

- under these conditions might cause substitution as well as elimination to give rise to aromatic compounds. Therefore, careful optimization should be worked out for the acetolysis.
- Compound **7a**: ^1H NMR (300 MHz, MeOH): δ 4.25 (dd, 1H, $J_{4,5} = 4.8\text{ Hz}$, $J_{3,4} = 5.1\text{ Hz}$, H-4), 3.79 (dd, 1H, $J_{2,3} = 2.4\text{ Hz}$, $J_{3,4} = 5.1\text{ Hz}$, H-3), 3.77 (dd, 1H, $J_{5,6\text{exo}} = 2.2\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 8.3\text{ Hz}$, H-6 exo), 3.68 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 8.3\text{ Hz}$, H-6 endo), 3.58 (br d, 1H, $J_{2,3} = 2.4\text{ Hz}$, H-2), 2.85 (br dd, 1H, $J_{1,5\text{a(endo)}} = 3.7\text{ Hz}$, $J_{1,5\text{a(exo)}} = 8.1\text{ Hz}$, H-1), 2.54–2.59 (m, 2H, NHCH_2), 2.33 [ddd, 1H, $J_{5,5\text{a(exo)}} = 1.2\text{ Hz}$, $J_{1,5\text{a(exo)}} = 8.1\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 14.6\text{ Hz}$, H-5a(exo)], 2.17 (ddd, 1H, $J_{5,5\text{a(exo)}} = 1.2\text{ Hz}$, $J_{5,6\text{exo}} = 2.2\text{ Hz}$, $J_{4,5} = 4.8\text{ Hz}$, H-5), 1.52 [br d, 1H, $J_{\text{gem}} = 14.6\text{ Hz}$, H-5a(endo)], 1.19–1.46 [m, 4H, $(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$], 0.85 (t, 3H, $J = 7.2\text{ Hz}$, CH_3).
 - Compound **14a**: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 16$ (c 0.5, CHCl_3); ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 5.43 (d, 1H, $J_{2,\text{NH}} = 9.8\text{ Hz}$, NH), 5.05 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9.6\text{ Hz}$, $J_{4,5} = 10.7\text{ Hz}$, H-4), 4.93 (dd, 1H, $J_{3,4} = 9.6\text{ Hz}$, $J_{2,3} = 10.5\text{ Hz}$, H-3), 4.10 (dd, 1H, $J_{5,6\text{b}} = 3.7\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 11.2\text{ Hz}$, H-6b), 4.05 (br d, 1H, $J_{2,\text{NH}} = 9.8\text{ Hz}$, H-2), 3.97 (dd, 1H, $J_{5,6\text{a}} = 3.4\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 11.2\text{ Hz}$, H-6a), 3.37 (s, 3H, OMe), 3.27 (ddd, 1H, $J_{1,5\text{a(eq)}} = 4.2\text{ Hz}$, $J_{1,2} = 10.5\text{ Hz}$, $J_{1,5\text{a(ax)}} = 11.2\text{ Hz}$, H-1), 2.21 [ddd, 1H, $J_{5,5\text{a(eq)}} = 3.7\text{ Hz}$, $J_{1,5\text{a(eq)}} = 4.2\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 13.2\text{ Hz}$, H-5a(eq)], 1.97, 2.02, 2.07, and 2.08 (4 s, each 3H, $4 \times \text{Ac}$), 1.91 (br s, 1H, H-5), 1.50 [ddd, 1H, $J_{1,5\text{a(ax)}} = 11.2\text{ Hz}$, $J_{5,5\text{a(ax)}} = 12.9\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 13.2\text{ Hz}$, H-5a(ax)].
 - Compound **16**: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 34$ (c 0.15, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 4.06 (br d, 1H, $J_{\text{gem}} = 7.3\text{ Hz}$, H-6 endo), 4.03 (br s, 1H, H-2), 3.97 (br s, 1H, H-4'), 3.79–3.83 (m, 2H, H-3, H-6 exo), 3.64 (br d, 1H, $J_{\text{gem}} = 10.4\text{ Hz}$, H-6b'), 3.52 (dd, 1H, $J_{5',6'\text{a}} = 2.7\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 10.4\text{ Hz}$, H-6'), 3.46 (dd, 1H, $J_{2',3'} = 9.2\text{ Hz}$, $J_{1',2'} = 9.5\text{ Hz}$, H-2'), 3.33 (s, 1H, OMe), 3.30–3.36 (m, 3H, H-1, H-3', H-4), 2.50 (ddd, 1H, $J_{1',5'\text{eq}} = 4.6\text{ Hz}$, $J_{1',2'} = 9.5\text{ Hz}$, $J_{1',5'\text{ax}} = 11.8\text{ Hz}$, H-1'), 2.38 (br dd, 1H, $J_{5,5\text{a(endo)}} = 3.5\text{ Hz}$, $J_{5,5\text{a(exo)}} = 3.8\text{ Hz}$, H-5), 2.20 [ddd, 1H, $J_{5,5\text{a(endo)}} = 3.5\text{ Hz}$, $J_{1,5\text{a(endo)}} = 5.1\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 15.6\text{ Hz}$, H-5a(endo)], 1.85 (ddd, $J_{5',5'\text{eq}} = 2.9\text{ Hz}$, $J_{1',5'\text{eq}} = 4.6\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 12.5\text{ Hz}$, H-5a'eq), 1.78 [br dd, 1H, $J_{5,5\text{a(exo)}} = 3.8\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 15.6\text{ Hz}$, H-5a(exo)], 1.60 (dddd, 1H, $J_{5',6'\text{a}} = 2.7\text{ Hz}$, $J_{5',5'\text{eq}} = 2.9\text{ Hz}$, $J_{4',5'} = 9.3\text{ Hz}$, $J_{5',5\text{a(ax)}} = 12.0\text{ Hz}$, H-5'), 1.32 (ddd, 1H, $J_{1',5'\text{ax}} = 11.8\text{ Hz}$, $J_{5',5\text{a'ax}} = 12.0\text{ Hz}$, $J_{\text{gem}} = 12.5\text{ Hz}$, H-5a'ax).
 - Preliminary, when **15b** was subjected to the conventional acetolysis [$\text{AcOH}/\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$ (40:20:1), 80–95°C], de-O-methylation was partly accompanied with opening of the anhydro ring and the benzyl ether group remained almost unaffected, contrary to the cases of **3d** and **3f**. Therefore, initial removal of the benzyl ether group by hydrogenolysis, followed by acetolysis, would be an effective route to furnish free N-linked dicarbadiaccharides. Furthermore, in order to get the 1-O-alkyl derivatives in acceptable yields, the acetolysis conditions should be optimized in each case.
 - All compounds were assayed for activity against six glycosidases: α -galactosidase (green coffee beans), β -galactosidase (bovine liver), α -glucosidase (Baker's yeast), β -glucosidase (almond), α -fucosidase (bovine kidney), α -mannosidase (Jack beans). Biological assays were carried out in a standard manner by Drs. A. Takahashi and A. Tomoda (Hokko Chemical Industries, Co. Ltd, Toda, Atsugi, Japan).
 - Some N-alkyl derivatives of **6h** were synthesized for the purpose of comparing their activity with those of 6-deoxy congeners, the antipodes of α -fucopyranosylamine-type inhibitors. They have been shown to possess strong inhibitory activity against β -galactosidase and β -glucosidase, as well as α -galactosidase: Ogawa, S.; Fujieda, M.; Sakata, Y., in preparation.
 - With a series of N-alkyl-5a-carba- β -galactopyranosylamines, deoxygenation at C-6 resulted in drastic change in potential and specificity of inhibitory activity: Ogawa, S.; Fujieda, S.; Sakata, Y.; Ishizaki, M.; Hisamatsu, S.; Okazaki, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3461–3463.
 - Ogawa, S.; Ashiura, M.; Uchida, C.; Watanabe, S.; Yamazaki, C.; Yamagishi, K.; Inokuchi, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 929; Ogawa, S.; Kobayashi, Y.; Kabayama, K.; Jimbo, M.; Inokuchi, J. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 1955.

Design and Synthesis of Carba-Sugars of Biological Interest

生化学上興味あるカルバ糖質の設計と合成

Ogawa, Seiichiro

Department of Biosciences and Informatics, Faculty of Science and Technology, Keio University,
Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama, 223-8522 Japan
FAX: 81-45-566-1789, E-mail: ogawa@bio.keio.ac.jp**Key Words:** pseudo-sugars, carba-sugars, carba-oligosaccharides, carba-glycosylamines, inhibitors**Abstract**

Carba-sugars, carbocyclic analogues of true sugars, belong to a family of pseudo-sugars, which is currently attracting great interest among researchers in glycochemistry and glycobiology. The structures of carba-sugars very much resemble those of hexo- and pentopyranoses, but its reactivity and stability *in vivo* differs enormously from those of reducing sugars, mainly because it lacks the aldehyde or keto group. In particular, both natural and synthetic carba-glycosylamines have been shown to possess interesting biological properties *in vivo* as chemically-stable mimics of true glycosylamines. Moreover, several biologically interesting carba-oligosaccharides bonded by way of N- or O-linkage were designed and prepared on the basis of its unhydrolyzable features *in vivo*. Therefore, studies on carba-sugars will become one of the major plans for development of biologically active carbohydrate mimics as well as useful research tools for glycobiology.

要 約

カルバ糖質は真糖の炭素環状アナログであり、最近、糖鎖生化学、糖鎖生物学の分野において注目される一群の擬似糖質に属している。カルバ糖の化学構造は、ピラノース環を有する五単糖、六単糖のそれらに酷似するが、分子中にアルデヒド基あるいはケトン基が存在しないので、生体内における安定性や反応性については、還元糖と大きな違いを見せている。とくにカルバ糖アミンは、天然から得られたもの、それを参考にして合成されたもの、いずれもが、真のグリコシルアミン類に期待される性状に、化学的安定性を賦与した格好なミックスとして興味深い生理活性を示すことが分かってきた。さらに、グリコシダーゼによって加水分解されない、N-あるいはO-結合型オリゴ糖残基を含むオリゴ糖ミックスの設計と合成が容易に行えるようになり、それらの興味深い性質が明らかにされつつある。カルバ糖の化学は、今後、生理活性糖ミックスや糖鎖生物学・生化学研究のツールなどの開発現場で重要な位置を占めることが予期される。

A. Introduction

Glycopyranose and -furanose analogues whose ring-oxygen atoms are replaced with nitrogen, sulfur, phosphorus, selenium and carbon atoms belong to pseudo-sugars (1), and are named individually aza-, thio-, phospho-, seleno- and carba-sugars, respectively (Fig. 1). In 1966 McCasland (2) reported the first synthesis of a pseudo-sugar and described his thinking: It is hoped that pseudo-sugars may be found acceptable in place of corresponding true sugars to some but not all enzymes or biological systems, and thus might serve to inhibit growth of malignant or pathogenic cells. A few years later his prediction came true with the discovery of biologically active natural products containing carba-sugars (Fig. 2). In 1970 the discovery of antibiotic validamycins (3) was reported, in Japan, to show strong activity in controlling sheath blight in rice plant, followed by that of the α -amylase inhibitor acarbose (4) in 1977 in Germany. The former is used as an important agricultural chemical and the latter as clinically important antidiabetic agent. At the same time, free carba-hexopyranose (5) with α -galacto configuration was found as a weak antibiotic from the fermentation broth of a

A. はじめに

単糖のピラノース環やフラノース環内の酸素原子を、窒素原子、硫黄原子、リン原子、あるいは炭素原子で置換した化合物は、それぞれアザ糖、チオ糖、フォスファ糖、あるいはカルバ糖と呼ばれ、擬似糖質(1)に分類されている(図1)。1966年、擬似糖(カルバ糖)を初めて化学合成した McCasland (2) は、シリーズ第一報の冒頭に「分子構造が真糖に非常に良く似ているので、糖と誤認され酵素や生体系に取り込まれ、病原性細胞や悪性腫瘍の増殖を阻止する作用を示すのものが見出されるかもしれない」と記した。数年後にはカルバ糖質を含む生理活性物質が自然界に見出され、予言が的を射ていたことがわかった。1970年、わが国で稲の紋枯病に著効を示す農薬用抗生物質バリダマイシンA (3)が発見され、つづいて1977年にはドイツで α -アミラーゼ阻害剤アカルボース (4)が発見された(図2)。前者は重要な農薬として、後者は糖尿病の対症療法薬として現在使用されている。その間、抗菌活性および除草活性を示す α -ガラクトース型のカルバ糖 (5)が放線菌の代謝産物として単離されている。新しいものではグリコシダーゼ阻害剤サルボスタチン

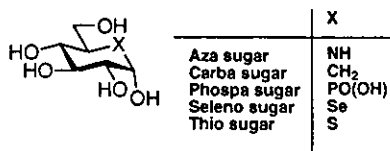


Fig. 1. Some pseudo- α -D-glucopyranoses.

