

ペプチドカリックス [4] アレーンライブラリーの合成とこれを活用した
オリゴペプチド誘導体に応答する化学センサーの開発

日置 英彰

Synthesis of Peptidocalix [4] arene Libraries and Their Application to the
Development of Chemical Sensors for Oligopeptides

Hideaki HIOKI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University,
Yamashiro-cho, Tokushima 770-8514, Japan

(Received December 3, 2004)

Calix [4] arene libraries consisting of ca. 50000 members substituted with peptides at the lower rim were synthesized using encoded spilt synthesis with 15 amino acids. Screening of the library for binding with a dye-labeled oligopeptide indicated that some peptidocalix [4] arenes selectively bind the oligopeptide. The binding constant was estimated to be approximately $2 \times 10^4 \text{ mol dm}^{-3}$. In an attempt to develop chemical sensors for peptides, fluorescence-labeled peptidocalix [4] arene libraries consisting of ca. 3500 members were synthesized. The fluorescence spectrum of peptidocalix [4] arene, which was found in the screening of libraries against the target peptide, was dependent on the concentration of the peptide. The libraries substituted at the upper rim were also synthesized with the aim of developing more selective and sensitive chemical sensors. The binding selectivity of the library members for the target peptides was higher and the behavior of the sensing was markedly different from the lower rim-modified peptidocalixarene sensor.

Key words—calixarene; combinatorial chemistry; chemical sensor; peptide library

1. はじめに

カリックス [4] アレーン (1) はフェノールがメチレンを介して環状に 4 個結合した化合物である。機能性分子構築に有利なフェノール性水酸基を環状に有していることから、ホストの基盤骨格として用いられ、数多くの誘導体が合成されている。^{1,2)} カリックスアレーンの包接能力は lower rim と呼ばれる酸素官能基側と upper rim と呼ばれるベンゼン環側の修飾によって決定される。カリックスアレーンを上手にデザインすることで、金属イオンから分子量 1 万以上のタンパク質³⁾まで幅広いゲストを包接できることが明らかとなっている。カリックス [4] アレーン (Fig. 1) の誘導体は、単にゲストを包接するだけでなく、アロステリック機能⁴⁾や酵素類似機能を持つ分子、⁵⁾ イオンセンサーとして働く分

子⁶⁾など高次の機能を持つカリックスアレーンの誘導体も次々と開発されている。筆者は機能性素子として潜在能力の高いカリックスアレーンを基盤としてホストライブラリーを構築すれば、標的分子に結合するレセプターを容易に見い出すことができるだけでなく、カリックスアレーンのこれまでの多くの研究の蓄積を応用することで、高度な機能を有する分子も容易に開発できるのではないかと考えた。^{7,8)} 本稿ではカリックスアレーンを基盤としたペプチドライブラリーの合成法の確立、ペプチド誘導体とのバインディングアッセイ、さらにこれを活用したオ

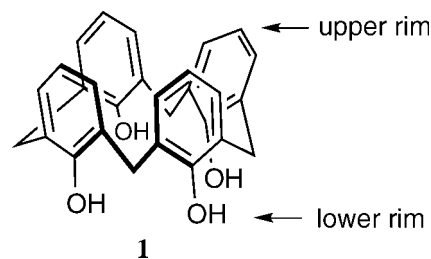


Fig. 1. Calix [4] arene

徳島文理大学薬学部 (〒770-8514 徳島市山城町西浜傍 示 180)

e-mail: hioki@ph.bunri-u.ac.jp

本総説は、平成 16 年度日本薬学会中国四国支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

リゴペプチド誘導体に応答する化学センサーの開発について述べる。

2. Lower Rim を基質結合部位としたペプチドカリックス [4] アレーンライブラリーの合成⁹⁾

筆者は最初のライブラリー合成として、合成の容易さを考えて lower rim を基質結合部位とし、ゲストを両側から挟み込むようにビルディングブロックを配置した **2** を設計した (Fig. 2)。Lower rim のフェノール水酸基と基質結合部位との間には金属イオンの取り込み能力が高い酢酸アミドユニットを導入することで、結合部位の大きさを確保すると同時に、金属イオンによるアロステリック効果も期待した。Upper rim からはメチレン鎖を伸ばして樹脂につなげ、固相法によりライブラリーを構築し、樹脂から切り離さずにゲスト分子とバインディングアッセイを行う計画である。ビルディングブロックに非極性、極性、D, L, β -アミノ酸を含む 15 種類のアミノ酸を用いることでライブラリーに多様性を持たせることにした。

ライブラリーの合成経路を Scheme 1 に示す。ジメトキシカリックス [4] アレーン (**3**)¹⁰⁾ を出発原料とし、芳香環の電荷密度の差を利用して芳香環の 1 つを臭素化して **4** へ導き、これを足がかりに鈴木-宮浦反応によって樹脂とカリックスアレーンをつなげるリンカーを導入した。Lower rim にアミノ基

