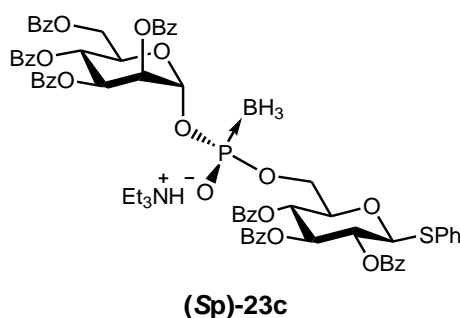
(*Rp*)-Boranophosphate diester-linked α-D-Man-(1-*P*6)-D-Glc derivative [(*Rp*)-**23c**]. A typical procedure for the synthesis of dimers of glycosyl phosphorothioate derivatives.



Monomer unit (***Rp***)-**13c** (99.7 mg, 0.12 mmol) and 1-*O*-thiophenyl 1-2,3,4-tri-*O*-benzoyl-β-D-glucopyranoside **20a** (60.5 mg, 0.10 mmol) was dried under high vacuum for 12 h, and a 0.2 M solution of CMPT in CH₃CN (1.0 mL, 0.20 mmol), dried over MS 3A for 12 h, was added at rt under argon. After 30 min, 1 M BH₃·THF solution in THF (1.0 mL, 1.0 mmol) was added dropwise. After an additional 40 min, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure to remove boronating reagent. Then CH₃CN (1.0 mL) and 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-ene (150 μL, 1.0 mmol) was added to the residue, and the reaction mixture was stirred for 1 h at rt. The mixture was then diluted with CHCl₃ (5 mL), and washed with phosphate buffer (pH 7.0, 2 × 10 mL). The aqueous layers were back-extracted with CHCl₃ (10 mL). The combined organic layers were washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (2 × 10 mL). The aqueous layers were back-extracted with CHCl₃ (10 mL). The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated to 5 mL under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography [3.5 g of NH silica gel on 12 g of neutral silica gel (40–50 μm),

hexane–ethyl acetate, 1:1, v/v, 200 mL, then dichloromethane–methanol–triethylamine, 98.5:0.5:1, v/v/v] and washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (5×10 mL) to give (*Rp*)-**23c** as a triethylammonium salt (110 mg, 81 μ mol, 79%). white form. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.13-7.02 (m, 40H), 6.20 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H), 6.04-5.93 (m, 3H), 5.82-5.80 (m, 1H), 5.52-5.43 (m, 2H), 5.17 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.80-4.71 (m, 2H), 4.46-4.41 (m, 1H), 4.32-4.14 (m, 3H), 2.98 (q, $J = 7.5$ Hz, 6H), 1.27 (t, $J = 7.5$ Hz, 9H). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 98.0-91.9 (m). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 166.0, 165.6, 165.3, 165.2, 165.1, 165.0, 133.2, 133.1, 133.0, 132.8, 132.4, 132.0, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 129.3, 129.2, 129.1, 129.0, 128.9, 128.8, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.6, 91.4, 91.3, 85.6, 77.7, 77.2, 74.4, 70.9, 70.6, 70.1, 69.4, 66.4, 63.5, 62.3, 45.6, 8.5. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{67}\text{H}_{57}\text{BO}_{19}\text{PS}^-$ [M^-] 1239.3051, found 1239.3050.

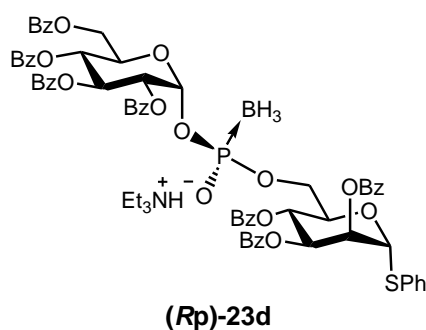
(*Sp*)-Boranophosphate diester-linked α -D-Man-(1-*P*6)-D-Glc derivative
[(*Sp*)-**23c**].



