糖転移酵素に対する阻害剤の 合成

梶本 哲也*
野出 學

Synthesis of Inhibitors against Glycosyltransferases

Tetsuya Kajimoto* and Manabu Node

Inhibitors against glycosyltransferases and glycosidases, which build up oligosaccharide moieties of biologically active glycoconjugates, are essential tools for the development of glycobiology and promising candidates of novel agents for the treatments of tumors, inflammatory, autoimmune diseases, and bacterial and virus infections. Many excellent inhibitors against glycosidases, such as deoxynojirimycin and oseltamivir, were found from nature and developed by good combination of structural biology and synthetic chemistry. However, excellent inhibitors of glycosyltransferases have not been developed until recently, because of little information on the structures of active sites of the enzymes, involvement of several components in the transition state of the enzyme catalyzed reaction, low affinities between the enzymes and substrates, and no facile assay systems for the inhibitory activities. The strategies regarding the design and the synthesis of the inhibitors for glycosyltransferases have been remarkably advanced in the last five years. In this review, we summarize the current stage of the synthesis of inhibitors against glycosyltransferases.

Key words: inhibitors, glycosyltransferases, analogs of sugar nucleotides, transition-state analogs, acceptor analogs, bisubstrate-inhibitors

はじめに

近年、複合糖鎖の構造やその生物学的機能が急速に解明され、生物学的現象における糖鎖の役割が注目されるようになってきた¹⁾。その一方で、さらに詳細な糖鎖機能解明のツールとして、また、糖鎖の構造異常が原因となる疾病の治療薬として、これら糖鎖を生合成する酵素に対する選択的阻害剤の開発も盛んになってきた。

糖鎖は、糖転移酵素による糖鎖の伸長と一旦でき上がったオリゴ糖鎖のグリコシダーゼによる加水分解からなる経路で生合成される。グリコシダーゼに対する阻害剤については、アザ糖を始め多くの糖類似体が優れた阻害剤として開発され²⁾、シアリダーゼの阻害剤(例：リレンザ、タミフル)のように医薬品として利用されているものまで存在する。しかし、糖転移酵素に対する阻害剤については、100種以上の糖転移酵素がクローニングされている現在³⁾でも実用的な阻害剤は開発されておらず、最近になってようやく阻害活性の強いものが開発されてきたと言える。糖転移酵素に対する阻害剤の開発が

難しい理由としては、1)糖転移酵素の構造に関する知見が少なく、阻害剤のデザインが困難である、2)遷移状態においては複数の分子(糖ヌクレオチド、アクセプター糖鎖、金属イオン)が関与している、3)基質と酵素の結合が弱く、 K_m 値は mM レベルである、4)感度が良く簡便な解析手法がないなどの理由があげられる。上記のうち、糖転移酵素の三次元構造に関しては、1999年になってようやく $\beta(1,4)$ -ガラクトース転移酵素の結晶解析の結果が報告され、今日に至るまで数種の糖転移酵素の構造が明らかになっているに過ぎない⁴⁾。しかし、糖転移酵素の阻害剤の研究は、酵素の構造が明らかになる20年以上も前から開始されている。まさに、有機合成化学者が想像力をたくましく持ち、進めてきた研究である。

本稿では以上のことを背景に、糖鎖機能の発現において重要な役割を果たすことが明らかとなっているシアル酸転移酵素、フコース転移酵素、*N*-アヤチルグルコサミン転移酵素およびガラクトース転移酵素に対する阻害剤の合成について、活性向上を目指してなされた分子設計の視点から最近の進歩を概説したい。なお、糖転移酵素別にまとめられた既存の総説も合せて参照されたい⁵⁾。

* 京都薬科大学薬品製造学教室

()

* Department of Pharmaceutical Manufacturing Chemistry, Kyoto Pharmaceutical University ()

()

1. 糖転移酵素に対する阻害剤を設計する上での基本的な戦略

糖転移酵素は糖ヌクレオチドから既存のオリゴ糖鎖の非還元末端への糖の転移反応を触媒する酵素である。上述の糖転移酵素がドナー（糖供与体）として利用する糖ヌクレオチドは CMP-*N*-アセチルノイラミン酸 (CMP-NeuNAc), GDP-フコース (GDP-Fuc), UDP-*N*-アセチルグルコサミン (UDP-GlcNAc), および UDP-ガラクトース (UDP-Gal) である。

一方、糖転移を受ける受容体の基質特異性については、それぞれの糖転移酵素によって決まっている。例えば *N*-アセチルグルコサミン転移酵素では、受容体基質の構造の違いから数種類以上のファミリーが存在する。また、同じカテゴリーに分類される酵素でも生物種や病態によって微妙に異なる基質特異性を示すこともある。

以上の事実より、糖転移酵素を阻害するには、1) 糖ヌクレオチドの類似体、2) 受容体基質の類似体、3) ドナーと受容体オリゴ糖鎖（類似体）を共有結合で繋げた二基質阻害剤を設計し、合成することになる。

2. 糖ヌクレオチド類似体の合成

糖転移酵素は、触媒する糖転移反応において副生成するヌクレオチドによって生成物阻害を受けることから⁶⁾、糖ヌクレオチドの糖部分よりもヌクレオチド部分と強く結合すると考えられている。それゆえ、ヌクレオチド部位の構造を変換することは稀であり、糖およびリン酸部分を修飾した糖ヌクレオチド類似体の合成例が多い。

2.1 フッ素を導入した糖ヌクレオチド類似体の合成

糖質へのフッ素の導入は糖鎖関連酵素の研究で古くから利用され⁷⁾、2 位にフッ素を導入した糖のグリコシド結合は加水分解され難いことが知られている。これは、フッ素の強い電気陰性度により、遷移状態で発生するオキソカルベニウムイオンが不安定化されるためである。

近年、UDP-[1-²H]-ガラクトースをドナー基質として用いた β (1,4)-ガラクトース転移酵素による反応や GDP-[1-²H]-フコースを用いた α (1,3)-フコース転移酵素 V による反応において二次同位体効果が観察され、糖転移酵素の触媒する反応においてもオキソカルベニウムイオンが存在していることが示された⁸⁾。この事実は、フッ素化 UDP-Gal およびフッ素化 GDP-Fuc が上述の糖転移酵素に対する阻害剤となる可能性を示唆している。

Wong らは UDP-[2-F]-Gal 1 を合成するにあたって、3,4,6-tri-*O*-acetyl-D-galactal 2a に BF₃ Et₂O 存在下、XeF₂⁹⁾を反応させ、続く酸加水分解により総収率 65% で 2-deoxy-2-fluoro-galactose 3 を得ている（スキーム 1）。また、無保護の galactal 2b に水溶液中、直接 XeF₂ を作用させ、1 工程で 3 を得ることに成功している¹⁰⁾。得られた 3 は ATP 存在下、ガラクトキナーゼでガラクトース-1-リン酸 4 に誘導後、galactose-1-phosphate uridylyltransferase の働きにより UDP-Glc と 1-リン酸化糖を交換して UDP-[2-F]-Gal 1 に効率よく変換された¹¹⁾。これらの酵素反応は補酵素再生系と組合せることにより、高価な UDP-Glc を少量用いるだけで 3 をほぼ定量的に 1 に変換することが可能である¹²⁾。

Scheme 1 Chemo-enzymatic synthesis of UDP-[2-F]-Gal 1.