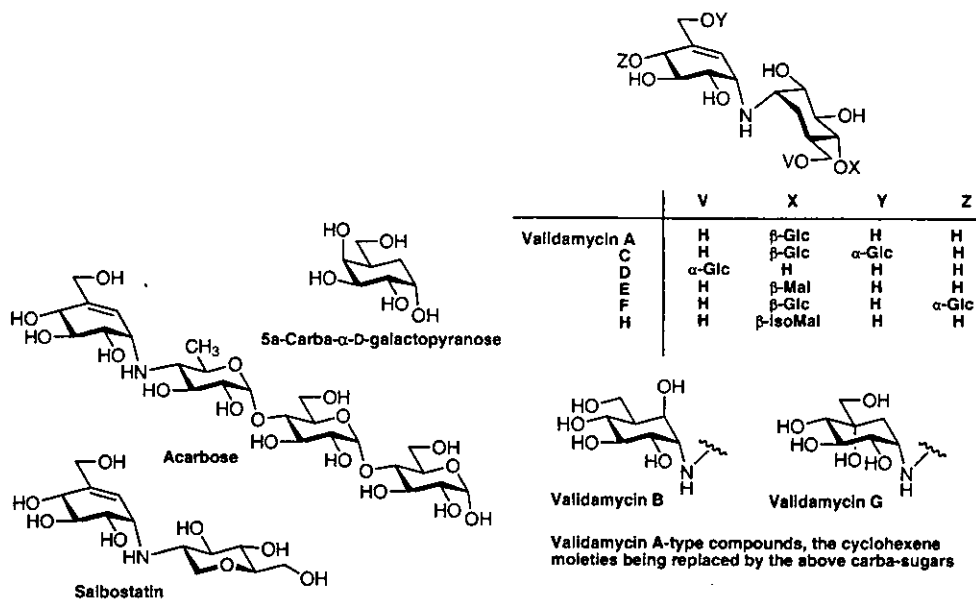


Fig. 2. Biologically active natural products composed of carba-sugars.

certain streptomycetes. Recently isolation of α -glucosidase inhibitor salbostatin (6) was reported. Initially, following McCasland's proposal, carba-sugars were classified as "pseudo-sugars" and, for a long time, named as complex derivatives of branched-chain cyclohexanepolyols. However, recent consideration for applying the nomenclature of carbohydrates (7) to carba-sugars has made it possible to discuss their chemistry and biochemistry as sugar analogues by comparing them with corresponding true sugars in various situations (Fig. 3).

The cell surface is covered with numerous types of oligosaccharide-chains, which are anchored covalently to lipids and proteins, having a vital part of biological activity and cellular functions. Various kind of glycosidases and glycosyltransferases play important roles involved in processing such cell-surface oligosaccharides (8).

In particular very strong and specific glycoprocessing inhibitors would be indispensably instrumental in the functional analysis of oligosaccharides and in the development of clinically useful medicines to treat diabetes and other metabolic disorders. In recent years design and chemical modification of potent inhibitors has been carried out extensively so far taking the lead of the natural glycosidase-inhibitor deoxynojirimycin

(6)がある。当初、カルバ糖は、McCaslandの提唱にしたがい、Pseudo sugars (擬似糖質)と呼ばれていたが、上記のように数種の糖質アナログを含め擬似糖質の一員として分類された。永年、シクロヘキサン誘導体として命名されてきたカルバ糖質は、糖質命名法(7)の適用によって様々な面で真糖と対比させて検討・議論できることになり、糖質アナログとして明確に認知された(図3)。

細胞表面は、細胞の多岐にわたる生命活動を担うオリゴ糖鎖によって埋めつくされているといえる。これらの生合成・発現には多様な糖転移酵素や糖加水分解酵素がかかわっている。近年、糖鎖工学の進展にともない、オリゴ糖鎖の生合成・消化をつかさどる酵素に対し直接作用し発現を制御する、強力かつ特異的な阻害剤の開発が必須となってきた(8)。中でも、生理活性アザ糖質、デオキシノジリマイシン(DNJ)関連化合物などをリード化合物とする酵素阻害剤の開発・探索研究が活発に行

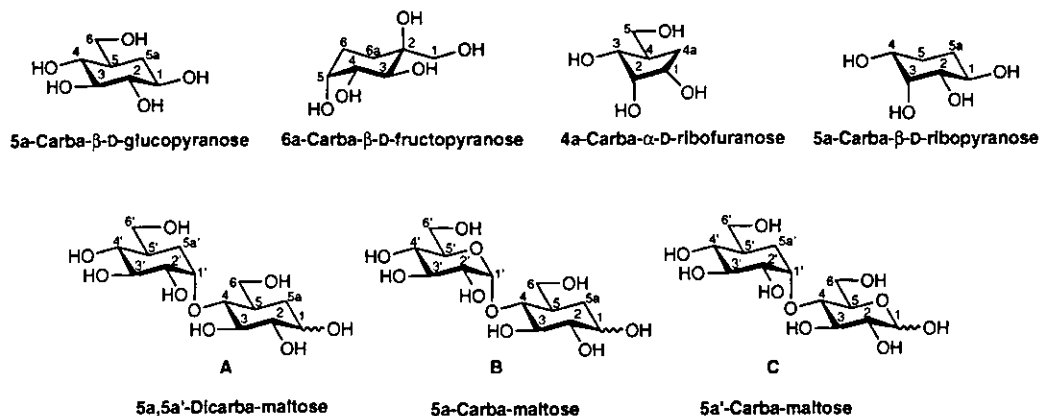


Fig. 3. Nomenclature of carba-sugars (recommended 1996).

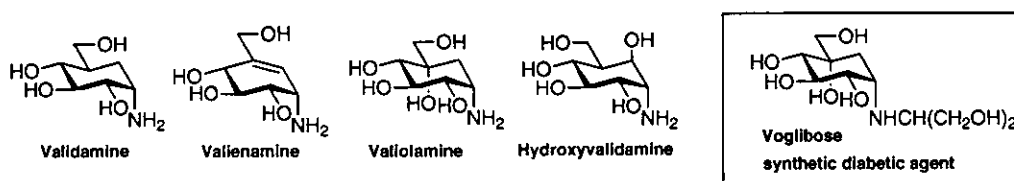


Fig. 4. Some 5a-carba-glucosylamines and their derivatives: components of bioactive natural compounds.

(DNJ) (9).

5a-Carba- α -D-glucopyranosylamine, validamine, its (5,5a)-unsaturated derivative, valienamine, and 5-hydroxy derivative, valioline, isolated as the carba-glycosylamine moieties of validamycins, are themselves competitive inhibitors of α -glucosidases (10). Extensive chemical modification of these bioactive amines led to the development of effective voglibose (11) to control diabetes (Fig. 4). Recently, some carba-sugars have been demonstrated to possess very interesting activity and functions in biological systems. Herein described are recent development in carba-sugar chemistry, focusing mainly on our own work concerning the design and synthesis of carba-sugar derivatives of biological interest (12).

B. The Early Years of Synthetic Studies on Cyclitols, Which Have Mediated between Inositols and Inosadiazines, and Carba-Glycoses and Glycosylamines

In 1963 the author first started his research work on the subject entitled "Synthetic studies of biologically interesting aminocyclitols from *myo*-inositol" under the direction of his supervisor Prof. Suami (Fig. 5). At that time Nakajima and co-workers had almost finished establishing elegant systematic syntheses of inosamines and inosadiazines, starting from benzeneglycols, and started successfully applying their original ideas on total synthesis of aminoglycoside antibiotics (13, 14).

Conventional preparative methods were carefully applied

われている (9)。

生理活性天然物の構成成分である、5a-カルバ- α -D-グルコピラノシルアミン、バリダミン、その不飽和体、バリエナミン、あるいはバリオールアミンなどは、それぞれ糖加水分解酵素(グルコシダーゼ)に対する強力な競争阻害剤である(10)。これらをリード化合物として糖尿病薬ボグリボースが開発された(11)(図4)。本稿では、糖加水分解酵素や転移酵素に対し興味深い生化学的挙動を示し、糖質生理活性物質開発のリード化合物として注目される5a-カルバ糖ならびにカルバオリゴ糖質のデザインと合成研究について、私たちのこれまでの研究を中心に紹介する(12)。

B. 環状糖アルコール類の合成研究：イノシトール、アミノシクリトールからカルバ糖質へ

はじめに、カルバ糖合成研究への橋渡しとなった、生理活性シクリトール類の合成研究の歩みについて触れてみたい。「アミノ配糖体抗生物質ストレプトマイシンやカナマイシン(13)などの構成成分であるアミノシクリトール類を *myo*-イノシトールを出発原料として化学合成する」(図5)、筆者に与えられた最初の研究テーマである。ここに始まる環状糖アルコール関連物質の合成研究が、以後40年にもわたる終生の研究課題になろうとは思ってもしなかった。当時、中島、栗原、長谷川ら(14)が活発に進めていた、ベンゼングリコールから出発する、環状糖アルコール類の系統的な合成研究がすでに成熟期を迎え、それにつづくアミノ配糖体抗生物質本体の全合成においても顕著な成果を挙げつつある時期であった。

合成原料のシクリトール類に対し、水酸基の選択的保護化、脱離基の導入、求核置換などの既知反応を丹念に組み合わせな

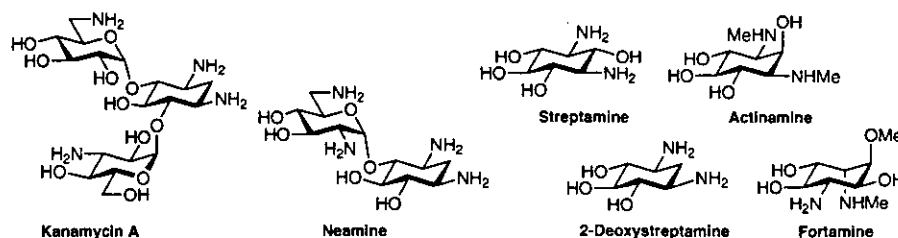


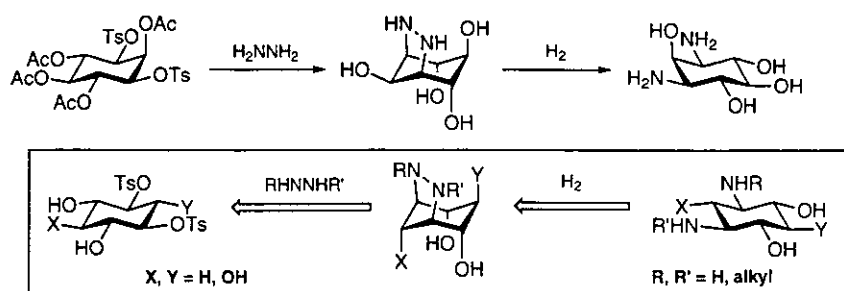
Fig. 5. Antibiotic kanamycin A, neamine and some aminocyclitols of biological interest.

to a synthesis of *myo*-inositol and, finally, naturally occurring aminocyclitols: streptomine, 2-deoxystreptomine, epistreptomine etc. were shown to be obtainable from it. Although at that time it was hard to estimate these results properly, we established a selective synthesis of *cis*-1,3-diaminocyclohexanepolyols through the bis-1,3-hydrazino compounds derived by treatment of the appropriate cyclitol disulfonates with hydrazines (15) (Scheme 1). Epistreptomine and 2,5-dideoxystreptomine prepared by these methods were later utilized in a *muta*-synthesis of hybrimycins by use of mutant strains of producing neomycins species introduced by Rinehart and his-coworkers (16). Interestingly, consideration regarding aminoglycoside–RNA interaction has recently stimulated us to develop mimetics of aminoglycoside antibiotics that are less toxic, more stable, and active to resistant bacterial strains, leading to chemical modification of neamine (17).