Crude (*Sp*)-**23c** was synthesized from monomer (*Sp*)-**13c** (96.6 mg, 0.12 mmol) and 1-*O*-thiophenyl-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranoside **20a** (58.8 mg, 0.10 mmol) following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [3.5 g of NH silica gel on 12 g of neutral silica gel (40–50 μ m), hexane–ethyl acetate, 1:1, v/v, 200 mL, then dichloromethane–methanol–triethylamine, 98.5:0.5:1, v/v/v] and washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (5×10 mL) to afford (*Sp*)-**23c** as a triethylammonium salt (102 mg, 76 μ mol, 76%). white form. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.14-7.17 (m, 40H), 6.18 (t, $J = 10.2$ Hz, 1H), 6.09 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H), 5.97 (dd, $J = 10.2, 3.0$ Hz, 1H), 5.84 (dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz, 1H), 5.76-5.74 (m, 1H), 5.58-5.47 (m, 2H), 5.24 (d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 4.72-4.62 (m, 2H), 4.37-4.24 (m, 4H), 2.92 (q, $J = 7.5$ Hz, 6H), 1.24 (t, $J = 7.2$ Hz, 9H). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 98.0-92.6 (m). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 165.9, 165.5, 165.4, 165.2, 164.9, 133.4, 133.2, 133.0, 132.8,

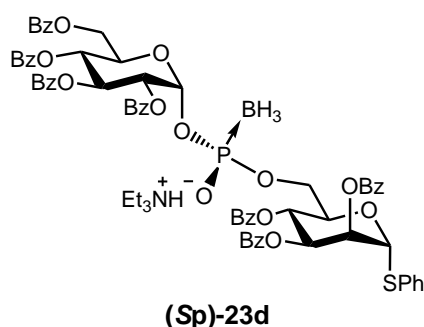
131.1, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 129.3, 129.2, 129.1, 128.9, 128.8, 128.7, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.5, 92.2, 86.1, 77.9, 77.8, 74.2, 70.9, 70.8, 70.7, 70.2, 69.7, 69.3, 66.2, 62.2, 61.7, 61.6, 45.5, 8.5. ESI-HRMS m/z calcd for $C_{67}H_{57}BO_{19}PS^-$ $[M^-]$ 1239.3051, found 1239.3050.

(Rp)-Boranophosphate diester-linked α -D-Glc-(1-P6)-D-Man derivative
[(Rp)-23d].



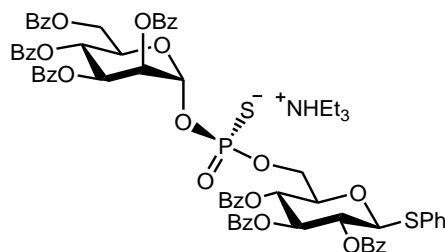
Crude **(Rp)-23d** was synthesized from monomer **(Rp)-13d** (96.0 mg, 0.12 mmol) and 1-*O*-thiophenyl-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside **20b** (58.4 mg, 0.10 mmol) following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [3.5 g of NH silica gel on 12 g of neutral silica gel (40–50 μ m), hexane–ethyl acetate, 1:1, v/v, 200 mL, then dichloromethane–methanol–triethylamine, 98.5:0.5:1, v/v/v] and washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (5 \times 10 mL) to afford **(Rp)-23d** as a triethylammonium salt (103 mg, 77 μ mol, 77%). white form. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.06-7.23 (m, 40H), 6.24 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 6.12 (dd, J = 8.7, 3.3 Hz, 1H), 5.94-5.70 (m, 4H), 5.64 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 5.35 (dd, J = 10.1, 3.6 Hz, 1H), 4.93-4.87 (m, 1H), 4.60-4.50 (m, 2H), 4.27-4.14 (m, 3H), 2.71 (q, J = 7.2 Hz, 6H), 1.00 (t, J = 7.5 Hz, 9H). ^{31}P NMR ($CDCl_3$) δ 96.9-91.3 (m). ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 165.9, 165.7, 165.4, 165.3, 165.1, 133.2, 133.1, 133.0, 132.8, 132.5, 130.0, 129.9, 129.7, 129.6, 129.2, 129.1, 128.9, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 89.4, 89.3, 85.9, 71.7, 71.6, 70.7, 70.5, 69.0, 68.2, 67.2, 62.3, 62.2, 62.1, 45.1, 8.2. ESI-HRMS m/z calcd for $C_{67}H_{57}BO_{19}PS^-$ $[M^-]$ 1239.3051, found 1239.3048.

