マンノシルエリスリトールリピッド (MEL) の 効率的全合成と抗菌活性を指標とした構造－機能相関の解明 Efficient Total Synthesis of Mannosylerythritol Lipids (MELs) and Evaluation of Their Antibacterial Activity

高橋 大介

慶應義塾大学理工学部応用化学科
〒223-8522
神奈川県横浜市港北区日吉 3-14-1

Daisuke TAKAHASHI
Department of Applied Chemistry,
Faculty of Science and Technology,
Keio University
3-14-1, Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama,
Kanagawa, 223-8522, Japan

戸嶋 一敦

慶應義塾大学理工学部応用化学科
〒223-8522
神奈川県横浜市港北区日吉 3-14-1

Kazunobu TOSHIMA
Department of Applied Chemistry,
Faculty of Science and Technology,
Keio University
3-14-1, Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama,
Kanagawa, 223-8522, Japan

論文要旨：マンノシルエリスリトールリピッド (MEL) は、抗菌活性などの興味深い生物活性と優れた界面活性を有することから、近年注目を集めている。現在、MEL は酵母培養法により、脂肪鎖長の不均一な混合物として大量供給されているが、脂肪鎖長が均一な化合物として単離・精製することは困難であり、詳細な構造－機能相関の研究が進んでいない。そのため、新たな高機能性バイオサーファクタントを創出するためにも、構造が明確かつ単一構造を有する MEL 類縁体の合成的供給が強く求められている。そこで、筆者らは、マンノース 2 位及び 3 位の脂肪鎖長が異なる (5 種類) MEL-A-D (4 種類) の系統的な全合成を検討した。その結果、筆者らが最近開発した芳香族ボリン酸触媒を用いた立体選択的 β -マンノシル化反応を駆使することで、目的とした計 20 種類の MEL の全合成に初めて成功した。本総説では、MEL の系統的な全合成に加え、最近報告したグラム陽性菌に対する抗菌活性の結果を紹介する。

Abstract: Mannosylerythritol lipids (MELs) are glycolipid biosurfactants that show significant biochemical and physicochemical properties, such as antibacterial and surface activities. However, since heterogeneity always exists in MELs obtained from microbial products, especially with respect to the chain length of the fatty acids, chemically synthesized homogeneous and structurally well-defined MELs are required to elucidate the detailed structure-function relationships. Therefore, in this study, the total synthesis of the 20 homogeneous members of MEL-A-D (4 kinds) with different alkyl chain lengths (5 kinds) was effectively and systematically accomplished from our designed common key intermediate, which was stereoselectively synthesized by a recently developed our borinic-acid-catalyzed stereoselective β -mannosylation reaction. In addition, their antibacterial activities against Gram-positive bacteria were evaluated.

Key words: mannosylerythritol lipid (MEL), biosurfactant, β -mannoside, glycolipid, antibacterial activity

1 はじめに

マンノシルエリスリトールリピッド (MEL) は、*Pseudozyma* 属酵母より高効率で生産されることが見出された糖脂質型バイオサーファクタントである¹⁻⁵⁾。

連絡者：高橋 大介
E-mail : dtak@aplc.keio.ac.jp

MEL の構造的特徴として、(i) マンノース 4 位及び 6 位におけるアセチル (Ac) 基の位置と数により MEL-A, B, C 及び D の 4 種類の構造を有する点、(ii) 立体選択的な構築が困難な β -マンノシド (1,2-*cis* β -グリコシド) 構造⁶⁻⁸⁾ を有する点、及び (iii) マンノース 2 位及び 3 位に 2 本の脂肪鎖 (鎖長：C6-C18) を有する点が挙げられる。一方、MEL 類の生物活性として、抗菌

