

## 天然有機化合物及び誘導体の合成とそれらを活用した生体機能の制御と理解

井 貫 晋 輔

## Elucidation of Biological Mechanisms Using Synthetic Natural Products and Their Derivatives

Shinsuke Inuki

*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University; 46–29  
Yoshida Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606–8501, Japan.*

(Received August 22, 2019)

Natural products are useful sources in the search for biochemical probes and drug leads because of their unique biological activities. However, synthetic studies or functional analyses of polycyclic complex natural products or conjugated lipids (e.g., glycolipids) are often hampered because of their synthesis and handling are challenging. On the basis of rational designs, synthetic studies, and chemical modifications, natural products need to be optimized to more potent compounds with improved activities, selectivities and/or physical properties. We have been synthesizing natural products and their derivatives for the elucidation of their biological mechanisms and discovery of drug leads. This review describes three topics for developing functional compounds derived from natural products for prospective involvement in pharmaceutical research: 1) direct construction of the ergot alkaloid scaffold by palladium catalyzed domino cyclization of amino allenes; 2) identification of novel sphingosine kinase inhibitors through a structure-activity relationship study of jaspine B; and 3) design, synthesis and biological evaluation of novel CD1d glycolipid ligands containing modified lipid moieties.

**Key words**——total synthesis; ergot alkaloid; jaspine B;  $\alpha$ -GalCer; structure-activity relationship study

## 1. はじめに

創薬を指向する薬学研究において、生命現象の制御と理解に貢献する機能性分子の創出は、重要な研究課題の1つである。天然有機化合物は、生体反応場の中で長い年月をかけて淘汰され産み出されたものであり、多様な生体応答を示すことが知られている。<sup>1–3)</sup>しかしながら、多数の不斉中心を有する複雑な多環性化合物や、複合脂質・糖質など物性面において取り扱いが困難な化合物は、特異な生物活性を示す化合物であっても、機能性分子創製のための合成や構造展開がかならずしも十分には行われていない。これらの天然有機化合物を機能性分子へと展開するためには、綿密な分子設計に基づいた化学的修飾や変換により、優れた活性、選択性、物性を有

する化合物へと最適化していくことが必要となる。<sup>1,4)</sup>筆者は、天然有機化合物の「合成」と「構造展開」を通して、生体機能の制御及び解析のための機能性分子の創製研究に従事してきた。また、取得した機能性分子を用いた作用解析や、標的タンパク質の分子認識機構の解明などにも取り組んできた。本総説では特に、筆者がこれまでに行ってきた ergot alkaloid 類の全合成、<sup>5,6)</sup>スフィンゴシン類縁体 jaspine B の合成<sup>7,8)</sup>と構造展開、<sup>9,10)</sup>糖脂質  $\alpha$ -GalCer に係わる生物有機化学研究<sup>11,12)</sup>について述べる。

## 2. パラジウム触媒を用いた連続環化反応による ergot alkaloid 骨格の構築と合成研究への応用

Ergot alkaloid 類はイネ科、カヤツリグサ科植物の穂に寄生するカビの菌核より抽出されたインドールアルカロイドであり、lysergic acid を始めとして数多くの天然物が報告されている (Fig. 1)。<sup>13,14)</sup>この骨格を有する誘導体には、パーキンソン病治療薬である pergolide, bromocriptine など重要な医薬品が知られており、ergot alkaloid 骨格の天然物型創薬テンプレートとしての潜在能力が期待されてい

京都大学大学院薬学研究科ケモゲノミクス・薬品有機製造学分野 (〒606–8501 京都市左京区吉田下阿達町 46–29)

e-mail: sinuki@pharm.kyoto-u.ac.jp

本総説は、2019 年度日本薬学会奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

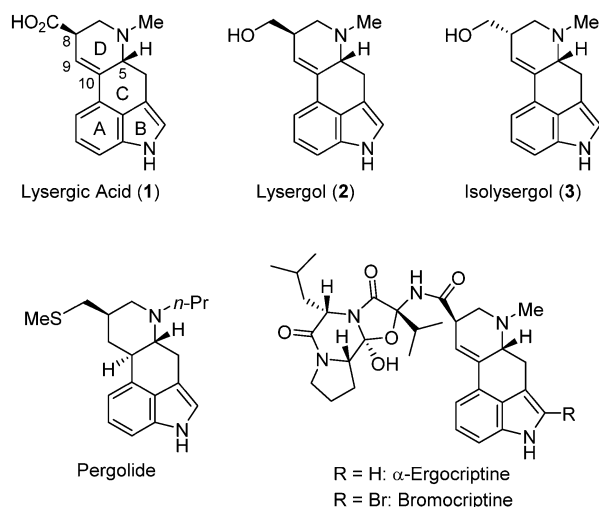


Fig. 1. Indole Alkaloids of the Ergot Family and Synthetic Derivatives

る.<sup>15)</sup> そのため, lysergic acid を始めとした ergot alkaloid 類はこれまでに数多くの全合成が報告されている.<sup>14,16,17)</sup> 一方で, これらの合成ルートは主に C 環, D 環を段階的に合成する経路であり, 筆者らが研究を開始した当時, Oppolzer の Diels-Alder 反応を用いた合成例<sup>18)</sup>を除いて C 環, D 環を同時構築した例は報告されていなかった. 筆者らは ergot alkaloid 骨格構築反応の開発と創薬展開を目指し, lysergic acid (1), lysergol (2) 及び isolysergol (3) の合成を計画した.

遷移金属触媒を用いたアレン, アルキンの環化反応は複素環化合物の合成に広く用いられている. 特にパラジウム触媒を用いたアレン系化合物の連続環化反応は一挙に炭素-炭素, 炭素-ヘテロ原子結合を構築することが可能であるため, 複雑な構造を有する化合物の効率的な合成に有用である.<sup>19-22)</sup> 筆者の所属グループにおいても, 以前よりパラジウム触媒を用いたアレン化合物の環化反応の開発研究を行っていた.<sup>23-25)</sup> このような背景の下, 筆者らはパラジウム触媒によるアレンの連続環化反応を鍵反応とした ergot alkaloid 骨格の構築を計画した (Fig. 2). すなわち, 分子内にアリールハライドとアミンを有するアレン **4** に対してパラジウム (0) を作用させれば, カルボパラデーションやアミノパラデーションを経由した二環同時構築が一挙に進行し, lysergol 型四環性化合物 **9** の合成が可能であると考えた.

最初にラセミ体アレン **4** (Fig. 3) を用いた連続環化反応の検討を行うこととした. 鍵基質であるア

レン **4** の逆合成解析を Fig. 3 に示す. アレン **4** のアミノ基は光延反応を利用して導入し, アレン部位はエノールエーテル **10** を基質とした Claisen 転位反応と生成したアルデヒドの還元を用いて構築することとした. エノールエーテル **10** はプロパルギルアルコール **11** のマイケル付加, 続くエステル還元により合成することを計画した.

市販の 4-bromindole **12** より 4 工程で得られる 3-(bromomethyl) indole 誘導体 **14** に対してリチオ化したジチオアセタール<sup>26)</sup>を反応させ **16** を高収率で得た (Fig. 4). さらにジチオアセタールの加水分解,<sup>27)</sup> ケトンの還元, トリメチルシリル (trimethylsilyl; TMS) 基の除去を行った後, triethylamine 存在下メチルプロピオレートを用いることでマイケル付加体 **18** へと変換した. 付加体 **18** のエステルを還元後, 生成したヒドロキシ基をトリイソプロピルシリル (triisopropylsilyl; TIPS) 基で保護しシリルエノールエーテル **19** へと誘導した. 続いて Claisen 転位反応の検討を行った. シリルエノールエーテル **19** を用いて *m*-xylene 中 170°C で反応を行うと収率 38%, 33 : 67 のジアステレオ選択性で目的外のアレノール **20b** が主生成物として得られた. またマイクロウェーブ照射下反応を行うと, 収率が 82% に向上した.<sup>28)</sup> 一方で, Toste らによって報告された金触媒を用いた条件<sup>29)</sup>により Claisen 転位反応を行うと, 収率 78%, 80 : 20 のジアステレオ選択性で目的の異性体 **20a** が優先的に得られた. **20** のヒドロキシ基を光延反応によりノシルアミド及びトシルアミドに変換し環化前駆体 **21**, **22** を合成した.

引き続き **21**, **22** を用いて連続環化反応の検討を行った (Table 1). 環化前駆体 **21**, **22** 及びアレノール **20** のジアステレオマー分離は困難であったため, 環化の検討には異性体混合物 (80 : 20) をそのまま用いた. ノシルアミド体 **21** を基質として Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> 存在下, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を用い *N,N*-dimethyl-



井貫晋輔

兵庫県出身. 2006 年京都大学薬学部卒業, 2011 年京都大学大学院薬学研究科博士後期課程修了. 博士(薬学). 富士フイルム株式会社医薬品・ヘルスケア研究所研究員, 慶應義塾大学理工学部化学科助教を経て, 2017 年 7 月より京都大学大学院薬学研究科助教. 専門は有機合成化学, 生物有機化学.