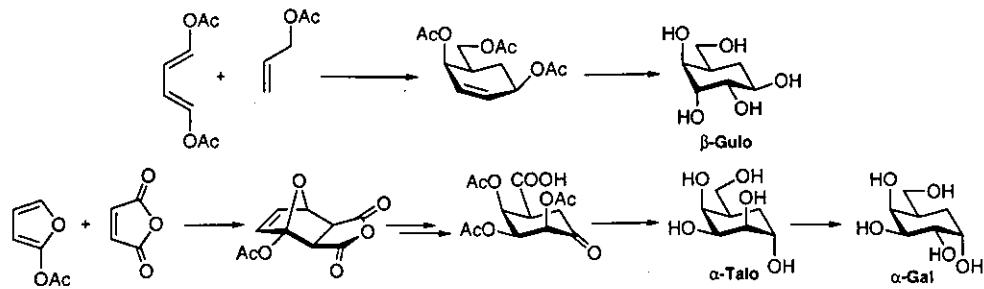
Having come to the goal of a study of aminocyclitols relating to antibiotics, the author was thinking about what he should aim at in the next expansion of cyclitol chemistry, with the cooperation of flesh student collaborators. In fact we had been interested in McCasland's pseudo-sugars (Scheme 2) for a long time, expecting a promising possibility, and the discovery of validamycins finally gave us an opportunity to undertake a study of its synthesis. First, starting from the appropriate *myo*-inositol derivatives at hand, 5a-carba-sugar with β -galacto-configuration and the 5-epimer were synthesized (18) (Scheme 3). In the course of the synthesis, incorporation of a hydroxymethyl function onto a cyclitol ring was found to be a rather difficult

から、目的の誘導体あるいは立体異性体へと導いて行く、いわゆる常套的な合成研究について、批判的な評価・見方をせざるを得ない状況がかなりつづいた。一連の研究の最終段階では、それまでに蓄積されたシクリトール類の立体化学と反応性に関する知識が、シクロヘキサジエポキシドを経るヒドラジン類との反応に活かすことができ、シス-1,3-ジアミノシクリトール類の立体選択的合成法を確立することができた(15)(Scheme 1)。これは、後年、Rinehartらの、抗生物質ネオマイシン産生菌の変異株を用いたハイブリマイシン製造(16)に供するアミノシクリトール類の合成法として応用された。最近、ネオマイシン関連物質の示す RNA インターカレータとしての性質が注目され(17)、ネアミンの化学修飾研究が再燃したことは感慨深い。

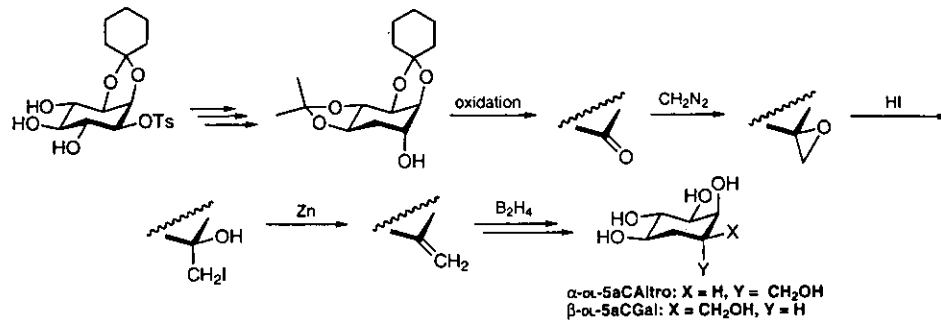
さて、この頃であろうか、大学研究室の研究環境というのは、そう思い通りに改善できないのだから、若い学生さん達の新鮮な熱意が、教育・研究の場で最大限に発揮できるような、地味でも良い息の長い研究テーマを模索すべきだというのが光が差しはじめた。バリダマイシン発見の報は、当時、McCaslandらの擬似糖合成(Scheme 2)に興味を抱きながらも、今ひとつ踏み出せずにいたところへ差し込んだ一条の光であった。先ず手近にあった *myo*-イノシトールのデオキシ保護体を酸化、ジアゾメタンで処理してスピロエポキシドへ導き、さらに数行程を経てエキソアルケンとし、最後にヒドロホウ素化して β -カルバガラクトース型カルバ糖を初めて合成することができた(18)(Scheme 3)。シクリトールから出発する方法は、Diels-Alder 環化付加体から出発するものに比べ、合成ルートによっては、より多くの立体異性体を手でできると思われた。しかし、



Scheme 1. Selective synthesis of *cis*-1,3-diaminocyclitols through bis-hydrazine compounds.



Scheme 2. First synthesis of carba-sugars (McCasland).



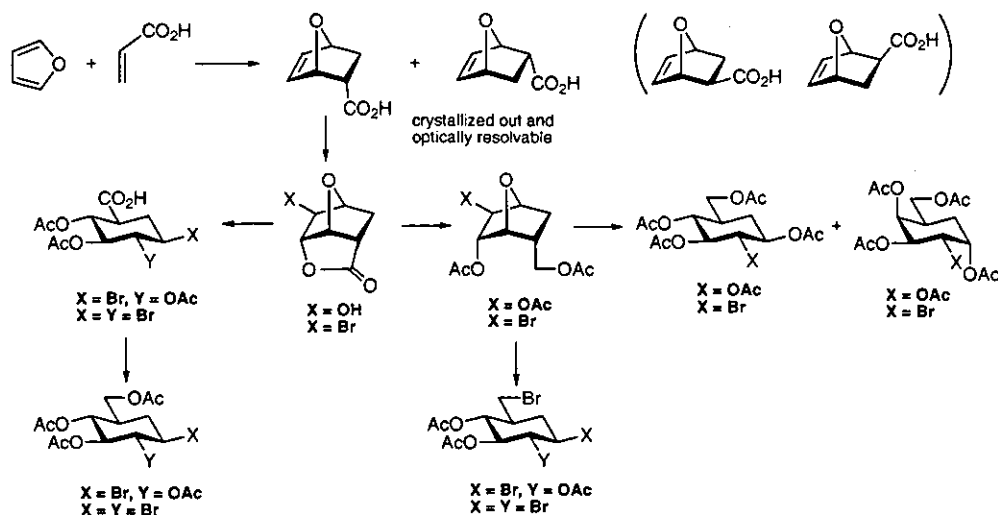
Scheme 3. First synthesis of carba-sugars from *myo*-inositol.

process to provide sufficient quantities of carba-sugars for future demands. At that time, Kienzle (19) reported that Diels-Alder addition of furan and acrylonitrile proceeded very smoothly under mild conditions. Taking advantage of these results, attempts were immediately made to carry out a coupling of furan and acrylic acid under similar conditions. The major adduct, *endo*-7-oxabicyclo[2.2.1]hept-5-ene-carboxylic acid, was firmly believed to be an important key intermediate in carba-sugar synthesis. It was really exciting to observe a formation of the *endo*-adduct precipitating out as beautiful plates from the reaction mixture (20). The adduct was converted into the hydroxylactone which was successively reduced with LAH to give exactly the 1,4-anhydro-5a-carba- α -glucopyranose triacetate, the conventional acetolysis of which readily afforded carba-hexopyranoses with α -galacto- and β -gluco configuration. Thus, validamine was first synthesized from the latter (20). In order to develop its potential as a reliable key compound, conventional derivatization of its hydroxy and bromo-lactones has been conducted extensively to provide several versatile intermediates (21) (Scheme 4).

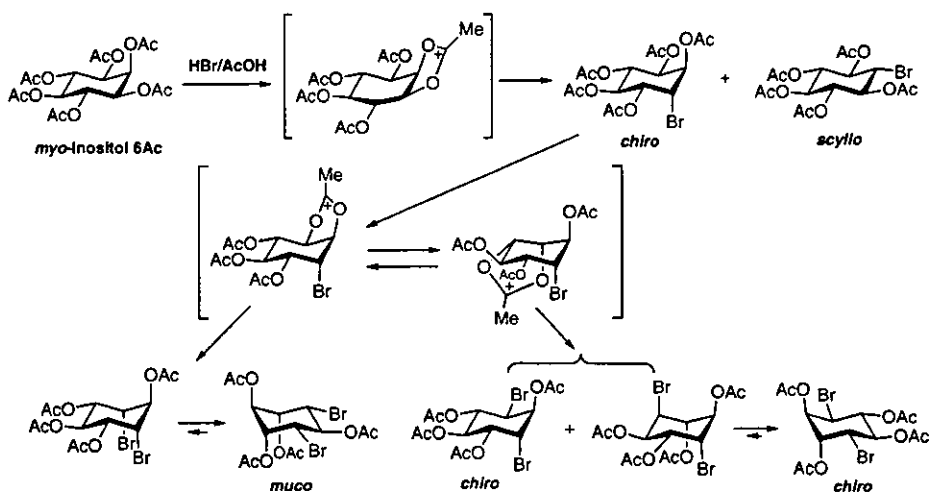
Furthermore, practical knowledge gained early in his projects on inositols seemed to be instrumental in furnishing inaccessible key intermediates using the drastic reaction conditions one could not have thought of. For example, direct bromination of *myo*-inositol hexaacetate with acetyl bromide in acetic anhydride or hydrogen bromide in acetic acid in a sealed tube at 80–120 °C produced mainly two monobromides and two

シクリトール環へのヒドロキシメチル分枝鎖の導入は、水酸基の保護化、炭素-炭素結合の形成、ヒドロキシホウ素化における立体選択性の制御などに多くの問題点を残し、将来、カルバ糖が生物活性物質として応用研究される際要求される(量的な)供給に支えられないことは明白だった。そうしたとき、新着雑誌にフランとアクリロニトリルとの Diels-Alder 反応による 7-oxabicyclo[2.2.1]heptane 化合物の合成 (19) が報告された。反応条件は私たちの研究環境に相応しく、両試薬を当モル混合し少量の重合禁止剤を添加後、室温に長時間放置して反応させるものであった。これをカルバ糖合成の原料と目される、フランとアクリル酸とのアダクト形成に適用したところ、反応は進行し、主生成物のエンド型アダクトが反応液から直接、純粋な結晶として析出してくることが見出された (20)。こうした幸運な出会いに導かれた出発原料を、慈しみ育むことに意を注ぎながら、その後 20 数年にわたってカルバ糖合成研究を展開することになった。アダクトから容易に誘導された合成中間体の中で、カルバ糖合成に広く利用できるものの調製法をまとめてみた (21) (Scheme 4)。

ここにおいて、一時期取り組んだイノシトール類の合成化学手法が有効に活かされた。シクリトールアセタート類を強酸性で加熱すると、アセトキシニウムイオン中間体を経るエピ化が起こり、数種の立体異性体からなる平衡組成をつくる。ちなみに、*myo*-イノシトールに臭化水素・酢酸を直接作用させると、中間的に生成するアセトキシニウムイオンは臭素イオンの求核置換を受け、2種のモノブロミドと主に3種のジブロミド



Scheme 4. Synthesis of carba-sugars and several synthetic intermediates from Diels-Alder *endo*-adducts of furan and acrylic acid.



Scheme 5. Acid catalyzed epimerization of inositol derivatives: bromination of *myo*-inositol hexa-acetate (AcBr/Ac₂O or HBr/Ac₂O, AcOH).

dibromides (22) (Scheme 5). Considering the presumed reaction mechanism, the monobromide with *scyllo*-configuration was shown to remain unchanged under prolonged reaction time and/or more drastic conditions, suffering neither further bromination nor epimerization. On the other hand, the bromide with *chiro*-configuration was further brominated through a formation of intermediate acetoxonium ion, which was attacked by a bromide ion to give rise to two dibromides. All *trans*-configuration of cyclitol peracetates are actually stable under such bromination-conditions, suggesting that the formation of acetoxonium ion should be initiated by the front-side interaction of the vicinal *cis*-diacetates structures. On a similar bromination, the 1,4-

が生成する (22) (Scheme 5)。 *chiro* 型モノプロミドは、さらにアセトキシニウムイオンを形成できるので、さらに臭素イオンと反応してジプロミドに変わる。一方、全トランス配置の *scyllo* 型モノプロミドはアセトキシニウムイオンをつくれないので、過激な反応条件においても臭素置換を受けず安定に存在できることが生成物の組成から推察される。

同様の反応条件でカルバ糖 1,4-アンヒドリド誘導体を処理すると、臭素イオンによる第一アルコールの置換につづいて、空いている C-1 位で選択的開環が起こり、モノプロミドが得られる。これは全トランス配置をとるので、さらなるプロモ置換は起こらない。すなわち、煩雑な水酸基の保護化・脱保護化を経

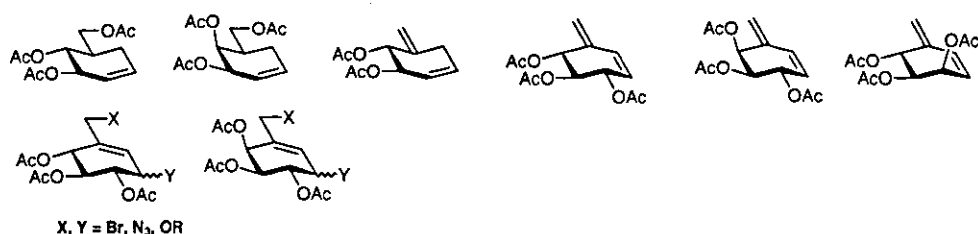


Fig. 6. Elaboration of synthetic intermediates for carba-sugar synthesis.

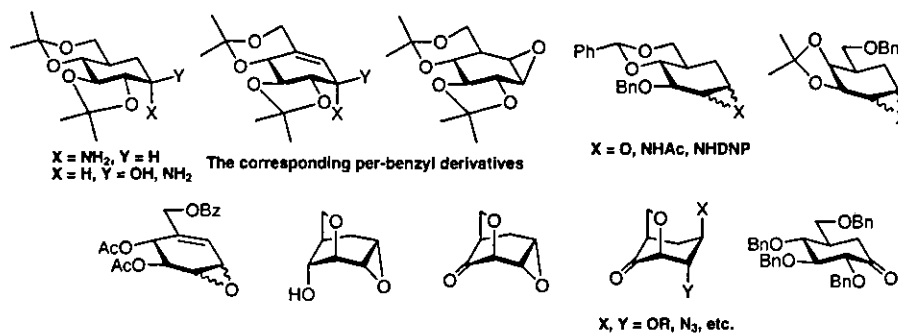


Fig. 7. Further elaboration of building blocks for carba-oligosaccharide synthesis: carba-glycosyl acceptors and donors.

anhydro-5a-carba- α -glucose triacetate was substituted at the primary hydroxyl group with a bromide ion, followed by regioselective cleavage of the anhydro ring, producing a single dibromide selectively. In a similar fashion, the related 1,4-anhydro compounds were thus shown to produce versatile synthetic intermediates of new carba-sugar derivatives. In order to have a rich repertory of the intermediates, some bromo derivatives of carba-sugars could be transformed into useful alkadienes (23) (Fig. 6) and anhydro derivatives (Fig. 7), from which naturally occurring carba-glycosylamines, such as validamine (20), valienamine (24), hydroxyvalidamine (23), and valioline (26) were synthesized. Moreover, the continuation of basic studies on carba-sugars could finally come upon a total synthesis of acarbose (27) and validamycins (28).