の保護基が異なる 2 つのアームを結合してからアミノメチルポリスチレン樹脂とつなげ、ライブラリー合成のコアとなる **8** とした。ライブラリーの合成法は Still らの考案したハロゲン置換アリールオキシシアルカノールタグによるエンコードスプリットプール法を用いた。¹¹⁾ まず **8** の Boc 基を除去し、2 個のアミノ酸を導入したのち N 末端をアセチル化して **9** とした。次に Alloc (allyloxycarbonyl) 基を除去して同様な操作を行い、 $15^4 = 50625$ の分子種からなるライブラリー **2a** の合成を完了した。また、このライブラリーをトリフルオロ酢酸で処理し、セリン、リジン、アスパラギンなどの側鎖の保護基を除去したライブラリー **2b** も合成した。

ペプチドは多様な性質を持つ分子が容易に合成できるので、これをゲストとしてライブラリーの結合能力を調べることにした。N 末端を色素でラベルした性質の異なる 4 種のペプチド誘導体 **10**—**13** を合成し (Table 1)、クロロホルム中でライブラリー **2a** あるいは **2b** と混合してバインディングアッセイを行った。Table 2 にその結果を示す。中性のトリペプチドである **10**, **11** のアッセイではいずれのライブラリーにおいても染色する樹脂は見い出されなかった。塩基性アミノ酸を含むトリペプチド **12** のアッセイではアミノ酸の側鎖を脱保護したライブラリー **2b** から選択的に結合する数種のゲスト分子が

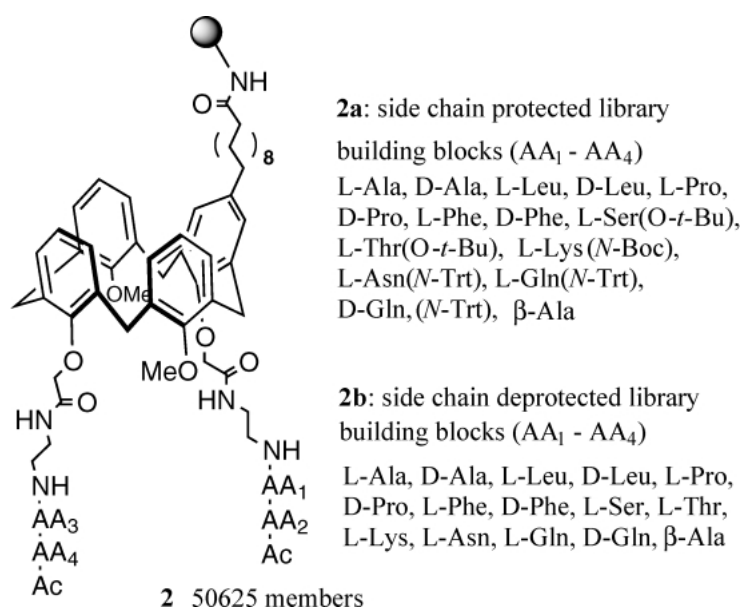
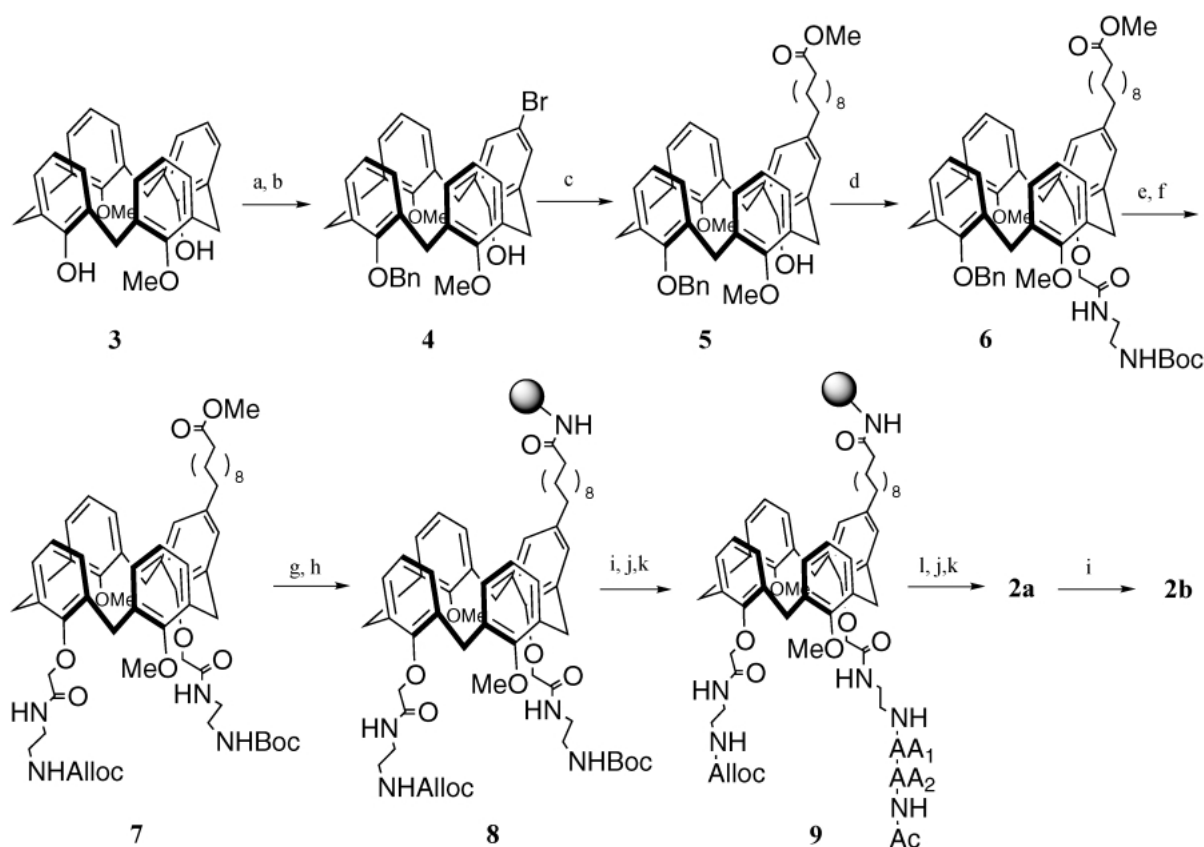


