

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	マンノペプチマイシンアグリコンの合成法開発と構造訂正
Title(English)	Total Synthesis and Stereochemistry Revision of Mannopeptimycin Aglycone
著者(和文)	肥沼宏次
Author(English)	Hirotsugu Koinuma
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9683号, 授与年月日:2014年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田中 浩士,三上 幸一,伊藤 繁和,桑田 繁樹,山中 一郎,大森 建
Citation(English)	Degree:, Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9683号, Conferred date:2014/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

平成 25 年度 博士論文

マンノペプチマイシンアグリコンの合成法開発
と構造訂正

東京工業大学 大学院理工学研究科 応用化学専攻

田中研究室 肥沼 宏次

目次

Abbreviations

第一章 序論

1-1	生理活性天然有機化合物	3
1-2	抗生物質と耐性菌の出現	4
1-2-1	抗生物質	4
1-2-2	耐性菌	5
1-3	マンノペプチマイシン	7
1-3-1	マンノペプチマイシンの発見と構造決定	7
1-3-2	マンノペプチマイシンの生理活性発現機構	8
1-3-3	マンノペプチマイシンの誘導體研究	9
1-3-3-1	糖鎖の修飾	9
1-3-3-2	チロシン側鎖芳香環の修飾	11
1-3-3-3	複数箇所の修飾	13
1-3-4	マンノペプチマイシンの合成研究	15
1-3-4-1	糖鎖部位の合成研究	16
1-3-4-2	糖鎖および簡易構造アグリコン部位の合成研究	17
1-3-4-3	Aiha-A および Aiha-B の合成研究	19
1-3-4-4	当研究室の過去の合成研究	22
1-4	グアニジン	24
1-4-1	グアニジンの性質	24
1-4-2	グアニジンの構造	26
1-4-3	グアニジン含有化合物	27
1-4-4	グアニジン型不斉有機触媒	27
1-4-5	グアニジンの合成	29
1-5	本論文の概要	31
	References	34

第二章 Aiha-A および Aiha-B の合成

2-1	はじめに	39
2-2	合成計画	39
2-2-1	マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成計画	39
2-2-2	Aiha-A および Aiha-B の合成計画	42
2-3	Aiha-A および Aiha-B の合成	46

2-3-1	環状グアニジン構築後に アルドール反応を行う合成手法 (Plan A)	46
2-3-1-1	基質による不斉制御 (Plan A-a)	46
2-3-1-2	試薬による不斉制御 (Plan A-b)	49
2-3-2	アルドール反応後に グアニジン環を構築する合成手法 (Plan B)	51
2-4	まとめ	60
	References	65
	Experimental Section	66
第三章	マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成	101
3-1	はじめに	101
3-2	マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成	101
3-2-1	AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc の合成	101
3-2-2	MeO-D-Tyr(OBn)-(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)- β -MePhe-Gly-NHAlloc の合成	108
3-2-3	マンノペプチマイシンアグリコンの合成研究 (1)	108
3-2-4	マンノペプチマイシンアグリコンの合成研究 (2)	111
3-3	まとめ	119
	References	123
	Experimental Section	124
第四章	マンノペプチマイシンアグリコンの構造訂正	151
4-1	はじめに	151
4-2	構造決定方法の検証	151
4-3	類縁体 2 の合成	156
4-4	類縁体 3 の合成	162
4-4-1	β -メチルフェニルアラニン残基の構造決定方法の精査	162
4-4-2	類縁体 3 の合成	161
4-5	まとめ	172
	References	175
	Experimental Section	176
第五章	結論	195
	謝辞	

Abbreviations

Ac	acetyl
Aiha	α -amino- β -[4'-2'-iminoimidazolidinyl]- β -hydroxypropionic acid
Ala	alanine
Alloc	allyloxycarbonyl
aq	aqueous
atm	atmosphere
Bn	benzyl
Boc	<i>tert</i> -butyloxycarbonyl
BOP	benzotriazole-1-yl-oxy-tris-dimethylaminophosphonium hexafluorophosphate
Bt	1,2,3-benzotriazole
Bu	butyl
Bz	benzoyl
°C	degrees Celsius
cat	catalytic
Cbz	benzyloxycarbonyl
COSY	correlation spectroscopy
δ	chemical shift in parts per million
dba	dibenzylideneacetone
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano- <i>p</i> -benzoquinone
DEAD	diethyl azodicarboxylate
DEBPT	3-(diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3 <i>H</i>)-one
DHP	3,4-dehydro-2 <i>H</i> -pyran
DIAD	diisopropyl azodicarboxylate
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamine
DMAP	<i>N,N</i> -dimethyl-4-amino)pyridine
DMBA	1,3-dimethylbarbituric acid
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethyl sulfoxide
DTBP	2,6-di- <i>tert</i> -butylpyridine
EA	ethyl acetate
EDCI	1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide
equiv	equivalent
Et	ethyl
FDAA	1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5)-l-alaninamide

Fmoc 9-fluorenylmethyloxycarbonyl
g gram(s)
Gly glycine
GPC gel permeation chromatography
h hour(s)
HATU 7-azabenzotriazole-1-yl-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate
HMBC hetero-nuclear multiple-bond connectivity
HOAt 1-hydroxybenzotriazole
HPLC high-performance liquid chromatography
HSQC hetero-nuclear single quantum coherence
Hz hertz
IPA isopropyl alcohol
 J coupling constant
KHMDS potassium hexamethyldisilazide
L liter(s)
Lev levulinoyl
LHMDS lithium hexamethyldisilazide
M moles per liter
m milli
 μ micro
*m*CPBA *m*-chloroperoxybenzoic acid
Me methyl
MHz megahertz
min minute(s)
mol mole(s)
MRSA methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
MS molecular sieves or mass spectrometry
Ms mesyl (methanesulfonyl)
n normal
NBS *N*-bromosuccinimide
NIS *N*-iodosuccinimide
NMR nuclear magnetic resonance
NOE nuclear Overhauser effect
Nu nucleophile
ppm parts per million
PPTS pyridium *p*-toluenesulfonate

Ph phenyl
Phe phenylalanine
Pmc 2,2,5,7,8-pentamethylchroman-6-sulfonyl
Py pyridine
PyBOP benzotriazole-1-yl-oxy-tris-pyrrolidini-phosphonium hexafluorophosphate
r.t. room temperature
Ser serine
solv solvent
Su succinimide
t *tertiary*
TBD triazabicyclodecene
TBDPS *tert*-butyldiphenylsilyl
TBS *tert*-butyldimethylsilyl
TFA trifluoroacetic acid
TFE 2,2,2-trifluoroethanol
Tf trifluoromethanesulfonyl
THF tetrahydropyran
TLC thin layer chromatography
TMG 1,1,3,3-tetramethylguanidine
TMS trimethylsilyl
TOCSY totally correlated spectroscopy
Trt trityl
Tyr tyrosine
UV ultra violet
Val valeryl
VRE vancomycin-resistant enterococci

第一章 「序論」

1 序論

1-1 生理活性天然有機化合物

地球に生命が誕生してからおおよそ 38-40 億年、その間に進化を遂げた様々な生物が地球上に存在する。これらの生物は、自然界を生き抜くために必要な有機化合物を生体内で作りに出してきた。長い年月にわたって、これらの有機化合物は多様な三次元的構造を有するタンパク質、核酸、糖鎖といった生体分子と相互進化を遂げてきたため、やはり三次元的で特異な構造を有するものが数多くうみだされることとなった¹⁾。また、標的分子に対して特異的に、かつ強力に相互作用するものも多く存在するため、創薬開発においても非常に重要な地位を占めており²⁾、また、生命現象の解明を目指すケミカルバイオロジー分野においてもケミカルプローブとしての有用性が高い³⁾。

これらの有用な生理活性天然物の中には天然からの供給が限られるものも多く、また、天然から十分量を供給できる化合物であっても、類縁体合成を指向した際には、化学修飾できる箇所が限定されることもあり、天然物科学において全合成研究は極めて重要な位置を占めてきた。

全合成研究の歴史の中で、特異な構造を持つ天然有機化合物は有機合成化学の分野に数々の課題を提示してきた。そして、世界中の研究者がこの課題の解決に取り組む過程で、多くの有用な有機合成化学的手法論が確立されてきた。一例として、1970 年代には極めて多様かつ強力な生理活性をもつプロスタグランジン類が世界中の合成化学者の研究標的となり、5 員環上に二つの側鎖を持つ構造を立体選択的に構築する多様な手法論が開発された⁴⁾。1970-80 年代には、エリスロマイシンの様に、優れた抗菌活性を有するマクロライド類がやはり世界中の合成化学者の研究標的となり、優れたマクロラクトン化手法が開発された⁵⁾。1990 年代には、強力な抗癌活性を持ち、天然からの供給が当時僅かであったタキソールが標的となり、200 を優に越すグループにより全合成研究が展開され、歪んだ 8 員環を構築する様々な手法が開発された⁶⁾。

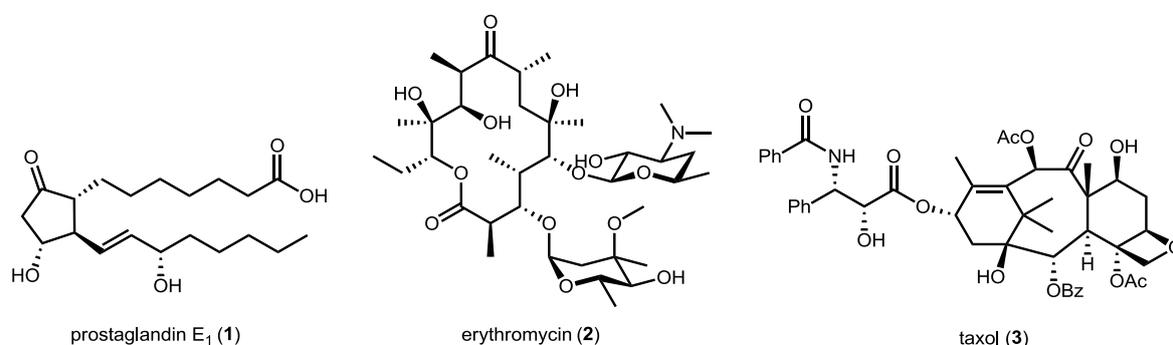


Figure 1-1

近年、有機合成手法の飛躍的な発展により、工程数や原子効率等、様々な問題を度外視すれば、かなり複雑な構造の天然物もその構築自体は可能な状況となっている。一方で、ヘテロ官能基が密集した化合物、高極性官能基を多数持つ化合物等を取り扱うには、その合成手法の確立だけでは十分でなく、精製、解析手法の確立も併せて必要とされるため、未だにその取り扱い方が確立していないものも少なくない。これらの化合物を巧みに取り扱う一般的な手法論の確立は天然物合成の分野において極めて重要な課題となっている。

1-2 抗生物質と耐性菌の出現

1-2-1 抗生物質

今から 100 年前の寿命は、現在の半分ほどの 40 歳前後であった。平均寿命がこの 100 年で大きく伸びた要因として、医学や医療の急激な進歩が挙げられるが、その中でも感染症の治療を可能とした抗生物質の発見は、20 世紀最大の医学上の発見といわれる。抗生物質が発見される以前、日本人の死因は結核や肺炎などの感染症が主だったが、抗生物質が発見されて以後現在の死因は、癌や脳血管系の疾患のような非感染症の病気へと移り変わった⁷⁾。

1928 年、Fleming により偶然青カビから発見された penicillin(4)は、その当時恐れられていた肺炎連鎖球菌を含むグラム陽性菌に抗菌活性を有する化合物として注目された。penicillin(4)の発見により、多くの研究者が、微生物の 2 次代謝産物から抗生物質を発見する研究を展開した。有名なものとして、1944 年にワクスマンらによるアミノグリコシド系の streptomycin(5)の発見⁸⁾、その後の tetracycline(6)や⁹⁾erythromycin(2)¹⁰⁾などの発見が挙げられる (Figure 1-2)。

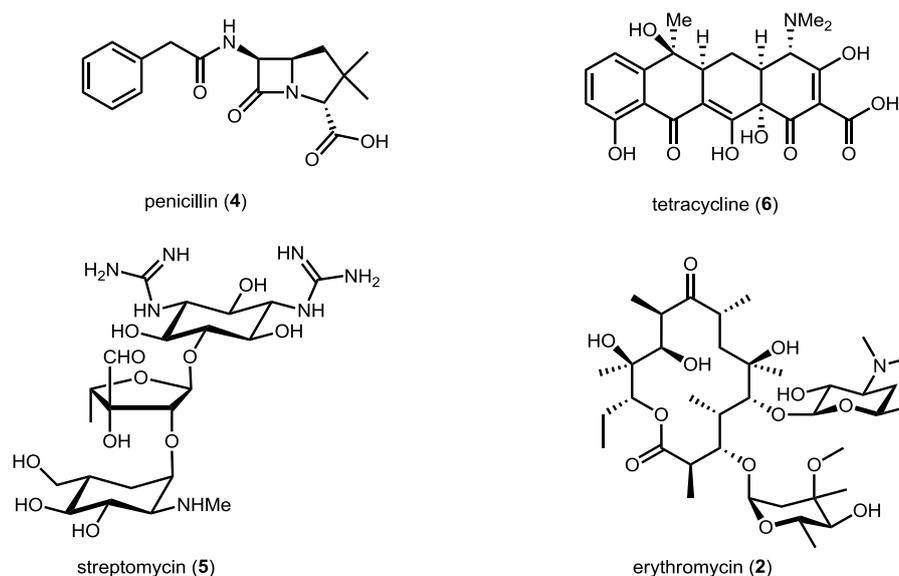


Figure 1-2

抗生物質 (antibiotics) の語源は、1941 年にセルマン・ワクスマンが「微生物によって作られ、微生物の発育を阻止する物質」が原義であるが、今日では「微生物の産出物由来の化学療法剤」と広くとらえられている¹¹⁾。

今日抗生物質には様々な種類がある。アミノグリコシド系、マクロリド系、 β -ラクタム系、テトラサイクリン系、ニューキノリン系が主流であり、これらは、強力で広い抗菌スペクトルを有するだけでなく、体内動態や安全性も改善された拮抗薬である。しかしながら、拮抗薬の発展とともにそれらの濫用が、薬剤耐性菌の発現や増加の問題を引き起こした。人類は、この耐性菌との戦いにおいて既存の抗菌薬の改良によって対処してきたが、既存のどの抗生物質も効かない多剤耐性菌の出現が大きな問題となっている。

1-2-2 耐性菌¹²⁾

前述の通り、抗菌剤の開発と耐性菌の発現は、人類と細菌との終わりのない戦いである。このような繰り返しの中、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : MRSA) の発現は、社会的に大きな問題となった。MRSA は、penicillin 耐性黄色ブドウ球菌に有効な methicillin に対して耐性を獲得した黄色ブドウ球菌であり、1961 年に英国で報告された。MRSA は、methicillin に耐性を獲得しただけでなく、様々な抗生物質に耐性を獲得しており、多剤耐性菌として進化を遂げたものも多数報告されている。黄色ブドウ球菌は体内に常在するグラム陽性菌である。通常は無害であるが、ヒトの皮膚化膿性疾患や中耳炎、結膜炎、敗血症、髄膜炎など様々な感染症の原因となりうる。MRSA はとりわけ感染力が強いわけではなく、通常の黄色ブドウ球菌と変わらない。しかし、医療現場では新生児や高齢者、術後の患者など免疫力が低下した人々に対して、敗血症や感染性心内膜症などを引き起こし、ショック症状、多臓器不全を経て死亡する場合も多く、医療現場での蔓延は大きな障害となる。現在では、臨床分離される黄色ブドウ球菌の約 60% が MRSA と判定されている。

現在日本で MRSA 治療薬として認可されている抗生物質は、アミノペプチド系の arbekacin(7) (ABK)、グリコペプチド系の vancomycin(8) (VCM) と teicoplanin(9) (TEIC) とオキサゾリジノン系の linezolid(10) (LZD) と環状リポペプチド系の daptomycin(11) (DAP) の 5 種類である¹³⁾。この中でも VCM は一番多く用いられており、長らく耐性菌の発現はほとんど認められなかった。しかし、1980 年代になるとバンコマイシン耐性腸球菌 (vancomycin-resistant enterococci : VRE) が分離され、その後急速に広まり現在では集中治療室などで分離される腸球菌のうち 20% が VRE と判定されている。VRE は、免疫力が低下した人への院内感染などを引き起こして問題となっているが、それ以上に問題なのは、VRE が VCM 耐性に関与する遺伝子 *vanA* や *vanB* を保有していることである。この遺伝情報が黄色ブドウ球菌や MRSA に取り込まれることにより、VRE が発現してしまう危険性がある。一般的に *vanA* や *vanB* が MRSA に取り込まれる可能性は非常に低いと考えられているが、一度 MRSA に *vanA* や *vanB* プラスミドが伝達され、そのプラスミドが黄色ブドウ球菌に適応して安定化した場合、

容易に伝播、拡散する危険性が高くなり、VCM 耐性菌の蔓延を引き起こすと懸念される。2002 年にアメリカで VCM を長期投与していた腎透析患者から VRSA が分離された¹⁴⁾。これはこの細菌から *mecA* 遺伝子と *vanA* 遺伝子の両方が検出されたことから、MRSA に VRE から *vanA* を担うプラスミドが伝播されたと推測されている¹⁵⁾。

これらの背景から、菌が生存する過程で必須であり、なおかつ、これまでに使用されている抗生物質とは異なる作用標的を持つ抗生物質の開発が強く求められている¹⁶⁾。これは、標的が異なることにより、菌が未だその耐性メカニズムを全く持っていないと考えられるためである。

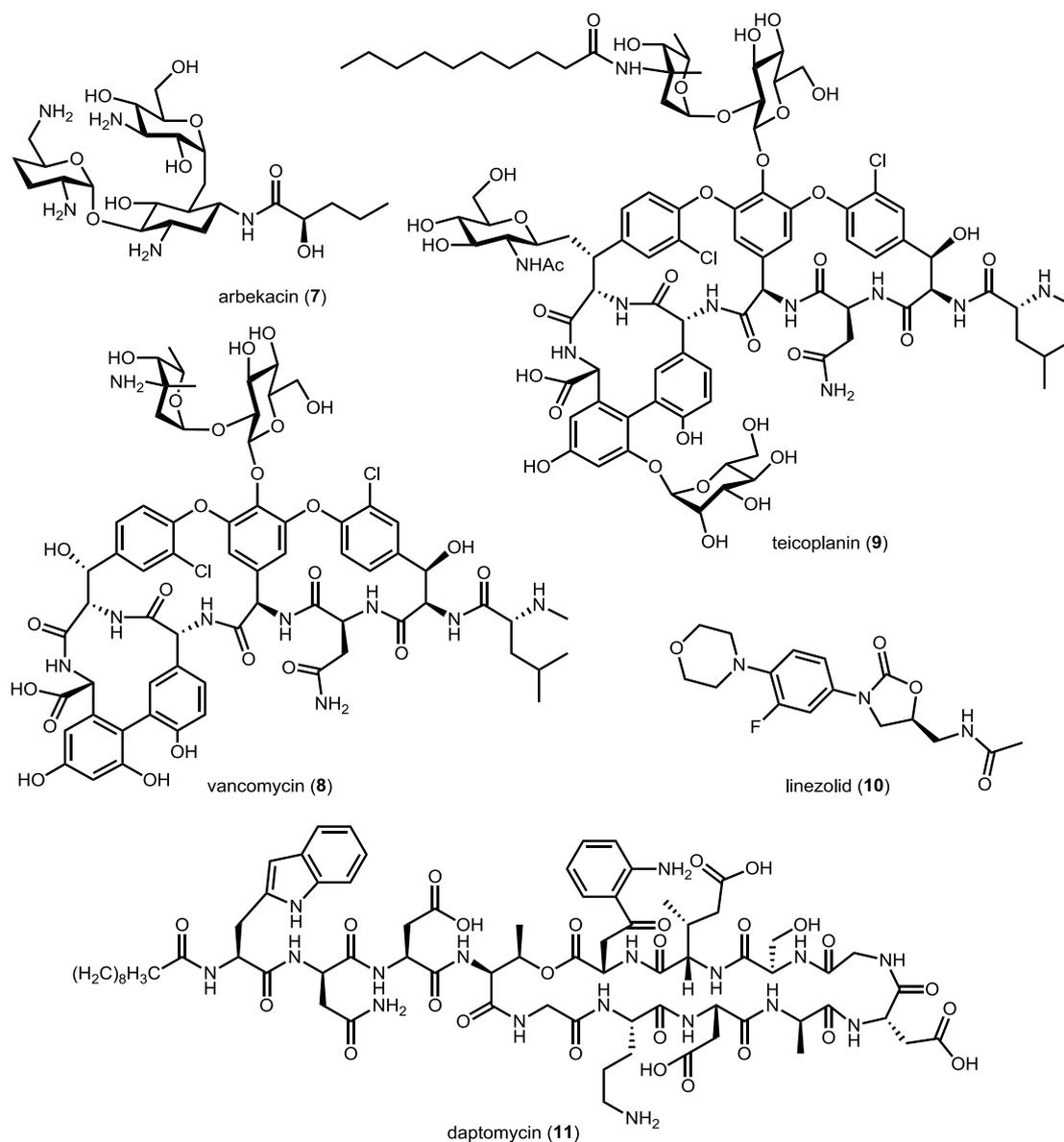


Figure 1-3

1-3 マンノペプチマイシン

1-3-1 マンノペプチマイシンの発見と構造決定

マンノペプチマイシンは、1950年代に当時 Wyeth 社（現 Pfizer 社）の研究者らにより、*Streptomyces hygroscopicus* LL-AC98 から発見された。しかしながら当時の技術では、単離が困難であったため、混合物 AC98 complex と名づけられた化合物群¹⁷⁾として精製された。AC98 complex がグラム陽性菌に対して高い抗菌活性を持つことは知られていたが、近年になり、メシチリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）や 20 世紀最強の抗生物質であるバンコマイシンに耐性を獲得した、バンコマイシン耐性菌（VRE）に対して抗菌活性を有することがわかり、再び注目された。そして、2002年に Haiyin He らにより AC98 complex から 5 つの化合物マンノペプチマイシン α ~ ϵ (12)~(16) が単離・構造決定された¹⁸⁾ (Figure 1-8)。マンノペプチマイシン α ~ ϵ (12)~(16) の構造は、環状ペプチドと糖鎖より構成されたグリコペプチド系化合物であり、環状ペプチドを構成する 6 つのアミノ酸のうち 3 つが異常アミノ酸である。3 つの異常アミノ酸は、 β -methylphenylalanine と、互いに α 位の立体化学が違うジアステレオマーの関係にある Aiha (α -amino- β -[4'-2'-iminoimidazolidinyl]- β -hydroxypropionic acid)-A と Aiha-B であり、Aiha-A および Aiha-B は特徴的な環状グアニジン部位を有している。また、Aiha-B のグアニジン部位には N 結合型マンノース糖が存在し、マンノペプチマイシン β (13) 以外の 4 つは、チロシンのフェノール部位にマンノシド二糖を有している。また、マンノシド二糖は、マンノペプチマイシン α (12) が全ての水酸基が遊離の状態が存在し、 γ (14)~ ϵ (16) はそれぞれイソバレリル基が還元末端側のマンノースの 2~4 位水酸基に連結した構造である。活性の強さは、4 位にイソバレリル基を有したマンノペプチマイシン ϵ (16) が最も高く、以下 $\delta > \gamma > \beta > \alpha$ の順となっている^{18,19)}。

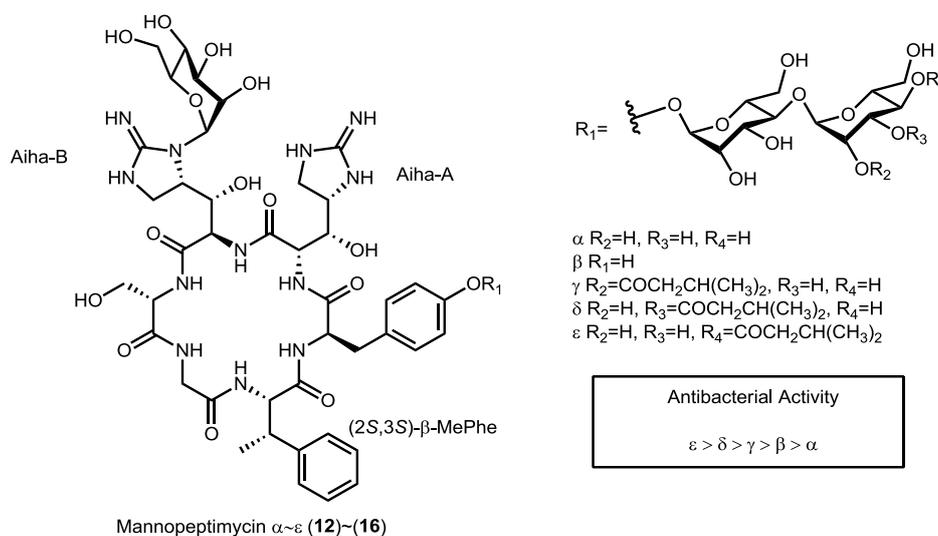
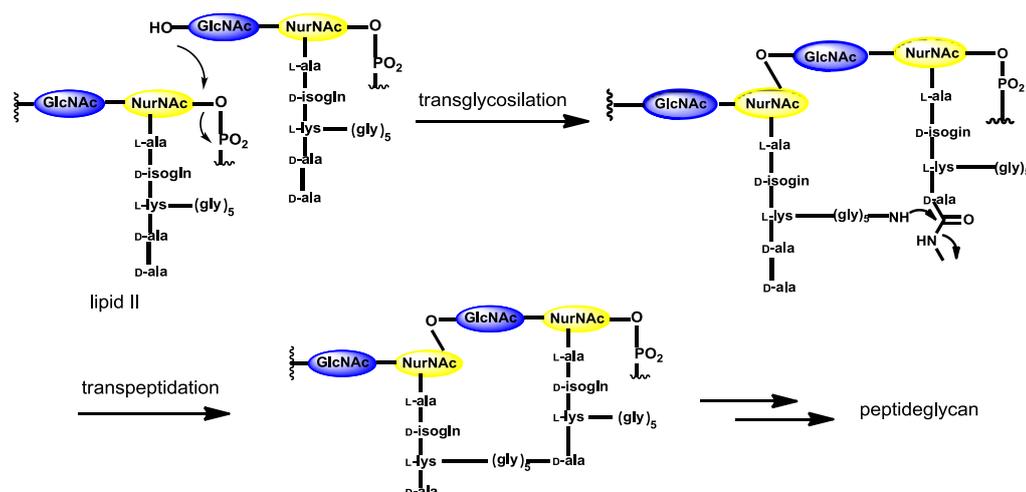


Figure 1-4

1-3-2 マンノペプチマイシンの生理活性発現機構

マンノペプチマイシンは細胞壁形成阻害により生理活性を発現する化合物である²⁰⁾。細胞壁合成阻害により活性を持つ化合物は、原核生物のみが持つ細胞壁へ特異的に作用し、生理活性を発現する。細胞壁の形成を阻害することで、細菌は細胞質の浸透圧が動物の体液よりも一般的に高いため薄くなった細胞壁をもつ細菌細胞では外液との浸透圧差から細胞内へ外液が流入し、溶菌を起こし死滅する²¹⁾。

細胞壁は主にペプチドグリカンとよばれる網状構造の化合物により構築されており、その網状構造は糖鎖とペプチド鎖により合成されている。細胞壁合成は、Scheme 1-1 に示す通り、ペプチドグリカンを構成する最小単位構造の合成過程とそれらをつなぎ合わせる過程がある²²⁾。前者過程の最小単位構造は lipid II と呼ばれ、二糖とペプチド、グリセリン脂質が連結した構造を有している。後者過程は糖鎖をつなぐトランスグリコシル化 (transglycosilation) とペプチド鎖をつなぐトランスペプチド化 (transpeptidation) の過程にさらに分けられる。



Scheme 1-1

最初に発見された penicillin(4)は、トランスペプチド化が起こる際のペプチド転位酵素 (transpeptidase) を阻害することで細胞壁の形成を抑制して細菌を死滅させる²³⁾。また 20 世紀最強といわれた vancomycin(9)は、lipid II の D-アラニル-D-アラニン部位を認識して結合し、トランスグリコシル化が起こる際の糖転移酵素 (transglycosylase) を阻害して、活性を発現する。しかしながら、前述の通り、抗生物質の作用部位を変化させるなどした耐性菌が生まれ、問題視されている²⁴⁾。

マンノペプチマイシンは、細胞壁形成において、上記の vancomycin(9)や mersacidine といった化合物同様、lipid II に結合することによりトランスペプチド化を阻害する²⁰⁾。しかしながら、

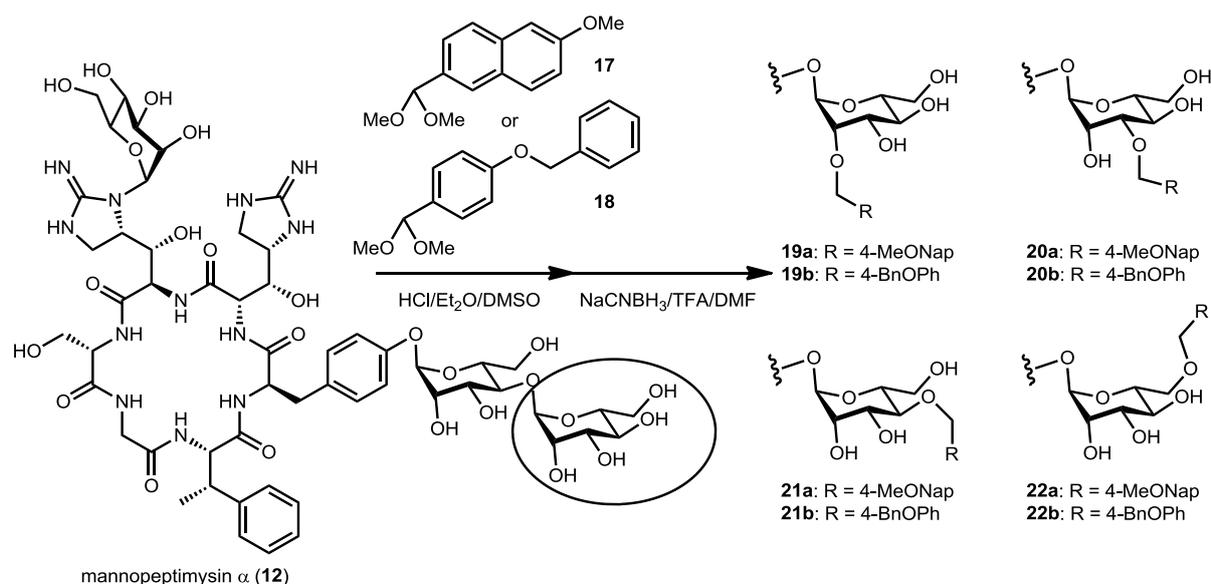
その結合部位は vancomycin や mersacidine とは異なり、lipid II への結合がこれら化合物とは競合しないことがわかっている²⁰⁾。このことが VRE に対しても活性を維持する要因となっていると考えられるが、その詳細な結合部位、結合様式についてはいまだ解明されていない。マンノペプチマイシンの化学的合成法の開発が、その解明に寄与すると期待できる。

1-3-3 マンノペプチマイシンの誘導体研究

1-3-3-1 糖鎖の修飾

マンノペプチマイシンは、2002年に単離・構造決定の報告がなされたが、現在までに全合成の報告はない。そのため、報告されている研究は、天然から得られたマンノペプチマイシンを用いた誘導体合成がほとんどである。マンノペプチマイシン類の抗菌活性の強さが二糖上のイソバレリル基の位置により異なることから、還元末端の脂溶性置換基が活性の強さに大きな影響を与えていると推測される。糖鎖部位の化学修飾のし易さもあり、以下に述べる類縁体合成研究がなされている。

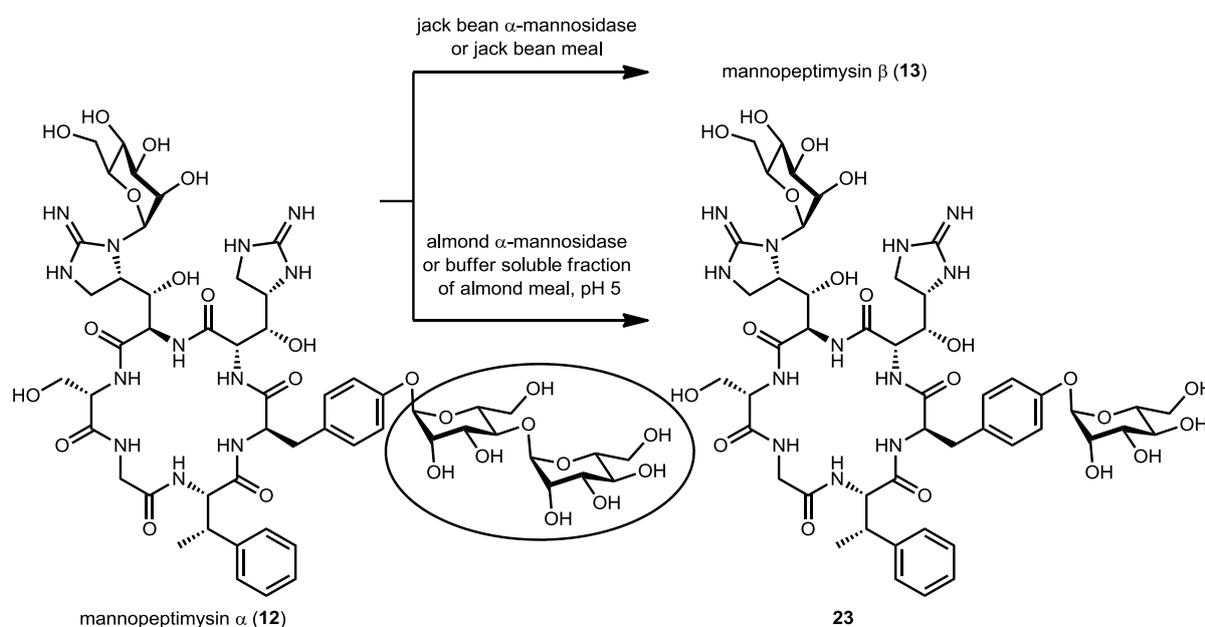
2003年、当時 Weith 社の Sum らは、マンノペプチマイシンの様々な官能基への化学修飾を試みた結果、多くの場合、官能基選択的な修飾が困難であったことを報告している²⁵⁾。しかしながら、以下の末端マンノースへの修飾は可能であることを見出した。Sum らは得られた類縁体の抗菌活性を評価することで活性発現に必須な部位を同定し、さらなる良好な活性、安定性を有する誘導体の創出を目的として以下の類縁体合成を行った²⁵⁾ (Scheme 1-2)。



Scheme 1-2

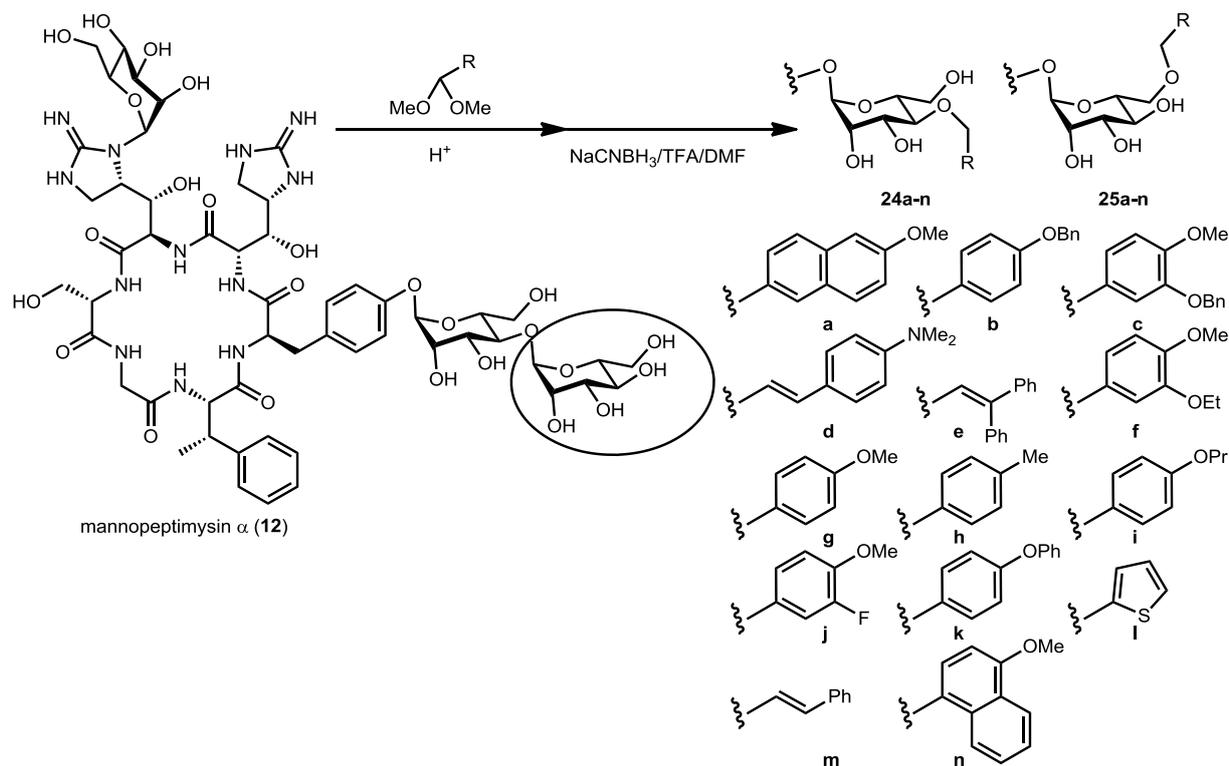
すなわち mannopeptimycin α (**12**)に対して、酸性条件下、ジメチルアセタール **17** もしくは **18** を作用させて、丸囲みで強調したマンノース選択的にアセタールを導入した。得られたアセタールの混合物に対して、 NaCNBH_3 を酸性条件下で作用させ、アセタール環を開裂させ、HPLCにより精製することで、エーテル **19-22** を得た。これらの化合物の抗菌活性試験を実施したところ、4位および6位にエーテル化された類縁体 **21a**、**21b**、**22a**、**22b** は元の化合物よりも抗菌活性が増強し、vancomycin と同等かそれ以上の活性を示すことを見出した。

なお、合成化学的修飾ではなく、酵素反応を用いた糖鎖部位の修飾も報告されている (Scheme 1-3)。当時 Weith 社の Sutherland らは、 α -マンノシダーゼを用いて、mannopeptimycin α (**12**)の末端のマンノースのみを切断した類縁体 **23**、二糖を切断した mannopeptimycin β (**13**)を得ることに成功している²⁶⁾。



Scheme 1-3

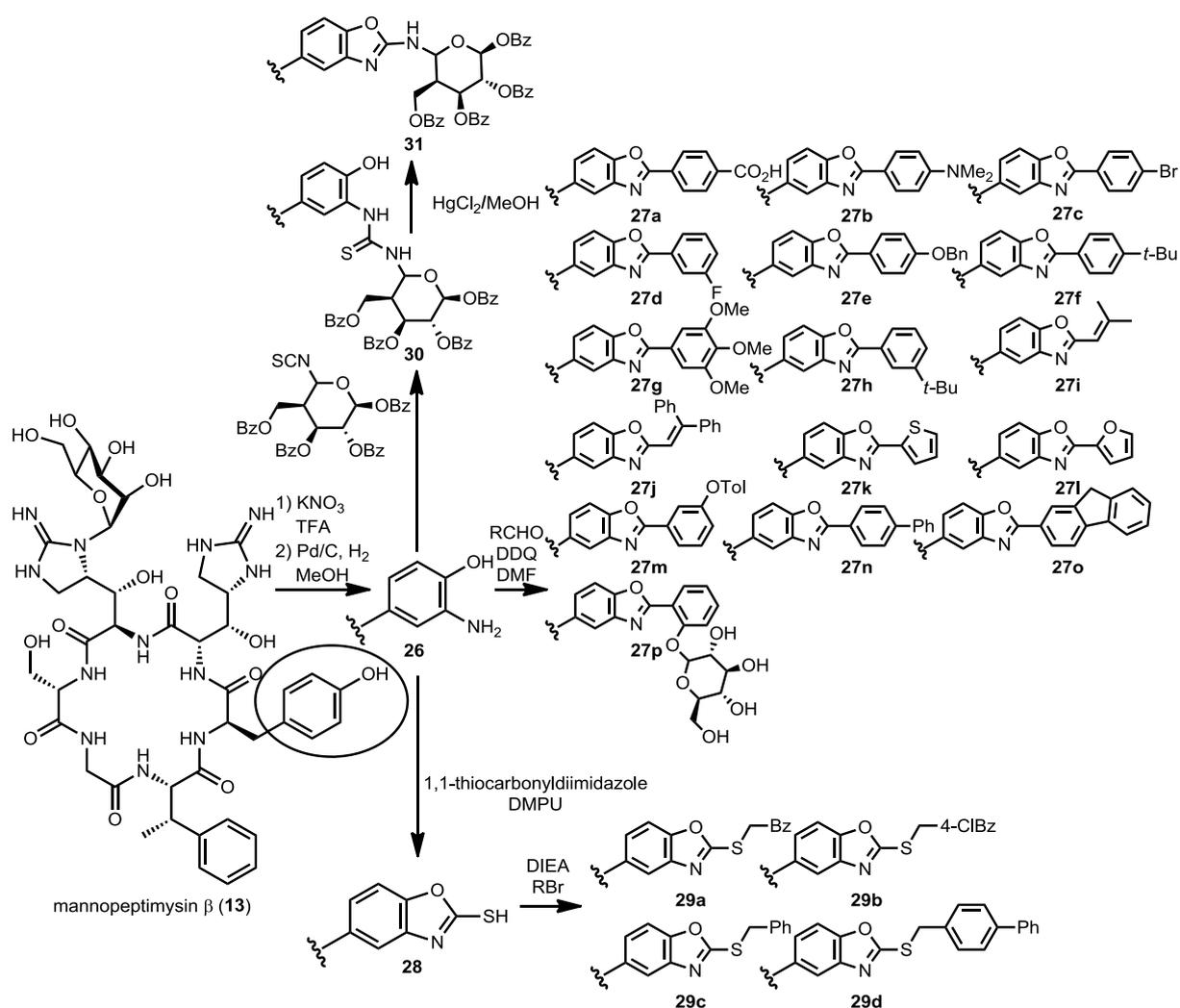
また、Sum らは同様の手法を駆使し、また、上述の知見に基づき活性向上が期待できる4位および6位に多様な置換基をエーテル化により導入して、28種類の類縁体 **24a-n**、**25a-n** を合成し、抗菌活性試験を実施した²⁷⁾。その結果、期待通り概ねほとんどの類縁体が良好な抗菌活性を示し、**24a** においては、vancomycin と同等以上の活性を示すことを見出した (Scheme 1-4)。



Scheme 1-4

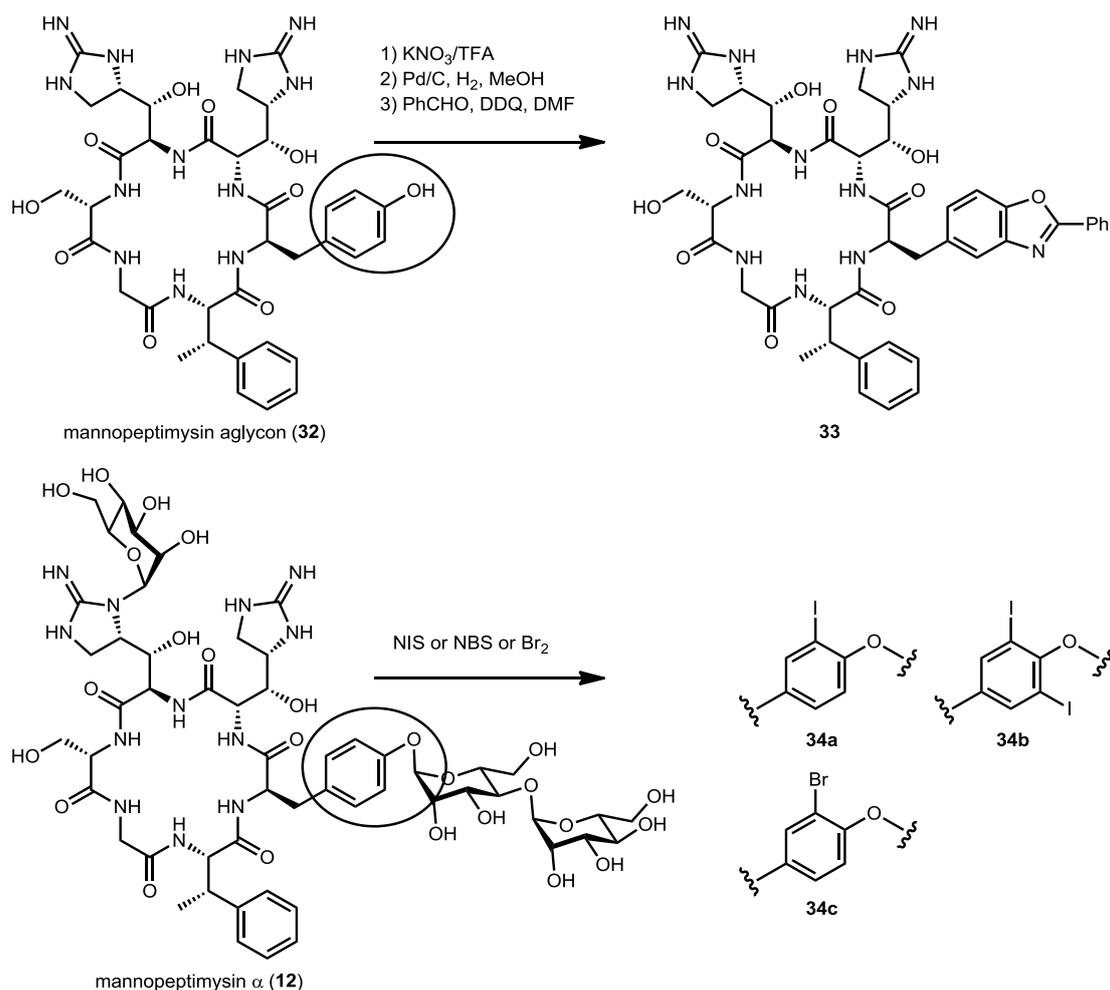
1-3-3-2 チロシン側鎖芳香環の修飾

Sum らは、チロシン側鎖芳香環部位の修飾も報告している。すなわち mannopeptimycin β (**13**) を原料として、Scheme 1-5 に示す通りチロシンのフェノール性水酸基上の糖がなく、ここをベンゾオキサゾールへと変換した誘導体を 20 種合成した (変換した部位を Scheme 1-3 で丸囲みで強調した)²⁸⁾。すなわち、**13** に対して、 KNO_3 を酸性条件下で作用させて、チロシンの側鎖芳香環上をニトロ化し、これを還元することによりアニリン **26** へ誘導した。これに対して、種々のアルデヒドを酸化条件下で作用させることにより類縁体 **27a-p** を、一方で **26** にチオールを導入して **28** へ変換した後に硫黄原子上でアルキル化反応を行うことにより類縁体 **29a-d** を合成した²⁸⁾。また、さらに、**26** に対してイソチオシアナート基を持つ糖を反応させて、類縁体 **31** も合成した²⁸⁾。これらの類縁体について抗菌活性を評価した結果、**27b**、**27d**、**27m**、**29b** の 4 化合物は、vancomycin 程ではないものの、元の化合物よりも活性が向上することを見いだした²⁸⁾。



Scheme 1-5

また、Sumらは、mannopeptimycin aglycon (32)に対して、Scheme 1-5 で述べたのと同様の反応を行うことによりベンズチアゾール体 33 を合成し²⁸⁾、さらに、mannopeptimycin α (12)に対してヨウ素化剤、および臭素化剤を作用させることにより、モノヨウ素化体 34a、ジヨウ素化体 34b、モノ臭素化体 34c の三化合物を合成した²⁷⁾ (Scheme 1-6)。これらの類縁体の抗菌活性試験の結果、モノヨウ素化体 34a では抗菌活性が喪失し、それ以外のハロゲン化体の抗菌活性試験は報告されていない。一方で、類縁体 33 は糖をひとつも持たないにも関わらず、穏やかながらも（最小阻止濃度：32-64 $\mu\text{g/mL}$ ）抗菌活性を維持することが判明した。これらの結果は、マンノペプチマイシンの糖鎖部位は必ずしも抗菌活性に必須ではないことを示す結果であり、大変興味深い。

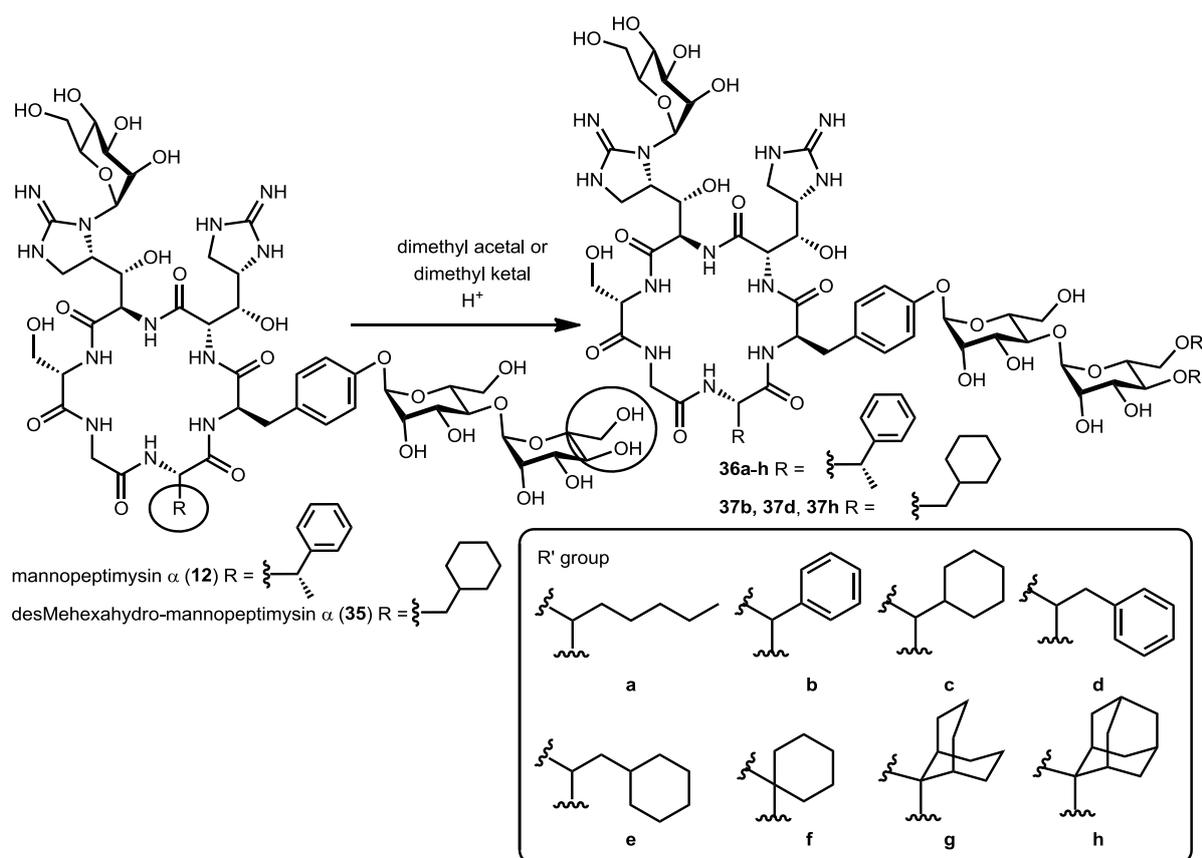


Scheme 1-6

1-3-3-3 複数箇所の修飾

マンノペプチマイシンの類縁体合成研究において、チロシン部位、および糖鎖以外の構造を変換した研究例は極めて少ないが、下記に示すいくつかの報告が過去になされている。

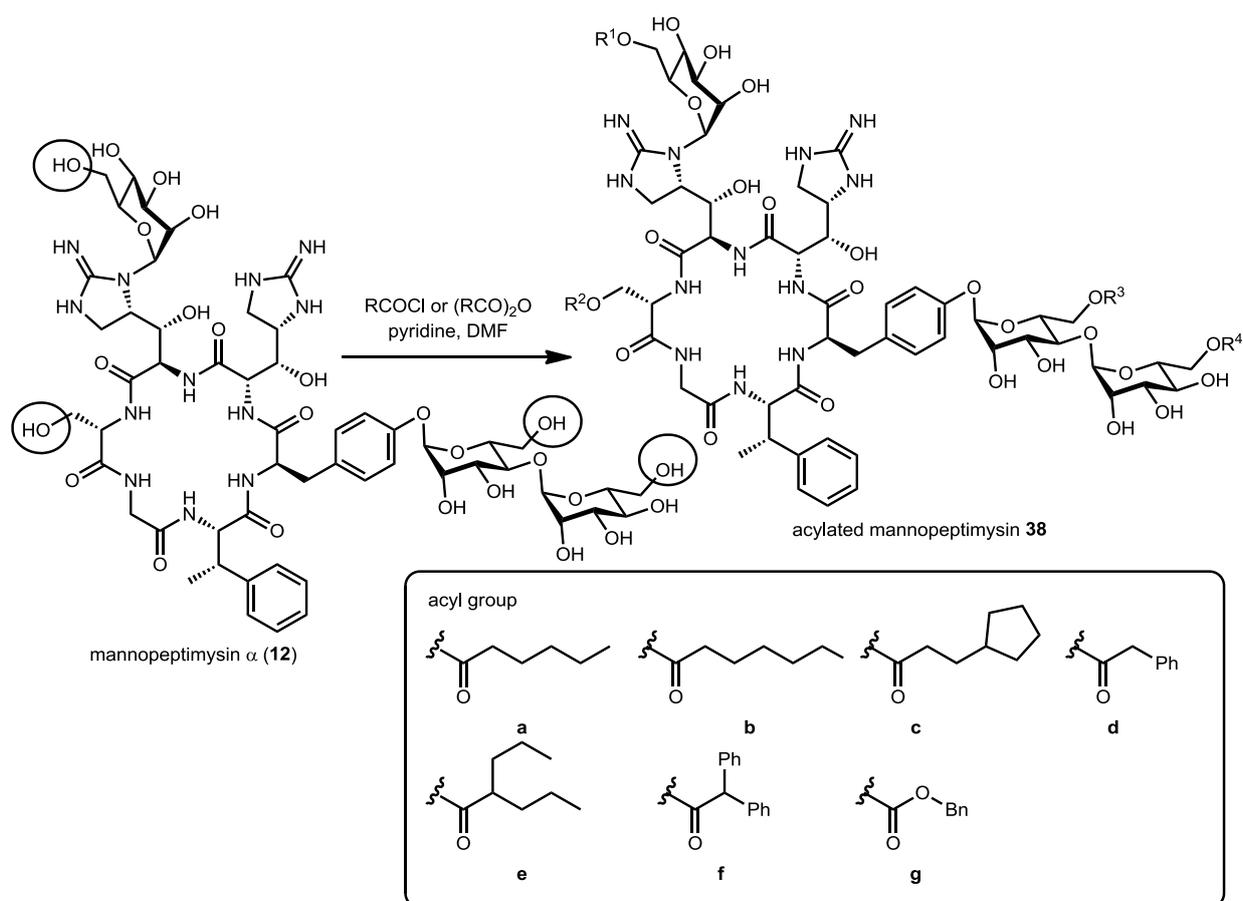
すなわち、Dushin らは Scheme 1-7 に示す通り mannopeptimycin α (**12**) および desmethylhexahydro-manno-peptimycin (**35**) (この化合物についての詳しい調製法等の記述は筆者が文献調査した限りでは見当たらないが、章末引用文献 29 の supporting information 中に fermentation により得られるとの簡素な記述が見られる。) を原料として、1-3-3-1 で述べた末端マンノースへの修飾法を駆使して、11 種類の類縁体 **36a-h**、**37b**、**37d**、**37h** を合成した²⁹⁾。これら類縁体の抗菌活性試験を実施したところ、概ね、良好な抗菌活性を示し、特に、類縁体 **37h** は vancomycin を凌駕する非常に強い抗菌活性を示した。なお、本化合物は AC98-6446 というコードネームで以降呼ばれ、さらなる詳細な抗菌活性試験が実施された³⁰⁾。その結果、AC98-6446 (**37h**) は MRSA に対する 最小阻止濃度が 0.015-0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、VRE に対する阻止濃度



Scheme 1-7

が 0.06-0.12 $\mu\text{g/mL}$ 、ペニシリン耐性肺炎レンサ球菌に対する最小阻止濃度が 0.008 $\mu\text{g/mL}$ と極めて強い抗菌活性を示すことがわかり、新規抗菌剤候補化合物として期待が持たれている。この結果から、 β -methylphenylalanine 部位のメチル基は抗菌活性に必須ではないことが示唆されている。また、本例はマンノペプチマイシンが新規抗菌剤候補化合物のテンプレートとして極めて強力なポテンシャルを有することを示す実例である。

また、**He** らは mannopeptimycin α (**12**)を用いて、糖およびセリンの水酸基に 7 種類のアシル基を導入することにより誘導体合成を実施した³¹⁾。すなわち、高希釈条件でアシル化剤の当量を制御しながら注意深くアシル化を行い、モノアシル体 **38** のみを得た。しかしながらアシル化の位置については制御できなかったため、Scheme 1-8 で丸囲みで示した 4 箇所のいずれかで反応が進行した 4 つのモノアシル体を混合物として得ている。**He** らはこの混合物を入念な HPLC 精製により分離し、各種 2 次元 NMR 測定により構造を決定した。得られた 26 種類の類縁体{アシル化の位置が 4 箇所 \times アシル基の種類が 7 種類 = 28 種類 - 2 種類 = 26 種類 (-2 種類はアシル基として **g** をもつ類縁体は理由は不明だが、 R^3 か R^4 にアシル基が導入された化合物しか活性試験を実施していないため)}について、抗菌活性試験を実施した結果、セリンや窒素上のマンノースに対してアシル化された類縁体は活性が低下し、逆に二糖部位、とりわけ末端のマンノース 6 位に対するアシル化は活性を上昇させることがわかった。



Scheme 1-8

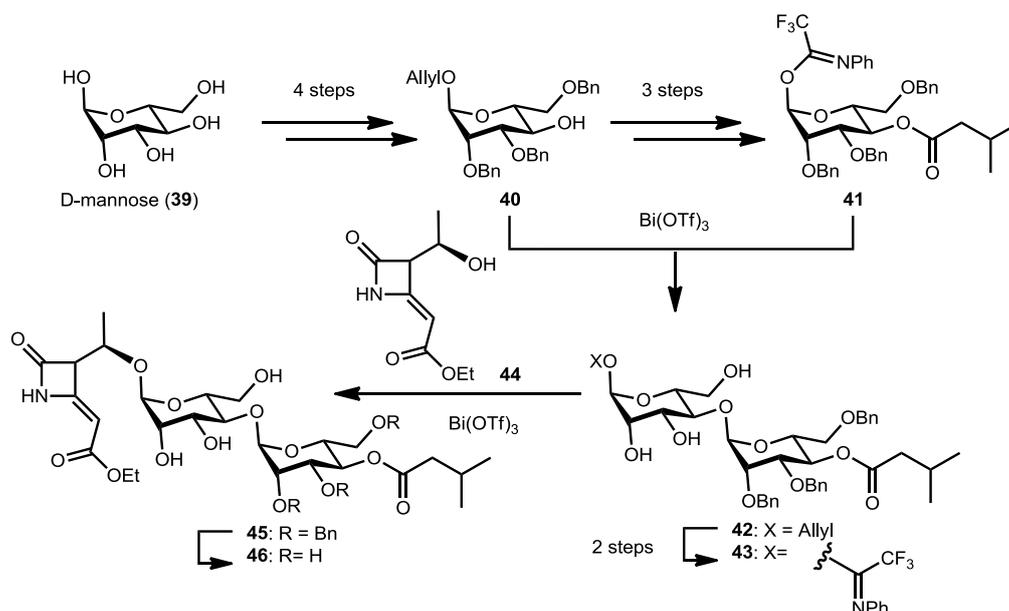
1-3-4 マンノペプチマイシンの合成研究

前節で述べたように、マンノペプチマイシンの類縁体合成研究はそのほとんどが天然物を原料として展開されている。しかしながら、マンノペプチマイシン自体が多くの極性官能基を有しているため、官能基、位置選択的な修飾は困難であり、実際に上述の報告にも選択的修飾の困難さ、混合物として得られた生成物の分離、構造決定の困難さが度々述べられている。また、天然物を原料とした場合、化学修飾できる箇所も限られており、これまでのところ、糖鎖部位以外に関する構造活性相関解明は一部例外を除いて（1-3-3-3 参照）全く進んでいない状況である。

上記の状況を鑑みるに、全合成的アプローチによる類縁体創製は極めて重大な意義を持つと考えられる。実際にいくつかのグループによって、マンノペプチマイシンの部分構造の合成研究が展開されているので、以下に述べる。

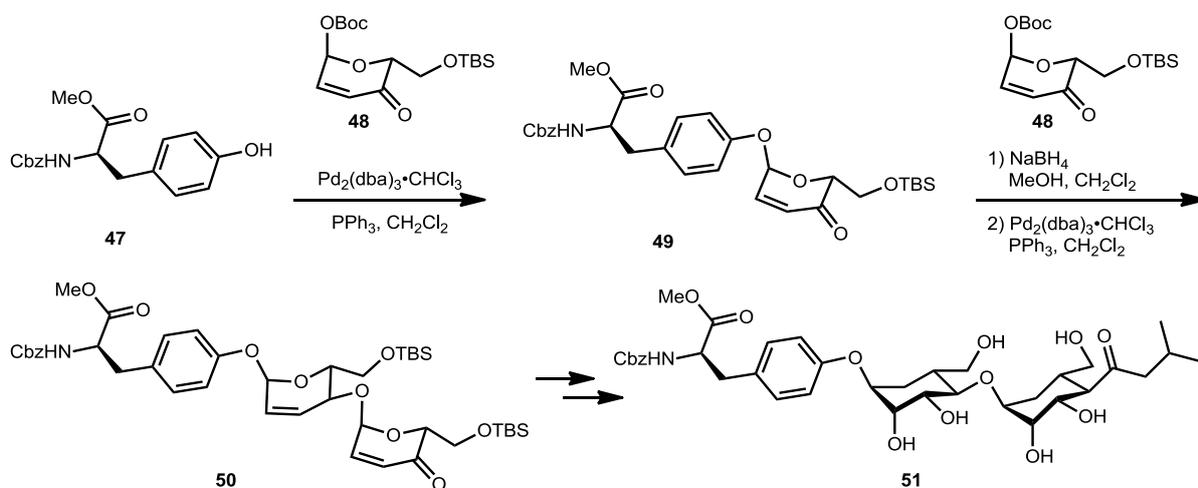
1-3-4-1 糖鎖部位の合成研究

2008年、Iadonisi はマンノペプチマイシンのチロシンの連結する二糖部位の合成を報告している³²⁾。Scheme 1-9 に示す通り、D-マンノース(39)を原料として、4工程の変換を経て、保護糖40を合成し、これからさらに3工程の変換を経ることにより、イミダート糖41を合成した。Bi(OTf)₃を用いてイミダート糖41を活性化して40とのグリコシル化を行い、二糖42を得た。続いて、この二糖をイミダート糖43へと変換した後、同様の活性化条件を用いて、β-ラクタム44と連結した。なお、44はIadonisiらが別のプロジェクトで開発した抗菌性化合物である。



Scheme 1-9

また、O'Doherty らは、独自に開発した Pd 触媒を用いるチロシンのフェノール部位への化合物48の連結法と、その後のシクロヘキセノン部位の化学修飾によるマンノースへの変換を報告している³³⁾ (Scheme 1-10)。すなわち、チロシン47に対して、48をPd触媒を用いてカップリングした。得られた49のケトンを選択的に還元し、もう一度同様の手法を用いて48と連結することで50を合成し、数工程の変換を経て、マンノペプチマイシンεの構成部位であるチロシン配糖体51を合成した。

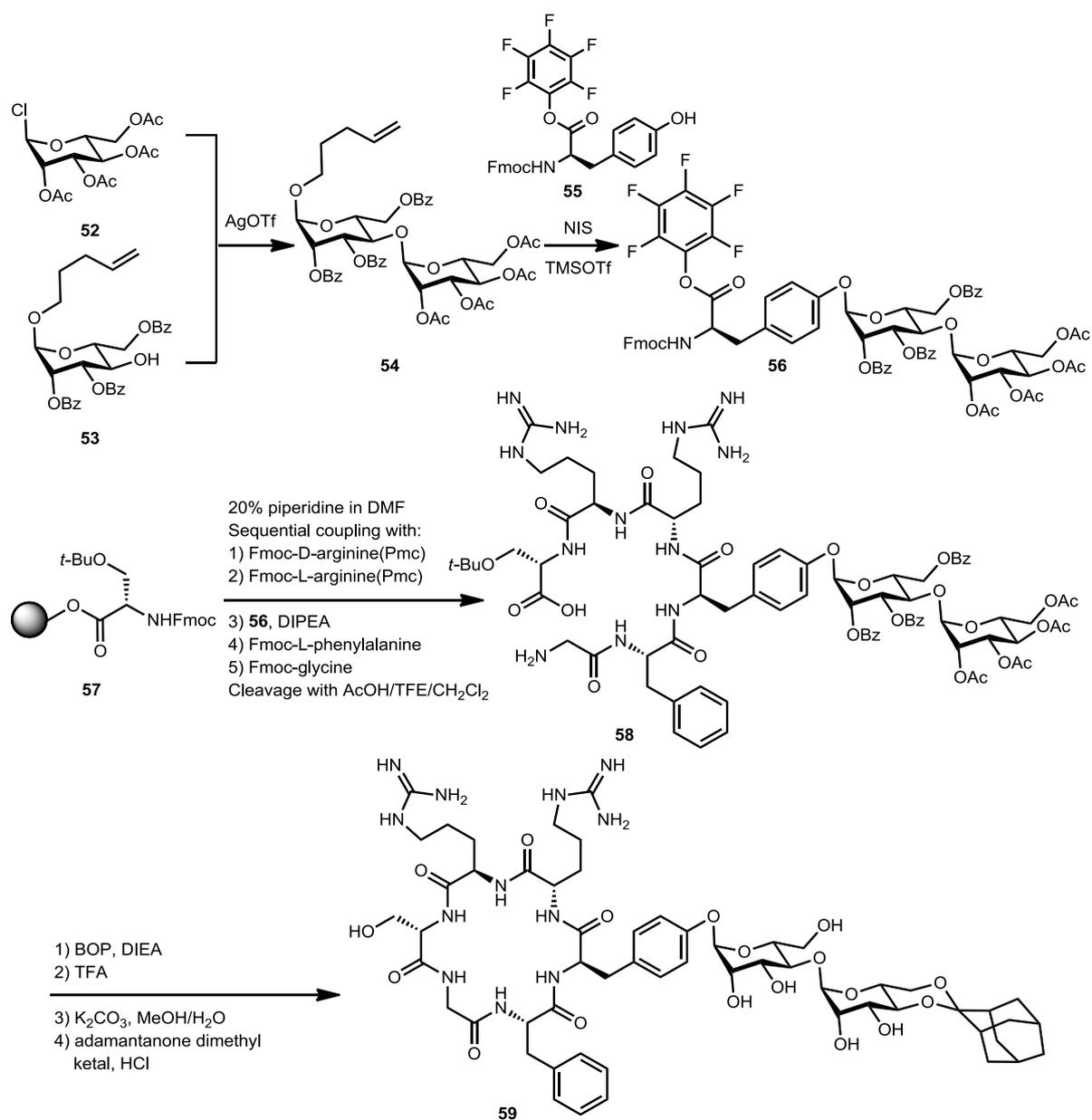


Scheme 1-10

1-3-4-2 糖鎖および簡易構造アグリコン部位の合成研究

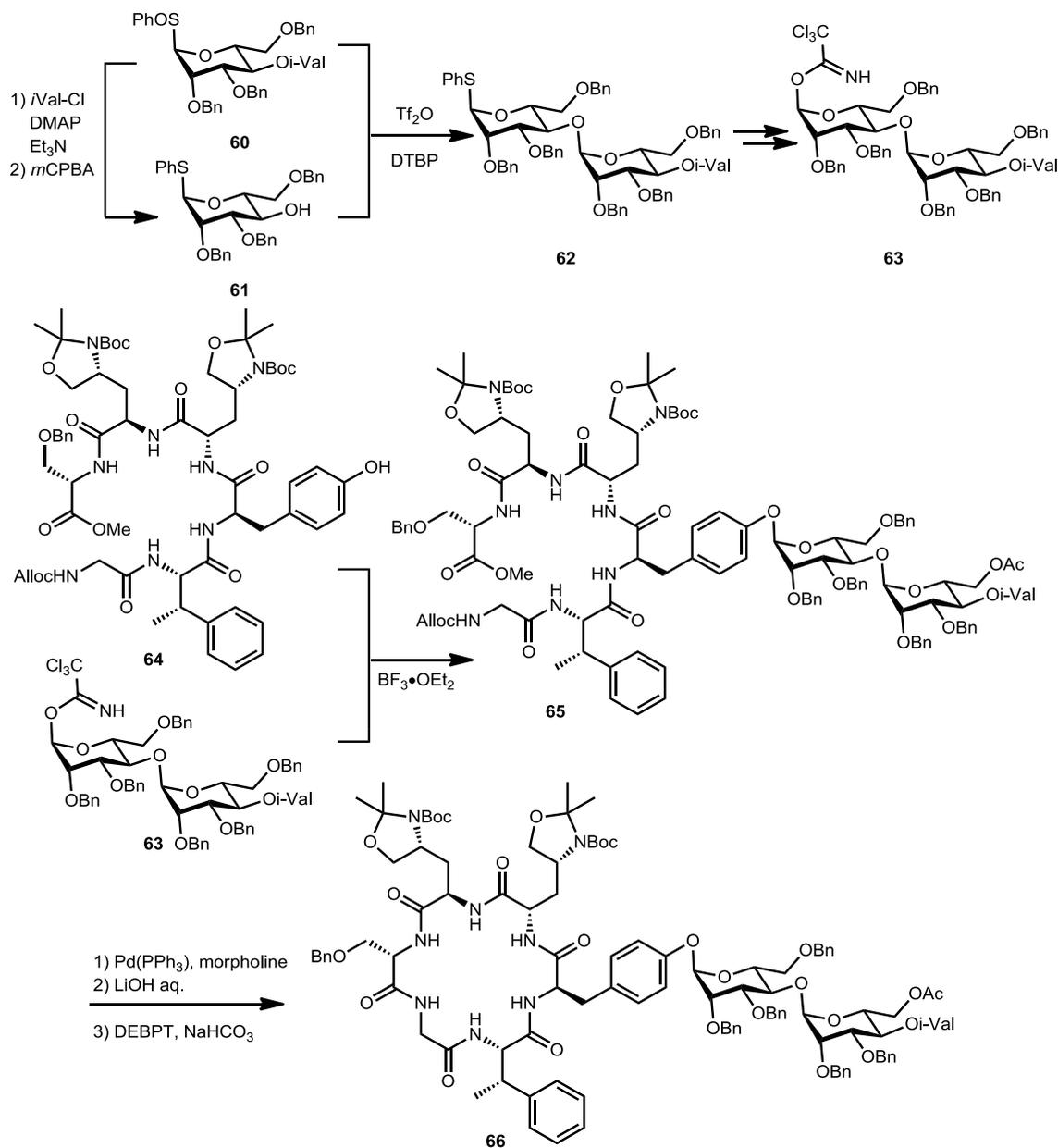
1-3-4-3 で述べるが、マンノペプチマイシンアグリコンは Aiha-A および Aiha-B という二つの高度に官能基化され、複数の不斉中心をもつ異常アミノ酸を有するため、その合成は容易ではなく、未だ合成例は一例も報告されていない。そのため、以下に述べるように、これら異常アミノ酸を入手容易なアミノ酸に変換した合成研究が報告されている。

Wang らは、異常アミノ酸(2*S*,3*S*)- β -MePhe、Aiha-A、Aiha-B を L-フェニルアラニン、D-および L-アルギニンで代用し、固相合成法を用いた誘導体合成を行った³⁴⁾ (Scheme 1-11)。すなわち、入手容易な原料から短工程で調製できる糖供与体 **52**、および糖受容体 **53** をそれぞれ用意し、AgOTf を使用した活性化条件でグリコシル化することにより 2 糖 **54** を得た。続いて、チロシン保護体 **55** を用いて、NIS、TMSOTf を使用した活性化条件でグリコシル化し、チロシン配糖体 **56** を合成した。この **56** を用いて固相合成を行った。すなわち、保護されたセリンを担持した固相担体 **57** に対して、アルギニン、**56**、フェニルアラニン、グリシンを順次固相上で連結し、酸性条件下で切り出すことにより、閉環前駆体 **58** を得た。BOP を縮合剤として用いてマクロラクタム化し、酸性条件下で *t*-Bu 基を、塩基性条件下でアシル基を除去し、最後に、アダマンチルアセタール部位を導入することにより目的物 **59** の合成を達成した。Wang らは、得られた化合物 **59** の抗菌活性が微弱であったことから、最も合成困難な Aiha-A、Aiha-B の環状グアニジン部位が抗菌活性の発現に極めて重要であると報告している。



Scheme 1-11

また、つい最近 Oberthür らは、やはり、Aiha-A と Aiha-B の代わりにオキサズリジン環を有するアミノ酸を導入した類縁体合成を報告している³⁵⁾(Scheme 1-12)。すなわち、文献既知の糖供与体 **60** と、これから 2 工程で容易に調製できる糖受容体 **61** を、Tf₂O を使用した活性化条件下でグリコシル化することにより 2 糖 **62** を得た。続いて、これをイミダート糖 **63** へ変換した後、別途調製したヘキサペプチド **64** とグリコシル化することにより **65** を得た。次に保護基を除去して、DEBPT を用いてマクロラクタム化することにより化合物 **66** を合成した。Oberthür らによる報告はグリコシル化手法の開発に重点を置いてあり、化合物 **66** のその後の変換、および抗菌活性の評価は報告されていない。



Scheme 1-12

1-3-4-3 Aiha-A および Aiha-B の合成研究

Aiha-A および Aiha-B は、アルギニンを原料としてβ位の酸化、グアニジン部位の環形成により生合成されていると予測されるが³⁶⁾、これら非天然アミノ酸を構成する炭素の数6つより、窒素と酸素のあわせた数7つの方が多く、極めて高度に官能基化されている (Figure 1-5)。また、α、β、γ位に三連続不斉中心を有しており、さらには、有機塩基の中では最も塩基性の強い官能基の一つであるグアニジン部位を持っている。

高度に官能基化され、多くの不斉中心をもち、なおかつ強塩基性官能基までもつ Aiha-A や Aiha-B のような化合物を短工程で合成する一般的手法の確立は、有機合成において未踏の重要課題の一つであるといえる。過去に我々以外に二つのグループによって、これら異常アミノ酸の合成が報告されているので、以下に述べる。

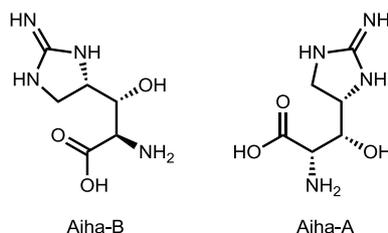
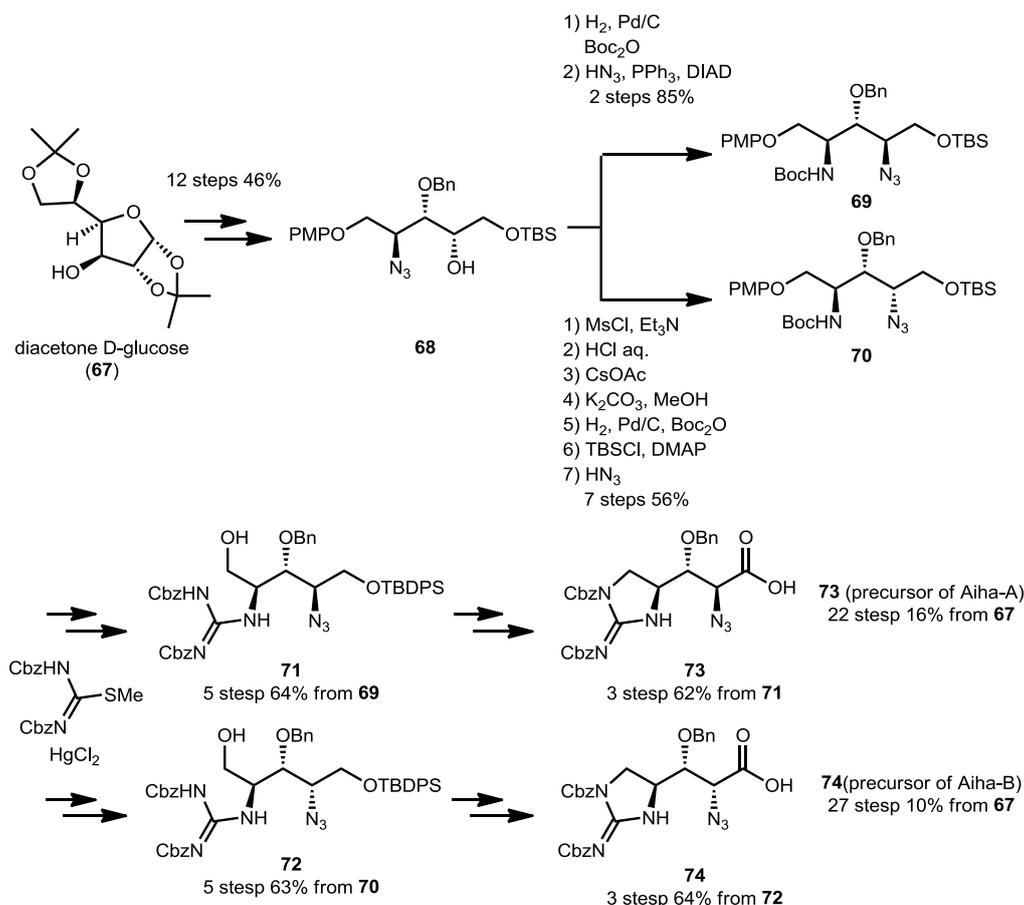


Figure 1-5

2009 年、Oberthür らは安価な入手容易なキラル源として diacetone D-glucose (**67**)を用いて Aiha-A および Aiha-B へ変換可能なアジド **73** と **74** の合成を報告した³⁷⁾ (Scheme 1-13)。すなわち、出発原料の **67** を 12 段階の変換を経て共通中間体 **68** へ導き、一方は、アジドを還元

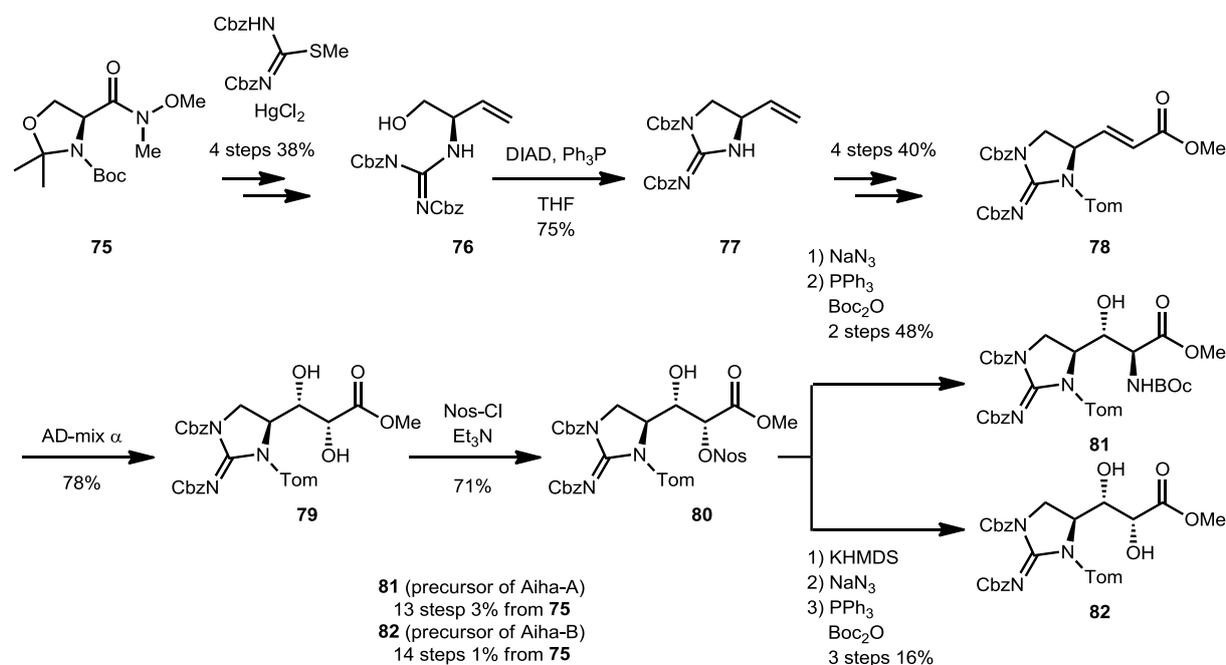


Scheme 1-13

して Boc にて保護し、さらに遊離水酸基をアジド基へ変換することにより **69** へ導いた。もう一方は **68** の遊離水酸基の立体化学を反転させた後にほぼ同一の変換をへることにより **70** へ導いた。以降は全く同様の変換を各々の化合物に施した。すなわち、アミノ基を足掛かりとしてグアニジンを導入して **71** および **72** を合成し、一級水酸基を脱離基へと変換してグアニジン環を構築、最後にカルボン酸へと酸化することにより目的の **73**、**74** を合成している。本合成ルートは、概ね各段階の収率が良好である一方、工程数が長く、また極めて毒性が高く爆発性も高いアジド化水素を用いる点が改善点としてあげられる。

なお、Oberthür らの合成戦略のように、Aiha-A や Aiha-B といった高度に官能基化され、なおかつ複数の不斉点を有する化合物の合成において、天然から入手容易なキラル源を利用する手法は常法の一つである。しかしながら、Oberthür らの合成のように、入手容易なキラル源を目的物の構造に変換する際に長い工程数を要することが少なくない。

これに対し 2010 年、Nieuwenhze らは Garner's aldehyde 前駆体で、セリンから 3 工程で合成できる **75**³⁸⁾ を不斉源として用い、Aiha-A および Aiha-B を短工程で合成可能な手法の開発に成功した³⁹⁾ (Scheme 1-14)。すなわち、**75** を還元して Garner's aldehyde に導き、Wittig 反応により増炭後、アミノ基を足掛かりとしてグアニジンを導入して **76** を合成した。光延反応条件下で環化して **77** とした後、増炭して **78** へ誘導した。続いて、不斉ジヒドロキシル化により二つの不斉点を導入し、ノシラート **80** へと変換した。本化合物を共通中間体として、一方は 2 工程の変換を経て Aiha-A 前駆体の **81** へ、もう一方は 3 工程の変換を経て Aiha-B 前駆体の **82** へ誘導することに成功した。