(Sp)-Boranophosphate diester-linked α -D-Glc-(1-*P*6)-D-Man derivative [(Sp)-23d].



Crude **(Sp)-23d** was synthesized from monomer **(Sp)-13d** (96.9 mg, 0.12 mmol) and 1-*O*-thiophenyl-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranoside **20b** (59.1 mg, 0.10 mmol) following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [3.5 g of NH silica gel on 12 g of neutral silica gel (40–50 μ m), hexane–ethyl acetate, 1:1, v/v, 200 mL, then dichloromethane–methanol–triethylamine, 98.5:0.5:1, v/v/v] and washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (5 \times 10 mL) to afford **(Sp)-23d** as a triethylammonium salt (130 mg, 97 μ mol, 96%). white form. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.13-7.20 (m, 40H), 6.28 (t, J = 9.9 Hz, 1H), 6.07-5.92 (m, 3H), 5.80-5.70 (m, 2H), 5.66 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 5.33 (dd, J = 10.2, 3.3 Hz, 1H), 4.76-4.71 (m, 2H), 4.60-4.55 (m, 1H), 4.32-4.17 (m, 3H), 2.83-2.71 (m, 6H), 1.04 (t, J = 6.9 Hz, 9H). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 97.8-92.9 (m). ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 166.0, 165.6, 165.4, 165.2, 165.1, 133.4, 133.3, 133.2, 133.1, 132.9, 132.8, 132.3, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 129.3, 129.2, 129.0, 128.9, 128.7, 128.2, 128.1, 127.9, 90.7, 85.9, 77.2, 72.0, 71.9, 71.3, 71.2, 70.9, 70.5, 69.0, 68.3, 67.1, 62.3, 60.7, 60.6, 45.1, 8.2. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{67}\text{H}_{57}\text{BO}_{19}\text{PS}^-$ [M] 1239.3051, found 1239.3052.

(Sp)-Phosphorothioate diester-linked α -D-Man-(1-*P*6)-D-Glc derivative [(Sp)-25c]. A typical procedure for the synthesis of dimers of glycosyl phosphorothioate derivatives.