Fig. 2. Designed Calix [4]arene Library Substituted with Peptides at the Lower Rim
Trt: triphenylmethyl.



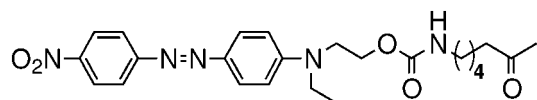
Scheme 1. Synthesis of Lower Rim-modified Peptidocalix[4]arene Library

(a) BnBr, BaO, Ba(OH)₂·8H₂O, DMF, 73%, (b) HBr₃Py, MeOH, 73%, (c) methyl 10-undecenoate, 9-BBN, then 4, PdCl₂(dppf), NaOMe, THF, reflux, 87%, (d) BocNHCH₂CH₂NHCOCH₂OMs, NaH, DMF, 73%, (e) H₂, Pd(OH)₂, EtOH, 81%, (f) AllocNHCH₂CH₂NHCOCH₂OMs, NaH, DMF, 80%, (g) NaOH, H₂O, DMF 98%, (h) aminomethylated polystyrene resin, HOBT, DIC, CH₂Cl₂, (i) TFA, CH₂Cl₂, (j) split peptide synthesis, (k) Ac₂O, Et₃N, (l) Pd(PPh₃)₄, pyrrolidine. DMF: *N,N*-dimethylformamide, 9-BBN: 9-borabicyclo[3.3.1]nonane, dppf: 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene, DIC: 1,3-disopropylcarbodiimide, HOBT: 1-hydroxybenzotriazole.

Table 1. Dye-labeled Oligopeptides
Dye-linker^{a)}-NH-R¹-R²-R³-R⁴-R⁵-CONH-*n*Bu

Oligopeptide	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
10	L-Phe	L-Pro	L-Leu	—	—
11	L-Phe	L-Thr	L-Asn	—	—
12	L-Phe	L-Lys	L-Asn	—	—
13	L-Tyr	L-Gly	L-Gly	L-Phe	L-Leu

a) Dye-linker:



見いだされた。一方ペンタペプチド **13** のアッセイでは側鎖を保護したライブラリー **2a** から数種の染色した樹脂が見いだされた。しかしライブラリー **2b** とのアッセイでは半数以上の樹脂が染色され、ゲストの宿主選択性が非常に悪いことが分かった。**12** に比べて **13** はアミド結合が多い分、水素結合が

Table 2. Binding Assay of Libraries with Oligopeptides

Oligopeptide	Library 2a	Library 2b
10	No binding	No binding
11	No binding	No binding
12	No binding	Some beads stained color
13	A few beads stained color	Half of beads stained color

可能な官能基を多く持っているの、極性官能基が保護されていない **2b** とのアッセイでは選択性が大きく低下したと考えられる。以上のことから、水素結合がゲストの認識に大きな役割を果たしており、高選択的な結合には適度な水素結合が必要であることが分かった。

続いてこれらのアッセイで見いだされたペプチドカリックスアレーンのアミノ酸配列を調べた。**2b**

と **12** のアッセイではスレオニンとセリンのみからなる配列が非常に多く見いだされた (Table 3). **2a** と **12** のアッセイでは結合する樹脂が全く見いだされなかったことからスレオニンとセリンの水酸基が結合に大きく関与していることが分かる. **2a** と **13** のアッセイでは, AA₁, AA₃ にグルタミンとアスパラギンを持つもののみが見いだされた. AA₂, AA₄ にはロイシンが最も多く見いだされたが, 選択性はあまり高くなく, AA₁ と AA₃ が認識に深く関与しているものと思われる (Table 4). また, **2b** と **12** のアッセイで最も出現頻度が高かったアミノ酸配列を有するホストと **12** の結合定数を調べたところ, $2 \times 10^4 \text{ mol dm}^{-3}$ と決定された.