得られた UDP-[2-F]-Gal 1 の生理条件下での $\beta(1,4)$ -ガラクトース転移酵素に対する K_i 値 ($149 \pm 18 \mu\text{M}$) は UDP-Gal の K_m 値 ($127 \pm 9 \mu\text{M}$) とほぼ同じ値を示した¹⁰⁾。しかし、 $\beta(1,4)$ -ガラクトース転移酵素の K_m 値は Mn^{2+} の濃度に依存することが知られており^{13, 14)}、本酵素に対する阻害剤の阻害活性も影響を受けると考えられた。詳細なアッセイの結果、10 mM レベルの Mn^{2+} 存在下^{6, 13b)}では、1 の阻害活性は K_i 値で $7 \mu\text{M}$ まで強くなった。また、本阻害剤は $\alpha(1,3)$ -ガラクトース転移酵素には弱い阻害活性しか示さなかった¹⁵⁾。

GDP-[2 F]-Fuc 5a, 5b の合成においては、 XeF_2 よりも取り扱い容易な Selectfluor 6¹⁶⁾ が用いられた (スキーム 2)¹⁷⁾。すなわち、フコグリカル 7a に 6 と $(\text{BnO})_2\text{PO}_2\text{H}$ を順次反応させ、続く脱保護によって 2-deoxy-2-fluoro- α -fucosyl phosphate 8 を調製し、1H-tetrazole 存在下¹⁸⁾、GMP-morpholidate 9 と反応させて GDP-[2 F]-Fuc 5a を得ている。5a のアノマー異性体である 5b もフコグリカル誘導体 7b のフッ素化により開始される合成スキームにより合成された (スキーム 2)^{8b, 17)}。

また、Wong らは GDP-[6-F]-Fuc 10 を L-ガラクトース 11 を出発原料とし、DAST を 6 位のフッ素化剤として用いて類似の合成ルートで調製している¹⁷⁾。以上の合成経路によって得られた 5a, 5b, 10 のフコース転移酵素に対する阻害活性はいずれも比較的強力であった。

また、天然型 GDP-Fuc とアノマー位の立体が逆である 5a もフコース転移酵素 V, VI に対して強力な阻害剤となることが明らかとなった。興味あることに 5b はフコース転移酵素 III に対しては基質としても作用したと報告されている^{17, 19)}。

同様の発想で、シアル酸転移酵素に対する阻害剤も合成された。ここでも 6 は極めて有用なフッ素化剤であり、シアログリカル 12 から 13a, 13b (1:3) を 80% の収率で与えた²⁰⁾。続いて 13b にホスホロアミダイト 14 を用いる Halcomb 法²¹⁾を適用し、3 位がフッ素化された CMP-シアル酸誘導体 15 を合成している (スキーム 3)²⁰⁾。15 の $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素に対する K_i 値は $5.7 \pm 1.2 \mu\text{M}$ と小さいが、本酵素に対する CMP-NeuAc の K_m 値 ($15 \mu\text{M}$) も小さいことより、強力な阻害剤とは言い難い²²⁾。

先に、核酸塩基の化学修飾をした糖ヌクレオチド類似体の合成例は少ないと述べたが、筆者らは、抗がん剤として有名な 5-フルオロウラシル (5-FU) を導入した類似体を設計した²³⁾。5-FU はフッ素原子の強い電気陰性度によってラクタム型 16a からラクタム型 16b への互変異性が可能であり、ウラシル誘導体である 5-FU がシトシン類似体として水素結合に関与できる。

すでに筆者らは、L-スレオニナルドラーゼを用いて容易に調製できる γ -シトシル- β -ヒドロキシ- α -L-アミ

Scheme 2 Synthesis of GDP-[2 F]-Fuc 5a, 5b, and 10.

a: Selectfluor, DMF-H₂O (3:1) 60 °C, b: **14**, 1H-tetrazole, CH₃CN, c: TBHP, Et₃N, d: Pd(PPh₃)₄, *i*-Pr₂NH. e: NaOMe, f: NaOH

Scheme 3 Synthesis of 3-fluorinated CMP-NeuAc derivative 15.

ノ酸 17 を出発原料に CMP-シアル酸の類似体 18 を合成したが、その活性は弱いものであった²⁴⁾。その原因は、18 の β -位水酸基の立体配置が CMP-シアル酸の 2'-位水酸基と逆であるためと考え、アミノ酸部位の合成を再検討した。その結果、上述の酵素的アルドール縮合では、望ましくない *threo*-配置の β -ヒドロキシ- α -L-アミノ酸が一方的に得られたが、19 の合成では *erythro*-

配置の L-アミノ酸の割合が高くなった。そこで 19 から CMP-シアル酸の類似体 20 を 18 と同様の経路で合成した(スキーム 4)。類似体 20 のシアル酸転移酵素に対する阻害活性は IC₅₀ 値で 0.15 mM であり、18 の約 2 倍強くなった²³⁾。

5-FU 16a をシトシンの類似体として設計されたシアル酸転移酵素の阻害剤としては、他に 21 がある²⁵⁾。

a: BrCH₂CH₂(OEt)₂, b: HCl aq, c: L-threonine aldolase, glycine

Scheme 4 Synthesis of CMP-NeuAc analog 20 and structure of 21.

2.2 遷移状態における糖部分の平面性に注目した糖ヌクレオチド類似体の合成

糖転移酵素が触媒する遷移状態においては、糖ヌクレオチドのアノマー炭素は sp^2 -性をもっており、糖部分の構造は平面に近づいていると推定される。比較的早い時期に、糖の平面性に注目し、優れた結果を与えた例として Toyokuni らが合成した GDP-フコース類似体 22 がある²⁶⁾。本類似体 22 ではフコース部分は二重結合を環内に有するカルバ糖 23 を利用している。彼らは同時に、飽和のシクロヘキサン環を持ったカルバ糖 24 も合成し、

これをフコース部分に持つ GDP-フコースの類似体 25 の合成にも成功している(スキーム 5)。

そして、最後に得られた類似体 22, 25 の $\alpha(1,3/4)$ -フコース転移酵素(ヒト直腸がん細胞 Colo 205 由来)に対する阻害活性を測定し、予想どおり、フコース部分がより平面的な 22 ($IC_{50}=0.1$ mM) に 25 ($IC_{50}=0.3$ mM) より強い阻害活性がみられた(GDP: $IC_{50}=0.6$ mM)。この結果は、 $\alpha(1-3/4)$ -フコース転移酵素が触媒する遷移状態において、フコース部分がかかなり高い平面性を持っていることを支持している^{8b)}。

Scheme 5 Synthesis of GDP-Fuc analogs 22, 25.

a: imidazole, TBHP, b: Pd/C, H_2 in $NH_3/MeOH$

Scheme 6 CMP-NeuAc analogs 26a, 26b, 29–33.

Scheme 7 Synthesis of CMP-NeuAc analog 33 and UDP-Gal analog 36.

Schmidt らは、シアル酸転移酵素の遷移状態においても、CMP-NeuAc のシアル酸部分が平面性を持つと考え、シアル酸のアノマー位が sp^2 -混成である類似体の合成を行っている。彼らはシアル酸部分にベンゼンやフラン環を利用した大胆な近似を行い、CMP-シアル酸の類似体として **26a**, **26b** のような化合物を合成している²⁷⁾。その合成ルートは、ベンズアルデヒドまたはフルフラールにジベンジルホスホン酸を反応させ α -ヒドロキシホスホン酸 **27a**, **27b** を得、これに cyanoethylphosphoramidite **28** をヌクレオチド前駆体として利用する梶原・橋本法²⁸⁾で CMP を結合させ、最後に接触還元でベンジル基を脱保護するという経路である。**26a**, **26b** のホスホ

ン酸部分をカルボン酸に置換した化合物 **29a**, **29b** は光学活性なマンデル酸から同様の合成経路で調製された。これら化合物の $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素に対する阻害活性を測定したところ、**26a**, **26b** におけるホスホン酸炭素の立体配置は阻害活性に多少の影響を与えたが、ホスホン酸をカルボン酸に置換した場合にはそれ以上の著しい活性の低下が観察された(スキーム 6)。

また、彼らはこれら CMP-シアル酸類似体 **26a**, **26b**, **29a**, **29b** の合成に先駆けて、より CMP-シアル酸に似た **30**–**32** を合成しており、**30** の水酸基をホスホン酸基に置換した **31** が極めて強い阻害活性を持つことを確認している²⁹⁾。そこで、比較的強い活性を示した **32** にホス

Scheme 8 Synthesis of sialyltransferase inhibitor 37.