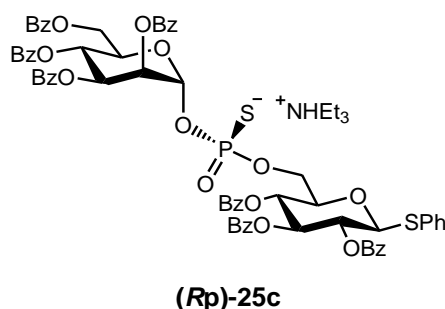


(Sp)-25c

Monomer unit (*Rp*)-13c (96.3 mg, 0.12 mmol) and 1-*O*-thiophenyl-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranoside **20a** (58.6 mg, 0.10 mmol) was dried under high vacuum for 12 h, and a 0.2 M solution of CMPT in CH₃CN (1.0 mL, 0.20 mmol), dried over MS 3A for 12 h, was added at rt under argon. After 30 min, 1 M S₈ solution in carbon disulfide (0.40 mL, 0.40 mmol) and pyridine (0.20 mL) were added. After an additional 30 min 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-ene (150 μ L, 1.0 mmol) was added to the residue, and the reaction mixture was stirred for 1 h at rt. The mixture was then diluted with CHCl₃ (5 mL), and washed with phosphate buffer (pH 7.0, 2 \times 10 mL). The aqueous layers were back-extracted with CHCl₃ (10 mL). The combined organic layers were washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (2 \times 10 mL). The aqueous layers were back-extracted with CHCl₃ (10 mL). The combined organic layers were dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated to dryness under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography [9 g of neutral silica gel (63–210 μ m), hexane–ethyl acetate–triethylamine, 50:50:1, v/v, 200 mL, then dichloromethane–methanol–triethylamine, 98.5:0.5:1, v/v/v] and washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (5 \times 10 mL) to give (*Sp*)-**25c** as a triethylammonium salt (109 mg, 80 μ mol, 80%). white form. ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.13-7.08 (m, 40H), 6.24 (t, *J* = 9.9 Hz, 1H), 6.13-6.00 (m, 3H), 5.88-5.87 (m, 1H), 5.56-5.46 (m, 2H), 5.25 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 4.82-4.72 (m, 2H), 4.46-4.25 (m, 4H), 3.07 (q, *J* = 7.5 Hz, 6H), 1.30 (t, *J* = 7.2 Hz, 9H). ³¹P NMR (CDCl₃) δ 57.3. ¹³C NMR (CDCl₃) δ 166.0, 165.9, 165.5, 165.4, 165.3, 165.2, 165.0, 164.9, 133.2, 133.1, 133.0, 132.9, 132.8, 132.5, 132.3, 132.1, 132.0, 130.0, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.3, 129.2, 129.1, 129.0, 128.9, 128.8, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.9, 127.7, 127.6, 94.0, 93.9, 85.4, 77.3, 74.5, 74.4, 70.7, 70.6, 70.4, 70.3, 70.0, 69.6, 69.3, 66.4, 66.2, 66.0, 65.9, 62.2,

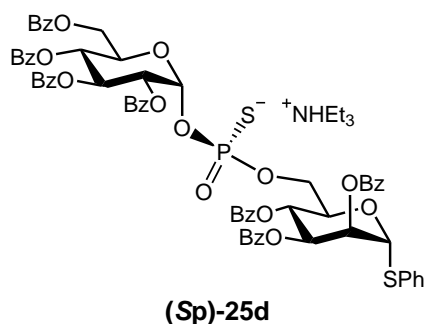
45.7, 8.5. ESI-HRMS m/z calcd for $C_{67}H_{54}BO_{19}PS_2^-$ [M^-] 1257.2444, found 1257.2432.

(Rp)-Phosphorothioate diester-linked α -D-Man-(1-P-6)-D-Glc derivative
[(Rp)-25c].



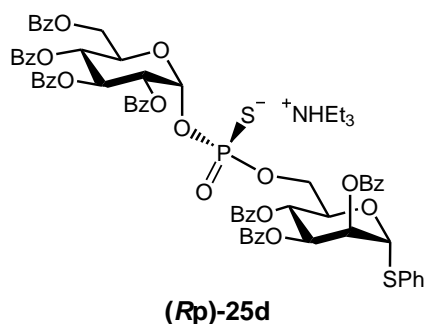
Crude **(Rp)-25c** was synthesized from monomer **(Sp)-13c** (60.8 mg, 75.8 μ mol) and 1-*O*-thiophenyl-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranoside **20a** (37.2 mg, 63.6 μ mol) following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [9 g of neutral silica gel (63–210 μ m), hexane–ethyl acetate–triethylamine, 50:50:1, v/v, 200 mL, then dichloromethane–methanol–triethylamine, 98.5:0.5:1, v/v/v] and washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (5 \times 10 mL) to afford **(Rp)-25c** as a triethylammonium salt (70.7 mg, 52 μ mol, 82%). yellow form. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.16–8.13 (m, 2H), 8.00–7.77 (m, 12H), 7.63–7.19 (m, 26H), 6.17 (t, J = 10.2 Hz, 1H), 6.03 (dd, J = 10.4, 1.8 Hz, 1H), 5.97–5.91 (m, 2H), 5.82–5.80 (m, 1H), 5.54–5.46 (m, 2H), 5.12 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 4.73–4.63 (m, 2H), 4.38–4.26 (m, 4H), 2.67 (q, J = 6.9 Hz, 6H), 1.10 (t, J = 7.2 Hz, 9H). ^{31}P NMR ($CDCl_3$) δ 57.0. ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 166.0, 165.6, 165.4, 165.3, 165.2, 165.1, 165.0, 133.2, 133.0, 132.9, 132.8, 132.7, 132.5, 132.2, 132.0, 130.1, 130.0, 129.8, 129.7, 129.6, 129.4, 129.3, 129.2, 129.1, 129.0, 128.9, 128.8, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 127.8, 94.6, 94.5, 86.0, 77.9, 77.8, 74.4, 70.7, 70.5, 70.4, 70.3, 70.1, 69.8, 69.5, 69.4, 66.3, 65.5, 62.3, 45.7, 8.6. ESI-HRMS m/z calcd for $C_{67}H_{54}BO_{19}PS_2^-$ [M^-] 1257.2444, found 1257.2436.