3. 蛍光発色団を有するペプチドカリックスアレーンの合成とオリゴペプチドに対する応答性の検討¹²⁾

金属イオンや有機アンモニウムイオンに反応するカリックスアレーン誘導体はこれまでに数多く報告されている. そのセンシングのメカニズムは, ほとんどの場合, カリックスアレーンの酸素原子へのイオンの配位によって引き起こされる芳香環の電荷密度の変化を, 光学的特性の変化として読み出すこと

Table 3. Peptide Sequences of Colored Beads in **2b** for **12**

AA ₁	AA ₂	AA ₃	AA ₄	Frequency ^{a)}
L-Thr	L-Ser	L-Thr	L-Ser	4
L-Thr	L-Ser	L-Thr	L-Thr	3
L-Thr	L-Thr	L-Thr	L-Ser	2
L-Ser	L-Ser	L-Thr	L-Thr	1
L-Thr	L-Ser	L-Ser	L-Ser	1
others				6

a) Number of beads isolated.

Table 4. Peptide Sequences of Colored Beads in **2a** for **13**

AA ₁	AA ₂	AA ₃	AA ₄	Frequency ^{a)}
L-Gln (N-Trt)	L-Leu	L-Asn (N-Trt)	L-Leu	2
L-Asn (N-Trt)	L-Leu	L-Gln (N-Trt)	L-Leu	2
L-Asn (N-Trt)	L-Thr (O- <i>t</i> -Bu)	L-Gln (N-Trt)	L-Leu	1
L-Gln (N-Trt)	L-Gln (N-Trt)	L-Asn (N-Trt)	L-Leu	1
L-Gln (N-Trt)	L-Lys (N-Trt)	L-Asn (N-Trt)	L-Ser (O- <i>t</i> -Bu)	1

a) Number of beads isolated.

によっている.⁶⁾ 仁らは, これらのメカニズムとは異なりイオンの配位部位の近傍に蛍光発色団を配置したカリックスアレーン誘導体 **14** を合成し, イオンの配位によるコンホメーション変化を蛍光スペクトルとして読み出すことに成功した (Fig. 3).¹³⁾ 筆者はコンホメーションの変化に基づくセンシングであれば, イオンだけでなく, 一般の中性の有機化合物にも特異的に応答する化学センサーが開発できると考え, 先に合成したライブラリーの N 末端に蛍光発色団となるピレニル酪酸アミドをつなげたライブラリーを合成することにした. このライブラリーから標的分子と結合するホストを見つけることができれば, そのホストは標的分子の結合でコンホメーションの変化が起こり, 結合情報を蛍光スペクトルの変化として読み出せるのではないかと期待できる.¹⁴⁻¹⁶⁾

合成の容易さを考えて両側のアームに同じビルディングブロックを同時に導入することにし, **2** の合成法に準じて 3375 種類の誘導体を含むライブラリー **15** を合成した (Fig. 4). まず合成したライブラリーとゲストの結合能を調べるため, N 末端を色素でラベルしたペプチド誘導体 **16** (Table 5) のクロロホルム溶液とライブラリー **15** を混合してバインディングアッセイを行った. 期待通り **16** に結合する数種のホスト分子が見いだされたので, それらのアミノ酸配列を調べた. 結果を Table 6 に示す. 次にゲストの結合情報が蛍光スペクトルの変化として読み出せるかどうか検討するため, Table 6 の中で最も出現頻度が高かったアミノ酸配列を有する誘導体 **20** (Fig. 5) を液相合成した. **20** の蛍光ス

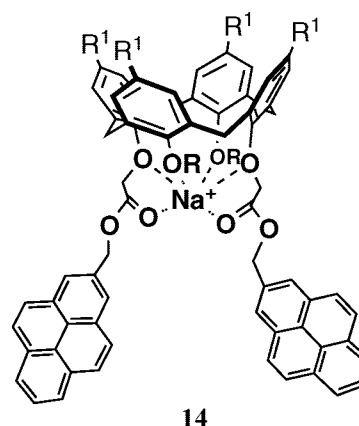


Fig. 3. Sodium Ion Sensor Based on Calix[4]arene

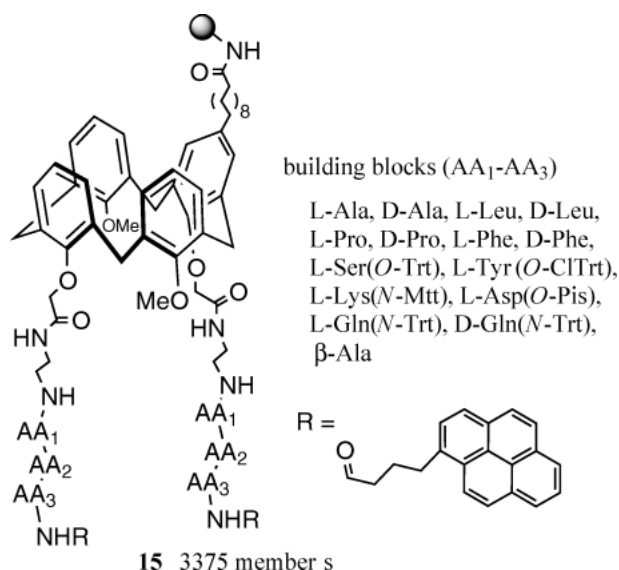


Fig. 4. Fluorescence-labeled Library Based on Calix [4] arene
 CITrt: 2-chloro-triphenylmethyl, Mtt: 4-methyl-triphenylmethyl, Pis: 2-phenylisopropyl.