ホン酸基を導入した **33** を設計し、合成している。合成ルートは比較的簡易であり、**32** の出発原料であった **34** とジアリルホスホン酸とを塩基の存在下に縮合させ、得られるヒドロキシホスホン酸 **35** の水酸基に梶原・橋本法²⁸⁾により CMP を結合させて完成させている(スキーム 7)。**33** の阻害活性は K_i 値で 40 nM と極めて強く、また、 $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素に対する結合は基質の CMP-NeuAc より 3 桁以上も強いことが確かめられた²⁷⁾。

Schmidt の阻害剤設計におけるアノマー炭素の sp^2 -性に対する拘りはガラクトース転移酵素にも及び、UDP-ガラクトース類似体 **36** の合成も報告している³⁰⁾。

2.3 遷移状態における糖とリン酸の結合距離の伸長

に注目した糖ヌクレオチド類似体の合成

糖転移酵素の触媒反応の遷移状態において、糖ヌクレオチドの構造は、糖部分の平面化とともに糖とリン酸の結合の伸長により大きく変化するが、後者の特徴は最近になるまでほとんど注目されなかった。Horenstein は、シアル酸転移酵素の阻害剤の設計においてこの点に注目した阻害剤 **37** の設計を行っている(スキーム 8)³¹⁾。**37a**, **37b** のラット由来 $\alpha(2,6)$ -および $\alpha(2,3)$ -シアル酸転移酵素に対する阻害活性は K_i 値で 10–20 μ M であった。

彼らは同様の発想で azabicyclo[3.1.0]hexane 骨格を持った UDP-GlcNAc 類似体の合成も報告している³²⁾。

一方、フコース転移酵素においても遷移状態での糖-リン酸結合の伸長に注目した阻害剤 **38**, **39a**, **39b** の合成が比較的早い時期に Smith Kline Beecham 社のグループによって行われた³³⁾。彼らはこれら GDP-フコース類似体の合成において、L-フコースを C-グリコシル化し、1 位からメチレン鎖の伸びた L-フコースと GDP と結合させている。すなわち、 α -L-fucopyranoside peracetate **40** にコバルト触媒によるシロキシメチル化反応³⁴⁾を適

用し **41** を収率よく得、本反応を鍵段階として **38** が合成された。また 1 位から二炭素伸びたフコース誘導体は、**40** とアリルシランとの反応で得られる C-アリル-L-フコシド **42a**, **42b** のオゾン分解によって合成された。ニトロメタン中、**40** を TMSOTf 存在下にアリルシランと反応させると α -C-フコシド **42a** が主生成物として得られてくる($42a : 42b = 14 : 1$)³⁵⁾のに対し、ルイス酸として $ZnBr_2$ を用いる条件³⁶⁾では、 α -体 **42a** と β -体 **42b** がほぼ 1:1 で得られる。これらをオゾン分解と続く $NaBH_4$ 還元により一級アルコール **43a**, **43b** に変換し、リン酸化後、**9** とカップリングさせ、**39a**, **39b** を得ている(スキーム 9)。残念ながらこれら類似体 **38**, **39a**, **39b** の阻害活性は記載されていない。

一方、Thiem らも α -C-ガラクトシドのリン酸エステル **44** をメチルガラクトシド **45** と TMS-プロパルギルとの反応を鍵段階として調製し³⁷⁾, uridine phosphomorpholidate **46** とカップリングさせ、ガラクトースとジリン酸部分の距離が 1 炭素伸びた UDP-ガラクトース類似体 **47a** を合成している(スキーム 10)。彼らは、同様の手法で UDP-N-アセチルグルコサミンの類似体 **48** の合成も行っている³⁸⁾。なお、**47a** とそのアノマー異性体 **47b** の $\alpha(1,3)$ -ガラクトース転移酵素(ブタ由来)に対する阻害活性については Schmidt によって、50 μ M で活性は見られなかったと報告されている³⁹⁾。

2.4 リン酸部分を他の官能基に変換した類似体の合成

糖ヌクレオチドのリン酸部分を他の官能基に置換した類似体は、その化学的安定性から早くから注目されてきた。特にホスホン酸やマロン酸誘導体、さらには単糖がリン酸部分の類似官能基として利用されてきた。

2.4.1 リン酸部分をホスホン酸に置換した類似体

リン酸部分のホスホン酸への置換は CMP-シアル酸の

a: $\text{Co}_2(\text{CO})_8$, CO, HSiEt_2Me , b: AcOH, c: allylsilane, TMSOTf, CH_3NO_2 , d: O_3 and then NaBH_4 , e: $(\text{PhO})_2\text{POCl}$, pyr., f: PtO_2 , H_2 , g: K_2CO_3 , MeOH, h: **9**, pyr.

Scheme 9 Synthetic route of GDP-Fuc analogs **38**, **39a**, **39b**.

Scheme 10 Synthesis of UDP-Gal analogs 47a, 47b and UDP-GlcNAc analog 48.

類似体で盛んに研究された。すでにその一部は 2.2 で紹介した。橋本らは、シアリルホスファイトからホスホン酸への転位反応を利用して CMP-シアル酸のホスホン酸類似体 49a, 49b を合成している⁴⁰⁾。シアル酸誘導体 50 から調製できるジベンジルホスファイト 51 を TMSOTf 存在下, dimethyl trimethylsilyl-phosphite と反応させ, ジメチルホスホン酸 52a, 52b へと誘導し, ベンゼンチオール-トリエチルアミン⁴¹⁾でモノメチルホスホン酸 53a, 53b を得ている。最後に, トリアセチルシチジンと 53a, 53b とをそれぞれ光延反応条件下で縮合し, すべての保護基を除去して 49a, 49b を得ている(スキーム 11)。ラット肝臓由来の $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素に対する阻害活性は, K_i 値でそれぞれ 250 μM , 780 μM であり, 弱い活性しか示さなかった。後に, Schmidt らも同類似体の合成を報告している⁴²⁾。

橋本らは, さらに強い阻害剤を指向し, 糖とリン酸に相当する部分の距離が長い CMP-シアル酸の類似体 54 を合成している⁴³⁾。 β -C-アリルシアロシド 55⁴⁴⁾から 8 工程でホスホン酸エステル 56 を得, TBS 基を除去し, 酸化とそれに続くメチルエステル化で 57a へと誘導した。さらに 57a のジメチルホスホン酸エステルをモノメチルホスホン酸 57b とした後⁴¹⁾, トリアセチルシチジンと BOP で縮合し, 縮合生成物の保護基をすべて脱保護し, 54 が得られている。本類似体の阻害活性は $\alpha(2,3)$ - および $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素に対し IC_{50} 値でそれぞれ 47 μM , 340 μM であった(スキーム 11)。

ホスホン酸誘導体がジリン酸結合をもつ糖スクレオチドの類似体として利用された例は, もっと早くに報告されている。Vaghefi らは, 2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-1-*O*-acetyl-D-galactose 58 を TMSOTf 存在下, tris(trimethylsilyl)phosphite と反応させるとガラクトースの 1 位にホスホン酸を形成できることを報告している⁴⁵⁾。生成した 59 と uridine 5'-phosphonic di-*n*-butylphosphinothioic anhydride 60⁴⁶⁾と縮合させ UDP-ガラクトース類似体 61 を合成している(スキーム 12)。61 のガラクトース転移酵素(L 1210 白血病細胞由来)に対する阻害活性は K_i 値で 165 μM であり, UDP-Gal の K_m 値(13.7 μM)と比較すると微弱であった。