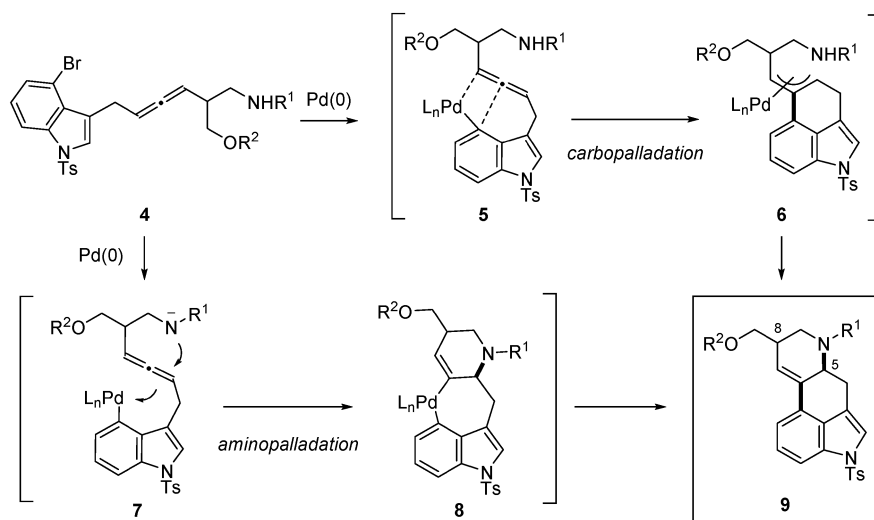


Fig. 2. Construction of the Ergot Alkaloid Scaffold with Palladium-catalyzed Domino Cyclization of Amino Allenes

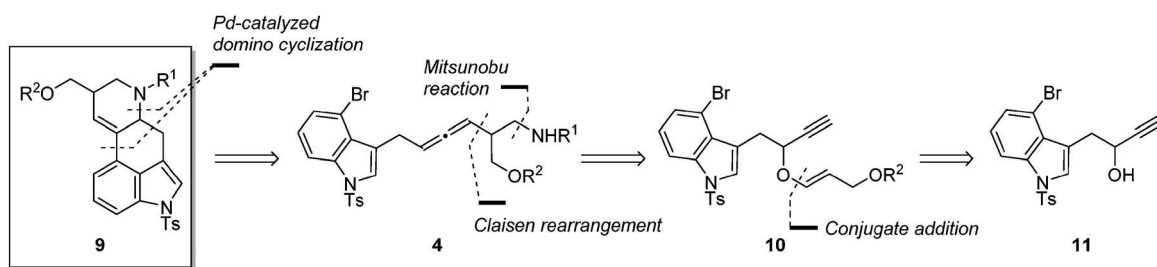


Fig. 3. Retrosynthetic Analysis of 9

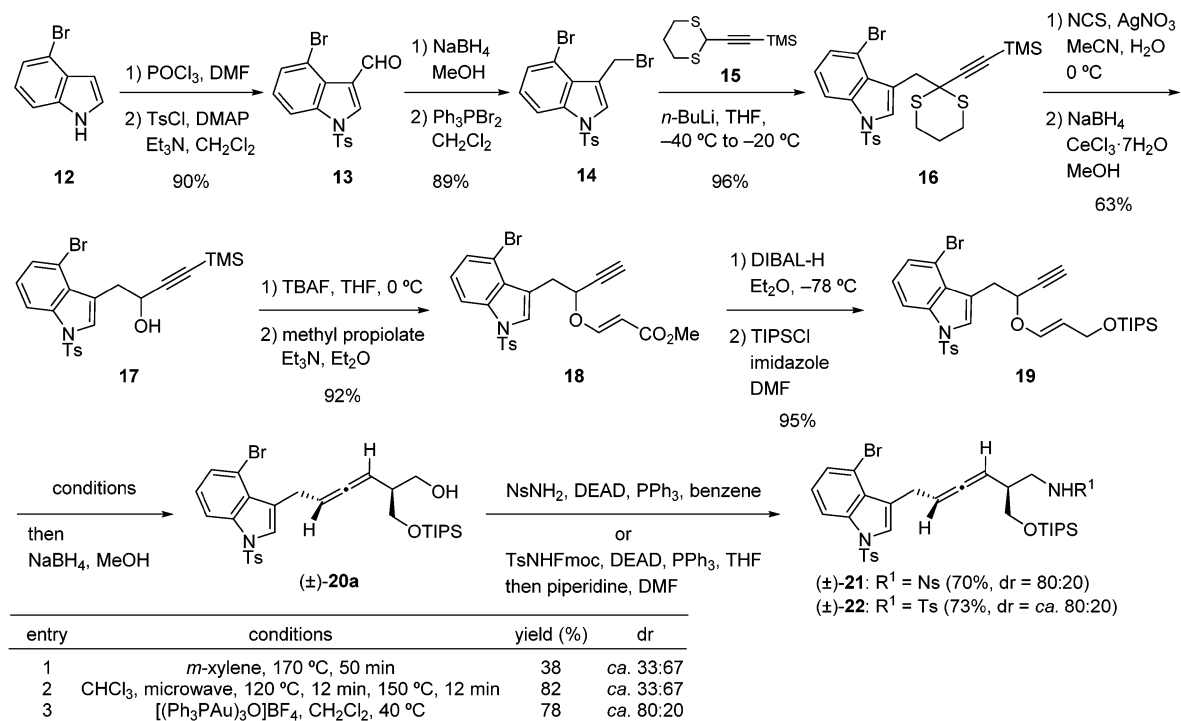
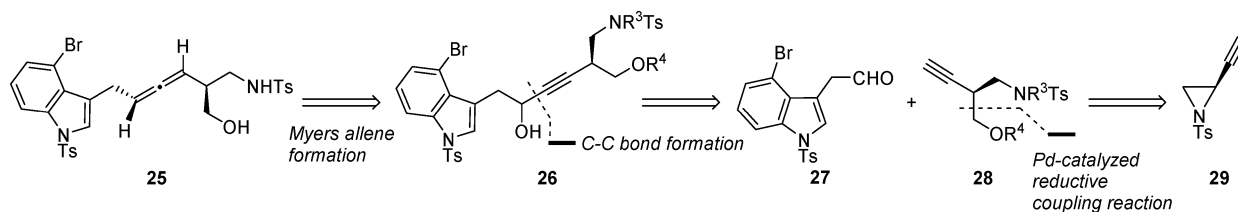


Fig. 4. Synthesis of Allenes 21 and 22

Table 1. Palladium-catalyzed Domino Cyclization<sup>a</sup>

| Entry          | Solvent | Base                            | Yield (%) <sup>b</sup> | dr (a : b) <sup>c</sup> |
|----------------|---------|---------------------------------|------------------------|-------------------------|
| 1              | DMF     | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 31                     | 84 : 16                 |
| 2              | DMF     | CS <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 41                     | 75 : 25                 |
| 3              | DMF     | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | 83                     | 73 : 27                 |
| 4              | toluene | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | trace                  | ND <sup>e</sup>         |
| 5              | dioxane | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | 68                     | 80 : 20                 |
| 6 <sup>d</sup> | DMSO    | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | 68                     | 74 : 26                 |
| 7 <sup>f</sup> | DMF     | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | 65                     | 87 : 13                 |

<sup>a</sup> Reactions were carried out using a diastereomixture of **21** or **22** (a : b = 80 : 20) at 0.06 M for 2.5–5 h. <sup>b</sup> Isolated yields. <sup>c</sup> Determined by <sup>1</sup>H NMR analysis. <sup>d</sup> Reaction was performed at 120°C. <sup>e</sup> Not determined. <sup>f</sup> Reaction was carried out using a substrate **22** at 120°C.

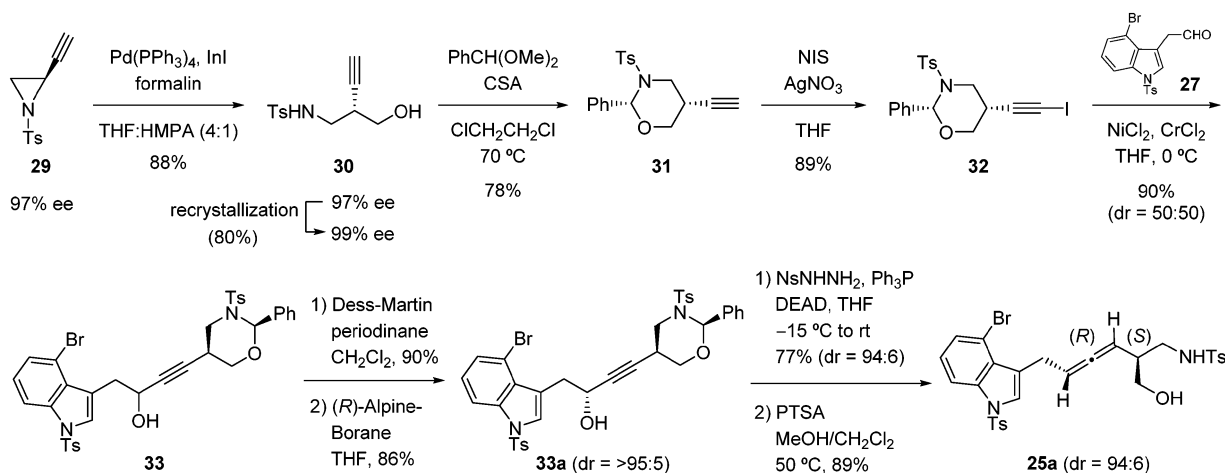
Fig. 5. Retrosynthetic Analysis of the Allene **25**

formamide (DMF) 中 100°C で反応を行うと、収率 31%, **23a** : **23b** = 84 : 16 の選択性で目的物を得た (Entry 1). 塩基の検討を行ったところ, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> が最もよい結果を与えた (83%, Entry 3). また溶媒の検討を行った結果, DMF が最適であることが分かった (Entries 3–6). さらに, トシルアミド体 **22** を基質として反応を行ったところ, 収率 65%, 87 : 13 のジアステレオ選択性で目的の環化体 **24** が得られた (Entry 7).