Having almost accomplished a synthesis of prime targets natural products, the author rather run up against a brick wall in further continuing work on carba-sugars. At that time, there were actually few researchers who fully realized the usefulness of carbohydrate mimics or mimetics in the future development of glycobiology. Close resemblance between true and carba-sugars regarding structures, and chemical and biochemical features would allow us to choose and use two methods of carrying out our research work: design and synthesis of both substrate analogues, taking advantage of their similarity, and glycosidase and glycosyltransferase inhibitors on the basis of their characteristics that they are apparently very alike, but in reality they are radically different. Mutual assistance among these

ず、水酸基相互の立体化学に基づく反応性を利用し、汎用性ある β -グルコ配置のモノプロモ体、ジプロモ体、およびトリプロモ体入手することができた。さらにアダクトの有用性を拡げるため、鍵化合物の数、種類などのレパートリーを増やし、合成能力アップを図ることにした。数種のカルバ糖プロミドから誘導できる3種の共役ジエン体(図6)および3種のカルバ糖ジアンヒドリドは飽和型あるいは不飽和型カルバ糖アミンへの前駆物質であり、またカルバオリゴ糖合成における種々のカルバ糖供与体や授与体への重要な合成中間体である(23)(図7)。水酸基の保護化にはアシル基やアセタール基を用い、大量系で操作できる穏やかな反応条件をできるだけ採用した。とくに、不飽和型カルバ糖類の重要性は、接触還元法に頼る保護・脱保護化を避ける合成経路を選択させた。これらの中間体を活用して、バリダミン(20)、バリエナミン(24)、ヒドロキシバリダミン(25)、バリオールアミン(26)など天然産カルバ糖アミンの初めての全合成に成功した。私たちは、カルバ糖合成化学の底辺を拡げる過程で、アカルボース(27)やバリダマイシン類(28)など天然物の全合成にも辿り着くことができた。

関連天然物の全合成研究がゴールへ近づく中、糖に似て非なるこのカルバ糖質の将来性や研究自体の目的・目標について新たな問いを發する必要に迫られた。Sugar-mimicsあるいは-mimetics(29)と呼ばれる糖質類似体(擬糖質)の研究意義やその重要性について、当時はまだ糖質研究者の間で確たる共通認識が得られていなかった。化学・生化学的性質が酷似しているのに、糖の代替物質すなわち基質アナログとして用いる途、似て非なるところを上手く活かして生物活性を發現させる途などが浮かんだ。

studies has thus provided very successful fruit so far, contributing to the progress of carba-sugar chemistry.

C. Synthesis of Carba-Oligosaccharides

Pseudo-oligosaccharides composed of one or more carba-glucose residues are designated carba-oligosaccharides. Therefore, for instance, three types of carba-maltose are to be considered (Fig. 3): type **A** is composed of two 5a-carba-glucopyranoses bonded by ether-linkage, and types **B** and **C** consist of one true and one 5a-carba-glucopyranose residue, the first two (**A** and **B**) being ethers and the last (**C**) a glycoside. It may be possible to prepare some carba-maltose by replacing ether and glycoside bonds with an imino and N-glycosyl, a thio and S-glycosyl, or a methylene and C-glycosyl bond, respectively. Carba-sugar residues incorporated into oligosaccharide chains are chemically very stable and not cleaved under the influence of any glycosidases in biological systems, which gives them an advantage over other pseudo-sugars. Actually it may probably be difficult to prepare such stable pseudo-oligosaccharides composed of aza-sugar residues bonded by way of N- or O-linkages.

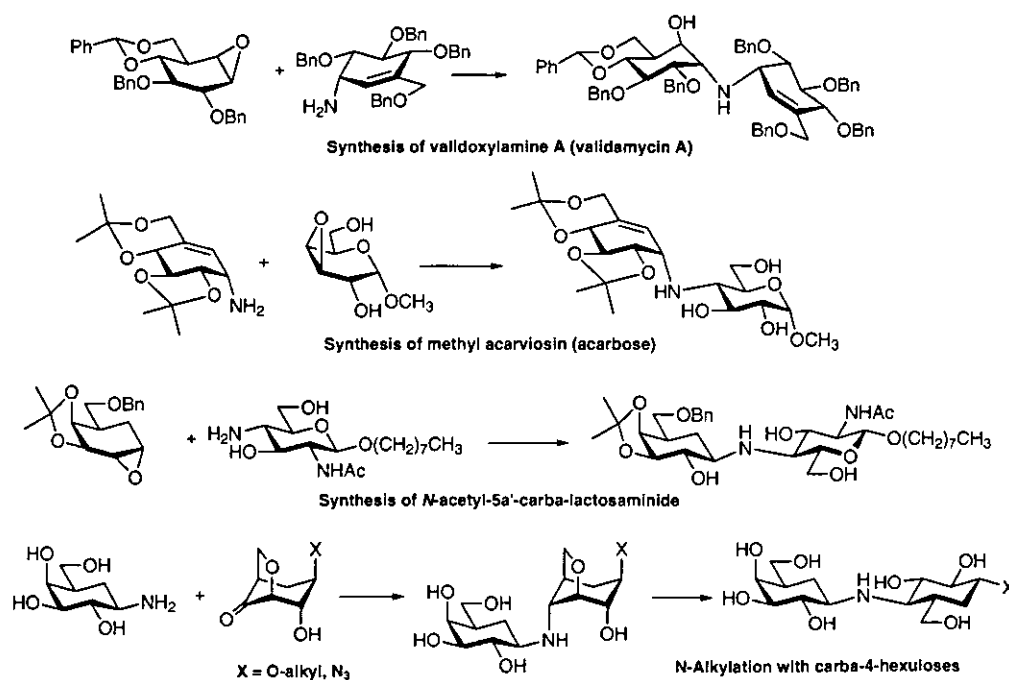
First attempts to synthesize carba-oligosaccharides were carried out as a part of synthetic studies on natural products (Scheme 6). Methyl acarviosin, a core structural unit isolated by methanolysis of acarbose, was synthesized by coupling of protected valienamine and methyl 3,4-anhydro-6-deoxy- α -D-galactopyranoside. Validoxylamine A is an imino-linked trehalose-type disaccharide composed of validamine and valienamine,

研究を進める過程で、両者は常に相互扶助の関係を保ち、カルバ糖化学の発展につながったと言えよう。

C. カルバオリゴ糖の合成

カルバ糖残基を1個以上含む擬似オリゴ糖をカルバオリゴ糖と呼ぶ。二糖類を例にとると、2個のカルバ糖からなるもの(A)、カルバ糖と真糖からなるものでは、非還元末端にカルバ糖残基のある(B)と還元末端にある(C)との3種類が考えられる(図3)。(A)と(B)では、カルバ糖と真糖とを、エーテル(O結合型)、イミノ(N結合型)、チオエーテル、あるいはメチレン基などで結合させることができる。これらをグリコシダーゼは加水分解できない。一方、(C)は配糖体であるから、結合形式はO-グリコシド結合に加え、N-、S-、あるいはC-グリコシド結合などが可能である。例えば、アザ糖残基を直接糖鎖へ導入する場合は安定性に難があるので、C-グリコシドあるいはメチレン鎖を介して行われることが多い。カルバ糖質の特徴はグリコシダーゼに安定な結合を使って糖鎖へ組み込める点にある。

カルバオリゴ糖合成の試みは、最初、バリダマイシン類やアカルボース類の全合成研究の途上でなされた。両天然物のコア構造をなすA-タイプのバリドキシルアミン類(トレハロース型非還元性二糖類)およびB-タイプのアカルピオシン類(マルトース型還元性二糖類)が、カルバ糖アミンとカルバ糖エポキシドあるいは真糖エポキシドとの間のカップリング反応によって



Scheme 6. Syntheses of imino-linked carba-oligosaccharides. The typical coupling reaction leading to natural bioactive compounds composed of carba-sugars.

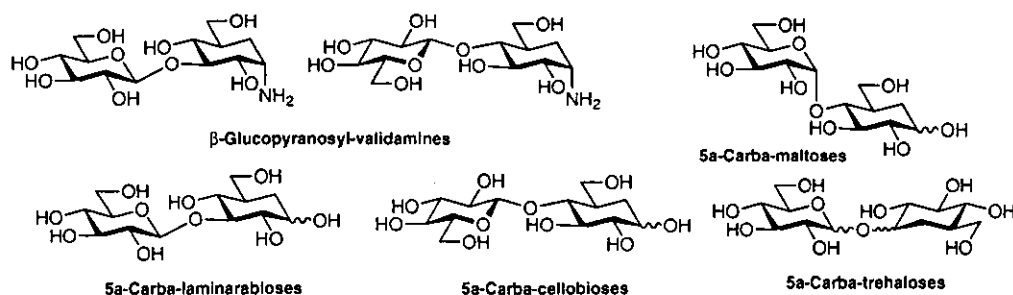


Fig. 8. Several 5a'-carba-disaccharides synthesized.

the synthesis of which involved a rather tedious deoxygenation process through a thiol intermediate derived from the coupling of the protected valienamine and carba-sugar epoxide. The validamine residue was first proposed to be β -glucosylated at C-3 in antibiotic, adopting C-type carba-disaccharide core structure. This compound was easily synthesized by coupling between the protected validamine and acetobromoglucose (30), the results of which led to a revision of a gross structure of the antibiotic, the validamine moiety being β -glucosylated at C-4 (31) (Fig. 8). Biologically active carba-oligosaccharides found in nature are all N-linked carba-sugars, and the O-linked ones have not been isolated so far.

D. Synthesis of 5a-Carba-Oligosaccharides

5a-Carba-disaccharides of biological interest were synthesized by conventional coupling of the acceptors protected 5a-carba-sugars and the donors glycosyl halides. 5a-Carba- α,β -DL-glucopyranoses were appropriately protected and subjected to coupling with D-glucopyranose to give four diastereoisomeric pairs of carba-maltoses, carba-cellobioses, and carba-laminarabioses (32). The above carba-disaccharides and eight diastereoisomeric 5a-carba- α,α -, α,β -, and β,β -trehaloses synthesized (33) were subjected to conformational analysis, comparing with the corresponding true disaccharides (Fig. 8). Together with the data determined for eight 5a-carba-hexopyranoses and six 2-amino-2-deoxy-5a-carba-hexopyranoses (34), preferential conformation of the carba-oligosaccharides are shown to resemble those of true oligosaccharides (35). 5a-Carba-disaccharide may be useful as proof for elucidation of an enzymatic action of glycosidases in hydrolysis of oligosaccharides.

E. Synthesis of N-Linked 5a'-Carba-Oligosaccharides

The preparative strategy of N-linked 5a'-carba-oligosaccharides conducted so far were listed (Fig. 9): Coupling of carba-glycosylamine with 1) unsaturated carba-glycosyl bromide at allylic position; 2) carba-glycuronate through reductive alkylation (amination); 3) carba-sugar epoxide through nucleophilic substitution; and 4) unsaturated carba-sugar epoxide through

達成された (30)。これらはいずれも強力なグリコシダーゼ阻害活性をもっている。また、バリダマイシン類の部分構造をなす C-タイプのカルバ二糖類、 β -グルコピラノシルバリダミンの合成研究を進める過程で、バリダマイシン A の構造修正を行うことができた (31) (図 8)。自然界から見出された生理活性物質はいずれも N-結合型カルバ糖残基をもつもので、真のオリゴ糖により良く似た O-結合型はいまだ見出されていない。

D. 5a-カルバオリゴ糖の合成

C-タイプのカルバ二糖類の合成は保護化したカルバ糖受容体に D-グルコース供与体を作用させる通常のグリコシル化でなされた (図 8)。ラセミ型カルバ糖を用いたので、カップリング体はジアステレオマー混合物となった。これらは脱保護化の過程で分離でき、5a-カルバマルトース、セロビオース、およびラムナラビオースは、それぞれ天然型 D-D 体と非天然型 D-L 体の 2 種のジアステレオマー対として得られた (32)。また、カルバ-DL-グルコースのアノマー位に D-グルコースをカップリングさせて、5a-カルバトレハロースの全立体異性体 8 種を合成することができた (33)。上記カルバ二糖類の立体配座解析がなされ (34)、数種のカルバ単糖の解析データ (35) とも合わせ、それらの立体構造は真の糖と酷似することが確かめられた。5a-カルバオリゴ糖類は、オリゴ糖の生化学的挙動、例えば糖加水分解酵素や糖転移酵素の作用機作を研究する際、対照化合物として使用することができる。

E. 5a'-カルバオリゴ糖類の合成：N-結合型カルバオリゴ糖の合成

おもに B-タイプの N-結合型カルバオリゴ糖の合成について述べる。自然界から、強力な酵素阻害物質が見出されており、関連化合物の合成が活発に行われてきたが、ここでは、細胞表面オリゴ糖鎖に関する糖鎖工学研究の一翼を担うべく、カルバ糖化学の今後の発展に資する、特徴ある化学的および生化学的