活性⁹⁾、マウスメラノーマ細胞(B16)に対する増殖抑制活性、及び分化誘導活性¹⁰⁾などの興味深い活性が報告されているだけでなく、MELが優れた界面活性及び保湿効果を有することから、近年、医薬品、食品、及び化粧品分野を含む様々な分野で注目を集めている^{11, 12)}。現在、MEL類は、酵母培養法により脂肪鎖長の不均一な混合物として大量供給されているが、脂肪鎖長が均一な化合物として単離・精製することは困難であり、詳細な構造-機能相関の研究が進んでいないのが現状である。そのため、新たな高機能性バイオサーファクタントを創出するためにも、構造が明確かつ単一構造を有するMEL類縁体の合成的供給が強く求められている。しかし、MEL類の化学合成例は、これまでにCrichらによるMEL-Aの1例¹³⁾のみであり、MEL-B、C及びDの全合成は、未だ達成されていなかった。そこで、筆者らは、マンノース2位及び3位の脂肪鎖長が異なる(C6, C8, C10, C12, 及びC14) MEL-A 1-5, MEL-B 6-10, MEL-C 11-15, 及びMEL-D 16-20 (Fig. 1)の系統的な全合成と抗菌活性に関する構造-機能相関の研究を目的とした。なお、筆者らが本研究を開始した当時、MELの抗菌活性に関して、以下の知見が報告されていた。すなわち、MEL-A及びBは、数種類のグラム陰性菌(*Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas riboflavina*, 及び*Escherichia coli*)、酵母(*Candida albicans*)、カビ(*Aspergillus niger*)に対して、ほとんど抗菌活性を示さないのに対し、数種類のグラム陽性菌(*Bacillus subtilis*, *Mycobacterium rhodochrous*, *Micrococcus luteus*, 及び*Staphylococcus aureus*)に対しては、類似の非イオン性糖脂質型サーファクタントであるスクロスカプ

リン酸モノエステル(SE 10)やソルビタンラウリン酸モノエステル(Span 20)と比較して高い抗菌活性を発現することが報告されていた⁹⁾。そこで本研究では、世界規模の問題である院内感染¹⁴⁾に関与する薬剤耐性グラム陽性菌¹⁵⁾のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)¹⁶⁾やバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)¹⁷⁾に対して、MELが抗菌活性を発現するかどうかについて明らかにすることも目的とした¹⁸⁾。本総説では、これらの研究成果について紹介する。

2 MEL 1-20の系統的全合成

2・1 MEL 1-20の逆合成解析

MEL 1-20の逆合成をFig. 2に示す。MEL 1-20は、各種鎖長(C6, C8, C10, C12, 及びC14)の2本の脂肪鎖を有する21-25の各種誘導化により合成可能と考えた。また、21-25は、設計した共通鍵中間体26のマンノース2位及び3位に対して各種鎖長(C6, C8, C10, C12, 及びC14)の2本の脂肪酸を同時に導入することで合成することとした。また、共通鍵中間体26は、筆者らが最近開発したホウ素触媒を用いた立体選択的グリコシル化反応¹⁹⁻²⁸⁾の中でも、芳香族ボリン酸触媒29を用いた立体選択的 β -マンノシル化反応^{20, 21, 26)}を鍵反応として1,2-アンヒドロマンノース27とエリスリトール誘導体28から合成することとし、27及び28は、D-マンノース(30)とD-グルコース(31)からそれぞれ合成する計画を立てた。

2・2 MEL 1-20の系統的全合成

糖供与体である1,2-アンヒドロマンノース27の合成をFig. 3Aに示した。D-マンノース(30)を出発原料と

Fig. 1 MEL 1-20の化学構造

Fig. 2 MEL 1-20 の逆合成解析

(A) Synthesis of 1,2-anhydromannnose 27

(B) Synthesis of erythritol derivative 28

Fig. 3 1,2- アンヒドロマンノース 27 及びエリスリトール誘導体 28 の合成

して、既知法²⁹⁾に従い、3工程77% (exo/endo=92/8)で化合物 32 を合成した。次に、3 位、4 位、及び 6 位の脱 Ac 化、6 位選択的な t -ブチルジメチルシリル (TBS) 化によって exo 体 33 を得た。この際、ジアステレオマーである endo 体の生成を確認したが、以降の反応では exo 体のみを用いて合成を進めた。次に、スズアセタールを用いた 3 位選択的な p -メトキシベンジル (PMB) 化、続く TBS 基の脱保護、4 及び 6 位水酸基のベンジル (Bn) 保護によって 35 を合成した。次に、クロロトリメチルシラン (TMSCl) を用いることで塩化糖とした後、カ