ラセミ体を用いた検討において, パラジウム触媒反応を用いた連続環化による骨格構築反応が進行することを確認できたため, ergot alkaloid 類の不斉全合成を検討することとした. 不斉合成を達成するためには, Fig. 2 に示すアレン **4** の光学活性体を合成する必要がある. パラジウム触媒を作用させれば, 望みの立体化学を有する ergot alkaloid 骨格が合成できることとなるが, 基質アレン **4** のアレニル位の中心不斉は生成物 **9** の 8 位にそのまま保存され

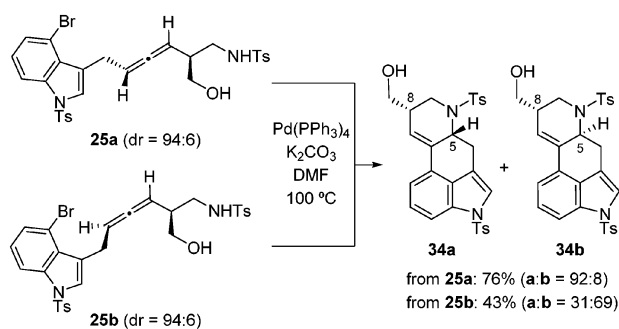
一方, アレンの軸不斉は生成物 5 位の立体化学に影響する. さらに, lysergic acid 合成の最終段階であるエステルの加水分解において 8 位が容易にエピメリ化し, 5 位の水素原子とカルボキシ基が必要なシス配置をとることが知られていた.<sup>17)</sup> そのため, 連続環化反応においては, 5 位の不斉点を構築することが極めて重要となる. そこで, 鍵基質アレン **4** に関して 2 つのジアステレオマーをそれぞれ選択的に合成し, 環化反応の検討を行うこととした. また先の検討で得たラセミ体 **23** を用いた天然物への誘導検討において, 2-ニトロベンゼンスルホニル (Ns) 基の除去が困難であったため, 不斉合成研究では窒素原子の保護基としてトルエンスルホニル (Ts) 基を選択した.

Figure 5 に光学活性アレン **25** の逆合成解析を示す. 先に示した合成経路 (Fig. 4) では, Claisen 転位反応におけるジアステレオ選択性などに問題があったので, 新たな合成経路を用いてアミノアレン

Fig. 6. Synthesis of Allenic Amide **25a**

誘導体を合成することを計画した。アレン **25** は Myers らによって開発されたプロパルギルアルコール **26** を基質とした還元反応<sup>30)</sup>を用いて合成することとした。プロパルギルアルコール **26** は、アルデヒド **27** と 1,3-アミノアルコール部位を含むアルキン **28** とのカップリング反応により得られるものと考えた。1,3-アミノアルコール **28** は筆者の所属グループによって開発されたエチニルアジリジン **29** とアルデヒドとの還元的カップリング反応<sup>31,32)</sup>によって合成することを計画した。

実際の合成を Fig. 6 に示す。還元的カップリング反応の基質となるキラルなエチニルアジリジン **29** は、文献に従い (*S*)-Garner's aldehyde<sup>33)</sup> から 4 工程で合成した。<sup>34)</sup> アジリジン **29** に対してパラジウム触媒存在下、InI, ホルマリンを作用させると目的の 1,3-アミノアルコール **30** を高収率で得ることができた。<sup>32)</sup> 続いて再結晶により光学的に純粋な **30** を得た後、ベンジリデンアセタールによる保護、アルキンのヨウ素化により **32** へと誘導した。続いて、アルデヒド **27** とヨードアルキン **32** をニッケル触媒, CrCl<sub>2</sub> 存在下, 反応させると, 90% と高収率で目的のカップリング体を得ることができた。<sup>35,36)</sup> 次に得られたアルコールを環化前駆体のアミノアレンへと誘導した。Dess-Martin 酸化によりプロパルギルアルコール **33** をイノンへと変換後, (*R*)-Alpine brane を用いた不斉還元<sup>37)</sup>を行うことで, 高い選択性で **33a** を得た。さらに NsNHNH<sub>2</sub> を用いてプロパルギルアルコールをアレンに変換後,<sup>30)</sup> ベンジリデンアセタールを除去することで,

Fig. 7. Palladium-catalyzed Domino Cyclization of Allene **25a** and **25b**

環化前駆体 (*R,S*)-体 **25a** を得た。続いて合成したアレンを用いて連続環化反応を行った (Fig. 7)。ラセミ体を用いた検討の際に得られた最適条件を用いて, (*R,S*)-体 **25a** に対して, パラジウム触媒存在下, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を用い, DMF 中 100 °C で反応を行うと, 収率 76%, 92 : 8 のジアステレオ選択性で望みの立体配置を有する **34a** を得ることができた。次に, 別途調製した (*S,S*)-体 **25b** を基質として同様の条件で反応を行ったところ, 収率が 43% に低下し, **a** : **b** が 31 : 69 の生成比で得られた。

これらの結果を踏まえ, 連続環化反応の反応機構の考察を行った (Fig. 8)。本反応は,  $\pi$ -アリル中間体を経由する経路とアミノパラデーションで進行する経路が考えられる。 $\pi$ -アリル中間体経由で進行した場合, アリールパラジウムブロミドがアレンに挿入する際, 立体的な要因から 6-exo 型の閉環反応が想定される。そのため **A** のような遷移状態を経て挿入し  $\pi$ -アリル錯体 **B** が形成されるものと考え

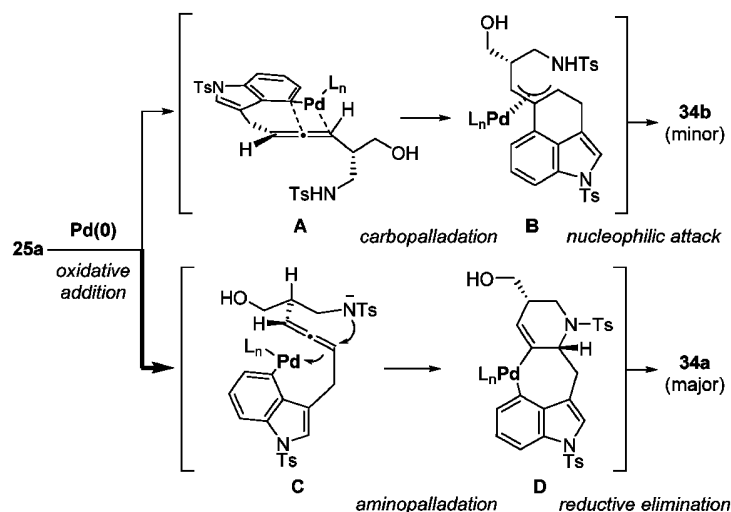


Fig. 8. Proposed Mechanism for Domino Cyclization of **25a**

られる。**B**に対するアンチ型の環化によりマイナー体 **34b** の生成が説明できるが、この経路は挿入の段階で歪みが大きいことが予想される。一方、アミノパラデーションで進行した場合、窒素求核種は2価パラジウムにより活性化されたアレンに対して **C** に示すコンフォメーションで **anti** 型の求核攻撃を起こし **D** を生成する。続いて **D** からの還元的脱離によりメジャー環化体 **34a** が生成すると考えられる。

最後に、得られた **34** を lysergic acid (**1**), lysergol (**2**), isolysergol (**3**) へと誘導した (Fig. 9). **34a** の Ts 基を sodium naphthalenide を用いて除去し、二級アミノ基のメチル化を行うことで、isolysergol (**3**) へと変換した。次に lysergic acid (**1**), lysergol (**2**) への変換を行った。**34a** に対する酸化、メチルエステル化により **35a** へと誘導した。さらに **35a** の Ts 基を除去し、二級アミノ基のメチル化により **36** を得た。メチルエステル **36** を還元することで、lysergol 合成を行った。また文献既知法<sup>17)</sup>に従い **36** に対して塩基性条件下、 $\alpha$  位異性化を伴うエステルの加水分解を行うことで lysergic acid (**1**) の全合成を達成した。

以上のように、筆者らはエチニルアジリジンを出発原料に用い、パラジウム触媒を用いたアミノアレンの連続環化反応を鍵反応とすることで ergot alkaloid 骨格を一挙に構築することに成功した。また、本手法を応用して、生物活性天然物である lysergic acid (**1**), lysergol (**2**) 及び isolysergol (**3**) の全合成を達成した。

### 3. 海洋天然物 jaspine B を基盤としたスフィンゴシンキナーゼ阻害剤の合成と構造展開

Jaspine B は 2002 年に Higa らによって沖縄近海に生息する海綿 *Pachastrissa* sp. から単離された sphingosine 類縁体である (Fig. 10).<sup>38,39)</sup> 本化合物は様々ながん細胞株に対して数  $\mu\text{M}$  の濃度で抗腫瘍活性を示すとともに、sphingosine kinase (SphK) の阻害活性を示すことが知られている。<sup>40)</sup> そのため、多くの研究グループにより全合成研究が精力的に展開されている。<sup>41,42)</sup> SphK は、sphingosine から sphingosine-1-phosphate へのリン酸化を触媒する酵素であり、哺乳類において2つのアイソフォームが存在する。SphK1 は主に細胞質に存在し、細胞の生存や増殖に関与する。腫瘍組織中での過剰発現が認められていることから、抗がん剤の有望な分子標的として期待されている。一方、SphK2 はミトコンドリアや核に局在し、自己免疫や炎症性疾患への関与が報告されている。SphK2 の詳細な生理機能はいまだ明らかではなく、その機能解明に向けたアイソフォーム選択的な阻害剤の開発が求められている。筆者らは jaspine B を医薬品候補化合物や機能性分子プローブに展開することを視野に入れて、全合成研究及び構造展開を行った。

最初に全合成研究について述べる。筆者の所属グループでは以前までの研究において、プロモアレンがプロパルギル化合物と同様に、パラジウム触媒存在下においてアリルジカチオン等価体として機能し得ることを見出ししていた。<sup>34,43-45)</sup> これらの反応性