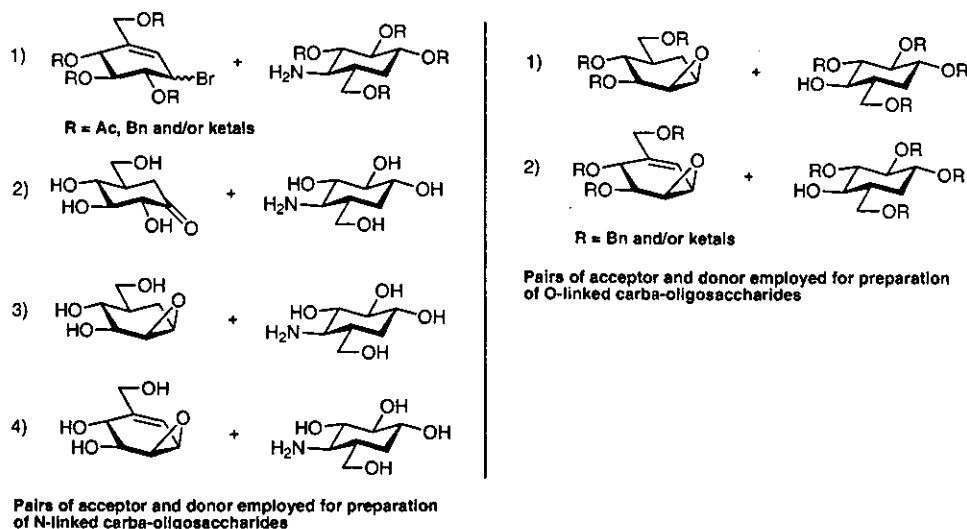


Fig. 9. Methods of preparing imino- and ether-linked 5a,5a'-dicarba-oligosaccharides.

regioselective cleavage at allylic position. The four methods have more or less advantages and disadvantages. Method 4 has been found to be effective, but there is a limit to the acceptors applicable. In Method 3 the reaction proceeds very slowly, but products-ratio and regioselectivity may be hopefully expected on the basis of stereochemistry of cyclohexane compounds. All protecting groups of the donors and acceptors should be removed before subjecting them to coupling reaction. In order to carry out a coupling reaction smoothly between similar molar equivalents of bulky acceptors and donors, removal of unnecessary protecting groups would be desirable. Under the standard coupling conditions, a migration of epoxy function of the acceptors was not observed even in the presence of vicinal trans hydroxyl function. Nucleophilicity of amino function seems not to be influenced so much by the vicinal hydroxyl as well as ketal groups. In general, the epoxide is expected to be cleaved through diaxial-opening fashion to produce the major couplings. These stereochemical features of couplings would be a basic concept for planning a new combination of reactants.

Methyl 3,4-anhydro-D-galactopyranoside was often used as a sugar acceptor toward donor carba-glycosylamine, giving 5a'-carba-maltose and cellobiose derivatives using the respective donors (37). The 6-hydroxyl group seemed to allow the 3,4-anhydro ring, *via* stereo and electronic effects, to be cleaved at C-4 in diequatorial-opening fashion in acceptable yield. Recently, 1,2:3,6-dianhydro-5a-carba-glucopyranose has drawn attention as a potent carba-glucosyl acceptor (38). The carba-4-glucuronate derivative obtained has been shown to couple with some carba-glycosylamines under reductive amination conditions, affording, after acetolysis, 5a,5a'-dicarbadisaccharides selectively.

性質の開発に主眼を置いた。

今まで行ってきたイミノ結合型カルバオリゴ糖の一般的な合成法を列挙してみる(図9): (1)カルバ糖アミンとカルバ糖アリルプロミドとのカップリング(調製がむずかしい、立体選択性に乏しい); (2)同アミンとケトカルバ糖との還元アルキル化(反応条件の設定、立体選択性の予測がむずかしい); (3)同アミンとカルバ糖エポキシドとのカップリング(反応は遅いが、位置選択性は受容体の構造から予想できる); (4)同アミンとカルバ不飽和糖エポキシドとのカップリング(反応性、位置選択性両者ともに(3)より優れているが、調製がむずかしい)

嵩高い分子同士の反応なので、両者をできるだけコンパクトにするため、役割の済んだ保護基は反応前に除去することを心がけた。上記の反応条件下(3,4)、エポキシ基の転移が起こらないことを確かめ、エポキシド(受容体)が持っているトランス位の水酸基は無保護のままカップリングさせることにした。このような状況で、(3)の方法が最も信頼できる合成法として多くの場面で採用された(Scheme 6)。アミノ基の隣接位に遊離の水酸基が存在しても、とくにアミノ基の求核性を妨げるようには見えない。イソプロピリデン基が隣接する場合、裸の酸素原子は活性化にまわるようであるが、分子の高さが増すので一般的に反応性は低下する。真糖のエポキシド受容体として3,4-アンヒドロ-D-ガラクトピラノシドがよく用いられる(36)。C-6水酸基は、3,4-アンヒドロ環のC-4位における開裂を促すようで、ジエカトリアル開裂体が50%以上の生成比で得られる。ガラクト型あるいはグルコ型カルバ糖アミンを供与体を選べば、5a'-カルバラクトースおよび5a'-マルトースが調製できる(37)。最近、カルバ糖受容体として1,2:3,6-ジアンヒドロカルバグルコースが注目されている。C-4水酸基を酸化してケトンとし、これを種々の遊離カルバ糖アミンに対し還元アルキル化条件で作用させると、立体選択的にA-タイプの5a,5a'-ジカルバ糖誘導体が得られる(38)。

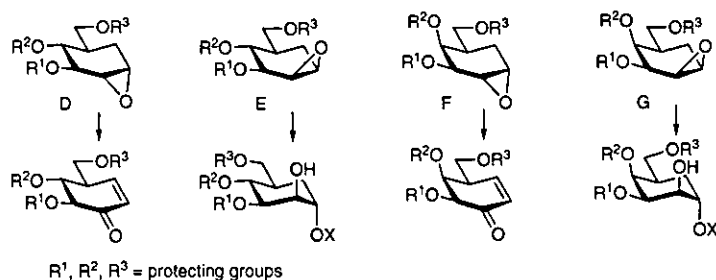


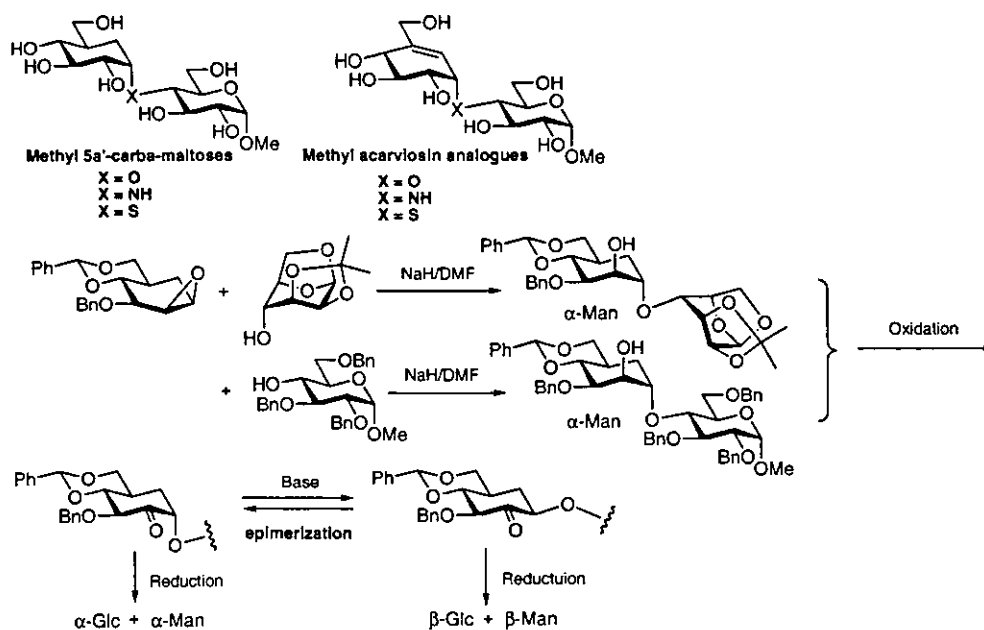
Fig. 10. Major products resulting from reaction of carba-sugar epoxides D, E, F, and G with oxide anion (XO⁻) in DMF.

F. Synthesis of O-Linked 5a'-Carba-Oligosaccharides

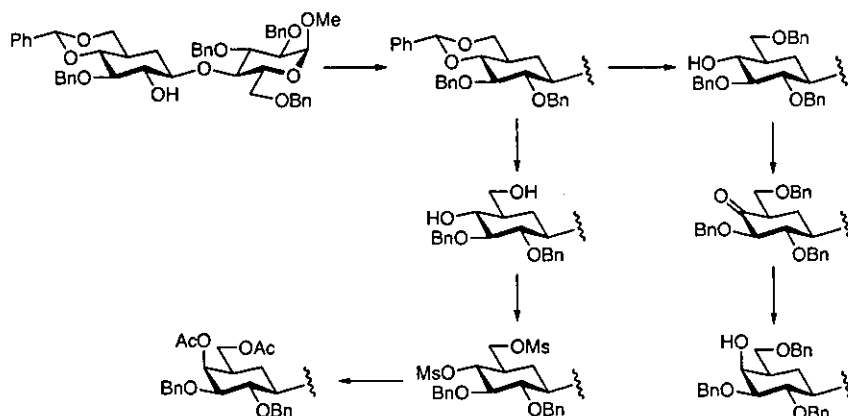
Hakomori's methylation has widely been utilized for preparation of higher ethers. In our case, donors are one hydroxyl group unprotected carba-sugar derivatives which are activated as oxide anions by treatment with sodium hydride in DMF, and acceptors are reactive carba or true-sugar epoxides which are readily cleaved through a nucleophilic substitution (Fig. 9). Successful construction of an ether-linkage between two such bulky molecules as hexopyranose derivatives should be done at the final stage of synthesis. All hydroxyl functions except for the precursor of oxide anion should be protected with benzyl and/or ketal groups. The presence of protecting groups would hinder a coupling reaction and prolong the reaction time. Supposing four types of 1,2-anhydro-5a-carba-hexopyranose derivatives: α -gluco D, β -manno E, α -galacto F, and β -talo G, the representatives were chosen to test their reactivity toward oxide anion (Fig. 10). These epoxides are more or less potent accep-

F. 5a'-カルバオリゴ糖類の合成：O-結合型カルバオリゴ糖の合成

エーテル結合の形成は有機合成反応の中では反応条件が限られたものの一つであるが、箱森法のO-メチル化に準じたエーテル化は広く普及し一般法となっている。しかしカルバ二糖類形成のような、嵩高い2個のヘキソース様分子をエーテル結合で結ぶ反応例はまれである。供与体と受容体の各々を、あらかじめ構築した立体構造のまま結合体へ移そうとすると、両者の組み合わせや反応条件はおのずと限られてくる。供与体のアルコールは、水素化ナトリウムで活性化してオキシニウムイオンとし、一方、受容体は開環しやすいエポキシドとした。この条件(1,2)(図9)では、反応に与らない水酸基を完全に保護化する必要があり、ベンジル基とアセタール基を用いた。保護基は反応分子の高さを増し、エポキシ基の反応性を低下させる。カップリング反応の進行に伴い、同時に起こるエポキシドの分



Scheme 7. Synthesis of ether-linked carba-disaccharides with 5a-carba- α,β -gluco and α,β -manno configuration.



Scheme 8. Transformation of 5a-carba-glucopyranose residues into galactopyranose ones: synthesis of ether-linked 5a'-carba-lactoside derivatives

tors for a formation of N-linked carba-oligosaccharides. However, under the influence of an oxide anion in standard conditions, all α -epoxides **D** and **F** underwent elimination reaction at C-5a, giving rise to α,β -unsaturated ketone (**39**), and no substitution products are formed. The β -epoxides **E** and **G** are cleaved by an anion readily *via* diaxial-opening fashion preferentially, forming 5a-carba-hexopyranose residues with α -*manno* and *talo* configuration, respectively. Even in this case reaction proceeds very slowly, and both substitution and decomposition of the epoxide occur competitively. Therefore, coupling is usually carried out in the presence of acceptor epoxides (1.5–2 molar excess) in a sealed tube at 80–120 °C.

Next attempts have been made to change a configuration of readily accessible 5a-carba- α -mannose residues (Scheme 7). Thus, the 2'-OH group was oxidized with PCC or AcO_2 in DMSO to give the α -ketone, reduction of which with L-selectride gave an epimeric alcohol (carba- α -glucose residue). Under the influence of potassium t-butoxide or DBU in toluene the α -ketone was epimerized to afford the β -ketone in good yield, which was reduced with NaBH_4 to give carba-hexopyranose residues with β -*gluco* and β -*manno* configurations. Although the β -ketone is always a major component in the equilibrium, optimum conditions for β -selectivity should be determined by selecting appropriate base. Thus, incorporation of O-linked 5a-carba- α,β -glucose and α,β -mannose residues into oligosaccharide chains have thus been established.