リウム t -ブトキシド (t -BuOK) を作用させることによってエポキシ化し、目的とする 1,2- アンヒドロマンノース 27 を合成した。

次に、糖受容体であるエリスリトール誘導体 28 の合成を Fig. 3B に示した。D- グルコース (31) を出発原料とし、既知法³⁰⁾に従い 3 工程で 36 を合成した。次に、トリエチルシラン (TES)/トリフルオロ酢酸 (TFA) 条件下、還元的かつ位置選択的にベンジリデンアセタールを開環することで一級水酸基が Bn 化された 37 を得た。続いて、1,2- ジオールのアセトニド保護及び脱 Bn

Fig. 4 MEL 1-20 の系統的全合成

化によって、目的とする **28** を合成した。

次に、ボリン酸触媒 **29** を用いた **27** と **28** とのグリコシル化反応による **39** の合成を検討した。この際、反応条件について精査した結果、1.2 当量の **27**、1.0 当量の **28**、及び 0.2 当量のボリン酸 **29** を用い、MeCN 溶媒中、0℃で行う反応条件が最適であることを見出し、99%の高収率かつ完全な立体選択性で望む β-マンノシド **39** を得ることに成功した。この際、生成物 **39** のアノマー位の立体化学は、NMR の $^1J_{CH}$ 測定³¹⁾ 及び NOE 測定により決定した。次に、合成した **39** の PMB 基を除去することで共通鍵中間体 **26** を合成した。次に、**26** に対して、6.0 当量のヘキサノイル (C6)、オクタノイル (C8)、デカノイル (C10)、ドデカノイル (C12)、またはテトラドデカノイル (C14) クロリドを作用させ、マンノース 2 位及び 3 位に脂肪鎖を導入した後、4 位及び 6 位の Bn 基を加水素分解により除去し、**21-25** をそれぞれ合成した。さらに、得られた **21-25** に対し、各種誘導体化を行うことによって MEL-A **1-5**、MEL-B **6-10**、MEL-C **11-15**、及び MEL-D **16-20** の系統的な全合成を達成した (Fig. 4)。すなわち、**1-5** は、**21-25** のマンノース 4 位及び 6 位水酸基の Ac 化、続くフッ化水素・ピリジン (HF·py) を用いたアセトニド基及び *t*-ブチルジフェニルシリル (TBDPS) 基の脱保護により、2 工程収率 72-83% で合成した。**6-10** は、**21-25** のマンノース 6 位水酸基の選択的な Ac 化、続くアセトニド基及び TBDPS 基の脱

保護によって 2 工程収率 63-73% で合成した。**11-15** は、**21-25** のマンノース 6 位水酸基選択的な TBS 化、4 位水酸基の Ac 化、続くアセトニド基及び TBDPS 基の脱保護によって 3 工程収率 50-56% で合成し、**16-20** は、**21-25** のアセトニド基及び TBDPS 基の脱保護により、2 工程収率 65-90% で合成した。

3 MEL 1-20 の抗菌活性

次に、合成した MEL **1-20** の各種グラム陽性菌に対する抗菌活性試験を行った。評価には、寒天平板希釈法を採用し、各種菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC 値) を測定することで評価した。グラム陽性菌には、*Micrococcus luteus* (IFO3333)、*Staphylococcus aureus* (FDA 209P)、及び MRSA : *Staphylococcus aureus* (MS16526) を選択した。また、コントロールには、既知の抗菌物質であるバンコマイシン (VCM) 及びラムノリピッド (RLs) を用いて行った (Fig. 5A)。これまでの北本らによる先行研究⁹⁾ により、*P. antarctica* T-34 より生産された脂肪鎖長の不均一な MEL-A [C8 (17.5%), C10 (71.3%), C12 (10.1%), C14 (1.1%)] 及び MEL-B [C8 (26.6%), C10 (58.6%), C12 (13.3%), C14 (1.5%)] がグラム陽性菌に対する抗菌活性を示すことは報告されていたが、本研究の成果により、単一の脂肪鎖を有する MEL-A **2** (C8)、MEL-A **3** (C10)、MEL-B **7** (C8)、及び MEL-B **8** (C10) が、*M. luteus* 及び *S. aureus* (FDA