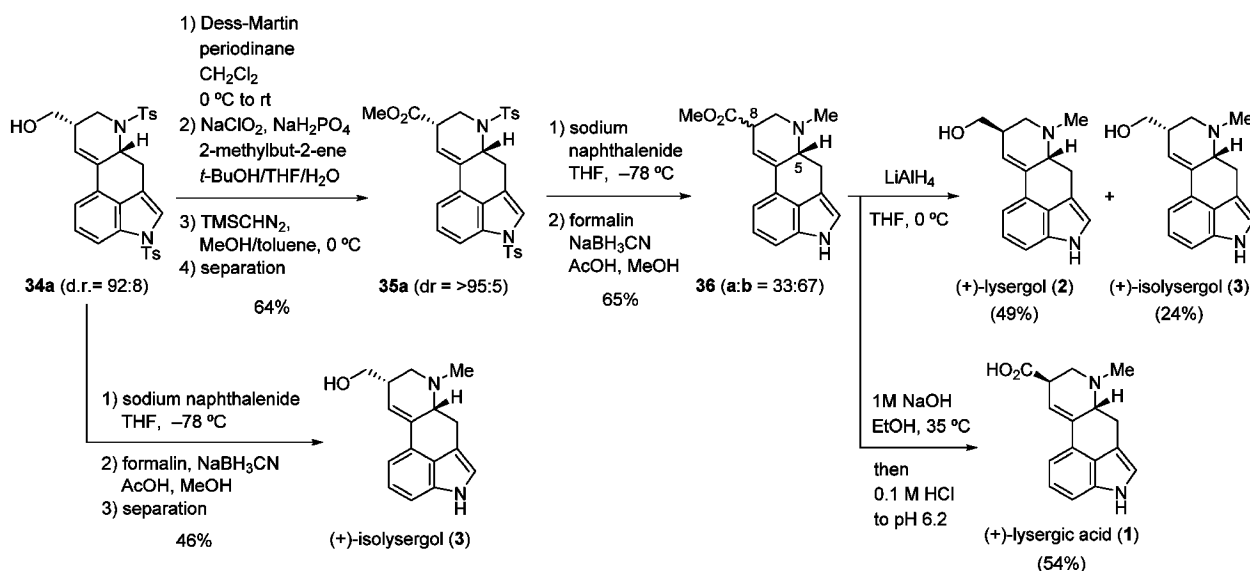


Fig. 9. Total Synthesis of (+)-Lysergic Acid (1), (+)-Lysergol (2) and Isolysergol (3)

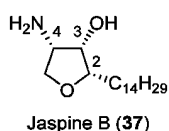
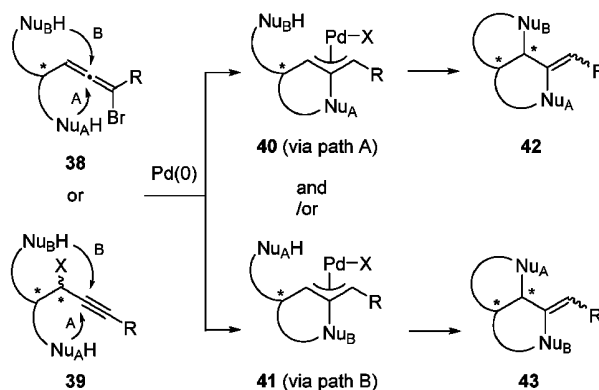


Fig. 10. Structures of Jaspine B

を利用すると、基質であるプロモアレンやプロパルギル化合物に対して、2つの求核種を一挙に導入することが可能である。例えば、プロモアレン又はプロパルギル化合物の一方の末端に分岐した2つの求核剤を有する基質 **38** や **39** に対してパラジウム触媒を作用させると、 $\pi$ -プロパルギルパラジウム中間体への  $\text{Nu}_A$  又は  $\text{Nu}_B$  基の求核攻撃により  $\pi$ -アリルパラジウム中間体 **40** 又は **41** が生成し、続く二段階目の求核攻撃によって二環性化合物 **42** 又は **43** が一挙に得られる (Fig. 11)。これらの知見を基に、筆者らはパラジウム触媒によるプロモアレン又はプロパルギル化合物の連続環化反応を鍵反応とした **jaspine B** の全合成を計画した。すなわち、分子内にベンズアミド基とヒドロキシ基を有するプロモアレン **44**、又はプロパルギル化合物 **45** に対してパラジウム触媒を作用させれば、 $\pi$ -プロパルギルパラジウム中間体 **47** へのヒドロキシ基の求核攻撃、続く  $\pi$ -アリルパラジウム中間体 **48** に対するベンズアミド基の求核攻撃により、立体選択的に官能基化されたテトラヒドロフラン (tetrahydrofuran; THF) 環を構築することが可能であると考えた (Fig. 12)。

Fig. 11. Construction of Bicyclic Structures by Palladium-catalyzed Cascade Cyclization of Bromoallenes **38** and Propargyl Compounds **39**

本戦略に基づき筆者らは、(1) 様々な側鎖アルキル基を有する **jaspine B** 誘導体の合成に適応可能な分岐的合成経路 (プロモアレンを基質とした分岐的合成経路),<sup>7)</sup> 並びに (2) 長鎖アルキル基をあらかじめ導入する短工程合成経路 (プロパルギル化合物を基質とした短工程合成経路) の確立を検討した。<sup>8)</sup>

最初に、プロモアレンを基質とした分岐的合成経路について述べる。連続環化反応の基質となるプロモアレン **53a** は、Garner's aldehyde (**50**)<sup>33)</sup> に対する *anti* 選択的アルキニル化,<sup>46)</sup> プロパルギルアルコールのプロモアレンへの変換,<sup>47,48)</sup> 続く脱保護・アミド化により合成した (Fig. 13)。続いて連続環化反応の検討を行った (Table 2)。プロモアレン **53a** を基質としてパラジウム触媒存在下、 $\text{NaH}$  を

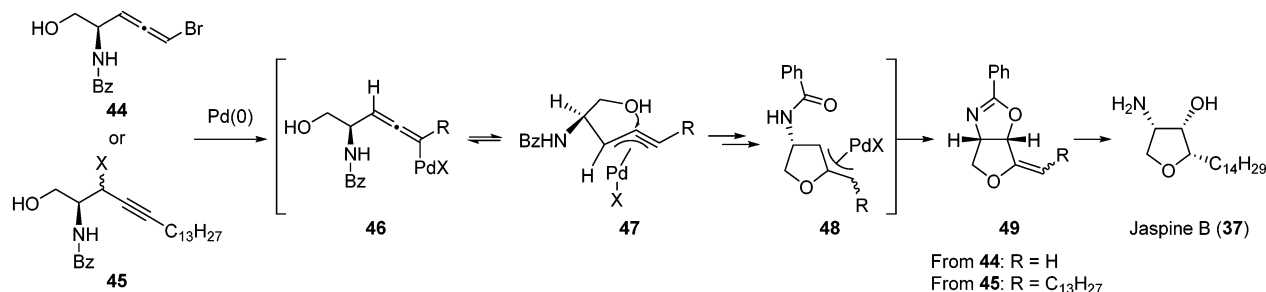


Fig. 12. Construction of Functionalized Tetrahydrofuran for Jaspine B Synthesis by Palladium-catalyzed Cascade Cyclization of Bromoallenes **44** and Propargyl Compounds **45**

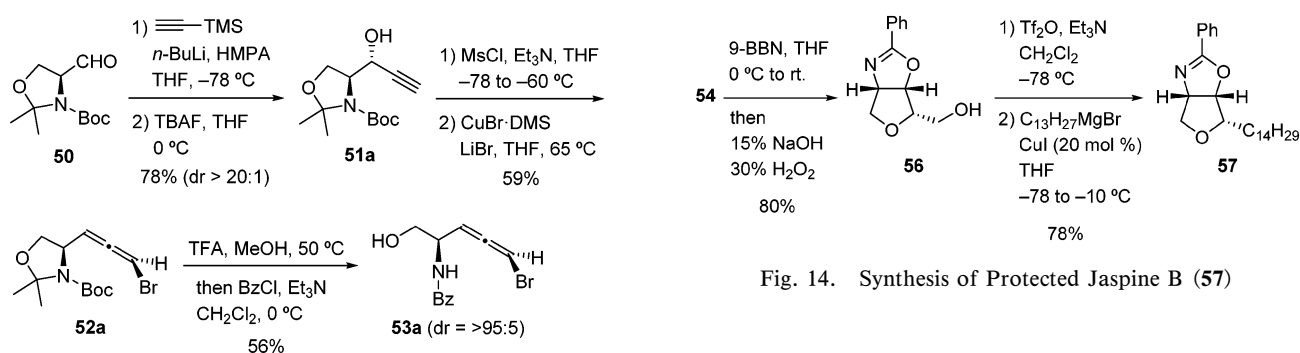


Fig. 14. Synthesis of Protected Jaspine B (**57**)

Fig. 13. Synthesis of Bromoallene **53a**

Table 2. Palladium-catalyzed Cascade Cyclization of Bromoallene **53a**<sup>a</sup>

| Entry | Base (eq)                             | Solvent           | Yield (%) <sup>b</sup> |           |
|-------|---------------------------------------|-------------------|------------------------|-----------|
|       |                                       |                   | <b>54</b>              | <b>55</b> |
| 1     | NaH (2.0)                             | MeOH              | 50                     | 45        |
| 2     | NaH (2.0)                             | THF/MeOH (4 : 1)  | 40                     | 15        |
| 3     | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (2.0)  | THF/MeOH (4 : 1)  | 43                     | —         |
| 4     | Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (2.0) | THF/MeOH (4 : 1)  | 67                     | 26        |
| 5     | Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1.2) | THF/MeOH (4 : 1)  | 78                     | 20        |
| 6     | Cs <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1.2) | THF/MeOH (10 : 1) | 89                     | trace     |

<sup>a</sup> All reactions were performed with 5 mol% Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> at 0.1 M for 1–4 h. <sup>b</sup> Yield of isolated products.

用い MeOH 中 50°C で反応させると目的の環化体 **54** を 50% の収率で得ることができた (Entry 1). しかしながら, メトキシドが付加した **55** が副生成物として 45% 得られた. このメトキシドによる分子間反応を抑制するために, 溶媒, 塩基の検討を行った結果, 塩基として Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を用い, THF/MeOH 混合溶媒中で反応を行うと 89% と高収率で

目的の環化体を得ることができた (Entry 6). また, 別途合成した **53a** のジアステレオマー **53b** に対して, Entry 6 の条件で反応を行ったところ, **53a** を用いた場合と同様に反応は進行し, 88% の収率で環化体 **54** を得ることができた.

続いて, エキソオレフィンに対するヒドロホウ素化により C2 位の不斉中心を構築し, ヒドロキシ基の導入を行った.<sup>49)</sup> さらに銅触媒を用いたアルキル化により側鎖アルキル基を導入し, 目的の保護 jaspine B (**57**) を合成した (Fig. 14). また, 様々な Grignard 試薬を用いて, 種々のアルキル基を有する誘導体の合成にも成功した. オキサゾリン環の切断反応については後ほど示す.