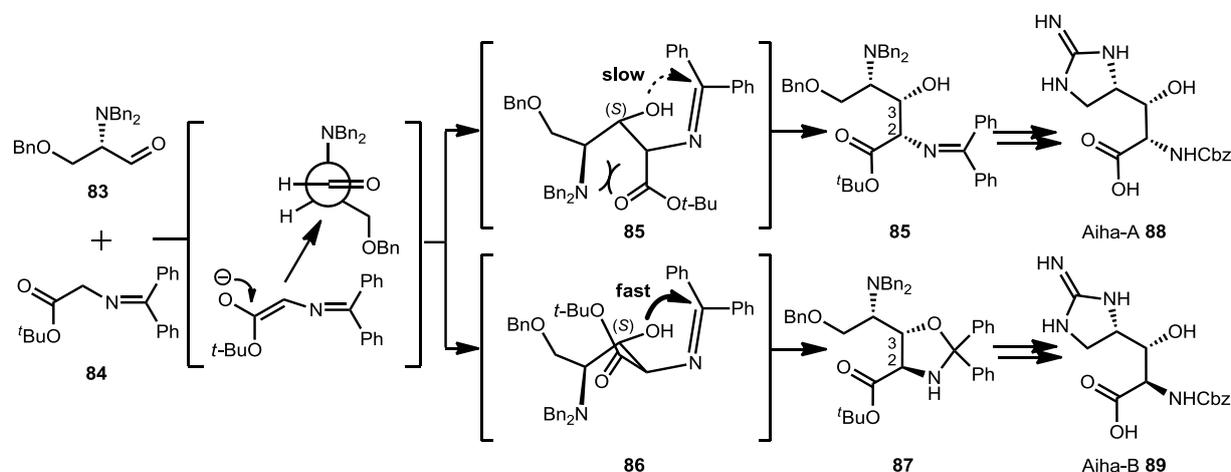
Scheme 1-14

Nieuwenhze らの手法は Oberthür らの手法に比べると大幅に工程数が短縮されており、市販化合物から、16、17 工程ほどで Aiha-A および Aiha-B の前駆体を合成可能である。一方で、各段階の収率が中程度であることから、総収率がかなり低くなっている点が改善点として残る。

Nieuwenhze らの手法は一つだけ不斉点を持つ入手容易な不斉源を用いて、増炭、立体化学の構築を段階的に行っていく手法であり、やはり、Aiha-A や Aiha-B といった高度に官能基化され、なおかつ複数の不斉点を有する化合物の合成において、常法の一つである。入手容易な不斉源を用いて、より短工程、高収率で、一挙に複数の不斉点を構築する手法が確立できれば、この分野に対しての大きな貢献ができるものと考えられる。

1-3-4-4 当研究室の過去の合成研究

当研究室の金原は、セリンから短工程で調製できるアルデヒド **83** を不斉源として用い、**84** との不斉アルドール反応と、続くジアステレオマー**85**、**86** 間での環化速度の差を利用した分割を利用することにより Aiha-A **88** および Aiha-B **89** を迅速に合成するルートの確立に成功している⁴⁰⁾ (Scheme 1-15)。すなわち、アルデヒド **83** に対して **84** を求核剤として作用させて不斉アルドール反応を行ったところ、期待通り Felkin-Ahn 制御により 3 位の立体化学が(S)で、2 位の立体化学が異なる二つのアルドール混合物 **85**、**86** が得られた。金原は、二つの生成物の立体化学の違いに起因するオキサゾリジン環形成速度の差を利用し、**85** は鎖状化合物、**87** をオキサゾリジンとして得た。両者の物性には大きな差があり、シリカゲルカラム精製により容易に分離可能であった。得られた **85** および **87** を用いてグアニジン環形成を行うことにより、目的物を工程かつ高収率で得ることに成功した。なお、生成物の構造は文献既知化合物 **88**、**89**¹⁸⁾へそれぞれ誘導し、NMR 測定結果を比較することにより確認している。本合成手法は、**83** を不斉源としてわずか 1 工程で、高度に官能基化され、なおかつ 3 つの連続不斉中心をもつ化合物 **85**、**87** を一挙に合成、分離できる極めて優れた手法である。他グループの合成法と

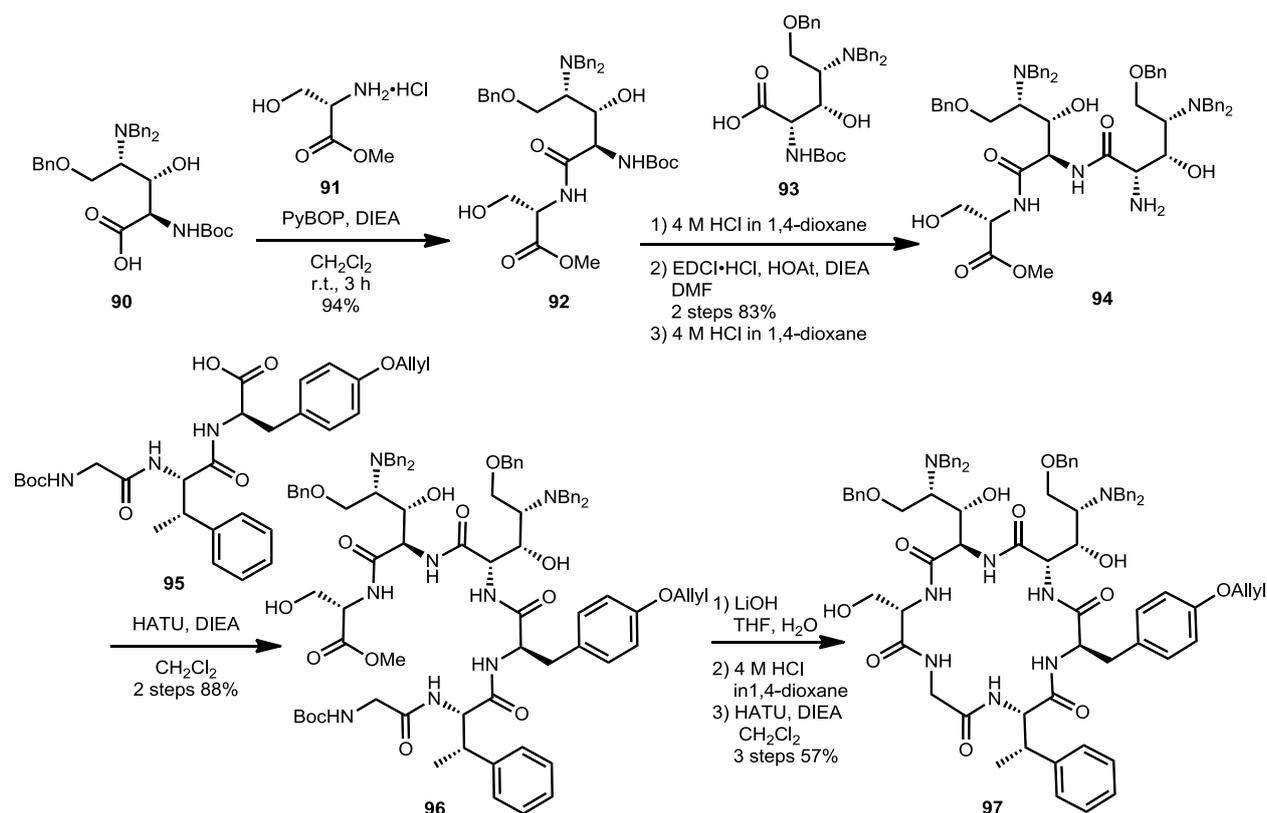


Scheme 1-15

比べても収率、工程数共に優れている。

マンノペプチマイシンアグリコンのように多数の官能基を擁する化合物の合成においては、保護基の適切な選択、反応条件の適切な選択が極めて重要である³⁷⁾。特に強塩基性グアニジンやアミン、水酸基をもつ Aiha-A や Aiha-B についてはなおさらのことである。金原が開発した Scheme 1-15 の手法はそれ自体極めて優れた手法であるが、様々な検討を行ったものの、全合成を可能にする適切な保護基・反応条件の組み合わせを見つけ出せなかったため、結局 Aiha-A、Aiha-B を用いたアグリコン合成は断念するに至った⁴⁰⁾。

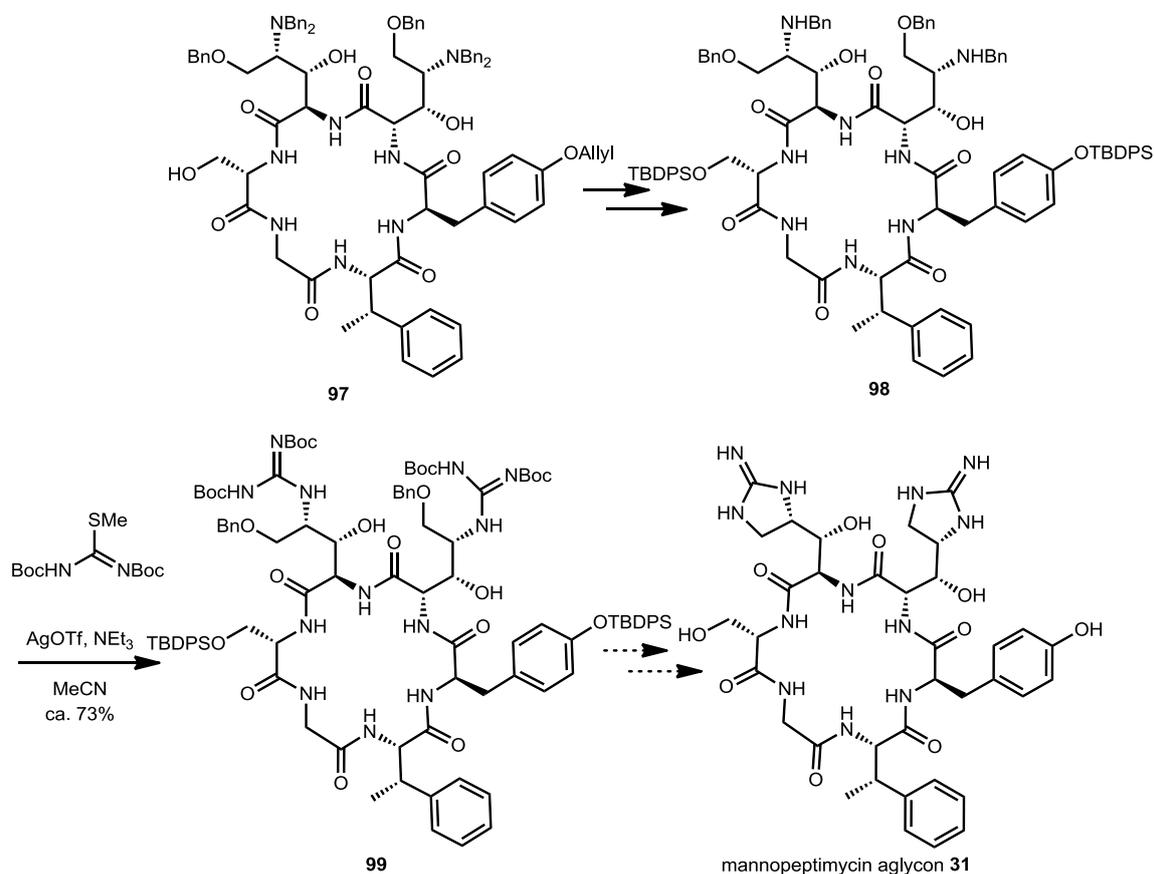
そこで、金原は Aiha-A、Aiha-B を直接使用するのではなく、その前駆体のアミノアルコール保護体 **90** および **93** を用いてアグリコン合成を試みた。すなわち、Aiha-A および B のグアニジン部位は、環状ペプチド構築後に導入することとした。まず、セリン **91** と **90** を縮合し、得られたジペプチドに **93** を縮合することで、目的のトリペプチド **94** を得た。このトリペプチド **94** とトリペプチド **95** を縮合して環化前駆体 **96** を合成した。続いてマクロラクタム化を行い、環状ペプチド **97** を3段階収率 57%で合成することに成功した (Scheme 1-16)。



Scheme 1-16

さらに金原は合成した環状ペプチド **97** にグアニジンを導入することとした。保護基を変換して **98** へ誘導した後、チオウレアを用いてグアニジン部位を導入して **99** を得た。その後環状グアニジン構築、脱保護を行い、マンノペプチマイシンアグリコン **31** の合成を目指したが、

化合物の十分な供給が行えず、マンノペプチマイシンアグリコン **31** の生成を質量分析で確認するのみだった (Scheme 1-17) ⁴⁰⁾。



Scheme 1-17

以上述べた通り、マンノペプチマイシンは創薬候補化合物のテンプレートとして強力なポテンシャルを有しており、これは当時の Weith 社での広範かつ精力的な研究が物語っている。しかしながら、生理活性の鍵をにぎるアグリコン部の合成法が未確立であることから、これまでのところ、類縁体合成、構造活性相関研究は主に糖鎖部位に限られており、このことがマンノペプチマイシンを基盤とする創薬研究、ひいてはケミカルバイオロジーの障害となっている。マンノペプチマイシンアグリコンの合成法の開発は極めて大きな意義を持つといえる。

1-4 グアニジン

1-4-1 グアニジンの性質

グアニジンの基本構造は、三つの炭素-窒素結合からなる構造であり、有機化合物の中でも

非常に強い塩基性を持つ官能基として知られている。その共役酸であるグアニジウムイオンの pK_a は 13.6 であり、これはマロン酸の活性メチレン ($pK_a = 13$) と水 ($pK_a = 15.7$) のあいだ程の値である (Figure 1-6)。

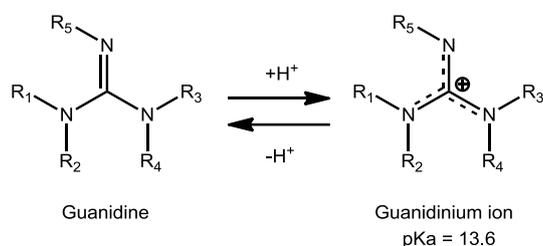


Figure 1-6

またグアニジル構造を持つ化合物の中では、オキソニウムイオンを超える pK_a を持つもの (superbase) も数多く存在する (Figure 1-7) ⁴¹⁾。

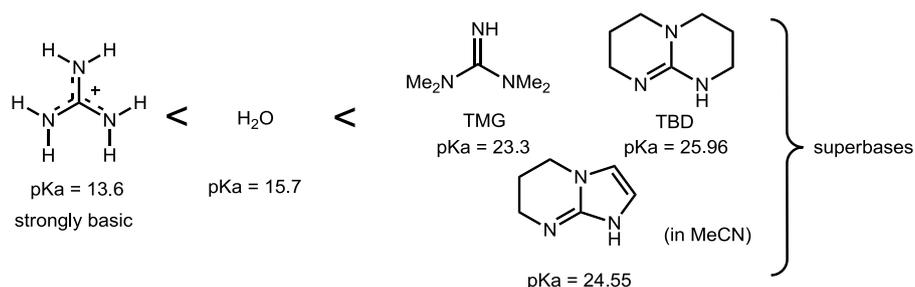
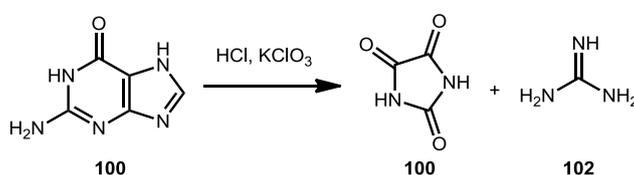


Figure 1-7

グアニジン(102)は 1861 年に Strecker ら ⁴²⁾により、トリのふんから単離したグアニン(100)を酸化的に開裂させることで初めて合成された (Scheme 1-18)。2009 年に始めて Dronskowski らによりグアニジン(102)単体での X 線結晶構造解析が報告された ⁴³⁾。



Scheme 1-18

グアニジンの強塩基性の起源はグアニジウムイオンの Y 型共役と呼ばれる共鳴安定化によるものと 1972 年に Gund らにより提唱された ⁴⁴⁾。この考え方では、グアニジウムイオンにおいて炭素カチオンを中心に 3 つの窒素原子の孤立電子対、計 6π 電子が Y 字型に非局在化し、

芳香族化合物に劣らない安定性を持つとされている。その後、分子軌道計算の進歩とともに、様々なグループにより Y 型共役の寄与について計算が行われた。1990 年に Wiberg らは⁴⁵⁾、グアニジンがその対照化合物であるプロパンイミンと比較してプロトン化による安定化の度合いがほとんど変わらないこと、また、C-N 結合の回転障壁が小さく、孤立電子対が上記の非局在化にさほど寄与していないと考えられたことから、グアニジウムイオンの安定性は主に溶媒との強い水素結合によるものだと結論付けた。つまりグアニジンよりも、グアニジンの共役酸であるグアニジウムイオンの方が水素結合によってより安定化されるため、平衡がグアニジウムイオンを生成する側に偏ることがグアニジンを強塩基にしているとした。また、1993 年には Frenking らが⁴⁶⁾、理論計算によりグアニジンおよびグアニジウムイオンの最安定構造を求めたところ完全な planar 型ではなかったことから、グアニジンの強塩基性はやはりグアニジウムイオンの強い水素結合能に由来すると報告した。しかしながら、現在のところ、完全に Y 型共役の安定化能が否定されたわけではなく、今後の研究のさらなる進展が待たれている。上記の通り、理由は未だ確定していない状況であるが、グアニジンのもつこの強塩基性は、グアニジン含有化合物の取り扱い（副反応や溶解性の低下）を困難にしている主因の一つである。

1-4-2 グアニジンの構造

様々なグアニジンおよびグアニジウムイオンの構造は、その結合様式や電子的性質を知るためにも重要であり、これまで多くの報告がなされてきた。モノ置換あるいはジ置換グアニジンには、イミノ型、アミノ型と呼ばれる 2 つの互変異性体が存在する。Figure 1-8 に *N,N*-diphenylguanidine を例として挙げる。アミドやウレアでもこのような互変異性体が存在するが、通常はエネルギー的にケト型の方が圧倒的に有利であり、互変異性体はグアニジンの場合ほど問題になることは多くない。グアニジン類の場合、L-アルギニンのようなモノアルキルグアニジンではイミノ型、モノアリアルグアニジンや、ニトロ基やシアノ基などの電子求引基を置換基に持つグアニジンでは、アミノ型をとる傾向がみられる。

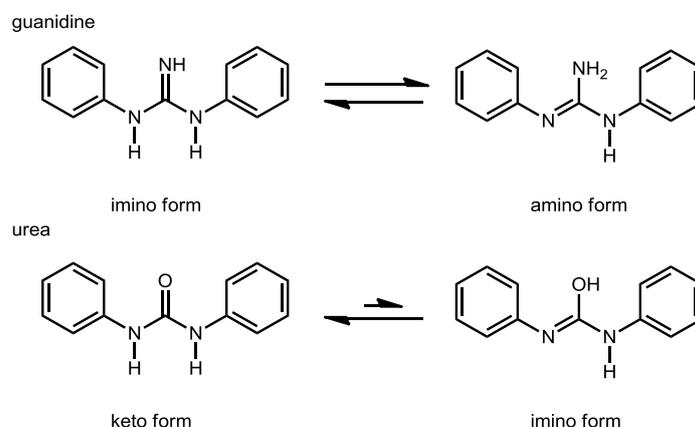


Figure 1-8

1-4-3 グアニジン含有化合物

グアニジル基は生体にもなじみの深い官能基で、アルギニンの側鎖として生理活性ペプチド等の機能発現に重要な役割を担う構造要素であり、多くの医薬品の重要な部分構造として、また多くの生理活性天然物に見出される構造である (Figure 1-9)。

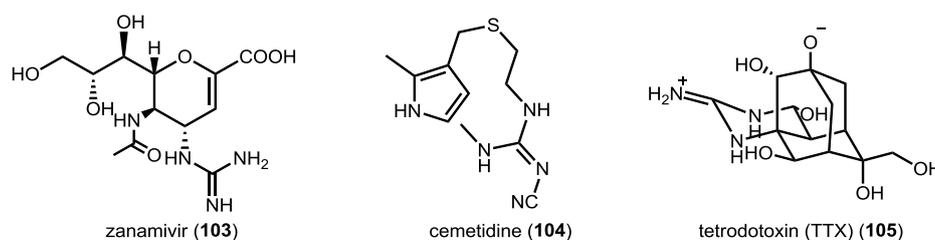
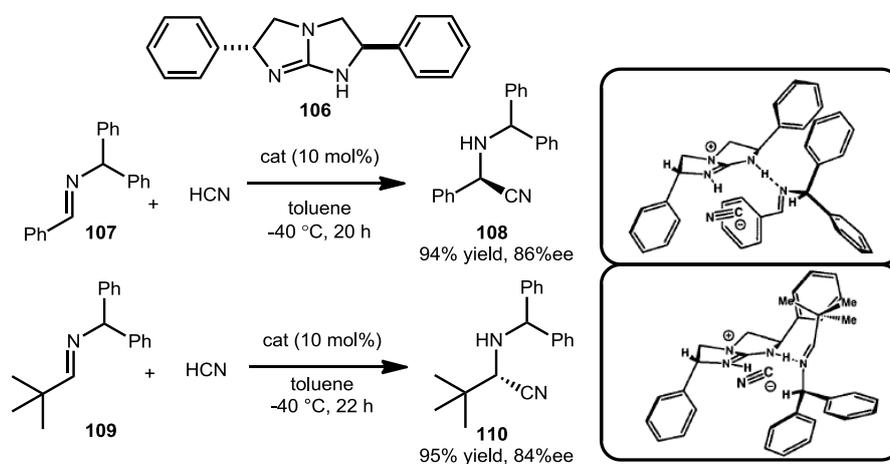


Figure 1-9

例えば、zanamivir (103) (商品名 リレンザ) はウイルス増殖サイクルに必須の酵素であるノイラミニターゼを阻害する。cimetidine (104)は胃の炎症を抑える薬として開発されたが、抗がん剤としての効果も期待されている化合物である、また、海洋天然物であるテトロドトキシン (TTX) (105)はふぐ毒として有名であり、グアニジン部位がヒトの細胞膜に存在するナトリウムイオンの透過部位に結合することで毒性を発揮する。

1-4-4 グアニジン型不斉有機触媒

グアニジンは、対応するグアニジウムイオンの高い水素結合形成能から不斉有機触媒として近年盛んに利用されている (Scheme 1-19)。例えば不斉有機触媒 106 は、1999年に Corey ら⁴⁷⁾により発表されたグアニジン型不斉有機触媒であり、Strecker 反応において高いエナンチオ選



Scheme 1-19

択性を与えた (Scheme 1-19) すなわち、アキラルなベンジルヒドラルアリアルイミン **107** をトルエン溶媒中シアン化水素と 10 mol% の **106** を用いて、 $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 20 時間反応させたところ、収率 94%、86% ee で **108** を得た。アリアル部位の異なる様々な類縁体についても高収率、高エナンチオ選択的に反応が進行することを報告した。また興味深いことにアリアル部位を *t*-Bu 基に変換した基質 **109** を用いて同様に反応を行った際には、先ほどと逆の立体選択性で、目的物 **110** を与えることが分かった。これは、アリアルイミン **107** を用いた際、グアニジン触媒 **106** のアリアル基とベンジルヒドラル部位の片方のアリアルが π -stacking することで面が固定される (Scheme 1-19 右上図)。しかしながら、ベンジルヒドラルアリアルイミン **109** の場合には、*t*-Bu 基が嵩高いことから、先ほどと同様 π -stacking すると *t*-ブチル基とグアニジンの立体障害が大きくなるため、立体障害を避ける向きで面が固定される (Scheme 1-19 右下図)。これにより逆の立体化学の生成物が得られると考えられている。

また長澤らは、分子内でグアニジン及びチオウレアの二つの官能基がアミノ酸由来の鎖状のキラルスペーサーで連結された官能基複合型触媒 **111** を開発している⁴⁸⁾ (Figure 1-10)。この有

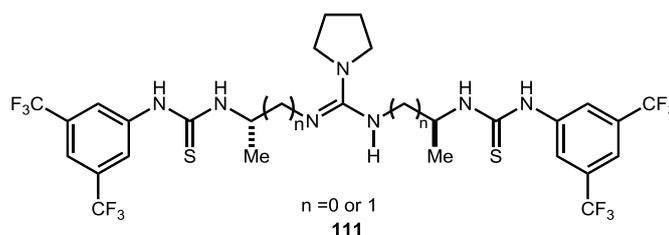
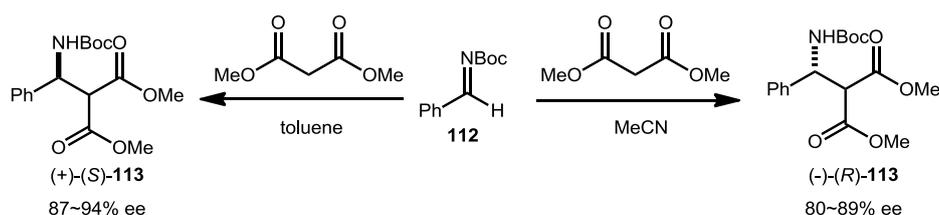


Figure 1-10

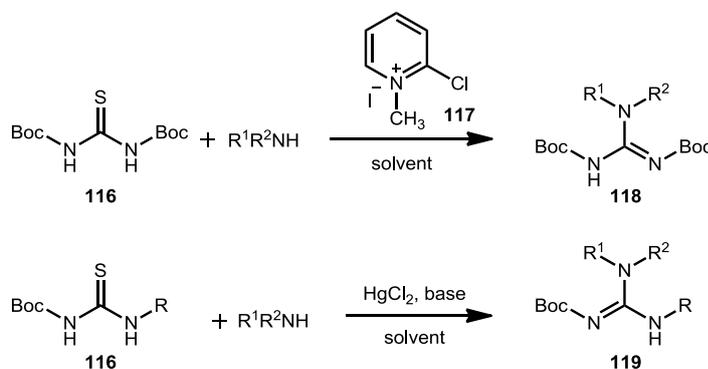
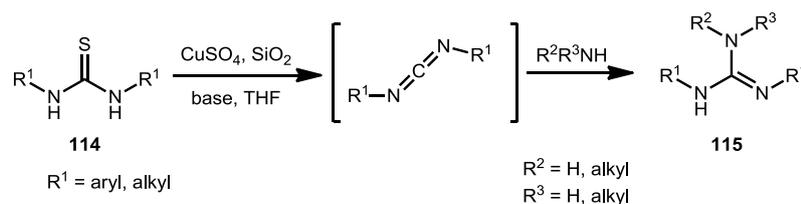
機触媒 **111** は、求核剤と求電子剤をそれぞれ活性化させることで、基質間同士の近接効果により触媒反応を加速させる。特に興味深いことに、種々の 1,4-付加反応では、スペーサーがより長く構造自由度が大きい ($n=1$) 分子を用いたほうが、エナンチオ選択性が向上することを見出した⁴⁹⁾。またさらなる詳細な検討の過程で、反応に使用する溶媒の種類により触媒中のキラルスペーサー配座が変化し、反応遷移状態を変化させることがわかった (Scheme 1-20)。すなわち、イミン **112** とマロン酸ジメチルとの Mannich 反応において、溶媒を変化させるだけで一つのキラル源である触媒 **111** から両鏡像体生成物 **113** が高いエナンチオ選択性でそれぞれ得られることを報告している⁵⁰⁾。



Scheme 1-20

1-4-5 グアニジンの合成

ここではグアニジン含有化合物の合成における、グアニジル基の導入手法について述べる。過去に様々なグアニジル基導入用試薬が開発、報告されてきた。ここではその中の代表的な試薬について紹介する。まず、チオウレアを用いたグアニジル基導入法を紹介する。本手法は最も一般的な合成法であり、これまでに数多くの報告がなされている⁵¹⁾ (Scheme 1-21)。

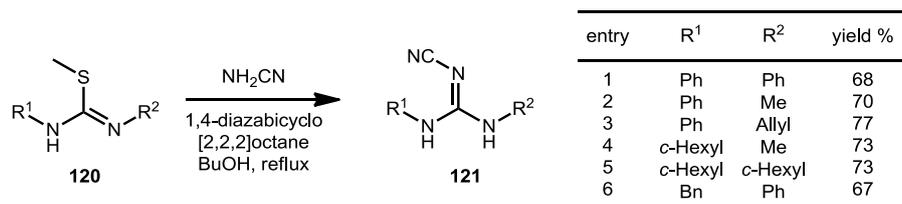


Scheme 1-21

チオウレア試薬 **114** は、これに対して硫酸銅とシリカゲルを塩基性条件下反応させると、系中でカルボジイミドを形成する。これとアミンを反応させることでグアニジン **115** を得られる。本法を利用することにより様々な二、三、四置換グアニジンを合成できる。

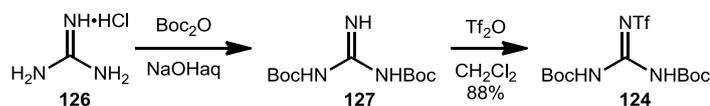
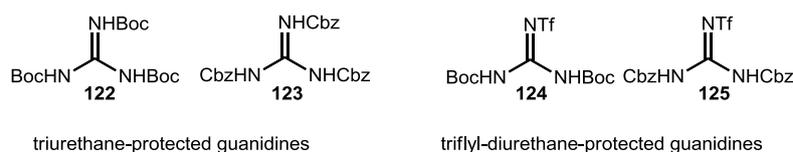
一方、電子求引性基を持つチオウレア試薬 **116** を用いるグアニジン合成法として、向山試薬 **117** を用いる方法や、 HgCl_2 を用いる方法が知られている。向山試薬 **117** を用いる際は、DMF 溶媒より CH_2Cl_2 溶媒の方が収率の向上が見込めるが、これは系中で存在するカルボジイミドの安定化に寄与するためである。 HgCl_2 を用いる方法は、より温和な条件下多くの官能基が存在する中でも、試薬 **116** の硫黄原子だけを選択的に活性化できる有用な方法であるが、水銀を利用することによる環境負荷の問題から、 Ag ⁵²⁾による活性化も報告されている。

また、チオウレアからイソチオウレアへと誘導した後、グアニジンへ変換する方法も報告されている (Scheme 1-22)。イソチオウレアも多くの場合、チオウレアの時と同様金属 (Hg , Ag) を用いての活性化を必要とするが、Novak ら⁵³⁾が報告した、シアノグアニジン **121** の合成ではブタノール溶媒中塩基として 1,4-diazabicyclo-[2,2,2]octane を用いて還流条件で反応させることで金属活性化剤なしでのグアニジン化が実現している。



Scheme 1-22

1998年にGoodmanらにより新しいグアニジン化試薬である triurethane-protected guanidine **122**、**123** と triflyl-diurethane-protected guanidine **124**、**125** が報告された (Scheme 1-23)。 **122**、**123** は水酸基に対して光延反応を行うことで、グアニジル化できる試薬である⁵⁴⁾。 **124**、**125** は、非常に反応性の高い試薬であり温和な条件下、一級、二級アミンと高収率で反応する。 **124** は、グアニジウム塩酸塩 **126** に NaOH 水溶液中、Boc₂O を反応させることで、diBoc 体 **127** へと誘導し、続いて CH₂Cl₂ 溶媒中、Tf₂O と塩基として NEt₃ を作用させることで合成できる。

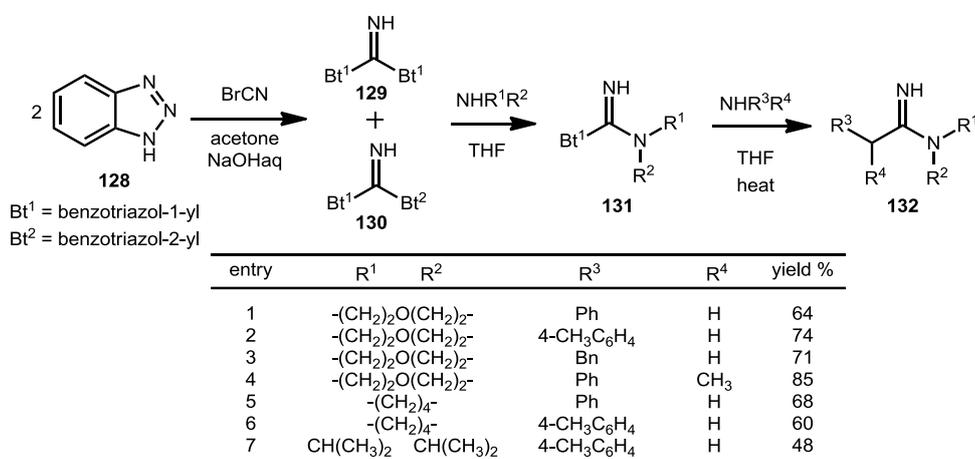


entry	Amine	Product	yield %
1	H ₃ C(CH ₂) ₄ NH ₂		98
2			85
3			86
4			100
5	H ₂ NCH ₂ CH ₂ OH		100

Scheme 1-23

最後に、ベンゾトリアゾールを脱離基に有するグアニジン試薬 **129** および **130** を紹介する。本試薬は、プロモシアンと二当量のベンゾトリアゾールを反応させることで得られ、**129** および **130** の混合物として調製される。この試薬を利用することにより非対称のグアニジンが合成

可能になる (Scheme 1-24)。実際に Katritzky ら⁵⁵⁾は、**129** と **130** の混合物に様々なアミンを反応させて、三置換、四置換のグアニジンを合成することに成功している。



Scheme 1-24

1—5 本論文の概要

以上述べた通り、マンノペプチマイシンは特異な作用機序により強力な抗菌活性を示し、創薬候補化合物としても強力なポテンシャルを有するが、そのアグリコン部位の合成法が未確立であるため、類縁体創出、構造活性相関解明が阻まれている。本論文研究では、この問題を打開すべく、世界初となるマンノペプチマイシンアグリコンの合成法確立を目的として研究に着手した。

第一章「序論」では、天然物の全合成研究において、ヘテロ官能基が密集した化合物を標的とした場合、その骨格構築法の確立だけでなく、精製・分析法の確立も求められるが、未だ一般的な合成手法論は存在せず、未到の重要課題となっている現状を説明した。また、感染症と人類の歴史について触れ、特に耐性菌の出現が社会的に大きな問題となっていることを述べた。この背景の中で、耐性菌に対しても強力な抗菌活性を保持するマンノペプチマイシンが発見された経緯、構造決定、天然物からの誘導体創製、これまでの合成研究について説明し、マンノペプチマイシンアグリコンの合成法が未確立であることが大きな問題となっていることを述べた。また、これを打開するには、特徴的な環状グアニジン部位を有する異常アミノ酸 Aiha-A および Aiha-B の合成法の確立、グアニジン含有化合物の反応・精製・分析法の確立が重要であることを述べ、本論文研究の意義と目的を明らかとした。

第二章では、「Aiha-A および Aiha-B の合成」では、マンノペプチマイシンアグリコンの合成戦略について述べると共に、マンノペプチマイシン内に存在する高度に官能基化された非天然アミノ酸 Aiha-A、Aiha-B について、保護基の選定、合成経路の立案、合成検討の結果について述べている。具体的には、保護基の組み合わせとして、Figure 1-11 に示す通り選定し、その

合成を検討している。

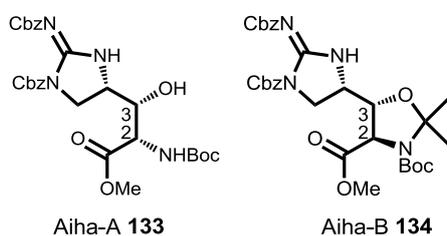
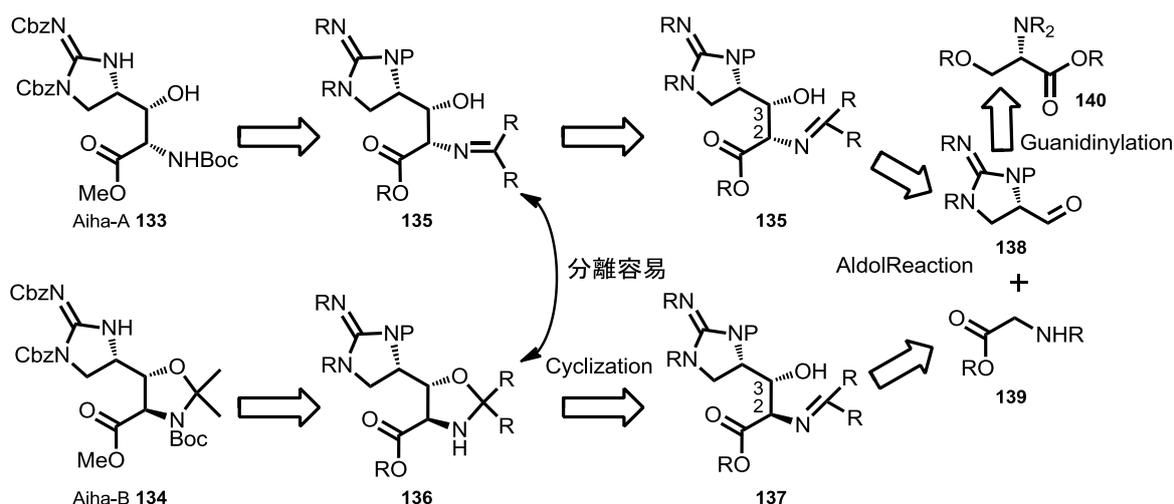


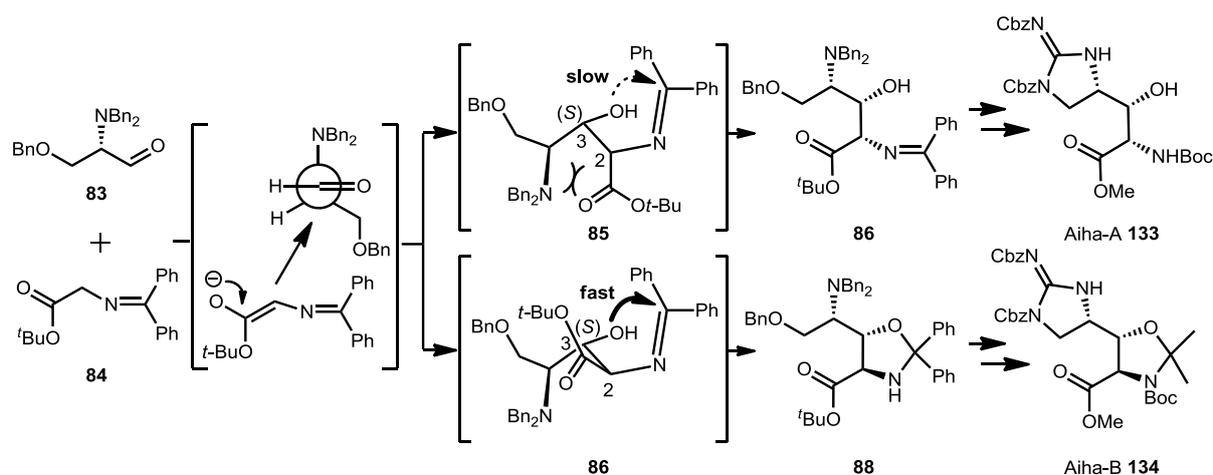
Figure 1-11

第一節「環状グアニジン含有アルデヒドの合成研究」では、分子内の立体障害を用いたアルドール反応と不斉有機触媒を用いたニトロアルドール反応により 3 位の立体化学を制御し、アルドール反応後、短工程での Aiha-A および Aiha-B への変換を可能にする合成経路の確立を目指して検討を行った結果について述べている (Scheme 1-25)。



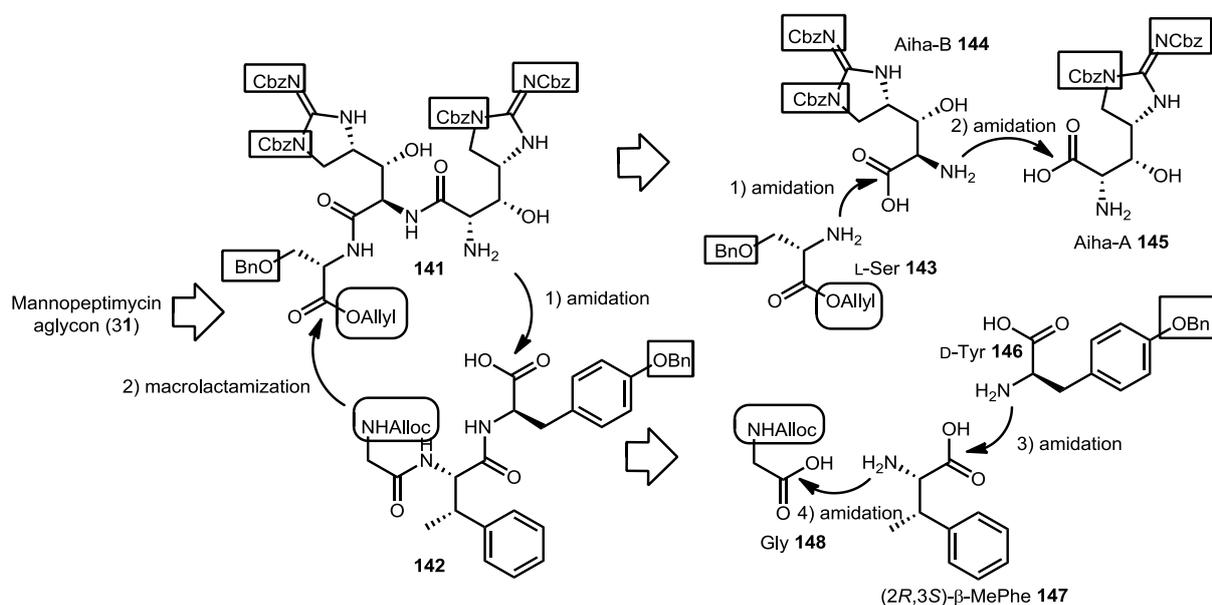
Scheme 1-25

第二節「アルドール反応後にグアニジン環を構築する合成手法」では、当研究金原の合成経路を参考に、セリン誘導体 **83** とグリシン誘導体 **84** を用いた立体選択的なアルドール反応を行い、その後の官能基変換、グアニジン部位構築を行った方法について述べている。



Scheme 1-26

第三章「マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成」では、第二章で確立した異常アミノ酸 Aihia-A および Aihia-B を用いてアミノ酸の縮合の検討をおこない、マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成について述べている(Scheme 1-27)。



Scheme 1-27

第四章「マンノペプチマイシンアグリコンの構造訂正」では第三章においてマンノペプチマイシンアグリコンの提唱構造に誤りがあったため、真の構造を明らかにするとともに、三章で開発した合成法の有用性を確かめるため類縁体合成を行い、真の構造を同定するに至った経緯について述べている。

第五章「結論」では、本論文を総括している。

References

- 1) (a) 奥田拓男、最新天然物化学、廣川書店、**2007**。(b) ケミカルバイオロジー、成功事例から学ぶ研究戦略、3. ケミカルバイオロジーのための化合物群合成、**2013**、丸善出版。
- 2) Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.*, **2012**, 75, 311.
- 3) Carlson, E. E. *ACS Chem. Biol.*, **2010**, 5, 639.
- 4) Collins, P. W.; Djuric, S. W. *Chem. Rev.*, **1993**, 93, 1533.
- 5) Paterson, I.; Mansuri, M. M. *Tetrahedron*, **1985**, 41, 3569.
- 6) Nicolaou, K. C.; Dai, W-M.; Guy, R. K. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1994**, 33, 15.
- 7) (a) 厚生労働省平成 23 年人口動態統計月報年計（概数）の概況、主な死因別にみた死亡率の年次推移 <http://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai11/kekka03.html>。(b) 岩田健太郎、宮入烈、抗菌薬の考え方、使い方、中外医学社、**2004**。
- 8) (a) Waksman, S. A.; Woodruff, H. B. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **1942**, 49, 207. (b) Schatz, A.; Waksman, S. A. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **1944**, 57, 244.
- 9) Nelson, M. L. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **2011**, 1241, 17.
- 10) (a) McGuire, J. M.; Bunch, R. L.; Anderson, R. C.; Boaz, H. E.; Flynn, E. H.; Powell, H. M.; Smith, J. W. *Antibiot. Chemother.*, **1952**, 2, 281. (b) Pal, S. *Tetrahedron*, **2006**, 62, 3171.
- 11) セルマン・ワクスマン、微生物とともに、新評論社、**1955**。
- 12) (a) Rice, L. B. *Am. J. Infect. Control*, **2006**, 34, S11-S19. (b) Lode, H. M. *Clin. Microbiol. Infect.*, **2009**, 15, 212.
- 13) MRSA 感染症の治療ガイドライン、MRSA 感染症の治療ガイドライン作成委員会、**2013**。
- 14) Tenover, F. C.; Weigel, L. M.; Appelbaum, P. C.; McDougal, L. K.; Chaitram, J.; McAllister, S.; Clark, N.; Killgore, G.; O'Hara, C. M.; Jevitt, L.; Patel, J. B.; Bozdogan, B. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, 48, 275.
- 15) Chang, S.; Sievert, D. M.; Hageman, J. C.; Boulton, M. L.; Tenover, F. C.; Downes, F. P.; Shah, S.; Rudrik, J. T.; Pupp, G. R.; Brown, W. J.; Cardo, D.; Fridkin, S. K. *N. Engl. J. Med.*, **2003**, 348, 1342.
- 16) Isturiz, R. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2008**, 32, S201-S206.
- 17) De Voe, S. E.; Kunstmann, M. P. US Patent 3495004, **1970**.
- 18) He, H.; Williamson, R. T.; Shen, B.; Graziani, E. I.; Yang, H. Y.; Sakya, S. M.; Petersen, P. J.; Carter, G. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, 9279.
- 19) Singh, M. P.; Petersen, P. J.; Weiss, W. J.; Janso, J. E.; Luckman, S. W.; Lenoy, E. B.; Bradford, P. A.; Testa, R. T.; Greenstein, M. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2003**, 47, 62.
- 20) Ruzin, A.; Singh, G.; Severin, A.; Yang, Y.; Dushin, R. G.; Sutherland, A. G.; Minnick, A.; Greenstein, M.; May, M. K.; Shlaes, D. M.; Bradford, P. A. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, 48, 728.
- 21) Stolp, H.; Starr, M. P. *Ann. Rev. Microbiol.*, **1965**, 19, 79.

- 22) Scheffers, D.-J.; Pinho, M. G. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **2005**, *69*, 585.
- 23) Soares, G. M. S.; Figueiredo, L. C.; Faveri, M.; Cortelli, S. C.; Duarte, P. M.; Feres, M.; *J. Appl. Oral Sci.*, **2012**, *20*, 295.
- 24) Couvalin, P.; *Clin. Infect Dis.*, **2006**, *42*, 525.
- 25) Sum, P. E.; How, D.; Torres, N.; Petersen, P. J.; Lenoy, E. B.; Weiss, W. J.; Mansour, T. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 1151.
- 26) Sutherland, A. G.; Bailey, A. R.; Cai, P.; Dushin, R. G.; Liu, M.; Lotvinb, J.; Ruppenb, M. E. *Tetrahedron Asym.*, **2004**, *15*, 2821.
- 27) Sum, P. E.; How, D.; Torres, N.; Petersen, P. J.; Ashcroft, J.; Graziani, E. I.; Koehn, F. E.; Mansour, T. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 2805.
- 28) Sum, P. E.; How, D.; Torres, N.; Newman, H.; Petersen, P. J.; Mansour, T. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 2607.
- 29) Dushin, R. G.; Wang, T.-Z.; Sum, P.-E.; He, H.; Sutherland, A. G.; Ashcroft, J. S.; Graziani, E.I.; Koehn, F. E.; Bradford, P. A.; Peterson, P.J.; Wheless, K. L.; How, D.; Torres, N.; Lenoy, E. B.; Weiss, W. J.; Lang, S. A.; Projan, S. J.; Shlase, D. M.; Mansour, T. S. *J. Med. Chem.*, **2004**, *47*, 3487.
- 30) Petersen, P. J.; Wang, T. Z.; Dushin, R. G.; Bradford, P. A. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, *48*, 739.
- 31) He, H.; Shen, B.; Petersen, P. J.; Weiss, W. J.; Yang, H. Y.; Wang, T. Z.; Dushin, R. G.; Koehn, F. E.; Cartera, G. T. *Bioorg. Med. Chem., Lett.* **2004**, *14*, 279.
- 32) Adinolfi, M.; Giacomini, D.; Iadonisi, A.; Quintavalla, A.; Valerio, S. *Eur. J. Org. Chem.*, **2008**, 2895.
- 33) (a) Babu, R. S.; Guppi, S. R.; O'Doherty, G. A. *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 1605.
(b) Guppi, S. R.; O'Doherty, G. A. *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 4966.
- 34) Wang, T.-Z.; Wheless, K. L.; Sutherland, A. G.; Dushin, R. G. *heterocycles*, **2004**, *62*, 131.
- 35) Schüler, P.; Fischer, S. N.; Marsch, M.; Oberthür, M. *Synthesis*, **2013**, *45*, 27.
- 36) Magarvey, N. A.; Haltli, B.; He, M.; Greenstein, M.; Hucul, J. A. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2006**, *50*, 2167.
- 37) Schwörer, C. J.; Oberthür, M. *Eur. J. Org., Chem.* **2009**, 6129.
- 38) Campbell, A. D.; Raynham, T. M.; Taylor, R. J. K. *Synthesis*, **1998**, 1707.
- 39) Olivier, K. S. Van Nieuwenhze, M. S. *Org. Lett.*, **2010**, *12*, 1680.
- 40) 金原篤、東京工業大学、学位論文、**2007**.
- 41) Ishikawa, *Superbases for Organic Synthesis*, Wiley, **2009**.
- 42) Strecker, C. *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, **1861**, 155.
- 43) Dronskowski, R.; Yamada, T.; Liu, X.; Englert, U.; Yamane, H. *Chem. Eur. J.*, **2009**, 5651.
- 44) Gund, P. *J. Chem. Ed.*, **1972**, *49*, 100.

- 45) Wiberg, K., B. *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 4177.
- 46) Frenking, G.; Gobbi, A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 2362.
- 47) Corey, E. J.; Grogan, M. *Org. Lett.*, **1999**, *1*, 157.
- 48) Sohtome, Y.; Tanatani, A.; Hashimoto, Y.; Nagasawa, K. *Adv. Synth. Catal.*, **2005**, *347*, 1643.
- 49) Sohtome, Y.; Shin, B.; Horitsugi, N.; Takagi, R.; Noguchi, K.; Nagasawa, K. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 7299.
- 50) Sohtome, Y.; Tanaka, S.; Takada, K.; Yamaguchi, T.; Nagasawa, K. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 9254.
- 51) Ramadas, K.; Srinivasan, N. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 2841.
- 52) Kent, D. R.; Cody, W. L.; Doherty, A. M. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 8711.
- 53) Novak, L.; Hanania, M.; Kovacs, P.; Kovacs, C. E.; Kolonits, P.; Szantay, C. *Synth. Commun.*, **1999**, *29*, 1757.
- 54) Feichtinger, K.; Zapf, C.; Singh, H. L.; Goodman, M. *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 3804.
- 55) Katritzky, A. R.; Rogovoy, B. V.; Chassaing, C.; Vvedensky, V. *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 8080.

第二章

「Aiha-A および Aiha-B の合成」

2 Aiha-A および Aiha-B の合成

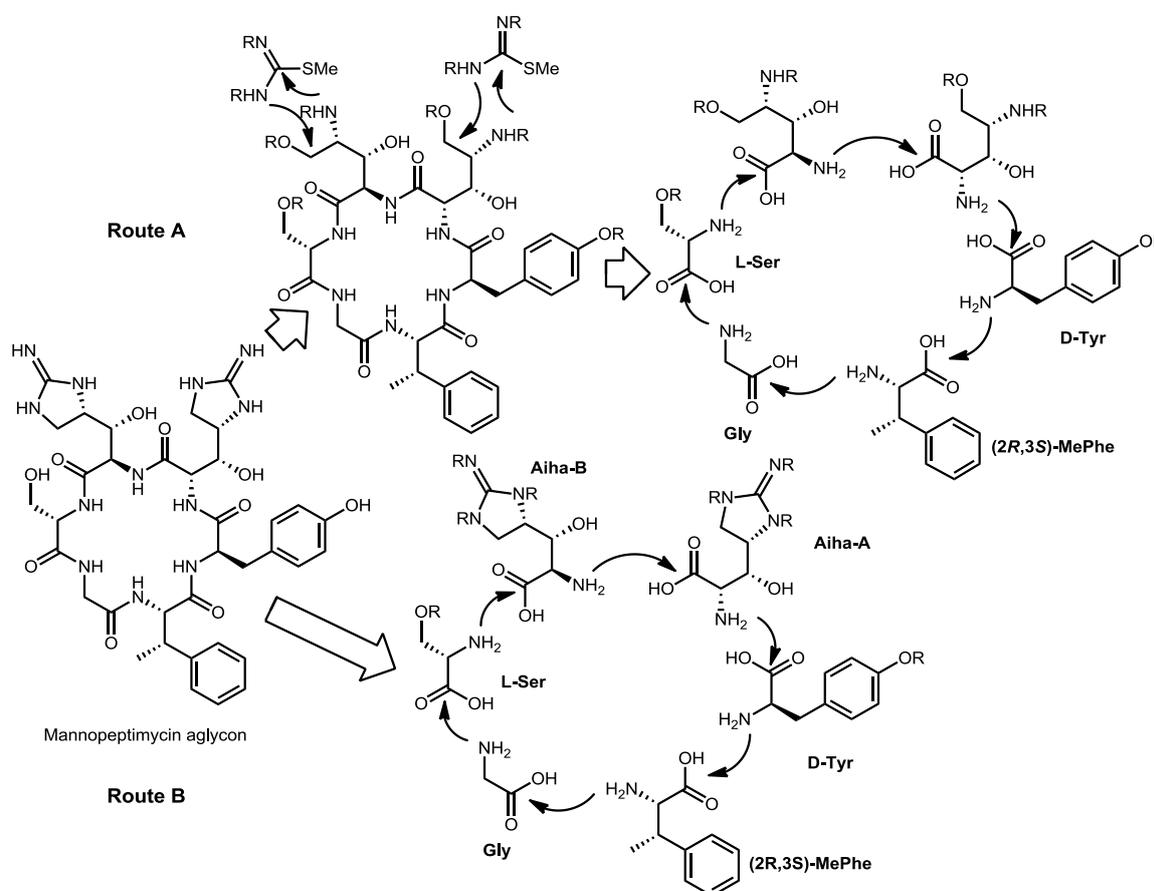
2-1 はじめに

序論で述べたようにマンノペプチマイシンアグリコンの合成手法確立を阻む最大の要因は極めて高度に官能基化され、3つの不斉中心を有する非天然アミノ酸 **Aiha-A**、**Aiha-B** の合成の困難さにある。本章においては、マンノペプチマイシンアグリコンの合成戦略について述べると共に、適切に官能基が保護され、全合成への展開が可能な **Aiha-A** および **Aiha-B** の効率的合成手法の確立について述べる。

2-2 合成計画

2-2-1 マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成計画

まず初めに合成計画について述べる (Scheme 2-1)。マンノペプチマイシンの合成戦略とし



Scheme 2-1

二通りのルートが考えうる。すなわち、ルート A では環状ペプチドを構築後にグアニジン部位を導入する。一方、ルート B では予め環状グアニジン部位を導入しておいたアミノ酸を連結することにより環状ペプチドを合成する。グアニジンは序論でも述べた通り、副反応の恐れや溶解性の低下による化合物の損失を招く恐れがあるため、ルート A のように合成の後半でグアニジン部位を導入することでこれらのリスクを低減可能であるが、一方で、環状ペプチド構築後の工程数が増えてしまう。金原は、ルート A によるマンノペプチマイシンアグリコンの構築を目指したが、実際に環状ペプチド構築後の工程数の長さから、アグリコンを単離することはできず、質量分析によりその存在を確認するのみであった。一方で、ルート B では、環状ペプチド構築後の工程数は短くなるものの、グアニジンを持つ基質を使用してペプチド鎖を伸長せねばならないため、困難が予測される。筆者は金原の過去の知見を踏まえ、ルート B を選択してマンノペプチマイシンアグリコンの合成を目指すこととした。また、反応条件や保護基の選定、化合物の精製・分析法を種々検討することにより環状グアニジンを有する基質を用いての高収率での反応・精製・分析を実現しようと考えた。

次に環化位置について考えた (Scheme 2-2)。これを決定するにあたり、次の二点を重要な指針とした。

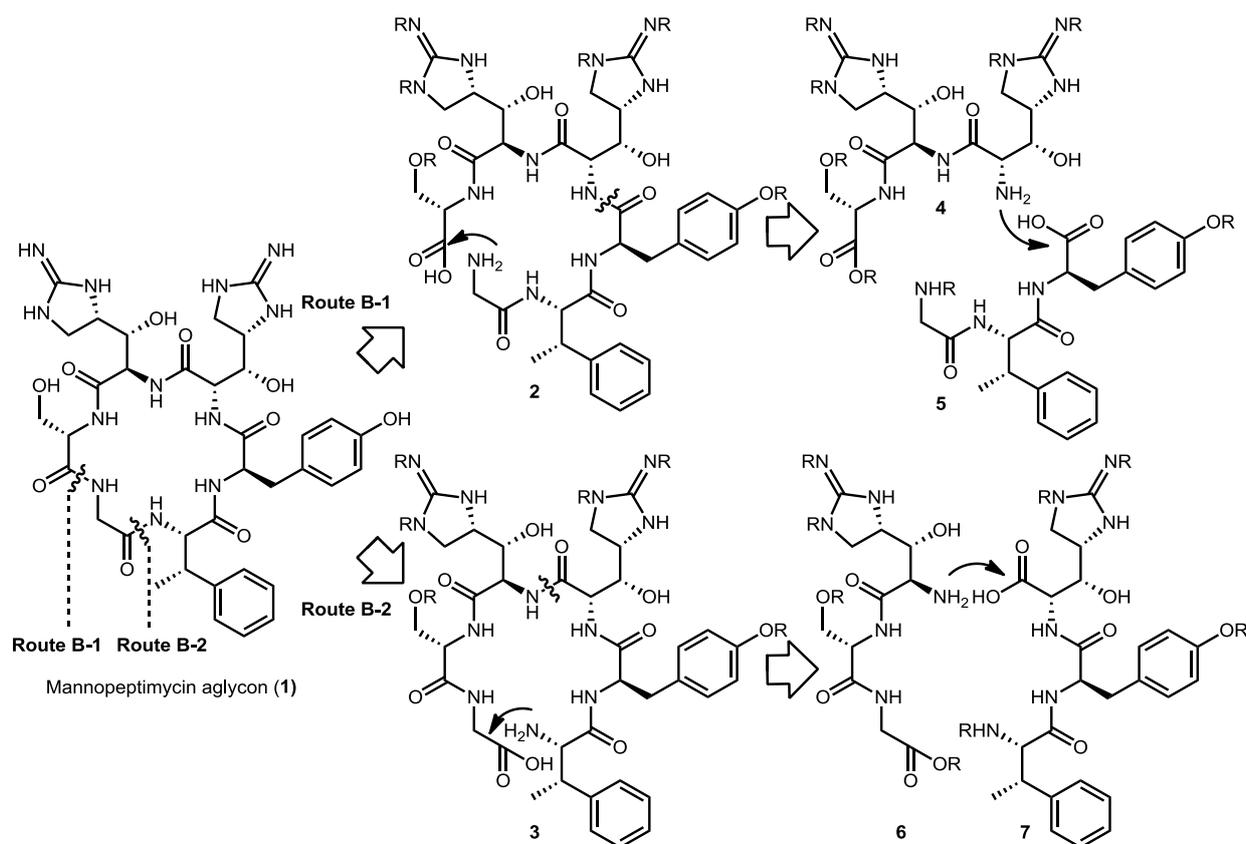
1) グリシンとその隣接するアミノ酸の間を環化点とする。

これは他のアミノ酸と異なり、グリシンは α 位に置換基を持たないことから立体障害が小さく、環化がスムーズに進行すると期待できるためである。

2) 収束的な合成戦略を採用する。

環状グアニジンを含む異常アミノ酸 Aiha-A および Aiha-B は先述の通り各種溶媒への溶解性を低下させる恐れがあり、精製時の化合物の損失を招く危険性がある。加えて、これらアミノ酸は多官能基化されており、副反応を引き起こす危険性もはらむ。そのため、これらアミノ酸を含む基質を用いる反応工程数を極力少なくするのが好ましいと考えた。

以下にさらに詳細に議論する。まず 1) についてであるが、以上の要件を満たす環化点は、グリシンのアミノ基とセリンのカルボキシル基の間を環化点とするルート B-1 (Scheme 2-2)、グリシンのカルボキシル基と β -MePhe のアミノ基の間を環化点とするルート B-2 の二通りが考えられる。次に 2) についてであるが、ルート B-1 の場合は、Ser-Aiha-B-Aiha-A **4** のトリペプチドと、Tyr- β -MePhe-Gly **5** のトリペプチドをそれぞれ合成して、これを Aiha-A と Tyr の間で連結する手法が最も収束的であり、一方、ルート B-2 の場合は、Gly-Ser-Aiha-B **6** のトリペプチドと、Aiha-A-Tyr- β -MePhe **7** のトリペプチドをそれぞれ合成して、これを Aiha-A と Aiha-B の間で連結する手法が最も収束的である。なお、マンノペプチマイシンアグリコン合成におけるペプチド鎖伸長時に最も問題となるのは、高度に官能基化されて立体障害も大きいと考えられる Aiha-A 残基と Aiha-B 残基の間の連結反応であるが、ルート B-2 では、これを嵩高い二つのトリペプチド **6** と **7** の連結で実現せねばならず収率低下の危険性が高いと予測した。以上の

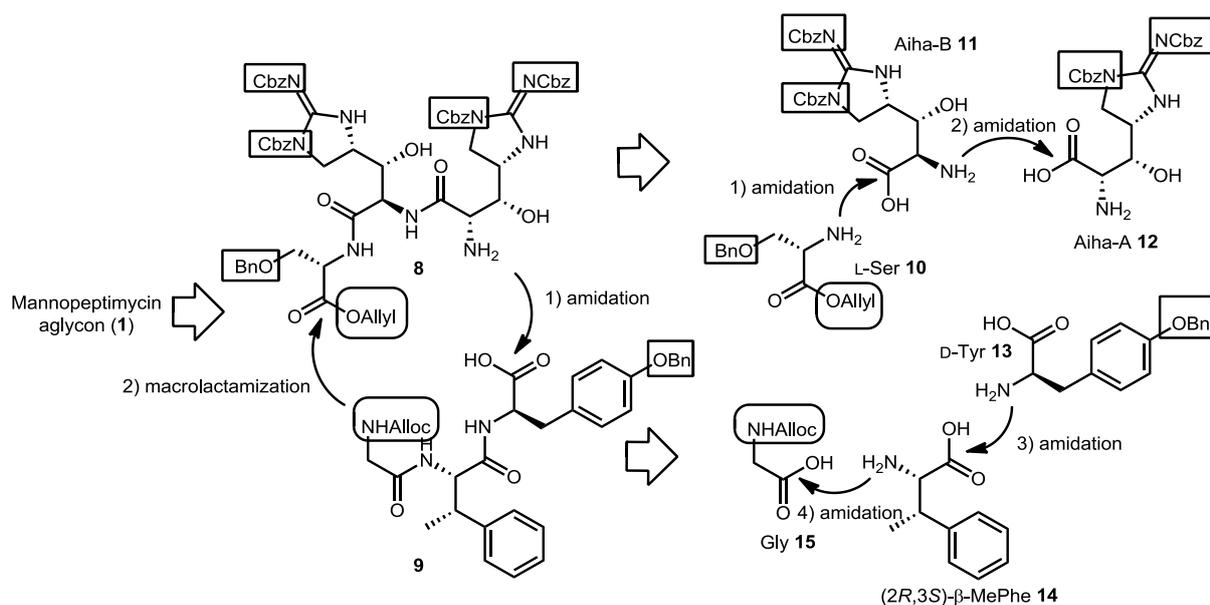


Scheme 2-2

理由により、ルート B-1 を第一選択肢として合成を検討することとした¹。

トリペプチド Ser-Aiha-B-Aiha-A **8** および Tyr-β-MePhe-Gly **9** は、各アミノ酸を C 末端側から順次縮合することで得られると考えた (Scheme 2-3)。なお、前述の理由により、合成後半・最終段階での保護基の変換や脱保護などは極力短工程で行うべく、マクロラクタム化後、温和かつ後処理操作の簡便な水素添加反応条件で全ての保護基を除去できるように、L-Ser **10** の水酸基と D-Tyrosine **13** のフェノール性水酸基をベンジル基で保護することとした。また、グアニジンの保護基は、やはり水素添加反応条件下で除去可能で、なおかつ強塩基性を持つグアニジンが副反応を起こさないよう、電子求引性の保護基として Cbz 基を選択することとした。また、マクロラクタムに向けて、反応点のアミノ基とカルボキシル基を遊離にする際にも、Pd 触媒を用いる条件で、一工程で一挙に脱保護できるようにするため、L-Serine **10** のカルボキシル基と Glycine **15** のアミノ基をそれぞれ Allyl 基、Alloc 基で保護することとした。

¹ Wang らは、マンノペプチマイシン類縁体の固相合成¹⁾ (Scheme 1-11 参照) において環化点をセリンと立体障害が小さいグリシン部位の間に設定した。また、当研究室金原もグアニジル部位を持たない環状ペプチド合成において、同様の環化点を設定した。どちらの場合もマクロラクタム化に成功しており、セリンとグリシンの間を環化点に設定するのは妥当と考えられる。



2-2-2 Aiiha-A および Aiiha-B の合成計画

続いて、マンノペプチマイシン特有の異常アミノ酸 Aiiha-A、Aiiha-B の合成計画について述べる。本化合物の合成法は、当研究室で研究を始めた当初は報告例が全くなく、最近 2 例報告されたものの²⁾、工程数の長さもしくは収率に問題を残している。金原が確立した Aiiha-A、Aiiha-B の骨格構築法³⁾ (Scheme 1-15 参照) はそれ自体非常に優れた合成法であり、他のグループからの報告と比較しても工程数、収率共に優れている。しかしながら、マンノペプチマイシンのように高度に官能基化された化合物の全合成においては、骨格構築の手法論を確立するだけでは十分ではなく、官能基の適切な保護基の組み合わせと、これらを損なわない適切な反応条件の同定が極めて重要である。残念ながら金原は高度に官能基化された Aiiha-A および Aiiha-B について全合成に用いるための適切な保護基の組み合わせと反応条件を決定するには至らなかったため、先述の通り Aiiha-A および Aiiha-B の構造がより簡略化された前駆体を用いて全合成を目指した。そして合成終盤での Aiiha 部位の修飾に工程数を要し、最終物を質量分析で検知するにとどまった。

以上の背景を元に、本章の目的は、Aiiha-A、Aiiha-B の合成手法について、さらに効率的な合成手法がないかについて検証するとともに、実際に全合成へ用いることができる保護基の組み合わせを突き止めることも目的とする。

まず、全合成を念頭に置いた上で Aiiha-A、Aiiha-B の保護基の理想的な組み合わせについて考えた。グアニジン部位の保護基としては既に上述の理由により Cbz 基を選択している。そこで、残りの 2 位のアミノ基、3 位の水酸基、カルボン酸の保護基の組み合わせについて以下の

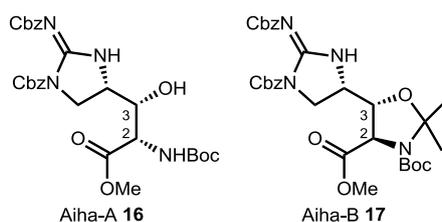
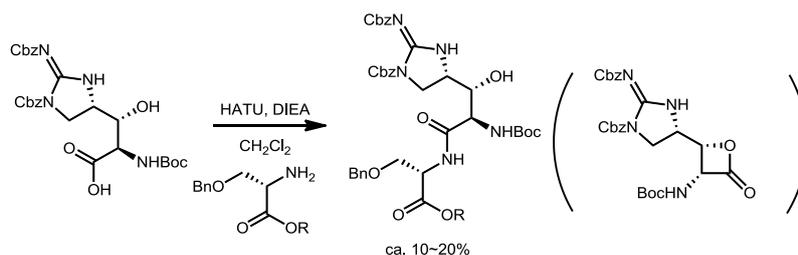


Figure 2-1

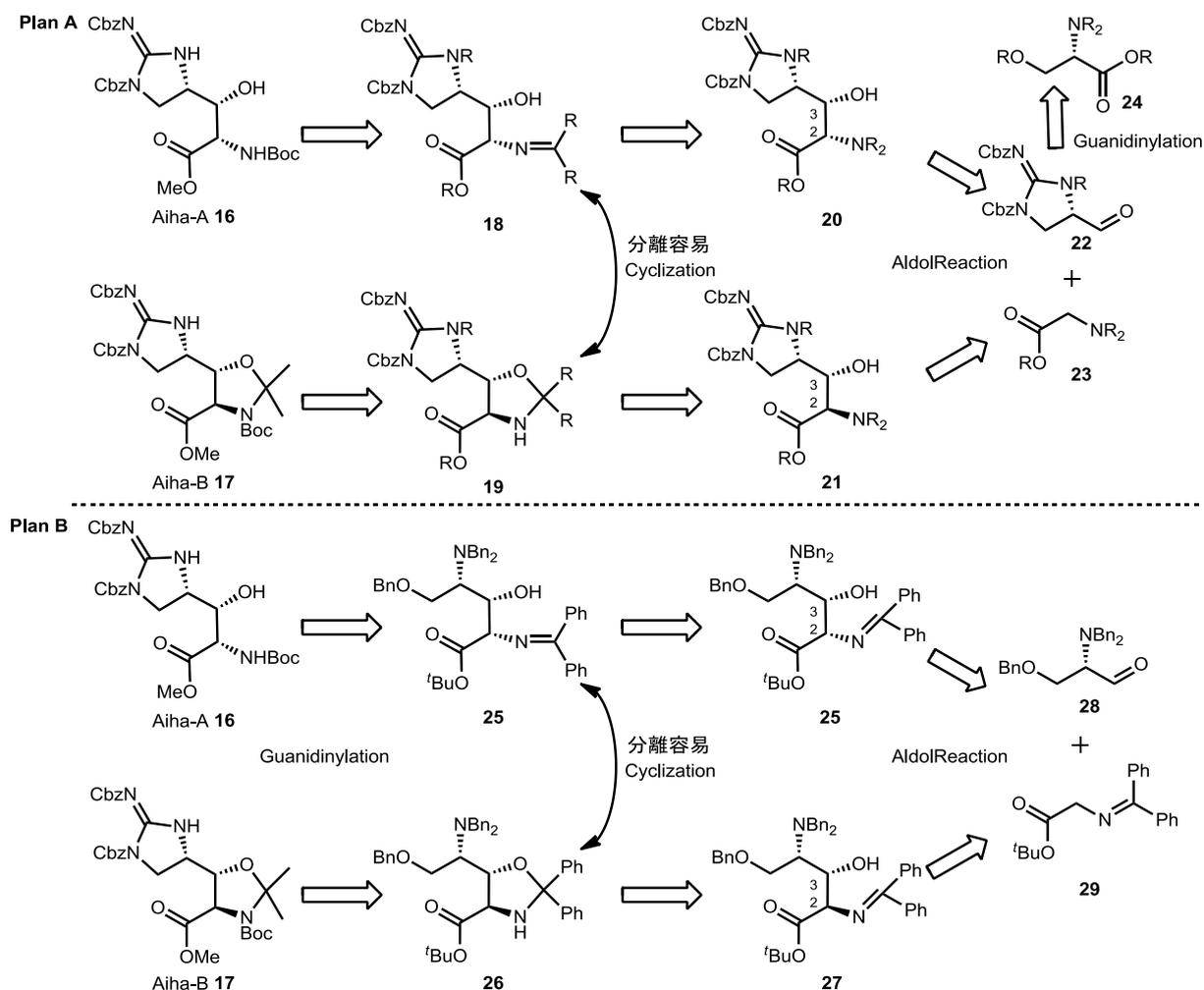
通り選択した (Figure 2-1)。すなわち、アミノ基の保護基としては、ペプチド合成において最も一般的な保護基である **Boc** 基を選択した。これは、**Cbz** 基を損なうことなく比較的温和な酸性条件下で脱保護可能で、しかも揮発性酸を用いて脱保護した場合、反応後、低沸点成分を留去するのみで高純度で目的物を得られるためである。このことはとりわけ **Aiha-A** や **Aiha-B** のような高度に官能基化され、強塩基性残基を有する基質を用いる合成においては重要である。なぜならば、これらの基質は溶解性に問題を持つことが多く、反応後にシリカゲルカラム精製操作などを要する場合は、その過程で生成物の損失を引き起こす恐れがあるためである。続いてカルボン酸は対応するメチルエステルとして保護しようと考えた。これは、**Cbz** 基が水素添加反応条件下で、**Boc** 基が酸性条件下での除去を想定しているため、これらを損なわない塩基性条件下で脱保護可能なためである。残る水酸基の保護については、**Aiha-B 17** についてはオキサゾリジンの形で保護²し、**Aiha-A 16** については水酸基を無保護のままとするのが最善と考えた。金原の過去の報告によれば、**Aiha-B 17** の水酸基を遊離のままセリンと縮合すると、副反応が起きることがわかっている。また、金原はオキサゾリジンの形で水酸基を保護しておくことにより副反応が抑制でき、セリンとの縮合が可能になることを報告している。この知見を元に、本章での合成においても **Aiha-B** はオキサゾリジンの形で供給しようと考えた。一方で、**Aiha-A** に関しては、金原は縮合検討をしておらず、水酸基を保護すべきか否かについての知見はない。もし **Aiha-A** の水酸基を遊離のまま用いても副反応を引き起こさないのであれば、無保護としておくことには反応性低下の抑制、工程数の削減、廃棄物の削減等の様々なメリットがある。実際に当研究室では β -グルカンの合成において、グリコシル化反応をジオールの

² 当研究室金原の知見により、水酸基遊離の **Aiha-B** を用いてセリンと縮合するとラクトン体が副生すると報告している。



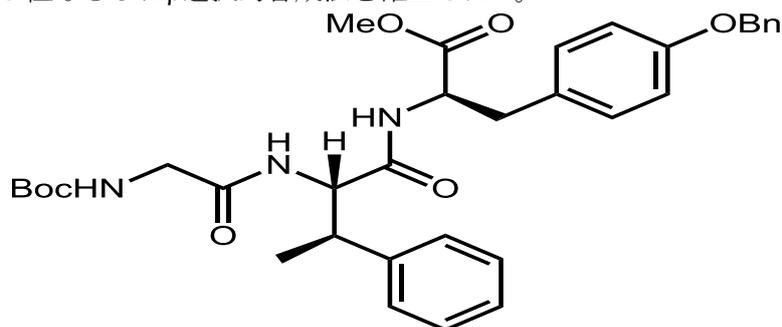
糖受容体を用いて行うことにより高収率で行えることを報告している³。そこで、Aiha-A については無保護のままでの合成をまず検討することとした。

Scheme 2-4 に Aiha-A **16**、Aiha-B **17** の合成計画を示す。Aiha-A および Aiha-B は 2



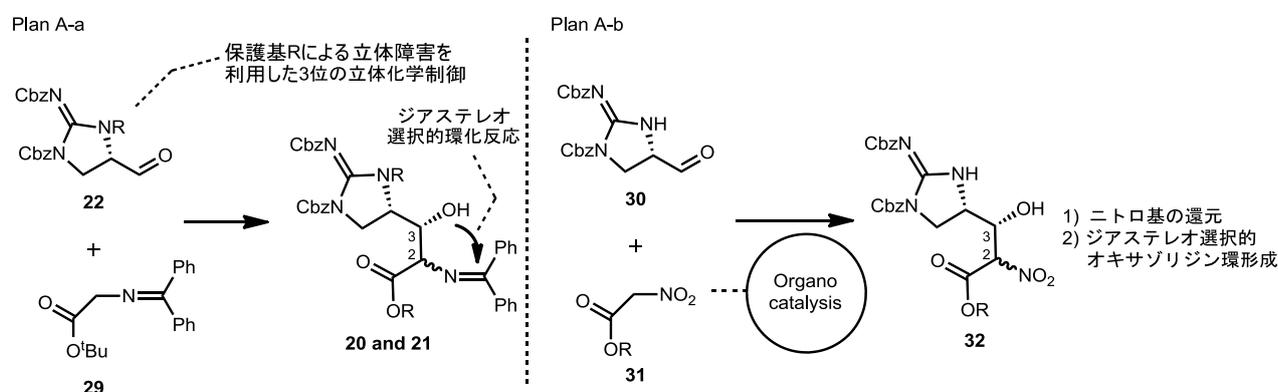
Scheme 2-4

³ 当研究室河合は、2,3 位ジオール型糖受容体を用いた位置選択的グリコシル化反応において収率 76% で 3 位ならびに β 選択的合成法を確立した⁴⁾。



位の立体化学が異なるジアステレオマーの関係にあり、金原が開発した手法の基本コンセプトである一度の反応で両ジアステレオマーを得て、環化速度の差を利用して両者を分離する方法は非常に有用と考えられる。そこで、このコンセプトを基盤として次の二つの合成計画を立案した。すなわち、Plan A および Plan B いずれにおいても、上述の基本コンセプトに従い、Aiha-A および Aiha-B の 2 位と 3 位間の炭素-炭素結合を不斉アルドール反応により形成する (Plan A: $22 + 23 \rightarrow 20 + 21$ 、Plan B: $28 + 29 \rightarrow 25 + 27$)。この際、3位を目的の立体化学に制御し、なおかつ 2 位の立体化学はわざと制御せずに混合物の状態でもアルドールを得て、その後のジアステレオ選択的環化反応により (序論 1-3-4-3 参照)、容易に異性体を分離 (Plan A: 18 vs 19 、Plan B: 25 vs 26) することを目的としている。なお、Plan A と Plan B の違いは、環状グアニジン部位を形成させてからアルドール反応を行うか (Plan A)、アルドール反応を行ってから環状グアニジン部位を形成するか (Plan B) である。Plan A のアルドール反応 ($22 + 23 \rightarrow 20 + 21$) のように、環状グアニジン部位を隣接位に持つアルデヒド **22** によるアルドール反応の報告例は過去に全く例がなく、挑戦的な課題であるが、もしこれに成功すれば、得られる生成物 **20** と **21** はほぼ Aiha-A **16** および Aiha-B **17** に必要とされる全ての官能基を既に有しているため、短工程で目的物へと誘導可能である。一方、Plan B (本合成計画は基本的に金原の手法と同一である) では逆に、アルドール反応においては不安材料が少ないものの、生成物 **25** と **26** から Aiha-A **16** および Aiha-B **17** へ誘導する際に Plan A に比べて長い工程数を要する。なお、Plan B については、金原のこれまでの検討結果を参考にして、Scheme 2-4 に示した通りの保護基の組み合わせを用いようと考えた。

なお、Plan A については鍵となる不斉アルドール反応についてさらに下記の二つの計画 Plan A-a と Plan A-b を考えた (Scheme 2-5)。すなわち、Plan A-a は環状グアニジンを有するアルデヒド **22** のグアニジン窒素原子上の保護基 R の立体障害を利用して 3 位の立体化学を制御しようとするアプローチである (基質による不斉制御)。このアプローチでは、Plan A と同様にグリシン **29** の窒素上にジフェニルイミノ基を配置しておくことで、**20**、**21** 間でのジアステレオ選択的な環化反応が起こり、生成物を容易に分離可能と考えた。Plan A-b は、有機触媒を外部



Scheme 2-5

不斉源として用いて2位の立体化学を制御しようとするアプローチ（試薬による不斉制御）である。このアプローチでは、生成物 **32** をジアステレオ混合物として得て、混合物のまま、ニトロ基を還元し、アミノアルコールを足掛かりとしてジアステレオ選択的なオキサゾリジン環形成反応を行うことにより容易に分離できるものと考えた。

2-3 Aiha-A および Aiha-B の合成

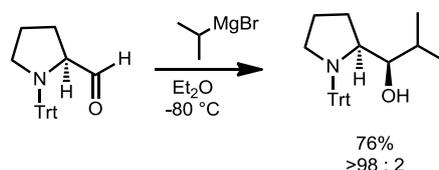
2-3-1 環状グアニジン構築後にアルドール反応を行う合成手法（Plan A）

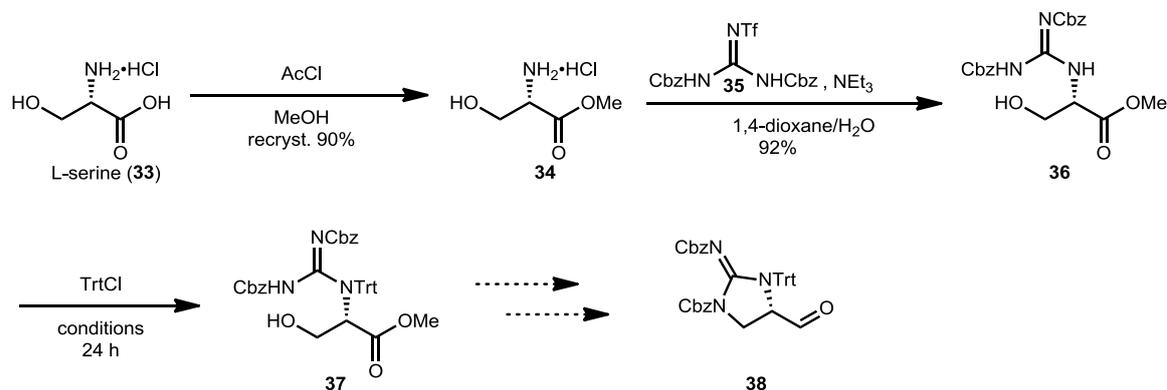
2-3-1-1 基質による不斉制御（Plan A-a）

まず、グアニジン窒素原子上の保護基による不斉制御を指向した Plan A-a の検討結果について述べる。上述の通り、環状グアニジンを隣接位に有するアルデヒド **22** (Scheme 2-5 参照) を用いたアルドール反応の例はない。一方で Chemla らは、隣接位にピロリジンを持つアルデヒドを用いた立体選択的求核付加反応を報告しており、この報告では、ピロリジンの窒素原子上に極めて嵩高いトリチル基を導入しておくことで立体化学の制御に成功している⁴。この報告を参考にして、筆者の系においても、環状グアニジンの窒素原子上にトリチル基を導入しておくことによって立体化学を制御できるのではないかと期待し、アルデヒド **38** を合成することとした (Scheme 2-6、Table 2-1)。

まず、L-セリン(**33**)に MeOH 溶媒中、AcCl を作用させ 24 時間 50 °C で反応させた。得られた生成物について、再結晶を行い精製することで目的物 **34** を収率 90% で得た。次に、**34** に 1,4-dioxane/H₂O = 20:1 の混合溶媒中、Goodman 試薬 **35**⁶⁾ と塩基として NEt₃ を作用させることにより収率 92% でグアニジン **36** を得た。続いて、トリチル化の検討を行った。塩化メチレン溶媒中で、NEt₃ もしくは DMAP を塩基として用い、50 °C で加熱した条件 (entry 1、2) では、反応が進行せず、DMF 溶媒中で DMAP を塩基として用い、120 °C まで段階的に加熱した条件では、系中が複雑化した。この結果について、グアニジン上に立体的に嵩高くなおかつ電子求引性の Cbz 基が二つ導入されていることにより望む反応点である窒素原子の反応性が低下している上に、トリチル基が極めて嵩高いことが原因であると考えた。