(A)

Microorganisms/ Compounds	MIC (μg/mL)				MIC (μg/mL)		
	<i>M. luteus</i> IFO 3333	<i>S. aureus</i> FDA209P	<i>S. aureus</i> MS16526(MRSA)		<i>M. luteus</i> IFO 3333	<i>S. aureus</i> FDA209P	<i>S. aureus</i> MS16526(MRSA)
VCM	0.25	0.25	0.5	RLs	64	64	128
MEL-A (C6) 1	128	>128	>128	MEL-C (C6) 11	128	>128	>128
MEL-A (C8) 2	32	16	64	MEL-C (C8) 12	32	32	128
MEL-A (C10) 3	8	16	>128	MEL-C (C10) 13	10	8	128
MEL-A (C12) 4	128	128	>128	MEL-C (C12) 14	128	>128	>128
MEL-A (C14) 5	128	>128	>128	MEL-C (C14) 15	128	>128	>128
MEL-B (C6) 6	>128	128	>128	MEL-D (C6) 16	128	>128	>128
MEL-B (C8) 7	16	16	64	MEL-D (C8) 17	32	64	128
MEL-B (C10) 8	10	8	128	MEL-D (C10) 18	8	8	128
MEL-B (C12) 9	128	128	>128	MEL-D (C12) 19	64	>128	>128
MEL-B (C14) 10	128	>128	>128	MEL-D (C14) 20	128	>128	>128

(B)

Microorganisms/ Compounds	MIC (μg/mL)					MIC (μg/mL)			
	<i>E. faecalis</i> JCM5803 (VSE)	<i>E. faecalis</i> NCTC12201 (VRE)	<i>E. faecium</i> JCM5804 (VSE)	<i>E. faecium</i> NCTC12202 (VRE)		<i>E. faecalis</i> JCM5803 (VSE)	<i>E. faecalis</i> NCTC12201 (VRE)	<i>E. faecium</i> JCM5804 (VSE)	<i>E. faecium</i> NCTC12202 (VRE)
VCM	0.5	128	0.5	>128	RLs	64	64	64	64
MEL-A (C6) 1	>64	>64	>64	>64	MEL-C (C6) 11	>64	>64	>64	>64
MEL-A (C8) 2	64	64	64	64	MEL-C (C8) 12	64	64	64	64
MEL-A (C10) 3	>64	>64	>64	64	MEL-C (C10) 13	64	64	64	32
MEL-A (C12) 4	>64	>64	>64	>64	MEL-C (C12) 14	>64	>64	>64	>64
MEL-A (C14) 5	>64	>64	>64	>64	MEL-C (C14) 15	>64	>64	>64	>64
MEL-B (C6) 6	>64	>64	>64	>64	MEL-D (C6) 16	>64	>64	>64	>64
MEL-B (C8) 7	32	32	32	32	MEL-D (C8) 17	64	64	64	64
MEL-B (C10) 8	64	64	64	32	MEL-D (C10) 18	16	16	8	8
MEL-B (C12) 9	>64	>64	>64	64	MEL-D (C12) 19	>64	>64	>64	>64
MEL-B (C14) 10	>64	>64	>64	64	MEL-D (C14) 20	>64	>64	>64	>64

Fig. 5 MEL 1-20 の各種グラム陽性菌に対する抗菌活性

209P) に対して抗菌活性を示すことを明らかにした。さらに, MEL-A 及び B の中でも酵母生産における主成分である MEL-A **3** (C10) 及び MEL-B **8** (C10) が高い抗菌活性を示し, 脂肪鎖長の僅かな違いが抗菌活性に大きな影響を与えることを初めて見出した。また, この際, 脂肪鎖の長さの違いにより, C10>C8>C14 ≈ C12 ≈ C6 の順で活性が高くなることを見出した。さらに, MEL-C 及び D も, 抗菌活性に関して A 及び B と同様の傾向を示し, 中程度の脂肪鎖長を有する MEL-C **13** (C10) 及び MEL-D **18** (C10) が高い抗菌活性を示すことを明らかにした。また, コントロールと比較した場合, いずれの MEL も VCM より低い活性を示したが, C10 の MEL **3**, **8**, **13**, 及び **18** が, 糖型抗菌剤として知られる RLs よりも高い抗菌活性を発現することを見出した。一方, 薬剤耐性菌 MRSA に対しては, いずれの MEL も抗菌活性を示さないことが分かった。