次に, プロパルギル化合物を基質とした短工程合成経路について述べる. この経路では合成初期段階にアルキル基を導入することで終盤のアルキル化の工程を省くことが可能となる. 連続環化反応の基質となる側鎖アルキル基を有するプロパルギルカルボナート *syn*-**61**, *anti*-**61** はそれぞれ Garner's aldehyde (**50**) に対するジアステレオ選択的アルキニル化,<sup>46)</sup> カルボナートへの変換, 脱保護, アミド化により合成した. プロパルギルクロリドも同様に, プロパルギルアルコール *syn*-**58**, *anti*-**58** に対するクロロ化と脱保護, アミド化により合成した. また興味深いことにクロロ化反応において, 立体保持で

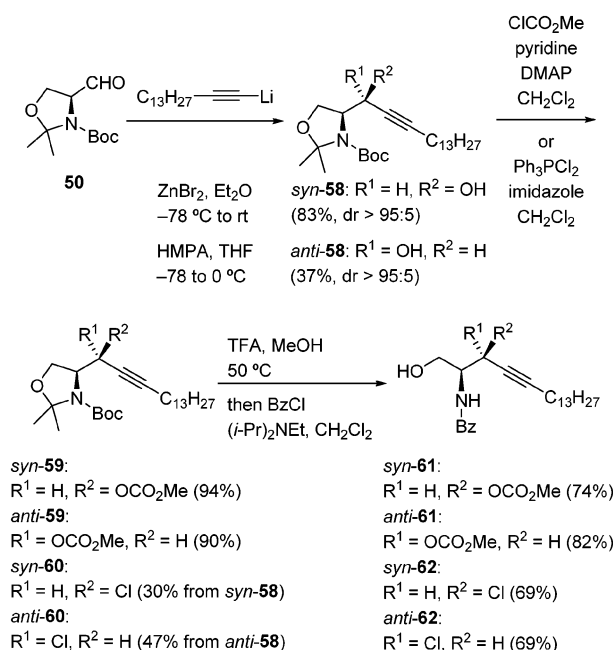


Fig. 15. Synthesis of Propargyl Carbonates *syn*- and *anti*-61 and 62

反応が進行した (Fig. 15).<sup>50)</sup> 続いて連続環化反応の検討を行った (Table 3). カルボナート *syn*-61 を基質として,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  を用い,  $\text{MeOH}$  中  $50^\circ\text{C}$  で加熱すると, 目的の環化体 (*E*)-63 を低収率なが

ら得ることができた (Entry 1). 溶媒を THF に変更すると, 収率が大幅に向上した (69%, Entry 2). カルボナート *anti*-61 に対して同条件下で反応を行ったところ, 収率が大幅に低下した (Entry 3). 続いて, プロパルギルクロリド *syn*-62 を用いて反応を行った.  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  存在下,  $\text{MeOH}$  中  $\text{NaH}$  を塩基として用いて反応を行うと, 中程度の収率で環化体 (*E*)-63 が得られた (Entry 4). 一方で, THF を溶媒として用いると, 収率が大幅に低下した (Entry 5). さらに検討を行ったところ, 塩基として  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , 溶媒として THF/ $\text{MeOH}$  (10 : 1) の混合系を用いると, 89% で目的物を得ることができた (Entry 9). クロロ体 *anti*-62 を用いた場合, 収率が低下し, *Z* 選択性で目的物が得られた (Entry 10). 目的の環化体を得られたので, 引き続き, jaspine B への誘導を検討した. (*E*)-63 に対しロジウム触媒を用いた還元により C2 位の不斉中心を構築した (Fig. 16). 得られた 57 に対して, 酸性条件下オキサゾリン環の加水分解を行うことで jaspine B へと誘導した. 本短工程経路では, プロパルギルカルボナートを経由した場合, 7 工程, 総収率 26% で全合成を達成することができた.

Jaspine B の合成経路の確立に成功したため, 続

Table 3. Palladium-catalyzed Cascade Cyclization of Propargyl Carbonates and Chlorides<sup>a</sup>

| Entry           | Substr.         | Base <sup>b</sup>              | Solvent                      | 63                     |                                  |
|-----------------|-----------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------------|
|                 |                 |                                |                              | Yield (%) <sup>c</sup> | <i>E</i> : <i>Z</i> <sup>d</sup> |
| 1               | <i>syn</i> -61  | —                              | $\text{MeOH}$                | 2 <sup>e</sup>         | > 95 : 5                         |
| 2               | <i>syn</i> -61  | —                              | THF                          | 69                     | > 95 : 5                         |
| 3               | <i>anti</i> -61 | —                              | THF                          | < 20                   | > 95 : 5                         |
| 4               | <i>syn</i> -62  | $\text{NaH}$ (2.5)             | $\text{MeOH}$                | 49                     | 92 : 8                           |
| 5               | <i>syn</i> -62  | $\text{NaH}$ (2.5)             | THF                          | ca. 12                 | —                                |
| 6               | <i>syn</i> -62  | $\text{NaH}$ (2.5)             | THF : $\text{MeOH}$ (10 : 1) | 21                     | 54 : 46                          |
| 7               | <i>syn</i> -62  | $\text{K}_2\text{CO}_3$ (1.2)  | THF : $\text{MeOH}$ (10 : 1) | 24                     | > 95 : 5                         |
| 8               | <i>syn</i> -62  | $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (1.2) | THF : $\text{MeOH}$ (10 : 1) | 73                     | 95 : 5                           |
| 9 <sup>e</sup>  | <i>syn</i> -62  | $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (1.2) | THF : $\text{MeOH}$ (10 : 1) | 89                     | > 95 : 5                         |
| 10 <sup>e</sup> | <i>anti</i> -62 | $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (1.2) | THF : $\text{MeOH}$ (10 : 1) | 55                     | 13 : 87                          |

<sup>a</sup> Reactions were carried out with  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (5 mol%) at 0.1 M for 2–4.5 h. <sup>b</sup> 1.2 Eq of a base were used. <sup>c</sup> Isolated yields.

<sup>d</sup> Determined by  $^1\text{H}$  NMR analysis. <sup>e</sup> Reactions were carried out using 10 mol% of  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ .

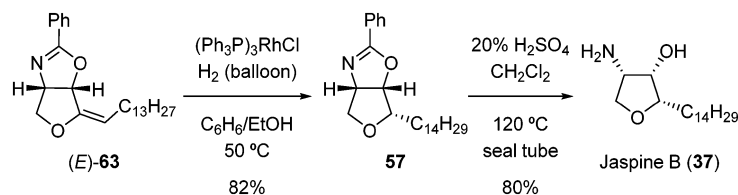


Fig. 16. Cleavage of Oxazoline Ring

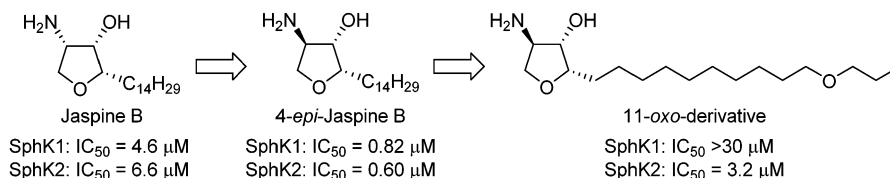


Fig. 17. Structure-activity Relationship Studies of Jaspine B

いては SphK 阻害剤創製のための構造展開を行った (Fig. 17). 構造展開に係わる研究については、誌面の都合上、簡潔に記載する。最初に、jaspine B の THF 環上の置換基の立体異性体及び位置異性体に関する検討を行った。Jaspine B のすべての立体異性体を分岐的に合成可能な手法<sup>51)</sup>と、アミノ基とヒドロキシ基の位置を交換した位置異性体の合成経路を確立し、<sup>9)</sup> 分子中の 3 つの不斉中心及び官能基の SphK 阻害活性に対する影響を精査した。その結果、天然物 jaspine B の 4-*epi* 体が最も高い阻害活性を示すことを明らかにした。<sup>7)</sup> 続いて、jaspine B の側鎖アルキル鎖部分の構造展開を行った。様々な官能基を側鎖アルキル鎖部位に導入した誘導体を設計して、阻害活性を評価した結果、SphK の 2 つのアイソフォーム SphK1 及び SphK2 のうち、SphK2 に対する選択的阻害活性を示す誘導体 (11-oxo-derivative) を見出した。<sup>8)</sup> またこれら以外にも構造展開を行っており、様々な構造を有する SphK 阻害剤を取得している。<sup>52)</sup>

以上のように筆者らは、プロモアレノ、プロパルギル化合物の連続環化反応を鍵反応として jaspine B とその誘導体の全合成経路を確立した。特に、プロモアレノを用いた経路では、合成終盤に様々なアルキル側鎖を導入することが可能である。またプロパルギル化合物を用いた経路では、合成初期に側鎖アルキル鎖部位を導入しておくことにより、短工程合成が可能となった。さらに天然物である jaspine B の構造展開によって、活性及び選択性の向上した誘導体の創製に成功した。本成果は、SphK のリガ

ンド認識機構の解明に貢献し、SphK 阻害剤開発における新たな分子設計指針を提示した。

#### 4. 天然由来複合脂質・糖質及びその誘導体の合成と構造展開による生物有機化学研究

天然由来複合脂質・糖質は免疫応答活性など様々な生物活性を示すことが知られている。一方で、物性面において取り扱いが困難な化合物が多く、合成や構造展開は十分に行われていない。筆者らは、heptose 1β,7-bisphosphate (HBP),<sup>53)</sup> ossamine,<sup>54)</sup> シクロプロパン含有 cardiolipin,<sup>55)</sup> digalactosyl diacylglycerols (DGDG),<sup>56)</sup> α-GalCer<sup>11,12)</sup> などに着目し、合成経路の確立を行うとともに、構造展開を通じた生物有機化学的アプローチによる分子認識や活性発現機構の解明に取り組んできた。以下、免疫調節タンパク質 CD1d のリガンドである α-GalCer に係わる研究の詳細を記載する。