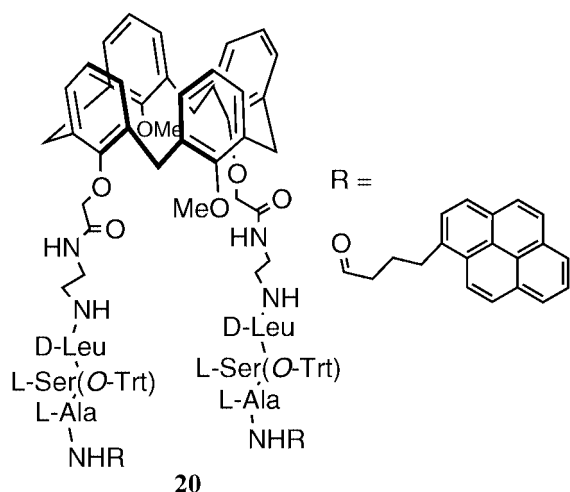


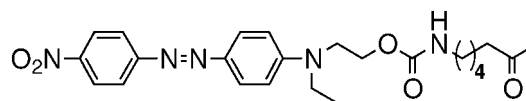
Fig. 5. Chemical Sensor for the Analyte **17**

ペクトルが **16** の色素部の吸収スペクトルと重なるため、**16** の色素部分をパルミトイル基に変更した **17** を添加して蛍光スペクトルの変化を調べた。Figure 6 に示す通り、ゲストの濃度により、ピレンのモノマー由来の発光 (380, 400 nm) もエキシマー由来の発光 (470 nm) もゲストの濃度に依存して蛍光強度が増大し、約 1 mmol dm^{-3} オーダーで応答することが明らかとなった。また、**17** のアミノ酸配列が一部異なる **18** や **19** を **20** に添加しても蛍光スペクトルにほとんど変化がなかったことから (Fig. 7)、ホスト **20** はこれら 3 種のペプチドのう

Table 5. Peptide Sequences of the Analytes
 R'-NH-BB₁-BB₂-BB₃-BB₄-L-Leu-OMe

Compound	R'	BB ₁	BB ₂	BB ₃	BB ₄
16	Dye ^{a)}	L-Tyr (<i>O</i> - <i>t</i> -Bu)	Gly	Gly	L-Phe
17	Pal ^{b)}	L-Tyr (<i>O</i> - <i>t</i> -Bu)	Gly	Gly	L-Phe
18	Pal ^{b)}	L-Tyr (<i>O</i> - <i>t</i> -Bu)	L-Tyr (<i>O</i> - <i>t</i> -Bu)	L-Tyr (<i>O</i> - <i>t</i> -Bu)	L-Phe
19	Pal ^{b)}	L-Ser (<i>O</i> - <i>t</i> -Bu)	L-Ser (<i>O</i> - <i>t</i> -Bu)	L-Phe	L-Val

a) Dye-linker:



b) Pal: Palmitoyl.

Table 6. Peptide Sequences of Colored Beads in **15** for **16**

AA ₁	AA ₂	AA ₃	Frequency ^{a)}
D-Leu	L-Ser (<i>O</i> -Trt)	L-Ala	8
D-Leu	L-Ser (<i>N</i> -Trt)	L-Lys (<i>N</i> -Mtt)	4
L-Ser (<i>O</i> -Trt)	L-Phe	L-Lys (<i>N</i> -Mtt)	3
L-Leu	L-Phe	L-Ser (<i>O</i> -Trt)	2
others			11

a) Number of beads isolated.

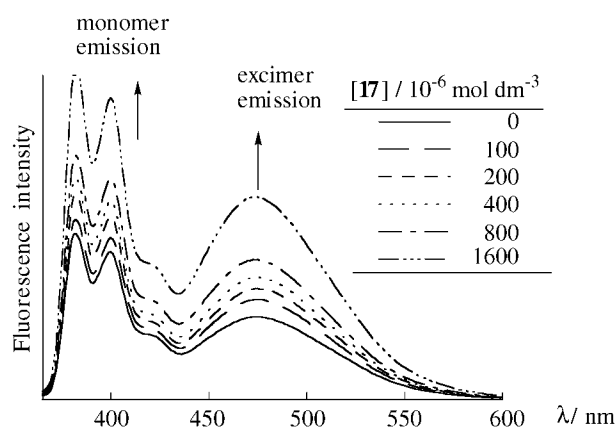


Fig. 6. Fluorescence Emission Spectroscopic Change of **20** in CHCl_3 upon Addition of Peptide **17** at 20°C
 [20]: $1.0 \times 10^{-6} \text{ dm}^{-3}$, Excitation wavelength: 344 nm.