(Sp)-Phosphorothioate diester-linked α -D-Glc-(1-*P*6)-D-Man derivative [(Sp)-25d].



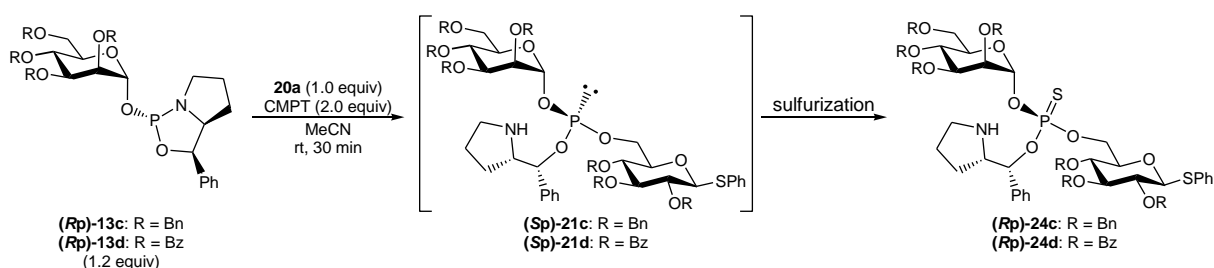
Crude **(Sp)-25d** was synthesized from monomer **(Rp)-13d** (93.9 mg, 0.12 mmol) and 1-*O*-thiophenyl-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside **20b** (57.2 mg, 0.098 mmol) following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [9 g of neutral silica gel (63–210 μ m), hexane–ethyl acetate–triethylamine, 50:50:1, v/v, 200 mL, then dichloromethane–methanol–triethylamine, 98.5:0.5:1, v/v/v] and washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (5 \times 10 mL) to afford **(Sp)-25d** as a triethylammonium salt (97.8 mg, 72 μ mol, 73%). yellow form. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.09-7.18 (m, 40H), 6.32-6.21 (m, 2H), 5.99-5.90 (m, 2H), 5.82-5.74 (m, 3H), 5.43-5.39 (m, 1H), 4.80-4.70 (m, 2H), 4.57-4.20 (m, 4H), 2.79 (q, $J = 7.5$ Hz, 6H), 1.12 (t, $J = 7.2$ Hz, 9H). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 58.0. ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 166.0, 165.5, 165.4, 165.3, 165.2, 165.0, 133.2, 133.1, 133.0, 132.9, 132.8, 132.5, 132.2, 129.9, 129.8, 129.7, 129.6, 129.5, 129.2, 129.1, 128.9, 128.8, 128.4, 128.2, 128.1, 127.8, 92.3, 85.5, 71.8, 71.5, 71.4, 71.3, 71.2, 70.8, 70.6, 70.5, 69.2, 68.3, 66.8, 64.9, 62.3, 45.5, 8.4. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{67}\text{H}_{54}\text{BO}_{19}\text{PS}_2^-$ [M^-] 1257.2444, found 1257.2436.

(Rp)-Phosphorothioate diester-linked α -D-Glc-(1-P6)-D-Man derivative [(Rp)-25d].