脂質抗原を認識する CD1d は樹状細胞などの細胞表面に存在し、T 細胞の分化や活性化を制御することが知られている。<sup>57)</sup> CD1d は糖脂質リガンドと結合すると、ナチュラルキラー T (natural killer T; NKT) 細胞上の T 細胞抗原受容体 (T cell receptor; TCR) に認識されて NKT 細胞を活性化し、様々なサイトカインを誘導する。<sup>58)</sup> 誘導されるサイトカインとしては、腫瘍免疫の亢進に関与するインターフェロン-γ (interferon-γ; IFN-γ) などの Th1 サイトカインや、アレルギー疾患に関与するインターロイキン-4 (interleukin-4; IL-4) などの Th2 サイトカインが知られている。これまでの研究において、CD1d リガンドの構造の違いによって誘導されるサ

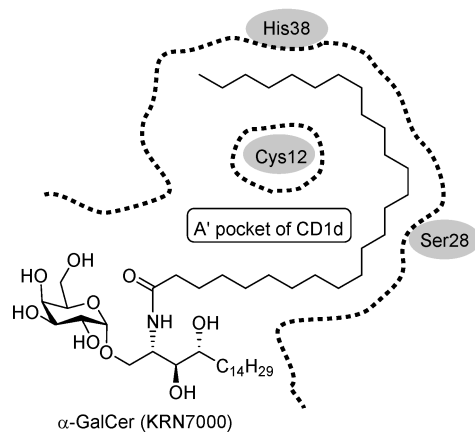
イトカインの量や選択性を制御可能であることが報告されている。<sup>59)</sup> 既知の CD1d リガンドとしては海洋天然物を基盤に開発された  $\alpha$ -GalCer [KRN7000, Fig. 18(a)] が知られている。<sup>60)</sup>  $\alpha$ -GalCer はガラクトース部位, スフィンゴシン部位, 炭素数 26 からなる長鎖アシル鎖から構成される糖脂質であり, IFN- $\gamma$ , IL-4 を含めた様々なサイトカインに対する強力な誘導能を示す。また  $\alpha$ -GalCer に対して短いアシル鎖 (炭素数 20) を有する誘導体 [C20:0  $\alpha$ -GalCer, Fig. 18(b)] などは, サイトカイン誘導活性が大幅に低下するものの, IL-4 選択性を示すことが報告されていた。<sup>61)</sup> これまでに行われてきた CD1d と  $\alpha$ -GalCer 複合体の X 線結晶構造解析によると,  $\alpha$ -GalCer の疎水性部位であるスフィンゴシン側鎖部位と長鎖アシル鎖部位は CD1d の疎水性ポケットに認識される。<sup>62)</sup> 特に, 筆者らは, 長鎖アシル鎖部位を認識する CD1d の巨大な疎水性 A' ポケットに着目し,  $\alpha$ -GalCer の長鎖アシル鎖の構造展開を基に, CD1d の脂質結合部位におけるリガンド認識機構の解明とその制御を目指し, 本研究に着手した [Fig. 18(a)]。

CD1d の A' ポケットは, 多くの疎水性アミノ酸残基から構成される疎水性ポケットとして知られているが, 報告されている mCD1d- $\alpha$ -GalCer 複合体の X 線結晶構造 (PDB: 3G08)<sup>62)</sup> を詳細に解析した結果, ポケット内において, 限られた数の極性アミノ酸残基 12 番システイン (Cys12), 28 番セリン (Ser28), 38 番ヒスチジン (His38) などを有していることが分かった [Fig. 18(a)]。筆者らは, これらの極性アミノ酸残基に着目することとした。これらの A' ポケット中の極性アミノ酸残基がリガンドと相互作用可能かを評価するために, 結合ポケット解析ソフトである SiteMap (シュレーディングー社) を用いて解析を行った。SiteMap 解析によると, Ser28 周辺部の限られた範囲においては極性領域が存在し, リガンドとの相互作用が可能であることが示唆された。一方で, 疎水性領域における水素結合はタンパク質表面などの親水性領域における水素結合と比較して安定な結合を形成することが報告されている。<sup>63,64)</sup> 筆者らは, これらの極性残基との水素結合形成による活性制御を指向したリガンド構造のデザインを行うこととした。これまでに, これらの親水性領域との相互作用を意図したリガンドとし

て, 脂質末端にヒドロキシ基を含む  $\alpha$ -GalCer 誘導体が報告されているが,<sup>65)</sup> 詳細な構造活性相関研究は行われていなかった。筆者らは極性領域に対して水素結合等を介して相互作用可能なアミド基を  $\alpha$ -GalCer の長鎖アシル基に導入することを計画した [Fig. 18(b)]。まず CD1d の Ser28 との相互作用が予想される部位近傍にアミド基を導入した 5 数種のリガンド (64a-e) を合成した。また,  $\alpha$ -GalCer の長鎖アシル基 (炭素数 26) と比較して, 短いアシル鎖 (炭素数 20) を有するリガンドに関しても, アミド基の導入位置を変えた 5 種類のリガンドを合成した (65a-e)。

最初に mCD1d タンパク質と NKT ハイブリドーマ (2E10)<sup>66)</sup> を用いたサイトカイン誘導能評価を行った [antigen-presenting cell (APC)-free assay, Figs. 19(a) and (b)]。<sup>67)</sup> すなわち, CD1d をプレートに固定化し, 各リガンドを加えて CD1d-リガンド複合体を形成後, CD1d-リガンド複合体を認識する TCR を有する NKT ハイブリドーマを加え, NKT ハイブリドーマから誘導されるサイトカイン (IL-2) の量を定量した [Figs. 19(a) and (b)]。64a, 64b は  $\alpha$ -GalCer と比較し, ほぼ同等のサイトカイン誘導活性を示した。一方, 64c, 64d, 64e は, サイトカイン誘導活性が向上した。このように, アミド基の導入位置がサイトカイン誘導活性に大きな影響を与えることから, mCD1d タンパク質とリガンド間の特定の相互作用が示唆された。また, 短いアシル鎖を有するリガンド (65a-e) に関しても同様の評価を行った結果, 64a-e と同じ傾向を示した。続いて, CD1d とリガンド間の結合親和性を評価するために AlphaScreen システムを用いた相互作用解析を行った。AlphaScreen では, ドナーとアクセプターからなるビーズを用い, これらビーズが近づいた際にシグナルが得られる。CD1d タンパク質をアクセプタービーズへと固定し, ここへ, CD1d の既知リガンドとして知られる phosphatidylethanolamine (PE) の biotin 標識体 (biotin-PE) を添加することで CD1d-PE 複合体を形成する。さらに, streptavidin がコーティングされたドナービーズを添加することで, CD1d-PE 複合体を介して 2 つのビーズが近づき, シグナルが検出される。ここに, 測定したいリガンドを添加し, biotin-PE とリガンドの競合を測定することで, CD1d-リガン

a)



b)

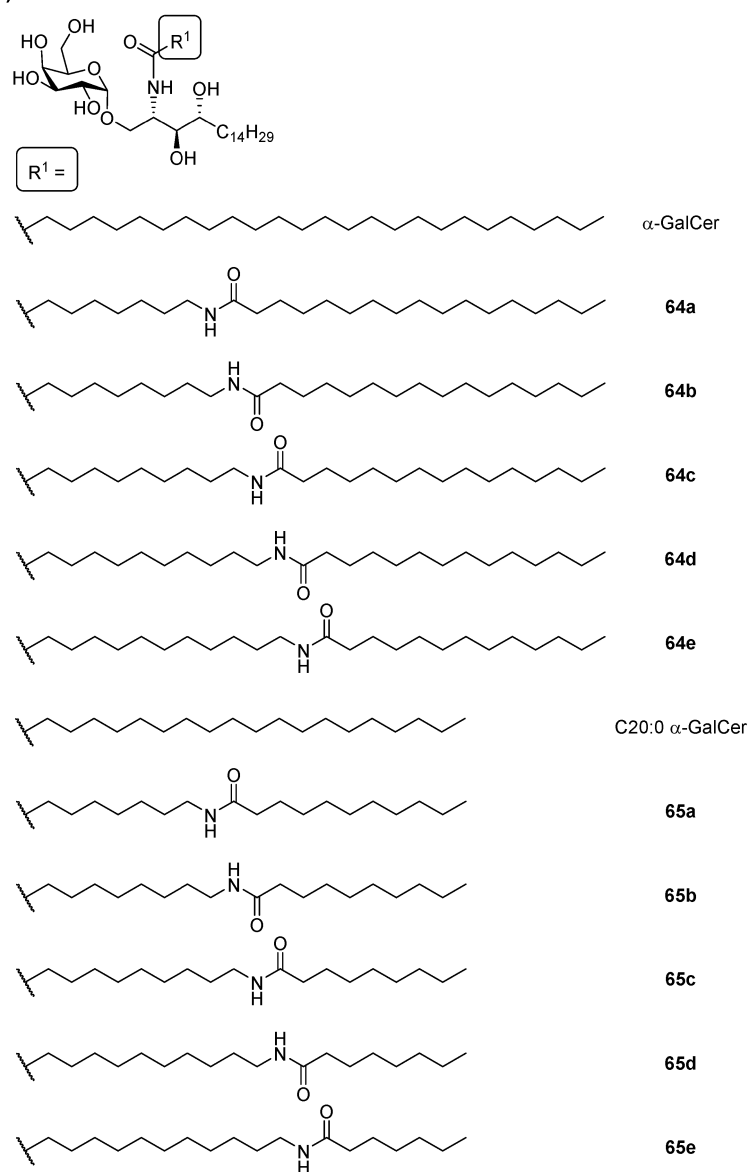


Fig. 18. a) Binding Mode of  $\alpha$ -GalCer toward mCD1d, b) Structure of  $\alpha$ -GalCer Analogues