Attempts at direct incorporation of 5a-carba- β -galactopyranose residues have so far failed. At present, its construction has been conducted through an effective epimerization of readily available carba- β -glucopyranose structure (**41**) (Scheme 8). The unprotected 4-OH group can be converted into the 4-epimeric alcohol by consecutive oxidation and reduction or by direct nucleophilic substitution of the 4-sulfonate with an acylate ion.

解・消失とのバランスを考慮して、反応温度は 100~120 °C 近辺に設定し、DMF 中クラウンエーテル存在下、封管中でオキソニウムイオンに過剰のエポキシド (2~3 倍当量) を長時間作用させることにしている (**39**)。

今までカップリングに使用したカルバ糖エポキシド受容体を挙げる (図 10)。カップリング反応を計画するとき、オキソニウムイオンはシクロヘキセンエポキシド誘導体をジアキシャル開裂するので位置選択性が予測できる。実際には、カルバ- α -マンノース残基の形成につながるカップリングが最も容易に起こる事実が前提となっている。カルバ糖のアノマー位に α -あるいは β -擬グリコシド結合を形成させる際は、受容体に、1,2- β -あるいは α -エポキシドをそれぞれ用いばよい。1,2-エポキシド開裂の位置選択性には C-3, 4, 5 置換基の立体化学が関わってくる。しかし、C-5a がメチレン炭素なので、C-1 位への求核攻撃は、エポキシドの優位立体配座に厳密に左右されることなく、許容できる生成比で起こることが見出されている。反応自体が非常に穏やかなので、反応に与る分子の立体構造、嵩高さは反応の成否を支配する。反応性に乏しいエポキシドは、アミンの攻撃は受けるが、オキソニウムイオンとの反応条件下で隣接 α -プロトンが引き抜かれ、 α,β -不飽和ケトンを生じるものが多い。

そこで、糖鎖へ容易に導入できるカルバ- α -マンノース残基の立体配置を変換することを試みた (**40**) (Scheme 7)。C-2 水酸基を酸化し 2-ケト体とし、これに塩基を作用させ C-1 位のエピ化を促すと、擬 α,β -体の約 1:1 混合物が得られ、それぞれ容易に分離することができた。ケトンの還元条件を選ぶことによって、 α -ケト体から α -マンノあるいは α -グルコ体が、 β -ケト体から β -マンノあるいは β -グルコ体が、それぞれ良好な選択性で得られることが分かった。O-結合型カルバ- β -ガラクトース残基を直接導入できる供与体はまだ見出されていないが、カルバ- β -グルコース残基の C-4 位を酸化・還元、あるいは C-4 水酸基を脱離基に変換しアセタートイオンで求核置換することでエピ化し、ガラクト型へ導くことに成功している (**41**) (Scheme 8)。

G. Application of Carba-Monosaccharides and -Oligosaccharides in Glycobiology and Glycochemistry

Among mono and oligo-saccharides used as sweeteners, D-fructose and D-glucose are very sweet sugars, which has stimulated us to taste the corresponding carba-sugars. It was almost impossible for us human beings to differentiate carba- β -DL-glucopyranose from true D-glucose by taste (42). This observation indicated that replacement of the pyranoid ring-oxygen by methylene group would not detrimental to its sweetness which we can obtain by taste. Moreover, it was worthy of note that ants have the ability to pick out true D-glucose in two unlabeled specimens of true and pseudo-sugars by tasting (?). On the other hand, synthesized 6a-carba- β -fructopyranose (43) was also almost equally sweet as D-fructose, supporting the sweetness-eliciting unit proposed (44).

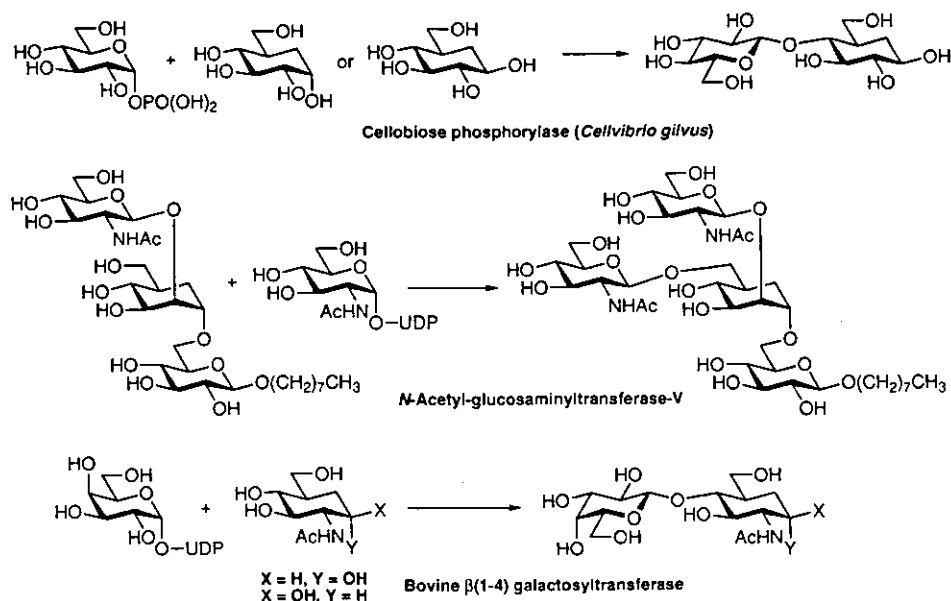
5a-Carba- α - and β -DL-glucopyranoses were used to elucidate the mechanism of D-glucose-stimulated release of insulin by the pancreatic islets (45). The α -anomer inhibited both D-glucose-stimulated release of insulin and islet glucokinase activity, but the β -anomer did not show any activity. These results suggested that the observed inhibition is due to that of islet glucokinase by carba-sugar, providing evidence for the essential role of islet glucokinase in relation to D-glucose-stimulated insulin.

Cellobiose phosphorylase from *Cellvibrlo gilvus* is an enzyme that catalyzes reversible phosphorolysis of cellobiose to form α -D-glucose-1-phosphate, and, in the reverse reaction, the enzyme can utilize some monosaccharides as the glucosyl acceptor instead of D-glucose (46). Studies on its specificity for the acceptor molecule suggested that the enzyme recognized the

G. カルバ糖およびカルバオリゴ糖の糖質生化学研究における応用

5a-カルバグルコピラノースはグルコースと同等の甘味を呈するので、私たちは味覚によってそれぞれを区別できない(42)。これは、ヒトの神経細胞の甘味受容体がピラノース環酸素原子を認識していないことを示唆するものである。さらに、カルバ-フルクトース(43)、-ガラクトース、-マンノースなどが、相当する真のヘキソースとよく似た甘味を呈することがわかり、六炭糖においては、環上に存在する5個の水酸基(親水部位)と疎水領域との相互の配置が甘味の発現を支配するという経験則が支持された(44)。しかし昆虫(アリ)が触覚(味らい細胞?)によって真糖とカルバ糖をきちんと見分ける様子は大変興味深い。ランゲルハンス島からのインシュリン分泌は α -グルコースの濃度によって制御されると考えられたが、カルバ- α および β -グルコースを作用させたところ、 α -体のみが分泌阻害に働くことが観察され、上の推察が間接的に支持された(45)。以上が、真糖とカルバ糖との生化学的挙動を比較検討して、真の糖の立体構造と活性発現の関係が調べられた例である。

糖転移酵素に対し基質アナログとして働く例がいくつか知



Scheme 9. Potent substrate analogues of 5a-carba-hexopyranoses and carba-oligosaccharides.

β -anomeric hydroxyl group of the acceptor D-glucose molecule. In order to determine this anomeric specificity, carba- α - and β -DL-glucopyranosides have been chosen as the acceptor molecules and subjected to the enzymatic reaction, resulting in the production of single 5a-carba- β -cellobiose (Scheme 9). These results suggest that practically only the β -anomer of D-glucose participates in the reverse reaction of the enzyme.

Bovine β 1,4-galactosyltransferase (GalTase) was assayed with five 2-acetamido-2-deoxy-5a-carba-hexoses with α -galacto, α - and β -gluco, and α - and β -manno configurations (47). These compounds did not show any inhibitory activity towards GalTase. On enzymatic synthesis only α - and β -5aCGLcpNAc act as an acceptor, affording the corresponding β -D-Galp-(1-4)- α and β -D-5aCGLcpNAc. The ring oxygen of acceptor has been shown not to be involved in the specific recognition by GalTase.

The branching enzyme N-acetylglucosaminyltransferase-V (GlcNAcT-V) recognizes the trisaccharide β -D-GlcpNAc-(1-2)- α -D-Manp-(1-6)- β -D-Glcp-O(CH₂)₇CH₃ as its minimum substrate. Chemical synthesis and enzymatic evaluation of its carba-trisaccharide analogue where the ring oxygen on the α -D-mannose residue is replaced with methylene group have been carried out (48). The analogue was found to be fully active as an acceptor for GlcNAcT-V (hamster kidney and cloned rat kidney), and a carbatetrasaccharide formed by the addition of GlcpNAc was isolated.

O-Linked alkyl carba-glycoside and 5a'-carba- β -lactoside primers were synthesized (49a) and examined in mouse B16 melanoma cells for its feasibility as building blocks for biocombinatorial synthesis (50) of glycolipid oligosaccharide mimics (Fig. 11). Uptake by B16 cells was observed for all carba-glycoside primers assayed, and the β -D-5aCGLcp-(O-dodecyl) and β -D-5aCGLcpNAc-(O-dodecyl) were shown to produce a two to four-fold large amount of glycosylated products in comparison with the corresponding true-sugar primers. Uptake of the carba-glycosides resulted in β -galactosylation and subsequent sialylation of the galactose residues incorporated to give rise to glycosylated products having the similar glycan as in ganglioside GM3, demonstrating the carba-sugars to be versatile building blocks for the biocombinatorial synthesis (49b).

Biological assay of newly synthesized N- and O-linked octyl 5a'-carba- β -lactosaminides and β -isolactosaminides have been carried out to test for human milk α 1,3/4-fucosyltransferase

られている (Scheme 9)。ある種フォスフォリダーゼによるセロビオース生合成において、基質は α -グルコースではなく β -グルコースであることが推察されたが、これはカルバグルコースの両アノマーを基質に用いる研究で、C-タイプの 5a-カルバ- β -セロビオースのみ生合成されることで間接的な証明がなされた (46)。また、N-アセチル-カルバ-グルコサミン、-ガラクトサミン、-マンノサミンに β -ガラクトース転移酵素を作用させたところ、グルコサミンの両アノマーのみ基質として機能することがわかった (47)。ガン細胞の転移に関わる GlcNAcT-V を標的する阻害剤の開発研究が活発に行われた時期、基質としての最小三糖構造 β -D-GlcpNAc(1-2)- α -D-Manp(1-6)- β -D-Glcp-OC_nH₁₇ の、GlcNAc が転移するマンノース残基を、エーテル結合型カルバ糖残基で置き換えてみた。得られた擬似三糖は、期待に反し阻害剤ではなく良好な基質であった (48)。しかしこれを逆手にとれば、カルバマンノース残基の化学修飾による阻害剤の開発が期待できる。糖鎖プライマーを細胞内の糖脂質生合成経路へ添加すると糖鎖は伸長し糖鎖ライブラリーが構築できる。この手法が「糖鎖コンビナトリアル合成」と呼ばれ、様々な細胞と糖鎖プライマーを用いて至適条件が検討されてきた (49)。最近、O-結合型カルバ配糖体について調べる機会に恵まれ、オクチル β -グルコシド、あるいはドデシル β -ガラクトシド、N-アセチルグルコサミニド、およびラクトシドについて試してみると (50)、いずれも良好な糖鎖プライマーとして取り込まれることがわかった。還元末端にカルバ糖残基をもつ糖脂質の生成量は、mouse melanoma C-13 細胞において、相当する真の配糖体を用いたものにくらべ 2~4 倍と増大することが見いだされた (図 11)。

細胞表層オリゴ糖鎖に含まれるコア構造のミックスを供

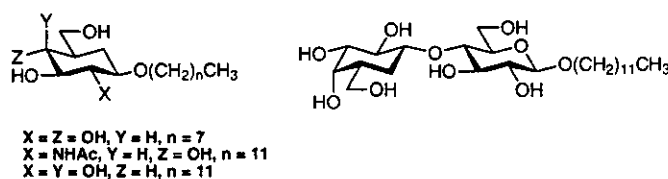
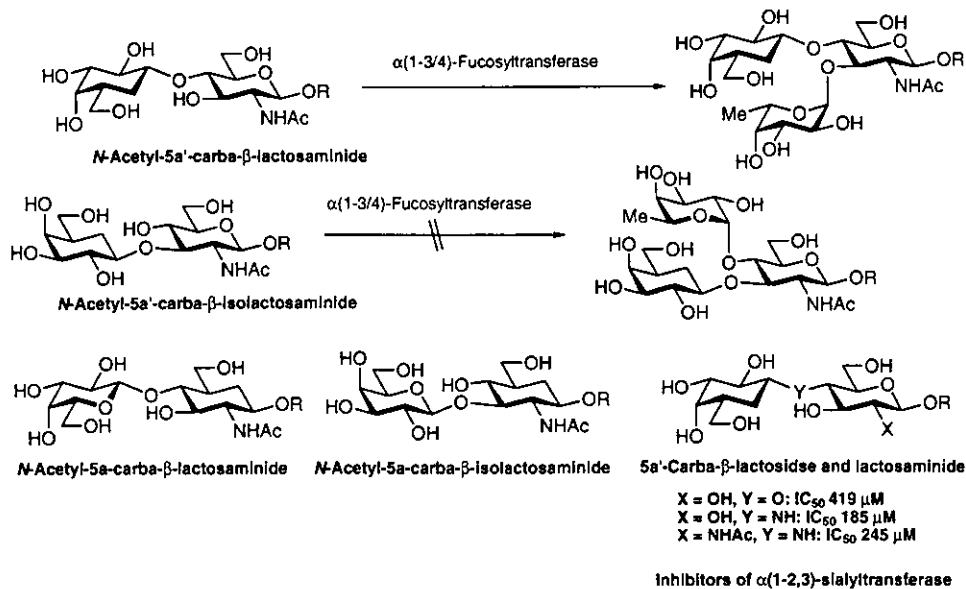


Fig. 11. Good primers for biocombinatorial glycosylation.