⁴ Chemla らは、*N*-tritylprolinal を用いてジアステレオ選択的にアミノアルコールを得ることに成功している⁵⁾。



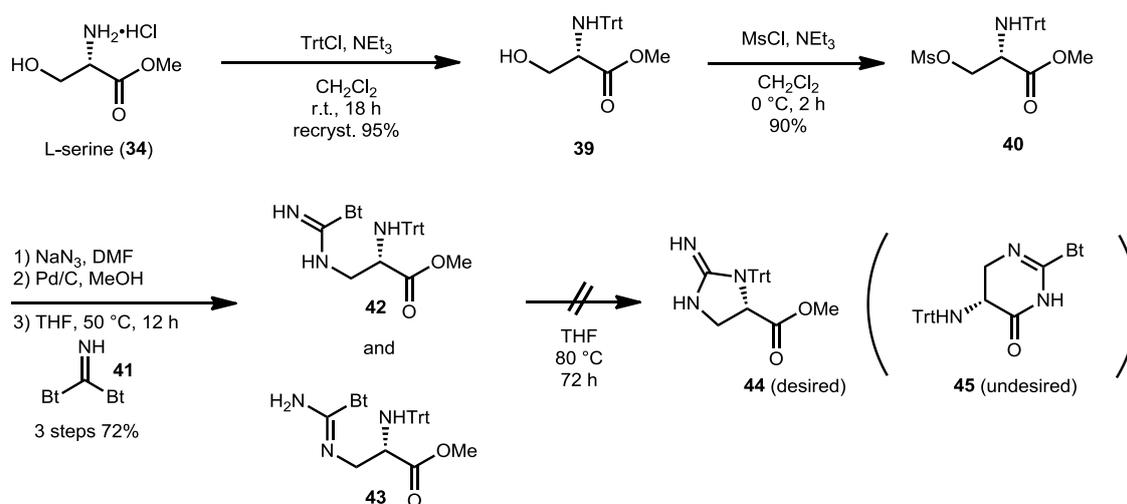


Scheme 2-6

entry	base	solvent	temp.	result
1	NEt ₃	CH ₂ Cl ₂	50 °C	no reaction
2	DMAP	CH ₂ Cl ₂	50 °C	no reaction
3	DMAP	DMF	120 °C	complex mixture

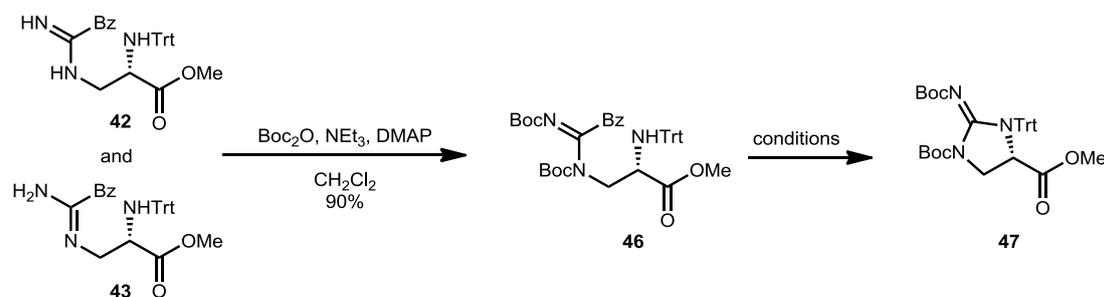
Table 2-1

そこで、予めトリチル基を導入した基質を用いて、環状グアニジン形成を行おうと考えた (Scheme 2-7) すなわち、L-セリンメチルエステル **34** に対して、CH₂Cl₂ 溶媒中、TrtCl と塩基として NEt₃ を作用させた。生成物を再結晶により精製することにより、目的物 **39** を収率 95% と高収率で得た。続いて、**39** に CH₂Cl₂ 溶媒中、MsCl と塩基として NEt₃ を作用させて収率 90% で対応するメシラート **40** へ誘導した。次に、**40** に対して DMF 溶媒中、NaN₃ を作用させ、アジド体を得た。これに対し、MeOH 溶媒中、水素添加反応を行い対応するアミンへと変換した。続いて、THF 溶媒中、試薬 **41**⁷⁾ を作用させ、12 時間 50 °C で反応を行うことにより三段階収率 72% で **42** と **43** の混合物を得た。得られた混合物を用いて分子内環化反応を行った。THF 溶媒中、室温下で反応を行ったが、反応が進行しなかったため、徐々に昇温し、最終的に還流条件で反応を行った。その結果目的の環化体 **44** は得られず、グアニジンの窒素原子からメチルエステルのカルボニル部位へ求核攻撃したラクタム **45** が得られた。



Scheme 2-7

このラクタム **45** は、望むトリチル基を持つ窒素原子ではなく、望まないアミジンの窒素原子が求核剤として働いたことが原因であるため、アミジンの二つの窒素原子を Boc 基により保護してから環化反応を検討することとした (Scheme 2-8, Table 2-2)。すなわち、先ほど合成した **42** と **43** の混合物に対して CH_2Cl_2 溶媒中、 Boc_2O と塩基として NEt_3 と触媒量の DMAP を作用させたところ、ジ Boc 体 **46** を高収率で得た。続いて、環状グアニジン形成を試みた。すなわち、entry 1~4 に示す条件で 12 時間加熱したが反応は進行しなかった。そこで、entry 5 に示す条件で 5 分間マイクロ波を照射することにより加熱したが、今度は系中が複雑化した。環状



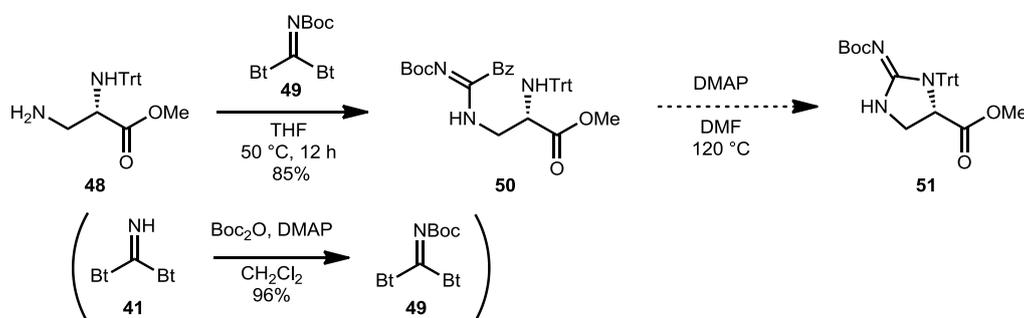
Scheme 2-8

entry	base	solvent	temp.	result
1	-	THF	80°C	no reaction
2	-	DMF	120°C	no reaction
3	py	DMF	120°C	no reaction
4	DMAP	DMF	120°C	no reaction
5	DMAP	DMF	120°C	complex mixture

Table 2-2

グアニジン前駆体 **46** においては、反応点付近に二つの立体的に嵩高い Boc 基が導入されており、これが反応性の低下を招いていると考えた。

そこで反応点周辺の立体障害を緩和することを目的とし、Scheme 2-9 に示すようにモノ Boc 体 **49** を用いた環化反応を検討しようと考えた。すなわち試薬 **41** の CH_2Cl_2 溶液に対して、 Boc_2O と塩基として NEt_3 と触媒量の DMAP を作用させ、収率 96% でモノ Boc 化された試薬 **49** を調製した。これをアミン **48** (本化合物は Scheme 2-7 の化合物 **40** から **42** と **43** を得る三段階の反応において、二段階目の反応の生成物である) の THF 溶液に対して 12 時間、 50°C で作用させたところ、収率 85% で **50** を得た。得られた **50** を用いて環化反応を検討したが、やはり望む反応は進行せず、原料を回収した。極めて嵩高いトリチル基を持つ窒素原子の求核性が非常に低下しているものが原因と考えられる。このように、Plan A-a の基質の立体障害を利用する不斉制御は、その原料の調製が困難であることから断念することとした。

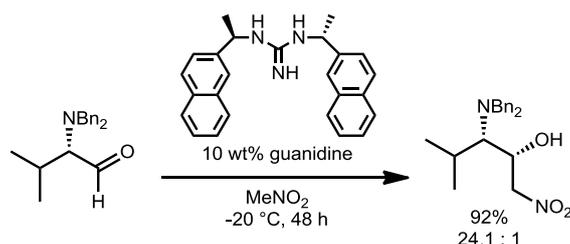


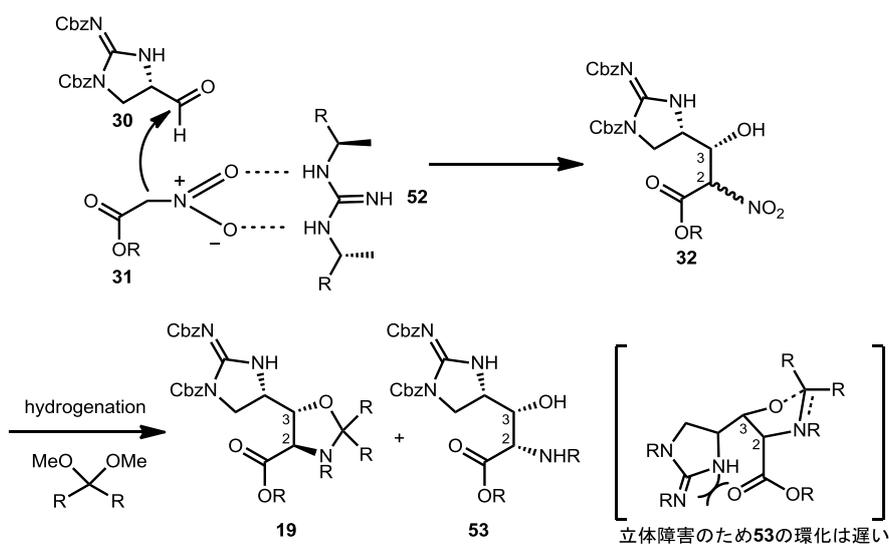
Scheme 2-9

2-3-1-2 試薬による不斉制御 (Plan A-b)

続いて、試薬による立体制御に基づく Plan A-b について検討することとした (Scheme 2-10)。先述の通り、ニトロエステル **31** を求核剤として使い、Ma らにより報告されたグアニジン型有機触媒 **52**⁵ により、隣接位に環状グアニジンを有するアルデヒド **30** に対する立体選択的アルドール反応を行おうと考えた。得られる **32** のニトロ基を還元してアミノ基へと変換後、オキサゾリジン環形成速度の差を利用して、生成物 **19** と **53** を容易に分離できるものと期待した。なおグアニジン試薬としては、Ma らが最も良好な結果を得ている二つのナフチル基をもつグ

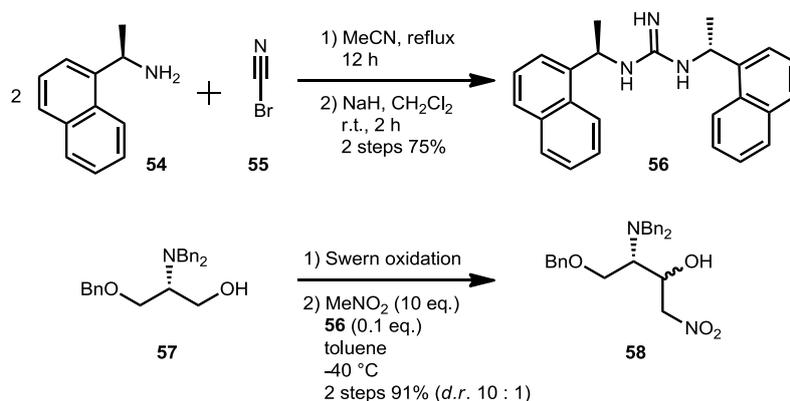
⁵ Ma らは、下記のグアニジン型有機触媒を用いて、 α 位にジベンジルアミノ基をもつアルデヒドに対するニトロメタンの立体選択的アルドール反応を報告している⁸⁾。



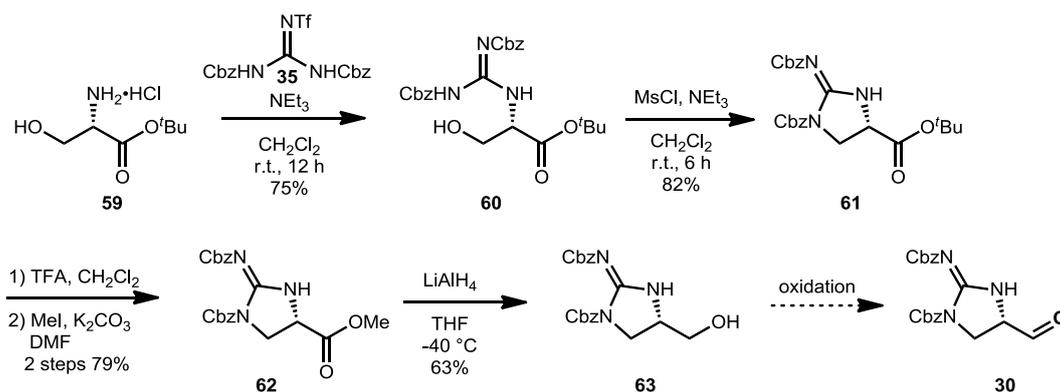


Scheme 2-10

アニジン触媒 **56** を用いることとした。その合成は文献に従い以下の通り行った (Scheme 2-11)。すなわち、ブロモニトリル **55** とアミン **54** を MeCN 溶媒中で反応させ、続いて得られた化合物の CH_2Cl_2 溶液に対して、NaH を塩基として用い、2 時間室温で反応させたところ収率 75% で目的の有機触媒 **56** を得た。続いて、得られた有機触媒 **56** を用いて、モデル基質 **57** とニトロメタンとのアルドール反応を行った。すなわち、セリン誘導体 **57** に CH_2Cl_2 溶媒中、オキサリルクロリド、DMSO、 NEt_3 を作用させて Swern 酸化を行い、対応するアルデヒドへ変換した。このアルデヒドにトルエン溶媒中、ニトロメタンと有機触媒 **56** を 0.1 当量作用させ、8 時間、 -40°C で反応させたところ、目的物 **58** が 2 段階収率 91% で得られた。なお、 $^1\text{H NMR}$ スペクトル解析より、ジアステレオマー比は 10:1 であることがわかった。



Scheme 2-11



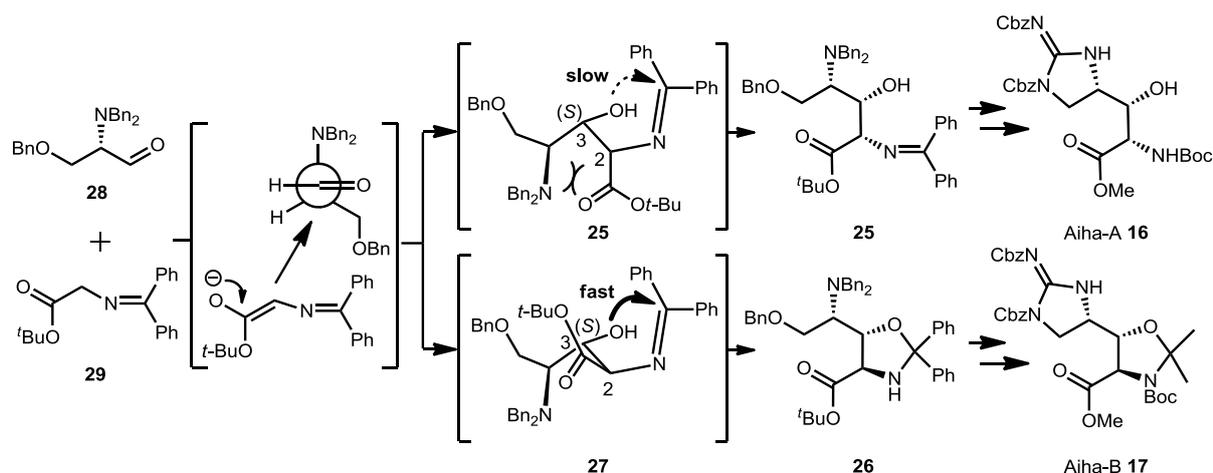
Scheme 2-12

この初期検討結果を受け、今度は実際の基質での検討に着手することとした。すなわち、アルデヒド **30** の合成を検討した (Scheme 2-12)。セリン **59** の CH_2Cl_2 溶液に対して、Goodman 試薬と塩基として NEt_3 を作用させ、室温で 12 時間反応させ、収率 75% で **60** を得た。続いて、**60** に CH_2Cl_2 溶媒中、 MsCl と塩基として NEt_3 を作用させて室温で 6 時間反応させ、収率 82% で環状グアニジン体 **61** を得た。*t*-ブチルエステルを対応するメチルエステル **62** へと変換後、これを還元してアルコール **63** へ誘導した。最後に Swern 酸化反応および Dess-Martin 酸化反応条件によりアルデヒド **30** を調製したところ TLC 解析により目的物と思われるスポットが観察された。しかし、本化合物は安定性が十分でなく、室温、中性条件下でも経時的に化合物が損壊して複数の化合物を与える様子が TLC 解析により観察された。また、数回、アルデヒドを調製後、すぐにこれを用いて不斉アルドール反応を試みた。本アルドール反応は低温条件で、長時間反応させないと十分な立体選択性を得にくい、目的のアルドール反応より先にアルデヒド **30** が損なわれる様子が TLC 解析により観察された。アルデヒド **30** のグアニジン上の保護基を Cbz 基から他の保護基へ変更することにより、安定性を向上させられる可能性があると考えられるが、本章の冒頭で述べた通り、マンノペプチマイシンアグリコンの全合成を目指す上で、Cbz 基以外の保護基の使用はリスクが非常に高いと考え、試薬による立体制御を指向した Plan A-b について断念することとした。

以上述べた通り、Plan A の予め環状グアニジンを持たせたアルデヒドを用いたアルドール反応を鍵とする合成計画は、アルデヒド基質の調製の困難さ、不安定性に阻まれる結果となった。そこで、グアニジンをアルドール反応後に形成する Plan B に切り替えて検討を行った。

2-3-2 アルドール反応後にグアニジン環を構築する合成手法 (Plan B)

アルドール反応後にグアニジン環を構築する合成手法 (Plan B) は保護基の選択以外は金原の確立した手法と同様である。再度説明すると (Scheme 2-13)、適切な保護基を持つ Aiha-A **16** と Aiha-B **17** は、それぞれ対応する立体化学を有するイミン **25** とオキサゾリジン **26** からグア

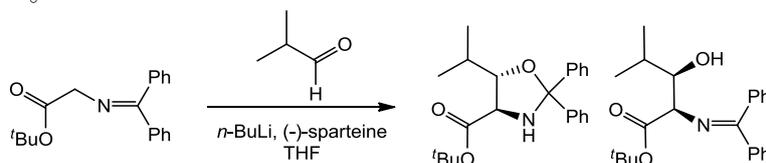


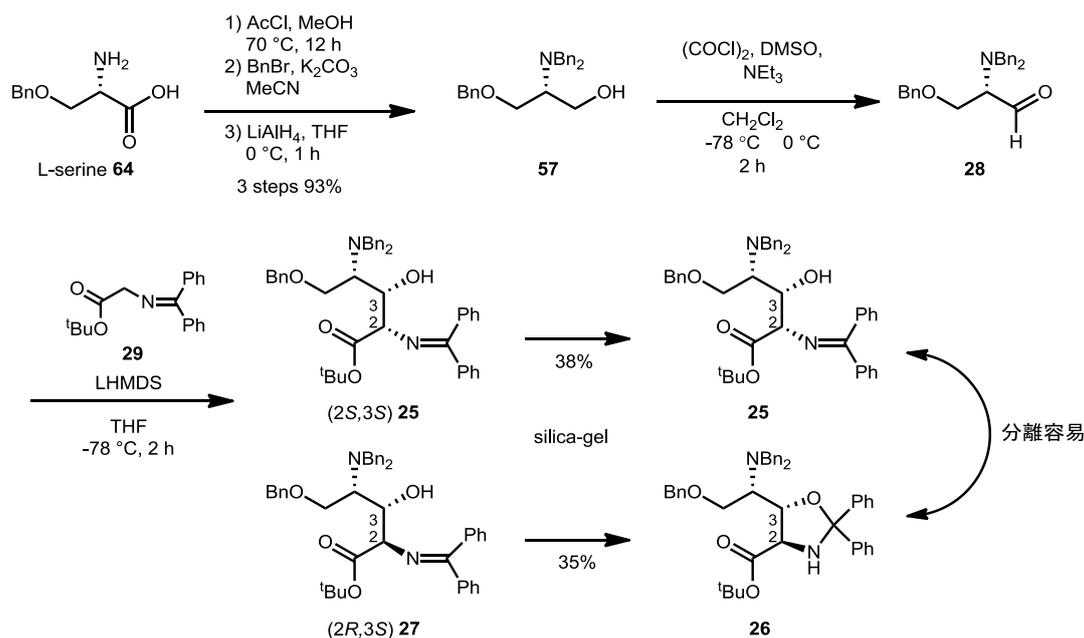
Scheme 2-13

ニジン部位を構築することにより合成できると考えた。また **25** と **26** は、アルデヒド **28** とグリシン保護体 **29** を用いたアルドール反応により両方を一挙に得ることとした。このときβ位水酸基の立体化学は、Felkin-Ahn モデルによる制御を目指し、アルデヒド **28** のアミンの保護基に高い Bn 基を二つ導入することとした³⁾。またグリシン保護体は *t*-ブチルエステル **29** として用いることとした。これは、1) アルドール反応における副反応のリスクを低減させる、2) アルドール反応では二つのジアステレオマー **25** と **27** を混合物として得た後、ジアステレオマー間でのオキサゾリジン環形成速度の差を利用することにより生成物をオキサゾリジン **26** と鎖状イミン **25** として得ることを期待しているが、高い *t*-ブチルエステルを用いることにより環形成速度差を大きくできると考えたためである⁶⁾。

はじめにイミン **25** とオキサゾリジン **26** の合成を行った (Scheme 2-14)。市販されているセリン誘導体 **64** に対し、AcCl と MeOH を用いて 70 °C で 12 時間反応させカルボン酸をメチルエステルへと変換し、続いてアセトニトリル溶媒中、BnBr と炭酸カリウムを用い、室温にて 24 時間反応を行い、アミノ基上に二つのベンジル基を導入した後、最後に THF 溶媒中、LiAlH₄ を作用させることによりエステルを還元し、三段階収率 93% でアルコール **57** を得た。なお、金原の報告に比べ 10% 程収率を向上させた。得られたアルコール体 **57** に対して、CH₂Cl₂ 溶媒中、オキサリルクロリドと DMSO と NEt₃ を用いて Swern 酸化を行った。得られたアルデヒド **28** が不安定であったため、精製せずにそのままアルドール反応を行った。グリシン誘導体 **29**

⁶⁾ Molinski らは同様のグリシン誘導体を用いて不斉アルドール反応を行い、立体的にすいているジアステレオマーはオキサゾリジンとして、立体的に混んでいるジアステレオマーはイミンとして得ている⁹⁾。

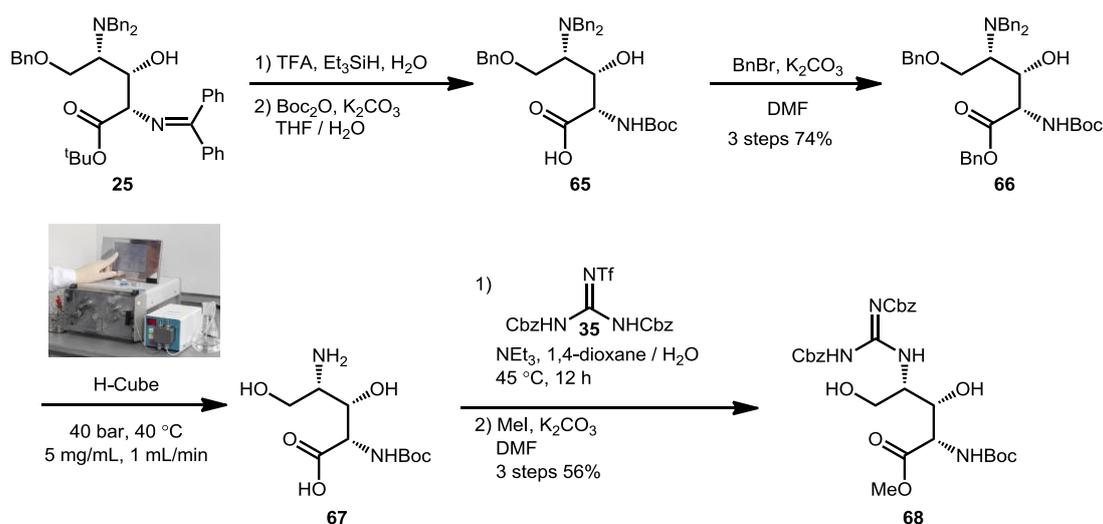




Scheme 2-14

の THF 溶液に対して、 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ で LHMDS を作用させ、1 時間反応させて対応するエノラートを発生させた後、アルデヒド体 **28** の THF 溶液を滴下した。得られた化合物について反応系中でのオキサゾリジン環形成は観察されなかった。反応終了後、シリカゲルカラム精製を行ったところ、環化時の立体障害の少ない(2*R*,3*S*)体 **27** はシリカゲルの酸性により速やかにオキサゾリジン環を形成して **26** を与え、一方、(2*S*,3*S*)体 **25** は環化せず、鎖状イミンのままで得られた。両化合物のシリカゲルカラム中での保持時間は大きく異なり、容易に分離できた。その結果、イミン **25** を二段階収率 38% で、オキサゾリジン体 **26** を二段階収率 35% で得た。

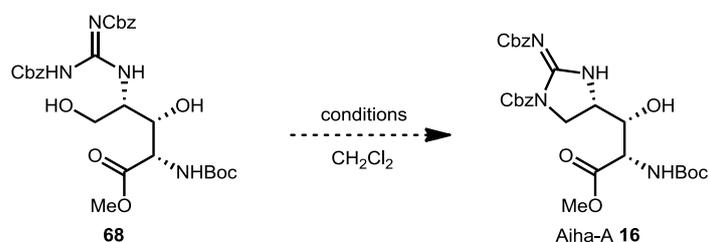
得られたイミン **25** をグアニジン **68** へと変換した (Scheme 2-15)。イミン **25** に対し、TFA と Et₃SiH と水を加え室温で 6 時間反応させて加水分解した後、THF と水混合溶媒中、Boc₂O と炭酸カリウムを作用させ、室温で 12 時間反応させてアミノ基を Boc にて保護した。続いてカルボン酸 **65** の DMF 溶液に対して BnBr と炭酸カリウムをさせ、室温で 3 時間反応を行うことにより対応するベンジルエステル **66** を 3 段階収率 74% で得た。得られたベンジル保護体 **66** の全てのベンジル基を水素添加反応条件で脱保護することとした。この際、流通型水素添加反応装置 H-Cube を用いて反応をおこなった。H-Cube は高分子担体上に担持された Pd 触媒のカートリッジを装置内に有しており、このカートリッジ内を通液することで反応するため、後処理操作が不要である。また、当研究室ではフェノール性水酸基を多数持ち、パラジウム触媒と錯形成しやすいと考えられるカテキンの水素添加反応において H-Cube を利用することにより良好な結果を得ている¹⁰⁾。化合物 **66** は極性官能基を多数持ち、パラジウム触媒との錯形成が懸念されるため、H-Cube の利用は有効なのではないかと考えた。反応条件は 40 気圧の水素雰



Scheme 2-15

雰囲気下、温度を 40 °C、濃度 5 mg/mL、流速 1 mL/min に設定した。その結果、期待通り目的物 **67** が得られた。得られたアミノアルコール **67** に対して、精製せずにそのまま Goodman 試薬と NEt₃、溶媒として 1,4-dioxane と水 (20 : 1) の混合溶媒を用いて反応を行い、グアニジンを導入した。続いて DMF 溶媒中、MeI と炭酸カリウムを作用させてカルボン酸をエステル化し、メチルエステル **68** を三段階収率 56% で得た。

ここで、合成したアルコール **68** を対応するメシラートへと変換し、グアニジン窒素原子からの分子内 S_N2 反応により環状グアニジンを構築して Aiha-A **16** を得ようとした (Scheme 2-16)。塩基、反応試薬、温度、時間を検討した結果を Table 2-3 に示す。その結果、entry 1 の条件では、MsCl と NEt₃ を用い -40 °C で反応させたところ、水酸基からメチルエステルに求核攻撃したラクトン **69** が得られた。続いて、entry 2 では塩基を pyridine に変えたところ、反応は全く進行しなかった。そこで反応温度を -15 °C から 0 °C へと昇温したところ、ラクトン体 **69** と 2 級水酸基もメシラートへ変換された化合物 **70** が得られた。また entry 4 では光延反応により環状グアニジンを構築しようとしたが、反応は進行しなかった。entry 3 の条件でジメシラート **70** が生成したことから、2 級水酸基を保護すれば目的の反応を行えると考えた。



Scheme 2-16

entry	reagent	base	temp.	time	product
1	MsCl	NEt ₃	-40 °C	6 h	69
2	MsCl	Py	-40 °C	6 h	No Reaction
3	MsCl	Py	-15 °C to 0 °C	4 h	69, 70
4	DEAD, PPh ₃		r.t.	24 h	No Reaction

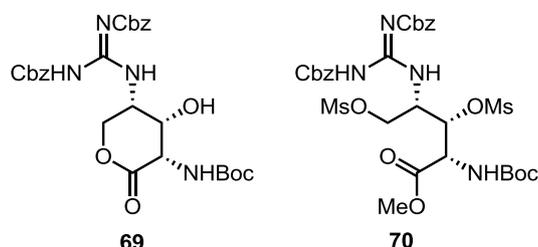
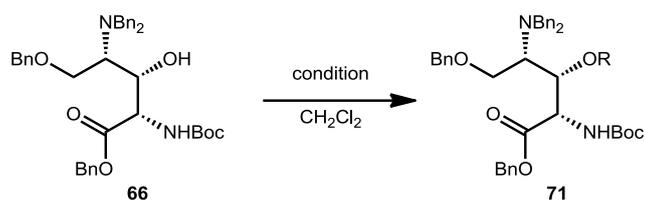


Table 2-3

本来 Aiha-A に関しては、水酸基遊離の状態での供給を目指していたため (Figure 2-1)、水酸基を一切保護せずに供給できれば最も効率的であるといえるが、以上の検討結果から無保護のままでの供給は困難と判断し、**66** を用いて水酸基の保護を検討することとした (Scheme 2-17、Table 2-4)。保護基の種類としては、塩基性条件、水素添加反応条件に安定であり、なおかつ Boc 基と同時に除去できるように酸性条件で脱保護できる保護基が最適だと考えた。そのため、MEM 基、MOM 基を選択した。entry 1 では基質の CH₂Cl₂ 溶液に対して MEMCl と DIEA、TBAI を作用させたが反応は進行しなかった。entry 2 では DMAP を添加したがやはり反応は進行しなかった。entry 3 では、還流条件を検討したが原料 **66** の損壊が観察された。また、entry 4 では、MOMCl を用いて 24 時間還流条件下で反応したが、目的物は得られなかった。反応が進行しない理由として、水酸基周辺の立体障害の影響が大きな要因であると考えた。

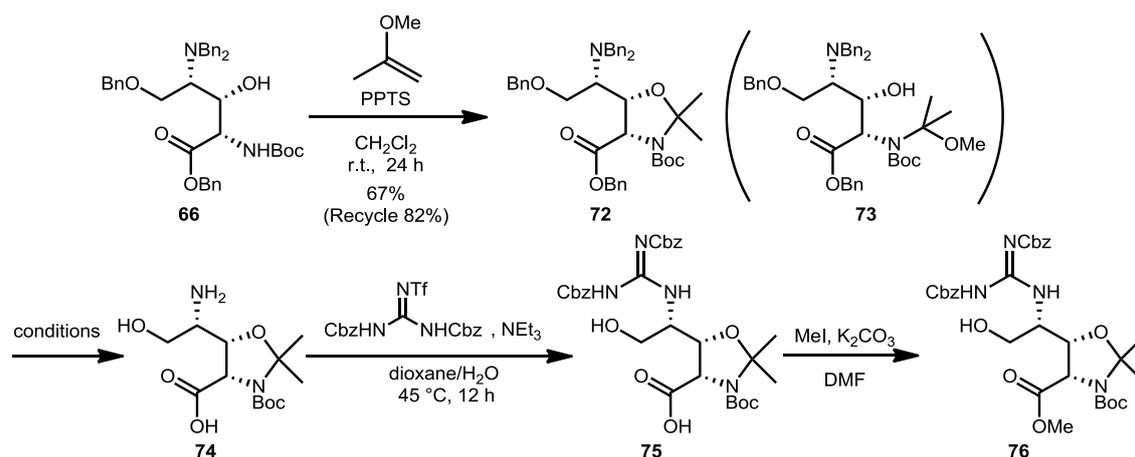


Scheme 2-17

entry	reagent	base	additive	temp.	time	result
1	MEMCl	DIEA	TBAI	r.t.	24 h	no reaction
2	MEMCl	DIEA, DMAP	TBAI	r.t.	24 h	no reaction
3	MEMCl	DIEA, DMAP	TBAI	reflux	12 h	decomposed
4	MOMCl	DIEA, DMAP	TBAI	reflux	24 h	decomposed

Table 2-4

66 の水酸基に対して分子間反応により保護基を直接導入する検討は断念し、アミノ基を足掛かりとして利用することで分子内反応により保護する手段を検討することとした (Scheme 2-18)。すなわち、Aiha-B での水酸基の保護を参考に Aiha-A でもオキサゾリンの形での保護を試みた。すなわち、アミノアルコール **66** に対し、CH₂Cl₂ 溶媒中、イソプロペニルメチルエーテルと PPTS を作用させて、室温にて 24 時間反応させた。その結果、期待通り収率 67% で目



Scheme 2-18

entry	reagent	solvent	atm	temp.	time	product(3 steps)
1	H-cube 1 mL/min	MeOH	60	50°C	3 cycle	-Bn×1~3
2	Pd(OH) ₂ /H ₂	MeOH	2	r.t.	24 h	decomposed
3	Pd(OH) ₂ /H ₂	EA	2	r.t.	24 h	37%
4	Pd(OH) ₂ /H ₂	EA	30	r.t.	24 h	64%
5	Pd/C/HCOOH	MeOH		70°C	1 h	46%

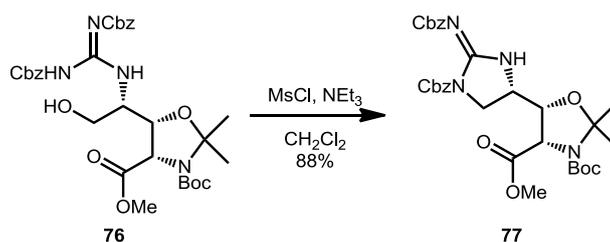
Table 2-4

的のオキサゾリジン **72** を得た。なお、本反応では、未反応のアミノアルコール **66** と、アミノ基にのみイソプロペニルメチルエーテルが反応した中間体 **73** が回収された。そこで、得られた生成物の混合物を再度反応させたところ収率 82% で目的物 **72** を得た。

続いて、基質 **72** の全てのベンジル基を除去することとした (Table 2-4)。反応試薬、溶媒、圧力、温度、時間を検討した。Scheme 2-15 で述べたのと同様に entry 1 では、H-Cube を用いて反応を行ったが、興味深いことに三度のリサイクル操作にも関わらず、ベンジル基が一部除去されずに残った化合物が得られた。なおこの結果について、Scheme 2-15 での検討で用いた基質 **66** と異なり、今回の検討で用いた基質 **72** は環状構造を持つため、置換基間での立体障害が大きくなっており、反応性が低下していることが原因であると考えている。entry 2 では、MeOH 溶媒中、Pd(OH)₂ を用いて水素添加反応を行ったが、反応の進行とともに化合物の損壊がみられ、複雑な混合物が得られた。この結果を受け、生成物 **74** は溶液中で安定に存在できないものと予測した。そこで、生成物 **74** が溶解しない溶媒を用いて反応を行えばよいのでは

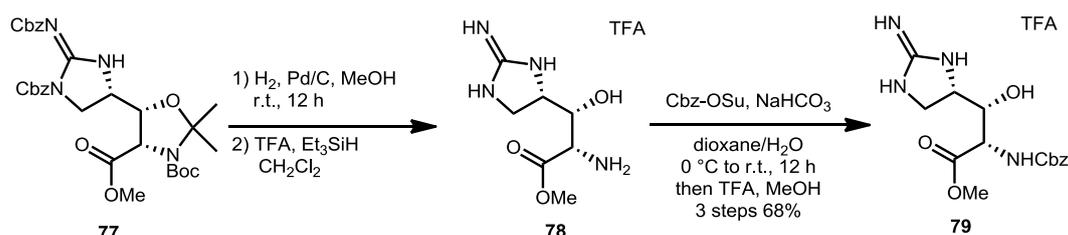
ないかと考えた。すなわち、entry 3、4 で示すように **74** が溶解しない酢酸エチル溶媒中での反応を検討した。その結果、entry 3 では室温、2 気圧で反応を行ったところ、その後のグアニジン化、メチルエステル化の 3 段階収率で 37%、entry 4 ではオートクレーブを用いて室温、30 気圧で反応を行い、三段階収率 64% で目的のグアニジン **76** を得た。これらの条件では、生成物 **74** は溶媒に溶けずに析出するため、期待通り損壊が抑えられたと考えている。entry 5 では当研究室金原が用いた条件、すなわち Pd/C とギ酸を用いて 70 °C、1 時間反応させる条件を用いたが、この時は三段階収率 46% で目的のグアニジン **76** を得た (Table 2-4)。

続いて、最終物 Aiha-A **77** の合成を行った (Scheme 2-19)。得られたグアニジン **76** に対し、CH₂Cl₂ 溶媒中、MsCl と NEt₃ を作用させたところ期待通り反応は進行し、環状グアニジン **77** を収率 88% で得た。当初 Aiha-A に関しては水酸基が無保護の状態での合成を目指していたが、オキサゾリジンの状態で保護することにより、環状グアニジンを構築できた。つまり、ここまでの合成の都合上、保護体として Aiha-A が供給されたわけであるが、まずは、これを用いて、次章における縮合反応を試みようと考え、この段階では脱保護は検討しないこととした。



Scheme 2-19

なお、Aiha-A オキサゾリジン体 **77** を用いて文献既知化合物 **79** へと誘導し目的の立体化学で合成できているか確認した。すなわち Aiha-A **77** に対して MeOH 溶媒中で Pd/C と H₂ を作用させて、Cbz 基を除去し、続いて、CH₂Cl₂ 溶媒中で TFA と Et₃SiH を作用させて、目的のアミノアルコール **78** を得た。最後にアミン **78** に対して 1,4-dioxane と水混合溶媒中、Cbz-OSu と NaHCO₃ を作用させて Cbz 基を導入し、TFA を作用させることで 3 段階収率 68% にて文献既知化合物 **79** を得た (Scheme 2-20)。合成した化合物 **79** の ¹H NMR スペクトルのデータと文献で報告されたデータ¹¹⁾は良い一致を示し、合成した Aiha-A **77** は望む立体化学を有することが証明された (Figure 2-2)。



Scheme 2-20

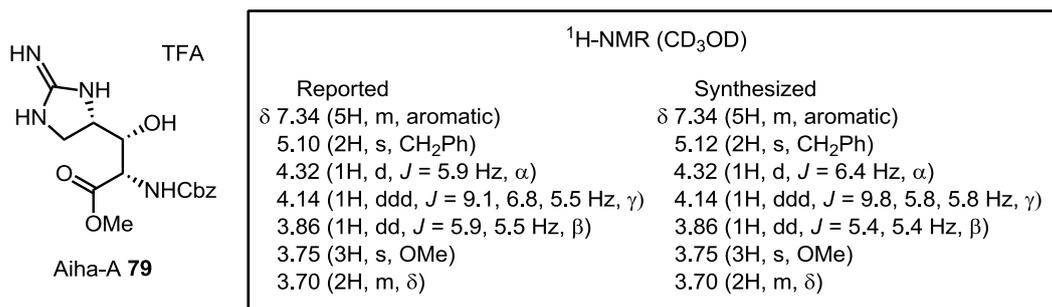
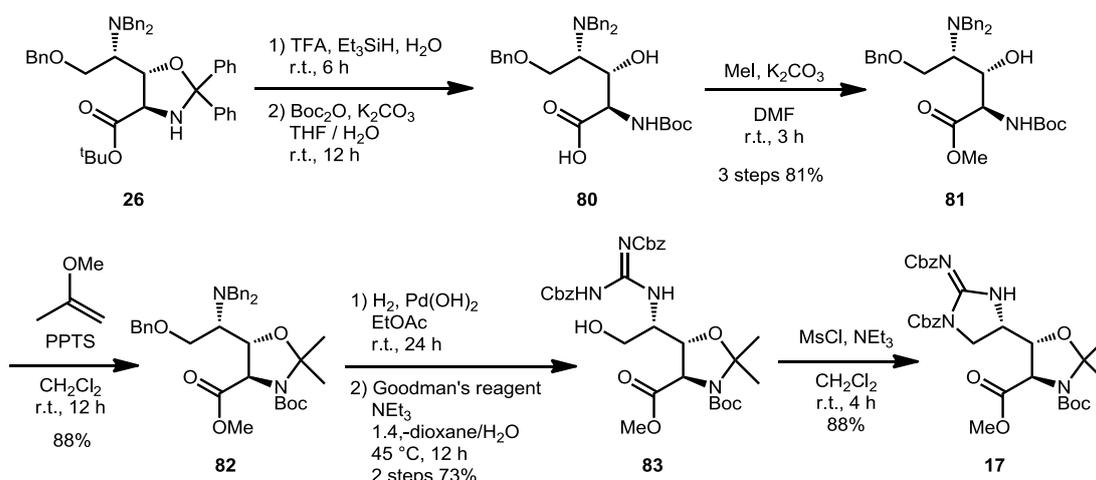


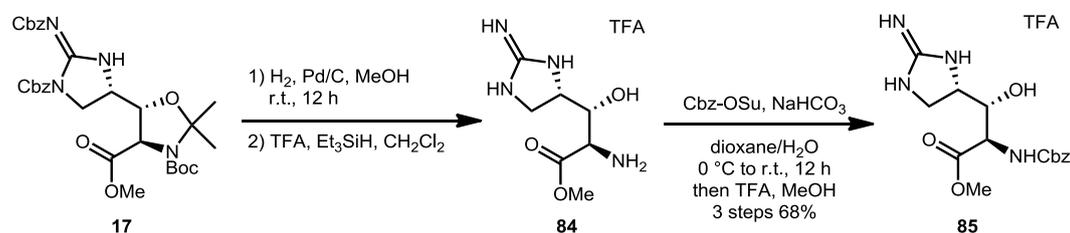
Figure 2-2

同様の合成法を用いて Aiha-B **17** の合成も行った (Scheme 2-21)。アルドール反応により得られたオキサゾリジン **26** に対して TFA と Et₃SiH と水を用い、6 時間反応させ加水分解を行った後、THF と水混合溶媒中、Boc₂O と炭酸カリウムを作用させ、室温下 12 時間反応を行い、遊離のアミンを Boc 基で保護した。続いて、DMF 溶媒中、MeI と炭酸カリウムを作用させて室温下 3 時間反応を行い、カルボン酸をメチルエステルへと変換し、3 段階収率 81% でメチルエステル **81** を得た。メチルエステル **81** に CH₂Cl₂ 溶媒中、イソプロペニルメチルエーテルを用いて室温、24 時間反応させたところ、収率 88% でオキサゾリジン **82** を得た。なお、Aiha-A の合成時より収率が高いのはオキサゾリジン環を形成する際の置換基同士の立体反発が小さいためであると考えている。続いて、酢酸エチル溶媒中、Pd(OH)₂ を用い、30 気圧の水素雰囲気下、室温で 24 時間反応を行い、全てのベンジル基を除去した。さらに、生じたアミンを足掛かりとして 1,4-dioxane と水 (20 : 1) 溶媒中、Goodman 試薬と NEt₃ を作用させることによりグアニジンを導入し、**83** を得た。得られたグアニジン **83** を CH₂Cl₂ 溶媒中で MsCl と NEt₃ を作用させて室温、4 時間反応させ、Aiha-B のオキサゾリジン体 **17** を収率 88% で得た。



Scheme 2-21

Aiha-B の立体化学の決定も Aiha-A の時と同様に、Aiha-B のオキサゾリジン体 **17** を文献既知化合物へ誘導することにより行った (Scheme 2-22)。すなわち Aiha-B **17** に対して、MeOH 溶媒中、Pd/C を用い、水素雰囲気下室温で 12 時間反応を行い、Cbz 基を除去した。続いて、CH₂Cl₂ 溶媒中、TFA と Et₃SiH を作用させて、アミノアルコール **85** を得た。最後に 1,4-dioxane と水の混合溶媒中、Cbz-OSu と NaHCO₃ を作用させてアミノ基に対して Cbz 基を導入し、TFA



Scheme 2-22

¹ H-NMR (CD ₃ OD)	
Reported	Synthesized
δ 7.34 (5H, m, aromatic)	δ 7.34 (5H, m, aromatic)
5.13 (2H, s, CH ₂ Ph)	5.13 (2H, s, CH ₂ Ph)
4.51 (1H, d, <i>J</i> = 1.5 Hz, α)	4.53 (1H, d, <i>J</i> = 1.5 Hz, α)
4.07 (1H, dd, <i>J</i> = 1.5, 5.7 Hz, β)	4.08 (1H, dd, <i>J</i> = 1.5, 5.7 Hz, β)
3.90 (1H, ddd, <i>J</i> = 5.7, 5.7, 5.7 Hz, γ)	3.89 (1H, ddd, <i>J</i> = 6.3, 6.3, 6.3 Hz, γ)
3.76 (3H, s, OMe)	3.78 (3H, s, OMe)
3.68 (2H, d, <i>J</i> = 5.7 Hz, δ)	3.69 (2H, d, <i>J</i> = 5.7 Hz, δ)

Figure 2-3

を作用させることにより 3 段階収率 68% で文献既知化合物 **86** を得た (Scheme 2-22)。合成した化合物の ¹H NMR スペクトルデータは文献により報告されたデータ¹¹⁾と良い一致を示した

ため、合成した Aiha-B 17 は望む立体化学を有することが証明された。

2-4 まとめ

本章ではマンノペプチマイシン内に存在する非天然アミノ酸 Aiha-A、Aiha-B について Figure 2-4 に示す保護基の組み合わせが、マンノペプチマイシンアグリコンの全合成に向けて最適な組み合わせであると判断し、これらの供給手法の確立を目的として検討を行った。

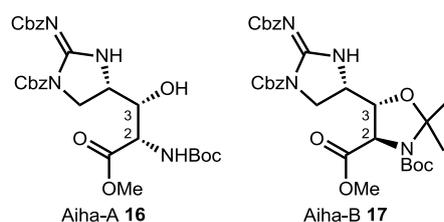
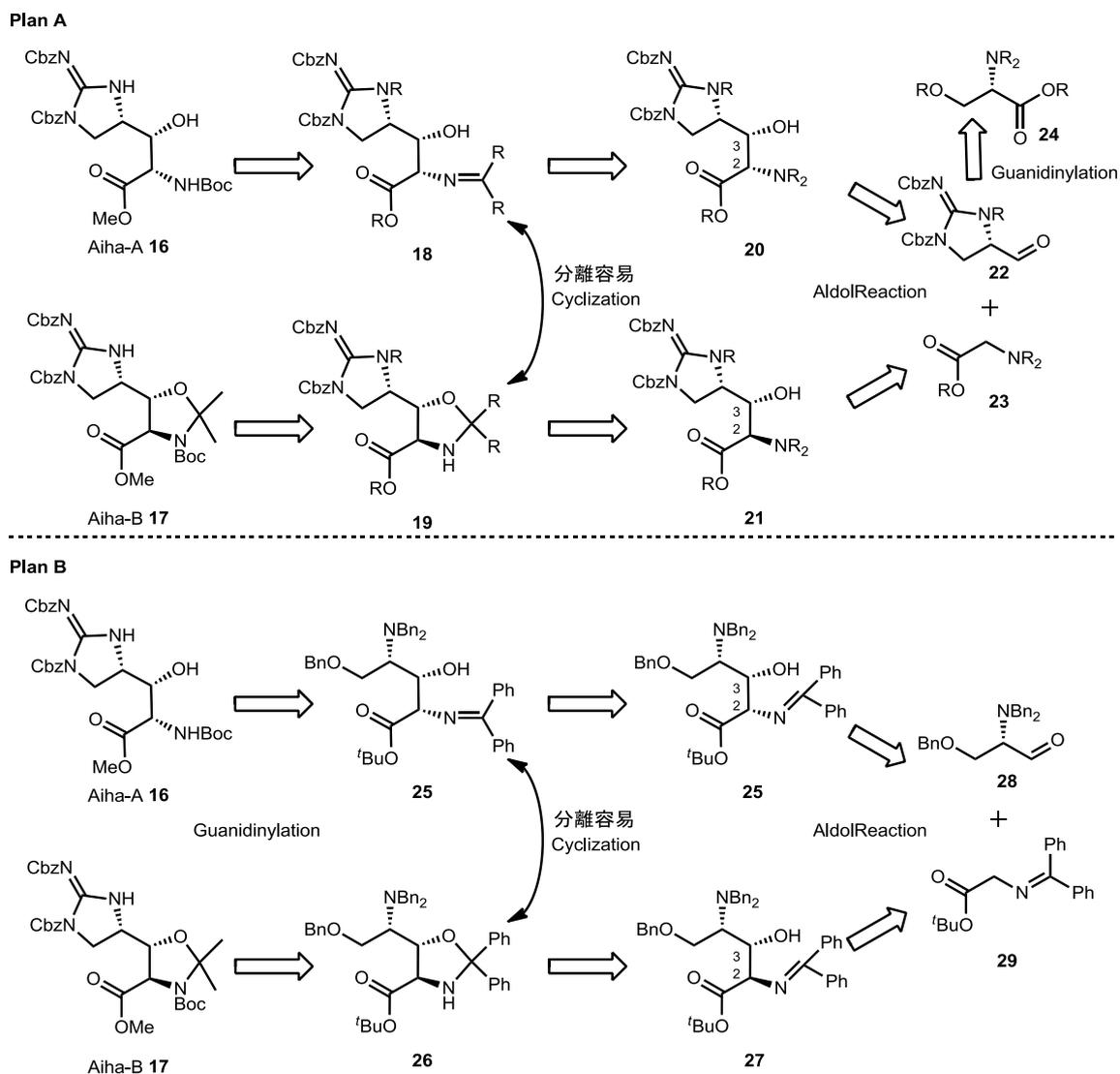


Figure 2-4

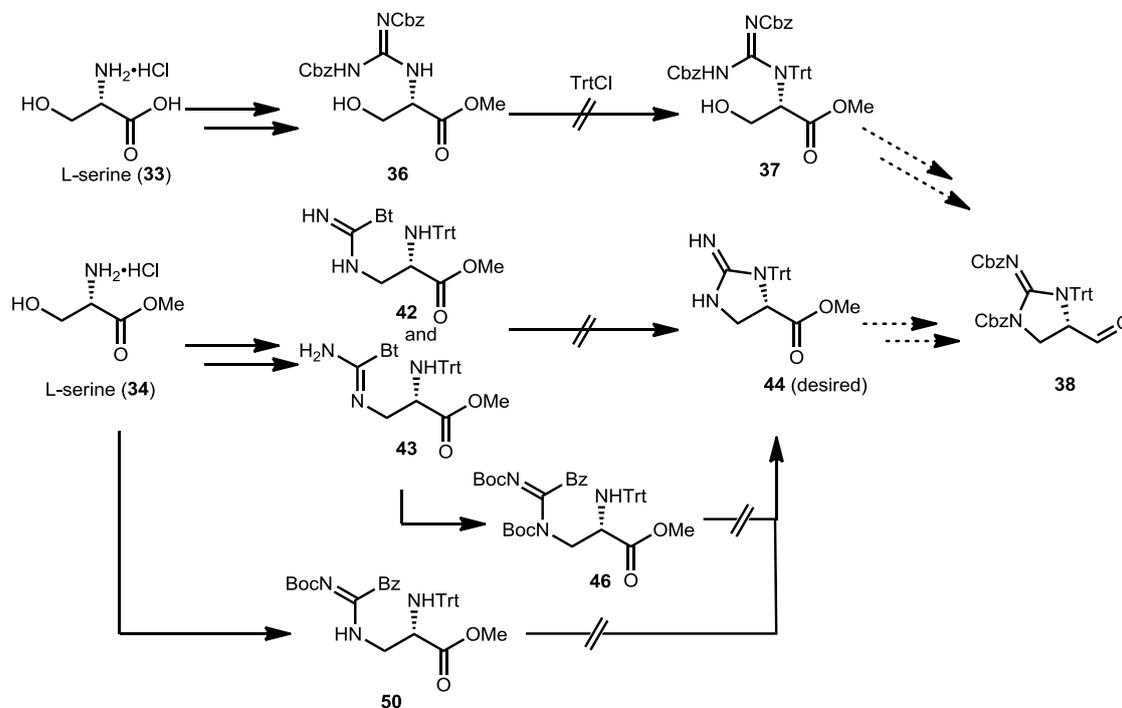
なお、その供給ルートとして、予め環状グアニジンを持ったアルデヒドにより難易度が高いと推測されるアルドール反応を行い、短工程で目的の Aiha-A、および Aiha-B へと誘導する Plan A と、環状グアニジンを持たない状態で、より信頼性の高いアルドール反応を行い、後に環状グアニジンを構築する Plan B の二通りを考えた (Scheme 2-23)。また、Plan A については、アルデヒド 22 の環状グアニジンの窒素置換基上に嵩高い保護基 R を導入しておき、これにより立体選択的アルドール反応を目指す Plan A-a (基質による不斉制御) と有機触媒により立体選択的ニトロアルドール反応を目指す Plan A-b (試薬による不斉制御) の二通りを考え、それぞれのルートについて実際に検討した。



Scheme 2-23

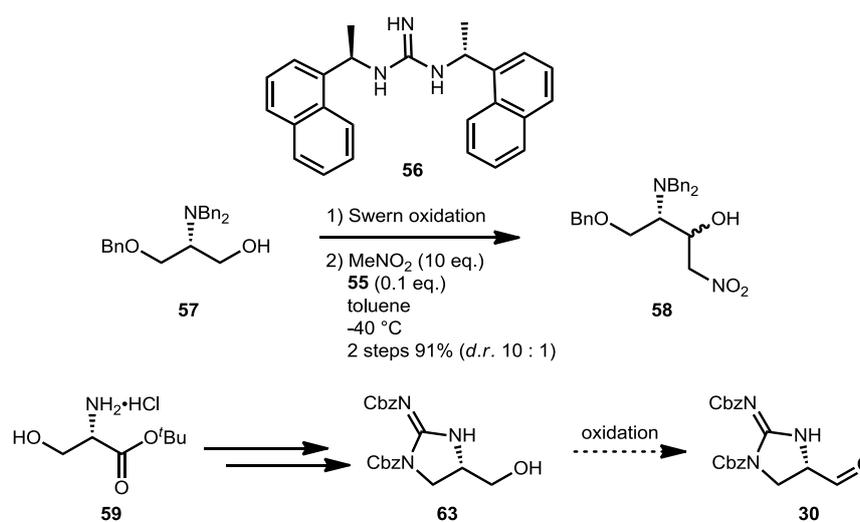
Scheme 2-24 に Plan A-a の検討結果を示す。グアニジン環の窒素置換基上に嵩高いトリチル基を持つアルデヒド **38** の合成を目指して、4 つのルートを検討したが、いずれのルートでも目的物を得ることができなかった。すなわち、セリン **33** からグアニジン **36** を経由してグアニジンの窒素上にトリチル基の導入を試みたところ、目的物を得ることはできなかった。そこで、先にトリチル基を α 位の窒素上に導入しておき、 β 位水酸基を足掛かりとしてアミジン **42** および **43** を構築、続く環化反応でグアニジン **44** を構築しようとしたがこれも目的物を得ることができなかった。なお、この **44** を得る検討の際に、グアニジンの窒素上からのエステルのカボニル基への巻き込みが観測された。そこで、グアニジンの窒素上を Boc 基で保護した **46** を用いて **44** を得ようとしたが、やはり目的物は得られなかった。**46** に Boc 基が二つ導入されていることによる立体障害が **44** を得られないことの大いなる原因の一つと考え、モノ Boc 保

護体 **50** を別途調整して、**44** を得ようとしたがやはり目的物は得られず、環状グアニジン上に極めて嵩高いトリチル基を持つアルデヒド **38** の合成は断念した。



Scheme 2-24

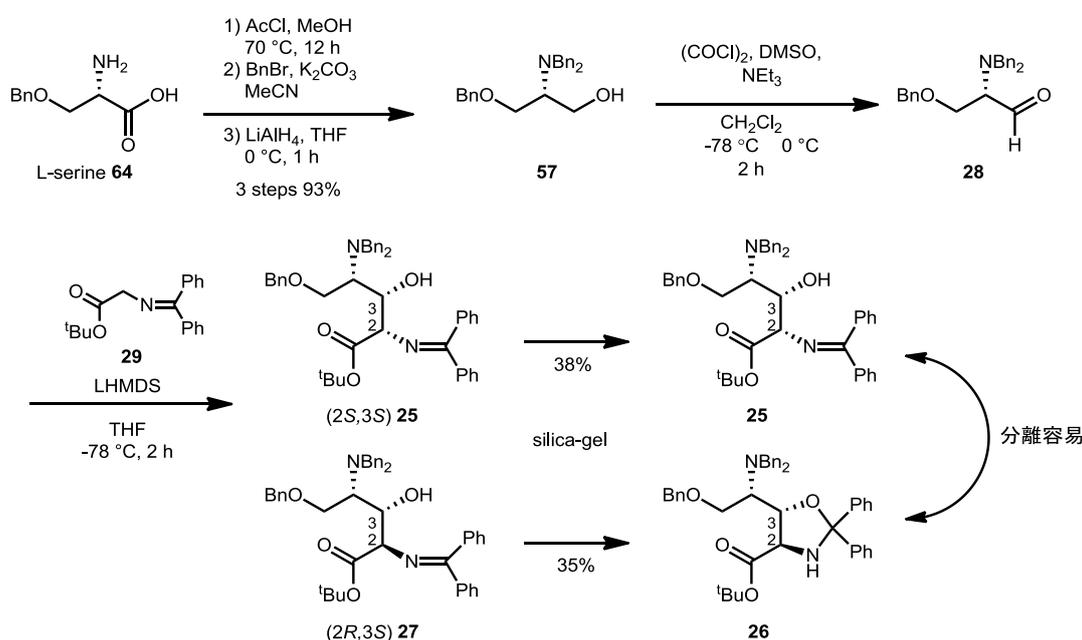
Scheme 2-25 に Plan A-b の検討結果を示す。グアニジン型有機触媒 **56** を用いて、**57** の酸化反応により得られるモデル基質の不斉アルドール反応を検討したところ、良好な収率、選択性



Scheme 2-25

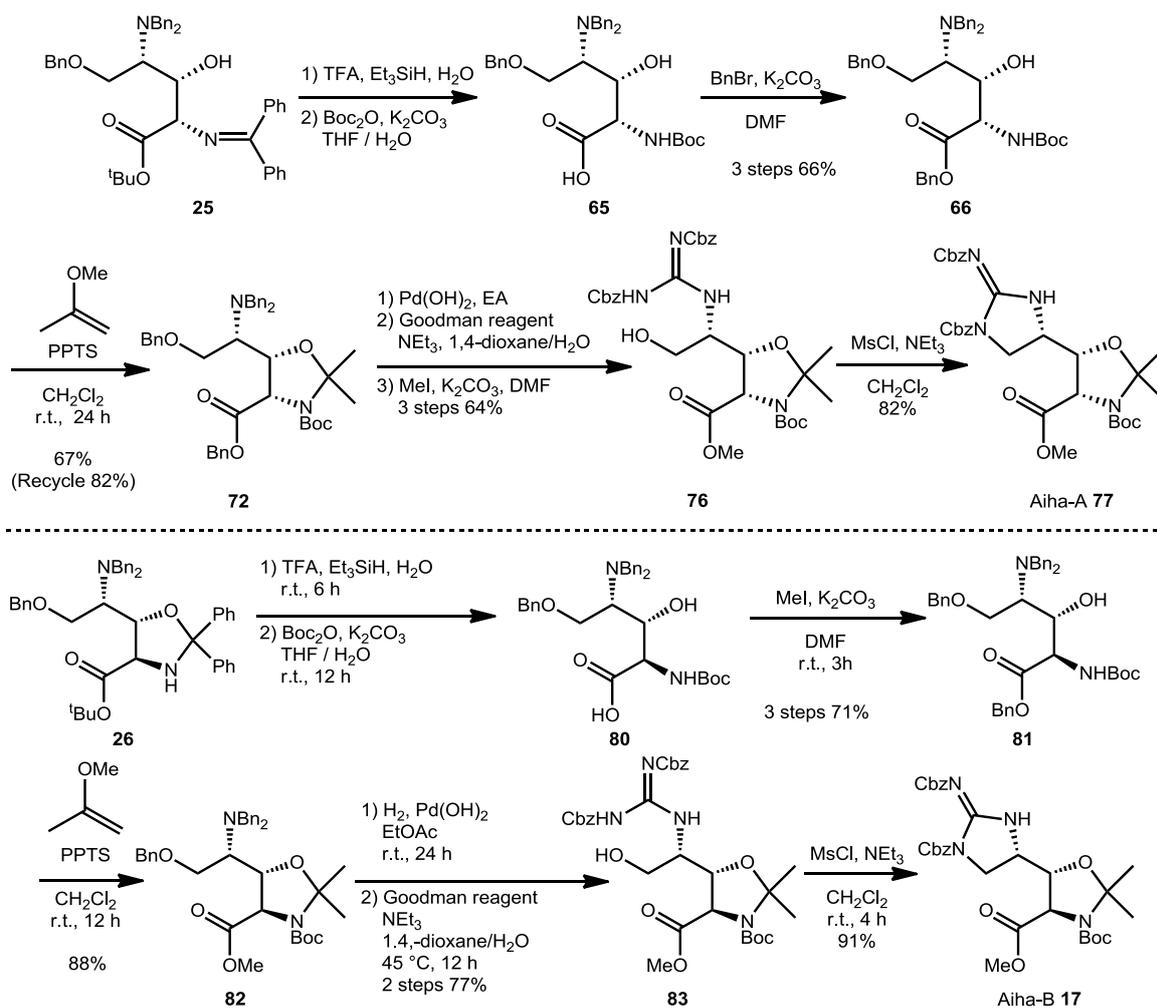
で目的物 **58** が得られた。この検討結果を受けて、実際の反応で用いる環状グアニジン含有アルデヒド **30** を **57** から調製した。アルデヒド **30** は TLC 解析によりその生成を観察したものの、反応系中で経時的に損壊していく様子が観察された。これらの結果を受けて、Plan A による Aiha-A、Aiha-B の供給を断念した。

Plan B の鍵段階の検討結果を Scheme 2-26 に示す。セリン **64** から誘導したアルデヒド **28** とグリシン誘導体 **29** のアルドール反応は化合物 **25** と **27** の混合物を与え、立体障害の少ない (2*R*,3*S*)体 **27** はシリカゲルの酸性により速やかにオキサゾリジン形成して **26** を与え、一方、(2*S*,3*S*)体 **25** は環化せず、鎖状イミンのままで得られた。



Scheme 2-26

得られた **25**、**26** について、それぞれ保護基の変換、グアニジン部位の導入、環状グアニジン部位の構築を行うことで、目的の Aiha-A **77**、Aiha-B **17** をそれぞれ 13 工程 12%、12 工程 15% で合成できた (Scheme 2-27)。これは、これまでに報告されている合成法と比べて最も短工程かつ収率が高い²⁾。なお、Aiha-A については当初水酸基遊離の状態での供給を目指していたが、環状グアニジン構築段階で水酸基遊離のまま反応を行うと副反応を引き起こすことが明らかになったため、オキサゾリジンの形で保護することにより、環状グアニジンを構築した。すなわち供給の都合上、環状グアニジンの形で水酸基が保護された Aiha-A が供給されたわけであるが、まずはこの Aiha-A を用いて、次章の検討を試みることにした。



Scheme 2-27

References

- 1) Wang, T.-Z.; Wheless, K. L.; Sutherland, A. G.; Dushin, R. G. *Heterocycles*, **2004**, *62*, 131.
- 2) a) Schwörer, C. J.; Oberthür, M. *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, 6129.
b) Olivier, K. S. Van Nieuwenhze, M. S. *Org. Lett.*, **2010**, *12*, 1680.
- 3) 金原篤、東京工業大学、学位論文、**2007**.
- 4) Tanaka, H.; Kawai, T.; Adachi, Y.; Ohno, N.; Takahashi, T. *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 8249.
- 5) Bejjani, J.; Chemla, F.; Audouin, M. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 9747.
- 6) Feichtinger, K.; Sings, H. L.; Baker, T. J.; Matthews, K.; Goodman, M. *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 8432.
- 7) Katritzky, A. R.; Rogovoy, B. V.; Chassaing, C.; Vedensky V. *J. Org. Chem.*, **2000**, *65*, 8080.
- 8) Ma, D.; Pan, Q.; Han, F. *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 9401.
- 9) MacMillan, J. B.; Molinski, T. F. *Org. Lett.*, **2002**, *4*, 1883.
- 10) Tanaka, H.; Yamanouchi, M.; Miyoshi, H.; Hirotsu, K.; Tachibana, H.; Takahashi, T. *Chem. Asian J.*, **2010**, *5*, 2231.
- 11) He, H.; Williamson, R. T.; Shen, B.; Graziani, E. I.; Yang, H. Y.; Sakya, S. M.; Petersen, P. J.; Carter, G. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 9279.

General Information

NMR spectra were collected using a JEOL model EX-270, JEOL model ECP-400, or a Varian NMR System 600 NB CL in the indicated solvent. Chemical shifts are reported in units of parts per million (ppm) relative to the signal (0.00 ppm) for internal tetramethylsilane for solutions in CDCl_3 (7.26 ppm for ^1H , 77.0 ppm for ^{13}C), acetone- d_6 (7.26 ppm for ^1H , 29.8, 206.1 ppm for ^{13}C), or DMSO- d_6 (2.49 ppm for ^1H , 39.7 ppm for ^{13}C). Multiplicities are reported by using the following abbreviations: s; singlet, d; doublet, t; triplet, q; quartet, m; multiplet, br; broad, J ; coupling constants in Hertz (Hz).

All reactions were monitored by thin-layer chromatography carried out on 0.25 mm E. Merck silica gel plates (60F-254) with UV light, visualized by 10% ethanolic phosphomolybdic acid, ceric sulfate aqueous solution, or 0.5% ninyhydrin *n*-butanol solution. Dry CH_2Cl_2 , dry THF, dry toluene, and dry MeCN were obtained from Glasscontour solvent purification system. Dry DIEA was distilled from CaH.

IR spectra were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum One FT-IR spectrophotometer. Only the strongest and/or structurally important absorption is reported as the IR data given in cm^{-1}

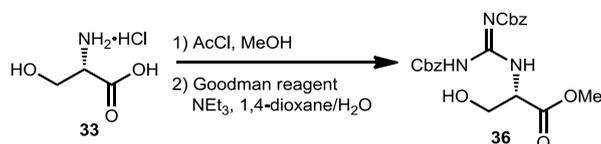
Optical rotations were measured on a JASCO P-1020 Polarimeter.

Column chromatography was performed on Merck silica gel 60N (0.063-0.200 mm)

ESI-TOF Mass spectra were measured with Waters LCT premierTM XE.

Dry CH_2Cl_2 , dry THF, dry toluene, dry MeCN and dry NEt_3 were obtained from solvent purification columns.

Experimental Section

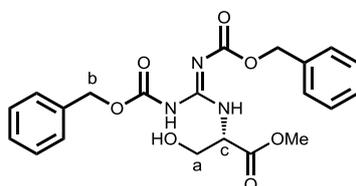
(S)-methyl 2-{2,3-bis[(benzyloxy)carbonyl]guanidine}-3-hydroxypropanoate (36)

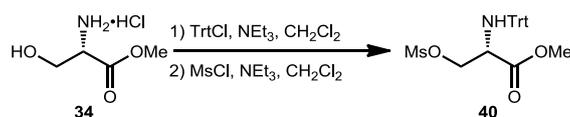
To a solution of AcCl (1.10 mL, 15.3 mmol, 3.00 equiv.) in MeOH (5.10 mL) was added HO-L-Ser-NH₂ (**33**) (1.00 g, 5.10 mmol, 1.00 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at reflux temperature for 6 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in 1,4-dioxane (10.0 mL) and H₂O (500 μL) was added Goodman's reagent (2.81 g, 6.12 mmol, 1.20 equiv.) and NEt₃ (3.56 mL, 25.5 mmol, 5.00 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at 45 °C for 12 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was washed with H₂O and brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 20% ethylacetate in hexane) to give (S)-methyl 2-{2,3-bis[(benzyloxy)carbonyl]guanidine}-3-hydroxypropanoate (**36**) (1.73 g, 4.11 mmol, 2 steps 82%) as a white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 11.5 (s, 1H, NH), 8.54 (s, 1H, NH), 7.32-7.43 (m, 10H, aromatic), 4.52 (d, 1H, b, *J* = 12.1 Hz), 4.48 (d, 1H, b, *J* = 12.1 Hz), 3.90-3.95 (m, 1H, a), 3.70-3.76 (m, 1H, a), 3.68 (s, 3H, OMe), 3.10-3.15 (m, 1H, c).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.5, 156.7, 156.5, 150.2, 136.4, 128.9 x 4, 127.4 x 2, 127.1 x 4, 66.5, 65.7, 62.4, 56.5, 52.1.

**(S)-methyl 3-[(methylsulfonyl)oxy]-2-(tritylamino)propanoate (40)**

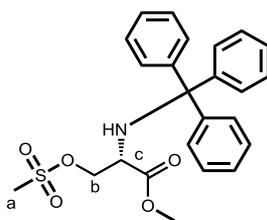


To a solution of MeO-L-Ser-NH₂ (**34**) (1.00 g, 6.45 mmol, 1.00 equiv.) in CH₂Cl₂ (13.0 mL) was added NEt₃ (2.62 mL, 19.4 mmol, 3.00 equiv.) and TrtCl (2.16 g, 7.74 mmol, 1.20 equiv.) at 0 °C under argon. After being stirred at the room temperature for 2 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

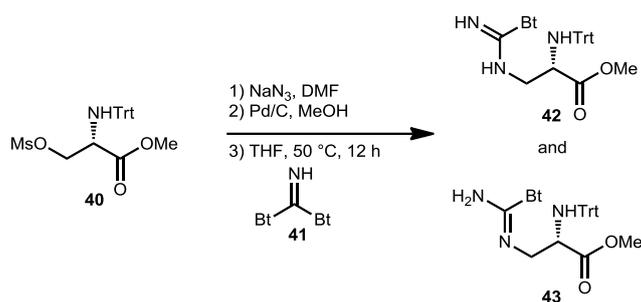
To a solution of residue in CH₂Cl₂ (13.0 mL) was added NEt₃ (2.62 mL, 19.4 mmol, 3.00 equiv.) and MsCl (0.753 mL, 7.74 mmol, 1.20 equiv.) at 0 °C under argon. After being stirred at room temperature for 5 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase were extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 10% acetone in toluene) to give (*S*)-methyl 3-[(methylsulfonyl)oxy]-2-(tritylamino)propanoate (**40**) (2.45 g, 5.48 mmol, 2 steps 85%) as a white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29-7.45 (m, 15H, aromatic), 4.14 (dd, 1H, b, *J* = 5.4, 12.1 Hz), 3.98 (dd, 1H, b, *J* = 5.4, 12.1 Hz), 3.72-3.78 (m, 1H, c), 3.62 (s, 3H, OMe), 3.15(s, 3H, a), 2.21 (d, 1H, NH, *J* = 7.2 Hz).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 173.4, 144.8, 129.2, 128.7, 126.7, 75.6, 71.2, 63.8, 52.1, 36.8.



(*S*)-methyl 3-(1H-benzo[d][1,2,3]triazole-1-carboximidamido)-2-(tritylamino)propanoate (**42**) and (*S*)-methyl 3-{[amino(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl)methylene]amino}-2-(tritylamino)propanoate (**43**)

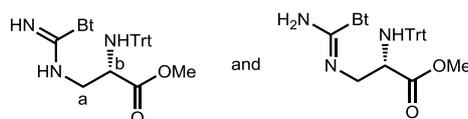


To a solution of (*S*)-methyl 3-[(methylsulfonyl)oxy]-2-(tritylamino)propanoate (**40**) (200 mg, 0.460 mmol, 1.00 equiv.) in DMF (2.30 mL) was added sodium azide (74.0 mg, 1.15 mmol, 2.50 equiv.) at 0 °C under argon. After being stirred at the room temperature for 2 h, the reaction mixture was poured into saturated aqueous NaHCO₃ and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with 1 M HCl, H₂O, saturated aqueous NaHCO₃ and brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

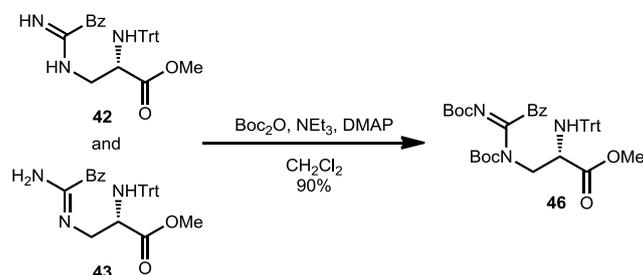
To a solution of residue in MeOH (2.00 mL) was added Pd/C (10% on carbon, 20.0 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 4 h under H₂ gas atmosphere, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of residue in THF (2.00 mL) was added bis(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl)methanimine (130 mg, 0.550 mmol, 1.20 equiv.) (**41**) at 0 °C under argon. After being stirred at room temperature for 3 h, the reaction mixture was poured into H₂O and the aqueous phase were extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 10% acetone in toluene) to give (*S*)-methyl 3-(1H-benzo[d][1,2,3]triazole-1-carboximidamido)-2-(tritylamino)propanoate (**42**) and (*S*)-methyl 3-[[amino(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl)methylene]amino]-2-(tritylamino)propanoate (**43**) (163 mg, 0.323 mmol, 3 steps 71%) as a white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.68 (s, 0.5H, NH), 6.85-8.13 (m, 19H, aromatic), 5.65 (s, 1.5H, NH), 3.79 (brs, 1H, b), 3.67-3.71 (m, 1H, a), 3.38-3.45 (m, 1H, a), 3.28 (s, 3H, OMe), 2.95 (brd, 1H, NH).

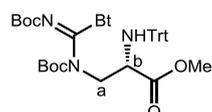


(*S*)-methyl-3-[*N,N'*-bis(tert-butoxycarbonyl)-2-oxo-2-phenylacetimidamido]-2-(tritylamino)propa

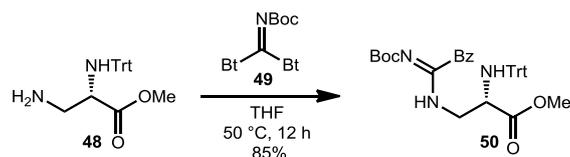
noate (**46**)

To a solution of (S)-methyl 3-(1H-benzo[d][1,2,3]triazole-1-carboximidamido)-2-(tritylamino)propanoate (**42**) and (S)-methyl 3-([amino(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl)methylene]amino)-2-(tritylamino)propanoate (**43**) (80 mg, 0.160 mmol, 1.00 equiv.) in CH_2Cl_2 (1.00 mL) was added NEt_3 (66.9 μL , 0.480 mmol, 3.00 equiv.) and TrtCl (2.16 g, 7.74 mmol, 1.20 equiv.) at 0°C under argon. After being stirred at the room temperature for 2 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO_4 and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification. To a solution of residue in CH_2Cl_2 (13.0 mL) was added Boc_2O (60.0 mg, 0.240 mmol, 1.50 equiv.) and NEt_3 (67.0 μL , 0.480 mmol, 3.00 equiv.) and DMAP (17 mg, 0.160 mmol, 1.00 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at room temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into H_2O and the aqueous phase were extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 7% ethylacetate in toluene) to give (S)-methyl 3-[N,N'-bis(*tert*-butoxycarbonyl)-2-oxo-2-phenylacetimidamido]-2-(tritylamino)propanoate (**46**) (102 mg, 0.147 mmol, 90%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.15-8.45 (m, 19H, aromatic), 3.92-3.97 (m, 1H, a), 3.76-3.79 (m, 1H, a), 3.74-3.75 (m, 1H, b), 3.24 (s, 1H, OMe), 2.94-2.96 (brd, 1H, NH), 1.35 (s, 9H, *t*Bu), 1.33(s, 9H, *t*Bu).

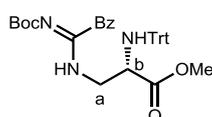


(S)-methyl 3-[N'-(*tert*-butoxycarbonyl)-2-oxo-2-phenylacetimidamido]-2-(tritylamino)propanoate (**50**)

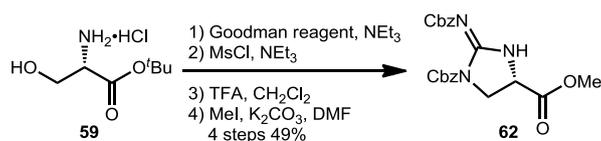


To a solution of (*S*)-methyl 3-amino-2-(tritylamino)propanoate (**48**) (100 mg, 0.278 mmol, 1.00 equiv.) in THF (1.00 mL) was added (121 mg, 0.334 mmol, 1.20 equiv.) (**49**) at 0 °C under argon. After being stirred at room temperature for 3 h, the reaction mixture was poured into H₂O and the aqueous phase were extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 10% acetone in toluene) to give (*S*)-methyl 3-[N'-(*tert*-butoxycarbonyl)-2-oxo-2-phenylacetimidamido]-2-(tritylamino)propanoate (**50**) (139 mg, 0.236 mmol, 85%) as a white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.14-8.42 (m, 19H, aromatic), 5,61 (brd, 1H, NH), 3.98-4.07 (m, 1H, a), 3.82-3.85 (m, 1H, b), 3.77-3.79 (m, 1H, a), 3.23 (s, 1H, OMe), 2.95-2.98 (brd, 1H, NH), 1.35 (s, 9H, *t*Bu).



(*S*)-1-benzyl 4-methyl 2-[[[(benzyloxy)carbonyl]imino]imidazolidine-1,4-dicarboxylate (**62**)



To a solution of *t*BuO-L-Ser-NH₂•HCl (**59**) (1.00 g, 5.07 mmol, 1.00 equiv.) in 1,4-dioxane (5.00 mL) and H₂O (250 μL) was added Goodman's reagent (2.79 g, 6.08 mmol, 1.20 equiv.) and NEt₃ (3.50 mL, 25.4 mmol, 5.00 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at 45 °C for 12 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was washed with H₂O and brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of residue in CH₂Cl₂ (15.0 mL) was added NEt₃ (2.12 mL, 15.2 mmol, 3.00 equiv.) and MsCl (0.470 mL, 6.08 mmol, 1.20 equiv.) at 0 °C under argon. After being stirred at room temperature for 5 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase were

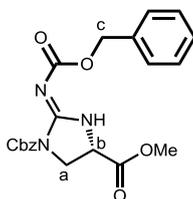
extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of residue in CH_2Cl_2 (10.0 mL) was added TFA (1.00 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 3 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

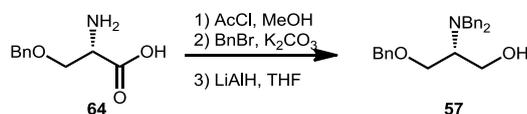
To a solution of the residue in DMF (3.00 mL) was added MeI (1.57 mL, 25.4 mmol, 5.00 equiv.) and K_2CO_3 (2.10 g, 15.2 mmol, 3.00 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into aqueous NaHSO_4 and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with H_2O and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 8% ethylacetate in hexane) to give (*S*)-1-benzyl 4-methyl 2-[[[(benzyloxy)carbonyl]imino]imidazolidine-1,4-dicarboxylate (**62**) (1.02 g, 2.48 mmol, 4 steps 49%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.86 (brd, 1H, NH), 7.21-7.45 (m, 10H, aromatic), 5.26 (s, 2H, c), 5.12 (s, 2H, c), 3.97-4.06 (m, 1H, b), 3.75-3.79 (m, 1H, a), 3.55-3.62 (m, 1H, a), 3.28 (s, 1H, OMe).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171.4, 159.7, 154.3, 152.9, 136.1 x 2, 128.5 x 2, 128.4 x 2, 127.8 x 2, 127.5 x 2, 68.0, 66.2, 64.8, 54.1, 51.9.



(*R*)-3-(Benzyloxy)-2-(dibenzylamino)propan-1-ol (**57**)



To a solution of AcCl (10.9 mL, 154 mmol, 3.00 equiv.) in MeOH (51.2 mL) was added HO-L-Ser(OBn)- NH_2 (**64**) (10.0 g, 51.2 mmol, 1.00 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at reflux temperature for 6 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in MeCN (153 mL) was added BnBr (15.2 mL, 128 mmol, 2.50 equiv.) and K_2CO_3 (35.4 g, 256 mmol, 5.00 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at

the same temperature for 24 h, the reaction mixture was poured into H₂O and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. After short-pass silica-gel column chromatography, the residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of LiAlH₄ (2.84 g, 75.0 mmol, 1.50 equiv.) in THF (40.0 mL) was slowly added a solution of the residue in THF (210 mL) at 0 °C under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h. After complete disappearance of the starting material, the mixture was hydrolysed with wet ether. The aqueous layer was extracted with ether, the organic phases combined, dried over MgSO₄ and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 20% ethyl acetate in hexane) to give (*R*)-3-(benzyloxy)-2-(dibenzylamino)propan-1-ol (**57**) (17.3 g, 47.8 mmol, 3 steps 93%) as a colorless oil.

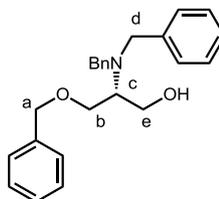
$[\alpha]_D^{24} +87.1$ ($c = 1.41$, CHCl₃).

¹H NMR (270 MHz, CDCl₃) δ 7.22-7.40 (m, 15H, aromatic), 4.55 (d, 1H, a, $J = 12.1$ Hz), 4.51 (d, 1H, a, $J = 12.1$ Hz), 3.87 (d, 2H, d, $J = 13.1$ Hz), 3.74 (dd, 1H, b or e, $J = 6.3, 9.7$ Hz), 3.60 (d, 2H, d, $J = 13.1$ Hz), 3.50-3.58 (m, 3H, b and e), 3.11-3.18 (m, 1H, c), 2.87 (s, 1H, OH).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 139.5, 138.2, 129.1, 128.5, 128.4, 127.8, 127.5, 127.2, 73.4, 68.0, 59.8, 58.3, 54.1.

FT-IR (neat) 2858, 1495, 1453, 1097, 1073, 1028, 733, 698 cm⁻¹.