ち **17** に対して配列特異的に応答していることも分かった。

4. Upper Rim を基質結合部位としたペプチドカリックス [4] アレーンライブラリーの合成とオリ

ゴペプチドに対する応答性の検討¹⁷⁾

これまでに合成したライブラリーは、基質結合部位とカリックスアレーンの間をつなげているアミノエチル酢酸アミド部分がアームの自由度を高めており、より高い基質特異性を獲得するためには、カリックスアレーンに近い位置にビルディングブロックを導入する必要がある。また、有機ゲストの捕捉を目的としてデザインされるカリックスアレーン誘導体は一般に upper rim が基質結合部位として用いられているので、upper rim にアームを持つカリク

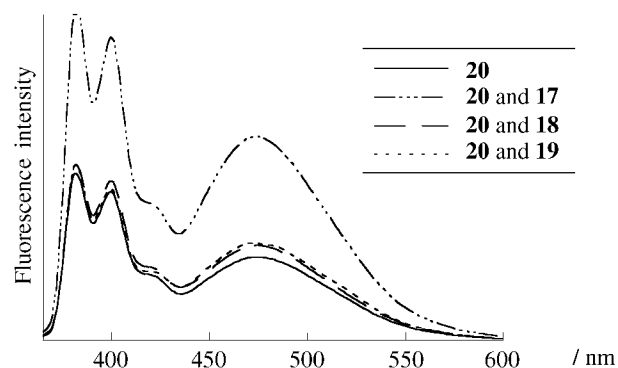


Fig. 7. Fluorescence Emission Spectroscopic Change of **20** in CHCl_3 upon Addition of Peptide **17**, **18** or **19** at 20°C
 $[\mathbf{20}]$: $1.0 \times 10^{-6} \text{ dm}^{-3}$, $[\mathbf{17}]$, $[\mathbf{18}]$, $[\mathbf{19}]$: $1.6 \times 10^{-3} \text{ dm}^{-3}$, Excitation wavelength: 344 nm.

スアレーンライブラリーの合成法を確立すれば、広範な有機ゲストを捕捉できるホスト分子の開発が可能となると考えた。そこで次に upper rim にメチレンを介してビルディングブロックを導入した **21** (Fig. 8) を次のライブラリー合成のターゲットとした。

合成経路を Scheme 2 に示す。ジベンジルオキシカリックス [4] アレーン **22**¹⁰⁾ から 6 段階で臭素化

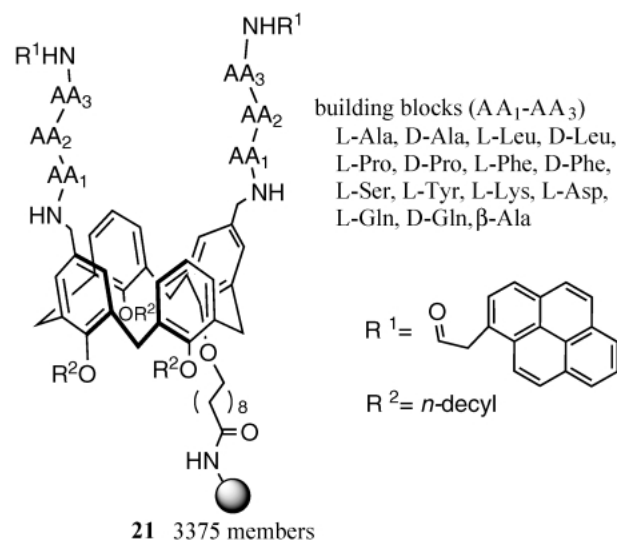
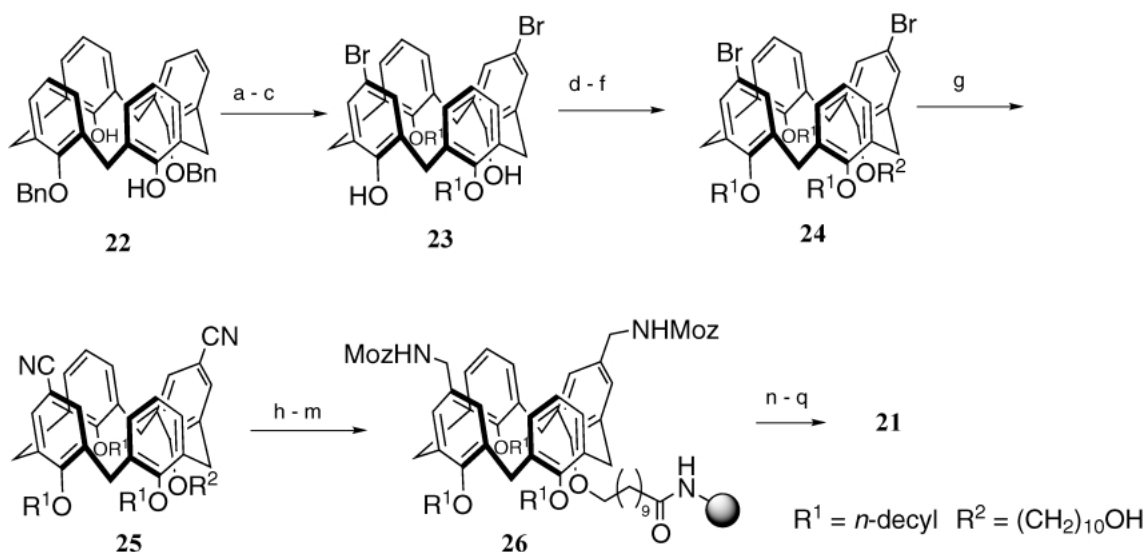