Crude **(Rp)-25d** was synthesized from monomer **(Sp)-13d** (84.8 mg, 0.11 mmol) and 1-*O*-thiophenyl-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranoside **20b** (51.6 mg, 0.088 mmol) following the typical procedure described above. Then the residue was purified by silica gel column chromatography [9 g of neutral silica gel (63–210 μ m), hexane–ethyl acetate–triethylamine, 50:50:1, v/v, 200 mL, then dichloromethane–methanol–triethylamine, 98.5:0.5:1, v/v/v] and washed with 1M triethylamine bicarbonate buffer (5×10 mL) to afford **(Rp)-25d** as a triethylammonium salt (92.4 mg, 68 μ mol, 77%). yellow form. ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.08–7.24 (m, 40H), 6.30–6.21 (m, 2H), 5.92–8.85 (m, 2H), 5.80–5.73 (m, 2H), 5.61 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 5.39–5.34 (m, 1H), 4.97–4.91 (m, 1H), 4.73–4.68 (m, 1H), 4.56–4.39 (m, 2H), 4.28–4.19 (m, 2H), 3.03–2.94 (m, 6H), 1.25 (t, $J = 7.2$ Hz, 9H). ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 58.1. ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 166.2, 166.0, 165.9, 165.7, 165.3, 133.7, 133.5, 133.3, 133.1, 130.2, 130.1, 130.0, 129.9, 129.7, 129.5, 129.4, 129.2, 129.1, 128.9, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 93.2, 86.2, 72.2, 72.1, 72.0, 71.9, 71.0, 70.9, 69.2, 68.9, 67.5, 65.6, 65.5, 62.4, 45.9, 8.7. ESI-HRMS m/z calcd for $\text{C}_{67}\text{H}_{54}\text{BO}_{19}\text{PS}_2^-$ [M^-] 1257.2444, found 1257.2431.

Sulfurization of glycosyl phosphite triesters **(Sp)-21c–d** in the presence of DTD or POS for monitoring of the product ratio of **(Rp)-24c–d** by ^{31}P NMR Spectroscopy.



(Rp)-13c-d was condensed with **20a** in the presence of CMPT by the typical procedure described above. After 30 min, sulfurizing reagent DTD or POS (3.0 equiv) was added. After another 30 min, 0.1 mL of reaction mixture was put in an NMR sample tube, diluted with CDCl₃, and monitored the product ratio of **24c** or **24d** by ³¹P NMR.

参考文献

- (1) Nikolaev, A. V.; Botvinko, I. V.; Ross, A. J. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 297–344.
- (2) Trotter, C. L.; McVernon, J.; Ramsay, M. E.; Whitney, C. G.; Mulholland, E. K.; Goldblatt, D.; Hombach, J.; Kieny, M. –P. *Vaccine* **2008**, *26*, 4434-4445.
- (3) Joshi, V. S.; Bajaj, I. B.; Survase, S. A.; Singhal, R. S.; Kennedy, J. F. *Carbohydr. Polym.* **2009**, *75*, 553-565.
- (4) Jennings, H.J.; Rosell, K. –G; Carlo, D. J. *Can. J. Chem.* **1980**, *58*, 1069-1074.
- (5) Mendonça-Previato, L.; Todeschini, A. R.; Heise, N.; Agrellos, O. A.; Dias, W. B.; Previato, J. O. *Curr. Org. Chem.* **2008**, *12*, 926-939.
- (6) Mendonça-Previato, L.; Todeschini, A. R.; Heise, N.; Previato, J. O. *Curr. Org. Struct. Biol.* **2005**, *15*, 499-505.
- (7) Hansson, J.; Oscarson, S. *Curr. Org. Chem.* **2000**, *4*, 535–564.
- (8) Ilg, T.; Handman, E.; Ng, K.; Stierhof, Y. -D.; Basic, A. *Trend in Glycoscience and Glycotechnology* **1999**, *58*, 53–71.
- (9) Lu, J.; Jayaprakash, K. N.; Schlueter, U.; Fraser-Reid, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7540-7547.
- (10) Schofield, L.; Hewitt, M. C.; Evans, K.; Siomos, M.-A.; Seeberger, P. H. *Nature* **2002**, *418*, 785–789.
- (11) Nishida, Y.; Kitagawa, Y.; Kobayashi, I. *化学と生物* **1997**, *35*, 509-516.
- (12) Routier, F. H.; Higson, A. P.; Ivanova, I. A.; Ross, A. J.; Tsvetkov, Y. E.; Yashunsky, D. V.; Bates, P. A.; Nikilaev, A. V. Ferguson, M. A. J. *Biochemistry* **2000**, *39*, 8017–8025.
- (13) Singh, A. H.; Newborn, J. S.; Raushel, F. M. *Bioorg. Chem.* **1988**, *16*, 206–214.
- (14) Cohen, S. B.; Halcomb, R. L. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6145– 6152.
- (15) Klinger, M. M.; McCarthy, D. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, *2*, 197-200.
- (16) Sheu, F. R.; Frey, P. A. *J. Biol. Chem.* **1978**, *253*, 3378-3380.
- (17) Yamazaki, Y.; Nagatsuka, Y.; Oshima, E.; Suzuki, Y.; Hirabayashi, Y.; Hashikawa,; T. *J. Immunol. Methods* **2006**, *311*, 106.
- (18) Torres-Sanchez, M. I.; Zaccaria, C.; Buzzi, B.; Miglio, G.; Lombardi, G.; Polito, L.; Russo, G.; Lay, L. *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 6623-6635.
- (19) Toma, L.; Legnani, L.; Rencurosi, A.; Poletti, L.; Lay, L.; Russo, G. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3734-3740.