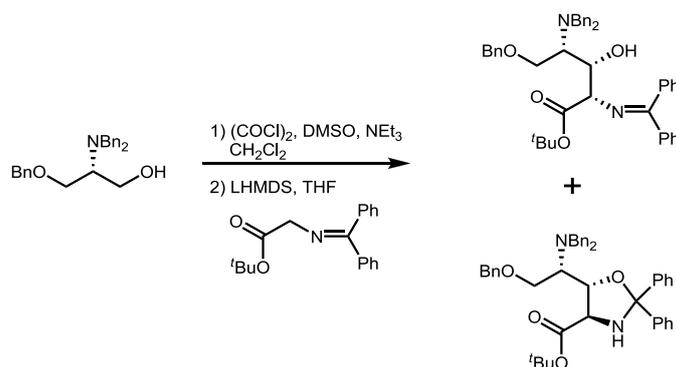
HRMS (ESI-TOF) calcd for C₂₄H₂₇NO₂ [M+H]⁺ 361.2042 found 362.2040.



(2*S*,3*S*,4*S*)-tert-Butyl-5-(benzyloxy)-4-(dibenzylamino)-2-(diphenylmethyleamino)-3-hydroxypropanoate (25)

and

(4*R*,5*R*)-tert-butyl-5-[(*S*)-2-(benzyloxy)-1-(dibenzylamino)ethyl]-2,2-diphenyloxazolidine-4-carboxylate (26)



To a solution of $(\text{COCl})_2$ (1.06 mL, 12.2 mmol, 2.00 equiv.) in CH_2Cl_2 (20.0 mL) was slowly added DMSO (1.73 mL, 24.3 mmol, 4.00 equiv.) at -78°C under argon. After being stirred at the same temperature for 15 min, the reaction mixture was slowly added a solution of the alcohol (**57**) (2.20 g, 6.09 mmol, 1.00 equiv.) in CH_2Cl_2 (10.0 mL). After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was added NEt_3 (5.09 mL, 36.5 mmol, 6.00 equiv.) in one portion. After being stirred at 0°C for 30 min, the reaction mixture was poured into a saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous phase was extracted with Et_2O . The combined extract was washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of LHMDS (1.0 M in THF, 8.71 mL, 8.71 mmol, 1.43 equiv.) was slowly added a solution of glycine ester (2.70 g, 9.14 mmol, 1.50 equiv.) in THF (80.0 mL) at -78°C under argon. After being stirred at the same temperature for 45 min, to the reaction mixture was added a solution of the residue in THF (10.0 mL) at -78°C . After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was poured into a saturated aqueous NaHCO_3 and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 30% ethyl acetate in hexane) to give semi-pure (2*S*,3*S*,4*S*)-*tert*-butyl 5-(benzyloxy)-4-(dibenzylamino)-2-(diphenylmethyleneamino)-3-hydroxypentanoate (**25**) (1.51 g, 2.31 mmol, 2 steps 38%) as a light yellow oil and semi-pure (4*R*,5*R*)-*tert*-butyl-5-[(*S*)-2-(benzyloxy)-1-(dibenzylamino)ethyl]-2,2-diphenyloxazolidine-4-carboxylate (**26**) (1.39 g, 2.13 mmol, 2 steps 35%) as a light yellow oil.

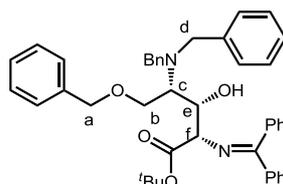
(2*S*,3*S*,4*S*)-*tert*-Butyl-5-(benzyloxy)-4-(dibenzylamino)-2-(diphenylmethyleneamino)-3-hydroxypentanoate (**25**)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.94-7.67 (m, 25H, aromatic), 4.58 (ddd, 1H, e, $J = 5.9, 6.8, 7.7$ Hz), 4.34 (d, 2H, a, $J = 2.0$ Hz), 4.16 (d, 1H, f, $J = 7.7$ Hz), 3.85 (d, 2H, d, $J = 14.1$ Hz), 3.80 (d, 2H, d, $J = 14.1$ Hz), 3.64-3.72 (m, 1H, b), 3.56 (dd, 1H, b, $J = 4.4, 5.9$ Hz), 3.33 (d, 1H, OH, $J = 5.9$ Hz),

3.04-3.11 (m, 1H, c), 1.39 (s, 9H, *t*Bu)

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171.1, 170.7, 140.7, 139.5, 138.6, 136.4, 130.4, 129.4, 129.1 x 2, 129.0, 128.8 x 2, 128.6, 128.5, 128.4 x 2, 128.3 x 2, 128.1 x 3, 128.0 x 2, 127.5, 127.4 x 2, 127.2, 126.6 x 2, 81.9, 73.8, 73.6, 69.4, 68.9, 57.2, 55.3, 28.0.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 655.3536 found 655.3546.

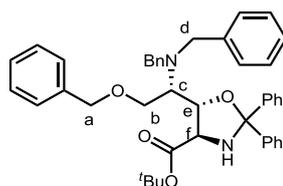


(4*R*,5*R*)-*tert*-Butyl-5-[(*S*)-2-(benzyloxy)-1-(dibenzylamino)ethyl]-2,2-diphenyloxazolidine-4-carboxylate (**26**)

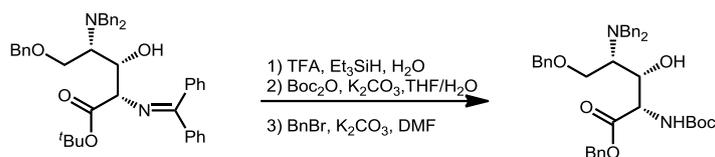
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.22-7.55 (m, 25H, aromatic), 4.44-4.52 (m, 1H, e), 4.24 (d, 1H, a, J = 11.7 Hz), 4.13 (d, 1H, a, J = 11.7 Hz), 3.91-3.99 (m, 3H, d and f), 3.78 (d, 2H, d, J = 14.1 Hz), 3.73-3.79 (m, 1H, b), 3.56-3.60 (m, 1H, b), 3.10-3.18 (m, 1H, c), 2.96-3.06 (m, 1H, *NH*), 1.22 (s, 9H, *t*Bu)

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.5, 144.8, 144.5, 140.5, 138.7, 130.1, 128.9 x 2, 128.6 x 2, 128.2 x 6, 127.6 x 2, 127.3 x 2, 126.8 x 2, 126.7 x 4, 126.0 x 3, 100.7, 81.9, 81.3, 72.7, 67.7, 64.1, 58.6, 55.3, 27.8.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{43}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 655.3536 found 655.3548.



(2*S*,3*R*,4*S*)-Benzyl-5-(benzyloxy)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(dibenzylamino)-3-hydroxy-pentanoate (**66**)



To a solution of a semi-pure (2*S*,3*S*,4*S*)-*tert*-butyl-5-(benzyloxy)-4-(dibenzylamino)-2-(diphenylmethyleamino)-3-hydroxypentanoate (**25**) (150 mg, 0.240 mmol, 1.00 equiv.) in Et₃SiH (0.400 mL) and H₂O (40.0 μL) was added TFA (3.60 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 3 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in THF (2.00 mL) and H₂O (2.00 mL) was added Boc₂O (67.0 mg, 0.310 mmol, 1.30 equiv.) and K₂CO₃ (98.0 mg, 0.710 mmol, 3.00 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in DMF (1.00 mL) was added BnBr (42.0 μL, 0.350 mmol, 1.50 equiv.) and K₂CO₃ (98.0 mg, 0.710 mmol, 3.00 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into H₂O and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 30% ethyl acetate in hexane) to give (2*S*,3*R*,4*S*)-benzyl-5-(benzyloxy)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(dibenzylamino)-3-hydroxypentanoate (**66**) (110 mg, 0.178 mmol, 3 steps 74%) as a colorless oil.

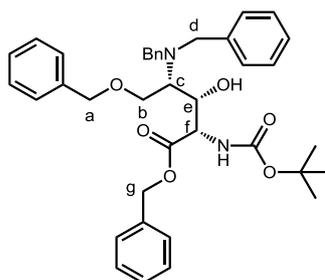
$[\alpha]_D^{24} +41.5$ ($c = 1.05$, CHCl₃).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.19-7.36 (m, 20H, aromatic), 5.32 (d, 1H, NH, $J = 8.8$ Hz), 4.96 (d, 1H, g, $J = 12.2$ Hz), 4.91 (d, 1H, g, $J = 12.2$ Hz), 4.68 (dd, 1H, f, $J = 2.2, 8.8$ Hz), 4.49 (s, 2H, a), 4.14-4.20 (m, 1H, e), 3.84 (d, 2H, d, $J = 13.7$ Hz), 3.77-3.84 (m, 2H, b), 3.55 (d, 2H, d, $J = 13.7$ Hz), 3.48 (d, 1H, OH, $J = 6.3$ Hz), 3.17-3.25 (m, 1H, c), 1.40 (s, 9H, *t*Bu).

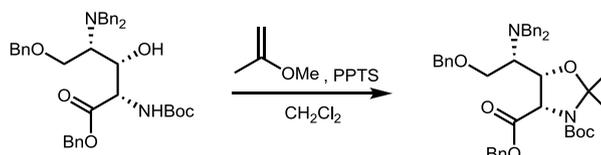
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.6, 155.9, 141.0, 139.4 x 2, 137.8, 135.5, 129.1, 128.5 x 4, 128.4 x 2, 128.3 x 2, 128.2 x 2, 127.8 x 2, 127.7, 127.5, 127.1 x 2, 127.0 x 2, 79.8, 73.7, 73.5, 67.7, 66.9, 65.2, 58.2, 57.1, 55.1, 28.3.

FT-IR (neat) 3672, 2933, 1739, 1717, 1496, 1366, 1165, 699 cm⁻¹.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₃₈H₄₅N₂O₆ [M+H]⁺ 625.3278 found 625.3295.



(4*S*,5*S*)-4-Benzyl-3-*tert*-butyl-5-[(*S*)-2-(benzyloxy)-1-(dibenzylamino)ethyl]-2,2-dimethyloxazolidinone-3,4-dicarboxylate (72)



To a solution of (2*S*,3*R*,4*S*)-benzyl-5-(benzyloxy)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-4-(dibenzylamino)-3-hydroxypentanoate (**66**) (250 mg, 0.390 mmol, 1.00 equiv.) in CH₂Cl₂ (2.00 mL) was added 2-methoxyprop-1-ene (750 μ L, 20.0 mmol, 50.0 equiv.) and PPTS (50.0 mg, 0.200 mmol, 0.500 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was quenched with NEt₃ and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 10% ethyl acetate in hexane) to give (4*S*,5*S*)-4-benzyl-3-*tert*-butyl-5-[(*S*)-2-(benzyloxy)-1-(dibenzylamino)ethyl]-2,2-dimethyloxazolidinone-3,4-dicarboxylate (**72**) (218 mg, 0.320 mmol, 82%) as a light yellow oil.

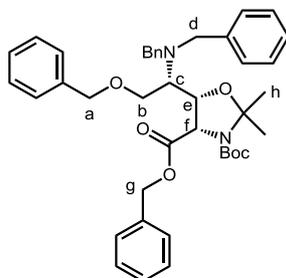
NMR spectra were observed as mixture of rotamers. NMR spectra of major rotamer were shown below:
 $[\alpha]_D^{24} +22.5$ ($c = 1.05$, CHCl₃)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.16-7.36 (m, 20H, aromatic), 4.92 (d, 2H, $J = 12.1$ Hz), 4.79 (d, 2H, $J = 12.1$ Hz), 4.45-4.52 (m, 2H, a), 4.42-4.48 (m, 1H, e), 4.30 (d, 1H, $f, J = 6.3$ Hz), 3.80-3.88 (m, 1H, b), 3.61 (dd, 1H, $b, J = 2.0, 11.1$ Hz), 3.36-4.41 (m, 1H, c), 1.54 (s, 3H, h), 1.42 (s, 3H, h), 1.29 (s, 9H, *t*Bu).

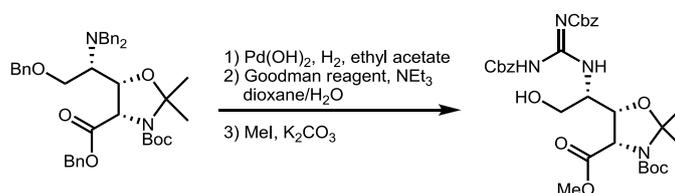
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 169.7, 152.0, 140.0, 138.7, 135.4, 129.0, 128.5 x 2, 128.4 x 2, 128.3 x 2, 128.1, 127.5, 126.8, 94.5, 80.3, 76.6, 73.2, 67.4, 66.7, 62.0, 57.6, 55.5, 28.2, 25.3, 24.1.

FT-IR (neat) 3437, 1748, 1707, 1637, 1376, 1255, 1185, 698 cm⁻¹.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₄₁H₄₉N₂O₆ [M+H]⁺ 665.3591 found 665.3583.



(4*S*,5*S*)-3-*tert*-Butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-[2,3-bis(benzyloxycarbonyl)guanidine]-2-hydroxyethyl]-2,2

-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (76)

To a solution of (4*S*,5*S*)-4-benzyl-3-*tert*-butyl-5-[(*S*)-2-(benzyloxy)-1-(dibenzylamino)ethyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**72**) (350 mg, 0.526 mmol, 1.00 equiv.) in ethyl acetate (5.00 mL) was added Pd(OH)₂ (20% on carbon, 1.05 g) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h under H₂ gas atmosphere, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in 1,4-dioxane (5.00 mL) and H₂O (250 μL) was added Goodman reagent (363 mg, 0.790 mmol, 1.50 equiv.) and NEt₃ (0.730 mL, 5.26 mmol, 10.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at 45 °C for 12 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was washed with H₂O and brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in DMF (3.00 mL) was added MeI (164 μL, 2.63 mmol, 5.0 equiv.) and K₂CO₃ (218 mg, 1.58 mmol, 3.00 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with H₂O and brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 8% acetone in toluene) to give (4*S*,5*S*)-3-*tert*-butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-[2,3-bis(benzyloxycarbonyl)guanidine]-2-hydroxyethyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**76**) (224 mg, 0.337 mmol, 3 steps 64%) as a white solid.

NMR spectra were observed as mixture of rotamers. NMR spectra of major rotamer were shown below:

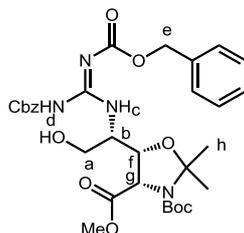
$$[\alpha]_D^{24} +23.8 \text{ (} c = 0.87, \text{CHCl}_3\text{)}.$$

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 11.7 (s, 1H, d), 8.82 (s, 1H, c), 7.28-7.39 (m, 10H, aromatic), 5.23 (d, 2H, e, *J* = 14.2 Hz), 5.18 (d, 2H, e, *J* = 14.2 Hz), 4.46-4.52 (m, 1H, f), 4.40 (d, 1H, g, *J* = 6.28 Hz), 4.17-4.25 (m, 1H, b), 3.73-3.88 (m, 2H, a), 3.62 (s, 3H, *OMe*), 1.74 (s, 3H, h), 1.53 (s, 3H, h), 1.39 (s, 9H, *t*Bu)

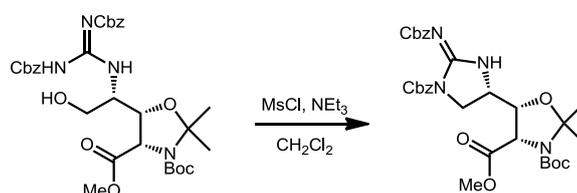
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.4, 163.3, 156.2, 153.7, 151.0, 136.6, 134.5, 128.9, 128.8 x 2, 128.6 x 2, 128.5 x 2, 128.3, 128.2, 128.0, 95.5, 80.7, 75.3, 68.5, 67.3, 62.2, 61.5, 52.8, 52.5, 28.3, 25.4, 24.6.

FT-IR (neat) 3434, 1732, 1706, 1623, 1382, 1338, 1053, 754, 698 cm⁻¹.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{31}H_{41}N_4O_{10} [M+H]^+$ 629.2823 found 629.2843.



(4*S*,5*S*)-3-*tert*-Butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-(benzyloxycarbonyl)-2-(benzyloxycarbonylimino)imidazolidin-4-yl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (77)



To a solution of (4*S*,5*S*)-3-*tert*-butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-[2,3-bis(benzyloxycarbonyl)guanidine]-2-hydroxyethyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**75**) (30.0 mg, 47.7 μmol , 1.00 equiv.) in CH_2Cl_2 (1.00 mL) was added NEt_3 (33.3 μL , 239 μmol , 5.00 equiv.) and MsCl (4.10 μL , 52.5 μmol , 1.20 equiv.) at 0°C under argon. After being stirred at the room temperature for 5 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO_4 and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 10% acetone in toluene) to give (4*S*,5*S*)-3-*tert*-butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-(benzyloxycarbonyl)-2-(benzyloxycarbonylimino)imidazolidin-4-yl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**77**) (25.7 mg, 42.0 μmol , 88%) as a white solid.

NMR spectra were observed as mixture of rotamers. NMR spectra of major rotamer were shown below:

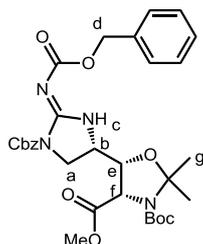
$[\alpha]_D^{25} +19.1$ ($c = 0.77$, CHCl_3).

^1H NMR (400 MHz, $\text{Acetone-}d_6$) δ 8.96 (brs, 1H, c), 7.29-7.56 (m, 10H, aromatic), 5.25 (s, 2H, d), 5.13 (s, 2H, d), 4.56-4.61 (m, 1H, f), 4.52-4.58 (m, 1H, e), 4.02-4.12 (m, 1H, a), 3.95-4.01 (m, 1H, b), 3.90-3.93 (m, 1H, a), 3.80 (s, 3H, *OMe*), 1.67 (s, 3H, g), 1.50 (s, 3H, g), 1.39 (s, 9H, *tBu*)

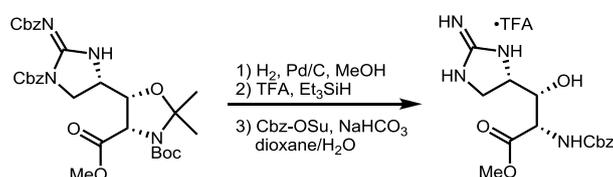
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.2, 151.7, 150.8, 150.4, 136.4, 135.2, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.3, 128.0, 127.9, 95.7, 95.0, 81.4, 77.6, 68.4, 67.4, 61.3, 61.1, 52.7, 52.6, 28.3, 26.3, 25.4, 24.6.

FT-IR (solid) 3352, 1759, 1712, 1657, 1615, 1368, 1309, 1258, 1170 cm^{-1} .

HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{31}H_{39}N_4O_9 [M+H]^+$ 611.2717 found 611.2710.



(2S,3S)-Methyl-2-(benzyloxycarbonylamino)-3-hydroxy-3-[(S)-2-iminoimidazolidin-4-yl]propanoate (79)



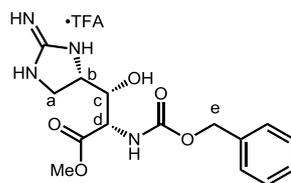
To a solution of **a** of (4S,5S)-3-*tert*-butyl-4-methyl-5-[(*S,E*)-1-(benzyloxycarbonyl)-2-(benzyloxycarbonylimino)imidazolidin-4-yl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**77**) (4.5 mg, 7.5 μmol , 1.00 equiv.) in MeOH (0.300 mL) was added Pd/C (10% on carbon, 9.00 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 2 h under H₂ gas atmosphere, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (1.40 mL) was added Et₃SiH (30.0 μL) and TFA (0.750 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

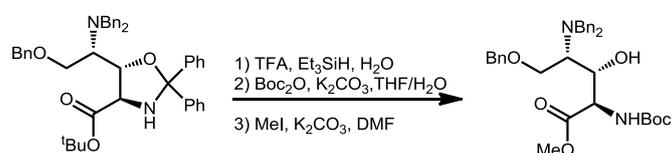
To a solution of the residue in 1,4-dioxane (1.20 mL) and H₂O (1.20 mL) was added NaHCO₃ (1.86 mg, 22.2 μmol , 3.00 equiv.) and Cbz-OSu (1.9 mg, 7.7 μmol , 1.05 equiv.) at 0 °C under argon. After being stirred at the room temperature for 12 h, the reaction mixture was acidified with 5% TFA in MeOH and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase column chromatography (Bond Elut-C18: 0% to 50% MeOH in H₂O) to give (2S,3S)-methyl-2-(benzyloxycarbonylamino)-3-hydroxy-3-[(*S*)-2-iminoimidazolidin-4-yl]propanoate (**79**) (TFA salt) (1.7 mg, 5.0 μmol , 3 steps 67%) as a white solid.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.30-7.36 (m, 5H, aromatic), 5.12 (s, 2H, e), 4.32 (d, 1H, d, *J* = 6.4 Hz), 4.14 (ddd, 1H, b, *J* = 5.8, 5.8, 9.8 Hz), 3.86 (dd, 1H, c, *J* = 5.4, 5.4 Hz), 3.75 (s, 3H, OMe), 3.70 (m, 2H, a).

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₁₇H₂₁N₄O₆ [M+H]⁺ 337.1512 found 337.1516.



(2R,3R,4S)-Methyl-5-(benzyloxy)-2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-4-(dibenzylamino)-3-hydroxypentanoate (81)



To a solution of **26** (800 mg, 1.22 mmol, 1.00 equiv.) in Et₃SiH (2.00 mL) and H₂O (200 μL) was added TFA (18.0 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 3 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in THF (10.0 mL) and H₂O (10.0 mL) was added Boc₂O (347 mg, 1.59 mmol, 1.30 equiv.) and K₂CO₃ (506 mg, 3.66 mmol, 3.00 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in DMF (5.00 mL) was added MeI (0.220 mL, 1.83 mmol, 1.50 equiv.) and K₂CO₃ (506 mg, 3.66 mmol, 3.00 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into H₂O and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 30% ethyl acetate in hexane) to give (2R,3R,4S)-methyl 5-(benzyloxy)-2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-4-(dibenzylamino)-3-hydroxypentanoate (**81**) (540 mg, 0.990 mmol, 3 steps 81%) as a colorless oil.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{23} +13.5 \text{ (} c = 1.05, \text{CHCl}_3 \text{)}$$

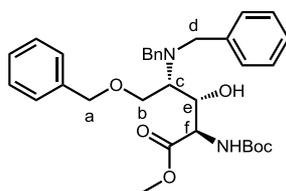
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.19-7.43 (m, 15H, aromatic), 5.16 (d, 1H, NH, *J* = 9.2 Hz), 4.87 (d, 1H,

f, $J = 9.2$ Hz), 4.55 (d, 1H, a, $J = 11.6$ Hz), 4.50 (d, 1H, a, $J = 11.6$ Hz), 4.46 (brs, 1H, f), 4.44 (brs, 1H, OH), 3.94 (d, 2H, d, $J = 14.0$ Hz), 3.81-3.87 (m, 2H, b), 3.73 (s, 3H, OMe), 3.54 (d, 2H, d, $J = 12.6$ Hz), 3.01 (ddd, 1H, c, $J = 4.9, 4.9, 9.8$ Hz), 1.43 (s, 9H, tBu).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 172.4, 156.3, 139.0, 137.3, 135.7, 129.1, 128.7 x 2, 128.6, 128.5 x 2, 128.4 x 3, 128.2 x 2, 128.1 x 3, 128.0, 127.8 x 2, 127.7, 127.6, 127.1, 127.0, 79.6, 73.7, 72.5, 67.9, 67.0, 65.4, 57.3, 55.2, 55.0, 28.4.

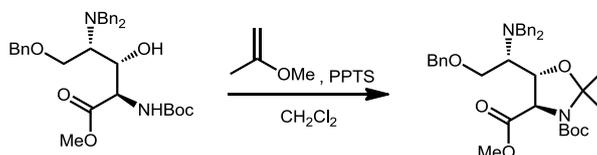
FT-IR (neat) 3420, 2960, 1720, 1706, 1505, 1338, 1160, 685 cm^{-1} .

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 549.2964 found 549.2849.



(4R,5S)-3-*tert*-Butyl-4-methyl

5-[(S)-2-(benzyloxy)-1-(dibenzylamino)ethyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**82**)



To a solution of (2R,3R,4S)-methyl 5-(benzyloxy)-2-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]-4-(dibenzylamino)-3-hydroxypentanoate (**81**) (800 mg, 1.27 mmol, 1.00 eq) in CH_2Cl_2 (10.0 mL) was added 2-methoxyprop-1-ene (2.38 mL, 25.4 mmol, 20.0 equiv.) and PPTS (105 mg, 0.410 mmol, 0.300 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was quenched with NEt_3 and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 10% ethyl acetate in hexane) to give (4R,5S)-3-*tert*-butyl 4-methyl 5-[(S)-2-(benzyloxy)-1-(dibenzylamino)ethyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**82**) (765 mg, 1.12 mmol, 88%) as a light yellow oil.

NMR spectra were observed as mixture of rotamers. NMR spectra of major rotamer were shown below:

$$[\alpha]_{\text{D}}^{24} +5.49 (c = 1.24, \text{CHCl}_3)$$

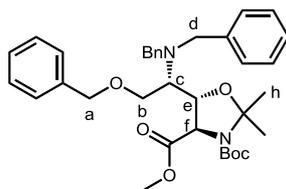
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) major rotamer; δ 7.17-7.39 (m, 15H, aromatic), 4.56 (s, 2H, a), 4.44 (d, 1H, f, $J = 4.9$ Hz), 4.36 (dd, 1H, e, $J = 5.2, 5.8$ Hz), 3.89 (d, 1H, b, $J = 4.4$ Hz), 3.85 (d, 1H, b, $J = 5.8$ Hz),

3.81(d, 2H, d, $J = 13.1$ Hz), 3.65(d, 2H, d, $J = 13.7$ Hz), 3.64 (s, 3H, *OMe*), 3.08 (ddd, 1H, e, $J = 5.8$, 5.8, 5.8 Hz), 1.58 (s, 3H, h), 1.45 (s, 3H, h), 1.39 (s, 9H, *tBu*).

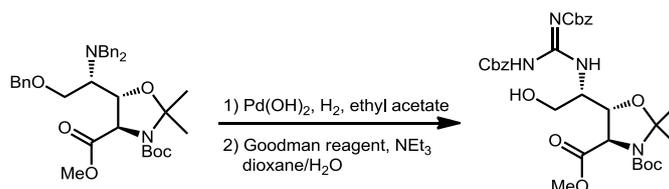
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 172.2, 151.3, 140.0 x 2, 138.6, 129.1 x 3, 128.3x3, 127.6, 127.0 x 2, 96.0, 80.2, 78.4, 73.5, 67.1, 62.3, 58.0, 55.1 x 2, 52.1, 28.3 x 3, 27.1, 25.0.

FT-IR (neat) 3434, 2980, 1756, 1710, 1378, 1247, 1202, 699 cm^{-1} .

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 589.3278 found 589.3263.



(4*R*,5*S*)-3-*tert*-Butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-[2,3-bis(benzyloxycarbonyl)guanidine]-2-hydroxyethyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (83**)**



To a solution of (4*R*,5*S*)-4-benzyl-3-*tert*-butyl-5-[(*S*)-1-(benzylamino)-2-(benzyloxy)ethyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**82**) (1.00 g, 1.46 mmol, 1.00 equiv.) in ethyl acetate (10.0 mL) was added $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (20% on carbon, 3.00 g) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h under H_2 gas atmosphere, the reaction mixture filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in 1,4-dioxane (10.0 mL) and H_2O (500 μL) was added Goodman reagent (1.08 g, 2.18 mmol, 1.50 equiv.) and NEt_3 (2.03 mL, 14.6 mmol, 10.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at 45 $^\circ\text{C}$ for 12 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO_4 and the aqueous phase was extracted with CHCl_3 . The extract was washed with H_2O and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 8% acetone in toluene) to give (4*R*,5*S*)-3-*tert*-butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-[2,3-bis(benzyloxycarbonyl)guanidine]-2-hydroxyethyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**83**) (707 mg, 1.06 mmol, 2 steps 73%) as a white solid.

NMR spectra were observed as mixture of rotamers. NMR spectra of major rotamer were shown below:

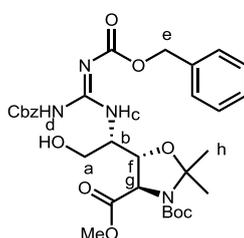
$[\alpha]_D^{24} +17.3$ ($c = 1.40$, CHCl_3).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) major rotamer; δ 11.7 (s, 1H, d), 8.88 (d, 1H, c, $J = 7.8$ Hz), 7.18-7.33 (m, 10H, aromatic), 5.19 (s, 2H, e), 5.11 (s, 2H, e), 4.35-4.39 (m, 1H, b), 4.32-4.37 (m, 1H, f), 4.29-4.33 (m, 1H, g), 3.92-3.97 (m, 1H, a), 3.72-3.77 (m, 1H, a), 3.57 (s, 3H, *OMe*), 1.65 (s, 3H, h), 1.47 (s, 3H, h), 1.37 (s, 9H, *t*Bu).

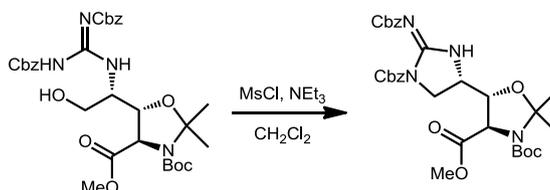
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171.4, 163.3, 156.4, 153.6, 136.4, 134.5, 129.3, 128.9, 128.7 x 2, 128.6, 128.5 x 2, 128.2 x 2, 121.1, 117.9, 96.4, 81.0, 77.6, 68.5, 67.4, 62.0, 61.3, 54.1, 52.6, 28.2, 26.5, 24.1.

FT-IR (neat) 3423, 1829, 1755, 1657, 1619, 1390, 1290, 1160 cm^{-1} .

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{O}_{10}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 629.2826 found 629.2828.



(4*R*,5*S*)-3-*tert*-Butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-(benzyloxycarbonyl)-2-(benzyloxycarbonylimino)imidazolidin-4-yl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (17**)**



To a solution of (4*R*,5*S*)-3-*tert*-butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-[2,3-bis(benzyloxycarbonyl)guanidine]-2-hydroxyethyl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**83**) (520 mg, 0.760 mmol, 1.00 equiv.) in CH_2Cl_2 (7.60 mL) was added NEt_3 (0.530 mL, 3.80 mmol, 5.00 equiv.) and MsCl (71.0 μL , 0.910 mmol, 1.20 equiv.) at 0°C under argon. After being stirred at room temperature for 5 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO_4 and the aqueous phase were extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 10% acetone in toluene) to give (4*R*,5*S*)-3-*tert*-butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-(benzyloxycarbonyl)-2-(benzyloxycarbonylimino)imidazolidin-4-yl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**17**) (436 mg, 0.670 mmol, 88%) as a white solid. NMR spectra were observed as mixture of rotamers. NMR spectra of major rotamer were shown below:

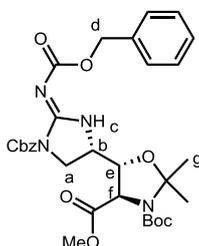
$[\alpha]_D^{24} +16.4$ ($c = 1.00$, CHCl_3).

^1H NMR (400 MHz, $\text{acetone-}d_6$) major rotamer; δ 8.96 (brs, 1H, c), 7.12-7.55 (m, 10H, aromatic), 5.26 (s, 2H, d), 5.12 (s, 2H, d), 4.31-4.35 (m, 1H, e), 4.29-4.33 (m, 1H, b), 4.37-4.30 (m, 1H, f), 4.11 (dd, 1H, a, $J = 9.9, 10.3$ Hz), 3.92-3.97 (m, 1H, a), 3.73 (s, 3H, *OMe*), 1.57 (s, 3H, g), 1.54 (s, 3H, g), 1.37 (s, 9H, *tBu*).

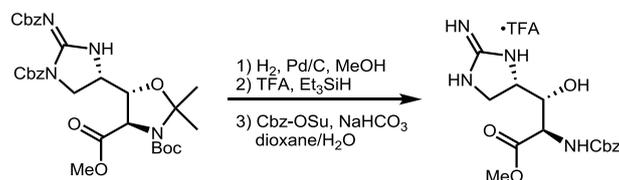
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 170.7, 164.4, 159.5, 150.7, 150.5, 135.3, 128.7 x 2, 128.6, 128.5 x 2, 128.4, 128.3 x 2, 127.9, 96.4, 81.2, 79.7, 68.5, 67.6, 62.3, 52.8, 46.2, 28.3, 26.4, 25.0.

FT-IR (neat) 3352, 1759, 1712, 1657, 1615, 1368, 1309, 1258, 1169 cm^{-1} .

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 611.2717 found 611.2711.



(2R,3S)-Methyl-2-(benzyloxycarbonylamino)-3-hydroxy-3-[(S)-2-iminoimidazolidin-4-yl]propanoate (85)



To a solution of **a** in MeOH (0.600 mL) was added Pd/C (10% on carbon, 18.0 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 2 h under H_2 gas atmosphere, the reaction mixture filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

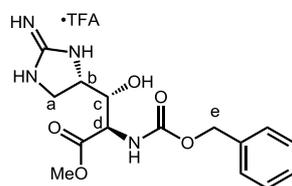
To a solution of the residue in CH_2Cl_2 (2.80 mL) was added Et_3SiH (60.0 μL) and TFA (0.750 mL) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

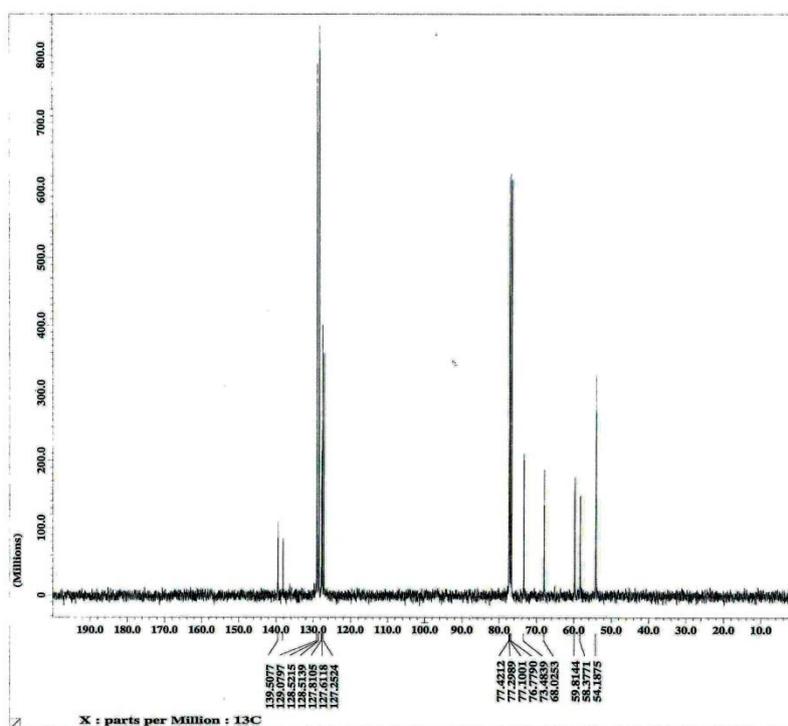
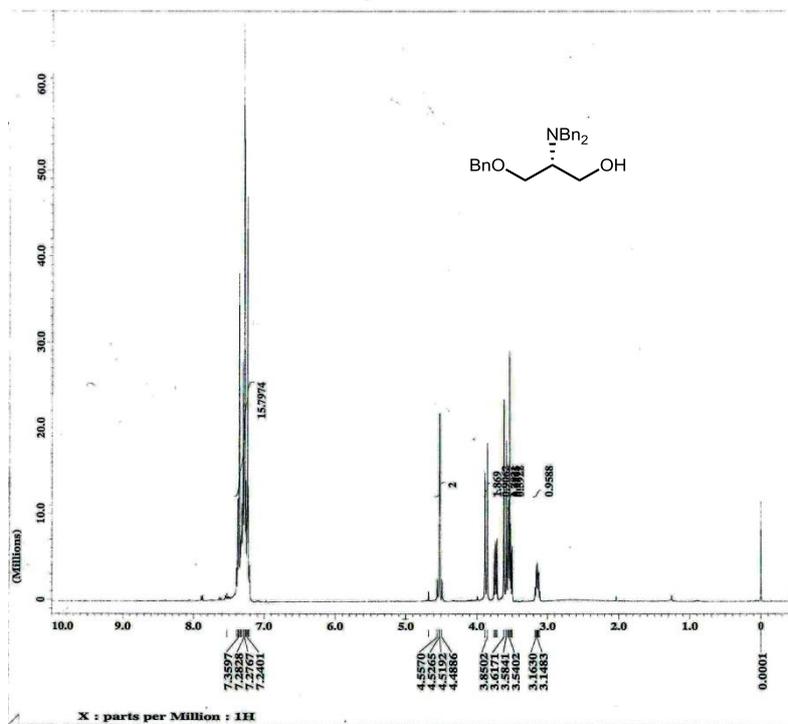
To a solution of the residue in 1,4-dioxane (1.50 mL) and H_2O (1.50 mL) was added NaHCO_3 (3.80 mg, 45.0 μmol , 3.00 equiv.) and Cbz-OSu (3.90 mg, 15.5 μmol , 1.05 equiv.) at 0°C under argon.

After being stirred at the room temperature for 12 h, the reaction mixture was acidified with 5% TFA in MeOH and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase column chromatography (Bond Elut-C18: 0% to 50% MeOH in H₂O) to give (2*R*,3*S*)-methyl-2-(benzyloxycarbonylamino)-3-hydroxy-3-[(*S*)-2-iminoimidazolidin-4-yl]propanoate (**85**) (TFA salt) (3.60 mg, 5.12 μmol, 3 steps 70%) as a white solid.

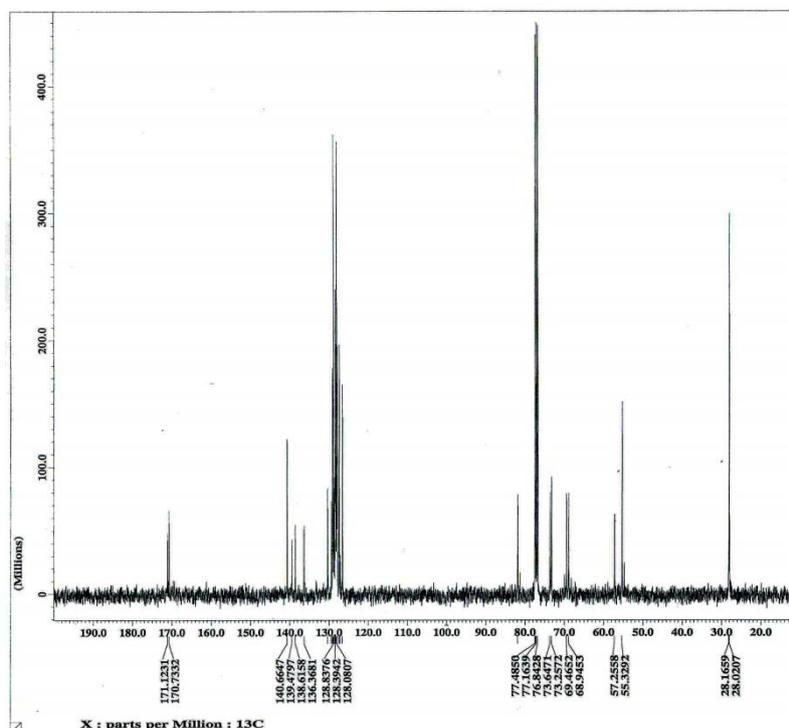
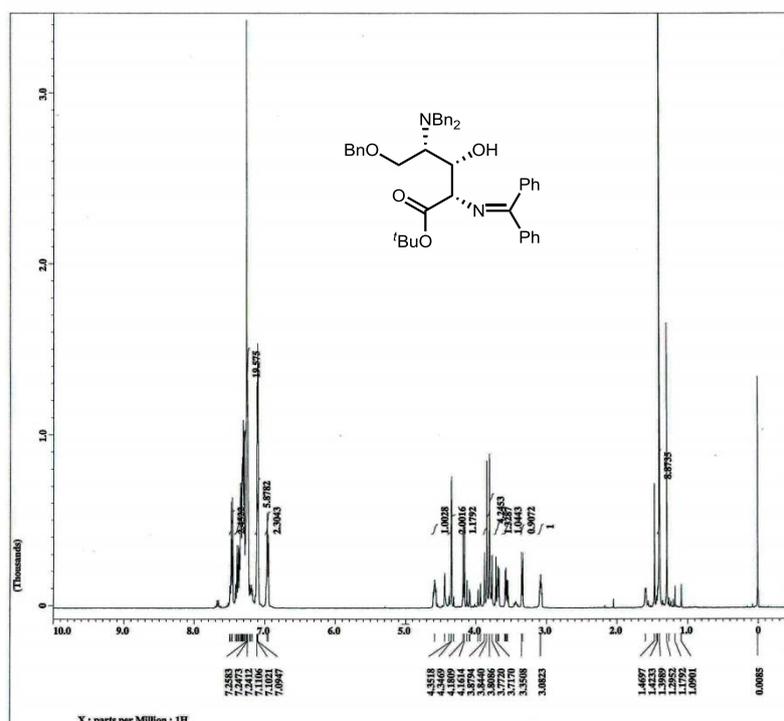
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.30-7.40 (m, 5H, aromatic), 5.15 (s, 2H, e), 4.52 (d, 1H, d, *J* = 1.45 Hz), 4.08 (dd, 1H, c, *J* = 1.5, 7.7 Hz), 3.86 (ddd, 1H, b, *J* = 7.7, 7.7, 7.7 Hz), 3.78 (s, 3H, *OMe*), 3.69 (d, 2H, a, *J* = 7.7 Hz).

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₁₇H₂₁N₄O₆ [M+H]⁺ 337.1512 found 337.1519.

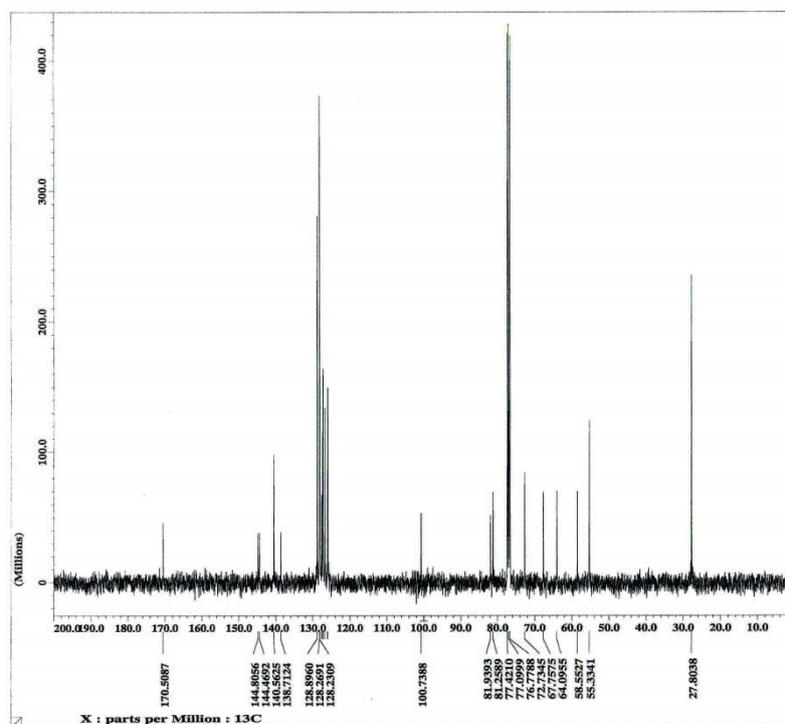
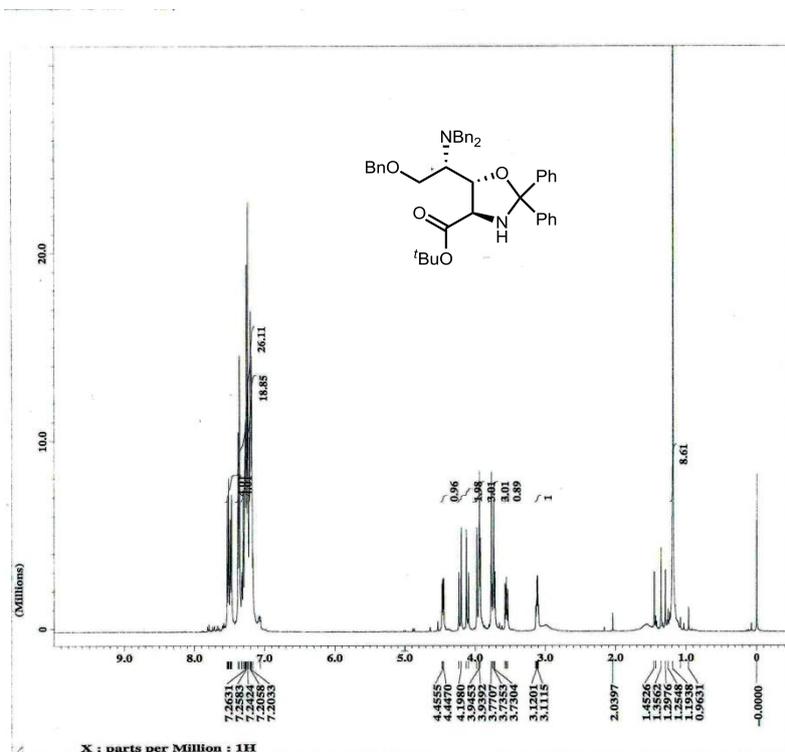


NMR spectra
Alcohol 57

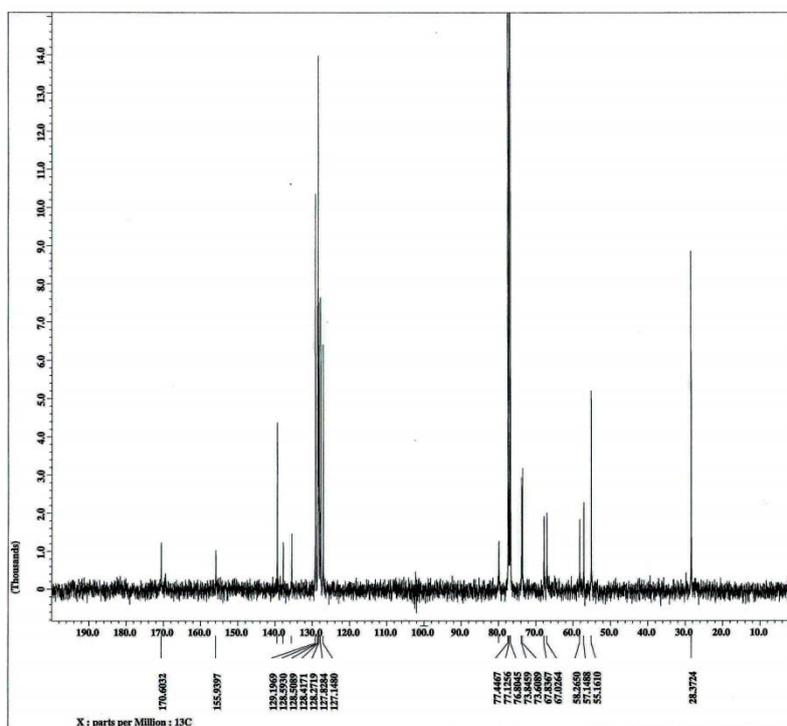
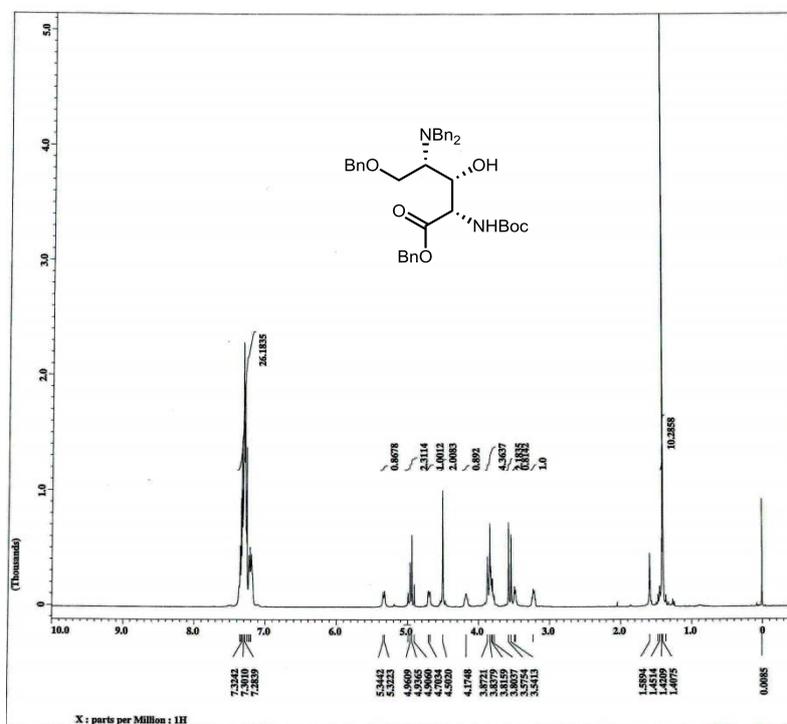
Amino alcohol 25



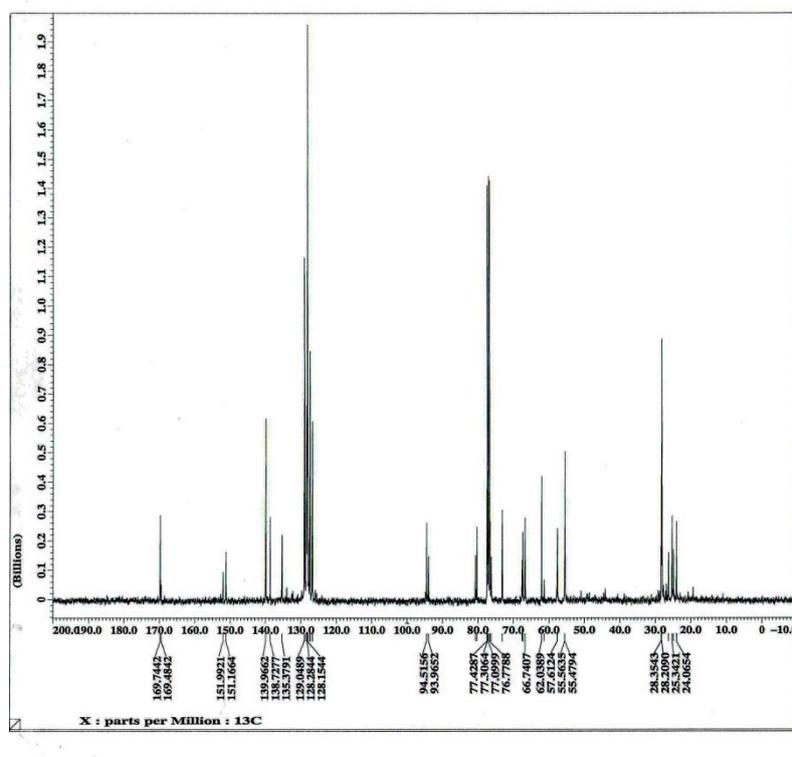
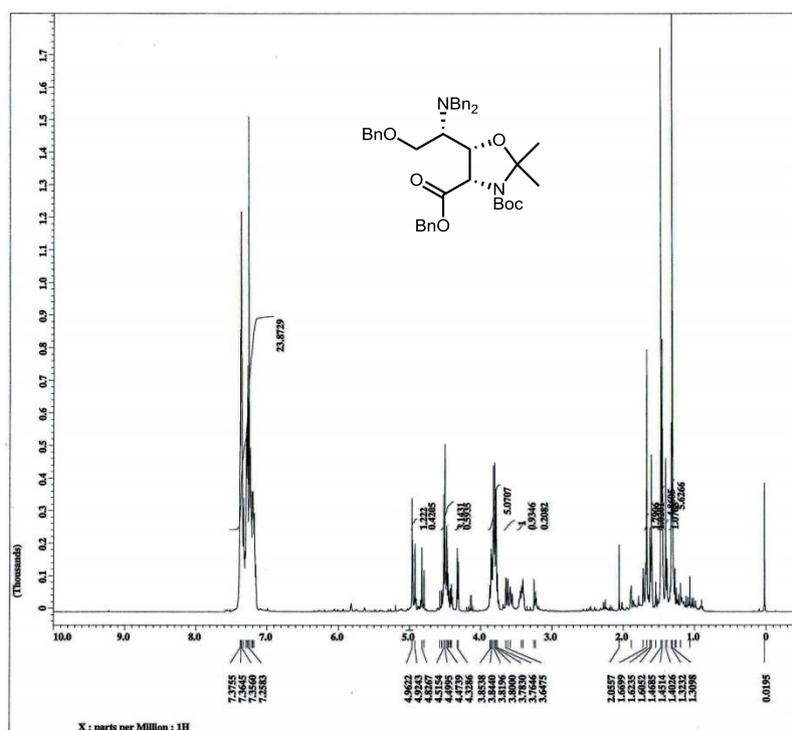
oxazolidine 26



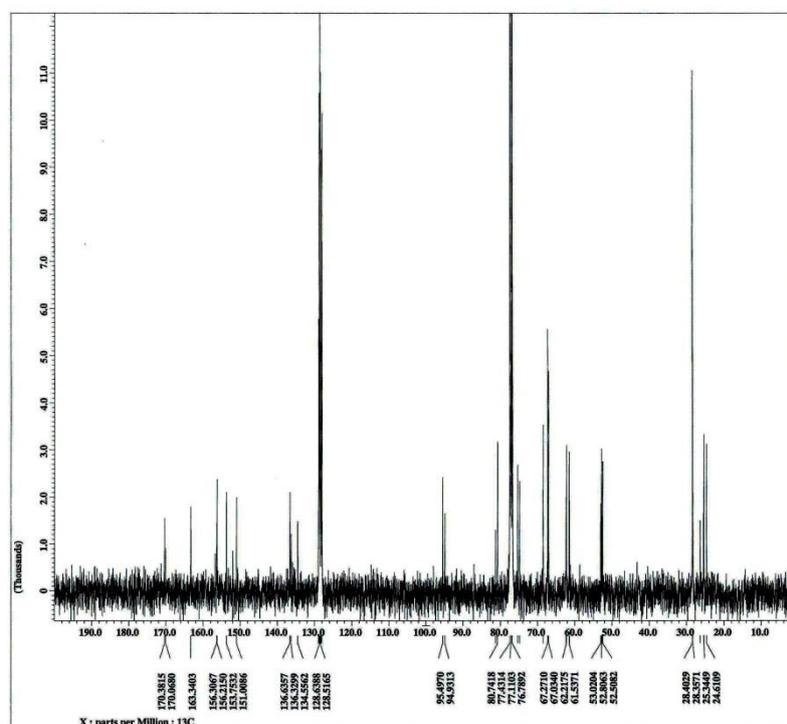
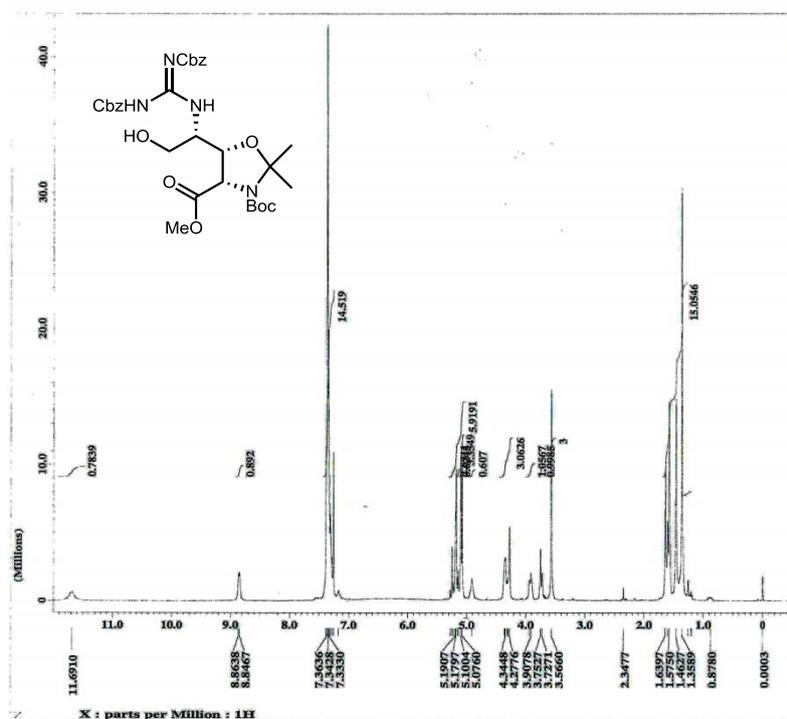
Carbamate 66



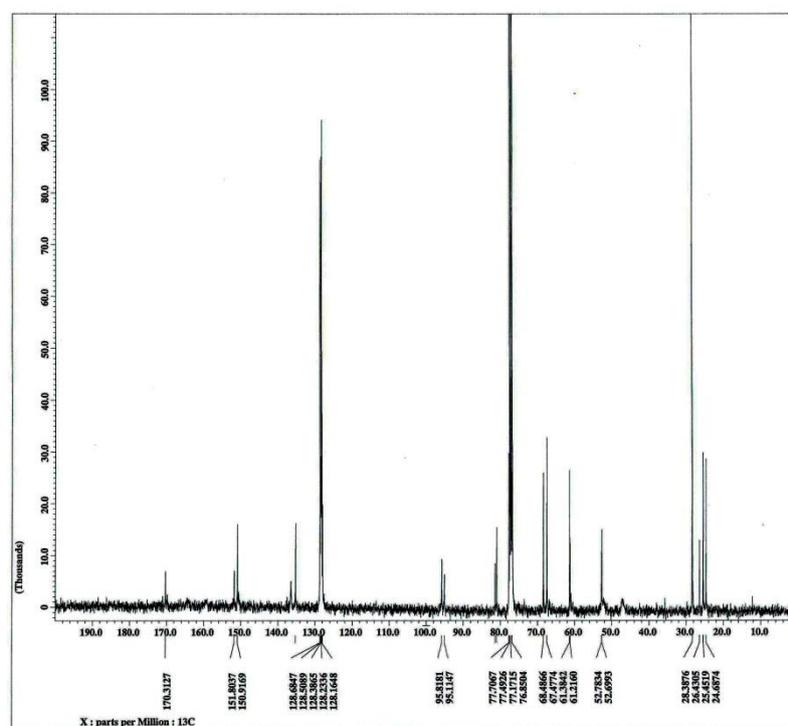
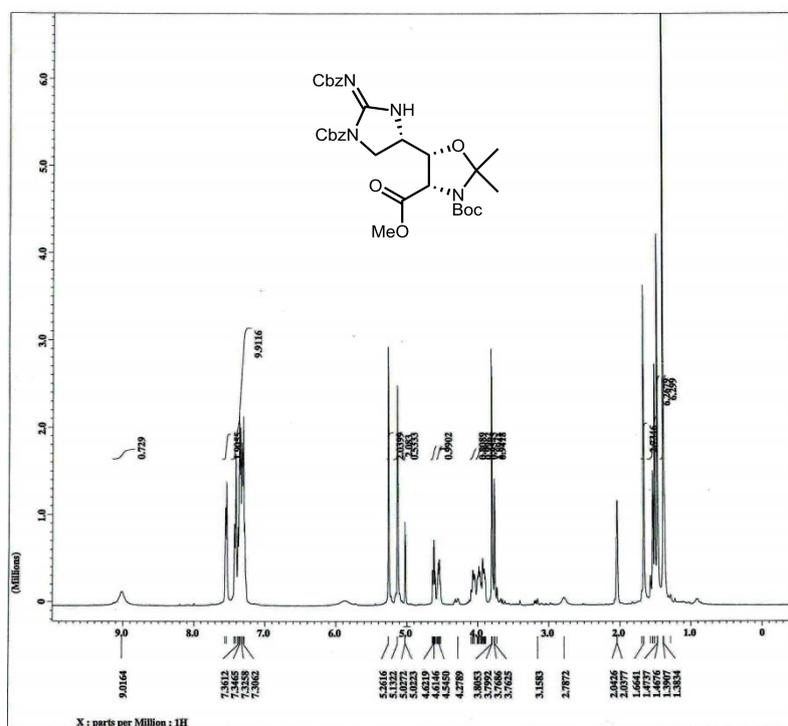
Oxazolidine 72



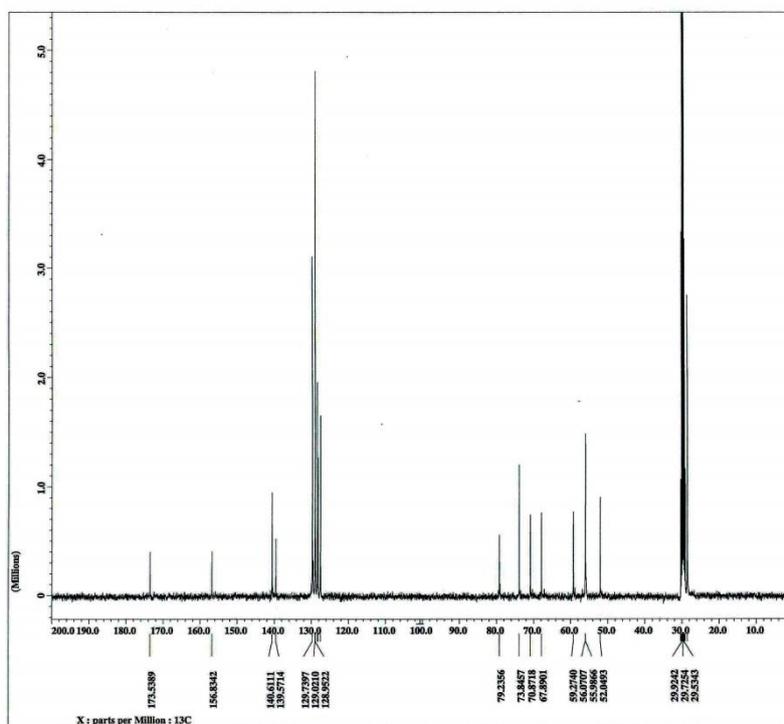
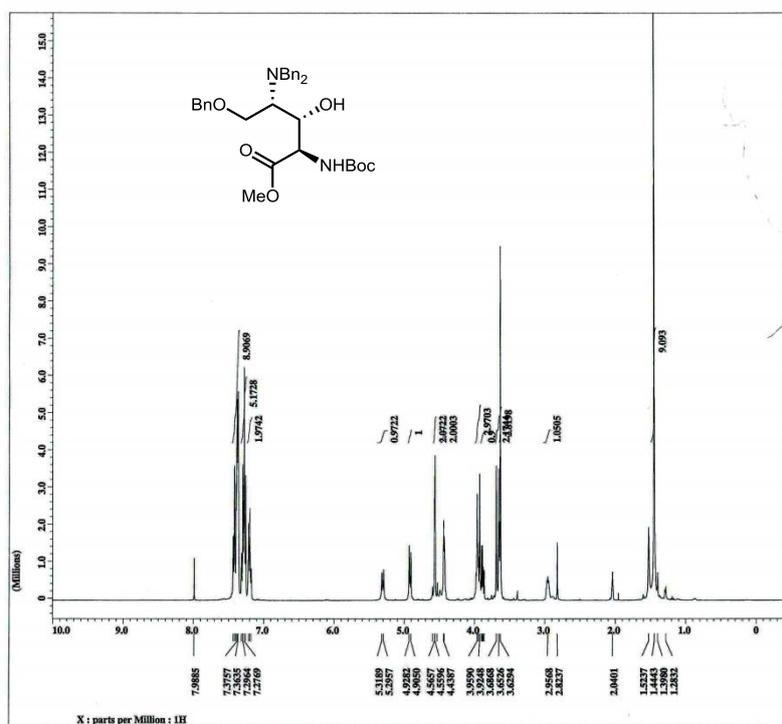
Guanidine 76



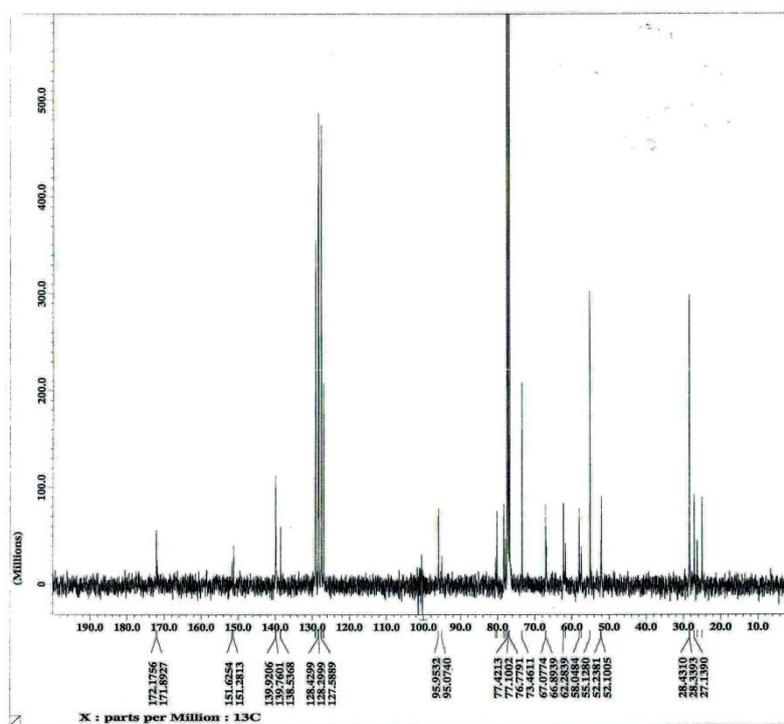
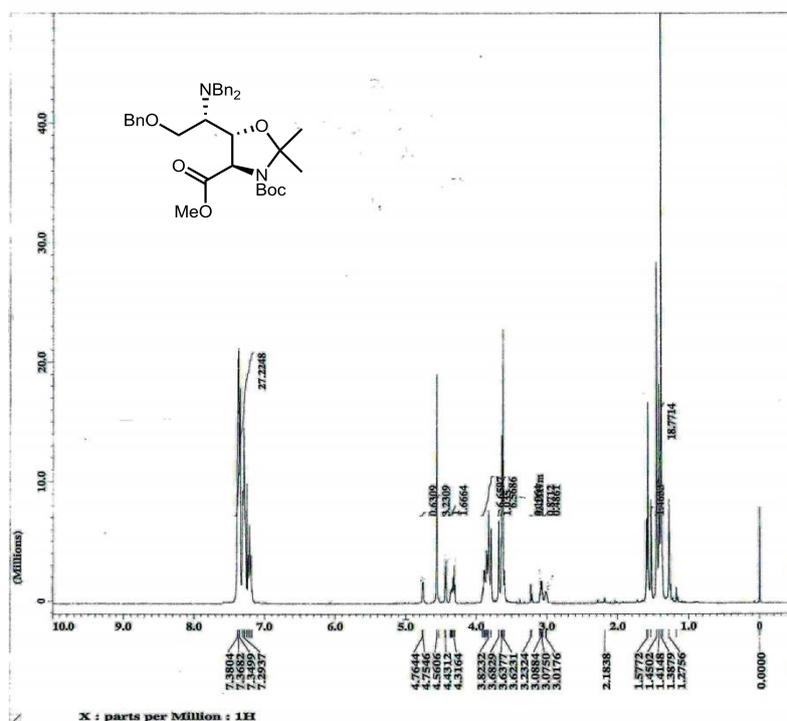
Protected Aiha-A 77



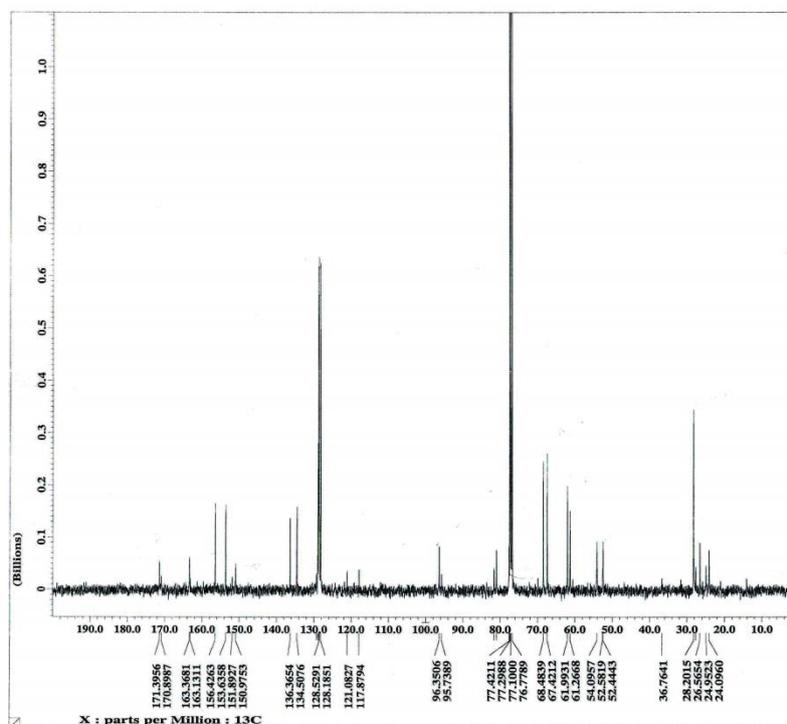
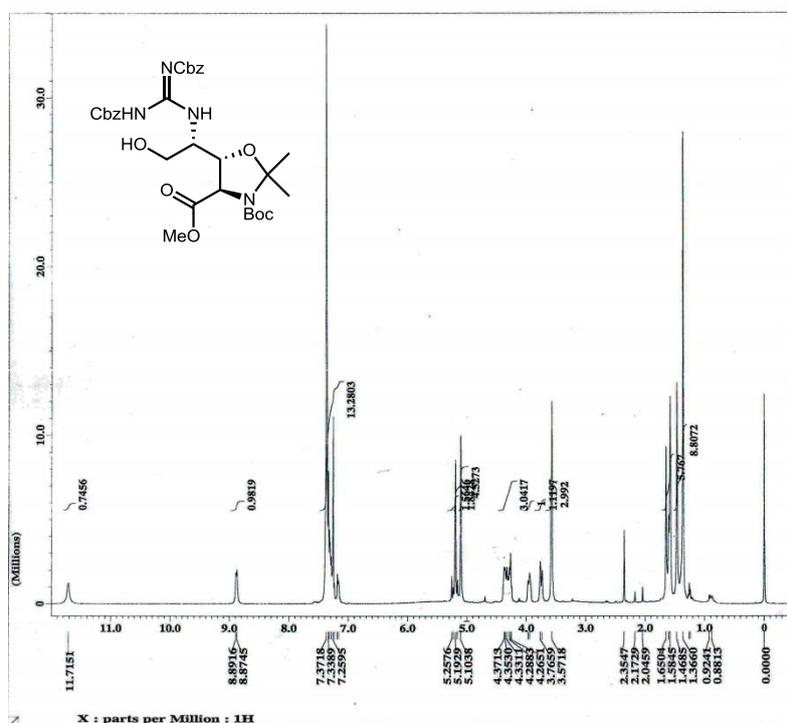
Amino alcohol 81



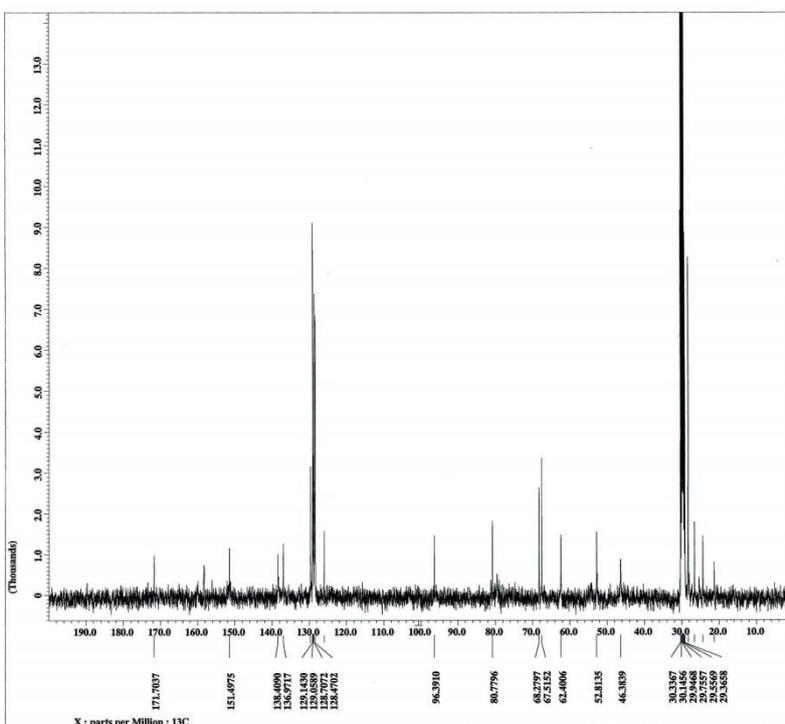
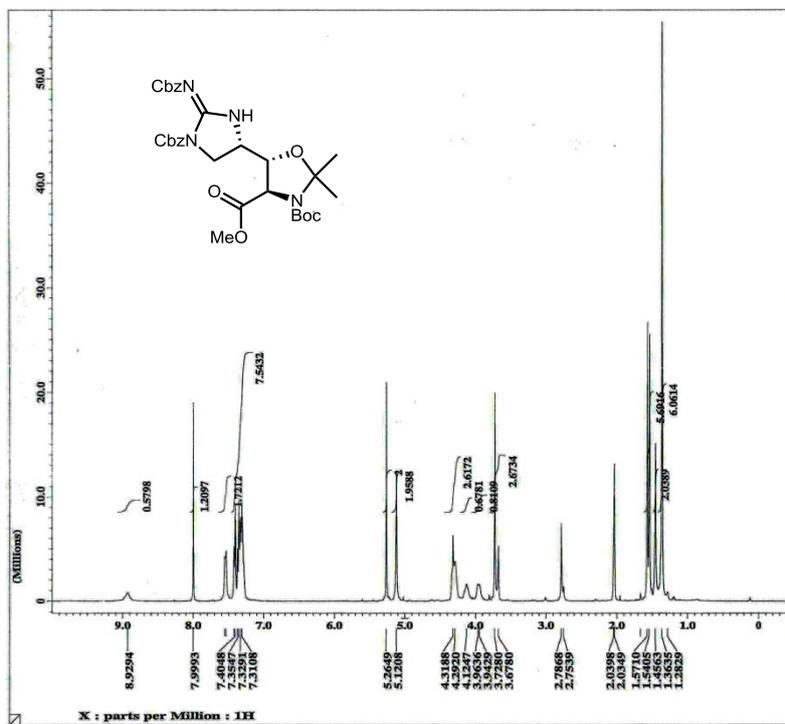
Oxazolidine 82



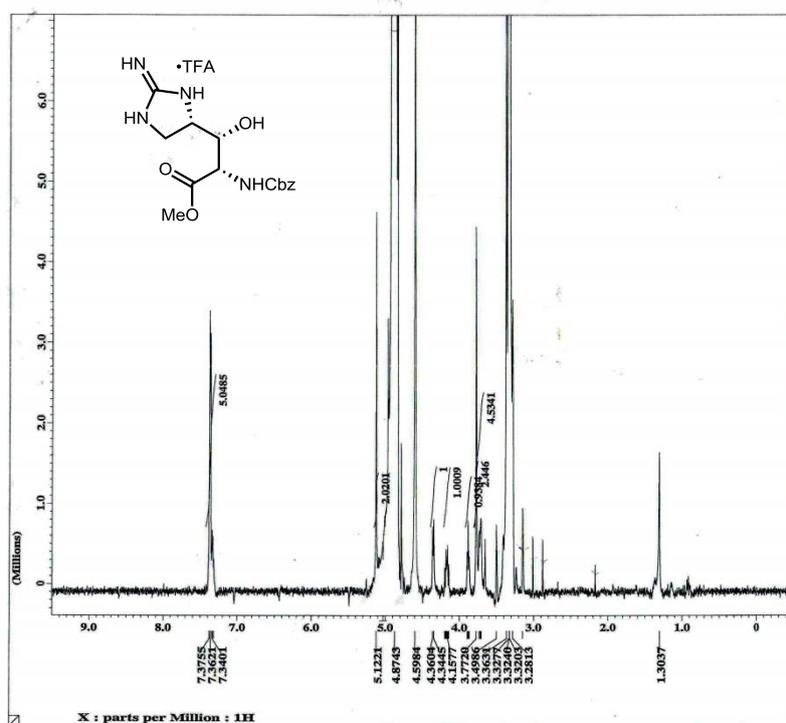
Guanidine 83



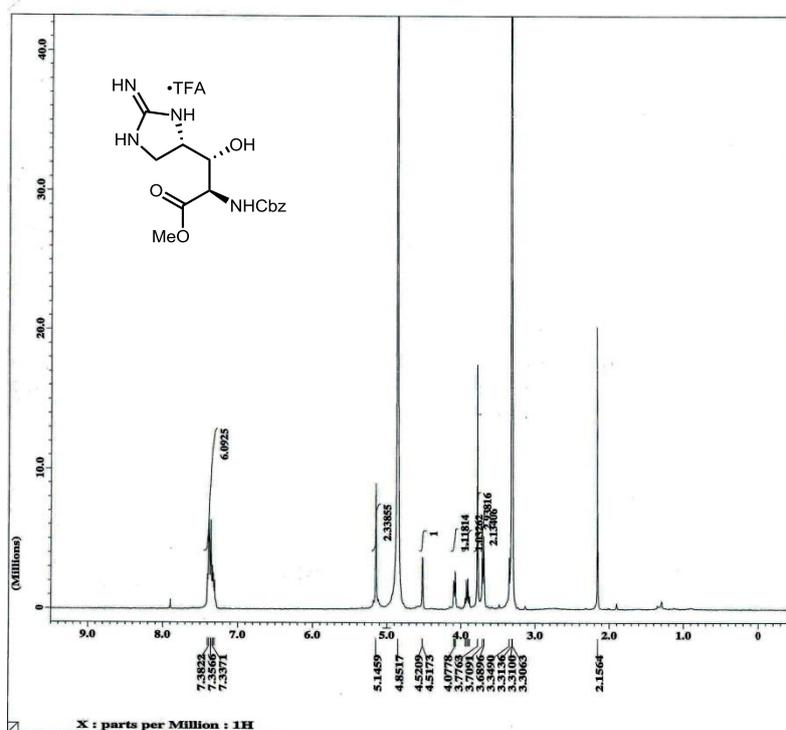
Protected Aiha-B 17



Aiha-A 79 (TFA salt)



Aiha-B 85 (TFA salt)



第三章

「マンノペプチマイシンアグリコン 提唱構造の合成」

3 マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成

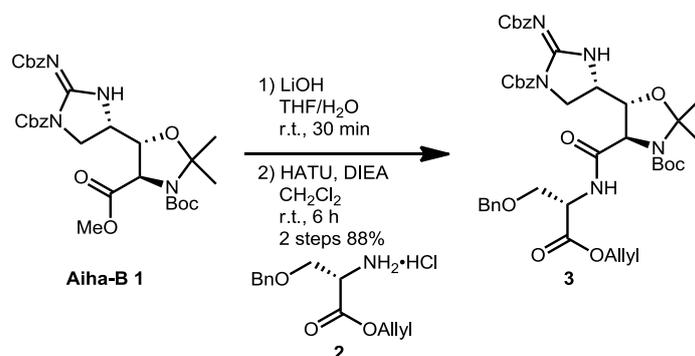
3-1 はじめに

序論で述べたようにマンノペプチマイシンの構造活性相関解明、マンノペプチマイシンを基盤とする創薬研究はアグリコン部の合成法が未確立であることが大きな障害となっている。これを解決するため、本章では、第二章で合成法を確立した Aiha-A および Aiha-B を用いてペプチド鎖の伸長、マクロラクタム化を検討し、マンノペプチマイシンアグリコンの合成法を確立したので、その結果について述べる。

3-2 マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成

3-2-1 AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc の合成

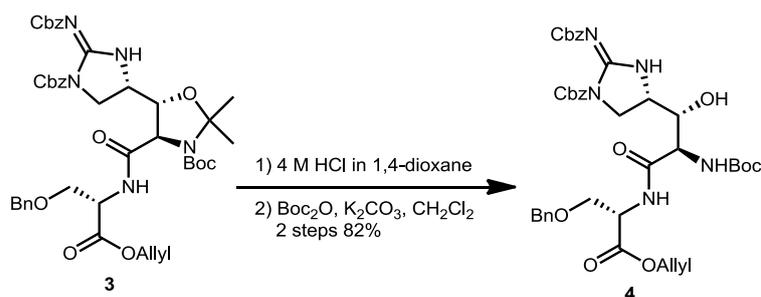
前章にて調製した非天然アミノ酸 Aiha-B を用いて、まずセリンとの縮合を検討した。すなわち、Aiha-B **1** を THF と水 (5 : 1) の混合溶媒中、水酸化リチウムを用いて室温で 30 分反応させて加水分解し、CH₂Cl₂ 溶媒中、縮合剤として HATU、塩基として DIEA を用いてセリン誘導体 **2** と室温で 6 時間反応させることにより、2 段階収率 88% でジペプチド **3** を得た¹⁾ (Scheme 3-1)。



Scheme 3-1

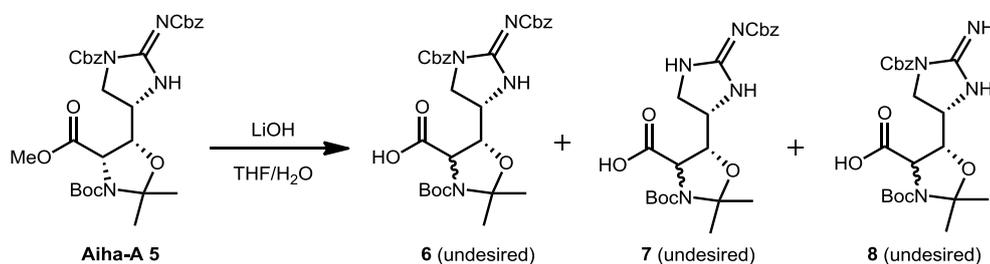
このジペプチド **3** をさまざまな重溶媒中 (CDCl₃、CD₂Cl₂、CD₃OD、Acetone-*d*₆) で NMR 測定したが、シグナルはブロードニングし、なおかつ多数の異性体の混合物として観測され、正確な帰属が困難であった。この理由として以下の二つを考えた。一つ目は、環状グアニジン部位とオキサゾリジン環部位の立体反発に起因する回転異性体の存在であり、二つ目は、グアニジンに由来する化合物の溶解性の低下である。これに対し、オキサゾリジン環を開裂することにより少なくとも回転異性体の問題は解決し、シグナルの帰属が容易になると期待した。

そこで、オキサゾリジン **3** を 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液中で室温下 1 時間反応させて **4** へ変換し、その後、遊離のアミンを Boc 基で保護した (Scheme 3-2)。得られた化合物 **4** の NMR 測定をさまざまな重溶媒 (CDCl_3 、 CD_3OD 、 $\text{Acetone-}d_6$) を用いて検討したところ、重アセトン溶媒を用いることでシグナルの帰属が容易な単一化合物として NMR スペクトルが観測された。また観測されたジペプチド **4** のシグナルは **3** のそれと比較して、よりシャープであった。