Fig. 8. Upper Rim-modified Peptidocalix[4]arene Library



Scheme 2. Synthesis of Upper Rim-modified Peptidocalix[4]arene Library

(a) NaH , n -decylbromide, DMF, 86%, (b) H_2 , $\text{Pd}(\text{OH})_2$, $\text{EtOH}/\text{Benzene}$ 2/1, 80%, (c) HPyBr_3 , $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 10/1, 98%, (d) NaH , n -decylbromide, DMF, 72%, (e) NaH , $\text{MPMOC}_{10}\text{H}_{20}\text{Br}$, DMF, 82%, (f) DDQ , aq. $\text{NaHCO}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1/10, 100%, (g) $\text{Zn}(\text{CN})_2$, DPPF , $\text{Pd}_2(\text{dba})_2$, DMF, 140°C , 74%, (h) $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$, reflux, (i) 6 M HCl , reflux, (j) Moz-S , K_2CO_3 , 1,4-dioxane/ H_2O 4/1, 78% in 3 steps, (k) IBX , DMF, 98%, (l) NaClO_2 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2-methyl-2-butene $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ (15/4) 82%, (m) aminomethylated polystyrene resin, DIC , HOBT , CH_2Cl_2 , (n) 1% TFA , CH_2Cl_2 (v/v), PhSH , (o) split peptide synthesis, (p) 2-pyreneacetic acid, DIC , HOBT , CH_2Cl_2 , (q) 5% $i\text{Pr}_3\text{SiH}$, 1% TFA , CH_2Cl_2 , MPM : p -methoxyphenylmethyl, DDQ : 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone, DPPF : 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene, Moz-S : S - p -methoxybenzyloxycarbonyl-4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine, Moz : p -methoxybenzyloxycarbonyl.

体 **24** へ導き、パラジウム触媒によって収率よくシアノ体 **25** に導いた。¹⁸⁾次にシアノ基を還元して芳香環にアミノメチル基を導入し、これまでと同様に固相樹脂への担持、スプリット合成によるライブラリーの構築、N末端をピレニル酢酸アミドとしてライブラリー **21** の合成を完了した。

先に用いたゲスト **16** とバインディングアッセイを行ったところ、3375 種類のうち、たった 4 種類の配列しか見い出されず、期待通り、ゲストのホスト選択性は大きく向上した (Table 7)。続いてアッセイで最も出現頻度が高かったアミノ酸配列を有する誘導体 **27** (Fig. 9) を液相合成し、ゲストの添加による蛍光スペクトルの変化を調べた (Fig. 10)。スペクトルの変化の挙動は先のセンサー **20** とは全く異なりゲストの濃度に依存してエキシマー発光が大きくなり、モノマー発光が弱くなるという結果となった。これは 2 枚のピレン環がゲストの添加により立体的に近づいたことを意味する。今後はより鋭敏なセンサーを開発するため、ホスト-ゲスト複合体の構造を調べ、センサー **20** と **27** の **17** に対するスペクトル変化の挙動の違いを明らかにする必要がある。

5. おわりに

今回筆者はカリックスアレーンをプラットフォームとしたライブラリーの合成法を確立することができた。近年の固相合成法の進歩はめざましく、固相反応に適用できる反応例が次々と報告されており、現在ではアミノ酸に限らず多様なビルディングブロックを収率よく導入することが可能となっている。一方、カリックスアレーンは“Macrocycles (almost) unlimited possibilities”¹⁹⁾ と称され、多くの誘導体が様々な分野で活用されている。今回のカリックスアレーンライブラリーの化学センサーへの応用は 1 例に過ぎず、高い潜在能力を持つカリックスアレーンの誘導体合成に、固相合成の簡便性とライブラリー合成の効率性を導入することによって、新機能分子の開発が急速に進歩するものと期待している。

謝辞 本研究は、徳島文理大学薬学部において多くの研究協力を得て行われました。終始暖かいご指導を賜りました児玉三明教授に厚く御礼申し上げます。また、久保美和助手をはじめとする共同研究者の方々に感謝申し上げます。なお、本研究の一部

Table 7. Peptide Sequences of Colored Beads in **21** for **16**

AA ₁	AA ₂	AA ₃	Frequency ^{a)}
D-Leu	L-Tyr	D-Phe	14
D-Leu	L-Tyr	D-Leu	4
L-Tyr	L-Tyr	D-Phe	2
L-Ala	L-Tyr	D-Phe	1

a) Number of beads isolated.