Scheme 10. Biologically interesting carba-disaccharides: acceptor substrates and inhibitors.

(51) (Scheme 10). Both carba-lactosaminides were found to be acceptor substrate for the enzyme with kinetic parameters comparable to those for standard true disaccharide. However, surprisingly, both carba-isolactosaminides were neither acceptors nor inhibitors for the enzyme, suggesting that $\alpha(1\rightarrow4)$ transfer is not possible. $\alpha(1,3/4)$ - and $\alpha(1,4)$ -Fucosyltransferases contained in the milk preparation were separated and subjected to assay to see if the panel of substrates could distinguish between the two enzyme forms. Both forms utilized the former pair as substrates while the latter were neither substrates nor inhibitors. This is the first demonstration of a specific substrate for an $\alpha(1,3)$ -fucosyltransferase.

Octyl 5a-carba- β -lactosaminide and isolactosaminide are good substrates for $\alpha(1,3)$ -fucosyltransferase V (human, recombinant) as well as $\alpha(2,3)$ -*(N)*-sialyltransferase (rat, recombinant) when compared to the respective true disaccharides, respectively (52).

Very recently, *N*- and *O*-linked methyl 5a'-carba- β -lactosides, and *N*-linked methyl 5a'-carba- β -lactosaminide and -isolactosaminide were tested for inhibitory activity towards rat recombinant $\alpha(2,3)$ - and rat liver $\alpha(2,6)$ -sialyltransferases (53). The *N*-linked carbalactoside showed the highest inhibitory activity and specificity toward $\alpha(2,3)$ -sialyltransferase and the *O*-linked the lowest. The above results suggested that a carba-galactopyranose residue in carba-oligosaccharides may bind to sialyltransferase,

H. Recent Progress of Glycosidase and Glycosyltransferase Inhibitors Composed of Carba-Sugars

Methyl acarviosin (54) has been recognized as an essential structure of acarbose, exhibiting strong inhibitory activity against α -glucosidase. During the course of studies on its chemi-

給する目的で、 β -カルバラクトース残基をもつ B-タイプのカルバ二糖として、イミノあるいはエーテル結合を介した、*N*-アセチル-カルバラクトサミンおよび-イソラクトサミンが合成された (Scheme 10)。これらに対する $\alpha(1,3/4)$ -フコース転移酵素の挙動を調べたところ、前者は基質となり、後者は基質にも阻害剤にもならなかった。ラクトース残基の 3-および 4-位への転移能を持つ転移酵素が、相当する基質アナログ 5a'-カルバラクトサミンと-イソラクトサミンとによって初めてその転移能が区別して認識されることが示された (51)。一方、還元末端をカルバ糖で置き換えた C-タイプの二糖は、いずれも、 $\alpha(2,3)$ -シアル酸転移酵素および $\alpha(1,3)$ -フコース転移酵素 V に対し天然基質と同等に振舞うことがわかった (52)。

最近、カルバラクトースが、 $\alpha(2,3)$ - および $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素に対し、基質あるいは阻害剤いずれの挙動を示すか検討された。エーテル結合型カルバラクトシドについては、B-タイプは受容基質 (53)、C-タイプは阻害剤として機能し、イミノ結合型の C-タイプでは、 $\alpha(2,3)$ -フコース転移酵素の強力かつ特異的な阻害剤であることがわかった (54)。

H. カルバグリコシルアミンからなるグリコシダーゼ阻害剤合成研究の最近の進歩

バリオールアミンの *N*-(1,3-dihydroxyprop-2-yl) 誘導体、ボグ

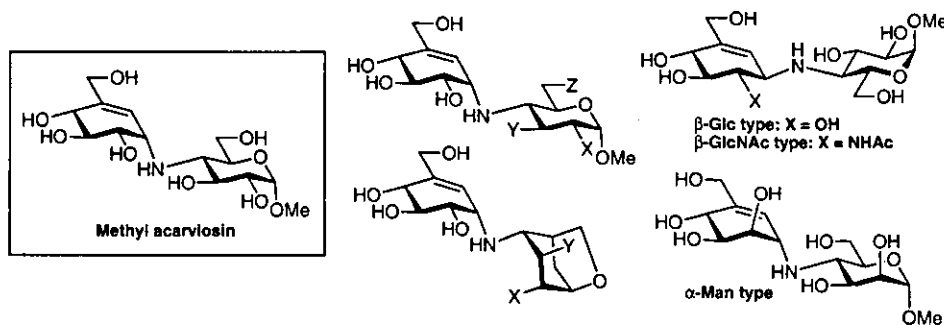


Fig. 12. Chemical modification of methyl acarviosin.

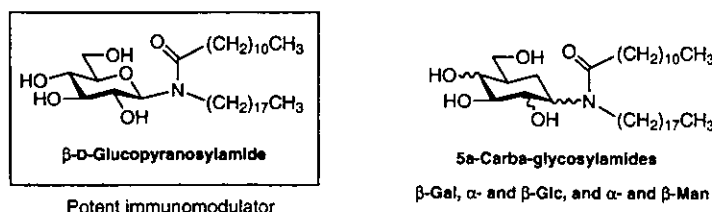


Fig. 13. Preparation of carba-sugar analogues of immunomodulator β -D-glucopyranosylamide.

cal modification, it was found that the sugar moiety could be replaced with a simple 1,6-anhydrohexose residue (55) (Fig. 12). The valienamine moiety mimics the postulated flattened half-chair transition state in hydrolysis of α -glucoside. Therefore, by simple analogy based on topological resemblance, some acarviosin analogues: β -Glc, β -GlcNAc, and α -Man-type compounds (56), were designed and synthesized. However, against expectations, the former two showed no activity against the targeted enzymes, and only the latter was a weak inhibitor of α -mannosidase. When, in order to resolve the deadlock, we had been looking for interesting models to be mimicked as carba-sugar analogues, Lockhoff described his extensive studies on glycosylamides (57) (Fig. 13), which were interesting immunomodulator toward some kind of *E. coli*. Therefore, replacement of its sugar moieties with carba-sugars was first attempted and the carba-sugar mimetics prepared have been shown to possess strong activity comparable to those of true sugar derivatives (58).

The sugar residue of glucosylceramide was then replaced with that of the corresponding N-linked carba-hexopyranose (β -validamine) and its unsaturated (β -valienamine) congener. The unsaturated mimic was found to possess very strong and specific inhibitory activity against glucocerebrosidases (59) (Fig. 14). The corresponding galactosyl mimic also exhibited similar activity against galactosylcerebrosidase. The C-4 epimeric structures of carba-sugar moieties were shown to be critical for exhibiting a specificity in inhibition. Next, the carba-sugar analogues were then modified by replacing its ceramide chains with simple alkyls. The *N*-octyl β -valienamine was shown to possess

リボース (10) は糖尿病の対症療法剤として临床上広く用いられている。バリダミンとバリエナミンは α -グルコシルアミンのカルバ糖アナログであり、研究開発過程で数多くの誘導体が合成され酵素阻害活性が調べられた (55)。以後 10 数年間、とくに顕著な新化合物の開発・創製は報告されなかった。その間、アカルボースの活性発現コア構造である酵素阻害剤メチルアカルビオシン (56) の化学修飾を行った (57)。不飽和カルバ糖アミン部の立体構造は、基質が加水分解の際、経過する遷移状態のそれに相当するとの作業仮説を立てて、バリエナミン部の立体配置をいくつか変えてみたが、当時の、酵素阻害活性に対する関心と活性検定のレベル内においては、どれも期待したグリコシダーゼに対し微弱な活性を示すにとどまった (58) (図 12)。1994 年、グルコシルアミド (59) のカルバ糖アナログが母体化合物とほぼ同等の免疫賦活活性をもつことが見出された (60) (図 13)。これに触発されて合成した、グルコシルセラミドの糖残基を対応する N-結合型不飽和カルバ糖残基で変換したアナログが、グルコセレブロシダーゼに対し強力かつ特異的な阻害活性をもつことが発見された (61)。得られたグルコおよびガラクトセレブロシダーゼ阻害剤は、不飽和カルバ糖残基の C-4 位の立体配置

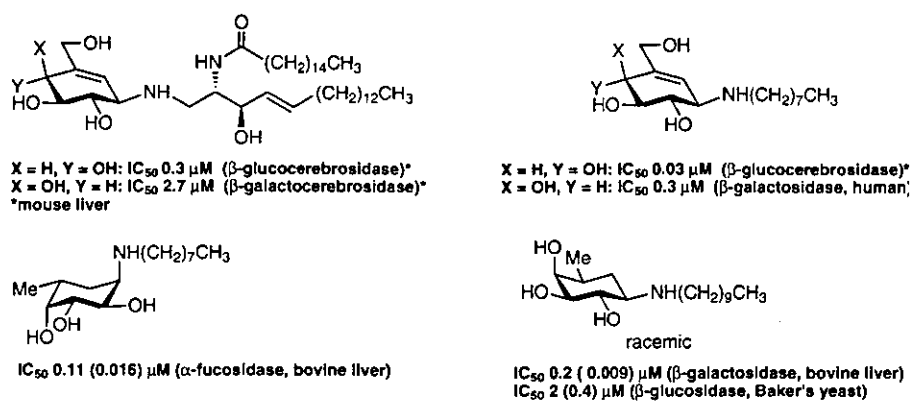


Fig. 14. Inhibitory activity [IC_{50} (K_i) μM] of some glycosidase inhibitors composed of carba-glycosylamines.

10-fold increased inhibitory activity compared to the parent. While the galactosyl congener did not attract much attention because of its absence of significant improvement in potency, it has later been demonstrated to possess very strong inhibitory activity towards human β -galactosidase (61).

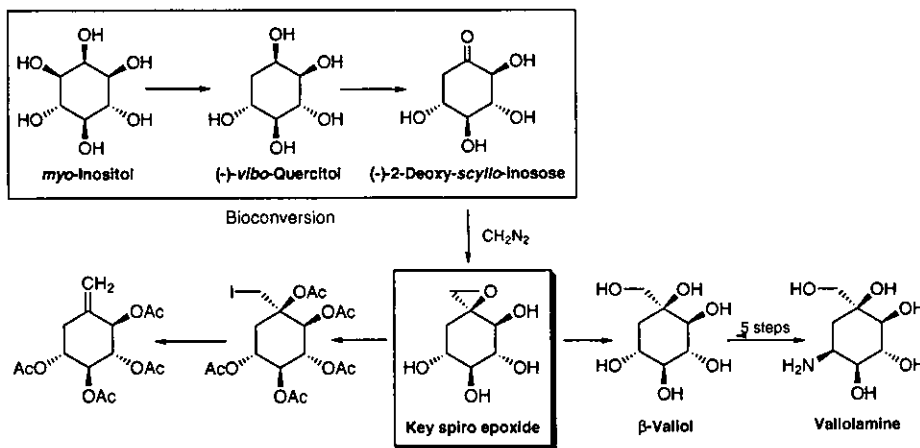
Mutant forms of enzyme proteins have been shown to be labile and rapidly degraded in somatic cells from patients with lysosomal storage diseases. However, they can be stabilized and transported to the lysosomes by competitive inhibitors of low molecular weight (chemical chaperones) for therapeutic purposes (62). This phenomenon was confirmed for the mutant enzyme causing Fabry disease, and very recently this strategy has been extended to two other diseases involving β -galactosidase deficiency in the central nervous system: GM1-gangliosidosis and Morquio B disease. From this point of view, the above galactosyl mimic has now been extensively studied as a candidate novel molecular therapeutic agent for human genetic diseases (63). On the other hand, further N-alkylation of β -galacto-type valienamine much improved the inhibitory activity against α - and β -galactosidases.

In the final stage of work on 5a-carba-glycosylamines as glycosidase inhibitors, α -fucose-type validamine was chosen and synthesized (64) (Fig. 14). 5a-Carba- α -L-fucopyranosylamine and its β -anomer have been demonstrated to be very potent and specific inhibitors of α -L-fucosidase (bovine liver), the effect of the former being comparable to those of deoxyfuconojirimycin, the most powerful inhibitor identified so far. As expected, N-alkylation of carba- α - and β -fucosylamines dramatically increased the potentials (65).