また, 彼らはジリン酸部分をメチレンジホスホン酸で置換した UDP-ガラクトース類似体 62 を合成している⁴⁷⁾。 β -D-Galactose pentaacetate 63 とジフェニルホスホン酸 64 とを減圧下, 高温で縮合させた後, 脱保護し 65 を得, 最後に 1-(mesitylene-2-sulfonyl)-3-nitro-1,2,4-triazole(MNST) 66⁴⁸⁾ でジアセチルウリジンと縮合し, アセチル基を除去して UDP-ガラクトース類似体 62 を得ている(スキーム 12)。ガラクトース転移酵素(L 1210 白血病細胞由来)に対する阻害活性は K_i 値で 96.9 μM であり, 61 とほぼ同等であった。

GDP-Fuc のホスホン酸類似体 67 もプロミド 68 の Arbusov 反応を利用して合成されている(スキーム 12)³³⁾。

Scheme 11 Synthesis of phosphonic acid analogs of CMP-NeuAc 49a, 49b, 54.

Scheme 12 Synthesis of UDP-Gal analogs 61, 62 and GDP-Fuc analog 67.

2.4.2 リン酸部分を単糖で置換した類似体の合成

ドリコールリン酸に GlcNAc-1-リン酸を転移する転移酵素の阻害剤であるツニカマイシン 69 は、強力な阻

害剤であるにもかかわらず、本酵素反応の遷移状態 70 中に存在するリン酸基を全く持っていない⁴⁹⁾。しかし、69 と 70 の構造を比較すると、遷移状態のリン酸部分は

a: Ac_2O , pyr., b: HBr in AcOH, c: $\text{Hg}(\text{CN})_2$, d: MeONa, MeOH, e: Dowex 50 $[\text{H}^+]$

Scheme 13 Structure of tunicamycin 69 and synthesis of 5'-O- β -lactosyl-uridine 71.

ツニカマイシンでは七炭糖に対応していることがわかる (スキーム 13)。69 のような糖-リン酸部分がオリゴ糖できている糖ヌクレオチド類似体の合成例は現在までのところ 1 例である。Wong らは、5'-O- β -lactosyluridine 71 の合成を行い、これが L 1210 白血病腹水由来の $\beta(1,4)$ -ガラクトース転移酵素に対して阻害活性を有することを報告している (スキーム 13)⁵⁰⁾。後に Field らは 71 を別途合成し、ウシ由来の同酵素を阻害しなかったとしており、同じ酵素でも由来が異なると必ずしも阻害活性が見られないことを指摘している⁵¹⁾。

2.4.3 リン酸部分をマロン酸および酒石酸誘導体で置換した類似体の合成

リン酸部分をマロン酸および酒石酸誘導体で置換した糖ヌクレオチド類似体に関しては、残念ながら、糖転移酵素に阻害活性を持つと明示されたものはない^{50, 52)}。

2.4.4 リン酸部分をペプチド結合で置換した類似体の合成

リン酸部分がペプチド結合で置換した糖ヌクレオチド

類似体は、nikkomycin Z 72⁵³⁾や polyoxin J 73⁵⁴⁾などの抗生物質として見出されており (図 1)、特に 72 は *N*-アセチルグルコサミン転移酵素の 1 つであるキチン合成酵素を阻害すると報告されている⁵³⁾。

そこで、筆者らは、前述した L -スレオニアルドラーゼの触媒反応を利用して GDP-フコース類似体 74a, 74b を合成した (スキーム 14)⁵⁵⁾。すなわち、クロログアニン 75 から 2 工程で調製できるアルデヒド 76 を、上記酵素反応によりグリシンと縮合させ β -ヒドロキシ- α - L -アミノ酸 77 を得た。これと別途合成したフコース誘導体 78a, 78b とを EDC で縮合させ、保護基を除去して 74a, 74b を得た。これらのフコース転移酵素に対する阻害活性は微弱であった。これは、74a, 74b では GDP-Fuc のジリン酸部分に相当する箇所に、本転移酵素の活性発現に必須の Mn^{2+} とキレート形成できる官能基が欠落しているためと考えられる。現在、 Mn^{2+} とキレート形成可能な 74c の合成を検討中である^{55b)}。

Fig. 1 Structures of nikkomycin Z 72 and polyoxin J 73.

a: K_2CO_3 , $BrCH_2CH(OEt)_2$, b: 1 M HCl, c: L-threonine aldolase, glycine, d: Na/liq. NH_3 , e: Ac_2O , pyr., f: RuO_2 , $NaIO_4$, g: KOH / MeOH, h: 78a or 78b, DCC, HOBT, NMM, i: 0.02 M, NaOMe / MeOH, j: 0.01 M NaOH aq.

Scheme 14 Synthesis of GDP-Fuc analogs 74a, 74b.

2.5 糖部分を他の化合物で置換した阻害剤の合成

糖部分を他の化合物で置換した糖ヌクレオチド類似体は意外に少ない。その中で、Schmidt はシアル酸部分をキニン酸で置換した CMP-シアル酸類似体 79 を合成している。本類似体はラット肝臓由来の $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素に対して K_i 値で $84 \mu M$ の阻害活性を示した (図 2)^{56a)}。また、現在までに報告されている最も強力なシアル酸転位酵素の阻害剤 80 ($K_i = 29 \text{ nM}$) も本カテゴリーに包含できる^{56b)}。

Fig. 2 Structures of CMP-NeuAc analogs 79, 80.

3. 受容体基質の類似体(受容体アナログ)

Hindsgaul のグループは *N*-アセチルグルコサミン転移酵素 V の阻害剤として、転移を受けるマンノースの 6 位水酸基近傍の 4 位水酸基をメチル化した三糖 81 およびデオキシ化した三糖 82 を合成し、その阻害活性を測定している (図 3)。その結果、81 は K_i 値で $14 \mu M$ と比較的強い阻害活性を示したが、82 はむしろ優れた基質

($K_m = 74 \mu M$) となることが明らかにされた⁵⁷⁾。メトキシ体 81 の阻害活性はドナー糖の接近を立体的にブロックした結果であると説明できる。

しかし、その後、彼らは糖転移を受ける水酸基をデオキシ化した受容体アナログ 7 種 (83–89) を合成し、デオキシアナログが必ずしも阻害剤にならないことを報告している (図 3)。デオキシアナログが阻害剤とならない理由は、酵素が受容体基質を認識する時にこれらの水酸基が必須であると考えられている^{14a)}。

また、橋本らは *N*-アセチラクトサミンの 6'-位水酸基をデオキシ化またはチオール化した 90a, 90b を合成し、90a が $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素を弱いながら阻害する ($K_i = 0.76 \text{ mM}$) と報告している (図 3)⁵⁸⁾。

4. 二基質阻害剤(Bisubstrate inhibitor)

糖転移酵素は、ドナーとなる糖ヌクレオチドだけでなく、受容体となるオリゴ糖鎖も基質とする。これら 2 つの基質が同時に酵素の活性部位に取り込まれると考えられるため、2 つの基質を共有結合で繋いだ分子は遷移状態の構造類似体であり、強力な阻害剤となり得る。この発想によって合成される糖転移酵素の阻害剤は二基質阻害剤と呼ばれ、特定の酵素に対する高い選択性を示す阻害剤になり得ると期待されている。最初の二基質阻害剤は、1989 年に Hindsgaul らによって合成された $\alpha(1,2)$ -フコース転移酵素に対する阻害剤 91 である ($K_i = 2.3 -$

Fig. 3 Acceptor analog as the inhibitors of glycosyltransferases 81–90.