Scheme 3-2

ここで、過去に Aiha-B を縮合させた際のエピメリ化の進行し易さについて調べた例は存在しないことから、ジペプチド **3** を合成時の Aiha-B のエピメリ化の有無について検証することとした。すなわち、セリン **2** と Aiha-A を縮合し (エピメリ化は主に活性化カルボン酸側の α 位で進行する。そのため、もしエピメリ化が進行すると Aiha-B の α 位の立体化学が反転することとなる。Aiha-B のジアステレオマーである Aiha-A とセリンを縮合したジペプチドはエピマーと同一の構造となる)、NMR 測定することとした。まず、前章で調製したオキサゾリジン環を有する Aiha-A **5** について、縮合に用いるためメチルエステルの加水分解を検討したが、望む反応の進行が遅く、 α 位のエピメリ化や Cbz 基の脱離が観察された (Scheme 3-3)。ジアステレオマーである Aiha-B **1** では問題なかった加水分解反応が Aiha-A **5** では進行しなかった理由について以下の通り分子力場計算を用いて考察した (Figure 3-1)。



Scheme 3-3

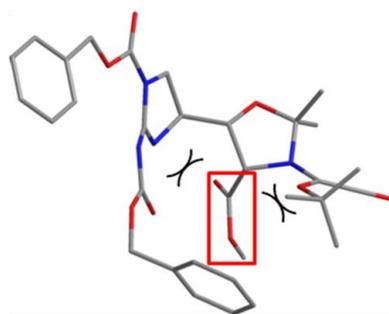
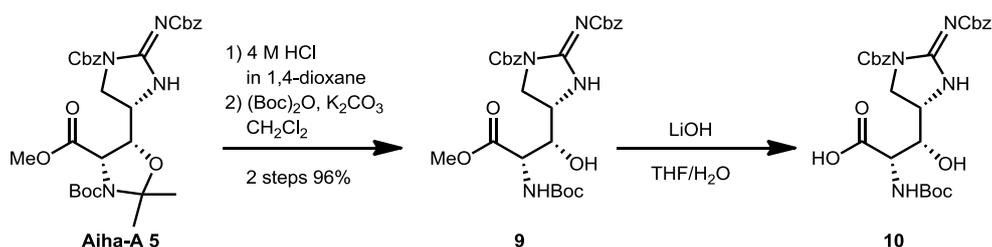


Figure 3-1

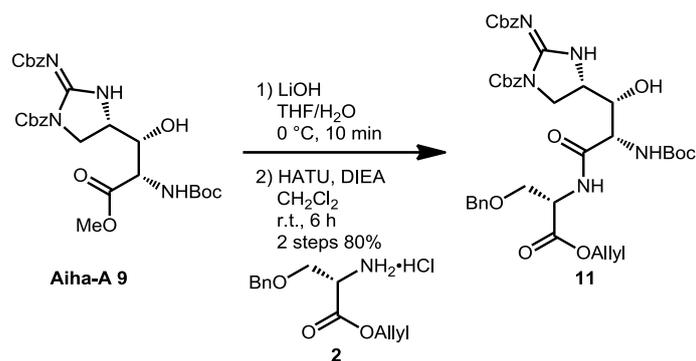
Figure 3-1 に Aiha-A **5** の最安定配座を Macromodel Ver. 8.5、力場として OPLS_2005（水溶液中）を用いて計算した結果について示す。本化合物において、枠囲みで強調したメチルエステルのカルボニル基は一方の面が近傍の Boc 基によって、もう一方の面は環状グアニジン、および窒素原子上の Cbz 基によって高度に遮蔽されていることが本計算結果から示唆された。Boc 基、環状グアニジン、Cbz 基がカルボニル基近傍に配向している主因の一つは、オキサゾリジン環の存在にあると考え、これを開裂することとした。



Scheme 3-4

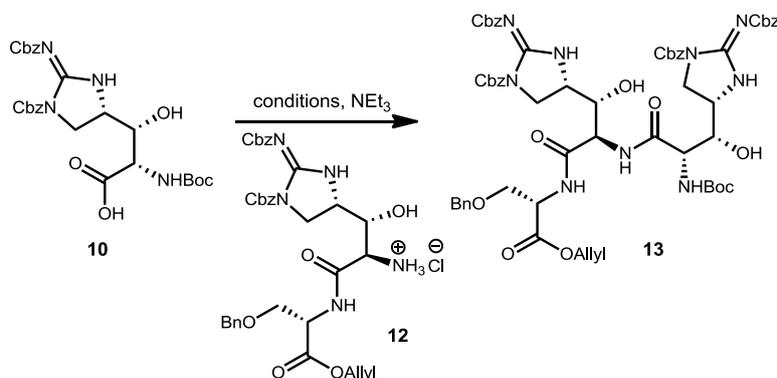
すなわち、AihA-A **5** を 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液中で室温下 1 時間反応させて **9** へと変換し、その後遊離のアミンを Boc 基で保護した。続いて、THF と水（5 : 1）混合溶媒中、水酸化リチウムを 0 °C で 10 分間反応させたところ、加水分解反応は期待通り進行し、遊離のカルボン酸 **10** が得られた（Scheme 3-4）。

合成した **10** を用いてセリンと縮合することによりジペプチド **11** を高収率で得た。先ほど合成したジペプチド **4**（Scheme 3-2）の NMR スペクトル中にエピマー **11** に由来するシグナルは観測されなかったことから、ジペプチド **3** の合成時にエピメリ化は進行していないことが示唆された（Scheme 3-5）。



Scheme 3-5

続いて、ペプチド鎖伸長において鍵段階となる AihA-A と AihA-B の間での縮合を検討した (Scheme 3-6)。本反応は、多官能基化され、立体障害も大きいと考えられるアミノ酸同士の



Scheme 3-6

entry	reagent	solvent	time	yield of desired product
1	PyBOP	DMF	12 h	75%
2	HATU	CH ₂ Cl ₂	12 h	10~40%, + 14
3	PyBrop	CH ₂ Cl ₂	12 h	20~42%, + 15
4	EDCI, HOAt	CH ₂ Cl ₂	12 h	40%
5	PyBOP	CH ₂ Cl ₂	12 h	45%
6	PyBOP	DMF	6 h	23%
7	PyBOP	DMF	24 h	62%

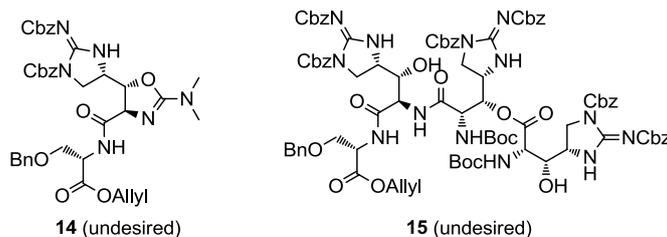
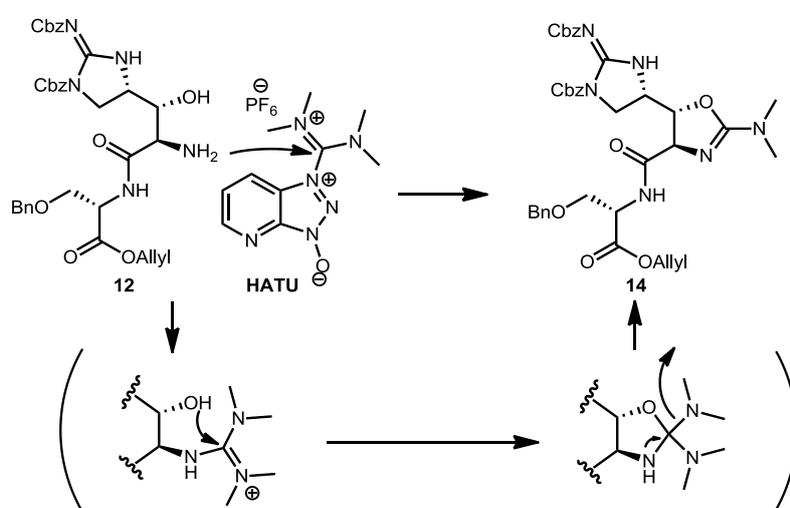


Table 3-1

連結である上に、どちらのアミノ酸残基も遊離の水酸基を有しており、これが副反応を引き起こさない条件の確立が求められるため難易度が高い。なお、この遊離水酸基の保護を種々検討したが、後に容易に除去可能な保護基の導入は困難であった。前章でも述べた通り、もしこの遊離水酸基が副反応を引き起こさないのであれば、工程数・廃棄物の削減に寄与し、なおかつ保護基の導入による立体障害の問題もないことから水酸基遊離のまま連結に用いることとした。なお、ジペプチド **12** は Scheme 3-2 に示したジペプチド **3** から **4** への二段階の変換反応の際の一段階目の反応の生成物であり、粗生成物をそのまま反応に用いている。Table 3-1 に示す様々な縮合剤、溶媒の組み合わせを検討した結果、entry 1 に示す DMF 溶媒中、縮合剤として PyBOP を用い室温で 12 時間反応させた時、望むトリペプチド **13** を 75% の収率で得ることに成功した (Table 3-1)。

entry 2 の条件で、縮合剤として HATU を用いた場合は、目的化合物 **13** は低収率で得られて再現性に乏しく、また ^1H NMR 解析の結果から、副生成物 **14** の生成が観測された。これは以下に示す反応機構で生成したと考えた (Scheme 3-7)。すなわち、まずジペプチド **12** のアミノ基から HATU のグアニジン部位への求核攻撃が進行し、続いてグアニジン部位に水酸基からの求核攻撃が起こることで 5 員環が形成し、最後にアミノ基からの電子供与によりジメチルアミンが脱離することで **14** が生成したと考えた²⁾。



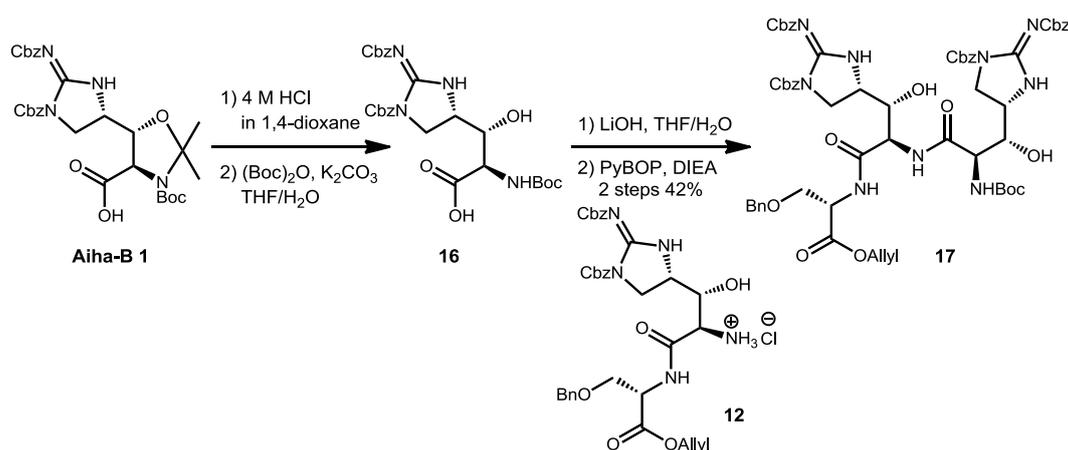
Scheme 3-7

entry 3 では縮合剤として PyBrop を用いたところ、LC/MS 解析により、ジペプチド **12** に対して二分子の Aiha-A が連結した化合物 **15** に相当する分子量が観測された。これは、目的のトリペプチド **13** が生成後、トリペプチドに存在する遊離水酸基が Aiha-A とさらに反応してエステル結合を形成したものと考えた。

entry 4 では縮合剤として EDCI と HOAt を用いて検討したが、生成物は低収率にとどまった³⁾。最後に entry 5~7 では溶媒や反応時間の検討をおこなったが、entry 1 を上回る収率は得られ

なかった。すなわち、entry 6 の 6 時間の条件では、反応が十分に進行せず、原料が残存した。一方で、entry 7 の 24 時間の条件でも収率が低下した。この理由については副反応が進行したためであると考えている。

過去に Aiha-A を縮合させた際のエピメリ化の進行し易さについて調べた例は存在しないことから、トリペプチド **13** を合成時の Aiha-A のエピメリ化の有無について検証することとした。トリペプチド **13** の ^1H NMR スペクトルは溶解性の低さからか、シグナルがブロードニングしており、その帰属が困難であったため、NMR 解析ではなく HPLC 解析によりエピメリ化の有無を確認することとした。すなわち、トリペプチド Ser-Aiha-B-Aiha-A **13** の Aiha-A の α 位の立体化学が反転したトリペプチド Ser-Aiha-B-Aiha-B **17** を合成し HPLC の保持時間を比較することでエピメリ化の有無を確かめることとした (Scheme 3-8)。ジペプチド **12** と Aiha-A **10** を縮合した時と同様、DMF 溶媒中、縮合剤として PyBOP、塩基として DIEA を用いて室温で 12 時間、**12** と **16** を反応させてトリペプチド **17** を得た。



Scheme 3-8

合成したトリペプチド **17** と **13** の HPLC-UV 解析の結果、トリペプチド **13** のサンプル中にトリペプチド **17** と同一の保持時間のピークは観測されず、トリペプチド **13** の合成の際にエピメリ化は進行していないと結論づけた (Figure 3-2)。

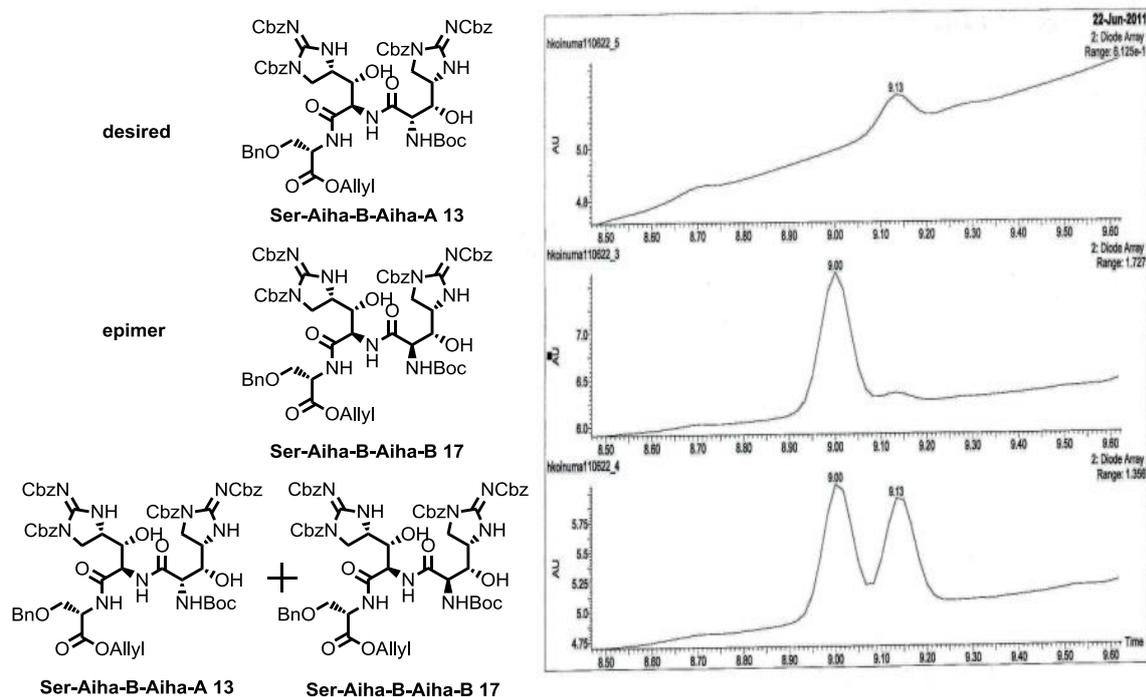
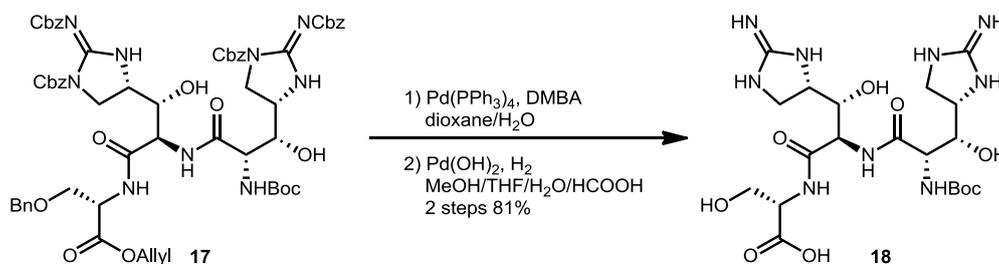


Figure 3-2

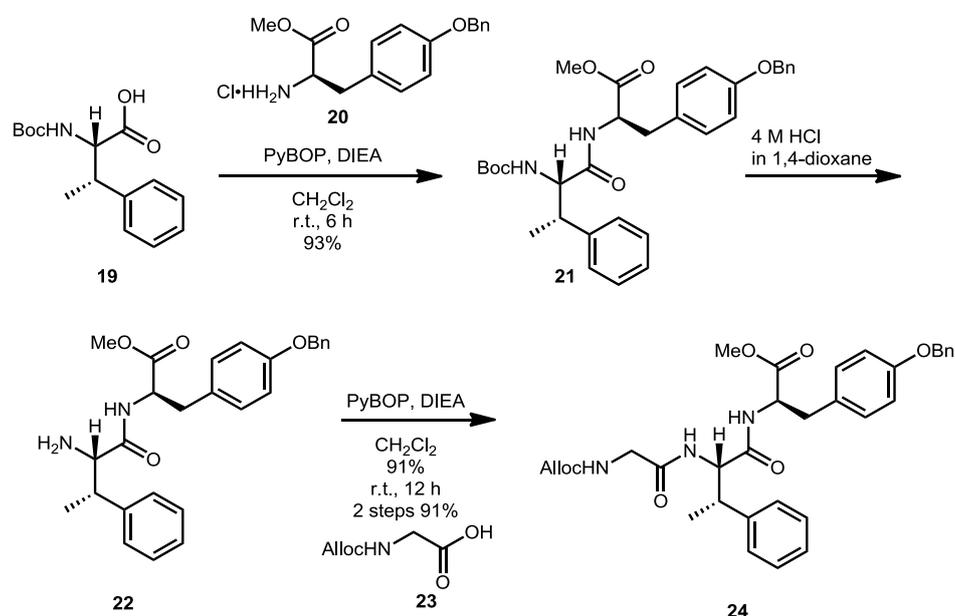
なお、トリペプチド **13** の NMR 測定による構造決定は様々な検討を重ねた結果、後に述べるヘキサペプチド **31** の構造決定で用いる方法により行うことができた。すなわち、Scheme 3-9 に示す通り、まず 1,4-dioxane と水 (3 : 1) 混合液中、Pd(PPh₃)₄ と DMBA を作用させてアリル基を除去した。続いて、MeOH と THF と水とギ酸 (8 : 8 : 2 : 1) の混合溶媒中、水素雰囲気下で Pd(OH)₂ を作用させることにより、6 つのベンジル系保護基を除去した。その結果、二段階収率 81% で目的物 **18** を得ることに成功した。得られたトリペプチド **18** については、重ジメチルスルホキシド溶媒中での NMR 測定により、シグナルの帰属が可能なスペクトルを得ることができた。



Scheme 3-9

3-2-2 MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*S*)- β -MePhe-Gly-NHAlloc の合成

トリペプチド **18** の合成を完了したので、続いてトリペプチド **24** の合成に着手した。トリペプチド **24** を構成するアミノ酸は全て市販されているため、それらを順次縮合した。出発原料である HO-(2*S*,3*S*)- β -MePhe-NHBoc (**19**)と MeO-Tyr(OBn)-NH₂·HCl (**20**) を CH₂Cl₂ 溶媒中、縮合剤として PyBOP、塩基として DIEA を用いて室温で 6 時間反応させたところ収率 93% でジペプチド **21** を得た。続いて得られたジペプチド **21** に対して 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液を作用させて Boc 基を除去して **22** を得た後、CH₂Cl₂ 溶媒中、縮合剤として PyBOP、塩基として DIEA を用いて室温で **22** と **23** を 12 時間反応させることにより、2 段階収率 91% でトリペプチド **24** を得た (Scheme 3-10)。

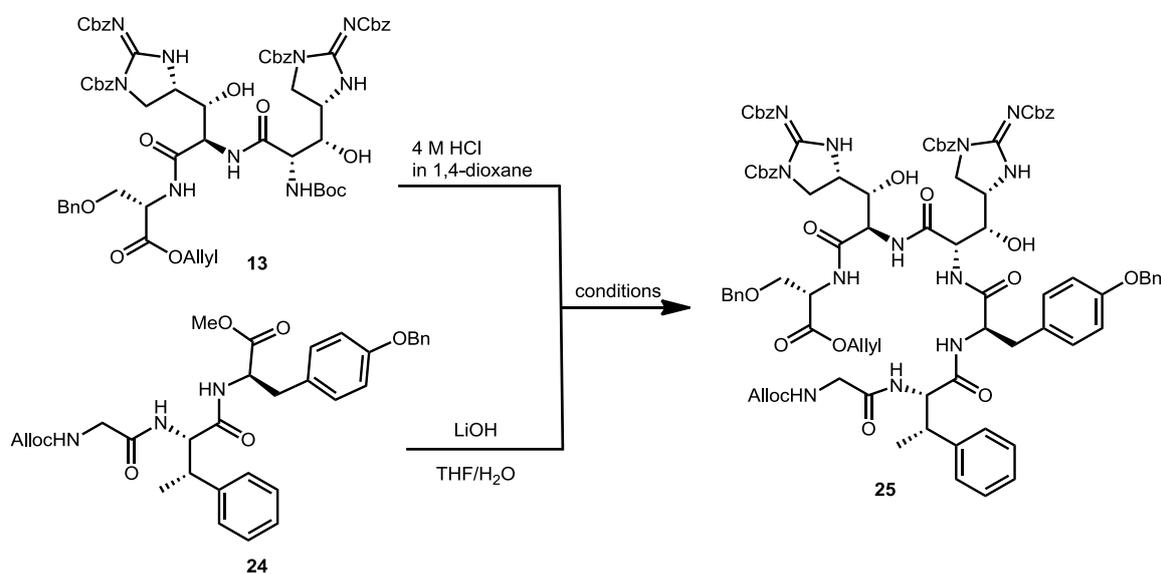


Scheme 3-10

3-2-3 マンノペプチマイシンアグリコンの合成研究 (1)

トリペプチド **13** と **24** の合成を完了したので、続いてこれらのカップリングを検討した。トリペプチド **13** に対して 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液を作用させて Boc 基を除去して遊離のアミンへと変換した。一方、トリペプチド **24** に対して THF と水 (5 : 1) の混合溶媒中、水酸化リチウムを室温下 3 時間作用させて、遊離のカルボン酸へと変換した (Scheme 3-11)。縮合反応を数種の縮合剤を用いて検討した。entry 1~3 に示す通り、検討した縮合剤、HATU、PyBOP、EDCI·HOAt の中では、entry 1 に示す HATU を用いた際に最高の収率を与え、2 段階収率 80% で目的のヘキサペプチド **25** を得ることに成功した。また entry 1、4、5 より反応時間を短縮す

ると収率が低下した (Table 3-2)。

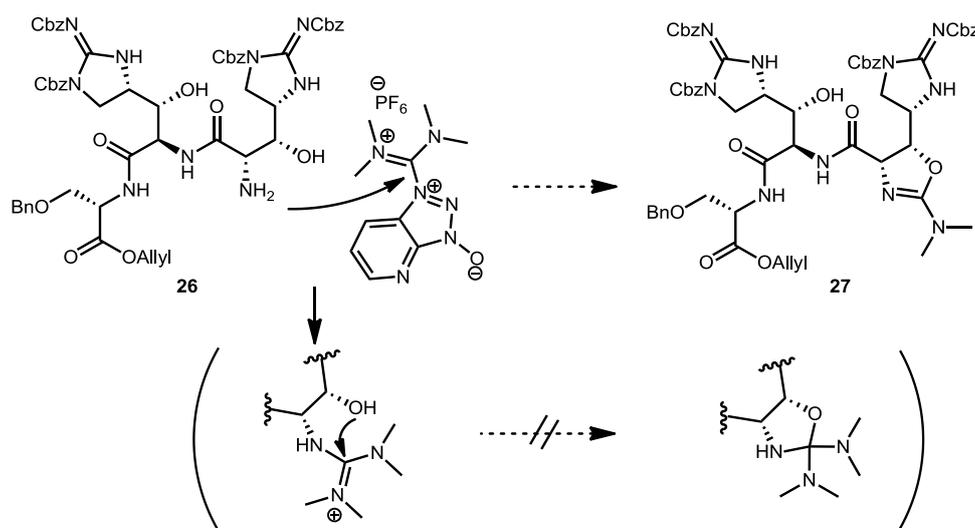


Scheme 3-11

entry	reagent	solvent	time	yield
1	HATU	DMF	18 h	80%
2	PyBOP	DMF	18 h	45%
3	EDCI, HOAt	DMF	18 h	57%
4	HATU	DMF	12 h	62%
5	HATU	DMF	6 h	36%

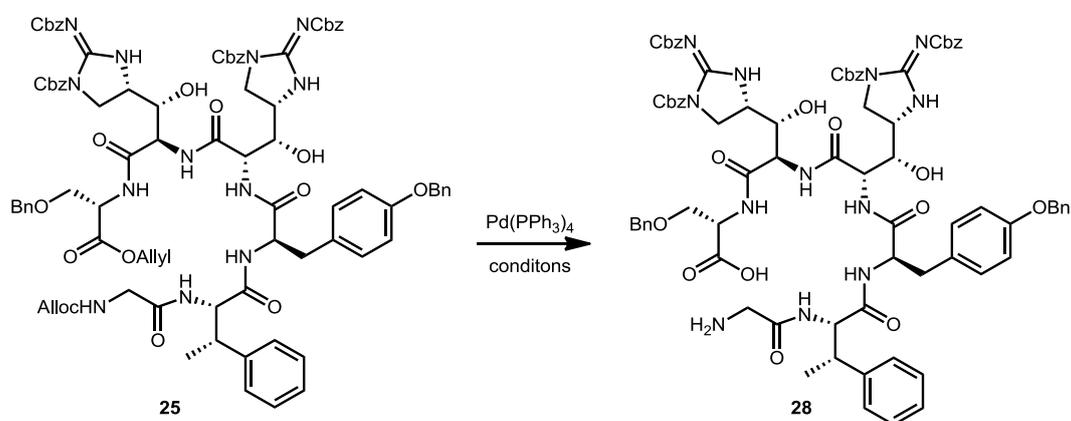
Table 3-2

HATUはトリペプチド **13** を合成した時 (Table 3-1) には、ジペプチド **12** のアミノアルコール部位との反応により **14** を生成したが、今回はトリペプチド **13** から調製したアミノアルコール **26** と反応した副生成物 **27** は得られなかった。これは、前章で述べた Aiha-A、B の合成においてオキサゾリジン環の形成速度が異なったことと類似する理由に起因すると考えた (Scheme 3-12)。すなわち、Aiha-A のアミノアルコール部位が 5 員環を形成する際の方が、Aiha-B のアミノアルコール部位が 5 員環を形成する際と比べて側鎖のゴーシュ反発が大きいと考えた。そのため、望まないオキサゾリジン環形成が進行しにくくなっており、HATU を用いた際に高収率で目的物を得られたものと推測した。



Scheme 3-12

ヘキサペプチド **25** が合成できたので、マクロラクタム化反応に向けて脱保護を検討した。Pd 試薬として $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ を 100wt% 用い、プロトン源について各種検討をした (Scheme 3-13)。その結果、entry 1~3 に示す条件では、系中が複雑な混合物となり目的物を得られなかった。entry 4 の条件でプロトン源として DMBA を用い 1,4-dioxane/ H_2O (3 : 1) 混合溶媒中、室温で 2 時間反応したところ、目的の環化前駆体 **28** の生成を LC/MS 解析により確認した (Table 3-3) ⁴⁾。



Scheme 3-13

entry	reagent	solvent	product
1	Et_3SiH	CH_2Cl_2	decompose
2	Et_2NH	CH_2Cl_2	decompose
3	Et_2NH	dioxane/ H_2O	decompose
4	DMBA	dioxane/ H_2O	28 (desired)

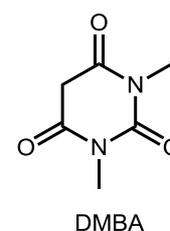
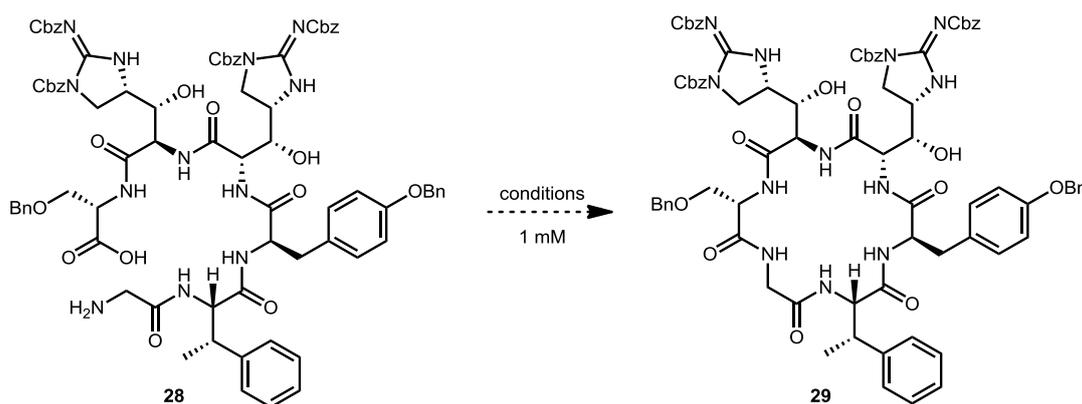


Table 3-3

この環化前駆体 **28** は非常に高極性であり、順相のシリカゲルカラムクロマトグラフィーでの精製は行えなかった。そこで、逆相のカラムクロマトグラフィーによる精製を試みたが、目的物を溶出させることができなかった。そこで未精製のままマクロラクタム化反応を行った (Scheme 3-14)。結果を Table 3-4 に示す。entry 1~6 で縮合剤、溶媒、反応時間についてさまざま検討したが目的の環状ペプチド **29** は LC/MS 解析により痕跡量の生成を確認できるだけで、単離できなかった。



Scheme 3-14

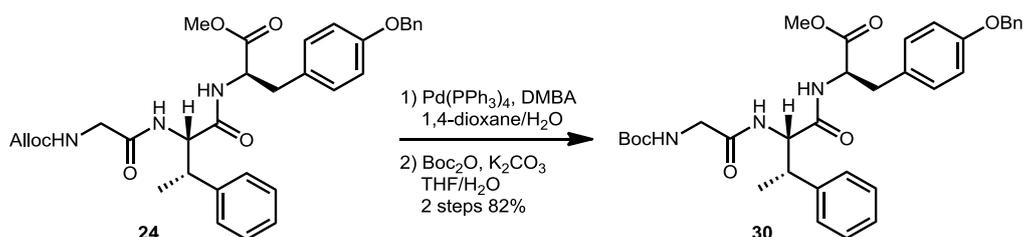
entry	reagent	solvent	time	product
1	HATU	CH ₂ Cl ₂	24 h	trace
2	HATU	CH ₂ Cl ₂	72 h	trace
3	HATU	DMF	24 h	trace
4	HATU	DMF	72 h	trace
5	EDCI, HOAt	CH ₂ Cl ₂	24 h	trace
6	PyBOP	CH ₂ Cl ₂	24 h	trace

Table 3-4

この理由として脱保護の際に基質に対して 100wt% 用いた Pd 試薬に対して遊離のアミンやカルボン酸を持つ環化前駆体 **28** が錯形成してしまい、望みのマクロラクタム化が十分に進行しなかったのではないかと考えた。そこでヘキサペプチド **25** から環化前駆体 **28** を一挙に脱保護することはあきらめ、精製を行えるよう段階的に脱保護するためトリペプチド **25** の保護基を Alloc 基から Boc 基へと変更することとした。

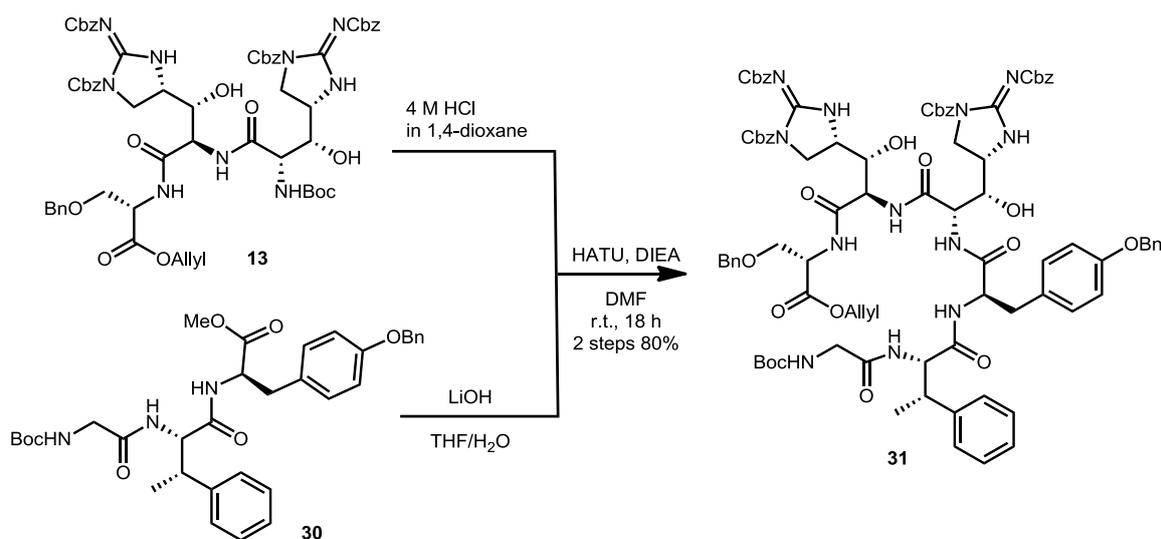
3-2-4 マンノペプチマイシンアグリコンの合成研究 (2)

Scheme 3-10 で合成したトリペプチド **24** の 1,4-dioxane と水 (3 : 1) 混合液中、Pd(PPh₃)₄ と DMBA を用い Alloc 基を除去し、続いて THF と水 (1 : 1) 混合溶媒中、Boc₂O と炭酸カリウムを用いて Boc 基を導入し、トリペプチド **30** を合成した (Scheme 3-15)。



Scheme 3-15

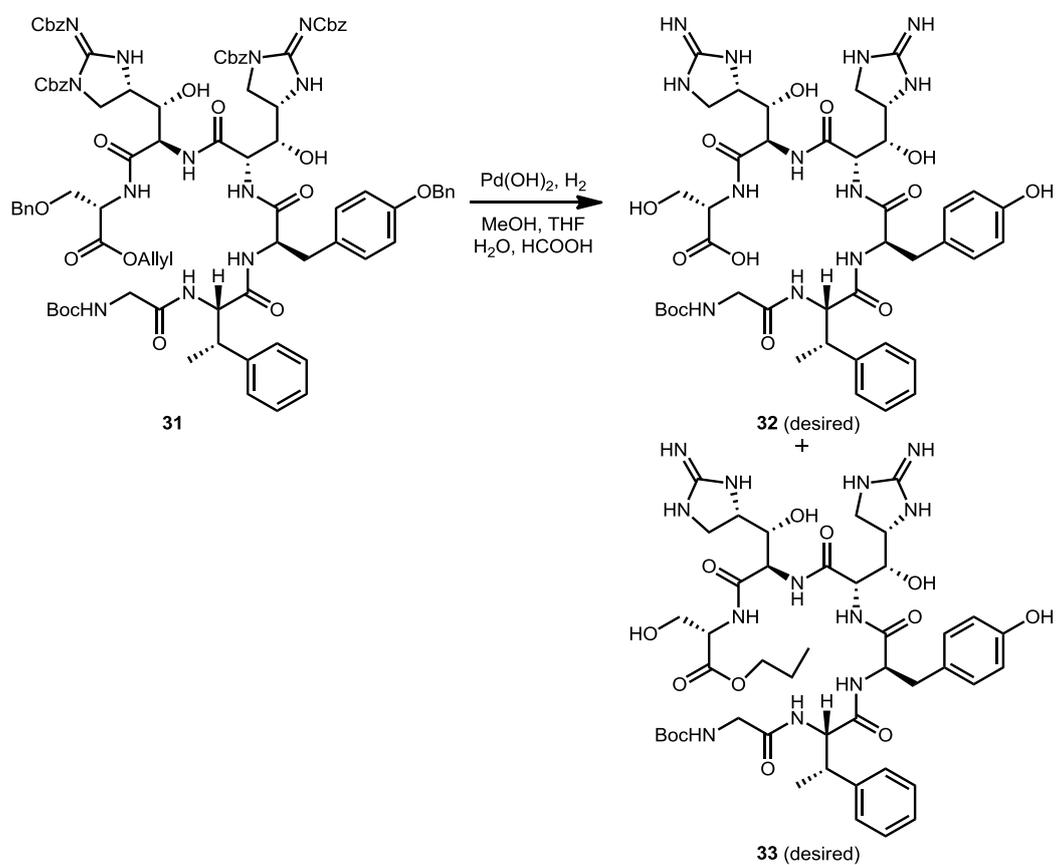
続いて、トリペプチド **18** と **30** をカップリングした。すなわち、トリペプチド **18** に対して 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液を作用させて Boc 基を除去し、遊離のアミンへと変換した。一方、トリペプチド **30** に対して THF と水 (5 : 1) 混合溶媒中、水酸化リチウムを作用させて、室温下 3 時間反応させて遊離のカルボン酸へと変換した。得られたそれぞれの縮合前駆体を先ほどの最適化条件 (Table 3-2) に基づき、CH₂Cl₂ 溶媒中、縮合剤として HATU、塩基として DIEA を用いて室温で 18 時間反応させたところ、2 段階収率 80% で目的のヘキサペプチド **31** を得た (Scheme 3-16)。



Scheme 3-16

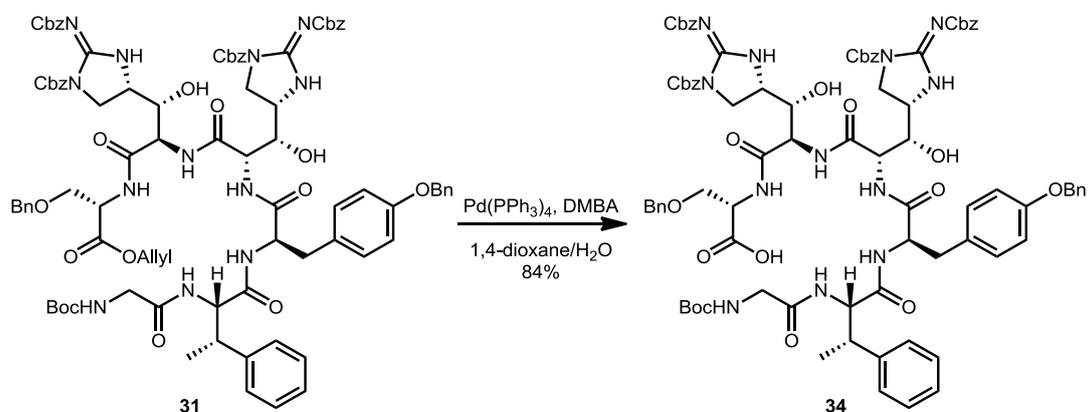
ヘキサペプチド **31** は各種溶媒に対して難溶性の化合物であり、さまざまな重溶媒 (CDCl₃, CD₂Cl₂, CD₃OD, Acetone-*d*₆) 中で NMR 測定を試みたが、シグナルの帰属が可能なスペクトルを得ることはできなかった。そこで溶解性の向上を期待して、保護基を除去することとした。すなわち、ヘキサペプチド **31** に対して、MeOH と THF と水とギ酸 (8 : 8 : 2 : 1) の混合溶媒中、水素ガス雰囲気下で、Pd(OH)₂ を作用させることで、6 つのベンジル系保護基とアリル基の除去を試みた。しかしながら、期待した脱保護体 **32** と共にアリルエステルのアリル基部分が還元されたプロピルエステル **33** が生成した。これら二化合物 **32** と **33** の分離は困難であっ

たため (Scheme 3-17)、7つの保護基の一段階除去を断念し、段階的に除去することとした。



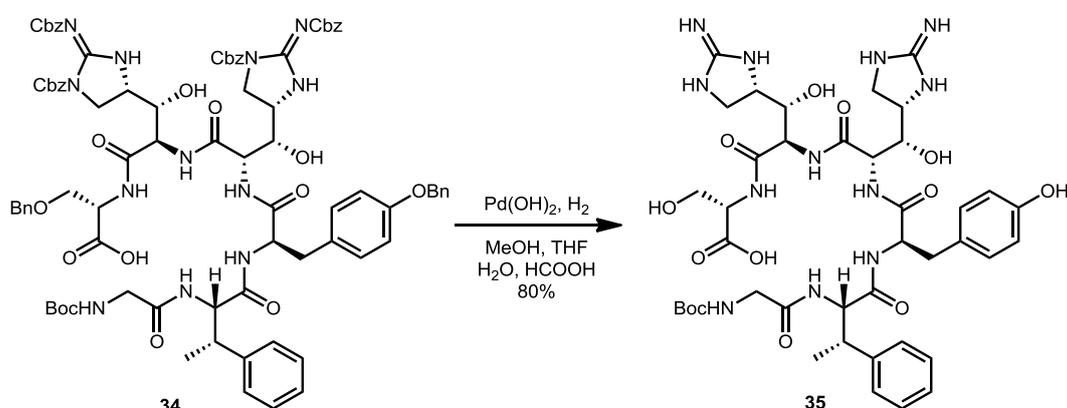
Scheme 3-17

すなわち、まず、アリル基の除去を検討した。ヘキサペプチド **31** に対して 1,4-dioxane と水 (3 : 1) 混合液中、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ と DMBA を作用させてアリル基を除去し、収率 84% でカルボン酸 **34** を得た (Scheme 3-18)。



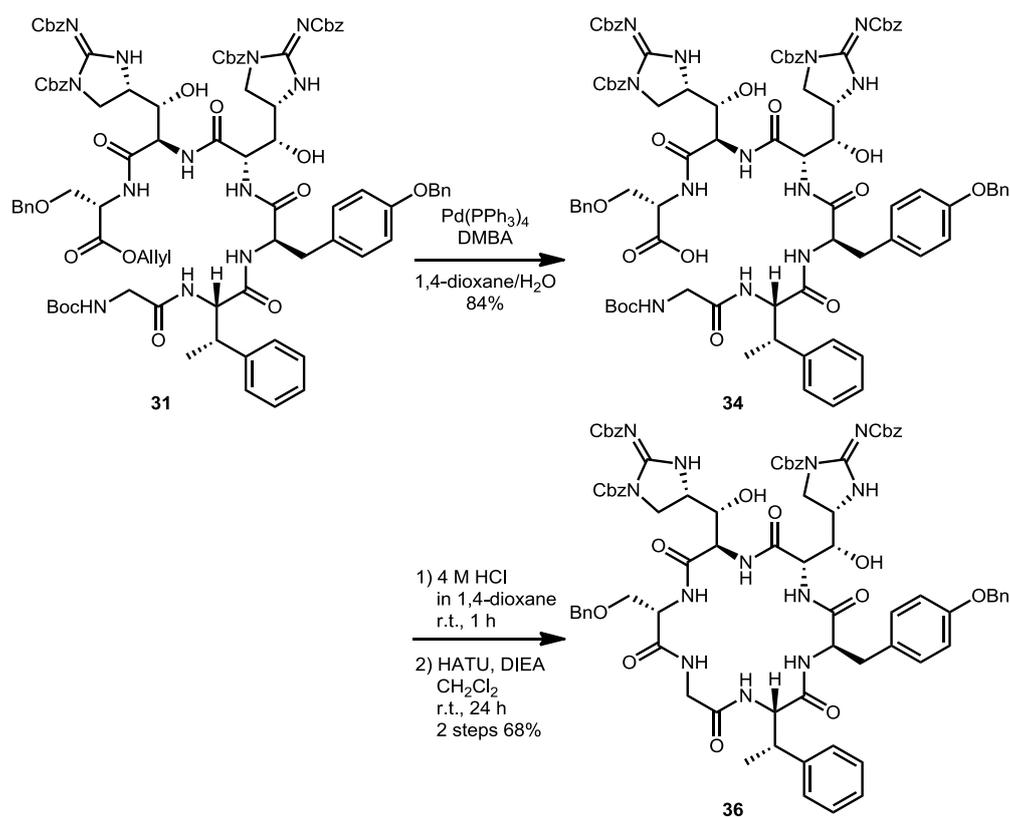
Scheme 3-18

続いてカルボン酸 **34** に対して、MeOH と THF と水とギ酸 (8 : 8 : 2 : 1) の混合溶媒中、水素雰囲気下で Pd(OH)₂ を作用させることにより、6 つのベンジル系保護基を除去した。その結果、収率 80% で目的の化合物 **35** を得ることに成功した (Scheme 3-19)。得られた **35** は逆相カラムクロマトグラフィーにより精製が可能であり (5% to 30% MeCN in H₂O, 0.02% TFA)、対応する TFA 塩の状態で得られた目的物は、重ジメチルスルホキシド溶媒中での NMR 測定により、シグナルの帰属が可能なスペクトルを得ることができた。これは翻って、Scheme 3-16 で合成したヘキサペプチド **31** の化学構造を確認できたことになる。そこで続いて、ヘキサペプチド **31** のマクロラクタム化へ向けた脱保護を検討することとした。



Scheme 3-19

ヘキサペプチド **31** に対して、先ほど確立した条件 (Scheme 3-18) を用いて、1,4-dioxane と水 (3 : 1) 混合液中、Pd(PPh₃)₄ と DMBA を作用させてアリル基を除去し、収率 84% で遊離カルボン酸 **34** を得た (Scheme 3-20)。この **34** は、先に合成した **28** とは異なり、順相シリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製が可能であり、これによりパラジウム試薬を除去できた。続いて **34** に対して 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液を作用させて Boc 基を除去した。濃縮操作により夾雑物を留去することで、環化前駆体を得た。鍵段階であるマクロラクタム化反応を CH₂Cl₂ 溶媒中、縮合剤として HATU、塩基として DIEA を用いて試みた。室温下で 24 時間反応させたところ 2 段階収率 68% で環状ペプチド **36** を得ることに成功した (Scheme 3-20)。



Scheme 3-20

ただし、ここでも環状ペプチド **36** の各種溶媒に対する溶解性の低さから NMR 測定によりシグナルの帰属が可能なスペクトルを得ることはできなかった。一方、LC/MS 解析を行った結果を Figure 3-3 に示す。得られた結果から、本反応により比較的良好な純度で目的分子量の化合物が合成されたことが示唆された (Figure 3-3)。

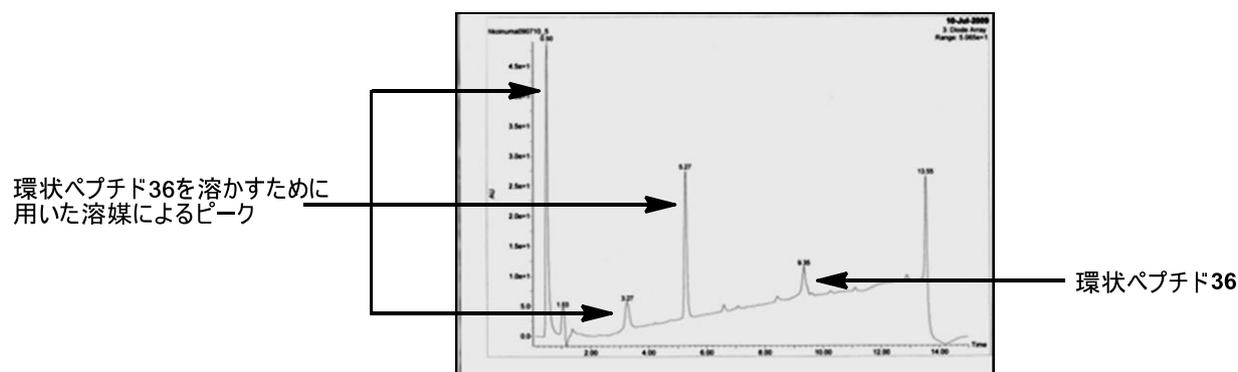


Figure 3-3

最後に環状ペプチド **36** に対して MeOH と THF と水とギ酸 (8 : 8 : 2 : 1) の混合溶媒中、水

合成した化合物の NMR 測定を、産業技術総合研究所の新家一男博士、泉川美穂氏の協力を得て行った。しかしながら、文献により報告されているマンノペプチマイシンアグリコン(37)の TFA 塩の ^1H NMR、 ^{13}C NMR スペクトルのデータと、合成したマンノペプチマイシンアグリコン 37 の TFA 塩のデータは一致しなかった。Table 3-5 に合成した化合物 37 の ^1H - ^1H COSY、HMBC (Figure 3-5)、HSQC 解析結果から各シグナルの帰属を行った結果を示す。また、Figure 3-6 に Pfizer 社の He 博士より入手したマンノペプチマイシンアグリコンの ^1H NMR スペクトルと、今回合成した化合物の ^1H NMR スペクトルを並べて示す。得られたデータから、全ての必要なアミノ酸残基に対応するシグナルが観測されていることがわかった。また、Figure 3-5 に示す HMBC 相関より環状ペプチド構造が構築できていることが示唆された。

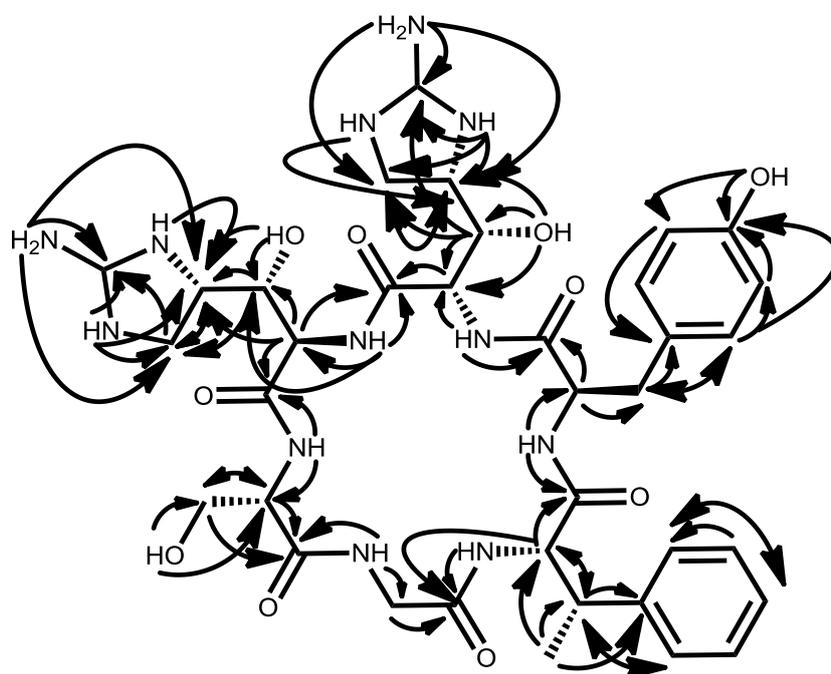
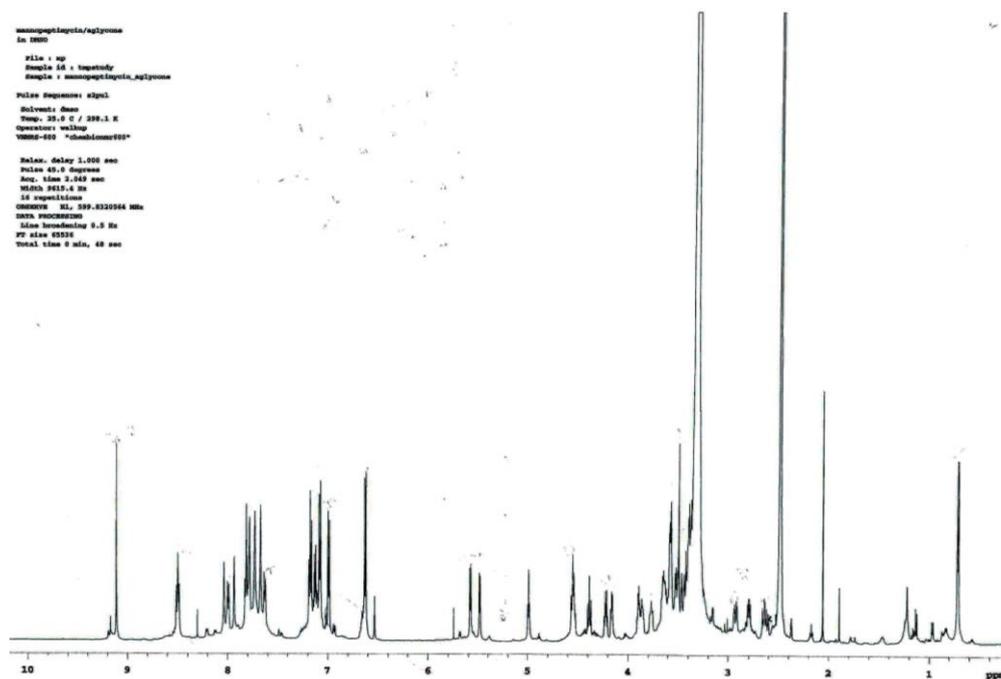


Figure 3-5

そこで、次に、アミノ酸縮合時にエピメリ化が起きた可能性について考慮することとした。既に、Aiha-B、Aiha-A については、縮合時にエピメリ化が進行していないことを確認済みである。そこで、 α 位に置換基を持たないグリシンを除く、セリン、チロシン、 β -MePhe の各残基についてエピメリ化の有無を Marfey 法により確認することとした⁵⁾。

まず、 β -MePhe の α 位のエピメリ化を確認のためトリペプチド 30 を用いて以下の実験を行った。Boc 基および Bn 基を除去した後、濃塩酸を作用させてアミド結合を切断した。続いて、Marfey's reagent を作用させた。得られた反応物の HPLC 解析を行い、その保持時間を市販の β -MePhe と Marfey's reagent を反応させて得た生成物の保持時間と比較したところ、良い一致を示した。このことから、 β -MePhe のエピメリ化を起こしていないことが示唆された。同様の方法で、ヘキサペプチド 31 を用いてチロシンの α 位、環状ペプチド 37 を用いてセリンの α 位

合成したマンノペプチマイシンアグリコンの ^1H NMR スペクトル (600 MHz, DMSO- d_6)



Pfizer 社、He 博士より提供頂いた、天然物の減生により得られたマンノペプチマイシンアグリコンの ^1H NMR スペクトル (400 MHz, DMSO- d_6)

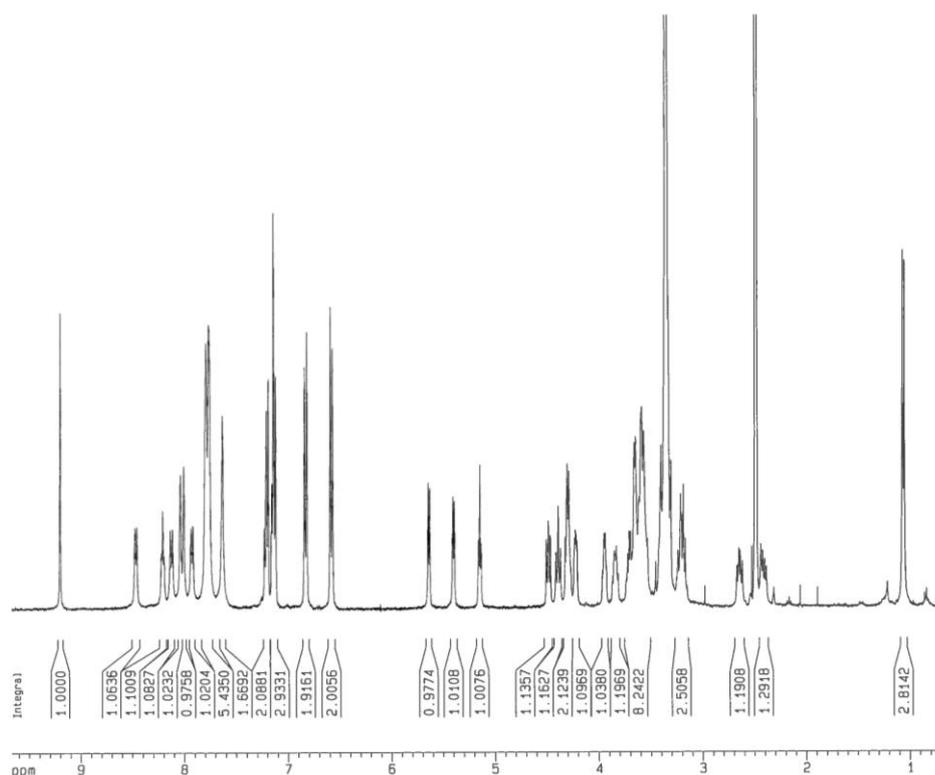
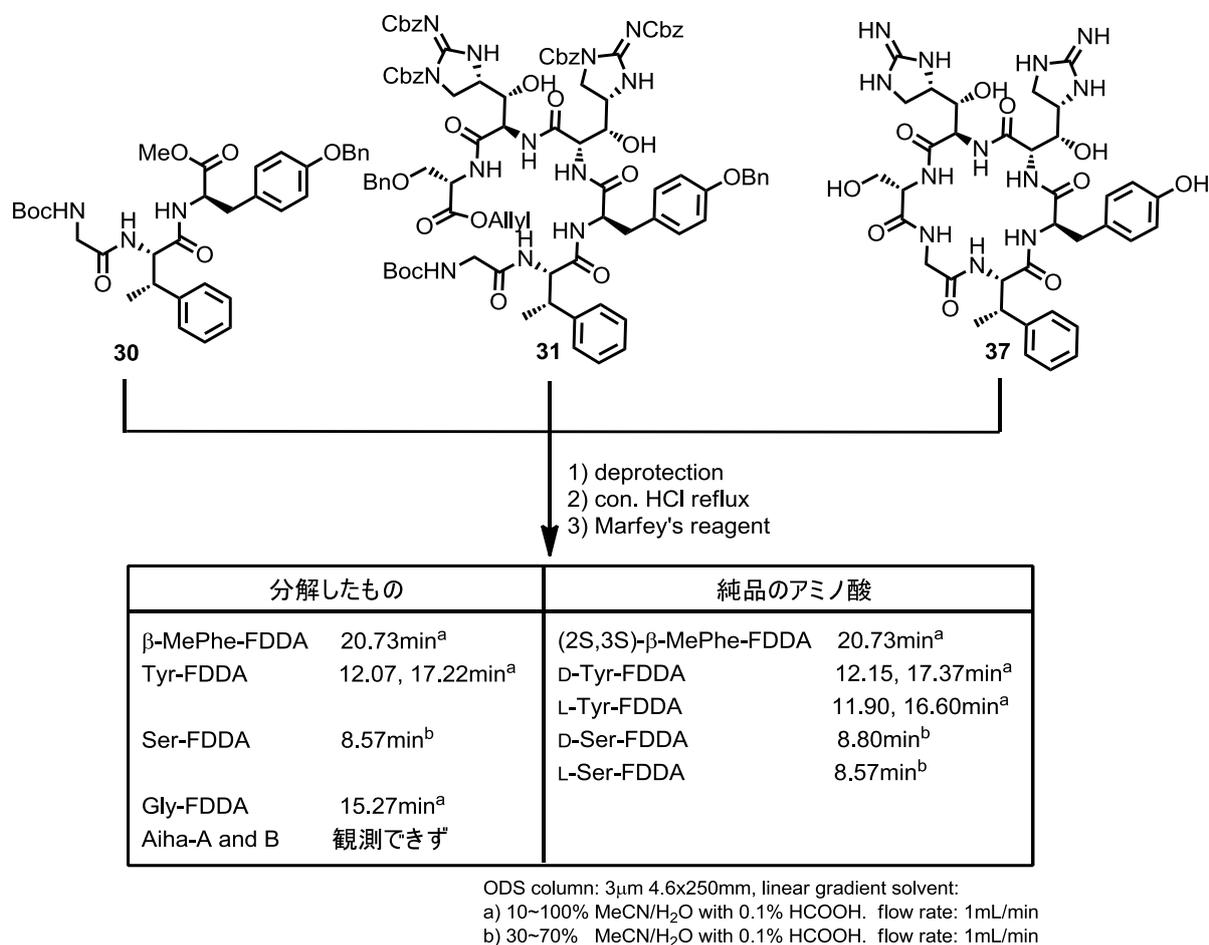


Figure 3-5

のエピメリ化を確認したが、どちらの部位でもエピメリ化が起きていないことが示唆された。



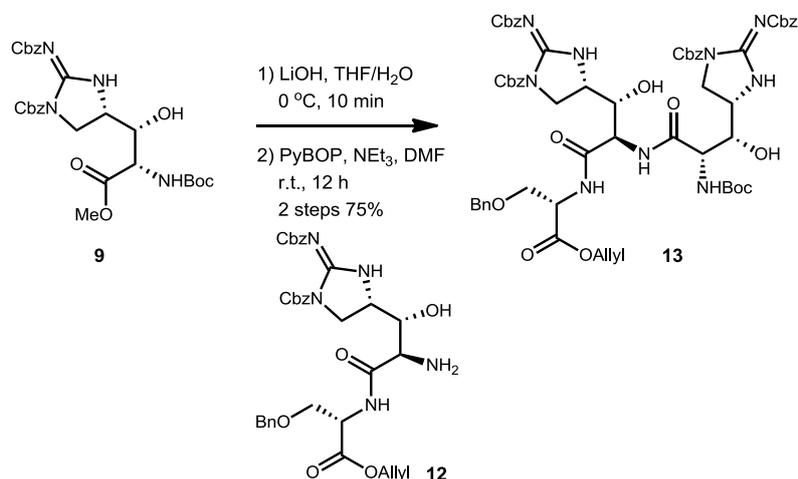
Scheme 3-22

以上の結果から、筆者は、今回の合成において提唱構造のマンノペプチマイシンアグリコン **37** の合成が達成されたと結論づけ、真のマンノペプチマイシンアグリコンの構造は提唱構造とは異なるものと判断した。

3-3 まとめ

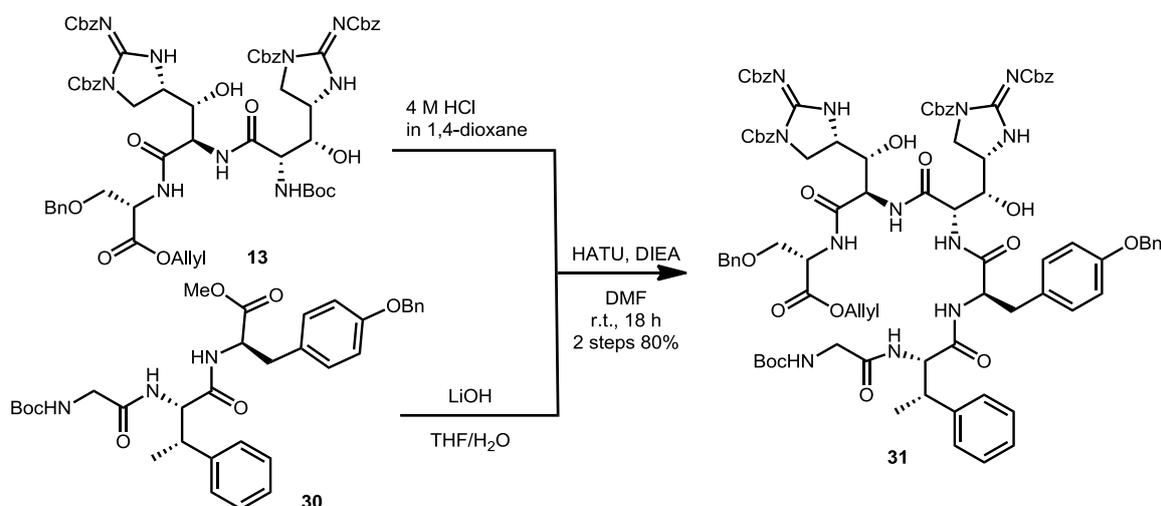
本章では、第二章で確立した異常アミノ酸 Aiha-A および Aiha-B を用いてアミノ酸の縮合の検討をおこない、提唱構造のマンノペプチマイシンアグリコンの合成を達成した。合成計画において、マンノペプチマイシンアグリコンの環化点は立体障害が少なく反応性の高いグリシンのアミノ基とセリンのカルボキシル基の間とし、また、収束的な合成戦略を採用して、二つのトリペプチドをカップリングすることで環化前駆体を得ようと考えた。また、それぞれのトリペプチドは各アミノ酸を C 末端側から順次縮合することで得られると考えた。

本合成計画に従い、トリペプチド **13** を合成した。すなわち、セリンと Aiha-B との縮合で得られたジペプチド **12** と Aiha-A **10** を DMF 溶媒中、縮合剤として PyBOP、塩基として DIEA を用いて反応させて、収率 75% でトリペプチド **13** の合成に成功した (Scheme 3-23)。



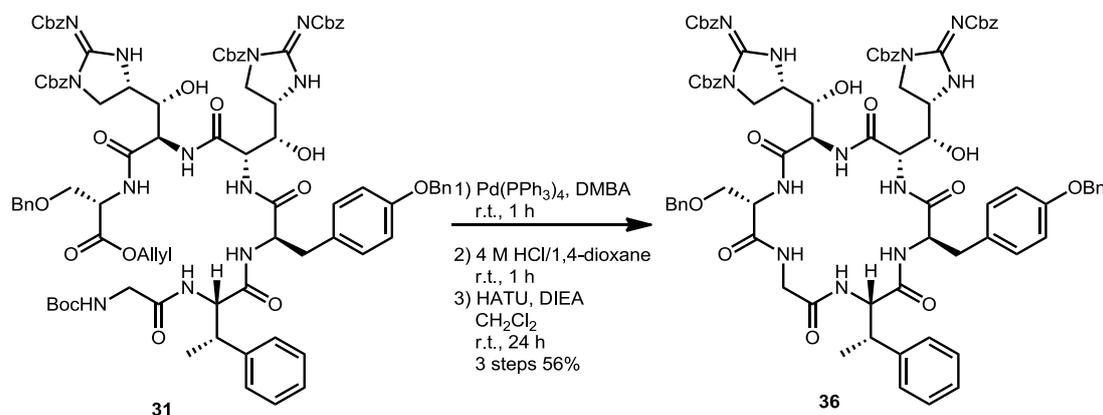
Scheme 3-23

続いて、トリペプチド **13** と **30** をカップリングした。すなわちトリペプチド **13** に対して 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液を作用させて Boc 基を除去し、遊離のアミンへと変換した。一方、トリペプチド **30** に対して THF と水 (5 : 1) 混合溶媒中、水酸化リチウムを作用させて、遊離のカルボン酸へと変換した。得られたそれぞれの縮合前駆体を先ほどの最適化条件 (Table 3-2) に基づき、CH₂Cl₂ 溶媒中、縮合剤として HATU、塩基として DIEA を用いて反応させたところ、2 段階収率 80% で目的のヘキサペプチド **31** を得た (Scheme 3-24)。



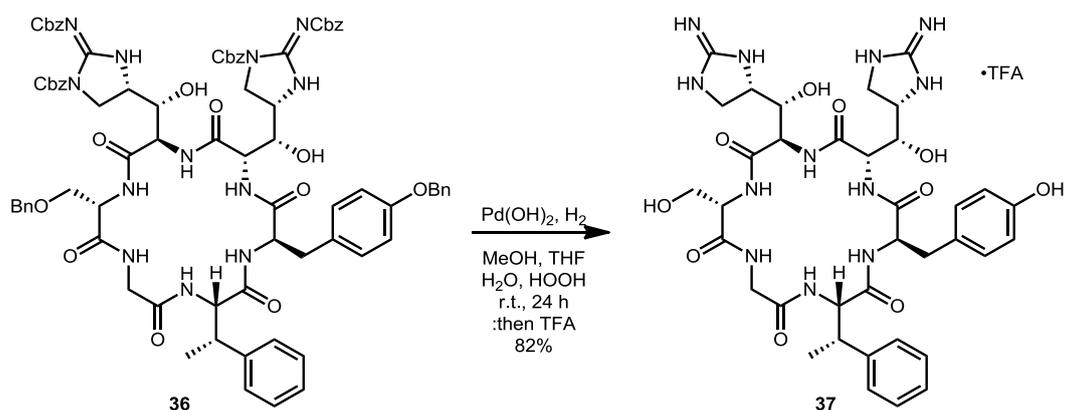
Scheme 3-24

次にヘキサペプチド **31** のアリルエステルを除去した後、精製操作によりパラジウム試薬を除き、続いて Boc 基を除去した後、 CH_2Cl_2 溶媒中、縮合剤 HATU、塩基として DIEA を用いて閉環することにより三段階収率 56% で環状ペプチド **36** の合成を達成した (Scheme 3-25)。



Scheme 3-25

最後に6つのベンジル系保護基を水素添加反応により一挙に除去した (Scheme 3-26)。しかしながら得られた化合物の NMR スペクトルは文献報告のスペクトルと異なっていた。分解実験やジアステレオマーの合成・解析により縮合条件下エピメリ化は進行していないと結論づけ、今回筆者は、提唱構造であるマンノペプチマイシンアグリコンの合成を達成できたと考えた。すなわち、提唱構造は真のマンノペプチマイシンアグリコンとは、異なるものと判断した。



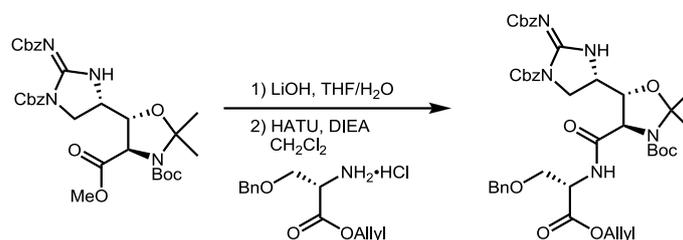
Scheme 3-26

序論で述べた通り、マンノペプチマイシンアグリコン部位の構築法が未確立であったことが、これまでマンノペプチマイシン関連科学の発展、利用を阻んできた。本研究成果はこの問題に対して、世界で初めて明確な解決策を提示したといえる。一方で、提唱構造の誤りが見つかったものの、本章の研究ではマンノペプチマイシンの真の構造を明らかにするには至らなかった。

b 次章の研究において、自らが世界で初めて開発したアグリコン部の構築手法を駆使して、その有用性を実証するとともに、真の構造の解明にも成功したので詳述する。

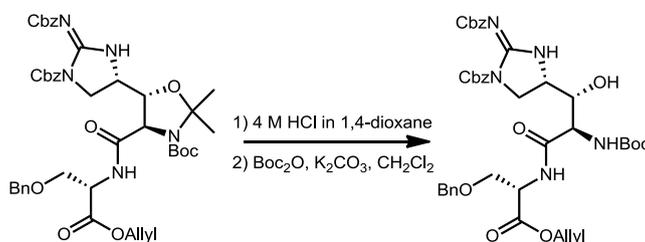
References

- 1) Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 4397.
- 2) Nakajima, N.; Ikada, Y. *Bioconjug. Chem.*, **1995**, *6*, (1), 123.
- 3) Mueller, S. G.; Rudolf, K.; Lustenberger, P.; Stenkamp, D. *U. S. 20060252931*, 09 Nov. **2006**.
- 4) Tsukamoto, H.; Kondo, Y. *Synlett*, **2003**, *7*, 1061.
- 5) Marfey, P. *Carisberg Res. Commun.*, **1984**, *49*, 591.

AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-NHBoc (3)

To a solution of **1** (114 mg, 0.187 mmol, 1.00 equiv.) in THF (6.87 mL) and H₂O (1.37 mL) was added LiOH (42.4 mg, 0.920 mmol, 4.90 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

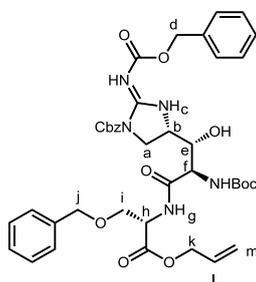
To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (3.80 mL) was added HCl·H₂N-L-Ser-OAllyl (**2**) (61.0 mg, 0.224 mmol, 1.20 equiv.) and DIEA (96.7 μL, 0.561 mmol, 3.00 equiv.) and HATU (100 mg, 0.262 mmol, 1.40 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 10% acetone in toluene) to give AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-NHBoc (**3**) (124 mg, 0.165 mmol, 2 steps 88%) as a colorless oil: HRMS (ESI-TOF) calcd for C₄₃H₅₂N₅O₁₁ [M+H]⁺ 814.3663 found 814.3663. Assignment of signals in the observed NMR spectra was difficult due to the presence of rotamers.

AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-NHBoc (4)

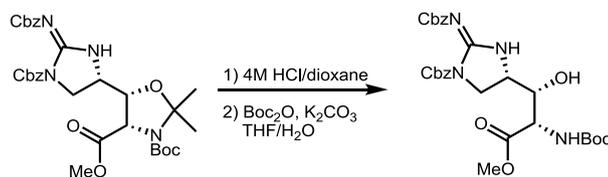
To a solution of AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-NHBoc (**3**) (9.0 mg, 11 μmol, 1.0 equiv.) was added a solution of 4 M HCl in 1,4-dioxane (1.5 mL) and H₂O (15 μL) at room temperature under argon. After

being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (0.500 mL) was added Boc₂O (4.1 mg, 17 μmol, 1.5 equiv.) and K₂CO₃ (4.6 mg, 33 μmol, 3.0 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase were extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 20% acetone in toluene) to give amino alcohol (**4**) (6.9 mg, 8.9 μmol, 2 steps 82%) as a colorless oil: $[\alpha]_D^{20}$ -38.9 (*c* = 0.45, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, acetone-*d*₆) δ 9.14 (brs, 1H), 8.10 (brs, 1H), 7.22-7.57 (m, 15H), 6.08 (brs, 1H), 5.90 (ddt, 1H, *J* = 5.3, 10.8, 17.6 Hz), 5.33 (dd, 1H, *J* = 3.4, 17.6 Hz), 5.26 (s, 2H), 5.19 (dd, 1H, *J* = 2.9, 10.8 Hz), 5.13 (s, 2H), 4.72-4.76 (m, 1H), 4.62-4.65 (m, 2H), 4.53-4.56 (m, 1H), 4.49 (d, 2H, *J* = 3.4 Hz), 4.20 (brs, 1H), 4.03 (brs, 1H), 3.98-4.01 (m, 1H), 3.92 (dd, 1H, *J* = 3.9, 9.8 Hz), 3.87 (brs, 1H), 3.74 (dd, 1H, *J* = 3.7 Hz, 9.8 Hz), 1.42 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, acetone-*d*₆) δ 170.2 x 2, 156.9, 151.8, 138.9, 137.0, 132.6 x 2, 129.1 x 2, 129.0 x 4, 128.8 x 2, 128.6, 128.4 x 2, 128.3 x 4, 118.1, 80.2, 73.6, 70.4, 68.2, 67.4, 66.2 x 2, 56.2, 54.2, 53.8, 47.1, 28.3; FT-IR (neat) 3330, 2978, 1759, 1707, 1663, 1598, 1498, 1454, 1368, 1310, 1250, 1165, 1060, 1026, 768, 744, 698 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) calcd for C₄₀H₄₈N₅O₁₁ [M+H]⁺ 774.3356 found 774.3360.



(*S*)-Benzyl-2-(benzyloxycarbonylimino)-4-[(1*S*,2*S*)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-1-hydroxy-3-methoxy-3-oxopropyl]imidazolidine-1-carboxylate (Aiha-A methyl ester) (9**)**



To

(4*S*,5*S*)-3-*tert*-butyl-4-methyl-5-[(*S*)-1-(benzyloxycarbonyl)-2-(benzyloxycarbonylimino)imidazolidin-4-yl]-2,2-dimethyloxazolidine-3,4-dicarboxylate (**5**) (110 mg, 175 μmol, 1.00 equiv.) was added a

solution of 4 M HCl/1,4-dioxane (2.00 mL) and H₂O (20 μ L) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (2.00 mL) was added Boc₂O (220 mg, 0.875 mmol, 5.00 equiv.) and K₂CO₃ (72.6 mg, 0.525 mmol, 3.00 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase were extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 20% acetone in toluene) to give (*S*)-benzyl-2-(benzyloxycarbonylimino)-4-[(1*S*,2*S*)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-1-hydroxy-3-methoxy-3-oxopropyl]imidazolidine-1-carboxylate (**9**) (103 mg, 168 μ mol, 2 steps 96%) as a white solid.

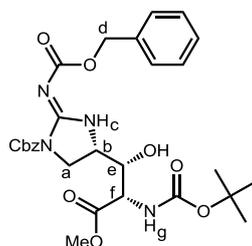
$[\alpha]_D^{24} +21.7$ (c = 1.00, CHCl₃).

¹H NMR (400 MHz, acetone-*d*₆) δ 8.84 (brs, 1H, c), 7.28-7.56 (m, 10H, aromatic), 6.28 (d, 1H, g, *J* = 7.7 Hz), 5.26 (s, 2H, d), 5.11 (s, 2H, d), 4.32-4.35 (m, 1H, f), 4.14-4.18 (m, 1H, b), 4.07-4.11 (m, 1H, e), 3.99-4.02 (m, 2H, a), 3.69 (s, 3H, *OMe*), 1.43 (s, 9H, *tBu*).

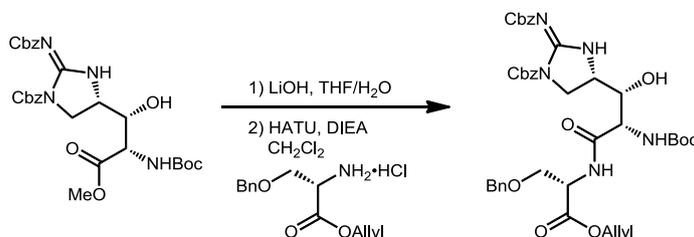
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 170.5, 151.8, 150.9, 150.5, 136.5, 135.2, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3 x 2, 128.0, 127.9, 95.7, 95.0, 81.4, 77.6, 68.4, 67.4, 61.3, 61.1, 52.7, 28.3, 24.6.

FT-IR (neat) 3650, 1571, 1488, 1457, 897, 868, 840, 641 cm⁻¹.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₂₈H₃₅N₄O₉ [M+H]⁺ 571.2404 found 571.2413.



AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-A-NHBoc (**4'**) (epimer) for confirmation of epimerization

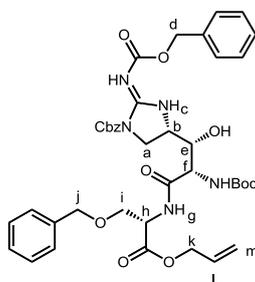


To a solution of (**10**) (60.0 mg, 0.105 mmol, 1.00 equiv.) in THF (4.30 mL) and H₂O (0.859 mL) was added LiOH (23.7 mg, 0.515 mmol, 4.90 equiv.) at 0°C. After being stirred at the same temperature for

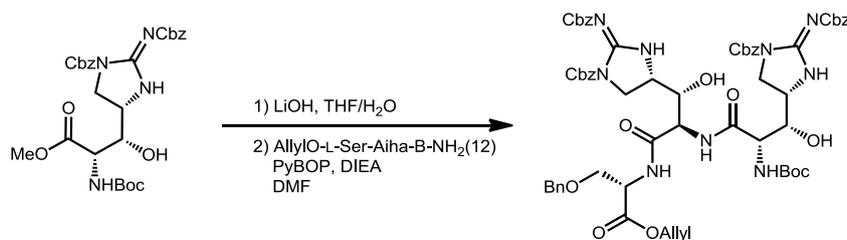
10 min, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (3.80 mL) was added HCl·H₂N-L-Ser-OAllyl (**2**) (34.3 mg, 0.126 mmol, 1.20 equiv.) and DIEA (54.4 μL, 0.315 mmol, 3.00 equiv.) and HATU (55.9 mg, 0.147 mmol, 1.40 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 5% MeOH in CHCl₃) to give AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-NHBoc (**4'**) (64.9 mg, 0.0840 mmol, 2 steps 80%) as a colorless oil:

$[\alpha]_D^{23} +16.6$ (c = 1.00, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, acetone-*d*₆) δ 8.85 (brs, 1H), 8.03 (brs, 1H), 7.12-7.55 (m, 15H), 6.13 (brs, 1H), 5.90 (ddt, 1H, *J* = 5.4, 10.8, 17.2 Hz), 5.33 (dd, 1H, *J* = 3.4, 17.2 Hz), 5.26 (s, 2H), 5.18 (dd, 1H, *J* = 3.4, 10.8 Hz), 5.11 (s, 2H), 4.74-4.78 (m, 1H), 4.62-4.66 (m, 2H), 4.55 (d, 2H, *J* = 12.2 Hz), 4.49 (d, 2H, *J* = 12.2 Hz), 3.95 (brs, 1H), 3.95 (dd, 1H, *J* = 3.4, 9.8 Hz), 3.76 (dd, 1H, *J* = 3.4, 9.8 Hz), 1.42 (s, 9H); ¹³C NMR (100 MHz, acetone-*d*₆) δ 170.9, 170.6, 156.1, 152.8 x 2, 152.6, 138.9, 137.0, 133.0 x 2, 129.1 x 2, 129.0 x 6, 128.7 x 2, 128.6, 128.4 x 2, 128.2 x 2, 118.2, 79.9, 73.5, 70.3, 68.2, 67.4, 66.3, 66.1, 56.4, 54.2, 53.9, 45.8, 28.4; FT-IR (neat) 3334, 3032, 2978, 1749, 1713, 1661, 1599, 1522, 1498, 1454, 1382, 1368, 1308, 1255, 1168, 1049, 1025, 769, 744, 698, 609 cm⁻¹; HRMS (ESI-TOF) calcd for C₄₀H₄₈N₅O₁₁ [M+H]⁺ 774.3358 found 774.3365. From the comparison of NMR spectra of (**4**) and (**4'**), no epimerization of Aiha-B residue was observed.



AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc (**13**)



To

a

solution

of

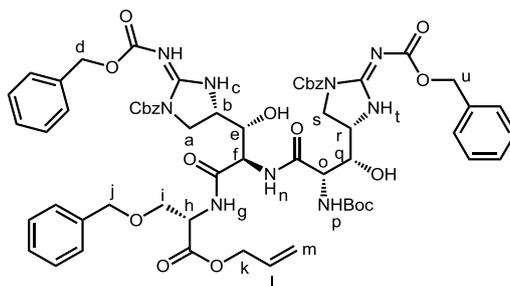
(*S*)-benzyl-2-(benzyloxycarbonylimino)-4-[(1*S*,2*S*)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-1-hydroxy-3-methoxy-3-oxopropyl]imidazolidine-1-carboxylate (**10**) (8.0 mg, 13 μ mol, 1.0 equiv.) in THF (535 μ L) and H₂O (107 μ L) was added LiOH (3.0 mg, 64 μ mmol, 4.9 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (0.300 mL) was added AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-NH₂•HCl (**12**) (11.7 mg, 14.4 μ mol, 1.10 equiv.) and DIEA (6.8 μ L, 39 μ mol, 3.0 equiv.) and PyBOP (10.4 mg, 20 μ mol, 1.5 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by chromatography on silica gel (0% to 5% MeOH in CHCl₃) to give AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc (**13**) (11.9 mg, 9.83 μ mol, 2 steps 75%) as a colorless oil.