In particular, compared to the corresponding derivatives of the α -anomers, the β -anomers in racemic modification possessed about one tenth of the inhibitory activity against α -fucosidase and the potential was thought to be mainly due to β -L-fucose-mimicking enantiomers, as verified by assaying some L-enantiomers prepared. It is interesting that all the tested compounds possess very

で、それぞれの特異性が明確に制御されている (図 14)。合成の容易なグルコ体について、疎水性部位のセラミド鎖をアルキル鎖で置き換えるなどの化学修飾を施したところ、著しく阻害活性が向上した (62)。一方、ガラクト体の化学修飾の結果は芳しいものではなかったが、数年後、N-オクチル体がヒト β -ガラクトシダーゼに強い活性を示すことが見出された (63)。現在、活性向上を目指す化学修飾と並行させ、糖脂質代謝異常に由来する遺伝病治療薬としての有効性を見出すべく活発な研究が進められている (64)。

最後に残されたカルバフコシルアミン類の合成研究は思わぬ成果をもたらした (図 14)。 α -L 型遊離アミンは α -フコシダーゼに対し強力な特異的な阻害活性を示した (65)。 β -L 型遊離アミンも α -フコシダーゼ阻害活性をかなり保持したが、特異性が失われ、とくに β -D-型は β -ガラクトシダーゼと β -グルコシダーゼに対し強力な阻害活性を示すことが見出された (66)。以上は、合成原料の入手し易いラセミ体で研究を進めたために得られた予期せぬ結果である。カルバ- β -D-フコシルアミンは 6-デオキシ-カルバ- β -D-ガラクトシルアミンと見ることができ、これが母体のカルバ- β -ガラクトシルアミンより強い活性をもち、しかも β -グルコシダーゼをも阻害することが見出された。これらの阻害活性は N-アルキル化によって大幅に向上した (67)。



Scheme 11. Bioconversion of *myo*-inositol: production of optically active deoxyinosose, and its transformation via the key spiro epoxide into β -valiol, valiolamine, and versatile carba-sugar precursors.

strong activity toward both β -galactosidase and β -glucosidase (66) with no specificity regarding the 4-epimeric structures of substrates. Their high potential could be demonstrated to be largely due to the respective D-enantiomers, that is, *N*-alkyl-6-deoxy-5a-carba- β -D-galactopyranosylamines. The racemic *N*-dodecyl derivative has been demonstrated to be a very strong inhibitor possessing characteristic pH-dependent activity against β -glucosidase (almond): K_i 0.057 μ M at pH 6.8. These results would indicate that optically active D-anomer is a very potent β -glucosidase inhibitor fully compatible with isofagomine (67) (K_i 0.11 μ M, at pH 6.8) and calystegine (68) (K_i 0.75 μ M, pH independent). Therefore, 6-deoxy-5a-carba- β -D-galactopyransylamine might be a promising lead compound for the development of new carba sugar-type β -galactosidase inhibitors (69).

I. Summary

Because of chemical and biochemical stability with regard to enzymatic hydrolysis *in vivo* and an expected comparative non-toxic nature for mammals, in the near future, N- and O-linked carba-oligosaccharides might be expected to become one of the major projects for the development of biologically active carbohydrate mimics as well as useful research tools for glycobiology. Very recently, bio-deoxygenation of *myo*-inositol has been successfully carried out employing bacterial strain to produce mainly (-)-*vibo*-quercitol, which is biochemically oxidized to furnish (-)-2-deoxy-*scyllo*-inosose in a high yield. On treatment with diazomethane in methanol-diethyl ether, the crude ketone could be converted into a crystalline spiro-epoxide (70) (Scheme 11). It has been demonstrated that, starting from this key compound, valiolamine and a versatile precursor of carba-sugars were readily synthesized, applying the conventional processing widely used in the synthesis of cyclitols. Thus, the recent progress finally succeeded in tying up *myo*-inositol with optically active carba-sugars. Therefore, we could say that we

I. おわりに

グリコシダーゼによって切断できないカルバ糖残基を含むオリゴ糖質は、生体内でかなり安定に存在できるので、この特徴を活かし、糖質をベースとする医薬・農薬の開発現場において、糖質ミックス研究の重要な対象化合物の一群を形成するものと思われる。カルバ糖化学の大きな流れに出会い、嬉々として20数年過ごしてきたが、振り返ってみれば、むやみやたらあちらこちらと浅瀬へ網を入れたに過ぎないことがわかる。将来、カルバ糖化学に関心をもってくださいる様々な分野の研究者からの試料化合物を要求される声に応えるため、光学活性カルバ糖の簡便な合成法の開発が、今後重要な課題となろうとかねがね考えてきた。最近、*myo*-イノシトールを生物変換して得たデオキシイノシトール、(-)-*vibo*-クエルシトールを生物酸化することによる、(-)-2-デオキシ-*scyllo*-イノソースの製造法が開発された(68)(Scheme 11)。これを合成原料に用いてバリオールアミンが容易に化学合成できることが示され、*myo*-イノシトールを光学活性カルバ糖へ直接結びつける合成ルートが確立された。粗製のイノソースから立体選択的に好収率で導かれる結晶性スピロエポキシテロールは、有用な合成鍵中間体である。生理活性カルバ糖質の設計・合成を計画する際、原料供給面での難関の一つがクリアされ期待に沿う準備が整えられたと言えよう。

are now satisfactorily prepared to meet requests to furnish quantities of carba-sugars of interest.

J. 謝 辞

原稿作成に際し、関東美樹さんと松野愛さんに大変お世話になりましたことをここに感謝します。

J. Acknowledgment

The author wishes to thank Mses. Miki Kanto and Ai Matsuno for their assistance in preparing this manuscript.

References

1. a) Ogawa, S. (1985) *Yuki Gosei Kagaku Kyokai Shi* **43**, 26-39; b) Suami, T., and Ogawa, S. (1990) *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **48**, 21-90; c) Ogawa, S. (1993) *Synthesis of Biologically Active Compounds composed of Carba-Sugars*. In *Natural Products Chemistry*, Vol. 13 (Rhaman, A.-U., and Basha, F. Z. ed.), pp. 187-255, Elsevier, Amsterdam
2. a) McCasland, G. E., Furuta, S., and Durham, L. J. (1966) *J. Org. Chem.* **31**, 1516-1521; b) (1968) *J. Org. Chem.* **33**, 2835-2841; c) (1968) *J. Org. Chem.* **33**, 2841-2844
3. Iwasa, T., Yamamoto, H., and Shibata, M. (1970) *J. Antibiot.* **32**, 595-602
4. Schmidt, D. D., Frommer, W., Junge, B., Müller, L., Wingender, W., Truscheit, E., and Shafer, D. (1977) *Naturwissenschaftler* **64**, 535-536
5. Miller, T. W., Arison, B. H., Albers-Schonberg, G. (1973) *Biotech. Bioeng.* **15**, 1075-1080
6. Vertésy, L., Fehlhauer, H.-W., and Schulz, A. (1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **33**, 1844-1845
7. IUPAC-IUBMB Nomenclature of Carbohydrate (Recommendation 1966) (1997) *Carbohydr. Res.* **297**, 1-92
8. a) Legler, G. (1990) *Advan. Carbohydr. Chem. Biochem.* **48**, 319-384; b) Ganem, B. (1996) *Acc. Chem. Res.* **29**, 340-347; c) Bols, M. (1998) *Acc. Chem. Res.* **31**, 1-8; d) Yuasa, H., Satome, C., and Kanie, O. (2002) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **14**, 231-251.
9. Look, G. C., Fotsch, C. H., and Wong, C.-H. (1993) *Acc. Chem. Res.* **26**, 182-190; b) Heightman, T. D., and Vasella, A. T. (1999) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **38**, 750-770.
10. Horii, S., Iwasa, T., Mizuta, E., and Kameda, Y. (1971) *J. Antibiot.* **24**, 59-63; b) Kameda, Y., and Horii, S. (1972) *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 746-747; c) Kameda, Y., Asano, N., Yoshikawa, M., Takeuchi, M., Matsui, K., Horii, S., and Fukase, H. (1984) *J. Antibiot.* **37**, 1301-1307
11. a) Horii, S., Fukase, H., Matsuo, T., Kameda, Y., Asano, N., and Matsui, K. (1986) *J. Med. Chem.* **29**, 1038-1046; b) Fukase, H., and Horii, S. (1992) *J. Org. Chem.* **57**, 3651-3658
12. a) Ogawa, S. (1998) *Synthetic Studies on Glycosidase Inhibitors composed of 5a-Carba-sugars*. In *Carbohydrate Mimics* (Chapleur, Y. ed.) pp 87-106, Wiley-VCH, Weinheim; b) Ogawa, S. (2003) *Nippon Nogeikagaku Kaishi* **77**, 974-981
13. a) Umezawa, S. (1974) *Advan. Carbohydr. Chem. Biochem.* **30**, 111-182; b) Rinehart Jr., K. L., and Suami, T. (1980) *ACS Symposium Series 125*. American Chemical Society
14. Nakajima, M. (1966) *Kagaku no Ryoiki* **74**, 21-69
15. a) Suami, T., Ogawa, S., Naito, S., and Sano, H. (1968) *J. Org. Chem.* **33**, 2831-2834; b) Suami, T., Ogawa, S., Uchino, H., and Uchida, M. (1973) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **46**, 3840-3844; c) Suami, T., Ogawa, S., Uchino, H., and Funaki, Y. (1975) *J. Org. Chem.* **40**, 456-461; d) Ogawa, S., Ueda, T., Funaki, Y., Hongo, Y., Kasuga, A., and Suami, T. (1977) *J. Org. Chem.* **42**, 3083-3088
16. a) Shier, W. T., Rinehart, Jr. K. L., and Gottlieb, D. (1969) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* **63**, 198-204; b) (1970) *J. Antibiot.* **23**, 51-53; c) Shier, W. T., Ogawa, S., Hichens, M., and Rinehart Jr., K. L. (1973) *J. Antibiot.* **26**, 551-561
17. a) Fourmy, D., Recht, M. I., Blanchard, S. C., and Puglisi, J. D. (1996) *Science* **274**, 1367; b) Hendrix, M., Priestry, E. S., Joyce, G. F., and Wong, C.-H. (1997) *J. Am. Chem. Soc.* **119**, 3641-3648; c) Alper, P. B., Hendrix, M. Sears, P., and Wong, C.-H. (1998) *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 1965
18. Suami, T., Ogawa, S., Ishibashi, T., and Kasahara, I. (1976) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **49**, 1388-1390
19. Kienzle, F. (1975) *Helv. Chim. Acta.* **58**, 1180-1183
20. a) Suami, T., Ogawa, S., Nakamoto, K., and Kasahara, I. (1977) *Carbohydr. Res.* **58**, 240-244
21. a) Ogawa, S., Kasahara, I., and Suami, T. (1979) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **52**, 118-123; b) Ogawa, S., Iwasawa, Y., Nose, T., Suami, T., Ohba, S., Ito, M., and Saito, Y. (1985) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* 903-906
22. a) McCasland, G. E. (1965) *Advan. Carbohydr. Chem.* **20**, 11-65; b) Paulsen, H., and Hohne, H. (1972) *Chem. Ber.* **105**, 3445-3455
23. a) Ogawa, S., Ara, M., Kondoh, T., Saitoh, M., Masuda, R., Toyokuni, T., and Suami, T. (1980) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **53**, 1121-1126; b) Ogawa, S., Toyokuni, T., Omata, M., Chida, N., and Suami, T. (1980) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **53**, 455-457; c) Ogawa, S., Oya, M., Chida, N., and Suami, T. (1983) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **56**, 1441-1445; d) Ogawa, S., Hattori, T., Toyokuni, T., and Suami, T. (1983) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **56**, 2077-2081;
24. a) Ogawa, S., Toyokuni, T., and Suami, T. (1980) *Chem. Lett.* 713-716; b) Toyokuni, T., Ogawa, S., and Suami, T. (1983) *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **56**, 1161-1170
25. a) Ogawa, S., Chida, N., and Suami, T. (1980) *Chem. Lett.* 1559-1562; b) (1983) *J. Org. Chem.* **48**, 1203-1207
26. Ogawa, S., Shibata, Y. (1986) *Carbohydr. Res.* **148**, 257-263
27. a) Ogawa, S., and Shibata, Y. (1988) *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 605-606; b) Shibata, Y., Ogawa, S. (1989) *Carbohydr. Res.* **189**, 309-322
28. a) Ogawa, S., Nose, T., Ogawa, T., Toyokuni, T., Iwasawa, Y., and Suami, T. (1985) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* 2369-2374; b) Ogawa, S., Miyamoto, Y., and Nose, T., (1988) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* 2675-2680; c) Miyamoto, Y., and Ogawa, S. (1989) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* 1013-1018
29. Sears, P., and Wong, C. -H. (1999) *Angew. Chem. Int. Ed.* **38**, 2300-2324
30. Tsunoda, H., Sasaki, S., Furuya, T., and Ogawa, S. (1998) *Liebigs Ann.* 159-165
31. Suami, T., Ogawa, S., and Chida, N. (1980) *J. Antibiot.* **33**, 98-99
32. Ogawa, S., Sugawa, I., and Shibata, Y. (1991) *Carbohydr. Res.* **211**, 147-155