Fig. 4 The first bisubstrate-inhibitor synthesized by Hindsgaul's group 91.

16 μ M)⁵⁹⁾。しかし、その構造は受容体となるガラクトースを含んでいるが、フコース転移酵素が触媒する反応の遷移状態類似体としては余りにも簡略化されたため、二基質阻害剤とみなすよりも糖ヌクレオチド類似体とみることも可能である(図4)。

実際、橋本らは糖とヌクレオチドの組合せが不適当なUDP-フコース(UDP-Fuc)やUDP-マンノース(UDP-Man)が、UDP-ガラクトースを基質とする $\beta(1,4)$ -ガラクトース転移酵素を強く阻害することを見出しており(UDP-Fuc : K_i = 10 μ M, UDP-Man : K_i = 8.8 μ M)⁶⁰⁾、91が糖ヌクレオチド類似体としてフコース転移酵素を阻害したことを否定できない⁶⁾。

その後、糖鎖合成の進歩に従って活性、選択性の両面から優れた阻害剤が開発されてきた。

4.1 ガラクトース転移酵素に対する阻害剤

ドナー、受容体糖、およびヌクレオチドの3成分から構成される最初の本格的な二基質阻害剤は、橋本らによって合成された $\beta(1,4)$ -ガラクトース転移酵素の阻害剤92である⁶¹⁾。彼らは、ドナーであるUDP-Galの2位水酸基と受容体糖のN-アセチルグルコサミンの6位水酸基をメチレンで繋ぎ、 $\beta(1,4)$ -ガラクトース転移酵素触媒反応の反応サイトであるガラクトース1位の炭素とN-アセチルグルコサミン4位の水酸基が近づくように阻害剤を設計した。本阻害剤の合成は短工程であり、活性も強く、 K_i 値で1.35 μ M(GlcNAcに対して)、3.3 μ M(UDP-Galに対して)であった(スキーム15)。

その後、Schmidtらは $\alpha(1,3)$ -ガラクトース転移酵素に対する二基質阻害剤93a, 93bを合成している³⁹⁾。彼

Scheme 15 Synthetic route of the inhibitor 92 against $\beta(1,4)$ -galactosyltransferase.

Scheme 16 Bisubstrate inhibitors against $\alpha(1,3)$ -galactosyltransferases 93a, 93b.

らはまず、ガラクトノラクトン 94 より 8 工程で得られたアルデヒド体 95a, 95b を $t\text{-BuLi}$ の存在下、ヨード体 96 とカップリングさせて二糖類似体 97a, 97b を合成した。カップリング反応で生成した水酸基を Barton 法によって除去し、続いて TBS 基を除去し、リン酸エステルへ 98a, 98b へと誘導し、さらに 4 工程で 93a, 93b の合成に成功している (スキーム 16)。アッセイの結果、ブタ由来の $\alpha(1,3)$ -ガラクトース転移酵素に対して 93b は $50\text{ }\mu\text{M}$ の濃度で阻害活性を示さず、93a は IC_{50} 値で $5\text{ }\mu\text{M}$ の活性を示した。本阻害剤は例の少ない保持酵素 (第 5 節参照) の阻害剤である。

4.2 N -アセチルグルコサミン転移酵素 (GnTase) に対する阻害剤

阻害剤開発の観点からは、転移性の高いがん細胞において強発現している N -アセチルグルコサミン転移酵素 V (GnTase V)⁶²⁾ およびその類縁酵素 (ホモログ) である GnTase IX⁶³⁾ に対する阻害剤に興味が集まっている。これらの GnTase はマンノースの 6 位に N -アセチルグルコサミンを転移する反応を触媒する。そのため、マンノースの 6 位と UDP-GlcNAc とを近づけた遷移状態アナログが二基質阻害剤として設計された。

伊藤、眞鍋らは、比較的分子量が小さく極性の高いポリエチレングリコールモノメチルエーテル (MPEG) を支

a: Et_3SiH , TFA, CH_2Cl_2 , b: **I**, NIS, TfOH, MS4A, CH_2Cl_2 , c: hydrazinedithiocarbonate, CH_3CN , d: **II**, NIS, TfOH, MS4A, e: Fmoc-Cys-Wang resin, $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$, f: 4-aminomethylpiperidine, g: 60% AcOH, 60 °C, h: 1 M KOH in EtOH/THF, i: $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$, BuOH, 100 °C, j: Ac_2O , pyr. k: 0.05 M NaOMe, MeOH, l: TMSCHN_2 , m: TsCl, DMAP, CH_2Cl_2 , n: $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$, H_2 , AcOH, MeOH, o: AcSK, DMF, 70 °C p: 0.05 M NaOMe/MeOH.

Scheme 17 Synthesis of trisaccharide 100.

$K_i = 7.2 \mu\text{M}$ to GlcNAcTase IX

a: $\text{H}_2\text{NNH}_2/\text{AcOH}$, THF, b: TBSCl, imidazole, c: DMF, $\text{Pd-C}/\text{H}_2$, d: $(\text{BrCH}_2\text{CO})_2\text{O}$, pyr. CH_2Cl_2 , e: 47% aq. HF, CH_3CN , f: $(i\text{-Pr})_2\text{N-P}(\text{O}(\text{All}))_2$, 1H-tetrazole, CH_2Cl_2 , g: TBHP, h: $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$, Et_3SiH , AcOH, i: TCEP.HCl, aq. MeOH, j: **101**, $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$, k: Et_3N , l: **46**, 1H-tetrazole, pyr.

Scheme 18 Synthetic route of the inhibitor against *N*-acetylglucosaminyltransferase 99.

持体とする手法を糖鎖合成に展開し^{64,65)}、本手法を応用して阻害剤 99 の合成を行っている(スキーム 18)⁶⁶⁾。彼らは、Hodosi-Kovac の β -マンノシル化⁶⁹⁾によって β -マンノシドを MPEG に固定化し、受容体となる三糖を合成した。本合成においては、多くの実用的な工夫⁶⁴⁾

がなされたが合成経路のみを紹介する。最終的に三糖を MPEG から遊離させ、6 工程で三糖のジスルフィド体 100 を収率よく得ている(スキーム 17)。

次に、三糖 100 を tris(2-carboxyethyl)phosphine (TCEP) で還元しチオールとし、一方で GlcNAc-1-リン

酸ユニット 101 をグルコサミン誘導体から合成し、*i*-Pr₂NEt 存在下にこれらをカップリングさせて四糖からなるスルフィド体 102 を得ている。最後に GlcNAc の 1 位リン酸基を 46 と反応させ、当初設計した二基質阻害剤 99 の合成に成功している(スキーム 18)。99 は、GlcNAcTase IX に対して強い阻害活性を示し、*K_i* 値は 7.2 μ M であった。

4.3 シアル酸転移酵素に対する阻害剤

スルフィド結合を介してドナー基質と受容体基質を結合させるという考え方は、シアル酸転移酵素の阻害剤の設計、合成にも適用された。伊藤らは本阻害剤の設計においては、 $\alpha(2,3)$ -と $\alpha(2,6)$ -シアロ転移ではシアル酸が転移するガラクトースの水酸基が異なるため、ドナーと受容体糖鎖を繋ぐメチレンの長さを調節することによりシアル酸の 2 位とこれら水酸基の距離をコントロール

Scheme 19 Synthesis of the inhibitors against sialyltransferases 111–115.

Table 1 Inhibitory activities of 111–115 against $\alpha(2,3)$ - and $\alpha(2,6)$ -sialyltransferases.