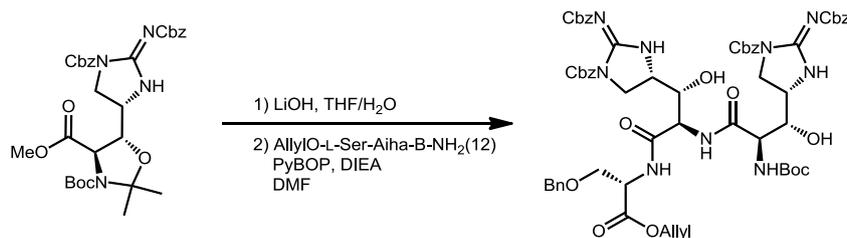
¹H NMR (400 MHz, acetone-*d*₆) δ 8.80-9.15 (brs, 2H, c and t), 8.05-8.21 (m, 2H, g and n), 7.19-7.53 (m, 25H, aromatic), 6.35 (brs, 1H, p), 5.85-4.91 (m, 1H, l), 5.30 (d, 1H, m, *J* = 17.6 Hz), 5.06-5.24 (m, 9H, d, u and m), 4.70-4.74 (m, 1H, h), 4.59-4.64 (m, 2H, k), 4.47 (d, 1H, j, *J* = 12.0 Hz), 4.40 (d, 1H, j, *J* = 12.0 Hz), 4.38-4.41 (m, 1H, f or o), 4.09-4.22 (m, 4H, e, q, a or s, f or o), 4.05 (brs, 1H, a or s), 3.81-3.95 (m, 5H, a, b, i, r and s), 3.70 (dd, 1H, i, *J* = 2.2, 9.3 Hz), 1.41 (s, 9H, *t*Bu).

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₆₂H₇₀N₉O₁₇ [M+H]⁺ 1212.4890 found 1212.4893.

Inertsil[®] ODS-3 column: 4.6 x 250 mm, 3 μ m, linear gradient solvent: 10-100% MeCN/H₂O with 0.1% formic acid over 15 min, flow rate: 1.0 mL/min. The retention times of AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc are given in parentheses: (9.13 min).



AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-B-NHBoc (**17**)



To **(1)** (30.0 mg, 49.2 μmol , 1.00 equiv.) was added a solution of 4 M HCl in 1,4-dioxane (2.00 mL) and H_2O (20.0 μL) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

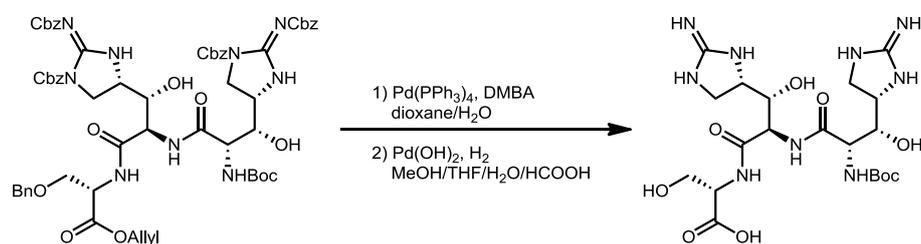
To a solution of the residue in THF (1.00 mL) and H_2O (0.500 mL) was added Boc_2O (61.9 mg, 0.246 mmol, 5.00 equiv.) and K_2CO_3 (20.4 mg, 0.148 mmol, 3.00 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO_4 and the aqueous phase were extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by short-pad column chromatography on silica gel (0% to 20% acetone in toluene) to give crude amino alcohol **(16)** (20.8 mg) as a white solid. HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_4\text{O}_9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 571.2395 found 571.2388. The compound was used for the next reaction without further purification.

To a solution of **(16)** (10.0 mg, 17 μmol , 1.00 equiv.) in THF (600 μL) and H_2O (120 μL) was added LiOH (4.0 mg, 86 μmol , 4.9 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl_3 . The combined extract was dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH_2Cl_2 (0.30 mL) was added AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B- $\text{NH}_2\cdot\text{HCl}$ **(12)** (13.0 mg, 19.0 μmol , 1.11 equiv.) and DIEA (11.0 μL , 51.0 μmol , 3.00 equiv.) and HATU (9.7 mg, 26 μmol , 1.5 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by chromatography on silica gel (0% to 5% MeOH in CHCl_3) to give AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-B-NHBoc **(17)** (8.5 mg, 7.0 μmol , 4 steps 30%) as a colorless oil.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{62}\text{H}_{70}\text{N}_9\text{O}_{17}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1212.4884 found 1212.4893.

Inertsil[®] ODS-3 column: 4.6 x 250 mm, 3 μm , linear gradient solvent: 10-100% MeCN/ H_2O with 0.1% formic acid over 15 min, flow rate: 1.0 mL/min. The retention times of AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc are given in parentheses: (9.00 min).

HO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc (18)

To a solution of AllylO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-NBoc (**13**) (10.0 mg, 8.26 μmol , 1.00 equiv.) in 1,4-dioxane/ H_2O = 3/1 (1.50 mL) was added $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (9.56 mg, 8.26 μmol , 100 mol%) and DMBA (1.3 mg, 8.3 μmol , 1.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by chromatography on silica gel (0% to 10% MeOH in CHCl_3).

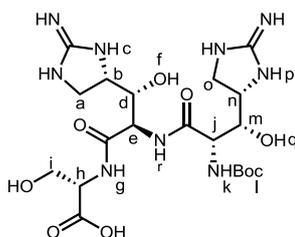
To a solution of the residue in MeOH (0.500 mL), THF (0.500 mL), H_2O (0.125 mL) and HCOOH (65.0 μL) was added $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (20% on carbon, 20.0 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 8 h under H_2 gas atmosphere, the reaction mixture filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase column chromatography (Bond Elut-C18: 5% to 40% MeCN in H_2O , 0.02% TFA) to give HO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-NBoc (**18**) (TFA salt) (3.6 mg, 6.7 μmol , 2 steps 81%) as a white solid.

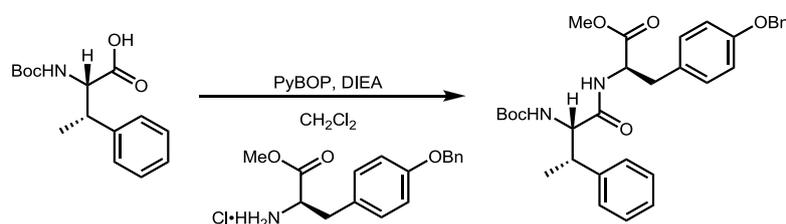
$[\alpha]_{\text{D}}^{24} +7.93$ ($c = 0.30$, $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH} = 1/1$).

^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.27 (brd, 1H, g, $J = 7.8$ Hz), 8.09 (brs, 1H, p), 8.02 (brs, 1H, c), 7.98 (brd, 1H, r, $J = 7.8$ Hz), 7.93 (brs, 1H, p), 7.60 (brs, 1H, c), 7.12-7.16 (m, 1H, k), 5.73 (brs, 1H, q), 5.64 (brs, 1H, f), 4.55 (brd, 1H, e, $J = 7.8$ Hz), 4.29-4.31 (m, 1H, h), 4.09-4.13 (m, 1H, j), 3.92-3.99 (m, 2H, d and n), 3.76-3.82 (m, 1H, b), 3.70-3.74 (m, 1H, m), 3.67-3.71 (m, 1H, i), 3.62-3.65 (m, 2H, i and o), 3.50-3.56 (m, 3H, a and o), 1.37 (s, 9H, l).

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 171.9, 170.6, 169.1, 159.5, 159.3, 155.4, 79.0, 71.7, 71.4, 61.5, 56.4 x 2, 56.2, 55.1, 54.3, 44.9, 43.7.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{N}_9\text{O}_9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 546.2636 found 546.2640.



MeO-D-Tyr(OBn)-(2S,3S)-β-MePhe-NHBoc (21)

To a solution of HO-(2*S*,3*S*)-β-MePhe-NHBoc (**20**) (150 mg, 0.537 mmol, 1.00 equiv.) in CH₂Cl₂ (5.40 mL) was added MeO-D-Tyr-NH₂·HCl (**19**) (190 mg, 0.591 mmol, 1.10 equiv.) and DIEA (0.275 mL, 1.60 mmol, 3.00 equiv.) and PyBOP (363 mg, 0.699 mmol, 1.30 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 3 M HCl and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with H₂O and aqueous NaHCO₃ and brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 40% ethyl acetate in hexane) to give MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*S*)-β-MePhe-NHBoc (**21**) (272 mg, 0.499 mmol, 2 steps 93%) as a white solid.

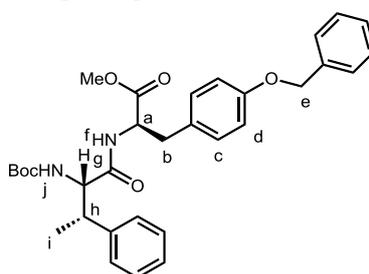
$[\alpha]_D^{22}$ -3.10 ($c = 1.19$, CHCl₃).

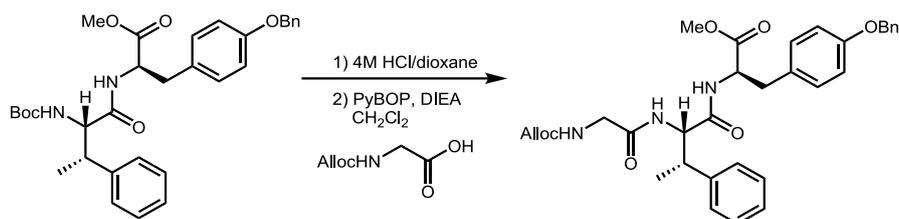
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.16-7.42 (m, 10H, aromatic), 6.96 (d, 2H, c, $J = 8.70$ Hz), 6.87 (d, 2H, d, $J = 8.70$ Hz), 6.18 (d, 1H, f, $J = 6.70$ Hz), 5.02 (s, 2H, e), 4.87 (d, 1H, j, $J = 6.2$ Hz), 4.77 (ddd, 1H, a, $J = 6.3, 6.3, 6.7$ Hz), 4.26-4.30 (m, 1H, g), 3.64 (s, 3H, *OMe*), 3.44-3.46 (m, 1H, h), 2.92-3.01 (m, 2H, b), 1.38 (s, 9H, *tBu*), 1.25 (d, 3H, i, $J = 7.20$ Hz).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.6, 170.6, 157.0, 155.5, 141.4, 137.0, 130.2, 128.6 x 2, 128.0, 127.9, 127.5 x 2, 127.0, 115.0, 80.0, 70.0, 60.0, 53.3, 52.2, 40.9, 37.2, 28.3, 17.0.

FT-IR (neat) 3683, 3421, 3019, 2400, 1689, 1511, 1217, 760 cm⁻¹.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₃₂H₃₉N₂O₆ [M+H]⁺ 547.2808 found 547.2816.

**MeO-D-Tyr(OBn)-(2S,3S)-β-MePhe-Gly-NHAlloc (24)**



To MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*S*)-β-MePhe-NHBoc (**21**) (110 mg, 192 μmol, 1.00 equiv.) was added a solution of 4 M HCl/1,4-dioxane (4.00 mL) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (2.00 mL) and was added HO-Gly-NHAlloc (**23**) (36.6 mg, 0.230 mmol, 1.20 equiv.), DIEA (99.3 μL, 0.576 mmol, 3.00 equiv.), and PyBOP (150 mg, 0.288 mmol, 1.50 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 3 M HCl and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with H₂O, a saturated aqueous NaHCO₃ and brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 40% ethyl acetate in hexane) to give MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*S*)-β-MePhe-Gly-NHAlloc (**24**) (111 mg, 175 μmol, 2 steps 91%) as a white solid.

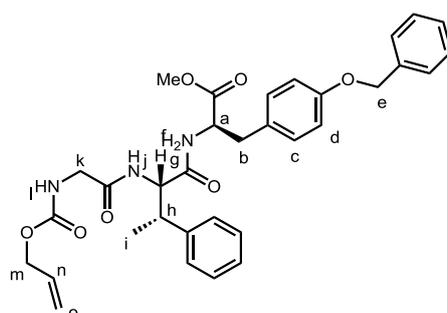
$[\alpha]_D^{22}$ -6.18 (*c* = 1.00, CHCl₃).

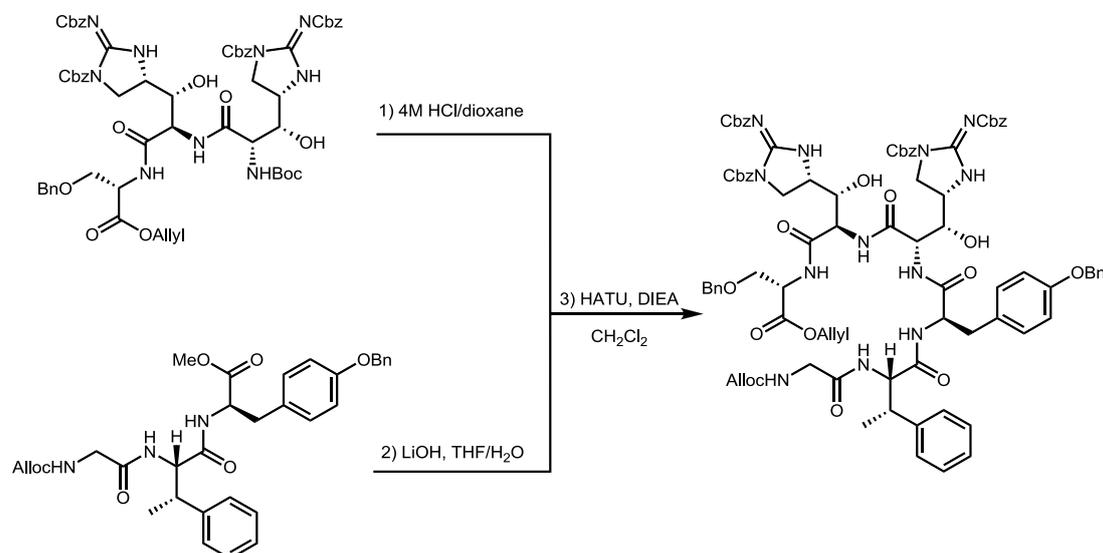
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.11-7.42 (m, 10H, aromatic), 6.99 (d, 2H, *c*, *J* = 8.7 Hz), 6.89 (d, 2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.43 (d, 1H, *j*, *J* = 8.2 Hz), 6.37 (d, 1H, *f*, *J* = 7.3 Hz), 6.02-6.04 (m, 1H, *n*), 5.20-5.31 (m, 3H, *l* and *o*), 5.03 (s, 2H, *e*), 4.75 (ddd, 1H, *a*, *J* = 6.8, 6.8, 7.3 Hz), 4.58 (dd, 1H, *g*, *J* = 6.3, 8.2 Hz), 4.53 (d, 2H, *m*, *J* = 5.3 Hz), 3.64-3.77 (m, 5H, *k* and *OMe*), 3.39 (dd, 1H, *h*, *J* = 6.3, 6.8 Hz), 2.91-3.02 (m, 2H, *b*), 1.23 (d, 3H, *i*, *J* = 6.8 Hz).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.8, 170.3, 169.3, 158.0, 156.4, 141.2, 137.0, 132.5, 130.3, 128.6, 128.2, 127.8, 126.8, 118.0, 115.1, 76.8, 70.5, 66.1, 58.6, 53.7, 52.4, 47.9, 44.5, 41.1, 37.1, 17.3, 17.3.

FT-IR (neat) 3411, 3300, 3017, 2400, 1735, 1654, 1510, 1214, 752 cm⁻¹.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₃₃H₃₈N₃O₇ [M+H]⁺ 588.2710 found 588.2710.



AllylO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-D-Tyr-(2S,3S)- β -MePhe-Gly-NHAlloc (25)


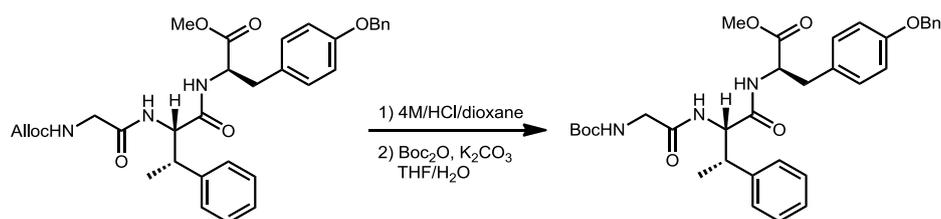
To AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc (**13**) (9.0 mg, 7.4 μ mol, 1.0 equiv.) was added a solution of 4 M HCl/1,4-dioxane (2.0 mL) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue (**13'**) was used for the next reaction without further purification.

To a solution of MeO-D-Tyr(OBn)-(2S,3S)- β -MePhe-Gly-NHAlloc (**24**) (7.0 mg, 11 μ mol, 1.5 equiv.) in THF (0.30 mL) and H₂O (60 μ L) was added LiOH (1.7 mg, 36 μ mol, 4.9 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue (**24'**) was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue (**13'**) in CH₂Cl₂ (0.25 mL) was added the residue (**24'**) and DIEA (5.1 μ L, 30 μ mol, 4.0 equiv.) and HATU (8.4 mg, 22 μ mol, 3.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 4% MeOH in CHCl₃) to give AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-D-Tyr(OBn)-(2S,3S)- β -MePhe-Gly-NHAlloc (**25**) (9.9 mg, 5.9 μ mol, 2 steps 80%) as a white solid.

HLRMS (ESI-TOF) calcd for C₈₁H₈₂N₁₂O₁₈ [M+H]⁺ 1667.74, found 1667.75.

MeO-D-Tyr(OBn)-(2S,3S)- β -MePhe-Gly-NHBoc (30)



To a solution of MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*S*)-β-MePhe-Gly-NAlloc (**24**) (30.0 mg, 47.5 μmol, 1.00 equiv.) in 1,4-dioxane/H₂O = 3/1 (1.00 mL) was added Pd(PPh₃)₄ (3.0 mg, 2.6 μmol, 10 wt%) and DMBA (7.4 mg, 47.5 μmol, 1.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in THF (1.40 mL) and H₂O (0.700 mL) was added Boc₂O (51.2 mg, 0.238 mmol, 5.00 equiv.) and K₂CO₃ (19.6 mg, 0.142 mmol, 3.00 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 2 M aqueous NaHSO₄ and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with saturated aqueous NaHCO₃ and brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0 % to 40 % ethyl acetate in hexane) to give MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*S*)-β-MePhe-Gly-NHBoc (**30**) (24.1 mg, 39.0 μmol, 2 steps 82%) as a white solid.

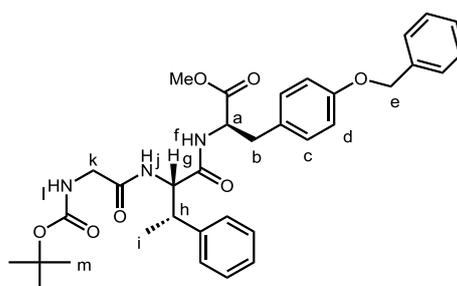
$[\alpha]_D^{23}$ -7.12 (*c* = 0.935, CHCl₃).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.11-7.42 (m, 10H, aromatic), 6.99 (d, 2H, *c*, *J* = 8.7 Hz), 6.88 (d, 2H, *d*, *J* = 8.7 Hz), 6.51 (d, 1H, *j*, *J* = 8.2 Hz), 6.47 (d, 1H, *f*, *J* = 7.7 Hz), 5.03-5.07 (m, 1H, *l*), 5.03 (s, 2H, *e*), 4.73 (ddd, 1H, *a*, *J* = 6.8, 6.8, 7.7 Hz), 4.60 (dd, 1H, *g*, *J* = 6.3, 8.2 Hz), 3.62-3.70 (m, 5H, *k* and *OMe*), 3.39 (dd, 1H, *h*, *J* = 6.3, 7.2 Hz), 2.92-3.02 (m, 2H, *b*), 1.41 (s, 9H, *tBu*), 1.23 (d, 3H, *i*, *J* = 7.23 Hz).

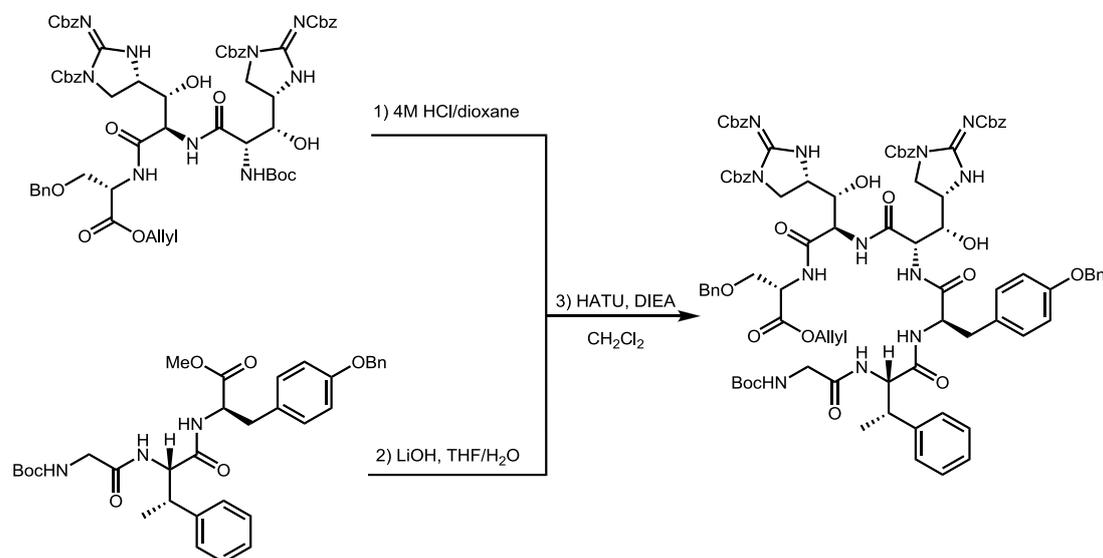
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.7, 170.0, 169.4, 158.6, 141.2, 137.0, 130.2, 129.1, 128.7, 128.6, 128.2, 128.0, 127.8, 127.5, 127.2, 125.4, 115.1, 80.4, 70.0, 58.4, 53.6, 52.3, 44.3, 40.9, 37.1, 21.5, 17.0.

FT-IR (neat) 3291, 3017, 1743, 1649, 1511, 1367, 1245, 1175, 1026, 747 cm⁻¹.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₃₄H₄₂N₃O₇ [M+H]⁺ 604.3022 found 604.3024.



AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-Tyr(OBn)-(2S,3S)-β-MePhe-Gly-NBoc (31)



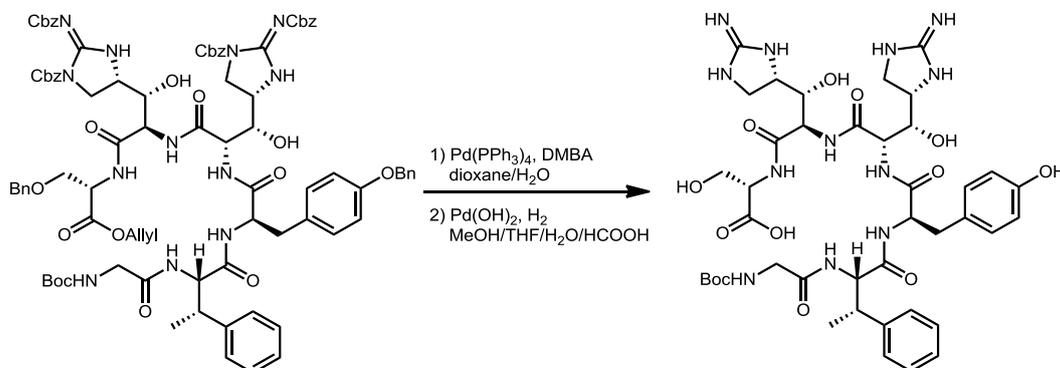
To AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc (**13**) (9.0 mg, 7.4 μmol, 1.0 equiv.) was added a solution of 4 M HCl/1,4-dioxane (2.0 mL) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue (**13'**) was used for the next reaction without further purification.

To a solution of MeO-D-Tyr(OBn)-(2S,3S)-β-MePhe-Gly-NHBoc (**30**) (7.1 mg, 11 μmol, 1.5 equiv.) in THF (0.30 mL) and H₂O (60 μL) was added LiOH (1.7 mg, 36 μmol, 4.9 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue (**30'**) was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue (**13'**) in CH₂Cl₂ (0.25 mL) was added the residue (**30'**) and DIEA (5.1 μL, 30 μmol, 4.0 equiv.) and HATU (8.4 mg, 22 μmol, 3.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 4% MeOH in CHCl₃) to give AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-D-Tyr(OBn)-(2S,3S)-β-MePhe-Gly-NBoc (**31**) (10.0 mg, 5.9 μmol, 2 steps 80%) as a white solid.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₈₁H₈₂N₁₂O₁₈ [M+H]⁺ 1683.7048 found 1683.7085.

HO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-Tyr(OBn)-(2S,3S)- β -MePhe-Gly-NBoc (35)



To a solution of AllylO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-D-Tyr-(2S,3S)- β -MePhe-Gly-NBoc (**31**) (4.0 mg, 2.4 μ mol, 1.0 equiv.) in 1,4-dioxane/H₂O = 3/1 (1.00 mL) was added Pd(PPh₃)₄ (0.4 mg, 0.35 μ mol, 10 wt%) and DMBA (0.4 mg, 2.4 μ mol, 1.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

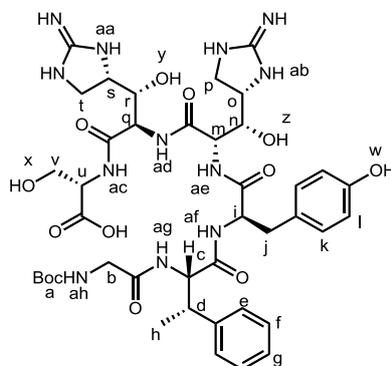
To a solution of the residue in MeOH (0.500 mL), THF (0.500 mL), H₂O (125 μ L) and HCOOH (62.5 μ L) was added Pd(OH)₂ (20% on carbon, 8.0 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h under H₂ gas atmosphere, the reaction mixture filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase column chromatography (Bond Elut-C18: 0% to 40% MeOH in H₂O, 0.02% TFA) to give HO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-Tyr-(2S,3S)- β -MePhe-Gly-NBoc (**35**) (TFA salt) (2.4 mg, 2.3 μ mol, 2 steps 67%) as a white solid. NMR spectra were observed as mixture of rotamers. NMR spectra of major rotamer were shown below:

$[\alpha]_D^{23} +38$ (c = 0.090, H₂O/MeOH = 1/1).

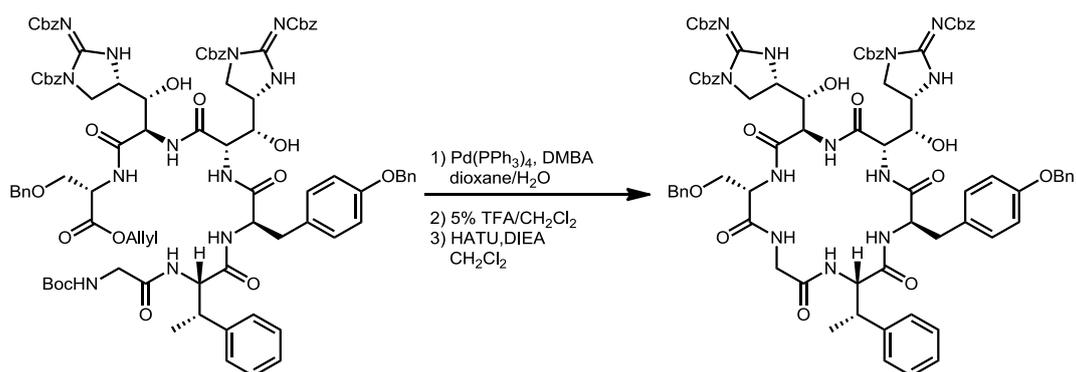
¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) major rotamer: δ 9.20 (brs, 1H, w), 8.66 (brs, 1H, ad), 8.41 (brs, 1H, ae), 8.22 (brs, 1H, af), 8.18 (brs, 1H, ag), 7.60-8.10 (m, 6H, aa, and ab), 7.32 (brd, 1H, ag, *J* = 6.6 Hz), 7.13 (d, 2H, k, *J* = 8.4 Hz), 7.08-7.13 (m, 3H, f and g), 6.91-6.89 (m, 1H, ah), 6.80-6.83 (m, 2H, e), 6.65-6.68 (m, 2H, l), 5.69 (brs, 2H, y and z), 4.56-4.58 (m, 1H, c), 4.52-4.55 (m, 1H, i), 4.50-4.53 (m, 1H, q), 4.40-4.42 (m, 1H, m), 4.23-4.25 (m, 1H, u), 3.90-3.92 (m, 1H, r), 3.84-3.86 (m, 1H, s), 3.64-3.70 (m, 3H, n, v, and o), 3.57-3.63 (m, 2H, v and p), 3.52-3.54 (m, 2H, t), 3.46-4.49 (m, 1H, b), 3.37-3.42 (m, 1H, p), 3.35-3.39 (m, 1H, v), 3.33-3.35 (m, 1H, b), 2.87-2.90 (m, 1H, j), 2.82-2.85 (m, 1H, d), 2.66-2.68 (m, 1H, j), 1.34 (s, 9H, a), 0.88 (brs, 3H, h).

¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) major rotamer: δ 172.3, 171.8, 170.7, 170.3, 169.4, 169.1, 159.5, 159.3, 156.2, 155.9, 142.4, 130.5, 128.1, 127.9, 127.8, 126.4, 115.1, 78.4, 72.0, 70.8, 61.7, 57.1, 56.3 x

2, 55.0, 54.7, 55.4, 55.3, 44.7, 43.4, 43.2, 42.0, 37.3, 28.3, 18.5; HRMS (ESI-TOF) calcd for $C_{41}H_{59}N_{12}O_{13}$ $[M+H]^+$ 927.4324 found 927.4351.



Macrolactam (36)



To a solution of AllylO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-D-Tyr-(2*S*,3*S*)- β -MePhe-Gly-NHBoc (**31**) (10.4 mg, 6.2 μ mol, 1.00 equiv.) in 1,4-dioxane/ H_2O 3/1 (1.00 mL) was added $Pd(PPh_3)_4$ (1.0 mg, 0.90 μ mol, 10 wt%) and DMBA (1.0 mg, 6.2 μ mol, 1.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

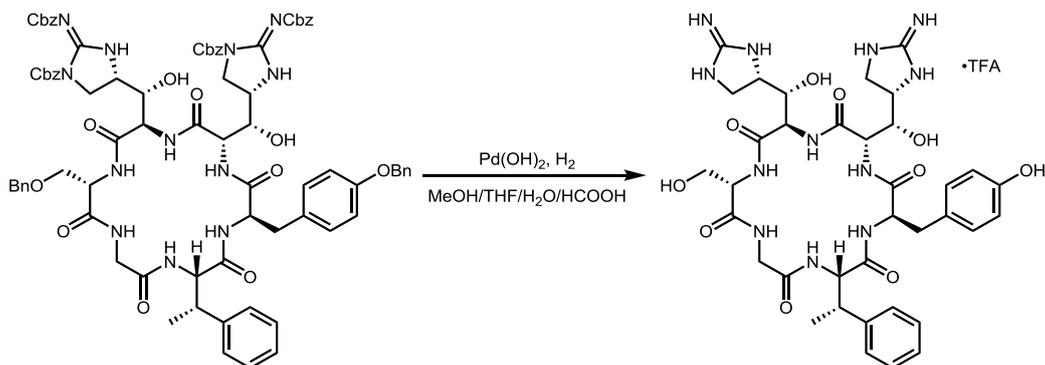
To the residue in CH_2Cl_2 (0.500 mL) was added TFA (25.0 μ L) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH_2Cl_2 (3.09 mL) was added DIEA (4.3 μ L, 25 μ mol, 4.0 equiv.) and HATU (11.7 mg, 30.9 μ mol, 5.00 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 5% MeOH in $CHCl_3$) to give macrolactam (**36**) (6.4 mg,

4.2 μmol , 3 steps 68%) as a white solid.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{81}\text{H}_{82}\text{N}_{12}\text{O}_{18}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1525.6105 found 1525.6111.

Mannopectimycin aglycone (**37**)



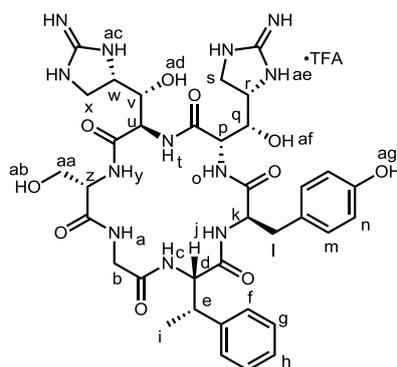
To a solution of macrolactam (**36**) (4.0 mg, 2.6 μmol , 1.0 equiv.) in MeOH (0.50 mL), THF (0.50 mL), H_2O (130 μL) and HCOOH (63 μL) was added $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (20% on carbon, 8.0 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h under H_2 gas atmosphere then filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase column chromatography (Bond Elut-C18: 0% to 40% MeOH in H_2O , 0.02% TFA) to give mannopectimycin aglycone (**37**) (TFA salt) (2.0 mg, 2.1 μmol , 82%) as a white solid.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -1.7$ ($c = 0.05$, H_2O).

^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.12 (brs, 1H, ag), 8.50 (d, 1H, j, $J = 9.0$ Hz), 8.49, (d, 1H, t, $J = 6.0$ Hz), 8.04, (brs, 1H, ae), 8.00 (d, 1H, y, $J = 7.8$ Hz), 7.94 (brs, 1H, c), 7.82 (d, 1H, o, $J = 9.0$ Hz), 7.80-7.82 (m, 1H, ac), 7.79 (t, 1H, a, $J = 6.0$ Hz), 7.77-7.79 (m, 1H, ae), 7.73 (brs, 1H, ac or ae), 7.67 (brs, 1H, ac or ae), 7.63 (d, 1H, c, $J = 9.1$ Hz), 7.18 (dd, 2H, g, $J = 7.2, 7.2$ Hz), 7.12 (t, 1H, h, $J = 7.2$ Hz), 7.08 (d, 2H, m, $J = 8.5$ Hz), 6.99 (d, 2H, f, $J = 7.2$ Hz), 6.63 (d, 2H, n, $J = 8.5$ Hz), 5.58 (d, 1H, ad, $J = 5.6$ Hz), 5.49 (d, 1H, af, $J = 5.9$ Hz), 4.99 (t, 1H, ab, $J = 5.3$ Hz), 4.54-4.56 (m, 1H, p), 4.52-4.55 (m, 1H, k), 4.39 (dd, 1H, d, $J = 9.1, 9.1$ Hz), 4.22 (dd, 1H, z, $J = 7.8, 13.8$ Hz), 4.17 (dd, 1H, u, $J = 6.0, 6.0$ Hz), 3.90 (brdd, 1H, v, $J = 5.6, 6.0$ Hz), 3.81-3.84 (m, 1H, w), 3.76-3.78 (m, 1H, r), 3.63-3.65 (m, 1H, q), 3.61-3.63 (m, 2H, s), 3.57-3.59 (m, 2H, x), 3.58 (brd, 1H, aa, $J = 5.3$ Hz), 3.52 (brdd, 1H, aa, $J = 5.3, 13.8$ Hz), 3.49-3.51 (m, 1H, b), 3.46-3.48 (m, 1H, b), 2.93 (dd, 1H, l, $J = 4.4, 13.5$ Hz), 2.80 (dd, 1H, e, $J = 6.7, 9.1$ Hz), 2.64 (dd, 1H, l, $J = 10.6, 13.5$ Hz), 0.72 (d, 3H, i, $J = 6.7$ Hz).

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 171.0, 170.9, 170.1, 169.9, 169.3, 168.1, 159.3 x 2, 156.0, 143.2, 130.4, 128.1 x 2, 127.7, 126.4, 115.0, 70.7, 70.4, 60.8, 57.4, 56.7, 56.3, 56.2, 54.4 x 2, 53.5, 43.6, 42.8, 42.2, 41.0, 35.8, 19.1.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{81}\text{H}_{82}\text{N}_{12}\text{O}_{18}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 809.3694 found 809.3701.



Confirmation of stereochemistry

LC/MS analysis of Marfey's (FDAA) derivatives

Analysis for MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*, 3*S*)- β -MePhe-Gly-NHBoc (**30**)

To a solution of MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*, 3*S*)- β -MePhe-Gly-NHBoc (**30**) (1.0 mg) in MeOH (0.25 mL) was added Pd(OH)₂ (20% on carbon, 0.2 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 8 h under H₂ gas atmosphere, the reaction mixture was added THF (200 μ L), H₂O (40 μ L) and LiOH·H₂O (0.3 mg, 8.0 μ mol, 4.9 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

The residue was dissolved in degassed 6 N HCl (0.5 mL) in a sealed vial and heated at 100 °C for 16 h. The solvent and the acid were removed *in vacuo* and the residue was dissolved in H₂O (0.1 mL). The solution was then treated with 6.0% triethylamine (30 μ L) and 1.0% 1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5-L-alanineamide (FDAA) in acetone (40 μ L) at 40 °C for 1 h. The reaction mixture was diluted with 1:1 acetonitrile/H₂O (0.2 mL) and the resulting solution was analyzed by HPLC. The mobile phase was monitored by both UV absorption and negative ESIMS.

Analysis for AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-Tyr(OBn)- β -MePhe-Gly-NBoc (**31**)

To a solution of AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-Tyr(OBn)- β -MePhe-Gly-NBoc (**31**) (1.0 mg) in 1,4-dioxane/H₂O = 3/1 (200 μ L) was added Pd(PPh₃)₄ (0.1 mg) and DMBA (0.1 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was added MeOH (0.400 mL), THF (0.400 mL), H₂O (0.100 mL), HCOOH (50.0 μ L) and Pd(OH)₂ (20% on carbon, 2.0 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h under H₂ gas atmosphere, the reaction mixture was filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase column chromatography (Bond Elut-C18: 0% to 40% MeOH in H₂O, 0.02%

TFA).

The eluted compound was dissolved in degassed 6 N HCl (0.5 mL) in a sealed vial and heated at 100 °C for 16 h. The solvent and the acid were removed *in vacuo* and the residue was dissolved in H₂O (0.1 mL) The solution was then treated with 6.0% triethylamine (30 μL) and 1.0% 1-fluoro-2, 4-dinitrophenyl-5-L-alanineamide (FDAA) in acetone (40 μL) at 40 °C for 1 h. The reaction mixture was diluted with 1:1 acetonitrile/H₂O (0.2 mL) and the resulting solution was analyzed by HPLC. The mobile phase was monitored by both UV absorption and negative ESIMS.

Analysis for Mannopectimycin aglycone (37)

Mannopectimycin aglycone (37) (0.3 mg) was dissolved in degassed 6 N HCl (0.5 mL) in a sealed vial and heated at 100 °C for 16 h. The solvent and the acid were removed *in vacuo* and the residue was dissolved in H₂O (0.1 mL) The solution was then treated with 6.0% triethylamine (30 μL) and 1.0% 1-fluoro-2, 4-dinitrophenyl-5-L-alanineamide (FDAA) in acetone (40 μL) at 40 °C for 1 h. The reaction mixture was diluted with 1:1 acetonitrile/H₂O (0.2 mL) and the resulting solution was analyzed by HPLC. The mobile phase was monitored by both UV absorption and negative ESIMS.

HPLC method A

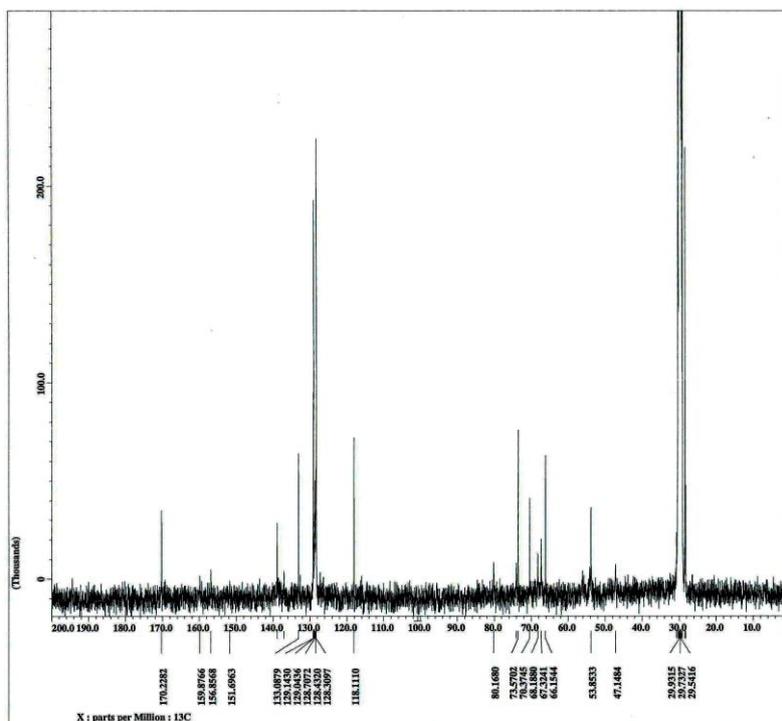
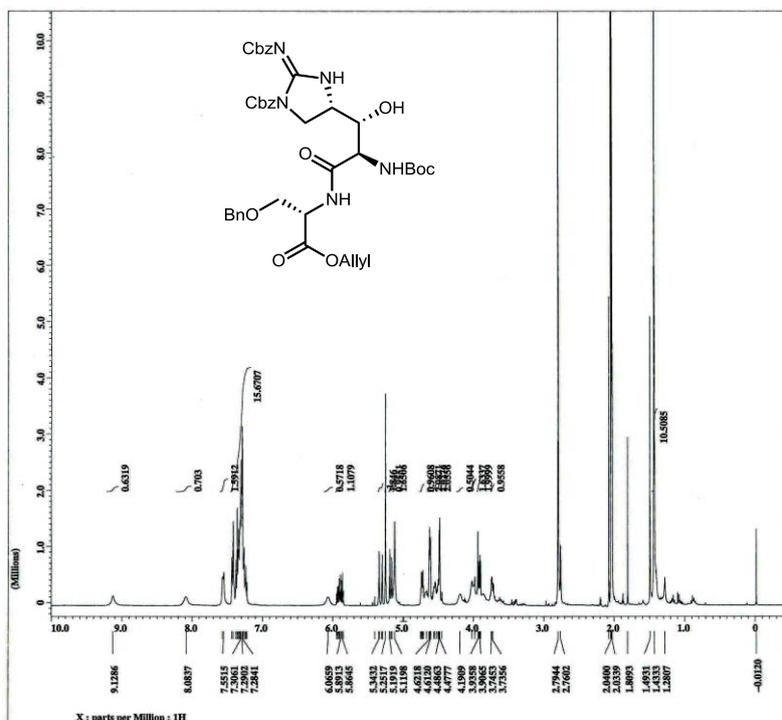
Inertsil[®] ODS-3 column: 4.6 x 250 mm, 3 μm, linear gradient solvent: 10-100% MeCN/H₂O with 0.1% formic acid over 30 min, flow rate: 1.0 mL/min. The retention times and the negative ion, (M-H)⁻, of the FDAA derivatives of the amino acids are given in parentheses: (2S, 3S)-β-MePhe (20.73 min, *m/z* 430), standard sample (2S,3S)-β-MePhe (20.73 min, *m/z* 430). D-Tyr (12.07 min, *m/z* 432; 17.22 min, *m/z* 684) , standard sample D-Tyr (12.15 min, *m/z* 432; 17.37 min, *m/z* 684), standard sample L-Tyr (11.90 min, *m/z* 432; 16.60 min, *m/z* 684).

HPLC method B

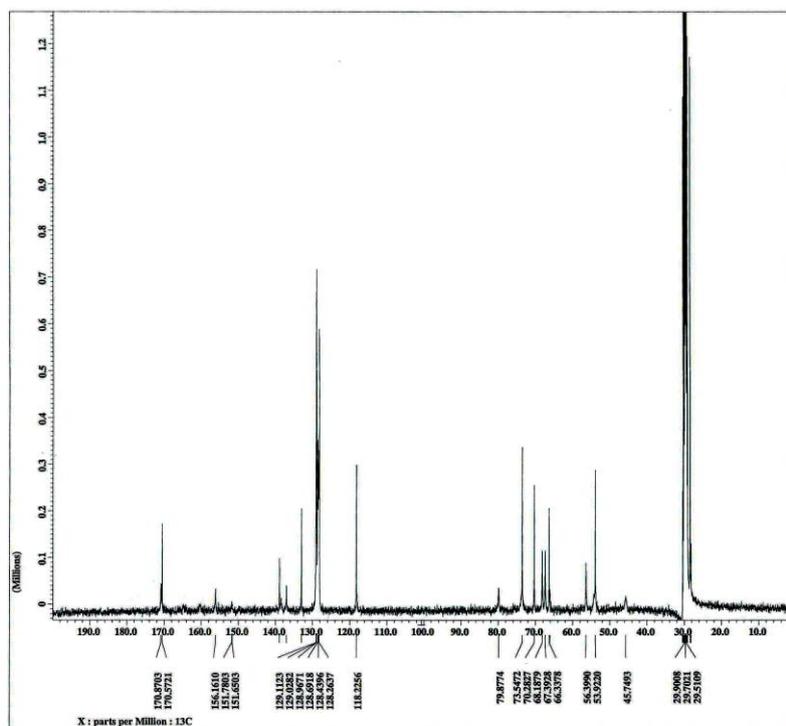
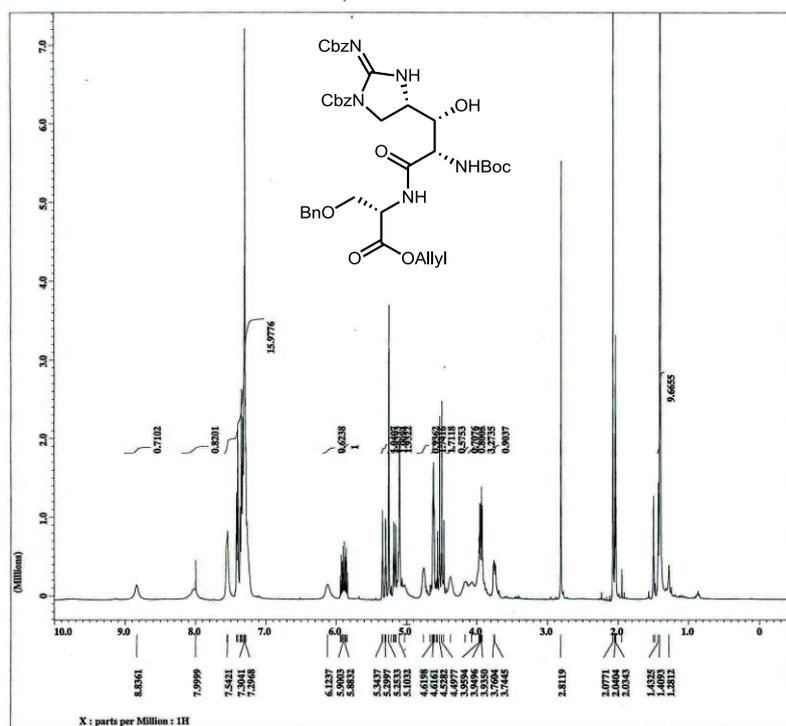
Inertsil[®] ODS-3 column: 4.6 x 250 mm, 3 μm, linear gradient solvent: 30-70% MeCN/H₂O with 0.1% formic acid over 30 min, flow rate: 1.0 mL/min. The retention times and the negative ion, (M-H)⁻, of the FDAA derivatives of the amino acids are given in parentheses: L-Ser (8.57 min, *m/z* 356), standard sample L-Ser (8.57 min, *m/z* 356), standard sample D-Ser (8.80 min, *m/z* 356)

NMR spectra

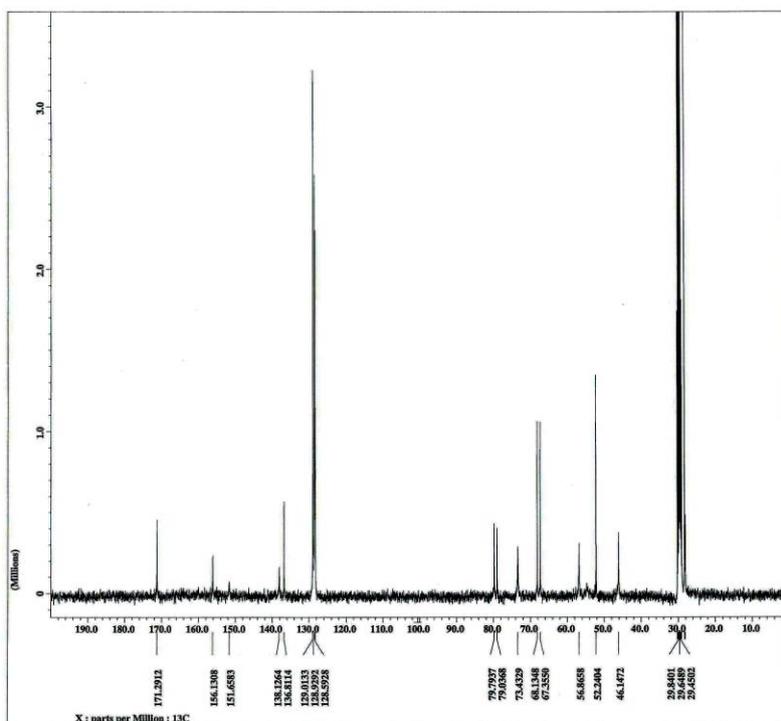
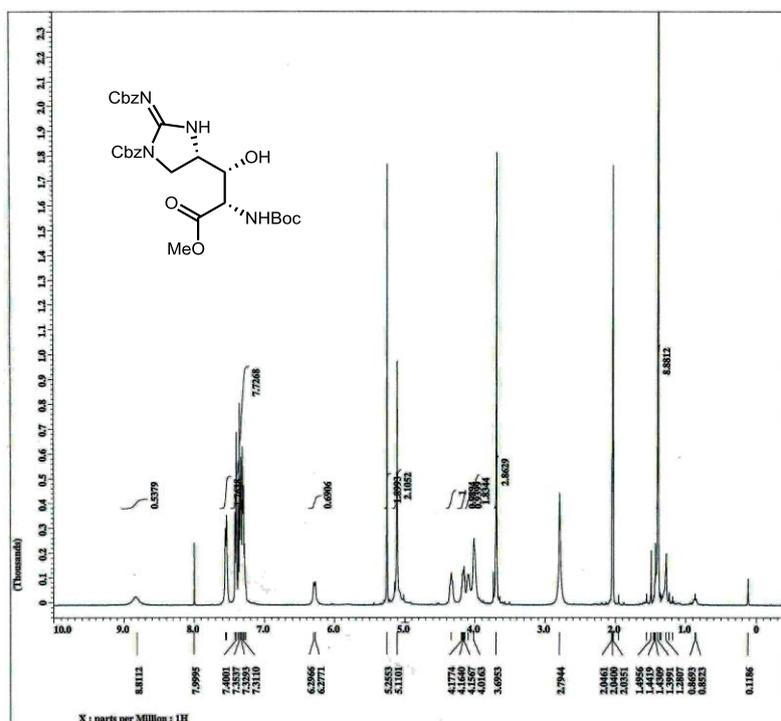
AllyO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-NHBoc (4)



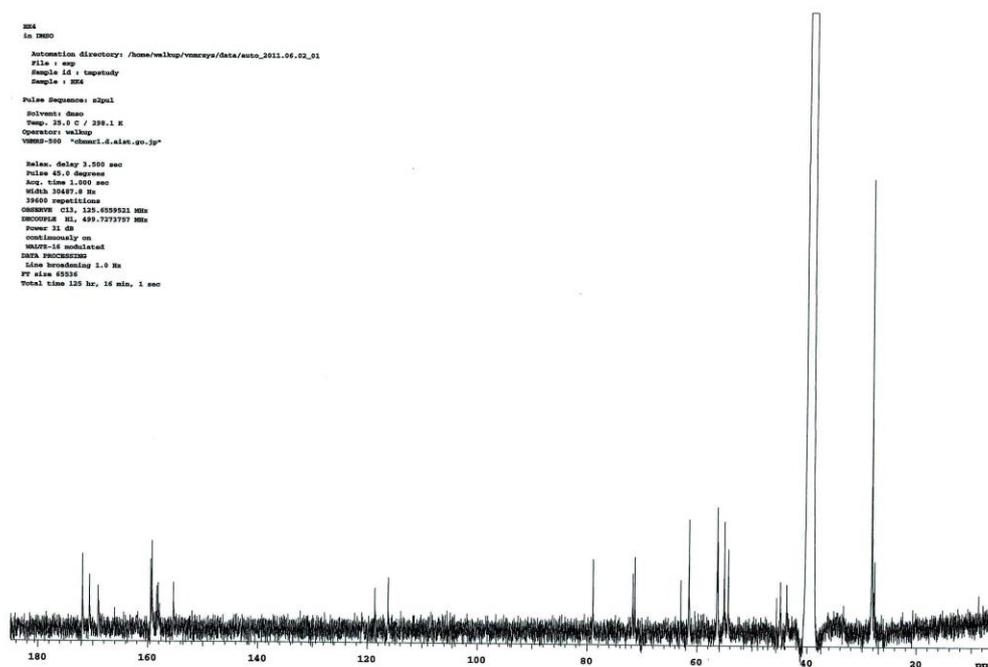
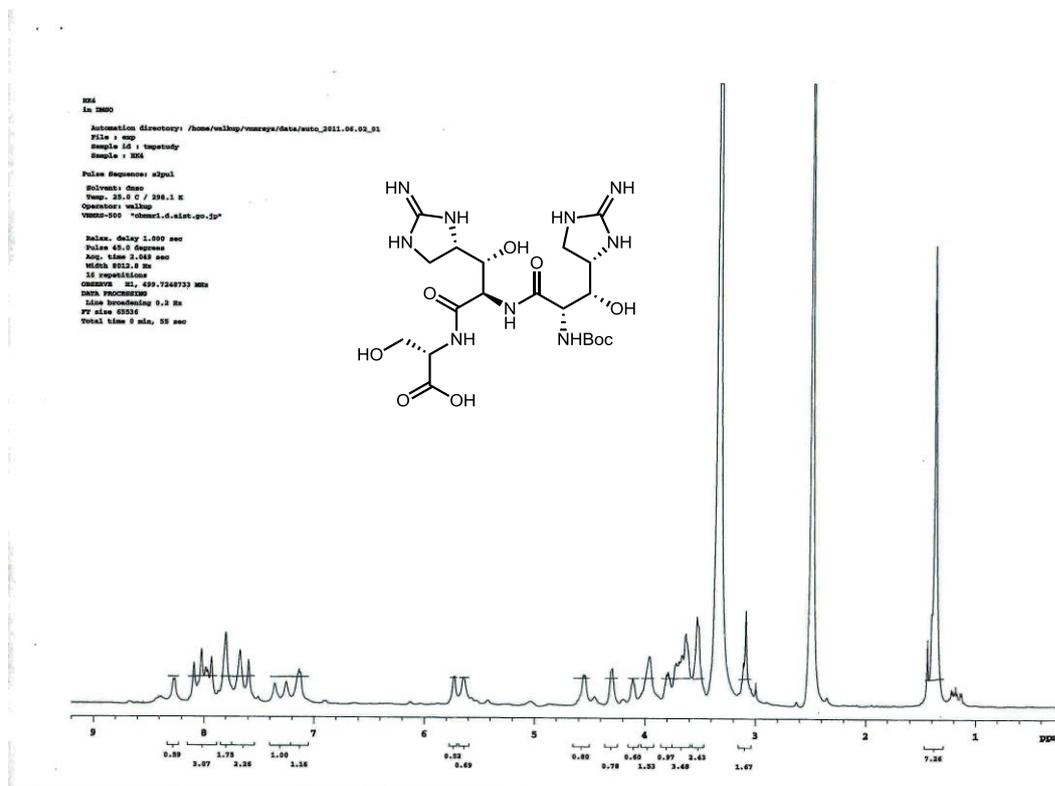
AllylO-L-Ser(OBn)-Aihha-A-NHBoc (4')



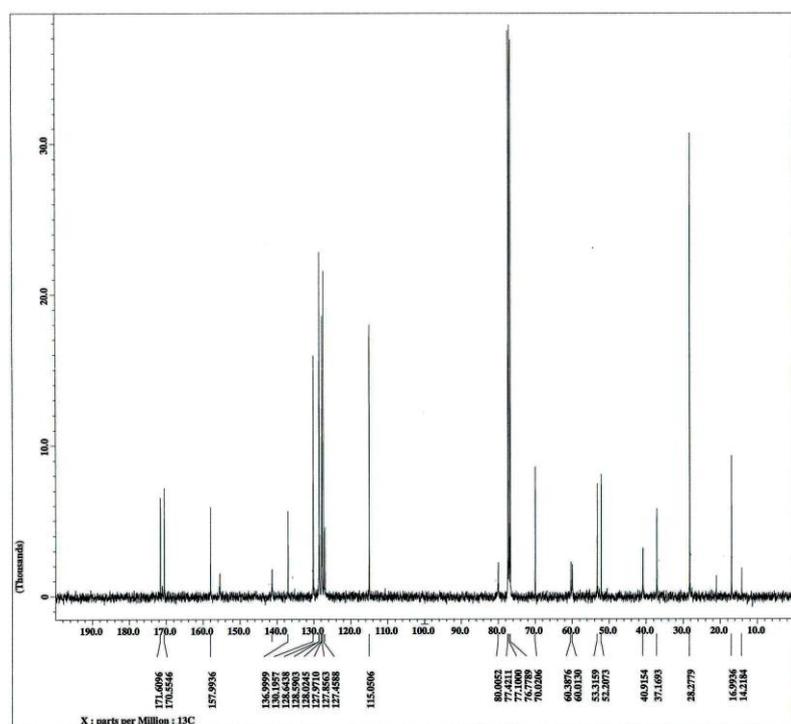
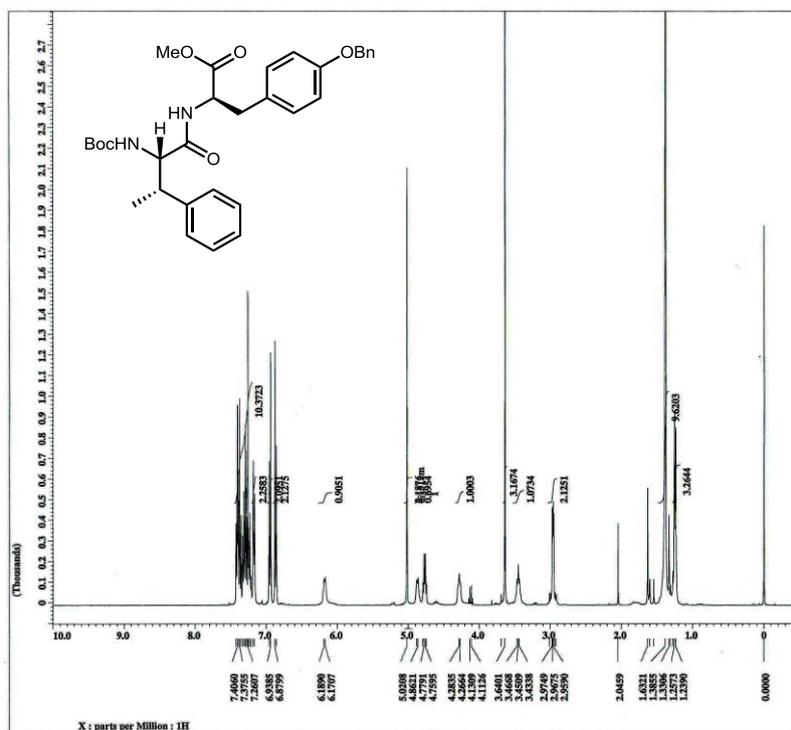
Amino alcohol (9)



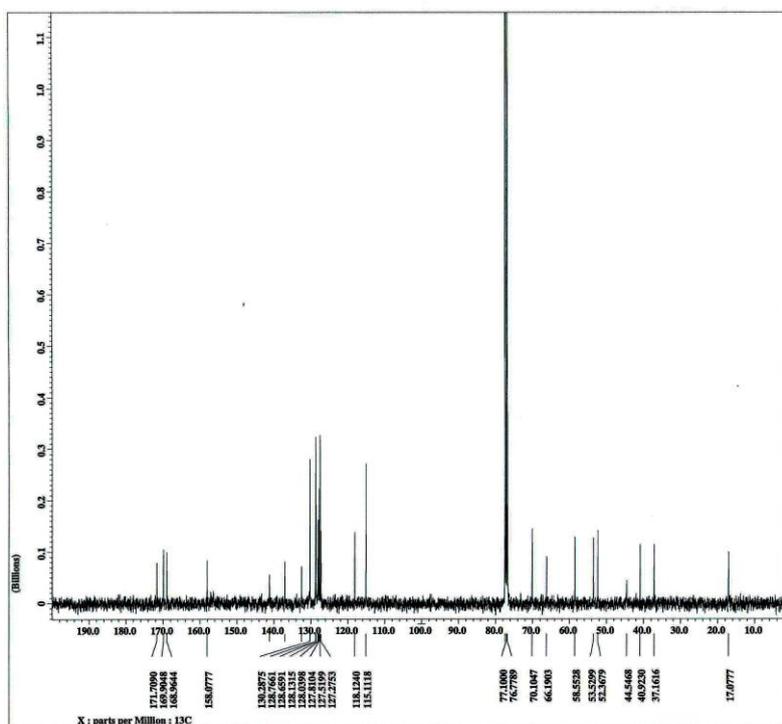
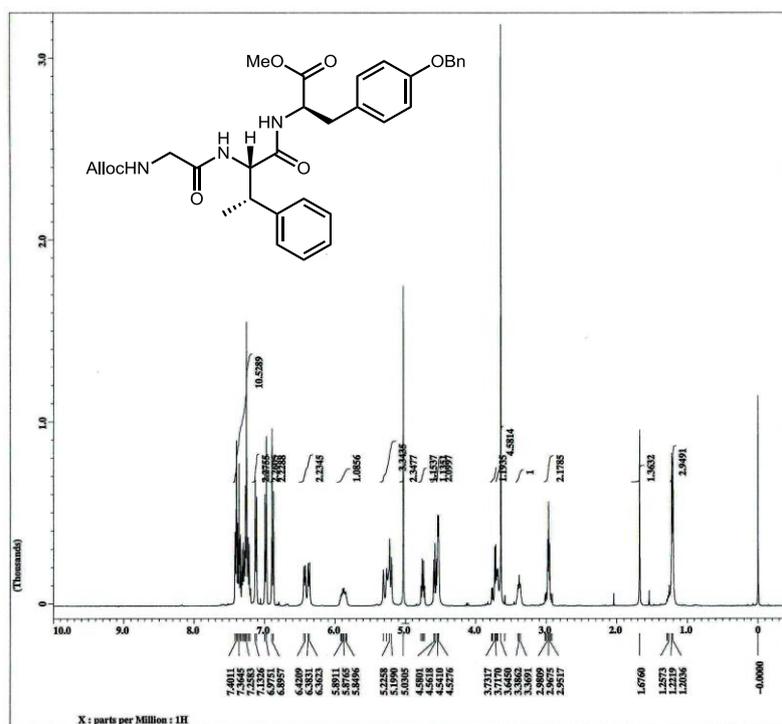
HO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc (18) (TFA salt)



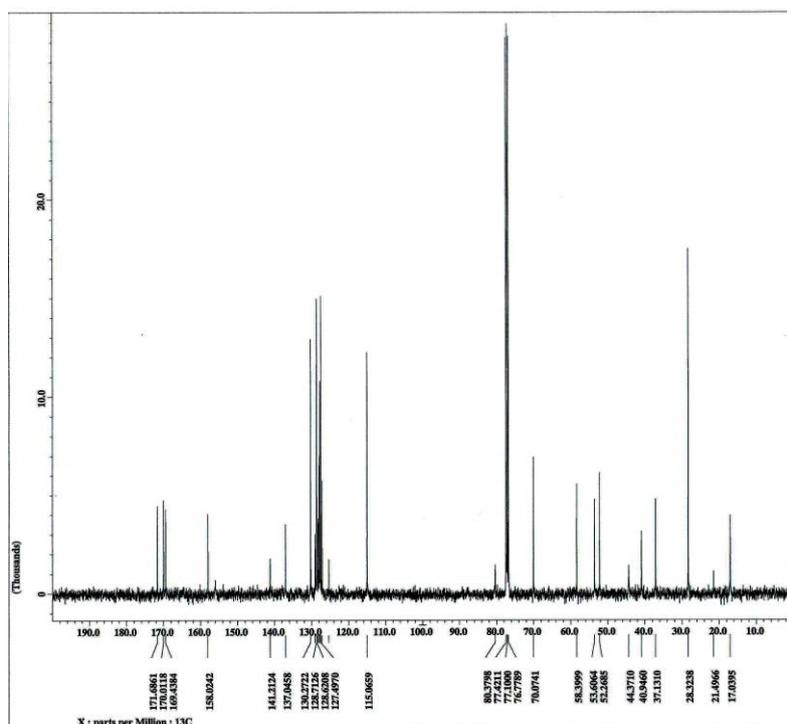
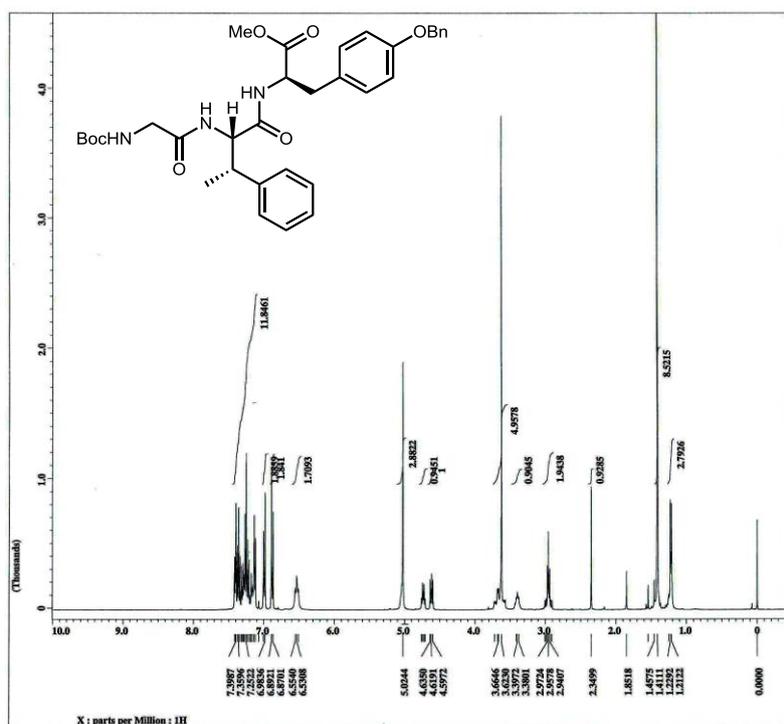
MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*S*)- β -MePhe-NHBoc (21)



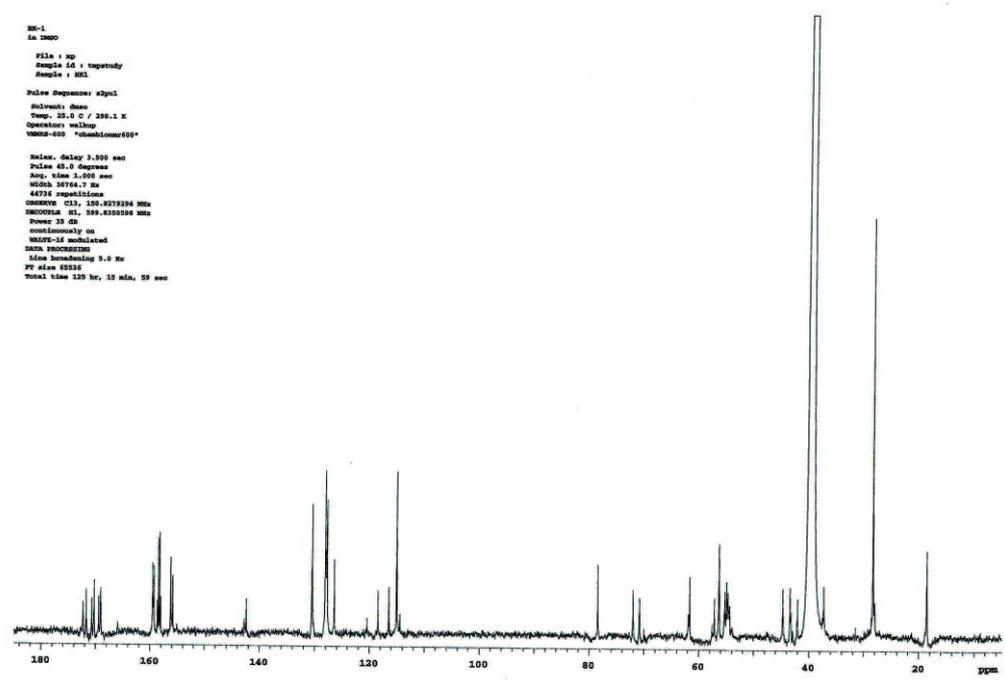
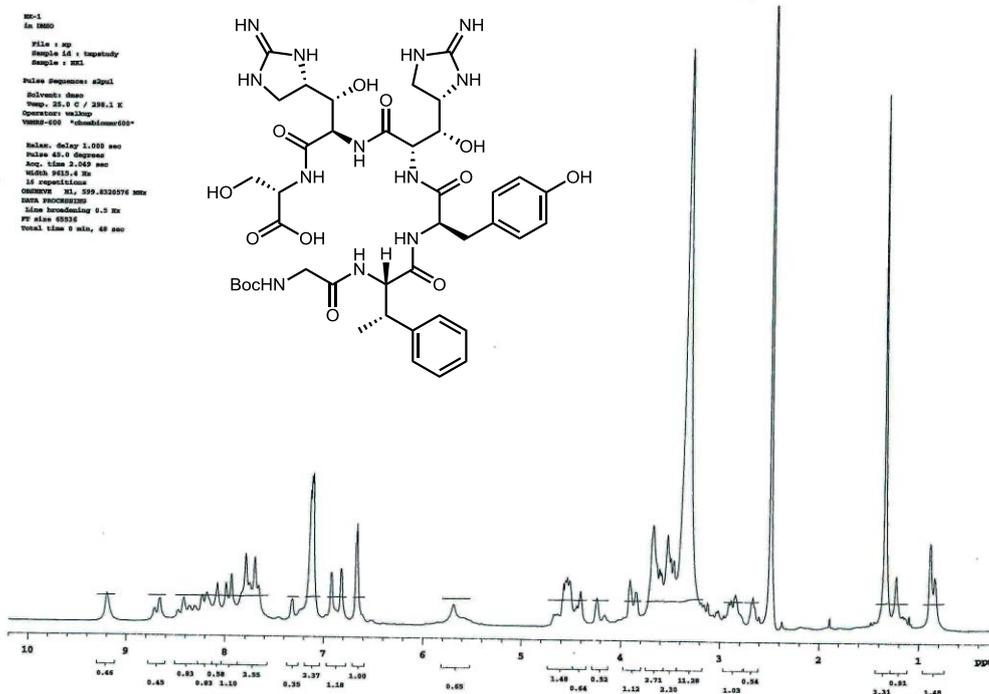
MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*S*)- β -MePhe-Gly-NHAlloc (24)



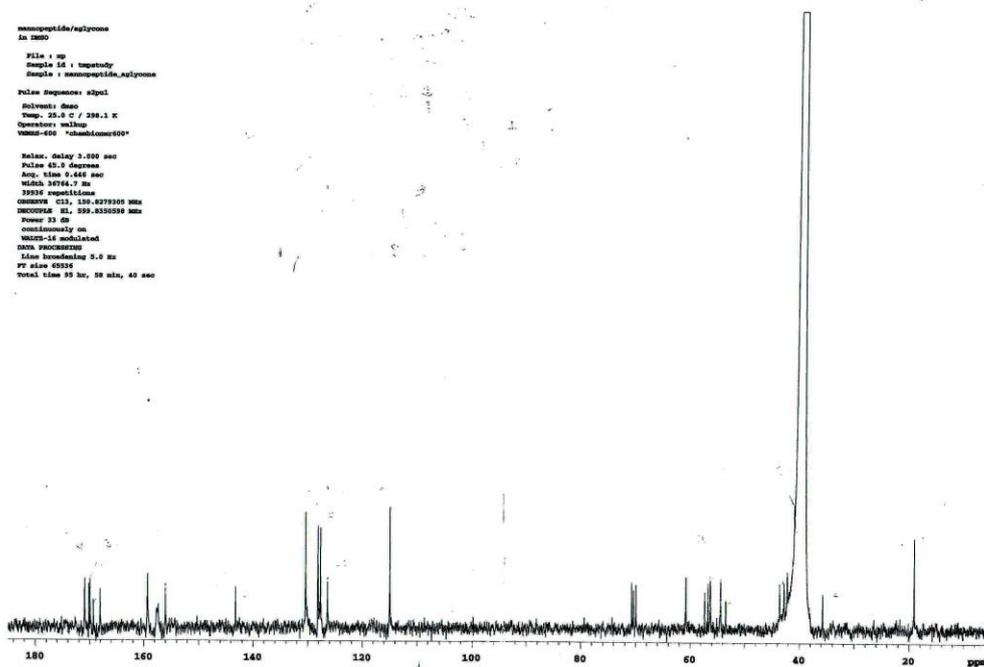
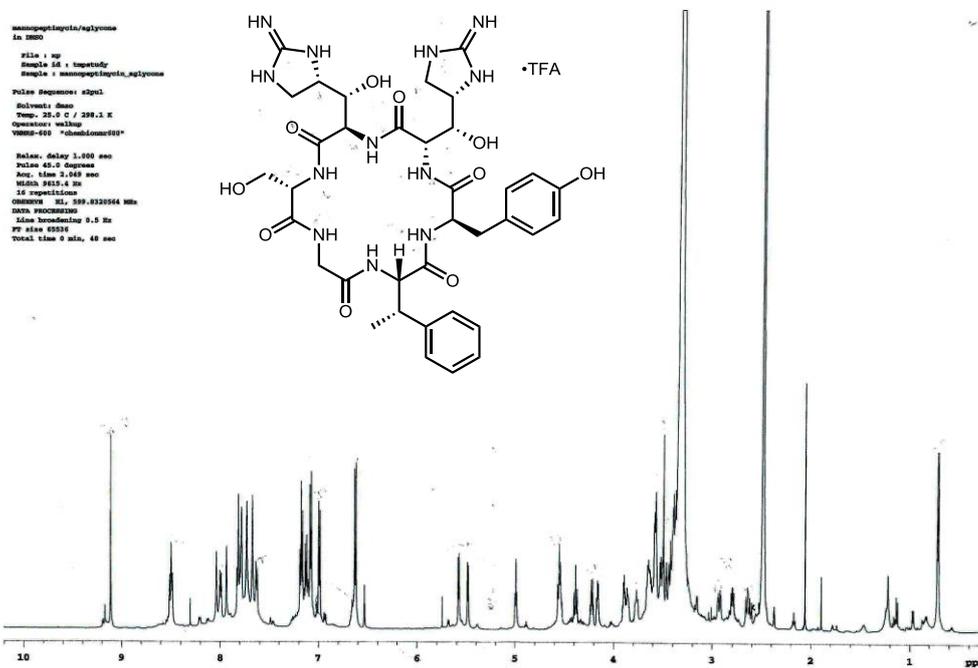
MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*S*)- β -MePhe-Gly-NHBoc (30)



HO-L-Ser(OBn)-Aiiha-B-Aiiha-A-Tyr(OBn)-(2S,3S)-β-MePhe-Gly-NHBoc (35) (TFA salt)



Proposed mannopeptimycin aglycone (37) (TFA salt)



第四章

「マンノペプチマイシンアグリコン の構造訂正」

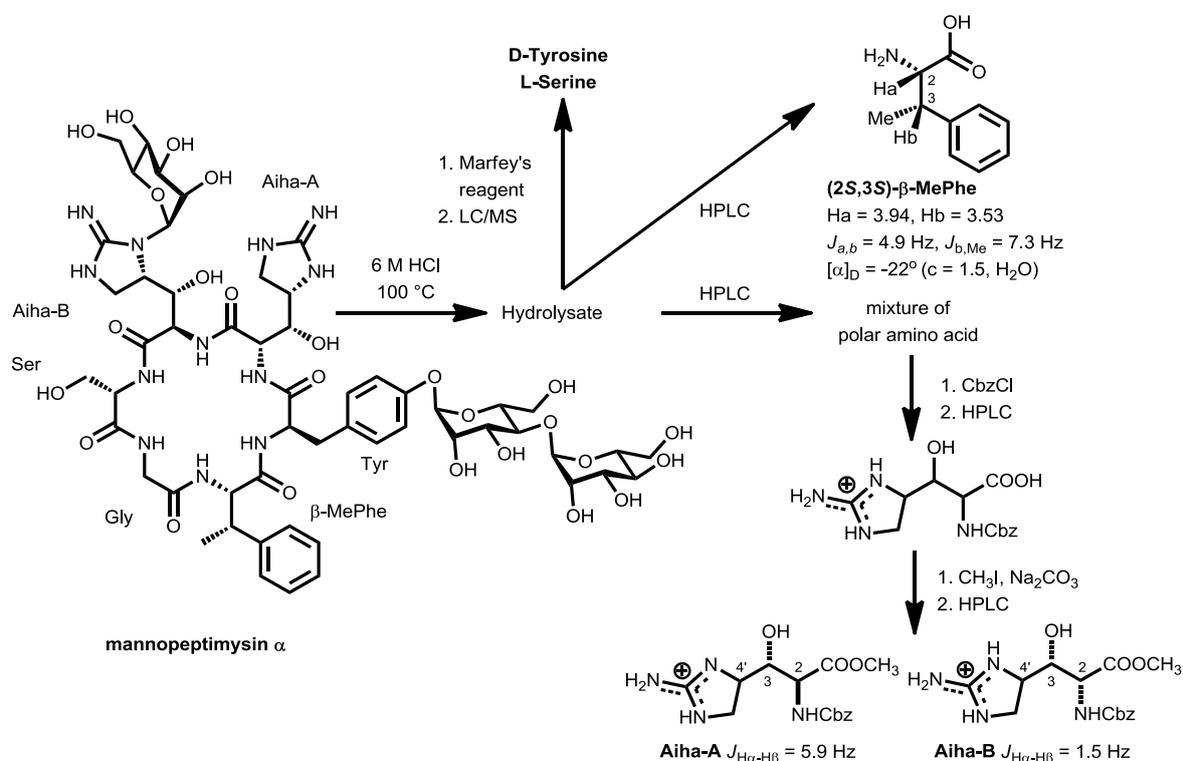
4 マンノペプチマイシンアグリコンの構造訂正

4-1 はじめに

第三章でマンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成を達成し、提唱構造に誤りがあることを突き止めたが、マンノペプチマイシンアグリコンの真の構造を明らかにするには至らなかった。そこで本章では、自らが開発したアグリコン部の合成手法を駆使して類縁体合成を実施し、マンノペプチマイシンアグリコンの真の構造を同定したので、その結果について述べる。

4-2 構造決定方法の検証

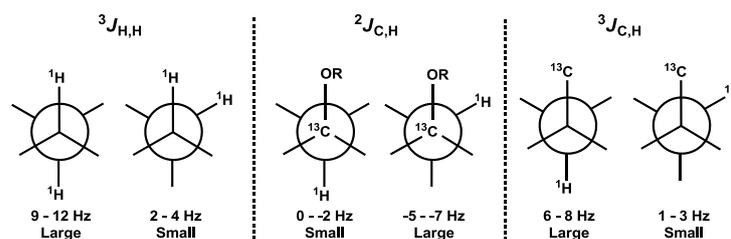
まず、He らによるマンノペプチマイシン類の構造決定法¹⁾について精査することとした。すなわち報告論文によると、¹H NMR、¹³C NMR、COSY、TOCSY、HMBC、HSQC、Fourier transform ion cyclotron resonance (FTICR) mass 測定により、マンノペプチマイシンアグリコンがセリン、グリシン、β-メチルフェニルアラニン、チロシンと二つの非天然アミノ酸 α-amino-β-[4'-(2'-iminoimidazolidinyl)]-β-hydroxypropionic acid (Aiha) を構成要素として持つことを同定している。続いて、これらのアグリコン部を構成するアミノ酸の立体化学については、Scheme

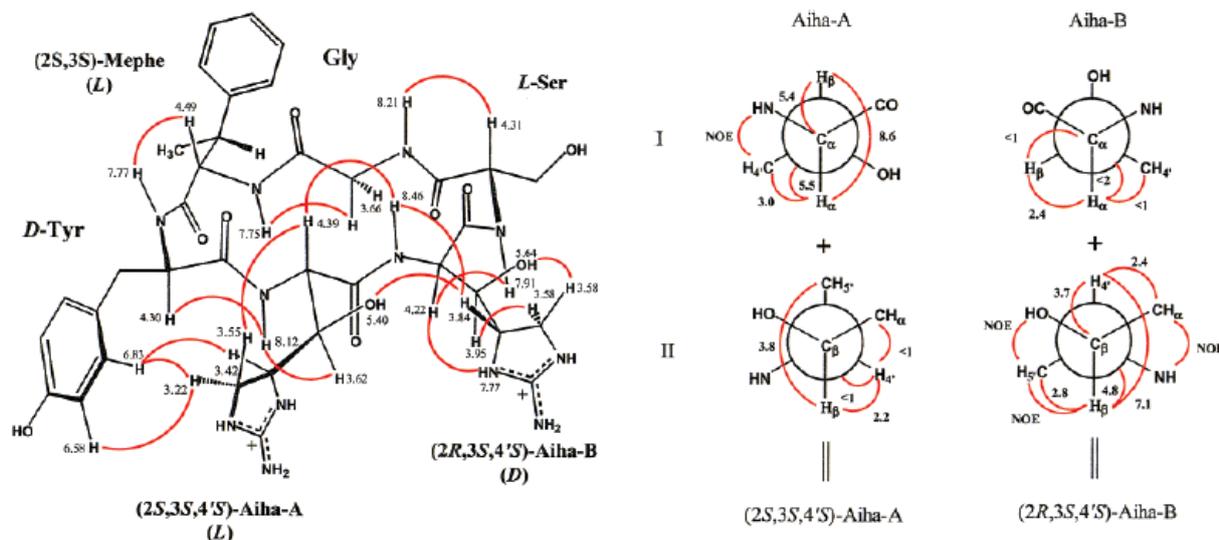


Scheme 4-1

4-1 に示す手法で決定している。すなわち、まずマンノペプチマイシン α を 6 M HCl で 100 °C で処理して対応する構成アミノ酸へと分解した。得られたアミノ酸混合物に対して Marfey's reagent を反応させ²⁾、対応するエステル混合物へと導き、逆相 HPLC 解析により各化合物の保持時間を標準サンプルと比較することにより、チロシンは D 体、セリンは L 体であると決定した。 β -メチルフェニルアラニンについては 2 位と 3 位に二つの不斉点を持つため、計 4 つの立体異性体が候補として考えられるが、いずれも標準サンプルの入手は容易ではない。そこで He らは先の酸性条件での分解後に逆相 HPLC 精製して得た β -メチルフェニルアラニンについて ^1H NMR (ケミカルシフト、カップリング定数) と旋光度の測定結果を、過去の報告³⁾と比較することにより、立体化学を 2*S*、3*S* であると決定している (Scheme 4-1)。また、二つの Aiha 残基の立体化学の決定は以下の通り行った (Scheme 4-1)。すなわち先の酸性条件での環状ペプチドを分解して逆相 HPLC 精製を行い、Aiha-A と Aiha-B の混合物を得た。この混合物に対して CbzCl を作用させてアミノ基を保護し、再度逆相 HPLC により精製した。さらに得られたカルボン酸に塩基性条件下で MeI を作用させて、対応するメチルエステルへ誘導し、再度逆相 HPLC 精製を実施し、ここで二つのジアステレオマーを分離した。これらの化合物の ^1H NMR 測定を実施し、2 位、3 位プロトンのカップリング定数 (Aiha-A: 5.9 Hz、Aiha-B: 1.5 Hz) を過去の報告と比較することにより⁴⁾、Aiha-A の 2 位、3 位間の相対立体化学は *erythro*、Aiha-B のそれは *threo* であると推定した。また、さらなる詳細な立体化学の決定を行うべく、He らはマンノペプチマイシンアグリコン中の Aiha-A、および Aiha-B それぞれについての各プロトン間でのカップリング定数、および NOE 関連データを元に、村田、橘らによって報告された鎖状化合物の Karplus の式に基づく相対立体化学決定法⁵⁾を利用することにより⁷⁾、2、3、4 位の相対立体化学が Figure 4-1 に示す通りであることを決定した (Figure 4-1 右に He らの報告した Aiha-A と Aiha-B の主回転異性体を示す。I は 2、3 位炭素間、II は 3、4 位炭素間を対象とした Newman 投影図である)。また、絶対立体化学について He らは、Figure 4-1 左に示す NOE 関連の結果と、後に述べるアミノ酸結合順序予測を元に、最終的に Aiha-A は 2*S*、3*S*、4'*S* の立体配置を有し、Aiha-B は 2*R*、3*S*、4'*S* の立体配置を有すると決定した。