次に, バンコマイシン感受性腸球菌 (Vancomycin-Sensitive Enterococci : VSE) の中から *Enterococci faecalis* (JCM5803) 及び *Enterococci faecium* (JCM5804) を, バンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin-Resistant Enterococci : VRE) の中から *Enterococci faecalis* (NCTC 12201) 及び *Enterococci faecium* (NCTC12202) を選

択し, これらに対する MEL 1-20 の MIC 測定を行った (Fig. 5B)。その結果, MEL 1-20 の中で, MEL-D **18** (C10) のみが, VRE に対して抗菌活性を発現することを初めて見出した。以上の結果より, MEL の抗菌活性の発現には, 脂肪鎖長及び Ac 化様式が深く関与することを明らかにした。また, VCM は, VRE に対して抗菌活性を示さないのに対し, **18** は, VSE と VRE の両方に対して同等の抗菌活性を示したことから, **18** は, VCM とは異なる作用機序で抗菌活性を発現する新たな抗菌剤のシード候補化合物として期待される。

4 おわりに

以上, 本研究では, 多様な生物活性と機能性を併せ持ち, 構造的にも興味深い糖脂質型バイオサーファクタント MEL に着目し, MEL の脂肪鎖長 (5 種類) と Ac 化様式 (4 種類) が種々異なる MEL 1-20 の系統的な全合成を検討した。その結果, 筆者らが独自に開発してきた芳香族ポリン酸触媒を用いた立体選択的 β-マンノシル化反応を駆使することで, 設計した共通鍵中間体 **26** を立体選択的に合成後, 各種誘導化により目的とした計 20 種類の MEL の全合成を達成した。次に, MEL 1-20 のグラム陽性菌に対する抗菌活性を評価した。その結果,

抗菌活性の発現には、脂肪鎖長及び Ac 化様式が重要であり、特に、化学合成により得られた、構造が明確かつ単一構造を有する MEL を用いることで、脂肪鎖長の僅かな違いが MEL の抗菌活性に大きな影響を与えることを初めて明らかにした。さらに、MEL 1-20 の、薬剤耐性菌 MRSA 及び VRE に対する抗菌活性試験を行った結果、中程度の脂肪鎖を有する MEL-D 18 (C10) のみが、VRE に対して抗菌活性を示すことを明らかにした。このことから、有機合成化学的手法を駆使した詳細な構造活性相関研究を推進することで、混合物を用いた評価系では見過ごされやすい MEL の生物活性を見出すことができるのではないかと期待される。

今後、精密化学合成と機能評価を機軸とした数多くの研究が展開され、従来にないユニークな機能を有する天然及び人工型界面活性剤が創製されることを期待している。

謝 辞

本研究を行うにあたり、ご助言・ご協力を賜りました微生物化学研究所、高橋良昭 博士、五十嵐雅之 博士、林千草 氏、及び慶應義塾大学理工学部、朝倉浩一 教授、伴野太祐 専任講師に心より感謝致します。また、本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「中分子戦略」(JP16H01161)、日本学術振興会科研費基盤研究 C (JP16K05781)、サントリー生命科学財団、及び戸部眞紀財団の支援を受けて行われたものであり、関係諸機関に深く感謝申し上げます。