	ST6N <i>K_i</i> (μ M)		ST3N <i>K_i</i> (μ M)	
	donor	acceptor	donor	acceptor
111a	10	13	10	13
112a	27	48	45	22
113a	R = NHAc	207	243	226
114a		11	6	7
115a		11	29	110
111b	R = OH	102	195	158
112b		85	111	324
113b		54	124	88
114b		42	40	78
115b		43	66	51
LacNAc		2380*		2630*
CMP-NeuAc	43*		74*	

* *K_m* value

a: PhSH, Et₃N, b: triacetylcytidine, BOP, DIEA, DMF, c: TBAF, THF, AcOH, d: 118, 1H-tetrazole, CH₃CN, e: TBHP, f: NH₄OH, MeOH

Scheme 20 Synthesis of inhibitor against sialyltransferase 116.

することが可能であり、上述2種のシアル酸転移酵素に対する選択的阻害剤の合成が可能であると考えた⁶⁸⁾。

まず、メチル *N*-アセチラクトサミニドまたはメチルラクトシドの6'-位トシラート 103a, 103b をチオール 104 へ誘導後、クロロメチル化とそれに続くチオアセタートによる S_N2 反応によりチオアセタール 105 へと誘導した。また、103a, 103b と4種のアルカンジチオールとの反応およびそれに続くアセチル化でメチレン鎖が2-5の誘導体 106-109 の調製を行っている。得られたラクトース誘導体とシアル酸のプロモヒドリン体 110 とを塩基存在下、カップリングさせシアル酸を含む三糖から構成されたスルフィド体を合成し、これに CMP を結合させ 111-115 が得られている(スキーム 19)。111-115 の阻害活性を表 1 に示した。

伊藤らの報告に続いて、橋本らもシアル酸転移酵素に対する二基質阻害剤 116 の合成を報告している。本合成は、先に述べた合成中間体 56 から誘導される 117 に galactosid-6-yl phosphoramidite 118 を縮合させ、ホスファイトを TBHP でホスホン酸エステルに酸化後、脱保護を行い達成している(スキーム 20)。本阻害剤の α(2,3)-および α(2,6)-シアル酸転移酵素に対する阻害活性は IC₅₀ 値で 1.3 mM, 2.4 mM であり、ドナー類似体である 54 よりも弱い活性しか示さなかった⁴³⁾。

4.4 フコース転移酵素に対する阻害剤

現在までのところフコース転移酵素に対する二基質阻害剤は開発されていない。しかし、Wong らは、アザ糖

を含む三糖と GDP を共存させると、それぞれを単独に阻害剤として用いたときよりも相乗的にフコース転移酵素 V を阻害することを報告しており、広義な二基質阻害剤と考えることができる⁶⁹⁾。本阻害剤の開発に先立って、彼らは、フコース転移酵素 V に対するフコース類似のアザ糖 119 と GDP の共存による相乗的阻害について報告している⁷⁰⁾。これはアザ糖のイミノ基がプロトン化され、フコース転移酵素の触媒する反応の遷移状態において、受容体糖鎖(水酸基)の求核攻撃に先立って生成するオキソカルベニウム中間体のミミックとして作用しているためであると推定されている(図 5)。

本発想を二基質阻害剤の開発に応用するために、彼らは FDP-アルドラーゼを用いた酵素的アルドール縮合を鍵段階とし β-L-homofuconojirimycin 120 を合成し、これと *N*-アセチラクトサミンの 3-位水酸基とを繋いだアザ三糖 121 の合成を行っている(スキーム 21)。

合成した 121 は、フコース転移酵素に対して生理条件と同程度の GDP (0.030-0.050 mM)⁷¹⁾ の存在下で相乗的阻害活性を示し、強力な阻害剤として作用した。

5. 糖転移酵素阻害剤に残る疑問

糖転移酵素は、ドナーとなる糖ヌクレオチドでのアノマー位の立体化学が、生成するグリコシド結合の立体化学と同じである反応を触媒する保持酵素と反転する反応を触媒する反転酵素に大別できる。本稿で述べてきた阻害剤のほとんどは反転酵素に対する阻害剤であり、保持

Fig. 5 Mechanism of the synergistic inhibition by GDP and azafucose 119 against fucosyltransferase.

a: 1*H*-tetrazole, **I**, b: **II**, TMSOTf, c: O₃ in CH₂Cl₂-MeOH, then Me₂S, and then NaBH₄, d: Tf₂O, *i*-Pr₂NEt, CH₂Cl₂, e: **III**, f: MeONa, MeOH, g: Pd(OH)₂/C H₂, MeOH-AcOH, h: NaH, BnBr, i: Pd(OH)₂/C, H₂

Scheme 21 Synthetic route of azatrissaccharide 121.

酵素に対する阻害活性を示したものは 93a だけである³⁹⁾。また、 β (1,4)-ガラクトース転移酵素(反転酵素)に対して強い阻害作用($K_i=2\ \mu\text{M}$)を示した **1** は、同じ UDP-Gal をドナーとして利用する α (1,3)-ガラクトース転移酵素(保持酵素)に対して、同条件下(10 mM Mn²⁺)で阻害活性をほとんど示さなかった^{10, 72)}。さらに、UDP 部分を持たないイミノ糖⁷³⁾が α (1,3)-ガラクトース転移酵素に対して強力な非競合阻害剤となることが見出されている。

すでにこれら2つのタイプのガラクトース転移酵素と UDP との複合体の構造は 1.5–2 Å の分解能で解析され

ているが、ガラクトースおよび受容体糖鎖とガラクトース転移酵素との相互作用については依然、明らかでない⁴⁾。それゆえ、保持酵素が触媒する糖転移反応では、酵素-糖の共有結合中間体が形成されている可能性も示唆されている⁷⁴⁾。今後の研究の発展に期待したい。

6. アンチセンス法による糖転移酵素の阻害

糖転移酵素をコードしている糖鎖遺伝子のアンチセンス DNA を合成し、これら遺伝子の発現を抑制する手法がわずかながら報告されている。ヒトゲノムの全長が 30 億塩基対であるため、理論上は 16 塩基配列をもつア

ンチセンスを合成するとゲノム中の特定の遺伝子の発現を阻害することが可能となる。1997年にKemmererらは、ヒトの $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素のcDNAの開始コドンに隣接する領域に相補的なアンチセンスを調製し、本アンチセンス(CAU AAU GAA GAU GUG UUC:18塩基)を用いてヒト大腸がん細胞HT29における $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素の発現を2 μ Mレベルで抑制することに成功している⁷⁵⁾。また、1999年にYuらは、 $\alpha(2,6)$ -シアル酸転移酵素の一種であるGD3合成酵素の5'-末端フラグメントを含むアンチセンスベクターを合成して神経芽腫細胞F-11に導入させ、本糖転移酵素の発現および本酵素の生成物であるGD3の存在割合を抑制することに成功している⁷⁶⁾。

おわりに

以上、糖転移酵素に対する阻害剤の開発に関する最近の進歩を概観してみた。活性、選択性において優れた阻害剤が報告されるようになってきたと感じとれる。しかし、ようやく優れた阻害剤の合成が発表される頃になって、機械で合成可能なアンチセンスで糖転移酵素の発現を抑制できると聞き、複雑な気持ちになる合成化学者も少なくないはずである。実用面でアンチセンスよりも優れた糖転移酵素の阻害剤が開発されることを期待したい⁷⁷⁾。

(2006年3月9日受理)