⁷⁾ 村田、橘らは、鎖状分子において以下に示す三つのスピン結合定数から立体化学の決定が行えることを報告している。つまり Newman 投影図を用いて書き表した際、 $^3J_{\text{H,H}}$ のカップリング定数が 9-12 Hz と比較的大きい場合 *anti* (180°)、2-4 Hz と比較的小さい場合には *gauche* (60°) の位置関係になる。 $^2J_{\text{C,H}}$ 、 $^3J_{\text{C,H}}$ の場合も同様のルールにより鎖状化合物の立体化学を決定できる。





マンノペプチマイシンアグリコンの配座

アグリコン中の Aiha-A、Aiha-B の ¹H のカップリング定数

Figure 4-1

また、アミノ酸の結合順序に関しては次の通り決定した。すなわち、チロシン、β-メチルフェニルアラニン、グリシン、セリンの4残基の結合順序については、NOE および HMBC 測定の結果から隣接するアミノ酸との相関情報を元に決定した。ここで問題となるのは AihA-A および AihA-B の結合順序である。He らは、アグリコン部位についてアミド窒素上のプロトンと隣接するアミノ酸のα位プロトンの間のカップリング定数が全て 6-9 Hz 程度の値をとっていること、各アミノ酸残基側鎖間での NOE 相関が観測されることから、Figure 4-1 左に示すようにアミド結合は全て *s-trans* 配置をとって主鎖がジグザグ構造になっており、全ての側鎖が環平面に対して水平外方向に配向した配座（この配座のことを以下平面配座と呼ぶ）をとっているものと予測した。Ghadiri らにより偶数のアミノ酸から構成される環状ペプチドにおいて、D-アミノ酸と L-アミノ酸が交互に連結されていると、上記の配座をとれることが報告されているため⁶⁾、He らはマンノペプチマイシンアグリコンにおいても D-アミノ酸と L-アミノ酸が交互に連結されていると推測した。この条件を満たすのは、D 体のチロシンに対して L 体の (2S,3S,4'S)-AihA-A、L 体のセリンに対して D 体の (2R,3S,4'S)-AihA-B が連結した構造のみであることから、Figure 4-1 左に示した順序に決定した。

上述の He らによる構造決定の経緯、および筆者が観察した合成化合物の NMR スペクトルと報告スペクトルの違いから、誤った構造が提唱された原因として以下二つの可能性を考えた。

- 1) AihA-A と AihA-B の連結順序が逆である。
- 2) β-メチルフェニルアラニンのメチル基の立体化学が逆である。

まず可能性 1) についてであるが、He らは二つの仮定に基づいて AihA-A と AihA-B の連結順序を決定した。その二つの仮定は、

- ・アミド窒素上のプロトンと隣接するアミノ酸のα位プロトンの間のカップリング定数が

全て同程度の値をとり、各アミノ酸残基側鎖間での NOE 相関が観測されることから、マンノペプチマイシンアグリコンは平面配座をとっている。

- マンノペプチマイシンアグリコンは偶数残基（6 残基）からなるペプチドで、平面配座をとっているため、アミノ酸は D 体と L 体が交互に連結している。

これらの仮定の信頼性についてさらに精査するため、ここで、マンノペプチマイシンアグリコンの文献での提唱構造 **1** と、Aiha-A、Aiha-B を入れ替えた類縁体 **2** それぞれについて Macromodel Ver 8.5 を用いて理論計算を行い、安定配座を比較した。Figure 4-2 に、力場として OPLS_2005（水溶媒中）を用いて計算した際の最安定配座を示す。その結果、He らの二目の仮定通り、D 体と L 体のアミノ酸が交互に連結している提唱構造 **1** では平面配座をとるのに対し、D 体同士、L 体同士のアミノ酸が連結した構造を含む類縁体 **2** では β -メチルフェニルアラニン残基のアミドが *s-cis* 配置をとり、なおかつペプチド環が折れ曲がった構造をとること

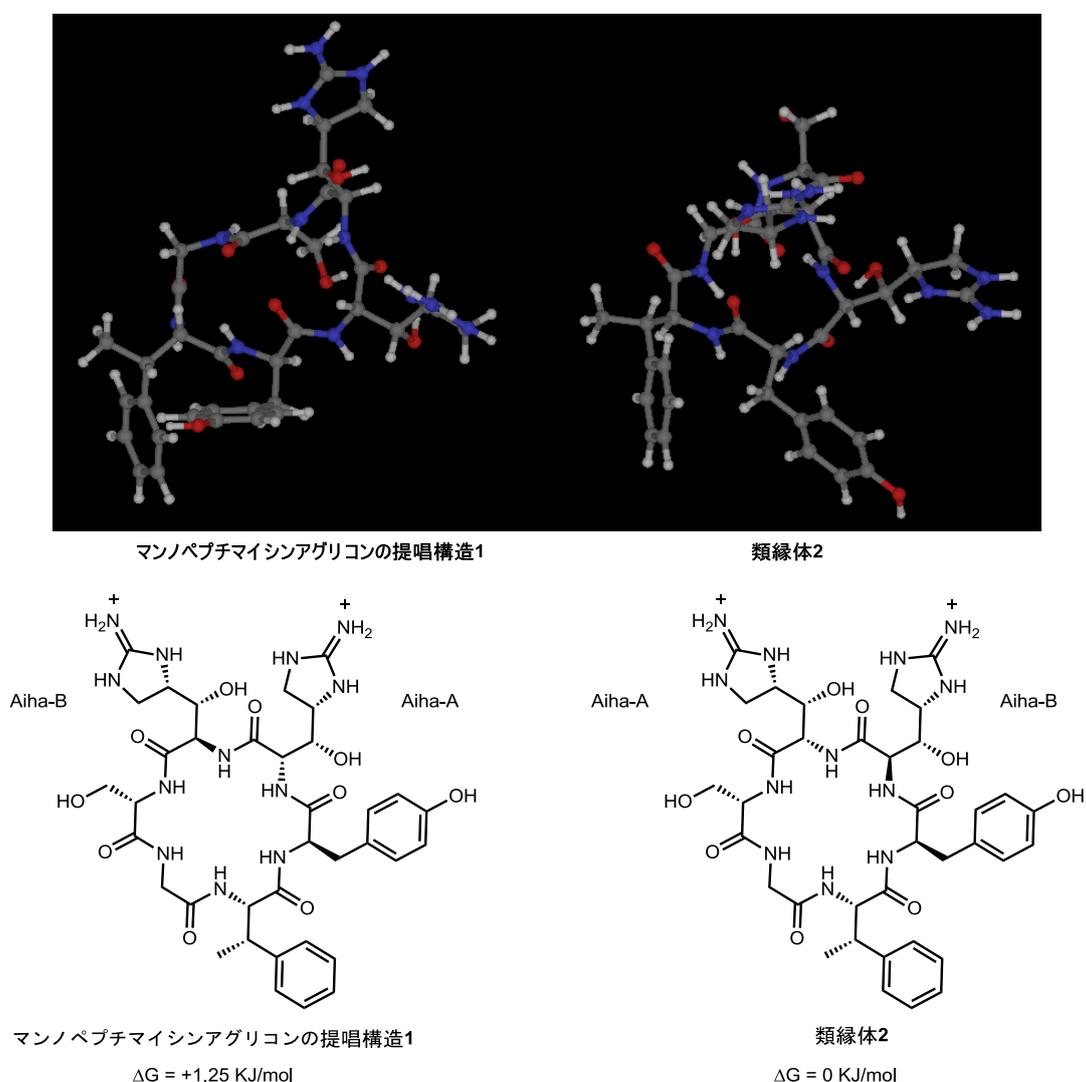


Figure 4-2

が示唆された。このことから He らの二つ目の仮定についてはマンノペプチマイシンアグリコンの構造決定においても信頼できるものと考えた。一方で、提唱構造 **1** についても類縁体 **2** についてもアミド窒素上のプロトンと隣接するアミノ酸の α 位プロトン間のカップリング定数は二面角の角度からほぼ同等の値をとるものと予測され、また、側鎖間の距離もほぼ同等であることが示唆された。なお、最安定配座のエネルギーに関しては、むしろ提唱構造 **1** よりも類縁体 **2** の方が 1.5 kJ/mol 程安定であることが示唆された。これらのことから一つ目の仮定については信頼性が不十分である恐れがあると考えた。

また合成化合物の ^1H NMR、 ^{13}C NMR 測定により観察された各シグナルのケミカルシフトと、文献報告値との差を Figure 4-3 に図示する。なお、本図では、 ^1H NMR 測定において、そのケミカルシフトの差が 0.3 ppm、 ^{13}C NMR 測定において 1.0 ppm を超える差が観察された原子を強調して示してある。また、pH や濃度の差により影響を受けやすい N-H および O-H プロトンは対象から除外してある。この図からも分かる通り、Aiha-A 部分の ^1H NMR、 ^{13}C NMR スペクトルのケミカルシフトには大きな差が観察されており、Aiha-A および Aiha-B の順序が逆の可能性はやはり否定できないと考えた。

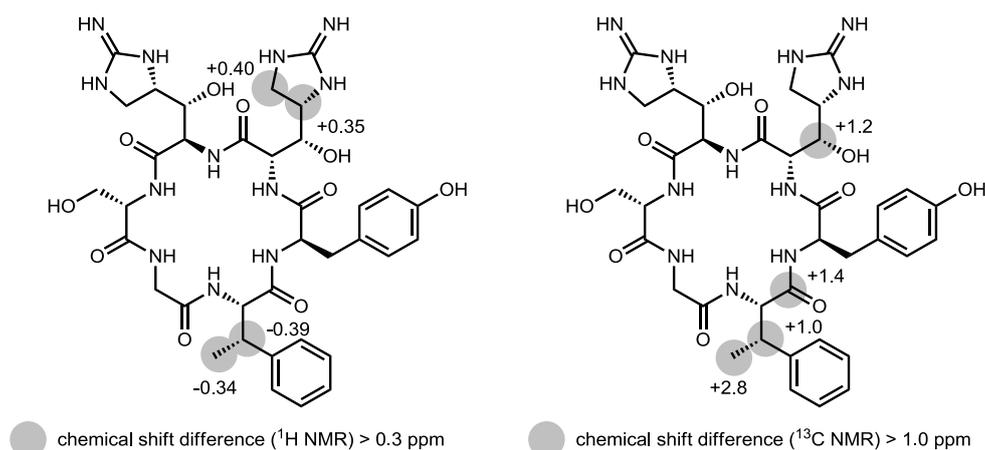


Figure 4-3

次に可能性 2) についてであるが、構造決定の方法については、特に信頼性が低いとは考えられなかったものの、Figure 4-3 に示した通り、 β -メチルフェニルアラニン残基は合成化合物の NMR 測定結果と報告結果との差が最も顕著に観察された。とりわけ、メチル基およびその隣接位は ^1H 、 ^{13}C NMR スペクトルいずれのケミカルシフトが大きく異なっていることから、その立体化学が逆である可能性は十分にあると考えた。

以上の考察、観察、計算結果から、可能性 1) 2) について実際に下記類縁体 **2** と **3** を合成して検証する必要があると考えた。

- Aiha-A と Aiha-B のアミノ酸順序を入れ替えた類縁体 **2** (Figure 4-4 上)
- (2*S*,3*S*)- β -methylphenylalanine を (2*S*,3*R*)- β -methylphenylalanine に変換した類縁体 **3** (Figure 4-4 下)

合成法に関しては前章までに確立した方法を用いることとした。すなわち、もしこれら類縁体合成に筆者が開発したアグリコン構築法が生かせれば、開発した手法論の有用性を実証できるものと考えた。

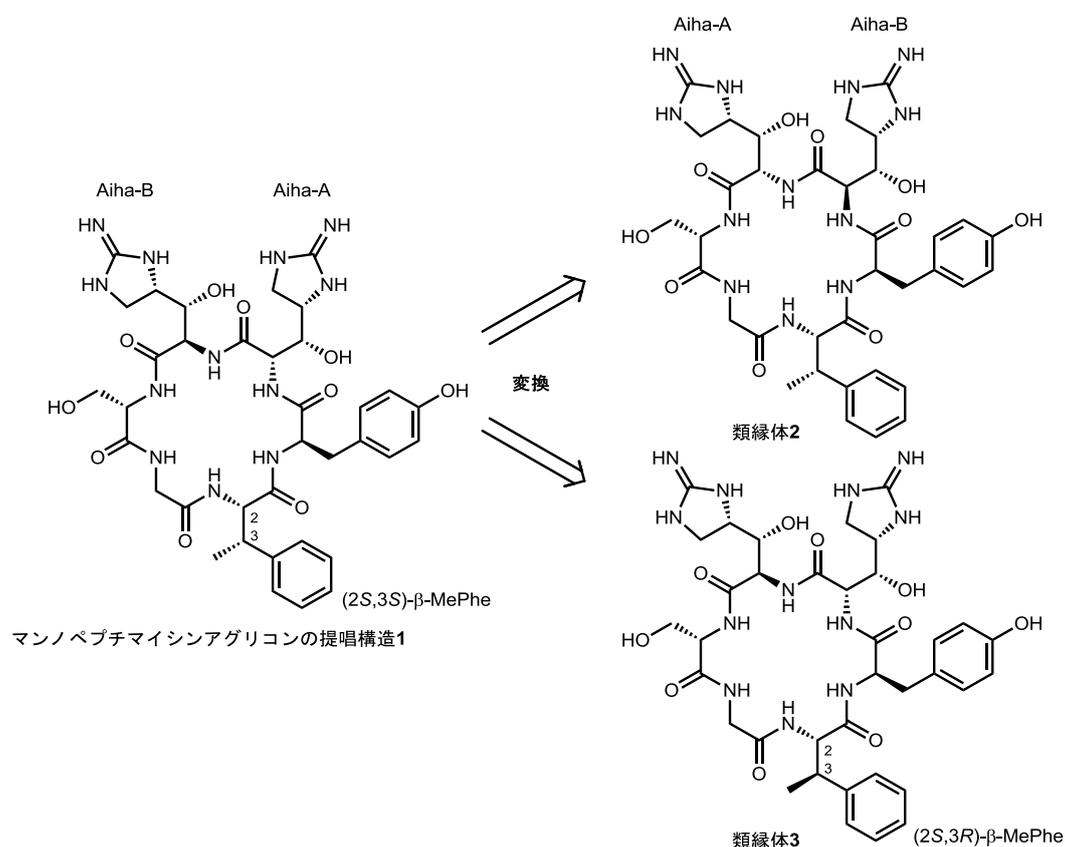


Figure 4-4

4-3 類縁体 2 の合成

類縁体 2 の合成は、二章で述べた合成計画に従った。すなわち、Figure 4-5 に示す通り、環化点をグリシンのアミノ基とセリンのカルボキシル基の間で行うものとし、多官能基化された Aiha-A と Aiha-B の連結後、トリペプチド 4 と 5 をカップリングすることとした。それぞれのトリペプチドは対応するアミノ酸を以前同様 Figure 4-5 に示す順序で連結して合成することとし、保護基の組み合わせも以前同様の組み合わせとした。

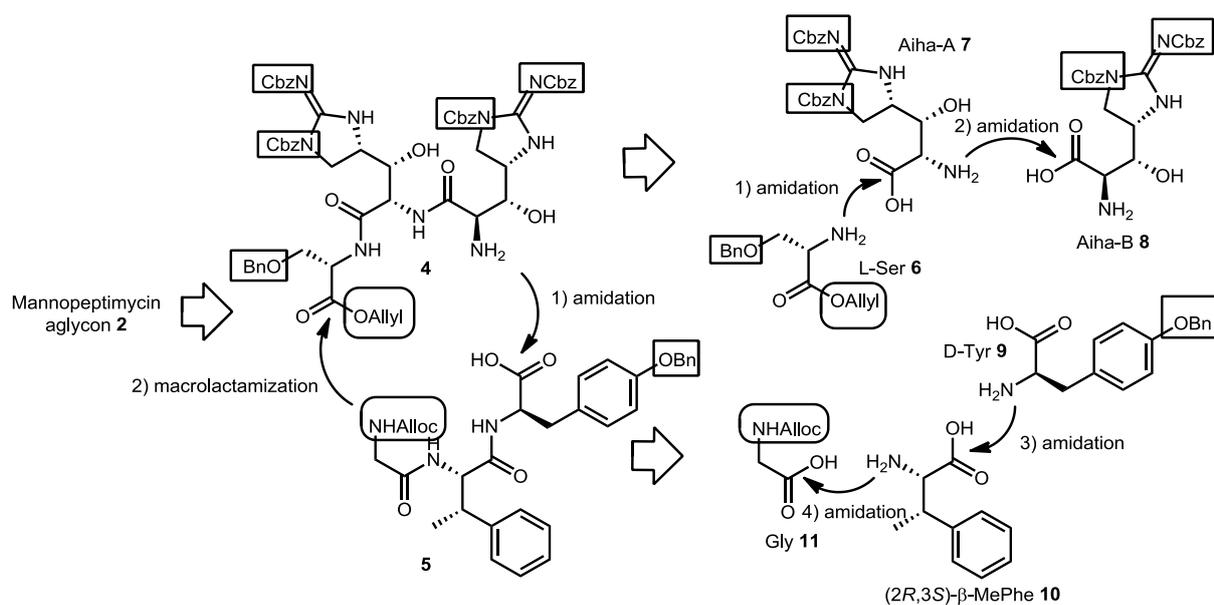
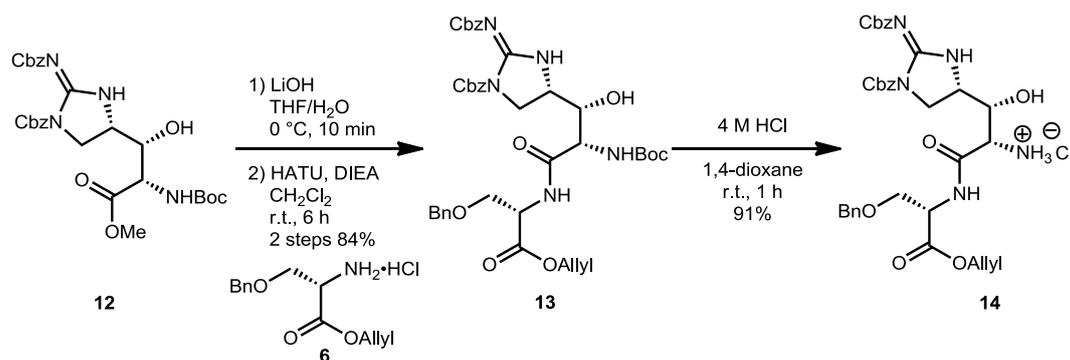


Figure 4-5

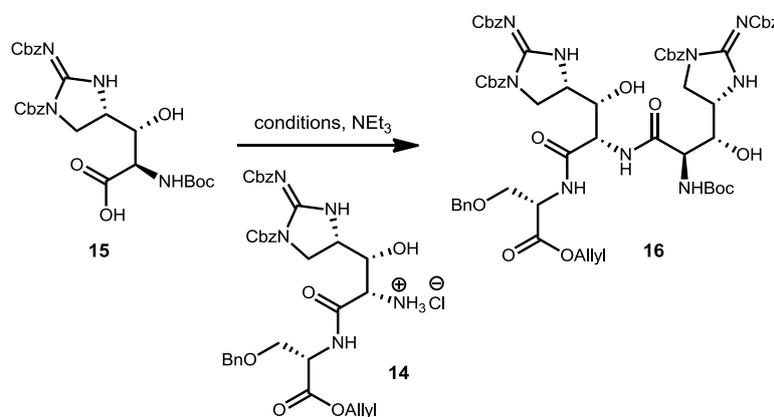
まず、セリン **6** と Aiha-A **12** を縮合した。なお、目的物のジペプチド **13** は第三章において、セリンと Aiha-B からなるジペプチドを合成時にエピメリ化の有無を確認する目的で既に合成している (Scheme 3-5 参照)。従って、以前合成した時と同一の条件で合成した (Scheme 4-2)。

続いて、得られた **13** に対して 4 M HCl を 1,4-ジオキサン溶媒中で作用させることにより Boc 基を除去して **14** を得た。



Scheme 4-2

ジペプチド **14** と Aiha-B **15** の縮合を検討した (Scheme 4-3、Table 4-1)。なお、縮合剤としては、第三章で Aiha-B と Aiha-A の間でのカップリングにおいて最高の収率を与えた PyBOP 以外に、副反応を引き起こした HATU (Table 3-1 参照) も検討した。これは、Aiha-B と異なり、Aiha-A のアミノアルコール部位は HATU との副反応を起こさない (Scheme 3-11 参照) ことを既に前章の研究において明らかにしているためである。



Scheme 4-3

entry	reagent	solvent	time	yield of desired product
1	HATU	DMF	12 h	69%
2	PyBOP	DMF	12 h	48%
3	HATU	DMF	24 h	62%
4	HATU	DMF	6 h	42%
5	HATU	CH ₂ Cl ₂	12 h	48%

Table 4-1

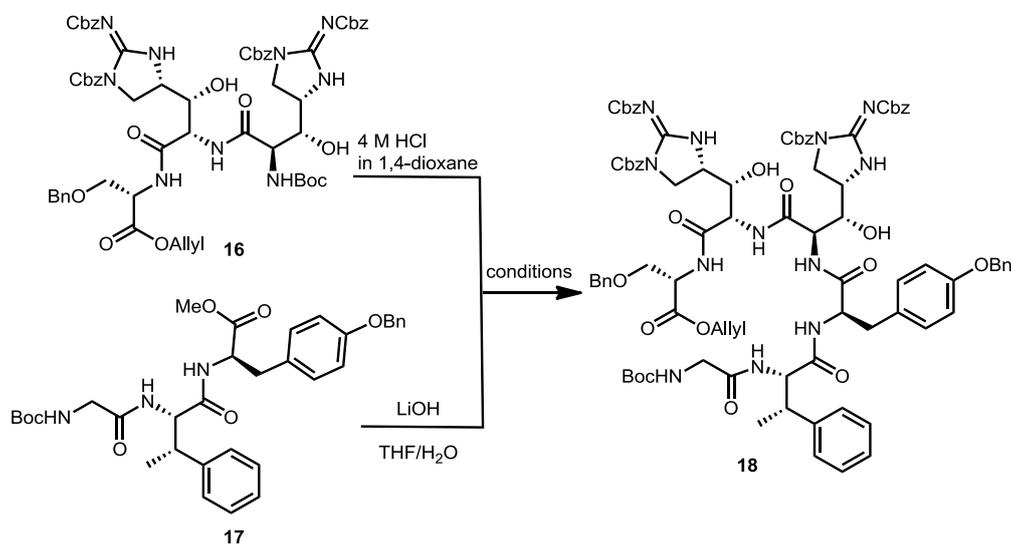
縮合剤、溶媒、反応時間を検討したところ、HATU を縮合剤とした条件が適しており、特に entry 1 に示した DMF 溶媒中、12 時間反応させる条件が最適であることが明らかになった。

トリペプチド **16** の調製が完了したので、これとトリペプチド **17** のカップリングを検討した。(なお、トリペプチド **17** の調製については Scheme 3-10、3-15 参照) トリペプチド **16** に対して 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液を作用させて Boc 基を除去して遊離のアミンへと変換した。一方、トリペプチド **17** に対して THF と水 (5 : 1) の混合溶媒中、水酸化リチウムを室温下 3 時間作用させて、遊離のカルボン酸へ変換した (Scheme 4-4)。

縮合反応を数種の縮合剤を用いて検討した。本反応においては、互いに嵩高いトリペプチド同士のカップリングであり、なおかつ、トリペプチド **16** の側の反応点は Aiha-B である。前章で述べた通り、Aiha-B のアミンを求核剤とし、HATU を縮合剤とする反応においては、Aiha-B のアミノアルコール部位と HATU との間での副反応が懸念される (Table 3-1 参照)。そのため、Table 4-2 の entry 1 および 2 に示す通り、前章の検討で、Aiha-B を求核剤とする反応において良好な結果を与えた PyBOP を縮合剤として用いて反応を行った。

しかしながら、DMF、CH₂Cl₂、いずれの溶媒中で検討した際も収率は中程度であった。そこで、縮合剤 HATU を用いた反応も検討してみることにした。その結果、興味深いことに収率が向上し、単離収率 60% で目的のヘキサペプチド **18** を得ることに成功した。なお、前章で観察

された、Aiha-B のアミノアルコール部位と HATU が反応したと思われる副生物の生成は観測されなかった。

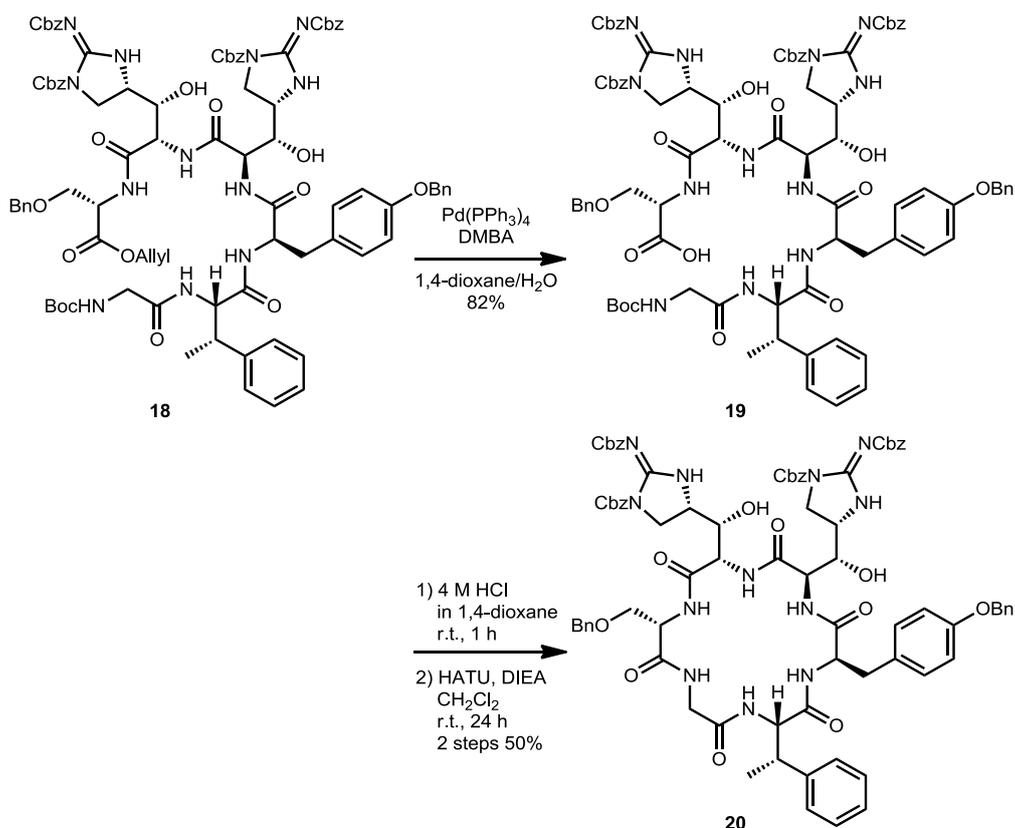


Scheme 4-4

entry	reagent	solvent	time	yield
1	PyBOP	DMF	18 h	42%
2	PyBOP	CH ₂ Cl ₂	18 h	39%
3	HATU	DMF	18 h	60%
4	HATU	DMF	12 h	51%

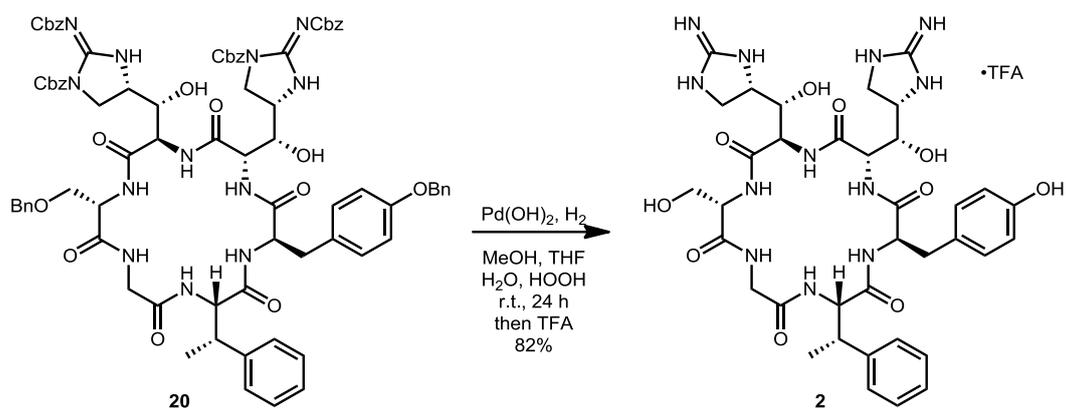
Table 4-2

ヘキサペプチド **18** に対して、三章で確立した条件を用いて、1,4-dioxane と水 (3 : 1) 混合液中、Pd(PPh₃)₄ と DMBA を作用させてアリル基を除去し、収率 80% で遊離カルボン酸 **19** を得た (Scheme 4-5)。続いてヘキサペプチドの Boc 保護体 **19** に対して 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液を作用させて Boc 基を除去した。濃縮操作により夾雑物を留去することで、環化前駆体を得た。続いて、鍵段階であるマクロラクタム化反応を CH₂Cl₂ 溶媒中、縮合剤として HATU、塩基として DIEA を用いて試みた。室温下で 24 時間反応させたところ 2 段階収率 50% で環状ペプチド **20** を得ることに成功した (Scheme 4-5)。



Scheme 4-5

ただし、環状ペプチド **20** は前章での結果同様、各種溶媒 (CDCl_3 、 CD_2Cl_2 、 CD_3OD 、 $\text{Acetone-}d_6$) に対する溶解性の低さから NMR 測定によりシグナルの帰属が可能なスペクトルを得ることはできなかった。そこで、続く保護基の除去を行うこととした。すなわち、環状ペプチド **20** に対して MeOH と THF と水とギ酸 (8 : 8 : 2 : 1) の混合溶媒中、水素雰囲気下で Pd(OH)_2 を作用させて室温で 24 時間反応させた。反応後、エバポレーターを用いて溶媒を除去し、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製した (5% to 40% MeCN in H_2O , 0.02% TFA) (Scheme 4-6)。その結果、76% と良好な収率で目的物 **2** の合成に成功した。

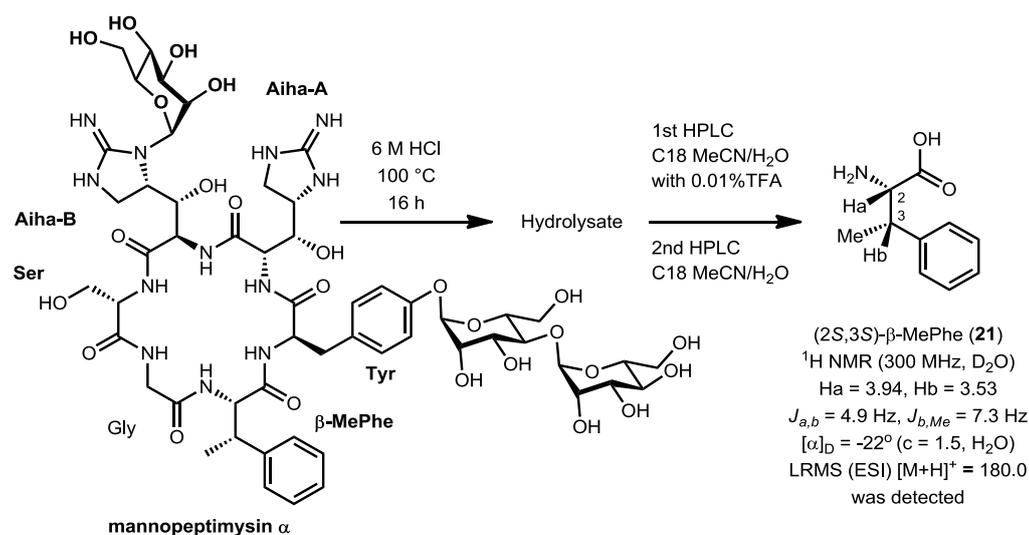


Scheme 4-6

合成した化合物 **2** の ¹H NMR 測定を実施し、文献値¹⁾と比較したが一致せず、Aiha-A、Aiha-B を入れ替えた類縁体 **2** は、真のマンノペプチマイシンアグリコンではないと結論づけた。

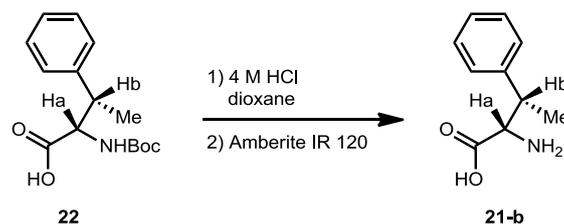
4-4 類縁体 **3** の合成4-4-1 β -メチルフェニルアラニン残基の構造決定方法の精査

以上の検討により、真のマンノペプチマイシンアグリコンの構造は、 β -メチルフェニルアラニン残基中のメチル基の立体化学が逆の類縁体 **3** である可能性が高まった。ここで、再度 He らの構造決定の手法について精査し、構造決定の手法に問題が無いかどうか綿密に再検証することとした。He らの β -メチルフェニルアラニン残基の構造決定について詳しく述べる。He らは、マンノペプチマイシン α に対して、6 M HCl を作用させて、16 時間、100 °C で加熱することにより、全てのアミド結合を切断し、対応するアミノ酸塩酸塩の混合物を得ている (Scheme 4-7)。一度目の TFA 添加溶媒条件を用いる逆相 HPLC 精製により他のアミノ酸や夾雑物と分離し、二度目の TFA を添加しない溶媒条件での再度の逆相 HPLC 精製により目的の遊離 β -メチルフェニルアラニン **21** を得ている。He らはこの化合物の立体化学を、水溶媒中での ^1H NMR 測定、および旋光度測定結果を 1976 年の山本らの報告と比較することにより決定している。



Scheme 4-7

Table 4-3 に He らが精製 (脱塩) 後に測定した ^1H NMR の 2 位、および 3 位プロトンのケミカルシフト、2、3 位プロトン間と、3 位、メチル基プロトン間のカップリング定数を示す。また、He らが比較に用いた山本等による Bull. Chem. Soc. J.誌での報告値³⁾、Tetrahedron 誌において 1992 年⁷⁾、2004 年にそれぞれ報告された値⁸⁾、Scheme 4-8 の方法で、NeoMPS 社より購入した (BA19402)、(2S,3S)-Boc- β -methylphenylalanine (**22**) より自ら調製した化合物 **21-b** を NMR 測定した結果についても併せて掲載した。なお、報告値には差が見られ、これが脱塩方法に由来する可能性もあると考えたことから、脱塩方法を括弧内に記した。



Scheme 4-8

β -MePhe stereochemistry	He et. al. purified ¹⁾ ¹ H NMR (300 MHz, D ₂ O)	BCSJ reported ⁶⁾ ¹ H NMR (60 MHz, D ₂ O)	Tetrahedron reported ¹⁷⁾ ¹ H NMR (250 MHz, D ₂ O)	Tetrahedron reported ²⁸⁾ ¹ H NMR (300 MHz, D ₂ O)	Synthesized ¹ H NMR (400 MHz, D ₂ O)
<p>21-a erythro (2R,3R)</p>		$H_a = 3.81$ $H_b = 3.31$ $J_{a,b} = 7.5 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 6.9 \text{ Hz}$	$H_a = 3.50$ $H_b = 3.00\text{-}3.06$ $J_{a,b} = 7.4 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.2 \text{ Hz}$	$H_a = 3.66$ $H_b = 3.16$ $J_{a,b} = 7.7 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.2 \text{ Hz}$	$H_a = 3.79$ $H_b = 3.28$ $J_{a,b} = 7.7 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.3 \text{ Hz}$
<p>21-b (提唱構造) erythro (2S,3S)</p>			(AmberiteIR120脱塩)	(AmberiteIR120脱塩)	(propylene oxide脱塩)
<p>21-c threo (2R,3S)</p>		$H_a = 3.94$ $H_b = 3.53$ $J_{a,b} = 4.9 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.3 \text{ Hz}$	$H_a = 3.94$ $H_b = 3.55$ $J_{a,b} = 4.8 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.2 \text{ Hz}$	$H_a = 3.73$ $H_b = 3.33$ $J_{a,b} = 4.9 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.3 \text{ Hz}$	$H_a = 3.82$ $H_b = 3.42$ $J_{a,b} = 4.8 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.5 \text{ Hz}$
<p>21-d threo (2S,3R)</p>					(逆相カラム脱塩)

Table 4-3

Table 4-3 の比較結果から、ケミカルシフトは報告文献、測定結果毎に大きな差が見られており、比較が容易ではないものの、カップリング定数についてはどの文献、測定結果も一定の傾向を示していることがわかった。すなわち、*erythro* 体 (**21-a**、**21-b**) については、2位、および3位プロトンのカップリング定数 ($J_{a,b}$)、および3位プロトンとメチル基プロトン間のカップリング定数 ($J_{b,Me}$) がいずれも 7.5 Hz 付近で観測されるのに対し、*threo* 体 (**21-c**、**21-d**) では、 $J_{a,b}$ が 5 Hz 弱、 $J_{b,Me}$ が 7.5 Hz 弱で観測されることがわかった。

ここで、He らの精製した β -メチルフェニルアラニン残基の NMR 測定結果は、*threo* 体と良い一致を示した。しかしながら、文献値や測定結果間にも無視できない差が観察されて

おり、これが脱塩の方法に由来する可能性があると考えた。すなわち、Heらは文献の報告のように他の文献の報告のように Amberlite や propylene oxide を用いて脱塩しているわけではなく、ただ単に逆相 HPLC で精製をするだけで脱塩していることから、脱塩が不十分で、Heらが測定した化合物は遊離のアミノ酸ではなく塩酸塩もしくは TFA 塩であった可能性が否めないと考えた。

そこで、今度は塩酸塩の状態でのデータをまとめた (Table 4-4)。塩酸塩の状態では、遊離の状態に比べ *erythro* 体、*threo* 体間での明確な差が観察されにくくなった。ケミカルシフトに関しては、各報告、測定値間での差が大きく比較が困難であったが、カップリング定数は遊離の状態ほどではないものの、やはり *erythro* 体については、2位、および3位プロトンのカップリング定数 ($J_{a,b}$)、および3位プロトンとメチル基プロトン間のカップリング定数 ($J_{b,Me}$) がいずれも 7.5 Hz 弱付近で観測されるのに対し、*threo* 体では、 $J_{a,b}$ のいずれかもしくは両方が 6~6.5 Hz 付近に観測されることがわかった。Heらの観測結果はどちらもとも良い一致はしないものの、*erythro* 体に比べると *threo* 体により近いように思われた。以上の考察から、マンノペプチマイシンアグリコンのβ-メチルフェニルアラニン残基の2位、3位の真の相対立体化学は *threo* (すなわち 2*S*, 3*S* もしくは 2*R*, 3*R* のいずれか) なのではないかと筆者は推測した。

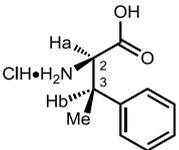
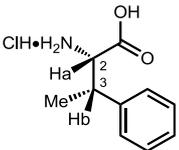
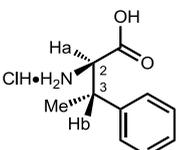
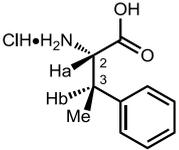
β-MePhe stereochemistry	He et. al. purified ¹⁾ ¹ H NMR (300 MHz, D ₂ O)	BCSJ reported ⁶⁾ ¹ H NMR (60 MHz, D ₂ O+DCl)	Tetrahedron reported ²⁾ ¹ H NMR (300 MHz, D ₂ O)	Synthesized ¹ H NMR (400 MHz, D ₂ O)
 21-a <i>erythro</i> (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)			$H_a = 4.26$ $H_b = 3.49$ $J_{a,b} = 7.2 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.4 \text{ Hz}$	$H_a = 4.01$ $H_b = 3.30$ $J_{a,b} = 7.5 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.2 \text{ Hz}$
 21-b (提唱構造) <i>erythro</i> (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)	$H_a = 3.94$ $H_b = 3.53$ $J_{a,b} = 4.9 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.3 \text{ Hz}$			$H_a = 4.12$ $H_b = 3.41$ $J_{a,b} = 7.3 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.3 \text{ Hz}$
 21-c <i>threo</i> (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>) (逆相カラム脱塩)			$H_a = 4.34$ $H_b = 3.59$ $J_{a,b} = 6.0 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 7.5 \text{ Hz}$	$H_a = 4.09$ $H_b = 3.42$ $J_{a,b} = 6.4 \text{ Hz}$ $J_{b,Me} = 6.5 \text{ Hz}$
 21-d <i>threo</i> (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)				

Table 4-4

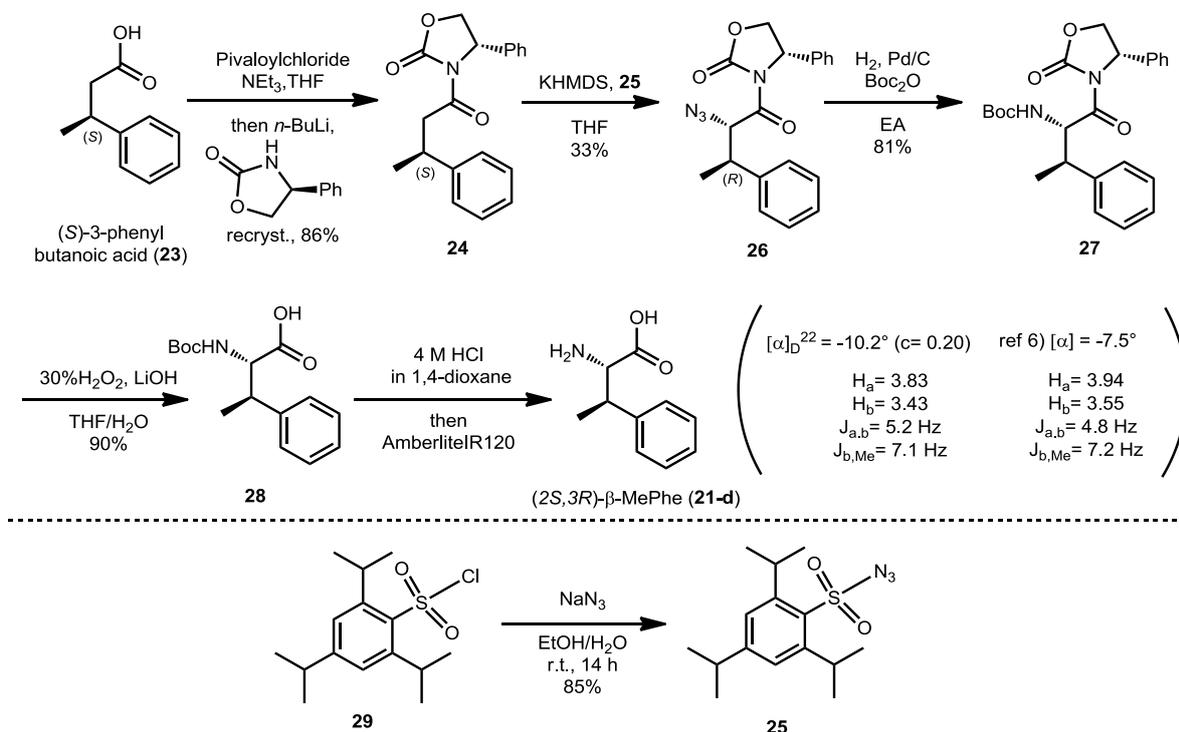
次に He らの絶対立体化学の決定について精査した。Table 4-5 に He らによる測定、文献での測定、筆者の測定、それぞれで得られた比旋光度の結果についてまとめて示す。なお、各々の脱塩の方法 Table 4-3 に示した方法と同様である。比旋光度の値を比較すると、*erythro* 体では、比旋光度の絶対値が *threo* 体のそれと比べて大きく、また、符号は 2 位の立体配置が *R* 配置だとプラス、*S* 配置だとマイナスになっている。単純に比旋光度の符号と絶対値を比較すると、確かに He らの推測通り、 β -メチルフェニルアラニン残基は (2*S*,3*S*)- β -methylphenylalanine (**21-b**) が真の構造であると考えられる。ただし、前述の NMR 測定の精査結果より、真の構造は *threo* 体 (**21-c** もしくは **21-d**) である可能性が高いと考えられ、また、比旋光度の符号から考えると、2 位の立体化学は *S* 配置であると予測でき、これら全ての情報を総合して、(2*S*,3*R*)- β -methylphenylalanine (**21-d**) が (すなわち、メチル基の立体化学が反転した類縁体が) 真の構造である可能性は極めて高いと考えた。

β -MePhe	stereochemistry	He et. al. purified ¹⁾ ¹ H NMR (300 MHz, D ₂ O)	BCSJ reported ⁶⁾ ¹ H NMR (60 MHz, D ₂ O)	Tetrahedron reported 1 ⁷⁾ ¹ H NMR (250 MHz, D ₂ O)	Tetrahedron reported 2 ⁸⁾ ¹ H NMR (300 MHz, D ₂ O)	Synthesized ¹ H NMR (400 MHz, D ₂ O)
	21-a <i>erythro</i> (2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)		$[\alpha]_D = +28.4^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = +21^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = +27.2^\circ$ (salt free)	
	21-b (提唱構造) <i>erythro</i> (2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)		$[\alpha]_D = -30.6^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = -26.7^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = -29^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = +28.4^\circ$ (salt free) $[\alpha]_D = -25^\circ$ (HCl salt)
	21-c <i>threo</i> (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)		$[\alpha]_D = +7.3^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = +5.1^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = +6.6^\circ$ (salt free)	
	21-d <i>threo</i> (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)	$[\alpha]_D = -22^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = -7.5^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = -5.3^\circ$ (salt free)	$[\alpha]_D = -7.5^\circ$ (salt free)	

Table 4-5

4-4-2 類縁体 **3** の合成

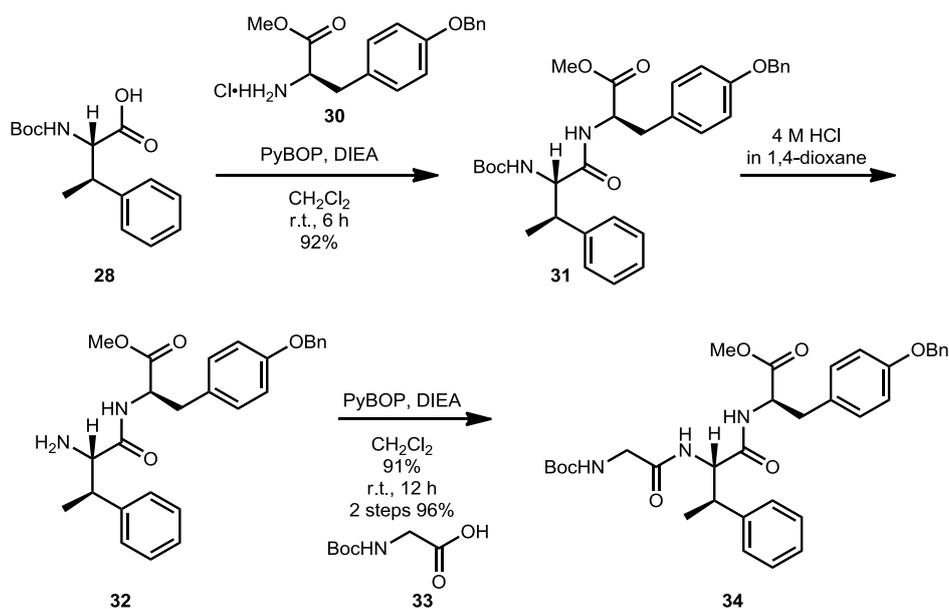
まず、(2*S*,3*R*)- β -methylphenylalanine (**21-d**) の合成を行った。出発原料を (*S*)-3-phenylbutanoic acid **23** とし、既知法¹⁰⁾を用いて合成した (Scheme 4-9)。



Scheme 4-9

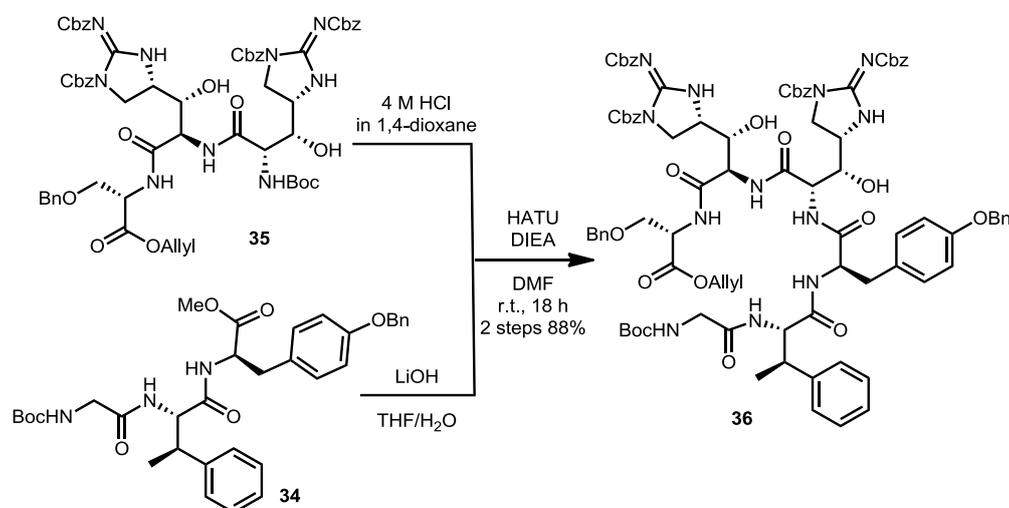
(S)-3-phenylbutanoic acid (**23**)の THF 溶液に対して、ピバル酸クロリド、トリエチルアミンを作用させて、対応する酸クロリドへ誘導した後、不斉補助子の(S)-3-phenyloxazolidin-2-one を反応させてアミド **24** を得た。続いて、アミド **24** の THF 溶液に対し、塩基として KHMDS を作用させて、アニオンを発生させた後、別途調製した **25**⁸ を添加して、中程度の収率ながら 2 位に立体選択的にアジド基を導入した。なお、求電子的アジド化試薬 **25** は既報に従って 2,4,6-triisopropylbenzenesulfonyl chloride **29** の EtOH/H₂O (1 : 1) 混合溶媒中、NaN₃ を作用させて 14 時間室温で反応させることにより、良好な収率で調製した。得られたアジド **26** を水素添加反応により還元してアミンへ変換し、そのアミンを、Boc 基で保護した。次に、**27** の THF/H₂O (1 : 1) 混合溶液に対して、30% 過酸化水素水、水酸化リチウムを作用させ、収率 90% で目的のアミノ酸の Boc 保護体 **28** を得た。ここで得られたアミノ酸が目的の立体化学を有するか確認するため、Boc 基を除去し Amberlite IR120 でろ過することで脱塩し、**21-d** の ¹H NMR、および旋光度の測定を実施した。観測された各測定値は文献値³⁾と良い一致を示した。

⁸ 求電子的アジド化試薬である **25** は Harmon らにより 1973 年に開発された⁹⁾。代表的な求電子的アジド化試薬であるアジドトリフラートと比べて、爆発性が低く、取扱いが容易である。



Scheme 4-10

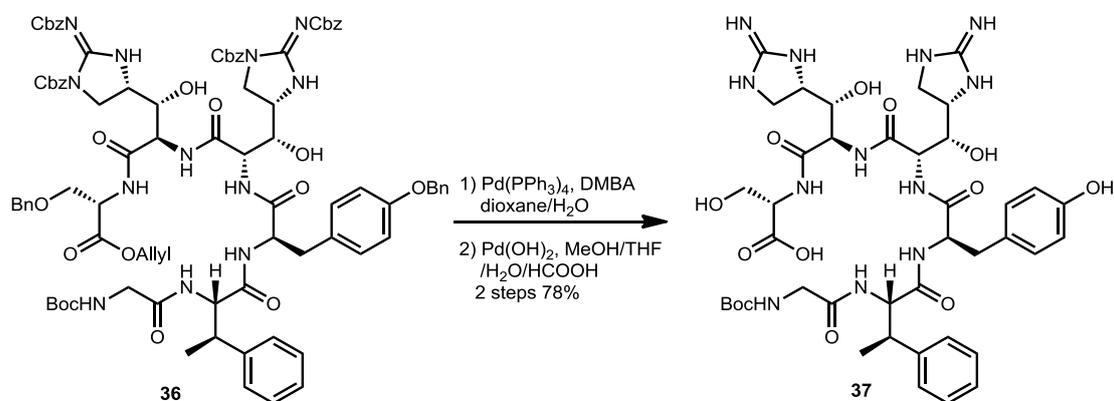
合成した(2*S*,3*R*)- β -methylphenylalanine **28** を用いて、トリペプチド **34** を合成することとした (Scheme 4-10)。すなわち、(2*S*,3*R*)- β -methylphenylalanine **28** と Tyrosine **30** の CH_2Cl_2 溶液に対して、縮合剤として PyBOP、塩基として DIEA を作用させて室温で 6 時間反応させたところ収率 92% でジペプチド **31** を得た。続いて得られたジペプチド **31** に対して 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液を作用させて Boc 基を除去した。次にジペプチド **32** とグリシン **33** の CH_2Cl_2 溶液に対して、縮合剤として PyBOP、塩基として DIEA を用いて室温で 12 時間反応させ、2 段階収率 96% でトリペプチド **34** を得た。トリペプチド **34** の合成が行えたので、第三章で合成したトリペプチド Ser-Aiha-B-Aiha-A **35** (3-2-1 参照) とカップリングすることとした。トリペプチド **35** に



Scheme 4-11

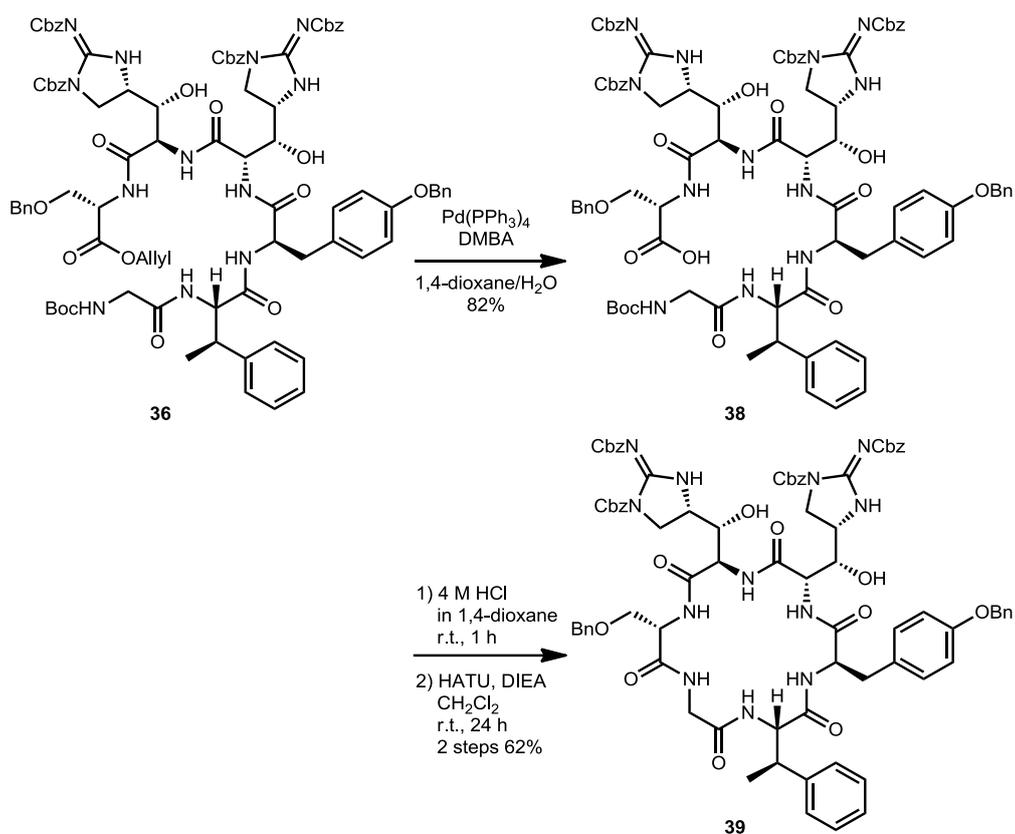
対して 4 M HCl の 1,4-dioxane を作用させて Boc 基を除去して遊離のアミンへと変換した。一方、トリペプチド **34** に対して THF と水 (5 : 1) の混合溶媒中、水酸化リチウムを室温下 3 時間作用させて、遊離のカルボン酸へと変換した。縮合条件は、第三章で最も良い結果を与えた DMF 溶媒、HATU、DIEA の組み合わせを用い、室温で 18 時間反応させたところ、収率 88% で目的のヘキサペプチド **36** を得ることに成功した (Scheme 4-11)。

ヘキサペプチド **36** はこれまでに合成したヘキサペプチド同様、各種溶媒に対して難溶性を示し、さまざまな重溶媒 (CDCl₃、CD₂Cl₂、CD₃OD、Acetone-*d*₆) 中で NMR 測定を試みたが、シグナルの帰属が可能なスペクトルを得ることはできなかった。そこで、保護基を除去することとした。まず、ヘキサペプチド **36** に対して 1,4-dioxane と水 (3 : 1) 混合溶媒中、Pd(PPh₃)₄ と DMBA を作用させてアリル基を除去してカルボン酸へと誘導した。続いてカルボン酸に対して、MeOH と THF と水とギ酸 (8 : 8 : 2 : 1) の混合溶媒中、水素雰囲気下で Pd(OH)₂ を作用させることにより、6 つのベンジル系保護基を除去した。その結果、収率 78% で目的の化合物 **37** を得た (Scheme 4-12)。得られた **37** は逆相カラムクロマトグラフィーにより精製が可能であり (5% to 30% MeCN in H₂O, 0.02% TFA)、対応する TFA 塩の状態で得られた目的物は、重ジメチルスルホキシド溶媒中での NMR 測定により、シグナルの帰属が可能なスペクトルを得ることができた。これにより目的のヘキサペプチドの化学構造を確認することができた。



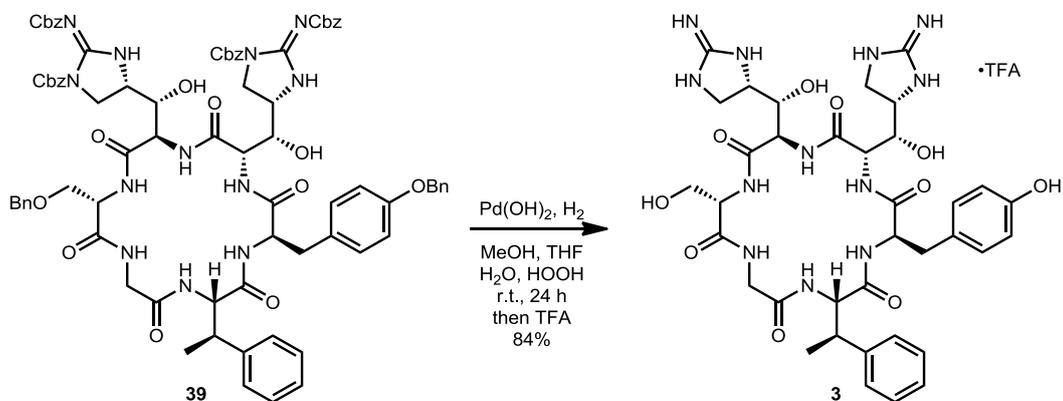
Scheme 4-11

続いて、マクロラクタム化を行った。ヘキサペプチド **36** に対して、1,4-dioxane と水 (3 : 1) 混合液中、Pd(PPh₃)₄ と DMBA を作用させてアリル基を除去し、収率 82% で遊離カルボン酸 **38** を得た (Scheme 4-12)。続いてヘキサペプチドの Boc 保護体 **38** に対して 4 M HCl の 1,4-dioxane 溶液を作用させて Boc 基を除去した。濃縮操作により夾雑物を留去することで、環化前駆体を得た。続いて、鍵段階であるマクロラクタム化反応を CH₂Cl₂ 溶媒中、縮合剤として HATU、塩基として DIEA を用いて試みた。室温下で 24 時間反応させたところ 2 段階収率 62% で環状ペプチド **39** を得ることに成功した (Scheme 4-13)。



Scheme 4-13

ただし、ここでも環状ペプチド **39** の各種溶媒に対する溶解性の低さから NMR 測定によりシグナルの帰属が可能なスペクトルを得ることはできなかった。そこで、脱保護を行い最終目的物 **3** へと誘導し、文献値と比較することで帰属することとした。環状ペプチド **39** に対して MeOH と THF と水とギ酸 (8 : 8 : 2 : 1) の混合溶媒中、水素雰囲気下で Pd(OH)₂ を作用させて室温で 24 時間反応させた。反応後、エバポレーターを用いて溶媒を除去し、逆相カラムク



Scheme 4-14

ロマトグラフィーにより精製した (5% to 40% MeCN in H₂O, 0.02% TFA) (Scheme 4-14)。その結果、収率 84% と良好な収率で目的物 **3** の合成に成功した。

合成した化合物 **3** の ¹H-¹H COSY、HMBC、HSQC 解析結果から各シグナルの帰属を行った結果、類縁体 **3** のスペクトルデータは天然物から減成して得たマンノペプチマイシンアグリコンのそれと良い一致を示した。これはアグリコンを構成するアミノ酸、β-methylphenylalanine の立体化学として 2*S*、3*R* が正しいことを示しており、今回の実験結果によりマンノペプチマイシンの真の構造の解明に成功した。また、筆者が開発した合成法は類縁体合成にも有用であることが示せた。Figure 4-6 に Pfizer 社の He 博士より入手したマンノペプチマイシンアグリコンの ¹H NMR スペクトルと、今回合成した化合物の ¹H NMR スペクトルを並べて示す。

¹H NMR

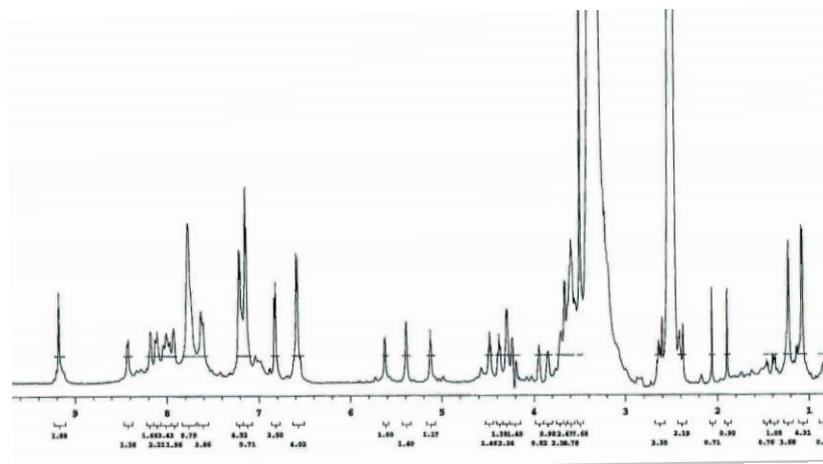
	reported	synthetic		reported	synthetic		reported	synthetic
	Serine			Aiha-A			β-MePhe	
α	4.31	4.30	α	4.39	4.37	α	4.49	4.48
NH	7.93	7.93	NH	8.12	8.12	NH	7.77	7.60-7.82
β	3.62	3.56-3.63	β	3.62	3.61-3.65	β	3.19	3.15-3.19
β	3.72	3.67-3.74	OH	5.40	5.39	β-Me	1.06	1.07
OH	5.15	5.13	γ	3.42	3.37-3.44	Aryl	7.14 (2H)	7.19 (2H)
	Aiha-B		δ	3.22	3.18-3.23		7.15 (1H)	7.13-7.18 (1H)
α	4.22	4.24	δ	3.55	3.52-3.56		7.21 (2H)	7.22 (2H)
NH	8.46	8.43	NH	7.63, 7.76	7.60-7.82			
β	3.95	3.94		8.04	8.01			
OH	5.64	5.62		Tyrosine				
γ	3.84	3.84	α	4.30	4.30	α	3.66	3.62-3.67
δ	3.58	3.54-3.59	NH	7.80	7.77-7.80	NH	8.21	8.18
NH	7.77, 7.79,	7.60-7.82	β	2.41, 2.65	2.41, 2.64			
	8.00	7.97	OH	9.20	9.18			
			Aryl	6.58 (2H)	6.58 (2H)			
				6.83 (2H)	6.82 (2H)			

¹³C NMR

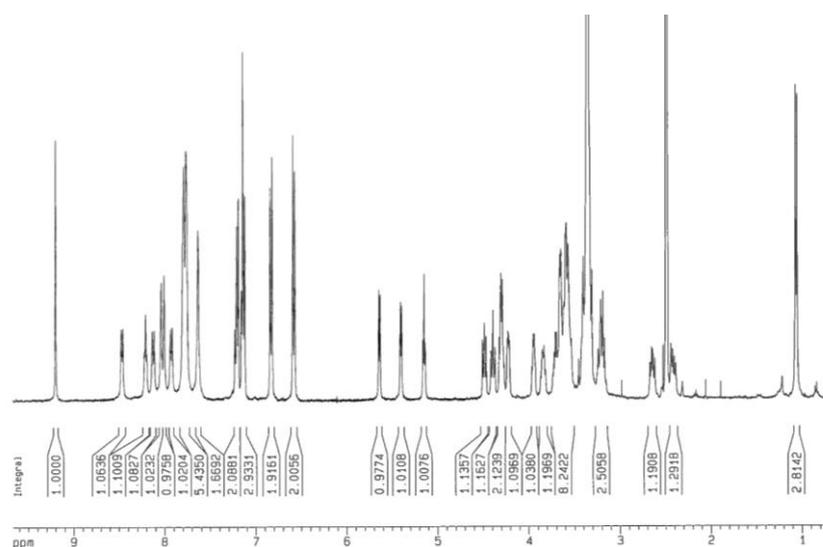
	reported	synthetic		reported	synthetic		reported	synthetic
	Serine			Aiha-A			β-MePhe	
C=O	169.8	170.1	C=O	170.4	170.6	C=O	169.5	169.8
α	54.0	54.2	α	53.6	53.8	α	57.4	57.6
β	61.0	61.2	β	69.5	70.0	β	40.0	40.2
	Aiha-B		1'	159.2	159.3	β-Me	16.3	16.6
C=O	169.1	169.3	3'	55.8	56.0	1'	143.0	143.2
α	55.7	55.9	4'	42.2	42.4	2',6'	127.5	127.8
β	70.5	70.7		Tyrosine		3',5'	127.9	128.2
1'	159.2	159.3	C=O	170.1	170.4	4'	126.2	126.5
3'	56.5	56.8	α	54.3	54.6		Glycine	
4'	43.9	44.2	β	36.1	36.3	C=O	168.4	168.7
			1'	127.3	127.5	α	42.8	43.0
			2',6'	129.9	130.2			
			3',5'	114.7	114.9			
			4'	155.9	156.1			

Table 4-6

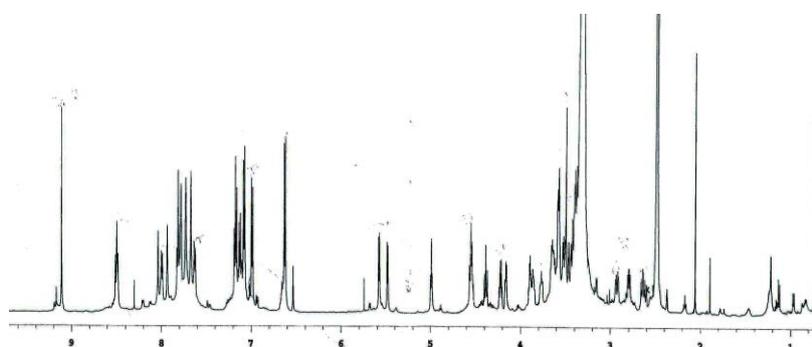
合成したマンノペプチマイシンアグリコンの ^1H NMR スペクトル (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



Pfizer 社、He 博士より提供頂いた、天然物の減成により得られたマンノペプチマイシンアグリコンの ^1H NMR スペクトル (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



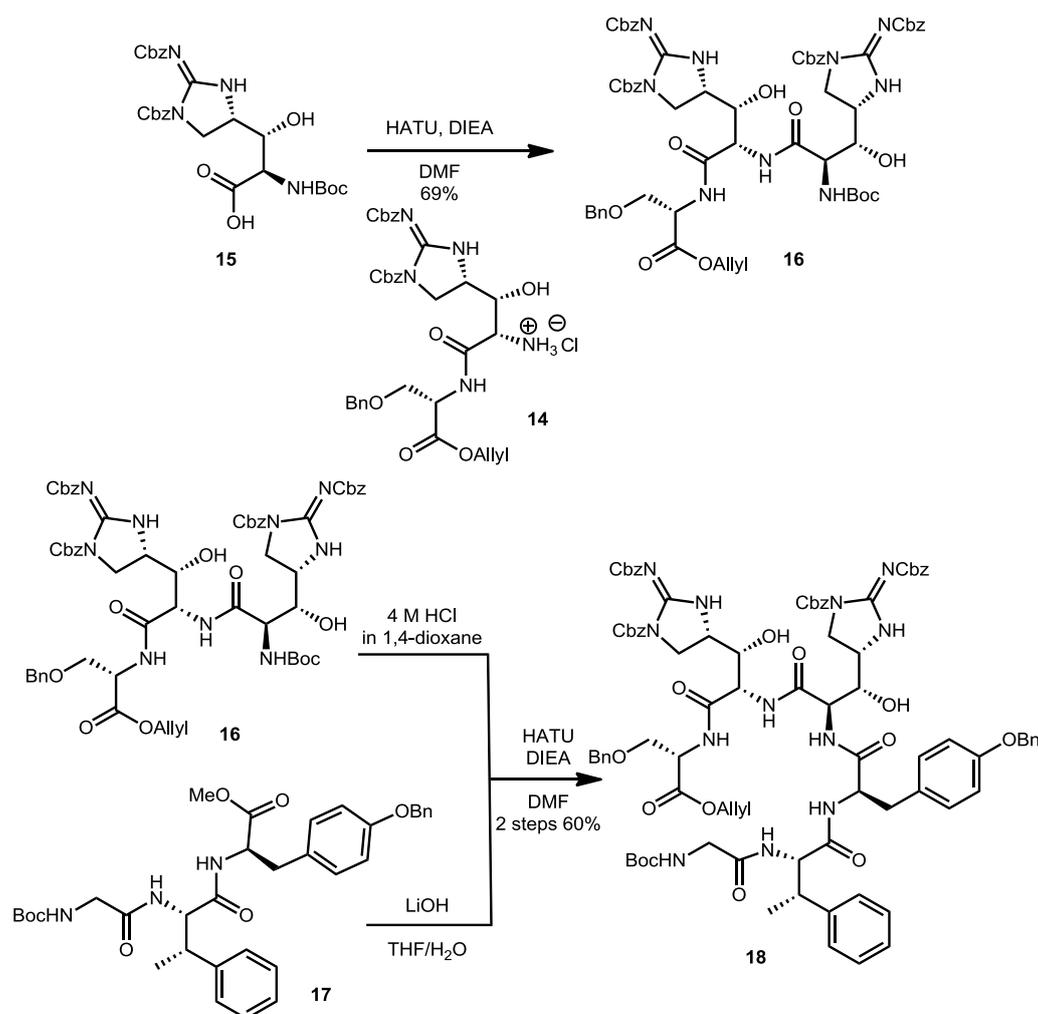
比較対象として、提唱構造を合成した ^1H NMR スペクトルも並列で並べておく。(600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$)



4-5 まとめ

本章では第三章で確立したマンノペプチマイシンのアグリコン合成法を駆使して、真のアグリコン構造の解明を目的として研究を推進した。すなわち、第三章でのスペクトル解析の結果および He らの報告の構造決定手法の検証結果から、アグリコンの真の構造候補として2種類の類縁体を選択し、その合成に取り組んだ。その結果、筆者が開発した合成法は類縁体合成においても有用なことを実証でき、さらに真のマンノペプチマイシンアグリコンの構造は、提唱構造と β -methylphenylalanine 残基の β 位メチル基の立体化学が異なっており、2*S*, 3*R* が正しいことを明らかにした。

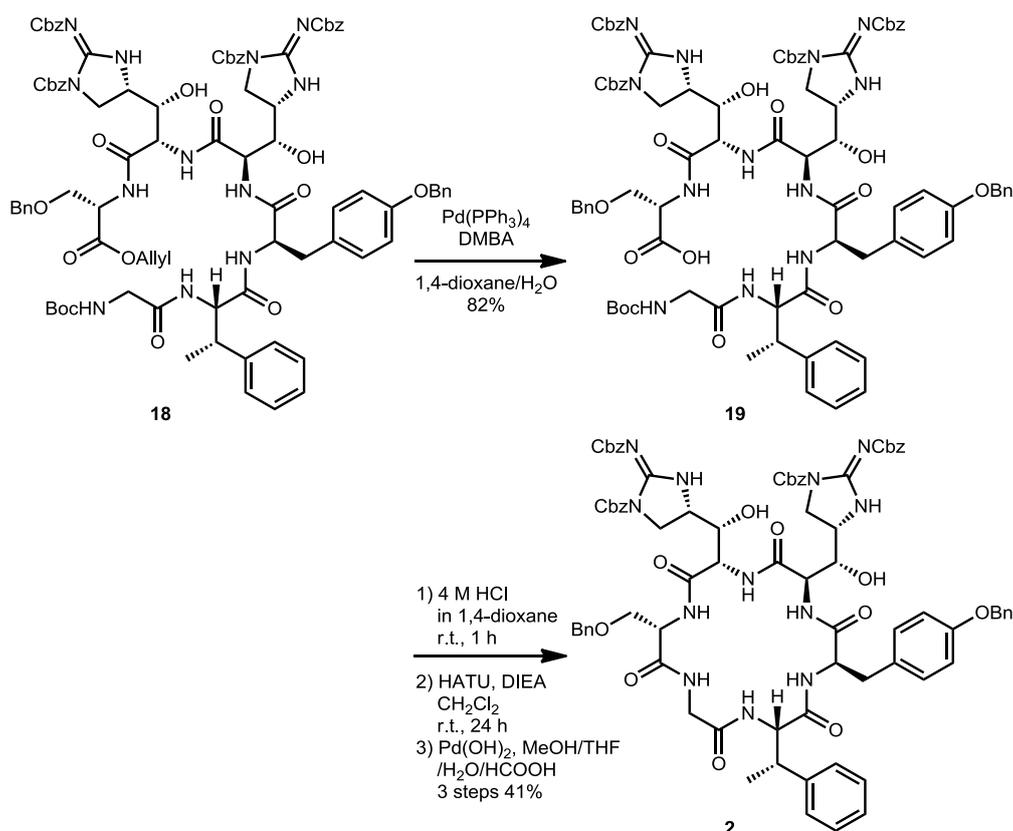
まず、Aiha-A、Aiha-B を入れ替えた類縁体 **2** においては、ジペプチド **14** と Aiha-B **15** の縮合において、第三章での観察結果から類推した通り、ジペプチド **14** 内の Aiha-A 残基のアミノアルコール部位は縮合剤 HATU と副反応を起こさず、良好な収率で目的のトリペプチド **16** を



Scheme 4-15

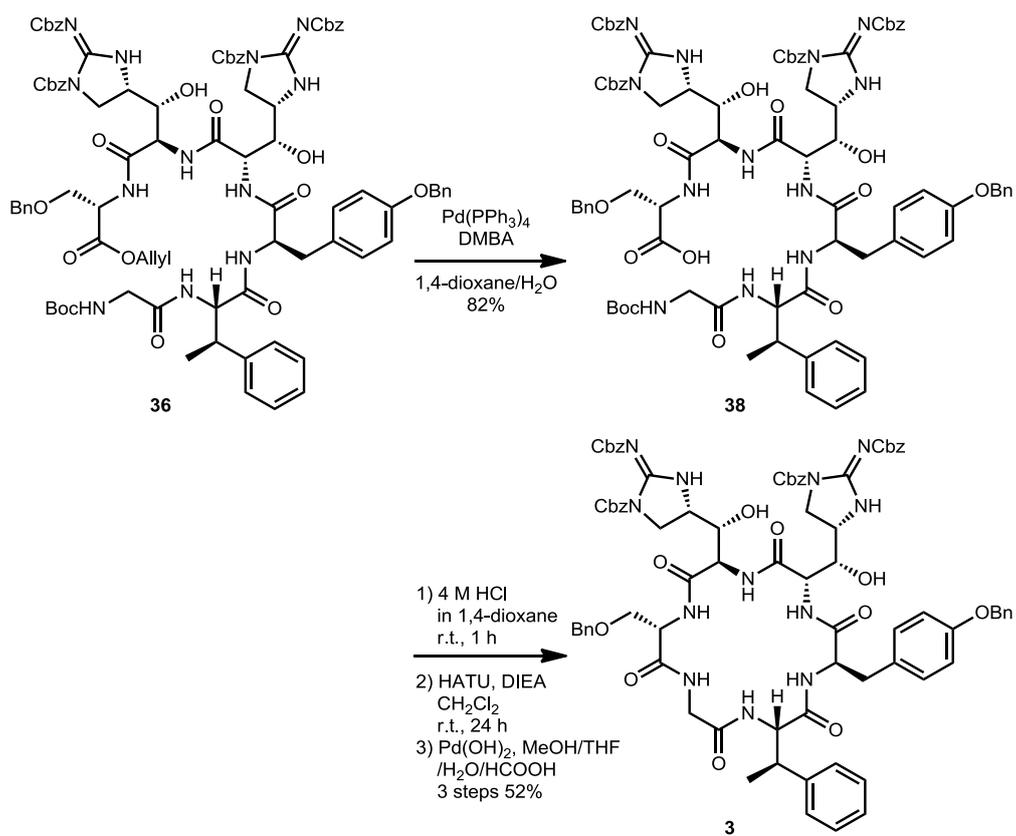
合成することに成功した。また、興味深いことにトリペプチド **16** と **17** のカップリングにおいては、トリペプチド **16** 内の Aiha-B 残基のアミノアルコール部位と縮合剤 HATU が副反応を起こした化合物は得られず、縮合剤 PyBOP を用いた場合に比べ高収率で目的のヘキサペプチド **18** を得ることに成功した (Scheme 4-15)。

得られたヘキサペプチド **18** のマクロラクタム化、続く脱保護により類縁体 **2** の合成を達成した (Scheme 4-16)。しかしながら類縁体 **2** の NMR 解析の結果、本類縁体は真のマンノペプチマイシンアグリコンの構造ではないことが判明した。



Scheme 4-16

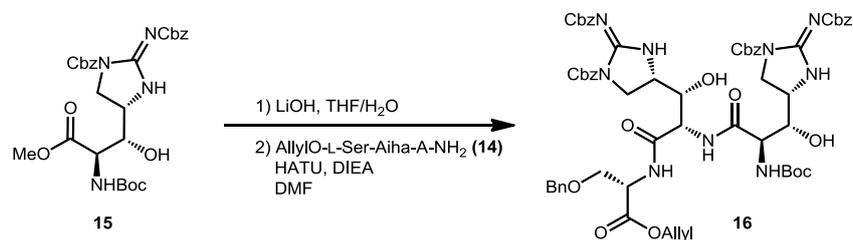
続いて、アミノ酸(2*S*,3*R*)- β -methylphenylalanine を持つ類縁体 **3** を同様の方法により合成した。得られた類縁体 **3** のスペクトルデータは天然物から減成したマンノペプチマイシンアグリコンのそれと良い一致を示したことから、真のマンノペプチマイシンアグリコンの構造を明らかにすることができた (Scheme 4-17)。



Scheme 4-17

References

- 1) He, H.; Williamson, R. T.; Shen, B.; Graziani, E. I.; Yang, H. Y.; Sakya, S. M.; Petersen, P. J.; Carter, G. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 9279.
- 2) Marfey, P. *Carisberg Res. Commun.*, **1984**, *49*, 591.
- 3) Kataoka, Y.; Seto, Y.; Yamamoto, M.; Yamada, T.; Kuwata, S.; Watanabe, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1976**, *49* (4), 1081.
- 4) Rassu, G.; Zanardi, F.; Cornia, M.; Casiraghi, G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1994**, *17*, 2431.
- 5) Matsumori, N.; Kaneno, D.; Murata, M.; Nakamura, H.; Tachibana, K. *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 866.
- 6) Fernandez-Lopez, S.; Kim, H.-S.; Choi, E. C.; Delgado, M.; Granja, J. R.; Khasanov, A.; Kraehenbuehl, K.; Long, G.; Weinberger, D. A.; Wilcoxon, K. M.; Ghadiri, M. R. *Nature*, **2001**, *412* (6845), 452.
- 7) Dharanipragada, R.; VanHulle, K.; Bannister, A.; Bear, S.; Kennedy, L.; Hraby, V. J. *Tetrahedron*, **1992**, *48* (23), 4733.
- 8) Alías, M.; López M. P.; Cativiela, C. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, (4), 885.
- 9) Xin-Jie, C.; Nader, F.; Nicholas, H.; Silvester, J.; Norman, K.; Apostle, M. L.; Anthony, M. J. PCT Int. Appl., 2006018188, 23 Feb 2006.
- 10) Harmon, E.; Wellman, G.; Gupta, S. *J. Org. Chem.*, **1973**, *38*, 11.