文 献

- Morita, T.; Konishi, M.; Fukuoka, T.; Imura, T.; Kitamoto, H.; Kitamoto, D. *FEMS Yeast Res.* **7**, 286-292 (2007).
- Kitamoto, D.; Morita, T.; Fukuoka, T.; Konishi, M.; Imura, T. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **14**, 315-328 (2009).
- Morita, T.; Fukuoka, T.; Imura, T.; Kitamoto, D. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **53**, 39-49 (2009).
- Yu, M.; Liu, Z.; Zeng, G.; Zhong, H.; Liu, Y.; Jiang, Y.; Li, M.; He, X.; He, Y. *Carbohydr. Res.* **407**, 63-72 (2015).
- Morita, T.; Fukuoka, T.; Imura, T.; Kitamoto, D. *J. Oleo Sci.* **64**, 133-141 (2015).
- Nigudkar, S. S.; Demchenko, A. V. *Chem. Sci.* **6**, 2687-2704 (2015).
- Jia, X. G.; Demchenko, A. V. *Beilstein J. Org. Chem.* **13**, 2028-2048 (2017).
- Sasaki, K.; Tohda, K. *Tetrahedron Lett.* **59**, 496-503 (2018).
- Kitamoto, D.; Yanagishita, H.; Shinbo, T.; Nakane, T.; Kamisawa, C.; Nakahara, T. *J. Biotechnol.* **29**, 91-96 (1993).
- Zhao, X.; Murata, T.; Ohno, S.; Day, N.; Song, J.; Nomura, N.; Nakahara, T.; Yokoyama, K. *J. Bio. Chem.* **276**, 39903-39910 (2001).
- Kitamoto, D.; Isoda, H.; Nakahara, T. *J. Biosci. Bioeng.* **94**, 187-201 (2002).
- Arutchelvi, J. I.; Bhaduri, S.; Uppara, P. V.; Doble, M. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **35**, 1559-1570 (2008).
- Crich, D.; de la Mora, M. A.; Cruz, R. *Tetrahedron* **58**, 35-44 (2002).
- Muto, C. A.; Jernigan, J. A.; Ostrowsky, B. E.; Richet, H. M.; Jarvis, W. R.; Boyce, J. M.; Farr, B. M. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **24**, 362-386 (2003).
- WHO Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics, 2017. http://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1
- Chambers, H. F.; DeLeo, F. R. *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 629-641 (2009).
- Arias, C. A.; Murray, B. E. *Nat. Rev. Microbiol.* **10**, 266-278 (2012).
- Nashida, J.; Nishi, N.; Takahashi, Y.; Hayashi, C.; Igarashi, M.; Takahashi, D.; Toshima, K. *J. Org. Chem.* **83**, 7281-7289 (2018).
- Nakagawa, A.; Tanaka, M.; Hanamura, S.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **54**, 10935-10939 (2015).
- Tanaka, M.; Nashida, J.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Org. Lett.* **18**, 2288-2291 (2016).
- Tanaka, M.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Org. Lett.* **18**, 5030-5033 (2016).
- Nishi, N.; Nashida, J.; Kaji, E.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Chem. Commun.* **53**, 3018-3021 (2017).
- Takahashi, D.; Tanaka, M.; Nishi, N.; Toshima, K. *Carbohydr. Res.* **452**, 64-77 (2017).
- Tanaka, M.; Nakagawa, A.; Nishi, N.; Iijima, K.; Sawa, R.; Takahashi, D.; Toshima, K. *J. Am. Chem. Soc.* **140**, 3644-3651 (2018).
- Nishi, N.; Sueoka, K.; Iijima, K.; Sawa, R.; Takahashi, D.; Toshima, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **57**, 13858-13862 (2018).
- 高橋大介. 有機合成化学協会誌 **76**, 470-473 (2018). (Takahashi, D. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **76**, 470-473 (2018).)
- Takahashi, D. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **31**, SE93-SE94 (2019).
- 高橋大介. 有機合成化学協会誌 **78**, 221-231 (2020). (Takahashi, D. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **78**, 221-231 (2020).)
- Beignet, J.; Tiernan, J.; Woo, C. H.; Kariuki, B. M.; Cox, L. R. *J. Org. Chem.* **69**, 6341-6356 (2004).
- Marco, J. A.; Carda, M.; González, F.; Rodríguez, S.; Murga, J. *Liebigs Ann.* **1996**, 1801-1810 (1996).
- Bock, K.; Pedersen, C. J. *Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 293-297 (1974).