文 献

- For example, M. E. Taylor, K. Drickamer, *Introduction to Glycobiology*, Oxford Press (2003)
- For example, Fraiese-Reid, K. Tatsuta, J. Thiem, *Glycoscience*, Springer Verlag (2000)
- N. Taniguchi, K. Honke, M. Fukuda eds, *Handbook of Glycosyltransferases and Related Genes*, Springer Verlags (2001)
- (a) L. N. Gastinel, C. Cambillau, Y. Bourne, *EMBO J.*, **18**, 3546 (1999); (b) S. J. Chanock, G. J. Davies, *Biochemistry*, **38**, 6380 (1999); (c) L. C. Pederson, K. Tsuchida, H. Kitagawa, K. Sugahara, T. A. Darden, M. Negishi, *J. Biol. Chem.*, **275**, 34580 (2000); (d) K. Persson, H. D. Ly, M. Dieckelmann, W. W. Wakarchuk, S. G. Withers, N. C. J. Strynadka, *Nature Structural Biology*, **8**, 166 (2001); (e) L. N. Gastinel, C. Bignon, A. K. Misra, O. Hindsgaul, J. H. Shaper, D. H. Jozi-asse, *EMBO J.*, **20**, 638 (2001); (f) E. Boix, Y. Zhang, G. J. Swaminathan, K. Brew, *J. Biol. Chem.*, **277**, 28310 (2002)
- For example, (a) P. Compain, O. R. Martin, *Bioorg. Med. Chem.*, **9**, 3077 (2001); (b) K.-H. Jung, R. Schworer, R. R. Schmidt, *Trends in Glycosci. and Glycotech.*, **15**, 275 (2003)
- Y. Ichikawa, Y.-C. Lin, D. P. Dumas, G.-J. Shen, E. Garcia-Junceda, M. A. Williams, R. Bayer, C. Ketcham, L. E. Walker, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 9283 (1992)
- For example, (a) S. G. Withers, I. P. Street, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 8551 (1988); (b) J. D. McCarter, S. G. Withers, *ibid.*, **118**, 241 (1996)
- (a) J. B. Thoden, A. D. Hegeman, G. Wesenberg, M. C. Chapeau, P. A. Frey, H. M. Holden, *Biochemistry*, **36**, 6294 (1997); (b) B. W. Murray, V. Wittmann, M. D. Burkart, S.-C. Hung, C.-H. Wong, *ibid.*, **36**, 823 (1997)
- (a) W. Korytnyk, S. Valente-kovic-Horvat, *Tetrahedron Lett.*, **21**, 1493 (1980); (b) M. A. Tius, *Tetrahedron*, **51**, 6605 (1995)
- T. Hayashi, B. W. Murray, R. Wang, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.*, **5**, 497 (1997)
- P. Thomas, E. M. Bassel, J. H. Westwood, *Biochem. J.*, **139**, 661 (1974)
- (a) J. E. Heidlas, W. J. Lees, G. M. Whitesides, *J. Org. Chem.*, **57**, 152 (1992); (b) C.-H. Wong, R. Wang, Y. Ichikawa, *ibid.*, **57**, 4343 (1992)
- (a) J. F. Morrison, K. E. Ebner, *J. Biol. Chem.*, **246**, 3977 (1971); (b) H. Babad, W. Z. Hassid, *ibid.*, **241**, 2672 (1966)
- (a) O. Hindsgaul, K. J. Kaur, G. Srivastava, M. Thurin, S. C. Crawley, L. D. Heerze, M. M. Palcic, *J. Biol. Chem.*, **266**, 17858 (1991); (b) K. Sujino, C. Malet, O. Hindsgaul, M. M. Palcic, *Carbohydr. Res.*, **305**, 483 (1998); (c) W. M. Blanken, D. H. van Eijnden, *J. Biol. Chem.*, **260**, 12927 (1985)
- S. Takayama, S. J. Chung, Y. Igarashi, Y. Ichikawa, A. Sepp, R. I. Lechler, J. Wu, T. Hayashi, G. Siuzdak, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.*, **7**, 401 (1999)
- (a) S. Stavber, T. Sotler, M. Zupan, *Tetrahedron Lett.*, **35**, 1105 (1994); (b) M. D. Burkart, Z. Zhang, S.-C. Hung, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 11743 (1997); (c) S. P. Vincent, M. D. Burkart, C.-Y. Tsai, Z. Zhang, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.*, **64**, 5264 (1999)
- (a) M. D. Burkart, S. P. Vincent, A. Duffels, B. M. Murray, S. V. Ley, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.*, **8**, 1937 (2000)
- V. Wittmann, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.*, **62**, 2144 (1997)
- G. Baish, R. Ohrlein, A. Katopodis, M. Streiff, F. Kolbinger, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 2447 (1997)
- M. D. Burkart, S. P. Vincent, C.-H. Wong, *Chem. Commun.*, **1999**, 1525
- M. D. Chappell, R. L. Halcomb, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 3393 (1997)
- J. Weinstein, U. De Sousa-e-Silva, J. C. Paulson, *J. Biol. Chem.*, **257**, 13835 (1982)
- S. Nakahara, T. Tanaka, K. Noguchi, K. Nozaki, S. Tsuji, T. Miura, T. Kajimoto, *Heterocycles*, **63**, 779 (2004)
- T. Tanaka, M. Ozawa, T. Miura, T. Inazu, S. Tsuji, T. Kajimoto, *Synlett*, **2002**, 1487
- I. Kijima-Suda, Y. Miyamoto, S. Toyoshima, M. Itoh, T. Osawa, *Cancer Res.*, **46**, 858 (1986)
- S. Cai, M. R. Stround, S. Hakomori, T. Tokokuni, *J. Org. Chem.*, **57**, 6693 (1992)
- B. Müller, C. Schaub, R. R. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**, 2893 (1998)
- Y. Kajiwar, K. Koseki, T. Ebata, H. Kodama, H. Matsushita, H. Hashimoto, *J. Org. Chem.*, **60**, 5732 (1995)
- F. Amann, C. Schaub, B. Müller, R. R. Schmidt, *Chem. Eur. J.*, **4**, 1106 (1998)
- R. R. Schmidt, K. Frische, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **3**, 1747 (1990)
- H. Sun, J. Yang, K. E. Amaral, B. A. Horenstein, *Tetrahedron Lett.*, **42**, 2451 (2001)
- J. Elain, P. Young, N. A. Horenstein, *Tetrahedron Lett.*, **45**, 9505 (2004)
- J. I. Luengo, J. G. Gleason, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 6911 (1992)
- N. Chatani, T. Ikeda, T. Sano, N. Sonoda, H. Kurosawa, Y. Kawasaki, S. Murai, *J. Org. Chem.*, **53**, 3387 (1988)
- T. L. Cupps, D. S. Wise, L. B. Townsend, *J. Org. Chem.*, **47**, 5115 (1982)
- A. P. Kozikowski, K. L. Sorgi, *Tetrahedron Lett.*, **23**, 2281 (1982)
- W. R. Kobertz, C. R. Bertozzi, M. D. Bednarski, *Tetrahedron Lett.*, **33**, 737 (1992)
- A. Schäfer, J. Thiem, *J. Org. Chem.*, **65**, 24 (2000)
- B. Waldscheck, M. Streiff, W. Notz, W. Kinzy, R. R. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 4007 (2001)