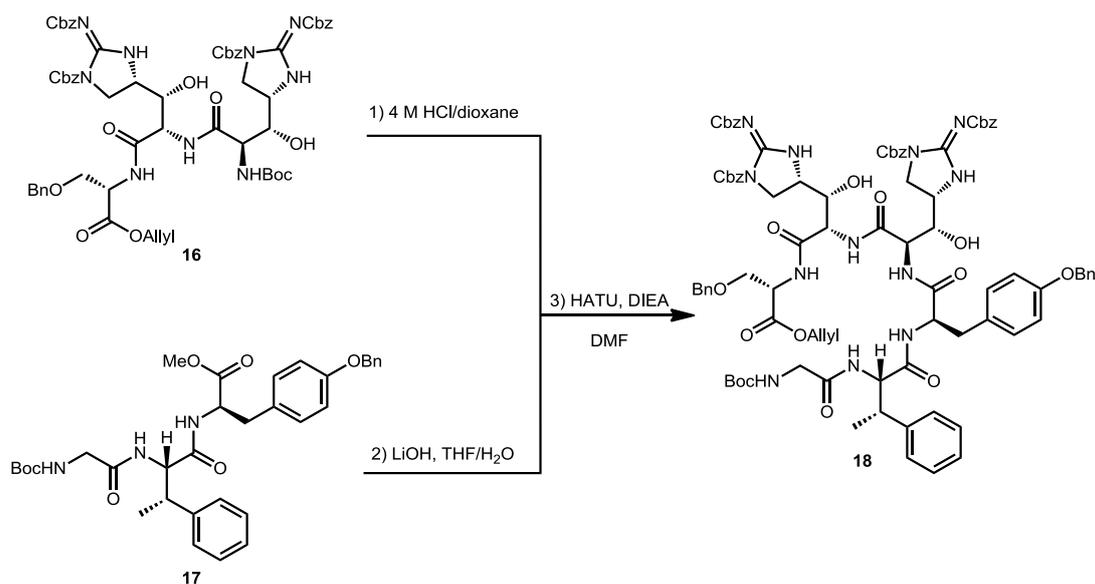
AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-A-Aiha-B-NHBoc (16)

To a solution of (S)-benzyl 2-[[[(benzyloxy)carbonyl]imino]-4-[(1S,2R)-2-[(tert-butoxycarbonyl)amino]-1-hydroxy-3-methoxy-3-oxopropyl]imidazolidine-1-carboxylate (**15**) (8.0 mg, 13 μmol , 1.0 equiv.) in THF (535 μL) and H₂O (107 μL) was added LiOH (3.0 mg, 64 μmol , 4.9 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (0.300 mL) was added AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-A-NH₂·HCl (**14**) (11.7 mg, 14.4 μmol , 1.10 equiv.) and DIEA (6.8 μL , 39 μmol , 3.0 equiv.) and HATU (7.5 mg, 20 μmol , 1.5 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by chromatography on silica gel (0% to 5% MeOH in CHCl₃) to give AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-A-Aiha-B-NHBoc (**16**) (10.9 mg, 9.0 μmol , 2 steps 69%) as a colorless oil.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₆₂H₇₀N₉O₁₇ [M+H]⁺ 1212.4882 found 1212.4893.

AllylO-L-Ser-Aiha-A-Aiha-B-D-Tyr-(2S,3S)- β -MePhe-Gly-NHBoc (18)



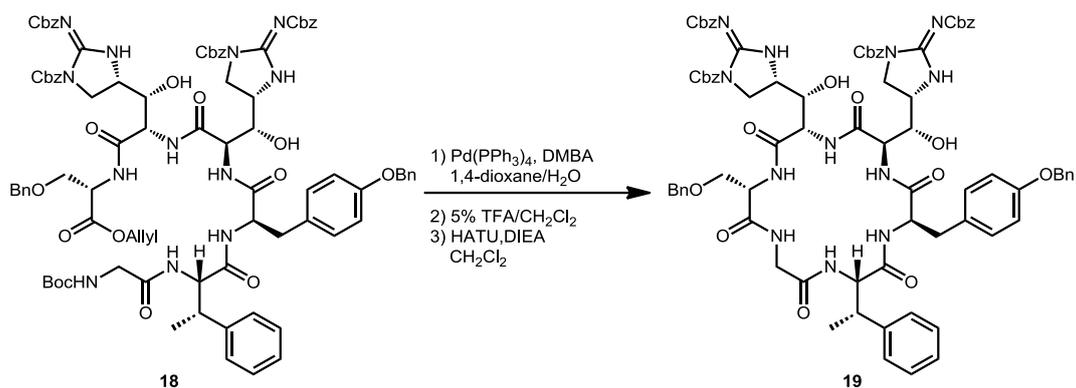
To a solution of Allylo-L-Ser(OBn)-Aiha-A-Aiha-B-NHBoc (**16**) (9.0 mg, 7.4 μmol , 1.0 equiv.) was added a solution of 4 M HCl/1,4-dioxane (2.0 mL) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue (**16'**) was used for the next reaction without further purification.

To a solution of MeO-D-Tyr(OBn)-(2S,3S)-β-MePhe-Gly-NHAlloc (**17**) (7.0 mg, 11 μmol , 1.5 equiv.) in THF (0.30 mL) and H₂O (60 μL) was added LiOH (1.7 mg, 36 μmol , 4.9 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl₃. The combined extract was dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue (**17'**) was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue (**16'**) in CH₂Cl₂ (0.25 mL) was added the residue (**17'**) and DIEA (5.1 μL , 30 μmol , 4.0 equiv.) and HATU (8.4 mg, 22 μmol , 3.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 4% MeOH in CHCl₃) to give Allylo-L-Ser(OBn)-Aiha-A-Aiha-B-D-Tyr(OBn)-(2S,3S)-β-MePhe-Gly-NHAlloc (**18**) (7.5 mg, 4.4 μmol , 2 steps 60%) as a white solid.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₈₁H₈₂N₁₂O₁₈ [M+H]⁺ 1683.7057 found 1683.7085.

Macrolactam (**20**)



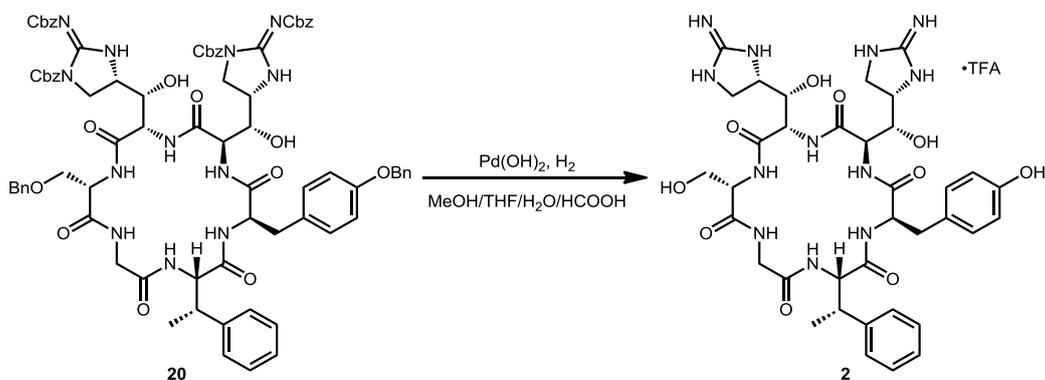
To a solution of AllylO-L-Ser-Aiha-A-Aiha-B-D-Tyr-(2*S*,3*S*)- β -MePhe-Gly-NHBoc (**18**) (9.6 mg, 5.7 μmol , 1.00 equiv.) in 1,4-dioxane/H₂O = 3/1 (1.00 mL) was added Pd(PPh₃)₄ (1.0 mg, 0.87 μmol , 10 wt%) and DMBA (0.9 mg, 5.7 μmol , 1.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (0.500 mL) was added TFA (25.0 μL ,) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH₂Cl₂ (3.0 mL) was added DIEA (4.0 μL , 23 μmol , 4.0 equiv.) and HATU (10.8 mg, 28.5 μmol , 5.00 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 5% MeOH in CHCl₃) to give macrolactam (**36**) (4.4 mg, 2.9 μmol , 3 steps 50%) as a white solid.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₈₁H₈₂N₁₂O₁₈ [M+H]⁺ 1683.7057 found 1683.7085.

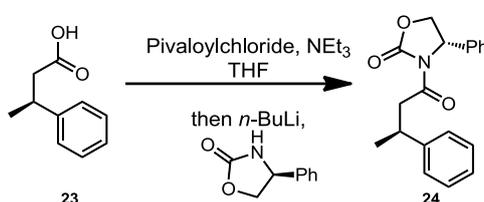
Mannopectimycin aglycone (**2**)



To a solution of macrolactam (**20**) (4.0 mg, 2.6 μmol , 1.0 equiv.) in MeOH (0.50 mL), THF (0.50 mL), H₂O (130 μL) and HCOOH (63 μL) was added Pd(OH)₂ (20% on carbon, 8.0 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h under H₂ gas atmosphere then filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase column chromatography (Bond Elut-C18: 0% to 40% MeOH in H₂O, 0.02% TFA) to give mannopeptimycin aglycone (**2**) (TFA salt) (2.0 mg, 2.1 μmol , 82%) as a white solid.

HRMS (ESI-TOF) calcd for C₈₁H₈₂N₁₂O₁₈ [M+H]⁺ 809.3689 found 809.3701.

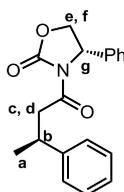
(S)-4-phenyl-3-[(S)-3-phenylbutyryl]-oxazolidin-2-one (**24**)



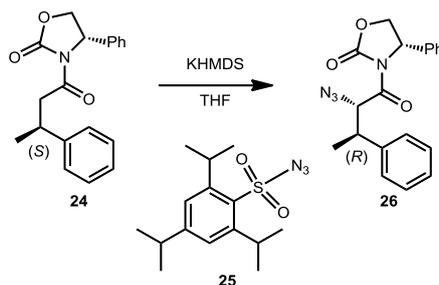
Triethylamine (1.30 mL, 9.10 mmol, 1.50 eq) was added to (S)-3-phenylbutyric acid (**23**) (1.0 g, 6.10 mmol) in THF (60.0 mL) at -78 °C followed by the dropwise addition of pivaloyl chloride (0.830 ml, 6.70 mmol, 1.10 eq) to give a white solid. The reaction was allowed to warm to room temperature for 10 min then cooled down to -78 °C. In a separate flask, *n*-butyllithium (4.60 mL, 11.6 mmol, 2.5 M in hexanes) was added to (S)-(+)-4-phenyl-2-oxazolidinone (2.00 g, 12.2 mmol) in THF at -78 °C and allowed to stir for 10 min. The lithiated oxazolidinone was transferred via cannula to the mixed anhydride at -78 °C and being stirred for 2 h. The reaction was quenched by addition of water and extracted with ethyl acetate. The combined extracts were washed with water, brine and dried over Na₂SO₄. The crude product was purified by chromatography on silica gel (0% to 50% ethyl acetate in hexane) and the resulting solid was recrystallized from ethyl acetate / hexanes to afford (S)-4-phenyl-3-[(S)-3-phenylbutyryl]-oxazolidin-2-one (**24**) (1.63 g, 5.25 mmol, 86%) as a white solid.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.15-7.39 (m, 10H, aromatic), 5.29 (dd, 1H, f, $J = 3.4, 8.7$ Hz), 4.54 (t, 1H, e, $J = 8.7$ Hz), 4.21 (dd, 1H, g, $J = 3.4, 8.7$ Hz), 3.40 (dd, 1H, c, $J = 8.2, 15.9$ Hz), 3.30-3.34 (m, 1H, n), 5.20-5.31 (m, 3H, l and o), 5.03 (s, 2H, e), 4.75 (ddd, 1H, a, $J = 6.8, 6.8, 7.3$ Hz), 4.57-4.60 (m, 1H, b), 3.13 (dd, 1H, d, $J = 5.8, 15.9$ Hz), 1.25 (d, 3H, a, $J = 6.8$ Hz).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 171.4, 153.8, 145.7, 139.1, 129.2, 128.7, 128.4, 127.1, 126.4, 126.0, 70.0, 57.6, 43.3, 36.0, 22.3.



(*S*)-3-[(2*S*, 3*R*)-2-azido-3-phenyl-butyryl]-4-phenyl-oxazolidin-2-one (**26**)

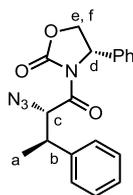


Potassium bis(trimethylsilyl)amide (2.00 mL, 1.80 mmol, 0.91 M in THF) was added to (*S*)-4-phenyl-3-[(*S*)-3-phenyl-butyryl]-oxazolidin-2-one (**24**) (500 mg, 1.60 mmol, 1.00 eq.) in THF (8.00 mL) at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ and being stirred for 1 h. In a separate flask, a solution of 2,4,6-triisopropylbenzenesulfonyl azide (**25**) (625 mg, 2.00 mmol, 1.25 eq.) in THF (10.0 mL) at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ was added via cannula to the anion mixture at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ and being stirring continued for 2 h. Acetic acid (0.45 mL, 7.80 mmol, 4.90 eq.) was added to the reaction at $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, the mixture was allowed to warm to room temperature and being stirred overnight. The resultant mixture was poured into water and extracted with ethyl acetate. The combined extracts were washed with brine and dried over Na_2SO_4 . The crude product was purified on silica gel (0% to 50% ethyl acetate in hexane) to give (*S*)-3-[(2*S*, 3*R*)-2-azido-3-phenyl-butyryl]-4-phenyl-oxazolidin-2-one (**26**) (230 mg, 0.528 mmol, 33%) as a white solid.

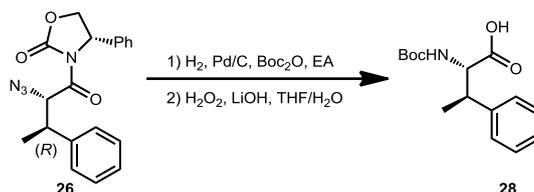
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.15-7.39 (m, 10H, aromatic), 5.27 (d, 1H, c, $J = 9.7$ Hz), 4.91 (dd, 1H, d, $J = 3.9, 7.7$ Hz), 3.99-4.05 (m, 2H, e and f), 3.29 (qd, 1H, b, $J = 6.8, 9.7$ Hz), 1.25 (d, 3H, a, $J = 6.8$ Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 169.7, 152.8, 140.7, 138.1, 129.1, 128.7, 128.5, 127.8, 127.4, 125.5, 70.0, 63.9, 57.6, 42.4, 17.7.

FT-IR (neat) 3750, 2325, 1220, 772, 519 cm^{-1} .



(2*S*,3*R*)-2-*tert*-Butoxycarbonylamino-3-phenyl-butyric acid (28**)**



To a solution of the (*S*)-3-[(2*S*, 3*R*)-2-azido-3-phenyl-butyryl]-4-phenyl-oxazolidin-2-one (**26**) (595 mg, 1.70 mmol, 1.00 eq.) in ethyl acetate (25.0 mL) was added Boc_2O (815 mg, 3.77 mmol, 2.20 eq.) and palladium on carbon (90.0 mg, 15 wt%). The mixture was hydrogenated at room temperature overnight atmospheric pressure. The mixture was filtered through celite and the solvent was removed. The residue was used for the next reaction without further purification.

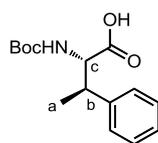
To a solution of the residue (**27**) in THF (18.0 mL) and water (4.00 mL) at 0 °C was added 30% aqueous hydrogen peroxide (1.50 mL, 1.80 mmol, 1.05 eq.) and 1 M aqueous lithium hydroxide (4.50 mL, 4.50 mmol, 3.00 eq.). The mixture was stirred at room temperature overnight. The reaction was quenched by addition of 2.0 M aqueous sodium hydrogen sulfite (15 mL, 30.1 mmol). After being stirred for 1 h, dichloromethane was added. Impurities were extracted with dichloromethane and removed. Then, the aqueous layer was acidified with 10% aqueous citric acid and extracted with ethyl acetate. The combined ethyl acetate extracts were washed with water, brine and dried over MgSO_4 and evaporated to give (*2S*,3*R*)-2-*tert*-butoxycarbonylamino-3-phenyl-butyric acid (**28**) (420 mg, 1.53 mmol 2 steps 73%) as a white solid.

$[\alpha]_{\text{D}}^{24} +20.2$ ($c = 1.00$, CH_3Cl).

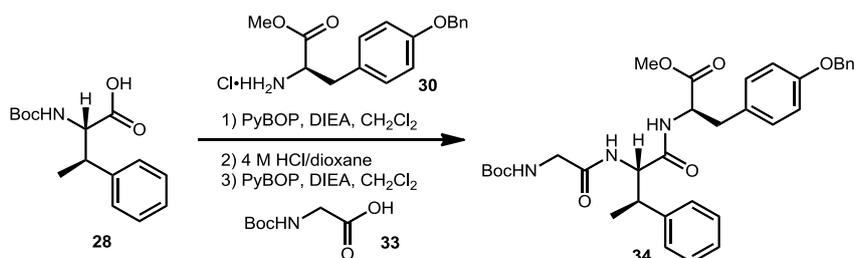
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.15-7.32 (m, 5H, aromatic), 5.14 (d, 1H, *NH*, $J = 5.6$ Hz), 4.41-4.45 (m, 1H, c), 3.30-3.32 (m, 1H, b), 1.43 (s, 9H, tBu), 1.24 (d, 3H, a, $J = 6.8$ Hz).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 176.2, 155.0, 141.3, 128.4, 127.7, 127.0, 80.1, 58.6, 42.1, 28.2, 16.1.

FT-IR (neat) 3220, 2969, 1728, 1659, 1410, 1371, 1269, 1167, 1068, 771 cm^{-1} .



MeO-D-Tyr(OBn)-(2S,3R)-β-MePhe-NHBoc (**34**)



To a solution of HO-(2S,3R)-β-MePhe-NHBoc (**28**) (150 mg, 0.537 mmol, 1.00 equiv.) in CH₂Cl₂ (5.40 mL) was added MeO-D-Tyr-NH₂·HCl (**30**) (190 mg, 0.591 mmol, 1.10 equiv.) and DIEA (0.275 mL, 1.60 mmol, 3.00 equiv.) and PyBOP (363 mg, 0.699 mmol, 1.30 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 3 M HCl and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with H₂O and aqueous NaHCO₃ and brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue (**31**) was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue (**31**) was added a solution of 4 M HCl/1,4-dioxane (4.00 mL) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue (**32**) was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue (**32**) in CH₂Cl₂ (4.0 mL) and was added HO-Gly-NHBoc (**33**) (102 mg, 0.644 mmol, 1.20 equiv.) DIEA (277 μL, 1.61 mmol, 3.00 equiv.) and PyBOP (363 mg, 0.699 mmol, 1.30 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was poured into 3 M HCl and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined extract was washed with H₂O, a saturated aqueous NaHCO₃ and brine, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 40% ethyl acetate in hexane) to give MeO-D-Tyr(OBn)-(2S,3R)-β-MePhe-Gly-NHBoc (**34**) (286 mg, 0.473 μmol, 3 steps 88%) as a white solid.

$[\alpha]_D^{22}$ -6.18 (c = 1.00, CHCl₃).

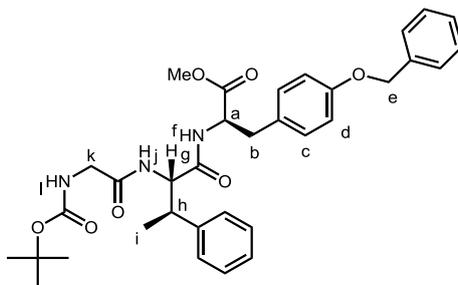
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.20-7.42 (m, 10H, aromatic), 6.83 (d, 1H, j, *J* = 9.3 Hz), 6.81 (d, 2H, c, *J* = 7.8 Hz), 6.69 (d, 2H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.36 (brd, 1H, f, *J* = 7.8 Hz), 5.21 (dd, 1H, l, *J* = 5.3, 5.8 Hz), 5.02 (s, 2H, e), 4.65 (dd, 1H, g, *J* = 9.3, 9.3 Hz), 4.61 (dt, 1H, a, *J* = 6.2, 7.8 Hz), 3.81 (dd, 1H, k, *J* = 5.8, 17.1 Hz), 3.73 (dd, 1H, k, *J* = 5.8 17.1 Hz), 3.58 (s, 3H), 3.20 (dt, 1H, h, *J* = 7.8, 7.8 Hz), 2.73 (dd,

1H, b, $J = 6.2, 14.1$ Hz), 2.54-2.56 (m, 1H, b), 1.46 (s, 9H, tBu), 1.29 (d, 3H, i, $J = 7.8$ Hz)

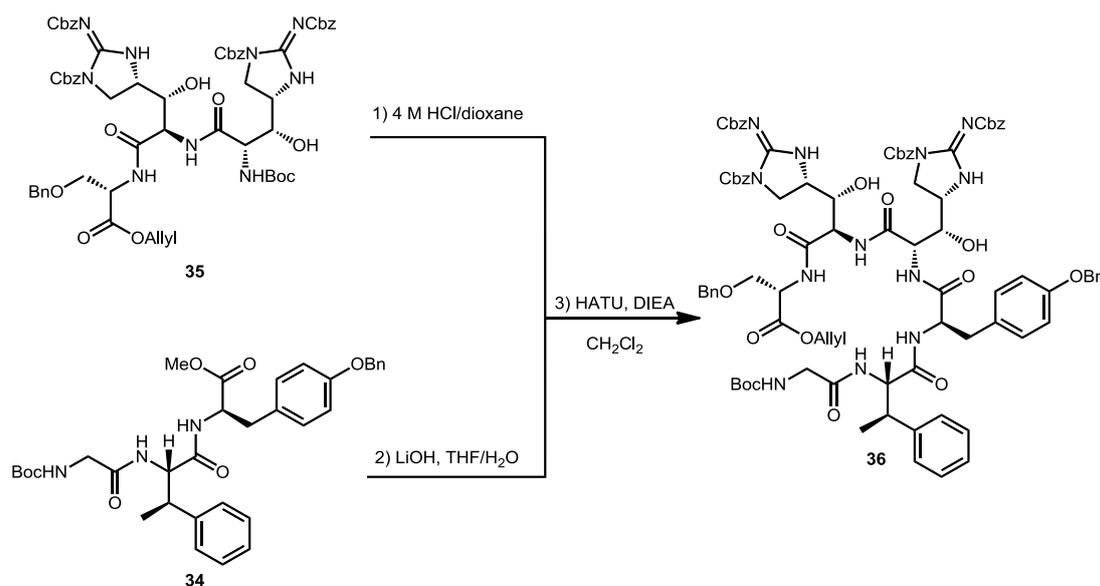
^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 171.8, 170.3, 169.3, 158.0, 156.4, 141.2, 137.0, 132.5, 130.3, 128.6, 128.2, 127.8, 126.8, 118.0, 115.1, 76.8, 70.5, 66.1, 58.6, 53.7, 52.4, 47.9, 44.5, 41.1, 37.1, 17.3, 17.3.

FT-IR (neat) 3411, 3300, 3017, 2400, 1735, 1654, 1510, 1214, 752 cm^{-1} .

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 547.2813 found 547.2816.



AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-Tyr(OBn)-(2S,3R)- β -MePhe-Gly-NBoc (**36**)



To a solution of AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-NHBoc (**35**) (10.0 mg, 8.25 μmol , 1.00 equiv.) was added a solution of 4 M HCl/1,4-dioxane (1.00 mL) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue (**35'**) was used for the next reaction without further purification.

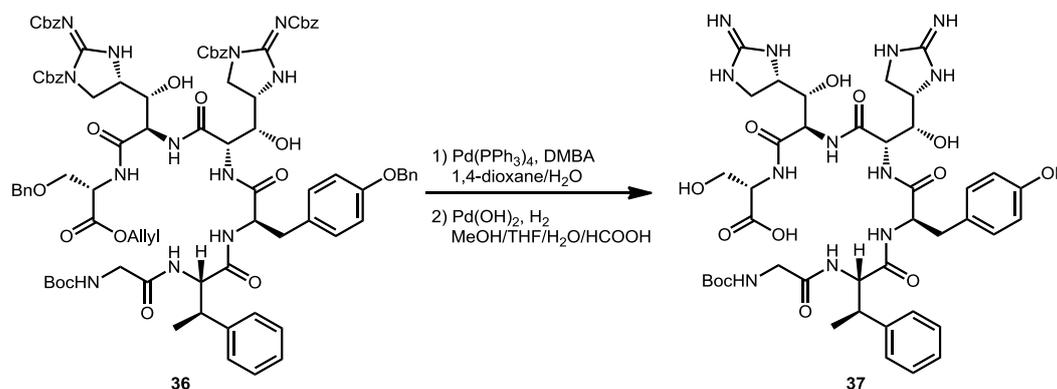
To a solution of MeO-D-Tyr(OBn)-(2S,3R)- β -MePhe-Gly-NHBoc (**34**) (7.6 mg, 12.4 μmol , 1.50 equiv.) in THF (673 μL) and H_2O (135 μL) was added LiOH (1.6 mg, 41 μmol , 4.9 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 2 h, the reaction mixture was poured into ice-cooled 1 M HCl and the aqueous phase was extracted with CHCl_3 . The combined extract was

dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The residue (**34'**) was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue (**35'**) in CH_2Cl_2 (0.250 mL) was added the residue (**34'**) and DIEA (5.7 μL , 33.0 μmol , 4.00 equiv.) and HATU (9.4 mg, 25 μmol , 3.00 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 12 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 4% MeOH in CHCl_3) to give AllylO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*R*)- β -MePhe-Gly-NBoc (**36**) (12.2 mg, 7.3 μmol , 2 steps 88%) as a white solid.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{81}\text{H}_{82}\text{N}_{12}\text{O}_{18}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1683.7049 found 1683.7085.

HO-L-Ser(OBn)-Aiha-B-Aiha-A-Tyr(OBn)-(2*S*,3*R*)- β -MePhe-Gly-NHBoc (**37**)



To a solution of AllylO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-D-Tyr- β -MePhe-Gly-NHBoc (**36**) (6.0 mg, 3.8 μmol , 1.0 equiv.) in 1,4-dioxane/ H_2O = 3/1 (1.0 mL) was added $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.6 mg, 0.5 μmol , 10 wt%) and DMBA (0.6 mg, 4 μmol , 1 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in MeOH (0.50 mL), THF (0.50 mL), H_2O (130 μL) and HCOOH (63 μL) was added Pd(OH)_2 (20% on carbon, 12 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h under H_2 gas atmosphere, the reaction mixture filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase column chromatography (Bond Elut-C18: 0% to 40% MeCN in H_2O , 0.02% TFA) to give HO-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-Tyr-(2*S*,3*R*)- β -MePhe-Gly-NHBoc (**37**) (TFA salt) (3.1 mg, 3.0 μmol , 2 steps 78%) as a white solid.

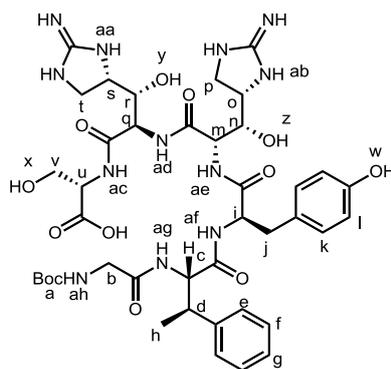
$[\alpha]_D^{23} +11.4$ ($c = 0.10$, $\text{H}_2\text{O/MeOH} = 1/1$).

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 9.16 (brs, 1H, w), 8.34 (d, 1H, ae, $J = 8.4$ Hz), 8.32 (d, 1H, af, $J = 8.4$

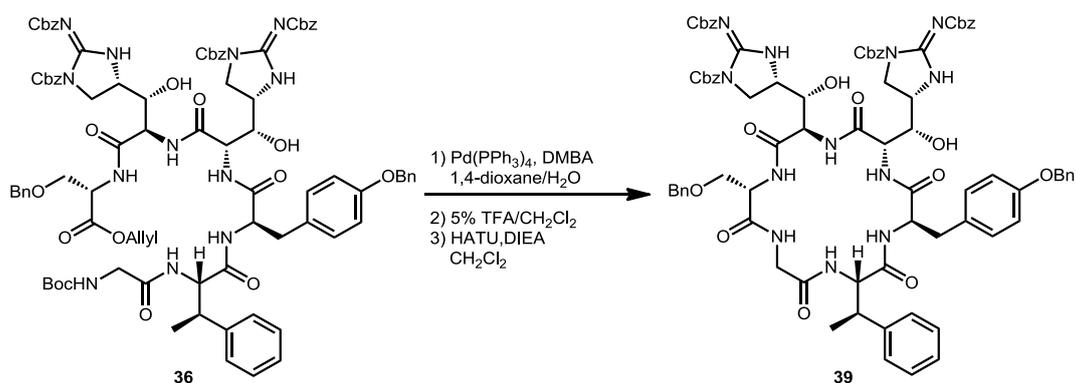
Hz), 8.29 (d, 1H, ac, $J = 7.2$ Hz), 8.26 (d, 1H, ad, $J = 9.0$ Hz), 8.00 (brs, 1H, ab), 7.88 (brs, 1H, aa), 7.82 (brs, 1H, ab), 7.74 (brs, 1H, aa or ab), 7.69 (d, 1H, ag, $J = 8.4$ Hz), 7.64 (brs, 1H, aa or ab), 7.54 (brs, 1H, aa), 7.18 (dd, 1H, f, $J = 7.2, 7.2$ Hz), 7.15 (d, 1H, e, $J = 7.2$ Hz), 7.12 (t, 1H, g, $J = 7.2$ Hz), 6.96 (d, 2H, k, $J = 8.4$ Hz), 6.93 (t, 1H, ah, $J = 5.4$ Hz), 6.60 (d, 1H, l, $J = 8.4$ Hz), 5.61 (brd, 1H, z, $J = 4.2$ Hz), 5.45 (brs, 1H, y), 4.55-4.57 (m, 2H, c and q), 4.47-4.50 (m, 1H, i), 4.37 (dd, 1H, m, $J = 8.4, 8.4$ Hz), 4.30-4.33 (m, 1H, u), 3.92 (brs, 1H, r), 3.82-3.84 (m, 1H, s), 3.69-3.71 (m, 1H, v), 3.61-3.65 (m, 4H, n, o, p and v), 3.53-4.55 (m, 1H, t), 3.51-3.53 (m, 1H, b), 3.45 (dd, 1H, b, $J = 5.4, 16.2$ Hz), 2.93-2.95 (m, 1H, d), 2.62 (dd, 1H, j, $J = 8.4, 14.4$ Hz), 2.37-2.39 (m, 1H, j), 1.36 (s, 9H, a), 0.88 (d, 1H, h, $J = 6.6$ Hz).

^{13}C NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ 172.1, 171.4, 170.4, 170.2, 169.2, 169.0, 159.4, 159.2, 156.1, 156.0, 143.0, 130.2, 128.0 x 2, 127.6, 126.4, 115.0, 78.3, 72.0, 70.8, 61.5, 57.1, 56.3 x 2, 55.0, 54.6, 54.2 x 2, 44.7, 43.3, 42.9, 42.0, 37.4, 28.4, 15.6.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{41}\text{H}_{59}\text{N}_{12}\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 927.4319 found 927.4351.



Macrolactam (39)



To a solution of Allylo-L-Ser-Aiha-B-Aiha-A-D-Tyr-(2*S*,3*R*)- β -MePhe-Gly-NHBoc (**36**) (6.0 mg, 3.6 μmol , 1.0 equiv.) in 1,4-dioxane/ $\text{H}_2\text{O} = 3/1$ (1.0 mL) was added $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.6 mg, 0.5 μmol , 10 wt%) and DMBA (0.6 mg, 3.6 μmol , 1 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at

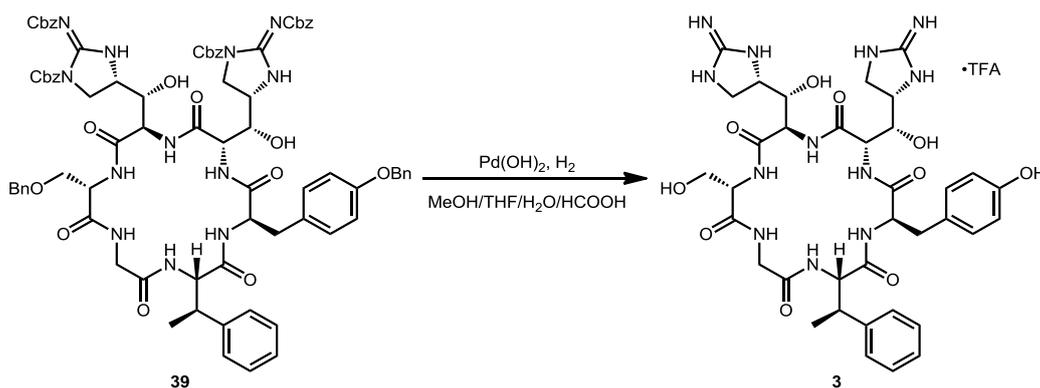
the same temperature for 1 h, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH_2Cl_2 (0.50 mL) was added TFA (25 μL .) at room temperature under argon. After being stirred the same temperature for 30 min, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was used for the next reaction without further purification.

To a solution of the residue in CH_2Cl_2 (3.6 mL) was added DIEA (2.5 μL , 14 μmol , 4.0 equiv.) and HATU (6.8 mg, 18 μmol , 5.0 equiv.) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 2 days, the reaction mixture was concentrated *in vacuo*. The residue was purified by column chromatography on silica gel (0% to 5% MeOH in CHCl_3) to give macrolactam (**39**) (2.8 mg, 1.8 μmol , 3 steps 51%) as a white solid.

HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{81}\text{H}_{82}\text{N}_{12}\text{O}_{18}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1525.6099 found 1525.6111.

Mannopectimycin aglycone (**3**)



To a solution of macrolactam (**39**) (4.0 mg, 2.6 μmol , 1.0 equiv.) in MeOH (0.50 mL), THF (0.50 mL), H_2O (130 μL) and HCOOH (63 μL) was added $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (20% on carbon, 12 mg) at room temperature under argon. After being stirred at the same temperature for 24 h under H_2 gas atmosphere then filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by reverse phase column chromatography (Bond Elut-C18: 0% to 30% MeCN in H_2O , 0.02% TFA) to give mannopectimycin aglycone (**3**) (TFA salt) (2.0 mg, 2.2 μmol , 84%) as a white solid.

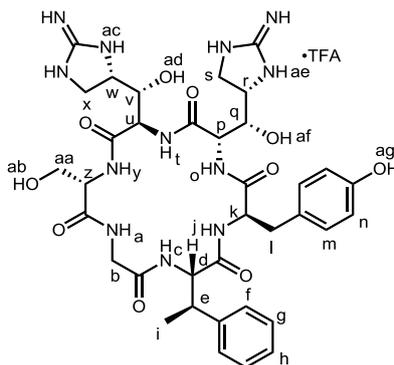
$[\alpha]_{\text{D}}^{24}$ -3.9 ($c = 0.05$, $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH} = 1/1$).

^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.18 (brs, 1H, ag), 8.43 (d, 1H, t, $J = 6.6$ Hz), 8.18, (brs, 1H, a) 8.12 (d, 1H, o, $J = 8.4$ Hz), 8.01 (brs, 1H, ae), 7.97 (brs, 1H, ac), 7.93 (brs, 1H, y), 7.70-7.82 (m, 6H, c, j, ac, ae), 7.20-7.24 (m, 2H, g), 7.19 (d, 2H, f, $J = 6.6$ Hz), 7.13-7.18 (m, 1H, h), 6.82 (d, 2H, m, $J = 7.8$ Hz), 6.58 (d, 2H, n, $J = 7.8$ Hz), 5.62 (d, 1H, ad, $J = 5.4$ Hz), 5.39 (brs, 1H, af), 5.13 (brs, 1H, ab), 4.48 (dd, 1H, d, $J = 7.2, 7.8$ Hz), 4.37 (dd, 1H, p, $J = 8.4, 8.4$ Hz), 4.29-4.31 (m, 2H, k and z), 4.24 (brs, 1H, u),

3.94 (brs, 1H, v), 3.83-3.85 (m, 1H, w), 3.67-3.74 (m, 1H, aa), 3.62-3.67 (m, 2H, b), 3.61-3.65 (m, 1H, q), 3.56-3.63 (m, 1H, aa), 3.54-3.59 (m, 1H, x), 3.52-3.56 (m, 1H, s), 3.37-3.44 (m, 1H, r), 3.18-3.23 (m, 1H, s), 3.15-3.19 (m, 1H, e), 2.63-2.65 (m, 1H, l), 2.40-2.42 (m, 1H, l), 1.07 (d, 3H, i, $J = 7.2$ Hz).

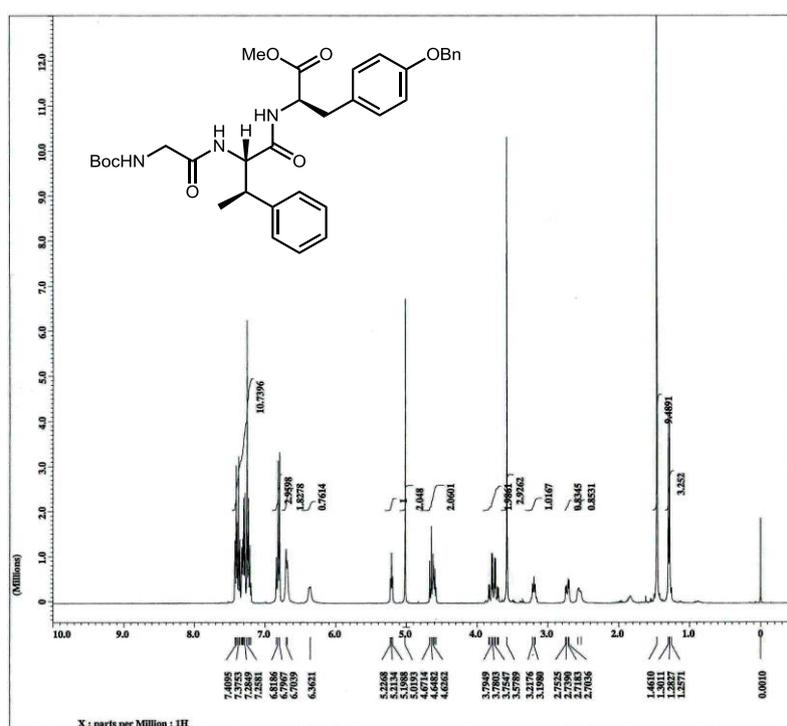
^{13}C NMR (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 170.6, 170.4, 170.1, 169.8, 169.3, 168.7, 159.3 x 2, 156.1, 143.2, 130.2, 128.2, 127.8, 127.5, 126.5, 114.9, 70.7, 70.0, 61.2, 57.6, 56.8, 56.0, 55.9, 54.6, 54.2, 53.8, 44.2, 43.0, 42.4, 40.2, 36.3, 16.6.

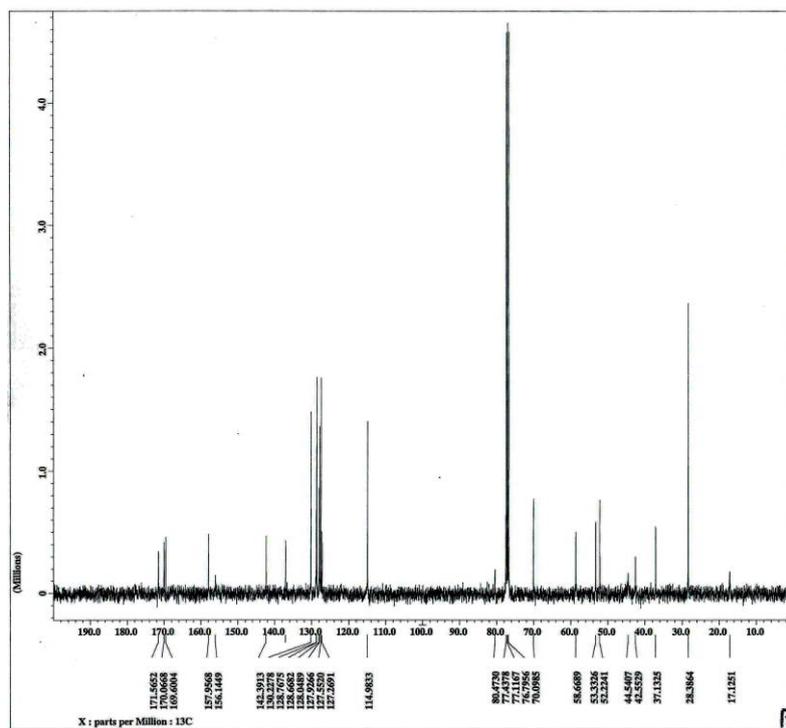
HRMS (ESI-TOF) calcd for $\text{C}_{81}\text{H}_{82}\text{N}_{12}\text{O}_{18}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 809.3678 found 809.3701.



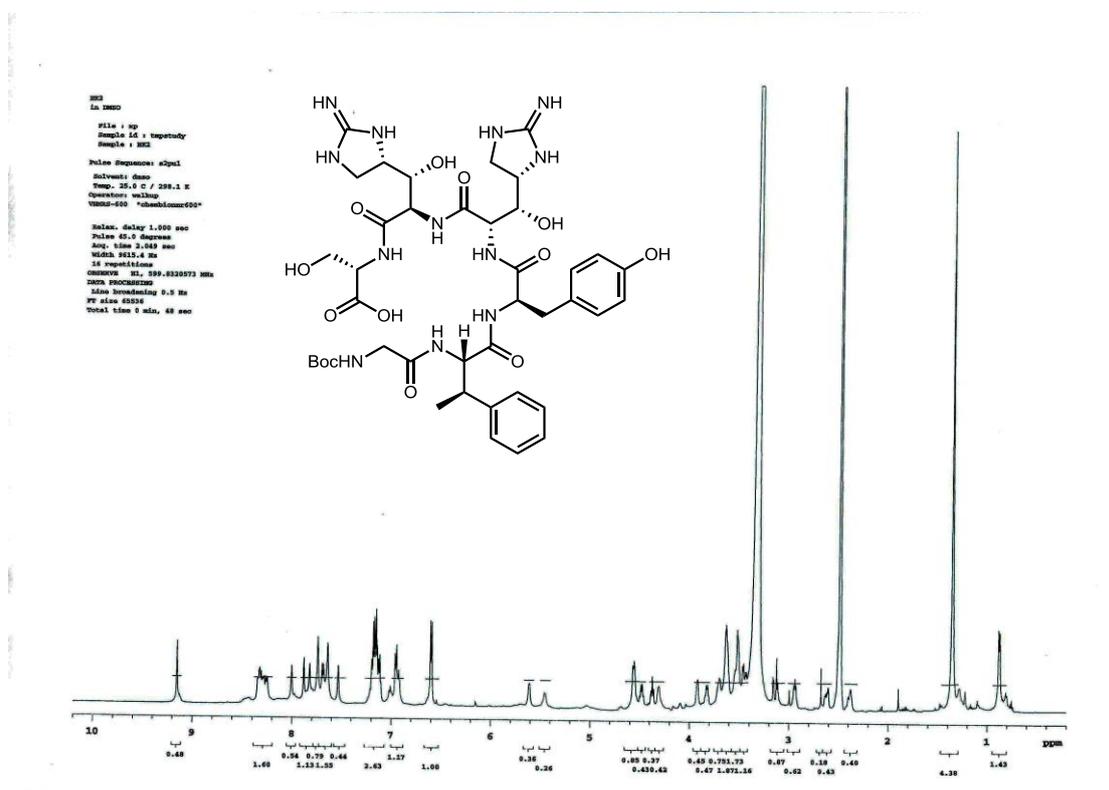
NMR spectra

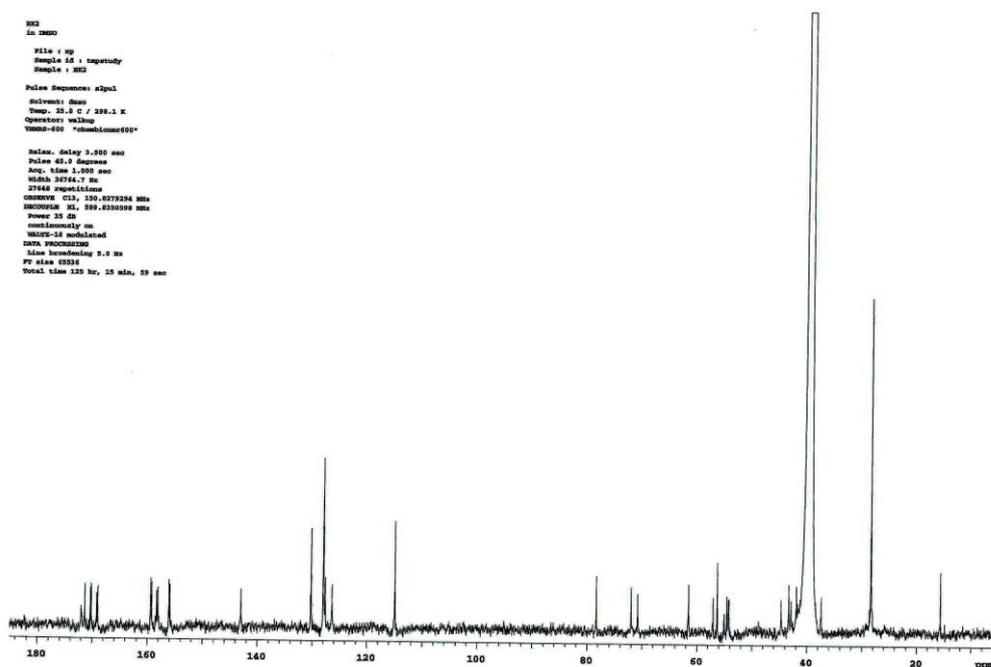
MeO-D-Tyr(OBn)-(2*S*,3*R*)- β -MePhe-NHBoc (34)



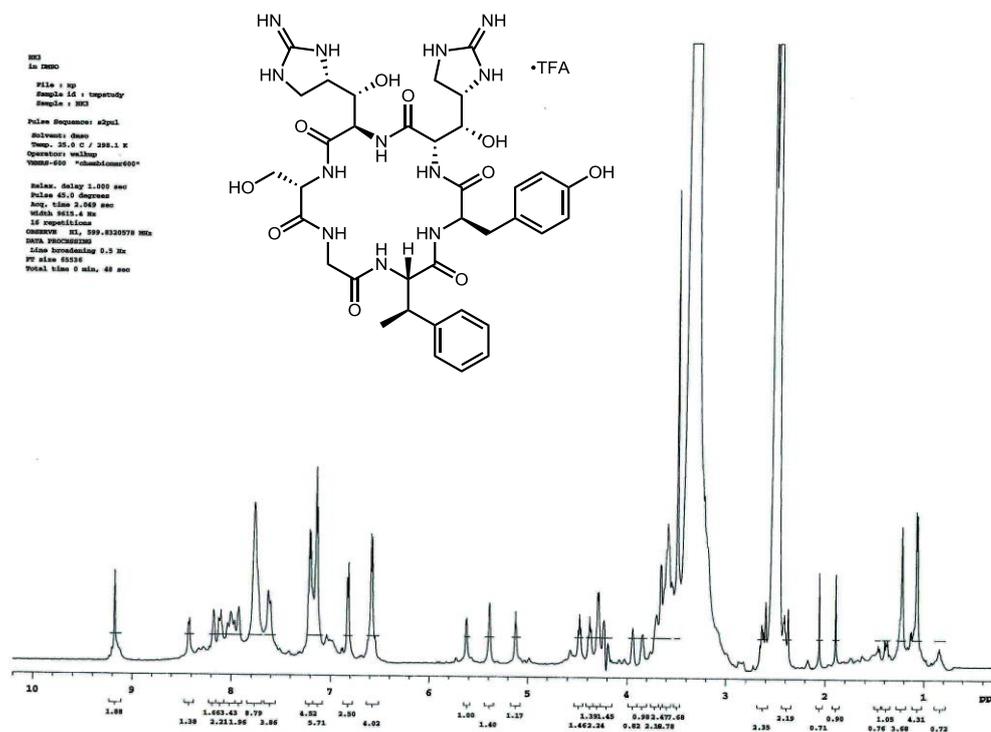


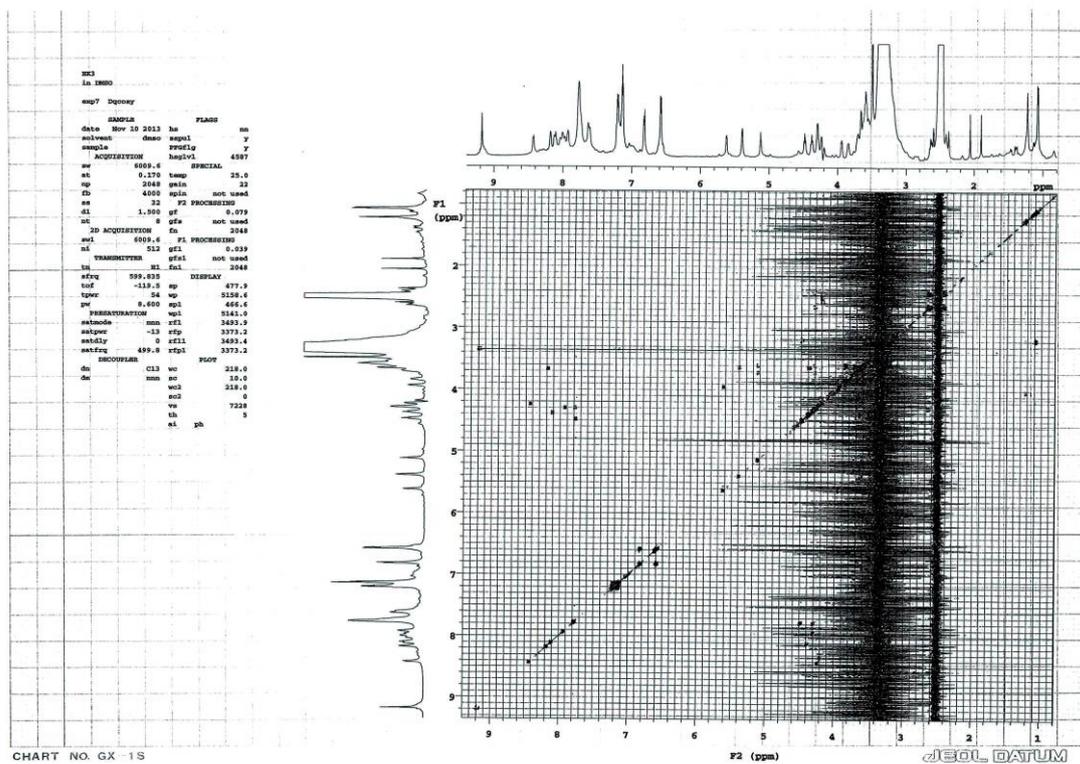
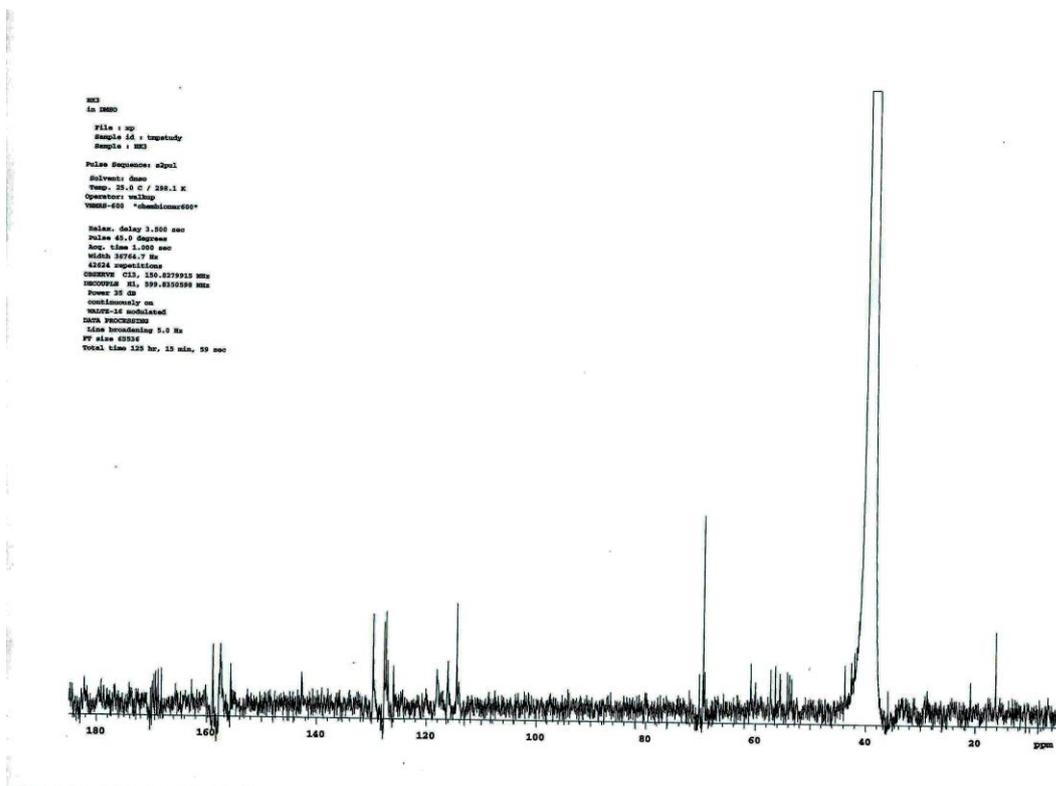
HO-L-Ser(OBn)-Aiiha-B-Aiiha-A-Tyr(OBn)-(2S,3S)-β-MePhe-Gly-NHBoc (37) (TFA salt)





Mannopeptimycin aglycone (3) (TFA salt)

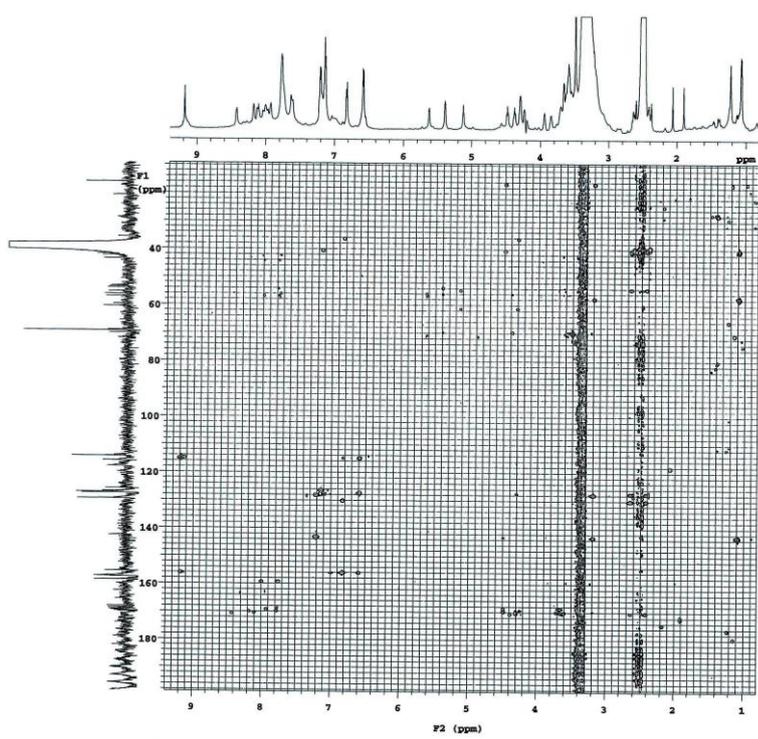




```

N33
in DMSO
exp10 ghauc_01

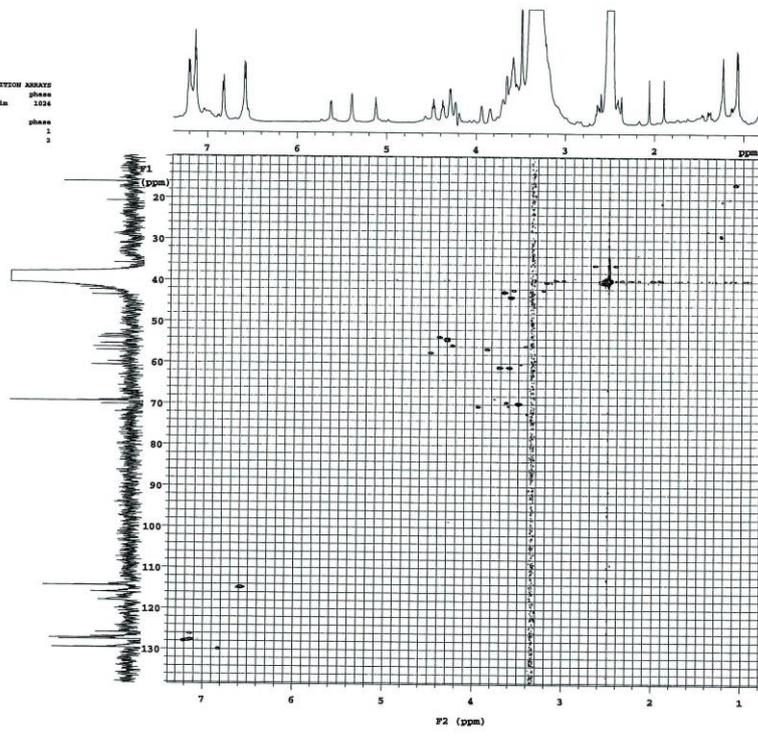
SAMPLE          ha  FLAG  n
date Nov 10 2013  ha  n
solvent dms0  expul  y
sample      expul  y
ACQUISITION    hsp1v1  4597
sv          6009.6  SPECIAL  25.0
st          0.138  temp      25.0
sp          1538  gain      60
fd          4000  spfm      not used
ss          33  GRADIENTS
dl          1.000  gr1v1    4597
nt          54  ct1      0.002000
2D ACQUISITION  ps1v13  2305
sv1         30139.1  ct3      0.001000
nl          512  gstab    0.000500
phase
PRESATURATION  0  F2 PROGRESSING
setmode      mm  sb  not used
sds1y        0  fa  2048
satfzq       499.9  F1 PROGRESSING
satpwr       -13  sb1  0.107
TRANSMITTER   sbal  not used
ts          559.835  fnt  2048
sfzq         559.835  fnt  DISPLAY
tof         -119.5  sp  481.0
tprw        54  wp  5251.0
pw          0.600  wpt  1407.0
DECOUPLE     wcl  2050.3
da          CL3  rfl  1613.4
dof         2139.3  rfp  1493.6
da          mm  rfl  828.5
dof         35988  rfp1  5987.9
dprw        39  flpw
pws1v1       59  wc  266.4
pws        12.800  wv  9.2
HQC          wcl  163.5
f1sh        140.0  wcl  0
f2sh         8.0  wv  238
th          10  odc  av  10
nl          0
  
```



```

N33
in DMSO
exp9 ghauc

SAMPLE          ha  FLAG  n
date Nov 10 2013  ha  n
solvent dms0  expul  y
sample      expul  y
ACQUISITION    hsp1v1  4597
sv          6009.6  SPECIAL  25.0
st          0.139  temp      25.0
sp          1538  gain      60
fd          4000  spfm      not used
ss          33  GRADIENTS
dl          1.001  gr1v1    4597
nt          54  ct1      0.002000
2D ACQUISITION  ps1v13  2305
sv1         30139.1  ct3      0.001000
nl          512  gstab    0.000500
phase
PRESATURATION  0  F2 PROGRESSING
setmode      mm  sb  not used
sds1y        0  fa  2048
satfzq       499.9  F1 PROGRESSING
satpwr       -13  sb1  0.109
TRANSMITTER   sbal  not used
ts          559.835  fnt  2048
sfzq         559.835  fnt  DISPLAY
tof         -119.5  sp  478.0
tprw        54  wp  3949.7
pw          0.600  wpt  1404.0
DECOUPLE     wcl  2050.3
da          CL3  rfl  1613.4
dof         2139.3  rfp  1493.6
da          mm  rfl  828.5
dof         35988  rfp1  5987.9
dprw        39  flpw
pws1v1       59  wc  266.4
pws        12.800  wv  9.2
HQC          wcl  163.5
f1sh        140.0  wcl  0
f2sh         8.0  wv  238
th          10  odc  av  10
nl          0
  
```



第五章

「結論」

5 結論

マンノペプチマイシンは特異な作用機序により強力な抗菌活性を示し、創薬候補化合物としても強力なポテンシャルを有するが、そのアグリコン部位の合成法が未確立であったため、類縁体創出、構造活性相関解明が阻まれてきた。本論文研究では、この問題を打開すべく、世界初となるマンノペプチマイシンアグリコンの合成法確立を目的として研究を行った。

第一章「序論」では、天然物の全合成研究において、ヘテロ官能基が密集した化合物を標的とした場合、その骨格構築法の確立だけでなく、精製・分析法の確立も求められるが、未だ一般的な合成手法論は存在せず、未到の重要課題となっている現状を説明した。また、感染症と人類の歴史について触れ、特に耐性菌の出現が社会的に大きな問題となっていることを述べた。この背景の中で、耐性菌に対しても強力な抗菌活性を保持するマンノペプチマイシンが発見された経緯、構造決定、天然物からの誘導體創製、これまでの合成研究について説明し、マンノペプチマイシンアグリコンの合成法が未確立であることが大きな問題となっていることを述べた。また、これを打開するには、特徴的な環状グアニジン部位を有する異常アミノ酸 Aiha-A および Aiha-B の合成法の確立、グアニジン含有化合物の反応・精製・分析法の確立が重要であることを述べ、本論文研究の意義と目的を明らかとした。

第二章「Aiha-A および Aiha-B の合成」では、マンノペプチマイシンアグリコンの合成戦略についてまず述べた (Figure 5-1)。すなわち、立体障害の少ないグリシン残基とセリン残基の間を環化点とし、またグアニジン含有化合物を扱う工程数を最短とするため、収束的な合成戦略を採用し、トリペプチド **2** と **3** を連結することにより目的物を得ようと計画した。トリペプチドは対応するアミノ酸を C 末端側から伸長することにより得ることとし、可能な限り短工

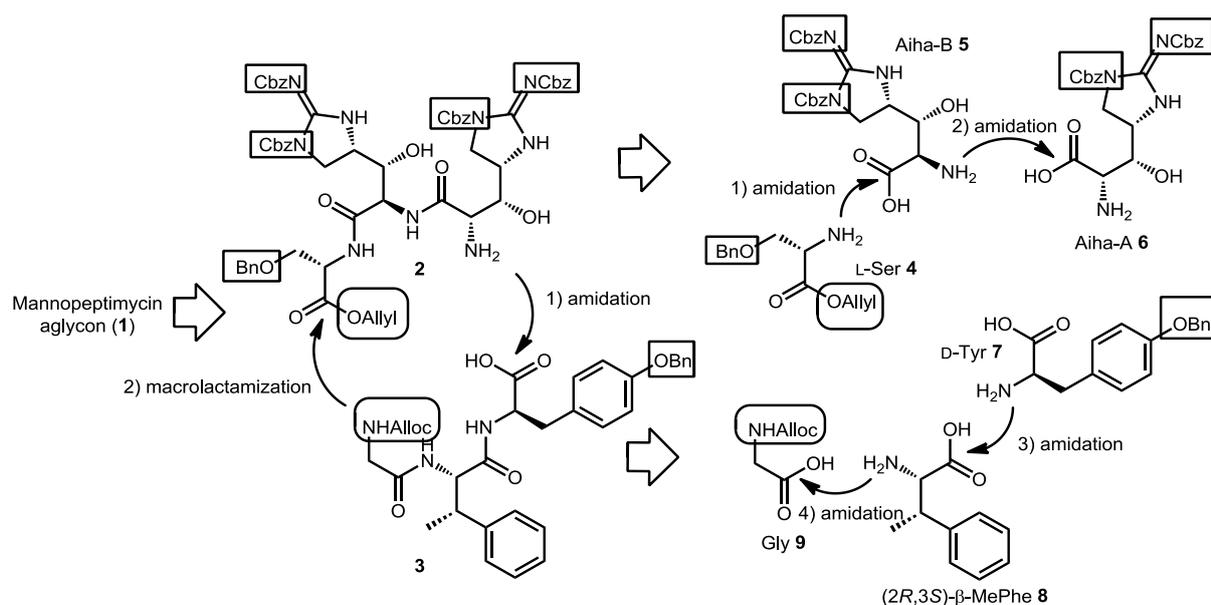
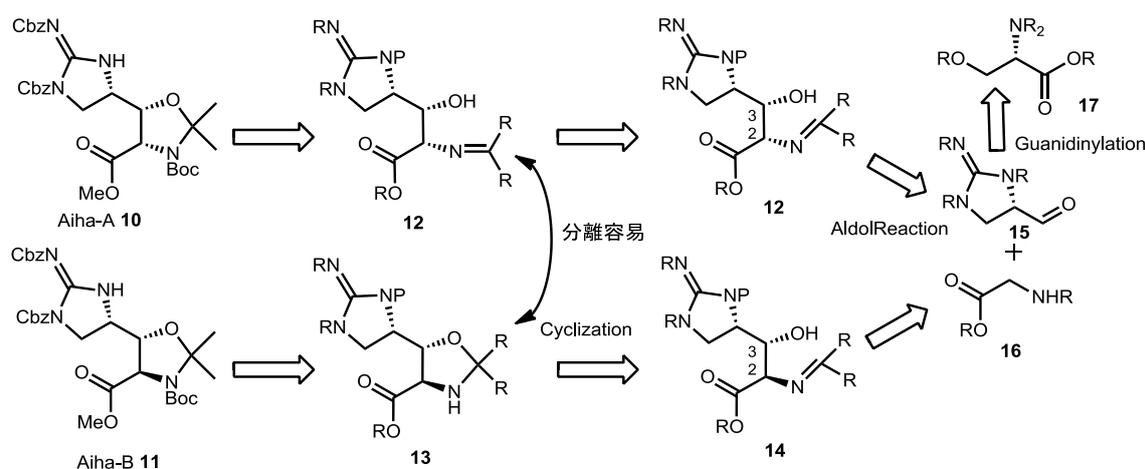


Figure 5-1

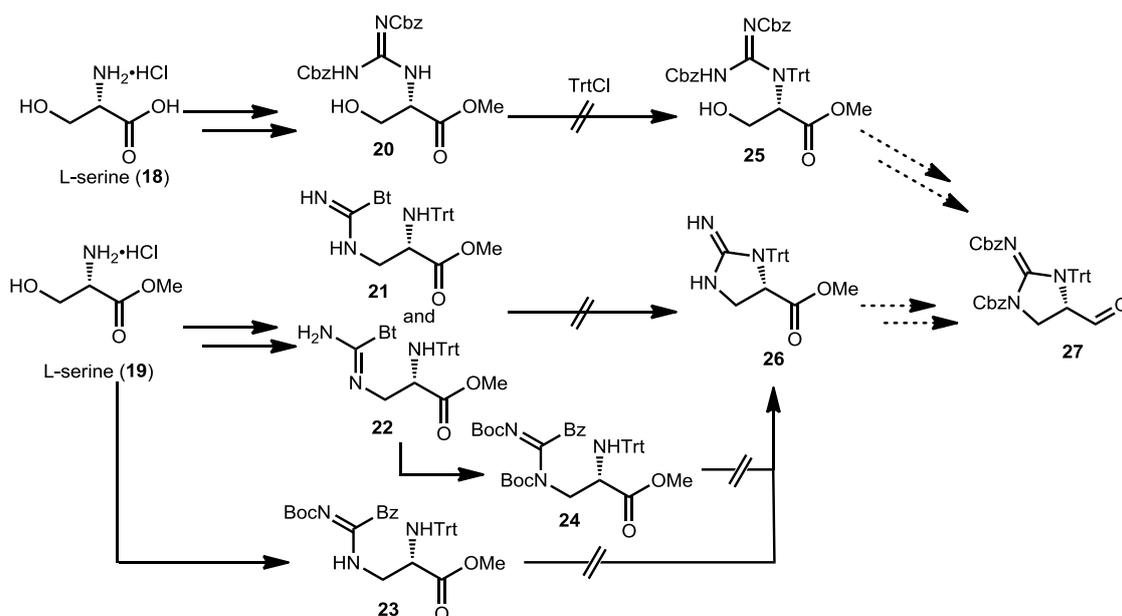
程で脱保護操作を完了できるように各ビルディングブロックの保護基を選定した。また、本合成計画に基づき、**Aiha-A** および **Aiha-B** の保護基を選定し、その合成経路として、1) 環状グアニジン構築後にアルドール反応を行う合成経路、2) アルドール反応後に環状グアニジン構築する合成経路の二通りを立案し、それぞれ検討した。

第一節「環状グアニジン含有アルデヒドの合成研究」では、前者の合成経路、すなわち隣接位に環状グアニジンをもつアルデヒド **15** によるアルドール反応を鍵とする合成ルートを検討した (Scheme 5-1)。



Scheme 5-1

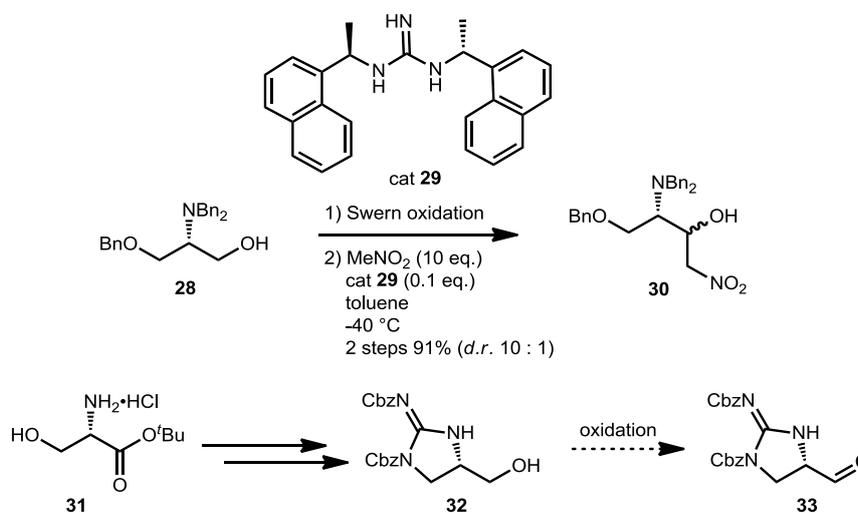
まず、グアニジンの窒素上に嵩高い保護基をもつ、アルデヒド **27** の合成を検討した。すな



Scheme 5-2

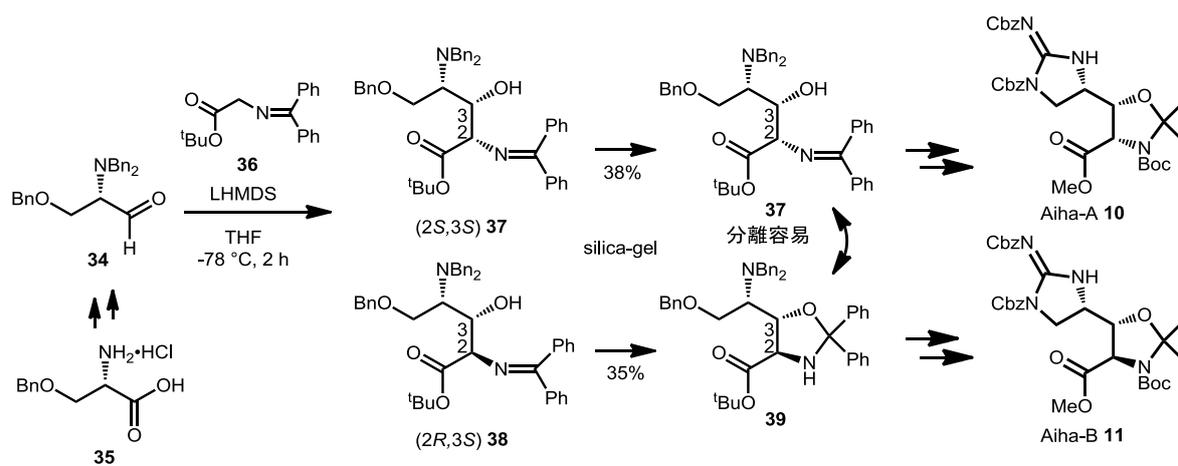
わち、このアルデヒドの保護基の立体障害を利用して、アルドール反応の不斉制御を行おうと考えた。しかしながら、Scheme 5-2 に示すいずれの経路においても、トリチル基の立体障害のため望む反応が進行せず、目的のアルデヒドを合成できなかった。

また、Scheme 5-3 に示す有機触媒を用いる不斉ニトロアルドール反応も試みたが、基質 **28** から調製したアルデヒドによるニトロメタンとのアルドール反応は好結果を与えたものの、実際の Aiha-A および Aiha-B の合成に利用できるアルデヒド **33** は安定性が十分でなく、反応系中で経時的に損壊していく様子が観察された。以上の結果から、グアニジンを構築後にアルドール反応を行う合成経路を断念した。



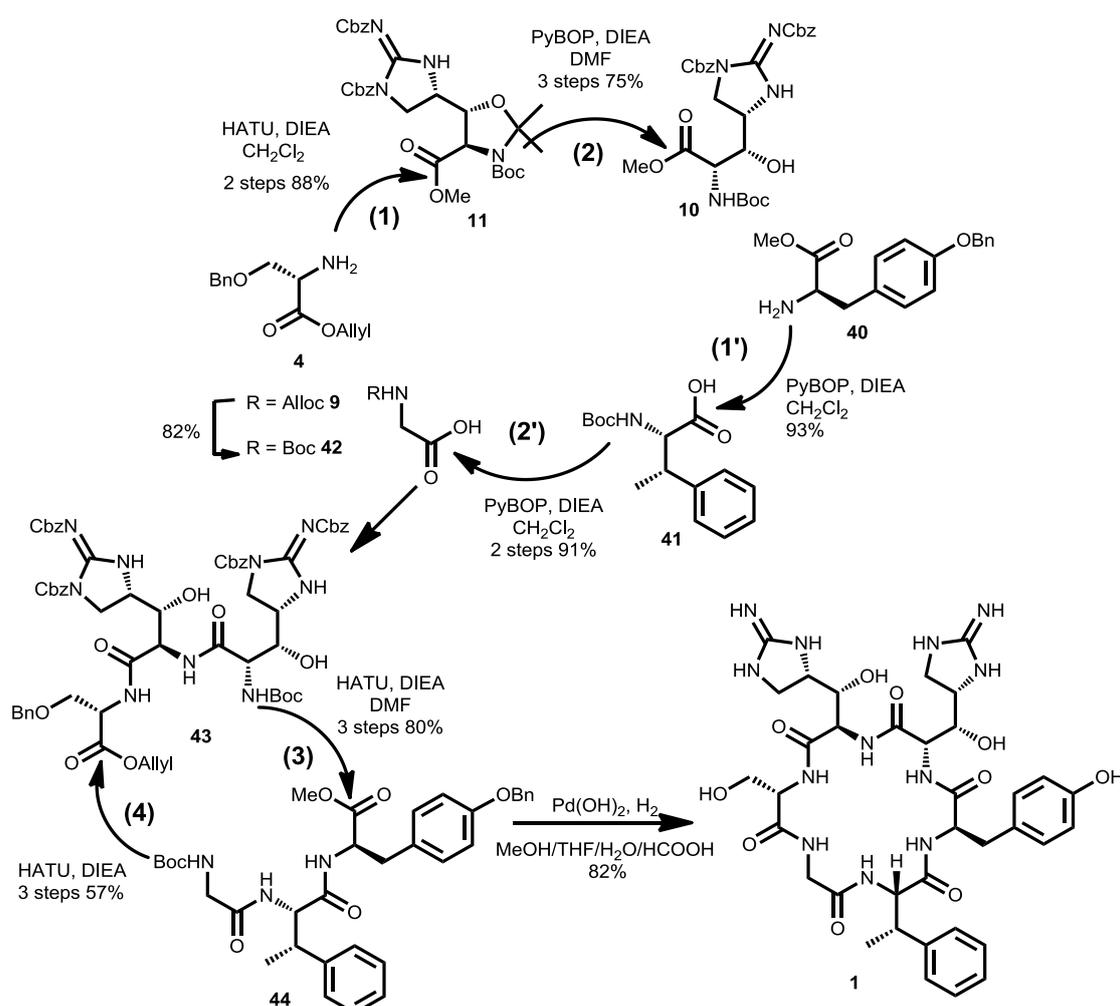
Scheme 5-3

第二節「アルドール反応後にグアニジン環を構築する合成手法の検討」では、当研究室金原の合成経路を参考に、セリン誘導体 **34** とグリシン誘導体 **36** を用いる立体選択的なアルドール反応を鍵とする合成経路を検討した。検討の結果、一部の反応について収率の改善に成功し、目的の Aiha-A **10**、Aiha-B **11** をそれぞれ出発原料 **35** から 13 工程 10%、12 工程 14% で合成することに成功した (Scheme 5-4)。



Scheme 5-4

第三章「マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成」では、第二章で確立した異常アミノ酸 Aiha-A および Aiha-B を用いてアミノ酸の縮合の検討をおこない、マンノペプチマイシンアグリコン提唱構造の合成を達成した(Scheme 5-5)。

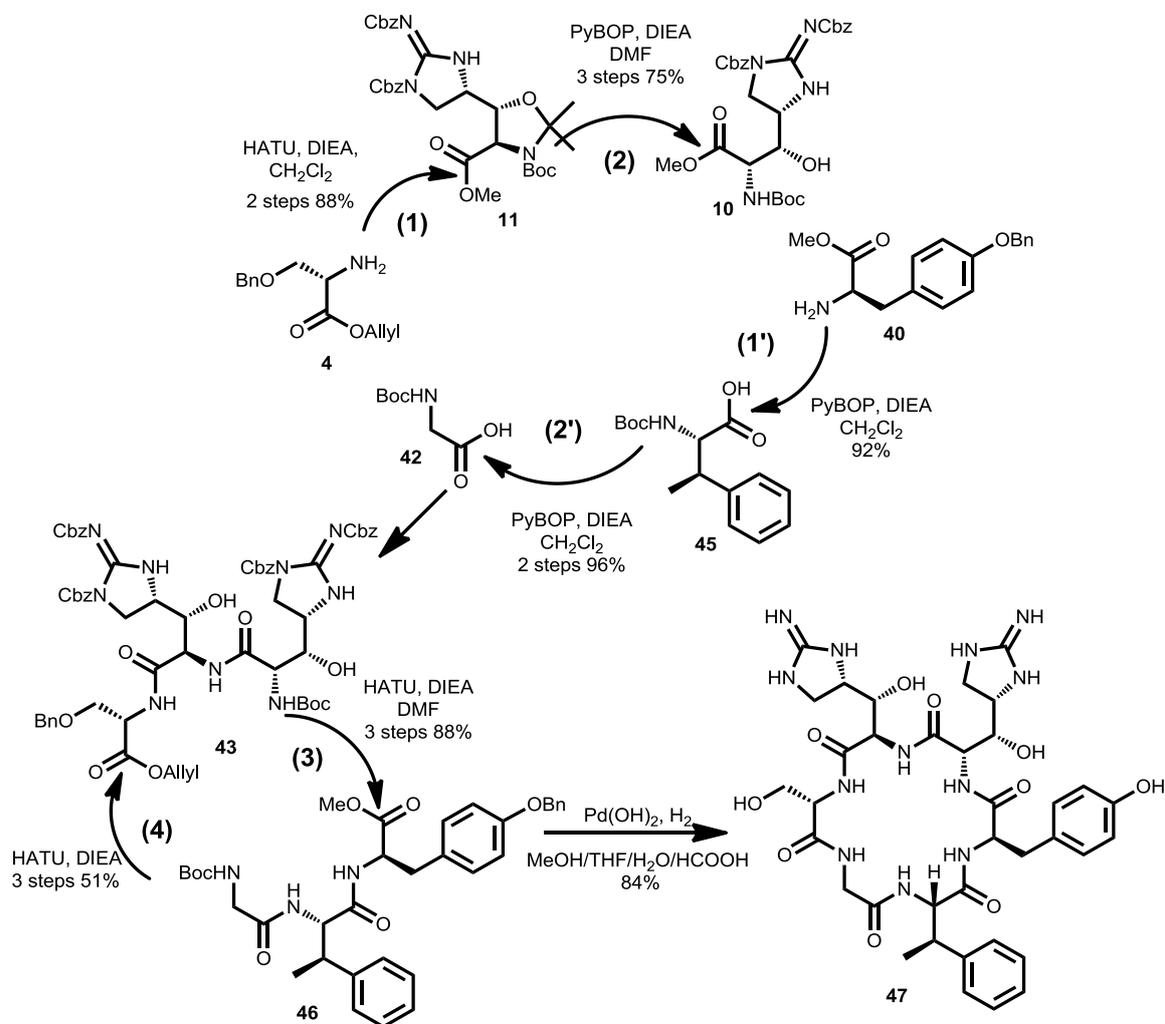


Scheme 5-5

しかしながら得られた化合物の NMR スペクトルは文献報告のスペクトルと異なっていた。分解実験やジアステレオマーの合成・解析により縮合条件下エピメリ化は進行していないと結論づけ、今回筆者は、提唱構造であるマンノペプチマイシンアグリコンの合成を達成できたと考えた。すなわち、提唱構造は真のマンノペプチマイシンアグリコンとは、異なるものと推定した。序論で述べた通り、マンノペプチマイシンアグリコン部位の構築法が未確立であったことが、これまでマンノペプチマイシン関連科学の発展、利用を阻んできた。本研究成果はこの問題に対して、世界で初めて明確な解決策を提示したといえる。一方で、提唱構造の誤りが見つかったものの、本章の研究ではマンノペプチマイシンの真の構造を明らかにするには至らなかった。

第四章「マンノペプチマイシンアグリコンの構造訂正」に第三章で確立したマンノペプチマイシンのアグリコン合成法を駆使して、真のアグリコン構造の解明を目的として研究を推進した。すなわち、第三章でのスペクトル解析の結果および He らの報告の構造決定手法の検証結果から、アグリコンの真の構造候補として 2 種類の類縁体を選択し、その合成に取り組んだ。

その結果、筆者が開発した合成法は類縁体合成においても有用なことを実証でき、さらに真のマンノペプチマイシンアグリコンの構造は、提唱構造と β -methylphenylalanine 残基の β 位メチル基の立体化学が異なっており、 $2S$ 、 $3R$ が正しいことを明らかにした(Scheme 5-6)。



Scheme 5-6

第五章「結論」では、本論文を総括した。

謝辞

本研究を行うにあたり、終始御指導御鞭撻頂きました田中浩士准教授に深く感謝致します。
本研究を行うにあたり、的確な御助言と御指導により研究の指針を示して下さいました高橋孝志教授に深く感謝致します。

本研究を行うにあたり、ご指摘と激励をして頂きました土井隆行教授に深く感謝致します。
本研究を行うにあたり、御指導と有益な議論をして頂きました布施新一郎助教に深く感謝致します。

本研究を行うにあたり、暖かい励ましと御助言を下さいました飯島悠介助教に深く感謝致します。

日々の研究生生活を円滑に行えるよう取り計らって下さいました田能村有香さんに心からお礼申し上げます。

NMR 測定を行ってくださった産業技術総合研究所の新家一男博士、泉川美穂氏に深く感謝いたします。

マンノペプチマイシンアグリコンの NMR チャートを快く寄与していただいた Pfizer 社の He 博士に深く感謝いたします。

マンノペプチマイシンアグリコンの構造訂正において貴重なアドバイスを下さいました東京工業大学の楠見武徳教授に深く感謝いたします。

マンノペプチマイシンアグリコンの構造訂正においてご助言を下さいました大阪大学の村田道雄教授に深く感謝いたします。