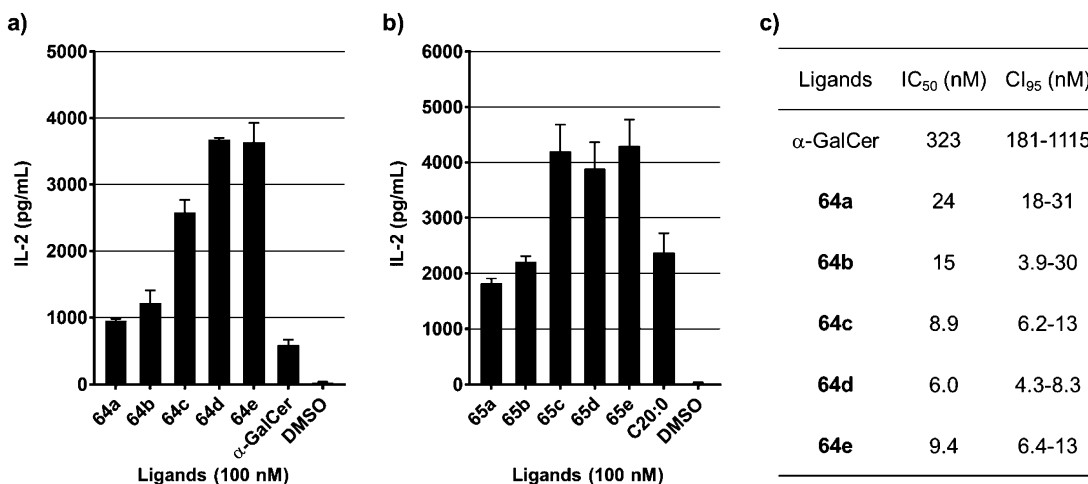


Fig. 19. APC Free Assay and AlphaScreen Assay

a), b) APC free assay for lipid binding to mCD1d with α-GalCer analogues (100 nM), c) AlphaScreen assay measuring the binding of α-GalCer and analogues 64a-64e.

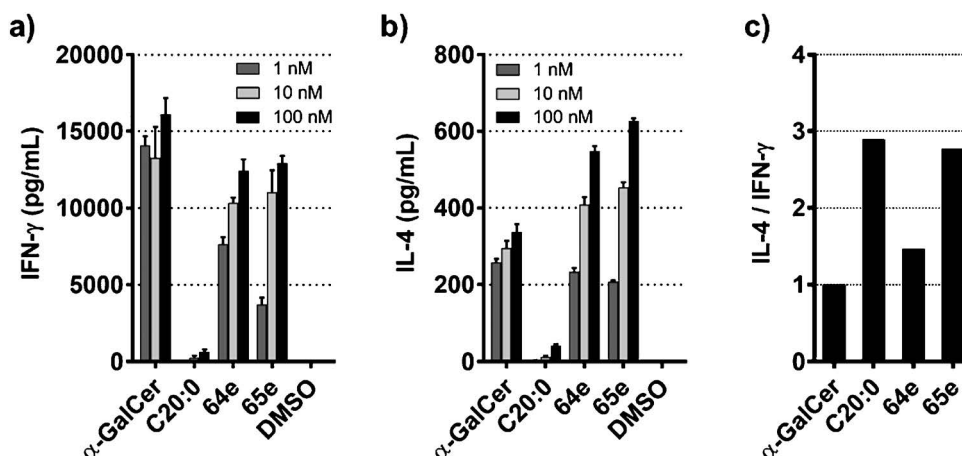


Fig. 20. Measurement of IFN-γ and IL-4 Induction in Mouse Splenocytes

a), b) IFN-γ and IL-4 secretion by mouse splenocytes following stimulation (48 h) by α-GalCer or its analogues. The graphs show the mean ± S.E.M. of triplicate measurements, c) The relative rate of cytokine production of analogues compared with α-GalCer, at 1 nM (C20:0 at 10 nM) concentrations were summarized.

ド分子間相互作用を評価した [Fig. 19(c)]. Figure 19(c)に示すように、APC-free アッセイの結果と同様に、64c, 64d, 64e は 64a, 64b と比較して、CD1d に対して高い結合親和性を示すことが分かった。特に 64d が最も高い結合親和性を示した。

続いて、64e, 65e に関して、マウス脾臓細胞を用いたサイトカイン誘導評価を行った (Fig. 20)。本評価系では、NKT 細胞、CD1d を発現する抗原提示細胞等、複数種の免疫細胞が混在する脾臓細胞にリガンドを添加し、誘導されるサイトカイン INF-γ 及び IL-4 の誘導量を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) により定量した。64e は α-GalCer と比較して、INF-γ については同等の活性であったものの、IL-4 については、誘導能が向上

した。一方で、65e は、同じ長さのアシル鎖を有する C20:0 α-GalCer と比較して、INF-γ, IL-4 の誘導能がともに大幅に向上した。また選択性に関して、IL-4 を選択的に誘導することが分かった [Fig. 20(c)]. 65 のような IL-4 の選択的誘導活性を示す高活性な CD1d リガンドは、これまでに報告例がほとんどなく、Th1/Th2 サイトカインバイアス解析のツールとして利用が期待される。

特定の位置へのアミド基導入によるサイトカイン誘導能の向上に関する構造的要因を調査するために、アミド基を1つ含む 64a-e に関して、分子動力学 (molecular dynamics; MD) 計算を用いた相互作用様式の解析を行った。64a-e は Ser28 との相互作用が予想されるため、Ser28 周辺部の水和状態を

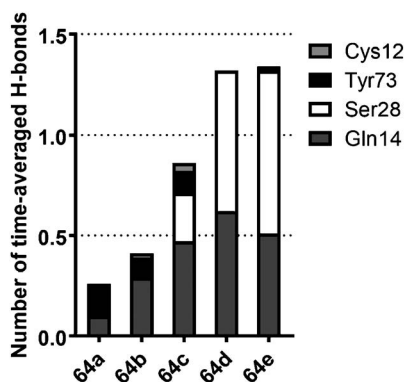


Fig. 21. Results of MD Simulations

Number of time-averaged H-bonds between the amide group of **64a-e** and the polar residues in the pocket A'. The vertical axis indicates the total numbers of direct and water-bridged H-bonds.

20 ns の MD シミュレーションによりアミド基と mCD1d との相互作用を解析することとした。最初に、リガンドのアミド基と mCD1d における極性アミノ酸残基との水素結合を MD シミュレーションにより評価した。既知の X 線結晶構造 (PDB: 3he6)<sup>68)</sup> を基に mCD1d と **64a-e** との複合体を作製し、20 ns 間の MD シミュレーションを行った。シミュレーション時間内における、リガンドのアミド基と mCD1d に含まれる各極性アミノ酸残基との水素結合数を評価した (Fig. 21)。20 ns 間において、特定の 1 つのアミノ酸残基の官能基とリガンドのアミド基が水素結合を途切れることなく形成した場合、縦軸の値は 1 となる。**64d**, **64e** などの水素結合数は 1 を超えているため、2 つ以上のアミノ酸残基が水素結合を形成していることを示している。**64a**, **64b** は、主に 73 番チロシン (Tyr73)、14 番グルタミン (Gln14) との水素結合形成が示唆されたが、全体的な水素結合の寄与が少なかった。一方、高いサイトカイン誘導能を示した **64d**, **64e** では、水素結合の寄与が大きく、主に Gln14 及び Ser28 との水素結合が示唆された。また Gln14 は水分子を介してリガンドのアミド基と水素結合を形成しており、mCD1d-リガンド間の相互作用に水分子が重要な役割を果たしていることが示唆された。

以上のように、CD1d の脂質認識部位に存在する特定の極性アミノ酸残基が、親和性向上のための新たな作用点となることを見い出した。また MD 計算の結果より、リガンドへのアミド基の導入は水素結合の形成に関与するのみでなく、その周辺部の水

和状態を大きく改善することでリガンド-CD1d 複合体を安定化していることが示唆された。本成果は、単純な構造変換により脂質リガンドの活性向上が可能であることを示しており、脂質認識タンパク質に対する高親和性リガンド設計に重要な指針を与えると期待される。

## 5. おわりに

これまで紹介したように、筆者らは、多環性アルカロイド、複合脂質、糖質など様々な天然有機化合物及び誘導体の合成手法の開発を行った。また、構造展開を通して、生体分子の分子認識や選択性発現機構を解析するための分子プローブや、医薬品候補化合物取得のための基礎となる新規機能性分子の創製に成功した。これらの研究成果は、創薬を指向する薬学研究の中心領域である有機合成化学、生物有機化学、医薬品化学の関連分野に対して、多くの有用な知見を提供するものと考えている。

**謝辞** 本研究を推進するにあたり、多くの方々にお世話になりました。特に、終始丁寧なご指導、ご支援を賜りました大野浩章先生 (京都大学大学院薬学研究科教授)、藤井信孝先生 (京都大学名誉教授)、藤本ゆかり先生 (慶應義塾大学理工学部化学科教授) に心より深謝申し上げます。本研究は、京都大学大学院薬学研究科ケモゲノミクス・薬品有機製造学分野、並びに慶應義塾大学理工学部化学科生体分子化学研究室において遂行されました。研究室スタッフの大石真也先生 (京都大学大学院薬学研究科准教授)、ともに研究に取り組んできた学生の皆様に、本誌面をお借りして深く感謝申し上げます。また本研究の一部は、シュレーディング株式会社市原 収博士、吉留大輔氏との共同研究により実施されたものであり、深謝申し上げます。本研究は文部科学省科学研究費補助金「研究活動スタート支援」「若手研究 B」、「新学術領域研究 化学コミュニケーションのフロンティア」並びに日本医療研究開発機構 (AMED)「創薬基盤推進研究事業」、「慶応工学会研究費援助」、「金子・成田研究奨励金」のご支援により遂行したものであり、この場を借りて御礼申し上げます。