- 40) M. Imamura, H. Hashimoto, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 1451 (1996)
- 41) G. W. Daub, E. E. van Tameken, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 3526 (1977)
- 42) B. Muller, T. J. Martin, C. Schaub, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.*, **39**, 509 (1998)
- 43) M. Izumi, K. Wada, H. Yuasa, H. Hashimoto, *J. Org. Chem.*, **70**, 8817 (2005)
- 44) H. Paulsen, P. Matschulat, *Liebigs Ann. Chem.*, **1991**, 487
- 45) M. M. Vaghefi, R. J. Bernacki, N. K. Dalley, B. E. Wilson, R. K. Robins, *J. Med. Chem.*, **30**, 1383 (1987)
- 46) K. Furusawa, M. Sekine, T. Hata, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1976**, 1711
- 47) M. M. Vaghefi, R. J. Bernacki, W. J. Hennen, R. K. Robins, *J. Med. Chem.*, **30**, 1391 (1987)
- 48) S. S. Jones, R. Rayner, C. B. Reese, A. Ubasawa, M. Ubasawa, *Tetrahedron*, **36**, 3075 (1980)
- 49) A. Takatsuki, K. Arima, G. Tamura, *J. Antibiot.*, **24**, 215 (1971)
- 50) R. Wang, D. H. Steensma, Y. Takaoka, J. W. Yun, T. Kajimoto, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.*, **5**, 661 (1997)
- 51) L. Ballell, R. J. Young, R. A. Field, *Org. Biomol. Chem.*, **3**, 1109 (2005)
- 52) B. M. Heskamp, G. H. Veeneman, G. A. van der Marel, C. A. A. van Boeckel, J. H. van Boom, *Tetrahedron*, **51**, 8397 (1995)
- 53) (a) W. A. König, H. Hahn, R. Rathman, W. Hass, A. Keckeisen, H. Hagenmaier, C. Bormann, W. Dehler, R. Kurth, H. Zahner, *Liebigs Ann. Chem.*, **1986**, 407; (b) A. K. Saksena, R. G. Lavery, V. M. Girijavallabhan, H. Guzik, A. Ganguly, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 3267 (1993)
- 54) (a) S. Suzuki, K. Isono, J. Nagatsu, T. Mizutani, Y. Kawashima, T. Mizuno, *J. Antibiot., Ser. A*, **18**, 131 (1965); (b) K. Isono, K. Asahi, S. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 7490 (1969)
- 55) (a) T. Tanaka, C. Tsuda, T. Miura, T. Inazu, S. Tsuji, S. Nishihara, M. Hisamatsu, T. Kajimoto, *Synlett*, **2004**, 243; (b) 日本薬学会第125年会講演要旨集4: p 60
- 56) (a) C. Schaub, B. Müller, R. R. Schmidt, *Glycoconj. J.*, **15**, 345 (1998); (b) R. Schwörer, R. R. Schmidt, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 1632 (2002)
- 57) S. H. Khan, S. C. Crawley, O. Kanie, O. Hindsgaul, *J. Biol. Chem.*, **268**, 2468 (1993)
- 58) Y. Kajiwar, H. Kodama, T. Wakabayashi, K. Sato, H. Hashimoto, *Carbohydr. Res.*, **247**, 179 (1993)
- 59) M. M. Palic, L. D. Heerze, O. P. Srivastava, O. Hindsgaul, *J. Biol. Chem.*, **264**, 17174 (1989)
- 60) T. Endo, Y. Kajiwar, H. Kodama, H. Hashimoto, *Bioorg. Med. Chem.*, **4**, 1939 (1996)
- 61) H. Hashimoto, T. Endo, Y. Kajiwar, *J. Org. Chem.*, **62**, 1914 (1997)
- 62) (a) J. W. Dennis, S. Laferte, C. Waghorne, M. L. Breitman, R. S. Kerbel, *Science*, **236**, 582 (1987); (b) S. Ihara, E. Miyoshi, J. Ko, K. Murata, S. Nakahara, K. Honke, R. B. Dickson, C.-Y. Lin, N. Taniguchi, *J. Biol. Chem.*, **277**, 16960 (2002)
- 63) K. Inamori, T. Endo, Y. Ide, S. Fujii, J. Gu, K. Honke, N. Taniguchi, *J. Biol. Chem.*, **278**, 43102 (2003)
- 64) (a) H. Ando, S. Manabe, Y. Nakahara, Y. Ito, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 3848 (2001); (b) *idem*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 4007 (2001); (c) Y. Ito, S. Manabe, *Chem. Eur. J.*, **8**, 3076 (2002); (d) S. Hanashima, S. Manabe, Y. Ito, *Synlett*, **2003**, 979
- 65) L. Jian, C. Hartley, T. H. Chen, *Chem. Commun.*, **1996**, 2193
- 66) S. Hanashima, S. Manabe, K. Inamori, N. Taniguchi, Y. Ito, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 5674 (2004)
- 67) (a) G. Hodosi, P. Kovac, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 2335 (1997); (b) *idem*, *Carbohydr. Res.*, **308**, 63 (1998)
- 68) (a) H. Hinou, X.-L. Sun, Y. Ito, *J. Org. Chem.*, **68**, 5602 (2003); (b) *idem*, *Tetrahedron Lett.*, **43**, 9147 (2002)
- 69) L. Qiao, B. W. Murray, M. Shimazaki, J. Schultz, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 7653 (1996)
- 70) (a) C.-H. Wong, D. P. Dumas, Y. Ichikawa, K. Koseki, D. J. Danishefsky, B. W. Weston, J. B. Lown, *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 7321 (1992); (b) Y. Ichikawa, Y.-C. Lin, D. P. Dumas, G.-J. Shen, E. Garcia-Jucenda, M. A. Williams, R. Bayer, C. Ketcham, L. E. Walker, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *ibid.*, **114**, 9283 (1992)
- 71) A. Gamberucci, B. Innocenti, R. Fulceri, G. Banhegyi, R. Guinna, T. Poxan, A. Benedetti, *J. Biol. Chem.*, **269**, 23597 (1994)
- 72) S. Takayama, R. Martin, J. Wu, K. Laslo, L. Qiao, G. Siuzdak, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 8146 (1997)
- 73) Y. Ichikawa, Y. Igarashi, M. Ichikawa, Y. Suhara, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 3007 (1998)
- 74) L. N. Gastinel, C. Bignon, A. K. Misra, O. Hindsgaul, J. H. Shaper, D. H. Joiasse, *EMBO J.*, **20**, 638 (2001)
- 75) W. Kemmner, K. Hohaus, P. M. Schlag, *FEBS Lett.*, **409**, 347 (1997)
- 76) G. Zeng, D. D. Li, L. Gao, S. Birkle, E. Bieberich, A. Tokuda, R. K. Yu, *Biochemistry*, **38**, 8762 (1999)
- 77) 本稿執筆後に GnTase V および α -1,3-FucTase に対する優れた二基質阻害剤が本邦の研究グループから発表された。(a) S. Hanashima, K. Inamoto, S. Manabe, N. Taniguchi, Y. Ito, *Chem. Eur. J.*, **12**, 3449 (2006); (b) M. Izumi, S. Kaneko, H. Yuasa, H. Hashimoto, *Org. Biomol. Chem.*, **4**, 681 (2006)

PROFILE

梶本哲也 京都薬科大学薬品製造学教室・助教授 薬学博士

〔経歴〕1984年京都大学大学院薬学研究科修士課程修了, 1986年同博士後期課程中退, 1987年熊本大学薬学部助手, 1989年薬学博士取得, 1990年スクリップス研究所(米国)博士研究員, 1991年理化学研究所国際フロンティアシステム・研究員, 1996年昭和大学薬学部助教授, 1999年東京農工大学工学部助教授, 2004年京都薬科大学助教授(現職)。〔専門〕有機合成化学。〔連絡先〕e-mail: [redacted]

野出 學 京都薬科大学・教授 薬学博士

〔経歴〕1973年京都大学大学院薬学研究科博士課程修了, 1974年京都大学化学研究所助手, 1979-81年米国カリフォルニア大学ロサンゼルス校博士研究員, 1983年京都大学化学研究所助教授, 1990年から現職。2002年有機合成化学協会関西支部長, 2003年京都薬科大学・副学長。1985年度日本薬学会奨励賞, 2000年度宮田専治学術賞受賞。〔専門〕有機合成化学。〔連絡先〕[redacted], e-mail: [redacted]