- (20) Greimel, P.; Lapeyre, M.; Nagatsuka, Y.; Hirabayashi, Y.; Ito, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 7210-7217.
- (21) Yuasa, H.; Hindsgaul, O.; Palcic, M. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5891-5892.
- (22) Yuasa, H.; Izumi, M.; Hashimoto, H. *Curr. Top. Med. Chem.* **2009**, *9*, 76-86.
- (23) Tsuruta, O.; Yuasa, H.; Hashimoto, H.; Sujino, K.; Otter, A.; Li, H.; Palcic, M. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6400-6406.
- (24) Yuasa, H.; Palcic, M. M.; Hindsgaul, O. *Can. J. Chem.* **1995**, *73*, 2190-2195.
- (25) Prospero, D.; Panza, L.; Poletti, L.; Lay, L. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 4811-4815.
- (26) Matsumura, F.; Oka, N.; Wada, T. *Org. Lett.* **2008**, *8*, 1557-1560.
- (27) Summers, J. S.; Roe, D.; Boyle, P. D.; Colvin, M.; Shaw, B. R. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 4158-4159.
- (28) Stec, W. J.; Karwowski, B.; Boczkowska, M.; Guga, P.; Koziolkiewicz, M.; Sochacki, M.; Wieczorek, M. W.; Blaszczyk, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7156-7167.
- (29) Wilk, A.; Grajkowski, A.; Phillips, L. R.; Beaucage, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2149-2156.
- (30) Oka, N.; Yamamoto, M.; Sato, T.; Wada, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16031-16037.
- (31) Oka, N.; Kondo, T.; Fujiwara, S.; Maizuru, Y.; Wada, T. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 967-970.
- (32) Wada, T.; Maizuru, Y.; Shimizu, M.; Oka, N.; Saigo, K. *Bioorg. Mol. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3111-3114.
- (33) Matsumura, F.; Oka, N.; Wada, T. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 5297-5300.
- (34) Nurminen, E. J.; Mattinen, J. K.; Lönnberg, H. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2001**, 2159-2165.
- (35) Nurminen, E. J.; Mattinen, J. K.; Lönnberg, H. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 2238-2240.
- (36) Westerduin, P.; Veeneman, G. H.; Marugg, J. E.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 1211-1214.
- (37) Majumdar, D.; Elsayed, G. A.; Buskas, T.; Boons, G.-J. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1691-1697.
- (38) Westerduin, P.; Veeneman, G. H.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 6271-6274.
- (39) Ruda, K.; Lindberg, J.; Garegg, P. J.; Oscarson, S.; Konradsson, P. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3969-3975.
- (40) Oka, N.; Wada, T.; Saigo, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4962-4967.

- (41) Oka, N.; Wada, T.; Saigo, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8307–8317.
- (42) Song, Q.; Wang, Z.; Sanghvi, Y. S. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2003**, *22*, 629–633.
- (43) Roy, S. K.; Tang, J. Y. *U.S. Patent* 6, 500, 944, **2002**.
- (44) Bejjani, J.; Chemla, F.; Audouin, M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9747.
- (45) Timperley, C. M.; Arbon, R. E.; Saunders, S. A.; Waters, M. J. *J. Fluor. Chem.* **2002**, *113*, 65-78.
- (46) Hadd, M. J.; Gervay, J. *Carbohydr. Res.* **1999**, *320*, 61-69.