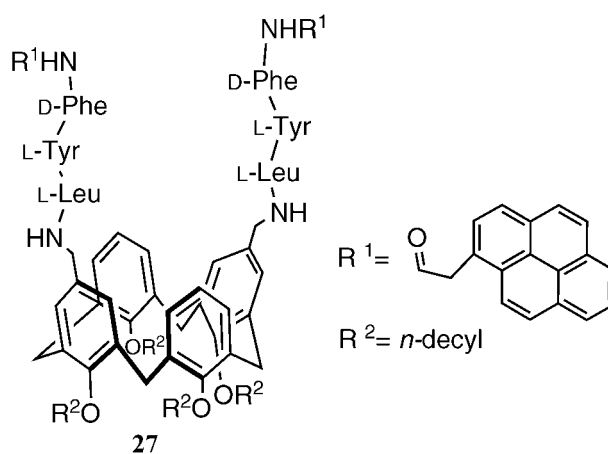


Fig. 9. Chemical Sensor for the Analyte **17**

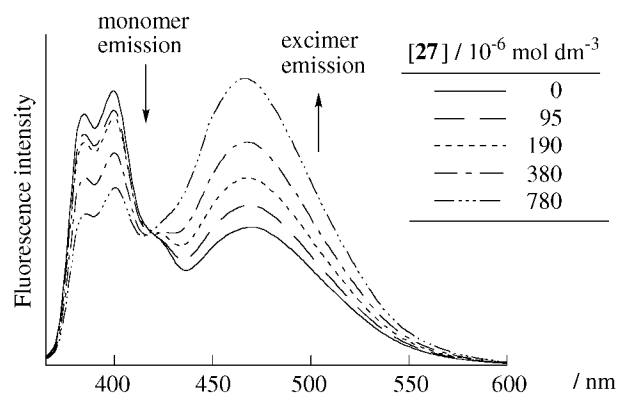


Fig. 10. Fluorescence Emission Spectroscopic Change of **27** in CHCl_3 upon Addition of Peptide **17** at 20°C
[**27**]: $1.0 \times 10^{-6} \text{ dm}^{-3}$, Excitation wavelength: 344 nm.

は文部科学省科学研究費補助金奨励研究(A), SUNBOR GRANT の補助によって実施されたものであり、この場をお借りして御礼申し上げます。

REFERENCES

- 1) Gutsche C. D., “Monographs in Supramolecular Chemistry, Vol. 6, Calixarenes Revisited.” ed. by Stoddart F. J., The Royal Society

- of Chemistry, Cambridge, 1998.
- 2) Mandolini L., Ungaro R., "Calixarenes in Action," Imperial College Press, London, 2000.
 - 3) Park H. S., Lin Q., Hamilton A. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 8–13 (1999).
 - 4) Haino T., Akii H., Fukazawa Y., *Synlett*, 1016–1618 (1998).
 - 5) Molenveld P., Engbersen J. F. J., Kooijman H. J., Spek A. L., Reinhoudt D. N., *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 6726–6737 (1998).
 - 6) Diamond D., Nolan K., *Anal. Chem.*, **73**, 22A–29A (2001).
 - 7) Peczu M. W., Hamilton A. D., *Chem. Rev.*, **100**, 2479–2494 (2000).
 - 8) Lavigne J. J., Anslyn E. V., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 3118–3130 (2001).
 - 9) Hioki H., Yamada T., Fujioka C., Kodama M., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 6821–6825 (1999).
 - 10) van Loon J.-D., Arduini A., Coppi L., Verboom W., Pochini A., Ungaro R., Harkema S., Reinhoudt D. N., *J. Org. Chem.*, **55**, 5639–5646 (1990).
 - 11) Ohlmeyer M. H. J., Swanson R. N., Dillard L. W., Reader J. C., Asouline G., Kobayashi R., Wigler M., Still W. C., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **90**, 10922–10926 (1993).
 - 12) Hioki H., Kubo M., Yoshida H., Bando M., Ohnishi Y., Kodama M., *Tetrahedron Lett.*, **43**, 7949–7952 (2002).
 - 13) Jin T., Ichikawa K., Koyama T., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 499–501 (1992).
 - 14) Iorio E. J., Shao Y., Chen C.-T., Wagner H., Still W. C., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **11**, 1635–1638 (2001).
 - 15) Schneider S. E., O'Neil S. N., Anslyn E. V., *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 542–543 (2000).
 - 16) Leipert D., Nopper D., Bauser M., Gauglitz G., Jung G., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **37**, 3308–3311 (1998).
 - 17) Hioki H., Ohnishi Y., Kubo M., Nashimoto E., Kinoshita Y., Samejima M., Kodama M., *Tetrahedron Lett.*, **45**, 561–564 (2004).
 - 18) Hioki H., Nakaoka R., Maruyama A., Kodama M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 3265–3268 (2001).
 - 19) Böhmer V., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **34**, 713–745 (1995).