**利益相反** 開示すべき利益相反はない。

## REFERENCES

- 1) Pascolutti M., Quinn R. J., *Drug Discov. Today*, **19**, 215–221 (2014).
- 2) Newman D. J., Cragg G. M., *J. Nat. Prod.*, **79**, 629–661 (2016).
- 3) Rodrigues T., Reker D., Schneider P., Schneider G., *Nat. Chem.*, **8**, 531–541 (2016).
- 4) Wang S., Dong G., Sheng C., *Chem. Rev.*, **119**, 4180–4220 (2019).
- 5) Inuki S., Oishi S., Fujii N., Ohno H., *Org. Lett.*, **10**, 5239–5242 (2008).
- 6) Inuki S., Iwata A., Oishi S., Fujii N., Ohno H., *J. Org. Chem.*, **76**, 2072–2083 (2011).
- 7) Inuki S., Yoshimitsu Y., Oishi S., Fujii N., Ohno H., *Org. Lett.*, **11**, 4478–4481 (2009).
- 8) Inuki S., Yoshimitsu Y., Oishi S., Fujii N., Ohno H., *J. Org. Chem.*, **75**, 3831–3842 (2010).
- 9) Miyagawa T., Inuki S., Honda M., Nakamura S., Nakanishi I., Fujii N., Oishi S., Ohno H., *Tetrahedron*, **74**, 1802–1809 (2018).
- 10) Inuki S., Miyagawa T., Oishi S., Ohno H., *Chem. Pharm. Bull.*, **66**, 866–872 (2018).
- 11) Inuki S., Aiba T., Hirata N., Ichihara O., Yoshidome D., Kita S., Maenaka K., Fukase K., Fujimoto Y., *ACS Chem. Biol.*, **11**, 3132–3139 (2016).
- 12) Inuki S., Kashiwabara E., Hirata N., Kishi J., Nabika E., Fujimoto Y., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **57**, 9655–9659 (2018).
- 13) Jacobs W. A., Craig L. C., *J. Biol. Chem.*, **104**, 547–551 (1934).
- 14) Liu H. C., Jia Y. X., *Nat. Prod. Rep.*, **34**, 411–432 (2017).
- 15) Schiff P. L., *Am. J. Pharm. Ed.*, **70**, 98 (2006).
- 16) Kornfeld E. C., Fornefeld E. J., Kline G. B., Mann M. J., Jones R. G., Woodward R. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 5256–5257 (1954).
- 17) Moldvai I., Temesvári-Major E., Incze M., Szentirmay É., Gács-Baitz E., Szántay C., *J. Org. Chem.*, **69**, 5993–6000 (2004).
- 18) Oppolzer W., Francotte E., Bättig K., *Helv. Chim. Acta*, **64**, 478–481 (1981).
- 19) Zimmer R., Dinesh C. U., Nandan E., Khan F. A., *Chem. Rev.*, **100**, 3067–3126 (2000).
- 20) Bates R. W., Satcharoen V., *Chem. Soc. Rev.*, **31**, 12–21 (2002).
- 21) Ma S. M., *Acc. Chem. Res.*, **36**, 701–712 (2003).
- 22) Ma S. M., *Chem. Rev.*, **105**, 2829–2871 (2005).
- 23) Ohno H., Miyamura K., Takeoka Y., Tanaka T., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42**, 2647–2650 (2003).
- 24) Ohno H., *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 1211–1226 (2005).
- 25) Okano A., Mizutani T., Oishi S., Tanaka T., Ohno H., Fujii N., *Chem. Commun.*, 3534–3536 (2008).
- 26) Johnson W. S., Frei B., Gopalan A. S., *J. Org. Chem.*, **46**, 1512–1513 (1981).
- 27) Corey E. J., Erickson B. W., *J. Org. Chem.*, **36**, 3553–3560 (1971).
- 28) Trost B. M., Dong G., Vance J. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 4540–4541 (2007).
- 29) Sherry B. D., Toste F. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 15978–15979 (2004).
- 30) Myers A. G., Zheng B., *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 4492–4493 (1996).
- 31) Ohno H., Hamaguchi H., Tanaka T., *Org. Lett.*, **2**, 2161–2163 (2000).
- 32) Ohno H., Hamaguchi H., Tanaka T., *J. Org. Chem.*, **66**, 1867–1875 (2001).
- 33) Garner P., *Tetrahedron Lett.*, **25**, 5855–5858 (1984).
- 34) Ohno H., Hamaguchi H., Ohata M., Kosaka S., Tanaka T., *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 8744–8754 (2004).
- 35) Okude Y., Hirano S., Hiyama T., Nozaki H., *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 3179–3181 (1977).
- 36) Jin H., Uenishi J., Christ W. J., Kishi Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 5644–5646 (1986).
- 37) Midland M. M., Tramontano A., Kazubski A., Graham R. S., Tsai D. J. S., Cardin D. B., *Tetrahedron*, **40**, 1371–1380 (1984).
- 38) Kuroda I., Musman M., Ohtani I. I., Ichiba T., Tanaka J., Gravalos D. G., Higa T., *J. Nat. Prod.*, **65**, 1505–1506 (2002).
- 39) Ledroit V., Debitus C., Lavaud C., Massiot G., *Tetrahedron Lett.*, **44**, 225–228 (2003).
- 40) Yoshimitsu Y., Oishi S., Miyagaki J., Inuki S., Ohno H., Fujii N., *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 5402–5408 (2011).
- 41) Sudhakar N., Kumar A. R., Prabhakar A.,

- Jagadeesh B., Rao B. V., *Tetrahedron Lett.*, **46**, 325–327 (2005).
- 42) Martinková M., Gonda J., *Carbohydr. Res.*, **423**, 1–42 (2016).
- 43) Ohno H., Hamaguchi H., Ohata M., Tanaka T., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42**, 1749–1753 (2003).
- 44) Hamaguchi H., Kosaka S., Ohno H., Tanaka T., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 1513–1517 (2005).
- 45) Hamaguchi H., Kosaka S., Ohno H., Fujii N., Tanaka T., *Chem. Eur. J.*, **13**, 1692–1708 (2007).
- 46) Herold P., *Helv. Chim. Acta*, **71**, 354–362 (1988).
- 47) D’Aniello F., Mann A., Taddei M., Wermuth C. G., *Tetrahedron Lett.*, **35**, 7775–7778 (1994).
- 48) D’Aniello F., Mann A., Schoenfelder A., Taddei M., *Tetrahedron*, **53**, 1447–1456 (1997).
- 49) Ghosh A. K., Xi K., *Org. Lett.*, **9**, 4013–4016 (2007).
- 50) Lipshutz B. H., Miller T. A., *Tetrahedron Lett.*, **31**, 5253–5256 (1990).
- 51) Yoshimitsu Y., Inuki S., Oishi S., Fujii N., Ohno H., *J. Org. Chem.*, **75**, 3843–3846 (2010).
- 52) Ohno H., Honda M., Hamada N., Miyagaki J., Iwata A., Otsuki K., Maruyama T., Nakamura S., Nakanishi I., Inuki S., Fujii N., Oishi S., *Bioorg. Med. Chem.*, **25**, 3046–3052 (2017).
- 53) Inuki S., Aiba T., Kawakami S., Akiyama T., Inoue J., Fujimoto Y., *Org. Lett.*, **19**, 3079–3082 (2017).
- 54) Inuki S., Sato K., Fukuyama T., Ryu I., Fujimoto Y., *J. Org. Chem.*, **82**, 1248–1253 (2017).
- 55) Inuki S., Ohta I., Ishibashi S., Takamatsu M., Fukase K., Fujimoto Y., *J. Org. Chem.*, **82**, 7832–7838 (2017).
- 56) Inuki S., Kishi J., Kashiwabara E., Aiba T., Fujimoto Y., *Org. Lett.*, **19**, 6482–6485 (2017).
- 57) Brennan P. J., Brigl M., Brenner M. B., *Nat. Rev. Immunol.*, **13**, 101–117 (2013).
- 58) Matsuda J. L., Mallevaey T., Scott-Browne J., Gapin L., *Curr. Opin. Immunol.*, **20**, 358–368 (2008).
- 59) Laurent X., Bertin B., Renault N., Farce A., Specia S., Milhomme O., Millet R., Desreumaux P., Henon E., Chavatte P., *J. Med. Chem.*, **57**, 5489–5508 (2014).
- 60) Morita M., Motoki K., Akimoto K., Natori T., Sakai T., Sawa E., Yamaji K., Koezuka Y., Kobayashi E., Fukushima H., *J. Med. Chem.*, **38**, 2176–2187 (1995).
- 61) Yu K. O., Im J. S., Molano A., Dutronc Y., Illarionov P. A., Forestier C., Fujiwara N., Arias I., Miyake S., Yamamura T., Chang Y. T., Besra G. S., Porcelli S. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 3383–3388 (2005).
- 62) Sullivan B. A., Nagarajan N. A., Wingender G., Wang J., Scott I., Tsuji M., Franck R. W., Porcelli S. A., Zajonc D. M., Kronenberg M., *J. Immunol.*, **184**, 141–153 (2010).
- 63) Schmidtke P., Luque F. J., Murray J. B., Barril X., *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 18903–18910 (2011).
- 64) Gao J., Bosco D. A., Powers E. T., Kelly J. W., *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **16**, 684–690 (2009).
- 65) Lim C., Kim J. H., Baek D. J., Lee J. Y., Cho M., Lee Y. S., Kang C. Y., Chung D. H., Cho W. J., Kim S., *ACS Med. Chem. Lett.*, **5**, 331–335 (2014).
- 66) Nyambayar D., Iwabuchi K., Hedlund E., Murakawa S., Shirai K., Iwabuchi C., Kon Y., Miyazaki Y., Yanagawa Y., Onoé K., *J. Clin. Exp. Hematop.*, **47**, 1–8 (2007).
- 67) Zeissig S., Olszak T., Melum E., Blumberg R. S., *Methods Mol. Biol.*, **960**, 557–572 (2013).
- 68) Pellicci D. G., Patel O., Kjer-Nielsen L., Pang S. S., Sullivan L. C., Kyparissoudis K., Brooks A. G., Reid H. H., Gras S., Lucet I. S., Koh R., Smyth M. J., Mallevaey T., Matsuda J. L., Gapin L., McCluskey J., Godfrey D. I., Rossjohn J., *Immunity*, **31**, 47–59 (2009).