原著論文

1. “Stereoselective Synthesis of *P*-Modified α -Glycosyl Phosphates by the Oxazaphospholidine Approach”
Noro, M.; Fujita, S.; Wada, T. *Org. Lett.* **2013**, 23, 5948-5951.

謝辞

本研究を行なうにあたり、研究室の多くの方々に御世話になりました。私に本研究の場を与えて下さいました東京理科大学の和田猛教授、高知工科大学の西郷和彦教授に深謝申し上げます。

和田教授は、いつでも私の研究の進み具合を気にかけて、広く門戸を開いて些細な質問や相談にも応じて下さり、その都度的確な御指摘や御指南を頂きました。和田教授との幾度もの議論を通して、実験結果に対する考察を行なう上での視点や、アプローチの方法等、大変多くのことを学びました。また、それと同時に、毎回のディスカッションにおいて和田教授が見せて下さる熱意が、私の研究に対するやる気を鼓舞し、常にモチベーション高く研究に取り組み続けることができました。和田教授の御指導のもとで修士課程の2年間、及び、博士課程の3年間を送らせて頂き、大きく成長することができたと感じております。心より厚く御礼を申し上げます。

西郷和彦教授は、私に初めて有機化学者としての研究の場を与えて下さいました。そして、有機化学のおもしろさや研究者としての在り方のみならず、人生の先輩としての御助言、御指南を頂き、多くを学ぶことができました。西郷和彦教授の下で学んだ学士課程4年の1年間はかけがえの無いものであり、私が博士課程への進学を決意する大きなきっかけとなりました。深く感謝致します。

御多忙の中、本論文審査をお引き受け下さり、多くのアドバイスをいただきました東京大学大学院新領域創成科学研究科の津本浩平教授、山本一夫教授、鈴木穰准教授、渡邊俊樹教授、東京大学大学院工学系研究科の野崎京子教授に深く感謝致します。

また、3年間の研究の日々を常に周りから支えて下さった研究室の諸先輩方、同輩、後輩達に深く感謝致します。特に、岩田倫太郎助教、研究室の卒業生である、藤田正一さん、内山直樹さん、佐藤一樹さんには、研究分野を問わずいつでもディスカッションに応じて下さり、私の研究を後押しして下さいました。

藤田正一さんには、私がまだ本分野に関して全くの無知であった時期に、本研究を行なう上での手解きをして頂き、その後も実験に行き詰まったときや疑問を感じたとき等に幾度となく議論を交わし、アドバイスをして下さいました。藤田さんには、実験に関する話以外にもいろいろな話題を提供していただき、日々大変楽しく過ごすことができました。心より御礼申し上げます。

岩田倫太郎助教、内山直樹さん、佐藤一樹さんには、頻繁に研究に関する相談に乗っていただき、大変多くの助言をいただきました。先輩方からいただいた御助言により、多くの知識を吸収することができ、物事を考察する視野が広がりました。先輩方の豊富な知識や、研究に対する姿勢、考察の深さ等は、私の目標であり、尊

敬できる先輩方に恵まれたことを常に心から嬉しく思っておりました。厚く御礼申し上げます。

そして、同輩である植原渉君、齋藤敬太君に深く感謝致します。研究のみならず、あらゆることに関して、悩みや喜びを分かち合い、互いの考えを交換し合って、大学院での日々を送りました。彼らが共にいたからこそ、大変充実した研究生活を送ることができたと同時に、精神面でも大きく支えられました。

また、私達の研究生活を補佐して下さった、山中利枝事務補佐員に感謝致します。

そして、精神面、経済面で常に私の研究生活を支援してくれた両親に心から感謝致します。

多くの方々に支えられ、たくさんのごことを御教示頂き、修士課程並びに博士課程の5年間を大変充実したものとして過ごすことができました。ここに謝辞という形をとり、深く感謝の意を表します。

平成 26 年 3 月